

## TABLE DES MATIERES

Glossaire .....	
Liste des abréviations .....	
Liste des figures .....	
Liste des tableaux .....	
Liste des annexes .....	

Introduction .....	1
--------------------	---

### PREMIERE PARTIE: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

LE HARICOT .....	2
1. GENERALITES .....	2
1.1. Origine et diffusion du haricot .....	2
1.2. Présentation de la plante de haricot.....	2
1.2.1. Classification botanique .....	2
1.2.2. Description du haricot .....	3
1.3. Importance du haricot.....	3
1.4. Ecologie .....	3
1.5. Production des graines de haricot .....	3
1.5.1. Principales zones productrices de haricot à Madagascar .....	4
1.6. Consommation du haricot.....	4
1.7. Situation de l'exportation du haricot à Madagascar.....	4
1.8. Commercialisation des graines de haricot à Madagascar .....	5
2. VALEURS NUTRITIONNELLES DES GRAINES.....	5
2.1. Composition chimique .....	5
2.1.1. Eléments nutritifs .....	5
2.1.2. L'amidon .....	6
2.1.2.1. Définition.....	6
2.1.2.2. Intérêts de l'amidon .....	6
2.1.2.3. Propriétés de l'amidon .....	6
2.1.2.4. Composants .....	7
2.1.2.5. Index glycémique.....	7

2.1.3. Les facteurs antinutritionnels des graines (FAN).....	8
2.1.3.1. Définition.....	8
2.1.3.2. Les différents facteurs antinutritionnels .....	8
2.1.3.2.1. Les phytates (IP6).....	8
2.1.3.2.2. Les composés phénoliques.....	9
2.1.3.2.3. Les tanins condensés .....	9
2.1.3.3. Teneur en facteurs antinutritionnels des graines .....	9

## DEUXIEME PARTIE: MATERIELS ET METHODES

1. MATERIELS D'ETUDE.....	10
1.1. Choix des variétés de haricot étudiées .....	10
1.2. Préparation des graines .....	10
2. METHODES D'ANALYSES NUTRITIONNELLES DES GRAINES .....	10
2.1. Mesure de l'humidité des graines .....	10
2.2. Etude des protéines.....	11
2.2.1. Détermination de la teneur en protéines totales .....	11
2.2.2. Détermination quantitative des acides aminés des graines.....	12
2.2.3. Indice chimique et acides aminés facteurs limitants des protéines .....	13
2.3. Dosages des lipides .....	13
2.4. Détermination de la teneur en cendres .....	14
2.5. Etude des glucides .....	14
2.5.1. Détermination de la teneur en glucides totaux .....	14
2.5.2. Etude de l'amidon .....	15
2.5.2.1. Mode d'extraction de l'amidon .....	15
2.5.2.2. Dosage de l'amidon .....	15
2.5.2.3. Dosage de l'amylose et de l'amylopectine .....	16
2.5.2.4. Microscopie des granules d'amidon .....	18
2.5.2.5. Propriétés fonctionnelles de l'amidon.....	18
2.5.2.5.1. Pouvoir de gonflement de l'amidon .....	18
2.5.2.5.2. Viscosité de l'amidon .....	18
2.6. Détermination de la valeur énergétique globale.....	19

3. DOSAGE DE QUELQUES FACTEURS ANTINUTRITIONNELS (FAN).....	20
3.1. Dosage des phytates.....	20
3.2. Dosage des composés phénoliques .....	21
3.3. Dosage des tanins condensés.....	22
4. TRAITEMENT DES DONNEES.....	23

## TROISIEME PARTIE: RESULTATS ET DISCUSSION

1. CARACTERISTIQUES NUTRITIONNELLES DES GRAINES .....	24
1.1. Teneur en eau et en matière sèche .....	24
1.2. Teneur en protéines et composition en acides aminés .....	24
1.2.1. Teneur en protéines des graines .....	24
1.2.2. Teneur en acides aminés des graines .....	25
1.2.3. Indice chimique et acides aminés facteurs limitants.....	27
1.3. Teneur en lipides .....	28
1.4. Teneur en cendres .....	28
1.5. Substances glucidiques des graines .....	29
1.5.1. Teneur en glucides totaux .....	29
1.5.2. Teneur en composants glucidiques .....	30
1.5.3. Teneur en amylose et en amylopectine .....	31
1.5.4. Structure des granules d'amidon .....	31
1.5.5. Propriétés fonctionnelles de l'amidon .....	31
1.5.5.1. Pouvoir de gonflement .....	32
1.5.5.2. Viscosité .....	33
1.6. Valeur énergétique des graines .....	34
2. FACTEURS ANTINUTRITIONNELS .....	35
2.1. Teneur en facteurs antinutritionnels des graines étudiées .....	35
Discussion.....	37

## QUATRIEME PARTIE: CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives .....	40
Références bibliographiques .....	41
Annexes	
Résumé	

# GLOSSAIRE

Acides aminés essentiels : acides aminés qui ne sont synthétisables par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Ils sont indispensables.

Biodisponibilité : aptitude d'un nutriment ingéré dans un aliment à être mis à la disposition des organes ou cellules cibles où il doit exercer son action.

Digestibilité : capacité d'un aliment à être hydrolysé pendant le transit digestif afin d'obtenir des nutriments capables de traverser la paroi intestinale.

Facteurs antinutritionnels : toutes substances susceptibles de réduire la disponibilité d'un nutriment sur son site d'utilisation cellulaire au sein de l'organisme.

Index glycémique : classement des aliments en fonction de l'élévation de la glycémie qu'ils produisent quand on les consomme.

Tige volubile : Tige enroulée en spirale autour d'un support.

## LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR	: Agence Française de NORmalisation
CIRAD	: Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
DRA	: Département de la Recherche Agronomique
FAO	: Food and Agriculture Organization (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture)
FOFIFA	: Foibem-pirenena momba ny Fikarohana ampiharina amin'ny Fampandrosoana any Ambanivohitra (Centre National de Recherche Appliquée au Développement Rural)
INSTAT	: Institut National de la STATistique (Madagascar)
LABASAN	: Laboratoire de Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et à la Nutrition
MAEP	: Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche

## LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Chaîne d'amylose (Buléonet <i>al.</i> , 1990) .....	7
<u>Figure 2</u> : Amylopectine avec les branchements $\alpha(1-6)$ (Buléonet <i>al.</i> , 1998) .....	7
<u>Figure 3</u> : Structure du phytate, à pH neutre d'après le modèle d'Anderson .....	8
<u>Figure 4</u> : Structure du tanin condensé .....	9
<u>Figure 5</u> : Préparation de la farine de haricot .....	10
<u>Figure 6</u> : Structure des granules d'amidon suivant l'origine botanique .....	31
<u>Figure 7</u> : Gonflement de l'amidon des quatre variétés .....	32
<u>Figure 8</u> : Viscosité apparente de l'amidon des quatre variétés .....	34

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Production de haricot à Madagascar .....	4
Tableau 2: Valeur de l'exportation de haricot effectuée par Madagascar.....	5
Tableau 3: Valeur nutritionnelle des graines de haricot (g/100g de MS) .....	6
Tableau 4: Eléments constitutifs de l'amidon .....	7
Tableau 5: Teneurs en facteurs antinutritionnels de quelques graines de haricot .....	9
Tableau 6: Teneur en eau et en matière sèche (MS) des graines .....	24
Tableau 7: Protéines des graines exprimées en g%MS.....	24
Tableau 8: Acides aminés exprimés en g%MS.....	25
Tableau 9: Acides aminés exprimés en g pour 100g de protéines .....	26
Tableau 10: Pourcentage des acides aminés essentiels par rapport aux acides aminés totaux.....	26
Tableau 11: Scores chimiques des protéines des légumineuses étudiées selon le profil de référence des jeunes enfants âgés de moins de 2 ans (FAO/OMS/UNU, 1986) .....	27
Tableau 12: Scores chimiques des protéines des légumineuses étudiées selon le profil de référence des jeunes enfants âgés de 2 ans et plus (FAO/OMS/UNU, 1986) .....	28
Tableau 13: Lipides exprimés en g%MS.....	28
Tableau 14: Cendres brutes exprimées en g%MS.....	29
Tableau 15: Glucides exprimés en g%MS.....	29
Tableau 16: Substances glucidiques des échantillons (en g%MS) .....	30
Tableau 17: Pourcentage de l'amidon par rapport aux glucides totaux.....	30
Tableau 18: Amylose et Amylopectine exprimées en g/100g d'amidon .....	31
Tableau 19: Gonflement de l'amidon .....	32
Tableau 20: Viscosité apparente de l'amidon .....	33
Tableau 21: Macronutriments et apports énergétiques des échantillons.....	34
Tableau 22: Valeur nutritionnelle des quelques légumineuses (g%MS) .....	35
Tableau 23: Teneurs en facteurs antinutritionnels des graines .....	35
Tableau 24: Teneurs en facteurs antinutritionnels de quelques légumineuses .....	36

## **LISTE DES ANNEXES**

Annexe 1: Photos et caractéristiques morphologiques des graines étudiées.

Annexe 2: les valeurs de a, b et r pour calculer la composition en acides aminés

Annexe 3: Profils de référence en acides aminés essentiels servant à estimer l'indice chimique d'une protéine (FAO/OMS/UNU, 1986).

Annexe 4: Préparation des solutions de CAREZ I et CAREZ II pour le dosage de l'amidon.

Annexe 5: Préparation de la gamme de concentration en amylose

Annexe 6: VISCO STAR R

Annexe 7: Préparation des réactifs pour le dosage des phytates

Annexe 8: Préparation de la gamme étalon pour le dosage des phytates

Annexe 9: Préparation de la solution mère d'acide gallique (AG)

Annexe 10: Préparation de la gamme étalon pour le dosage des composés phénoliques



## INTRODUCTION

Madagascar, par sa situation géographique et ses conditions climatiques, est favorable à une agriculture variée dont les légumineuses à graines (Instat, 2002). Ces dernières sont des plantes à gousse (Aykroyd *et al.*, 1964). Elles sont consommées depuis plusieurs millénaires par des peuples du monde entier (Wikipédia, 2012). Les légumineuses renferment non seulement des composés nutritifs indispensables pour l'homme tels que les protéines, les glucides, les minéraux et les fibres, mais aussi des composés antinutritionnels pouvant affecter la digestion des nutriments (Duranti, 2006).

Parmi les légumineuses, le haricot occupe aujourd'hui une place de plus en plus grande sur le marché mondial. Le rôle qu'il prend dans l'habitude alimentaire de la population malgache est important même si la place qu'il occupe est limitée par la production agricole, (Instat, 2002).

Plus de quatre cents (400) variétés de haricot sont répertoriées actuellement dans la collection du programme légumineuses du Fofifa. Certaines d'entre elles ont fait l'objet d'étude au Labasan sur les caractéristiques nutritionnelles et antinutritionnelles des graines (Andriamazaoro, 1994; Andriamamonjy, 2000) et sur la place du haricot dans l'habitude alimentaire du malgache (Rahelimandimby, 2011 ; Randrianasolo, 2013).

Dans le cadre de l'année internationale des légumineuses, 2016, le présent travail qui s'intitule « Valeur nutritionnelle et propriétés fonctionnelles de l'amidon de quatre(4) variétés de haricot commun, espèce « *Phaseolus vulgaris* » rejoint ce thème et a pour objectif général de valoriser les ressources alimentaires locales disponibles.

Ce document s'articule comme suit : après l'introduction générale, la première partie est consacrée à la revue bibliographique, la seconde décrit les matériels et méthodes utilisées et la troisième présente et commente les résultats obtenus. Il se termine par une conclusion et l'énoncé des perspectives envisagées.

PARTIE1 :

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

## LE HARICOT

Le haricot est une plante de la famille des légumineuses à tige herbacée et volubile, les feuilles sont trifoliolées et ovales, les graines contenues dans les gousses ont des couleurs et des formes variables selon les variétés. Il est cultivé pour ses graines et ses gousses comestibles (Encyclopédie Encarta, 2009). Le haricot est parfois utilisé pour guérir certaines morsures, brûlures ou pour prévenir certaines maladies (Hubert, 1978).

Il tient une place importante dans l'alimentation en Amérique latine et procure une source de revenu aux petits fermiers. C'est aussi un aliment de base du peuple africain. (Pachico, 1989). A Madagascar, le haricot est cultivé depuis longtemps dans les hauts plateaux puis sa culture se propage à l'Ouest et au Sud-ouest. (<http://www.ilerouge.org>).

### 1. GENERALITES

#### 1.1. Origine et diffusion

La domestication du haricot serait intervenue dans deux (2) centres distincts, en Amérique centrale " variété *vulgaris*" et en Amérique latine dans la région Andine "variété *aborigineus*" (Wikipédia, 2012). Il constituait avec la courge et le maïs, les " Trois sœurs de l'agriculture" des peuples amérindiens lors de la découverte de l'Amérique par les Européens. Christophe Colomb découvrit le haricot à Nuevitas au Cuba (Amérique latine) lors de son premier voyage en Octobre 1492, c'était lui qui l'a introduit en Europe.

A son tour, le Vatican assurait la diffusion du haricot en Europe. Il est apparu en France vers 1540 (Goust J., 2003). Au XVI<sup>e</sup> siècle, des navigateurs portugais l'ont introduit en Afrique et en Asie. A Madagascar, son apparition est assez récente aux environs du XVII<sup>e</sup> siècle. Ce qui explique son nom vernaculaire commun à Madagascar (Hubert, 1978)

#### 1.2. Présentation de la plante

##### 1.2.1. Classification botanique (Baudoin, 1952)

Règne .....Végétal  
Classe .....Dicotylédones  
Sous classe .....Rosidae  
Ordre.....Fabales  
Famille .....Fabaceae  
Genre .....*Phaseolus*  
Espèce .....*vulgaris* L.  
Nom vernaculaire .....tsaramaso / haricot / bean

### 1.2.2. Description

C'est une plante généralement annuelle, parfois bisannuelle ou vivace pour certaines d'entre elles; Il s'agit des plantes lianescentes à croissance indéterminée. Les tiges sont peu ramifiées, elles s'enroulent autour de leur support et peuvent atteindre quatre mètres de haut. Il existe aussi des variétés à croissance déterminée et ont été sélectionnées par l'homme pour des raisons de facilité de culture. Les fleurs sont en forme de papillon, elles sont disposées en grappes lâches. La couleur des pétales varie du blanc au pourpre. Les fruits sont des gousses déhiscentes, de couleur variable, généralement verte, parfois jaune ou pourpre foncé. Elles contiennent 5 à 12 graines de taille et de couleur très variables selon les variétés de haricot. (<https://fr.wikipedia.org/wiki/Phaseolus>).

### 1.3. Importance

Le haricot commun est une culture vivrière de base dans plusieurs pays. Moins cher que la viande, alors qu'il est riche en protéines, il est considéré comme la "viande des pauvres". Les protéines du haricot sont intéressantes par leur teneur en certains acides aminés essentiels notamment la lysine. Dans un régime, le haricot riche en lysine et le maïs qui en est pauvre peuvent s'associer, ainsi la valeur de l'ensemble est améliorée. (<http://www.fao.org/docrep>)

### 1.4. Ecologie

La plante de haricot est tolérante en ce qui concerne la température. Elle peut être cultivée en toute saison de l'année à condition d'avoir suffisamment d'eau dans le sol. Un excès d'humidité entraîne l'apparition de maladies de la plante alors qu'un manque d'eau accompagné d'un excès de chaleur provoquent le flétrissement des fleurs. Le haricot est une plante de lumière, il s'allonge beaucoup et ne donne pratiquement aucune récolte à l'ombre. Il préfère les terres légères, saines et les sols légèrement acides environ à pH 6,5. (Hubert, 1978).

### 1.5. Production des graines

Pour les haricots secs, la production mondiale est estimée à 19.6 millions de tonnes en 2006. La surface totale consacrée à cette production représentait un peu plus de 26 millions d'hectares pour un rendement moyen de 0.74 tonnes par hectare. Les trois premiers pays producteurs, le Brésil, l'Inde et la Chine représentent 44 % du total et avec le Myanmar, le Mexique et les Etats-Unis, près des deux-tiers. Les échanges de haricots secs portent sur environ 2,5 millions de tonnes, soit environ 13 % de la production mondiale. (<http://www.ciat.cgiar.org/africa>).

Pour Madagascar, les données sur la production de haricot sont présentées dans le tableau 1. Depuis 2008, la production de cette denrée est assez stable (FAO, 2010).

Tableau 1 : Production de haricot à Madagascar

Production de haricots en Tonnes (T)	2006	2007	2008	2009	2010
	79104	79854	80613	82118	82153

Source : FAO, 2010

#### 1.5.1. Principales zones productrices de haricot à Madagascar

Le haricot est indifférent à l'altitude, il pousse aussi bien sur les Hauts-Plateaux qu'au niveau de la mer (MAEP- UPDR Valy Agridéveloppement, 2004). Presque toutes les régions de Madagascar en pratiquent la culture. On le rencontre dans les régions Diana et Itasy. Des graines de qualité et de quantité sont produites dans la partie Ouest du pays, allant de Miandrivazo à Marovoay et la Région Vakinankaratra, notamment à Betafo. Cette culture s'est par la suite étendue au Sud-ouest, entre Morondava et Toliara, jusque dans l'Anosy (Instat, 2004).

### 1.6. Consommation

Le haricot est l'un des légumes les plus consommés au monde. Les graines de haricot y compris les haricots verts arrivent au dixième rang des légumes après la pomme de terre, le manioc, la tomate, le chou, l'oignon, l'igname, le concombre, la banane plantain et l'aubergine. C'est la première des légumineuses consommées en légumes secs devant le pois, le pois chiche, le pois à vache, le niébé et la fève (<http://faostat.fao.org/site>). La consommation moyenne de haricots secs au niveau mondial était estimée à 2.2 kg par habitant et par an, avec de fortes variations selon les continents : Amérique latine, 9.4 kg, Amérique du Nord, 5.5 kg, Afrique, 2.2 kg, Asie, 1.3 kg, Europe, 0.7 kg en 2000 (<http://museum.agropolis.fr>).

### 1.7. Situation de l'exportation de haricot de Madagascar

Le haricot, en dehors de son rôle important dans l'alimentation locale, est encore intéressant à cultiver en vue de l'exportation. Madagascar en exporte tous les ans quelques milliers de tonnes vers la France, la Belgique, Maurice, La Réunion et Comores (MAEP- UPDR Valy Agridéveloppement, 2004).

Les grains secs subissent divers traitements avant d'être exportés :

- Séchage- Nettoyage -Triage et calibrage - Conditionnement (Mise en sac)

Tableau 2 : Valeur de l'exportation de haricot effectuée par Madagascar

T/M		2007	2008	2009	2010
Haricot sec	T	819	1530	1572	960
	M	859771	2192327	1292772	715095
Haricot petit rouge	T	77	158	73	171
	M	110354	269319	72074	151967
Autres haricots	T	1811	3577	2839	5622
	M	2460710	4479866	3708588	8569234

\*

Haricot frais	T	2472	2280	2993	3770
	M	16 555 505	14676897	20008364	26 190 459

T : Tonnes M : Millier d'ariarySource : FAO, 2010

## 1.8. Commercialisation des graines de haricot à Madagascar

En général, le haricot est commercialisé sous forme de graines.

Il existe deux types de circuit de commercialisation :

- <sup>1</sup>- Producteurs -Collecteurs -Grossistes - Revendeurs/Détaillants - Consommateurs
- <sup>2</sup>- Producteurs -Collecteurs -Conditionneurs/Stockeurs -Grandes surfaces ou Exportateurs

Le marché de gros le plus important se trouve à Anosibe, Antananarivo.

## 2. VALEUR NUTRITIONNELLE DES GRAINES

### 2.1. Composition chimique

#### 2.1.1. Eléments nutritifs

Le tableau 3 montre la composition en éléments nutritifs des graines de plusieurs variétés de haricot déjà étudiées au Labasan. Les graines sont caractérisées non seulement par une teneur en protéines élevée et surtout de bonne valeur biologique mais aussi une forte teneur en glucides complexes. C'est un point fort des graines des légumineuses mais elles contiennent peu de lipides dans leur composition(Ramaherisoa, 2004 ; Rahelimandiby, 2011; Encarta, 2009). Par ailleurs, les analyses biochimiques ont montré que les teneurs en nutriments varient d'une variété à une autre (Andriamasinandraina, 2012).

Tableau 3: Valeur nutritionnelle des graines de haricot (g / 100 g de MS)

	Protéines	Lipides	Glucides	Cendres	Sources
Haricot	21	1-2	60-65	4-5	Andriamazaoro, 1994

### 2.1.2. L'amidon

L'amidon est la principale réserve glucidique des végétaux ; il est surtout abondant dans les racines, les tubercules et les graines. Son principal intérêt nutritionnel est expliqué par le fait que c'est un glucide dont la dégradation intestinale est lente, libérant du glucose, principale source d'énergie de l'organisme.

#### 2.1.2.1. Définition

L'amidon est composé de glucanes différents : l'amylose, polymère linéaire (non branché) constitué de résidus  $\alpha$ D-glucopyranose liés par des liaisons  $\alpha$ -1,4 (liaison avec l'oxygène glucosidique en position axiale) et l'amylopectine, polymère fortement branché (constitué de résidus  $\alpha$ D-glucopyranose liés par des liaisons  $\alpha$ . Les liaisons glucosidiques sont  $\alpha$ -1,4 sauf aux points de branchement où elles sont  $\alpha$ -1,6(Monnet, 2008).

#### 2.1.2.2. Intérêts de l'amidon

L'amidon est un glucide dont la dégradation intestinale est lente, libérant à terme du glucose, principale source d'énergie des organismes (Boursier, 2005). Il s'agit d'un composé nutritionnel abondant, peu coûteux, qui trouve dans la préparation des aliments de multiples fonctions : épaississante, gélifiante, liante sous sa forme d'empois. Il est également utilisé dans de nombreux secteurs industriels non-alimentaires : production papetière, industrie pharmaceutique, textile, cosmétique (Lafargue, 2007). Il est devenu également ces dernières années une matière première intéressante pour la production de bioéthanol, un carburant utilisé dans les moteurs à essence.

#### 2.1.2.3. Propriétés de l'amidon

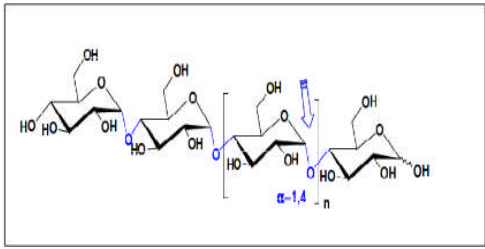
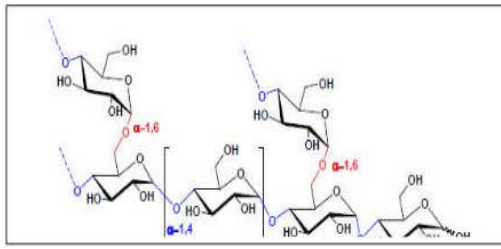
L'amidon natif ne trouverait que peu d'applications dans l'industrie si on n'utilisait pas des traitements hydrothermiques ou thermo-mécaniques permettant de détruire sa structure granulaire. L'amidon est insoluble dans l'eau à température ambiante. A des températures plus élevées, le grain d'amidon passe par différents états caractéristiques (Lafargue, 2007). A température ambiante, l'humidité relative de l'air influence la cristallinité, indiquant par-là la perméabilité du grain vis-à-vis de l'eau "phénomène de sorption". A une température supérieure à 60°C, le "phénomène d'empesage" intervient. Enfin, en revenant à température ambiante, il y a gélification par rétrogradation de l'amidon (Monnet, 2008).



### 2.1.2.4. Composants

Le tableau 4 résume les composants chimiques de l'amidon

Tableau 4 : Eléments constitutifs de l'amidon

Composants	Amylose	Amylopectine
Définitions	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Polyholoside essentiellement linéaire de glucose</li> <li>-possède moins de 1% de branchement <math>\alpha(1-6)</math> (Buléon <i>et al.</i>, 1990).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Composant majoritaire de l'amidon (70 à 80 %).</li> <li>- Homopolymère constitué de glucose liés en <math>\alpha(1-4)</math> en majorité</li> <li>- 5 à 6 % de liaisons <math>\alpha(1-6)</math> qui lui confère la structure primaire ramifiée</li> </ul>
Figures	 <p>Figure 1 : Chaîne d'amylose (Buléon <i>et al.</i>, 1990).</p>	 <p>Figure 2 : Amylopectine avec les branchements <math>\alpha(1-6)</math> (Buléon <i>et al.</i>, 1998)</p>

### 2.1.2.5. Index glycémique (IG)

L'indice glycémique a été inventé par David J. Jenkins à l'Université de Toronto au Canada en 1981. C'est un critère de classement des aliments contenant des glucides. Il est basé sur leurs effets sur la glycémie c'est-à-dire le taux de glucose dans le sang. La vitesse de l'hydrolyse de l'amidon est liée à l'état physique et au mode de cuisson de l'amidon. Il permet de comparer le pouvoir glycémiant de chaque aliment, mesuré directement lors de la digestion. L'index glycémique d'un aliment est donné par rapport à un aliment de référence, auquel on attribue l'indice 100 (généralement glucose pur d'amidon). Les amidons partiellement solubilisés et gélatinisés (pain, purée) présentant un faible degré d'organisation structurale, induisent des réponses glycémiques importantes. Par contre ceux qui sont complexés ou à haute teneur en amylose, du fait d'une susceptibilité amylasique plus faible, ont des réponses moins importantes (Jenkins D, 1981).

Cependant, les graines de légumineuses sont caractérisées par la présence de facteurs antinutritionnels (Andriantsoa, 2006), comme les phytates, les polyphénols ...

### 2.1.3. Les facteurs antinutritionnels (FAN)

#### 2.1.3.1. Définition

Les facteurs antinutritionnels sont définis comme toutes substances susceptibles de réduire la disponibilité d'un nutriment sur son site d'utilisation cellulaire. On peut les classer en fonction du type de nutriments avec lesquels ils interfèrent (Derache, 1994). Ces substances bloquent l'utilisation digestive ou métabolique des nutriments après ingestion. A la suite de consommation répétée de certains aliments, ils peuvent générer des effets secondaires néfastes pour l'organisme (Besançon, 1978). On peut les classer en deux catégories : ceux existant naturellement dans les plantes et ceux dus à une contamination d'origine fongique ou liée au sol ou à d'autres facteurs environnementaux. Ces facteurs modifient généralement la valeur nutritionnelle des graines (Lestienne, 2004).

#### 2.1.3.2. Les différents facteurs antinutritionnels

Les facteurs antinutritionnels dans les graines sont nombreux et de différentes natures. Seront relatés dans le présent document, ceux qui ont fait l'objet d'évaluation dans les échantillons étudiés.

##### 2.1.3.2.1. Les phytates (IP6)

L'acide phytique ou myo-inositol 1, 2, 3, 4, 5, 6 hexakis – dihydrogène phosphate est présent dans les grains de céréales et les graines de légumineuses.

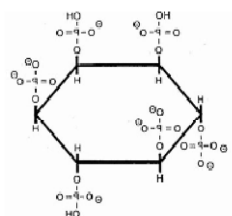


Figure3: Structure de phytate, myo-inositol

1, 2 3, 4, 5,6 hexakisphosphate, à pH neutre d'après le modèle d'Anderson

Il chélate les éléments minéraux, spécialement le calcium, le magnésium, le fer et le molybdène. Ainsi, il est responsable de la réduction de la biodisponibilité de ces minéraux, formant un complexe insoluble pendant la digestion et interférant l'absorption de ces minéraux donc leur utilisation par l'organisme.

Il peut aussi former un complexe avec les protéines, les protéases et les amylases du tractus intestinal, inhibant ainsi la protéolyse (Ramakrishna *et al.*, 2006). Il peut également interagir avec l'amidon, soit directement par formation de liaison hydrogène avec le groupement phosphate, soit indirectement par l'intermédiaire des protéines, réduisant aussi la solubilité et la digestibilité de l'amidon (Andriantsoa, 2006).

#### 2.1.3.2.2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants (Salunkhe, 1990). Ils constituent une famille de molécules largement présente dans le règne végétal et sont caractérisés par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement de haut poids moléculaire. Ils sont responsables de l'amertume et de l'astringence de plusieurs aliments (Bravo, 1998). Les polyphénols sont communément subdivisés en phénols simples, acides phénols (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique), en coumarines, en quinones, en flavonoïdes et en formes polymérisées : lignines, tanins (Kansole, 2009).

#### 2.1.3.2.3. Les tanins condensés

Les tanins condensés, appelés aussi proanthocyanidines, sont largement répandus dans l'alimentation humaine (fruits, légumes, thé, dattes, ...). Ce sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter-monomérique (Porter *et al.*, 1986). Ils ne s'hydrolysent pas sous l'action des acides minéraux dilués mais forment à l'ébullition des composés insolubles appelés phlobaphènes ou rouge de tanins (Guignard, 1996).

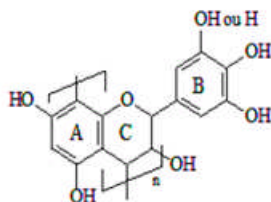


Figure 4 : Structure du tanin condensé

#### 2.1.3.3. Teneurs en facteurs antinutritionnels de quelques graines

Le tableau 5 montre des résultats d'étude réalisée au Labasan.

Tableau 5 : Teneur en facteurs antinutritionnels de quelques graines de haricot

Tsaramaso	Teneur en acide phytique (mg/g de MS)	Teneur en phénols (g d'acide gallique pour 100gde MS)	Teneur en tanins condensés (g pour 100gde MS)
Tsaramaso fotsy	15.9± 0.83	0.11± 0.16	0.12±0.00
Tsaramaso vanda mena	11.35± 1.34	0.15± 0.18	1.92±0.03
Tsaramaso mena	14.61± 0.41	0.22±0.09	1.99±0.09

(Andriamasinandraina, 2012)

PARTIE 2 :  
MATÉRIELS ET MÉTHODES

## 1. MATERIELS D'ETUDE

### 1.1. Choix des variétés de haricot

Les matériels d'étude ont été fournis gracieusement par le Fofifa. Il s'agit de quatre variétés répertoriées dans la collection du programme légumineuses du DRA, très résistantes aux maladies, aux ravageurs et à la sécheresse, portant les codes suivants : UBR 91(45)-1, BEGIDRO, ARA.8.5.1B(B), RAO 55(B). Les photos ainsi que quelques descriptions de ces graines sont présentées dans l'Annexe 1.

### 1.2. Préparation des graines

L'analyse biochimique a été faite à partir de graines broyées en farine.

La figure 5 montre le mode d'obtention de la farine de haricot.

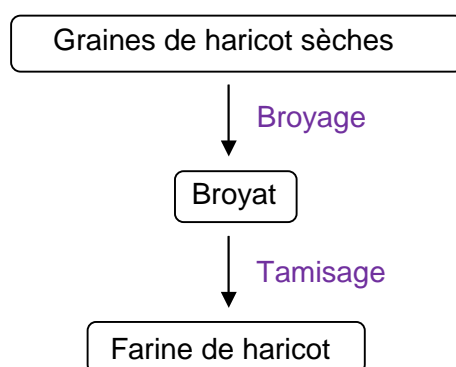


Figure 5 : Préparation de la farine du haricot

La farine obtenue est mise dans des bocaux et conservée dans un endroit sec.

## 2. METHODES D'ANALYSES NUTRITIONNELLES DES GRAINES

### 2.1. Mesure de l'humidité des graines

La variation de l'humidité influe sur la teneur en d'autres nutriments dans un aliment. Alors, la détermination de l'humidité et de la matière sèche est fondamentale pour toute analyse chimique d'un aliment afin de ramener les résultats à une base fixe qui est la matière sèche.

- Principe

La méthode consiste en une dessiccation à l'étuve de l'échantillon à une température de

103±2°C (AFNOR, 1993).

- Mode opératoire

Une quantité de 5g de farine de chaque variété est introduite dans une capsule sèche. La farine est par la suite mise à l'étuve à  $103 \pm 2$  °C pendant 24h. Des pesées sont effectuées régulièrement toutes les heures jusqu'à l'obtention d'une masse constante.

La teneur en eau, H%, en g pour 100 g d'échantillon, est calculée selon la formule :

$$H = \frac{m1 - m2}{m1 - m0} \times 100$$

où m0 : masse en g de la capsule vide

m1 : masse en g de la prise d'essai et de la capsule avant séchage

m2 : masse en g de la prise d'essai et masse de la capsule après séchage

La teneur en matière sèche, MS%, en g pour 100g d'échantillon, est ensuite déduite selon la formule suivante :

$$MS \% = 100 - H \%$$

## 2.2. Etude des protéines

### 2.2.1. Détermination de la teneur en protéines totales

Elle est réalisée selon la méthode de Kjeldahl selon AFNOR, 1993

- Principe

Il s'agit d'une méthode indirecte de dosage des protéines par détermination de la quantité d'azote des protéines à l'état minéral.

- Mode opératoire

La méthode comporte trois(3) étapes :

- **Minéralisation** : dans un matras du minéralisateur, sont introduits 0,25g d'échantillon, 10ml d'acide sulfurique concentré 95 % et 0,7g de catalyseur (mélange de  $\text{CuSO}_4$  et  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ). Le matras est chauffé jusqu'à ce que son contenu devienne limpide, soit environ 6 h.

- **Distillation** : Après refroidissement, le minéralisât, ainsi que l'eau de rinçage du matras, sont transvasés dans le tube du distillateur pour la distillation en présence de soude 30 %. Le distillat est recueilli dans un bécher contenant 10ml d'acide borique 4 % et 2 gouttes de réactif deTashiro.

**-Dosage de l'azote :** Le distillat coloré en vert contenant l'ammoniac est dosé avec une solution d'acide sulfurique 0,1N jusqu'à virage de la coloration au rose. Le volume d'acide sulfurique nécessaire est noté.

La teneur en azote total, N %, est calculée comme suit :

$$N\% = \frac{(V - V_0) \times N \times 0,014 \times 100}{m}$$

où N% : Teneur en azote total en g pour 100g de matière brute

V : Volume en ml de la solution d'acide sulfurique nécessaire pour obtenir le virage

V<sub>0</sub> : Volume en ml de la solution d'acide sulfurique pour obtenir le virage de l'essai à blanc

N : Normalité de la solution d'acide sulfurique utilisée lors du titrage (0,1N)

m : masse en g de l'échantillon

La teneur en protéines totales correspondante, P%, est obtenue en multipliant la teneur en azote total par le facteur de conversion 6,25, sachant que les protéines sont constituées par 16% d'azote (Godon et Loisel, 1991; Adrian, 1995).

$$P\% = N\% \times 6,25$$

### 2.2.2. Détermination quantitative des acides aminés des graines

La méthode adoptée est celle décrite par Mossé (1990).

Les variations des compositions en acides aminés des protéines des graines sont en corrélation avec leur taux d'azote. Elles obéissent aux mêmes types de relations linéaires et sont définies par 3 coefficients (a, b et r) déterminables expérimentalement. La connaissance de ces coefficients permet de calculer la composition en acides aminés à partir de leur taux d'azote.

Le taux (A<sub>i</sub>) d'acide aminé en g pour 100 g de matière sèche est de :  $A_i = (a_i N + b_i) / 1000$  où a<sub>i</sub> est la pente de la droite de régression et b<sub>i</sub> celle de l'ordonnée à l'origine.

La concentration (C<sub>i</sub>) en acide aminé en g pour 100g de protéines brutes est obtenue par la formule suivante :

$$C_i = 0.016 (a_i + b_i / N)$$

où a<sub>i</sub> est la pente de la droite de régression,

b<sub>i</sub> est l'ordonnée à l'origine,

N est le taux d'azote en % matière brute.

### 2.2.3. Indice chimique et acides aminés facteurs limitants des protéines

L'indice chimique est le rapport entre la quantité de chaque acide aminé essentiel contenu dans la protéine considérée et la quantité de chaque acide aminé correspondant de la protéine de référence. Deux profils de référence selon FAO/OMS/UNU (1986) ont été utilisés : l'un pour les nourrissons (jeunes enfants âgés de moins de 2 ans) et l'autre pour les jeunes enfants plus de 2 ans et adultes.

Le calcul de cet indice est donné par la relation suivante :

$$\text{Indice chimique} = \frac{\text{Taux de l'acide aminé dans la protéine étudiée}}{\text{Taux du même acide aminé dans la protéine de référence}} \times 100$$

L'acide aminé correspondant à l'indice chimique le plus faible constitue le facteur limitant

## 2.3. Dosage des lipides

### ○ Principe

La méthode de dosage gravimétrique utilisant le n- hexane comme solvant pour extraire la matière grasse a été mise en œuvre. Après évaporation du solvant, le résidu est séché puis pesé (Wolff, 1991).

### ○ Mode opératoire

Dans une cartouche à extraction et recouverte d'un tampon de coton dégraissé sont introduits 5g de poudre d'échantillon. Ensuite, la cartouche est placée dans le soxhlet muni d'un système réfrigérant ascendant et d'un ballon à col rodé préalablement séché et taré. Le n – hexane est versé dans le soxhlet jusqu'à un volume recouvrant la cartouche, soit environ les 2/3 du ballon (NFV 03- 908,1998). Le tout est placé sur un chauffe- ballon à une température de 30°C pendant 12h. L'ébullition est stabilisée par des billes de verre. Le solvant d'extraction s'évapore à travers le soxhlet, se condense au niveau du réfrigérant, siphonne et retourne dans le ballon, apportant avec lui les résidus lipidiques. Ce cycle se répète plusieurs fois. Ensuite, le solvant est éliminé par évaporation à l'évaporateur rotatif Rotavapor à 50°C ; à la fin, le ballon sec contenant la matière grasse est pesé.

La teneur en lipides, MG%, en g pour 100g de matière brute, est obtenue par la relation

$$\text{MG}\% = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \times 100$$

où m0 : masse de l'échantillon (g)

m1: masse du ballon avec les billes de verre avant extraction (g)

m2: masse du ballon avec les billes de verre et la matière grasse après extraction. (g)



## 2.4. Détermination de la teneur en cendres

### ○ Principe

L'incinération des échantillons se fait à une température de 550°C. Les substances organiques sont transformées en H<sub>2</sub>O et CO<sub>2</sub>, et le reste constitue les cendres brutes formées d'éléments minéraux (Multon, 1991).

### ○ Mode opératoire

Une quantité de 5g de farine est mise dans une capsule d'incinération préalablement tarée, puis dans le four à moufle dont la température est réglée à 550°C. Après 5 h d'incinération, les capsules contenant les cendres brutes sont refroidies et pesées.

La teneur en cendres brutes, C%, exprimée en g pour 100 g de matière brute, est calculée comme suit :

$$C\% = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

où m<sub>0</sub> : masse de la capsule vide

m<sub>1</sub> : masse de la capsule avec la prise d'essai avant incinération

m<sub>2</sub> : masse de la capsule avec la prise d'essai après incinération

## 2.5. Etude des glucides

### 2.5.1. Détermination de la teneur en glucides totaux

### ○ Principe

La teneur en glucides de l'échantillon est obtenue par la différence entre la teneur en matière sèche et la somme des teneurs en protéines, en lipides, et en cendres brutes de l'échantillon. (Adrian *et al.*, 1995).

Exprimée en g pour 100g de matière sèche, elle est obtenue comme suit :

$$GT \% = 100 - (P \% + MG \% + CB \%)$$

où P% : teneur en protéines (MS%)

MG% : teneur en lipides (MS%)

CB% : teneur en cendres (MS%)

## 2.5.2. Etude de l'amidon

### 2.5.2.1. Mode d'extraction de l'amidon

L'amidon est extrait selon une méthode d'extraction humide inspirée par la méthode de Banks et Greenwood (1975). Dans un premier temps, les graines de haricot sont lavées, trempées à l'eau pendant 15min et égouttées avant d'être broyées. La farine est trempée dans l'eau environ 15min, puis décantée et filtrée. Ces trois opérations sont répétées 3 fois afin de ressortir le maximum de granules d'amidon dans les graines de haricot. Les grains d'amidon sont obtenus par tamisage des produits recueillis séchés avec un tamis de petite maille (0,5mm de diamètre).

### 2.5.2.2. Dosage de l'amidon

#### ○ Dosage

La méthode polarimétrique d'Ewers a été adoptée

#### ○ Principe

Cette méthode consiste à disperser l'amidon par traitement à chaud avec de l'acide chlorhydrique dilué. Après défécation et filtration de la suspension, le pouvoir rotatoire de la solution est mesuré par polarimétrie. Le même traitement est effectué sur l'extrait éthanolique à 40% de la farine, extraction qui a pour but d'éliminer les glucides solubles capables d'interférer en polarimétrie.

La différence obtenue entre deux mesures polarimétriques multipliée par un facteur spécifique de l'origine botanique de l'amidon conduit à la teneur en amidon de l'échantillon.

#### ○ Méthode

##### - Détermination du pouvoir rotatoire total P

Dans une fiole jaugée de 100ml, 0,5g de l'échantillon est mélangé avec 10ml d'acide chlorhydrique à 1,128%. Le mélange est ensuite agité et 10ml d'acide chlorhydrique à 1,128% y sont à nouveau versés. La fiole est ensuite plongée dans un bain d'eau bouillante et durant les trois premières minutes qui suivent, la fiole est agitée énergiquement pour éviter la formation d'agglomérats. L'agitation se poursuit pendant le bain, à l'aide de l'appareil agitateur. Après 15min, la fiole est retirée du bain et 30ml d'eau froide y sont ajoutées. Pour déféquer les protéines, 2ml de solution de Carrez I et 2ml de Carrez II sont ajoutées. Le mélange est bien agité pendant 1min, puis complété à 100ml avec de l'eau distillée, homogénéisé et filtré puis son pouvoir rotatoire est lu.

##### - Détermination du pouvoir rotatoire P' :

Un gramme de l'échantillon est introduit dans une fiole jaugée de 100ml avec 10ml d'éthanol à 40%. Le mélange est ensuite laissé en attente durant 1h à la température ambiante, au cours de laquelle la prise d'essai est agitée énergiquement avec l'agitateur de façon à ce qu'elle soit

bien mélangée à l'éthanol, pour obtenir une suspension. Le volume est complété à 50ml avec de l'éthanol à 40%, puis homogénéisé et filtré. La suspension est évaporée jusqu'à obtenir 25ml (dilution ½, coefficient de dilution : 2), puis l'introduite dans une fiole de 250ml ; 2,1ml d'acide chlorhydrique à 25% est ajouté. La fiole est ensuite ajustée à un réfrigérant à reflux puis plongée dans un bain bouillant. Après 15min exactement, la fiole est retirée du bain et refroidie jusqu'à 20°C.

Pour déféquer les protéines, 2ml de solution de Carrez I et 2ml de Carrez II sont ajoutées. Le volume est ensuite complété à 100ml avec de l'eau distillée. Le mélange est homogénéisé, filtré et son pouvoir rotatoire est mesuré.

La teneur en amidon est calculée comme suit :

$$AS\% = \frac{(P - P')10^2 - 10^2}{[\alpha]_D^{20} \times l \times PE}$$

où AS% : teneur en amidon en g de matière brute

P : pouvoir rotatoire total (degré d'arc)

P' : pouvoir rotatoire spécifique de l'amidon pour

( $[\alpha]_D^{20} = 184,0$ )

PE : masse de la prise d'essai (g)

l : longueur du tube polarimétrie (cm)

### 2.5.2.3. Dosage de l'amylose et de l'amylopectine

#### - Dosage de l'amylose

La technique mise en œuvre est celle de la norme ISO 6647 (ISO, 1987).

##### ○ Principe

Par comparaison à une courbe étalon préparée au préalable, la teneur en amylose est déduite par la lecture de la densité optique à 620nm de la prise d'essai mise en suspension dans une solution de NaOH en présence d'une solution d'iode. L'amylose forme avec l'iode une coloration bleue dont l'intensité dépend de la quantité d'amylose présente.

##### ○ Méthode

L'opération comporte plusieurs étapes qui sont détaillées dans les paragraphes suivants :

##### - Préparation de la prise d'essai (échantillon)

Cent milligrammes (100mg) de poudre de haricot sont conditionnés dans une fiole jaugée de 100ml ; 1ml d'éthanol et 9ml de NaOH à 1M y sont ajoutés. La préparation est chauffée dans un bain-marie bouillant pendant 10min, puis laissée se refroidir à la température ambiante.

Puis le volume est ajusté à 100ml avec de l'eau distillée. Le tout est homogénéisé vigoureusement.

- Préparation de la solution mère d'amylose

La solution mère est préparée comme précédemment mais au lieu de 100mg de poudre de haricot, 100mg d'amylose: 1ml de cette suspension contient 1mg d'amylose.

- Préparation de la gamme de concentration

A partir de la solution mère, une gamme de concentrations de suspension étalon est préparée en utilisant une solution de NaOH à 0,09mole/l suivant les indications du tableau 6.

(Annexe 10)

- Développement de la coloration

Pour cela, 5ml de chaque concentration sont introduites dans une fiole jaugée de 100ml contenant 50ml d'eau distillée ; 1ml d'acide acétique ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) et 2ml de la solution d'iode sont également ajoutés. Le contenu de la fiole est ramené à 100ml avec de l'eau distillée en agitant le tout. La coloration est développée après un repos de 20 min à l'obscurité. La densité optique est ensuite lue au spectrophotomètre visible avec une longueur d'onde de 620nm.

- Préparation de l'essai à blanc

L'essai à blanc a été effectué parallèlement suivant le même mode opératoire, en utilisant les mêmes quantités de tous les réactifs, mais en utilisant 5ml de solution d'hydroxyde de sodium à 0,09mole/l à la place de la solution d'essai ou de la solution étalon.

- Courbe étalon

La courbe d'étalonnage est tracée en portant l'absorbance en fonction de la teneur en amylose exprimée en % en masse de la matière brute de haricot sur laquelle la teneur en amylose des essais est lue directement. L'analyse a été faite en double. La moyenne arithmétique des deux déterminations est utilisée comme résultat.

- **Détermination de la teneur en amylopectine**

La teneur en amylopectine est obtenue par une simple déduction selon la formule suivante

$$\% \text{Amylopectine} = 100\% - \% \text{Amylose}$$

#### 2.5.2.4. Microscopie des granules d'amidon

- Principe

La structure de l'amidon a été observée avec un microscope photonique modèle Axiovert S100 avec un grossissement fois 1000 (fort grossissement). Une goutte d'eau est ajoutée sur la préparation pour éviter le dessèchement des grains d'amidon entre lame et lamelle.

#### 2.5.2.5.. Propriétés fonctionnelles de l'amidon

##### 2.5.2.5.1. Pouvoir de gonflement de l'amidon

- Principe

Le gonflement de l'amidon est caractérisé par une absorption d'eau qui fait augmenter le volume du grain, à des températures croissantes. Le taux de gonflement est le taux du culot de centrifugation, exprimé en gramme de matière de culot sec.

- Mode opératoire

Le pouvoir de gonflement de l'amidon dans l'eau est déterminé en fonction d'une température croissante. Une solution d'amidon à 1% (P/V) est préparée (300mg d'amidon dans 30 ml d'eau distillée) et mise au bain- marie à différentes températures allant de 50°C à 90°C avec des intervalles de 10°C. Le mélange est mis sous agitation maximale pendant 5 minutes au vortex, puis centrifugé à 4000tours/minute pendant 10 minutes. Le surnageant est jeté. Le culot récupéré est mis à l'étuve afin d'obtenir la matière sèche (4 heures à 103°C). Puis, le culot sec est repesé. Le gonflement est estimé par la quantité d'eau retenue par l'échantillon. Le pouvoir de gonflement a été déterminé selon la formule de Leach *et al.*, 1959.

- Mode de calcul

Le taux de gonflement est donné par la formule

$$\text{Gonflement} = \frac{mh - ms}{ms} \times 100$$

où mh: Masse du culot humide (mg)

ms: Masse du culot sec (mg).

##### 2.5.2.5.2.. Viscosité de l'amidon

- Principe

Les paramètres de viscosité des farines ont été mesurés à l'aide d'un viscosimètre Brookfield RV, modèle VISCO STAR R. Le principe de la méthode repose sur l'enregistrement de la résistance d'une suspension de farine sous agitation constante avec élévation de température. Les mesures des paramètres ont été effectuées sur des suspensions d'amidon à 8% selon les méthodes utilisées par Hounhouigan (1994) et Nago (1997).

- Mode opératoire

Des suspensions d'amidon de 8% sont préparées. Le bécher contenant la suspension est mis au bain-marie à des températures allant de 50°C à 90°C avec des intervalles de 10°C pendant 10 minutes. Le mobile RV3 du viscosimètre est utilisé et l'appareil est ajusté à 100 rpm (rotation par minute). La viscosité de l'amidon est déterminée par la multiplication de la viscosité lue sur l'écran par le facteur correspondant.

- Mode de calcul

Pour un système de mesure (viscosimètre+mobile) et une vitesse de rotation( rotation par minute : rpm) donnée, la viscosité du liquide est égale au pourcentage à l'échelle de torsion multiplié par le facteur correspondant.

- Exemple :

Une mesure est effectuée à 100 rpm avec le mobile RV3. La lecture de la viscosité sur l'écran indique 20, et le facteur correspondant est 10.

Donc : la viscosité mesurée dans certaines conditions, est donc égale à :

$$\begin{aligned}\text{Viscosité} &= 20 \times 10 \\ &= 200 \text{ mPa.s} = 200 \text{ cP (centipoises)}\end{aligned}$$

## 2.6. Détermination de la valeur énergétique globale

- Principe

La valeur énergétique globale est l'énergie libérée par la combustion des macronutriments : protéines, glucides et des lipides contenus dans l'alimentation en tenant compte de leur coefficient d'Atwater : 4Kcal, 4Kcal, et 9Kcal respectivement. (Greenfield et Southgate, 1992).

- Mode de calcul

Elle est exprimée en kilocalorie (Kcal) et calculée à partir de la relation :

$$\mathbf{E \text{ (Kcal)} = (9 \times L) + (4 \times P) + (4 \times G)}$$

où L : teneur en lipides

P : teneur en protéines

G : teneur en glucides

### 3. DOSAGE DE QUELQUES FACTEURS ANTINUTRITIONNELS (FAN)

Les teneurs en phytates, en composés phénoliques et en tanins condensés ont été déterminées.

#### 3.1. Dosage des phytates

La méthode décrite par Latta *et al.* (1980), Vaintraub *et al.* (1988) a été adoptée.

- Principe

L'acide sulfosalicylique forme en solution un complexe coloré (rose-violet en milieu acide) avec le fer. Ce complexe se décolore en présence d'acide phytique, car le fer va être capté par l'acide phytique, qui a un pouvoir chélatant plus fort que celui de l'acide sulfosalicylique.

- Mode opératoire

Le dosage se fait en deux étapes : extraction puis dosage des phytates obtenus. La préparation des réactifs (Rose de Wade, HCl 2,4 %) et celle de la gamme étalon pour le dosage sont présentées en annexes 7 et 8.

- Extraction des phytates

Une quantité de 150mg de chaque échantillon ainsi préparé est introduite dans des tubes de 10ml. Pour chaque série d'analyse, 300mg de farine témoin (farine de Sarazin) et 5ml de HCl à 2,4 % sont introduits dans chaque tube et laissés au repos pendant 2h à température ambiante, en vortexant chaque tube pendant 15s, toutes les 10 min. Au bout des 2h, les tubes sont centrifugés pendant 30 min à 6000 rpm, à 20°C. Le surnageant obtenu est réparti en deux : une partie est transférée dans des tubes Eppendorf à raison de 1ml et conservée au frigo pour des analyses ultérieures et une autre quantité de 200µl est diluée 25 fois dans des tubes de 10ml, en ajoutant 4,8ml d'eau distillée. Chaque tube est ensuite agité 5s au vortex pour bien mélanger.

- Dosage des phytates totaux

750µl de dilution 1 /25 (ou de gamme étalon) est prélevé, transféré dans des tubes Eppendorf puis 250µl de solution de Rose de Wade y est ajouté. Le mélange est vortexé 5s ; puis, si la solution contient des impuretés, elle est centrifugée pendant 10 min à 10000 rpm à 20°C. Le contenu est ensuite transvasé dans une cuve de 1,5ml et l'absorbance est lue à 500nm contre un blanc (eau distillée). La densité optique doit si possible être comprise entre 0,300 et 0,500 (si DO < 0,250 : un dosage est refait avec une quantité plus élevée d'échantillon).

- Expression des résultats

En reportant les points de la gamme étalon sur un graphique (avec en abscisse la concentration en phytates et en ordonnée la densité optique mesurée), la droite de régression peut être tracée selon la relation :

$$DO_{500nm} = a [\text{Phytates}] + b$$

Après détermination de la valeur des paramètres "a" et "b", il est possible de déduire la teneur en phytate de l'échantillon :

$$\text{phytate}(\text{mg/g MS}) = [(\text{DO } 500\text{nm} - b) \times D] / (a \times \text{Ms})$$

[phytate] : concentration en phytates ( $\mu\text{g/ml}$ )

Phytate : quantité des phytates en mg/g de matière brute

Ms : masse sèche de l'échantillon à analyser (mg)

D : facteur de dilution de l'échantillon

a : pente de la droite de régression (toujours négative)

b : ordonnée à l'origine de la droite

### 3.2. Dosage des composés phénoliques

La méthode décrite selon Singleton *et al.* (1999) et Hayes *et al.* (2011) a été adoptée

#### ○ Principe

Les extraits contenant les composés phénoliques, traités avec le réactif de Folin – Ciocalteu en milieu alcalin, développent une coloration bleutée (du vert au violet) dont l'absorbance est mesurée à 765nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

#### ○ Mode opératoire

La préparation des réactifs et de la gamme étalon est décrite en annexes 9 et 10.

#### ○ Extraction des composés phénoliques

Dans des tubes de 10ml, 200mg de chaque échantillon sont pesés. 4ml de méthanol y sont ajoutés. Le mélange est vortexé pendant 30 secondes puis placé dans un bain ultrasonique pendant 10 minutes puis revortexé pendant 30 secondes et remis dans le bain ultrasonique pendant 10 minutes. Les tubes contenant le mélange sont ensuite centrifugés pendant 10 minutes à 6000 rpm à 4°C. Après centrifugation, 3ml de surnageant sont prélevés puis versés dans un tube protégé de la lumière, et 2ml du surnageant sont mis dans un tube Eppendorf protégé aussi de la lumière, que l'on peut stocker au réfrigérateur pour d'éventuelles analyses des phénols totaux.

Dans un autre tube Eppendorf de 2ml sont introduits, 100 $\mu\text{l}$  de méthanol, 100 $\mu\text{l}$  de l'extrait méthanolique, 100 $\mu\text{l}$  du réactif de Folin – Ciocalteu, 700 $\mu\text{l}$  de carbonate de Sodium à 20%, 1000 $\mu\text{l}$  d'eau distillée. Le mélange est vortexé rapidement, incubé à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 1 heure et s'il y a présence de dépôt, les tubes sont centrifugés pendant 5 minutes à 6000 rpm à 4°C. Ensuite l'absorbance est lue à 765nm contre le méthanol comme blanc.

#### ○ Expression des résultats

La teneur en phénols totaux est exprimée en g d'acide gallique (AG). En reportant les points de la gamme étalon sur un graphique (avec en abscisse la concentration en phénols totaux et



en ordonnée la densité optique mesurée), on peut tracer la droite de régression linéaire dont l'équation est :

$$DO_{765nm} = a [\text{Phénols totaux}] + b$$

Après détermination de la valeur des paramètres « a » et « b », il est possible de déduire la concentration en phénols totaux.

$$\text{Phénols totaux (g AG/100g MS)} = [(DO_{765nm} - b) \times D] / (a \times Ms)$$

[Phénols totaux] : concentration en phénols totaux en µg/ml

Phénols totaux : quantité de phénols totaux en g AG/100 g de matière brute

DO à 765nm : densité optique ou absorbance de l'échantillon à 765nm

b : ordonnée à l'origine de la droite

D : facteur de dilution de l'échantillon

a : pente de la droite de régression

Ms : masse sèche initiale de l'échantillon à analyser (en mg)

### 3.3. Dosage des tanins condensés

La méthode décrite selon Porter *et al.* (1986) a été adoptée.

#### ○ Principe

Les tanins condensés sont hydrolysés en présence d'HCl et de fer sulfate à chaud. Les unités intermédiaires sont alors converties en anthocyanes colorées (rouge) et l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 520nm.

#### ○ Mode opératoire

Une solution de fer ammonium sulfate,  $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  2% v/v est préparée dans du HCl 2M. Environ 50mg d'échantillon broyé sont pesés, auquel sont ajoutées 6ml de nButanol/HCl (95/5, v/v) et 200µl de solution ferrique. Le mélange est vortexé puis chauffé pendant 45 minutes à 95°, laissé refroidir et vortexé de nouveau. Le tout est transvasé dans un tube en plastique puis centrifugé à 6000 rpm pendant 5 minutes à 4°C. Dans des tubes Eppendorf, on procède à des dilutions:

- 1/4 : 250 µl du surnageant + 750µl de nButanol/HCl

- 1/10 : 100µl du surnageant + 900µl de nButanol/HCl

Le mélange est centrifugé à 6000 rpm, pendant 5 minutes à 4°C et la densité optique est lue à 550nm. La gamme étalon est faite à partir de tanins purifiés (tanins de pépins de raisin purifié) en pesant différentes quantités et en traitant ces dernières comme les échantillons :

-3,8mg (0,613mg/ml)

-10,1mg (1,629mg/ml)

-16,8mg (2,710mg/ml)

- Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en g d'équivalent tanin pour 100g de MS.

En reportant les points de la gamme étalon sur un graphique avec en abscisse, la concentration en tanins (mg/ml) et en ordonnée, la densité optique mesurée à 550nm, la droite de régression linéaire peut être tracée selon l'équation :  $DO_{550\text{ nm}} = a [\text{Tanins}] + b$   
Après détermination de la valeur des paramètres « a » et « b », il est possible de déduire la concentration en tanins.

$$\text{Tanins (g/100g de MS)} = [DO_{550\text{ nm}} - b] \times D / (a \times Ms)$$

[Tanins] : concentration en tanins en mg/ml

Tanins (g/100g de MS) : quantité en tanins en g pour 100g de matière brute

DO à 550nm : densité optique ou absorbance de l'échantillon à 550nm

b : ordonnée à l'origine de la droite

D: facteur de dilution de l'échantillon

a : pente de la droite de régression

Ms : masse sèche initiale de l'échantillon à analyser (en mg)

#### 4. TRAITEMENT DES DONNEES

Tous les résultats obtenus après les analyses sont traités par le logiciel XLSTAT -Pro 7.0

*PARTIE 3 :*  
*RESULTATS ET INTERPRETATIONS*

## 1. CARACTERISTIQUES NUTRITIONNELLES DES GRAINES

Les caractéristiques nutritionnelles et antinutritionnelles des échantillons sont exprimées en moyennes  $\pm$  écarts types de trois répétitions. Les coefficients de variations sont tous  $< 12\%$ . Le test de Student-Newman et Keuls a été effectué sur chaque variable pour structurer les moyennes. Les moyennes suivies d'une même lettre dans la même ligne ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ). La lettre « a » après les résultats correspond à une valeur élevée tandis que lettre « d » à celle qui est mal loti.

Les moyennes suivies de la même lettre dans la même colonne ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

### 1.1. Teneurs en eau et en matière sèche

Les teneurs en eau (H%) et en matière sèche (MS%) sont résumées dans le tableau 6 :

Tableau 6: Teneurs en eau et matière sèche (MS) des graines

Echantillons	H%	MS%
UBR (91) 45-1	12.87 $\pm$ 0.03 a	87.13 $\pm$ 0.03
BEGIDRO	12.19 $\pm$ 0.014 b	87.81 $\pm$ 0.014
ARA .8.5.1B (B)	7.95 $\pm$ 0.07 c	92.05 $\pm$ 0.07
RAO 55 (B)	7.88 $\pm$ 0.02 d	92.12 $\pm$ 0.02

H : Humidité MS : matière sèche

Les teneurs en eau des échantillons sont comprises entre 7.88% et 12.87% ; ces teneurs correspondent à des teneurs en matière sèche élevées de 87.13% à 92.12 %. La teneur en eau moyenne qui est de 10.22% signifie que les graines ont subi un bon séchage après la récolte, assurant une bonne et longue conservation.

### 1.2. Teneurs en protéines et composition en acides aminés

#### 1.2.1. Teneurs en protéines des graines

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Protéines des graines exprimées en % gMS

Echantillons	Teneur en protéines (% gMS)
UBR (91) 45-1	25.30 $\pm$ 0.04 a
BEGIDRO	20.72 $\pm$ 0.00 b
ARA 8.5.1B	19.01 $\pm$ 0.01 c
RAO 55 (B)	17.86 $\pm$ 0.00 d

MS : matière sèche

Les teneurs en protéines des graines, significativement différentes, sont comprises entre 17.86%gMS et 25.30%gMS. Dans l'ordre croissant, les quatre échantillons sont classés comme suit : RAO 55 (B) - ARA .8.5.1B (B) - BEGIDRO - UBR (91) 45-1.

### 1.2.2. Teneurs en acides aminés des graines

C'est à partir des taux d'azote dosés dans les graines que les taux d'acides aminés des échantillons ont pu être estimés et les résultats sont résumés dans les tableaux 8 et 9.

Tableau 8 : Acides aminés exprimés en %g MS

Acide aminé	UBR(91)45-1	BEGIDRO	ARA.8.5.1B(B)	RAO 55(B)
Gly	0.92	0.78	0.74	0.71
Ala	1.04	0.91	0.87	0.84
Val	1.24	1.04	0.96	0.92
Leu	2.14	1.79	1.67	1.59
Ile	1.09	0.89	0.82	0.77
Ser	1.53	1.23	1.12	1.05
Thr	1.11	0.97	0.92	0.89
Tyr- Phe	2.43	1.98	1.82	1.72
Pro	0.90	0.78	0.74	0.71
Trp	-	-	-	-
Met	0.29	0.25	0.24	0.23
Cys	0.30	0.27	0.27	0.26
Lys	1.72	1.46	1.36	1.30
His	0.69	0.55	0.50	0.47
Arg	1.65	1.10	0.91	0.78
Asx	3.18	2.66	2.47	2.34
Glx	4.05	3.29	3.01	2.83
Met-cys	0.30	0.29	0.29	0.28

Tableau 9: Acides aminés exprimés en % g de protéines

Acide aminé	UBR(91) 45-1	BEGIDRO	ARA.8.5.1B (B)	RAO 55(B)
Gly	3.63	3.76	3.89	3.97
Ala	4.11	4.39	4.57	4.70
Val	4.90	5.01	5.04	5.15
Leu	8.45	8.63	8.78	8.90
Ile	4.30	4.29	4.31	4.31
Ser	6.04	5.93	5.89	5.87
Thr	4.38	4.68	4.83	4.98
Tyr- Phe	9.60	9.55	9.57	9.63
Pro	3.55	3.76	3.89	3.97
Trp	-	-	-	-
Met	1.14	1.20	1.26	1.28
Cys	1.18	1.30	1.42	1.45
Lys	6.79	7.04	7.15	7.27
His	2.72	2.65	2.63	2.63
Arg	6.52	5.30	4.78	4.36
Asx	12.56	12.83	12.99	13.10
Glx	16.00	15.87	15.83	15.84
Met-cys	1.18	1.39	1.52	1.56

Les protéines des graines présentent tous les acides aminés, mais les valeurs sur le tryptophane, détruit par l'hydrolyse acide, ne sont pas disponibles. Par ordre croissant des taux,

on a : Met <Cys <His< Tyr< Pro< Gly< Ile<Ala<Thr<Ser< Phe< Lys< Leu<Asx<Glx

Tableau 10 : Pourcentage des acides aminés essentiels par rapportaux acides aminés totaux

Echantillons	%Acides aminés essentiels
UBR (91) 45-1	43.61%
BEGIDRO	44.31%
ARA 8.5.1B	44.57%
RAO 55 (B)	44.88%

Les taux d'acides aminés essentiels par rapport aux acides aminés totaux de tous les échantillons étudiés sont supérieurs à 32%, ce qui indique à première vue que les protéines des échantillons sont de bonne qualité.

### 1.2.3. Indices chimiques et acides aminés facteurs limitants

La connaissance du taux global d'acides aminés indispensables par rapport aux acides aminés totaux d'une protéine est intéressante mais ne suffit pas. L'indice chimique est un outil performant pour évaluer la qualité nutritionnelle d'une protéine. Les tableaux 11 et 12 présentent les résultats des calculs des indices chimiques des protéines des graines, comparés à deux profils de référence de la FAO (FAO/OMS/UNU, 1986)

:

1-Le profil de référence des jeunes enfants âgés de moins de 2 ans.

2-Le profil de référence des jeunes enfants âgés de 2 ans et plus et des adultes.

Tableau 11 : Scores chimiques des protéines des légumineuses étudiées selon le profil de référence des jeunes enfants âgés de moins de 2 ans

Echantillons	His	Ile	Leu	Lys	Met+C ys	Phe+Tyr	Thr	Val
Référence(FAO)	25	45	93	66	42	72	43	55
UBR (91) 45-1	104.89	93.65	90.95	103.06	28.23	133.39	102.03	89.11
BEGIDRO	102.09	93.37	92.89	106.76	33.32	132.72	108.87	91.26
ARA 8.5.1B	101.16	93.77	94.46	108.39	36.32	132.97	112.54	91.81
RAO 55 (B)	101.21	93.72	95.72	110.28	37.32	133.75	115.88	93.65

L'acide aminé essentiel ayant le plus faible indice chimique est appelé acide aminé facteur limitant, et la même valeur d'indice chimique constitue le score chimique de la protéine indiquant sa performance. Comme le montre le tableau 11, pour tous les échantillons, les acides aminés soufrés sont déficients et ont les indices chimiques les plus bas. Ils constituent donc les facteurs limitants primaires des protéines de haricot.

.

Tableau 12: Scores chimiques des protéines des légumineuses étudiées selon le profil de référence des sujets âgés de 2 ans et adultes (FAO/OMS/UNU, 1986)

	His	Ile	Leu	Lys	Met+Cys	Phe+Tyr	Thr	Val
Référence (Fao)	19	28	66	58	25	63	34	35
UBR (91) 45-1	143.54	153.86	128.15	117.21	47.43	152.45	129.03	140.03
BEGIDRO	139.70	153.40	130.89	121.48	55.98	151.68	137.69	143.40
ARA 8.5.1B (B)	138.43	154.04	133.10	123.34	61.02	151.96	142.33	144.28
RAO 55 (B)	138.50	153.97	134.88	125.49	62.70	152.86	146.56	147.17

Les teneurs en acides aminés essentiels des protéines des graines sont élevées par rapport à celles des besoins des sujets de plus de 2 ans et des adultes. Les protéines des échantillons de haricot étudiés peuvent donc être utilisés sans complémentation.

### 1.3. Teneurs en lipides

Le tableau 13 montre la teneur en lipides des graines

Tableau 13 : Lipides exprimés en %gMS

Echantillons	Teneur en lipides ( %gMS)
UBR (91) 45-1	1.38±0.03 c
BEGIDRO	1.75±0.02 a
ARA 8.5.1B	1.44±0.06 b
RAO 55 (B)	1.24±0.04 d

MS : matière sèche

Les teneurs en lipides des graines des échantillons varient également de 1.24% MS à 1.75%g MS. Suivant ces teneurs, elles peuvent être classées dans l'ordre croissant comme suit : RAO 55 (B) < ARA .8.5.1B(B) < UBR (91) 45-1 < BEGIDRO



## 1.4. Teneurs en cendres

Les valeurs en cendres des échantillons analysés sont présentées dans le tableau 14

Tableau 14 : Cendres brutes exprimées en %gMS

Echantillons	Teneur en cendres brutes (en %gMS)
UBR (91) 45 – 1	4.34±0.059 b
BEGIDRO	4.55 ±0.03 a
ARA 8 .5.1B (B)	3.91 ±0.01 c
RAO 55 (B)	3.57 ±0.07 d

MS : matière sèche

Les teneurs en cendres brutes varient entre 3.57 pour RAO 55(B) et 4.55%gMS pour BEGIDRO qui apparaît le plus riche.

## 1.5. Substances glucidiques des graines

### 1.5.1. Teneur en glucides totaux

Le tableau 15 indique les résultats obtenus.

Tableau 15 : Glucides totaux exprimés en %gMS

Echantillons	Teneur en glucides totaux (%gMS)
UBR (91) 45-1	68.98 d
BEGIDRO	72.98 c
ARA 8.5.1B	75.64 b
RAO 55 (B)	77.33 a

MS : matière sèche

Les teneurs en glucides totaux sont significativement différentes et comprises entre 68.98% et 77.33%gMS. Par ordre croissant, on a : UBR (91) 45-1 <BEGIDRO) < ARA .8.5.1B (B) < RAO 55 (B).

### 1.5.2.. Teneurs en composants glucidiques

Les résultats sont rapportés dans le tableau 16

Tableau 16 : Teneurs en substances glucidiques (%gMS)

Echantillons	P	P'	Amidon +Sucre simple (%gMS)	Sucre simple(%gMS)	Amidon(%gMS)
UBR (91) 45-1	1.32	0.102	40.84	1.61	39.22
BEGIDRO	1.15	0.201	35.45	3.01	32.43
ARA 8.5.1B (B)	1.132	0.203	31.17	2.93	28.23
RAO 55 (B)	1.21	0.18	34.86	2.62	32.24

P et P' : Valeurs données par le polarimètre.

Tableau 17: Pourcentage de l'amidon par rapport aux glucides totaux

Echantillons	Teneur en glucides totaux	Amidon (%g de glucides totaux)
UBR (91) 45-1	68.98	56.85
BEGIDRO	72.98	44.43
ARA 8.5.1B	75.64	37.32
RAO 55 (B)	77.33	41.69

Ces valeurs varient de 37.32 à 56.85% g de glucides totaux.

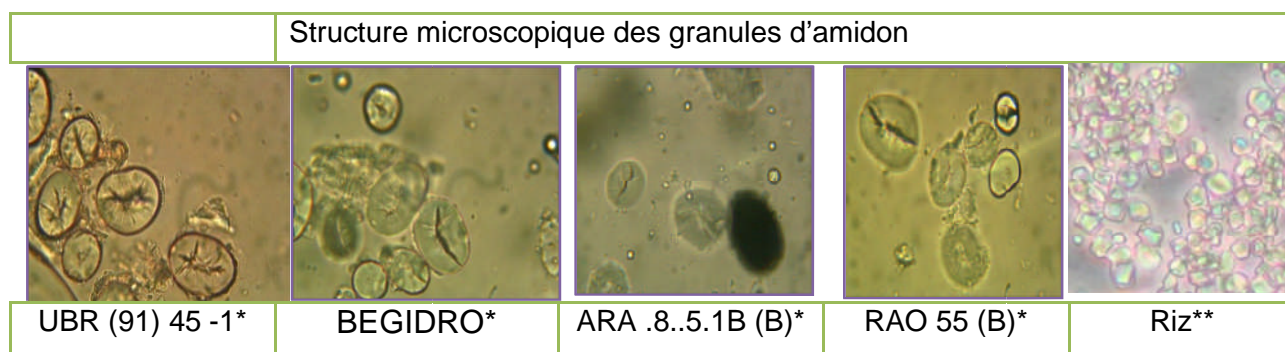
### 1.5.3. Teneurs en amylose et en amylopectine

Le tableau 18 montre les teneurs en amylose et en amylopectine des amidons des graines.

Tableau 18 : Amylose et en amylopectine exprimées en g/100g d'amidon

Echantillons	Teneur en amylose (g pour 100g d'amidon)	Teneur en amylopectine (g pour 100g d'amidon)
UBR (91) 45-1	21.02 d	78.98 a
BEGIDRO	23.86 c	76.74 b
ARA 8.5.1B	25.31 a	74.69 d
RAO 55 (B)	24.03 b	75.97 c

### 1.5.4. Structure des granules d'amidon.



**Figure 6** : Structure des granules d'amidon suivant l'origine botanique

Sources : \* Auteur, 2016 (grossissement x 1000)

\*\*Rasoanaivo, 2015 (grossissement x 300)

Les granules d'amidon des quatre variétés ont une forme ovoïde, parfois arrondie, de taille variable, différente de celle du riz qui est polygonale.

### 1.5.5. Propriétés fonctionnelles de l'amidon

L'amidon peut fixer 0.5g d'eau par g d'amidon et la quantité d'eau absorbée est de l'ordre de 40 à 50% avec un gonflement radial des graines. Le chauffage en excès d'une suspension d'amidon à une température supérieure à 50°C entraîne le gonflement de l'amidon conduisant à leur solubilisation.

### 1.5.5.1. Pouvoir de gonflement

Le Tableau 19 résume le calcul du taux de gonflement

Tableau 19 : Gonflement de l'amidon

Echantillons		50°C	60°C	70°C	80°C	90°
Masse du culot humide (g)	UBR (91) 45-1	2.8	3.96	4.8	4.81	4.31
	BEGIDRO	2.94	4.1	4.2	5.1	4.2
	ARA.8.5.1B (B)	2.78	3.6	3.9	4.4	5.01
	RAO 55 (B)	2.46	3.46	3.3	4.28	4.25
Masse du culot sec (g)	UBR (91) 45-1	2.7	3.62	4.19	3.99	3.1
	BEGIDRO	2.87	3.81	3.77	4.35	3.19
	ARA.8.5.1B (B)	2.72	3.37	3.52	3.85	3.86
	RAO 55 (B)	2.4	3.24	3.01	3.78	3.41
Gonflement (%)	UBR (91) 45-1	3.70	9.39	14.55	20.55	39.03
	BEGIDRO	2.43	7.61	11.40	17.24	31.66
	ARA.8.5.1B (B)	2.20	6.82	10.79	14.28	29.79
	RAO 55 (B)	2.41	6.79	9.63	13.22	24.63

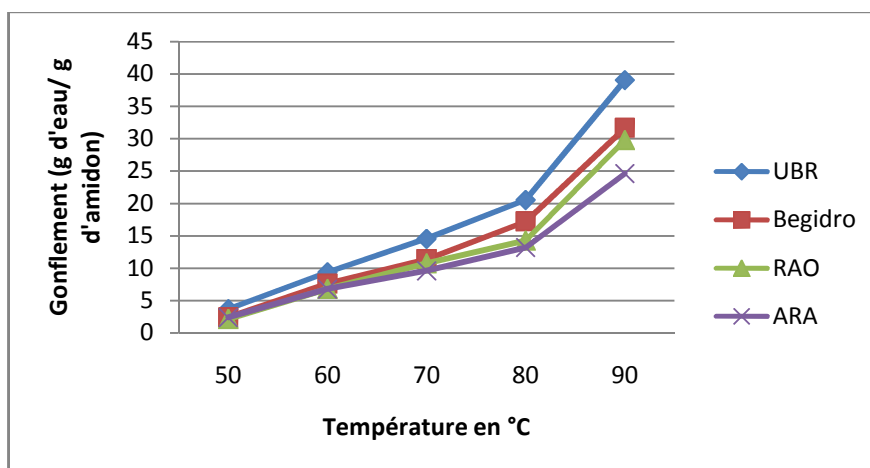


Figure 7: Gonflement de l'amidon des quatre variétés étudiées

- L'allure du gonflement est similaire pour les quatre amidons, entre 50°C à 60°C, le gonflement monte avec la température.
- Les valeurs sont comparables à 60°C et une faible différence est notée entre les quatre échantillons.
- Entre 60 et 80°C, l'allure des quatre courbes est la même (courbes ascendantes), l'UBR (91) 45-1 présente le taux le plus élevé.

- A partir de 80°C, le gonflement augmente de façon considérable pour les quatre amidons.
- A 90°C, l'amidon de la variété UBR (91) 45-1 présente le pouvoir de gonflement le plus élevé à 39.03 g d'eau/g d'amidon tandis que celui de la variété RAO 55(B) le plus bas avec 24.63 g d'eau/g d'amidon.

#### 1.5.5.2. Viscosité

La figure 8 montre la viscosité apparente de l'amidon. Les calculs réalisés à l'intérieur du viscosimètre à partir des mesures de la force de torsion, de la vitesse de l'axe, de l'angle de déviation de l'axe et de ses caractéristiques, donnent une lecture directe de la viscosité en centipoise (cP = mPas). Les valeurs de la viscosité sont résumées dans le tableau 20

Tableau 20 : Viscosité apparente de l'amidon

Echantillons	Facteur de conversion	Température	Lecture sur l'écran (cP)	Viscosité apparente (cP)
UBR (91) 45-1	10	60°C	20	200
		70°C	40	400
		80°C	90	900
		90°C	180	1800
BEGIDRO	10	60°C	20	200
		70°C	36	360
		80°C	70	700
		90°C	140	1400
ARA.8.5.1B (B)	10	60°C	20	200
		70°C	32	320
		80°C	60	500
		90°C	120	1200
RAO 55 (B)	10	60°C	20	200
		70°C	34	340
		80°C	50	600
		90°C	130	1300

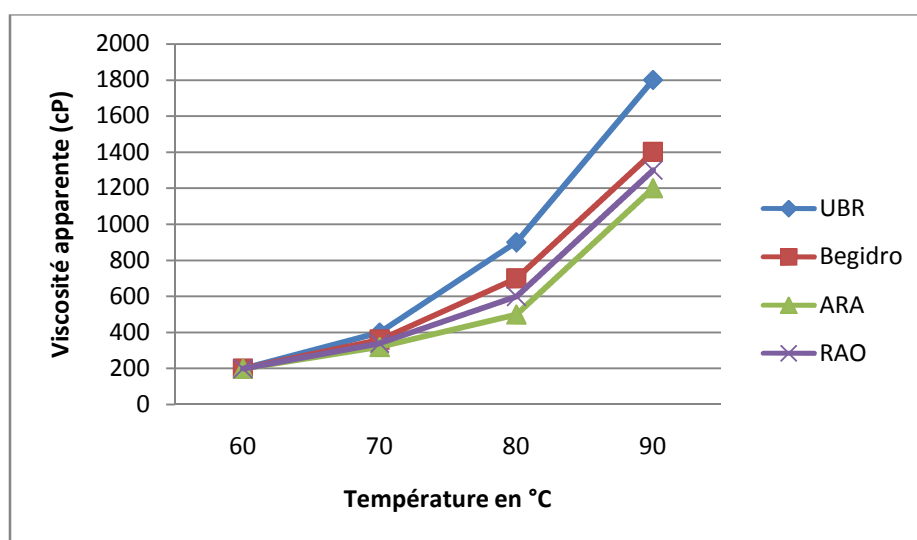


Figure 8: Viscosité apparente de l'amidon des quatre variétés

La figure 8 montre que la viscosité monte de façon progressive. L'allure des quatre courbes est similaire. Entre 60 et 80°C, la viscosité augmente faiblement.

Elle augmente de façon plus importante après 80°C, pour atteindre des viscosités finales de 120 et de 180 cP à 90°C, respectivement pour les amidons des variétés ARA.8.5.1B (B) et UBR (91) 45-1.

## 1.6. Valeur énergétique des graines

De ces teneurs en différents macronutriments découlent des valeurs énergétiques comprises entre 389.98 Kcal pour UBR (91) 45-1 et 391.92 Kcal RAO 55(B). Du fait de sa faible teneur en glucides, la variété UBR (91) 45-1 reste la moins énergétique parmi les autres échantillons étudiés.

Tableau 21 : Macronutriments et apports énergétiques des échantillons

Echantillons	Teneur en protéines (%gMS)	Teneur en lipides (%gMS)	Teneur en glucides (%gMS)	Teneur en cendres brutes (%gMS)	Valeur énergétique (Kcal/100g MS)
UBR (91) 45-1	25.30±0.04	1.38±0.03	68.98	4.34±0.059	389.54
BEGIDRO	20.72±0.00	1.75±0.02	72.98	4.55 ±0.03	390.55
ARA.8.5.1B	19.01 ±0.01	1.44±0.06	75.64	3.91 ±0.01	391.56
RAO 55 (B)	17.86±0.00	1.24±0.04	77.33	3.57 ±0.07	391.92

MS : matière sèche

Tableau 22 : Valeur nutritionnelle des quelques légumineuses (%gMS)

Légumineuses	Protéines	Lipides	Glucides	Cendres	Sources
Haricot	21	1-2	60-65	4-5	Andriamazaoro, 1994
Pois du cap	23	0,9	71.4	4,7	Feno, 2011
Mucuna	21,2	4,4	59,5	4,11	FAO, 1982
Voandzou	17,11	7,62	72,14	3,11	Ramaherisoa, 2004
Dolique rouge	21,44	0.75	63.25	3.91	Andriamasinandraina, 2012
Niébé rouge	22,20	1,88	59,7	3,95	Randrianasolo, 2013

Comparativement aux autres légumineuses, concernant la teneur en protéines la variété UBR (91) 45-1 en est la plus riche. Pour ce qui est des glucides, les valeurs obtenues pour les échantillons rentrent dans la fourchette de celles d'autres légumineuses. Par ailleurs, le voandzou se distingue des autres par une richesse en lipides.

Les teneurs en cendres sont comparables aux autres variétés de haricot (Andriamazaoro, 1994), le haricot et le pois du cap ainsi que le mucuna contiennent des taux plutôt semblables. les quatre échantillons étudiés apparaissent plus riches en cendres devant le voandzou, dolique rouge ainsi que le niébé rouge.

## 2. LES FACTEURS ANTINUTRITIONNELS

*Les moyennes suivies de la même lettre dans la même colonne ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ). Valable pour les tableaux*

### 2.1. Teneur en facteurs antinutritionnels des graines

Tableau 23: Teneurs en facteurs antinutritionnels des graines

Echantillons	Phytates en mg/g de MS	Phénols totaux en g AG pour 100g de MS	Tanins condensés en g pour 100g de MS
UBR (91) 45-1	14.58±0.43 b	0.24±0.06 a	1.97±0.03 a
BEGIDRO	15.94±0.86 a	0.14±0.14 d	1.29±0.00 d
ARA 8.5.1B	11.45±1.32 d	0.15±0.15 c	1.32±0.04 c
RAO 55 (B)	14.23±0.41 c	0.22±0.07 b	1.74±0.09 b

Tableau 24 : Teneurs en facteurs antinutritionnels de quelques légumineuses

Légumineuses	Phytates en mg/g de MS	Phénols totaux en g AG pour 100g de MS	Tanins condensés en g pour 100g de MS
Tsaramaso mena	14.61±0.41	0.22±0.09	1.99±0.09
Tsaramaso vanda mena	11.35±1.34	0.15±0.18	1.92±0.03
Voanemba mena	8.76±0.24	0.11±0.15	0.63±0.11
Mucuna	15.47±0.19	0.51±0.40	0.24±0.01

Andriamasinandraina, 2012

Les teneurs en facteurs antinutritionnels des échantillons sont significativement différentes. Les teneurs en phytates des échantillons sont comprises entre 11.45 et 15.94 mg/g MS. La variété BEGIDRO en est la plus riche, suivie par UBR (91) 45 – 1, puis les variétés RAO 55 (B) et ARA 8.5.1B (B). D'après les résultats indiqués dans le tableau 23, les échantillons étudiés renferment des phytates dont les teneurs varient d'une variété à une autre.

Les quantités en phénols totaux des échantillons analysés sont indiquées dans le tableau 23. Les polyphénols constituent un ensemble de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Les teneurs en phénols totaux des échantillons sont comprises entre 0,14 et 0,24% g AG pour 100g de MS. Dans l'ordre croissant des teneurs, on a BEGIDRO, ARA 8.5.1B (B), RAO 55 (B), UBR (91)45–1. Les teneurs sont significativement différentes d'une variété à l'autre. Ces valeurs sont proches de celles rapportées par d'autres auteurs 0,11 à 0,22g AG/ 100 g MS (Andriamasinandraina, 2012) sur les haricots.

Les tanins condensés font partie du groupe des composés phénoliques avec les tanins hydrolysables. Les teneurs en tanins condensés varient entre 1.29 et 1,97% MS. La teneur la plus élevée correspond à la variété UBR (91) 45 – 1 suivie par RAO 55 (B) puis ARA 8.5.1B (B). La variété BEGIDRO en est la plus pauvre. Les résultats sont identiques à celles trouvées par d'autres auteurs sur des haricots 1,12 à 1,99%MS (Andriamasinandraina, 2012 et Randrianasolo, 2013), mais ces teneurs sont considérées comme élevées comparées à celles des céréales (0,6 à 1 %MS) (Lestienne, 2004). Toutefois, les concentrations en différents FAN ne varient pas forcément dans le même sens car les teneurs obtenues sont différentes avec la nature du facteur antinutritionnel.



## DISCUSSION

Les analyses biochimiques ont permis de déterminer la valeur nutritionnelle des quatre variétés : UBR (91) 45-1, BEGIDRO, ARA 8.5.1B, RAO 55 (B). Une grande partie de l'eau libre s'évapore lors du séchage des graines après la récolte tandis que l'eau liée est celle qui devrait rester (Multon, 1982). La norme requise pour le stockage des graines est de 10 à 15% (Borget, 1989 ; Come, 1982). Les teneurs faibles en eau des échantillons par rapport à la norme (7.88 à 12.87%) permettent ainsi une longue durée de conservation et également sur la richesse en valeur nutritive et l'augmentation de la valeur énergétique. (Comelade, 1990 ; Malewiak, 1992).

Les inconvénients de la faible humidité des graines sont les problèmes de durcissement du tégument et de réhydratation des graines sèches avant la cuisson. Ces derniers exigent, sans trempage préalable une longue durée de cuisson et une grande quantité de combustible.

Les résultats obtenus montrent que les graines de haricot étudiées sont de bonne source de protéines. Il s'agit essentiellement des protéines de réserve regroupées dans de petits organes appelés corps protéiques, qui sont localisés dans les cellules de cotylédons (FAO, 1995). Du point de vue quantitatif, la teneur en protéines des quatre variétés varie entre 17.86 à 25.30% MS. De ce fait, ces graines de haricot peuvent être utilisées comme source de protéines tant pour l'homme que pour l'animal. Les valeurs confirment celles rapportées par Andriamamonjy (2000).

Du point de vue qualitatif, les protéines des échantillons renferment presque tous les acides aminés essentiels à savoir la leucine, la lysine, la valine, la phénylalanine, la thréonine, l'isoleucine, la méthionine et la cystéine avec un taux supérieur à 32% par rapport aux acides aminés totaux, taux référence pour une protéine de bonne valeur biologique d'après la FAO. Par ailleurs, les protéines des graines sont riches en lysine mais pauvres en méthionine et cystéine, qui constituent alors les acides aminés limitants primaires ou facteurs limitants. La déficience en acides aminés soufrés est une caractéristique des protéines des graines de haricot et celles des légumineuses en général. Pour corriger ce déficit, une complémentation avec d'autres aliments riches en ces acides aminés comme les céréales est nécessaire, étant donné que ces derniers sont riches en acides aminés soufrés mais pauvres en Lys (Cheftel, 1985).

Les graines étudiées utilisées pour les enfants âgés de moins de 2 ans montrent un score chimique des protéines bas puisque les besoins en acides aminés essentiels des nourrissons sont élevés. Par contre, il n'y a pas de souci si on les utilise pour les sujets âgés de plus de 2 ans et des adultes car les besoins de ces derniers sont moins élevés.

Les teneurs élevées en cendres brutes des graines 3.91% et 4.55% traduisent une richesse relative en éléments minéraux comparées aux céréales qui sont autour de 1,8% MS (Feinberg, 1991).

Compte tenu de leurs faibles teneurs en lipides, nos échantillons ne sont pas classés dans le groupe des oléagineux dont la teneur est comprise entre 18 et 45% (Dupin *et al.*, 1992). Par contre, ils peuvent être considérés comme protéagineux par leurs teneurs considérables en glucides et en protéines. En effet, la différence entre protéagineux et oléagineux réside dans la nature des réserves non protéiques de leurs graines : chez les oléagineux, il s'agit majoritairement de lipides et chez les protéagineux, des glucides.

Les variétés analysées renferment 37.32 à 56.85% d'amidon par rapport aux glucides totaux. L'étude des propriétés physico-chimiques des amidons présente un intérêt pratique. Ces propriétés lui donnent sa grande diversité d'application. (Rasolondraibe, 2004). Les granules d'amidon passent par différents états caractéristiques à température élevée (Lafargue, 2007). Le gonflement et la viscosité de l'amidon dépendent principalement en outre de la composition chimique de l'amidon en amylose et amylopectine (Singh *et al.*, 2002). La viscosité augmente avec le pouvoir de gonflement, ainsi la variété ayant le pouvoir de gonflement élevé étant la plus visqueuse.

Chaque échantillon apporte chacun en moyenne 390.89 kcal/100g de MS dont environ 71% fournis essentiellement par les glucides, 21% par les protéines et 3% par les lipides. La consommation de 100g de graines dans la ration journalière peut donc fournir environ 20% du besoin énergétique de référence.

Les teneurs en lipides des échantillons variant de 1.24 à 1.75% MS sont faibles par rapport aux autres légumineuses oléagineuses avec 18% à 45% MS (Dupin 1992).

Les granules d'amidon des échantillons présentent un aspect bien visible, de forme ovale observées au microscope photonique à un fort grossissement (fois 1000). L'aspect et la forme des granules sont semblables pour toutes les variétés étudiées ; cela est due au fait qu'elles appartiennent à la même espèce *Phaseolus vulgaris* et elles ont les mêmes caractères génétiques.

Concernant les facteurs antinutritionnels, les phytates représentent un groupe de composés naturels pouvant avoir une influence notable sur les propriétés fonctionnelles et nutritives des haricots. Ils peuvent agir en faible quantité en formant un complexe non assimilable avec les cations divalents (Ca, Fe, Mg, Zn) et avec les protéines. Ces phytates correspondent aux phytates contenus dans les cotylédons où ils sont associés aux corps protéiques (Reddy, 2002). Les teneurs en phytates (entre 11.45 et 15.94mg/g MS) des variétés des graines de haricot étudiées sont comparables avec les valeurs rapportées par d'autres auteurs, entre 11.35 à 15.90% MS pour d'autres espèces de haricot (Andriamasinandrana, 2012).

PARTIE 4 :  
CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude nous ont permis de nous familiariser avec les techniques universelles courantes utilisées en sciences de l'alimentation.

Les analyses biochimiques des graines ont montré qu'elles sont riches en glucides, en protéines, en cendres donc en éléments minéraux, mais pauvres en lipides. Les protéines du haricot sont qualifiées comme de bonne qualité. L'association du haricot avec les céréales comme le riz, le maïs, le blé ... dans un repas peut corriger leur déficit en acides aminés soufrés.

Cependant, la présence de facteurs antinutritionnels comme les phytates, polyphénols, tanins condensés dans les graines, à des teneurs élevées, peut diminuer leur valeur nutritionnelle. Ces facteurs antinutritionnels diminuent ainsi la disponibilité des nutriments contenus dans les graines sans traitements préalables avant la cuisson.

L'observation microscopique donne une idée sur la structure des granules d'amidon et l'étude du gonflement et de la viscosité de l'amidon a permis de déterminer le changement de l'état de l'amidon des quatre variétés de haricot étudiées en fonction de la variation de la température.

Le présent travail confirme l'importance du haricot dans l'alimentation humaine grâce à leur qualité nutritionnelle satisfaisante. En Asie, le haricot mungo est utilisée comme, matière première utilisée pour la fabrication des nouilles à base d'amidon de haute qualité.

La malnutrition protéino-énergétique (MPE) constitue un des grands problèmes nutritionnels des Malgaches. Ainsi, une bonne utilisation des grains du haricot peut contribuer à l'amélioration de la qualité des aliments consommés à Madagascar.

Dans l'avenir, il serait intéressant de :

- poursuivre les analyses biochimiques des quatre variétés étudiées plus particulièrement sur la détermination des teneurs en fibres, en vitamines et en éléments minéraux.
- d'étudier des procédés simples permettant de réduire les facteurs antinutritionnels contenus dans les graines de haricot afin de minimiser la diminution de la valeur nutritionnelle des graines lors de sa consommation.
- étudier la valeur nutritionnelle des graines de haricot cuit.
- continuer l'étude d'autres facteurs antinutritionnels comme les tanins hydrolysables, flavonoïdes, glycosides cyanogénétiques, ....dans les graines sèches.
- faire l'analyse sensorielle sur les graines cuites décortiquées et non décortiquées.
- déterminer les teneurs en zinc (Zn) et en fer(Fe)des graines de haricot, pour leurs effets bénéfiques sur l'organisme.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1-ADRIAN J., POTUS J. et FRANGNE R.,1995. La science alimentaire de A à Z, 2<sup>éd</sup> Paris. Technique et documentation Lavoisier ; 477p.

2-AFNOR, 1993. Graines oléagineuses – échantillonnage. In : Corps gras, graines oléagineuses et produits dérivés, 5<sup>ème</sup> éd. Paris, p : 322 – 327.

3-ANDRIAMAMONJY N., 2000. Valeur nutritionnelle des graines sèches de 7 variétés de haricot commun (*Phaseolus vulgaris*)et de 2 variétés d'ambérique (*Vigna umbellatta*). (Mémoire de DEA: Biochimie). Antananarivo: Université d'Antananarivo.

4-ANDRIAMASINANDRAIN M., 2012. Etude de la consommation et de la valeur nutritionnelle des graines de Légumineuses de l'Androy. Mémoire de DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et de la Nutrition, Antananarivo : Université d'Antananarivo.

5-ANDRIAMAZAORO H.,1994. Contribution à l'étude de la valeur nutritionnelle de 5 variétés de haricot commun(*Phaseolus vulgaris*). (Mémoire de DEA Biochimie Pharmacodynamie). Antananarivo Université d'Antananarivo.

6-ANDRIANIRINA J., 2015. Caractérisations nutritionnelle et antinutritionnelle des graines de légumineuses consommées dans l'Androy. Mémoire de DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et de la nutrition. Antananarivo : Université d'Antananarivo.

7-ANDRIANTSOA Z., 2006. Evolution des facteurs antinutritionnels de deux variétés de niébé(*vigna unguiculata*), voanemba mena et voanemba fotsy, au cours de la germination.(Mémoire de DEA de Biochimie appliquée aux sciences de l'alimentation et à la nutrition). Faculté des sciences : Université d'Antananarivo.

8-AYKROYDW.R. et UGHTYJ., 1964. Les grains de légumineuses dans l'alimentation humaine.

9-BANKS W. et GREENWOOD, 1975. Starch and starch Component. Edinburgh University Press: Edinburgh, England, p. 270–273.

10-BESANÇON P.,1978. La valeur nutritionnelle des légumes secs et des protéines de

Légumineuses. Revue française de diététique.

11-BAUDOIN, 1952. Origine et description de haricot et manioc Gupta Y.P., 1981. Flatulence and digestibility of pulses. Pulse Crops Newsletter, 1(3), pp. 63.

12-BORGET, 1989. Les Légumineuses Vivrières Tropicales. Paris Maisonneuve et Larose, 1989; 61p.

13-BOURSIER, 2005. Amidons natifs et amidons modifiés alimentaires, Techniques de l'Ingénieur. Dans <http://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire>.

14-BRAVO L., 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. Nutrition Review, 56: 317 – 333pp.

15-BULEONA., COLONNAP V. et LELOUP., 1990. Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. Actualités des industries alimentaires et agroalimentaires, pp515-532. 1-6.

16-BULÉONA., COLONNA P., PLANCHOT V. et BALL S., 1998. Starch granules: structure and biosynthesis". International Journal of Biological Macromolecules 23.85p-112.

17-CHEFTEL J.C., CUQ J.L. et LORIENT D., 1985. Protéines alimentaires : Biochimie, propriétés fonctionnelles, valeurs nutritionnelles, modifications chimiques. Paris : Technique et Documentation, Lavoisier ; 309p.

18-COME D., 1982. Les semences, organe de vie. In : Multon J. L. Conservation et stockage des grains, graine et produits dérivés. Paris : Technique et documentation Lavoisier, Vol 1 : 233-252.

19-COMELADE E., 1990. Technologie et hygiène alimentaire: les nutriments. Paris: éditions Jacques Lanore, 1990; 144p.

20-DERACHE, 1994. Science et arts culinaires. Lavoisier : Tec et doc, Paris, 232p.

21-DUPIN H., 1992. Besoins nutritionnels (Apports conseilles pour la satisfaction de ces besoins). In : Dupin H., CUQ J-L., Malewiak M.I. Alimentation et nutrition humaines. Paris : ESF éditeur, 290-385.



- 22-DURANTI M., 2006. Grain legume proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia* 77, 67–82p.
- 23-Encyclopédie Encarta, 2009. Encyclopédie Encarta, 2009. Classification des légumineuses. « Légumineuses ». Microsoft Corporation, 2008.
- 24-FAO, 1982. Les graines de Légumineuses dans l'alimentation humaine. FAO : Alimentation et nutrition 20. Rome, 152 p.
- 25-FAO/OMS/UNU, 1986. Besoins énergétiques et besoins en protéines. Série Rapports Techniques 724, Genève : OMS.
- 26-FAO, 1995. Guide des aliments de base dans le monde. Rome ; 52p.
- 27-FAO, 2010. Mission FAO/PAM d'évaluation de la sécurité alimentaire à Madagascar. Système mondial d'information et d'alerte rapide sur l'alimentation et l'agriculture de la FAO, Programme Alimentaire Mondial.
- 28-FENO M. R., 2011. Etude de la consommation des légumineuses dans les ménages d'Antananarivo et détermination de la contribution de différentes variétés de légumineuses à l'équilibre nutritionnel des ménages. (Mémoire de DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et de la Nutrition). Antananarivo: Université d'Antananarivo ; 69p.
- 29-FEINBERG M., 1991 Répertoire général des aliments : table de composition. Paris : Techniques et documentation Lavoisier, 291p.
- 30-GALLIARD et BOWLER, 1987. Morphology and composition of starch, In: Starch: Properties and potential. Ed. T. Galliard. John Wiley & Sons, New York, p. 281.
- 31-GODON B. et LOISEL W., 1991 Dosages des protéines. In Multon J.L.. Techniques d'analyse et de contrôles dans les industries agroalimentaires. Paris : Technique et documentation Lavoisier, 201-216p
- 32-GOUST J., 2003. "Le haricot" In "L'encyclopédie du potager". Actes Sud, Arles.
- 33-GREENFIELD et SOUTHGATE, 1992. Food composition data, New York: Chapman et Hall. 263p.
- 34-GUIGNARD J., 1996. Biochimie végétale. Lavoisier, Paris, 175 – 192pp.

35-HAYESJ.E., ALLEN P., BRUNTOIL N. et O'GRADY M.N., 2011. Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid.

36-HOUNHOUIGAN D.J., 1994. Fermentation of maize (*Zea mays* L.) meal for mawè production in Bénin: Physical, chemical and microbiological aspects, PhD thesis. Agricultural University, Wageningen, The Netherlands, p 83.

37-HUBERT P., 1978. Recueil de fiches techniques d'agriculture spéciale à l'usage des lycées agricoles à Madagascar Antananarivo, BDPA.

38-INSTAT, 2002. Statistiques agricoles, annuaire 2002. Antananarivo : Service de la statistique Agricole Statistiques agricoles, annuaire; Antananarivo: INSTAT, 200 : pp 8.

39-INSTAT ,2004. Les 22 régions de Madagascar en chiffres. 256pp.

40-ISO, 1987. Norme ISO 6647, 1<sup>er</sup> éd. Suisse, 4p.

41- JENKINS D., 1981. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange". American Journal of Clinical Nutrition 34 (3): 362–366.

42-KANSOLE M.M.R., 2009. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques De quelques Lamiaceae du Burkina Faso : cas de *Leucosmartinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* Vahl, et *Orthosiphon pallidus* Royle ex Bent (Mémoire de D.E.A en Sciences Biologiques Appliquées, spécialité : Biochimie et Chimie des Substances Naturelles), Université de Ouagadougou, 54p.

43-LAFARGUE, 2007. Etude et élaboration de films à base de polysaccharides pour la fabrication de gélules pharmaceutiques, Thèse de Doctorat, Université de Nantes.

44-LATTAM ESKIN M., 1980 A simple method for phytate determination. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28, 1313-1315pp.

45-LEACH, COWEN L.D. et SCHOCHT J., 1959 .Structure of the starch granule 1, Swelling and solubility patterns of various starches. Cereal Chemistry 36: 534-544.

46-LESTIENNE I., 2004. Contribution à l'étude de la biodisponibilité du fer et du zinc dans le grain de mil et conditions d'amélioration dans les aliments de complément. (Thèse), Montpellier : Université de Montpellier II, 303p.

47-MAEP, 2004.

Filière Grains secs. Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche, Madagascar : 13p.

48-MALEWIAK, 1992 Aliments et Nutriments In : Dupin H., CUQ J-L., Maleiak M.I. Alimentation et nutrition humains. Paris: ESF éditeur, 1992:85-192.

49-MONNET, 2008. Etude de l'évolution des propriétés mécaniques de matériaux amylacés par sélection et/ou modifications structurales dirigées, Université de Reims Champagne Ardenne.

50-MOSSE, 1990. Les acides aminés des céréales et des légumineuses ;INRA Prod Anim. 3(2) : 103-119.

51-MULTON J.L., 1982. Interaction entre l'eau et les constituants des grains et graines et produits dérivés. Paris : Technique et documentation, Lavoisier, 1 : 115-156p.

52-MULTON J.L., 1991. Technique d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires. 2<sup>e</sup> édition Paris : Technique et documentation, Lavoisier, 1 : 396p.

53-NAGO C.M., 1997. La transformation alimentaire traditionnelle du maïs au Bénin : détermination des caractéristiques physico-chimiques des variétés en usage; relations entre l'obtention et la qualité des principaux produits dérivés. Thèse de Doctorat d'Etat, Paris, France, p 201.

54-NFV 03-908, 1998. Graines oléagineuses. Détermination de la teneur en huile. Costes C, 1981. Protéines foliaires et alimentation. Gautier Villard, Paris.

55-PACHICO, 1989. Trends in world common bean production. In: Schwartz HF, Pastor-Corrales MA, éditeurs. Bean production problems in the tropics. CIAT, Cali, Colombie. pp. 1–8.

56-POISSON J.P., 1991. Métabolisme des acides gras essentiels in: Lemonnier D.,

Ingenbleeky., Henner T. Alimentation et nutrition dans les pays en voie de développement. Paris: Karthala, 464-476p.

57-PORTER J., HRSTICH L.N. et CHAN B.G.,1986. The conversion of Procyanidins and Prodelphinidins to Cyanidin and Delphinidin *Phytochemistry*, 25(1): 223 – 230pp.

58-RAMAKRISHNA V., JHANSIRANI P. et RAMAKRISHNA RAO P., 2006. Anti-Nutritional Factors During Germination in Indian Bean (*Dolichos lablab* L.) Seeds. *World Journal of Dairy & Food Sciences* 1 (1): 06 – 11pp.

59-RAHELIMANDIMBY H., 2011. Etude de la consommation des légumineuses dans les ménages d'Antananarivo et de l'influence des modes de préparation sur la réduction des teneurs en phytates. (Mémoire de DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et de la nutrition). Antananarivo : Université d'Antananarivo.

60-RAMAHERISOA M., 2004. Potentialités nutritionnelles des graines de voandzou : utilisation dans l'alimentation de complément du jeune enfant. Mémoire de DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'alimentation et de la Nutrition, Antananarivo : Université d'Antananarivo.

61-RANDRIANASOLO O.F.M.M., 2013. Consommation et caractéristiques nutritionnelles des graines de légumineuses dans la région Androy ; effets des procédés de préparation sur les teneurs en facteurs antinutritionnels. Mémoire de DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'alimentation et de la Nutrition, Antananarivo : Université d'Antananarivo

62-RASOANAIVO N.M., 2015. Caractérisation de la qualité du riz pluvial : valeur nutritionnelle et texture du riz cuit. Mémoire de DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et de la nutrition. Antananarivo : Université d'Antananarivo.

63-RASOLONDRABEM.N. A., 2004. Essai de fabrication d'amidon à partir de manioc sec. Mémoire de fin d'études, Département IAA, ESSA Antananarivo.

64-REDDY N.R., 2002. Occurrence, distribution, content, and dietary intake of phytate. In Reddy N.R. & Sathe S.K., *Food phytates*: 25-52pp, Boca Raton: CRC Press (2000)

65-SALUNKHE D.K., 1990. Dietary tannins: consequences and remedies. Boca Raton Florida : CRC press.

66-SINGH N., SINGH J. et SODHINS., 2002. Morphological, thermal, rheological and noodle-making properties of potato and corn starch, Journal of the Science of Food and Agriculture. 82; 1376-1383.

67-SINGLETON V.L., ORTHOFER R. et LAMUELARAVENTOS R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by mean of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology (Oxidants and antioxidants, Part A), 299, 152-178pp.

68-VAINTRAUB I.A. et LAPTEVA N.A., 1988. Colorimetric determination of phytate in unpurified extracts of seeds and the products of their processing. Analytical Biochemistry, 175, 227-230p.

69-WOLFF, 1991. Analyse et dosage des lipides, In Multon J.L. Technique d'analyse et Contrôle dans les industries Agroalimentaire. Paris: Technique et documentation. Lavoisier, 1991; Tome 4 : 157-199pp.

#### Webographie

- Wikipédia

(<https://fr.wikipedia.org/wiki/Phaseolus>).

(<http://www.wikipédia.org>).

- Fao

(<http://www.fao.org/docrep>).

(<http://faostat.fao.org/site>).

- Ciat

<http://www.ciat.cgiar.org/africa>).

(<http://museum.agropolis.fr>).

(<http://www.ilerouge.org>)

## ANNEXES

## Annexe 1: Photos et quelques caractéristiques des graines de haricot étudiées

### Haricot (tsaramaso)



UBR (91) 45-1

(tsaramaso mena)

Graine rouge allongée, grande taille

Taille : 1,8\*0,6 / Origine : Antananarivo



BEGIDRO

(tsaramaso fotsy )

Graine blanche allongée, grande taille

Taille : 1,7 \*0,5 / Origine : Antananarivo-



ARA.8.5.1B (B)

(tsaramaso mara)

Graine tachetée de noir, taille petite

Taille : 1,0\*0,5 / Origine : Antsirabe



RAO 55(B)

(tsaramaso mena botakely)

Graine rouge foncée allongée, petite taille

Taille : 1,2\*0,4 / Origine : Antsirabe

**Annexe 2** : Les valeurs de  $a$ ,  $b$  et  $r$  pour calculer la composition en acides aminés

HARICOT			
Gly	169 ± 29	229 ± 118	960
Ala	159 ± 35	392 ± 144	934
Val	260 ± 13	179 ± 54	996
Leu	446 ± 65	317 ± 268	969
Ile	253 ± 26	54 ± 107	985
Ser	388 ± 83	- 53 ± 342	937
Thr	177 ± 45	388 ± 185	915
Tyr	191 ± 29	95 ± 118	968
Phe	386 ± 44	- 22 ± 181	981
Pro	150 ± 21	287 ± 88	971
Trp	n.d.		
Met	53 ± 14	84 ± 55	915
Cys	22 ± 21	204 ± 88	507
Lys	343 ± 39	324 ± 160	981
His	173 ± 7	- 17 ± 29	998
Arg	702 ± 79	-1223 ± 323	982
Asx	677 ± 110	416 ± 451	963
Glx	985 ± 89	24 ± 367	988
Me-Cys	11 ± 62	258 ± 255	101

$r_1 = 0,989 : P = 0,001$

$r_1 = 0,955 : P = 0,01$

$r_1 = 0,804 : P = 0,1$

Chacun des 19 acides aminés  $i$  (ou couples d'acides aminés) est caractérisé par 3 coefficients ; la pente  $a_i$  ( $\pm$ écart type, l'ordonnée à l'origine  $b_i$  ( $\pm$ écart type), et le coefficient de corrélation  $r_i$ . Toutes ces données sont fournies après multiplication par 1000 pour éviter des décimales encombrantes.



**Annexe 3:** Profils de référence en acides aminés essentiels servant à estimer l'indice chimique d'une protéine (FAO/OMS/UNU, 1986).

Acides aminés essentiels	Nourrissons	Enfants de plus de 2ans et adulte
	(mg/g de protéine)	(mg/g de protéine)
Histidine	26	19
Isoleucine	46	28
Leucine	93	66
Lysine	66	58
Méthionine + Cystéine	42	25
Phénylalanine + Tyrosine	72	63
Thréonine	43	34
Tryptophane	17	11
Valine	55	35

**Annexe 4:** Préparation des solutions de CAREZ I et CAREZ II pour le dosage de l'amidon des quatre variétés étudiées.

- Solution de CAREZ I : 21.9g d'acétate de zinc  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  et 3g d'acide acétique glacial sont dissous dans 100ml d'eau distillée.
- Solution de CAREZ II : 10.6g de ferrocyanure de potassium  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  sont dissous dans 100ml d'eau distillée.

**Annexe 5:** Préparation de la gamme de concentration en amylose

Amylose % (m/m)*	Suspension amylose (ml)	Suspension amylpectine (ml)	NaOH 0,09M
0	0	18	2
10	2	16	2
20	4	14	2
25	5	13	2
30	6	12	2

\*concentration en amylose correspondant dans le haricot, % (m/m) sur matière sèche

## **Annexe 6:** Mode d'emploi du viscosimètre de Brookfield

### Manuel : VISCO STAR

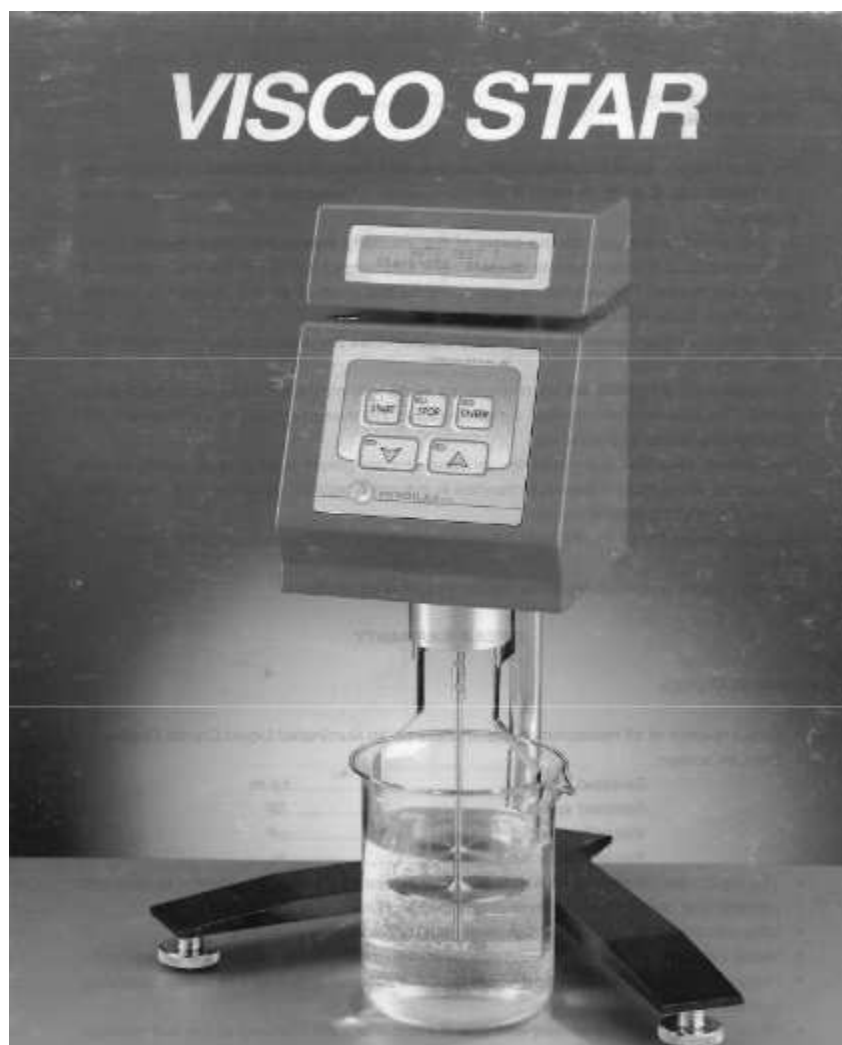
#### Introduction:

Le viscosimètre fonctionne par le principe de rotation d'un cylindre ou bien d'un disque immergé dans le matériel qui doit être testé, tout en mesurant la force de torsion nécessaire pour surmonter la résistance due à la viscosité. Le cylindre ou disque (mobile) giratoire est assemblé avec un ressort à l'arbre moteur qui tourne à une vitesse déterminée. L'angle de déviation de l'axe se mesure électroniquement, donnant ainsi la mesure de la force de torsion. Les calculs réalisés à l'intérieur du viscosimètre à partir des mesures de la force de torsion, de la vitesse de l'axe et de ses caractéristiques, donnent une lecture directe de la viscosité en centipoises ( $cP = mPa.s$ ). Pour n'importe quel liquide de viscosité déterminée, la résistance à l'avance grandit proportionnellement à la vitesse de rotation du mobile ou à la grandeur de celui-ci. Le viscosimètre est construit dans le but de tenir compte de la vitesse sélectionnée et du mobile choisi pour donner les résultats en centipoises. Les combinaisons des mobiles et des vitesses, permettent de choisir la meilleure échelle pour n'importe quelle mesure, dans la gamme de l'appareil. Les changements de gamme peuvent être réalisés en utilisant le même mobile à différentes vitesses pour déterminer les propriétés rhéologiques d'un matériel.

### Modele VISCO STAR R

Le modèle VISCO STAR R possède 19 vitesses qui peuvent être sélectionnées: 0.3, 0.5, 0.6, 1, L5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 10, 12, 20, 30, 50, 100, 200 r.p.m. et une gamme de mobiles qui sont numérotés d'un jusqu'à sept. Le mobile numéro 1 (référence RI) est celui que l'on utilise pour effectuer les mesures de plus basse viscosité.

### Photo VISCO STAR R



Viscosimètre Brookfield VISCO STAR R

#### Annexe 7: Préparation des réactifs pour le dosage des phytates

- Rose de Wade (0,03%  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  et 0,3% d'acide sulfosalicylique): On dissout 1,5 g d'acide sulfosalicylique et 150 mg de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) dans 500 ml d'eau distillée.
- Solution d'acide chlorhydrique 2,4 % (0,6 N) pH 1 : 32,5 ml d'acide chlorhydrique 37% est ajouté dans 500 ml d'eau distillée

#### Annexe 8: Préparation de la gamme étalon pour le dosage des phytates

- Solution mère de phytates à 1,5 mM : on dissout 27,8 mg de phytates (acide phytique) dans 20 ml d'eau distillée. Cette solution est ensuite conservée à 4°C au réfrigérateur.
- Solution fille : on mélange 300  $\mu\text{L}$  de solution mère de phytates à 1,5 mM avec 120  $\mu\text{L}$  d'acide chlorhydrique à 2,4% et 2,6 ml d'eau distillée, de manière à obtenir l'équivalent d'une dilution de la solution mère au 1/10ème dans de l'acide chlorhydrique à 0,1%.
- Solution d'acide chlorhydrique 0,1% : on prélève 20 ml d'acide chlorhydrique 2,4% que l'on dilue dans 500 ml d'eau distillée.

#### Gamme étalon du phytate

Concentration (en $\mu\text{g}$ / ml)		Dilution	Préparation de la dilution
41,5 $\mu\text{g}$ / ml		Dilution $\frac{1}{2}$	1 ml de solution fille + 1 ml de HCl 0,1%
27, 7 $\mu\text{g}$ /ml		Dilution $\frac{1}{3}$	0, 5 ml de solution fille + 1 ml de HCl 0, 1%
20, 8 $\mu\text{g}$ /ml		Dilution $\frac{1}{4}$	1 ml de dilution $\frac{1}{2}$ + 1 ml de HCl 0, 1%
13, 8 $\mu\text{g}$ /ml		Dilution $\frac{1}{6}$	0, 5 ml de dilution $\frac{1}{3}$ + 0, 5 ml de HCl 0, 1%
10, 4 $\mu\text{g}$ /ml		Dilution $\frac{1}{8}$	1 ml de dilution $\frac{1}{4}$ + 1 ml de HCl 0, 1%
5, 2 $\mu\text{g}$ /ml		Dilution $\frac{1}{16}$	0, 5 ml de dilution $\frac{1}{8}$ + 0, 5 ml de HCl 0, 1%
0 $\mu\text{g}$ /ml		Dilution $\frac{1}{25}$	0.75 ml HCl 0, 1% dans tube Ependorf

### **Annexe 9:** Préparation de la solution mère d'acide gallique (AG)

On pèse 25mg d'acide gallique dans une fiole jaugée de 25ml. Du méthanol est ajouté jusqu'au trait de jauge en agitant doucement pour dissoudre l'acide gallique (on obtient une solution d'AG à 1mg/ml). Puis on transfère le mélange dans un récipient pouvant être fermé et stocké au réfrigérateur (2 à 3 semaines au maximum).

### **Annexe10 :** Préparation de la gamme étalon pour le dosage des composés phénoliques

Concentration (en µg/ml)	Préparation de la dilution
500	1000µl de solution mère + 1000µl de méthanol
400	500µl de solution mère + 1000µl de méthanol
200	250µl de solution mère + 1000µl de méthanol
100	1000µl de solution à 200µg/ml + 1000µl de méthanol
50	500µl de solution à 100µg/ml + 1000µl de méthanol
25	500µl de solution 50µg/ml + 1000µl de méthanol
12,5	500µl de solution 25µg/ml + 1000µl de méthanol
0	1000µl de méthanol

Cette gamme a été faite en double.

Dans un tube Eppendorf, on ajoute 100µl de méthanol, 100µl de la gamme, 100µl du réactif de Folin- Ciocalteu, 700µl de carbonate de sodium et 1000µl d'eau distillée et on l'incube à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 1 h. Après incubation, les tubes sont centrifugés pendant 5 min à 6000 rpm à 4°C et la lecture de la densité optique se fait à 765nm contre le méthanol comme blanc

**Title: NUTRITIONAL VALUE and STARCH FUNCTIONAL PROPERTIES OF  
FOUR (4) VARIETIES OF COMMON BEAN SPECIES *Phaseolus vulgaris***

**Author:** RAKOTOBÉ Zo Antenaina

.....

**ABSTRACT:**

Four (4) bean varieties listed in the Legume Program of the collection of the Department of Agricultural Research of Department collectum of Fofifa constitute our study materials. Biochemical analysis revealed an average water content 10.22% of the seeds or 89.78% of dry matter (DM). The contents of various nutrients, based on the dry matter of seeds, are appreciable with 3.57 to 4.55% ash thus mineral elements, 68.98 to 77.33% carbohydrate and 17.86 to 25.30% protein. The latter are of good quality with high rate of essential amino acids at 32%. However, the sulfur amino acids, methionine and cysteine, are the primary factors limiting protein.

Like other bean varieties, seeds are low in fat with grades of 1.24 to 1.75%. Their energy value is around 390.89 Kcal% DM.

Starch grains, 37.32 to 56.82% of total carbohydrates present a high proportion of amylopectin, 74.69 to 78.98g / 100g starch or 21.02 to 25.31g amylose. Microscopy starch granules reveals an ovoid shape for the four varieties, different from that of rice which is polygonal. Regarding the functional properties, the rise in temperature induces the viscosity increase and the power of swelling of the starch.

. Despite the relative wealth of sample nutrient bioavailability of these can be reduced by the presence of anti-nutritional factors. Indeed, the seeds contain phytates with grades ranging from 11.45 to 15.94mg / gDM, total phenols from 0.14 to 0.24% gDM and also condensed tannins with grades from 1.29 to 1.97%DM.

**Keywords**

Beans, nutritional value, starch, functional properties, anti-nutrients.

**Advisors:**

Professor Charlotte RALISON

Dr. Veronirina RAHANITRARIVONY

**Titre: VALEUR NUTRITIONNELLE et PROPRIETES FONCTIONNELLES DE L'AMIDON DE QUATRE (4) VARIETES DE HARICOT COMMUN, ESPECE *Phaseolus vulgaris***

**Auteur** : RAKOTOBE Zo Antenaina

.....

**RESUME** :

Quatre (4) variétés de haricot répertoriées dans la collection du Programme Légumineuses du Département de la Recherche Agronomique du Fofifa constituent nos matériels d'étude. L'analyse biochimique a révélé une teneur moyenne en eau des graines de 10.22%, soit 89.78% de matière sèche (MS). Les teneurs en différents nutriments, par rapport à la matière sèche des graines, sont appréciables avec 3.57 à 4.55% de cendres donc en éléments minéraux, 68.98 à 77.33% de glucides et 17.86 à 25.30% de protéines. Ces dernières sont de bonne qualité avec des taux en acides aminés essentiels supérieurs à 32%. Cependant, les acides aminés soufrés, méthionine et cystéine, constituent les facteurs limitants primaires des protéines.

Comme d'autres variétés de haricot, les graines sont pauvres en lipides avec des teneurs de 1.24 à 1.75%. Leur valeur énergétique se situe autour de 390.89Kcal %MS.

L'amidon des graines, 37.32 à 56.82% des glucides totaux présente une forte proportion en amylopectine, 74.69 à 78.98g/100gd'amidon, soit 21.02 à 25.31g d'amylose. La microscopie des granules d'amidon révèle une forme ovoïde pour les quatre variétés, différente de celle de riz qui est polygonale. En ce qui concerne les propriétés fonctionnelles, l'élévation de la température induit l'augmentation de la viscosité et du pouvoir du gonflement de l'amidon.

Malgré la relative richesse des échantillons en nutriments, la biodisponibilité de ces derniers peut être réduite par la présence de facteurs antinutritionnels. En effet, les graines contiennent des phytates avec des teneurs allant de 11.45 à 15.94mg/g MS, des phénols totaux de 0,14 à 0,24%gMS, également des tanins condensés avec des teneurs 1,29 à 1,97%gMS.

**Mots - clés**

Haricot, valeur nutritionnelle, amidon, propriétés fonctionnelles, facteurs antinutritionnels.

**Encadreur:** Professeur RALISON Charlotte

**Co-encadreur:** Docteur RAHANITRARIVONY Veronirina