



Gembloux Agro-Bio Tech
Université de Liège

**COMMUNAUTE FRANCAISE DE BELGIQUE
UNIVERSITE DE LIEGE-GEMBLoux AGRO-BIOTECH**

**Caractérisation des amidons de sorgho et de mil perlé
cultivés dans le Sahara algérien**

Nadia BOUDRIES-KACI

Dissertation originale présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en
sciences agronomiques et ingénierie biologique

Promoteur : Prof. Marianne SINDIC
Co-promoteurs : Prof. Boubekour NADJEMI
Prof. Naima BELHANECHÉ-BENSAMRA

2017

Copyright. Aux termes de la loi belge du 30 juin 1994, sur le droit d'auteur et les droits voisins, seul l'auteur a le droit de reproduire partiellement ou complètement cet ouvrage de quelque façon et forme que ce soit ou d'en autoriser la reproduction partielle ou complète de quelque manière et sous quelque forme que ce soit. Toute photocopie ou reproduction sous autre forme est donc faite en violation de la dite loi et des modifications ultérieures.

Boudries Nadia (2017). Caractérisation des amidons de sorgho et de mil perlé cultivés dans le Sahara algérien. Thèse de doctorat. Université de Liège – Gembloux Agro-Bio Tech, 225 p., 44 tabl., 113 fig.

RESUMÉ- Les amidons de sorgho (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) et de mil perlé (*Pennisetum glaucum* (L.)) cultivés dans les régions du Tidikelt (In Salah) et de l'Ahaggar (Tamanrasset) ont fait l'objet d'une étude de caractérisation. L'approche suivie a consisté à isoler les amidons, à déterminer leurs propriétés physicochimiques et fonctionnelles et à étudier leur modification par hydrolyse enzymatique

Les amidons présents avec un taux de 63,1 à 66,8 %, ont été isolés selon la méthode alcaline. La pureté des amidons obtenus est satisfaisante (91,9-96,7 %). Cependant, les rendements d'extraction restent moyens (59,1-61,2 %). Les propriétés physiques (couleur, forme et taille des granules), la composition chimique (teneur en humidité, amidon et amylose) et les propriétés fonctionnelles (solubilité, pouvoir de gonflement et viscosité) des amidons isolés ont été déterminées.

Des résultats importants ont été obtenus, mettant en évidence des propriétés physicochimiques spécifiques de ces amidons. En effet, la taille moyenne des granules natifs est de 18 et 10 μm respectivement pour le sorgho et le mil. Ces valeurs sont plus faibles que celles des amidons de cultivars d'autres régions. La taille est voisine de celle des amidons de maïs et de manioc. La teneur en amylose comprise entre 23,0 et 27,1 % a révélé que les céréales analysées sont des variétés normales. L'analyse du comportement à l'empesage a montré une viscosité au pic très importante atteinte rapidement. L'analyse calorimétrique a révélé des températures de gélatinisation élevées dues aux hautes températures de croissance. Les diffractogrammes aux rayons X présentent le type caractéristique des céréales et ont permis de déduire les degrés de cristallinité.

Les études cinétiques d'hydrolyse ont montré que des amidons isolés présentent une susceptibilité à l'hydrolyse en présence des amylases pures d'origine fongique ou bactérienne. Cependant, cette susceptibilité diffère selon le prétraitement préconisé pour la mouture intégrale et selon le type d'enzyme. Les conditions expérimentales, permettant aux réactions d'hydrolyse enzymatique des amidons isolés d'obéir au modèle de Michaelis-Menten ont été déterminées et ont permis de calculer les valeurs des constantes cinétiques (K_M et V_{max}). Les profils de maltooligosaccharides contenus dans les hydrolysats d'amidon de sorgho ont été déterminés par HPAEC-PAD afin de définir le mode d'action des amylases.

L'étude a permis de montrer les potentialités des amidons de sorgho et de mil perlé et d'envisager leurs applications et leur bioconversion.

Boudries Nadia (2017). Characterization of starches of sorghum and pearl millet cultivated in the Algerian Sahara. PhD Thesis. Université de Liège – Gembloux Agro-Bio Tech, 225 p., 44 tabl., 113 fig.

SUMMARY- Starches of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) and pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.)) cultivated in Tidikelt (In Salah) and Ahaggar (Tamanrasset), were the subject of a characterization study. The approach consists of the isolation of starches, the determination of physico-chemical and functional properties and the study of enzymatic hydrolysis modification.

The starches with a rate ranging from 63.1 to 66.8 % were isolated according to the alkaline method. The purity of the obtained starches is satisfactory (91.4-96.7 %). However the extraction yield remains average (59.1-61.2 %). The physical properties (color, shape and size of the granules), chemical composition (moisture, starch and amylose) and rheological properties (solubility, swelling power and viscosity) of the isolated starches were determined.

Important results were obtained highlighting interesting functional properties of these starches. Indeed, the average diameter of native starches granules had reached 18 and 10 μ m for sorghum and pearl millet respectively. These values are lower than those of others regions cultivars and close to those of corn and cassava. The amylose content (23.0 and 27.1 %) revealed that the analyzed cereals are normal varieties. The analysis of viscosity showed a very high peak viscosity that is reached rapidly. The DSC analysis has revealed higher gelatinization temperatures, attributed to high maturity temperatures. The X-rays diffraction patterns show the type A characteristic of cereals and allowed deducing the relative degrees of cristallinity.

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

The experimental conditions allowing to enzymatic hydrolysis reactions of isolated starches to follow the Michaelis-Menten model were determined and kinetic constants (K_M and V_{max}) were calculated. The HPAEC-PAD profiles of oligosaccharides in sorghum starches hydrolysates were determined for highlight the amylases activities.

The study demonstrated the potential of sorghum and pearl millet starches and considers their applications and bioprocessing.

DEDICACES

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

Mes parents qui m'ont tant encouragé,

Mes frères et sœurs, surtout à Malika et à Kamel qui m'ont beaucoup aidé,

*Mon mari Slimane qui n'a cessé de m'apporter son soutien depuis qu'on
s'est connu,*

Ma famille et mes ami(e)s de Belgique.

Nadia

REMERCIEMENTS

Il m'est très agréable d'exprimer ma grande reconnaissance et mes remerciements à Mme Marianne SINDIC Professeur et responsable du laboratoire Qualité et Sécurité des produits agroalimentaires à Gembloux Agro Bio Tech-Université de Liège pour avoir dirigé ces travaux de thèse malgré les nombreuses difficultés rencontrées ainsi qu'à Mr Boubekeur NADJEMI, Professeur à l'Ecole Normale Supérieure d'Alger. Leur disponibilité, leurs conseils avisés et leur patience m'ont été d'une aide précieuse.

Je suis reconnaissante aussi au Pr Naima BELHANECH-BENSEMARA enseignante et chercheur à l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger pour sa supervision des travaux et ses encouragements constants.

Je tiens à remercier le Dr George SINNAEVE du Centre wallon de Recherches agronomiques (CRA) à Gembloux ainsi que le Pr Mohamed MATHLOUTHI, responsable du laboratoire de physico-chimie de l'Université de Reims, France, pour m'avoir accueillie au sein de leurs laboratoires et m'avoir permis d'effectuer certaines analyses chimiques.

Merci également aux membres du laboratoire de l'ENS, Hind Mokrane, Djaafar DJABALI et Mohamed LEMGHARBI, les pionniers dans ce domaine de recherche ainsi qu'à nos étudiants qui poursuivent ces travaux.

Mes remerciements vont aussi aux membres de mon comité de thèse, Claude DEROANNE, Jacqueline DESTAIN, François BERA, Aurore RICHEL et Paul MALUMBA, qui ont porté beaucoup d'intérêt à ce travail et ont su m'orienter lors des différentes phases.

Mes remerciements s'adressent aussi à toute personne ayant apporté une contribution technique à ce travail, en particulier Carine MASSAUX, Sandrino FILLOCO, Alain SOMEVILLE, Vanessa ARDITO, Lynn DORAN, Isabelle VAN DE VREKEN, Marjorie SERVAIS, Emilie LEFEBURE, Sabine DANTHINE et Christophe BLECKER de Gembloux Agro-Bio Tech, Jonathan LENARTZ du CRA, Gembloux et Jacques DOUGLADE de l'université de Reims, France.

Je ne manquerai pas de remercier toutes mes amies et tous mes amis d'Algérie et de Belgique pour leurs encouragements, leur écoute et leur sympathie.

Enfin, j'exprime ma profonde gratitude aux familles HADJI, BOUAKAZ et HAMMAMI de même que Mesdames Huguette LAMBET, Muriel POELS et Denise KRECKE pour m'avoir accueillie et procuré l'ambiance familiale dont j'avais besoin en Belgique.

Je rends un fervent hommage à Lynda KHELOUFI qui avait contribué à ce travail, à Edgard LAMBET et à Fatiha AIT-MAHDI qui nous ont quittés.

Chaleureusement

Nadia BOUDRIES-KACI

TABLES DES MATIERES

RESUMÉ	I
SUMMARY.....	II
DEDICACES	III
REMERCIEMENTS	IV
TABLES DES MATIERES.....	V
LISTE DES ABREVIATIONS.....	IX
LISTE DES TABLEAUX	XI
INTRODUCTION GENERALE.....	1
PREMIERE PARTIE: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	5
CHAPITRE 1: SORGHO ET MIL PERLÉ.....	7
1.1 Introduction	7
1.2 Origine et taxonomie du sorgho et des mils	7
1.3 Structure des grains de sorgho et de mil perlé.....	11
1.4 Composition chimique et valeur nutritive	12
1.5 Production et importance économique	16
1.6 Utilisation et transformation	18
CHAPITRE 2: GÉNÉRALITÉS SUR LES AMIDONS	22
2.1 Biosynthèse et structure de l'amidon	22
2.2 Méthodes d'isolement des amidons.....	24
2.3 Propriétés des amidons	26
2.4 Hydrolyse des amidons.....	29
2.5 Applications des amidons.....	30

2.6 Domaines d'intérêt des amidons de sorgho et de le mil perlé.....	31
CHAPITRE 3: RÉACTIVITÉ DES AMIDONS ET MODE D'ACTION DES AMYLASES.....	35
3.1 Amylases.....	35
3.2 Activité des amylases.....	37
3.3 Procédés d'hydrolyse enzymatique des amidons	37
3.4 Cinétique enzymatique.....	38
3.5 Mode d'action des amylases	41
DEUXIÈME PARTIE: METHODOLOGIE EXPERIMENTALE.....	46
CHAPITRE 4: MATÉRIEL ET MÉTHODES	49
4.1 Echantillonnage et préparation des échantillons	49
4.2 Détermination de la masse de 1000 grains.....	50
4.3 Détermination de la masse volumique	50
4.4 Détermination de la taille des grains.....	50
4.5 Détermination de la texture de l'endosperme des grains	50
4.6 Dosage de l'humidité.....	51
4.7 Dosage des cendres.....	51
4.8 Dosage de l'amidon	51
4.9 Dosage des sucres solubles	52
4.10 Dosage des protéines	52
4.11 Dosage des lipides totaux.....	53
4.12 Dosage des fibres insolubles	53
4.13 Dosage des tanins.....	53
4.14 Isolement de l'amidon à partir des grains de sorgho et de mil perlé.....	53
4.15 Dosage de l'amylose.....	54
4.16 Détermination de l'amidon endommagé.....	55

4.17 Détermination de la cristallinité.....	55
4.18 Observations aux microscopes des granules d'amidon.....	55
4.19 Détermination de la distribution de la taille des granules d'amidon.....	56
4.20 Détermination de la couleur de l'amidon.....	56
4.21 Mesure de la viscosité (RVA)	56
4.22 Détermination du pouvoir de gonflement et de l'indice de solubilité	57
4.23 Analyse calorimétrique différentielle à balayage DSC	57
4.24 Détermination des réactivités des amidons de sorgho et de mil.....	58
4.25 Analyse qualitative et quantitative des maltooligosaccharides dans les hydrolysats d'amidons de sorgho.....	63
TROISIÈME PARTIE: RESULTATS ET DISCUSSION	65
CHAPITRE 5: CARACTÉRISATION AGROMORPHOLOGIQUE DES PLANTES ET PHYSICOCHIMIQUE DES GRAINS	68
5.1 Prospection et échantillonnage.....	68
5.2Caractérisation agromorphologique de quelques cultivars de sorgho et de mil	70
5.3 Propriétés structurelles des grains de sorgho et de mil perlé	72
5.4 Texture de l'endosperme des grains	78
5.5 Composition chimique des grains de sorgho et de mil perlé.....	80
CHAPITRE 6: ISOLEMENT ET PROPRIÉTÉS PHYSICOCHIMIQUES ET FONCTIONNELLES DES AMIDONS DE SORGHO ET DE MIL PERLÉ	88
6.1 Isolement des amidons	88
6.2 Composition chimique des amidons isolés	91
6.3 Structure cristalline des amidons isolés	95
6.4 Structure et propriétés morphologiques des granules d'amidon	98
6.5 Couleur des granules d'amidons.....	108
6.6 Propriétés fonctionnelles des amidons isolés.....	109
6.7 Propriétés thermiques des amidons isolés.....	122

6.8 Recherche de l'activité de l' α -amylase endogène.....	124
CHAPITRE 7: ETUDE CINÉTIQUE DE L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE DES AMIDONS DE SORGHO, DE MIL PERLÉ ET D'AUTRES SOURCES BOTANIQUES.....	128
7.1 Hydrolyse d'amidons purs commerciaux et d'autres sources botaniques	129
7.2 Etude de l'influence des constituants du grain sur la cinétique de l'hydrolyse enzymatique des amidons de sorgho et de mil perlé	132
7.3 Détermination des paramètres cinétiques d'hydrolyse enzymatique des amidons de sorgho, de mil perlé et d'autres sources botaniques.....	135
7.4 Analyse des profils d'oligosaccharides produits au cours de l'hydrolyse des amidons de sorgho	153
DISCUSSION GENERALE.....	160
PROJET DE PRODUCTION DE SIROP DE GLUCOSE	166
ANALYSE DES COUTS DE PRODUCTION	171
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	174
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	179
VALORISATION SCIENTIFIQUE DES TRAVAUX RÉALISÉS	190
ANNEXE I : PHOTOGRAPHIES DES CULTIVARS SELECTIONNES.....	194
ANNEXE II : REPRESENTATIONS GRAPHIQUES	198

LISTE DES ABREVIATIONS

BU	Brabender Unit, unité de mesure de la viscosité, (1BU= 2,1 cP), pour les liquides Newtonien
Conc.	concentration
cP	centipoise, unité de mesure de viscosité correspondant au Pascal.sec
DP	degré de polymérisation
E-H	Eadie-Hofstee
IC	indice de cristallinité
L-B	Lineweaver et Burk
MS	matière sèche
RVU	Rapid viscoanalyser unit, unité de mesure de viscosité, avec 1RVU = 12 cP, pour les liquides Newtonien
RH	rendement d'hydrolyse
TEA	taux d'endommagement de l'amidon

Désignation des substrats et enzymes

AMI04	amidon de mil d'In Salah récolté en 2004
AMN04	amidon de mil d'Agadez, Niger commercialisé à In Salah en 2004
AMGI06	amidon de mil de la région d'Ouini d'In Salah récolté en 2006
AMJI06	amidon de mil de la nouvelle région agricole Jafo d'In Salah récolté en 2006
AMT06	amidon de mil de Tamanrasset récolté en 2006
ASBI04	amidon de sorgho blanc d'In Salah récolté en 2004
ASBI06	amidon de sorgho blanc d'In Salah récolté en 2006
ASPG06	amidon de sorgho pigmenté Américain commercialisé à Ghardaïa en 2006
ASPI04	amidon de sorgho pigmenté d'In Salah récolté en 2003
ASPI04-A	amidon de sorgho pigmenté extrait selon le procédé A (sans blanchiment)
ASPI04-B	amidon de sorgho blanc extrait selon le procédé B (blanchiment par NaOCl)
ASPI06	amidon de sorgho pigmenté d'In Salah récolté en 2006
E₁	α -amylase fongique d' <i>Aspergillus oryzae</i>
E₂	α -amylase bactérienne de <i>Bacillus subtilis</i>
E₃	α -amylase fongique d' <i>Aspergillus oryzae</i>
E₄	α -amylase salivaire humaine
E₅	amyloglucosidase fongique de <i>Rhizopus mold</i>
E₆	α -amylase thermostable
E₇	α -amylase Termamyl®300L Type DX de <i>Bacillus licheniformis</i>

MI02	cultivar de mil perlé d’In Salah récolté en 2002
MI04	cultivar de mil perlé d’In Salah récolté en 2004
MI05	cultivar de mil perlé d’In Salah récolté en 2005
MGI06	cultivar de mil Ouini d’In Salah récolté en 2006
MJI06	cultivar de mil perlé Jafo d’In Salah récolté en 2006
MN04	cultivar de mil d’Agadez, Niger commercialisé à In Salah en 2004
MMI04	mouture de grains de mil perlé d’In Salah récolté en 2004
MMN04	mouture de grains de mil perlé du Niger récolté en 2004
MSBI04	mouture de grains de sorgho blanc d’In Salah récolté en 2004
MSPI04	mouture de grains de sorgho pigmenté d’In Salah récolté en 2004
MT06	cultivar de mil de Tamanrasset récolté en 2002
SBI03	cultivar de sorgho blanc d’In Salah récolté en 2003
SBI04	cultivar de sorgho blanc d’In Salah récolté en 2004
SBI06	cultivar de sorgho blanc d’In Salah récolté en 2006
SPG06	cultivar de sorgho pigmenté Américain commercialisé à Ghardaïa en 2006
SPI04	cultivar de sorgho pigmenté d’In Salah récolté en 2003
SPI06	cultivar de sorgho pigmenté d’In Salah récolté en 2006
ST₁	amidon pur soluble de pomme de terre
ST₂	amidon pur soluble de pomme de terre Merck (A1252)
ST₃	amidon pur soluble Labosi (A4725301)
ST₄	amylomaïs peu soluble
ST₅	amylopectine soluble de maïs
ST₆	amidon pur peu soluble de maïs
ST₇	amidon pur peu soluble de pomme de terre
ST₈	amidon pur soluble de blé
ST₉	amidon pur de pomme de terre très soluble

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 1.1: Composition chimique de génotypes de sorgho et de mil perlé	13
Tableau 1.2: Distribution des fractions protéiques dans les grains de sorgho et de mil perlé (en % des protéines totales)	14
Tableau 2.1: Conditions opératoires de trempage des quelques cultivars	25
Tableau 4.1: Classes des cultivars selon la texture de l'endosperme	51
Tableau 4.2: Prétraitements des moutures intégrales de sorgho et de mil perlé	58
Tableau 4.3: Source, fournisseur et solubilité des amidons purs testés	59
Tableau 4.4 : Source, fournisseur et activité des enzymes étudiées	59
Tableau 4.5 : références des oligosaccharides utilisés comme standards	64
Tableau 5.1 : Nom scientifique et commun des groupes inventoriés de sorgho et mil	70
Tableau 5.2 : Caractéristiques structurelles des grains de sorgho et de mil analysés	75
Tableau 5.3 : Composition chimique des grains de sorgho (en % de matière sèche)	81
Tableau 5.4 : Composition chimique des grains de mil perlé (en % de matière sèche)	82
Tableau 6.1 : Taux de matière sèche (%) et d'amidon dans les différentes fractions résiduelles obtenues lors des étapes d'isolement d'amidon	90
Tableau 6.2 : Teneurs en amidon et composés résiduels des extraits	91
Tableau 6.3 : Teneur en amylose et amylopectine des amidons de différentes sources botaniques (Wetz, 2011)	93
Tableau 6.4 : Degré d'endommagement des amidons	94
Tableau 6.5: Taux d'endommagement des amidons, TEA dans les moutures de sorgho et de mil perlé en Unité Chopin Dubois (UCD)	94
Tableau 6.6: Taille des granules d'amidons purs de sorgho et de mil perlé	106
Tableau 6.7: Valeurs caractéristiques de la granulométrie des amidons purs de sorgho et de mil perlé	107
Tableau 6.8: Paramètres de couleur des amidons purs de sorgho et de mil perlé	108
Tableau 6.9. Caractéristiques de viscosités des moutures intégrales de sorgho dans l'eau	112
Tableau 6.10. Caractéristiques de viscosités des moutures intégrales de mil dans l'eau	113
Tableau 6.11 Caractéristiques de viscosité des amidons purs de sorgho dans l'eau	115
Tableau 6.12 Caractéristiques de viscosité des amidons purs de mil perlé dans l'eau	116
Tableau 6.13 : Valeurs de caractéristiques de viscosité des amidons déjà publiés pour l'amidon de sorgho et d'autres origines botaniques	118
Tableau 6.14 : Caractéristiques thermiques des amidons de sorgho et de mil perlé	123
Tableau 6.15. Caractéristiques de viscosité des moutures intégrales de sorgho et de mil perlé dans la solution de nitrate d'argent (2 mM)	126
Tableau 7.1 : Concentrations de l'enzyme E ₁ (α -amylase fongique), des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V ₀ des amidons purs commerciaux	129
Tableau 7.2 : Concentrations de l'enzyme E ₂ (α -amylase bactérienne), des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V ₀ des amidons purs commerciaux	130
Tableau 7.3 : Concentrations de l'enzyme E ₃ (Takadiastase), des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V ₀ des amidons purs commerciaux	130
Tableau 7.4 : Concentrations de l'enzyme E ₄ (α -amylase salivaire), des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V ₀ des amidons purs commerciaux	130
Tableau 7.5 : Concentrations de l'enzyme E ₅ (amyloglucosidase), des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V ₀ des amidons purs commerciaux	130
Tableau 7.6 : Concentrations de l'enzyme E ₆ (α -amylase thermostable), des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V ₀ des amidons purs commerciaux	130

Tableau 7.7 : Concentrations de l'enzyme E ₇ (α-amylase Termamyl L300), des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V ₀ des amidons purs commerciaux	131
Tableau 7.8 : Domaines de concentration des enzymes, en mgml ⁻¹ mettant en évidence l'exoaction des différentes α-amylases sur les amidons purs commerciaux	131
Tableau 7.9 : Concentration des amylases de différentes sources utilisées dans la liquéfaction des amidons de sorgho et de mil perlé	132
Tableau 7.10 : Rendements de liquéfaction enzymatique des substrats de sorgho et mil perlé par les différentes amylases	134
Tableau 7.11 : Vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des substrats de sorgho et de mil perlé par les différentes amylases	134
Tableau 7.12 : Concentration des amylases de différentes sources utilisées dans la saccharification des amidons de sorgho et de mil perlé	135
Tableau 7.13 : Vitesses initiales de saccharification enzymatique des substrats de sorgho et de mil perlé par les amylases de différentes sources	135
Tableau 7.14 : Constantes de vitesse K _M et vitesses maximales V _{max} de l'exoaction des différentes α-amylases sur les amidons purs commerciaux	139
Tableau 7.15 : Constantes catalytiques K _{cat} , et constantes de spécificité K _{cat} /K _M de l'exoaction des différentes amylases sur les amidons purs commerciaux	140
Tableau 7.16 : Constantes de vitesse K _M et vitesses maximales V _{max} de l'exoaction des différentes amylases sur les amidons purs de sorgho	142
Tableau 7.17 : Constantes catalytiques K _{cat} , et constantes de spécificité K _{cat} /K _M de l'exoaction des différentes amylases sur les amidons purs de sorgho	143
Tableau 7.18 : Constantes de vitesse K _M et vitesses maximales V _{max} de l'exoaction des différentes amylases sur les amidons purs de mil perlé	146
Tableau 7.19 : Constantes catalytiques K _{cat} , et constantes de spécificité K _{cat} /K _M de l'exoaction des différentes amylases sur les amidons purs de mil perlé	147
Tableau 7.20 : Classification des réactions de l'exoaction des amylases sur les amidons de différentes origines botaniques selon le modèle de leur cinétique	148
Tableau 7.21 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l'α-amylase fongique (E ₁) sur les amidons de différentes origines botaniques	149
Tableau 7.22 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l'α-amylase bactérienne (E ₂) sur les amidons de différentes origines botaniques	150
Tableau 7.23 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l'amyloglucosidase (E ₅) sur les amidons de différentes origines botaniques	151
Tableau 7.24 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l'α-amylase Termamyl L300 (E ₇) sur les amidons de différentes origines botaniques	151
Tableau 7.25 : Evaluation du coût de production du sirop de glucose	171

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1.1: Panicules et grains des 5 races de base de sorgho, (1, <i>bicolor</i> ; 2, <i>caudatum</i> ; 3, <i>durra</i> ; 4, <i>guinea</i> ; 5, <i>kafir</i>) Source: PROSEA	9
Figure 1.2: Schéma d'une section longitudinale d'un grain de sorgho. Source : (www.fao.org)	11
Figure 3.1: Schéma de dégradation de l'amidon par les différentes enzymes	42
Figure 3.2: Structure (β/α) ₈ (A) ou TIM barrel (B) contenant le site catalytique (Kuriki et Imanaka, 1999)	43
Figure 3.3: Représentation des sites actifs et des sous-sites de l' α -amylase	43
Figure 3.4: Mécanismes catalytiques possibles de l' α -amylase	44
Figure 5.1: Photographies de grains entiers et des coupes longitudinale et transversale de sorgho blanc, SBI06 ; sorgho pigmenté, SPI06 d'In Salah et de sorgho hautement pigmenté, SPG06 des USA	73
Figure 5.2 : Photographies de grains entiers et des coupes longitudinale et transversale des mils perlés des régions de Jafo, MJI06 ; Ouini, MGI06 et de la région d'Agadez, MNO4	74
Figure 5.3 : Dimensions des grains de sorgho	77
Figure 5.4 : Dimensions des grains de mil perlé	77
Figure 5.5 : Valeurs moyennes du diamètre géométrique G_{md} , de la sphéricité \emptyset , de la surface S et du volume V des grains de sorgho	78
Figure 5.6 : Valeurs moyennes du diamètre géométrique G_{md} , de la sphéricité \emptyset , de la surface S et du volume V des grains de mil perlé	78
Figure 5.7: pourcentage de grains de sorgho farineux, intermédiaires et cornés	79
Figure 5.8 : pourcentage de grains de mil perlé farineux, intermédiaires et cornés	79
Figure 6.1 : Rendement d'extraction des amidons de sorgho et mil et pureté des extraits	88
Figure 6.2 : Pureté et rendement d'isolement des amidons de sorgho après amélioration du procédé	91
Figure 6.3 : Pureté et rendement d'isolement des amidons de mil perlé après amélioration du procédé	91
Figure 6.4 : Teneurs en amylose et amylopectine dans les amidons de sorgho	92
Figure 6.5 : Teneurs en amylose et amylopectine dans les amidons de mil perlé	92
Figure 6.6 : Diffractogrammes aux rayons X des amidons de sorgho	96
Figure 6.7 : Diffractogrammes aux rayons X des amidons de mil perlé	96
Figure 6.8 : Indice de cristallinité (IC) des différents amidons de sorgho	97
Figure 6.9 : Indice de cristallinité (IC) des différents amidons de mil perlé	97
Figure 6.10 : Image des granules d'amidon observés au microscope optique (G 40x) a : sorgho blanc, ASBI04 ; b : sorgho pigmenté, ASPI04, c : mil perlé, AMI04 ; d : mil perlé du Niger, AMN04	99
Figure 6.11 : Images des granules d'amidon colorés à l'iode observés au microscope optique (G 40x). a : sorgho blanc, ASBI04 ; b : sorgho pigmenté, ASPI04 ; c : mil perlé local, AMI04 ; d : mil perlé du Niger, AMN04	100
Figure 6.12 : Images des granules d'amidon colorés à l'iode observés au microscope optique sous lumière polarisée (G 40x). a : sorgho blanc, ASBI04 ; b : sorgho pigmenté, ASPI04 ; c : mil perlé local, AMI04 ; d : mil perlé du Niger, AMN04	101
Figure 6.13 : Micrographies de granule d'amidon (G 300x), a : sorgho blanc, ASBI04 ; b : sorgho pigmenté, ASPI04 ; c : mil perlé local, AMI04 ; d : mil perlé du Niger, AMN04	102

Figure 6.14: Micrographies de granule d'amidon. a : sorgho blanc, ASBI04 (G 4800 x) ; b : sorgho pigmenté, ASPI04 (G 2400 x) ; c : mil perlé local, AMI04 (G 4800 x) ; d : mil perlé du Niger, AMN04 (G 4800 x)	103
Figure 6.15 : Distribution de la taille des granules d'amidon pur de sorgho blanc, ASBI04	105
Figure 6.16 : Distribution de la taille des granules d'amidon de sorgho pigmenté, ASPI04, isolés selon la méthode A (—) et la méthode B (—)	105
Figure 6.17: Distribution de la taille des granules d'amidon de mil perlé, AMI04	105
Figure 6.18: Distribution de la taille des granules d'amidon de mil importé d'Agadez, AMN04	106
Figure 6.19: Distribution granulométrique des différents amidons de sorgho et de mil perlé	106
Figure 6.20 : Viscosité des moutures intégrales de sorgho, SBI04, SPI04 et de mil perlé MI04 dans l'eau	110
Figure 6.21 : Viscosités des amidons purs de sorgho et de mil perlé dans l'eau	114
Figure 6.22 : Pouvoir de gonflement, SP, des amidons purs de sorgho	119
Figure 6.23 : Pouvoir de gonflement, SP, des amidons purs de mil perlé	120
Figure 6.24 : Indice de solubilité, des amidons purs de sorgho	121
Figure 6.25 : Indice de solubilité des amidons purs de mil perlé	121
Figure 6.26 : Thermogrammes des amidons purs de sorgho blanc et pigmenté	122
Figure 6.27 : Thermogrammes des amidons purs de mil perlé local et importé d'Agadez	122
Figure 6.28 : Viscosité de l'amidon pur de mil local en présence d'eau et d'AgNO ₃	125
Figure 7.1: Courbe cinétique de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase fongique (E ₁)	137
Figure 7.2: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase fongique (E ₁)	137
Figure 7.3: Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase fongique (E ₁)	138
Figure 7.4: Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase fongique (E ₁)	141
Figure 7.5: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase fongique (E ₁)	142
Figure 7.6: Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase fongique (E ₁)	142
Figure 7.7: Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase fongique (E ₁)	144
Figure 7.8: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase fongique (E ₁)	145
Figure 7.9: Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase fongique (E ₁)	145
Figure 7.10 : Représentation graphique des constantes K _M en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons de sorgho	152
Figure 7.11 : Représentation graphique des constantes de K _{cat} /K _M en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons de sorgho	152

Figure 7.12 : Représentation graphique des constantes K_M en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons de mil perlé	152
Figure 7.13: Représentation graphique des constantes de K_{cat}/K_M en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons de mil perlé	152
Figure 7.14: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de pomme de terre, ST2, en présence de α -amylase fongique E1, et bactérienne E2	155
Figure 7.15: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amylose ST4, en présence de α -amylase fongique E1 et bactérienne E2	155
Figure 7.16: Profile d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amylopectine ST5, en présence de α -amylase fongique E1, et bactérienne E2	155
Figure 7.17: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de sorgho blanc, ASBI06, en présence de α -amylase fongique E1, et bactérienne E2	156
Figure 7.18: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de sorgho pigmenté, ASPI06 en présence de α -amylase fongique E1, et bactérienne E2	156
Figure 7.19: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de sorgho pigmenté américain, ASPG06 en présence de α -amylase fongique, E1, et bactérienne, E2	156
Figure 7.20: profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de pomme de terre, ST2, d'amylose, ST4, et d'amylopectine, ST5 en présence de l' α -amylase fongique E1	158
Figure 7.21: profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de pomme de terre, ST2, d'amylose, ST4, et d'amylopectine, ST5 en présence de l' α -amylase bactérienne E2	158
Figure 7.22: profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de sorgho blanc, ASBI06 et de sorghos pigmentés, ASPI06, ASPG06 en présence de l' α -amylase fongique E1	159
Figure 7.23: profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de sorgho blanc, ASBI06 et de sorghos pigmentés, ASPI06, ASPG06 en présence de l' α -amylase bactérienne E2	159
Figure 7.24 : Schéma de production de sirop de glucose par conversion enzymatique de l'amidon de sorgho	170

Figure I.1 : Cartographie d'Algérie, In Salah, Ahaggar, Agadez	194
Figure I.2: Photographie de cultivar de Sorgho blanc	195
Figure I.3 : Photographie de cultivar de Sorgho pigmenté	195
Figure I.4: Photographie du cultivar du mil perlé	195
Figure I.5: Photographies des grains de sorgho des différents cultivars sélectionnés	196
Figure I.6: Photographies des grains de mil perlé des différents cultivars sélectionnés	197
Figure II.1: Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l' α -amylase fongique (E1)	198
Figure II.2: Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l' α -amylase bactérienne (E2)	198
Figure II.3 : Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de la Takadiastase (E3)	198
Figure II.4: Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l' α -amylase salivaire (E4)	199
Figure II.5: Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l'amyloglucosidase (E5)	199
Figure II.6 : Courbe cinétique de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase bactérienne (E2)	200

Figure II.7: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)	200
Figure II.8: Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase bactérienne(E_2)	200
Figure II.9: Courbe cinétique de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'amyloglucosidase (E_5)	201
Figure II.10: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'amyloglucosidase (E_5)	201
Figure II.11: Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'amyloglucosidase (E_5)	201
Figure II.12: Courbe cinétique de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E_7)	202
Figure II.13: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E_7)	202
Figure II.14: Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E_7)	202
Figure II.15: Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)	201
Figure II.16: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)	201
Figure II.17: Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)	201
Figure II.18: Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'amyloglucosidase (E_5)	202
Figure II.19: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'amyloglucosidase (E_5)	202
Figure II.20: Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les amidons de sorgho en présence de l'amyloglucosidase (E_5)	202
Figure II.21: Courbes cinétiques de saccharification des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E_7)	205
Figure II.22 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E_7)	205
Figure II.23: Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E_7)	205
Figure II.24: Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)	206
Figure II.25: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)	206

Figure II.26: Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)	206
Figure II.27 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l'amyloglucosidase (E_5)	207
Figure II.28 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l'amyloglucosidase (E_5)	207
Figure II.29: Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l'amyloglucosidase (E_5)	207
Figure II.30: Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E_7)	208
Figure II.31: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase Termamyl (E_7)	208
Figure II.32: Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase Termamyl (E_7)	208

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Le sorgho et les mils sont des céréales importantes utilisées dans l'alimentation humaine et animale. Elles sont consommées dans les régions tropicales, semi-arides et arides d'Asie et d'Afrique et constituent la principale source de matières amylacées, de matières protéiques, de vitamines et de sels minéraux (FAO, 1995). Ces cultures sont généralement pratiquées dans des écosystèmes où la pluviométrie est faible vu leur tolérance à la sécheresse et leur faible exigence en intrants.

De son nom scientifique *Sorghum bicolor* (L.) Moench, le sorgho se classe mondialement en cinquième rang des céréales après le blé, le riz, le maïs et l'orge avec une production variant entre 58 millions de tonnes et 64 millions de tonnes (FAOSAT, 2015; Mwithiga et al., 2006). En Afrique, il se positionne en deuxième rang, après le maïs, avec une production avoisinant les 16 millions de tonnes (Taylor, 2003).

Le mil perlé ou mil à chandelle, *Pennisetum glaucum*, est la céréale la plus tolérante à la sécheresse. Il se classe au septième rang des céréales avec une production de 28 millions à 32 millions de tonnes par an (Taylor, 2016 ; FAOSTAT, 2015). Le grain de mil se compose généralement de plus de matières grasses et de protéines que la plupart des autres céréales (Taylor, 2016).

En Afrique, la commercialisation de ces deux céréales reste faible et moins de 5 % de la production est destiné à l'industrie. Ce constat est dû essentiellement aux rendements faibles et variables ainsi qu'aux prix élevés de leurs grains, ce qui ne les rend pas compétitifs devant le maïs et le blé (Rohrbach, 2003). Néanmoins, ces céréales secondaires sont classées par la FAO comme aliment favorisant la sécurité alimentaire et ont suscité un regain d'intérêt dans certaines zones comme l'Afrique du nord et l'Europe.

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

Ces céréales, de par leur valeur nutritionnelle, l'absence de gluten, et les teneurs élevées en amidon, trouvent de nombreux débouchés. Elles sont utilisées dans l'alimentation humaine, notamment pour contrecarrer la malnutrition chez les enfants, dans la formulation d'aliments « sans gluten » et dans la production de bière. Elles servent aussi en tant que fourrage et comme source d'énergie renouvelable (Dahberg et al., 2011).

L'amidon est le principal biopolymère dans les grains de ces céréales. De nombreux travaux ont montré l'influence des conditions agropédoclimatiques, du génotype et des méthodes d'isolement sur les propriétés physicochimiques et fonctionnelles des amidons ainsi que sur leur digestibilité (Beta et Corke, 2001 ; Matsuki et al., 2003 ; Moorthy, 2002 ; Rhymer, 2005). Ces propriétés, moins étudiées chez le sorgho et le mil en comparaison des propriétés agronomiques et phénotypiques, influencent la qualité des produits à base d'amidon et orientent leurs applications.

En conséquence, un intérêt grandissant est porté actuellement à la caractérisation des divers amidons en vue de rechercher des propriétés particulières (sous leur forme native ou modifiée) qui pourront concurrencer les amidons disponibles sur les marchés (Robyt, 1998).

Cette étude s'inscrit dans une période où l'Algérie comme d'autres pays d'Afrique a pris conscience de l'importance de la connaissance et la protection de la biodiversité ainsi que de la nécessité d'assurer la sécurité alimentaire en céréales, menacée notamment par les changements climatiques. Elle contribue à un projet élaboré par le laboratoire de recherche sur les produits bioactifs et valorisation de la biomasse, PBVB, à l'Ecole Normale Supérieure de Kouba, dans le cadre des projets nationaux de recherche, PNR.

La finalité visée par ce travail est de contribuer à la valorisation de ces céréalicultures par leur caractérisation. Ces céréales sont cultivées dans des conditions agroclimatiques particulières pouvant influencer leur qualité. Nous nous sommes, donc, fixés comme objectifs de déterminer les principales propriétés physicochimiques et fonctionnelles de leurs amidons ainsi que leur susceptibilité à l'hydrolyse enzymatique.

L'approche adoptée a consisté, tout d'abord, à prospecter les régions de Tidikelt (In Salah) et d'Ahaggar (Tamanrasset) afin d'inventorier les phénotypes de sorgho et de mil perlé cultivés et effectuer un échantillonnage. Les cultivars importés et commercialisés dans ces régions ont, de même, retenu notre attention.

Au laboratoire, un travail d'isolement des amidons et de caractérisation a été effectué visant la détermination de la composition chimique des grains et des propriétés physicochimiques et fonctionnelles des amidons isolés. De même, la réactivité et la susceptibilité de ces amidons à l'hydrolyse en présence de différentes amylases ont été étudiées.

Le manuscrit s'articule autour de quatre grandes parties : une synthèse bibliographique où sont reprises les informations générales sur le sorgho et les mils (origine et taxonomie, structure des grains, composition chimique, valeur nutritive, production et importance économique, utilisation et transformation), sur les amidons (biosynthèse et structure, méthodes d'isolement, caractérisation physicochimique et fonctionnelle, hydrolyse, valorisation) ainsi que sur le mode d'action des amylases et la réactivité des amidons (activité des amylases, hydrolyse enzymatique des amidons et mode d'action des amylases).

Dans la deuxième partie, un inventaire détaillé du matériel et des protocoles des méthodes utilisées dans les différentes analyses est donné.

La troisième partie comprend les principaux résultats obtenus ainsi qu'une discussion approfondie, répartis en trois chapitres:

- Caractérisation agromorphologique des plantes et physicochimique des grains,
- Isolement et propriétés physicochimiques et fonctionnelles des amidons,
- Etude cinétique de l'hydrolyse enzymatique de sorgho et mil et d'autres sources botaniques.

Une discussion générale et une conclusion reprenant les résultats les plus pertinents ainsi que les perspectives à envisager pour poursuivre et valoriser ces recherches complètent ce document.

Un schéma reprenant la structure du projet est donné ci-après.

STRUCTURE DU PROJET

Finalité

Valorisation de cultivars de sorgho et de mil



Objectifs

Caractérisation des amidons de sorgho et de mil



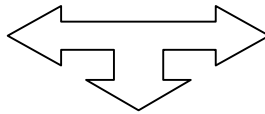
Hypothèses

Les cultivars de sorgho et de mil cultivés dans des régions sahariennes (Algérie) pourraient, de par les conditions agropédoclimatiques, présenter des propriétés d'amidons particulières.



Approche

Prospection et échantillonnage des cultivars de sorgho et de mil



✓ Analyse chimique
✓ Cinétique enzymatique

Isolement des amidons



Résultats expérimentaux

Caractérisation structurelle des grains,
Isolement des amidons,
Propriétés physicochimiques et fonctionnelles des amidons,
Digestibilité des amidons.

Perspectives

Optimisation de la méthode d'isolement d'amidons,
Mise au point de procédés d'hydrolyse enzymatique des amidons,
Détermination de la structure fine des amidons et mode d'action des amylases,
Recherche d'applications spécifiques.

PREMIERE PARTIE: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1:
SORGHO ET MIL PERLÉ

CHAPITRE 1: SORGHO ET MIL PERLÉ

1.1 Introduction

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

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

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

Ces céréales sont généralement cultivées pour les grains, utilisés en alimentation humaine et animale, et également pour la paille utilisée comme fourrage et ensilage (Dahlberg et al., 2011).

1.2 Origine et taxonomie du sorgho et des mils

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

1.2.1 Le sorgho

Le sorgho, *Sorghum bicolor (L.) Moench*, est connu sous divers noms: grand mil et herbe de Guinée en Afrique de l'Ouest, Kafir en Afrique du Sud, Durra au Soudan, Mtama en Afrique orientale, Jowar en Inde et Kaoliang en Chine. Aux Etats Unis, il est généralement appelé Milo (FAO¹, 1995). En Algérie, le nom de Tafsout est utilisé à Tidikelt, abora (sorgho blanc) et talak (sorgho pigmenté) dans la région d'Ahaggar. Le sorgho cultivé aujourd'hui provient de son ancêtre sauvage appartenant à la sous-espèce *verticilliflorum*.

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

De Wet a montré que le *Sorghum verticilliflorum* est la première céréale à être domestiquée il y a 3000 à 5000 ans (House, 1995).

La plus grande diversité dans le genre *Sorghum* est observée dans la région comprenant l'Ethiopie, le Soudan et l'Afrique orientale du quart nord-est de l'Afrique (Doggett, 1988). La couleur du grain de sorgho varie du blanc ou jaune pâle à brun-rouge profond, en passant par différentes tonalités de rouge et de brun. La forme du caryopse varie selon la variété, elle est arrondie et présente une pointe; il a de 4 à 8 mm de diamètre et varie en dimension et en forme. Le grain de sorgho qui possède un testa contient du tannin en proportions diverses selon la variété (Taylor, 2016).

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

Plusieurs cultivars non comestibles de sorgho sont cultivés exclusivement pour le colorant rouge présent dans la gaine foliaire et parfois dans les parties adjacentes de la tige. La plupart des cultivars de sorgho pigmenté sont regroupés dans la race *Caudatum* qui est la plus importante de toutes, en termes de diversité (Balole et Legwaila, 2006)

❖ **Classification des espèces cultivées de sorgho**

Le genre *Sorghum* comprend 20 à 30 espèces (Balole et Legwaila, 2006) et les variétés cultivées de *Sorghum bicolor* présentent une grande diversité morphologique, c'est pourquoi, une classification simplifiée en a été établie par Harlan et de Wet (1972). Elle définit, sur la base de la morphologie du grain, de la forme des glumes et du type de panicule, cinq races principales, (House, 1995 ; IBPGR² et ICRISAT³, 1993 ; www. Brg⁴.prd.fr, PROTA, 2005).

- Les *Bicolor* sont les sorghos aux caractères les plus primitifs. On les trouve en Asie, mais aussi dans toute l'Afrique. Leur panicule est lâche et leur grain, petit, est enveloppé par des glumes adhérentes.
- Les *Guinea* sont les sorghos typiques de l'Afrique de l'Ouest, mais ils se trouvent aussi en Afrique australe. Ils sont généralement grands et photosensibles avec une panicule lâche. Leur grain est elliptique, bien exposé par le bâillement des glumes.

² IBPGR : International Board for Plant Genetic Resources

³ ICRISAT : International Crop Research Institute for Semi-Arid Tropics

⁴ Brg : Bureau des ressources génétiques

- Les *Durra* se rencontrent essentiellement en Afrique de l'Est, au Moyen-Orient et en Inde. Ils ont une panicule compacte et des grains globuleux souvent portés par un pédoncule crossé.
- Les *Kafir* sont répandus en Afrique australe. Ce sont des sorghos de petite taille et leur panicule est compacte et cylindrique.
- Les *Caudatum* sont surtout cultivés en Afrique du Centre et de l'Est. Leur panicule a une forme variable. Leur grain est dissymétrique, aplati sur la face ventrale et bombé sur la face dorsale. Ils sont, avec les *Kafir*, à l'origine des sorghos-grain cultivés en région tempérée.

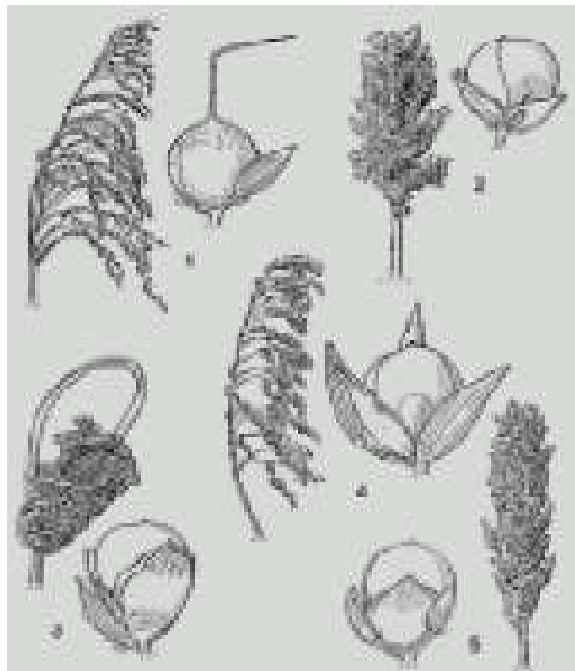


Figure 1.1: Panicules et grains des 5 races de base du sorgho, (1, *bicolor*; 2, *caudatum*; 3, *durra*; 4, *guinea*; 5, *kafir*). Source: PROSEA⁵

Il existe aussi 15 autres races hybrides ou intermédiaires issues des croisements de ces races citées précédemment.

1.2.2 Le mil perlé

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

⁵ PROSEA: Plant Resources Of South-East Asia

Mil à chandelle, mil perlé, mil pénicillaire, *Pennisetum glaucum*, *Pennisetum americanum*, ou encore *Pennisetum typhoides* sont les noms de cette céréale. D'autres noms telles que Bajra, Mil à épis, Setaire et Scirpe, sont utilisées (FAO, 1995).

L'appellation locale du mil perlé est Bachna ou Enélé chez les Touaregs. Le mil est presque certainement originaire de l'Afrique occidentale tropicale, où l'on trouve le plus grand nombre de formes aussi bien sauvages que cultivées.

Il y a environ 2000 ans, cette culture a été introduite en Afrique orientale et centrale ainsi qu'en Inde où, en raison de son excellente tolérance à la sécheresse, elle s'est établie. Le mil peut en effet, être cultivé dans des régions sèches, sur des sols sableux et pauvres, là où les autres céréales ne pourraient pas être cultivées.

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

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

❖ *Classification des espèces cultivées des mils*

La forme de base du grain a été utilisée pour une autre classification raciale. Cette classification a permis d'identifier 4 races selon Brunken et al. (1977):

- *Typhoides*

La race *Typhoides* est caractérisée par des caryopses de forme ovoïdale qui sont obtus. Les inflorescences sont généralement de forme cylindrique. Morphologiquement, elle est la plus variable et la plus largement distribuée. Elle se trouve en Afrique entière et représente la seule race de base qu'on retrouve hors Afrique. C'est la race la plus prédominante cultivée en Inde.

- *Nigritarum*

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

- *Globosum*

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

- *Leonis*

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

1.3 Structure des grains de sorgho et de mil perlé

Les grains de céréales ont généralement la même structure. Ceux de sorgho et de mil se caractérisent par une diversité considérable de couleur, de forme, de dimension et de certains éléments anatomiques. La structure de base des grains est analogue dans le sorgho et les mils. Les principaux éléments anatomiques sont le péricarpe, le germe (ou l'embryon) et l'endosperme.

Les grains de sorgho et de mil perlé sont du type caryopse, où le péricarpe est complètement fusionné avec l'endosperme. La distribution relative des trois principaux éléments varie. D'après Hubbard, Hall et Earle, la répartition, selon le poids, chez le sorgho est de 6 % pour le péricarpe, 84 % pour l'endosperme et 10 % pour le germe (FAO, 1995). Dans le mil perlé, le péricarpe représente 8,4 %, l'endosperme 75 % et le germe 16,5 % (Abdelrahman et al., 1984). Dans le grain de mil perlé, le rapport endosperme/germe est de 4,5/1 et de 8,4/1 pour le sorgho. La figure 1.2 montre un schéma des différentes parties constituant le grain de sorgho, similaire à celui du grain de mil perlé (Serna-Saldivar et Rooney, 1995).

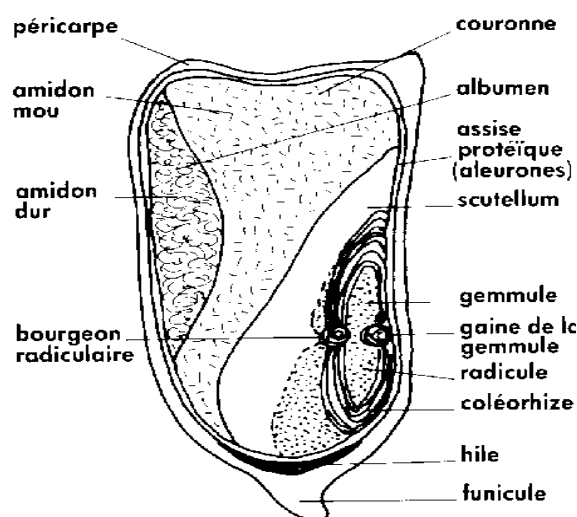


Figure 1.2: Schéma d'une section longitudinale d'un grain de sorgho. *Source : (www.fao.org).*

La structure de grain du mil est très similaire à celle du sorgho mais présente certaines différences. En effet, le grain du mil est plus petit et possède un germe plus grand et par conséquent un endosperme plus petit. La proportion d'endosperme corné et d'endosperme farineux détermine la texture du grain. Elle représente l'un des paramètres les plus importants de la qualité alimentaire et de la transformation des céréales.

1.4 Composition chimique et valeur nutritive

Le contenu en éléments nutritifs des fractions de grains de sorgho et de mil perlé est variable. Chez le sorgho, le son est faible en protéines et cendres et riche en fibres et le germe est riche en cendres, protéines et huile, mais très pauvre en amidon. Plus de 68 % de la matière minérale totale et 75 % de l'huile du grain complet se situent dans le germe, dont la contribution à la teneur en protéines du grain n'est que de 15 %. Le germe est également riche en vitamines du complexe B.

L'endosperme, partie la plus importante du grain, est relativement pauvre en matières minérales, cendres et huile. Il contient en revanche 80 % des protéines du grain entier, 94 % de l'amidon et jusqu'à 75 % des vitamines du complexe B.

Chez les mils, le son est également faible en matières minérales, comme celui du sorgho, mais remarquablement riche en protéines (17 %). La fraction du germe est relativement importante: 16 % contre 10 % dans le sorgho. Elle est également riche en huile (32 %), protéines (19 %) et cendres (10,4 %). Pratiquement toute l'huile (87 %) du grain complet se situe dans le germe, qui représente également plus de 72 % du total de la matière

minérale. La concentration de sels minéraux, plus forte dans le germe et le son que dans l'endosperme, est caractéristique des grains de céréales (FAO, 1995).

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

D'importantes variations de la composition du grain dans les génotypes de ces céréales ont été signalées. Les facteurs génétiques jouent un rôle majeur dans la détermination de cette composition. Les facteurs environnementaux sont également importants, y compris les pratiques agronomiques (enrichissement par les engrais).

Les variations de composition sont clairement montrées par le tableau 1.1 ci-après.

Tableau 1.1: Composition chimique de génotypes de sorgho et de mil perlé

Collection mondiale de plasma germinatif de l'ICRISAT^a (FAO 1995).^a protéines exprimées sur la base de la matière brute. Les valeurs entre parenthèses donnent la moyenne arithmétique

Céréale	Protéines ^a (%)	Matière grasse (%)	Cendres (%)	Fibres brutes (%)	Amidon (%)	Amylose (%)	Sucres solubles (%)	Sucres réducteurs (%)
Sorgho	4,4-21,1 (11,4)	2,1-7,6 (3,3)	1,3-3,3 (1,9)	1,0-3,4 (1,9)	55,6-75,2 (69,5)	21,2-30,2 (26,9)	0,7-4,2 (1,2)	0,05-0,53 (0,12)
Mil	5,8-20,9 (10,6)	4,1-6,4 (5,1)	1,1-2,5 (1,9)	1,1-1,8 (1,3)	62,8-70,5 (66,7)	21,9-28,8 (25,9)	1,4-2,6 (2,1)	0,10-0,26 (0,17)

1.4.1 Les glucides

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

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

Les teneurs en sucres solubles varient entre 1,3 et 5,2 %, chez le sorgho et entre 2,16 et 2,78 %, chez le mil. La composante prédominante des sucres solubles totaux est le saccharose et le raffinose (unité de galactose attachée à une unité de saccharose par son glucose). Les autres sucres détectés en quantités mesurables sont le glucose et le fructose.

La proportion relative de saccharose dans le sucre total est plus faible dans le mil relativement au sorgho (Hoseney, 1986).

1.4.2 Les protéines et la qualité nutritionnelle

Le sorgho et le mil sont une source importante de protéines pour les populations d'Afrique (Belton et Taylor, 2004). Leur variabilité est importante. Les fluctuations s'accompagnent généralement de changements de la composition en acides aminés des protéines. Comme le sorgho, le mil a une teneur en protéines qui se situe généralement entre 9 et 13 %, mais des variations importantes de cette teneur allant de 6 à 21 % ont été signalées. Les principales fractions de protéines du sorgho et mil sont les prolamines et les gluténines. Les prolamines (kafirine chez le sorgho) sont prédominantes (House et al., 1995 ; Da Silva et Taylor, 2005).

La distribution des fractions protéiques dans le sorgho et le mil perlé est donnée par le tableau 1.2. Les niveaux d'albumine et de globuline sont plus élevés dans les variétés de mil que dans le sorgho, tandis que la quantité de prolamine à structure réticulaire, bêta-prolamine, est plus grande dans le sorgho que dans les mils.

Les profils en acides aminés essentiels du sorgho et du mil sont différents. Ces derniers montrent que la lysine, la thréonine, la méthionine, la cystine et le tryptophane sont plus abondants dans les protéines de mil perlé que dans celles du sorgho et des autres mils (FAO, 1995).

Tableau 1.2: Distribution des fractions protéiques dans les grains de sorgho et de mil perlé (% des protéines totales)

Fraction	Sorgho	Mil perlé
Albumine + globuline	17,1-17,8 (17,4)	22,6-26,6 (25,0)
Prolamine	5,2-8,4 (6,4)	22,8-31,7 (28,4)
Gluténine	33,7-38,3 (35,7)	16,4-19,2 (18,4)

La fraction de prolamine est extrêmement pauvre en lysine, arginine, histidine et tryptophane et riche en proline, acide glutamique et leucine. Présente sous forme de corps protéique, la prolamine s'est révélée être une fraction protéique prédominante, directement associée à la teneur en protéines du grain.

La gluténines, deuxième fraction protéique en importance dans le grain, est un composant structurel, présent en tant que matrice protéique dans l'endosperme périphérique et intérieur du grain de sorgho.

La qualité nutritionnelle du sorgho et des mils, en particulier celle du sorgho, est médiocre. L'acide aminé limitant dans le sorgho est la lysine (Waniska et Rooney 2000). Plusieurs tentatives ont été réalisées pour enrichir ces céréales avec d'autres céréales et légumineuses de façon à accroître leur valeur nutritionnelle.

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

1.4.3 La composition lipidique

La teneur en matière grasse brute du sorgho est de 3 % plus élevée que celle du blé et du riz mais reste inférieure à celle du maïs et du mil à chandelle (Klopfenstein et al., 1995). Le germe contient environ 80 % de la quantité totale de matière grasse. Price et Parson (1975) ont signalé que la fraction lipidique neutre était de 86,2 %, les glycolipides représentant 3,1 % et les phospholipides 10,7 % dans la matière grasse du sorgho.

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

1.4.4 Les fibres alimentaires

Les teneurs en fibres alimentaires chez le sorgho sont de 6,5 à 7,9 %, dont 86,2 % sont insolubles (Waniska et Rooney, 2000). Chez le mil, elles sont plus élevées que dans le sorgho, le blé et le riz (FAO, 1995). L'enveloppe ou le péricarpe et les composants structurels de la paroi de la cellule sont les sources des fibres. Les fibres alimentaires ont certains effets négatifs sur la disponibilité de plusieurs éléments nutritifs. Le décorticage de la graine est l'une des méthodes utilisée pour les éliminer (Lestienne et al., 2006 ; Shobana et Malleshi, 2006). Les composants de fibres insolubles dans le sorgho sont riches en glucuronoarabinoxylanes.

En comparaison, l'orge est riche en bêta-glucanes solubles, tandis que le blé est riche en arabinoxylanes solubles et insolubles (Taylor et Dewar 2001). Ces différences dans la composition des fibres peuvent avoir un impact significatif lorsque le sorgho est utilisé dans les produits à forte valeur ajoutée dans l'agro-industrie.

1.4.5 Les sels minéraux

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

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

Il a été également observé que l'assimilation du fer est plus importante à partir d'un sorgho sans tanin qu'à partir de celui à forte teneur en tanins.

1.4.6 Les vitamines

Le sorgho et les mils représentent en général une source importante de vitamine du complexe B. Certaines variétés de sorgho à endosperme jaune contiennent du bêta-carotène qui pourrait être transformé en vitamine A par le corps humain. D'après Cerighelli (1955), les graines contiennent la thiamine (vitamine B1), la riboflavine (vitamine B2), l'acide pantothénique et la niacine (vitamine PP). Cette dernière se trouve en plus grande proportion (64,74 mg/kg). Dans le grain du sorgho, des quantités faibles de vitamines solubles dans la matière grasse, à savoir la vitamine D, E et K ont, également, été détectées.

Le sorgho, tel qu'il est généralement consommé, ne représente pas une source de vitamine C. Lors de la germination, une certaine quantité de cette vitamine est synthétisée dans la graine. Chez les mils, c'est la thiamine et la riboflavine qui ont été déterminées le plus. La teneur en thiamine et en riboflavine (3,75-10,06 mg/kg et 1,04 mg/kg de poids brut respectivement) du mil, de l'éleusine et d'autres mils secondaires n'est pas très différente de celle du sorgho (Cerighelli 1955). Dans certaines variétés, cependant, la teneur en niacine est plus faible (FAO, 1995).

1.5 Production et importance économique

L'augmentation lente de la productivité des sorghos et mils et les bas prix payés aux producteurs ont réduit la compétitivité de ces céréales, avec, pour conséquence, une diminution des superficies cultivées. Dans plusieurs régions, ces cultures ont été remplacées par d'autres plus rentables, ou déplacées vers des terres marginales où leur adaptation aux conditions sèches et aux sols moins fertiles leur donne un avantage comparatif.

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

de la production se traduira directement par une consommation plus grande de ces céréales et donc une meilleure nutrition ainsi que des opportunités de transformation.

1.5.1 Le sorgho

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

Dans les pays développés comme l'Australie et l'Union Européenne, le sorgho est surtout produit pour l'alimentation animale. Les pratiques agricoles sont modernes et les rendements moyens atteignent 3 à 5 tonnes/ha (FAO, 1995). La production mondiale atteint les 64 millions de tonnes (FAOSTAT, 2015; Mwithiga et al., 2006). L'Afrique y participe à raison de 34 %.

Selon les dernières statistiques données par FAOSTAT (2015) pour l'année 2014 (Données officielles), les Etats-Unis, l'Inde et le Mexique ont produit respectivement 10.987.910; 5.390.000 et 8.394.057 tonnes. En Afrique, la plus grande production a été enregistrée au Nigeria avec 6.741.100 tonnes. L'Algérie a contribué avec 46.500 tonnes seulement.

1.5.2 Le mil perlé

Dans les pays développés, la production du mil est très faible. De très petites quantités de mil sont introduites sur le marché international. Le mil représente 5 % des superficies cultivées en céréales dans le monde, mais seulement 1,5 % de la production céréalière mondiale (FAO, 2002).

En Asie, la culture du mil se limite presque exclusivement à deux pays, l'Inde et la Chine. L'Inde est le premier pays producteur du mil au monde avec 11.420.000 tonnes en 2014 (FAOSTAT, 2015). En Afrique subsaharienne, il représente la 3^{ème} culture. On en produit 56 % de la production mondiale. Le Nigeria, le Niger et le Mali produisent respectivement 1.384.900, 3.321.753, 1.715.044 tonnes (FAOSTAT, 2015). La production de mil en Algérie n'a pas été publiée par FAOSTAT ni par les organismes locaux concernés.

I.6 Utilisation et transformation

Géographiquement, la consommation du sorgho et du mil correspond assez bien à sa production. Ces céréales sont en effet consommées essentiellement dans les pays où elles sont cultivées. Les domaines d'utilisation les plus importants sont l'alimentation humaine et l'alimentation animale.

Ces céréales sont caractérisées par l'absence de gluten, (Kupper, 2005 ; Tilman et al., 2005), ce qui les rend très demandées par les personnes atteintes de maladie cœliaque. En Afrique, le sorgho est surtout valorisé dans la fabrication de bière et des produits de malt. Les farines de sorgho et de mil sont utilisées pour préparer des gruaux, cependant, leur production à l'échelle industrielle reste encore limitée.

1.6.1 Le sorgho

En Afrique et en Asie, le sorgho est utilisé en alimentation humaine. Par contre, dans les pays développés, presque la totalité de la production est destinée à l'alimentation animale. Signalons néanmoins que la proportion du sorgho destinée à l'alimentation humaine s'accroît progressivement. Cette croissance est due à une plus forte consommation en Afrique (Taylor, 2016) et aux Etats-Unis (Dahlberg et al., 2011).

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

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

Un autre aspect important du sorgho grain, surtout en Afrique, est son utilisation dans la production de boissons alcoolisées. Un intérêt particulier est porté à la production d'aliments adaptés aux enfants en améliorant leur digestibilité. Wambugu et al. (2006) déclarent que les gruaux produits à partir de farines de sorgho fermentés et maltés présentent de faibles viscosités associées à une digestibilité acceptable.

Les sorghos « broomcorn », dits sorghos papetiers et riches en fibres, sont destinés à la production de pâte à papier, de matériaux de combustible, de bois et de balais.

La cosmétique s'y intéresse également. Des pigments tirés des sorghos teinturiers sont utilisés pour les colorations de cheveux. Leurs tanins sont, quant à eux, destinés à tanner les peaux. PROTA⁶ a répertorié 659 espèces de sorgho utilisées comme colorants ou tanins, mais seulement 116 sont des espèces dont c'est l'usage primaire (www.prota.org).

L'utilisation mondiale de sorgho fourrager a augmenté de façon considérable. Cette demande a été le pivot de l'augmentation de la production mondiale et du commerce international du sorgho notamment en Algérie où on observe des cultures intensives de variétés de sorgho fourrager importées.

Enfin, le sorgho apporte déjà sa touche à la révolution énergétique. Les sorghos dits « biomasse », du fait de leur grande productivité, permettent ainsi la production de méthane, lui-même transformé en électricité (méthanisation).

Le sorgho est utilisé pour d'autres procédés énergétiques : la combustion ou la fermentation alcoolique de sorghos sucriers (70 à 80 % de saccharose) et pour la production du biocarburant comme l'éthanol.

1.6.2 Le mil perlé

Le mil représente moins de 2 % des céréales utilisées dans le monde. Néanmoins, il est très important pour de nombreux pays des zones tropicales semi-arides, où les faibles précipitations et la pauvreté des sols limitent la pratique d'autres cultures. Le mil est presque exclusivement utilisé dans les pays en développement.

Dans la majorité de ces pays, l'information sur l'utilisation du mil est incomplète mais on estime qu'environ 80 % de la production mondiale (plus de 95 % en Asie et en Afrique) sont utilisés en alimentation humaine. Le reste de la production sert à l'alimentation animale (7 %) ainsi qu'à d'autres utilisations comme les semences, la fabrication de bière, etc... (Taylor, 2016).

Le mil est un aliment très énergétique, nutritif, particulièrement recommandé pour les enfants et les personnes âgées ou en convalescence. La façon d'apprêter le mil varie d'un pays à l'autre, même à l'intérieur d'un pays. Il s'agit surtout de bouillies et de pains ressemblant à des galettes. Cependant, la farine de mil devient rapidement rance et ne peut être conservée que durant une courte période.

Traditionnellement, le grain est pilé dans un mortier. Cependant, la préparation mécanique est de plus en plus populaire. Le grain est alors passé dans une décortiqueuse et un moulin à farine. Cette opération permet généralement d'améliorer la qualité de la farine.

⁶PROTA : Plant Resources of tropical Africa, Ressources végétales de l'Afrique tropicale

Il a également été observé que la fermentation ou les procédés de maltage améliorent la digestibilité des protéines de sorgho et de mil, probablement par la modification de leur structure (Belton et Taylor., 2004).L'utilisation du grain de mil en alimentation animale est très secondaire. Dans les pays en développement, cette forme d'utilisation est pratiquée en Asie, mais elle est négligeable en Afrique.

Choi et al. (2005) ont effectué des études chez l'animal et ont démontré que la consommation des protéines de mil entraîne une augmentation du bon cholestérol (HDL). Les auteurs ont également observé une diminution de l'insuline et une augmentation de l'adiponectine dans le sang, deux éléments associés à une diminution du risque de maladie cardiovasculaire et de diabète de type 2. Ces résultats semblent très prometteurs. Une chose est certaine, les protéines de mil méritent d'être davantage étudiées.

Les grains de mil sont utilisés dans des recettes sans gluten et considérés comme acceptables du point de vue organoleptique d'après les études de Trudeau et Corneau (2015). Ils sont riches en fibre et protéines et, selon certaines études, favoriseraient la perte de poids.

Cette céréale est une bonne source de vitamine B qui aide le métabolisme énergétique, l'activité des enzymes, la régulation du système nerveux et la production des globules rouges dans le sang. Elle est également riche en minéraux tels que Mg, K, Zn, Cu, Mn et en phénols, ce qui peut aider à prévenir les maladies dégénératives (Dahleberg et al., 2011). Un intérêt grandissant est porté actuellement à la culture des variétés fortifiées en fer et cuivre afin d'améliorer son aspect nutritionnel (Taylor, 2016)

CHAPITRE 2:
GÉNÉRALITÉS SUR LES AMIDONS

CHAPITRE 2: GÉNÉRALITÉS SUR LES AMIDONS

De par ses propriétés chimiques, physiques et nutritionnelles, l'amidon est un biopolymère qui occupe une position privilégiée dans la science des polymères. Il est considéré comme matière première pour de nombreuses industries alimentaires et non alimentaires. Actuellement, on retrouve les amidonniers de blé, de pois, de maïs et les féculiers de pomme de terre avec une production mondiale de 74 millions de tonnes dont 75 % est à base de maïs (Wertz, 2011 ; USIPA, 2014).

Le sorgho et le mil peuvent constituer une source non négligeable d'amidon ayant des propriétés intéressantes et qui restent, à l'heure actuelle, inexploitées. Dans ce chapitre, les propriétés des amidons les plus importantes seront développées.

2.1 Biosynthèse et structure de l'amidon

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

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

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

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

Une grande hétérogénéité dans la taille des granules d'amidon est observée à l'intérieur d'une même population (Duprat et al, 1980). Elle varie généralement de 1 à 150 μm . L'amidon se comporte, en lumière polarisée, comme un sphérocrystal et s'illumine en étant traversé d'une croix noire correspondant au phénomène de biréfringence.

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

➤ **L'amylose :**

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

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

➤ **L'amylopectine :**

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

- Les chaînes de type A : ce sont de courtes chaînes d'amylose liées à la molécule seulement par l'extrémité réductrice.
- Les chaînes de type B : elles sont liées de façon similaire mais substituées sur un ou plusieurs groupements 6-hydroxyles par les chaînes A ou par d'autres chaînes B à l'extrémité réductrice,

- Les chaînes de type C : elles sont substituées à un ou plusieurs groupements 6-hydroxyles, mais ne sont pas substituées à l'extrémité réductrice. Elles portent le seul groupement réducteur de la molécule. Une chaîne C seulement par molécule d'amylopectine est observée.

L'organisation du granule d'amidon n'est pas encore bien connue. Elle dépend de la manière dont les molécules d'amylose et d'amylopectine sont associées par les liaisons intermoléculaires et intramoléculaires. Plusieurs types d'organisation du granule ont été proposés. Le modèle de French (1984) sert de base à la plupart des modèles actuels.

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

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

2.2 Méthodes d'isolement des amidons

L'isolement des amidons à partir de plusieurs sources botaniques (céréales, tubercules, racines) a été réalisé industriellement. Les méthodes utilisées sont différentes selon (Whistler et Paschall, 1965) :

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

Pour le sorgho, l'extraction d'amidon passe par plusieurs étapes qui sont:

- **La mouture des grains:** deux méthodes sont proposées:
- La mouture des grains secs (dry milling): elle consiste en un broyage mécanique des grains sec en vue de pulvériser l'endosperme et séparer ses constituants des granules d'amidon.

- La mouture des grains humides (wet milling): elle consiste en un broyage mécanique des grains préalablement trempés dans l'eau ou dans des solutions aqueuses diluées pendant une durée déterminée (Yang et Seib, 1995). Ce trempage a pour but d'éliminer certaines protéines par solubilisation, de rendre le grain tendre donc facile à broyer et d'éviter le développement des microorganismes (Daiely et al., 2000).

Les solutions aqueuses diluées employées peuvent être alcalines (soude NaOH, potasse KOH) ou acides (dioxyde de soufre avec ou sans ajout d'acide lactique) ou alcooliques (Whistler et Paschall, 1965 ; Perez-Siera et Amaiz, 2001 ; Yang et al., 2005). Le choix de la solution, de la température et du temps de trempage dépend de la composition du grain notamment la nature des protéines de la matière première. Le tableau 2.1 regroupe les conditions opératoires utilisées par les chercheurs dans cette étape.

Tableau 2.1: Conditions opératoires de trempage des quelques cultivars

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

➤ *Séparation des granules d'amidon*

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

Pour le sorgho, le diamètre minimum des tamis est de 44 μm selon Subrahmanyam et Hoseney (1995), 50 μm selon Wang et al. (2000), 73 μm selon Xie et Seib (2002) et 75 μm selon Yang et Seib (1996). Pour l'amarante, l'haricot, et le riz, il est respectivement de 63 μm (Uriyapongson et Rayas-Duarte, 1994), 106 μm (Shimelis et al., 2006), 38 μm (Choi et al., 2004) et 75 μm (Lumdubwong et Seib, 2000).

➤ *Purification de l'amidon*

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

Des lavages de l'extrait d'amidon avec de l'alcool sont préconisés pour une meilleure pureté.

➤ *Séchage de l'amidon*

L'amidon purifié est débarrassé de l'eau par séchage à température ambiante ou dans une étuve à 40 °C ou encore par lyophilisation. L'isolement d'amidon à partir du sorgho, bien que la première extraction à l'échelle industrielle remonte à la deuxième guerre mondiale (Wang et al., 2000), présente des difficultés et des rendements moyens faibles relativement au blé, au maïs et à la pomme de terre en raison des matrices protéiques plus compactes (Yang et Seib, 1996).

2.3 Propriétés des amidons

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

2.3.1 Le gonflement

Les granules d'amidon natifs, mis en solution, peuvent absorber jusqu'à 40 % de leurs poids sec. L'eau retenue prend place dans les régions amorphes et de nouvelles liaisons hydrogène s'établissent entre les chaînes.

Le gonflement dans ce cas est réversible et les propriétés optiques (biréfringence) sont maintenues. Cependant, les caractéristiques physiques des granules changent quand la suspension est chauffée à plus haute température (MacAllister, 1993). Tester et Morrison (1990) signalent que le gonflement est une propriété de l'amylopectine et, qu'au contraire, l'amylose et les lipides présents l'inhibent fortement.

2.3.2 La gélatinisation

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

2.3.3 La gélification

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

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

2.3.4 La rétrogradation

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

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

2.3.5 La cristallinité

Dans la nature, l'amidon se présente sous forme de granules partiellement cristallins. Il contient en effet, des régions amorphes et cristallines. Les zones amorphes sont dues à la fois à l'amylose qui est presque complètement amorphe et à l'amylopectine qui possède des zones amorphes et cristallines. C'est la conformation en double hélice des chaînes courtes (chaînes A) de l'amylopectine qui est responsable de cette cristallinité. Celle-ci est matérialisée par un diagramme caractéristique de diffraction des rayons X (BeMiller et Whistler, 1996 ; Buléon et al., 1998 ; Wertz, 2011).

Le granule d'amidon est ainsi composé alternativement de parties cristallines et amorphes. En effet, les chaînes d'amylose et d'amylopectine sont associées en couches concentriques autour du hile, formant des zones cristallines et amorphes observables au prisme de Nicol et donnant un réseau de diffraction caractéristique. Cette technique permet de différencier les amidons par leurs diffractogrammes caractéristiques (Wertz, 2011).

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

2.3.6 Les propriétés rhéologiques

Les trois principales caractéristiques rhéologiques sont l'élasticité, la viscosité et la plasticité (Roudot, 2002).

La viscosité est la mesure physique la plus utilisée pour fournir des informations sur le comportement hydrodynamique des solutions diluées de polymères.

Elle dépend du type de polysaccharide notamment du poids moléculaire des polymères, du solvant et de la température.

La meilleure méthode pour mesurer les propriétés d'écoulement des pâtes d'amidon est basée sur l'utilisation d'un viscosimètre rotationnel avec des cylindres coaxiaux. Les mesures doivent être prises à des températures élevées, de préférence au-delà de 60 °C pour éviter les interférences avec la rétrogradation.

La représentation des courbes d'écoulement à partir de l'augmentation et ensuite de la diminution des taux de cisaillement permet une évaluation des propriétés thixotropiques qui traduisent la sensibilité au cisaillement (Rousseau, 1999).

2.4 Hydrolyse des amidons

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

2.4.1 Hydrolyse acide

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

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

2.4.2 Hydrolyse enzymatique

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

2.5 Applications des amidons

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

Les produits des amidons peuvent être divisés en trois grandes classes :

Les amidons **natifs**, les amidons **modifiés** et les **édulcorants** (sirops de glucose et dérivés issus des glucoseries).

Actuellement, les amidons sont utilisés pour leurs propriétés épaississantes, texturantes, gélifiantes, anti-cristallines, lubrifiantes, adhésives, de même que pour leur pouvoir sucrant et fermentescible (Gordon, 1991). Les débouchés industriels de l'amidon sont essentiellement (Wertz, 2011) :

- l'agroalimentaire à travers l'industrie des boissons, confiseries et boulangeries;
- l'industrie chimique qui l'utilise dans les procédés de fermentation pour la production de bioéthanol, les traitements de surface, la formulation de colles, l'encapsulation de produits pharmaceutiques, les cosmétiques, la papeterie et les matières plastiques biodégradables.

L'amidon peut subir différentes modifications afin de lui conférer de nouvelles propriétés ou de limiter les problèmes qu'il occasionne :

- modifications physiques: pré-cuisson sur cylindre (extrusion ou tour d'atomisation) ;
- modifications physico-chimiques: dextrinisation à haute température et à pH extrêmes;
- modifications chimiques: réticulation et substitution ;
- modifications biologiques: hydrolyse contrôlée par des systèmes enzymatiques.

Près de 500 kg de sirop préparé à partir du jus de sorgho hybride "Madhura" ont été commercialisés. Le sirop de glucose est produit à partir d'amidon de sorgho purifié par saccharification en utilisant des enzymes immobilisées comme la glucoamylase et la glucose-isomérase. Le sorbitol est également produit à partir de l'amidon de sorgho hydrolysé par hydrogénation chimique en présence d'un catalyseur au nickel et est utilisé comme édulcorant (Ratnavathi et Chavan 2016).

Les amidons procurent 70 à 80 % de calories consommées par les habitants à travers le monde. L'amidon commercialisé est obtenu essentiellement à partir des grains de céréales

(maïs, blé et riz) et à partir de tubercules et de racines (pomme de terre, pomme de terre douce et manioc) (BeMiller et Whistler, 1996). Jobling (2004) estime la production mondiale en amidon à 39,4 ; 4,1 et 2,6 millions de tonnes/an, respectivement pour le maïs, le blé et la pomme de terre.

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

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

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

2.6 Domaines d'intérêt des amidons de sorgho et de le mil perlé

Bien que le sorgho et le mil soient des céréales cultivées et utilisées depuis fort longtemps, les travaux sur leur valorisation restent très faibles. Satin (2002) a constaté que seulement 3,6 % de publications qui traitent les amidons sont consacrées à l'amidon de sorgho et 1,5 % au mil contre 29,3 % ; 28,7 % ; 17,4 % consacrées respectivement au maïs, au blé et à la pomme de terre.

Ces dernières années, le grain de sorgho et de mil perlé a connu un regain d'intérêt avec la diffusion de variétés résistantes aux maladies et de meilleure qualité nutritive.

Actuellement, de nouveaux débouchés sont apparus tels que les fibres de sorgho pour la papeterie, sorgho sucrés pour la production de biocarburant, biofilms et ingrédients alimentaires. Les Etats-Unis ont été les pionniers dans l'amélioration génétique des variétés de sorgho tempéré. Les recherches se sont élargies aux mils et se poursuivent actuellement au sein de nombreux organismes tels que l'ORSTOM⁷ (devenu IRD⁸) et le CIRAD⁹, deux organismes français avec le bureau des ressources génétiques Brg¹⁰, qui jouent un rôle

⁷ORSTOM: Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer renommé en 1998 et devenu IRD

⁸IRD : Institut de Recherche pour le Développement

⁹ CIRAD: Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

¹⁰ Brg: Bureau des Ressources Génétiques

déterminant dans la conservation et l'exploitation des ressources génétiques des espèces. L'ICRISAT¹¹ conduit, en Inde, d'importants programmes d'amélioration génétique de ces céréales pour les zones semi-arides, de gestion des collections mondiales et de sélection des variétés fixées et hybrides (<http://www.brg.prd.fr/brg/>).

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

Le BRG et l'INTSORMIL¹² s'intéressent aussi au recensement et à l'étude des variétés de sorgho et de mil. Seulement, vu l'étendue des zones concernées par ces cultures, on peut considérer que les estimations de la production et du nombre de variétés récupérées sont loin de traduire la réalité.

Le WCCR¹³ rassemble un nombre important d'équipes de recherche à l'université de Purdue (Etats Unis d'Amérique) qui travaillent sur les carbohydrates (Hamaker, 2005). Il s'intéresse, en particulier, à la modification et à la réactivité des amidons ainsi qu'à l'influence des protéines sur la gélatinisation des amidons, la rhéologie et la modélisation des processus thermiques des amidons (viscoélasticité).

Actuellement, des travaux de séquençage des protéines de sorgho sont entrepris. Les propriétés fonctionnelles de ces dernières ne sont pas totalement connues et un des problèmes rencontré est leur faible digestibilité dont le mécanisme n'est pas encore tout à fait élucidé (Belton, 2004).

La faible présence d'acides aminés essentiels comme la lysine et la méthionine suscite de nombreuses recherches pour l'amélioration génétique afin de produire des variétés riches en ces acides aminés.

Les propriétés fonctionnelles, en particulier la digestibilité des protéines, doivent être exploitées en vue de préparer des produits alimentaires intéressants en particulier pour les enfants et les nourrissons. Ce sont aussi les objectifs de l'IRD¹⁴. D'après Hamaker et ses collaborateurs, les amidons de sorgho pourraient être utilisés pour produire des films biodégradables (Belton et al., 2004).

La substitution des malts de maïs ou d'orge par le malt de sorgho dans le brassage peut s'avérer commercialement rentable.

¹¹ICRISAT: International Crop Research Institute for Semi-Arid Tropics

¹²INTERSORMIL: International sorghum and millet

¹³WCCR: Whistler Center of Carbohydrates Research. Purdue University, USA.

¹⁴IRD: Institut de Recherche et Développement

D'autres chercheurs comme Taylor et ses collaborateurs de l'université de Pretoria (Afrique du Sud) se sont fixés comme objectif de valoriser ces céréales par l'amélioration des produits alimentaires et de malterie (Taylor, 2016). Dans la même optique, Khadi Ba (2013) a effectué des recherches sur l'application des amylases du malt de variétés de sorgho blanc du Sénégal dans l'hydrolyse d'amidons.

La caractérisation des maltodextrines obtenues a montré des quantités non négligeables de sucres à courtes chaînes (maltose, maltopentaose et maltotétraose) de structure amorphe et de très faibles viscosités. Ces résultats ont montré la possibilité de mise au point de procédé utilisant les enzymes du sorgho pour fabriquer des maltodextrines.

Les recherches sur les variétés de sorgho et de mil perlé qui poussent en Algérie sont presque inexistantes malgré la présence de variétés locales cultivées dans des écosystèmes très spécifiques (écosystème hyperaride, eau d'irrigation et sol très salins) pouvant conférer aux plantes et notamment aux amidons des propriétés physicochimiques et fonctionnelles très intéressantes. De plus, il y a une forte dynamique d'échange avec les pays du Sahel limitrophes. La première allusion aux sorgho et mils locaux a été notée dans "La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales" par Quezel et Santa (1962) et repris dans "la flore de l'Algérie" d'Ozenda (1968).

Bien après, en 1965, Gast et Adrian ont publié des mémoires sur l'étude ethnologique et nutritionnelle des mils et sorgho en Ahaggar où ils font une description des variétés cultivées dans la région, la valeur nutritionnelles de leurs produits de moutures ainsi que leur transformation et utilisation. D'autres travaux font état des préparations culinaires locales à base de sorgho et de mil perlé.

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

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

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

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

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

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

De même, sur un plan fondamental, les processus enzymatiques agissant sur l'amidon sont utiles dans des études structurales des substrats amylicés et la compréhension des caractéristiques des enzymes de digestion (Tomasik et Horton, 2012).

3.1 Amylases

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

3.1.1 Endoamylases

Les endoamylases, connues aussi par le terme « enzymes liquéfiantes » sont des enzymes qui coupent les liaisons α -(1,4) glycosidiques présentes dans les parties internes des chaînes de l'amylose et de l'amylopectine. Les produits d'hydrolyse, qui sont moins visqueux, sont des dextrans et des oligosaccharides avec des chaînes variées ayant une configuration

α en C₁ des unités réductrices du glucose d'où le nom « α -amylase » (Muralikrishna, 2005 ; Kuriki et Imanaka, 1999).

3.1.2 Exoamylases

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

- l' α -glucosidase agit mieux sur les petits maltooligosaccharides et libère le glucose avec une configuration α .
- la glucoamylase hydrolyse mieux les chaînes longues de polysaccharide.

Les β -amylases se trouvent en abondance chez les végétaux (blé et l'orge) où elles sont constitutives alors que l' α -amylase est induite. Elles sont aussi produites à partir d'une variété de microorganismes (Pandey et al., 2000). La β -amylase se distingue de celle des endoamylases par une réduction beaucoup plus lente de la viscosité du substrat (Kuriki et Imanaka, 1999).

La glucoamylase est présente largement dans les microorganismes. Les glucoamylase du genre *Aspergillus* et *Rhizopus* sont disponibles dans le commerce sous forme de préparations enzymatiques industrielles.

3.1.3 Enzymes de débranchement

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

3.1.4 Enzymes du quatrième groupe

Ces enzymes catalysent la rupture d'une liaison α -(1,4) dans une molécule donneuse et le transfert d'une partie de la molécule à une autre molécule réceptrice capable de former

une nouvelle liaison glycosidique de nature α -(1,4) ou α -(1,6). Parmi ces enzymes, on peut citer l'amygomaltase (EC.2.4.1.25) et la cyclodextrine glucotransférase (EC.2.4.1.19).

L'utilisation de l' α et de la β -amylase permet d'obtenir des fractions riches en maltose mais renfermant aussi des dextrines limitées dues à la présence des ramifications. Pour l'industriel, il peut s'agir de freintes importantes et nécessite, donc, de dépolymériser complètement l'amidon. Pour obtenir une action maximale des enzymes, on associe généralement des enzymes de débranchement (pullulanase et isoamylase) permettant d'obtenir uniquement des enchaînements linéaires

3.2 Activité des amylases

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

Dans les céréales, les α -amylases constituent 30 % des protéines totales synthétisées durant la germination. Adewale et al.(2006), ont constaté que les amylases du sorgho présentent la plus faible activité comparée à celles de l'éleusine et du maïs. Néanmoins, elles sont plus résistantes à l'inactivation thermique (50 °C). Cette résistance ainsi que le prix élevé des enzymes exogènes pour le brassage, encouragent les pays comme le Nigeria à orienter leur production en utilisant le malt de sorgho plutôt que le malt d'orge (Adewale et al., 2006).

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

3.3 Procédés d'hydrolyse enzymatique des amidons

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

La composition du produit d'hydrolyse dépend de la quantité d'enzyme utilisée, du temps de réaction et du dextrose équivalent des maltodextrines (Lugi, 2005). La modélisation de la cinétique enzymatique avec des rappels sur les constantes cinétiques sont donnés ci-dessous.

3.4 Cinétique enzymatique

L'approche cinétique de l'étude de l'hydrolyse permet de mieux comprendre les interactions enzyme-substrat (amidon) dans des conditions spécifiques et le mode d'action.

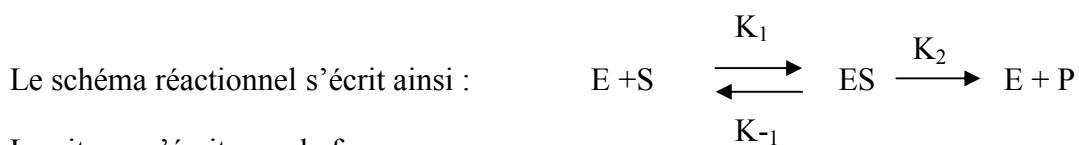
3.4.1 Modèle de base de la cinétique enzymatique

En 1902, Victor Henri et Adrian Brown suggèrent indépendamment que dans la réaction enzymatique, l'hypothèse de la formation d'un complexe enzyme-substrat était nécessaire pour interpréter la forme hyperbolique des courbes de vitesses initiales en fonction de la concentration initiale de substrat.

Modèle de Michaelis-Menten

En 1913, Victor Henri, Maud Menten et Leonor Michaelis résolvait le système réactionnel en posant les hypothèses simplificatrices suivantes :

- 1) concentrations de produit très faibles
- 2) concentration totale du substrat est grande devant celle de l'enzyme.
- 3) dès l'addition de l'enzyme dans la solution du substrat, il s'établit un équilibre rapide entre les formes libres de l'enzyme, du substrat et du complexe.



$$v = V_{\max} [S]_0 / (K_S + [S]_0) \quad \text{Equation de Michaelis- Menten}$$

Avec : $K_S = K_{-1} / K_1$

Modèle de Briggs-Haldane

En 1925, George Briggs et John Haldane ont montré que l'on obtenait une équation similaire à celle de Michaelis-Menten avec des hypothèses moins restrictives : il n'est pas nécessaire de poser l'hypothèse (3). Le système réactionnel est considéré dans un état stationnaire (ou quasi-stationnaire).

$$v = V_{\max} [S]_0 / (K_M + [S]_0) \quad \text{Equation de Briggs-Haldane}$$

Avec: $K_M = (K_{-1} + K_2) / K_1$

Cette équation de Briggs-Haldane est traditionnellement appelée Equation de Michaelis- Menten. La constante K_M est appelée constante de Michaelis. Pour K_2 petit devant K_{-1} , l'équation de Briggs-Haldane est identique à celle de Michaelis- Menten.

3.4.2 Constantes cinétiques

Vitesse maximale

La vitesse maximale initiale est atteinte pour la concentration d'enzyme $[E]_0$ et pour une concentration de substrat très grande de $[S]_0$ devant K_M .

Constante de Michaelis

La constante de Michaelis K_M traduit l'affinité du substrat pour l'enzyme. L'affinité du substrat pour l'enzyme est d'autant plus grande que la valeur de la constante de Michaelis est petite. Lorsque $[S]_0 = K_M$, la vitesse initiale s'écrit : $v = V_M/2$. Elle est définie donc comme étant la concentration en substrat pour laquelle la vitesse initiale mesurée est égale à la moitié de la vitesse initiale maximale, V_{\max} .

Constante catalytique

K_{cat} (ou K_2) représente la fréquence à laquelle l'enzyme accomplit l'acte catalytique lorsque l'enzyme est saturé en substrat $K_{\text{cat}} = V_M/[E]_0$. Elle est définie comme étant le nombre de molécules de substrats convertis en produits par unité de temps par chaque site actif quand l'enzyme est saturée. Elle est exprimée par l'équation suivante : $K_{\text{cat}} = V_{\max}/[E]_T$ où $[E]_T$ est la concentration totale de l'enzyme.

Dans les réactions possédant un mécanisme de type Michaelis-Menten, $1/K_{\text{cat}}$ est la durée d'un cycle catalytique lorsque l'enzyme est saturée en substrat. Il donne le temps requis pour convertir une molécule de substrat en produits. C'est donc l'inverse d'un temps ou une fréquence: la fréquence à laquelle l'enzyme accomplit l'acte catalytique "turn-over". C'est la raison pour laquelle cette constante est appelée constante catalytique ou k_{cat} .

Constante de spécificité ou rapport (K_{cat}/K_M)

Une enzyme qui fixe bien un substrat (K_M faible) peut catalyser très lentement la réaction (K_{cat} faible). Inversement, une enzyme peut difficilement être saturée par le substrat (K_M élevé) mais dès que le complexe enzyme-substrat est formé, l'acte catalytique

a lieu (k_{cat} élevée). On voit donc que l'un ou l'autre de ces deux paramètres ne permettent pas de caractériser une enzyme. Il faut à la fois, une fixation facile et une catalyse rapide: c'est donc le rapport (k_{cat} / K_M) qui reflète l'efficacité d'une enzyme à catalyser une réaction.

On remarque que la valeur maximale du rapport (k_{cat} / K_M) :

$$\frac{k_{cat}}{K_M} = k_1 \left(\frac{k_{cat}}{k_{-1} + k_{cat}} \right)$$

est obtenue quand :

$$\frac{k_{cat}}{k_{-1} + k_{cat}} = 1$$

La limite du rapport (k_{cat} / K_M) est donc la constante de vitesse d'association enzyme-substrat, k_1 . Cette constante a elle-même pour limite la vitesse de diffusion des macromolécules dans le milieu réactionnel ($10^8 - 10^9 \text{ m s}^{-1}$).

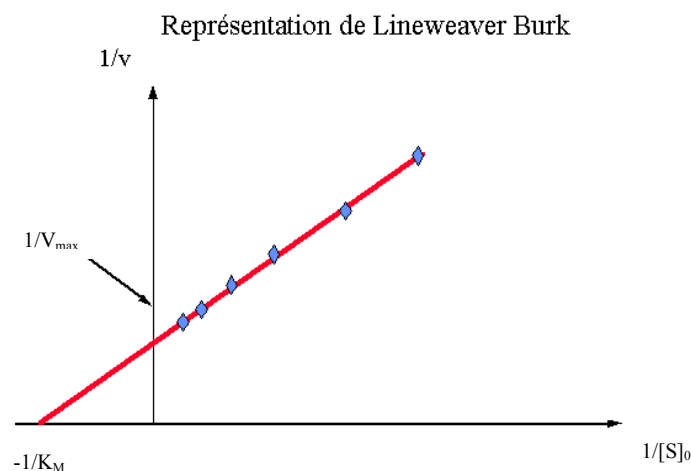
3.4.3 Détermination des constantes cinétiques

➤ **Représentation hyperbolique (Michaelis-Menten)**

A partir des résultats expérimentaux, les vitesses initiales sont déterminées pour chaque concentration totale de substrat $[S]_0$, pour une concentration donnée d'enzyme. $v = f([S]_0)$ est une hyperbole. L'asymptote horizontale de l'hyperbole pour les grandes concentrations de valeur de $[S]_0$ permet d'avoir la valeur de V_M et la valeur de K_M qui est la valeur de $[S]_0$ pour $v = V_M/2$

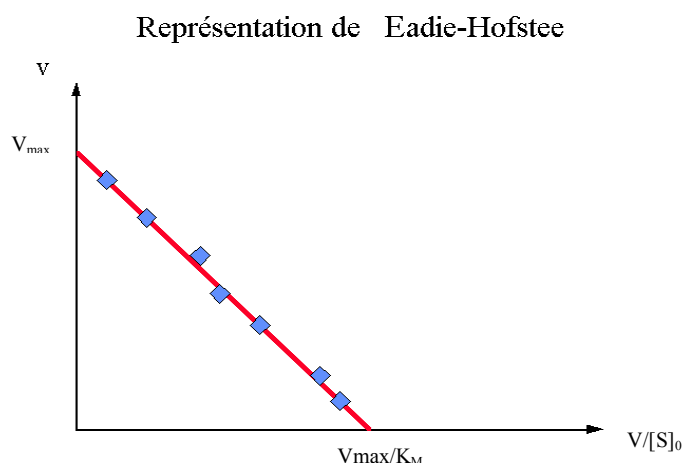
➤ **Représentation de Lineweaver-Burk**

C'est la représentation la plus utilisée qui fût publiée en 1935 par Hans Lineweaver et Dean Burk : $1/v = f(1/[S]_0)$. Cette représentation est une droite qui coupe l'axe des $1/v$ au point $1/V_M$ et l'axe des $1/[S]_0$ au point $-1/K_M$.



➤ **Représentation Eadie-Hofstee**

Cette représentation fût publiée par George Eadie en 1942 et Baren Hofstee en 1959 : $v = f(v/[S]_0)$. Cette représentation est une droite de pente $(-K_M)$ et qui coupe l'axe des v au point V_M .



➤ **Représentation de Hanes-Woolf**

Cette représentation fût publiée par Charles Hanes et Barnet Woolf en 1932 : $[S]_0/v = f([S]_0)$. Cette représentation est une droite de pente $1/V_M$ et qui coupe l'axe des $[S]_0$ au point $(-K_M)$.

➤ **Représentation Eisenthal et Cornish-Bowden**

Cette représentation fût publiée par Robert Eisenthal et Athelstan Cornish-Bowden en 1974. Pour chaque couple de vitesse initiale de substrat $(v_j, [S]_{0,j})$, la droite, définie par le couple (j) de point $[(-[S]_{0,j}, 0) : (0, v_j)]$, est tracée dans le repère cartésien $(v, [S])$. Les droites concourent dans un petit triangle dont le milieu des cotés détermine le couple des constantes (K_M, V_M) .

3.5 Mode d'action des amylases

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

L'action de l' α -amylase donnant lieu à la formation des oligosaccharides et des α -dextrines limites est schématisée à la figure 3.1, (Marc et al., 2002).

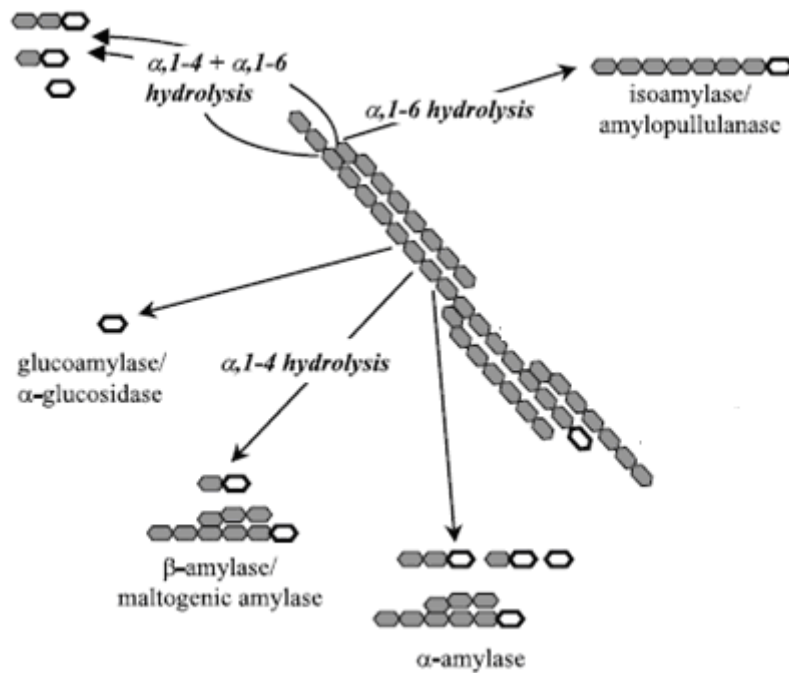


Figure 3.1: Schéma de dégradation de l'amidon par les différentes enzymes

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

Toutes les enzymes qui dégradent l'amidon possèdent des séquences d'acides aminés similaires : la famille des α -amylases est la 13^{ème} famille dans la classification de Henrissat (1991) basée sur les séquences d'acides aminés. Ce groupe comprend les enzymes qui possèdent les propriétés suivantes :

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

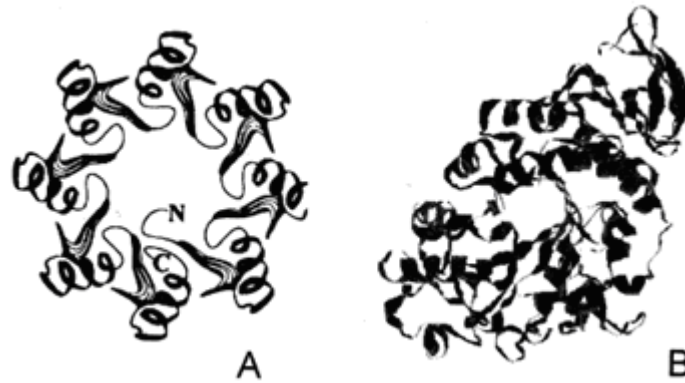


Figure 3.2: Structure $(\beta/\alpha)_8$ (A) ou TIM barrel (B) contenant le site catalytique (Kuriki et Imanaka, 1999).

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

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

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

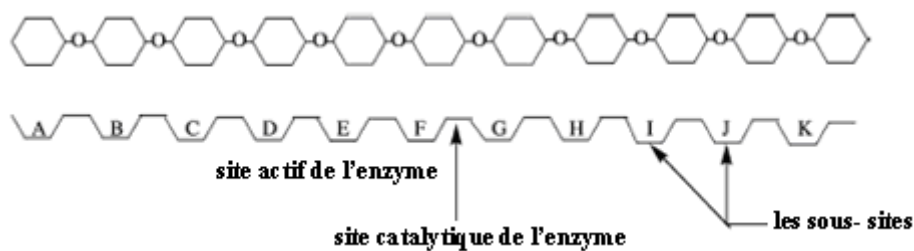


Figure 3.3 : Représentation des sites actifs et des sous-sites de l' α -amylase

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

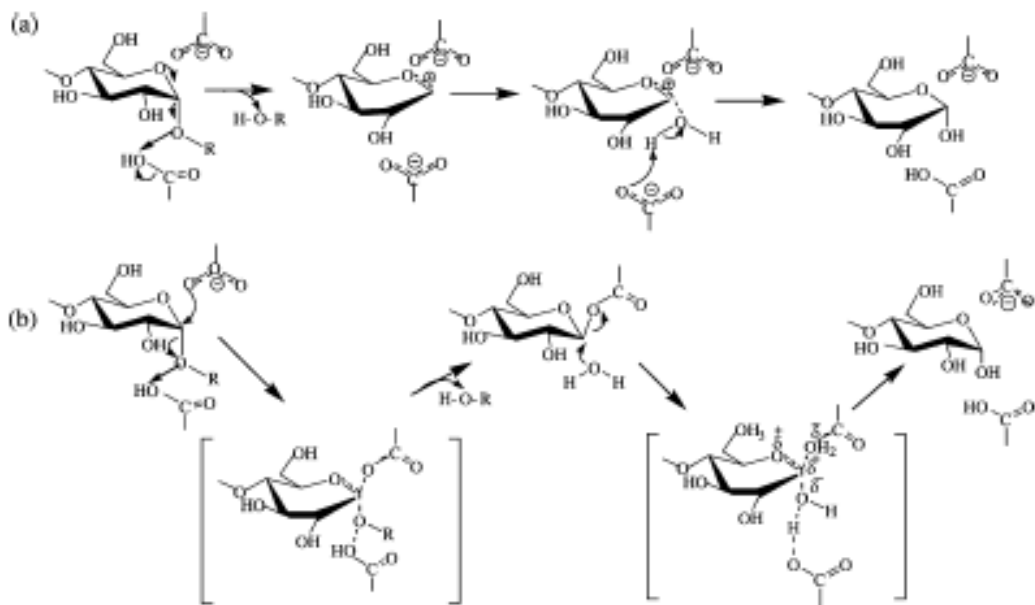


Figure 3.4: Mécanismes catalytiques possibles de l'α-amylase

(a) réaction SN_1 via un ion carbonium intermédiaire.

(b) réaction SN_2 via la formation d'un complexe glycosyl-enzyme par liaison covalente.

Les α-amylases étant des endoenzymes, possèdent des capacités de liquéfaction rapide et de saccharification faible. La rupture aléatoire des liaisons glucosidiques de l'amylose conduit à des chaînes longueur moyenne qui ne se colorent pas à l'iode (Bruchmann et Fauveau, 2010).

Il est prévu que l'amylose linéaire soit dégradée en maltose et maltotriose, si l'amylose contient un nombre impair d'unités glucosyle. Les branches extérieures de l'amylopectine linéaires sont dégradées par les β-amylases en maltose. L'action de l'enzyme s'arrête au moment où elle atteint le point de ramification de dextrines produites (Tharanathan, 2002).

L'hydrolyse de l'amidon par les α-amylases produit un mélange d'α-dextrines ramifiées, d'oligosaccharides linéaires courts et du glucose. Les produits d'hydrolyse avec le même dextrose équivalent peuvent être différents de manière significative dans leur composition en hydrates de carbone (krzyzaniak et al., 2003). Les propriétés physicochimiques des solutions aqueuses de maltodextrines telles que la viscosité, la cristallinité et le pouvoir sucrant, dépendent de leur profil en oligosaccharides et sont liées au degré de polymérisation de ces derniers.

L'analyse des produits d'hydrolyse enzymatique permet d'obtenir des informations sur la structure et la composition des molécules d'amidon, ainsi que sur le mécanisme d'action de l'α-amylase.

L'influence de l'enzyme sur les amidons a suscité l'intérêt de nombreux auteurs. Slominska et al. (2003) ont cité certaines de ces contributions relatives à l'hydrolyse enzymatique des amidons de pomme de terre, de manioc, de maïs et de riz. Cependant, très peu d'études ont traité l'hydrolyse des amidons de sorgho et de mil perlé dont les produits pourraient conduire à des applications très pertinentes pour les régions défavorisées où leur culture est vitale.

DEUXIÈME PARTIE: METHODOLOGIE EXPERIMENTALE

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

Nos objectifs ont consisté, dans un premier temps, à contribuer à l'étude morphologique des plantes et à la caractérisation des grains.

Ensuite, l'isolement des amidons à partir des grains a permis de déterminer leurs propriétés physiques, leur composition ainsi que leurs propriétés fonctionnelles et thermiques.

La troisième partie du travail a visé la détermination des conditions opératoires de mise en évidence de l'activité des amylases sur des substrats amylicés de sorgho et de mil, l'étude de l'influence de certains facteurs sur la cinétique enzymatique et la détermination des paramètres cinétiques des réactions catalysées par des α -amylases de différentes sources.

Le profil des hydrolysats d'amidons de sorgho a été déduit de l'analyse HPLC-PAD afin de caractériser la composition en oligosaccharides et déterminer le mode d'action de ces amylases.

La majorité des produits chimiques utilisés proviennent de chez Sigma (St Louis, MO) et Merck (KGaA, Darmstadt, Allemagne) et sont d'une grande pureté. Les expériences ont été effectuées avec trois répétitions au minimum.

CHAPITRE 4:
MATÉRIEL ET MÉTHODES

CHAPITRE 4: MATÉRIEL ET MÉTHODES

4.1 Echantillonnage et préparation des échantillons

4.1.1 Prospection et échantillonnage

Une prospection et un échantillonnage ont été effectués au niveau de la région de Tidikelt (In Salah) et d'Ahaggar (Tamanrasset) de 2000 à 2006.

Dans ces régions, connues pour leurs conditions écologiques particulières, divers cultivars de sorgho et de mil perlé sont toujours cultivés en utilisant des méthodes traditionnelles. D'autres cultivars sont importés et commercialisés dans les marchés locaux.

4.1.2 Méthode d'échantillonnage

Divers échantillons de plantes, d'épis et de grains ont été récoltés. Une sélection des cultivars cités ci-dessous a été effectuée sur la base de la prédominance et de la diversité.

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

Les grains des différents cultivars ont été obtenus après un traitement de décorticage des épis effectué par les agriculteurs en utilisant les méthodes traditionnelles. L'échantillonnage a été effectué selon la méthode des quartiers.

4.1.3 Nettoyage des grains

Les échantillons de grains sont exempts d'odeurs et de souillures. Leurs teneurs en impuretés étaient faibles. Néanmoins, un nettoyage des grains de sorgho a été effectué en utilisant le nettoyeur séparateur plan (NSP), Triplette et Renaud (France).

4.1.4 Mouture des grains

Le broyage à sec a été effectué à l'aide d'un broyeur électrique IKA, Labortechnik type A10, (Bonn, Allemagne), muni d'un système de refroidissement. Le broyage humide a été réalisé en utilisant un Waring blender de marque Eberbach, (Michigan, USA).

Les moutures sèches et humides ont été passées à travers des tamis de 500 μm et de 50-1000 μm , respectivement.

4.2 Détermination de la masse de 1000 grains

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

4.3 Détermination de la masse volumique

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

4.4 Détermination de la taille des grains

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

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

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

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

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

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

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

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

4.5 Détermination de la texture de l'endosperme des grains

Les grains au nombre de 100 ont subi une coupe longitudinale. La surface a été observée à travers une loupe et la zone farineuse a été estimée par rapport à la surface totale de la coupe. Selon le rapport, trois classes ont été définies et données par le tableau 4.1.

Tableau 4.1: Classes des cultivars selon la texture de l'endosperme

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

4.6 Dosage de l'humidité

La teneur en eau des farines et des amidons isolés a été déterminée selon la méthode normalisée de l'AACC (1983). Une étuve Memmert de modèle UL-40 (Schwaback, Allemagne) a été utilisée.

4.7 Dosage des cendres

La détermination de la teneur en cendres a été réalisée selon la norme NF 03-720 (1981) à 900 ± 25 °C dans un four à moufle de marque Epsilon, (Michigan, Etats Unis d'Amérique).

4.8 Dosage de l'amidon

La méthode polarimétrique d'Ewers modifiée et normalisée, ISO 10520 (1997) a été suivie pour le dosage de l'amidon. Le polarimètre est de type Bellingham Stanley ADP220 (Kent, Angleterre).

Le pouvoir rotatoire spécifique est considéré égal à 184° pour les amidons de sorgho et de mil perlé. Cette valeur est attribuée aux amidons autres que le blé, le maïs, et la pomme de terre (Multon, 1991). La formule Eq. (4.6) utilisée est la suivante :

$$\% \text{ amidon} = 9,4 (S/m_1. MS - S'/m_2.MS) \quad (4.6)$$

Avec :

S : pouvoir rotatoire total de la solution de l'échantillon,

S' : pouvoir rotatoire des substances optiquement actives solubles dans l'éthanol à 40%,

m₁ : masse de la prise d'essai utilisée pour déterminer S,

m₂ : masse de l'échantillon utilisée pour déterminer S',

MS : taux de la matière sèche de l'échantillon.

La formule Eq. (4.6) ci-dessus est déduite de la formule Eq. (4.7) suivante :

$$\% \text{ amidon} = [2000 (2N. 0,665) / [\alpha]_D. 100] (S - S') \quad (4.7)$$

Où :

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

4.9 Dosage des sucres solubles

Les sucres solubles ont été extraits à l'alcool et dosés par la méthode colorimétrique de phénol-acide sulfurique (Robyt, 1990 et Southgate, 1976).

La densité optique à 490 nm a été mesurée en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible de marque UV-2401 PC Shimatzu (Kyoto, Japon) couplé à un ordinateur (logiciel UVProbe). L'étalonnage a été effectué en utilisant du maltose avec des concentrations allant de 0 à 100 µg de maltose/l.

4.10 Dosage des protéines

4.10.1 Méthode de Kjeldahl

Les teneurs en protéines dans les grains ont été déterminées selon la méthode de kjeldahl (ISO 1871-1975) en utilisant un digesteur de marque Digestor 2020 Foss Tecator Technology (Hoganas, Suède) et un distillateur de marque Gerhardt vapodest 30 (Bonn, Allemagne). Un essai à blanc et un autre en utilisant la glycine (150 mg) ont été effectués.

Le taux de protéines, rapporté à 100 g de matière sèche, a été calculé à l'aide de la formule (Eq. 4.8) suivante en utilisant le facteur de conversion pour les aliments (Jones, 1931; Salo-Vänänen, 1996).

$$\% \text{ Protéines} = \% N. 6,25 \quad (4.8)$$

Où % N est le taux d'azote calculé selon la formule Eq. (4.9) suivante :

$$\% N = (V_1 - V_0). 280/P \quad (4.9)$$

Avec :

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

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

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

4.10.2 Méthode de combustion de Dumas

Les taux de protéines résiduelles dans les amidons isolés ont été déterminés par la méthode de combustion de Dumas AOAC (1995) et ce en utilisant un système automatisé d'analyse de protéines EAS, VarioMax N/C, ELT (Le gouda, Hollande). Le même facteur de conversion a été utilisé.

4.10.3 Méthode de Lowry

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

La courbe d'étalonnage a été effectuée en utilisant des solutions de protéines bovines BSA à des concentrations différentes comprises entre 0 et 0,2 g/l.

4.11 Dosage des lipides totaux

Les concentrations des lipides ont été déterminées selon la méthode normalisée ISO3947 (1977). Un soxtherm de marque Gerhard (Bonn, Allemagne) a été utilisé. La masse des lipides a été déduite grâce la formule (Eq. 4.10) suivante:

$$\% \text{ lipides} = 100 (m_2 - m_1) / P \quad (4.10)$$

Avec :

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

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

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

4.12 Dosage des fibres insolubles

Le dosage des fibres a été effectué selon la méthode de Van Soest (AOAC 991.43), méthode qui permet de déterminer les fibres insolubles par utilisation d'un détergent neutre NDF (neutral detergent fiber). La matière amylacée a été hydrolysée par l'action respective de l' α -amylase Termamyl 120L et de l'amyloglucosidase.

Le taux de fibres insolubles, donné par la formule (Eq. 4.11) suivante, a été rapporté au produit sec et corrigé par rapport à la teneur en protéines et en cendres résiduelles après leur dosage dans le résidu:

$$\% \text{ Fibres insolubles} = 100 (m_1 - m_2) / P \quad (4.11)$$

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

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

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

4.13 Dosage des tanins

La norme F V 03-751 a été appliquée pour le dosage des tanins dans les grains de sorgho et de mil. Le principe a consisté à extraire les tanins par le diméthylformamide $\text{HCON}(\text{CH}_3)_2$. Après centrifugation et addition de citrate d'ammonium ferrique et d'ammoniaque à la partie aliquote du surnageant, l'absorbance de la solution ainsi obtenue a été mesurée à 525 nm. L'étalonnage a été effectué en utilisant l'acide tannique dans une gamme allant de 0 à 0,5 g/l.

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

Se basant sur les études de Pérez Sira et al. (2004), Beta et al. (2000) et Beta et Corke (2001), nous avons adopté le procédé de broyage humide pour isoler les différents amidons.

Les étapes essentielles ont été le trempage, le broyage, le tamisage, la centrifugation et enfin le séchage. Ces étapes ont été appliquées pour chacun des sorghos blanc et pigmenté et des mils perlés respectivement selon les trois méthodes suivantes :

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

Une quantité de 200 g de grains de sorgho a été trempée durant une nuit dans une solution de soude NaOH à 0,25 %. Les grains ont été lavés à l'eau jusqu'à atteindre un pH neutre.

Ils ont été ensuite broyés à l'aide d'un Waring blender de marque Eberbach, (Michigan, Etats Unis d'Amérique) à la vitesse maximale pendant 4 min. Le mélange obtenu a été passé à travers une série de tamis (1000, 355, 224, 50 μm). Le filtrat a été centrifugé à 5000 rpm pendant 20 min quatre fois en renouvelant l'eau de lavage. La couche de protéines, fibres et lipides a été raclée. Enfin, l'extrait a été ensuite séché à 40 °C pendant une nuit.

➤ **Méthode B (sorgho pigmenté)**

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

➤ **Méthode C (mil perlé)**

Pour l'isolement de l'amidon à partir des grains de mil perlé local et ceux cultivés à Agadez, les mêmes étapes citées (méthode A) ont été appliquées à la différence que les grains ont été trempés durant une nuit dans une solution de NaOH à 0,20 %.

4.15 Dosage de l'amylose

La teneur en amylose est déterminée par dosage colorimétrique du complexe formé par l'amylose et l'iode caractérisé par la couleur bleu (Morrison et Laignelet, 1938).

Le mode opératoire a consisté à solubiliser l'amidon dans une solution d'urée-diméthylsulfoxyde U-DMSO dans un rapport volumique de 1/9 à 95°C pendant 1h et ensuite, le faire agir avec une solution d'iode I₂/KI.

L'absorbance du complexe bleu obtenu est mesurée à 635 nm à l'aide du spectrophotomètre UV-2401 de marque Shimadzu (Kyoto, Japon).

La mise à zéro (l'étalonnage) de l'appareil se fait en utilisant l'eau dans la cellule de référence et une solution de 100 µl d'U-DMSO; 9,7 ml d'eau distillée et 200 µl de la solution I₂/KI. Une courbe d'étalonnage a été préalablement établie avec des solutions standards contenant des proportions de 0 à 30 % d'amylose (amylose de pomme de terre 95 % et amylopectine pur de maïs fournis par l'ICN biomedicals Inc, Ohio, Etats Unis d'Amérique).

4.16 Détermination de l'amidon endommagé

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

La mesure du taux d'endommagement de l'amidon est systématiquement affichée en UCD (Unité Chopin Dubois) qui peut être convertie dans les unités AUD (Audidier), FAR (Farrand) ou AACC.

4.17 Détermination de la cristallinité

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

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

4.18 Observations aux microscopes des granules d'amidon

L'examen des granules d'amidon a été effectué à l'aide de deux types de microscopes : le microscope optique à lumière polarisé et le microscope électronique à balayage.

4.18.1 Microscopie optique à lumière polarisée

Les granules d'amidon ont été dispersés dans de l'eau distillée ou une solution d'iode KI/I₂ et observés à la lumière du jour ainsi qu'à la lumière polarisée en utilisant un microscope optique à lumière polarisée de marque Nikon (Japon) avec un grossissement de 40. L'image a été traitée par le logiciel Lucia G.

4.18.2 Microscopie électronique à balayage

Une quantité infime de granules d'amidon isolés et purifiés a été placée sur un ruban conducteur double adhésif afin de les fixer. Ils ont été observés au microscope électronique à balayage environnemental MEBE (Environmental scanning electron microscopy, ESEM) de modèle XL30 FEG (Field Emission Gun), Electroscan Philips couplé à un ordinateur Brilliance 80P. Le traitement de l'image s'est fait à l'aide du logiciel de contrôle du microscope (MCL).

4.19 Détermination de la distribution de la taille des granules d'amidon

La distribution de la taille des granules d'amidon a été analysée sur une suspension d'amidon à 10 % à l'aide d'un granulomètre à diffraction laser de marque Malvern (Worcestershire, Angleterre). L'appareil est composé d'une cellule de dispersion hydro 2000S pour la voie humide (cellule utilisée dans l'analyse granulométrique de l'amidon), une autre pour la voie sèche. Le logiciel utilisé pour traiter les données est le Mastersizer 2000 laser.

4.20 Détermination de la couleur de l'amidon

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

4.21 Mesure de la viscosité (RVA)

La viscosité des différents amidons a été réalisée en utilisant un viscosimètre rotatif muni d'un système de chauffage RVA4 (Rapid viscosimeter analyser) de marque Newport scientific (Warriewood, Australie) connecté à un PC. Le logiciel ThermoLine for Windows a permis la programmation des analyses, la visualisation en temps réel des paramètres de mesure, le stockage des données et le traitement des résultats. La méthode utilisée est donnée par la norme ICC-Draft-Standard N°162 (1995). Les analyses ont été effectuées sur les amidons (3,00 g MS dans 28,00 g de solution) et les moutures intégrales (4,00 g de matière sèche dans 28,50 g de solution).

Le programme VAP appliqué aux amidons et celui standard Std 1 appliqué aux moutures intégrales sont donnés ci-après.

VAP (amidons).

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

Std 1(moutures intégrales).

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

La vitesse de rotation a été de 960 rpm pendant les premières secondes afin de bien homogénéiser le mélange, ensuite constante à 160 rpm durant toute la durée de l'analyse.

4.22 Détermination du pouvoir de gonflement et de l'indice de solubilité

Le pouvoir gonflant et l'indice de solubilité ont été estimés par la méthode de centrifugation (Radosta et al., 1991 ; Tang et al., 2004).

Une suspension d'amidon de l'ordre de 1,7 % (m/v) a été maintenue dans un bain-marie à différentes températures allant de 55 à 95 °C. Après 30 minutes de chauffage, l'échantillon a été refroidi à température ambiante et centrifugé ensuite au moyen d'une centrifugeuse BECKMAN modèle J2-21 (Californie, Etats-Unis d'Amérique) à 8000 rpm pendant 20 min.

La matière sèche du surnageant a été déterminée par séchage dans l'étuve à 130 °C. Rapportée à 100 g de matière sèche d'amidon, elle donne l'indice de solubilité dans l'eau désigné par WSI (water solubility index). La masse du gel formé et sédimenté rapportée à la matière sèche de l'amidon utilisé, donne le pouvoir de gonflement désigné par SP (Swelling Power).

4.23 Analyse calorimétrique différentielle à balayage DSC

Le comportement thermique des échantillons d'amidon a été évalué au moyen d'un analyseur enthalpique différentiel DSC 2920 (TA Instruments, New Castle, USA). L'appareil de mesure DSC (Differential scanning calorimetry) a été calibré en température et en enthalpie avec l'eicosane ($T_d = 36,8$ °C et $\Delta H_d = 247,4$ J/g) et l'indium ($T_d = 156,6$ °C et $\Delta H_d = 28,71$ J/g). Les mesures calorimétriques ont été conduites sur des échantillons de 5 mg dispersés 1 h auparavant dans 10 µl d'eau distillée. Les échantillons, placés dans des capsules en aluminium hermétiques, ont été ensuite soumis à une montée en température de 10 à 120 °C, à la vitesse de 5 °C/min. Une capsule vide a été utilisée comme référence.

La température de début de dénaturation (T_d), la température de dénaturation (T_{max}) et l'enthalpie de dénaturation (ΔH_d) ont été déterminées par l'analyseur à partir des courbes enregistrées.

4.24 Détermination des réactivités des amidons de sorgho et de mil

4.24.1. Recherche de l'activité α -amylasique endogène

Pour mettre en évidence la présence ou l'absence de l'activité de l' α -amylase endogène, des essais de viscosité, selon le mode opératoire cité précédemment (§ 4.21), ont été menés sur les moutures intégrales d'amidon de sorgho et de mil, respectivement en suspension dans l'eau et dans une solution de nitrate d'argent 2 mM.

4.24.2 Matériel et prétraitements des moutures des grains de sorgho et de mil

➤ *Substrats amylacés testés*

Les échantillons utilisés sont des moutures intégrales et prétraitées de sorgho blanc MSBI04, et de mil perlé MMI04 ainsi que les amidons isolés à partir de ces céréales. Les méthodes de prétraitements des moutures préconisées pour déprotéiniser, délipider et isoler les amidons sont rassemblées au tableau 4.2 ci-dessous. Les amidons purs commerciaux choisis pour l'étude cinétique sont donnés au tableau 4.3.

Tableau 4.2: Prétraitements des moutures intégrales de sorgho et de mil perlé

Substrat amylacé	Méthode de prétraitement
MSBI04, MMI04 Mouture intégrale	▀ Broyage à sec des grains (broyeur électrique IKA Laborstechnik A10).
MSBI04 et MMI04 déprotéinisation	▀ Hydrolyse de la mouture (4 g) par la pepsine à 4 g/l, pH=2,5 ; T=50 °C, filtration et séchage du résidu à 40 °C. ▀ Hydrolyse de la mouture par la protéase type XIV (5,8 U/mg) à 10 g/l, T=37 °C, 4 h, filtration et séchage à 40 °C.
MSBI04 et MMI04 délipidation	▀ Solubilisation des lipides dans 50 ml d'hexane (5 x 10 ml) à 35 °C, filtration et séchage du résidu à 40 °C.
MSBI04 et MMI04 déprotéinisation et délipidation	▀ Hydrolyse des protéines par la pepsine suivie de la solubilisation des lipides par l'hexane.
ASBI04, AMI04 isolement	▀ méthode de Siera-Perez (2004) modifiée

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

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

➤ **Enzymes testées**

Les amylases testées sur les différents amidons sont données au tableau 4.4. L' α -amylase salivaire humaine est préparée au laboratoire selon la méthode de Gracheva et al. (1982). La concentration de la solution préparée, $[E_4]_{p_0}$, est déterminée par la méthode de Lowry (Lowry et al., 1951).

Tableau 4.4 : Source, fournisseur et activité des enzymes étudiées

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

4.24.3 Méthode enzymatique de dosage du glucose

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

Un volume de 1ml de la solution préalablement préparée et protégée de la lumière, a été mélangé à 10 µl de standard ou d'échantillon et incubé pendant 10 min à 37 °C. L'absorbance a été ensuite lue à 505 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-2401. La courbe d'étalonnage a été établie pour des solutions de glucose de concentration allant de 0 à 100 µg/ml (Dingeon, 1975).

4.24.4 Méthode colorimétrique de dosage des sucres réducteurs

4.24.4.1 Méthode colorimétrique DNS

Ce dosage a été mis au point par Bernfeld (1955). Il utilise l'acide 3,5-dinitrosalicylique (Acide hydroxy-2-dinitro3, 5-benzoïque $C_7H_4N_2O_7$ ou DNS) à température élevée, en milieu basique (Southgate, 1976). En présence de sucres réducteurs dans ces conditions, l'acide de couleur jaune-orangée est réduit en acide 3- amino-5-nitrosalicylique de couleur rouge orangée.

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

4.24.4.2 Méthode colorimétrique de Somogyi-Nelson

La méthode a consisté à ajouter 1 ml d'étalon ou d'échantillon contenant entre 10 à 75 nmoles de sucres réducteurs à 1 ml de réactif D. Le mélange a été chauffé dans un bain-marie bouillant pendant 20 min et refroidi ensuite rapidement. 1 ml de réactif C ont été rajouté et laissé agir pendant 10 min. Le mélange a été complété à l'eau distillée jusqu'à 5 à 25 ml, l'absorbance a été mesuré à 600 nm. Une courbe d'étalonnage a été établie pour des solutions de maltose de concentrations allant de 0 à 1 g/l.

Les solutions utilisées ont été préparées comme suit :

Réactif A :

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

Carbonate de sodium	25 g
Tartrate de sodium et de potassium	25 g
Bicarbonate de sodium Na_2CO_3	20 g
Sulfate de sodium Na_2SO_4	200 g
Eau distillée	qsp 1 l

Réactif B

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

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

Réactif C

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

Réactif D

Réactif B, 1 ml et réactif A, 25 ml

4.24.5 Méthode colorimétrique de dosage de l'amidon résiduel à l'iode

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

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

Les solutions d'iode utilisées sont préparées comme suit :

Solution mère :

Diiodure I_2	0,5 g
Iodure de potassium KI	5 g
Eau distillée	q.s.p. 200 ml

Solution de travail :

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

4.24.6 Méthode de détermination de l'activité enzymatique

4.24.6.1 Prétraitement de la solution d'amidon

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

4.24.6.2 Essais d'hydrolyse enzymatique

Les essais ont été effectués dans un bioréacteur en pyrex de 50 ml ou de 25 ml de capacité selon les deux méthodes suivantes à température constante grâce à un bain-marie muni d'un thermostat.

4.24.6.3 Méthode de détermination de l'endoaction des amylases

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

Un volume de 10 ml de la solution de mouture intégrale ou d'amidon de concentration en amidon de 1 % (m/v) prétraité, comme cité au § 4.24.6.1 et refroidi à 30 °C a été versé dans un tube à essai avec couvercle et placé dans un bain-marie (30,0 ± 0,1 °C) pendant 5 à 10 min. 5 ml de la solution d'enzyme ont été ajoutés et le milieu réactionnel est maintenu à 30 °C, pH= 4,7 (tampon acétate) pendant 10 min. La réaction est arrêtée par ajout de 1 ml de solution de NaOH 2M. Le dosage de l'amidon est réalisé selon la méthode citée au § 4.24.5.

La quantité d'amidon hydrolysé a été déterminée par la formule (Eq. 4.12) suivante:

$$m = 0,1 \left(\frac{A_0 - A}{A_0} \right) \quad (4.12)$$

Avec

A_0 : valeur de l'absorbance de la solution témoin

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

Afin d'étudier la cinétique dans les conditions convenables, les solutions doivent avoir des concentrations d'enzymes qui donnent des rendements d'hydrolyse compris entre 20-70 % (m/m) (Gracheva et al., 1982).

Les vitesses initiales sont déterminées selon l'équation (Eq. 4.13) suivante :

$$V_0 = [(A_0 - A) / A_0] * [S]_0 / 10 \quad (4.13)$$

4.24.6.4 Méthode de détermination de l'exoaction des amylases

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

Un volume de 1ml de la solution de mouture intégrale ou d'amidon 1 % (m/v) prétraitée comme cité au § 4.24.6.1, ont été versé dans un tube à essai avec couvercle auquel a été ajouté 1 ml de la solution d' α -amylases de différentes sources. Après agitation, le tube a été placé dans un bain- marie à 20 °C pendant 3 min.

Un prélèvement de 1ml du mélange réactionnel a été analysé selon la méthode de DNS donnée au §2.24.4.1. Les vitesses initiales de l'hydrolyse enzymatique (saccharification) sont déterminées selon l'équation (Eq. 4.14) suivante

$$V_0 = C_{\text{maltose libéré}} / 3 \quad (4.14)$$

4.25 Analyse qualitative et quantitative des maltooligosaccharides dans les hydrolysats d'amidons de sorgho

Les oligosaccharides obtenus par hydrolyse enzymatique en utilisant différents systèmes amidon-amylase ont été analysés par chromatographie haute performance à échange d'anion HPAEC-PAD (High Performance Anion Exchange Chromatography With Pulsed Ampometric Detection) sur colonne Dionex CarboPac PA100 avec une détection ampérométrique pulsée afin de les identifier et quantifier.

L'analyse qualitative repose sur la détermination du temps de rétention r donné sur le chromatogramme et sa comparaison à celui des standards. L'analyse quantitative a consisté à déterminer l'aire du pic. La concentration de l'oligosaccharide a été déterminée en utilisant les chromatogrammes du standard interne.

L'appareil utilisé est un chromatographe liquide à haute performance d'échange d'ion couplé à une détection ampérométrique pulsée HPAEC-PAD. Le system Dionex : ICS-3000 (Dionex, Sunnyvale, CA, USA)

Il est composé de :

- ▀ Pré colonne : CarboPac PA-100 5x 50mm
- ▀ Colonnes : CarboPac PA100 4x 250mm
- ▀ Détecteurs : La détection est de type tri-impulsionnel grâce à un détecteur ampérométrique pulsé PAD (Pulsed Amperimetric Detector) ED40).
- ▀ Injecteur : l'injection automatique d'un volume de 25 µl est réalisée par un injecteur ICS 758.

Méthode expérimentale

a) Préparation des échantillons et des solutions standards (étalons)

Les échantillons d'hydrolysats ont été soumis à une dilution dans de l'eau ultra-pure à raison d'une concentration en sucres totaux maximale de 50 ppm (facteur de dilution de 1/100) et à une purification par filtration à travers des filtres pour seringues, nylon 25 mm ; 0,45 µm avant l'injection. Les solutions standards ont été préparées par dilutions des oligosaccharides, à différentes concentrations allant de 2 à 50 ppm. Les références des étalons sont données au tableau suivant:

Tableau 4.5 : références des oligosaccharides utilisés comme standards

Oligosaccharide	DP	Référence
D-(+) Glucose	1	SUPELCO, Bellefonte, USA (anomères mixtes), (47249)
Maltose	2	M8378, 95% HPAE-PAD, Sigma, monohydrate, (47288)
Maltotriose	3	SUPELCO, Bellefonte, USA, (47884)
Maltotétraose	4	SUPELCO, Bellefonte PA, USA, (47877)
Maltopentaose	5	SUPELCO, Bellefonte, USA, (47876)
Maltohexaose	6	SUPELCO, SUPELCO, Bellefonte, USA, (47873)
Maltoheptaose	7	SUPELCO, Bellefonte, USA, (47872)

b) Ajustement des paramètres

Pression : 100-3500 psi

Température T: 35 °C

Phase mobile : solvant d'hydroxyde de sodium (NaOH 100 mM)

Gradient : NaOH 100 mM et Acétate de sodium NaOAc de 600 mM en 65 min

Débit : 1,00 ml/min

Electrode en or ICS-3000 Gold (AU) 063723 de diamètre 1 mm,

c) Solvants utilisés:

A: NaOH 100 mM, **B:** NaOH 100 mM/NaAc 600 mM, **C:** NaOH 500 mM, **D:** H₂O mQ
pH: 13-10

TROISIÈME PARTIE: RESULTATS ET DISCUSSION

L'objectif principal a consisté à valoriser les céréalicultures locales de sorgho et mil perlé par la caractérisation de leurs amidons en vue de rechercher des propriétés intéressantes qui permettront d'envisager des applications industrielles dans leur état natif ou transformé.

Les résultats obtenus lors de cette étude sont présentés dans trois chapitres, le premier présente les régions de prospection et rend compte des phénotypes les plus fréquemment cultivés suite aux campagnes de récolte réalisées in-situ et les entretiens effectués avec les agriculteurs. Une caractérisation structurelle (densité, dimension, texture) des grains des cultivars de sorgho et mil sélectionnés est réalisée en comparant les résultats avec ceux des cultivars des autres régions du monde.

Le second chapitre rapporte les résultats d'isolement des amidons et leur propriétés physicochimiques et fonctionnelles (rhéologiques, thermiques).

Le troisième chapitre est consacré à l'étude cinétique de l'hydrolyse des amidons par des amylases de différentes sources afin de caractériser l'effet de la source de l'amidon et de l'enzyme et comprendre le mécanisme d'action enzymatique.

CHAPITRE 5:
CARACTÉRISATION AGROMORPHOLOGIQUE DES
PLANTES ET PHYSICOCHIMIQUE DES GRAINS

CHAPITRE 5: CARACTÉRISATION AGROMORPHOLOGIQUE DES PLANTES ET PHYSICOCHEMIE DES GRAINS

Ce premier travail de prospection aboutit à un inventaire des géotypes cultivés et commercialisés et leur caractérisation afin de constituer une banque de données des propriétés structurelles et de la composition chimique des grains, en lien avec les conditions agroclimatiques particulières de culture et de les comparer aux cultivars déjà étudiés.

Il permet aussi de voir si la commercialisation de ces grains peut être envisagée selon les critères du codex.

5.1 Prospection et échantillonnage

5.1.1 Présentation des régions d'échantillonnage

Les régions de Tidikelt (In Salah) et d'Ahaggar (Tamanrasset) sélectionnées sont présentées à la figure I.1 (annexe I). Une brève description de ces régions est donnée ci-après.

❖ *Tidikelt*

C'est une vaste région désertique située à 1300 km au sud d'Alger dans la wilaya (province) de Tamanrasset. Elle couvre près de 100000 km². L'oasis d'In Salah est la plus importante de la région. Elle est caractérisée par un climat du Sahara central, chaud l'été, tempéré l'hiver et très sec en toute saison (Mehdi, 2000).

Les moyennes mensuelles de températures ainsi que les cumuls mensuels des précipitations pendant la période de culture, relevées sous abris par l'ONM¹⁵ (Dar El-Beida) à la station d'In Salah (altitude : 268 m, latitude : 27°14 N, longitude : 02° 30 E) au cours de la période 2000-2006 sont respectivement 13,4- 47,5 °C et 2,2-29,3 mm/an.

❖ *Ahaggar*

L'Ahaggar est une région de la wilaya de Tamanrasset. Occupée par de nombreuses montagnes, elle couvre une superficie d'environ 500000 km². Les frontières algéro-nigériennes sont à 430 km au sud de Tamanrasset. Elle est caractérisée par un climat saharien, très sec. L'écart journalier de température peut atteindre 23 °C. Les moyennes mensuelles de températures et les cumuls mensuels des précipitations relevées sous abris par l'ONM à la station de Tamanrasset (altitude : 1362 m, latitude : 22°48 N, longitude : 05° 26 E) au cours de la période 2000-2006 sont respectivement 10,1-36,8°C et 7,9-170,4 mm/an.

¹⁵ ONM : Office Nationale de Météorologie

❖ Agadez

C'est la région steppique et désertique du Niger. La pluviométrie pour la période 2000-2007 avarié entre 247,3 et 52,8 mm/an, avec une moyenne de 147,0 mm/an d'après l'OMN¹⁶).

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

5.1.2 Prospection des régions et échantillonnage des cultivars

Depuis 2000, date du début des travaux initiés par notre équipe de recherche, plusieurs visites de prospection et d'échantillonnage ont été effectuées dans le Sahara d'Algérie.

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

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

Localement, le mil perlé est destiné à l'alimentation humaine et animale alors que le sorgho est destiné presque totalement à l'alimentation animale.

La distinction entre cultivars s'est faite sur la base des différences des caractéristiques morphologiques, des utilisations préconisées et des appellations données par les habitants. Les différentes appellations sont reprises au tableau 5.1 ci-après.

¹⁶ OMN : Office de Météorologie du Niger

Tableau 5.1 : Nom scientifique et commun des groupes inventoriés de sorgho et mil

Nom scientifique	Nom commun local		Nom commun (FAO, 1995)
	Tidikelt	Ahaggar	
Sorgho			
<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench	tafsout elbeida In Salah, tafsout lemkhalta In Salah, tafsout lhamra In Salah	tallak ouan hagggar, tafsout lhamra, abora	sorgho, grand mil, herbe de guinée, kafir, dura, mtama, jowar, cholam, koaliang, milo, milo-maïs
Mil perlé			
<i>P. glaucum</i> , <i>P. americanum</i> , <i>P. typhoides</i>	cultivars locaux : bechnet In salah, bachna baldia maghrout (sans soies) perlé, bechna baldia maghrout (avec soies), elbachna saffra (sans soies), elbachna saffra (avec soies). cultivars domestiqués : bachnet essoudane mkhalta (avec soies), bachnet essoudane touila, bachnet essoudane laksira	cultivars locaux : bechnet ouan hagggar, Enélé ouan Targa, ouan hagggar, Enélé ouan Djanet, Enélé ouan Tidikelt. cultivars domestiqués : bechnet ouan Agadèz, bechnet ouan Taboutaqut, bechnet ouan Tahoua, bechnet ouan Damergou	mil à chandelle, mil perlé, mil à spicules, bajra, cumbu

Dans la littérature, la présence de l'espèce *P. typhoides* a été signalée en Algérie (Pernes 1984) et rapportée par Gast et Adrian (1965). Celle du sorgho à balai a été mentionnée dans les publications de Cerighelli (1955). Les recherches en cours dans notre laboratoire ont permis d'identifier, selon la classification de Harlan et de Wet, la race *Durra*, qui est prédominante, la race *Bicolor* et la race intermédiaire *Caudatum-Durra*. La culture des races de *Caudatum*, *Bicolor* et *Durra* a été déjà signalée par Cerighelli (1955).

5.2 Caractérisation agromorphologique de quelques cultivars de sorgho et de mil

➤ *Sorgho*

La plupart des cultivars de sorgho cultivés dans les deux régions appartiennent à l'espèce *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Elle présente une grande diversité morphologique. On distingue deux cultivars locaux de sorgho : sorgho blanc et pigmenté représentés respectivement à la figure I.2 et I.3 (annexe I), en plus du sorgho introduit.

Le sorgho est appelé localement Tafsout el beldia ettouila. Il se distingue par la longueur de sa tige qui peut atteindre jusqu'à 2,5 m; un feuillage abondant et des épis de couleurs différentes (épis blanc, épi rouge et épi mixte (blanc et rouge)).

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

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

➤ *Mil perlé*

Le mil local, représenté à la figure I.4 (annexe I), se caractérise par un feuillage abondant et une grande taille, et par des épis de couleurs diverses: jaune verdâtre, marron, violet, gris et noir. Selon les informations recueillies auprès des habitants de la région, leurs grains ont une valeur alimentaire et des propriétés gustatives moins appréciables que le sorgho ou les mils importés.

Dans les régions de prospection, les mils cultivés sont les plus abondamment présents contrairement aux mils sauvages qui sont rares. Selon la classification par races, les mils observés appartiennent à la race *Thyphoides*. Les races *Leonis*, *Globosum* et *Nigritarum* n'ont pas été retrouvées.

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

Dans notre étude, nous avons sélectionné les cultivars locaux de sorgho blanc et pigmenté de la région d'In Salah ainsi que de mil d'In Salah et d'Ahaggar, les plus abondants, afin de s'assurer de leur disponibilité. Vu leur adaptation à l'écosystème local particulier, les grains et leurs amidons pourraient présenter des propriétés intéressantes.

5.3 Propriétés structurelles des grains de sorgho et de mil perlé

La structure physique et la composition chimique sont deux facteurs très importants de caractérisation des ressources phylogénétiques. Elles influencent les propriétés mécaniques et technologiques. De même que les phénomènes thermiques et de transfert de matières et de chaleur.

Les grains de sorgho (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) et de mil (*Pennisetum glaucum*) se caractérisent par une diversité de couleur, de forme et de dimension. Des échantillons de grains de cultivars de sorgho ainsi que ceux du mil de différentes récoltes retenus pour la caractérisation sont représentés, respectivement, aux figures I.5 et I.6 (annexe I).

Les caractéristiques physiques des grains de céréales les plus importantes sont la couleur et l'épaisseur du péricarpe; la forme, la dimension, la dureté du grain et la texture de l'albumen. Elles jouent un rôle important dans le comportement au cours de la transformation. Les figures 5.1 et 5.2 suivantes montrent certaines caractéristiques d'entre elles (aspect de la surface, forme et couleur) ainsi que les différentes parties qui composent les grains (endosperme, couche d'aleurone, germe et péricarpe).

Quelques caractéristiques physiques des grains de sorgho et de mil de type caryopse ont été déterminées et reportées au tableau 5.2.

Les échantillons de grains de cultivars examinés sont exempts d'odeur et de souillure. Le nombre de classes d'impuretés identifiées est limitée, on retrouve essentiellement du sable (impuretés minérales), des tiges, grains cassés, déshydratés et endommagés (impuretés céréalières). Les grains parfaitement sains représentent en masse plus de 91 %.

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

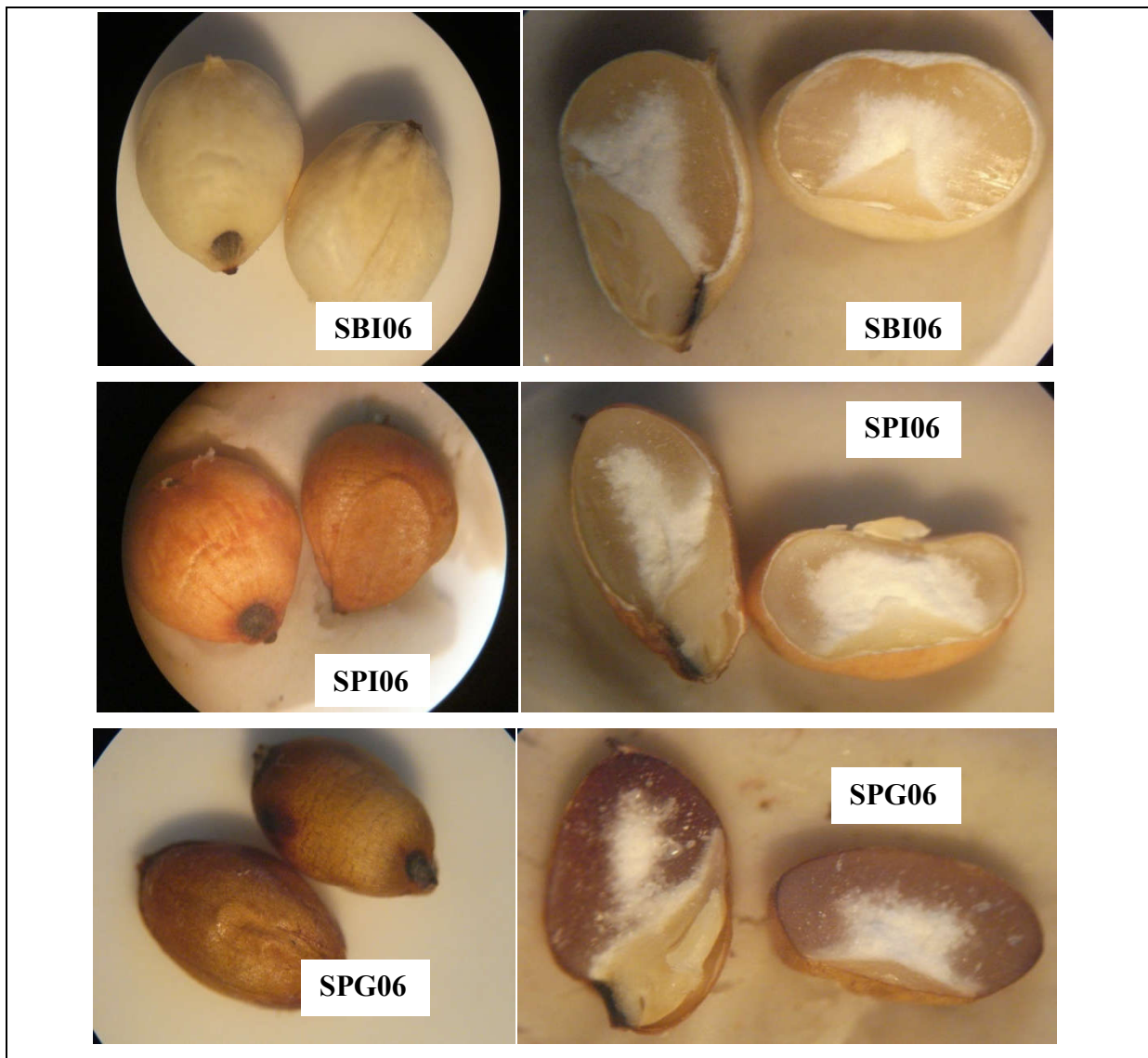


Figure 5.1: Photographies de grains entiers et des coupes longitudinale et transversale de sorgho blanc, SBI06 ; sorgho pigmenté, SPI06 d'In Salah et de sorgho hautement pigmenté, SPG06 des USA

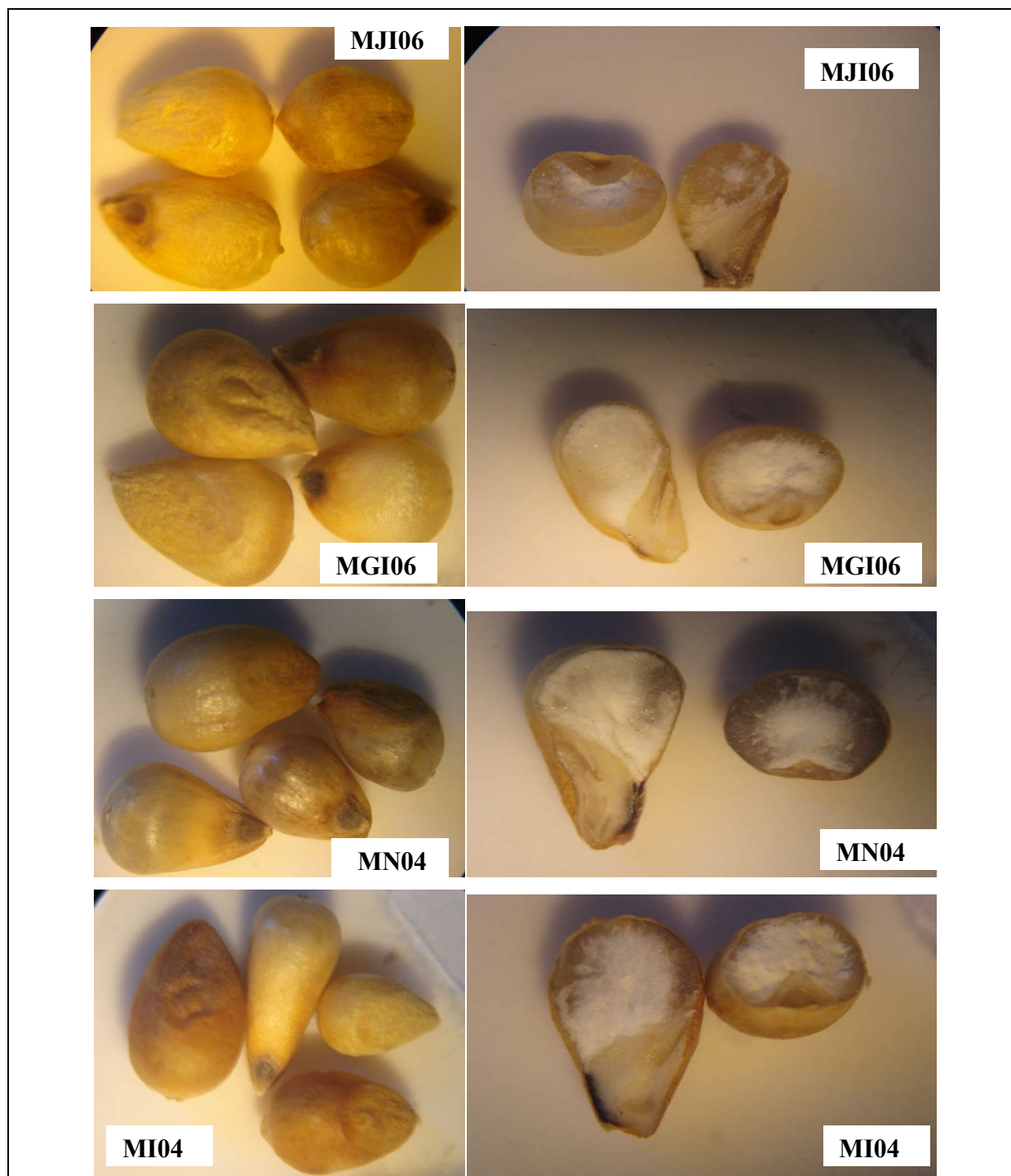


Figure 5.2 : Photographies de grains entiers et des coupes longitudinale et transversale des mils perlés des régions de Jafo, MJI06 ; Ouini, MGI06 et de la région d'Agadez, MNO4

Tableau 5.2 : Caractéristiques structurelles des grains de sorgho et de mil analysés

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

La masse de 1000 grains de sorgho varie dans une fourchette très étendue qui va de 3 à 80 g (FAO, 1995 ; Serna-Salvador et Rooney, 1995 ; Wrigley, Corke et Walker, 2004). Une moyenne de 23 g est donnée par la CEA (1985). Les valeurs obtenues pour les sorghos blanc et pigmenté locaux varient entre 23 et 34 g. et sont comprises dans cette fourchette.

Pour le mil perlé, la masse de 1000 grains varie de 2,5 à 14 g (FAO, 1995) avec une valeur moyenne de 7 g donnée par CEA (1985) et de 8 g donnée par FAO (1995). Pour les mils analysés, cette caractéristique (5-9 g) se rapproche, pour la plupart, de la valeur moyenne. Les grains de mil de Tamanrasset présentent la plus faible valeur. Cette variation est inhérente au génotype et aux conditions agroclimatiques (Lee, Pedersen et Shelton, 2002).

La masse moyenne de 1000 grains de mil perlé ou de sorgho est faible comparativement à celle du riz (27 g), de l'avoine (32 g), du blé, de l'orge (37 g) et du maïs (285 g). Celle du seigle (21 g d'après CEA (1985)) est voisine de celle du sorgho.

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

Les dimensions des grains de sorgho et de mil analysés sont données respectivement aux figures 5.3 et 5.4. Les grains des cultivars locaux de sorgho possèdent des longueurs moyennes comprises entre 4,37 et 4,70 mm. Les grains de l'espèce *Sudan grass* (SPG06) sont les plus allongés. Chez les mils perlés, la longueur moyenne est relativement plus faible et la variation est plus importante (2,62-3,57 mm).

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

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

Pour les mils, Jain et Bal. (1997) ont donné les fourchettes respectives de 2,98-3,36 mm, 1,86-2,24 mm, et 1,70-2,00 mm respectivement pour la longueur, la largeur et l'épaisseur. La largeur et l'épaisseur des cultivars locaux sont proches contrairement à la longueur qui est assez distincte.

Il existe très peu d'informations disponibles concernant les corrélations entre la taille du grain de sorgho et de mil et l'effet du phénotype et de l'environnement ainsi que l'influence de cette taille sur les propriétés physicochimiques des produits à base d'amidon (Lee et al., 2002).

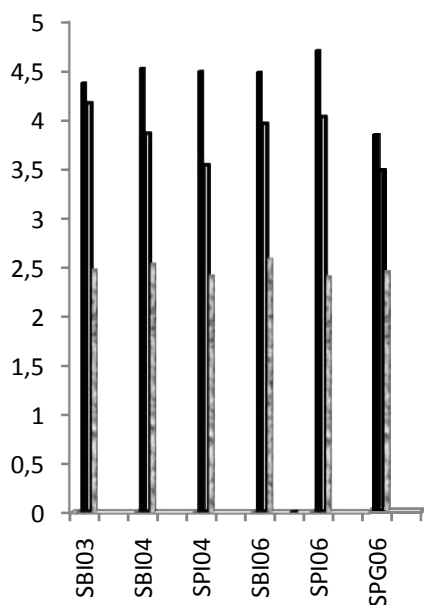


Figure 5.3 : Dimensions des grains de sorgho

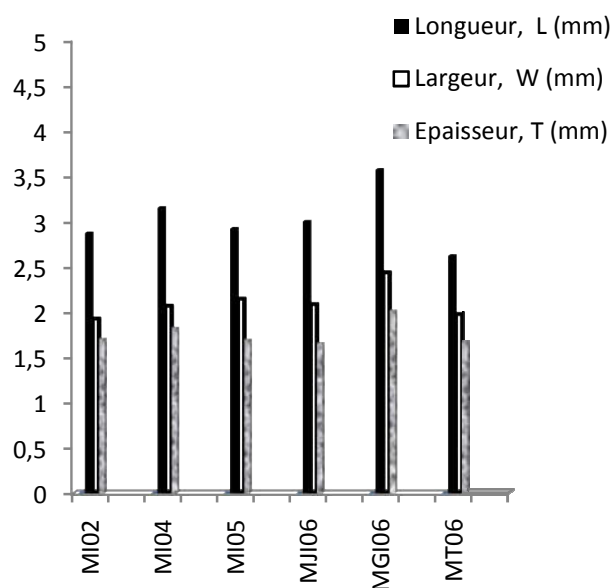


Figure 5.4 : Dimensions des grains de mil perlé

Les valeurs moyennes du diamètre géométrique, de la sphéricité, de la surface et du volume des grains ont été déterminées. Les résultats donnés aux figures 5.5 et 5.6 montrent que la différence des dimensions des grains au sein d'une même céréale est peu significative. Les diamètres géométriques des sorghos sont supérieurs à ceux des mils avec un rapport pouvant atteindre 1,7 contrairement aux coefficients de sphéricité qui sont relativement voisins.

Comparée aux valeurs données par Jain et Bal (1997) ($\emptyset = 0,937-0,942$), la sphéricité des mils locaux est plus faible. La surface et le volume des grains de sorgho sont 2 à 3 fois plus grands que ceux des grains de mil. Le volume des grains des mils locaux est inférieur à celui des grains de mils analysés par Jain et Bal (1997) et qui est compris entre 3,79

et $5,79 \text{ mm}^3$. La plupart des cultivars possèdent des surfaces de grain comprises dans l'intervalle $12,48-16,37 \text{ mm}^2$.

Chez le sorgho, ce sont les grains des cultivars de sorgho blanc d'In Salah récoltés en 2003 et 2006 qui présentent les plus grandes surfaces et volumes. Les grains de sorgho pigmenté d'In Salah 2004 et de sorgho importé des USA présentent les valeurs les plus faibles. Chez les mils, les grains de mil Ouini d'In Salah sont les plus gros et les grains de mil d'In Salah (2002) et de Tamanrasset 2006 sont les plus petits. Rappelons que lors de la période de croissance, la température était très élevée ($36 \text{ }^\circ\text{C}$).

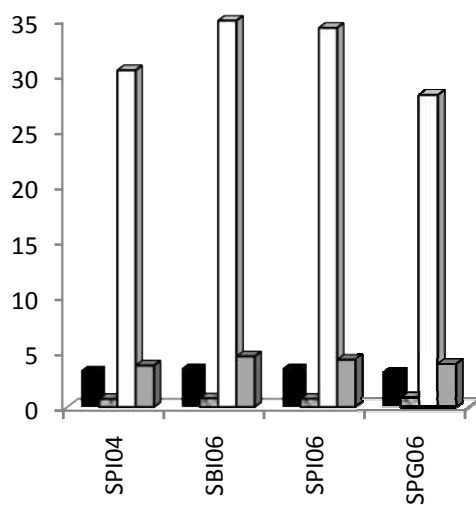


Figure 5.5 : Valeurs moyennes du diamètre géométrique G_{md} , de la sphéricité \emptyset , de la surface S et du volume V des grains de sorgho

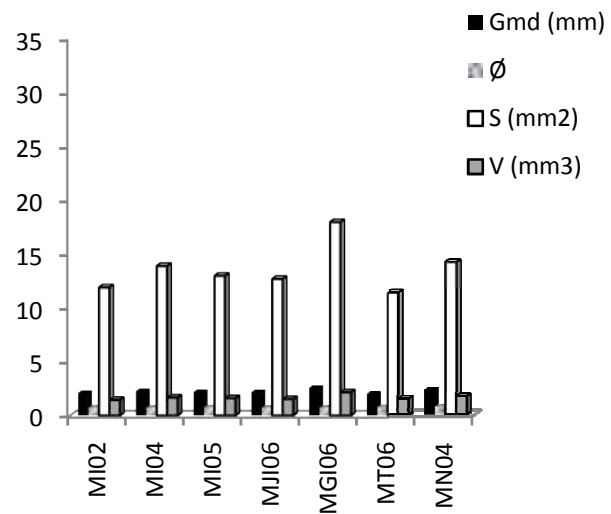


Figure 5.6 : Valeurs moyennes du diamètre géométrique G_{md} , de la sphéricité \emptyset , de la surface S et du volume V des grains de mil perlé

5.4 Texture de l'endosperme des grains

L'albumen du grain de sorgho est généralement divisé en deux parties: une couche périphérique cornée (ou vitreuse) située immédiatement sous l'aleurone riche en protéines, et un noyau central farineux. Le rapport existant entre les couches cornées et farineuses exerce une influence sur l'aptitude à la mouture des grains et affecte également sa teneur en protéines. Il détermine aussi la texture du grain qui influence les propriétés technologiques des moutures et la digestibilité in vitro de l'amidon dans les moutures (Wong et al., 2009 et CEA, 1985).

Dans les grains à texture tendre, il y a plus d'endosperme farineux que d'endosperme corné; en revanche, les grains à texture dure contiennent plus d'endosperme corné.

La texture du grain est l'un des paramètres les plus importants de la qualité alimentaire et de la transformation du sorgho et des mils. De même, elle influence la forme des granules d'amidon. Les granules d'amidon de l'endosperme farineux sont sphériques et gros alors que dans l'endosperme corné, les granules sont polyédriques.

Avec un endosperme également divisé en zones cornée et farineuse, les grains sont de texture intermédiaire. Les classes de grains (farineux, intermédiaires et cornés) de sorgho et de mil ont été déterminées et reportées sur les histogrammes aux figures 5.7 et 5.8.

La texture diffère d'un grain à un autre. L'endosperme contient simultanément des zones farineuses et des zones cornées, ce qui leur confère une texture intermédiaire. Cela diffère de ce qui a été rapporté par la FAO (1995) où dans le mil perlé et le sorgho, la texture varie d'un endosperme entièrement farineux à un endosperme entièrement corné. En effet, pour le mil local et importé ainsi que le sorgho blanc, plus de 60 % des grains possèdent une texture farineuse très tendre contrairement au sorgho pigmenté qui possède une texture intermédiaire.

Avec les procédés de mouture à sec, le rendement de farine est plus élevé dans le type corné que dans le type farineux. En revanche, dans la mouture humide, le rendement d'amidon est plus élevé dans les génotypes à endosperme tendre.

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

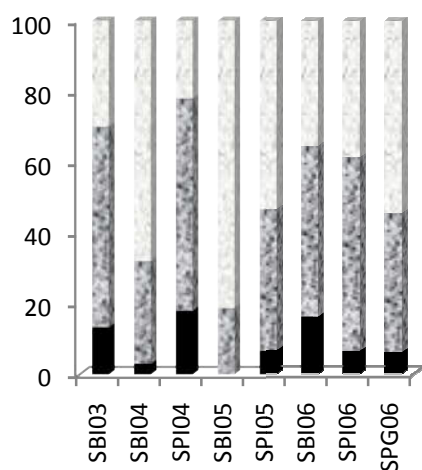


Figure 5.7: Pourcentage de grains de sorgho farineux, intermédiaires et cornés

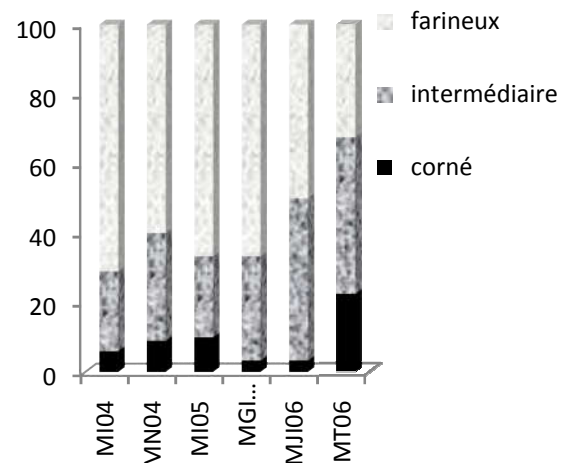


Figure 5.8: Pourcentage de grains de mil perlé farineux, intermédiaires et cornés

5.5 Composition chimique des grains de sorgho et de mil perlé

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

Les teneurs des grains de sorgho et de mil sélectionnés en humidité, cendres, sucres solubles, amidon, protéines, lipides et fibres ont été déterminées. Les résultats sont récapitulés dans les tableaux 5.3 et 5.4 respectivement pour le sorgho et le mil perlé.

Tableau 5.3 : Composition chimique des grains de sorgho (en % de matière sèche)

Cultivar	SBI03	SBI04	SPI04	SBI06	SPI06	SPG06
Humidité	8,34 ±0,19	7,43 ±0,01	7,87 ±0,07	8,39 ±0,16	10,12 ±0,26	8,40 ±0,28
Cendres	1,66 ±0,11	1,61 ±0,09	1,47 ±0,03	1,56 ±0,10	1,59 ±0,08	1,65 ±0,11
Sucres solubles	3,35 ±0,06	2,48 ±0,13	3,49 ±0,21	3,51 ±0,36	3,42 ±0,34	3,84 ±0,48
Amidon	65,34 ±0,42	66,81 ±0,27	65,29 ±0,11	67,53 ±0,95	65,72 ±0,21	65,89 ±0,57
Lipides totaux	4,28 ±0,07	4,37 ±0,09	4,21 ±0,02	4,49 ±0,04	4,39 ±0,08	4,50 ±0,06
Protéines	13,50 ±0,31	12,27 ±0,18	12,59 ±0,03	13,47 ±0,29	12,58 ±0,37	11,54 ±0,25
Fibres insolubles	5,53 ±0,09	5,52 ±0,23	6,20 ±0,57	5,40 ±0,13	5,05 ±0,18	5,25 ±0,21

*SBI03 : sorgho blanc d'In Salah récolté en 2003 ; SBI04 : sorgho blanc d'In Salah récolté en 2004 ;
 SPI04 : sorgho pigmenté d'In Salah récolté en 2004 ; SBI06 : sorgho blanc d'In Salah récolté en 2006 ;
 SPI06 : Sorgho pigmenté d'In Salah récolté en 2006 ; SPG06 : sorgho pigmenté américain récolté en 2006.*

Tableau 5.4 : Composition chimique des grains de mil perlé (en % de matière sèche)

Cultivar	MI02	MI04	MI05	MJI06	MGI06	MT06	MN04
Humidité	11,45 ±0,17	8,01 ±0,09	9,52 ±0,29	9,81 ±0,26	10,06 ±0,18	9,79 ±0,13	6,71 ±0,06
Cendres	2,03 ±0,14	2,04 ±0,01	1,66 ±0,13	1,81 ±0,10	2,34 ±0,13	1,88 ±0,14	2,06 ±0,06
Sucres solubles	3,85 ±0,23	3,63 ±0,16	2,79 ±0,39	3,76 ±0,05	3,41 ±0,28	3,40 ±0,09	3,28 ±0,27
Amidon	65,39 ±0,42	63,12 ±0,15	68,75 ±0,19	59,80 ±0,42	63,09 ±0,30	67,80 ±0,83	63,40 ±0,09
Lipides totaux	6,02 ±0,03	6,64 ±0,11	7,19 ±0,05	6,04 ±0,06	5,99 ±0,05	6,97 ±0,08	6,54 ±0,07
Protéines	11,22 ±0,50	11,17 ±0,02	13,43 ±0,47	14,44 ±0,56	11,27 ±0,38	10,78 ±0,31	12,05 ±0,14
Fibres insolubles	5,44 ±0,32	6,64 ±0,37	5,02 ±0,25	6,75 ±0,31	6,17 ±0,31	5,08 ±0,20	6,46 ±0,21

MI02 : mil récolté à In Salah en 2002 ; *MI04* : mil récolté à In Salah en 2004 ; *MI05* : mil récolté à In Salah en 2005 ;
MJI06 : mil récolté à Jafo, In Salah en 2006 ; *MGI06* : mil récolté à Ouini, In Salah en 2006 ;
MT06 : mil récolté à Tamanrasset en 2006 ; *MN04* : mil récolté à Agadez, Niger en 2004.

- ***L'humidité***

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

Ces céréales possèdent une humidité variant entre 7,43 à 10,12 % et 6,71 à 11,45 % respectivement pour les sorghos et les mils. Ces valeurs sont faibles par rapport aux autres sorghos et mils cultivés dans d'autres régions (11-12 %) (CEA, 1985). Ceci peut être la conséquence de l'effet des conditions hyperarides des régions de culture où la température peut atteindre 47 °C.

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

- ***Les cendres***

Les cendres peuvent constituer une bonne source d'oligoéléments. Chez les mils, en se référant au tableau 13.5, le taux de cendres avoisine 2 %. Il est légèrement plus élevé dans les grains de sorghos. Il l'est aussi par rapport à d'autres céréales comme le blé qui en contient en moyenne 1,8 %. La composition du sol et sa nature sont les principaux facteurs qui déterminent la teneur de la graine en sels minéraux (FAO, 1995). Les régions de culture sont justement riches en sels (Mehdi, 2000). Ces sels analysés dans les grains sont essentiellement le phosphore, le potassium, le calcium, le magnésium, le fer, cuivre et le manganèse (Hosney, 1986 et FAO, 1995).

- ***Les glucides***

L'amidon est présent dans les cultivars de sorgho et le mil analysés avec un taux appréciable. Ce taux varie entre 65,29 et 67,53 % chez les sorghos avec des valeurs plus élevées chez le sorgho blanc relativement au sorgho pigmenté. Il est compris entre 59,80 et 68,75 % chez les mils. Vu les différences significatives en taux d'amidon entre le sorgho blanc et pigmenté et entre le sorgho blanc (ou pigmenté) de différentes récoltes, on peut supposer que l'amidon est influencé par le phénotype et les conditions environnementales. FAO (1995) rapporte des domaines de 56-73 % pour le sorgho et 62,8-70,5 % pour le mil,

avec des moyennes respectives de 69,5 et 66,7 %. Serna-Saldivar et Rooney (1995) donnent des valeurs comprises entre 63,1 à 78,5 % pour le sorgho.

Les sucres solubles sont présents en faibles teneurs dans les céréales. Pour la plupart des cultivars de sorgho et de mil étudiés, les teneurs varient entre 3 et 4 %. Ces taux sont proches de ceux trouvés pour le blé (2,8 %). Hosoney (1986) a montré que le taux de sucres solubles dans le mil (2,6 -2,8 %) est inférieur à celui trouvé dans le sorgho.

FAO (1995) rapporte d'autres intervalles : 1,3-5,2 % et 2,16-2,78 % respectivement pour le sorgho et le mil. Cette étude a montré que pour les variétés étudiées, la teneur en sucres solubles est relativement plus élevée dans les mils (3,63 et 3,28 %) et la différence entre les cultivars de sorgho et de mil est peu significative.

- ***Les protéines***

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

Les grains des cultivars analysés présentent une quantité appréciable en protéines. Chez les sorghos, les taux sont relativement élevés (13 %), excepté chez le sorgho américain qui présente la valeur la plus faible (11,54 %). Cependant, chez le mil perlé, ces teneurs varient considérablement entre les cultivars, entre la valeur de 10,78 % obtenue pour le cultivar de mil de Tamanrasset et celle de 14,44 %, enregistrée pour le mil Jafo d'In Salah.

La teneur en protéines chez le sorgho est presque égale et comparable à celle du maïs et du blé. FAO (1995) donne des intervalles de 4,4-21,1 % et 5,8-20,9 %, respectivement pour le sorgho et le mil. Le taux des protéines chez les cultivars locaux semble être légèrement supérieur aux moyennes respectives (11,4 % et 10,6 %).

La composition en acides aminés du sorgho est similaire à celle du maïs (Hosoney, 1987 ; Serna-Saldivar et Rooney, 1995). Néanmoins, la teneur en lysine dans le sorgho est plus faible et celle du tryptophane est plus élevée. Vu l'importance de la qualité des protéines et des acides aminés dans la valeur nutritive de ces céréales, une deuxième équipe du laboratoire s'est fixée comme objectif d'évaluer la qualité protéique des mêmes sorghos et mils.

Les protéines ont été extraites selon leur solubilité dans différents solvants. Cinq fractions ont été obtenues: les albumines, (8-20% de la fraction protéique), les globulines (7-13%), les prolamines (20-40 %), les prolamines après réduction (10-28 %), et enfin les gluténines (15-30 %).

La digestibilité in vitro des protéines par la pepsine varie entre 25 à 65 %. Par rapport à la norme OMS, la plupart des cultivars locaux de sorgho présentent des teneurs élevées en acides aminés essentiels, avec des valeurs comprises entre 0,9 et 2,6 % à l'exception de la lysine, la méthionine et la cystéine (Mokrane et al., 2010).

Dans la fraction albumine et globuline du mil, deux nouvelles protéines à activité antifongique ont été purifiées et caractérisées avec succès pour la première fois. Ces protéines de type XIP (Xylanase Inhibitor Protein) présentent une grande similarité avec les XIP déjà purifiés à partir d'autres céréales (Mokrane et al., 2009).

Cette étude a confirmé qu'en termes de quantité et de qualité, les protéines de sorgho pourraient servir de source d'acides aminés essentiels et de protéines dans l'avenir.

- ***Les lipides totaux***

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

- ***Les fibres insolubles***

Plusieurs méthodes de dosage des fibres alimentaires sont proposées. Nous avons adopté la méthode de VAN SOEST qui détermine essentiellement la fraction composée de cellulose, d'hémicellulose et de lignine. Cette méthode nous a permis de déterminer le taux des fibres insolubles concentrées généralement dans la couche d'aleurone (l'enveloppe) et les parois cellulaires. Chez les différents cultivars de sorgho et de mil perlé, le taux des fibres insolubles varie entre 5,0 et 6,8 %.

Les fibres alimentaires dans le sorgho et le mil sont constituées en majeure partie de cellulose (Cardoso et Tardin, 2013). La teneur dans le sorgho pigmenté est supérieure à celle du sorgho blanc en raison de la contribution des polyphénols à la fraction lignine (FAO, 1997). D'après Hoseney (1987), le blé, l'orge, le seigle et le maïs présentent des taux plus élevés que ceux du sorgho.

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

Il serait souhaitable, pour la suite du travail, de déterminer la fraction des fibres solubles, doser les différentes fractions des fibres insolubles et évaluer l'effet de la décortication sur les teneurs en fibres. Le choix des méthodes et leurs limitations sont importants car des variations non négligeables peuvent être observées en raison des méthodes appliquées.

- ***Les tanins***

Certains cultivars de sorgho possèdent sous le péricarpe une couche fortement pigmentée en brun ou pourpre appelée testa. Ces pigments contiennent des tanins. Ces derniers protègent les récoltes de la germination et de l'attaque des insectes et des oiseaux. Cependant, ils diminuent leur valeur nutritive de 5-15 %. Ils affectent aussi l'activité des enzymes lors du maltage. Néanmoins, ils constituent une source importante d'antioxydants (Wrigley, Corke et Walker, 2004).

La teneur en tanins dans les graines de sorgho pigmenté est de 0,46 % et 0,31 % dans le sorgho blanc. Ces taux sont inférieurs à 1 %, valeur recommandée par la norme de qualité donnée par l'association générale des producteurs de blé et autres céréales ([www. Agpb.fr](http://www.Agpb.fr)) et supérieures à ceux rapportés par BeMiller et Whistler (1996) (0,003-0,17 %).

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

CHAPITRE 6:
ISOLEMENT ET PROPRIÉTÉS PHYSICOCHEMIQUES ET
FONCTIONNELLES DES AMIDONS DE SORGHO ET DE
MIL PERLÉ

CHAPITRE 6: ISOLEMENT ET PROPRIÉTÉS PHYSICOCHEMISTIQUES ET FONCTIONNELLES DES AMIDONS DE SORGHO ET DE MIL PERLÉ

6.1 Isolement des amidons

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

6.1.1 Essais d'isolement préliminaires et améliorés

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

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

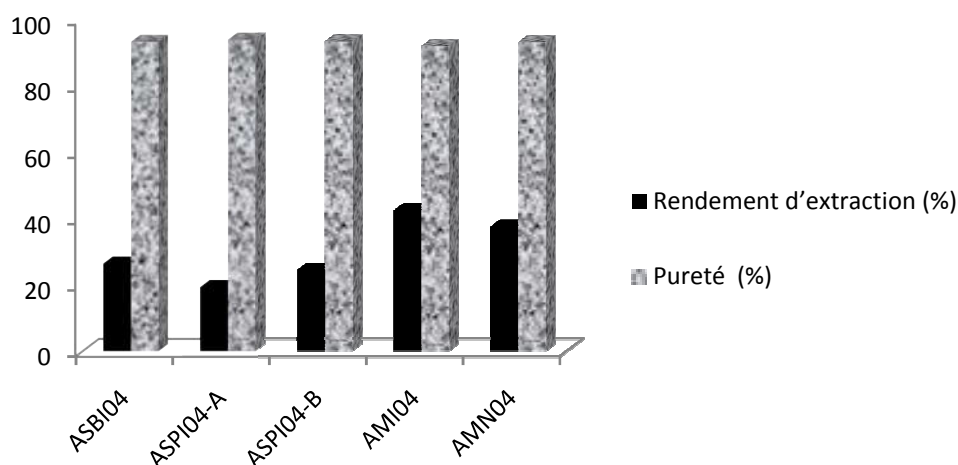


Figure 6.1 : Rendement d'extraction des amidons de sorgho et mil et pureté des extraits

En vue d'améliorer le rendement après identification des étapes qui influent le plus sur le rendement d'extraction, un deuxième travail a été effectué en apportant quelques modifications qui consistent en :

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

6.1.2 Bilan matière

Le bilan matière des opérations d'isolement a été calculé. Il concerne les fractions suivantes:

- ***Eaux d'extraction d'amidon*** : correspond aux volumes d'eau résiduaire comprenant l'eau de trempage, l'eau de lavage des grains, l'eau de filtration lors du tamisage et l'eau de purification par centrifugation. Les volumes d'eau d'extraction utilisés sont respectivement égaux à $1,64 \pm 0,17$ l et $1,83 \pm 0,05$ l pour le sorgho blanc et le mil local. Ces volumes représentent environ 1/5 des volumes consommés dans les premiers essais.
- ***Résidu du tamisage*** : correspond au culot obtenu après passage de la suspension à travers les deux tamis
- ***Résidu de purification*** : correspond à la masse récupérée en raclant la couche superficielle de protéines après centrifugation et après séchage de l'extrait.
- ***Extrait d'amidon*** : correspond à la fraction récupérée après purification riche en amidon.

Les teneurs en amidon dans les fractions rapportées à la quantité d'amidon contenu initialement dans les grains de sorgho blanc et de mil sont présentés au tableau 6.1. Une augmentation des pertes d'amidon en fonction de la progression dans les étapes d'extraction a été observée. Des extraits d'amidon représentant 59,12 % pour le sorgho et 61,24 % pour le mil local ont été récupérés.

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

pilote Batter (Massaux et al. 2008) mais supérieures à celles obtenues par Vansteeland et Delcour (1999) (24 à 33 %).

Le taux d'amidon perdu est plus élevé dans la fraction récupérée lors de l'épuration de l'extrait d'amidon, en raison des difficultés rencontrées lors de la séparation de l'amidon des protéines et fibres. Une purification de cette fraction a été effectuée par centrifugation. Cette opération a permis d'améliorer le rendement d'extraction d'amidon.

La procédure d'extraction de l'amidon à partir du sorgho et de mil reste une opération très délicate. Les résultats du tableau 6.1 montrent que la perte en amidons la plus importante est observée lors de l'étape de purification. Un meilleur procédé serait dès lors à envisager.

Tableau 6.1 : Taux de matière sèche (%) et d'amidon dans les différentes fractions résiduelles obtenues lors des étapes d'isolement d'amidon

Fraction résiduelle	Matière sèche (%)		Amidon (%)	
	SBI04	MI04	SBI04	MI04
Eaux d'extraction	7,65	9,71	3,44	3,97
Résidu de tamisage	11,37	16,00	6,3	5,51
Résidu d'épuration	23,87	21,63	28,63	27,00
Extrait d'amidon	53,75	49,46	59,12	61,24

Les rendements d'isolement ne sont pas très élevés par rapport à d'autres céréales, ils varient entre 57 et 68 % pour le sorgho et 50 et 62 % pour le mil. Des différences de rendement sont notées chez les deux céréales. La pureté des extraits d'amidon est très appréciable car supérieure à 88 % (figure 6.2 et 6.3).

Il est à signaler que le procédé d'isolement peut contribuer à des variations dans la distribution de la taille des granules, leur solubilité, leur pouvoir de gonflement et leur propriété de viscosité (Singh et al., 2009 ; Srichuwong, 2005).

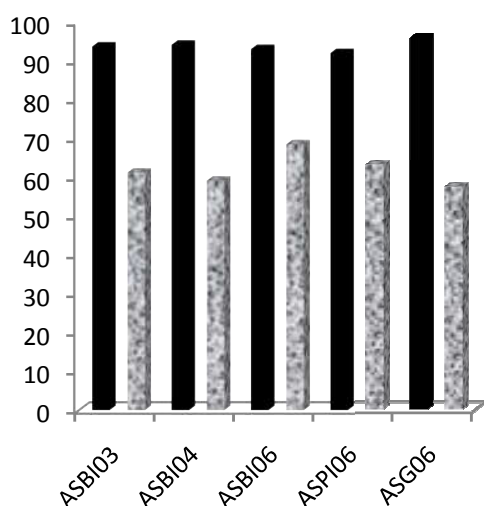


Figure 6.2 : Pureté et rendement d'isolement des amidons de sorgho après amélioration du procédé

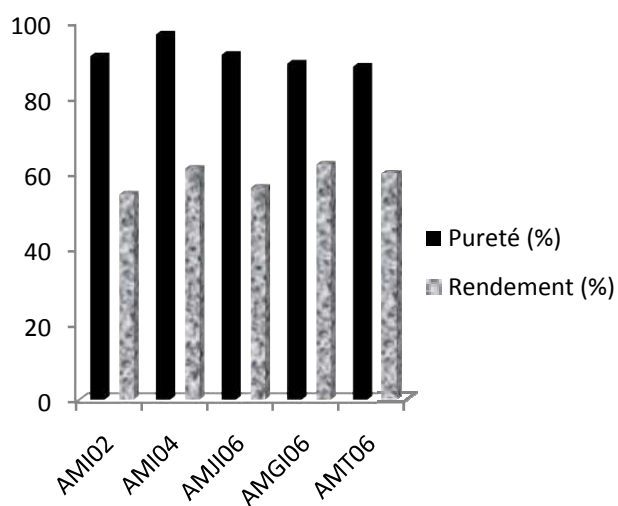


Figure 6.3 : Pureté et rendement d'isolement des amidons de mil perlé après amélioration du procédé

6.2 Composition chimique des amidons isolés

6.2.1 Amidon et composés résiduels des extraits

La composition chimique en humidité, amidon et protéines des extraits d'amidon à partir de sorgho blanc et pigmenté ainsi que du mil est donnée par le tableau 6.2 ci-dessous:

Tableau 6.2 : Teneurs en amidon et composés résiduels des extraits

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

Le taux de protéines résiduelles indique la pureté de l'extrait d'amidon, Tester et Morrison (1990) considèrent les amidons comme purs pour des taux inférieurs à 0,6%. Les extraits sont donc considérés comme des amidons purs. Chanapamokkhot et Thongngam (2007) ont obtenu des taux de 0,26 et 0,31 % en utilisant la méthode de Wang et ses collaborateurs. Beleia, Varriano-Marson et Hosoney (1980) ont obtenu des extraits d'amidon de cinq cultivars de mil en Ouganda avec des teneurs en protéines résiduelles de 0,44-0,77 % et en humidité de 10,8-14,1 % relativement plus élevées.

6.2.2 Teneur en amylose et amylopectine

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

Les teneurs en amylose des amidons analysés ont été déterminées et présentées aux figures 6.4 et 6.5. Les teneurs en amylopectine et le rapport amylose/amylopectine ont été déduits.

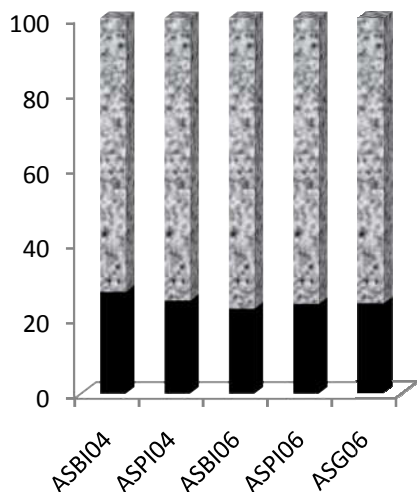


Figure 6.4 : Teneurs en amylose et amylopectine dans les amidons de sorgho

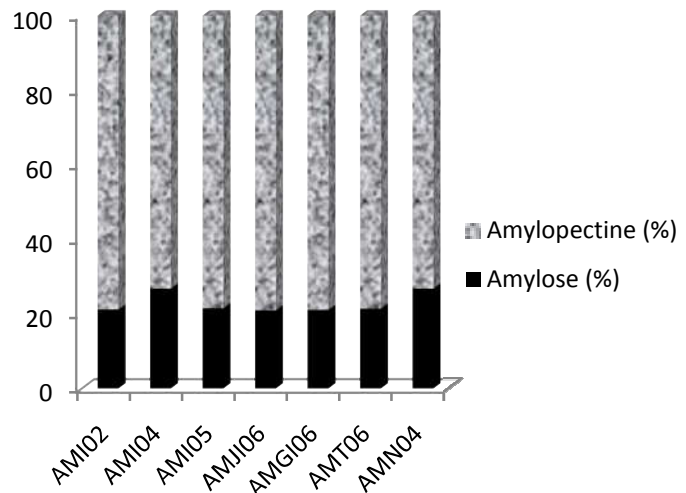


Figure 6.5 : Teneurs en amylose et amylopectine dans les amidons de mil perlé

Les amidons natifs, selon leur origine botanique, possèdent des teneurs en amylose très variables. Ils ont typiquement des valeurs moyennes de 17 % d'amylose pour l'amidon de tapioca et 28 % d'amylose pour l'amidon de maïs et de blé (Jenkins et Donald, 1995). Il existe également des amidons qui contiennent presque exclusivement de l'amylose (amylo) ou encore exclusivement de l'amylopectine (waxy). L'amylose joue un rôle dans les propriétés de gonflement, de gélatinisation et de fermeté des gels d'amidon (Tester et Morrison, 1990; Chanapamokkhot et Thongngam, 2007) et dans la texture des pâtes cuites élaborées avec la farine (Chanteraux et al. 2013, FAO, 1995).

D'après les résultats obtenus, les variétés sélectionnées de sorgho et de mil sont considérées comme des variétés normales. En effet, Beta et Coke (2001) estiment que les variétés qui ont des teneurs en amylose entre 21 et 34 % sont considérées comme variétés normales (non waxy).

Une différence au sein d'un même groupe de sorgho *bicolor* a été constatée. Effectivement, les taux obtenus varient entre 22,64 et 27,10 % pour le sorgho et 20,96 et 26,80 % pour le mil.

Singh et al. (2009) renseignent un intervalle de 11,2-28,8 % pour les géotypes de sorgho blanc cultivés en Inde. Pour le sorgho rouge cultivé en Afrique du Sud examiné par Beta, Corke et Taylor (2000), le taux d'amylose (26,5 %) est relativement élevé. Les taux obtenus par Beta et Corke (2001) pour les variétés de sorgho cultivées au Zimbabwe varient entre 20,9 et 30,2 %. FAO (1995) rapporte des intervalles de 21,2-30,2 % et 21,9-28,8 % d'amylose avec des moyennes de 26,9 et 25,9 % respectivement pour le sorgho et le mil perlé. Les grains de cultivars de sorgho de Thaïlande présentent des valeurs d'amylose de 25,35 et 27,18 % (Chanapamokkhot et Thongngam, 2007).

Comparativement aux amidons d'autres sources botaniques (tableau 6.3), le sorgho blanc et le mil importé présentent une composition en amylose relativement proche de celle du blé et du maïs.

Tableau 6.3 : Teneur en amylose et amylopectine des amidons de différentes sources botaniques (Wetz, 2011)

Source botanique	Amylose (%)	Amylopectine (%)
Maïs	28	72
Pomme de terre	21	79
Blé	28	72
Maïs cireux	0	100
Riz	17	83
Amylomaïs	50-80	50-20
Pois	35	65
Manioc	17	83

6.2.3 Endommagement des amidons

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

Le rôle que joue ces amidons dits endommagés sur la capacité d'absorption d'eau d'une farine, son aptitude à la fermentation et en conséquence sur les propriétés organoleptiques des produits finis, a fait l'objet de nombreuses études (Audidier, 1966 ; Farrand, 1964 ; Medcalf et Berger, 1986).

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

- ✓ l'amélioration des résultats en panification (hydratation, fermentation),
- ✓ l'adjonction optimale des quantités d'additifs et notamment d' α -amylase,
- ✓ une meilleure appréciation des paramètres de conservation des produits à base d'amidon,
- ✓ l'influence sur les critères organoleptiques et de texture des produits à base d'amidon,
- ✓ l'amélioration de l'amylolyse en facilitant l'action de l' α -amylase et de la β -amylase.

Selon la valeur du taux d'endommagement de l'amidon, on distingue un endommagement, faible, moyen, fort et élevé comme précisé dans le tableau 6.4.

Tableau 6.4 : Degré d'endommagement des amidons

UCD<13	13<UCD<16	17<UCD<120	UCD>20
Faible endommagement	Endommagement moyen	Fort endommagement	Endommagement élevé

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

Les valeurs du taux d'endommagement des amidons TEA obtenues pour les moutures intégrales des grains des différents cultivars de sorgho et de mil sont reportées dans le tableau 6.5 ci-après.

Tableau 6.5: Taux d'endommagement des amidons, TEA dans les moutures de sorgho et de mil perlé en Unité Chopin Dubois (UCD)

Amidon de sorgho (<i>sorghum bicolor L. Moench</i>)							
Amidon	ASBI03	ASBI04	ASPI04	ASBI06	ASPI06	ASG06	
TEA	7,65 ± 0,65	7,10 ± 0,28	0,00 ±0,00	6,72 ±0,07	9,17 ±0,10	9,35 ± 0,07	
Amidon de mil (<i>Pennisetum glaucum</i>)							
Amidon	AMI02	AMI04	AMI05	AMJI06	AMGI06	AMT06	AMN04
TEA	7,75 ± 0,28	6,25 ±0,20	7,12 ± 0,21	9,02 ±0,21	8,77 ±0,49	7,70 ±0,28	0,00

Selon les résultats, il ressort que le taux d'endommagement est nul pour les moutures de sorgho pigmenté et de mil importé et faible pour celles du sorgho blanc et du mil local (<9 UCD), ce qui signifie que toutes les moutures sont faiblement endommagées. Ce résultat a été confirmé par les observations effectuées par microscopie et traduit une structure assez rigide du granule qui n'est pas affecté lors de sa formation et sous l'action mécanique de la mouture. Il reste donc natif et présente une plus grande résistance à l'amylolyse par les α -amylases et β -amylases, de même qu'une réduction des qualités boulangères des moutures (% faible d'eau

liée). Néanmoins, les moutures présentent une meilleure conservation constatée, bien avant, chez les agriculteurs de la région, ce qui constitue un avantage appréciable.

En effet, comparé aux farines de blé (15,2-22,1 UCD) (Massaux et al., 2008), le taux d'amidon endommagé est plus faible.

6.3 Structure cristalline des amidons isolés

Les diffractogrammes aux rayons X des amidons de cultivars de sorgho et de mil perlé analysés sont illustrés respectivement aux figures 6.6 et 6.7.

Les diffractogrammes montrent que les amidons sont tous de type A caractéristique des amidons de céréales. Ils présentent le même profil, l'aire sous l'angle de diffraction 2θ dans l'intervalle compris entre 13 et 25° indique la cristallinité des amidons. Les pics chez l'amidon du sorgho blanc et pigmenté apparaissent à 15, 17, 18, 23° (2θ). Des pics similaires sont observés dans l'amidon brut de sorgho cireux coréen à l'exception du pic à 11,5° (Shin et al., 2004). Les pics observés chez les mils se trouvent aussi à 15; 17;18; 23° 2θ .

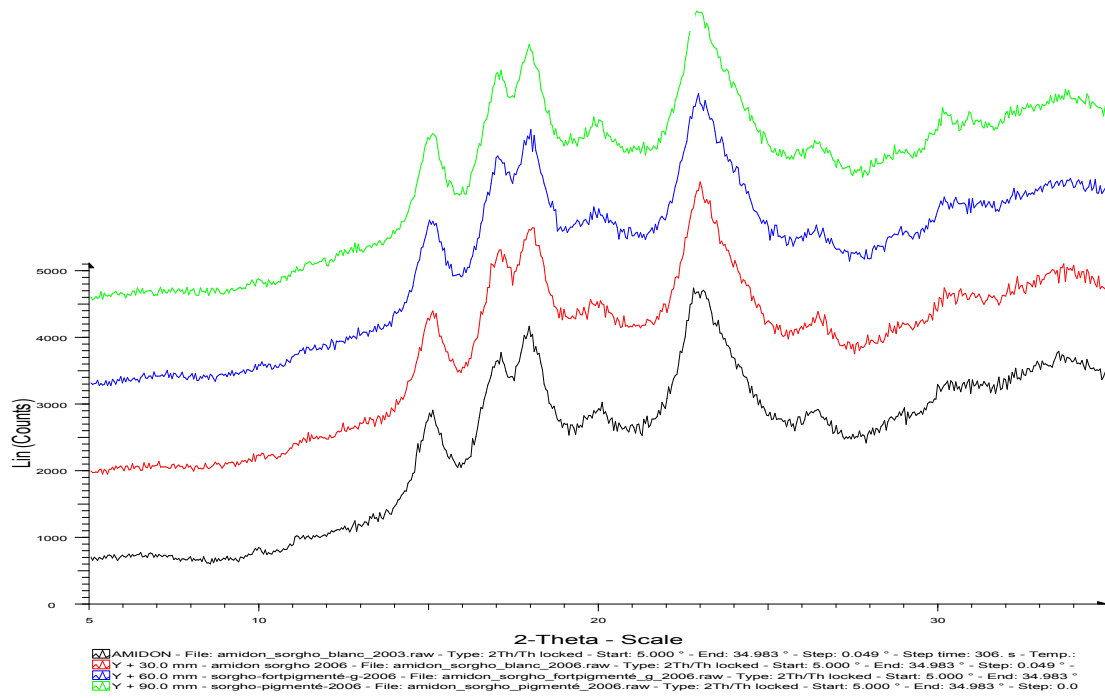


Figure 6.6 : Diffractogrammes aux rayons X des amidons de sorgho
 (---ASBI03 ; --- ASBI06 ; --- ASPI06 ; ---ASPG06)

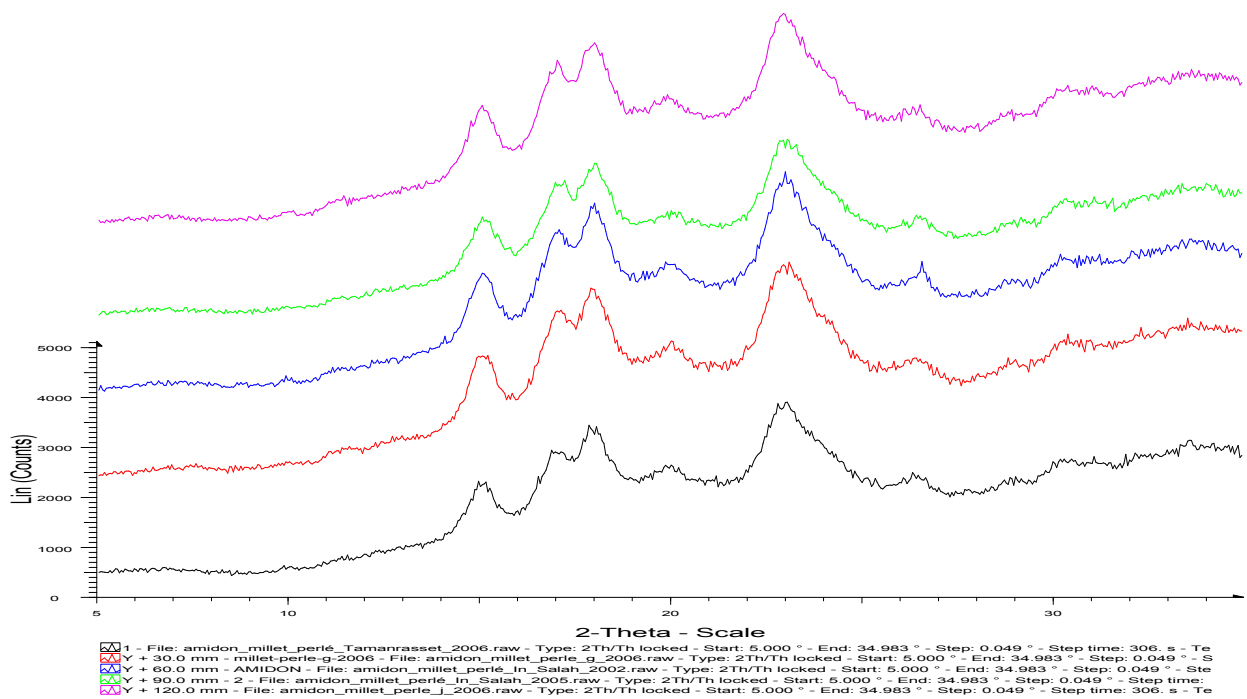


Figure 6.7 : Diffractogrammes aux rayons X des amidons de mil perlé
 (---AMT06; ---AMGI06;---AMI02;---AMI05;---AMJI06)

L'indice de cristallinité (IC) de l'amidon varie entre 15 et 45 % selon l'origine botanique (Wertz, 2011). Chez les amidons de sorgho et mil, les valeurs de cet indice ont été évaluées et reportées aux figures 6.8 et 6.9

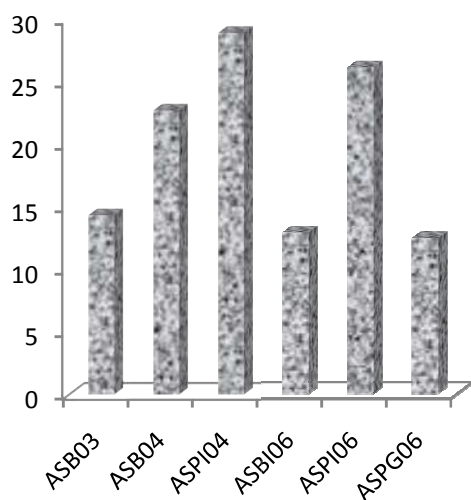


Figure 6.8 : Indice de cristallinité (IC) des différents amidons de sorgho

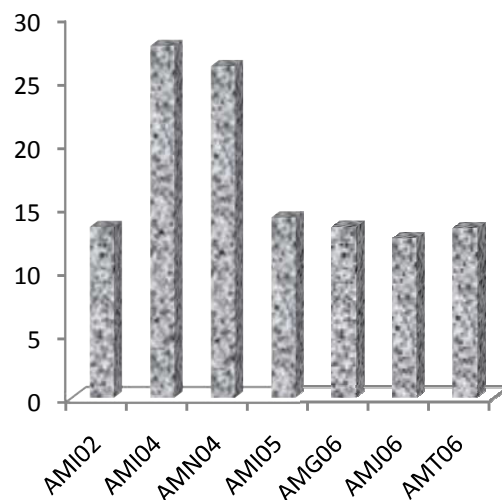


Figure 6.9 : Indice de cristallinité (IC) des différents amidons de mil perlé

Les indices de cristallinité, IC des amidons de mil local et importé d'Agadez de 2004 sont relativement proches et doubles de ceux des autres récoltes. Par contre, un écart important est noté entre les sorghos. L'amidon des sorghos pigmentés locaux est relativement plus cristallin comparé à l'amidon de sorgho blanc. Comparés au blé, les amidons de sorgho et de mil analysés présentent des indices de cristallinité, IC, deux fois plus élevés. En effet, Chakraborty et al. (2004) ont obtenu des indices variant de 10,1 à 15,3 % pour 11 génotypes. Les cultivars d'igname *Dioscorea opposita Thunb* présentent les plus grands indices (34,3-43,1%) (Shujun et al., 2008). Chez l'amidon de pomme de terre (séché à l'air libre) de type B, l'indice est de 21%.

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

6.4 Structure et propriétés morphologiques des granules d'amidon

L'examen de la structure et des propriétés morphologiques des granules d'amidon est réalisé à l'aide de la microscopie optique à la lumière du jour et à la lumière polarisée pour les granules dans l'eau et dans la solution d'iode (KI/I₂) et de la microscopie électronique à balayage. Cet examen a permis, grâce au système de camera et de logiciel de traitement de l'image, de caractériser l'amidon et d'obtenir des informations très intéressantes inhérentes à la forme, à la taille, à l'aspect de la surface des granules, à la présence de l'amylose grâce à la coloration par la solution d'iode et à la nativité des granules (la présence de la biréfringence).

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

Il est vrai qu'à l'heure actuelle, il n'existe pas de méthodes automatiques précises pour la caractérisation tridimensionnelle afin d'évaluer la forme et la taille du granule. Cependant, on arrive à distinguer que tous les échantillons de granules d'amidon isolés examinés présentent une hétérogénéité de forme et de taille, comme le montre la figure 6.10.

Cette hétérogénéité pourrait être expliquée par la différence de localisation des granules d'amidon (péricarpe, endosperme farineux ou vitreux) et les déformations provoquées par la matrice protéique lors de leur biosynthèse.

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

Les granules d'amidon des cultivars de mil locaux et de mil d'Agadez ont une forme polyédrique à angle faiblement marqué, certains sont sphériques, leur taille est plus petite que celle des granules de sorgho. Les granules de petites tailles sont caractérisés par une forme polygonale très irrégulière. Les observations sont semblables à celles faites par d'autres auteurs (Radley, 1974 et Hosney, 1986 ; Lindeboom, Chang et Tyler (2004).

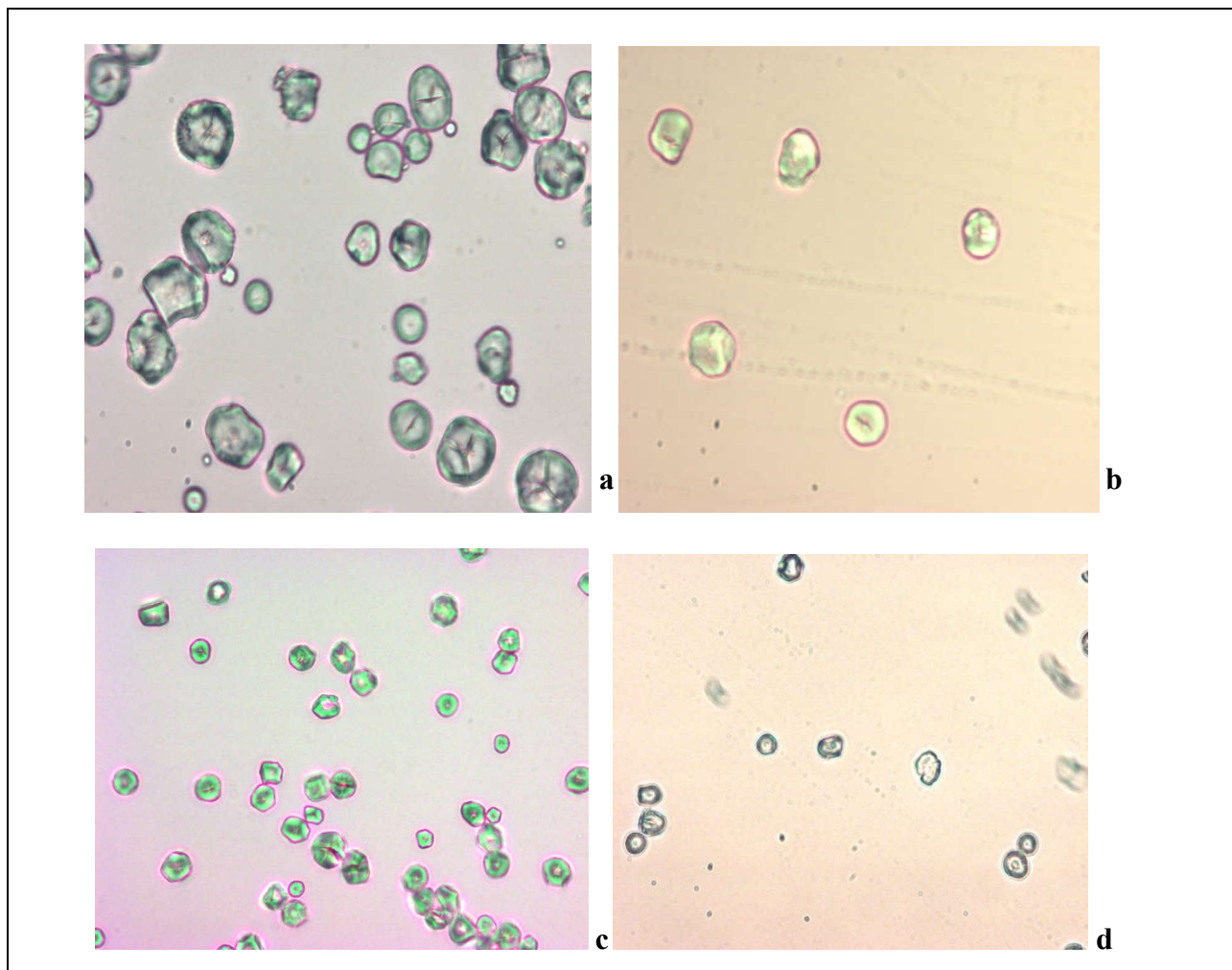


Figure 6.10 : Images des granules d'amidon observés au microscope optique (G 40x)

*a : sorgho blanc, ASBI04 ; b : sorgho pigmenté, ASPI04,
c : mil perlé, AMI04 ; d : mil perlé du Niger, AMN04*

Il a été constaté que les granules d'amidon de l'endosperme corné sont polyédriques et de taille différente selon les espèces de mil. Dans l'endosperme farineux, les granules d'amidon sont sphériques et relativement plus gros que les granules d'amidon de la zone cornée. Dans la zone farineuse, l'amidon est plus facile à digérer par les enzymes. Chez le mil, les granules d'amidon de l'endosperme farineux sont sphériques et gros (Sullins et Rooney, 1977 ; FAO, 1995). D'autres chercheurs ont noté que l'irrégularité de la forme augmente avec le taux d'amylose contenu dans le granule (Wang et al., 1993).

En ce qui concerne les amidons d'autres sources botaniques, il a été observé que les granules de tubercules et de racines ont une forme ovoïdale, bien que certains soient sphériques ou polygonaux. Les granules de petite taille dans la fraction d'amidon de blé, d'orge et de seigle ont une morphologie différente de celle des granules de grande taille.

Les granules d'amidon d'haricot et de pois sont caractérisés par de gros disques et ceux des fruits ont des formes très variées et peu communes (Lindeboom, Chang et Tyler, 2004).

🚦 Observation au microscope optique avec coloration de l'amidon

L'examen microscopique des granules colorés par l'iode donne des informations concernant l'amylose et l'amylopectine. Il a été observé qu'en fonction des teneurs en amylose et amylopectine, la couleur des granules intacts varie du bleu au brun rougeâtre. La couleur dépend du complexe formé quand l'iode est inclus dans les hélices formées par les chaînes de l'amidon. Quand les hélices sont longues, le complexe est bleu, par contre, si elles sont courtes, la couleur est pourpre ou brun rougeâtre.

La présence d'embranchements dans l'amidon comme ceux présents dans l'amylopectine ou les amidons cireux (waxystarch) donne avec l'iode la couleur brune rougeâtre et une structure avec plus d'hélices d'amylose donne la couleur bleu.

La coloration à l'iode des amidons de sorgho et de mil analysés leur confère une couleur bleu violacée (figure 6.11), traduisant une forte teneur en amylose composé de courtes chaînes.

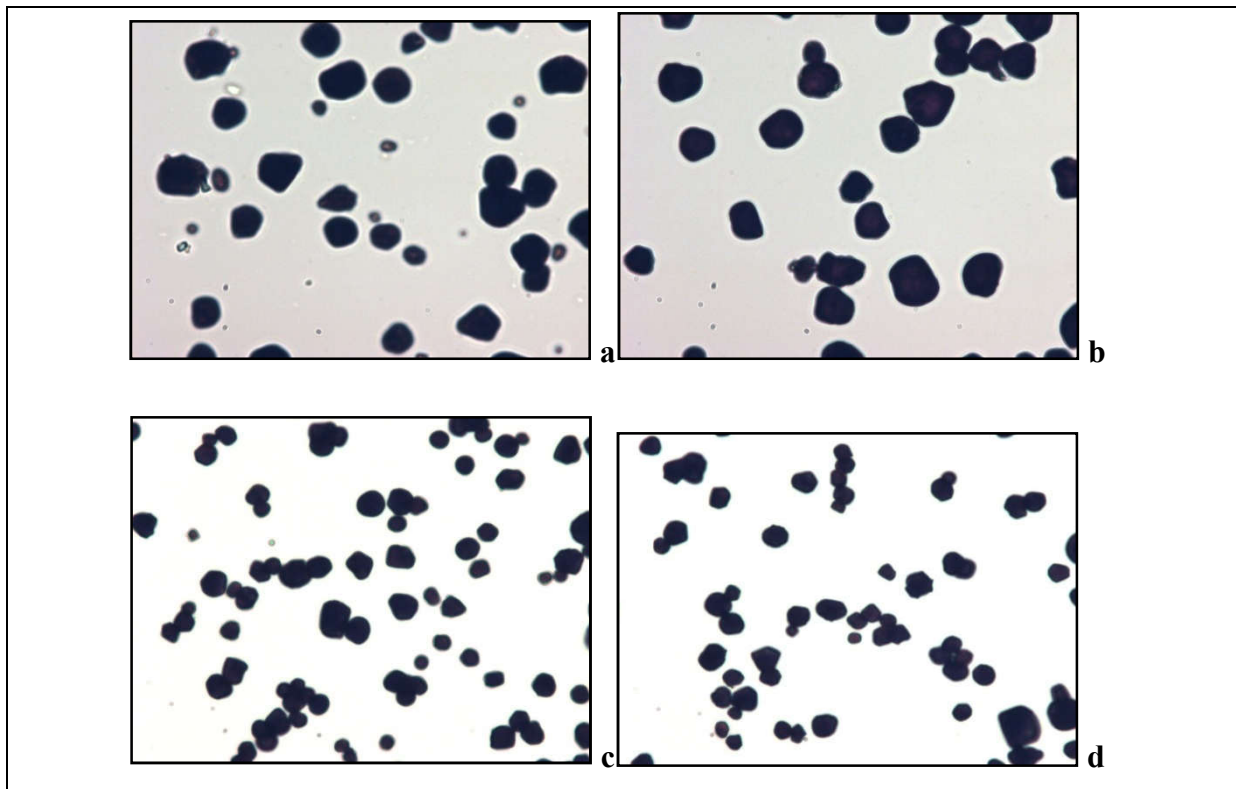


Figure 6.11 : Images des granules d'amidon colorés à l'iode observés au microscope optique (G 40x). a : sorgho blanc, ASBI04 ; b : sorgho pigmenté, ASPI04 ; c : mil perlé local, AMI04 ; d : mil perlé du Niger, AMN04

🚩 Observation au microscope optique à lumière polarisée

Exposés à la lumière polarisée, les granules d'amidon des échantillons de sorgho et de mil brillent et une croix noire apparaît clairement à la surface des granules due au phénomène de biréfringence à la lumière polarisée (figure 6.12).

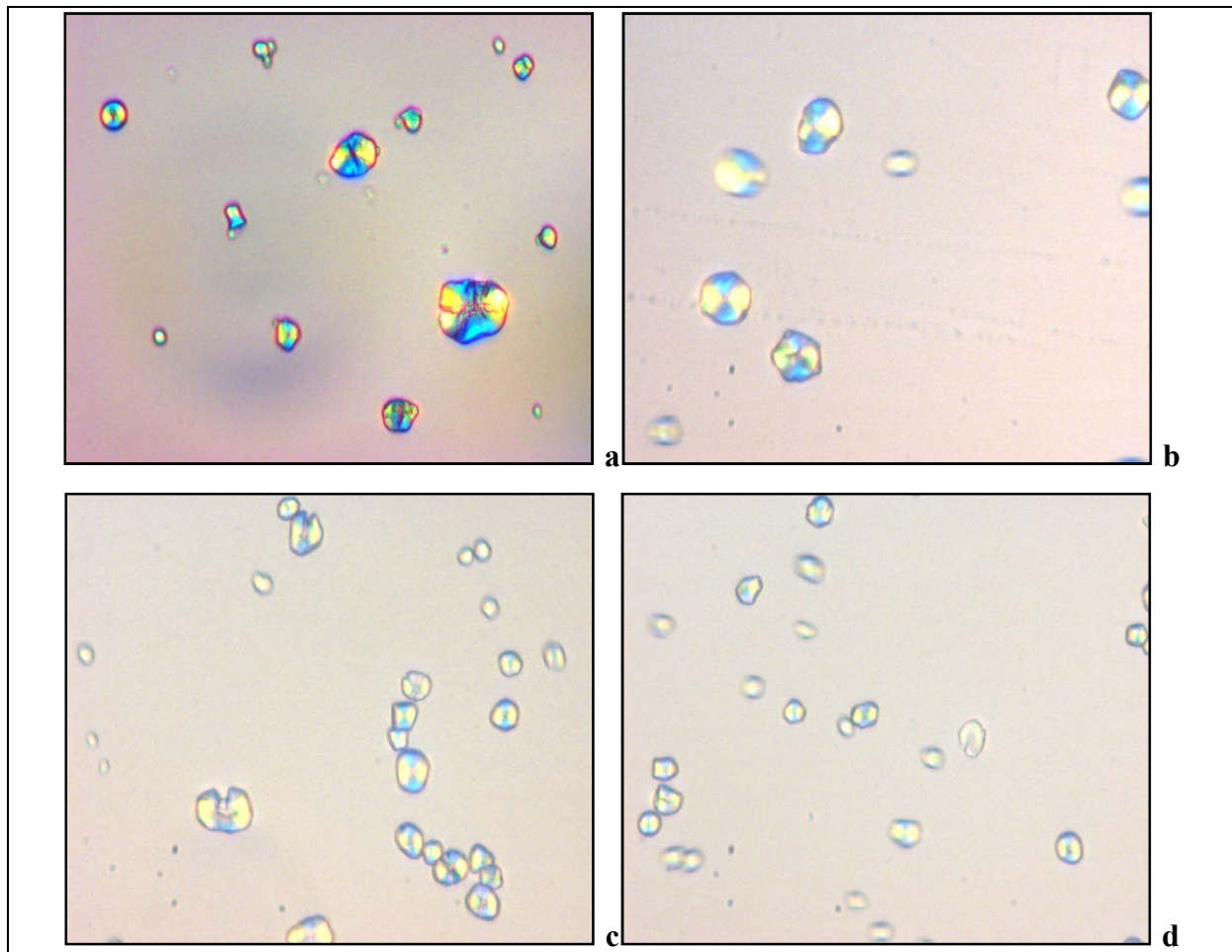


Figure 6.12 : Images des granules d'amidon colorés à l'iode observés au microscope optique sous lumière polarisée (G 40x). a : sorgho blanc, ASBI04 ; b : sorgho pigmenté, ASPI04 ; c : mil perlé local, AMI04 ; d : mil perlé du Niger, AMN04

Ce phénomène indique le degré de l'ordre dans le granule et a lieu quand la lumière polarisée interagit avec la structure hautement ordonnée ou stable. La croix est créée par la rotation de la lumière polarisée par les régions cristallines ou hautement ordonnées dans l'amidon, elle indique une distribution radiale des éléments submicroniques dans le granule et peut être liée au motif structural et attribuée à la distance régulière et répétée entre les clusters adjacents des points d'embranchement dans la structure de l'amylopectine (Barsby, Donald et Fraz, 2001). La biréfringence dans les amidons étudiés montre que les granules d'amidon isolés sont natifs et suggère une structure granulaire très ordonnée et stable.

Sa perte est étroitement associée au phénomène de gélatinisation. Elle est donc souvent utilisée pour indiquer le phénomène de gélatinisation et évaluer la température de gélatinisation des amidons. Le hile et les stratifications ne sont pas très apparents.

6.4.2 Forme, taille et surface des granules d'amidon par microscopie électronique à balayage

En plus de l'observation de la forme déjà effectuée au microscope optique, la microscopie électronique à balayage a permis de constater qu'il n'y avait pas de distinction entre les formes et la distribution des formes chez les granules des deux génotypes de sorgho et des deux génotypes de mil (figure 6.13).

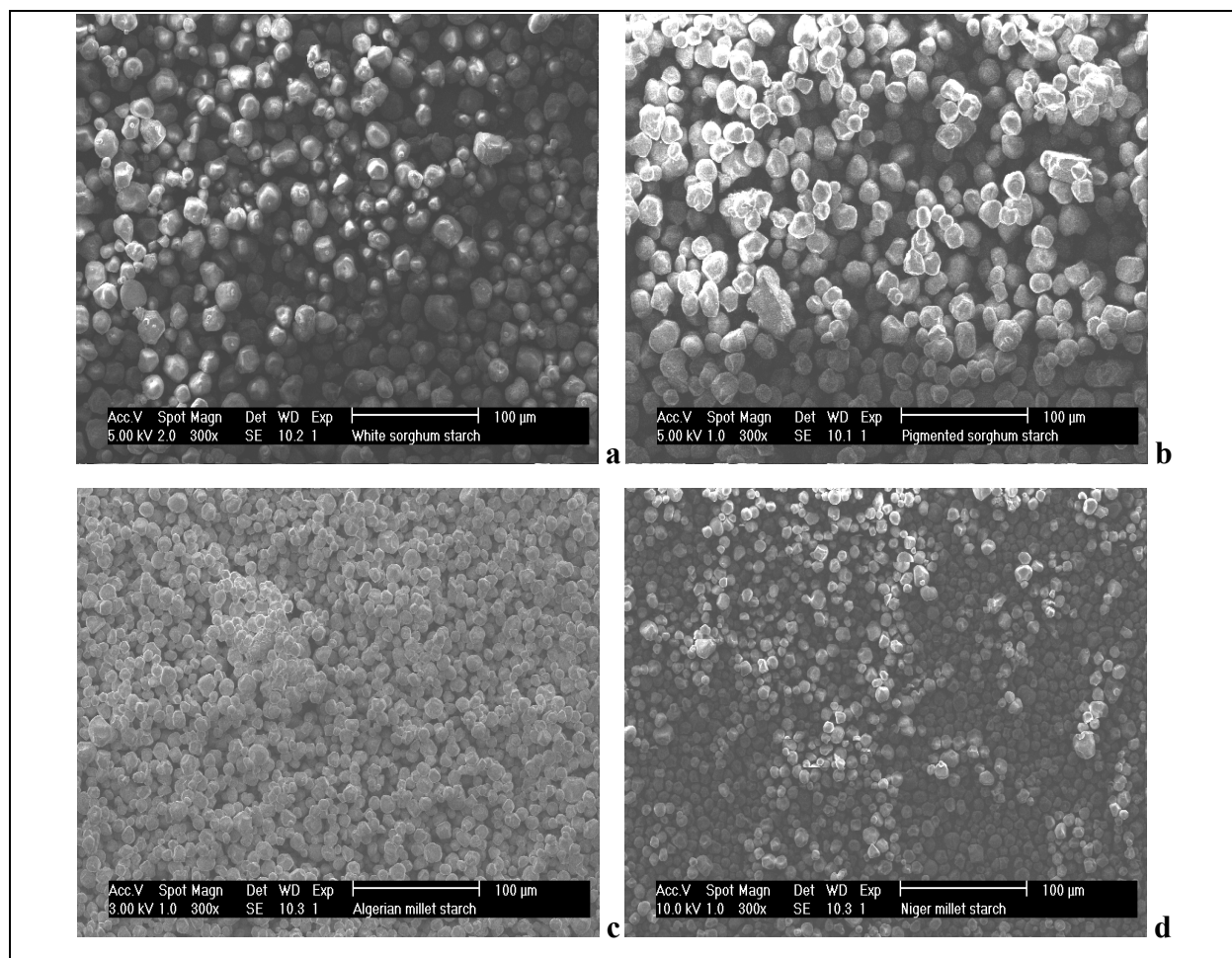


Figure 6.13 : Micrographies de granule d'amidon (G 300x)
a : sorgho blanc, ASBI04 ; *b* : sorgho pigmenté, ASPI04 ; *c* : mil perlé local, AMI04 ;
d : mil perlé du Niger, AMN04

De même, grâce au grossissement plus élevé, cet examen a permis d'observer la surface des granules qui montre un aspect assez lisse avec la présence de nombreuses crevasses peu profondes et de pores ou canaux « pinholes » chez certains granules d'amidon de sorgho et de mil perlé, comme le montre la figure 6.14.

La présence de ces pores ou canaux qui pénètrent le granule de la surface externe vers la cavité du hile et dont la profondeur varie d'un granule à un autre a été constatée par Huber et Be Miller (2000), Benmoussa et al. (2006) et Singh et al. (2009). D'après certains auteurs la formation de ces pores est due à une détérioration provoquée par les enzymes endogènes lors de la formation des granules ou au cours de l'isolement de l'amidon.

Les granules à surface poreuses sont plus abondants dans le mil local que dans le mil importé d'Agadez et sont plus nombreux dans les génotypes de sorgho que dans ceux des mils. La présence de ces pores dans les granules facilite l'accessibilité aux amylases lors de la digestion enzymatique. Il a été constaté que l'amidon du mil est hydrolysé plus lentement que celui du sorgho par l'amylase pancréatique du porc (Sullins et Rooney, 1977 ; FAO, 1995).

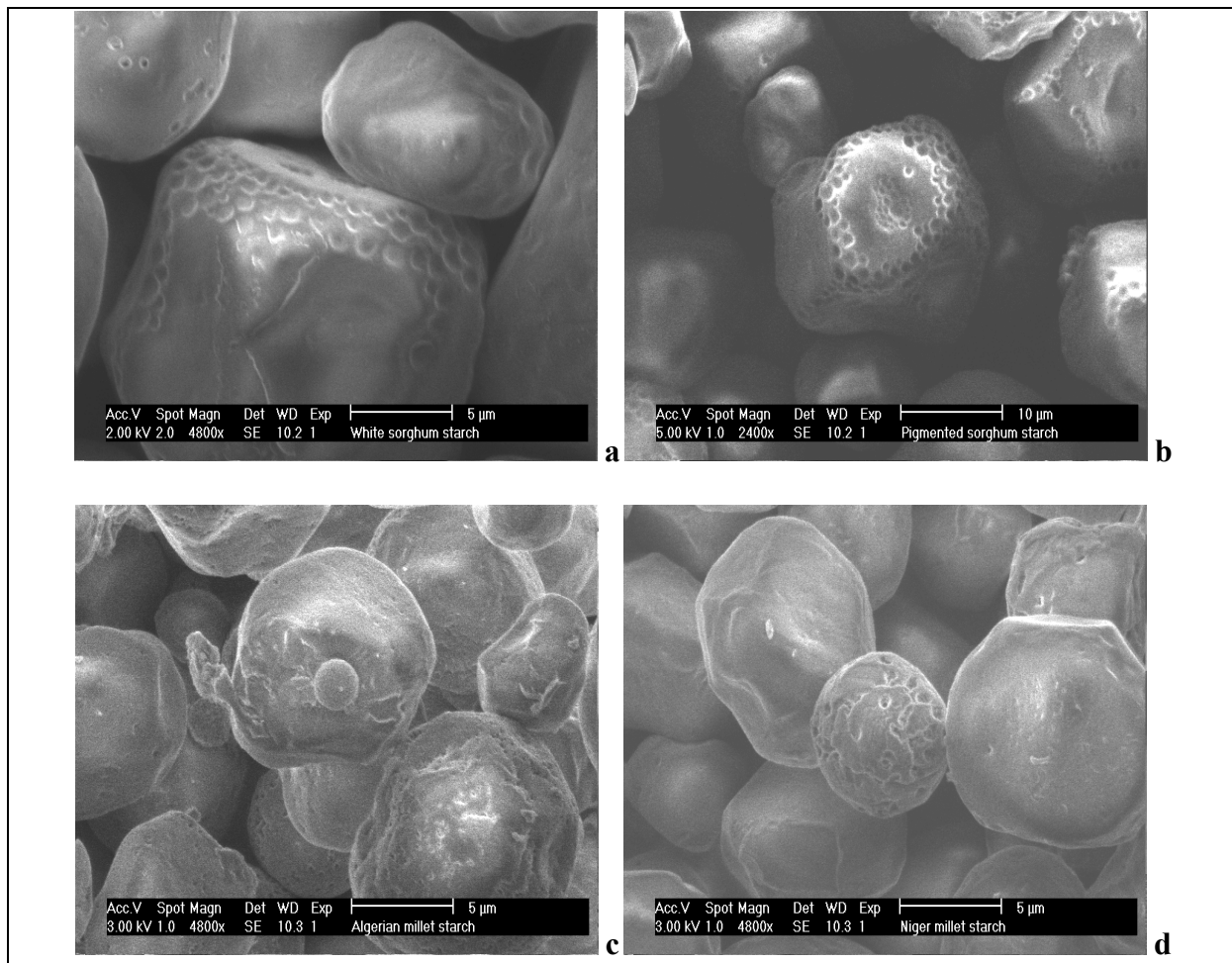


Figure 6.14 : Micrographies de granules d'amidon

a : sorgho blanc, ASBI04 (G 4800 x) ; *b* : sorgho pigmenté, ASPI04 (G 2400 x) ;
c : mil perlé local, AMI04 (G 4800 x) ; *d* : mil perlé du Niger, AMN04 (G 4800 x)

6.4.3 Distribution de la taille des granules d'amidon

La taille du granule est une caractéristique de l'amidon. Elle joue un rôle important dans les propriétés organoleptiques des aliments riches en amidon (Jane et al., 1992) et affecte certaines propriétés fonctionnelles telles que le gonflement, la solubilité, et la digestibilité.

L'analyse de tous les échantillons montre tout d'abord, qu'il existe une homogénéité des échantillons d'amidon car les courbes de distribution de tailles des granules obtenues pour un même amidon se superposent convenablement.

Les amidons de tous les cultivars sélectionnés possèdent une seule population de granules, comme le montrent les graphes présentés aux figures 6.15, 6.16, 6.17 et 6.18.

La taille des granules d'amidon de sorgho blanc varie entre 6,33 et 39,91 μm , celle de l'amidon du sorgho pigmenté varie de 7,10 à 44,77 μm .

La taille des amidons des mils est plus faible que celle des sorghos, elle varie de 3,17 à 25,18 μm pour le mil local et de 2,83 à 22,44 μm pour le mil d'Agadez.

Les intervalles de diamètre de granules d'amidon de sorgho et de mil étudiés sont plus larges que ceux donnés par FAO (1995) et qui sont respectivement de 20-30 μm et 10-12 μm .

Jobling (2004) estime la granulométrie du maïs à 2-30 μm , celle du blé à 1-45 μm celle de la pomme de terre à 5-100 μm et celle du manioc à 4 -34 μm .

Se basant sur la taille des granules, les amidons de sorgho et de mil peuvent, par conséquent, remplacer les amidons de maïs, de blé et de manioc dans les procédés dans le cas où l'influence des autres caractéristiques physicochimiques n'est pas prise en compte.

Dans la fabrication de films plastiques biodégradables, des chercheurs ont montré une corrélation linéaire entre l'épaisseur du film et la taille du granule ainsi qu'une corrélation linéaire inverse entre la résistance du film et la taille du granule (Jane et al., 1992). Ce domaine d'application pourrait être envisagé pour les amidons des cultivars locaux.

Il est à signaler que la décoloration (méthode B) du sorgho pigmenté ne montre aucune influence sur la taille des granules d'amidon. En effet, les courbes de distribution granulométriques sont superposées comme le montre la figure 6.16. A la figure 6.19, une translation des courbes de sorgho et de mil est observée.

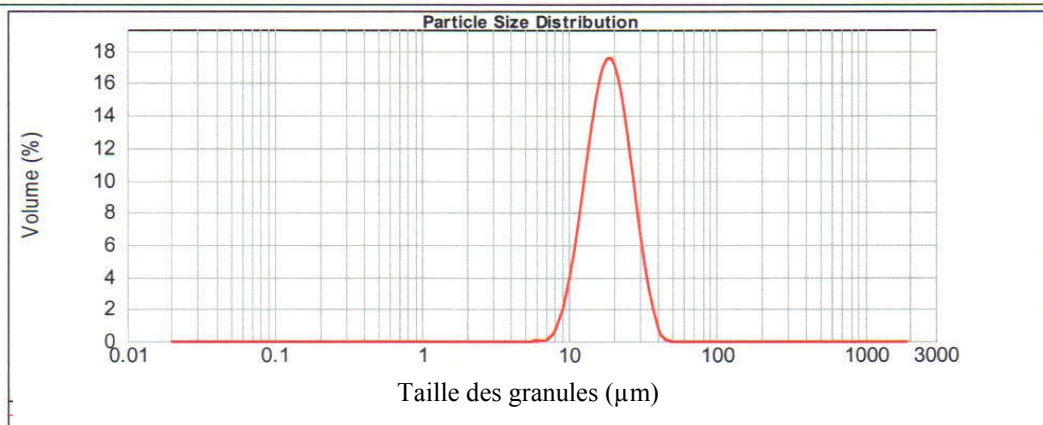


Figure 6.15 : Distribution de la taille des granules d'amidon de sorgho blanc, ASBI04

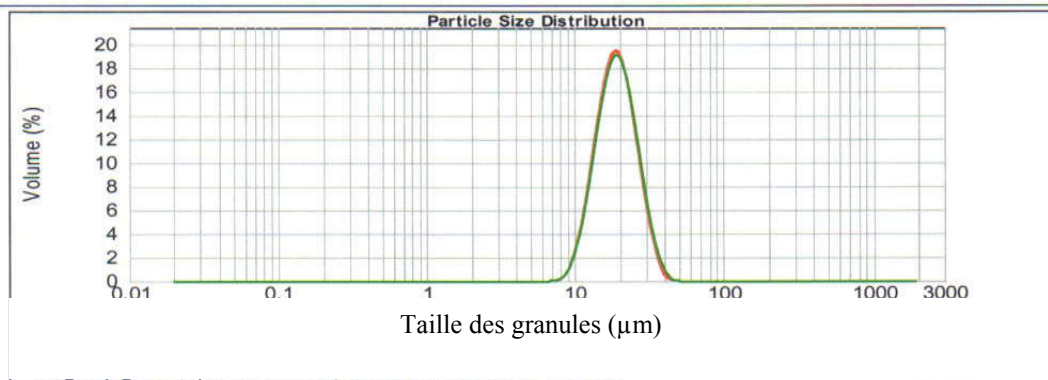


Figure 6.16 : Distribution de la taille des granules d'amidon de sorgho pigmenté, ASPI04, isolés selon la méthode A (—) et la méthode B (—)

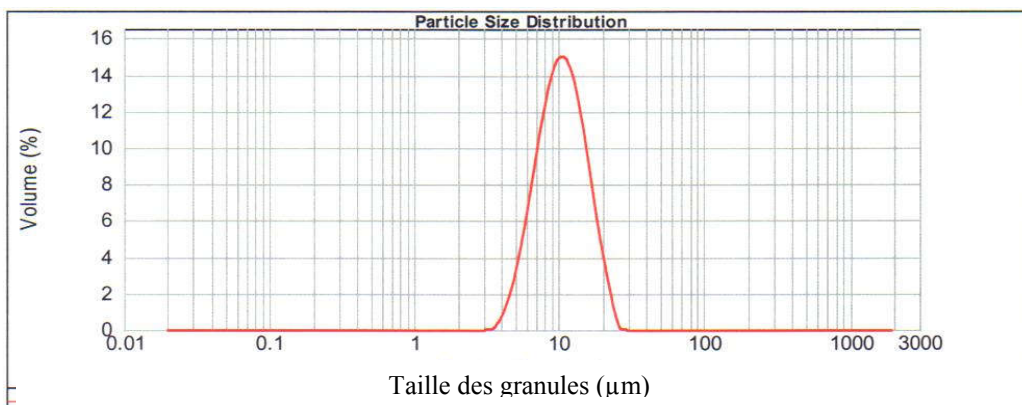


Figure 6.17: Distribution de la taille des granules d'amidon de mil perlé, AMI04

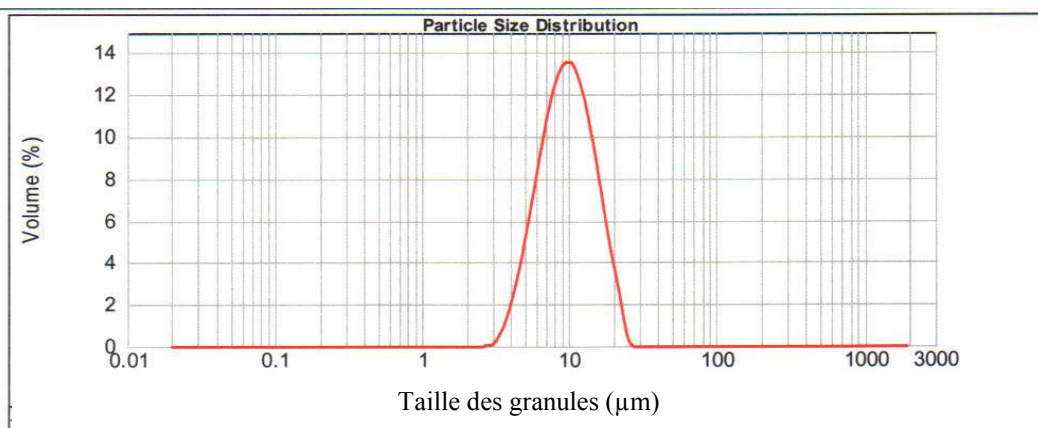


Figure 6.18: Distribution de la taille des granules d'amidon de mil importé d'Agadez, AMN04

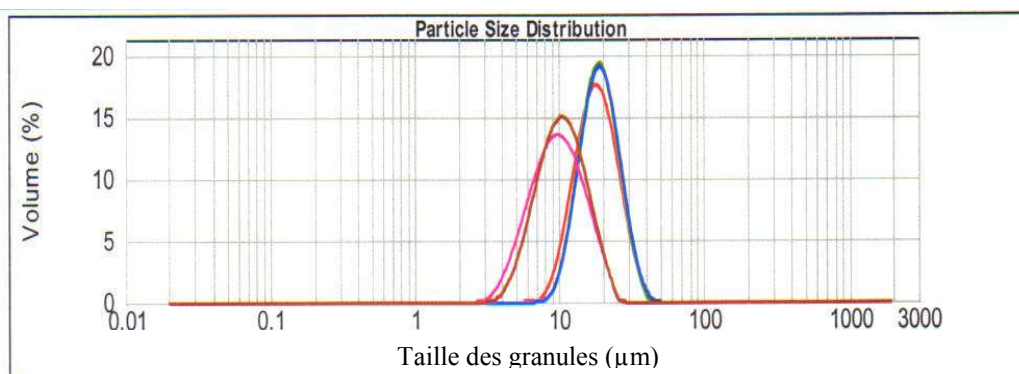


Figure 6.19 : Distribution de la taille des granules d'amidons purs du sorgho et de mil perlé

Les résultats de l'analyse granulométrique sont repris dans les tableaux 6.6 et 6.7 suivants.

Tableau 6.6: Taille des granules d'amidons purs de sorgho et de mil perlé

	sorgho (<i>sorghum bicolor (L.) Moench</i>)						
Amidon	ASBI03	ASBI04	ASPI04	ASBI06	ASPI06	ASG06	
Taille (µm)	6,61-39,81	6,32-39,90	7,10-44,77	5,75-39,81	6,61-39,81	5,75-34,67	
	mil (<i>Pennisetum glaucum</i>)						
Amidon	AMI02	AMI04	AMI05	AMJI06	AMGI06	AMT06	AMN04
Taille (µm)	3,80-22,91	3,31-22,91	3,31-22,91	2,51-22,91	2,88-22,91	2,88-22,91	2,82-22,44

Tableau 6.7: Valeurs caractéristiques de la granulométrie des amidons purs de sorgho et de mil perlé

sorgho (<i>sorghum bicolor L. Moench</i>)							
Amidon	ASBI03	ASBI04	ASPI04	ASBI06	ASPI06	ASG06	
d(0,1) (µm)	12,55 ±0,03	11,81 ±0,21	12,81 ±0,06	11,24 ±0,01	12,59 ±0,08	11,21 ±0,02	
d(0,5) (µm)	18,35 ±0,03	18,21 ±0,38	19,08 ±0,10	17,18 ±0,02	18,45 ±0,13	16,46 ±0,03	
d(0,9) (µm)	26,50 ±0,03	27,78 ±0,54	28,31 ±0,18	25,71 ±0,03	26,70 ±0,25	23,88 ±0,05	
mil (<i>Pennisetum glaucum</i>)							
Amidon	AMI02	AMI04	AMI05	AMJI06	AMGI06	AMT06	AMN04
d(0,1) (µm)	7,11 ±0,01	6,21 ±0,012	7,08 ±0,03	5,56 ±0,01	6,33 ±0,02	6,44 ±0,09	5,55 ±0,06
d(0,5) (µm)	10,59 ±0,02	10,32 ±0,04	10,61 ±0,04	9,10 ±0,01	9,65 ±0,01	9,78 ±0,17	9,76 ±0,15
d(0,9) (µm)	15,505 ±0,030	16,781 ±0,086	15,596 ±0,063	14,502 ±0,042	14,424 ±0,037	14,577 ±0,291	16,87 ±0,49

La taille moyenne des granules varie davantage chez les amidons de sorgho blanc et pigmenté que chez les amidons de mil. Ces cultivars de mils analysés peuvent être caractérisés par de petits granules d'amidon; avec une taille de 50 % des granules inférieure à 10 µm, les granules d'amidons de sorgho sont relativement plus gros. Les petits granules sont très appréciés. En effet, des travaux ont montré qu'un amidon riche en petits granules, constitue un bon substitut de matière grasse (Massaux et al., 2006). Il est aussi recherché dans la fabrication des plastiques biodégradables et les aérosols de même que dans l'industrie cosmétique, pharmaceutique ou textile (Moorthy, 2002).

Pour l'amidon de sorgho pigmenté prétraité selon deux méthodes différentes, l'analyse a montré que la différence n'est pas significative pour d(0,1) et d(0,5). Par contre, pour le d(0,9), la différence est significative. Quant à la taille des granules d'amidon, la différence n'est pas significative.

Pour les variétés de même espèce, la différence est significative. Il peut être déduit que le phénotype et les conditions agroclimatiques ont une influence sur la granulométrie. En effet, l'étude statistique montre des différences significatives entre les sorghos blancs de différentes saisons et entre les sorghos blancs et les sorghos pigmentés, pas de différences significatives pour les sorghos pigmentés SPI04, SPI06 et SPG06 et des différences significatives entre mils de différentes saisons et entre phénotypes.

De nombreux chercheurs ont constaté que la taille du granule est plus faible durant les saisons sèches et l'attribuent au pourcentage élevé de granules de petite taille durant ces périodes (Moorthy 2002). Dans les régions locales de culture, les températures de maturité des grains de sorgho et de mils sont élevées, ce qui a permis de générer des granules d'amidon de petite taille.

6.5 Couleur des granules d'amidons

La mesure de la couleur est quantifiée par des systèmes à trois composantes: le système CIE (1993) correspondant aux composantes (RVB) et donné par les valeurs XYZ, le système Hunterlab (1958) donné par L, a et b et récapitulés dans le tableau 6.8 suivant où :

L: la clarté ou la luminosité (100= couleur blanche et 0= couleur noire), **a**: vert au rouge (a+ vers le rouge et a- vers le vert), **b**: bleu au jaune (b+ vers le jaune et b- vers le bleu).

Tableau 6.8: Paramètres de couleur des amidons purs de sorgho et de mil perlé

sorgho (<i>sorghum bicolor L. Moench</i>)							
Amidon	ASBI03	ASBI04	ASPI04	ASBI06	ASPI06	ASG06	
L	90,14 0.00	92,91 0.00	91,06 ±0,04	89,04 0.00	91,98 0.00	90,46 0.00	
a	-0,11 ±0,01	-0,26 0.00	-0,48 ±0,02	-0,1 ±0,01	-0,28 ±0,01	-0,11 0.00	
b	3,52 ±0,01	3,58 ±0,03	4,15 0.00	4,23 0.00	3,46 ±0,02	3,50 ±0,01	
mil (<i>Pennisetum glaucum</i>)							
Amidon	AMI02	AMI04	AMI05	AMJI06	AMGI06	AMT06	AMN04
L	91,76 ±0,11	90,52 ±0,08	92,49 ±0,09	89,98 0.00	90,73 ±0,06	91,34 ±0,09	89,66 ±0,00
a	-0,43 ±0,01	-0,24 0.00	-0,29 ±0,02	-0,37 0.00	-0,12 ±0,002	-0,4 ±0,01	-0,25 ±0,00
b	3,14 ±0,05	3,42 ±0,03	2,77 ±0,02	3,3 ±0,02	4,07 ±0,01	2,96 ±0,06	4,43 ±0,01

Il ressort que les amidons extraits ont une grande clarté, les valeurs de L sont comprises entre 89,7 et 92,9. Ceci montre que les extraits sont relativement purs. Pérez Sira et al. (2004), en utilisant le même procédé de trempage, ont obtenu une valeur voisine pour l'amidon de sorgho blanc (91,3) mais inférieure pour l'amidon de sorgho pigmenté (78,4). Wang et al. (2000) estiment qu'une valeur supérieure à 90 donne une blancheur satisfaisante pour les amidons et que la couleur est une caractéristique qui peut être utilisée pour étudier l'influence de la méthode de trempage sur la pureté des amidons.

Les valeurs de **b** varient de 2,77 à 4,43; elles expriment une tendance de couleur vers le jaune. Ces valeurs sont plus faibles que celles trouvées par Pérez Sira et al. (2004) qui sont de 10,6 et 23,09 respectivement pour l'amidon de sorgho blanc et pigmenté, laissant supposer que nos variétés possèdent moins de pigments et que les taux de protéines et lipides résiduels sont plus faibles.

Les valeurs de **a** sont négatives et presque égales pour les amidons de sorgho blanc, mil local et mil importé, ce qui se traduit par une nuance allant légèrement vers le vert. Par contre, dans le cas de l'amidon de sorgho pigmenté extrait après trempage dans la solution alcaline, la valeur de **a** est positive, ce qui signifie que la nuance de la couleur tend légèrement vers le rouge. Il est donc certain que les pigments constitués de tanins n'étaient pas complètement éliminés au cours de l'extraction. Leur présence avec les granules d'amidon est responsable de la tendance de la couleur vers le rouge.

L'amidon isolé à partir des grains d'haricot de Thaïlande en procédant à un trempage à l'eau, un broyage, un tamisage (425; 106 μm) et un lavage de l'extrait avec des solutions de NaOH et NaN_3 a donné des valeurs de L, a, et b respectivement comprises dans les intervalles suivants : 1,26-88,42; 0,29-0,72 et 10,85-16,61 (Shimelis et al., 2006) traduisant une coloration relativement moins appréciée.

Pour l'amidon de sorgho pigmenté extrait après trempage en présence d'hypochlorite de sodium, la valeur enregistrée est négative, montrant que la couleur vire vers le vert et que la couleur rouge a disparu.

Un résultat important peut être déduit de cette analyse : l'ajout d'hypochlorite de sodium à la solution de trempage a eu pour effet de blanchir les amidons. Il ressort aussi de ces résultats que la composition chimique des grains et le procédé d'extraction de l'amidon affectent la couleur de l'amidon extrait.

6.6 Propriétés fonctionnelles des amidons isolés

6.6.1 Propriétés rhéologiques de viscosité des amidons isolés et non isolés

La viscosité est considérée comme indicateur des caractéristiques technologiques. Elle permet de déterminer les propriétés de gélatinisation des amidons, des farines, des moutures intégrales ainsi que des préparations en mesurant l'évolution de la viscosité des suspensions lors d'un cycle de chauffage et de refroidissement. Les variations de la viscosité sont induites par une augmentation ou une diminution de la température et également par l'action mécanique et l'effet de liquéfaction du aux activités des α -amylases endogènes.

6.6.1.1 Propriétés rhéologiques de viscosité des moutures intégrales

Les courbes de viscosité obtenues pour les moutures intégrales de quelques cultivars sont représentées à la figure 6.20. La viscosité augmente avec la température, du fait du gonflement des granules d'amidon. Cette augmentation se poursuit jusqu'à atteindre la viscosité maximale. Cette valeur est une mesure du pouvoir épaississant de l'amidon. Lorsque la cuisson continue, les forces de cohésion à l'intérieur des granules sont rompues et la viscosité de la masse diminue. Cette partie indique la résistance à la cuisson et au cisaillement (Roudot, 2002). La dernière partie indique le comportement au cours du refroidissement.

L'allure de la courbe du sorgho blanc est différente de celle du sorgho pigmenté et du mil local. Son comportement est similaire à celui du blé. Il atteint le pic de viscosité plus rapidement mais la viscosité au pic est relativement plus faible. Le sorgho pigmenté et le mil local présentent le même pic de viscosité, mais ils sont différents par rapport à la viscosité finale qui est plus élevée chez le sorgho pigmenté.

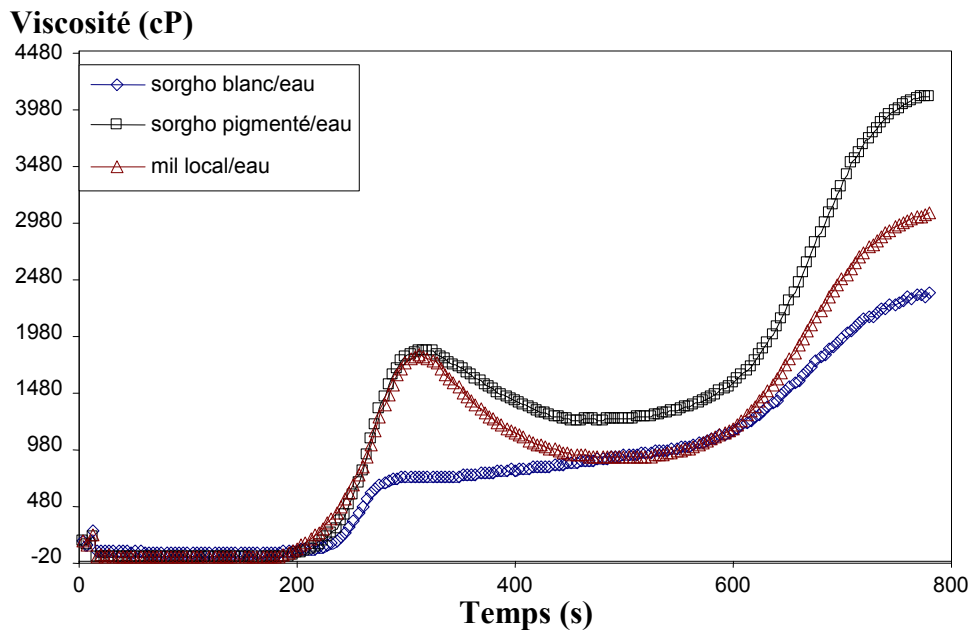


Figure 6.20 : Viscosité des moutures intégrales de sorgho, SBI04, SPI04 et de mil perlé MI04 dans d'eau

A partir des courbes de viscosité, différentes valeurs caractéristiques ont été déterminées et reportées aux tableaux 6.9 et 6.10 respectivement pour les cultivars de sorgho et de mil.

La mouture du sorgho blanc cultivé en 2003 possède la viscosité la plus élevée. Les viscosités des récoltes de 2004 et 2006 sont voisines à l'exception de la mouture du sorgho pigmenté américain qui présente les valeurs les plus faibles.

Chez les moutures de mil perlé, les viscosités sont très variables. Les viscosités les plus élevées sont enregistrées chez le mil cultivé en 2004 et atteignent 1775 cP suivie du mil de 2006 de la région d'Ouini (1002 cP).

Les temps au pic de viscosité sont relativement variables (4-7min) contrairement à ceux du mil perlé (4-5 min).

Tableau 6.9 : Caractéristiques de viscosité des moutures intégrales de sorgho dans l'eau

Cultivar	PV (cP)	HPV (cP)	BD (cP)	FV (cP)	SB (cP)	PT (min)	Tg (°C)
SBI03	879,00 ±11,31	853,00 ±8,49	26,00 ±2,83	3327,50 ±4,95	2474,50 ±3,54	7,00 ±0,00	85,07 ±0,53
SBI04	637,50 ±3,54	580,00 ±1,41	57,50 ±4,95	1785,50 ±13,44	1205,50 ±12,02	6,97 ±0,05	81,88 ±1,73
SPI04	598,50 ±16,26	568,50 ±12,02	30,00 ±4,24	1739,50 ±30,41	1171,00 ±18,38	5,03 ±0,05	84,70 ±1,06
SBI06	456,00 ±8,49	443,50 ±10,61	12,50 ±2,12	1937,00 ±72,12	1479,50 ±61,52	4,97 ±0,05	87,10 ±0,07
SPI06	719,00 ±15,56	706,00 ±5,66	33,00 ±1,41	1645,00 ±41,01	923,00 ±26,87	4,97 ±0,05	83,10 ±0,00
SPG06	365,50 ±7,78	364,50 ±7,78	1,00 ±0,00	992,50 ±27,58	628,00 ±19,80	5,00 ±0,00	86,80 ±0,57

Tableau 6.10 : Caractéristiques de viscosité des moutures intégrales de mil perlé dans l'eau

Cultivar	PV (cP)	HPV (cP)	BD (cP)	FV (cP)	SB (cP)	PT (min)	Tg (°C)
MI02	934,50 ±14,85	631,50 ±13,44	303,00 ±1,41	2200,65 ±34,65	1569,00 ±21,21	5,10 ±0,05	85,95 ±0,64
MI04	1775,00 ±2,83	891,00 ±16,97	254,52 ±2,12	3060,00 ±19,80	295,50 ±4,95	4,67 ±0,00	76,70 ±1,13
MI05	765,52 ±16,26	644,00 ±7,07	121,50 ±9,19	2237,50 ±17,68	1593,50 ±10,61	5,07 ±0,00	86,75 ±0,57
MGI06	1002,00 ±1,41	716,51 ±3,54	285,47 ±2,12	2297,51 ±57,28	1581,00 ±53,74	5,07 ±0,00	86,35 ±0,07
MT06	622,01 ±2,83	459,00 ±11,31	163,05 ±8,49	1413,02 ±55,15	954,00 ±43,84	4,83 ±0,05	80,32 ±5,20

6.6.1.2 Propriétés rhéologiques de viscosité des amidons isolés

Les amylogrammes obtenus pour le sorgho blanc et pigmenté et pour le mil local et importé, illustrés dans la figure 6.21, sont caractéristiques des amidons de céréales. Ils présentent des allures différentes de celles des moutures intégrales (figure 6.20), ce qui laisse supposer que la présence des autres constituants comme les lipides, les fibres et les protéines ont une influence non négligeable sur le comportement rhéologique des amidons. La viscosité croît très rapidement pour atteindre le pic. C'est une caractéristique qui se révèle très intéressante à valoriser.

D'après l'examen des amylogrammes, l'amidon du mil local se distingue des autres qui sont très semblables. La viscosité au pic chez cet amidon est relativement plus faible. La viscosité finale pour tous les amidons est, par contre, très similaire.

Les amylogrammes des amidons de sorgho pigmenté prétraités différemment sont confondus, ceci montre que le prétraitement à l'hypochlorite de sodium n'influe pas sur la viscosité des amidons extraits à partir du sorgho pigmenté.

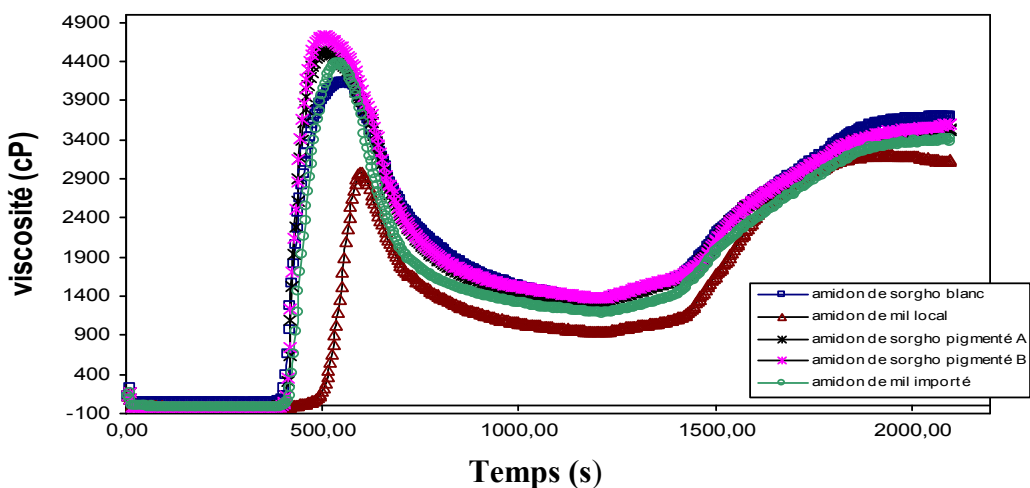


Figure 6.21 : Viscosités des amidons purs de sorgho et de mil perlé dans l'eau

Les valeurs caractéristiques de viscosité pour les amidons extraits à partir des différentes céréales sélectionnées sont rassemblées dans le tableau 6.11 et 6.12 respectivement pour le sorgho et le mil perlé.

Tableau 6.11 : Caractéristiques de viscosité des amidons purs de sorgho dans l'eau

Amidon	PV (cP)	HPV (cP)	BD (cP)	FV (cP)	SB (cP)	PT (min)	Tg (°C)
ASBI03	4871,50 ±45,96	1411,50 ±12,02	3460,00 ±57,98	4039,00 ±18,38	2627,50 ±30,41	8,06 ±0,00	73,42 ±0,04
ASBI04	4093,00 ±9,90	1330,00 ±15,56	2763,00 ±25,5	3718,50 ±14,85	2388,50 ±30,4	9,60 ±5,66	81,87 ±0,40
ASPI04	4634,50 ±136,47	1342,00 ±42,43	3292,50 ±94,05	3562,50 ±43,13	2220,50 ±0,71	8,47 ±0,00	84,70 ±0,60
ASBI06	3978,01 ±45,25	1755,25 ±57,98	2223,10 ±12,73	3920,31 ±18,38	2165,47 ±39,60	9,77 ±0,05	74,67 ±0,04
ASPI06	3712,00 ±18,38	1569,50 ±9,19	2142,50 ±27,58	3778,50 ±14,85	2209,00 ±24,04	10,00 ±0,00	76,05 ±0,00
ASPG06	4602,00 ±11,31	1507,50 ±20,51	3094,50 ±9,19	3778,50 ±50,20	2271,00 ±29,70	9,13 ±0,00	72,05 ±0,00

Tableau 6.12 : Caractéristiques de viscosité des amidons purs de mil perlé dans l'eau

Amidon	PV (cP)	HPV (cP)	BD (cP)	FV (cP)	SB (cP)	PT (min)	Tg (°C)
AMI02	3809,00 ±26,87	1066,00 ±11,31	2743,00 ±15,56	3062,50 ±26,16	1996,50 ±14,85	9,33 ±0,00	75,07 ±0,04
AMI04	2985,00 ±5,66	967,00 ±31,11	2018,00 ±16,97	3147,50 ±6,36	2180,50 ±58,69	9,97 ±2,83	76,70 ±0,70
AMI05	3694,00 ±52,33	1125 ±16,97	2569 ±69,30	3030,5 ±12,02	1905,5 ±28,99	9,17 ±0,05	73,85 ±0,07
AMJI06	3514,00 ±46,67	951,00 ±38,18	2563 ±8,49	2675,5 ±45,96	1724,5 ±7,78	8,80 ±0,09	74,25 ±0,07
AMGI06	3402,50 ±16,26	1089,00 ±21,21	2313,50 ±37,48	2938,00 ±12,73	1849,00 ±8,49	9,47 ±0,00	76,00 ±0,07
AMT06	3254,50 ±17,68	892,50 ±14,85	2362,00 ±2,83	2670,50 ±6,36	1778,00 ±8,49	9,40 ±0,00	74,65 ±0,07
AMN04	4379,00 ±1,31	1185,00 ±16,40	3194,01 ±9,90	3413,04 ±12,02	2228,02 ±6,01	9,00 ±0,00	75,61 ±0,52

Les amidons de sorgho et de mil présentent des différences significatives dans les caractéristiques de viscosité selon le phénotype et la culture. Ceci était prévisible vu les différences enregistrées pour la granulométrie et le taux d'amylose.

L'amidon de sorgho blanc de 2003, présente les valeurs de la viscosité les plus élevées, un temps et une température de gélatinisation plus faibles. Beta et al. (2000) ont obtenu, pour les quatre variétés de sorgho cultivées au Zimbabwe, des temps de pic voisins (7,50 min).

L'étude comparative des viscosités des amidons de sorgho de différentes régions de culture et d'autres sources botaniques dont les résultats sont reportés au tableau 6.13 montre que les amidons des cultivars de sorgho locaux et de mil présentent une viscosité au pic, un breakdown et un setback relativement plus élevés et un temps de gélatinisation plus faible que ceux des sorghos et des autres céréales déjà étudiés. Ceci revêt une grande importance quant à leur application. L'amidon de pomme de terre montre un comportement similaire à celui des amidons de sorgho et mil analysés. Il présente un pic de viscosité très important relativement à celui du blé, dont le pic est quasi inexistant; en revanche, la perte de viscosité est ensuite bien supérieure pour les amidons de sorgho, de mil et de pomme de terre (Roudot, 2002).

Selon Singh et al. (2009), une viscosité élevée au pic peut être attribuée à l'absence de lipide et indique la capacité des granules à gonfler librement avant d'être physiquement détruits. La température de gélatinisation des amidons des céréalicultures locales de sorgho est plus élevée que celle des sorghos cultivés au Zimbabwe et proche de celle des amidons de sorgho originaire d'Inde et de Nigeria. Le génotype et les conditions environnementales, en particulier la température de maturité, peuvent expliquer cette différence.

**Tableau 6.13 : Valeurs de caractéristiques de viscosité des amidons déjà publiés
sur l'amidon de sorgho et d'autres origines botaniques**

Cultivars	PV	HPV	BD	FV	SB	Tg (°C)	Source
Sorgho Inde (15)	2541-4689 (cP)	919-2629 (cP)	911-2645 (cP)	2314-4743 (cP)	1067-2114 (cP)	75,2-80,9	Singh et al., 2009
Sorgho Zimbabwe (10)	3984 (cP)	1392 (cP)	2592 (cP)		1536 (cP)	69-70,3	
Sorgho Nigeria	2004 (cP)		144 (cP)		1476 (cP)	82,6	
Sorgho Zimbabwe (5)	2970-3320 (cP)						Beta et al., 2000
Sorgho Barnard Red Afrique du Sud	343 ^a (RVU)	110 ^a (RVU)			113 ^a (RVU)		Beta et al., 2000
Sorgho Chine	279 (RVU)	113 (RVU)			129 (RVU)		
Maïs Sigma chem.	247 (RVU)	140 (RVU)			111 (RVU)		
Manioc Inde (7)						52,6-63,7	Moorthy, 2000
Blé tendre Europe (26)	160,3-321 (BU)		34,0-89,3 (BU)	253,0-539 (BU)	166,0-85,5 (BU)		Massaux et al., 2008

6.6.2 Pouvoir de gonflement et indice de solubilité dans l'eau des amidons isolés

Le pouvoir de gonflement qui traduit le comportement thermique des différents amidons de sorgho et de mil est relativement différent selon les cultivars, comme le montrent respectivement les figures 6.22 et 6.23.

Le pouvoir gonflant augmente avec la température pour atteindre un maximum de 12 à 15 g/g pour les sorghos et 11 à 15 g/g pour les mils à 95 °C.

L'influence du phénotype est très marquée pour le sorgho et le mil. L'amidon de sorgho pigmenté de 2004 et celui de sorgho blanc 2006 possèdent la même allure qui se distingue des autres qui sont des droites. Les différences dans les propriétés physicochimiques et fonctionnelles telles que le taux d'amylose et la température de gélatinisation peuvent être à l'origine du comportement thermique des amidons.

Le pouvoir de gonflement, SP est influencé aussi par la granulométrie. D'après Tang et al. (2004), plus la taille des granules est faible plus le gonflement est grand. Des équations restent à développer pour expliquer la relation entre les caractéristiques thermiques et le pouvoir de gonflement. Radosta et al. (1991), ont observé un comportement différent chez l'amidon de blé, de maïs et de pomme de terre avec un palier entre 60 et 85 °C suivi d'une croissance rapide.

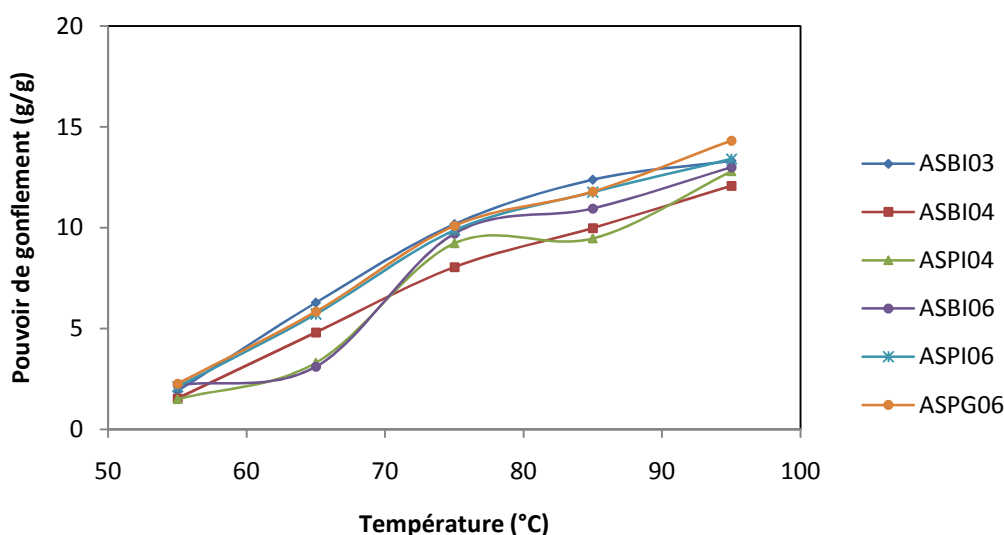


Figure 6.22 : Pouvoir de gonflement des amidons purs de sorgho

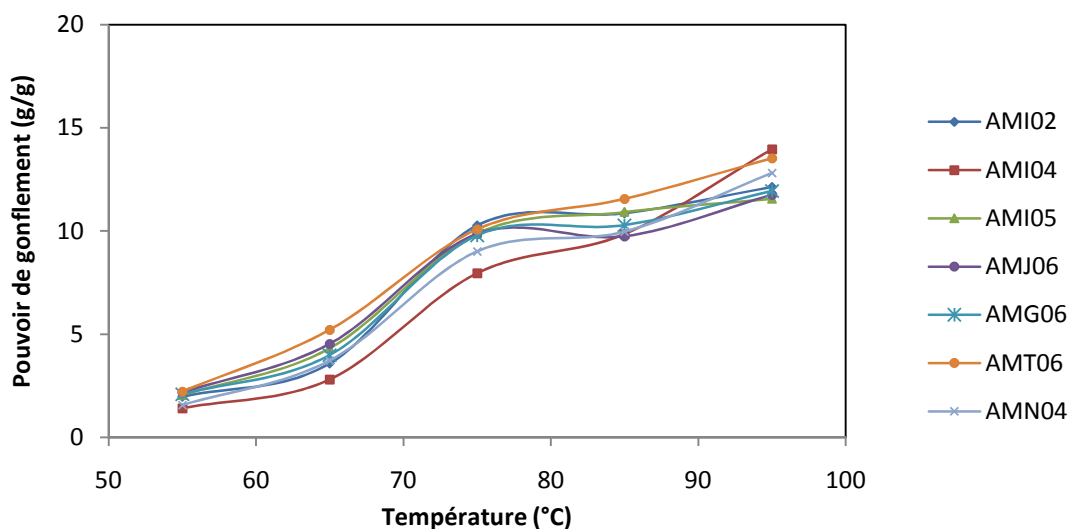


Figure 6.23 : Pouvoir de gonflement des amidons purs de mil perlé

Les indices de solubilité dans l'eau, WSI (water solubility index) pour les amidons de sorgho et de mil respectivement sont représentés aux figures 6.24 et 6.25. Les allures sont distinctes. Les mêmes observations sont notées, à savoir une augmentation de l'indice de solubilité avec la température pour atteindre des maxima de 7 à 11 % pour les sorghos et 7 à 12 % pour les mils. En chauffant, les granules absorbent l'eau qui solubilise les petites chaînes de polysaccharides et autres composés. Pour la plupart des cultivars, un palier est observé entre 85 et 95 °C. Ce palier peut s'expliquer par le fait qu'à 85 °C, la solubilisation est ultime.

L'amidon de pomme de terre possède l'indice le plus élevé, 25% à 95 °C (Radosta 1991). Le pouvoir de gonflement et l'indice de solubilité du blé sont respectivement de 11,3 g/g et 13,3 % (Vansteelandt et al., 1999). Cette dernière valeur est proche de celle obtenue pour les cultivars de mil et sorgho. Une grande solubilité indique une grande tendance de diffusion de l'amylose dans les milieux aqueux (Chanapamokkhot et Thongngam, 2007).

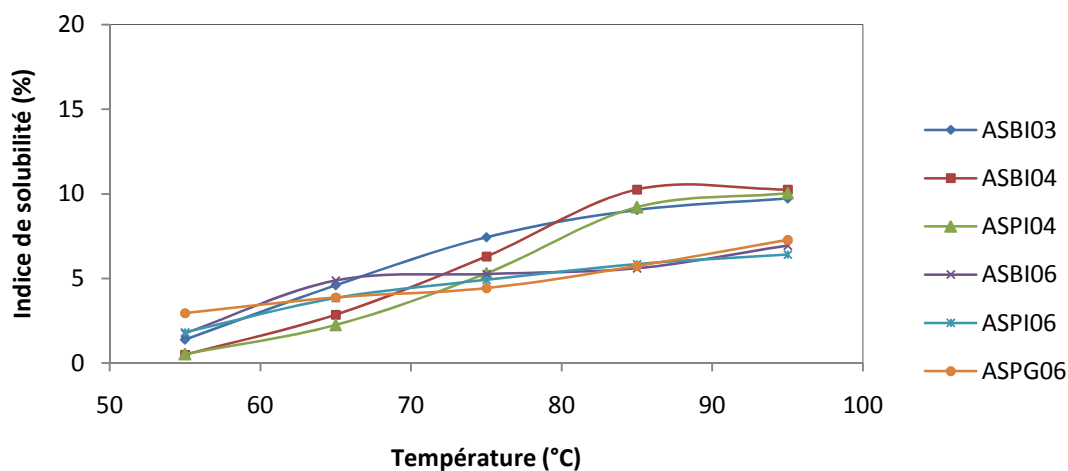


Figure 6.24 : Indice de solubilité, des amidons purs de sorgho

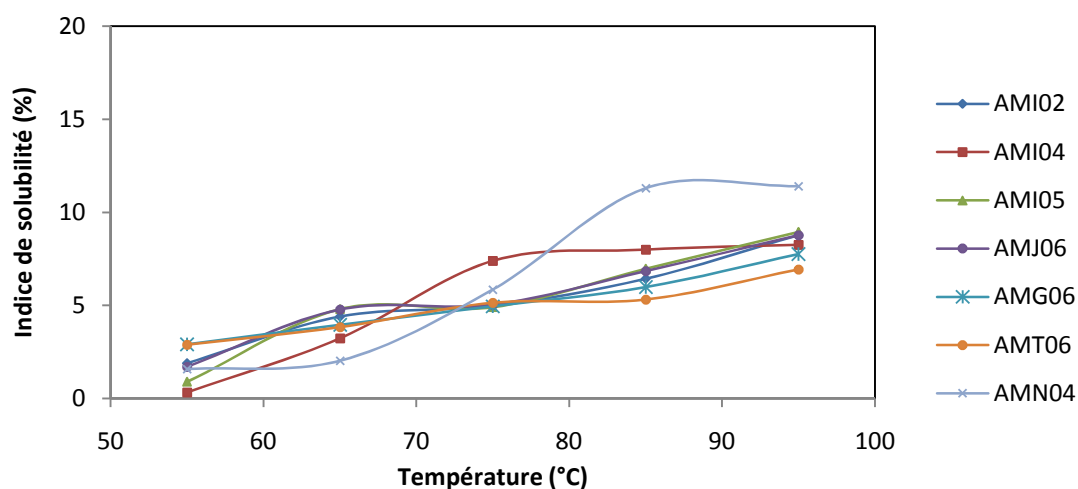


Figure 6.25 : Indice de solubilité des amidons purs de mil perlé

Les résultats de viscosité et de solubilité des amidons des cultivars locaux de sorgho et de mil, peuvent suggérer que la structure se caractérise par des chaînes courtes.

6.6.3 Comparaison des deux méthodes de prétraitement du sorgho pigmenté

Suite à l'influence de la présence des tanins dans le sorgho pigmenté sur les propriétés physiques de l'amidon, un essai supplémentaire a été mené en ajoutant de l'hypochlorite de sodium à la solution de trempage. La comparaison entre les deux traitements a montré que l'hypochlorite de sodium permet d'améliorer la couleur de l'amidon extrait.

Il donne une meilleur blancheur à l'amidon tout en gardant les même propriétés fonctionnelles (distribution granulométrique, viscosité, pouvoir de gonflement et de solubilité dans l'eau.

Signalons qu'il a été rapporté que les produits chimiques tels que les acides, dioxyde de sulfure, et les agents de blanchiment utilisés pour améliorer la couleur affectent négativement la qualité de l'amidon (Moorthy, 2002).

6.7 Propriétés thermiques des amidons isolés

Les courbes d'évolution du flux de chaleur en fonction de la température des amidons de sorgho blanc et pigmenté ainsi que ceux du mil local et importé sont représentées aux figures 6.26 et 6.27.

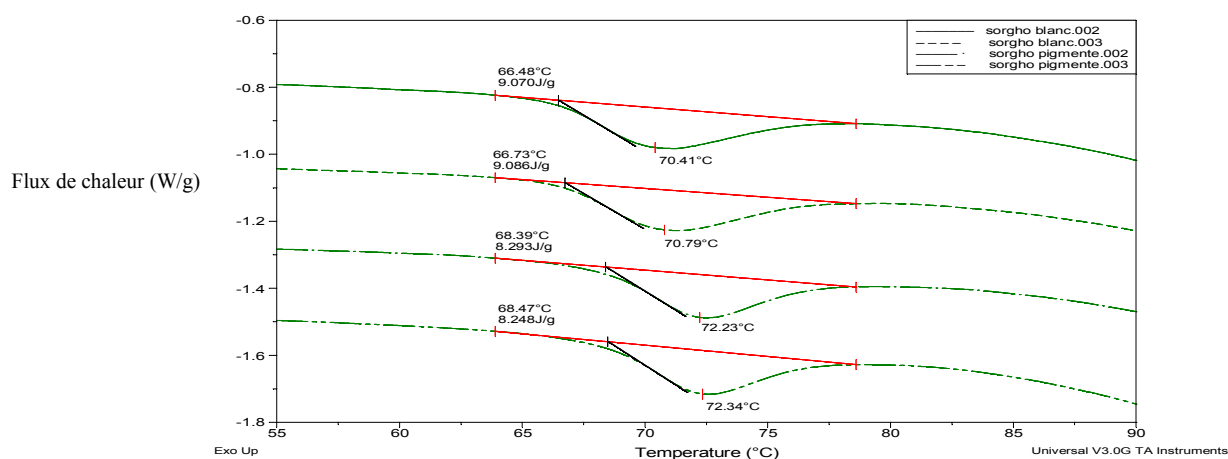


Figure 6.26 : Thermogrammes des amidons purs de sorgho blanc et pigmenté

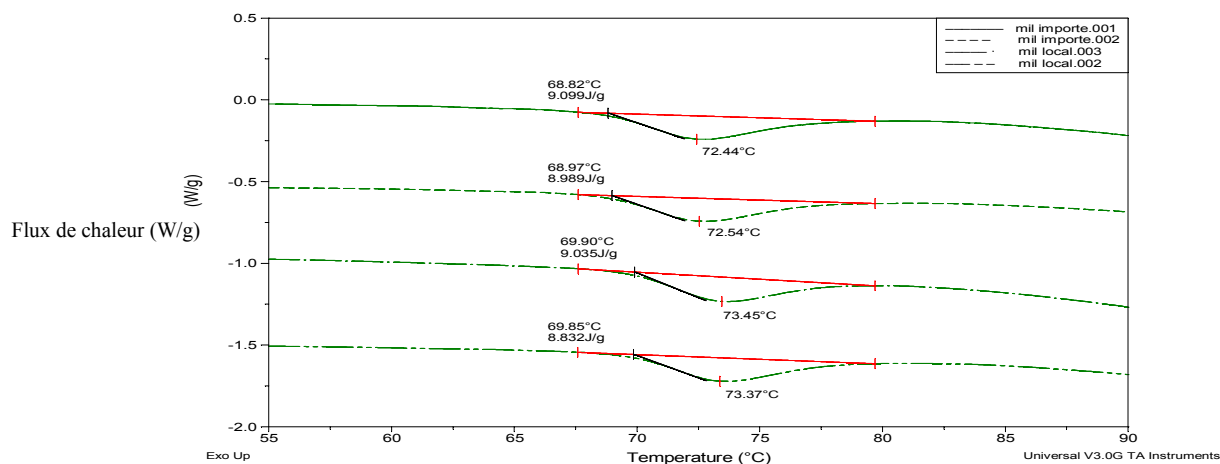


Figure 6.27 : Thermogrammes des amidons purs de mil perlé local et importé d'Agadez

Les températures de gelatinisation [T_o (onset), T_p (pic) et T_c (conclusion)] et l'enthalpie de gelatinisation ΔH des amidons de sorgho et de mil déterminées à partir des courbes sont données au tableau 6.14.

Tableau 6.14 : Caractéristiques thermiques des amidons de sorgho et de mil perlé

sorgho (<i>sorghum bicolor</i> (L.) Moench)							
Amidon	ASBI03	ASBI04	ASPI04	ASBI06	ASPI06	ASG06	
T_{onset} (°C)	71,07 ±0,01	66,60 ±0,18	68,42 ±0,06	70,70 ±0,16	69,27 ±0,01	67,36 ±0,04	
T_{pic} (°C)	74,48 ±0,01	70,6 ±0,27	72,29 ±0,08	74,20 ±0,22	73,06 ±0,16	71,33 ±0,23	
ΔH (J/g)	15,08 ±0,23	9,09 ±0,01	8,27 ±0,03	15,13 ±0,72	13,74 ±0,32	12,82 ±0,87	
mil (<i>Pennisetum glaucum</i>)							
Amidon	AMI02	AMI04	AMI05	AMJI06	AMGI06	AMT06	AMN04
T_{onset} (°C)	69,60 ±0,00	69,88 ±0,04	69,32 ±0,21	68,92 ±0,11	69,07 ±0,06	67,97 ±0,47	68,89 ±0,12
T_{pic} (°C)	74,15 ±0,01	73,44 ±0,04	73,37 ±0,28	73,45 ±0,09	74,09 ±0,00	73,02 ±0,13	72,49 ±0,07
ΔH (J/g)	12,87 ±0,39	8,93 ±0,143	12,83 ±0,339	12,45 ±0,15	12,81 ±0,18	12,29 ±0,67	9,04 ±0,08

Des différences significatives pour les caractéristiques thermiques (T_{onset} , T_{pic} et ΔH) ont été observées entre les amidons de phénotypes de sorgho et de mil. Cependant, il n'y a pas de différences significatives entre ASBI03 et ASBI06 et entre AMI05 et AMI06. Les amidons de sorgho blanc de 2003 et 2006 ont montré une température de gélatinisation et une enthalpie plus élevées. Pour l'amidon de mil local, la différence n'est pas significative, à l'exception de l'amidon de mil d'In Salah 2004, qui a enregistré la valeur de T_{pic} la plus faible.

Comparé aux résultats obtenus par Jenkins et Donald (1998), Jane et al. (1999), Singh et al. (2003), pour les amidons d'autres sources botaniques (pomme de terre, maïs, riz, et blé), l'amidon de sorgho est caractérisé par une plus grande température de début de gélatinisation, T_{onset} et au pic, T_{pic} ainsi qu'une plus faible enthalpie de gélatinisation.

Des températures de gélatinisation de 67-73 °C ont été rapportées pour les amidons de sorgho cultivés en Afrique du sud, de 71-81 °C pour ceux cultivés en Inde (Taylor, 2006) et 73,2 °C pour l'amidon de sorgho cireux de Corée (Choi et al., 2004).

La température de gélatinisation est influencée par plusieurs facteurs. Effectivement, elle augmente avec la longueur des chaînes dans la molécule d'amylopectine (Taylor, 2006). De même, Moorthy (2002) a constaté qu'une température de gélatinisation élevée peut indiquer une grande stabilité des réseaux cristallins dans les molécules d'amidon et que l'enthalpie de gélatinisation dépend des liaisons intermoléculaires dans la structure cristalline

ainsi que des facteurs génétiques et environnementaux. Il peut être déduit, par conséquent, que l'environnement hyperaride du Sahara a affecté de façon significative les propriétés de gélatinisation des amidons de sorgho et de mil, ce qui pourrait expliquer les valeurs élevées de température de gélatinisation et faibles de l'enthalpie.

Des observations similaires ont été faites pour l'amidon de blé et d'autres céréales; cependant, les enthalpies obtenues étaient plus importantes (Matsuki et al., 2003) comparativement aux résultats obtenus pour les cultivars locaux.

6.8 Recherche de l'activité de l' α -amylase endogène

Pour la mise en évidence de la présence ou de l'absence de l'activité α -amylasique endogène dans les grains des cultivars locaux étudiés, des essais de viscosité ont été effectués sur les moutures intégrales de sorgho et de mil, en suspension dans une solution de nitrate d'argent.

Le nitrate d'argent est connu pour son action inhibitrice de l'activité des α -amylases, comme le rapportent Baston et al. (1993) et Bhattacharya et al. (1996). Ils ont utilisé respectivement des concentrations de 9 mM et 0,5 mM. Abdel-Aal (2002) a également utilisé le nitrate d'argent, comme agent inhibiteur avec une concentration de 85 mg/500 ml. Une concentration de nitrate d'argent 2 mM a été utilisée pour ce travail. Elle a été optimisée par l'équipe de recherche du CRA¹⁷.

L'activité α -amylasique endogène a donc été déterminée à partir de la viscosité des moutures et des amidons des céréales dans l'eau de même que dans la solution de nitrate d'argent. La variation de la viscosité étant un très bon indicateur de l'activité des α -amylases, et dans le but de mieux apprécier l'activité des α -amylases endogènes, ces caractéristiques de viscosité ont été déterminées et reportées au tableau 6.15.

Il ressort effectivement que les variations entre viscosités pour les suspensions de sorgho fortement pigmenté importé des USA (SPG06) sont significatives, ainsi que pour les suspensions de tous les mils testés (MI02, MI04, MI05, MT06, MG06).

Cette variation significative des caractéristiques de viscosités exprime la présence de l' α -amylase endogène dans ces cultivars de sorgho et de mils. L'absence d'amylase dans les cultivars locaux de sorgho est à signaler. Les investigations sur 7 variétés de sorgho blanc du Sénégal ont montré une bonne activité amylasique endogène, la plus performante étant la variété F-2-20 (Ba et al., 2010).

¹⁷CRA : Centre de Recherches Agronomiques de Gembloux, Belgique

L' α -amylase endogène joue un rôle important dans les transformations technologiques des pâtes à base de farines de céréales notamment lors du pétrissage, de la fermentation et au cours de la cuisson. Elle permet d'obtenir une bouillie plus liquéfiée et plus facile à digérer (prédigestion).

En cas de malnutrition, l'adjonction d'amylase permet de préparer des bouillies liquides très énergétiques. Industriellement, on peut produire des farines qui ont subi l'action d'amylases pendant leur préparation, ou qui ont été traitées par cuisson-extrusion. Les amylases utilisées dans l'industrie sont produites dans des laboratoires par des micro-organismes. En milieu domestique, l'amylase domestique est obtenue à partir de farine de céréales germées, notamment dans les régions où l'on consomme de la bière traditionnelle de mil ou de sorgho.

L'analyse des caractéristiques de viscosité des amidons purs des différents cultivars dans l'eau et la solution d'argent (un exemple de résultat à la figure 6.28) ne montre pas de différences significatives, ce qui traduit une absence d'activité amylasique dans les amidons. En effet, l'isolement de l'amidon passe par des lavages à l'eau, l'amylase soluble dans l'eau est extraite de l'isolat.

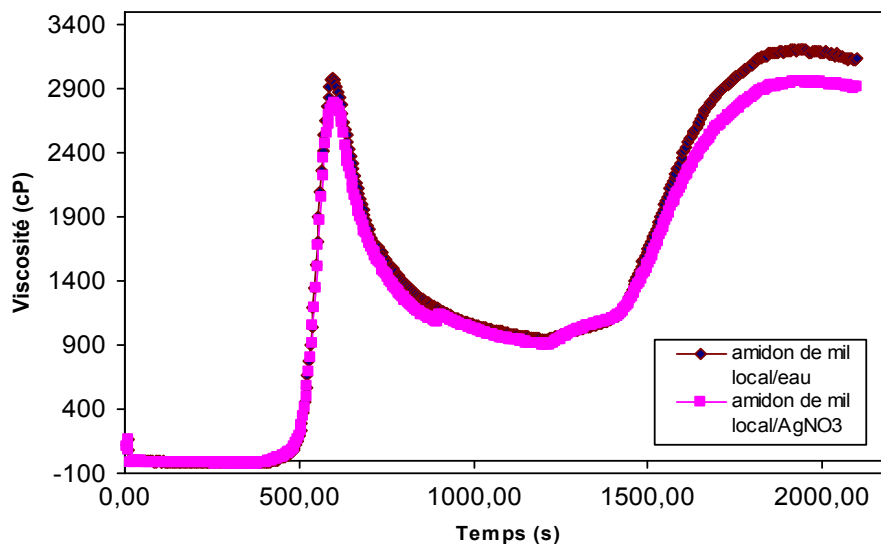


Figure 6.28 : Viscosité de l'amidon pur de mil local dans l'eau et d'AgNO₃

Tableau 6.15 : Caractéristiques de viscosité des moutures intégrales de sorgho et de mil perlé dans la solution de nitrate d'argent (2mM)

Cultivar	PV (cP)	HPV (cP)	BD (cP)	FV (cP)	SB (cP)	PT (min)	Tg (°C)
<i>mouture de sorgho</i>							
SBI03	871,50 ±23,33	850 ±22,63	21,5 ±0,71	3083 ±113,14	2233 ±90,51	6,97 ±0,05	84,70 ±0,14
SBI04	628,50 ±19,09	580 ±19,80	48,5 ±0,71	1673 ±49,50	1093 ±29,70	7,00 ±0,00	83,12 ±1,03
SPI04	608,50 ±0,71	554 ±8,49	54,50 ±9,19	1513 ±11,31	959 ±2,83	4,87 ±0,00	83,85 ±0,07
SBI06	411,50 ±12,02	389,5 ±9,19	22 ±2,83	1775 ±11,31	1359,5 ±0,71	5,00 ±0,00	87,9 ±0,00
SPI06	740 ±11,31	681 ±8,49	53,5 ±4,95	1550 ±12,73	863,5 ±6,36	4,83 ±0,05	82,27 ±0,04
SPG06	523 ±26,87	525,50 ±26,16	-2,5 ±0,71	1181 ±24,04	655,5 ±2,12	4,97 ±0,05	82,62 ±0,60
<i>mouture de mil perlé</i>							
MI02	1492 ±65,05	1004 ±15,56	488 ±49,50	2643,5 ±82,73	1639,5 ±67,18	5,133 ±0,00	83,95 ±0,07
MI04	1019 ±22,63	695,5 ±28,99	323,5 ±6,36	2071,5 ±50,20	1376 ±21,21	5,03295 ±0,05	84,3 ±0,71
MI05	1284 ±62,23	993 ±42,43	291 ±19,80	2540 ±80,61	1547 ±38,18	4,97 ±0,05	81,9 ±0,57
MGI06	1312 ±9,90	847,5 ±19,09	464,5 ±9,19	1842,5 ±17,68	995 ±1,41	4,93 ±0,00	78,65 ±0,49
MT06	805 ±1,41	674 ±1,41	131 ±0,00	1812 ±8,49	1138 ±9,90	4,8663 ±0,00	84,75 ±1,20

CHAPITRE 7:

**ETUDE CINÉTIQUE DE L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE
DES AMIDONS DE SORGHO, DE MIL PERLÉ
ET D'AUTRES SOURCES BOTANIQUES**

CHAPITRE 7: ETUDE CINÉTIQUE DE L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE DES AMIDONS DE SORGHO, DE MIL PERLÉ ET D'AUTRES SOURCES BOTANIQUES.

La conversion enzymatique des amidons a été choisie parce qu'il s'agit du meilleur procédé de valorisation industrielle à envisager relativement à l'hydrolyse acide. En effet, l'hydrolyse acide donne lieu à une couleur prononcée et une teneur élevée en sel. La consommation d'énergie et la difficulté à contrôler le process sont aussi des facteurs limitant. De plus, l'hydrolyse enzymatique permet une meilleure compréhension du mécanisme de bioconversion et de la structure fine de l'amidon.

Ce chapitre présente les résultats des travaux relatifs à l'étude cinétique de l'hydrolyse enzymatique de substrats d'amidon. Deux étapes sont envisagées : la liquéfaction et la saccharification.

Les amylases possèdent deux activités différentes pour catalyser ces deux étapes :

- ❖ L'activité désignée par l'endoaction, consiste en une catalyse de la réaction d'hydrolyse des liaisons α - (1,4) glycosidiques présentes dans les parties internes des chaînes de l'amylose et de l'amylopectine.
- ❖ L'activité désignée par l'exoaction, consiste en une catalyse de la réaction de formation des sucres réducteurs produits de l'hydrolyse des liaisons α - (1,4) des unités externes de glucose contenues dans l'amylose et de l'amylopectine proches des extrémités réductrices.

La recherche a permis de déterminer :

- les conditions opératoires permettant l'étude cinétique de l'hydrolyse enzymatique des amidons et l'application du modèle de Michaelis-Menten qui conduit à l'évaluation des constantes cinétiques,
- la susceptibilité des amidons isolés et non isolés de sorgho et de mil perlé à l'hydrolyse en présence d' α -amylases de différentes sources en comparaison avec celle d'amidons purs commerciaux,
- l'influence de la source d'enzyme et de l'origine botanique de l'amidon sur l'endoaction et l'exoaction.

Dans cette étude, nous avons utilisé des amidons purs commerciaux de pommes de terre ST₁ et ST₂, de l'amidon soluble ST₃, de l'amylomaïs ST₄, de l'amylopectine de maïs ST₅, de l'amidon de maïs peu soluble ST₆, de l'amidon de pommes de terre partiellement soluble ST₇, de l'amidon de blé ST₈ et de l'amidon très soluble de pomme de terre ST₉.

Nous avons également utilisé les amidons purs isolés au laboratoire à partir des grains de sorgho et de mil perlé des régions d'In Salah, de Tamanrasset, d'Agadéz et des USA, de différentes récoltes et différents phénotypes. Certaines de leurs caractéristiques sont données respectivement aux tableaux 4.3 et 5.4. Ces amidons diffèrent de par leur source, leur solubilité et leur composition en amylose.

Les enzymes retenues ont été : l' α -amylase fongique E_1 (*Aspergillus oryzae*) et l' α -amylase bactérienne E_2 (*Bacillus subtilis*), qui possèdent une endoaction importante, la Takadiastase E_3 (*Aspergillus oryzae*), l' α -amylase salivaire humaine E_4 , l'amyloglucosidase fongique E_5 (*Rhizopus mold*) qui est une exo-enzyme, l' α -amylase thermostable E_6 et l' α -amylase bactérienne Termamyl®300L Type DXE $_7$ (*Bacillus licheniformis*) et dont les activités sont données au tableau 4.4.

7.1 Hydrolyse d'amidons purs commerciaux et d'autres sources botaniques

Les essais de liquéfaction et saccharification ont visé la mise en évidence des activités des amylases choisies et la détermination des conditions opératoires optimales d'hydrolyse.

7.1.1 Liquéfaction des amidons purs commerciaux

Tous les essais ont été effectués selon la méthode standard de détermination de l'activité amylolytique : Colorimetric Method GOST 20264.4-74, (Gracheva et al., 1982).

La concentration initiale de l'amidon, le pH, la température et le temps de la réaction sont respectivement : $[S]_0 = 7$ mg/ml, pH= 4,7 ; T= 30 °C ; t= 10 min.

La formule de calcul de la vitesse initiale de liquéfaction de l'amidon (§ 4.24.6.3) est valable pour des rendements d'hydrolyse compris dans l'intervalle 20-70 % (m/m). Nous avons donc effectué les dilutions des solutions d'enzymes. Les tableaux 7.1 à 7.7 présentent les concentrations des différentes enzymes, les vitesses initiales des réactions V_0 et les rendements d'hydrolyse RH des amidons purs.

Tableau 7.1 : Concentrations de l'enzyme E_1 (α -amylase fongique), des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V_0 des amidons purs commerciaux.

Amidon	$[E_1]_0$ (mg/ml)	RH (%)	V_0 (mg.ml ⁻¹ min ⁻¹)
ST $_1$	0,01	30	0,20
ST $_2$	0,01	20	0,13
ST $_3$	0,05	70	0,47
ST $_4$	0,03	63	0,42
ST $_5$	0,05	70	0,47
ST $_6$	0,01	20	0,13
ST $_7$	0,05	57	0,38

Tableau 7.2 : Concentrations de l'enzyme E₂ (α -amylase bactérienne), des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V₀ des amidons purs commerciaux.

Amidon	[E ₂] ₀ (mg/ml)	RH (%)	V ₀ (mg.ml ⁻¹ min ⁻¹)
ST ₁	0,03	70	0,47
ST ₂	0,01	20	0,13
ST ₃	0,03	60	0,48
ST ₄	0,01	30	0,20
ST ₅	0,05	66	0,44
ST ₆	0,03	50	0,33
ST ₇	0,05	48	0,32

Tableau 7.3 : Concentrations de l'enzyme E₃ (Takadiastase), des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V₀ des amidons purs commerciaux.

Amidon	[E ₃] ₀ (mg/ml)	RH (%)	V ₀ (mg.ml ⁻¹ min ⁻¹)
ST ₃	0,4	55	0,37
ST ₄	0,4	52	0,35
ST ₅	0,4	70	0,47
ST ₆	0,4	34	0,23
ST ₇	0,4	54	0,36

Tableau 7.4 : Concentrations de l'enzyme E₄ (α -amylase salivaire), des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V₀ des amidons purs commerciaux.

Amidon	[E ₄] ₀	RH (%)	V ₀ (mg.ml ⁻¹ min ⁻¹)
ST ₁	0,018	14	
ST ₂	0,018	36	0,24
ST ₃	0,036	64	0,43
ST ₄	0,072	70	0,47
ST ₅	0,018	23	0,15
ST ₆	0,018	30	0,20
ST ₇	0,072	68	0,45

Tableau 7.5 : Concentrations de l'enzyme E₅ (amyloglucosidase), des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V₀ des amidons purs commerciaux.

Amidon	[E ₅] ₀ (mg/ml)	RH (%)	V ₀ (mg.ml ⁻¹ min ⁻¹)
ST ₂	0,05	70	0,47
ST ₄	0,20	48	0,52
ST ₅	0,20	70	0,47

Tableau 7.6 : Concentrations de l'enzyme E₆ (α -amylase thermostable), des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V₀ des amidons purs commerciaux

Amidon	[E ₆] ₀ (mg/ml)	RH (%)	V ₀ (mg.ml ⁻¹ min ⁻¹)
ST ₂	0,0005	50	0,33
ST ₄	0,0005	24	0,16
ST ₈	0,0005	34	0,22
ST ₉	0,0005	52	0,34

Tableau 7.7 : Concentrations de l'enzyme E₇ (α -amylase Termamyl, des rendements RH et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique V₀ des amidons purs commerciaux

Amidon	[E ₇] ₀ (mg/ml)	RH (%)	V ₀ (mg.ml ⁻¹ min ⁻¹)
ST ₂	0,0005	31	0,20
ST ₄	0,0005	22	0,15
ST ₉	0,0005	39	0,26

Les concentrations des différentes enzymes donnant des rendements d'hydrolyse d'amidon entre 20-70 % ont été obtenues pour les différents amidons purs commerciaux. La susceptibilité à l'hydrolyse des amidons purs de différentes sources botaniques est variable en fonction de l'amylase choisie. La source d'enzyme influe, donc, sur la cinétique de liquéfaction. La digestibilité des amidons par la même enzyme varie également sensiblement. Elle est plus élevée pour les amidons purs de pomme de terre et les amidons solubles. La liquéfaction est donc en relation avec la structure de l'amidon.

7.1.2 Saccharification des amidons purs commerciaux par les différentes enzymes

Trois amidons purs commerciaux ont été retenus pour les essais de saccharification : l'amidon de pomme de terre, (ST₂), l'amylomaïs (ST₄) et l'amylopectine de maïs (ST₅). L'hydrolyse a été effectuée dans les conditions suivantes: [S]₀= 5 mg/ml; pH= 6,9 ; T= 20 °C; t= 3 min. Les figures II.1, II.2, II.3, II.4 et II.5, en annexe II, représentent les concentrations en sucres réducteurs, exprimées en équivalent maltose, en fonction des concentrations d'amylase. Toutes les enzymes testées sont capables d'hydrolyser les différents types d'amidon en sucres réducteurs et il n'y a pas d'inhibition. Les résultats obtenus montrent l'influence de la source d'enzyme et du type d'amidon utilisé sur la saccharification de l'amidon. Les concentrations des enzymes pour la mise en évidence de l'activité enzymatique sont différentes. Le tableau 7. 8 regroupe les domaines de concentration d'enzyme capable d'assurer une linéarité entre les concentrations des produits de saccharification et les concentrations initiales des enzymes utilisées.

Tableau 7.8 : Domaines de concentration des enzymes, en mgml⁻¹, mettant en évidence l'exoaction des différentes α -amylases sur les amidons purs commerciaux

Amidon	[E ₁] ₀	[E ₂] ₀	[E ₃] ₀	[E ₄] ₀	[E ₅] ₀
ST ₂	0,2 - 0,6	0,025 - 0,5	0,5 - 1	0,036 - 0,18	0,025 - 0,1
ST ₄	0,3 - 1,2	0,025 - 0,9	0,5 - 4	0,036 - 0,18	0,025 - 0,1
ST ₅	0,2 - 0,6	0,025 - 0,9	0,5 - 2	0,036 - 0,18	0,025 - 0,1

D'après les tableaux 7.5, 7.6 et 7.7, les réactivités des amidons purs de pomme de terre ST₂ et d'amylomaïs ST₄ sont relativement proches en présence de toutes les enzymes testées à savoir l' α -amylase fongique E₁ et bactérienne E₂, la Takadiastase E₃, l'amylase salivaire E₄, et l'amyloglucosidase E₅. Par contre, la réactivité de l'amylopectine se distingue des autres amidons en présence de l' α -amylase bactérienne ou de l'amyloglucosidase. Elle est relativement plus élevée. Les amidons ST₂ et ST₄ et ST₅ présentent des réactivités similaires en présence des amylases fongique, salivaire et Takadiastase. La structure de l'amidon influence donc l'activité de l'amylase.

La plus grande susceptibilité est obtenue pour l'amidon soluble suivi de l'amylopectine en présence de l' α -amylase fongique et la Takadiastase. Cependant, en présence de l' α -amylase bactérienne et salivaire, la réactivité de l'amylopectine est légèrement plus élevée. La réactivité de l'amylomaïs est la plus faible. Toutefois, on remarque que la susceptibilité des trois substrats est très voisine en présence de l'amyloglucosidase. Ceci confirme le choix de l'utilisation de cette enzyme dans les nouvelles méthodes d'hydrolyse enzymatique pour la détermination de l'amidon total dans les agroressources (Multon, 1991 ; Southgate, 1979 et Robyt, 1990)

7.2 Etude de l'influence des constituants du grain sur la cinétique de l'hydrolyse enzymatique des amidons de sorgho et de mil perlé

La réactivité ou la susceptibilité des amidons de sorgho et de mil perlé à l'hydrolyse en présence des amylases et l'influence des constituants du grain (protéines, lipides et fibres) sur la réaction d'hydrolyse ont été évaluées suite à l'étude cinétique des deux étapes d'hydrolyse: la liquéfaction et la saccharification.

7.2.1 Cinétique de la liquéfaction enzymatique des amidons de sorgho et de mil perlé isolés et non isolés

La concentration d'amidon isolé et non isolé utilisée a été de $[S]_0 = 7$ mg/ml. Les concentrations des enzymes de différentes sources sont données par le tableau 7.9 ci-dessous. Ces concentrations ont été évaluées à partir des résultats des essais de liquéfaction des amidons purs obtenus précédemment (§ 7.1.1).

Tableau 7.9 : Concentration des amylases de différentes sources utilisées dans la liquéfaction des amidons de sorgho et de mil perlé

Enzyme	E₁	E₂	E₃	E₄	E₅	E₆	E₇
Concentration (mg ml⁻¹)	0,05	0,05	0,4	0,072	0,2	0,001	0,001

Les rendements de liquéfaction des substrats amylicés de sorgho et de mil en présence des différentes enzymes ainsi que les vitesses initiales des réactions sont rassemblées respectivement aux tableaux 7.10 et 7.11. Il en ressort que les substrats de sorgho et de mil peuvent être hydrolysés en dextrines en présence de toutes les enzymes testées. Cependant, la réaction diffère selon le prétraitement du substrat et la source d'enzyme.

La liquéfaction est faible pour l'amidon en présence de protéines, lipides et fibres et croît considérablement quand il est isolé. Les vitesses moyennes sont augmentées de 3 à 7 fois dans le cas où les protéines et les lipides sont extraits.

En présence de l' α -amylase bactérienne, salivaire et de l'amyloglucosidase, le sorgho possède une meilleure endoaction que le mil. Par contre, en présence de l' α -amylase fongique et de la Takadiastase, elle ne diffère pas de façon significative pour les deux céréales.

La comparaison des réactivités des substrats amylicés du sorgho et du mil avec celles des substrats purs commerciaux en présence des mêmes enzymes, montrent l'influence de la source botanique des amidons et donc de la structure de l'amidon. En effet, Lin et al. (2016) ont constaté que les teneurs élevées en amylose, les composés intermédiaires, et les longues chaînes d'amylopectine augmentent la résistance de l'amidon à l'hydrolyse enzymatique et la digestion in vitro.

Le rendement de liquéfaction de l'amidon de mil, qu'il soit isolé ou non, est plus faible que celui obtenu pour les amidons purs de pomme de terre, de maïs et d'amylopectine. En effet, il ne dépasse pas 60 % alors que pour les amidons préalablement cités, il varie entre 70 et 95 %. Comparé à l'amylose, il est similaire.

Concernant l'amidon de sorgho, le taux d'hydrolyse en dextrines est aussi plus faible que celui d'amidon pur de pomme de terre en présence de toutes les amylases et voisin de celui de l'amidon de maïs et de l'amylopectine en présence de l' α -amylase fongique, bactérienne, salivaire et de l'amyloglucosidase. Il est aussi voisin de celui de l'amylose en présence de l' α -amylase fongique, bactérienne et salivaire.

Le tableau 7.10 montre que les valeurs maximales de rendement voisines de 80 % sont obtenues pour l'amidon de sorgho isolé et liquéfié par l' α -amylase bactérienne et salivaire alors que la plus petite valeur (33 %) est obtenue en utilisant la Takadiastase.

Les rendements de liquéfaction de l'amidon de mil isolé en présence de toutes les α -amylases sont de 60 % à l'exception de l' α -amylase fongique qui donne le rendement le plus faible (50 %) et les amylases thermostables A3306 et Termamyl L300 qui donnent les rendements les plus élevés (68 et 80 % respectivement).

Tableau 7.10: Rendements de liquéfaction enzymatique des substrats de sorgho et mil perlé par les différentes amylases

Substrat	RH (%)						
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇
MSBI04	38	38	30	49	38	71	58
MSBI04 déprotéinée	65	64	54	76	62	78	80
MSBI04 délipidée	45	50	49	60	70	63	80
MSBI04 déprotéinée et délipidée	65	64	50	72	68	63	86
ASBI04	69	79	54	82	73	63	84
MMI04	39	10	45	38	19	88	72
MMI04 déprotéinée	43	39	44	51	53	43	56
MMI04 délipidée	55	22	55	46	59	33	68
MMI04 déprotéinée et délipidée	50	30	50	56	55	33	68
AMI04	60	50	60	61	60	68	80

Tableau 7.11 : Vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des substrats de sorgho et de mil perlé par les différentes amylases

Substrat	V ₀ (mg.ml ⁻¹ min ⁻¹)						
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇
MSBI04	0,25	0,25	0,20	0,33	0,25	0,47	0,38
MSBI04 déprotéinée	0,43	0,43	0,36	0,51	0,41	0,52	0,53
MSBI04 délipidée	0,30	0,33	0,33	0,40	0,47	0,41	0,53
MSBI04 déprotéinée et délipidée	0,43	0,43	0,33	0,48	0,45	0,41	0,56
ASBI04	0,46	0,53	0,36	0,55	0,49	0,22	0,42
MMI04	0,25	0,07	0,30	0,25	0,13	0,58	0,47
MMI04 déprotéinée	0,29	0,25	0,29	0,34	0,35	0,28	0,37
MMI04 délipidée	0,37	0,15	0,37	0,31	0,39	0,22	0,45
MMI04 déprotéinée et délipidée	0,33	0,20	0,33	0,37	0,37	0,22	0,45
AMI04	0,40	0,33	0,40	0,40	0,40	0,45	0,53

7.2.2 Cinétique de la saccharification enzymatique des amidons de sorgho et de mil perlé isolés et non isolés

L'étude cinétique de la saccharification des substrats de sorgho et de mil perlé a été effectuée dans les conditions opératoires suivantes : pH= 6,9 ; T= 20 °C; [S]₀= 5 mg/ml et t=3 min (Méthode Sigma, 1997). Les concentrations des enzymes sont données par le tableau 7.12.

Les valeurs des vitesses initiales de saccharification déterminées pour les substrats amylicés de sorgho et de mil perlé en présence des différentes amylases sont rassemblées au tableau 7.13 ci-après.

Tableau 7.12 : Concentration des amylases de différentes sources utilisées dans la saccharification des amidons de sorgho et de mil perlé

Enzyme	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇
Concentration (mg ml ⁻¹)	0,5	0,05	0,5	0,072	0,1	0,001	0,001

Tableau 7.13 : Vitesses initiales de saccharification enzymatique des substrats de sorgho et de mil perlé par les amylases de différentes sources

Substrat	V ₀ (mg.ml ⁻¹ .min ⁻¹)						
	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇
MSBI04	0,47	0,11	0,06	0,57	0,63	0,29	0,32
MSBI04 déprotéinée	0,59	0,27	0,07	0,69	0,83		
MSBI04 délipidée	0,48	0,26	0,23	0,61	0,80		
MSBI04 déprotéinée et délipidée	0,85	0,28	0,24	0,74	1,00	0,80	2,40
ASBI04	0,90	0,34	0,26	0,89	1,25	2,15	1,03
MMI04	0,36	0,11	0,11	0,32	0,43	0,32	0,38
MMI04 déprotéinée	0,56	0,16	0,13	0,46	0,70		
MMI04 délipidée	0,34	0,11	0,11	0,42	0,56		
MMI04 déprotéinée et délipidée	0,66	0,25	0,21	0,45	0,70	0,49	0,41
AMI04	0,66	0,31	0,25	0,80	0,77	2,06	0,89

La cinétique de saccharification varie de façon significative dans un intervalle de 0,06 à 2,40 mgml⁻¹.min⁻¹ selon la source de l'amylase. Les vitesses varient et peuvent atteindre un rapport de 1/10 pour le même substrat. L'amyloglucosidase E₅, semble être la plus rapide relativement aux autres amylases alors que la préparation de Takadiastase, E₃, contenant l' α -amylase et la β -amylase, dégrade les amidons avec la plus faible vitesse.

La présence des autres constituants du grain influe aussi sur la vitesse de saccharification. Celle-ci est maximale quand l'amidon est isolé. L'hydrolyse des amidons déprotéinés et délipidés donne des vitesses similaires.

7.3 Détermination des paramètres cinétiques d'hydrolyse enzymatique des amidons de sorgho, de mil perlé et d'autres sources botaniques

L'étude cinétique a permis d'établir les courbes cinétiques de saccharification enzymatique et l'évaluation des paramètres cinétiques.

L'exploitation des résultats a visé, en premier lieu, la mise en évidence des systèmes (amidon-enzyme) qui obéissent, durant l'hydrolyse, au modèle de Michaelis-Menten dans les conditions expérimentales choisies. Ce modèle décrit l'évolution de la réaction dans deux états à savoir l'état quasi-équilibre et l'état pré-stationnaire. Il est exprimé par deux équations

similaires qui sont respectivement, l'équation de Michaelis-Menten et l'équation de Briggs-Haldane. L'application du modèle de Michaelis-Menten se fait par la représentation graphique des transformées linéaires qui devraient illustrer des droites.

Dans cette étude, la représentation de Lineweaver-Burk appelée aussi la représentation des doubles inverses (l'inverse de la vitesse initiale en fonction de l'inverse de la concentration initiale de l'amidon) et la représentation d'Eadie-Hofstee (vitesse initiale en fonction du rapport entre la vitesse initiale et la concentration initiale de l'amidon) ont été adoptées. Dans un second lieu, les constantes cinétiques suivantes ont été évaluées:

- la vitesse initiale maximale V_{\max} ,
- la constante de Michaelis K_M qui correspond à concentration en substrat pour laquelle la vitesse initiale mesurée est égale à la moitié de la vitesse initiale maximale, V_{\max} , ou la constante de dissociation du complexe substrat-enzyme K_s ,
- la constante catalytique K_{cat}
- la constante de vitesse d'ordre 2 (deux), K_{cat}/K_M appelée aussi constante de spécificité.

Les amidons purs commerciaux retenus sont l'amidon soluble de pomme de terre ST₂, l'amidon de maïs riche en amylose ST₄ et l'amylopectine de maïs ST₅.

Les amidons sélectionnés ont été isolés à partir des grains de sorgho blanc, ASBI06 ; de sorgho pigmenté, ASPI06, d'In Salah et de sorgho américain fortement pigmenté commercialisé à Ghardaïa, ASG06; ainsi qu'à partir des grains de mil perlé de Tamanrasset, AMT06 et d'In Salah, AMJI06 et AMGI06.

Les amidons de sorgho et de mil ont été soumis pour la première fois à l'étude cinétique dans les conditions opératoires déterminées.

Les enzymes retenues sont : l' α -amylase fongique (*A. oryzae*) et l' α -amylase bactérienne (*B. subtilis*), l'amyloglucosidase fongique (*R. mold*) et l' α -amylase bactérienne Termamyl®300L Type DX (*B. licheniformis*).

Les concentrations des substrats amylicés utilisés sont les suivantes: $[S]_0 = 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,5; 2,0 \%$.

7.3.1 Paramètres cinétiques de la saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux

Les courbes cinétiques représentant les vitesses initiales de saccharification par l' α -amylase fongique E_1 en fonction des concentrations initiales des amidons purs commerciaux sont illustrées à la figure 7.1. Les courbes cinétiques obtenues en utilisant les autres enzymes à savoir l' α -amylase bactérienne E_2 , l'amyloglucosidase E_5 et l' α -amylase

Termamyl L300 E₇ sont représentées respectivement aux figures II.6, II.9 et II.12 en annexe II.

Les courbes cinétiques obtenues pour les amidons ST₂, ST₄ et ST₅ sont des hyperboles distinctes et les représentations graphiques de Lineweaver-Burk et Eadie-Hofstee sont des droites pour tous les amidons purs commerciaux avec des coefficients de corrélation $r^2 \geq 0,90$.

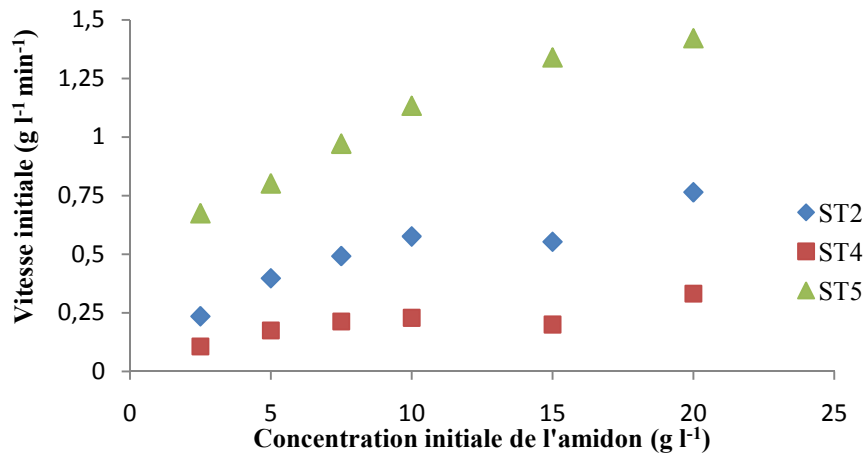


Figure 7.1 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'α-amylase fongique (E₁)

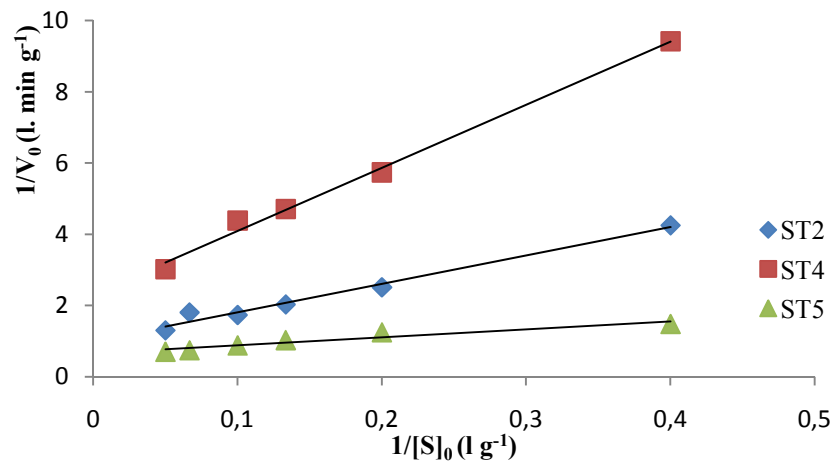


Figure 7.2 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'α-amylase fongique (E₁)

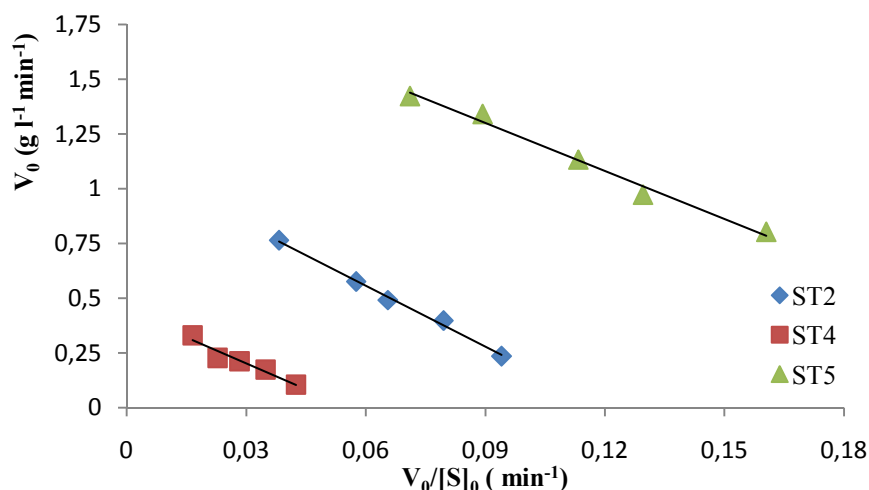


Figure 7.3 : Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase fongique (E_1)

Il ressort que, dans l'intervalle de concentration des amidons et des enzymes utilisées, l'hydrolyse (formation d'oligosaccharides) obéit aux équations de vitesses données par le modèle de Michaelis-Menten. C'est le cas de l'hydrolyse de tous les amidons utilisés en présence de l' α -amylase fongique (figures 7.2 et 7.3) et en présence de l' α -amylase bactérienne (figures II.7 et II.8, en annexe II). Par contre, les cinétiques d'hydrolyse de l'amylopectine en présence de l'amyloglucosidase (figure II.9 en annexe II), et de l'amylomais et l'amylopectine en présence d' α -amylase Termamyl L300 (figure II.12 en annexe II) sont non michaeliennes, comme le montrent les transformées de L-B et E-H en annexe II aux figures II.10 et II.11 pour l'amyloglucosidase et figures II.13 et II.14 pour l' α -amylase Termamyl.

Les constantes apparentes de Michaelis-Menten et des vitesses maximales initiales de saccharification des amidons purs commerciaux en présence de E_1 , E_2 , E_5 et E_7 ont été déterminées à partir des transformées linéaires de Lineweaver-Burk et Eadie-Hofstee et récapitulées au tableau 7.14.

L'affinité de l' α -amylase bactérienne, E_2 à l'exoaction sur les trois types d'amidon est plus faible relativement à celles de l' α -amylase fongique E_1 de l'amyloglucosidase, E_5 et l' α -amylase Termamyl L300, E_7 , dans les concentrations d'enzymes utilisées. Par contre, les vitesses maximales sont plus élevées à l'exception de l'amylopectine qui donne une valeur de V_{max} plus élevée en présence de l' α -amylase fongique. Cette exception peut s'expliquer par le fait que l'hydrolyse a été réalisée en utilisant une concentration initiale d'enzyme élevée.

Tableau 7.14 : Constantes de vitesse K_M et vitesses maximales V_{max} de l'exoaction des différents α -amylases sur les amidons purs commerciaux

Enzyme	$[E]_0$ (mgml ⁻¹)	Amidon	Modèle L-B		Modèle E-H	
			K_M (gl ⁻¹)	V_{max} (gl ⁻¹ min ⁻¹)	K_M (gl ⁻¹)	V_{max} (gl ⁻¹ min ⁻¹)
E ₁	0,4	ST ₂	9,39	1,12	9,26	1,11
	0,7	ST ₄	8,33	0,46	8,54	0,46
	4,5	ST ₅	7,24	1,94	7,30	1,95
E ₂	0,25	ST ₂	20,96	2,03	20,50	2,00
		ST ₄	10,98	0,63	10,86	0,63
		ST ₅	14,86	1,27	15,23	1,29
E ₅	0,05	ST ₂	4,48	0,15	4,61	0,15
		ST ₄	4,77	0,13	4,76	0,13
E ₇	0,01	ST ₂	7,66	0,03	7,58	0,03

Les valeurs de la vitesse initiale maximale et de la constante de Michaelis sont très voisines dans le cas de l'hydrolyse de l'amidon de pomme de terre soluble, ST₂ et l'amylomais, ST₄ pour une même concentration de l'amyloglucosidase.

L' α -amylase Termamyl L300, avec une concentration 40 fois plus faible, présente une constante de Michaelis pour l'amidon de pomme de terre proche de celle de l' α -amylase fongique. Elles ont donc relativement la même affinité. Cependant, la vitesse initiale maximale est relativement plus faible. Il ressort que l'amylase, de par sa nature thermostable, est plus rapide à des températures plus élevées.

Les valeurs des constantes catalytiques K_{cat} et des constantes de spécificité K_{cat}/K_M de l'exoaction des différents α -amylases sur les amidons purs commerciaux sont déduites et rassemblées au tableau 7.15.

La comparaison des constantes K_{cat} et K_{cat}/K_M montre que les constantes de vitesse de dépolymérisation en sucres réducteurs et de formation du complexe ST₂-E₁ résultant de la liaison entre le substrat d'amidon de pomme de terre soluble ST₂ et l' α -amylase fongique sont de 4 à 6 fois supérieures à celles obtenues dans le cas de l'amylomais, ST₄ et de l'amylopectine ST₅. Ceci justifie l'utilisation de concentrations plus élevées de cette enzyme pour l'étude cinétique de l'hydrolyse des amidons ST₄ et ST₅.

Tableau 7.15 : Constantes catalytiques K_{cat} , et constantes de spécificité K_{cat}/K_M de l'exoaction des différentes amylases sur les amidons purs commerciaux

Enzyme	Amidon	Modèle L-B		Modèle E-H	
		K_{cat} (min^{-1})	K_{cat}/K_M ($\text{lg}^{-1}\text{min}^{-1}$)	K_{cat} (min^{-1})	K_{cat}/K_M ($\text{lg}^{-1}\text{min}^{-1}$)
E ₁	ST ₂	2,80	0,30	2,78	0,30
	ST ₄	0,66	0,08	0,60	0,08
	ST ₅	0,43	0,06	0,43	0,06
E ₂	ST ₂	5,08	0,34	5,16	0,34
	ST ₄	8,12	0,39	8,00	0,39
	ST ₅	2,52	0,23	2,52	0,23
E ₅	ST ₂	3,00	0,67	3,00	0,65
	ST ₄	2,60	0,54	2,60	0,55
E ₇	ST ₂	2,50	0,33	2,50	0,33

Dans le cas de l' α -amylase bactérienne, les valeurs de K_{cat} et K_{cat}/K_M sont relativement proches. Des valeurs plus faibles sont observées pour l'amylomaïs ST₄ peu soluble, ce qui confirme sa faible susceptibilité à l'hydrolyse en sucres réducteurs relativement aux autres amidons.

Les valeurs des constantes catalytiques et de spécificité sont très proches. On peut en déduire que la susceptibilité aux différentes étapes d'hydrolyse des deux amidons par l'amyloglucosidase est similaire et que cette enzyme ne présente donc pas de spécificité vis-à-vis des deux amidons ST₂ et ST₄. Ce comportement se distingue de celui de l' α -amylase fongique et bactérienne.

Les valeurs du rapport K_{cat}/K_M déduites pour l' α -amylase Termamyl L300 avec l'amidon de pomme de terre sont similaires à celles obtenues dans le cas de l' α -amylase fongique et bactérienne, ce qui pourrait signifier que ces amylases présentent la même activité vis-à-vis de l'amidon de pomme de terre.

Les concentrations des α -amylases fongique et bactérienne permettent donc d'effectuer une étude cinétique de l'hydrolyse selon un des deux modèles cinétiques proposés par Michaelis-Menten et Briggs-Haldane puisque l'activité de cette amylase reste stable.

Dans le cas de l'hydrolyse par l'amyloglucosidase et l' α -amylase Termamyl L300, les conditions opératoires utilisées permettent l'étude cinétique selon les modèles cités ci-dessus uniquement pour l'amidon de pomme de terre, l'amylomaïs et l'amylopectine (pour l'amyloglucosidase) et l'amidon de pomme de terre (pour l' α -amylase Termamyl L300). Pour les autres substrats, il convient donc de déterminer d'autres concentrations initiales de substrat (plus faibles) et d'enzyme (plus élevées).

7.3.2 Paramètres cinétiques de la saccharification enzymatique des amidons purs de sorgho

Les conditions de saccharification des amidons purs des différents cultivars de sorgho en présence des différentes amylases ont été choisies à partir des résultats des essais d'hydrolyse donnés au §7.2.2.

Les courbes cinétiques de la saccharification par l' α -amylase fongique des amidons isolés à partir des cultivars de sorgho sont représentées à la figure 7.4 suivies des figures 7.5 et 7.6 des transformées de L-B et E-H et par les figures II.15, II.18 et II.21 en annexe II, respectivement pour E_2 , E_5 et E_7 . Les courbes cinétiques obtenues sont des hyperboles pour la plupart des systèmes amidon pur de sorgho-amylase.

Les autres courbes cinétiques et transformées linéaires de L-B et E-H sont représentées en annexe II aux figures II.15, II.16 et II.17 respectivement pour l' α -amylase bactérienne E_2 ; figures II.18, II.19 et II.20 pour l'amyloglucosidase E_5 , et figures II.21, II.22 et II.23 pour l' α -amylase Termamyl L300 E_7 .

Les représentations sont des droites pour les amidons purs de tous les sorghos hydrolysés par l' α -amylase fongique et bactérienne, ce qui traduit des cinétiques michaéliennes, dans les conditions utilisées. Cependant, la cinétique d'hydrolyse par E_7 suit le modèle de Michaelis-Menten uniquement pour l'amidon pur de sorgho américain fortement pigmenté, ASPG06. L'emploi de l'amyloglucosidase est régi par des cinétiques non michaéliennes avec tous les amidons de sorgho.

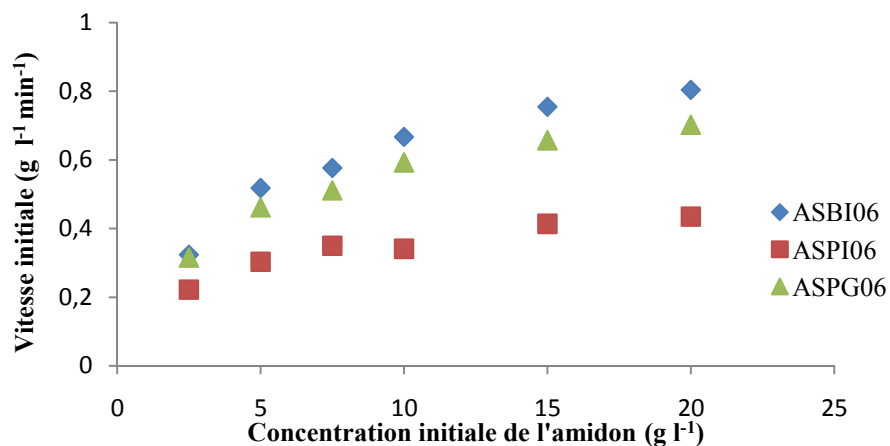


Figure 7.4 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase fongique (E_1)

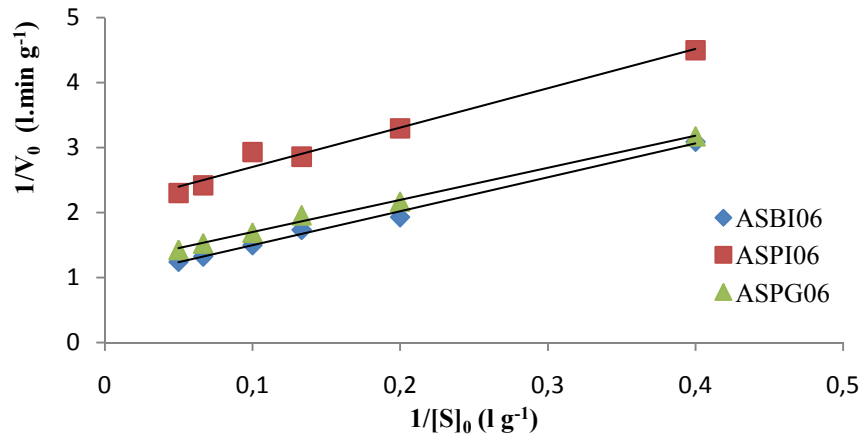


Figure 7.5 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase fongique (E_1)

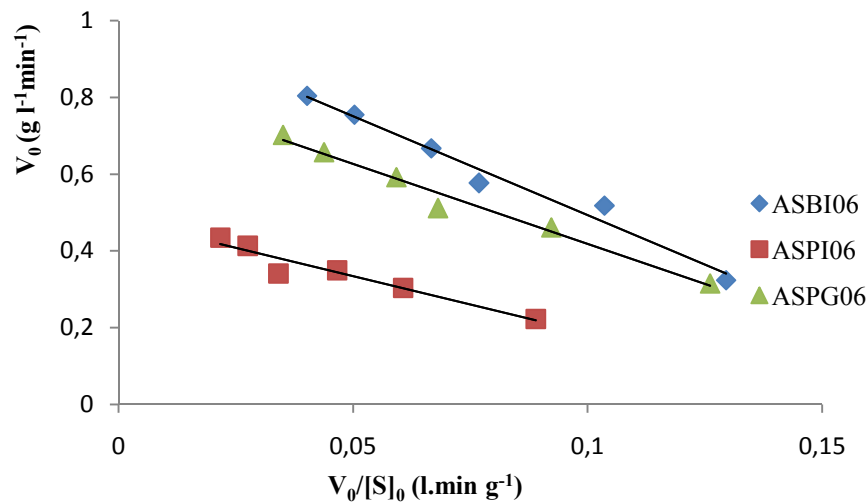


Figure 7.6 : Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase fongique (E_1)

Les constantes de Michaelis K_M et les vitesses maximales V_{max} ont été déterminées et regroupées au tableau 7.16.

Tableau 7.16 : Constantes de vitesse K_M et vitesses maximales V_{max} de l'exoaction des différentes amylases sur les amidons purs de sorgho

Enzyme	$[E]_0$ (mgml ⁻¹)	Amidon	Modèle L-B		Modèle E-H	
			K_M (gl ⁻¹)	V_{max} (g.l ⁻¹ min ⁻¹)	K_M (gl ⁻¹)	V_{max} (gl ⁻¹ min ⁻¹)
E_1	0,4	ASBI06	5,34	1,02	5,16	1,01
		ASPI06	3,11	0,50	3,16	0,50
		ASPG06	4,19	0,84	4,19	0,84
E_2	0,25	ASBI06	10,13	1,51	10,43	1,53
		ASPI06	16,53	1,80	16,52	1,80
		ASPG06	14,45	2,06	14,49	2,06
E_7	0,01	ASPG06	0,87	0,02	0,80	0,02

L'évolution de la vitesse initiale de l'hydrolyse par E₁ en fonction de la concentration initiale pour les trois amidons de sorgho possède la même allure et la variation entre les constantes K_M et entre V_{max} n'est pas très importante, ce qui signifie que la susceptibilité des trois amidons de sorgho, ASBI06, ASPI06 et ASPG06 à l'hydrolyse est similaire.

Les valeurs obtenues font ressortir une plus grande affinité de l' α -amylase fongique pour les différents substrats de sorgho relativement à l' α -amylase bactérienne. L' α -amylase Termamyl L300 présente la meilleure affinité vis-à-vis de l'amidon de sorgho américain fortement pigmenté comparée aux amylases thermolabiles avec une vitesse initiale maximale plus faible.

Les constantes catalytiques K_{cat} et les constantes de spécificité K_{cat}/K_M de l'exoaction des différentes α -amylases sur les amidons des différents cultivars de sorgho sont déduites et reportées au tableau 7.17.

Les constantes de spécificité, K_{cat}/K_M dans le cas de l'hydrolyse par E₁ ne sont pas très variables pour les amidons des trois cultivars de sorgho blanc et pigmenté et sont relativement faibles, ce qui traduit une même activité de l' α -amylase fongique vis-vis des différents amidons de sorgho. De même, dans le cas de l'hydrolyse par E₂, les valeurs de K_{cat} pour les différents amidons, ASBI06: ASPI06: ASPG06 se trouvent dans un rapport de 1,4:1,1:1. Ce résultat permet de supposer des mécanismes d'hydrolyse semblables.

Tableau 7.17 : Constantes catalytiques K_{cat}, et constantes de spécificité K_{cat}/K_M de l'exoaction des différentes amylases sur les amidons purs de sorgho

Enzyme	Amidon	Modèle L-B		Modèle E-H	
		K _{cat} (min ⁻¹)	K _{cat} /K _M (lg ⁻¹ min ⁻¹)	K _{cat} (min ⁻¹)	K _{cat} /K _M (lg ⁻¹ min ⁻¹)
E ₁	ASBI06	2,55	0,48	2,53	0,49
	ASPI06	1,25	0,40	1,25	0,40
	ASPG06	2,10	0,50	2,10	0,50
E ₂	ASBI06	6,04	0,60	6,12	0,59
	ASPI06	7,20	0,44	7,20	0,44
	ASPG06	8,24	0,57	8,24	0,57
E ₇	ASPG06	0,46	0,53	0,46	0,58

Les figures II.19 et II.20 (annexe II) montrent que les cinétiques d'hydrolyse par l'amyloglucosidase n'obéissent pas au modèle de Michaelis-Menten. Cet écart du modèle peut être le résultat des concentrations initiales des amidons de sorgho utilisées qui ont permis de donner des constantes de Michaelis très faibles.

L' α -amylase Termamyl L300 présente la constante catalytique la plus faible mais une constante de spécificité vis-à-vis de l'amidon de sorgho américain fortement pigmenté, ASPG06 proche de celle des amylases fongique et bactérienne.

Il ressort de l'ensemble des ces résultats que tous les amidons isolés à partir des grains des différents cultivars sont susceptibles à l'hydrolyse par l' α -amylase fongique, l' α -amylase bactérienne donnant lieu à la formation de sucres réducteurs et la cinétique d'hydrolyse obéit au modèle de Michaelis-Menten dans les conditions opératoires utilisées, permettant ainsi la mise en évidence et l'évaluation de l'exoaction de ces enzymes. Cependant, la cinétique d'hydrolyse par l'amyloglucosidase, E_5 et l' α -amylase Termamyl L300 E_7 , n'est pas michaélienne pour les amidons de tous les cultivars de sorgho, exception faite pour le système ASPG06- E_7 .

7.3.3 Paramètres cinétiques de la saccharification enzymatique des amidons purs de mil perlé

Les conditions de saccharification des amidons de mil perlé en présence des différentes amylases ont été choisies à partir des résultats des essais d'hydrolyse donnés au §7.2.2. Les courbes cinétiques de la saccharification des amidons isolés à partir des cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase fongique, E_1 ainsi que les transformées linéaires L-B et E-H sont représentées respectivement aux figures 7.7, 7.8 et 7.9.

Les autres courbes sont illustrées en annexe II aux figures II.24, II.25 et II.26 pour l' α -amylase bactérienne, E_2 , figures II.27, II.28 et II.29 pour l'amyloglucosidase, E_5 et enfin figures II.30, II.31 et II.32 pour l' α -amylase Termamyl L300, E_7 .

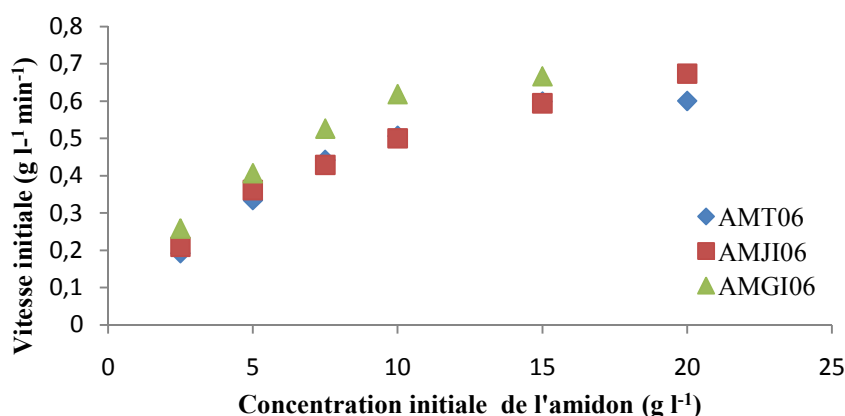


Figure 7.7 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase fongique (E_1)

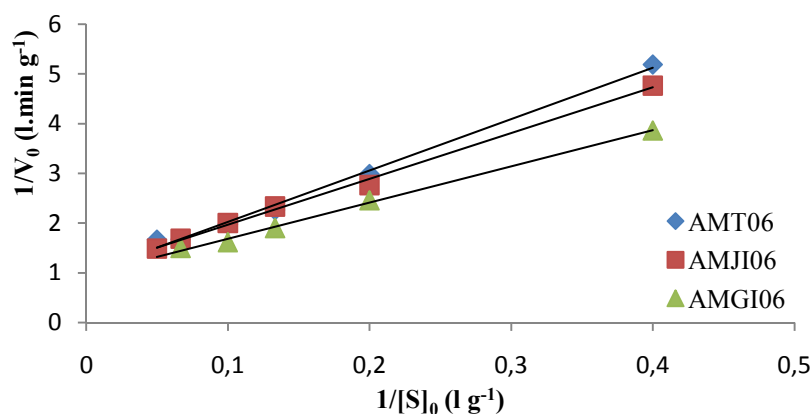


Figure 7.8 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour la réaction de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase fongique (E_1)

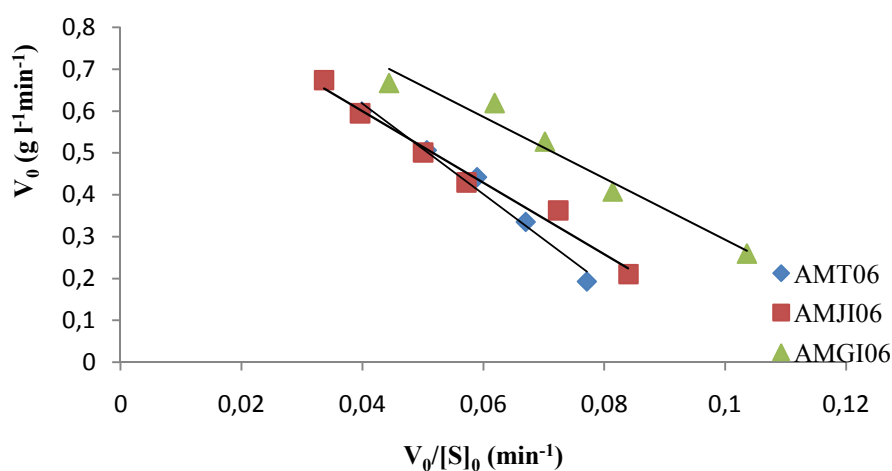


Figure 7.9 : Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour la réaction de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase fongique (E_1)

Comme pour les amidons de sorgho, les courbes cinétiques obtenues pour les amidons de mil sont des hyperboles.

Dans les domaines de concentration des substrats et des enzymes utilisés, les cinétiques de saccharification des amidons des trois cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase fongique suivent le modèle de Michaelis-Menten. Le même résultat a été constaté pour la saccharification des amidons de mil Jafo, AMJI06 et de mil de Tamanrasset, AMT06 en présence des autres amylases utilisées.

Cependant, la cinétique de l'exoaction sur l'amidon de mil perlé Ouini AMGI06 adopte un comportement non michaelien car les vitesses initiales sont déterminées dans des conditions proches de la saturation de l'enzyme par le substrat.

Une similitude dans l'évolution de la vitesse initiale V_0 de saccharification des amidons de mil par E_1 en fonction de la concentration initiale d'amidon $[S]_0$ a été observée.

Les valeurs de la constante de Michaelis K_M et V_{max} sont proches dans le cas de l' α -amylase Termamyl sur AMJI06 et AMT06, traduisant des activités similaires de cette amylase vis-à-vis des amidons des deux cultivars récoltés dans deux régions: In Salah et Tamanrasset. Les constantes de vitesse K_M et les vitesses maximales V_{max} ont été déterminés et récapitulés au tableau 7.18.

Les résultats montrent que la meilleure affinité à la saccharification des amidons de mil perlé Jafo AMJI06 et celui de Tamanrasset AMT06 est obtenue pour l'amyloglucosidase et l' α -amylase Termamyl L300 comme biocatalyseur. Néanmoins, les vitesses maximales d'hydrolyse sont plus faibles.

Tableau 7.18 : Constantes de vitesse K_M et vitesses maximales V_{max} de l'exoaction des différentes amylases sur les amidons purs de mil perlé

Enzyme	$[E]_0$ (mgml ⁻¹)	Amidon	Modèle L-B		Modèle E-H	
			K_M (gl ⁻¹)	V_{max} (gl ⁻¹ min ⁻¹)	K_M (gl ⁻¹)	V_{max} (gl ⁻¹ min ⁻¹)
E_1	0,4	AMGI06	8,14	1,09	7,34	1,02
		AMJI06	8,75	0,94	8,53	0,94
		AMT06	11,86	1,11	10,82	1,05
E_2	0,25	AMJI06	15,49	1,16	15,15	1,15
		AMT06	38,92	3,38	32,16	2,89
E_5	0,05	AMJI06	2,13	0,30	2,04	0,29
		AMT06	1,56	0,17		
E_7	0,01	AMJI06	2,48	0,04	2,50	0,04
		AMT06	2,07	0,05	2,01	0,05

Les constantes catalytiques K_{cat} et les constantes de spécificité K_{cat}/K_M de l'exoaction des différentes α -amylases sur les amidons de mil perlé ont été déduites et rassemblées au tableau 7.19.

Les constantes K_{cat} et K_{cat}/K_M sont très proches dans le cas de la saccharification des amidons de différents cultivars locaux de mil perlé par l' α -amylase fongique, ce qui montre une similitude de leur susceptibilité à la dépolymérisation en sucres réducteurs. Ce n'est pas le cas pour l'exoaction de l' α -amylase bactérienne qui hydrolyse avec des vitesses initiales maximales et des constantes catalytiques différentes avec un rapport de 1/3 (AMJI06 : AMT06) et des constantes spécifiques K_{cat}/K_M relativement voisines comme le confirme le rapport 1/1,2 (AMJI06/AMT06). Ceci montre que la distinction entre les réactions de saccharification est due à la vitesse de dissociation du complexe E_2 -amidon.

Tableau 7.19 : Constantes catalytiques K_{cat} , et constantes de spécificité K_{cat}/K_M de l'exoaction des différentes amylases sur les amidons purs de mil perlé

Enzyme	Amidon	Modèle L-B		Modèle E-H	
		K_{cat} (min^{-1})	K_{cat}/K_M ($\text{lg}^{-1}\text{min}^{-1}$)	K_{cat} (min^{-1})	K_{cat}/K_M ($\text{lg}^{-1}\text{min}^{-1}$)
E ₁	AMGI06	2,72	0,23	2,55	0,35
	AMJI06	2,35	0,27	2,35	0,28
	AMT06	2,78	0,23	2,63	0,24
E ₂	AMJI06	4,64	0,30	4,60	0,30
	AMT06	13,52	0,35	11,56	0,36
E ₅	AMJI06	6,00	2,82	5,80	2,84
	AMT06	3,40	2,81		
E ₇	AMJI06	3,60	1,45	3,70	1,48
	AMT06	5,00	2,42	5,00	2,49

L'activité (l'exoaction) de l'amyloglucosidase sur les amidons de mil est faible relativement aux α -amylases fongique et bactérienne. En effet, les vitesses initiales maximales sont faibles. Cependant les constantes K_{cat}/K_M sont relativement plus élevées, signifiant que la constante de vitesse de la réaction d'ordre 2 de formation du complexe E₅-amidon de mil est plus élevée que dans celui de la formation des complexes à partir de l' α -amylase fongique ou bactérienne.

Des résultats précédents, on relève que tous les amidons des cultivars de mil utilisés sont susceptibles à l'hydrolyse par l' α -amylase fongique et par l' α -amylase bactérienne et que la cinétique de l'hydrolyse obéit au modèle de Michaelis-Menten.

Le traitement des résultats de l'étude de l'exoaction des amylases par la représentation graphique des courbes cinétiques a permis de distinguer les systèmes (amylase-amidon) qui obéissent au modèle de Michaelis-Menten au cours de leur transformation en sucres réducteurs. Pour les systèmes où la cinétique est mickaélienne, l'application des transformées linéaires de Lineweaver-Burk et d'Eadie-Hofstee a donné des constantes cinétiques qui sont très proches et souvent égales.

Nous avons classé les réactions d'hydrolyse des amidons purs de différentes origines botaniques selon leurs mécanismes en 2 classes (tableau 7.20) :

- ❖ Classe I (M): réactions d'hydrolyse dont la cinétique suit le modèle de Michaelis-Menten et dont les constantes cinétiques apparentes de Michaelis K_M et les vitesses initiales maximales V_{max} sont déterminées,
- ❖ Classe II (NM): réactions d'hydrolyse dont la cinétique ne suit pas le modèle Michaelis-Menten et dont il est impossible de déterminer les constantes cinétiques.

La cinétique de l'hydrolyse pour ces systèmes s'écarte de ce modèle. Ceci peut être expliqué par une saturation de l'enzyme par le produit ou encore le suivi d'un autre modèle cinétique.

Tableau 7.20 : Classification des réactions de l'hydrolyse des amidons sur les amidons de différentes origines botaniques selon le modèle de leur cinétique

Substrat		Enzyme			
		E ₁	E ₂	E ₅	E ₇
Amidons purs commerciaux	ST ₂	M	M	M	M
	ST ₄	M	M	M	NM
	ST ₅	M	M	NM	NM
Amidons purs de sorgho	ASBI06	M	M	NM	NM
	ASPI06	M	M	NM	NM
	ASPG06	M	M	M	M
Amidons purs de mil perlé	AMGI06	M	NM	NM	NM
	AMJI06	M	M	M	M
	AMT06	M	M	M	M

(M : cinétique michaelienne, NM : cinétique non michaelienne)

Une lecture du tableau ci-dessus, révèle que dans les conditions opératoires utilisées, le mécanisme des réactions d'hydrolyse en sucres réducteurs des amidons des cultivars de sorgho par les amylases fongique ou bactérienne suit le modèle de Michaelis-Menten. Par contre, avec l'amyloglucosidase et l'amylase Termamyl L300, il est non michaelien pour l'hydrolyse des amidons des cultivars locaux. Il révèle aussi que la saccharification des amidons AMJI06 et AMT06 est michaelienne pour toutes les amylases.

Elle est non michaelienne pour l'amidon de mil Ouini d'In Salah AMGI06, exception faite pour AMGI06-E₂.

7.3.4 Influence de l'origine botanique de l'amidon sur l'hydrolyse enzymatique des amidons purs

L'étude cinétique a impliqué des amidons purs de nombreuses origines botaniques: pomme de terre, maïs (amylomaïs, waxymaïs), sorgho (blanc, pigmenté et fortement pigmenté) et mil (jaunâtre et verdâtre), différents de par la région de culture, la morphologie

et la composition chimique de leurs grains. Elle a montré une variation des constantes cinétiques de l'exoaction de la même amylase sur les amidons purs de différentes origines. Dans cette partie, nous avons récapitulé les valeurs des ces constantes pour les différents amidons afin d'étudier l'influence de l'origine botanique de l'amidon sur la biocatalyse par les quatre amylases E_1 , E_2 , E_5 et E_7 .

7.3.4.1 Hydrolyse des différents amidons par l' α -amylase fongique, E_1

Le tableau 7.21 reprend les constantes cinétiques de l'exoaction de l' α -amylase fongique (E_1). Nous constatons que, pour la même concentration de l'amylase (0,4 mg/ml), les constantes K_{cat} , K_M et K_{cat}/K_M varient dans les intervalles respectifs. 1,25-2,8 min^{-1} , 3,11-11,86 g/l et 0,26-0,50 $\text{lg}^{-1}\text{min}^{-1}$. La relation entre K_{cat} et K_M suit une corrélation positive pour les amidons de sorgho, de mil et de pomme de terre ST_2 . Ceci traduit une grande susceptibilité de ces amidons à l'hydrolyse en sucres réducteurs. Une susceptibilité plus faible est observée pour l'amylomaïs, ST_4 .

Tableau 7.21 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l' α -amylase fongique (E_1) sur les amidons de différentes origines botaniques

Exoaction de l' α -amylase fongique (E_1)					
Substrat	Designation	$[E_1]$ (mgml ⁻¹)	K_M (gl ⁻¹)	K_{cat} (min ⁻¹)	K_{cat}/K_M (lg ⁻¹ min ⁻¹)
Amidon pur commercial	ST_2	0,4	9,39	2,80	0,30
	ST_4	0,7	8,33	0,66	0,08
	ST_5	4,5	7,24	0,43	0,06
Amidon pur de sorgho	ASBI06	0,4	5,34	2,55	0,48
	ASPI06		3,11	1,25	0,40
	ASPG06		4,19	2,1	0,50
Amidon pur de mil perlé	AMGI06	4,0	8,14	0,24	0,03
	AMJI06		8,75	2,35	0,27
	AMT06		11,86	2,78	0,23

7.3.4.2 Hydrolyse des différents amidons par l' α -amylase bactérienne, E_2

Le tableau 7.22 reprend les valeurs des constantes cinétiques de l'exoaction de l' α -amylase bactérienne (E_2). Nous signalons que pour la même concentration de l' α -amylase bactérienne (0,25 mg/ml), les constantes K_{cat} , K_M et K_{cat}/K_M varient dans les intervalles respectifs de 2,52-13,52 min^{-1} , 10,13-38,92 g/l et 0,23-0,59 $\text{lg}^{-1}\text{min}^{-1}$.

L'écart entre les constantes cinétiques n'est pas très grand pour les amidons de différentes sources. La plus grande susceptibilité est obtenue pour l'amidon de mil de Tamanrasset et la plus faible l'amylomaïs ST₄.

Tableau 7.22 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l' α -amylase bactérienne (E_2) sur les amidons de différentes origines botaniques

Exoaction de l' α -amylase bactérienne (E_2)					
Substrat	Désignation	$[E_2]$ (mgml ⁻¹)	K_M (gl ⁻¹)	K_{cat} (min ⁻¹)	K_{cat}/K_M (lg ⁻¹ min ⁻¹)
Amidon pur commercial	ST ₂	0,25	20,96	2,80	0,30
	ST ₄		10,98	0,66	0,08
	ST ₅		14,86	0,43	0,06
Amidon pur de sorgho	ASBI06	0,25	10,13	6,04	0,60
	ASPI06		16,53	7,2	0,44
	ASPG06		14,45	8,24	0,57
Amidon pur de mil perlé	AMJI06	0,25	15,49	4,64	0,35
	AMT06		38,92	13,52	2,82

7.3.4.3 Hydrolyse des différents amidons par l'amyloglucosidase, E_5

Le tableau 7.23 reprend les valeurs des constantes cinétiques de l'exoaction de l'amyloglucosidase (E_5). Nous remarquons que pour la même concentration de l'amyloglucosidase (0,05 mg/ml), les constantes K_{cat} , K_M et K_{cat}/K_M sont obtenues uniquement pour les amidons purs de pomme de terre, l'amylomaïs ainsi que les amidons de mil Jafo et de Tamanrasset.

La relation entre les constantes K_{cat} , K_M suit une corrélation négative. Ce qui s'explique par l'augmentation de la susceptibilité à l'hydrolyse dans le cas de l'augmentation de la force d'association du substrat et d'amyloglucosidase.

Les valeurs K_{cat}/K_M augmentent pour les amidons de mil relativement aux amidons de pomme de terre, ST₂ et de l'amylomaïs, ST₄, traduisant une vitesse de formation du complexe substrat-amylase plus élevée.

Tableau 7.23 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l'amyloglucosidase (E₅) sur les amidons de différentes origines botaniques

Exoaction de l'amyloglucosidase (E ₅)					
Substrat	Désignation	[E ₅] (mgml ⁻¹)	K _M (gl ⁻¹)	K _{cat} (min ⁻¹)	K _{cat} /K _M (lg ⁻¹ min ⁻¹)
Amidon pur commercial	ST ₂	0,05	4,48	3,00	0,67
	ST ₄		4,77	2,60	0,54
Amidon pur de mil perlé	AMJI06	0,05	2,13	6,00	2,82
	AMT06		1,56	3,40	2,17

7.3.4.4 Hydrolyse des différents amidons par l'α-amylase Termamyl L300, E₇

Le tableau 7.24 récapitule les constantes cinétiques de l'exoaction de l'α-amylase Termamyl L300 (E₇). Il en ressort que, pour la même concentration de l'α-amylase Termamyl L300 (0,05 mg/ml), les amidons des cultivars de mil possèdent relativement une meilleure susceptibilité à l'exoaction par cette amylase et que la formation du complexe substrat-amylase est plus rapide. Le rapport K_{cat}/K_M est plus de 3 fois celui déterminé pour les amidons de sorgho américain et de pomme de terre. La plus faible susceptibilité est observée pour l'amidon de pomme de terre et de l'amylomais, comme c'est le cas en utilisant l'α-amylase.

Tableau 7.24 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l'α-amylase Termamyl L300 (E₇) sur les amidons de différentes origines botaniques

Exoaction de l'α-amylase Termamyl L300 (E ₇)					
Substrat	Désignation	[E ₇] (mgml ⁻¹)	K _M (gl ⁻¹)	K _{cat} (min ⁻¹)	K _{cat} /K _M (lg ⁻¹ min ⁻¹)
Amidon pur commercial	ST ₂	0,01	7,66	2,50	0,33
Amidon pur de sorgho	ASPG06		0,87	0,46	0,53
Amidon pur de mil	AMJI06		2,48	3,60	1,45
	AMT06		2,07	5,00	2,42

7.3.5 Influence de la source d'amylase sur l'hydrolyse des amidons purs

Il est bien connu que la source de l'amylase influence l'hydrolyse de l'amidon. L'objectif de cette partie est donc, d'évaluer cette influence sur les constantes cinétiques de l'hydrolyse de certains amidons purs de sorgho et de mil perlé par des amylases de différentes sources, E₁, E₂, E₅ et E₇ suivant le modèle cinétique de Michaelis-Menten.

De ces graphiques, reportés aux figures 7.10, 7.11, 7.12 et 7.13, il découle que le mécanisme de l'exoaction se distingue selon la source de l'amylase.

Pour les différents substrats, l' α -amylase fongique a une plus grande affinité pour ASPI06 que celui ASPG06 et ASBI06. Cependant, l' α -amylase bactérienne présente la meilleure activité vis-à-vis de ces deux derniers amidons. De même, l' α -amylase fongique possède une meilleure affinité pour les amidons de mil. Par contre, c'est l'amyloglucosidase qui présente la meilleure activité suivie de l' α -amylase Termamyl L300.

L'exoaction des amylases fongique et bactérienne sur les amidons de différentes origines botaniques est michaelienne, traduisant un équilibre pré-stationnaire ou quasi-équilibre. Ceci pourrait signifier que le mécanisme d'hydrolyse par ces deux amylases n'est pas affecté par le type d'amidon, exception faite pour AMGI06-E₂.

Cependant, le mécanisme de l'exoaction de l'amyloglucosidase et de l'amylase Termamyl L300 diffère pour les amidons d'une même céréale.

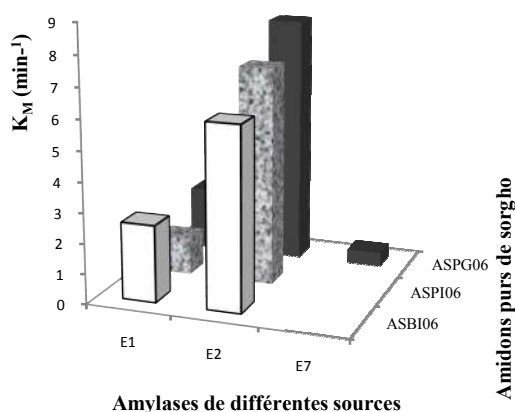


Figure 7.10 : Représentation graphique des constantes K_M en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons de sorgho

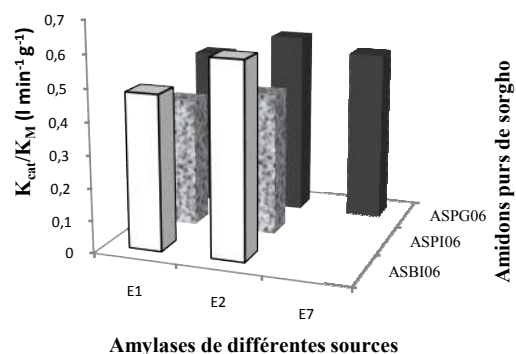


Figure 7.11 : Représentation graphique des constantes de K_{cat}/K_M en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons de sorgho

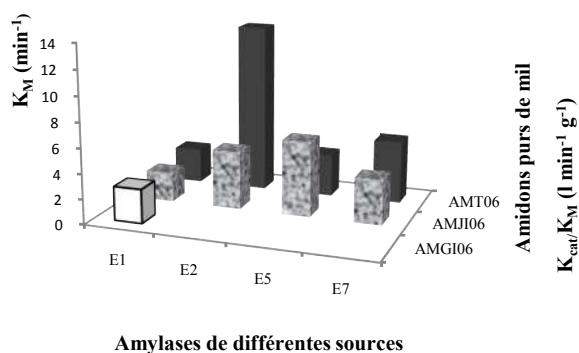


Figure 7.12 : Représentation graphique des constantes K_M en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons purs de mil

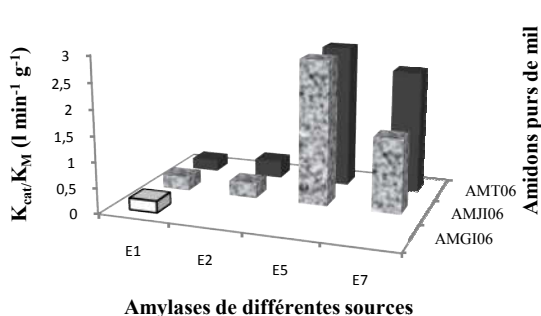


Figure 7.13 : Représentation graphique des constantes de K_{cat}/K_M en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons de mil

D'après les résultats déjà publiés, Gorinstein (1993) a rapporté des valeurs de K_M plus faibles variant entre 0,0045 et 0,033 g/l pour la pomme de terre et 0,38 g/l pour le manioc en utilisant l'amylase Termamyl 60L. Des valeurs plus élevées sont obtenues pour l' α -amylase de *Bacillus subtilis* à savoir 7,83; 8,94, 7,79; 12,54 g/l respectivement pour l'amidon soluble, l'amidon de riz, de pomme de terre et de maïs. Les vitesses maximales V_{max} ont été évaluées respectivement à 0,170; 0,166; 0,186; 0,139 $g\ l^{-1}\ min^{-1}$ (Konsula 2004). Rousseau (1999), a obtenu pour l'amidon de blé avec la pullulanase Promozyme 200L des valeurs de K_M de 110 g/l et de 104 g/l respectivement selon le modèle de L-B et E-H et pour l'amidon de pois $K_M = 83$ g/l (L-B), $K_M = 87$ g/l, (E-H) et des constantes de vitesse encore plus élevées.

Les résultats de plusieurs auteurs, sur la cinétique d'hydrolyse de l'amidon par l'enzyme libre sont conformes au modèle de Michaelis (Fujii et Kawamura, 1985 ; Park et Rollings, 1994 ; Gorinstein, 1993) comme c'est le cas pour la plupart des essais.

Les paramètres cinétiques obtenus sont fonction de l'origine botanique des amidons ainsi que de leurs prétraitements.

Pour l'hydrolyse des amidons par l'amylase immobilisée, la majorité des résultats montrent une augmentation de K_M et une diminution de V_{max} , ce qui est justifié par les phénomènes de diffusion qui ralentissent le contact du substrat avec l'enzyme ainsi que par les changements structuraux des enzymes immobilisées (Kumar, 2006 ; Hasirci, Aksoy et Tumor, 2006). D'autres auteurs ont trouvé des valeurs V_{max} plus grandes pour l'amylase immobilisée (Kara et al., 2005 ; Changa et al., 2005).

Les constantes cinétiques obtenues dans notre étude et ceux publiés montrent l'influence de l'origine botanique de l'amidon et donc sa structure et ses propriétés physicochimiques et fonctionnelles ainsi que celle de la source d'enzyme sur son affinité vis-à-vis de l'amidon.

7.4 Analyse des profils d'oligosaccharides produits au cours de l'hydrolyse des amidons de sorgho

L'analyse qualitative et quantitative des hydrolysats d'amidon par chromatographie ionique avec détection par ampérométrie pulsée, HPAEC-PAD a permis de déterminer la composition en oligosaccharides produits par hydrolyse d'amidon purs de pomme de terre ST₂, d'amylose ST₄, d'amylopectine ST₅ et ceux isolés à partir de cultivars de sorgho blanc et pigmenté d'In Salah ainsi que celui importé des USA.

Cette analyse avait pour objectif d'obtenir des informations liées aussi bien à la structure et la composition de l'amidon qu'au mécanisme de l'action des α -amylases fongique et bactérienne.

7.4.1. Effet de la source de l' α -amylase

Les histogrammes donnant la composition individuelle des oligosaccharides (DP1-DP7) obtenus après hydrolyse enzymatique de l'amidon de pommes de terre, ST₂, de l'amylopectine ST₄, de l'amylose ST₅, de l'amidon de sorgho blanc, ASBI06, de sorgho pigmenté, ASPI06, et de sorgho pigmenté importé, ASPG06 en présence de l' α -amylase fongique, E₁ et bactérienne, E₂ sont illustrés respectivement aux figures 7.14, 7.15, 7.16, 7.17, 7.18 et 7.19.

Les profils des oligosaccharides obtenus pour les deux amylases sont significativement différents. La composition individuelle est similaire pour presque tous les systèmes amylolytique amidon-amylase. Les oligosaccharides de degré de polymérisation DP3, DP4, DP5 et DP6 sont produits avec une quantité significative contrairement à ceux de DP1, DP2 et DP7.

Cependant, les profils montrent des différences significatives dans les concentrations en fonction du type d'amylase. Dans l'ensemble, le Maltotriose est présent à 70 % dans les hydrolysats obtenus par l' α -amylase fongique. En utilisant l' α -amylase bactérienne, on en retrouve seulement 30 %.

L'hydrolyse de l'amylose en utilisant individuellement l' α -amylase fongique et bactérienne donne lieu à une plus faible concentration en maltotriose en raison de la structure linéaire qui présente une seule extrémité non réductrice, contrairement à l'amylopectine plus ramifiée et qui présente plusieurs extrémités non réductrices. L'amylose est donc plus résistant à la digestion et constitue une forme importante de l'amidon résistant.

L'hydrolyse de l'amidon de sorgho blanc et pigmenté a engendré des profils similaires dans la composition, mais des différences significatives dans les concentrations comme il a été remarqué pour l'amidon de pomme de terre, l'amylose et l'amylopectine.

L' α -amylase de *Bacillus subtilis* est moins efficace sur les amidons de sorgho dans la production d'oligosaccharides de DP1, DP3 et DP4 que celle d'*Aspergillus oryzae*. Comparativement aux amidons commerciaux purs, les amidons de sorgho hydrolysés donnent du maltoheptaose en plus des autres sucres.

L'hydrolyse des différents amidons par les amylases du malt de sorgho de variété F-2-20 donne un profil similaire. Néanmoins, les quantités sont différentes (Ba et Al., 2010).

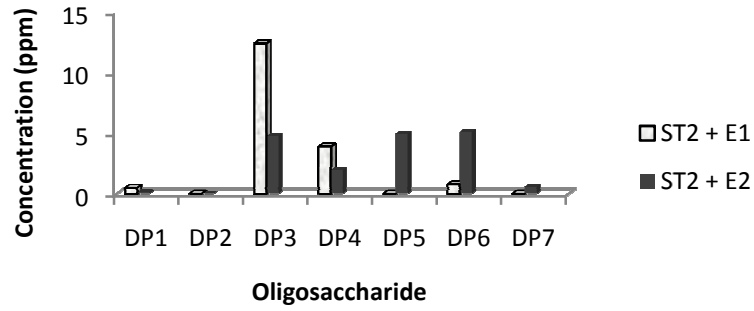


Figure 7.14: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de pomme de terre, ST₂, en présence de α -amylase fongique, E₁, et bactérienne, E₂.

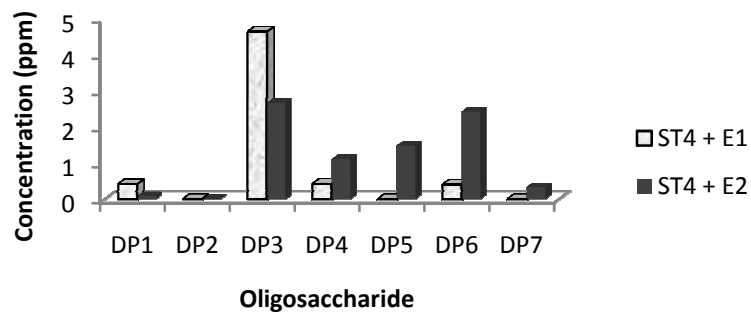


Figure 7.15: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amylose, ST₄, en présence de α -amylase fongique, E₁, et bactérienne, E₂.

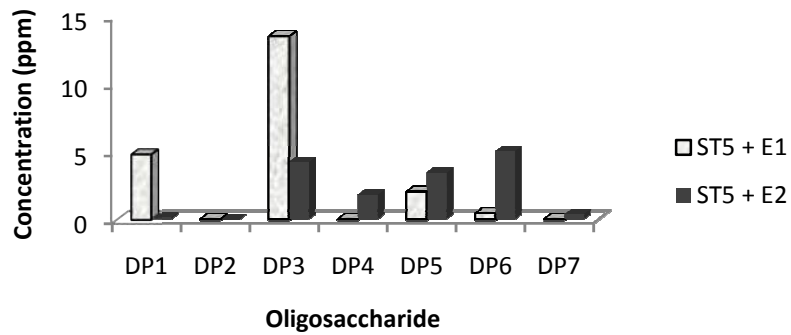


Figure 7.16: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amylopectine, ST₅, en présence de α -amylase fongique, E₁, et bactérienne, E₂.

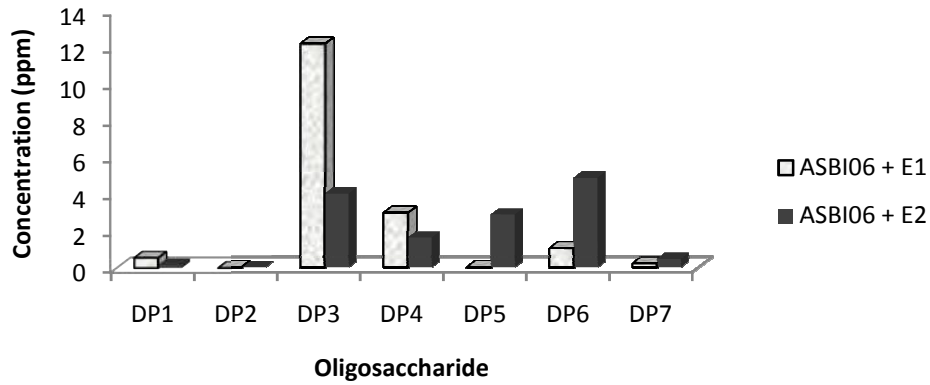


Figure 7.17: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de sorgho blanc, ASBI06, en présence de α -amylase fongique, E₁, et bactérienne, E₂.

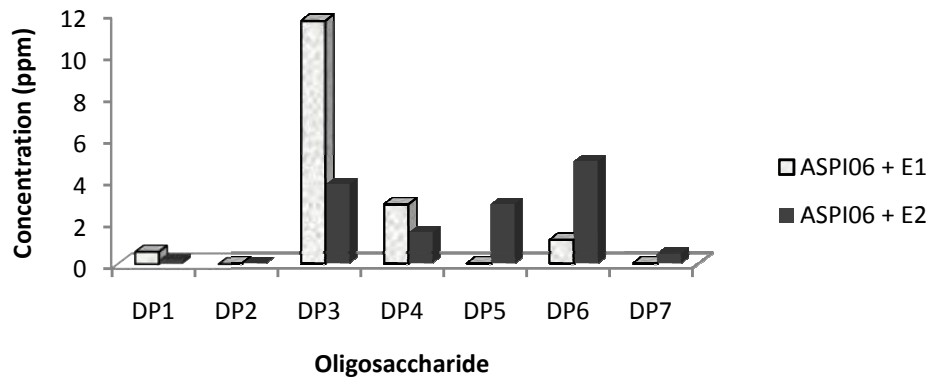


Figure 7.18: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de sorgho pigmenté, ASPI06 en présence de α -amylase fongique, E₁, et bactérienne, E₂.

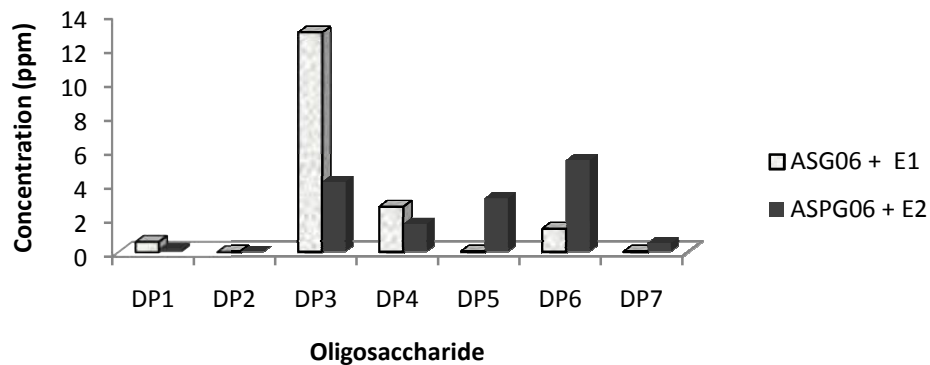


Figure 7.19: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de sorgho pigmenté américain, ASPG06 en présence de α -amylase fongique, E₁, et bactérienne, E₂.

7.4.2 Effet de l'origine botanique de l'amidon

L'effet de la structure de l'amidon sur les profils des oligosaccharides dans les hydrolysats peut être clairement observé aux figures 7.20, 7.21, 7.22 et 7.23. Il apparaît que l' α -amylase fongique produit des hydrolysats avec la même composition en oligosaccharides individuels pour les différents amidons testés. Le phénotype du sorgho (blanc et pigmenté) et l'environnement (Algérie et Etats-Unis) n'ont pas eu d'incidence sur les produits d'hydrolyse et donc sur le type d'attaque de l' α -amylase. Cependant, leurs concentrations sont significativement différentes.

Le rendement de l'attaque semble être affecté par la structure de l'amidon. Cette même constatation a été observée en utilisant l' α -amylase bactérienne. La quantité des différents oligosaccharides libérés à partir de l'amylose est relativement la plus faible.

L' α -amylase bactérienne hydrolyse l'amidon de pomme de terre et l'amylopectine de la même manière. De nombreux chercheurs ont rapporté des différences de susceptibilité entre les amidons de céréales et de pommes de terre et ont confirmé que les granules d'amidon de céréales sont digestibles alors que les amidons de pomme de terre sont résistants à l'hydrolyse (Slominiska et al., 2003).

Il n'y a pas de différences significatives dans les profils d'oligosaccharides pour les hydrolysats de sorgho blanc et pigmenté en utilisant la même α -amylase. Comparativement, l' α -amylase de *Bacillus subtilis* est environ 2 fois moins efficace sur l'amidon de sorgho que celle d'*Aspergillus oryzae*.

Le maltotriose est le principal maltooligosaccharide produit dans chaque hydrolysat. Le même résultat a été obtenu par Takasaki (1985) avec l' α -amylase de *B. subtilis* et par Duedahl-Olesen et al. (2000) avec l' α -amylase de *Bacillus sp.* MG-4 et de *Streptomyces griseus*.

Le profil des oligosaccharides libéré a permis de déduire que l'enzyme de *B. subtilis* est une α -amylase présentant un mécanisme d'endoaction, comme l'ont signalé Takasaki (1985) et Duedahl-Olesen et al. (2000). En général, le maltose et le maltotriose sont les principaux produits finaux de la dégradation de l'amidon (Sarikaya et al., 2000). De nombreuses études ont révélé la présence de maltose dans le milieu d'hydrolyse de l'amidon pour des types différents d'amidon et d' α -amylase (Kouame et al., 2004 et Cotta, 1992).

Le maltotriose et le maltotétraose sont libérés de tous les amidons en quantités significatives à l'exception de l'amylopectine. Les hydrolysats peuvent donc trouver une application dans l'industrie de fabrication du pain. Cependant, le maltose n'est pas libéré dans la plupart des hydrolysats et le glucose l'est en quantités faibles. La même observation a été faite lors de l'hydrolyse d'amidon de manioc avec les amylases du malt de sorgho (Ba et al., 2010). Cela peut signifier qu'il n'y a pas d'effet inhibiteur induit par ces saccharides libérés sachant que l'inhibition de l'activité d'hydrolyse d' α -1,4 de l' α -amylase isolée d'orge et de l' α -amylase *Pyrococcus sp.* ST04 par le glucose et le maltose a été signalée respectivement par Lin et al. (2003) et Jung et al. (2014).

Afin d'avoir une composition spécifique en glucose et maltose, la combinaison d' α -amylase avec d'autres amylases telles que la glucoamylase et la β -amylase est recommandée, comme suggéré par Kouamé et al. (2004).

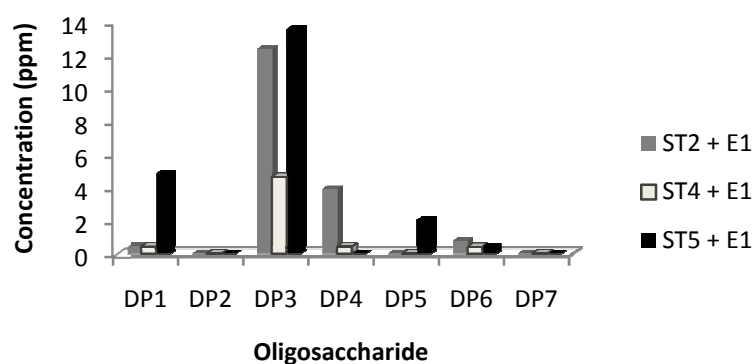


Figure 7.20: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de pomme de terre, ST₂, d'amylose, ST₄, et d'amylopectine, ST₅ en présence de l' α -amylase fongique E₁.

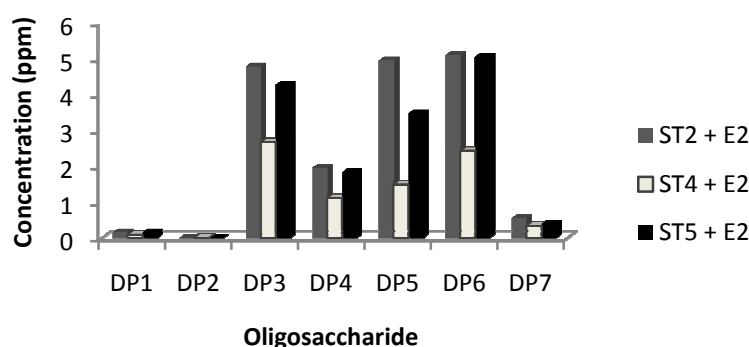


Figure 7.21: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de pomme de terre, ST₂, d'amylose, ST₄, et d'amylopectine, ST₅ en présence de l' α -amylase bactérienne E₂.

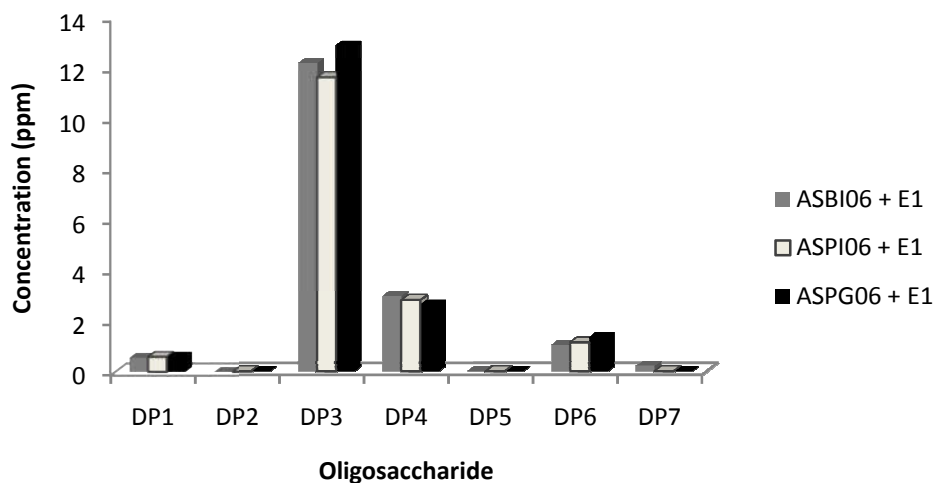


Figure 7.22: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de sorgho blanc, ASBI06, de sorgho pigmenté, ASPI06 et ASPG06 en présence de l' α -amylase fongique E₁

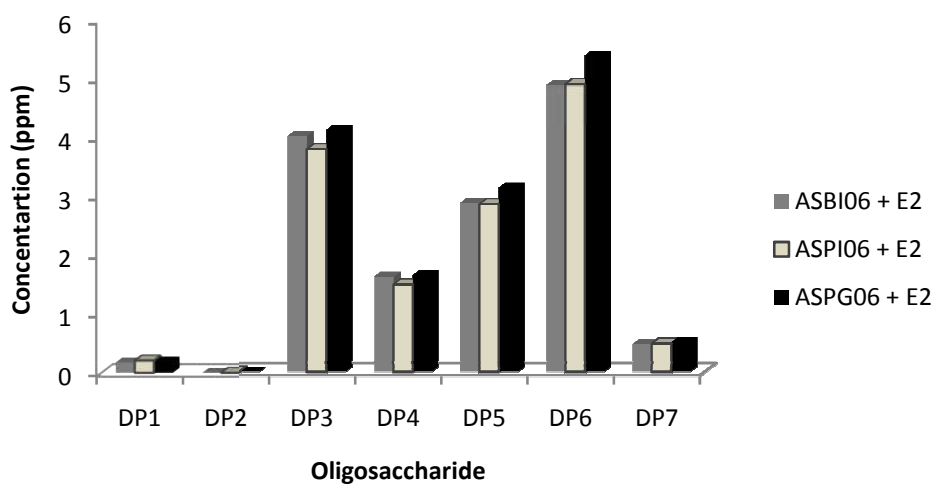


Figure 7.23: Profil d'oligosaccharides obtenus par hydrolyse d'amidon de sorgho blanc, ASBI06 et de sorgho pigmenté, ASPI06 et ASPG06 en présence de l' α -amylase bactérienne E₂

DISCUSSION GENERALE

Les céréalicultures locales de sorgho et de mil perlé, très adaptées à un écosystème hyperaride du Sahara algérien, ont suscité notre attention et ont fait l'objet de cette étude en vue de leur valorisation.

Le travail a consisté en une analyse chimique des grains et des amidons ainsi que la détermination de leurs propriétés physicochimiques. La cinétique enzymatique a été adoptée pour étudier la susceptibilité de ces amidons à l'hydrolyse enzymatique.

La prospection effectuée a révélé l'existence de nombreux cultivars locaux de sorgho et de mil perlé. Les propriétés structurales des grains montrent l'effet du phénotype et des conditions agropédoclimatiques. En effet, une variation de la taille a été observée pour les cultivars analysés. Néanmoins, pour la plupart, les dimensions des grains sont comparables à celles du sorgho commercial et celles données par la norme Codex pour le mil perlé.

La texture des grains diffère selon les cultivars. Elle est intermédiaire pour le sorgho pigmenté et farineuse pour le sorgho blanc et les mils. Cette propriété peut déboucher sur une application en panification et biscuiterie.

Les sorghos pigmentés analysés contiennent des teneurs appréciables en tanins, pour un usage en tannerie.

La composition chimique des grains montre aussi une valeur nutritive très appréciable notamment en amidon de 65 à 68 % pour le sorgho et 60 à 69 % pour le mil. Ces amidons sont constitués d'amylose avec des taux allant de 23 à 27% pour le sorgho et 21 à 27 % pour le mil. Ces taux sont semblables à ceux du blé (19-28 %), maïs (23-27 %) et à ceux du sorgho (21,2-30,2 %) et mil (21,9-28,8 %) cultivés dans d'autres environnements. Les variétés locales sont donc normales (21-34 % d'amylose).

Les fibres insolubles varient chez le sorgho et le mil entre 5,0 et 6,8 %, la teneur est plus élevée que chez le blé. Le principal effet de ces fibres est de maintenir une fonction intestinale adéquate. Ces grains possèdent aussi une fraction minérale importante (2 %) qui devrait être caractérisée qualitativement.

Les grains de mil sont riches en lipides. Des taux de 7 % ont été obtenus, supérieurs à ceux des autres céréales. Il conviendrait aussi de poursuivre l'analyse qualitative de cette fraction.

Les teneurs en protéines atteignent 13 % chez le sorgho et 14 % chez le mil avec un profil intéressant. En effet, ces céréales présentent des teneurs élevées en acides aminés essentiels, avec des valeurs comprises entre 0,9 et 2,6 % à l'exception de la lysine,

la méthionine et la cystéine (Mokrane et al., 2010). Des protéines de type XIP (Xylanase Inhibitor Protein) ont été mis en évidence pour la première fois chez le mil. Elles présentent une grande similarité avec les XIP déjà purifiés à partir d'autres céréales (Mokrane et al., 2009).

Les résultats obtenus sur la caractérisation physique et la composition chimique des grains ont permis de constituer une base de données et viennent combler le manque d'informations sur les sorghos et mils algériens observés à l'échelle nationale et internationale, permettant d'envisager leur commercialisation dans les marchés mondiaux et leur introduction dans la consommation humaine locale en plus de la consommation animale.

L'amidon a été isolé avec une pureté supérieure à 90 % en améliorant le procédé d'isolement proposé par Pérez Sira et al. (2004). Il faut relever les difficultés d'isolement des amidons à partir des grains de sorgho et de mil par rapport aux autres céréales et tubercules en raison de la composition et la structure du grain et notamment la composition des protéines. Les rendements d'extraction obtenus sont, par conséquent, plus faibles comparés au blé et à la pomme de terre mais élevés comparés à ceux obtenus par Perez-Sira et Amaiz(2004) pour le sorgho.

La taille des granules d'amidon de sorgho blanc varie entre 6 et 40 μm pour la plupart et atteint 44 μm pour l'amidon de sorgho pigmenté. Celle des amidons de mil varie de 3 à 23 μm . De tels amidons peuvent trouver des applications dans la fabrication d'emballages biodégradables, films plastiques et aérosols (Moorthy, 2002 ; Jane et al., 1992) et sont très recherchés par l'industrie cosmétique, pharmaceutique et de textiles.

La microscopie électronique à balayage a permis d'observer la surface des granules avec la présence de pores ou canaux « pinholes » chez certains granules d'amidon de sorgho et de mil. Les granules à surface poreuse sont plus abondants dans le mil local que dans le mil importé d'Agadez et sont plus nombreux dans les cultivars de sorgho que dans ceux des mils. La présence de ces pores, visibles sur la figure 6.14, facilite l'accessibilité aux amylases lors de la germination et l'hydrolyse enzymatique. Il a été constaté que l'amidon du mil s'hydrolyse plus lentement que celui du sorgho par l'amylase pancréatique du porc (FAO 1995).

La disposition de l'amylose et l'amylopectine est de type A, caractéristique des céréales comme le montrent les figures 6.6 et 6.7.

L'indice de cristallinité est un des facteurs les plus importants qui détermine la digestibilité des amidons (Benmoussa et al. 2006). Selon Tester et Morrison, il est lié

à la structure moléculaire de l'amylopectine (longueur des chaînes) (Bao, 2004). Les indices de cristallinité obtenus sont très variables (13-29%) et supérieurs à ceux de la pomme de terre (21 %) et du blé (10-15 %). D'après Mua et al. (1997), Miles et al. (1985) et Malumba et al. (2009), des valeurs inférieures à 28 % donneraient des gels plus fermes et des empois de viscosité plus élevée.

Les amidons de sorgho et de mil locaux présentent des propriétés de viscosité importantes (figure 6.21). Les valeurs de viscosité au pic sont élevées, elles dépassent 3000 cP avec des temps de gélatinisation faibles (5 à 7 minutes). Comparés à des amidons de sorgho et de mil d'autres écosystèmes ainsi qu'à des amidons d'autres origines botaniques, le sorgho et le mil locaux possèdent une plus grande viscosité.

Des différences significatives de viscosité entre les sorghos blancs de différentes saisons et entre les phénotypes de mil ont été observées contrairement aux sorghos pigmentés de différentes cultures. Ce constat peut être attribué aux températures de maturité élevées (Matsuki et al., 2003 et Beta et Corke, 2001).

De même, ce facteur influence les propriétés thermiques, vu que les amidons de sorgho présentent des températures de gélatinisation plus élevées (77-78 °C) et des enthalpies ΔH plus faibles (8-9 J/g). Comparé aux résultats obtenus par Jenkins et Donald (1998), Jane et al. (1999), ainsi que Singh et al. (2003) pour les amidons de pomme de terre, de maïs, de riz, et de blé, l'amidon de sorgho est caractérisé par une plus grande température de début de gélatinisation T_{onset} et au pic et une plus faible enthalpie de gélatinisation (Boudries 2009).

Des températures de gélatinisation de 67-73°C ont été rapportées pour les amidons de sorgho cultivés en Afrique du sud, de 71-81°C pour ceux cultivés en Inde (Taylor, 2006) et de 73,2 °C pour l'amidon de sorgho cireux de Corée (Choi et al., 2004). La température de gélatinisation est influencée par plusieurs facteurs, en particulier, la structure des chaînes dans la molécule d'amylopectine. Elle augmente avec la longueur des chaînes (Taylor, 2006). Moorthy (2002) a constaté qu'une température de gélatinisation élevée indique une grande stabilité des réseaux cristallins dans les molécules d'amidon et que l'enthalpie de gélatinisation dépend des liaisons intermoléculaires dans la structure cristalline ainsi que des facteurs génétiques et environnementaux.

Nous pouvons supposer que les températures de maturité élevées ont affecté de façon significative les propriétés de gélatinisation des amidons de sorgho et de mil, ce qui pourrait expliquer les valeurs élevées de température de gélatinisation.

Des observations similaires ont été faites pour l'amidon de blé, cependant, les enthalpies obtenues étaient plus importantes relativement aux cultivars locaux (Matsuki et al., 2003).

L'évolution du pouvoir de gonflement et de solubilité des sorghos et mils se distingue des autres types d'amidon. D'après Tang et al. (2004), la teneur en amylopectine et la taille des granules d'amidon affectent considérablement ce comportement thermique. D'après les résultats de Radosta et al. (1991), le pouvoir de gonflement chez l'amidon de blé, de maïs et de pomme de terre est différent. Ils ont observé un palier entre 60 et 85 °C suivi d'une croissance rapide contrairement à celui des amidons de sorgho et mil illustré aux figures 6.22 et 6.23

Des valeurs maximales allant de 12 à 15 g/g et 11 à 15 g/g ont été obtenues respectivement pour les amidons de sorgho et mil perlé à 95 °C. Les amidons de pomme de terre possèdent l'indice le plus élevé, environ 25 % à 95 °C (Radosta 1991). Vansteelandt et al. (1999) ont obtenu un pouvoir de gonflement et un indice de solubilité respectivement de 11,3 g/g et 13,3 % pour le blé.

L'étude de la viscosité a permis de révéler que l'activité de l' α -amylase endogène n'est présente que chez les génotypes de mil perlé. Chez le sorgho, cette activité est insignifiante, contrairement au sorgho des USA et d'autres régions (Ba et al., 2010).

La production de malt à partir des cultivars algériens de mil peut être donc envisagée. Cependant, pour les cultivars locaux de sorgho, un apport d'amylases exogènes serait nécessaire.

De telles propriétés rhéologiques et thermiques des amidons sont très recherchées pour la stabilité à la stérilisation et la résistance à la cuisson des préparations à base d'amidon. L'influence de l'environnement hyperaride, du type d'irrigation et du phénotype sur les propriétés physicochimiques et fonctionnelles des amidons de sorgho et de mil est appréciable et a permis de montrer des propriétés intéressantes liées notamment à la granulométrie et aux propriétés rhéologiques et thermiques qui pourraient les destiner à certaines applications spécifiques (cosmétique, textile, emballage, alimentation ...).

Les résultats de la partie inhérente à l'hydrolyse des amidons purs commerciaux et de ceux isolés à partir du sorgho et du mil perlé montrent qu'ils présentent tous, dans les conditions de pH, température et concentrations (substrat et enzyme), une susceptibilité à l'hydrolyse donnant lieu à la formation de dextrans ou de sucres réducteurs en présence de différentes amylases thermolabiles (α -amylase fongique, bactérienne et amyloglucosidase)

et thermostables (α -amylase Termamyl L300). Les conditions opératoires de mise en évidence de l'endoaction et l'exoaction ont été déterminées.

Il ressort aussi que l' α -amylase bactérienne montre une meilleure affinité à la liquéfaction pour l'amylose et l'amidon soluble. Cependant, la vitesse maximale d'hydrolyse de l'amidon soluble par l' α -amylase fongique est plus importante. Pour l'amylose, les vitesses maximales sont relativement proches.

L' α -amylase Termamyl L300 présente de loin une affinité plus élevée pour l'amidon de sorgho blanc et de sorgho pigmenté d'In Salah relativement aux α -amylases bactérienne et fongique qui ont une meilleure affinité pour le sorgho pigmenté que pour le sorgho blanc et le sorgho fortement pigmenté des USA. L' α -amylase fongique et la glucoamylase présentent des affinités relativement similaires pour le sorgho blanc et du sorgho fortement pigmenté. L'étude de la saccharification a montré que seuls certains systèmes amidon-amylases suivent le modèle de Michaelis-Menten comme le montre le tableau 7.11. Ce modèle décrit les réactions dans le régime d'état stationnaire (non transitoire) et minimise, non seulement, les facteurs potentiels de complication comme la réaction réversible, mais également l'inhibition de l'enzyme par le produit et son inactivation progressive. La cinétique non michaélienne, quant à elle, décrit les enzymes allostériques dont le type est probablement le système V où la régulation porte sur la vitesse maximale, ce qui correspond à la variation de la constante K_2 des enzymes michaélienne.

Il en résulte une meilleure affinité de l' α -amylase fongique pour l'amylopectine et l'amidon de pomme de terre relativement à l' α -amylase bactérienne. Par contre, les vitesses maximales sont plus élevées lors de l'exoaction par l' α -amylase bactérienne à l'exception de l'amylopectine.

L' α -amylase fongique montre plus d'affinité que l' α -amylase bactérienne pour le sorgho fortement pigmenté des USA et l'amylase Termamyl présente une meilleure affinité que ces deux amylases thermolabiles.

L' α -amylase fongique possède une plus grande susceptibilité à dégrader l'amidon de sorgho pigmenté d'In Salah que celui des USA et du sorgho blanc. Pour l' α -amylase bactérienne, l'affinité évolue tout à fait à l'inverse.

L'amylase Termamyl possède une affinité relativement proche pour l'amidon de mil ouini, AMG06 et de Tamanrasset, AMT06 et plus grande relativement à l'amidon de mil jafo d'In Salah, AMJ06. Par contre, la vitesse maximale d'hydrolyse de l'amidon AMT06 est plus élevée que celles de l'amidon des deux cultivars de d'In Salah qui, quant à elles, sont proches.

Gorinstein (1993) a rapporté des valeurs de K_m plus faibles variant entre 0,0045 et 0,033 g/l pour la pomme de terre et 0,38 g/l pour le manioc en utilisant l'amylose Termamyl 60L. Des valeurs plus élevées ont été obtenues pour l'amylose de *Bacillus subtilis* à savoir 7,83; 8,94; 7,79; 12,54 respectivement pour l'amidon soluble, le riz, la pomme de terre et le maïs. Des vitesses maximales V_{max} ont été évaluées respectivement à 0,170; 0,166; 0,186; 0,139 $g\ l^{-1}\ min^{-1}$ (Konsula, 2004).

Les résultats des profils des oligosaccharides obtenus par HPAEC-PAD ont permis de ressortir la relation entre le type d'amylose utilisée pour hydrolyse de l'amidon, la structure de la molécule d'amidon et de la composition chimique en oligosaccharides obtenus :

- La composition individuelle en oligosaccharides est similaire pour presque tous les systèmes enzymatiques amidon- α -amylose, mais leurs concentrations sont significativement différentes ;
- L'amylose hydrolysée à l'aide d'amylose fongique et bactérienne individuellement a donné la concentration la plus faible en raison de sa structure linéaire ;
- Le maltotriose est le principal oligosaccharide présent dans l'hydrolysate de chaque système enzymatique suggérant que l'amylose a une endoaction ;
- L' α -amylose de *Bacillus subtilis* est moins efficace que celle de *Aspergillus oryzae* sur les amidons ;
- Une similitude des profils d'oligosaccharides pour les amidons blancs et pigmentés est constatée, ce qui pourrait signifier que le génotype n'a pas d'influence sur l'hydrolyse.

Les mécanismes de liquéfaction (endoaction) et de saccharification (exoaction) ainsi que les facteurs qui contrôlent le rendement et les profils d'hydrolysats sont très complexes et pas totalement élucidés. Ils dépendent intimement de la structure de l'amidon et de celle de l'enzyme, ce qui nécessite de poursuivre les recherches dans le domaine pour maîtriser les procédés industriels de bioconversion des amidons.

Actuellement, la production de ces céréales reste traditionnelle en attendant de mieux valoriser ces céréalicultures en trouvant de nouveaux débouchés. A travers cette étude, nous avons pu révéler diverses potentialités de ces deux céréales, que ce soit en alimentation animale pour le fourrage ou leurs grains qui possèdent une valeur nutritive très appréciable ou en alimentation humaine par leur apport en amidon, protéines, sels et leur absence de gluten. Les amidons présentent aussi des propriétés très appréciées pour les applications alimentaires et industrielles.

Des études de mise en œuvre du procédé de conversion devraient débiter prochainement. Cependant, se basant sur les résultats de l'étude de l'hydrolyse des amidons et sur les procédés déjà exploités dans les différentes usines (l'amidonnerie de Maghnia, Algérie (*elmouchir.caci.dz*), Tereos Starch & Sweeteners France, premier producteur européen (www.tereos-starchsweeteners.com/fr) et USIPA France (www.usipa.fr)), nous proposons dans ce qui suit un procédé de production de sirop de glucose à partir d'amidon de sorgho.

PROJET DE PRODUCTION DE SIROP DE GLUCOSE

Le sirop de glucose est défini comme étant un concentré purifié en solution aqueuse de sucres nutritifs obtenus de l'amidon. Il contient au minimum 20% en équivalent de dextrose (DE) (d'après le standard du Codex alimentarius (Codex STAN 212-1999 (Amd. 1-2001))). Il confère une plasticité qui améliore la structure et la texture de divers produits. Il sert d'édulcorant dans les préparations industrielles alimentaires et pharmaceutiques. En biscuiterie, il peut substituer une partie du saccharose. Ses propriétés fonctionnelles intéressantes permettent d'abaisser la saveur sucrée, de favoriser le brunissement et d'améliorer la friabilité. Ils sont utilisés surtout en pâtisserie, confiserie et glaces. Son pouvoir sucrant est relativement faible, de 27 à 55. Les USA sont les premiers producteurs de sirop de glucose suivis de Chine et de France. Il existe essentiellement deux méthodes de production :

- Conversion par hydrolyse acide
- Conversion partielle par hydrolyse suivie d'une conversion par des amylases.

La composition des sirops de glucose dépend de l'intensité de l'hydrolyse. Les différents produits d'hydrolyse sont donnés ci-après :

Maltodextrines	DE < 20	➤ Hydrolyse avec acide et/ou alpha amylase
Sirop de glucose	20-58	➤ Hydrolyse avec acide et/ou alpha amylase
Sirop de glucose	58-98	➤ Hydrolyse avec acide et/ou alpha amylase ➤ Saccharification avec l'amyloglucosidase (formation du glucose, maltose)
Sirop de fructose	97	➤ Hydrolyse avec alpha amylase ➤ Saccharification avec l'amyloglucosidase ➤ Isomérisation avec glucose isomérase

Au niveau mondial, le maïs reste la source principale de transformation d'amidon, bien que les amidons de diverses plantes puissent être utilisés. Au terme de nos recherches, nous pouvons proposer un procédé de conversion d'amidon de sorgho local.

Ce projet permettra de :

- ✓ Encourager les agriculteurs à intensifier la culture vu les débouchés,
- ✓ Réduire le prix de vente du sorgho et du sirop de glucose,
- ✓ Réduire de chômage en recrutant une main locale d'œuvre qualifiée et non qualifiée,
- ✓ Réduire les importations en sirop de glucose et exporter aux pays africains limitrophes,
- ✓ Encourager les investissements dans le secteur de la confiserie et autres
- ✓ Développer la recherche dans la sélection des variétés performantes

PROCEDE DE PRODUCTION DE SIROP DE GLUCOSE A PARTIR DU SORGHO

L'hydrolyse d'amidon comporte essentiellement trois étapes : la gélatinisation, la liquéfaction et la saccharification. Les produits obtenus sont clarifiés et concentrés. Lors de la troisième étape, les produits sucrants peuvent être hydrogénés pour produire des polyols.

L'amidon gélatinisé est facilement liquéfié par hydrolyse partielle avec des enzymes ou des acides (HCl ou H₂SO₄) et saccharifié par une autre hydrolyse acide ou enzymatique impliquant la production de glucose et de maltose. Les enzymes commerciales utilisées pour l'hydrolyse industrielle de l'amidon et les produits d'hydrolyse sont données ci-après (Uhlig, 1998):

α-amylase	➤ <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	➤ maltose, G3, G6 et G7
liquéfiante	➤ <i>Bacillus licheniformis</i>	➤ maltose, G3, G4 et G5
	Novo Industrie (Termamyl)	
	➤ <i>Aspergillus oryzae</i> ,	➤ maltose et G3
	➤ <i>Aspergillus niger</i>	➤ maltose et G3
α-amylase	➤ <i>Bacillus subtilis</i>	➤ α -dextrines avec le maltose, G3, G4
saccharifiante	(<i>amylosacchariticus</i>)	et plus de 50 % (m/m) de glucose
β-Amylase	➤ Malt d'orge	➤ dextrines limites et β -maltose
Glucoamylase	➤ <i>Aspergillus niger</i>	➤ β -glucose
Pullulanase	➤ <i>Bacillus acidopullulyticus</i>	➤ maltodextrines

Le procédé de conversion de l'amidon de sorgho en sirop de glucose proposé comporte principalement les étapes suivantes :

Prétraitement-isolement de l'amidon

Trempage des grains

Broyage humide

Filtration

Purification

Conversion enzymatique

Gélatinisation de l'amidon

Liquéfaction

Saccharification

Filtration

Décoloration

Déminéralisation

Evaporation /concentration

Prétraitement-isolement de l'amidon

L'ensemble de ces opérations ont pour but d'extraire les granules d'amidon natifs.

Trempage des grains

Une tonne de grains est trempé dans la solution alcaline NaOH 0,25 % avec un rapport de 30 % pendant 24 h.

Broyage humide

Les grains trempés sont lavés à l'eau jusqu'à un pH neutre et soumis ensuite à un broyage humide pendant 10 minutes

Filtration

La suspension passe successivement à travers deux filtres de 355 et 50 μm .

Centrifugation et purification

La suspension d'amidon filtrée est centrifugée pendant 20 minutes à 5000 rpm. Le culot obtenu est débarrassé de la couche superficielle de résidus

Gélatinisation

Les granules d'amidon remis en suspension à 35 % (30-40 % m/m) à pH 6,5 (6,0-6,5), contenant 40 ppm de Ca^{2+} (20 à 80 ppm, Ca^{2+} stabilise et active l'enzyme) sont chauffés à 100-105 °C avec de la vapeur vive pendant 10 minutes.

Liquéfaction

L' α -amylase bactérienne Termamyl est ajoutée (via une pompe doseuse) avec des doses de 0,5 à 0,6 kg par tonne d'amidon (environ 1500 U kg^{-1} de matière sèche) à 95-100 °C pendant 2h. L'amidon liquéfié contient majoritairement des oligosaccharides. Le glucose et le maltose sont en quantités infimes.

Saccharification

Le pH est ajusté par ajout d'acide chlorhydrique HCl à une valeur de 4,5 et l'hydrolysate est refroidi à 60-65 °C. L'enzyme saccharifiante, glucoamylase 150 U/kg est introduite au réservoir avec un temps de séjour de 24 à 90 h (72 h). Le sirop de glucose ainsi obtenu contient majoritairement (jusqu'à 97 %) du glucose et des quantités très faibles de maltose, isomaltose et autres oligosaccharides.

A la fin de l'opération, les enzymes sont inactivées par une augmentation de la température.

Neutralisation

Le sirop est neutralisé avec du carbonate de sodium ou de la chaux afin éliminer l'acide libre et amener la valeur du pH entre 5,0-7,0. Le chlorure de sodium formé dans le sirop, en petite quantité, reste dans la solution.

Filtration

La technique classique de clarification met en œuvre des filtres utilisant les terres de diatomées (kieselguhr) ou de la perlite. Ces additifs ont beaucoup d'inconvénients (prix, volatilité...). C'est pourquoi le filtre-pressé ou le filtre en céramique sont actuellement employés.

Décoloration

La technologie la plus utilisée pour la décoloration du sirop de sucre est le traitement avec le charbon actif en poudre. Le charbon actif permet, par adsorption, d'éliminer du filtrat brun-clair obtenu les impuretés responsables de la couleur et de l'odeur. Généralement, un temps de contact de 30 minutes est considéré optimal. Un procédé récent consiste à utiliser l'électrodialyse afin d'obtenir un sirop de glucose de qualité supérieure.

Déminéralisation

Le sirop est déminéralisé par échange d'ion. En raison de la température et de la concentration des sirops de glucose, il faut des résines très stables physiquement telles que :

- Dowex™ 88 (résine fortement acide)
- Dowex 66 (résine faiblement basique)

Concentration/Evaporation

Le glucose est totalement nettoyé par les filtres, puis envoyé vers l'évaporateur pour se concentrer afin d'atteindre DE désiré pour le produit final. L'évaporation est réalisée sous vide dans des convertisseurs simples ou par échangeurs thermiques jusqu'à un extrait sec de 80 à 85 %.

Stockage et transport :

Le sirop produit par les unités industrielles ne doit pas être stocké en grandes quantités pendant de longues périodes à cause d'une détérioration possible de sa couleur. Le transport est réalisé en fûts ou en citernes.

Un schéma reprenant ces étapes et le procédé sont donnés à la figure 7.24 suivante :

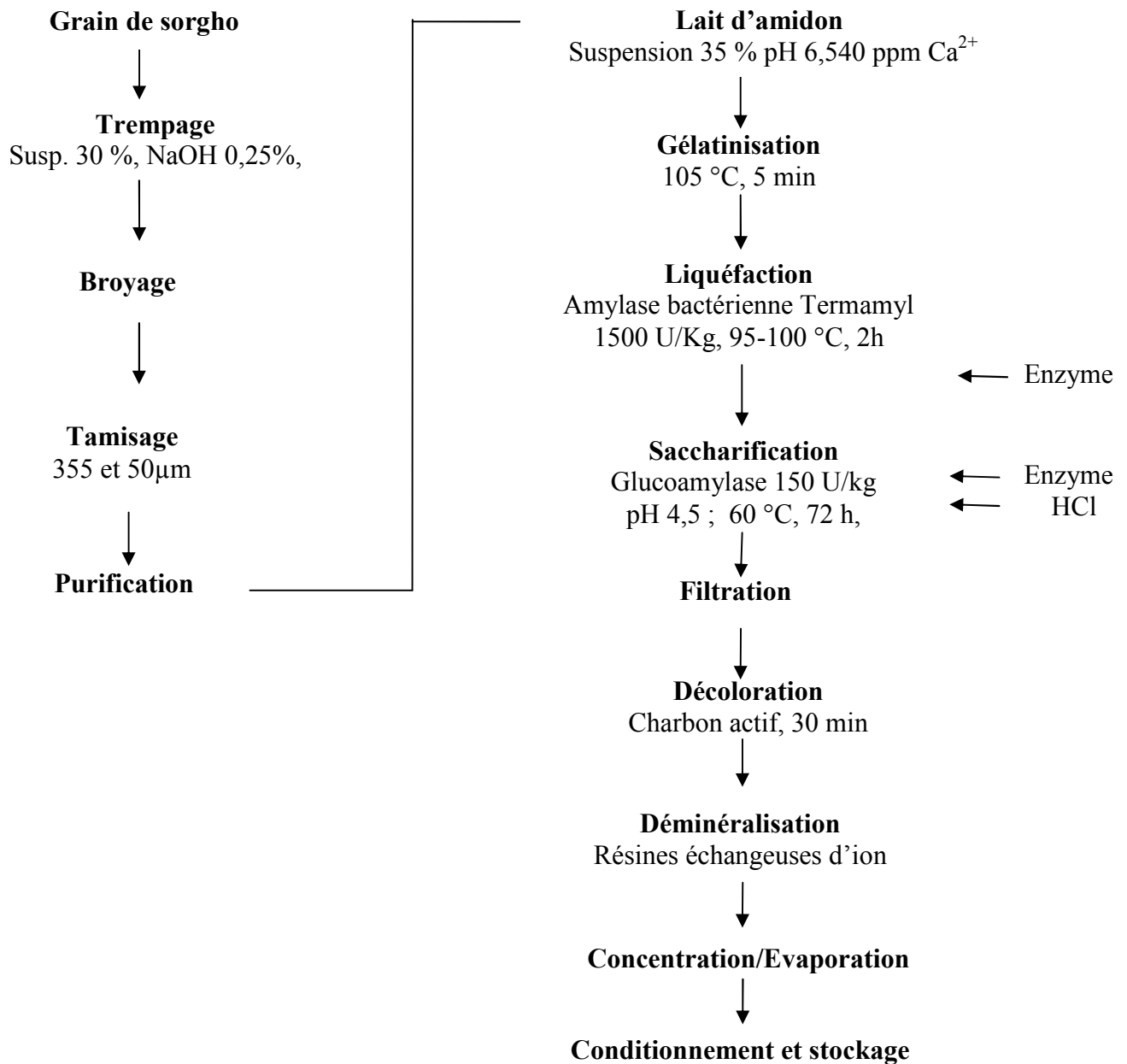


Figure 7.24 : Schéma de production de sirop de glucose par conversion enzymatique de l'amidon de sorgho

ANALYSE DES COUTS DE PRODUCTION

Actuellement les prix élevés du sorgho et des enzymes industrielles ne permettent pas une rentabilité de ce projet. Néanmoins, une culture intensive du sorgho et une disponibilité d'amylases à des prix abordables rendraient ce projet compétitif. C'est à partir de ces considérations que nous avons effectué une estimation de coût de revient du sirop de glucose de 70 % à partir des grains de sorgho.

Lors de l'étape d'extraction de l'amidon, un rendement de 60 % peut être obtenu à l'échelle industrielle. L'hydrolyse enzymatique d'amidon va produire du glucose avec un facteur de conversion de 0,9 et va donner un rendement de 54 % de glucose. Le procédé permet donc produire le sirop de glucose (70 %) avec un rendement de 77 %.

L'évaluation des différentes charges imputées à la production du sirop est donnée par le tableau suivant. Les prix des produits chimiques, à usage alimentaire, nous ont été communiqués par des fournisseurs locaux (PHOBOS SARL import export, DISTRIM SPA. Le change officiel actuel est de 1 \$= 110 DA et 1 €= 119 DA

Tableau 7.25 : Evaluation du coût de production du sirop de glucose

Désignation	Quantité Kg	Prix unitaire DA/Kg	Coût matière DA/Kg
Sorgho grains	1	50	50
NaoH 99 %	0,005	120	0,60
CaCl ₂ 94 %	0,000067	100	0,007
Amylase Termamyl 300L, <i>B. licheniformis</i> 250 U/ml	1,8 ml- 1500U/Kg	24 DA/ml	43,20
Glucoamylase <i>A. niger</i> , 260 U/ml	0,3 ml- 150U/Kg	24 DA/ml	7,20
HCl 33 %	2 ml	40	0,08
Carbonate de sodium	0,002	150	0,30
Coût matières engagées			101,39
Coût/Kg de sirop (rendement de 77 %)			131,67
Emballage			20
Services et autres frais			3,11
Frais personnel			3,8
Impôts et taxes			0,65
Amortissement			10,60
Prix de revient			169,83
Prix de vente avec une marge de 15 % (HT)			195,31
Bénéfice			25,50

Le prix du sirop de glucose commercialisé actuellement en Algérie est de 290 DA/Kg, la production du glucose à partir du sorgho tel que proposée pourrait être compétitive. A terme, le bénéfice pourrait atteindre 25,50 DA/Kg équivalent à 0,21 €/Kg.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Le sorgho et le mil restent l'aliment de base pour les populations de nombreuses régions dans le monde. Adaptés à la sécheresse, ils sont considérés comme des cultures de subsistance. Au Sahara algérien, plusieurs phénotypes sont cultivés à l'échelle traditionnelle, certains d'entre eux ont fait l'objet de notre étude.

La prospection dans les deux régions d'étude à savoir le Tidikelt et l'Ahaggar et les informations recueillies auprès des agriculteurs ont révélé l'existence de deux groupes de mil et deux groupes de sorgho; un groupe local et un groupe domestiqué. Le mil est destiné à l'alimentation humaine et à l'alimentation animale, alors que le sorgho est destiné presque totalement à l'alimentation animale. La caractérisation agromorphologique a montré l'existence de plusieurs phénotypes pour chaque groupe de céréales.

La caractérisation structurelle a mis en évidence des différences au niveau des propriétés physiques des grains, même entre cultivars de même groupe.

La composition chimique ressemble à celle des autres variétés (races) de sorgho et de mil déjà étudiées. Les teneurs des différents constituants sont comprises dans les intervalles établis par les organismes spécialisés (FAO, ICRISAT) et publiés par de nombreux chercheurs (Hoseney, 1986; Klopfenstei et al., 1995 ; Taylor, 2016)). Elle a, toutefois, révélé des résultats intéressants : les mils sont riches en cendres, les teneurs en protéines (12 %) et lipides (4,2-6,6 %) sont élevées relativement aux autres céréales, ce qui leur confèrent une bonne valeur nutritive.

Ces céréales constituent une source non négligeable d'amidon, les taux obtenus varient entre 63,12 et 66,80 %. Les sorghos locaux sont en outre plus riches que les mils perlés locaux et importés. Ces amidons ont été isolés avec une grande pureté (94,1 et 96,7 %). Cependant, les rendements d'extraction restent moyens (59,1 et 61,2 %). L'étape de la purification des amidons se révèle très délicate. L'équipe de notre laboratoire recherche actuellement un meilleur procédé d'isolement, ce qui nécessite une bonne connaissance des interactions entre les amidons et les autres constituants de la graine.

Les extraits d'amidons sont caractérisés par un taux d'endommagement faible, qui traduit une meilleure aptitude à la conservation et une résistance à leur digestibilité à l'état natif.

L'analyse morphologique des granules d'amidon a montré que les amidons de sorgho et de mil sélectionnés possèdent une distribution unimodale. La taille maximale des granules est de 45 et 25 μm , avec des tailles moyennes de 18 et 10 μm respectivement pour le sorgho

et le mil. Ces valeurs sont plus élevées que celles des amidons de cultivars d'autres régions. La taille des granules d'amidons de sorgho est proche de celle des amidons de blé, de maïs et de manioc.

La forme de ces granules est multiple, elle varie de la forme polygonale et ovoïdale pour les variétés de sorgho à la forme polyédrique et sphérique pour le mil. La microscopie électronique à balayage a permis d'observer la présence de pores « pinholes » chez certains granules d'amidon de sorgho et de mil perlé.

Les taux en amylose varient entre 23,0 et 27,1 %, valeurs se situant dans la « normale ». Les diffractogrammes de rayons X des amidons du sorgho blanc et pigmenté ainsi que du mil local et importé du Niger obtenus sont de type A caractéristiques des amidons de céréales. L'analyse thermique a révélé des températures de gélatinisation élevées par rapport aux amidons d'autres sources botaniques.

Les valeurs caractéristiques de viscosité des amidons extraits ont révélé que les amidons de sorgho blanc et pigmenté ne présentent pas une grande variation dans les valeurs de la viscosité au pic, la viscosité minimale et finale. Contrairement aux sorghos, les amidons de mil se distinguent par la différence de la viscosité au pic. Elle est plus faible dans le cas du mil local (2985 cP), cependant les viscosités minimales et finales sont relativement voisines pour les deux variétés. La variation du temps au pic n'est pas très importante pour les différents amidons. Les valeurs obtenues pour le pic de viscosité et la viscosité finale sont plus élevées que celles publiées jusqu'à présent dans la littérature scientifique. Le génotype et surtout les conditions agropédologiques peuvent être la cause de cette différence.

Les essais d'hydrolyse enzymatique des substrats d'amidon purs commerciaux ont montré que les amylases choisies de source fongique, bactérienne ou humaine ont été capables d'hydrolyser les amidons purs de différentes origines botaniques. Les résultats de l'étude cinétique ont montré l'influence de la source de l'enzyme et de l'origine botanique de l'amidon sur l'hydrolyse enzymatique en dextrans et en sucres réducteurs (oligosaccharides). Ils ont permis de déterminer les conditions opératoires mettant en évidence des activités des enzymes utilisés à savoir l'endoaction (liquéfaction) donnant lieu à la formation de dextrans et l'exoaction (saccharification) donnant lieu à la formation de sucres réducteurs.

Les résultats de l'hydrolyse enzymatique des amidons de sorgho et de mil perlé montrent que les substrats présentent une susceptibilité à l'hydrolyse en dextrans en présence des cinq enzymes testées. Cependant, cette susceptibilité diffère selon le prétraitement préconisé pour la mouture intégrale et selon l'amylase utilisé.

Cette susceptibilité à l'hydrolyse s'avère faible pour l'amidon en présence des autres constituants, comme les protéines, les lipides et les fibres mais croît considérablement en l'absence de ces constituants. Les vitesses moyennes ont été augmentées de 3 à 7 fois lorsque les protéines et les lipides ont été isolés.

Nous avons réussi à déterminer les conditions expérimentales, permettant aux réactions d'hydrolyse enzymatique de nos amidons d'obéir au modèle de Michaelis-Menten. L'étude cinétique des réactions a permis de déduire les valeurs des constantes cinétiques (K_M , V_{max} , K_{cat} et K_{cat}/K_M).

De plus, les propriétés physicochimiques et fonctionnelles des amidons de sorgho et de mil perlé sont très intéressantes notamment la granulométrie et les propriétés rhéologiques qui permettent d'envisager certaines applications spécifiques (alimentaire, cosmétique, textile, pharmaceutique, biofilms, etc...). Nous avons montré aussi l'influence des effets du génotype et de l'environnement hyperaride lorsque la température de maturité est très élevée.

Les conditions expérimentales ont permis de déterminer les valeurs des constantes cinétiques et de distinguer les systèmes amylase-amidon dont les réactions d'hydrolyse suivent le modèle de Michaelis-Menten. Nous avons pu évaluer, de manière quantitative, l'influence des différents facteurs influençant la cinétique de la saccharification enzymatique, notamment l'origine botanique de l'amidon et la source de l'amylase.

En effet, les courbes cinétiques d'hydrolyse des différents amidons de sorgho, de mil, de maïs et de pomme de terre sont des hyperboles et les représentations graphiques des transformées de Lineweaver-Burk et Eadie-Hofstee sont des droites pour la plupart des amidons en présence des différentes enzymes utilisées. Ces résultats signifient que la cinétique de saccharification dans ces cas est michaelienne, et que le système réactionnel est dans un état de pré-équilibre ou quasi-stationnaire.

Il ressort aussi de cette étude que la réactivité de l'amidon présente une variabilité quant à son hydrolyse en oligosaccharides en fonction de la source d'enzyme. Les différentes enzymes agissent avec des affinités et des activités distinctes pour un même amidon.

De même, l' α -amylase présente une variabilité quant à son exoaction sur les amidons de différentes origines botaniques. Ceci pourrait être dû à la différence dans la composition chimique en amylose et amylopectine, aux propriétés physicochimiques et fonctionnelles et à la structure fine de l'amidon.

Les α -amylases thermolabiles fongique et bactérienne ont une meilleure susceptibilité à hydrolyser les amidons de maïs et de pomme de terre utilisés relativement aux

amidons de sorgho et de mil perlé, contrairement à l'amyloglucosidase et l' α -amylase Termamyl L300, qui ont de meilleures affinités pour les substrats d'amidon de mil local.

L'analyse par HPAEC-PAD a permis d'établir les profils en oligosaccharides. Ces derniers font ressortir la relation entre le type d'amylase et la structure de l'amidon.

Les amylases présentent des similarités dans le mode d'attaque et des différences dans le nombre d'attaque. De plus, elles sont moins efficaces sur l'amylose en raison de sa structure linéaire. Le maltotriose est le principal maltooligosaccharide présent dans l'hydrolysats de chaque système enzymatique suggérant que l'amylase a une endoaction.

Il s'avère aussi que l' α -amylase de *B. subtilis* est moins efficace que celle de *A. Oryzae* sur les amidons et toutes les deux ne sont pas influencées par le génotype.

La composition chimique des oligosaccharides influence les propriétés comme la viscosité et la pouvoir sucrant de leurs solutions aqueuses. En effet, le degré de polymérisation des molécules affecte le pouvoir sucrant de leurs solutions. En dessous de DP 7, le pouvoir sucrant est perceptible. Ainsi, les amidons de sorgho blanc et pigmenté ont les capacités pour donner des solutions d'édulcorants, même dans les conditions initiales.

Des études complémentaires seraient nécessaires pour mieux connaître le mécanisme d'attaque enzymatique lors des réactions d'hydrolyse afin de contrôler la composition et les propriétés des hydrolysats d'amidon pour des ingrédients alimentaires ainsi que pour des applications industrielles non alimentaires.

Les résultats obtenus montrent déjà que le sorgho et le mil cultivés en Algérie peuvent être commercialisés et utilisés pour l'alimentation humaine et animale. Les propriétés de viscosité et de gonflement des amidons de ces cultivars pourraient être valorisées dans des applications industrielles alimentaires.

Actuellement, la culture du sorgho et des mils reste traditionnelle et peu développée en attendant de mieux valoriser ces céréalicultures par de nouveaux débouchés qu'ils soient liés notamment aux fourrages, aux graines et leurs moutures ou à leurs biopolymère natifs ou modifiés (notamment les amidons et les protéines qui ont révélé des propriétés physicochimiques et biologiques spécifiques très intéressantes). Cela aura pour conséquence d'encourager et intensifier ce type de céréaliculture afin d'assurer un développement socioéconomique de ces régions et la préservation de la biodiversité.

Suite à ce premier travail et sur la base des résultats obtenus, notre équipe oriente actuellement ses recherches vers l'optimisation de l'extraction des amidons et protéines, la mise en œuvre de procédés d'hydrolyse enzymatique des amidons.

Une valorisation des protéines par hydrolyse est aussi en cours de même que la mise au point d'applications en alimentaire (concentrés de protéines et d'acides aminés) et non alimentaire (capsules).

Les recherches sur la taxonomie devraient être approfondies afin de caractériser la diversité variétale locale. Il conviendrait également de déterminer les propriétés rhéologiques des gels d'amidons de sorgho et mil, de déterminer les indices glycémiques, pour caractériser la valeur nutritionnelle des produits obtenus. Il serait donc, intéressant de formuler des produits alimentaires à base de moutures, des amidons natifs ou modifiés et notamment des produits sans gluten (gluten free products).

De même, mettre en œuvre des procédés de production de sirops d'oligosaccharides afin d'encourager la culture de ces céréales et assurer un développement socioéconomique de la région saharienne.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abel-Aal, E.S., Hucl, P., Han, R.N. & Demeke, T. 2002. Physical and structural characteristics of flours and starches from waxy and non waxy wheat. *Cereal Chemistry*, 79 (3): 458-464.
- Abdelrahman, A., Hosene, R.C. & Varriano-Marston, E. 1983. Milling process to produce low-fat grits from pearl millet. *Cereal Chemistry*, 60:189-191.
- Adele, I.O., Agumanu, E.N. & Oti-Okoronwo, F.I. 2006. Comparative studies on α -amylases from malted maize (*Zea mays*), millet (*Eleusine corollaria*) and sorghum (*Sorghum bicolor*). *Carbohydrate Polymers*, 66 (1), 71-74.
- Audidier, Y. 1966. Détermination par une α -amylase bactérienne de l'amidon endommagé dans les laboratoires de contrôle industriels.
- AGPG, www. Agpb.fr, consulté en Septembre 2009.
- Ba, K., Destain, J., Thonart & P. 2010. Hydrolysis of starch by sorghum malt for maltodextrin production. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement*. 14 (S2), 537-5
- Balole, T. V.; Legwaila, G. M. 2006. *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Record from Protabase. Brink, M. & Belay, G. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa/Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands.
- Banks, W. & Muir, D.D. 1980. Structure and chemistry of starch granule. In: The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. (Vol. 3): Carbohydrates structure and function. Edited by Jack Preiss. Academic press Inc. New York, 321-417.
- Bao, J. 2004. The functionality of rice starch. In: Starch in food. Structure, function and application. Edited by Ann-Charlotte Eliasson. Woodhead Publishing, 258-289.
- Barsby, T.L., Donald, A.M. & Fraz, P.J. 2001. Starch advances in structure and function. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 223 p.
- Baston, M.L., Ronalds, J.A, Wrigley, C.W. & Hubbard, L.J. 1993. Testing for sprout in malting barley using the Rapid Visco-Analyser. *Cereal Chemistry*, 70 (3): 269-272.
- Battandier, J. A. & Trabut, M. 1884. Flore de l'Algérie et Catalogue des plantes d'Algérie. [Monocot. 1] Monocotyledones. Xvi, 211 p.
- Beleia, A., Varriano-Marston, E. & Hosene, C. 1980. Characterization of starch from pearl millets. *Cereal Chemistry*, 57 (5): 300-303.
- Belton, P.S. & Taylor, J.R.N. 2004. Sorghum and millets: protein sources for Africa. *Trends in Food Science and Technology*, 15 (2): 94-98.
- BeMiller, J.N. & Whistler, R.L. 1996. Carbohydrates. Fennema, O.R. and Dekker, M. eds. Food Chemistry, New York. 991 p.
- BeMiller, J. & Whistler, R. 2009. Starch, Chemistry and Technology. 3rd edition, Food science and technology. International series, USA. 900 p.
- Benmoussa, M., Suhendra, B., Aboubacar, A. & Hamaker, B.R. 2006. Distinctive sorghum starch granule morphologies appear to improve raw starch digestibility. *Starch/Stärke*, 58, 92-99.
- Beta, T. & Corke, H. 2001. Genetic and environmental variation in sorghum starch properties. *Journal of Cereal Science*, 34:261-268.
- Beta, T., Corke, H., Rooney, L. & Taylor, J.R.N. 2000. Starch properties as affected by sorghum grain chemistry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 245-251.

- Beta, T., Corke, H. & Taylor, J.R.N. 2000. Starch properties of Barbard red, a South Africa red sorghum variety of significant in traditional African brewing. *Starch/Stärke*, 52, 467-470.
- Berger, M. 1986. Méthode rapide de détermination du taux d'endommagement des amidons d'une farine. Etude d'un prototype. Exposé présenté aux journées techniques.
- Bezançon, G. & Pharm, J.L. 2004. Ressources génétiques des mils en Afrique de l'Ouest. Diversité, conservation et valorisation. IRD collection de colloques et séminaires. Paris, 192 p.
- Bezançon, G. 2005. Evolution et dynamique de la diversité des mils au Niger: Influence des facteurs naturels et anthropiques.
- www.ird.ne/presentation_gille_bezancon_fichiers. Consulté en Mai 2006.
- Bhattacharya, M. & Corke, H. 1996. Selection of desirable starch pasting properties in wheat for use in white salted or yello alkaline noodles. *Cereal Chemistry*, 73 (6): 721-728.
- Boudries, N., Belhaneche, N., Nadjemi, B., Deroanne, C., Mathlouthi, M., Roger, B. & Sindic, M. 2009. Physicochemical and functional properties of starches from sorghum cultivated in the Sahara of Algeria. *Carbohydrate Polymers*, 78, 3, 475-480.
- Boudries, N., Nadjemi, B., Belhaneche, N. & Sindic, M. 2014. Morphological and thermal properties of starches isolated from white and pigmented sorghum landraces grown in hyper arid regions. *Journal of Agricultural Science and Technology B* 4 (2014) 674-682.
- Boudries, N., Sindic, M., Belhaneche, N. & Nadjemi, B. 2015. HPAEC-PAD profiles of maltooligosaccharides produced by hydrolysis of sorghum starches using amylases from various sources. *International Journal of Biotechnology and Food Science*, volume. 3(4), pp. 49-56.
- Brunken, J. 1977. A systematic study of *Pennisetum* sect. *Pennisetum* (Graminea). *American Journal of Botany*, 64, 161-176.
- Brunken, J., de Wet, J.M.J. & Harlan, J.R. 1977. The morphology and domestication of pearl millet. *Economic Botany*, 31, 163-174.
- Buléon, A., Colonna, P. & Leloup, V. 1990. Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. Industries alimentaires et agricoles: Juin, 515-531.
- Cardoso, W.S. & Tardin, F. D. 2013: Use of sorghum straw (sorghum bicolor) for second generation ethanol production: pretreatment and enzymatic hydrolysis. *Quim. Nova, Artigo*, Vol. 36, No. 5, 623-627.
- CEA. 1985. Précis technique sur les farines composées. Commission économique pour l'Afrique des Nations Unis. Addis Abeba. Imprimé par PUDOC. Wageningen Pays-Bas.
- Cerighelli, R. 1955. Cultures tropicales. I- Plantes vivrières. Edition librairie J.-B. Baillière et fils, paris, 635 p.
- Chakraborty, M., Matkovic, K., Grier, D.G., Jarabek, E.L., Berzonsky, W.A., McMullen, M.S. & Dochlert, D.C. 2004. Physico-chemical and functional properties of tetraploid and hexaploid waxy wheat starch. *Starch/Stärke*, 56, 339-347.
- Chanapamokkhot, H. & Thongngam, M. 2007. The chemical and physico-chemical properties of sorghum starch and flour. *Kasetsart Journal (Nature. Science)* 41, 343-349
- Changa, M.Y. & Juang, R.S. 2005. Activities, stabilities, and reaction kinetics of three free and chitosan-clay composite immobilized enzymes. *Enzyme and Microbial Technology*, 36, 75-82.

- Chanterau, J., Cruz, J.F., Ratnadass, A., Trouche, G. & Fliedel, G. 2013. Le sorgho. Ed Quae/Cta/ Presse agronomique de Gembloux.
- Chevalier, J.T. & Reznik, A. 1932. Bulletin de la Société botanique de France, Volume 79.
- Choi H., Kim, W. & Shin, M. 2004. Properties of Korean Amaranth starch compared to waxy millet and waxy sorghum starches. *Starch/Stärke*, 56, 469-477.
- Choi YY, Osada K, Ito Y. 2005. Effects of dietary protein of Korean foxtail millet on plasma adiponectin, HDL-cholesterol, and insulin levels in genetically type 2 diabetic mice. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*; 69:31-37.
- Colonna, P., & Mercier, C. 1984. Macromolecular structure of wrinkled and smooth pea starch components. *Carbohydrate Research*, 126: 233-247.
- Cotta, M.A. 1992. Interaction of ruminal bacteria in the production and utilization of maltooligosaccharides from starch. *Applied and Environmental Microbiology*. (58) 1: 48-54.
- Dahlberg, J., Berenji, J., Sikora, V. & Latkovic, D. 2011. Assessing sorghum (*sorghum bicolor* (L.) Moench germplasm for new traits: Food, fuel and unique uses. *Maydica*, 56, 85-92
- Dailey, O.D., Dowd, M.K. & Mayorga, J.C. 2000. Influence of lactic acid on the solubilization of protein during corn steeping. *Journal of Agricultural Chemistry*, 48: 1352-1357.
- Da Silva, L.S. & Taylor, J.R.N. 2005. Physical, mechanical, and barrier properties of kafirin films from red and white sorghum milling fractions. *Cereal Chemistry* 82:9-14
- Dingeon, B. 1975. *Annal de biologie clinique* 33, 3.
- Doggett, H. 1988. Sorghum. Wiley, New York.
- Duedahl-Olesen, L., Pedersen, LH, Larsen, K.L. 2000. Suitability and limitations of methods for characterization of activity of malto-oligosaccharide-forming amylases. *Carbohydrate Research*. 329, 109-119.
- Duprat, F., Allant, D., Guilbot, A., Mercier, C. & Robin, J.A. 1980. L'amidon. In: Les polymères végétaux. Edition Gauthier-Villard, Bordas, Paris.
- Ellis, R. P., Cochrane, M.P., Dale, M.F., Duffus, C.M, Lynn, A., Morrison, I.M., Prentice, R.D.M., Swanston, J.S. & Tiller, S.A. 1998. Starch Production and industrial use. *Journal of Science and Food Agriculture*, 289-311.
- FAO. 1979. Nutrition humaine en Afrique tropicale. Manuel pour le personnel de santé. <http://www.fao.org/docrep/X0081F/X0081F0h.htm>. Consulté en Septembre 2009.
- FAO. 1995. Le sorgho et les mils dans la nutrition humaine, http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/T0818F/T0818F03.htm. Consulté en Juin 2005.
- FAO & ICRISAT. 1997. L'économie Mondiale du Sorgho et du Mil: Faits, tendances et perspectives. <http://www.fao.org/docrep/W1808F/W1808F00.htm>. Consulté en Juin 2005.
- FAO. 2002. Perspective par grand secteur. Agriculture mondiale: horizon 2015/2030. Rapport abrégé.
- FAOSTAT. 2015. <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/F/> Consulté en mai 2016
- Farrand, E. 1964. Flour properties in realization of the modern bread process in UK with special reference to α -amylase and starch damaged. *Cereal Chemistry*, 41, 98-111.
- Fujii, M. & Kawamura, Y. 1985. Synergistic action of α -amylase and glucoamylase on hydrolysis. *Starch Biotechnology and Bioengineering*, 27, 260-265.

- Gast, M. & Adrian, J. 1965. Mils et sorgho en Ahaggar. Etude ethnologique et nutritionnelle. Edition Art et Métiers graphiques, Paris. 78 p.
- Gordon, B. & William, C. 1991. Les industries de premières transformations des céréales. Edition Lavoisier- APRIA. Paris. 679 p.
- Gorinstein, S. 1993. Kinetic studies during enzyme hydrolysis of potato and cassava starches. *Starch/Stärke*, 45, 3, 91-95.
- Gracheva, Y., Mosyvech, M. C, Boruscenko, E.G., Bogatkov, C. B. & Guernet, M. V. 1982. Travaux pratiques de technologie des enzymes. Industrie légère et alimentaire. 240 p. (version en langue russe).
- Hamaker, B. 2005. Annual reports. Purdue University Whistler Center for Carbohydrate Research (WCCR). USA http://www.whistlercenter.purdue.edu/annual_reports.htm. Consulté en Avril 2006
- Harlan, J.R. & de Wet, J.M. 1972. A simplified classification of cultivated sorghum. *Crop Science*, 12:172- 176.
- Haros, M., Pérez, O.E. & Rosell, C.M. 2004. Effect of steeping corn with lactic acid on starch properties. *Cereal Chemistry*, 37: 101-109.
- Hasirci, N., Aksoy, S.& Tunturk, H. 2006. Activation of poly(dimer acid-co-alkyl polyamine) particles for covalent immobilization of α -amylase. *Reactive and Functional Polymers*, 66: 1546-1551.
- Henrissat, B. 1991. A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochemistry Journal*, 280, 309-324.
- Hil, R.D. & McGregory, A.W. 1988. In: Y. Pomeranz. Advances in cereal science and technology. Vol. 9, 217-261. Minnesota, USA, AACC.
- Hoseney, R. C. 1986. Principles of cereal science and technology. A general reference on cereal foods. Minnesota, USA, AACC, 327p.
- House, L. R. 1995. Sorghum and millets: History, Taxonomy and Distribution. In: D.D.A.V, ed. Sorghum and millets chemistry and technology, Minnesota, USA, AACC, 1-9.
- House, L.R., Osmanzai, M., Gomez, M.I., Monyo, E.S. & Gupta, S.C. 1995. Agronomic principles. In D. D.A.V. ed. Sorghum and millets chemistry and technology. AACC, Minnesota, USA, 27-64.
- IBPGR & ICRISAT, 1993. Descriptors for SORGHUM, [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], Patancheru, Inde.
- IBPGR & ICRISAT, 1993. Descriptors for PEARL MILLET, [*Pennisetum glaucum* (L.)R. Br.], Patancheru, Inde.
- Jain, R. K. & Bal, S. 1997. Properties of pearl millet. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 66, 85-91.
- Jane, J.L., Shen, L., Wang, L. & Maningat, C.C. 1992. Preparation and properties of small-particles corn starch. *Cereal Chemistry*, 69. (3): 280-283.
- Jane, J.L., & Chen, J.J. 1993. Internal structure of the potato starch granule revealed by chemical gelatinisation. *Carbohydrate Research*, 247: 279-290.
- Jenkins, P. J. & Donald, A.M. 1995. The influence of amylose on starch granule structure. *International Journal of Biochemical Macromolecules*, 17: 315-321.
- Jobling, S. 2004. Improving starch for food and industrial application. *Current Opinion in Plant Biology*, 7: 210-218.
- Jones, D. B. 1931. Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of protein. USDA Circ. N° 183, 1-21.

- Kara, A., Osman, B., Handan, Y., avuz, H., Besirli, N. & Denizl, A. 2005. Immobilization of α -amylase on Cu^{2+} chelated poly(ethylene glycol dimethacrylate-n-vinyl imidazole) matrix via adsorption. *Reactive and Functional Polymers*, 62, 61-68.
- Karakatsanis, A., Liakoupoulou-Kiriakide, M. & Thessaloniki, M. 1998. Comparative study of hydrolysis of various starches by α -amylase and glucoamylase in PEG-dextran and PEG-Substrate aqueous two phase systems. *Starch/Stark*, 8, 349-353.
- Klopfenstein, C.F. & Hosney, R.C. 1995. Nutritional properties of sorghum and millets. In. D.D.A.V. Sorghum and millets chemistry and technology. Ed. AACC, Minnesota USA. 125-157.
- Kitamura, S., Yoneda, S. & Kuge, T. 1984. Study of retrogradation of starch. I- Particles size and its distribution of amylase retrograded from aqueous solutions. *Carbohydrate Polymers*, 4:127-136.
- Köksel, H., Sahbaz, F. & Özboy, Ö. 1993. Influence of wheat-drying temperatures on the birefringence and X-ray diffraction patterns of wet-harvested wheat starch. *Cereal Chemistry*, 70 (4), 481-483.
- Konsula, Z. & Liakopoulou-Kyriakides, M. 2004. Hydrolysis of starches by the action of an α -amylase from *Bacillus subtilis*. *Process Biochemistry*, 39, 11, 1745-1749.
- Kouame LP, Ahipo ED, Niamke SL, Kouame F.A. & Kamenan A (2004). Synergism of cockroach (*Periplaneta americana*) α -amylase and α -glucosidase hydrolysis of starches. *African Journal of Biotechnology*. 3 (10): 529-533.
- Kumar, R.S.S., Vishwanath, K.S., Singh, S.A. & Rao, A.G.A. 2006. Entrapment of α -amylase in alginate beads: Single step protocol for purification and thermal stabilization. *Process Biochemistry*, 41, 2282-2288.
- Kupper, C. 2005. Dietary guidelines and implementation for celiac disease. American Gastroenterological Association 128:S121-S127.
- Kuriki, T. & Imanaka, T. 1999. The concept of α -amylase family: Structural similarity and common catalytic mechanism. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 87, 557-565.
- Krzyżaniak W., Białas W., Olesienkiewicz A., Jankowski T., Grajek W. 2003. Characteristics of oligosaccharides produced by enzymatic hydrolysis of potato starch using mixture of pullulanases and α -amylases. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* 6(2), #16.
- Lee, W.J., Pedersen, J.F. & Shelton, D.R. 2002. Relationship of sorghum kernel size to physicochemical, milling, pasting and cooking properties. *Food Research International*, 35, 643-649.
- Lestienne, I., Buisson, M., Lullien-Pellerin, V., Picq, C. & Trèche, S. 2006. Losses of anti-nutritional factors during abrasive decortications of two pearl millet cultivars (*Pennisetum glaucum*). *Food Chemistry*, 100 (4): 1316-1323.
- Lin, L., Guo, D., Huang, J., Zhang, X., Zhang, L. & Wei, C. 2016. Molecular structure and enzymatic hydrolysis properties of starches from high-amylose maize inbred lines and their hybrids. *Food Hydrocolloids*, 58, 246-254.
- Lowry, O.H., Rosebrough Nira, J., Farr Lewis, A. & Randal Rose, J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*.
- Lumdubwong, N. & Seib, P.A. 2000. Rice starch isolation by alkaline protease digestion of wet-milled rice flour. *Journal of Cereal Science*, 31: 63-74.

- Lurgi, A.G. 2004. Starch saccharification technology. www.lurgi-lifescience.com. Consulté en Janvier 2005.
- MacAllister, R.V. 1997. Nutritive sweeteners made from starch. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 36:15-17.
- Malumba, P., Massaux, C., Deroanne, C. & Bera, F. 2009. Influence of drying temperature on functional properties of wet-milled starch granules. *Carbohydrate Polymers*, 75, 299-306.
- Marc, J.E.C., Maarel, V., Van der Veen, B., Uitdehaag, J.C.M., Leemhuis, H. & Dijkhuizen, L. 2002. Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. Review article. *Journal of Biotechnology*, 94, 137-155.
- Maire, R. 1952. Flore de l'Afrique du nord. Volume 1. Lechevalier éd., Paris, p.329.
- Massaux, C., Sindic, M., Lenartz, J., Sinnaeve, G., Bodson, B., Falisse, A., Dardenne, P. & Deroanne, C. 2008. Variation in physicochemical and functional properties of starches from European soft wheat (*Triticum aestivum* L.): The importance to preserve the varietal identity. *Carbohydrate Polymers*, 71, 32-41.
- Massaux C., Bodson B., Lenartz J., Sindic M., Sinnaeve, G., Dardenne P., Falisse A. & Deroanne C., (2006). L'amidon natif du grain de blé: un composé naturel à valoriser par la connaissance de ses propriétés techno-fonctionnelles. Livre blanc « Céréales » F.U.S.A. et CRA-W Gembloux. 7p.
- Matsuki, J., Yasui, T., Kohyama, K. & Sasaki, T. 2003. Effects of environmental temperature on structure and gelatinisation properties of wheat starch. *Cereal Chemistry*, 80(4), 476-480.
- Medcalf, D. & Gilles, K. 1965. Determination of starch damaged by rate of iodine absorption. *Cereal Chemistry*, 42.
- Mehdi, Y. 2000. Etude préliminaire d'un sol agricole dans la région de Tidikelt (In Salah) pour amendement physico-chimique (phosphogypse et gypse). Congrès scientifique arabe, El Oued, Algérie
- Mercier, C. 1982. L'amidon et les enzymes en sucrochimie. Industries alimentaires et agricoles, 99:787-796.
- Miles, M.J., Morris, V.J. & Orford, P.D. 1985. The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydrate Research*, 135:271-281.
- Mohsenin, N.N. 1986. Physical properties of plant and animal materials. 1st Ed., Gordon and Breach Science Publishers, New York, ISBN-10: 0677213700
- Mokrane, H., Gebruers, K., Beaugrand, J. & Delcour, J.A. 2009. Algerian pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.) contains XIP but not TAXI and TLXI type xylanase inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(12):5542-8
- Mokrane, H., Amoura, H., Belhaneche-Bensamra, N., Courtin, C.M., Delcour, J.A. & Nadjemi, B. 2010. Assessment of Algerian protein quality (sorghum bicolor (L.) Moench) using amino acid analysis and invitro pepsin digestibility. *Food Chemistry*, 121(3):719-723,
- Moorthy, S.N. 2002. Physico-chemical and functional properties of tropical tuber starch: A review. *Starch/Stärke*, 54, 559-592.
- Morrison, W.R. & Laignelet, B. 1983. An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. *Journal of Cereal Science* 1: 9-20.

- Mua, J.P. & Jackson, D.S. 1997. Relationships between functional attributes and molecular structure of amylose and amylopectin fractions from corn starch. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45, 3848-3854.
- Multon, J.L. 1991. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Vol. 4: Analyse des constituants alimentaires. Lavoisier. APRIA, Paris, 450 p.
- Muralikrishna, G., Nirmala, M. & Muralikrishna, G. 2005. Cereal α -amylases, an overview. *Carbohydrate Polymers*, 60, 163-173.
- Mwithiga, G. & Sifuna, M.M. 2006. Effect of moisture content on the physical properties of three varieties of sorghum seeds. *Journal of Food Engineering*, 75. (4): 480-486.
- Nirmala, M., Subba Rao, M.V.S.S.T. & Muralikrishna, G. 2000. Carbohydrates and their degrading enzymes from native and malted finger millet (Ragi, *Eleusine coracana*, Indaf-15). *Food Chemistry*, 69: 175-180.
- Ozenda, P. 1983. Flore du Sahara. 2^{ème} ed. Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS.), Paris, 622p. p.160.
- Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C. R., Soccol, V.Y., Singh, D. & Mohan, R. 2000. Advances in microbial amylases. *Biotechnological Applied Biochemistry*, 31, 135-152.
- Park, J.T. & Rollings, J.E. 1994. Effects of branching characteristics on kinetics of enzymatic depolymerization of mixed linear and branched polysaccharides: I. Amylose/Amylopectin by α -amylase. *Biotechnology and Bioengineering*, 44, 792-800.
- Pérez Sira, E. & Amaiz, M. L. 2004. A laboratory scale method for isolation of starch from pigmented sorghum. *Journal of Food Engineering*, 64, 515-519.
- Pernes, J. 1984. Gestion des ressources génétiques des plantes. Technique et documentation, Lavoisier, Tome 1. Paris, 211 p.
- Petersen, N.B. 1975. Edible starches and starch-derived syrups. Noyes Data Corporation, New Jersey, 418 p.
- Preiss, J. 2000. Plant starch synthesis. *In: starch in food. Structure, function and application.* Edited by Ann-Charlotte Eliason CRC, Press WP. Cambridge, England, 605p.
- Quézel, P. & Santa, S. 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Volume [1] CNRS., Paris. p.91.
- Radley, J. A. 1968. Starch and its derivatives. Chapman et Hall. 4^{ème} édition, 527 p.
- Radley, J.A. 1974. Examination and analysis of starch and starch product.LTD, London, 211p.
- Radosta, S., Kettlitz, B., Schierbaum, F., Rehbrucke, B. & Gernat, C. 1991. Studies on rye starch properties and modification, Part II: swelling and solubility behaviour of rye starch granules. *Starch/Stärke*, 43:331-339.
- Ratnavathi, C.V. & Chavan, U.D. 2016. Sorghum syrups and other by products. *Sorghum Biochemistry*, 2016, 253-310
- Rhymer, C., Ams, N., Malcolmson, L., Brown, D. & Duguid, S. 2005. Effect of genotype and environment on the starch properties and end-product quality of oats. *Cereal Chemistry*, 82 (2), 197-203
- Robin, J.P. 1976. Comportement du grain d'amidon à l'hydrolyse acide ménagée. Etude physico-chimique et enzymatique de la fraction insoluble. Thèse de doctorat. Université de Pierre et Marie Curie. Paris, 159 p.
- Robyt, J.F. 1990. Biochemical techniques: Theory and practice. Waveland press Inc. London.213-109.

- Robyt, J.F. 1998. Le marché boude les amidons tropicaux. *Agriculture* 21. <http://www.fao.org/ag/fr/magazine/9809/spot3.htm>. Consulté en Janvier 2006.
- Rohrbach, D.D. 2003. Improving the commercial viability of sorghum and pearl millet in Africa. <<http://www.afripro.org.uk/papers/Paper22Rohrbach.pdf>> consulté le 10 Mai 2006
- Rooney, L.W. 1978. Sorghum and pearl millet lipids. *Cereal Chemistry*, 55:584-590.
- Roudot, A.C. 2002. Rhéologie et analyse de texture des aliments. Paris, 199 p.
- Rousseau, B. 1999. Contribution à l'étude de la cinétique enzymatique de l'hydrolyse de l'amidon en milieu complexe. Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, France, 194 p.
- Salo-Väänänen, P. P. & Koivistoinen, P. E. 1996. Determination of protein in foods: comparison of net protein and crude protein (Nx6.25) value. *Food Chemistry*, 57, 1, 27-31.
- Santacruz, S., Andersson, R., Åman, P. 2005. Characterization of potato leaf starch with iodine-staining. *Carbohydrate Polymers*, 59, 397-400.
- Sarikaya E, Higasa T, Adachi M, Mikami B (2000). Comparison of degradation abilities of α - and β -amylases on raw starch granules. *Process Biochem.* (35): 711-715.
- Satin, M. 2002. Starch as functional food. Report of business briefing: innovative food ingredients.
- Schober, T.J., Messerschmidt, M., Bean, S.R., Park, S-H, & Arendt E.K. 2005. Gluten-free bread from sorghum: quality differences among hybrids. *Cereal Chemistry*, 82(4): 394-404.
- Serna-Sadiviar, S. & Rooney, L.W. 1995. Structure and chemistry of sorghum and millets. *In: Sorghum and millets chemistry and technology*. D.D.A.V, ed. AACC, Minnesota USA, 69-108.
- Shin, S.I., Choi, H.J., Chung, K.M., Hamaker, B.R., Park, K.H. & Moon, T.W. 2004. Slowly digestible starch debranched waxy sorghum starch preparation and properties. *Cereal Chemistry*, 8(3) 404-408.
- Słomińska L, Klisowska M. & Grzeškowiak, A. (2003). Degradation of starch granules by amylases. *Electron.Journal of Polish Agriculture.Univ.* 6(2).
- Singh, H., Sodhi, N.S. & Singh, N. 2009. Characterization of starches separated from sorghum cultivars grown in India. *Food Chemistry*.
DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.05.086.
- Shimelis, E., Meaza, M. & Rakshit, S. 2006. Physico-chemical properties, pasting behaviour and functional characteristics of flours and starches from improved bean (*Phaseolus vulgaris L.*) varieties grown in East Africa. *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*. Vol VIII.
- Shobana, S. & Malleshi, N.G. 2006. Preparation and functional properties of decorticated finger millet (*Eleusine coracana*). *Journal of Food Engineering*, 79 (2), 529-538.
- Shujun, W., Jinglin, Y., Jiugao, Y., Xiaxia, C., Jiping, P. & Hongyan, L. 2008. Partial characterization of starches from *Dioscorea* opposite Thunb cultivars. *Journal of Food Engineering*, 88, 287-293.
- Sigma method. 1997. Enzymatic Assay of α -Amylase (EC 3.2.1.1), 1-4
- Sims, K. A. & Munir Cheryan, M. 1992. Continuous production of glucose Syrup in an ultrafiltration reactor. *Journal of Food Science*, 57, 163-166.

- Soest, P.J.V., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. 1991. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implication in dairy cattle. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597.
- Southgate, D.A.T. 1979. Determination of food carbohydrates. Applied science, LTD, London.178 p.
- Srichuwong, S., Sunarti, T.C., Mishima, T., Isono, N. & Hisamatsu, M. 2005. Starches from different botanical sources II: Contribution of starch structure to swelling and pasting properties. *Carbohydrate Polymers*, 62, 25-34.
- Subramanian, V. & Hosney, R.C. 1995. Shear thinning properties of sorghum starch. *Cereal Chemistry*, 72: 7-10.
- Takasaki, Y.1985. An Amylase Producing Maltotriose from *Bacillus subtilis*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 49, 1091-1097.
- Tang, H., Mitsunaga, T. & Kawamura, Y. 2004. Relationship between functionality and structure in barley starches. *Carbohydrate Polymers*, 57: 145-152.
- Taylor J.R.N. Pearl Millet: Overview. *Encyclopedia of Food Grains (Second Edition)*, (1), 2016, 190-198
- Taylor, J.R.N. 2003. Overview: importance of sorghum in Africa
www.afripro.org.uk/papers/Paper01Taylor.pdf> consulté en Mai 2006
- Taylor, J.R.N. & Dewar, J. 2001. Development in sorghum food technologies. *Advances in Food and Nutrition Research*, 43:217-264.
- Taylor, J.R.N., Schober, T.J., & Bean, S.R. 2006. Novel food and non-food uses for sorghum and millets. *Journal of Cereal Science* 44(3):252-271.
- Tester, R.F. & Morrison, W.R. 1990. Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose and lipids. *Cereal Chemistry*, 67: 551-557.
- Tilman, J., Schober, M., Messerschmidt, S., Bean, R., Seok-Ho P. & Elke K.A. 2005. Gluten-free bread from sorghum: quality differences among hybrids. *Cereal Chemistry*, 82(4):394-404
- Tomasik, P. & Horton, D. 2012. Enzymatic conversions of starch. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* (68), 2012, 59-436
- Trabut, M. 1895. Information agricole du service botanique du gouvernement général n° 9, Alger.
- Trudeau, C. & Corneau, L. Millet
www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/. Consulté Juin 2016
- Helmut Uhlig, H. 1998. Industrial enzymes and their applications. Wiley, New York. 454 p.
- Uriyapongson, J. & Rayas-Duarte, P. 1994. Comparaison of yield and properties of amaranth starches using wet and dry-wet milling processes. *Cereal Chemistry*, 71: 571-577.
- USIPA 2014. Toute l'énergie de l'amidon
www.franceagrimer.fr/content/download/35247/322227/file/04%20Usipa.pdf.
Consulté en juin 2016.
- Vansteelandt, J. & Delcour, J.A. 1999. Characterization of starch from durum wheat (*Triticum durum*). *Starch/Strärke*, 51. (2-3). S: 73-80
- Verwin, T., Vandeputte, G. E., Marrant, K. & Delcour, J.A. 2004. Isolation and characterization of rye starch. *Journal of Cereal Science*, 39: 85-90.

- Wall, J. S. & Ross, W M. 1970. Sorghum production and utilization. Major feed and food crops in agriculture and food series. The AVI Publishing Company, INC, Westport Connecticut, USA.
- Wambugu, S.M., Taylor, J.R.N. & Dewar, J. 2006. Effect of addition of malted and fermented sorghum flours on the proximate composition, viscosity, pH and consumer acceptability of extruded sorghum weaning porridges. *International Journal for Food Chemistry, Biochemistry, Microbiology, Technology and Engineering*. (in press)
- Wang, F.C., Chung, D.S., Seib, P.A. & Kim, Y.S. 2000. Optimum steeping process for wet milling of sorghum. *Cereal Chemistry*, 77: 478-483.
- Waniska, R.D. & Rooney, L.W. 2000. Sorghum food and industrial utilization. In: Smith, C.W., Frederiksen RA, editors. Sorghum: Origin, history, technology, and production. Canada: John Wiley & Sons, Inc. p 689-729.
- Wertz, J.L. 2011. L'amidon et le PLA: deux biopolymères sur le marché. Note de synthèse. Document FARR-Wal.
- Whistler, R. & Paschall, E.F. 1965. Starch: chemistry and technology. Vol. I. Academic press, New York and London.
- Wong, J. H., Lau, T., Cai, N., Singh, J., Pedersen, J.F., Vensel, W.H., Hurkman, W.J., Wilson, J.D., Lemaux, P.G. & Buchanan, B.B. 2009. Digestibility of protein and starch from sorghum (*Sorghum bicolor*) is linked to biochemical and structural features of grain endosperm. *Journal of Cereal Science*, 49, 73-82.
- Wrigley, C., Corke, H. & Walker, C.E. 2004. Encyclopedia of grain science. Volume 3. Elsevier Academic Press, 1st edition.
- Xie, J. & Seib, P.A. 2002. Laboratory wet-milling of grain sorghum with abbreviated steeping to give two products. *Starch/Strärke*, 54: 169-178.
- Yong, P. & Seib, P.A. 1995. Low-input wet milling of grain sorghum for readily accessible starch and animal feed. *Cereal Chemistry*, 72: 498-503.
- Yong, P., Haken, A.E., Niu, Y., Chaney, S.R., Hicks, K.B., Eckhoff, S.R., Tumbleson, M.E. & Sing, V. 2005. Effect of steeping with sulfite salts and adjunction acid on corn wet-milling yield and starch properties. *Cereal Chemistry*, 82: 420-424.
- Zaho, J. & Whistler, R.L. 1994. Isolation and characterization of starch from amaranth flour. *Cereal Chemistry*, 71: 392-393.

Les sites Web consultés.

- www.fao.org/home/en/, consulté régulièrement 2008-2016
- www.intsormil.org, consulté en juin 2010-2016
- www.ird.fr/, consulté en juin 2016
- www.whistlercenter.purdue.edu, consulté en juin 2016
- www.cirad.org, consulté en juin 2016

VALORISATION SCIENTIFIQUE DES TRAVAUX RÉALISÉS

VALORISATION SCIENTIFIQUE DES TRAVAUX RÉALISÉS

CHAPITRE DE LIVRE

Rachid Souilah, **Nadia Boudries**, Djaffar Djabali, Badreddine Belhadi, Boubekeur Nadjemi. Kinetic study of enzymatic hydrolysis of starch isolated from sorghum grain cultivars by various methods, **Chapter in Book**, Biotechnology and conservation of species from arid regions, 2 Volume set, ISBN.978-1-63117-869-6, **2014** Nova science publishers, Inc, chapter 37.

https://www.novapublishers.com/catalog/product_info.php?products_id=49645&osCsid=36a1f6d0420015f49b9eebe5a786111c

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

Nadia Boudries, Marianne Sindic, Naima Belhaneche-Bensemra & Boubekeur Nadjemi. HPAEC-PAD profiles of maltooligosaccharide produced by hydrolysis of sorghum starches using amylases from various sources. *International Journal of Biotechnology and Food Science* Vol. 3(4), pp.49-56 (**July 2015**).

ISSN: 2384-7344. www.sciencewebpublishing.net/ijbfs

Nadia Boudries, Boubekeur Nadjemi, Naima Belhaneche-Bensemra & Marianne Sindic. Morphological and thermal properties of starches isolated from white and pigmented sorghum landraces grown in hyper arid regions. *Journal of Agricultural Science and Technology A& B*, Volume B 4, (**August 2014**) 674-682. DOI 10.17265/2161-6264/2014.08.009

http://www.davidpublishing.com/davidpublishing/journals/j1/Journal_of_Agricultural_Science_and_Technology

Rachid Souilah, Djaffar Djabali, Badreddine Belhadi, Hind Mokrane, **Nadia Boudries** & Boubekeur Nadjemi. In vitro starch digestion in sorghum flour from Algerian cultivars. *Food science and nutrition*, DOI:10.1002/fsn3.104; 17 (**March 2014**).

www.foodscience-nutrition.com

Rachid Souilah, **Nadia Boudries**, Djaffar Djabali, Badreddine Belhadi & Boubekeur Nadjemi. Kinetic study of enzymatic hydrolysis of starch isolated from sorghum grain cultivars by various methods. *Journal of Food Science and Technology*. ISSN 0022-1155, DOI 10.1007/s13197-013-0977-z (**January 2013**).

<http://www.springer.com/food+science/journal/13197>

Rachid Souilah, Badreddine Belhadi, **Nadia Boudries**, Djaafar Djabali & Boubekeur Nadjemi. Pretreatments effect of Sorghum (*S. bicolor (L.) Moench*) and millet (*Pennisetum glaucum*) flours on the in vitro starch digestibility. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 47, 1, **2012**, 63-68.

www.uctm.edu/journal/j2012-1/7_Souilah_63-68.pdf

N. Boudries, N. Belhaneche, B. Nadjemi, C. Deroanne, M. Mathlouthi, B. Roger & M. Sindic. Physicochemical and functional properties of starches from sorghum cultivated in the Sahara of Algeria. *Carbohydrate Polymers*, 78 (2009) 475-480.
www.elsevier.com/locate/carbpol

COMMUNICATIONS INTERNATIONALES AVEC COMITÉ DE LÉCTURE ET PROCEEDING

Boudries N., Nadjemi B., Sindic M. & Belhaneche-Bensamra N. Enzymatic catalysis of pearl millet starches by amylases from various sources. XII^{ème} Symposium International Environnement, Catalyse et génie des Procédés, **27-29 May 2014**, Las Palmas de Gran Canaria, Espagne. www.amcemorocco.ma

Boudries Nadia, Sindic Marianne, Belhaneche-Bensamra Naima & Nadjemi. Boubekour. Biodiversity and utilization of pearl millet cultivars in hyper-arid regions of Algeria. 2nd International Congress of Plant Diversity, **27-29 March 2014**, Marrakech, Morocco. www.icpb2.ma

Boudries Nadia, Sindic Marianne, Belhaneche-Bensamra Naima & Nadjemi. Boubekour. Biodiversité et utilisation des cultivars de sorgho en Algérie. 1^{er} Séminaire International Sur Les Problématiques Agronomiques en Régions Arides et Semi-Arides, **28-30 Octobre 2013**, Batna, Algérie. www.inst-va.univ-batna.dz/lapapeza/

N. Boudries, B. Nadjemi, M. Sindic & N. Belhaneche-Bensamra. Functional and physicochemical properties of starches isolated from pearl millet landraces grown in hyperarid ecosystem. **29-31 May 2013**. Cereal and Europe Spring Meeting 2013, Leuven, Belgium. <http://cespringmeeting2013.org/>

Souilah. R, Belhadi. B, **Boudries. N**, Djabali. D & Nadjemi. B. An investigation of the action of glucoamylase on native starches from sorghum cultivated in Algeria. 10-11 April 2013. 4th International Workshop on Industrial Biotechnology, Tlemcen, Algeria.

Souilah R., Belhadi B., **Boudries N.**, Djabali D. & Nadjemi B. Kinetic study of hydrolysis by glucoamylase of starches isolated from sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) cultivated in Algeria. International Symposium of Biotechnology and Conservation of Species From Arid Regions, **10 et 13 February 2013**. Muscat, Oman.

Nadia Boudries, Boubekour Nadjemi, MarianneSindic & Naima Belhaneche-Bensamra. Enzymatic catalysis of sorghum starches by amylases from various sources. International Symposium on Catalysis and Specialty Chemicals, **23-26 September. 2012**, Tlemcen, Algeria. www.iscsc2012

Rachid Souilah, Badreddine Belhadi, Djaffar Djabali, **Nadia Boudries** & Boubekour Nadjemi. Action of amyloglucosidase on native starches from sorghum cultivated in the Sahara of Algeria. **23-24 April, 2012**. 3rd International Workshop on Industrial Biotechnology, Sfax, Tunis, Tunisia. www.brstic.ibda3.org/t3976-topic

R. Souilah, B. Belhadi, **N. Boudries** & B. Nadjemi. Production de matières à valeurs ajoutées par hydrolyse enzymatique des amidons de sorgho du Sahara d'Algérie. International Congress of Food Technology, **20-21 July 2011**, Cairo, Egypt.

N. Boudries, M. Sindic, B. Nadjemi & N. Belhaneche. Functional and physicochemical properties of starches isolated from pearl millet cultivars cultivated in Algerian hyperarid regions. 2nd International Symposium, Frontiers in Polymer Science in association with the journal Polymer. Centre des Congrès, Lyon France **29-31 May 2011**. <http://www.frontiersinpolymerscience.com>

N. Boudries, M. Sindic, N. Belhaneche, & B. Nadjemi. Functional and physicochemical properties of starches isolated from sorghum cultivars cultivated in Algerian hyper arid regions. 1st International Food Congress Technology, Association of Food Technology-Turkey and Akadeniz University Antalya, Turkey. **03-06 November 2010**. <http://www.intfoodtechno2010.org/>

N. Boudries, M. Sindic, N. Belhaneche, & B. Nadjemi. Valorisation de cultivars de sorgho et de mil chandelle des régions hyper arides d'Algérie. Congrès International sur la Santé et l'Agroalimentaire « Qualité, Sécurité, Innovation » CISA2009. **02-03 Décembre 2009**, Sidi Fredj, Algérie.

COMMUNICATIONS NATIONALES AVEC COMITÉ DE LÉCTURE ET PROCEEDING

N. Boudries-Kaci, M. Sindic, N. Belhaneche & B. Nadjemi. Importance of sorghum crop in food safety: nutritional value and health benefits. Journée d'étude «Éco-développement des produits de terroir: potentialités et valorisation » **27 Avril 2016**, Université de M'hamed Bougara, Boumerdes, Algérie.

N. Boudries, M. Sindic, N. Belhaneche-Bensamra & B. Nadjemi. Pearl millet: a cereal to reevaluate in Algeria. 3^{èmes} Journées des Sciences de la Nature et de la Vie JSNV2014, **11 et 12 Novembre 2014**, Université de Bejaia, Algérie

N. Boudries et B. Nadjemi. Variabilité de quelques propriétés structurelles des grains de sorgho cultivés dans des conditions hyper arides. 2^{èmes} journées d'étude sur le génie environnemental et le génie enzymatique (JEGEE-02). Ecole Normale Supérieure de Kouba, **12-13 Mars 2011**. Alger, Algérie.

ANNEXES

ANNEXE I : PHOTOGRAPHIES DES CULTIVARS SELECTIONNES



Figure I.1: Cartographie de l'Algérie

In Salah  Ahaggar  Agadez 



Figure I.2: Photographie du cultivar de Sorgho blanc



Figure I.3 : Photographie de cultivar de Sorgho pigmenté



Figure I.4: Photographie du cultivar du mil perlé

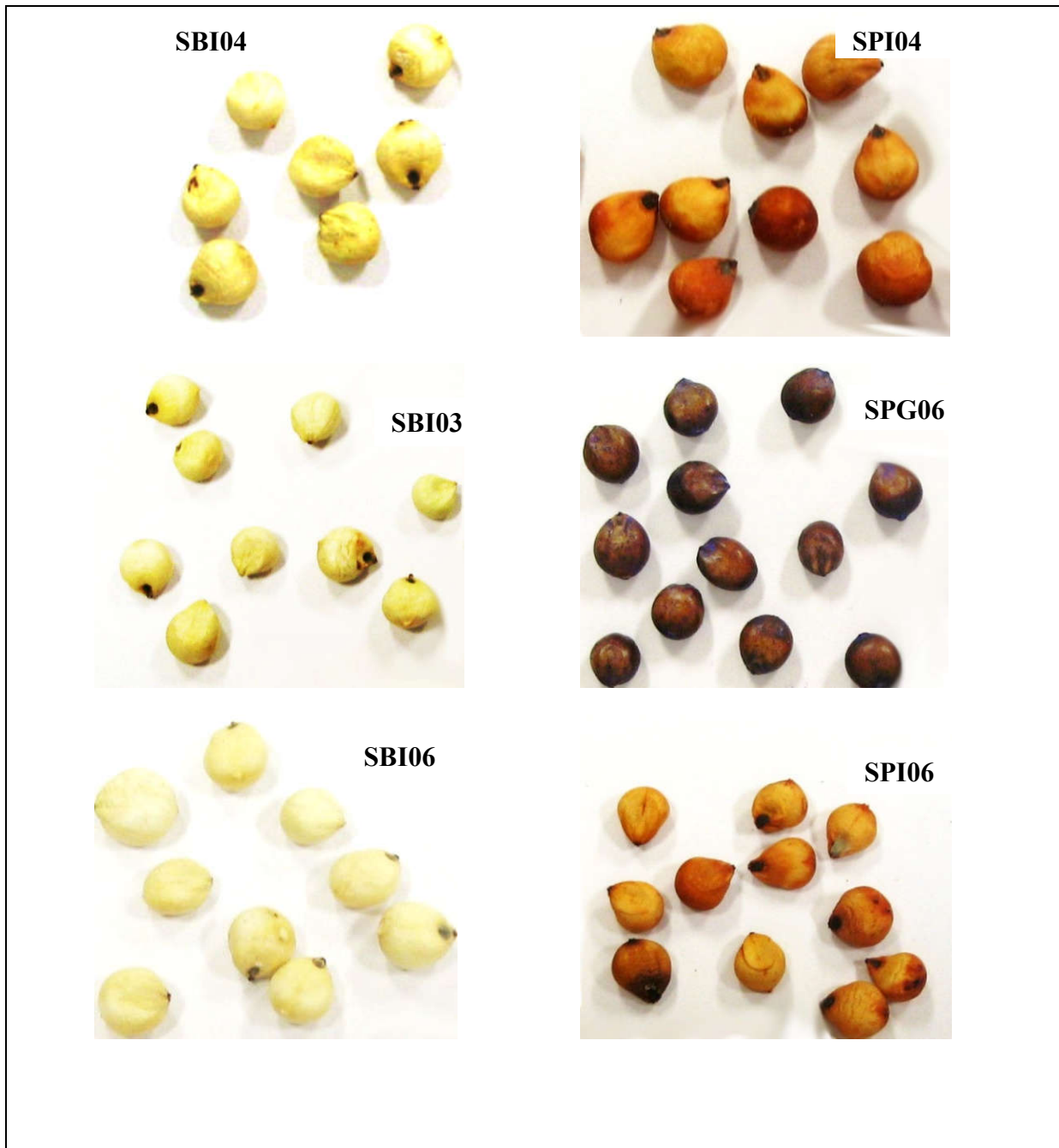


Figure I.5: Photographies des grains de sorgho des différents cultivars sélectionnés

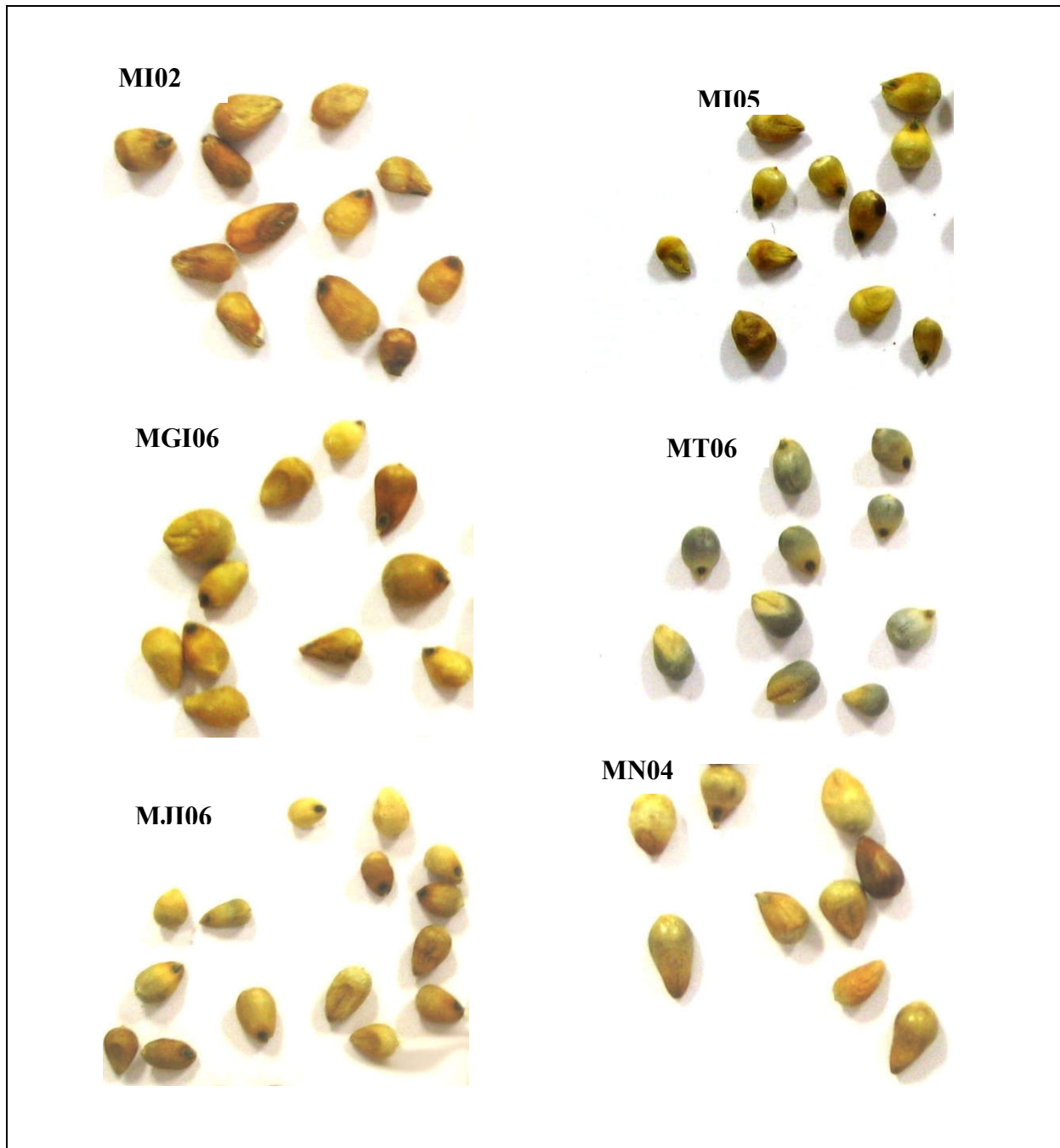


Figure I.6: Photographies des grains de mil perlé des différents cultivars sélectionnés

ANNEXE II : REPRESENTATIONS GRAPHIQUES

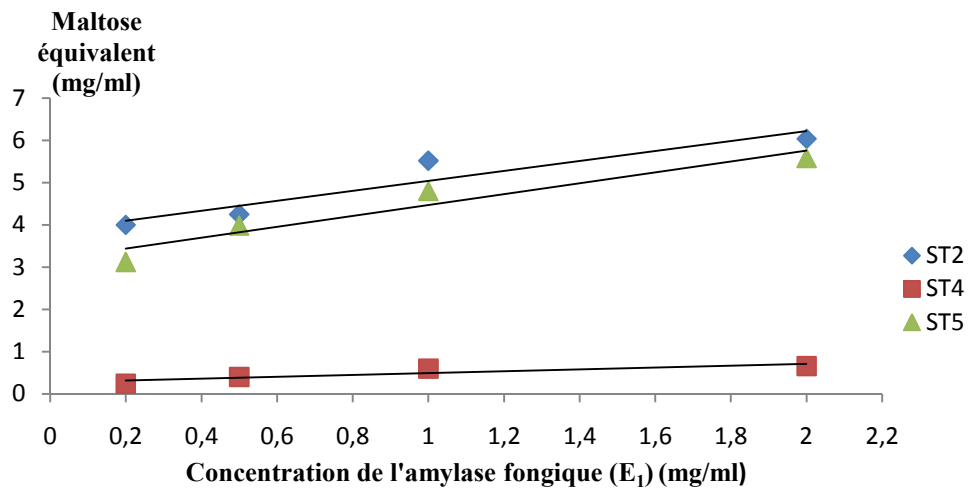


Figure II.1 : Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l' α -amylase fongique (E_1)

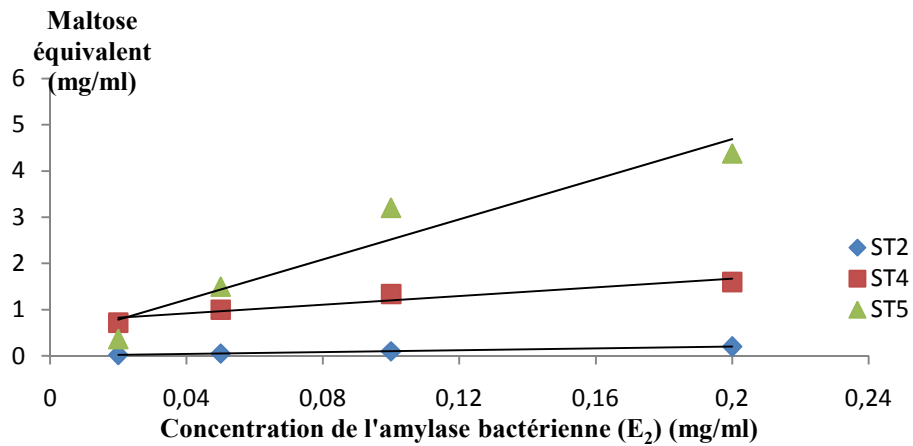


Figure II.2 : Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l' α -amylase bactérienne (E_2)

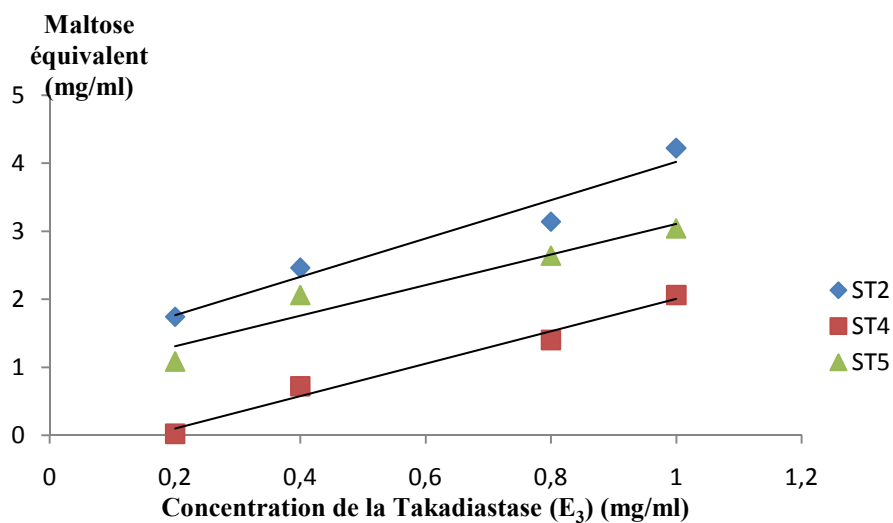


Figure II.3 : Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de la Takadiastase (E_3)

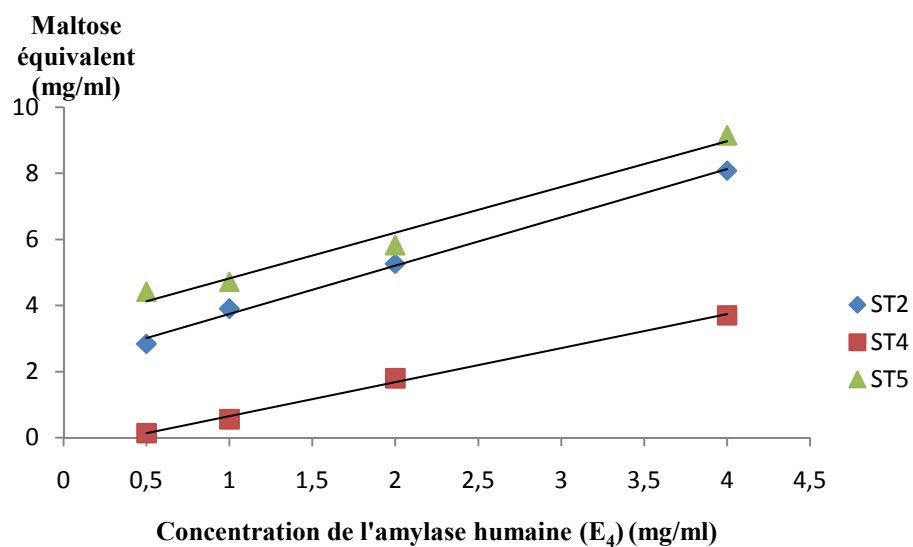


Figure II.4 : Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l' α -amylase salivaire (E_4)

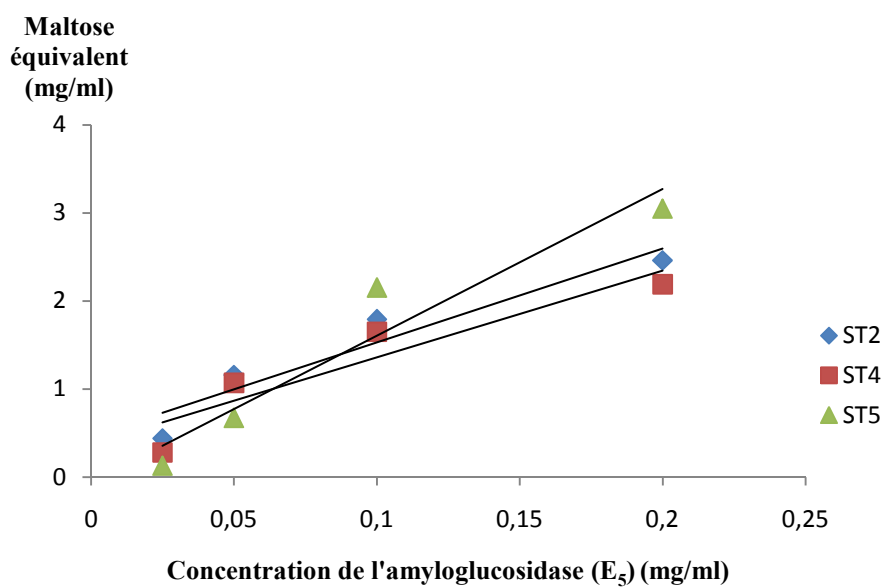


Figure II.5 : Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l'amylglucosidase (E_5)

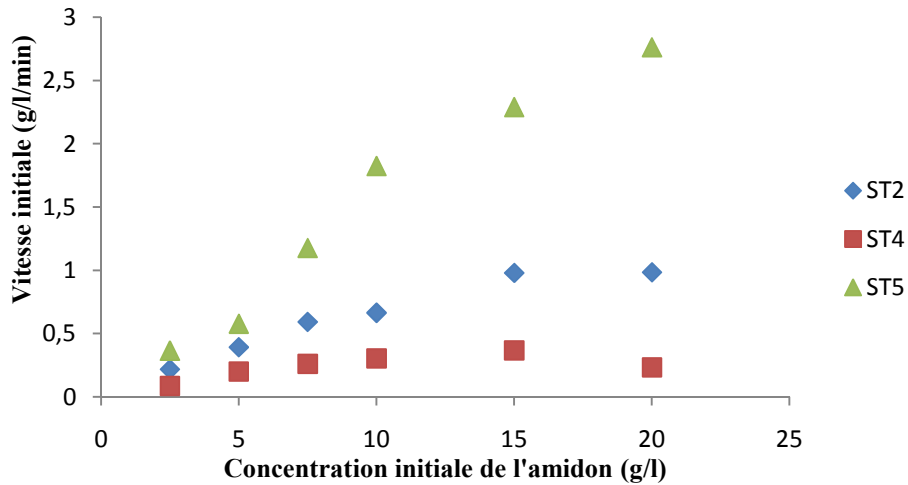


Figure II.6 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)

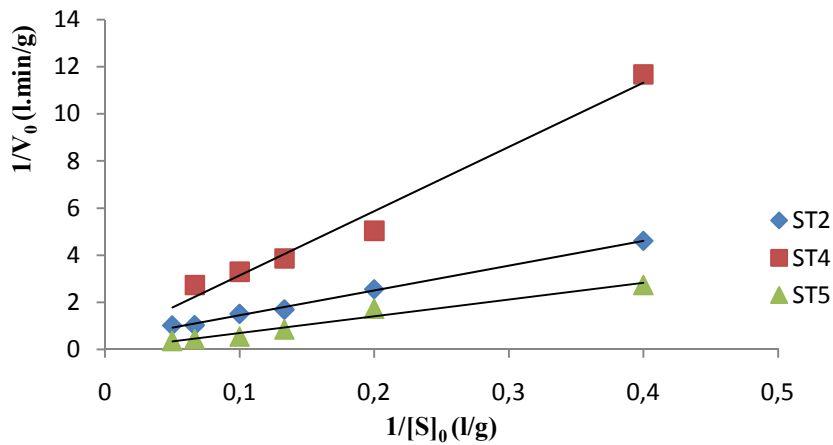


Figure II.7 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)

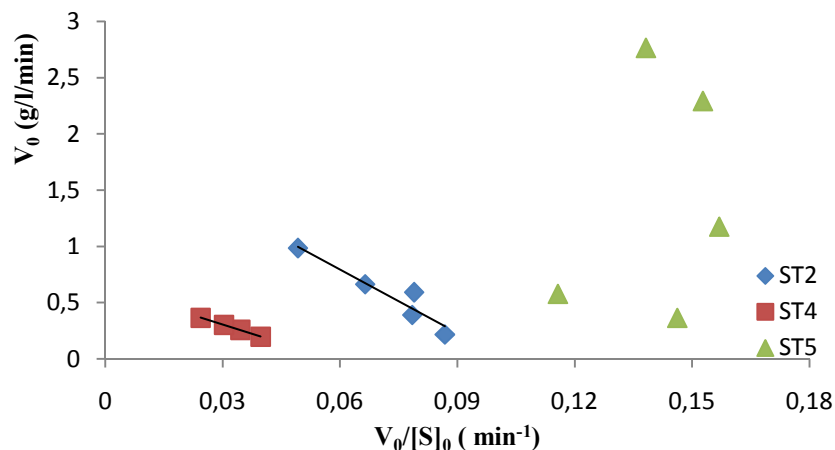


Figure II.8 : Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)

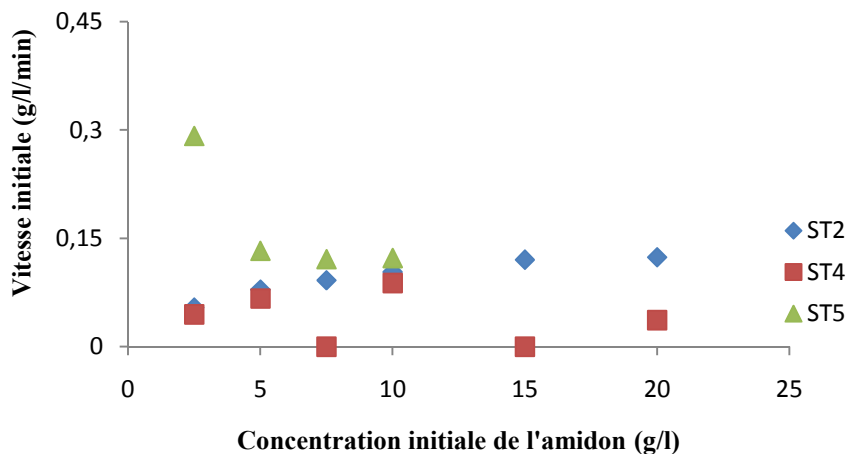


Figure II.9 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'amyloglucosidase (E_5)

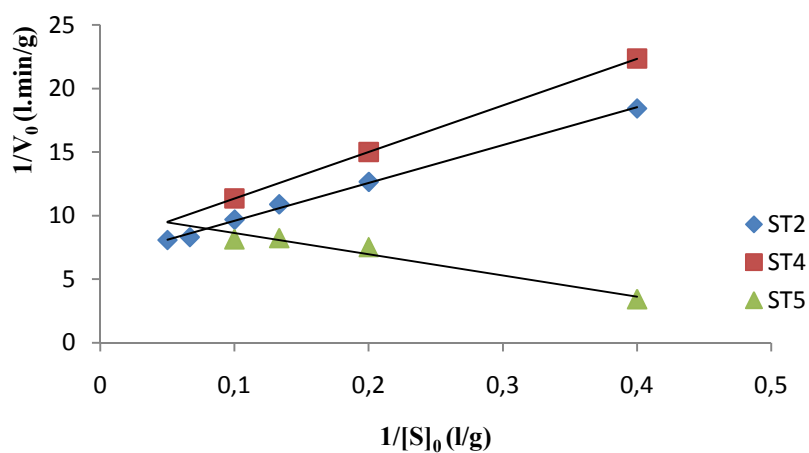


Figure II.10 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'amyloglucosidase (E_5)

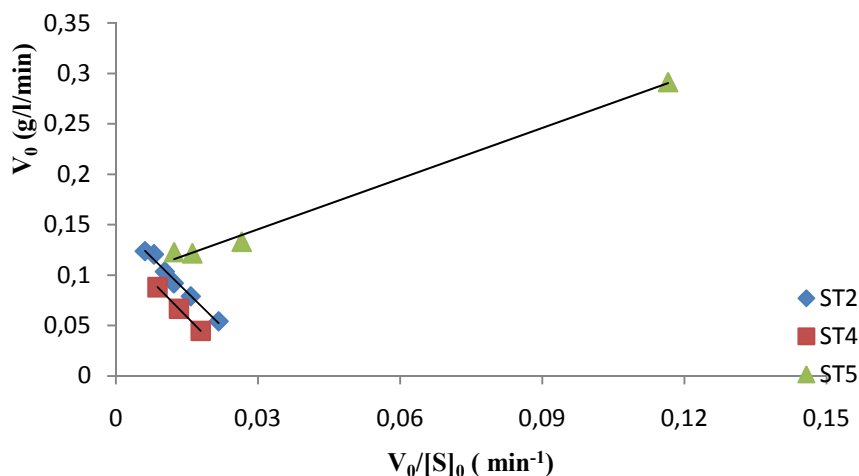


Figure II.11 : Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'amyloglucosidase (E_5)

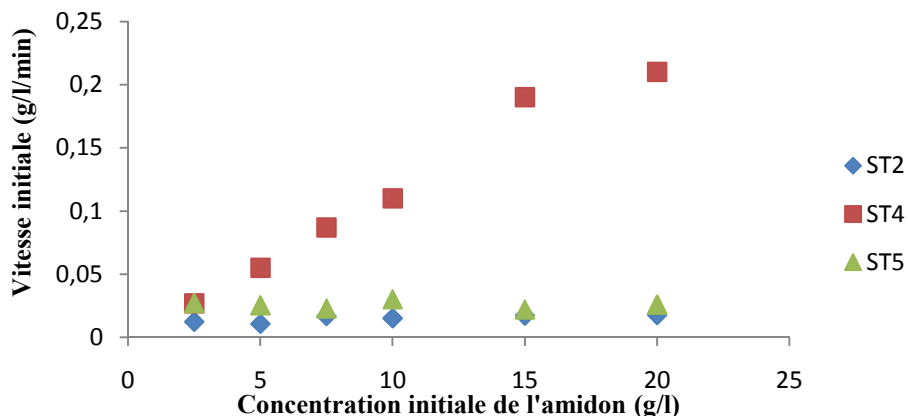


Figure II.12 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E₇)

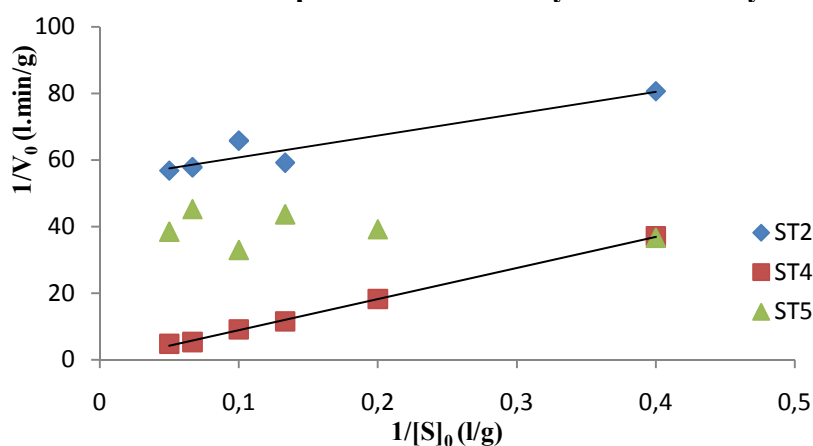


Figure II.13 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E₇)

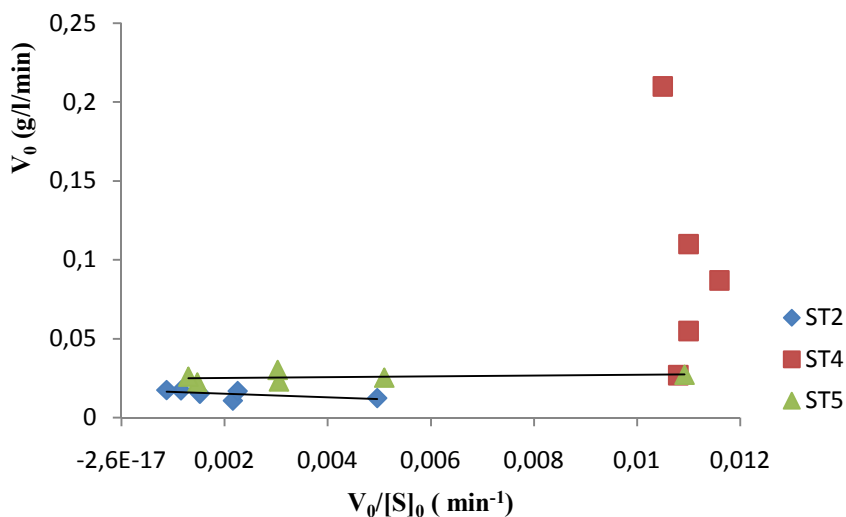


Figure II.14 : Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E₇)

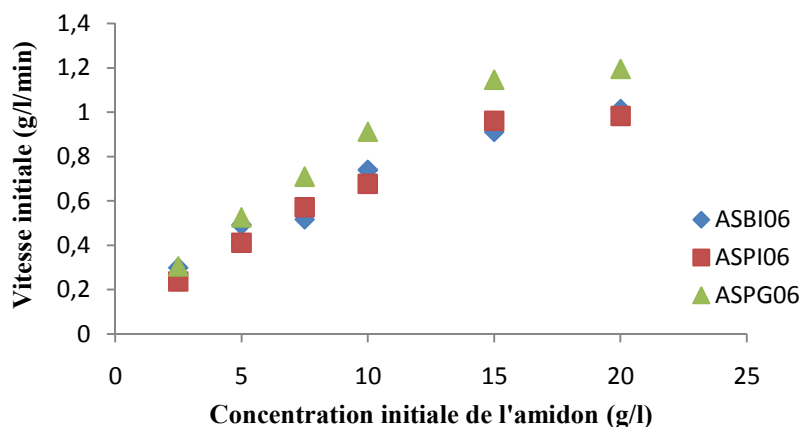


Figure II.15 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)

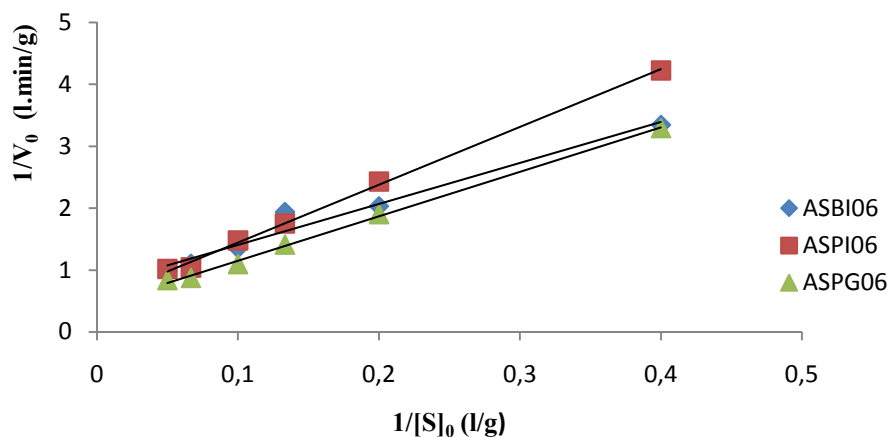


Figure II.16 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)

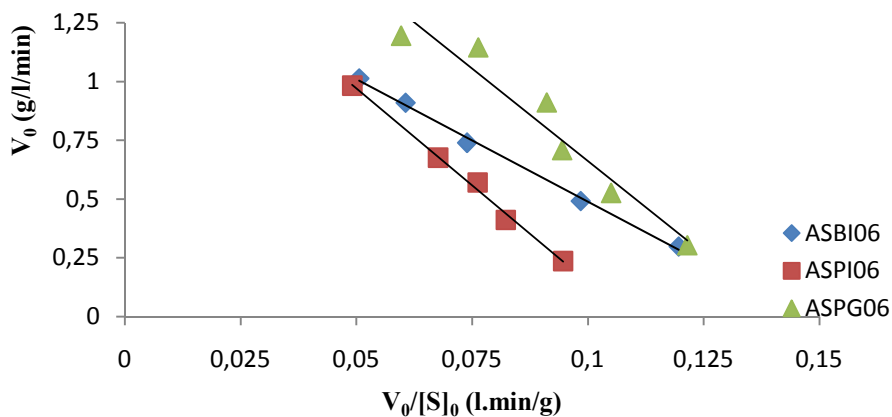


Figure II.17 : Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars sorgho en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)

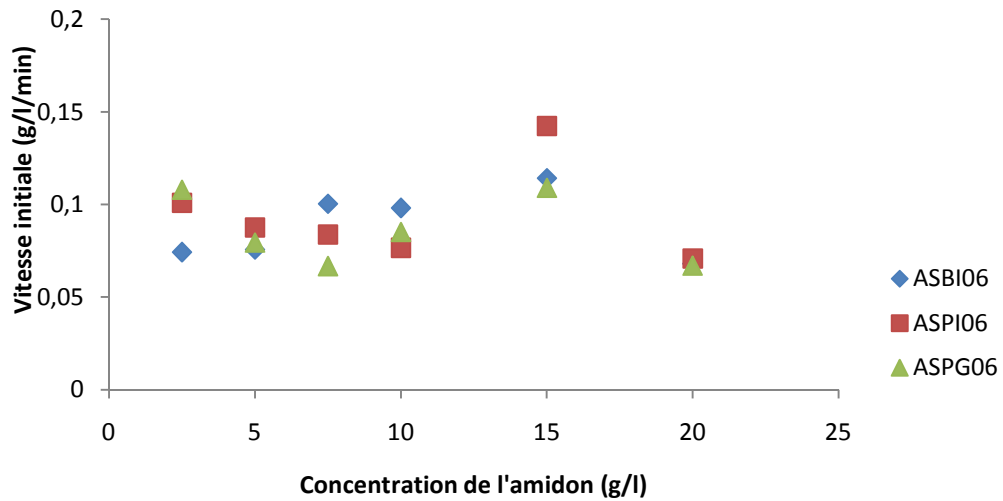


Figure II.18 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'amyloglucosidase (E_5)

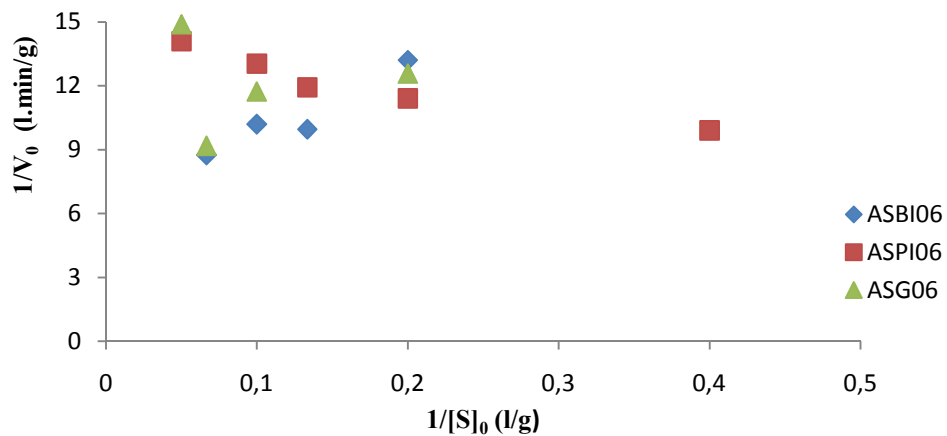


Figure II.19 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'amyloglucosidase (E_5)

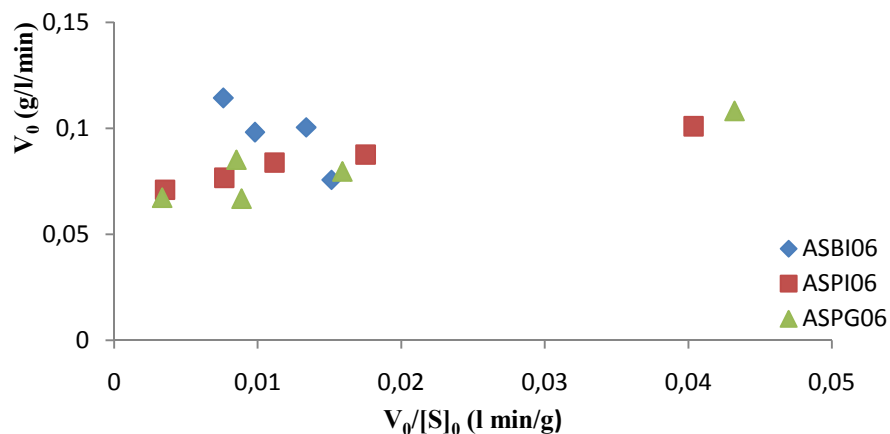


Figure II.20 : Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'amyloglucosidase (E_5)

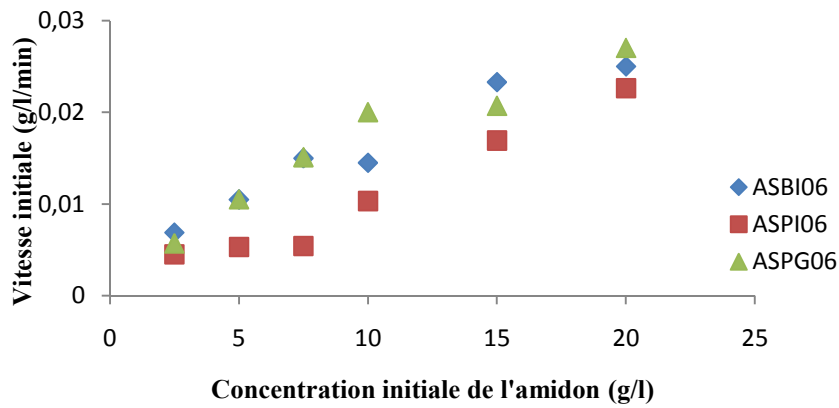


Figure II.21 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E₇)

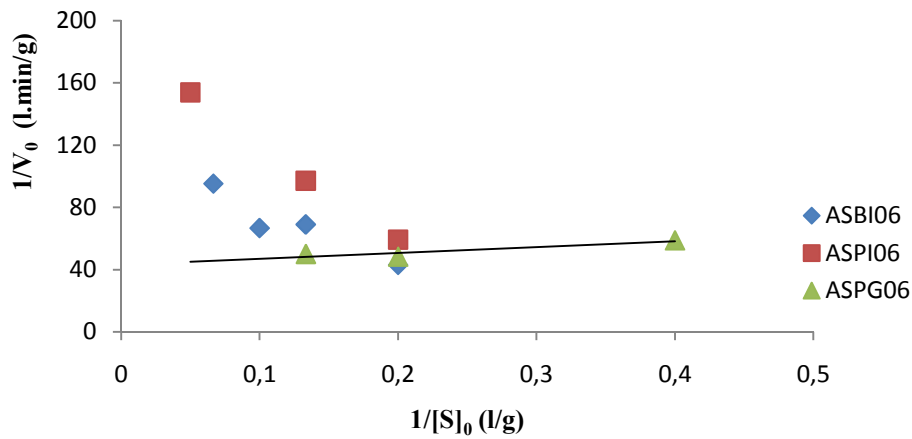


Figure II.22 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E₇)

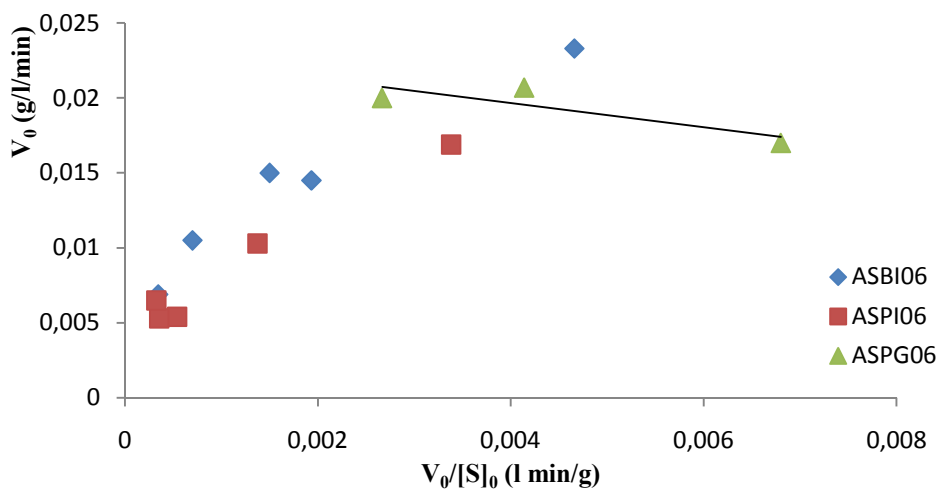


Figure II.23 : Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E₇)

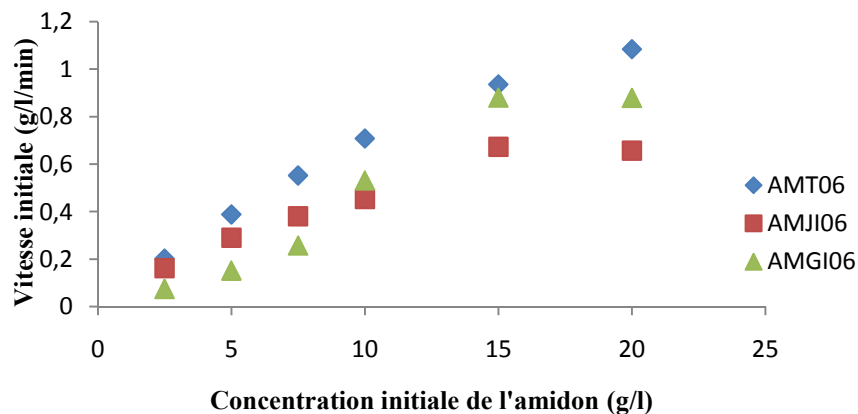


Figure II.24 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)

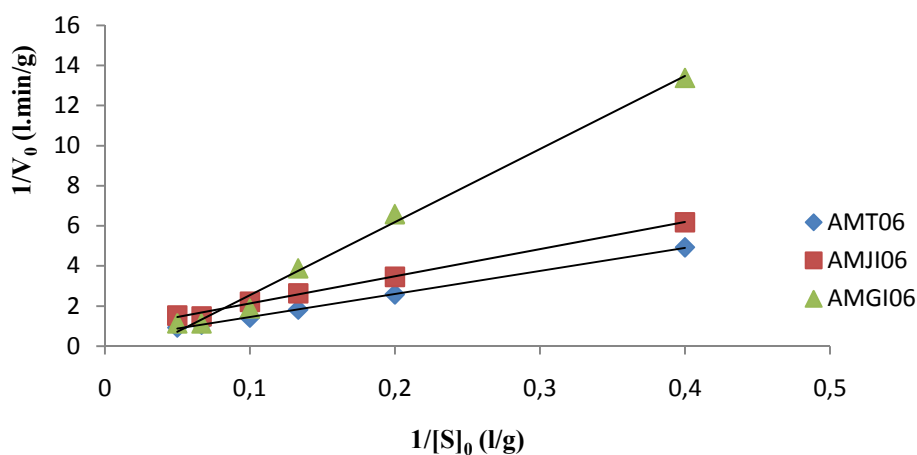


Figure II.25 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)

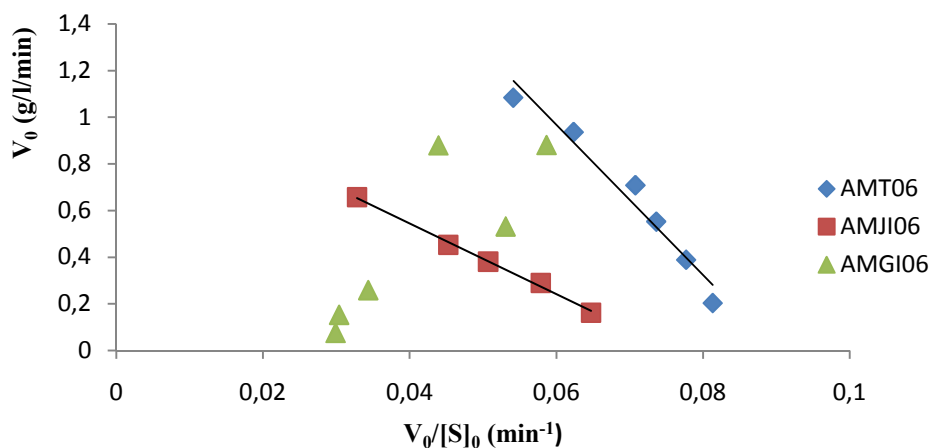


Figure II.26 : Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase bactérienne (E_2)

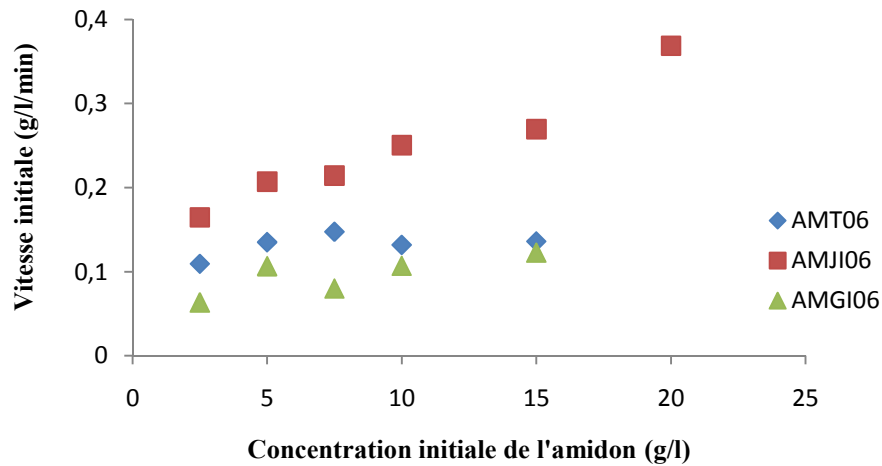


Figure II.27 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l'amyloglucosidase (E_5)

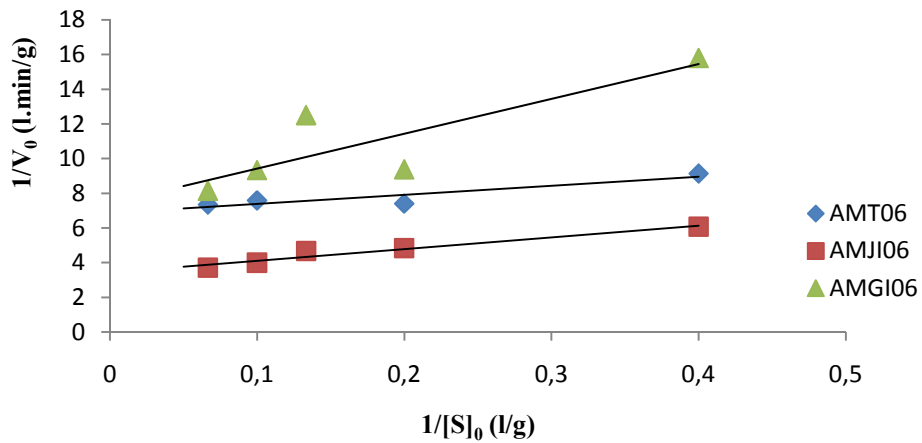


Figure II.28 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l'amyloglucosidase (E_5)

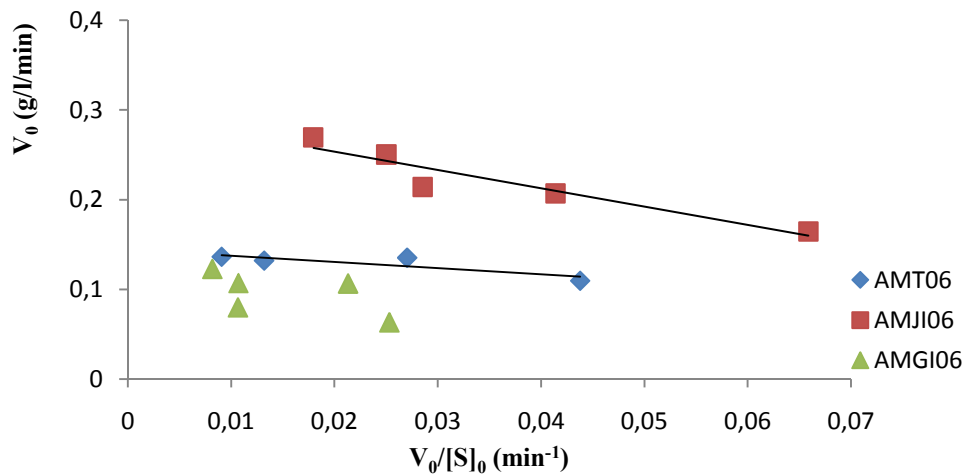


Figure II.29 : Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons de différents cultivars mil perlé en présence de l'amyloglucosidase (E_5)

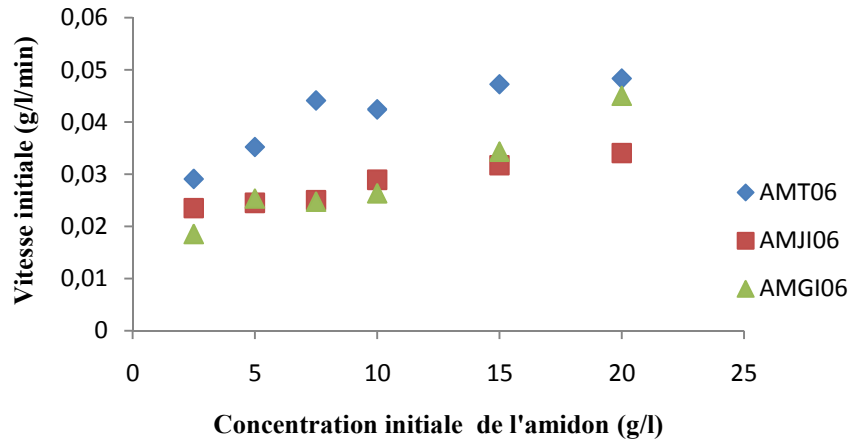


Figure II.30 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase Termamyl L300 (E₇)

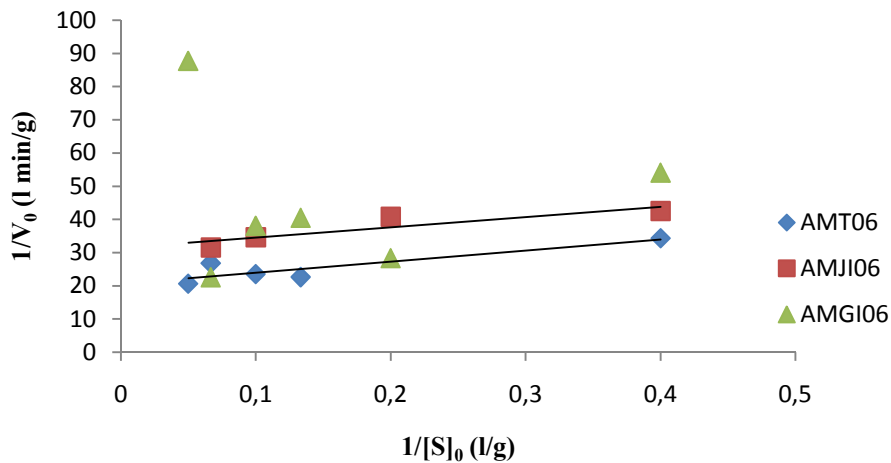


Figure II.31 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase Termamyl (E₇)

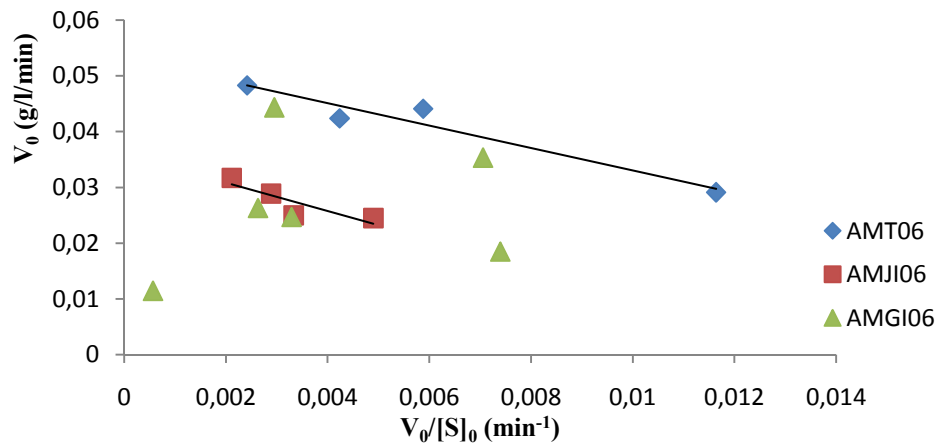


Figure II.32 : Représentation de la transformée d'Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil perlé en présence de l' α -amylase Termamyl (E₇)