



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

LABASAN

Laboratoire de Biochimie
Appliquée aux Sciences de
l'alimentation et à la Nutrition



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

Domaine : SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Mention : BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

Parcours : Sciences des Aliments et Nutrition

Analyse nutritionnelle de quatre nouvelles variétés de *Phaseolus
vulgaris*

(DRKF; CAL 98; RIL 147 (b); RI 5-2)



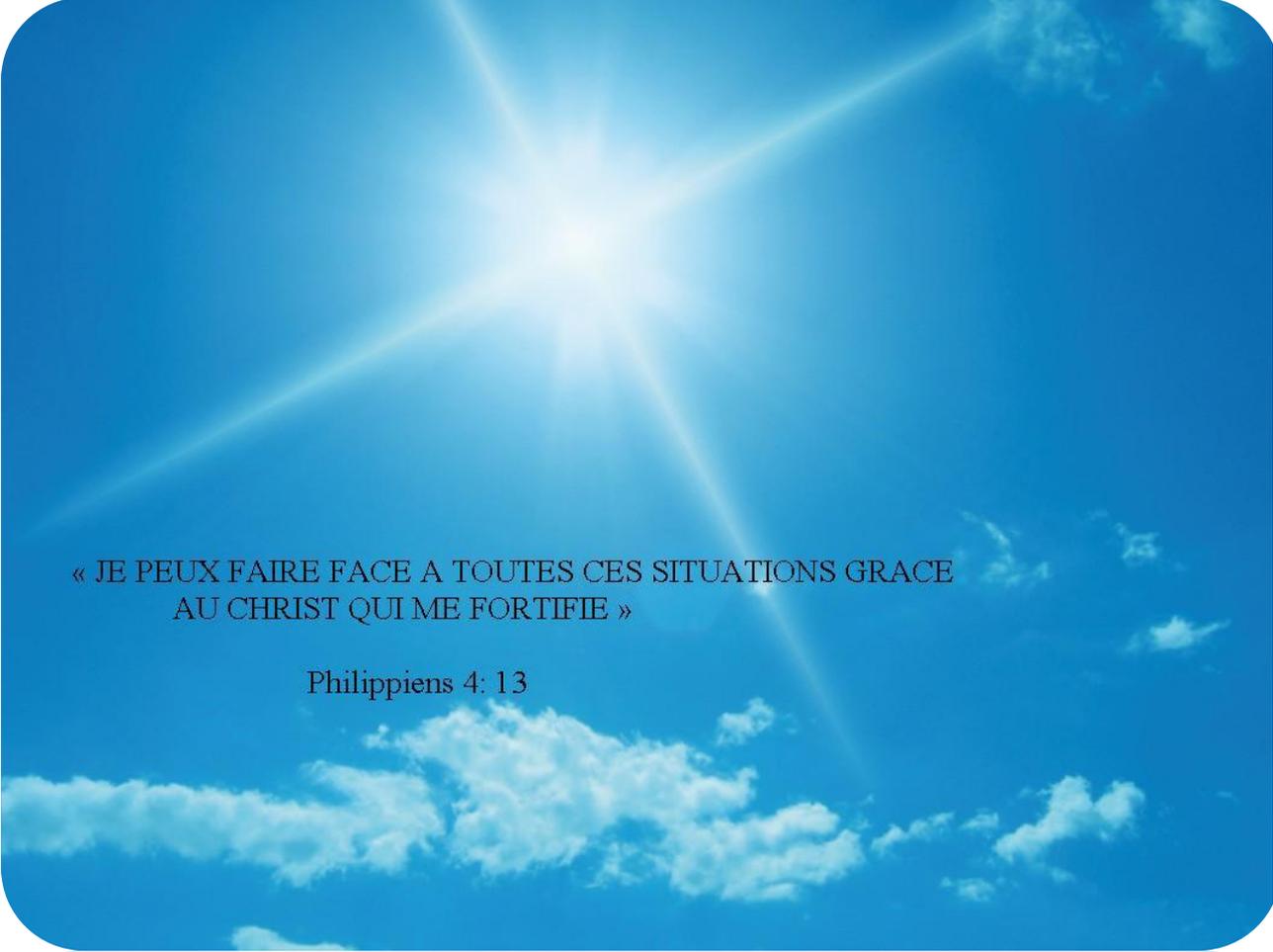
Présenté par : ANDRIATODISOA Vonjiniaina

Maître ès-sciences

Soutenu publiquement le 29 Avril 2016

Devant les membres du Jury :

Président du jury : **Professeur RAHERIMANDIMBY Marson**
Encadreur : **Professeur RALISON Charlotte**
Co-Encadreur : **Docteur RAHANITRARIVONY Veronirina**
Examineurs : **Docteur HARIMALALA ANDRIAMBELO Nirina**
Docteur RAZAFINDRAZAKA Vonimanitra



« JE PEUX FAIRE FACE A TOUTES CES SITUATIONS GRACE
AU CHRIST QUI ME FORTIFIE »

Philippiens 4: 13



REMERCIEMENTS

Le présent travail a été réalisé au :

- Laboratoire de Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et à la Nutrition (LABASAN) de l'Université d'Antananarivo,
- Laboratoire physico-chimique de l'Université ASJA à Antsirabe,
- Laboratoire de Biologie Moléculaire (LBM) du FO.FI.FA/CIRAD à Ambatobe,
- Laboratoire des Industries Agricoles et Alimentaires (IAA) de l'ESSA, Antananarivo.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à :

- Monsieur le Professeur **RAHERIMANDIMBY Marson**, Doyen de la faculté des Sciences, qui, malgré ses multiples occupations a bien voulu accepter de me faire le grand honneur de présider le jury de ce mémoire.
- Madame le Professeur **RALISON Charlotte** et Madame le Docteur **RAHANITRARIVONY Veronirina** qui, malgré leurs nombreuses occupations, ont bien voulu accepter de nous encadrer pour nos travaux et nous prodiguer leurs encouragements tout au long de notre stage.
- Madame le Docteur **HARIMALALA ANDRIAMBELO Nirina** et Madame le Docteur **RAZAFINDRAZAKA Vonimanitra** qui ont aimablement accepté d'apporter leurs compétences dans l'examen de ce mémoire.

Nous tenons à remercier particulièrement :

- Monsieur **ANDRIAMAZAORO Herimihamina**, Coordinateur National du programme Légumineuses au sein du FO.FI.FA, de nous avoir fourni gracieusement les matériels d'étude.
- Monsieur **TSIRINIRINDRAVO Herisetra Lalaina**, Recteur de l'Université ASJA de nous avoir aidé lors des analyses physico-chimiques.
- Toute l'équipe du Laboratoire de Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et à la Nutrition de la faculté des Sciences d'Antananarivo.
- Toute l'équipe du Laboratoire de Biologie Moléculaire à Ambatobe pour l'accueil et l'ambiance qu'ils nous ont réservés.

Nous remercions également toutes les personnes ayant contribuées, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

QUE DIEU VOUS BENISSE!

Sommaire

<i>Liste des figures</i>	<i>i</i>
<i>Liste des tableaux</i>	<i>ii</i>
<i>Liste des annexes</i>	<i>iii</i>
<i>Liste des abréviations</i>	<i>iv</i>
<i>Glossaire</i>	<i>v</i>
INTRODUCTION	1
PARTIE I. : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	2
I.1. GENERALITES SUR LE HARICOT COMMUN	2
I.1.1. Historique	2
I.1.2. Description botanique	2
I.1.3. Classification botanique	3
I.1.4. Variétés cultivées à Madagascar	3
I.1.5. Situation de production et d'exportation à Madagascar	3
I.1.6. Importance de la culture	4
I.2. CARACTERISTIQUES NUTRITIONNELLES DES GRAINES DE HARICOT	4
I.2.1. L'eau.....	4
I.2.2. Les micronutriments.....	4
I.2.3. Les protéines	5
I.2.4. Les lipides	5
I.2.5. Les matières hydrocarbonées	5
I.2.5.1. L'amidon.....	5
I.2.5.2. Les glucides solubles	7
I.2.5.3. Les fibres alimentaires	7
I.3. LES FACTEURS ANTINUTRITIONNELS	8
I.3.1. Définition	8
I.3.2. Les facteurs antinutritionnels dans les graines de légumineuses	8
I.3.2.1. Les phytates	8
I.3.2.2. Les composés cyanogénétiques	9

I.3.2.3.	Les lectines.....	9
I.3.2.4.	Les inhibiteurs de protéases	9
I.3.2.5.	Les saponines	10
I.3.2.6.	Les polyphénols	10

PARTIE II. : MATERIELS ET METHODES 11

II.1. CHOIX DES VARIETES DE HARICOT 11

II.2. ANALYSE NUTRITIONNELLE DES GRAINES 11

II.2.1. Détermination de la teneur en matière sèche 11

II.2.2. Détermination de la teneur en cendres brutes 12

II.2.3. Etude des protéines..... 12

II.2.3.1. Détermination de la teneur en protéines totales 12

II.2.3.2. Détermination quantitative des acides aminés des protéines 13

II.2.3.3. Détermination de l'indice chimique et identification de l'acide aminé facteur limitant 14

II.2.4. Détermination de la teneur en lipides..... 14

II.2.5. Etude des substances glucidiques..... 15

II.2.7.1. Détermination de la teneur en glucides..... 15

II.2.7.2. Etude de la structure et de quelques propriétés fonctionnelles de l'amidon 19

II.2.6. Détermination de la valeur énergétique globale..... 21

II.3. ETUDE DE QUELQUES FACTEURS ANTINUTRITIONNELS DANS LES GRAINES..... 21

II.3.1. Dosage des phytates 21

II.3.2. Dosage des composés phénoliques totaux 23

II.3.3. Dosage des tanins condensés..... 24

II.4. TRAITEMENT DES DONNEES 25

PARTIE III. : RESULTATS ET INTERPRETATIONS 26

III.1. TENEURS EN NUTRIMENTS DES ECHANTILLONS 26

III.1.1. Teneurs en eau et en matière sèche des graines 26

III.1.2. Teneur en cendres brutes des graines 26

III.1.3. Valeur protéique 27

III.1.3.1. Protéines totales 27

III.1.3.2. Teneur en acides aminés des protéines 27

III.1.3.3. Indices chimiques et acides aminés facteurs limitant des graines.....	28
III.1.4. Valeur lipidique.....	29
III.1.5. Valeur glucidique	29
III.1.5.1. Teneur en glucides	29
III.1.5.2. Propriétés fonctionnelles de l'amidon de la farine de haricot.....	31
III.1.6. Apport énergétique des graines	34
III.1.7. Récapitulation des valeurs nutritionnelles des échantillons	34
III.2. TENEURS EN FACTEURS ANTINUTRITIONNELS DES GRAINES	35
<i>PARTIE IV. : DISCUSSION.....</i>	<i>37</i>
<i>PARTIE V. : CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</i>	<i>39</i>
<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</i>	<i>40</i>
<i>ANNEXES</i>	
<i>RESUME</i>	
<i>ABSTRACT</i>	

Liste des figures

Figure 1: Le haricot	2
Figure 2: Composition nutritionnelle de 100 g du Lingot blanc	4
Figure 3: Structure du grain d'amidon à différents niveaux d'organisation	6
Figure 4: Structure de l'acide phytique, myo-inositol 1, 2, 3, 4, 5,6 hexaphosphate, à pH neutre	8
Figure 5: Diagramme de fabrication de l'amidon de haricot	19
Figure 6: Farines des échantillons	31
Figure 7: Granules d'amidon des échantillons.	32
Figure 8: Granules d'amidon de riz, de pomme de terre et de haricot.....	32
Figure 9: Pouvoir de gonflement de l'amidon.....	33
Figure 10: Viscosité apparente de l'amidon.....	34

Liste des tableaux

Tableau 1: Propriétés physicochimiques de l'amylose et de l'amylopectine.....	6
Tableau 2: Teneurs en eau et en matière sèche des graines	26
Tableau 3: Taux en cendres brutes.....	26
Tableau 4: Teneur en protéines totales.....	27
Tableau 5: Taux des acides aminés exprimés en g pour 100g de protéines.....	27
Tableau 6: Taux des acides aminés essentiels par rapport aux acides aminés totaux.....	28
Tableau 7: Scores chimiques des protéines des graines selon le profil de référence des jeunes enfants âgés de moins de 2 ans (FAO/OMS/UNU, 1986)	28
Tableau 8: Scores chimiques des protéines des graines selon le profil de référence des jeunes enfants âgés de plus de 2 ans et adultes (FAO/OMS/UNU, 1986)	28
Tableau 9: Teneurs en lipides des échantillons.....	29
Tableau 10: Teneurs en substances glucidiques des échantillons.....	29
Tableau 11: Caractéristiques de l'amidon de quelques aliments	30
Tableau 12: Taux d'extraction de l'amidon.....	31
Tableau 13: Valeur énergétique des échantillons.....	34
Tableau 14: Récapitulation des valeurs nutritionnelles des échantillons.....	35
Tableau 15: Valeurs nutritionnelles de quelques légumineuses	35
Tableau 16: Teneurs en facteurs antinutritionnels des graines	35
Tableau 17: Teneurs en facteurs antinutritionnels de quelques légumineuses.....	36

Liste des annexes

Annexe 1: Caractères morphologiques des échantillons

Annexe 2: Caractères agronomiques des échantillons

Annexe 3: Photos des échantillons

Annexe 4: Les valeurs de a, b et r pour calculer la composition en acides aminés

Annexe 5: Profils de référence en acides aminés essentiels

Annexe 6: Préparation des réactifs pour dosage de l'amidon

Annexe 7: Préparation de la gamme de concentration en amylose

Annexe 8: Préparation des réactifs et de la gamme étalon (Dosage des phytates)

Annexe 9: Préparation des réactifs et de la gamme étalon (Dosage des phénols totaux)

Annexe 10: Préparation de la gamme étalon (Dosage des tanins condensés)

Annexe 11: Différents matériels utilisés lors des études physico-chimiques

Liste des abréviations

- AFNOR** : Association Française pour la Normalisation.
- AG** : Acide Gallique
- ASJA** : Athénée Saint Joseph Antsirabe.
- CB** : Cendres Brutes
- CIAT** : Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- FAO** : Food and Agriculture Organization.
- FO.FI.FA** : Foibem-pirenena momba ny Fikarohana ampiharina amin'ny Fampanandrosoana ny eny Ambanivohitra.
- IFT** : Institute of Food Technologists.
- INSTAT** : Institut National de la Statistique.
- 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.
- MS** : matières sèches
- SEECALINE** : Surveillance et Education des Ecoles et des Communautés en Alimentation et Nutrition Elargie.
- OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

Glossaire

Antioxydant : Substance capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation.

Baïboho : Terre alluvionnaire, terre fertile de décrue.

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

Contre saison : En dehors de la saison normale.

Digestibilité : Capacité d'un aliment à être assimilé dans le tube digestif.

Entérocyte : Cellule de l'épithélium de la muqueuse intestinale.

Flatulence : Accumulation de gaz dans le tube digestif, et expulsion bruyante de ce gaz.

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

Légumineuses : Groupe de plantes à fleurs (Angiospermes) Dicotylédones, dont le fruit est une gousse.

Organoleptique (ou sensoriel) : Caractère d'un produit pouvant être apprécié par les organes des sens humains.

Rhéologie : Science qui étudie les phénomènes conditionnant l'écoulement et la déformation de la matière.

Tanety : Partie versante des vallées et collines, difficilement accessible à l'eau.

Introduction

INTRODUCTION

Madagascar regorge de ressources alimentaires diverses, tant animales que végétales. Parmi les produits agricoles, on peut citer les céréales, les fruits, les légumes, les légumes-feuilles et les légumineuses. Ces dernières notamment ont la particularité d'être riches en protéines relativement peu coûteuses (Young et Pelett, 1994). Parmi la grande famille des légumineuses à graines, les haricots (*Phaseolus vulgaris*) ont des protéines riches en acides aminés indispensables dont la lysine, avec un taux moyen supérieur à 32 % des acides aminés totaux, ce qui permet de les considérer comme de bonne valeur biologique (Andriamamonjy, 2000). Par ailleurs, ils ont l'avantage d'être bien lotis en certains éléments minéraux tels que le potassium, le magnésium, le fer, le zinc et le calcium. Cependant, la présence des facteurs antinutritionnels dans les graines peut diminuer la valeur nutritionnelle de ces aliments (Jenkins, 1994).

Le FO.FI.FA mène actuellement des recherches sur de nouvelles variétés de haricot qui résistent au stress dû à la sécheresse, à la maladie et aux ravageurs. Le présent travail se propose ainsi de déterminer les caractéristiques nutritionnelles et antinutritionnelles de quatre de ces variétés et d'étudier les propriétés fonctionnelles de leur amidon.

Ce document s'articule de la façon suivante : la première partie est consacrée à une revue bibliographique sur le haricot; la seconde décrit les matériels et méthodes utilisés et la troisième présente et interprète les résultats obtenus suivie d'une discussion à la quatrième partie. Il se termine par une conclusion et l'énoncé de quelques perspectives.

Revue bibliographique

PARTIE I. : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. GENERALITES SUR LE HARICOT COMMUN

I.1.1. Historique

Le haricot commun (*Phaseolus vulgaris*), baptisé par Linné en 1753 est une plante originaire d'Amérique (Pérou et Colombie). Il est largement cultivé et représente l'une des composantes les plus importantes de l'alimentation en Amérique latine et en Afrique. Le haricot est cultivé depuis longtemps dans le centre de Madagascar (Mayeur le signalait déjà en 1775). Cette culture a été étendue depuis, à l'Ouest et au Sud-ouest (<http://www.ilerouge.org>).

I.1.2. Description botanique

Le haricot commun est une plante herbacée. Il a des feuilles trifoliolées, des fleurs réunies en grappes axillaires avec corolle papilionacée, et des fruits en gousses. La couleur et la forme des graines de haricots sont variables selon les variétés. Le cycle végétatif des haricots est compris entre 80 à 100 jours (Hubert, 1978).



Plante



Gousse



Graines

Figure 1: Le haricot

Source : Auteur

1.1.3. Classification botanique

Ordre :	ROSALES
Famille :	FABACEE OU LEGUMINEUSES
Sous -Famille :	PAPILONNIDAE
Genre :	<i>Phaseolus</i>
Espèce :	<i>vulgaris</i>
Nom Anglais :	Bean
Nom Français :	Haricot
Nom Malgache :	Tsaramaso
Source :	Baudoin, 1952

1.1.4. Variétés cultivées à Madagascar

L'espèce *vulgaris* comprend un très grand nombre de variétés obtenues par croisement ou par sélection (Hubert, 1978) :

- Haricot sans parchemin ou « mangetout »
- Haricot avec parchemin ou « haricot à écosse » : variétés pouvant se consommer à l'état de haricot vert ou état de haricot frais.
- Les variétés se consommant à l'état de haricot sec tels que : Soissons blancs, Lingot blanc, coco blanc, Rouge sang de bœuf, Flageolet vert, Lingot rouge...

1.1.5. Situation de production et d'exportation à Madagascar

Zones de production

La culture de haricot nécessite une altitude moyenne, des pluies régulières (400-1600 mm/an) et une température plus ou moins forte entre 17,5°C et 22,5°C. Ces conditions agro-climatiques sont rencontrées dans la grande île en particulier sur les Hauts-Plateaux, à Antsirabe et à Fianarantsoa qui occupent 80% de production, et à l'Ouest (Miandrivazo) sauf sur la côte Est.

La culture de haricot est en fonction de la saison :

- Sur les Tanety durant la saison pluviale ;
- Dans les bas-fonds pendant les contre saisons ;
- Sur les Baiboho pendant la saison sèche (MAEP, 2004).

Superficie et production de haricot par région de Madagascar

Depuis l'année 2010, la superficie de la production de haricot à Madagascar est environ 78 500 Ha tandis que la production s'élève à 82 000 T (INSTAT, 2014).

Exportation de haricot, effectuée par Madagascar

Quelques variétés de haricot sec font l'objet d'exportation (Pink Bean, Red Common...). Madagascar a exporté 5 000 T de grains secs de haricot en 2005 contre 35 000 T en 2013 (INSTAT, 2014).

1.1.6. Importance de la culture

Dans l'agriculture, il est capable de fixer l'azote (N) à partir de l'air grâce à des nodules racinaires, permettant la fertilisation du sol. Le haricot sec est un excellent produit de rente pour le marché local et d'exportation (MAEP, 2004).

I.2. CARACTERISTIQUES NUTRITIONNELLES DES GRAINES DE HARICOT

Le haricot est la légumineuse la plus consommée des Malgaches environ 45 g/pers/j (FO.FI.FA, 2010). La valeur nutritionnelle de haricot (cas du lingot blanc) est détaillée dans la figure 2.

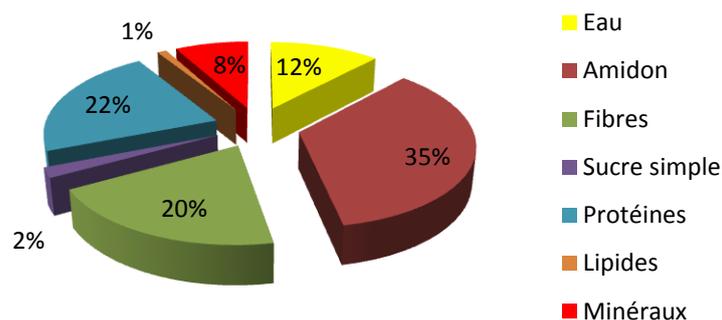


Figure 2: Composition nutritionnelle de 100 g du Lingot blanc

Source : Andriamamonjy, 2000

1.2.1. L'eau

Dans les graines, l'eau se présente sous 2 formes : l'eau libre et l'eau liée (Linden, 1991). La teneur de cette dernière conditionne la durée de stockage des graines (Multon, 1982).

1.2.2. Les micronutriments

Les micronutriments qui sont essentiellement des vitamines (exemple : vitamines A, B, C, D, E et K), des minéraux (tels le calcium et phosphore) et des traces d'éléments (fer, zinc, sélénium et manganèse) sont des co-facteurs essentiels pour le métabolisme. La croissance, la production d'énergie ainsi que de nombreuses fonctions ne pourraient s'effectuer sans eux (<http://www.caducee.net/Fiches-techniques/EUFIC/nutrition2.asp>).

Le haricot apporte des vitamines et des minéraux comme le potassium (1154,20 mg/100g de MS), le phosphore (444,74 mg/100g de MS) et le calcium (166,60 mg/100g de MS) (Andriamamonjy, 2000).

1.2.3. Les protéines

Les protéines se trouvent en grande quantité dans les graines de haricot. Elles sont dégradées par des enzymes digestives, les protéases, pour fournir les acides aminés. Parmi ces acides aminés, la lysine se trouve en quantité importante dans le haricot (Andriamamonjy, 2000).

1.2.4. Les lipides

Les lipides fournissent une quantité d'énergie (9 Kcal/g) deux fois supérieure à celle apportée par les glucides ([http : // www.caducee.net/Fiches-techniques/EUFIC/nutrition2.asp](http://www.caducee.net/Fiches-techniques/EUFIC/nutrition2.asp)).

La teneur en lipides dans les graines de haricot est très faible de 1-2 g/100g de MS (Andriamazaoro, 1994).

1.2.5. Les matières hydrocarbonées

Les matières hydrocarbonées sont les principaux constituants des graines de haricot notamment les glucides. Ils occupent environ 57-65 g/100g de MS (Andriamazaoro, 1994).

1.2.5.1. L'amidon

Définition

L'amidon est un polysaccharide, d'origine végétale qui constitue la source d'énergie principale utilisée dans l'alimentation humaine (Nayouf, 2003).

Utilisation de l'amidon

Les utilisations alimentaires de l'amidon sont multiples et vont bien au delà de son rôle nutritionnel d'origine. Pratiquement toutes les industries alimentaires utilisent l'amidon ou ses dérivés, que ce soit sous forme d'amidons natifs ou modifiés ou encore de produits d'hydrolyse. L'amidon peut être considéré comme un ingrédient multifonctionnel dans l'industrie alimentaire. À l'état natif ou modifié, il est surtout employé comme agent épaississant, gélifiant ou stabilisant, comme rétenteur d'eau ou encore comme agent d'encapsulation (Nayouf, 2003).

Structure moléculaire et composition de l'amidon

L'amidon est constitué de deux polymères de base, l'amylose et l'amylopectine. L'amidon natif contient environ 65 à 83 % de molécules d'amylopectine et de 17 à 35 % de l'amylose.

Les principales caractéristiques qui donnent à chaque type d'amidon ses propriétés uniques sont:

1. les grandeurs caractéristiques des molécules.
2. le rapport amylose/amylopectine.
3. la structure granulaire de l'amidon.

Tableau 1: Propriétés physicochimiques de l'amylose et de l'amylopectine

Propriétés	Amylose	Amylopectine
Masse moléculaire	5 000 – 200 000	un à plusieurs millions
Liaison glycosidique	(1,4)- α -D-	(1,4)- α -D- et (1,6)- α -D
Susceptibilité pour rétrogradation	grande	Petite
Structure moléculaire	linéaire	Chaînes ramifiées
Zone	Amorphe	Cristalline
Organisation	Hélicoïdale	Feuillet

Source : Whistler *et al.*, 1984

L'organisation de la structure du grain d'amidon à différents niveaux est représentée par le schéma ci-dessous.

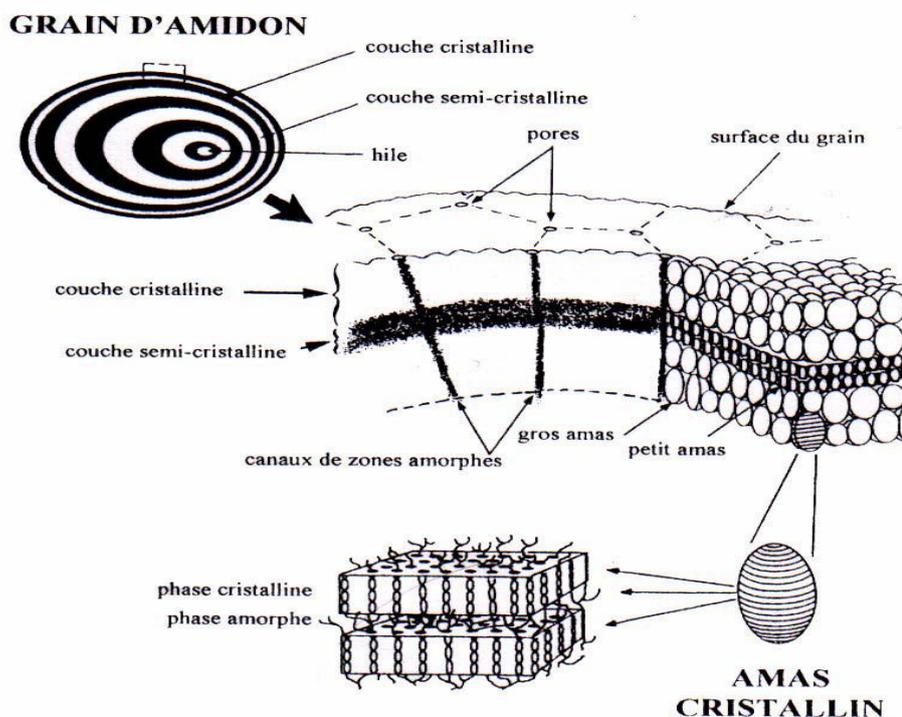


Figure 3: Structure du grain d'amidon à différents niveaux d'organisation

Source : Gallant *et al.*, 1997

Transformations hydrothermiques de l'amidon

Du fait de sa structure chimique, l'amidon est fortement hydrophile ; par ailleurs, les régions cristallines et amorphes réagissent de différentes manières. A température ambiante, l'eau pénètre plus facilement dans les régions amorphes et interagit avec les molécules d'amidon par l'intermédiaire de liaisons hydrogènes, ce qui conduit à un léger gonflement des grains d'amidon ; toutefois ce gonflement est réversible. Par contre, lorsqu'on chauffe cette suspension d'amidon et que l'on atteint une température dite de gélatinisation (environ 50°C selon la source botanique), le phénomène d'empesage, irréversible, intervient. Enfin, en revenant à température ambiante, il y a gélification par rétrogradation de l'amidon (Nayouf, 2003).

I.2.5.2. Les glucides solubles

Le glucide soluble est le plus petit maillon de la famille des glucides qui est responsable du goût sucré des aliments. Sa teneur est faible dans les graines de haricot, soit environ 1 à 2 % MS (Andriamamonjy, 2000).

I.2.5.3. Les fibres alimentaires

Les fibres alimentaires qui se trouvent exclusivement dans les végétaux, regroupent un ensemble de substances qui ne sont pas digérées par l'organisme. Une alimentation riche en fibres est associée à un plus faible risque de cancer du colon. Les haricots secs renferment les deux grands types de fibres, solubles et insolubles. On attribue aux fibres insolubles la capacité de prévenir la constipation en augmentant le volume des selles. Les fibres solubles de leur côté, peuvent contribuer à la prévention des maladies cardiovasculaires en diminuant notamment l'absorption des acides biliaires. Elles peuvent également aider au contrôle du diabète de type 2 grâce, entre autres, à un ralentissement de la digestion du glucose des aliments (Marlett *et al.*, 2002). Il est recommandé de consommer 25 g de fibres par jour pour les femmes de 19 ans à 50 ans, et 38g par jour pour les hommes du même groupe d'âge (OMS, 2003).

I.3. LES FACTEURS ANTINUTRITIONNELS

I.3.1. Définition

Les facteurs antinutritionnels (FAN) sont définis comme des composés susceptibles de réduire l'efficacité et la biodisponibilité d'un nutriment sur son site d'utilisation cellulaire. Ce sont des substances qui bloquent, après ingestion, l'utilisation digestive ou métabolique des nutriments (Besançon, 1978).

I.3.2. Les facteurs antinutritionnels dans les graines de légumineuses

Les FAN des légumineuses sont de natures chimiques diverses et de toxicité variable : substances anémiantes (vicine et convicine chez la féverole, responsables du favisme), facteurs de faible digestibilité (tanins, inhibiteurs de protéases, phytates), agents de flatulence (α -galactosides du haricot et du lupin), etc.... (Gerard, 1996).

I.3.2.1. Les phytates

L'acide phytique ou acide myo-inositol hexaphosphorique de formule brute $C_6H_{18}O_{24}P_6$ et de PM 660 Da, est composé d'un radical inositol estérifié par 6 radicaux phosphates.

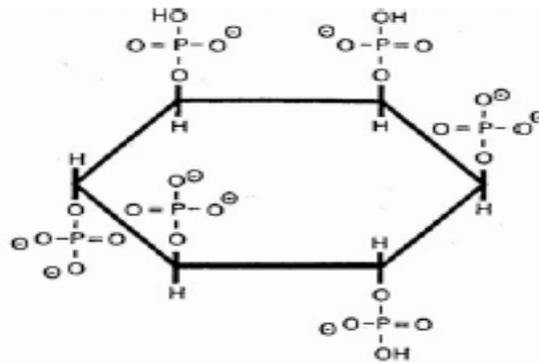


Figure 4: Structure de l'acide phytique, myo-inositol 1, 2, 3, 4, 5, 6 hexaphosphate, à pH neutre

Source : Anderson, 1920

Les phytates sont les principaux agents chélateurs des cations bivalents (Mg^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+}) des graines de céréales et de légumineuses au cours de la digestion.

L'effet des phytates sur la biodisponibilité dépend de plusieurs facteurs : le pH, la taille et la valence du minéral, le degré de phosphorylation de phytates, ainsi que leur rapport molaire et la matrice alimentaire incluant la présence d'activateurs ou d'autres inhibiteurs de l'absorption intestinale (Harland et Morris, 1995).

Les phytates peuvent également entraîner une diminution de la digestibilité de l'amidon, par la formation de liaisons avec les amylases, ou par la chélation du calcium nécessaire pour le bon fonctionnement des amylases, empêchant ainsi ces enzymes d'hydrolyser l'amidon en glucose (Yoon *et al.*, 1983).

La localisation des phytates varie avec le type de plante : dans le cas des graines de légumineuses, l'acide phytique est dispersé dans les cotylédons.

Le trempage peut entraîner une réduction des teneurs en FAN et notamment en phytates de 53% (voandzou) et de 20-24 % (ambérique) (Rahelimandimby, 2011).

I.3.2.2. Les composés cyanogénétiques

Il s'agit particulièrement des glycosides, sources de cyanures, qui sont des substances nocives libérées par hydrolyse enzymatique ou chimique de l'acide cyanhydrique. Leur teneur dans les graines de légumineuses couramment consommées est négligeable ; ils sont facilement éliminés par la cuisson dans l'eau (Dadalo *et al.*, 1987).

I.3.2.3. Les lectines

Les lectines sont des glycoprotéines de masse molaire élevée. Elles sont présentes dans les graines, plus précisément dans le cytoplasme des cellules, comme les protéines de réserve. Elles se forment au cours de la maturation et sont détruites lors de la germination. Les lectines sont surtout fréquentes chez les légumineuses rendant ces dernières inconsommables pour l'homme et pour les animaux supérieurs. Elles sont par contre détruites par le trempage et la cuisson (Andrianirina, 2015).

Certains de ces composés abaissent également la valeur nutritionnelle des protéines végétales natives, par formation d'un complexe avec les polysides membranaires des entérocytes, entravant ainsi le transport des acides aminés et la digestibilité.

Certaines lectines inhibent la croissance, entraînant une perte de poids, de la diarrhée, et dans certains cas, pour les plus toxiques, la mort. Elles peuvent provoquer une réduction de la taille des villosités intestinaux et une augmentation du renouvellement cellulaire (Cheftel, 1985 ; Bruneton, 1987).

I.3.2.4. Les inhibiteurs de protéases

Les graines des légumineuses contiennent des inhibiteurs de protéases qui agissent sur les enzymes protéolytiques pancréatiques au cours de la digestion. Il s'agit de protéines de poids moléculaire moyen variant de 8000 à 22000 daltons qui inhibent spécifiquement la trypsine et

la chymotrypsine. En effet, ces inhibiteurs complexent les enzymes bloquant ces dernières dans leur action lors de la digestion. Mais, ils sont facilement inactivés par des traitements thermiques à des températures supérieures à 80°C (Cheftel, 1985 ; Cuq, 1992).

I.3.2.5. Les saponines

Ce sont des substances de nature glucosidique existant à une teneur d'environ 14 g/kg de MS. Certains cultivars peuvent en contenir jusqu'à 21 g/kg de MS (IFT, 1979). Elles sont thermostables et le seul processus permettant leur élimination est la fermentation. Les saponines entraînent la flatulence qui est due à la fermentation des oligosaccharides (raffinose et stachyose) par les microorganismes intestinaux (FAO, 1990).

I.3.2.6. Les polyphénols

Les polyphénols (flavonoïdes, tanins, acides phénoliques) sont très répandus dans le règne végétal. Il s'agit d'un groupe très diversifié de composés phénoliques plus ou moins polymérisés ou condensés. Les interactions des tanins avec les protéines dans l'aliment et dans le tractus digestif au niveau de la muqueuse intestinale expliquent leurs effets antinutritionnels. En effet, après oxydation, les tanins se lient par l'intermédiaire de liaisons covalentes aux résidus lysine des protéines (Malewiak, 1992).

Cependant, les tanins ayant des propriétés astringentes sont utilisés pour améliorer la palatabilité des aliments, tandis qu'à forte dose cette astringence diminue l'appétibilité, réduit la consommation alimentaire et par conséquent la croissance (Harris et Burns, 1970).

Matériels et méthodes

PARTIE II. : MATERIELS ET METHODES

II.1. CHOIX DES VARIETES DE HARICOT

Les échantillons étudiés ont été fournis gracieusement par les chercheurs sélectionneurs du FO.FI.FA. Il s'agit de quatre (04) nouvelles variétés de haricot commun résistantes au stress et codées comme suit : *DRKF*; *CAL 98* ; *RIL147(b)*; *RI 5-2*.

Les caractères morphologiques, agronomiques et les images de chaque variété sont présentés en Annexes 1, 2, 3.

II.2. ANALYSE NUTRITIONNELLE DES GRAINES

II.2.1. Détermination de la teneur en matière sèche

Principe

La méthode utilisée est celle décrite par l'AFNOR (1989) qui consiste en une dessiccation de l'échantillon à une température de $103\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Mode opératoire

Dix grammes (10 g) d'échantillon sont introduits dans un verre de montre sec préalablement taré. Une opération de séchage, dont la durée correspond à 48 heures, se fait à l'étuve réglée à 103°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant (écart < 2 mg).

La teneur en eau est donnée par la formule suivante :

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

Avec : H % : teneur en eau exprimée en g pour 100 g d'échantillon

m_0 : masse de la capsule vide (en g)

m_1 : masse de la capsule avec l'échantillon avant étuvage (en g)

m_2 : masse de la capsule avec l'échantillon après étuvage (en g)

Ensuite, la teneur en matière sèche (MS %) est déduite de celle de l'humidité, selon la relation :

$$\mathbf{MS\% = 100 - H\%}$$

II.2.2. Détermination de la teneur en cendres brutes

Principe

Les cendres brutes sont obtenues par destruction de toutes particules charbonneuses. Elles contiennent tous les éléments minéraux présents dans l'échantillon (Duvac, 1953; AFNOR, 1993; Laurent, 1991)

Mode opératoire

Cinq grammes (5 g) d'échantillon, pesés à 1 mg près, sont mis dans une capsule pesée préalablement, et ensuite le tout est incinéré pendant environ 5 heures dans un four à moufle à 550°C. La capsule est ensuite refroidie dans un dessiccateur puis immédiatement pesée.

Mode de calcul

La teneur en cendres brutes, exprimée en g pour 100g de l'échantillon est obtenue selon la formule suivante :

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

Avec

m_0 : masse de la capsule d'incinération vide (en g)

m_1 : masse de la capsule d'incinération munie de l'échantillon avant incinération (en g)

m_2 : masse de la capsule d'incinération munie de l'échantillon après incinération (en g)

II.2.3. Etude des protéines

II.2.3.1. Détermination de la teneur en protéines totales

Elle est réalisée selon la méthode de Kjeldahl (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 :

- La minéralisation

Dans un matras du minéralisateur, on introduit 0,5 g d'échantillon; 10 ml d'acide sulfurique concentré 98 % et 0,7 g de catalyseur (mélange de $CuSO_4$ et K_2SO_4). Le matras est chauffé jusqu'à ce que son contenu devienne limpide, soit environ 6 h.

- La distillation

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

- Le dosage de l'azote

Le distillat contenant l'ammoniac est dosé avec une solution d'acide sulfurique 0,1 N jusqu'à virage de la coloration au rose. Le volume d'acide sulfurique nécessaire est noté.

Résultats

La teneur en azote totale est déterminée selon la formule suivante

$$N\% = \frac{V \times T \times 0,014 \times 100}{m}$$

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

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

T : Normalité de la solution d'acide sulfurique utilisée lors du titrage (0,1 N)

m : masse en g de l'échantillon

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

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

II.2.3.2. Détermination quantitative des acides aminés des protéines

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 qui sont définies par 3 coefficients (a, b et r) déterminables expérimentalement. La connaissance de ces coefficients (Annexe 4) permet de calculer la composition en acides aminés à partir de leur taux d'azote.

Le taux (A_i) d'acides aminés en g pour 100 g de matière sèche est de :

$$A_i = (a_iN + b_i) / 1000$$

La concentration (C_i) en acides aminés en g pour 100g de protéines brutes est obtenue par la formule suivante :

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

Où : a_i est la pente de la droite de régression

b_i est l'ordonnée à l'origine

N est le taux d'azote en % MS

II.2.3.3. Détermination de l'indice chimique et identification de l'acide aminé facteur limitant

(FAO/OMS/UNU, 1986)

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. Sa détermination est nécessaire pour évaluer la qualité nutritionnelle d'une protéine d'un aliment.

L'acide aminé présentant l'indice chimique le plus faible constitue « le facteur limitant » de la protéine.

$$IC = \frac{m}{m_{ref}} \times 100$$

IC : Indice chimique

m : mg d'acide aminé par g de protéine

m_{ref} : mg d'acide aminé par g de protéine de référence

Afin de voir la performance des protéines des graines de haricot, deux profils de référence en acides aminés essentiels (FAO/OMS/UNU, 1986) ont été utilisés: l'un pour les jeunes enfants âgés de moins de 2 ans et l'autre pour tous les autres sujets, adultes compris (Annexe 5).

II.2.4. Détermination de la teneur en 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 5 g de poudre d'échantillon. L'ensemble est placé 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. Le tout est placé sur un chauffe-ballon à une température de 30°C pendant 12 h. 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 au Rotavapor à 50°C ; à la fin, le ballon sec contenant la matière grasse est pesé.

Résultats

La teneur en lipides est donnée par la relation

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

Avec

MG% : teneur en matière grasse exprimée en g pour 100 g de matière sèche

m_0 : masse de l'échantillon (en g)

m_1 : masse du ballon avec les billes de verre avant extraction (en g)

m_2 : masse du ballon avec les billes de verre et la matière grasse après extraction (en g)

II.2.5. Etude des substances glucidiques

II.2.7.1. Détermination de la teneur en glucides

➤ **Détermination de la teneur en glucides totaux**

Le taux de glucides totaux de l'échantillon est déduit de la différence entre la teneur en extrait sec et la somme des teneurs en protéines, en lipides et en cendres brutes (Adrian *et al.*, 1995) selon la formule :

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

GT% : teneur en glucides totaux en g pour 100 g de matière sèche

P% : teneur en protéines en g pour 100 g de matière sèche

MG% : teneur en lipides en g pour 100 g de matière sèche

CB% : teneur en cendres brutes en g pour 100 g de matière sèche.

➤ **Dosage de l'amidon**

La méthode polarimétrique d'Ewers a été mise en œuvre.

Principe

L'amidon est dispersé par traitement de l'échantillon à chaud par 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 d'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.

Mode opératoire

Le détail de la préparation des réactifs est trouvé dans l'annexe 6.

Détermination du pouvoir rotatoire total P :

Dans une fiole jaugée de 100 ml, 0,5 g de l'échantillon et 10 ml d'acide chlorhydrique à 1,128% sont introduits. Pour obtenir une bonne répartition de la prise d'essai, le mélange est agité et 10 ml d'acide chlorhydrique à 1,128 % y sont à nouveau versés.

Dans les trois premières minutes qui suivent, la fiole est plongée dans un bain d'eau bouillante. 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 15 minutes exactement, la fiole est retirée du bain et 30 ml d'eau froide y sont ajoutées. Pour déféquer les protéines, 2 ml de solution de Carrez I et 2 ml de Carrez II sont ajoutées. Le mélange est bien agité pendant 1 minute, ensuite complété à 100 ml avec de l'eau distillée puis homogénéisé et filtré. Son pouvoir rotatoire est lu au polarimètre.

Détermination du pouvoir rotatoire P'

Un gramme (1 g) de l'échantillon est introduit dans une fiole jaugée de 100 ml avec 10 ml d'éthanol à 40 %. Le mélange est ensuite laissé en attente durant 1 heure à la température ambiante, au cours de laquelle la prise d'essai est agitée énergiquement avec un agitateur de façon à ce qu'elle soit bien mélangée à l'éthanol pour obtenir une suspension. Le volume est complété à 50 ml avec de l'éthanol à 40%, puis homogénéisé, filtré. La suspension est ensuite évaporée jusqu'à obtenir un volume final de 25 ml (dilution ½, coefficient de dilution: 2). Puis elle est introduite dans une fiole de 250 ml, et 2,1 ml d'acide chlorhydrique à 25% y sont ajoutés. La fiole est ajustée à un réfrigérant à reflux puis plongée dans un bain bouillant. Après 15 minutes exactement, elle est retirée du bain et refroidie jusqu'à 20°C.

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

Expression des résultats

$$A\% = \frac{(P - P')10^2 - 10^2}{[\alpha]_D^{20} \times L \times PE} \times 100$$

Avec : A% : teneur en amidon en g pour 100 g de glucides totaux

P : pouvoir rotatoire total (degré d'arc)

P' : pouvoir rotatoire spécifique du glucide simple pour $([\alpha]_D^{20} = 184,0)$

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

L : longueur du tube polarimétrie (dm)

➤ Détermination de la teneur en glucide simple

La teneur en glucide simple est déterminée selon la formule suivante :

$$GS\% = \frac{(P')10^2 - 10^2}{[\alpha]_D^{20} \times L \times PE} \times 100$$

Avec GS% : teneur en glucide simple en g pour 100 g de glucides totaux

P' : pouvoir rotatoire spécifique du glucide simple pour $([\alpha]_D^{20} = 184,0)$

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

L : longueur du tube polarimétrie (dm)

➤ 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 620 nm de 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)*

La farine est dégraissée à l'aide de méthanol 85 % sous reflux durant 8 h dans le Soxhlet.

Cent milligrammes (100 mg) de farine de haricot dégraissées sont conditionnés dans une fiole jaugée de 100 ml ; 1 ml d'éthanol et 9 ml de NaOH à 1 M y sont ajoutés. La préparation est chauffée dans un bain-marie bouillant pendant 10 min, et laissée refroidir à la température ambiante. Le volume est ensuite ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée, le tout est homogénéisé vigoureusement.

- *Préparation de la solution mère d'amylose et amylopectine*

La solution mère est préparée comme précédemment mais au lieu de 100 mg de poudre de haricot, on utilise 100 mg d'amylose ou d'amylopectine : 1 ml de cette suspension contient 1 mg d'amylose ou d'amylopectine suivant la préparation.

- *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 0,09 mole/l (Annexe 7).

- *Développement de la coloration*

Pour cela, 5 ml de chaque concentration sont introduites dans une fiole jaugée de 100 ml contenant 50 ml d'eau distillée ; 1 ml d'acide acétique (CH₃COOH) et 2 ml de la solution d'iode sont également ajoutés. Le contenu de la fiole est ramené à 100 ml 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 à une longueur d'onde de 620 nm.

- *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 5 ml de solution d'hydroxyde de sodium à 0,09 mole/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 sèche 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 déterminée par une simple déduction selon la formule suivante

$$\% \text{ amylopectine} = 100 - \% \text{ amylose}$$

➤ *Détermination de la teneur en fibres totales*

La teneur en fibres alimentaire a été déterminée à partir de la relation :

$$\text{Glucides totaux} = \text{fibres} + \text{glucide soluble} + \text{amidon}$$

II.2.7.2. Étude de la structure et de quelques propriétés fonctionnelles de l'amidon

➤ Extraction de l'amidon

L'amidon est extrait selon une méthode d'extraction humide inspirée par la méthode de Banks et Greenwood (1975).

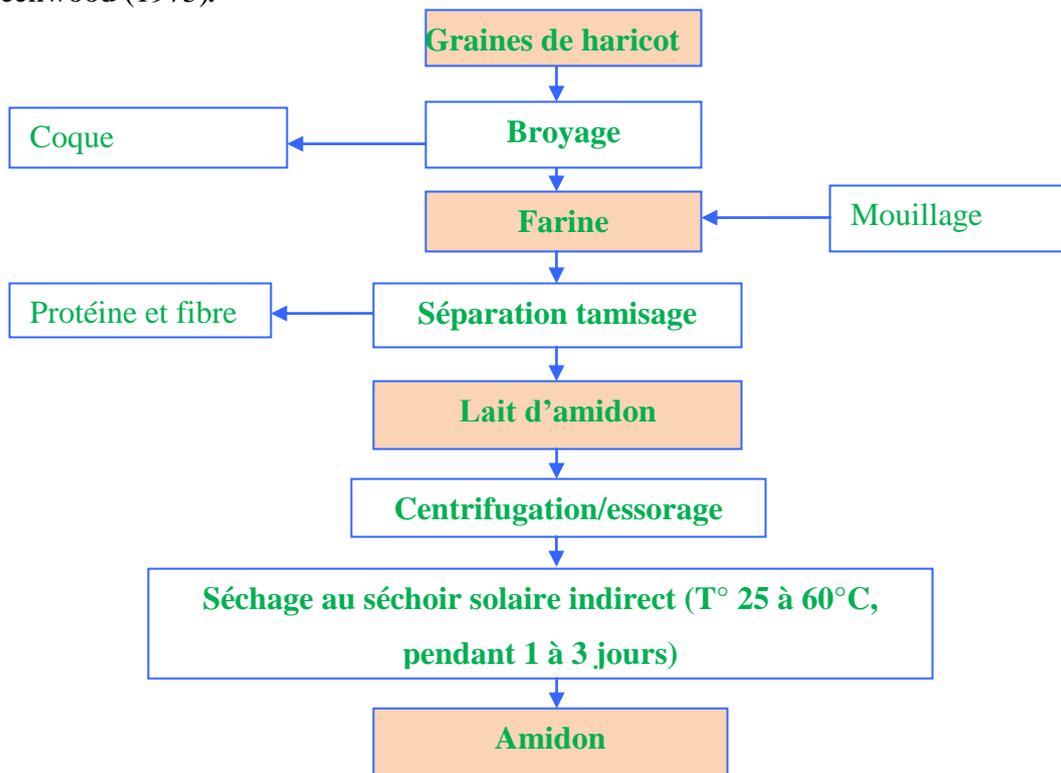


Figure 5: Diagramme de fabrication de l'amidon de haricot

➤ Étude microscopique de l'amidon des échantillons

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

➤ Détermination du pouvoir de gonflement de l'amidon

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 la centrifugation, exprimée en gramme d'eau par 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 (300 mg 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 selon la méthode de Leach *et al.*, 1959.

Le mélange est mis sous agitation maximale pendant 5 minutes au vortex, puis centrifugé à 4000 tours/minute pendant 10 minutes. Le surnageant est jeté. Le culot récupéré est pesé et mis à l'étuve afin d'obtenir la matière sèche (4 heures à 130°C). Le culot sec est ensuite repesé. 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 :

$$\text{Gonflement} = \frac{M_h - M_s}{M_s} \times 100$$

M_h: Masse du culot humide (mg)

M_s : Masse du culot sec (mg)

➤ **Détermination de la viscosité de l'amidon**

Les paramètres de viscosité des farines ont été mesurés à l'aide d'un viscosimètre Brookfield RV, modèle VISCOSTAR 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 Nago (1997).

Mode opératoire

Des suspensions d'amidon à 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 de l'échelle de torsion multiplié par un facteur. Ce dernier est en fonction du mobile utilisé.

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 cette condition, est donc égale à :

$$\text{Viscosité} = 20 \times 10 \text{ soit } 200\text{mPa.s} = 200\text{cP (centipoises)}$$

II.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 respectivement : 4 Kcal, 4 Kcal, et 9 Kcal (Greenfield et Southgate, 1992).

Mode de calcul

La valeur énergétique est exprimée en kilocalories (Kcal) et calculée à partir de la relation :

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

Avec :

L : teneur en lipides en g pour 100 g de matière sèche

P : teneur en protéines en g pour 100 g de matière sèche

G : teneur en glucides pour en g 100 g de matière sèche

II.3. ETUDE DE QUELQUES FACTEURS ANTINUTRITIONNELS DANS LES GRAINES

II.3.1. Dosage des phytates

La détermination de la teneur en phytates est définie selon la méthode de Vaintraub *et al.* (1988).

Principe

L'acide sulfosalicylique forme en solution un complexe coloré (rose violet en milieu acide) avec le fer. Ce complexe se décolore en présence des phytates, car le fer va être capté par les phytates, 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 la gamme étalon pour le dosage sont présentées en annexe 8.

Extraction des phytates

Dans des tubes de 10 ml, 150 mg de chaque échantillon et 300 mg de farine témoin (farine de sarrasin) sont préparés. Un volume de 5 ml de HCl à 2,4 % est ajouté dans chaque tube. Les tubes sont laissés au repos pendant 2 h à température ambiante, puis agités à l'aide d'un vortex pendant 15 s, toutes les 10 min.

Au bout de 2 h, les tubes sont centrifugés pendant 30 min à 6000 rpm, à 20°C. Le surnageant est récupéré. Une quantité de 200 µl du surnageant est diluée 25 fois dans des tubes de 10 ml, en ajoutant 4,8 ml d'eau distillée, chaque tube est ensuite agité 5 s au vortex.

Dosage des phytates

Dans des tubes Eppendorf, 750 µl de dilution 1/25 et 250 µl de solution de Rose de Wade sont préparés. Le mélange est agité au vortex pendant 5s ; puis, si la solution contient des impuretés, il faut la centrifuger pendant 10 min à 1000 rpm à 20°C. Le contenu est ensuite transvasé dans une cuve de 1,5 ml et l'absorbance est lue à 500 nm contre un blanc (eau distillée). La densité optique devrait être comprise entre 0,300 et 0,500 (si DO <0.25 : le dosage est à refaire 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 linéaire peut être tracée à partir de l'équation suivante:

$$\text{DO 500 nm} = a \times [\text{Acide Phytique}] + b$$

Après détermination de la valeur des paramètres « a » et « b », il est possible de déduire la concentration en acide phytique :

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

Avec :

[Acide phytique] : concentration en acide phytique en µg/ml

Acide phytique : quantité d'acide phytique en mg/g de matière sèche

DO 500 nm : Densité optique ou absorbance de l'échantillon à 500 nm

b : ordonnée à l'origine de la droite

D: facteur de dilution de l'échantillon : 5*25 pour les extractions avec 5 ml d'HCl 2,4 %

a: pente de la droite de régression

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

II.3.2. Dosage des composés phénoliques totaux

(Singleton *et al.*, 1999; Hayes *et al.*, 2011)

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 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Mode opératoire

Préparation de la gamme étalon (annexe 9)

La gamme étalon est préparée lors de chaque série de dosage, en réalisant une série de dilutions en cascade à partir d'une solution mère d'acide gallique (AG) qui peut être stockée au réfrigérateur pendant 2 à 3 semaines.

La solution mère est préparée en pesant 25 mg d'AG qui est dilué avec 25 ml de méthanol, donnant ainsi une solution mère avec une concentration de 1 mg/ml. Les solutions filles sont obtenues par des dilutions de la solution mère.

Extraction des composés phénoliques

Dans des tubes de 10 ml, 200 mg de chaque échantillon sont pesés, 4 ml de méthanol y sont ajoutés. Le mélange est agité à l'aide d'un vortex pendant 30 s puis placé dans un bain ultrasonique pendant 10 min. Cette opération est effectuée deux fois.

Après centrifugation pendant 10 min à 6000 rpm à 4°C, le surnageant est prélevé puis versé dans un tube enveloppé d'un papier aluminium pour le protéger de la lumière.

Dosage des phénols totaux

Dans un tube Eppendorf de 2 ml, 100 µl de méthanol, 100 µl de l'extrait méthanolique (surnageant), 100 µl de réactif de Folin-Ciocalteu, 700 µl de carbonate de Sodium à 20 % et 100 µl d'eau distillée y sont mélangés.

Le tout est agité au vortex et incubé à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 1 h. Après incubation, s'il y a présence de dépôt, les tubes sont centrifugés pendant 5 min à 6000 rpm à 4°C. L'absorbance est ensuite lue à 765 nm 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 concentration en phénols totaux et en ordonnée la densité optique mesurée), la droite de régression linéaire peut être tracée à partir de l'équation suivante:

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

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

Avec :

[Phénols totaux] : concentration en phénols totaux en $\mu\text{g/ml}$

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

ms : masse sèche initiale de l'échantillon à analyser en mg

D : facteur de dilution de l'échantillon

a: pente de la droite de régression

b : ordonnée à l'origine de la droite

II.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 quantifiées par dosage colorimétrique au spectrophotomètre à 550 nm.

Mode opératoire

Une solution de fer ammonium sulfate, $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 20 % v/v est préparée dans du HCl 2M. Environ 50 mg d'échantillon broyé, 6 ml nButanol/HCl (95/5 v/v) et 200 μl de solution ferrique sont mélangés dans des tubes plastiques de 10 ml. Le tout est agité au vortex puis chauffé pendant 45 min à 95°C. Après chauffage, le mélange est refroidi puis de nouveau agité. Ensuite, il est centrifugé à 6000 rpm pendant 5 min à 4°C et le surnageant est récupéré.

Les dilutions sont effectuées dans des tubes Eppendorf :

- 1/4 : 250 μl du surnageant + 750 μl nButanol/HCl
- 1/10 : 100 μl du surnageant + 900 μl nButanol/HCl

Le mélange est centrifugé à 6000 rpm, pendant 5 min à 4°C et la densité optique est lue à 550nm.

Une gamme étalon de tanin de raisin purifié est ensuite préparée pour la détermination de tanins condensés (Annexe 10).

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en g d'équivalent tanin pour 100 g 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 550 nm, la droite de régression linéaire peut être tracée à partir de l'équation suivante :

$$\text{DO 550 nm} = a [\text{tanins}] + b$$

$$\text{Tanins (g/100 g de MS): } [\text{DO 550 nm} - b] \times D / (a \times ms)$$

Avec :

[Tanins] : concentration en tanins en mg/ml

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

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

b : ordonnée à l'origine de la droite

II.4. TRAITEMENT DES DONNEES

Les données obtenues ont été traitées par le logiciel XLSTAT -Pro 7.0.

Résultats et interprétations

PARTIE III. : RESULTATS ET INTERPRETATIONS

III.1. TENEURS EN NUTRIMENTS DES ECHANTILLONS

Les caractéristiques nutritionnelle et antinutritionnelle 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.

III.1.1. Teneurs en eau et en matière sèche des graines

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau 2: Teneurs en eau et en matière sèche des graines

Echantillons	DRKF	CAL 98	RIL 147(b)	RI 5-2
H%	12,08 \pm 0,09 c	14,40 \pm 0,08 a	9,12 \pm 0,10 d	13,63 \pm 0,07 b
MS%	87,92	85,60	90,88	86,37

Les teneurs en eau des échantillons sont comprises entre 9,12 % et 14,40 % correspondant à des teneurs en matière sèche élevées de 85,60 % à 90,88 %. Ainsi, la teneur en eau moyenne de 12 % signifie un bon séchage des graines.

III.1.2. Teneur en cendres brutes des graines

La valeur en cendres brutes des variétés étudiées est indiquée dans le tableau 3.

Tableau 3: Taux en cendres brutes

	DRKF	CAL 98	RIL 147 (b)	RI 5-2
Teneur en cendres brutes %MS	6,02 \pm 0,05 b	5,96 \pm 0,03 b	6,15 \pm 0,03 a	6,01 \pm 0,04 b

Les teneurs en cendres brutes varient entre 5,96 % et 6,15 % MS avec une moyenne de 6,03 % MS. Le RIL 147 (b) en a significativement la teneur la plus élevée.

III.1.3. Valeur protéique

III.1.3.1. Protéines totales

Les teneurs en protéines des échantillons sont représentées dans le tableau 4

Tableau 4: Teneur en protéines totales

	DRKF	CAL 98	RIL 147 (b)	RI 5-2
Protéines % MS	23,50± 0,05 c	27,60± 0,10 a	22,89± 0,05 d	23,98± 0,09 b

Les teneurs en protéines des graines de haricot varient de 22,89 % MS à 27,60 % MS. Le *CAL 98* en est le plus riche, tandis que la variété *RI 5-2* en est le plus mal loti. Dans l'ordre croissant, les échantillons sont classés comme suit: *RI5-2*; *DRKF*; *RIL 147(b)*; *CAL98*.

III.1.3.2. Teneur en acides aminés des protéines

Les tableaux 5 et 6 présentent les taux de différents acides aminés des protéines estimés à partir des taux d'azote dosés dans les graines.

Tableau 5: Taux des acides aminés exprimés en g pour 100g de protéines

	DRKF	CAL 98	RIL 147 (b)	RI 5-2
Gly	3,80	3,67	3,79	3,73
Ala	4,43	4,20	4,41	4,35
Val	5,01	4,92	5,01	4,92
Leu	8,65	8,48	8,65	8,50
Ileu	4,30	4,28	4,31	4,22
Ser	5,93	5,98	5,96	5,84
Thr	4,70	4,47	4,68	4,61
Tyr	3,51	3,46	3,51	3,45
Phe	6,05	6,08	6,07	5,95
Pro	3,78	3,61	3,77	3,71
Trp	-	-	-	-
Met	1,25	1,20	1,25	1,23
Cys	1,34	1,21	1,32	1,31
Lys	7,04	6,86	7,03	6,91
His	2,68	2,70	2,69	2,63
arg	5,29	6,05	5,41	5,23
Asx	12,81	12,59	12,82	12,59
glx	15,83	15,86	15,88	15,57
Met + cys	1,42	1,27	1,40	1,39

Glx : Glu et Gln ; Asx : Asp et Asn

Tous les acides aminés ont pu être déterminés sauf le tryptophane qui est détruit par l'hydrolyse acide.

Les taux d'acides aminés essentiels par rapport aux acides aminés totaux de tous les échantillons (tableau 6) sont supérieurs à 40 %, ce qui indique à première vue que les protéines des échantillons sont de bonne qualité.

Tableau 6: Taux des acides aminés essentiels par rapport aux acides aminés totaux

Echantillons	DRKF	CAL 98	RIL 147 (b)	RI 5-2
Acides aminés essentiels (%)	45,33	45,79	43,77	46,25

III.1.3.3. Indices chimiques et acides aminés facteurs limitant des graines

L'indice chimique est un outil performant pour évaluer la qualité nutritionnelle d'une protéine. Les tableaux 7 et 8 présentent les résultats des calculs des indices chimiques des protéines selon deux profils de référence.

Tableau 7: Scores chimiques des protéines des graines selon le profil de référence des jeunes enfants âgés de moins de 2 ans (FAO/OMS/UNU, 1986)

Echantillons	His	Ileu	Leu	Lys	Met-Cys	Phe-Tyr	Thr	Val
Référence	26	46	93	66	42	72	43	55
CAL	103,69	93,44	93,01	106,67	30,19	132,78	109,32	91,17
DRKF	103,02	92,96	91,16	103,93	33,88	132,51	104,05	89,41
RI 5-2	103,38	93,62	92,99	106,56	33,45	133,09	108,86	91,16
RIL 147 (b)	101,31	91,84	91,36	104,74	33,14	130,53	107,23	89,55

Tableau 8: Scores chimiques des protéines des graines selon le profil de référence des jeunes enfants âgés de plus de 2 ans et adultes (FAO/OMS/UNU, 1986)

Echantillons	His	Ileu	Leu	Lys	Met-Cys	Phe-Tyr	Thr	Val
Référence	19	28	66	58	25	63	34	35
CAL	140,97	153,51	131,06	121,38	50,72	151,44	138,26	143,27
DRKF	141,89	152,73	128,45	118,26	56,92	151,44	131,59	140,50
RI 5-2	141,46	153,80	131,03	121,25	56,20	152,10	137,68	143,25
RIL 147 (b)	138,64	150,89	128,72	119,19	55,68	149,18	135,61	140,73

Le plus faible des pourcentages est l'indice chimique de la protéine et l'acide aminé correspondant est appelé acide aminé limitant pour cette protéine.

Les acides aminés soufrés, méthionine et cystéine, sont déficients avec des indices chimiques bas et constituent ainsi les facteurs limitant des protéines.

Le score 1 des protéines des graines varie entre 30,19 et 33,88%. Ces scores sont bas pour les variétés étudiées, c'est-à-dire, les besoins en acides aminés essentiels sont élevés chez l'enfant âgé de moins de 2 ans que chez l'enfant âgé de plus de 2 ans et les adultes.

Le score 2 des protéines des graines varie de 50,72 à 56,92%. Ces valeurs sont acceptables pour l'enfant âgé de plus de 2 ans et les adultes car les besoins en acides aminés essentiels sont moins élevés à cet âge.

III.1.4. Valeur lipidique

Les teneurs en lipides des variétés sont indiquées dans le tableau ci- après.

Tableau 9: Teneurs en lipides des échantillons

	DRKF	CAL 98	RIL 147 (b)	RI 5-2
Lipides % MS	1,58±0,07 b	1,54±0,11 c	1,74±0,03 a	1,47±0,05 d

Les teneurs en lipides des graines de haricot varient significativement d'une variété à une autre, de 1,47 % à 1,74 % MS. Suivant ces teneurs, elles peuvent être classées dans l'ordre croissant : *RI 5-2 < CAL 98 < RIL 147(b) < DRKF*.

III.1.5. Valeur glucidique

III.1.5.1. Teneur en glucides

Les résultats sont rapportés dans le tableau 10.

Tableau 10: Teneurs en substances glucidiques des échantillons

Variétés	DRKF	CAL 98	RIL 147 (b)	RI 5-2
Glucides totaux (en g pour 100 g de MS)	68,90	64,89	69,22	68,53
Amidon (en g pour 100 g de glucides totaux)	48,4	52,58	51,23	57,37
Amylose en % d'amidon	23,80	24,15	26,12	25,34
Amylopectine en % d'amidon	76,20	75,85	73,88	74,66
Glucides solubles (en g pour 100 g de glucides totaux)	4,48	3,06	3,77	2,29
Fibres (en g pour 100 g de glucides totaux)	46,78	44,35	44,99	44,33
Amidon+sucre simple (en g pour 100 g de glucides totaux)	53,22	55,65	55,29	59,67

Les teneurs en glucides totaux des échantillons par ordre décroissant sont classées comme suit : *RIL147(b)* < *DRKF* < *RI 5-2* < *CAL 98*.

Les teneurs en amidon se situent entre 48 et 57 g pour 100 g de glucides totaux. Ces valeurs sont proches de celles rapportées par Andriamamonjy (2000) pour d'autres variétés de haricot. La variété *RI 5-2* présente la teneur la plus élevée.

Pour ce qui est des teneurs en amylose des amidons, ils sont considérés comme élevés, entre 24 et 26 % d'amidon, bien que légèrement inférieurs aux données de la littérature pour les légumineuses en général. Il est important de noter que les aliments ayant une teneur en amylose élevée ont un index glycémique bas. En effet, l'amylose du fait de sa conformation ne se laisse pas facilement démanteler par les enzymes digestives, à l'inverse de l'amylopectine qui est rapidement digérée.

Les échantillons étudiés présentent une faible teneur en glucides solubles compris entre 2,29 et 4,48 % des glucides totaux.

Les teneurs en fibres alimentaires des échantillons varient entre 44 à 47 % des glucides totaux soit une moyenne de 29,90 % MS, légèrement supérieure à celle trouvée par Andriamamonjy (2000), de l'ordre de 25,51 % pour d'autres variétés de haricot. Le *DRKF* est le plus riche en fibres suivi du *RIL 147 (b)*, *CAL 98* et *RI 5-2*.

Tableau 11: Caractéristiques de l'amidon de quelques aliments

Propriété	Maïs	Pomme de terre	Manioc	Blé	Echantillons étudiés
Tailles des graines d'amidon (μm)	2-30	5-100	4-35	2-55	-
% amylose	28	21	17	28	23,2-26,80
Pouvoir du gonflement à 95°C (g/g)	24	1150	71	21	28,52-34,46
Texture de l'empois	Courte	Très filante	Filante	Courte	Courte
Aspect de l'empois	Opaque	Translucide	Translucide	Trouble	Opaque
Resistance au cisaillement	Moyenne	Moyenne à très faible	Très faible	Moyenne	-

Source: Nayouf, 2003

Se référant au tableau 11 comparant les caractéristiques des amidons de quelques aliments à celles des échantillons étudiés, ces derniers ont une teneur en amylose supérieure à celles de la pomme de terre et du manioc, mais inférieures à celles du maïs et du blé.

III.1.5.2. Propriétés fonctionnelles de l'amidon de la farine de haricot

Rendement de l'extraction de l'amidon

Le tableau 12 résume le rendement de l'amidon obtenu après extraction, calculé comme suit :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{masse de l'amidon (en g)}}{\text{masse de la farine (en g)}} \times 100$$

Tableau 12: Taux d'extraction de l'amidon

Echantillons	DRKF	CAL 98	RIL 147 (b)	RI 5-2
Graine de haricot (en g)	200	200	200	200
Farine (g)	180	175	172	190
Amidon (g)	100	96,25	90,3	118,75
Rendement (%)	55,5	55	52,5	62,5

Le taux d'extraction d'amidon est compris entre 52,5 et 62,5 %, la variété *RI 5-2* a un taux de rendement le plus élevé.

➤ Structure de l'amidon des échantillons

La figure 6 montre les photos des farines issues des graines décortiquées des échantillons.

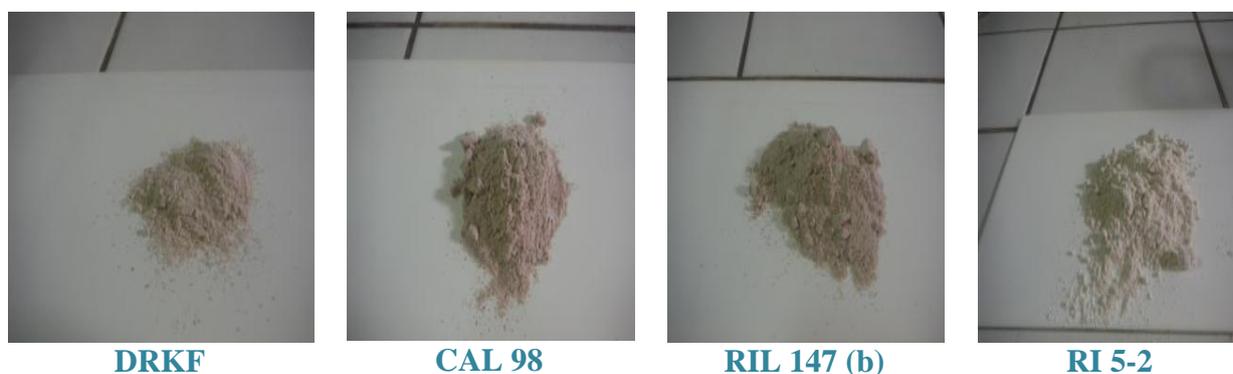


Figure 6: Farines des échantillons

Du point de vue couleur, les farines sont différentes reflétant les amandes d'origine. La farine de l'échantillon *RI 5-2*, de couleur blanche, se distingue des trois autres.

La figure 7 (a, b, c, d) montre les structures de l'amidon des graines des échantillons vues au microscope photonique avec un grossissement 1000x sans coloration et sur la figure 8 (á, b' et c') celles du riz, de la pomme de terre et de haricot à titre de comparaison.

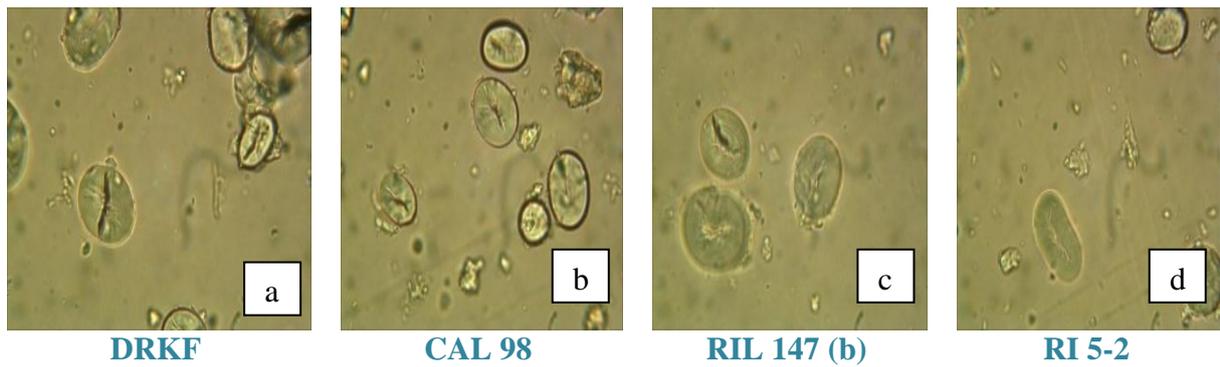


Figure 7: Granules d'amidon des échantillons.

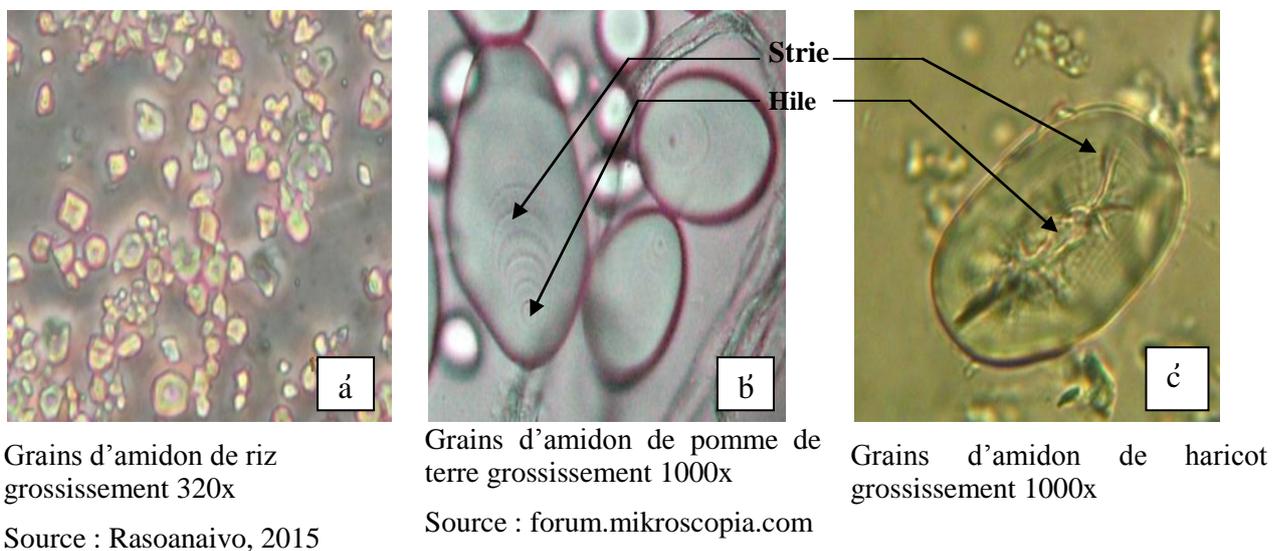


Figure 8: Granules d'amidon de riz, de pomme de terre et de haricot

Les grains d'amidon des quatre variétés sont identiques : ils sont ovoïdes avec le hile bien visible au milieu, comparables à ceux des pommes de terre. La différence est nette avec ceux des grains de riz qui sont de forme angulaire ou polygonale.

➤ Pouvoir de gonflement de l'amidon

Le taux de gonflement est calculé par la formule :

$$\text{Gonflement}(\%) = \frac{M_h - M_s}{M_s} \times 100$$

M_h : Masse du culot humide (g)

M_s : Masse du culot sec (g)

Pour *RI 5-2* à 50°C :

$$\text{Gonflement (\%)} = \frac{2,801 - 2,733}{2,733} \times 100$$

$$\text{Gonflement (\%)} = 2,489 \%$$

Les quantités d'eau absorbées lors du chauffage des différentes farines sont présentées dans la figure 9.

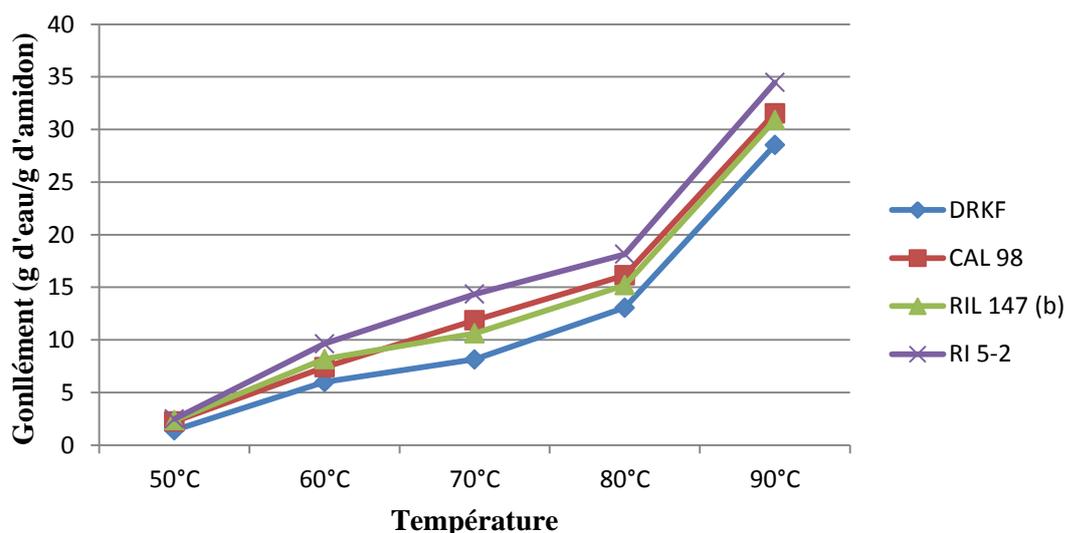


Figure 9: Pouvoir de gonflement de l'amidon

L'allure des courbes est similaire pour les quatre variétés étudiées. Elle indique clairement l'évolution progressive de gonflement qui est faible entre 50 et 80°C. A partir de 80°C, le gonflement de l'amidon augmente de façon considérable pour les 4 farines.

La farine de *RI 5-2* a un pouvoir de gonflement le plus élevé et celle de *DRKF* le plus faible. Pour les deux variétés, *CAL 98* et le *RIL 147(b)*, les courbes tendent à se superposer traduisant un comportement similaire.

➤ Viscosité de l'amidon

Les résultats des calculs 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, sont lus directement sur le viscosimètre et donnent les valeurs de la viscosité apparente de l'amidon en centipoise (cP = mPas). Elles sont représentées sur la figure 10.

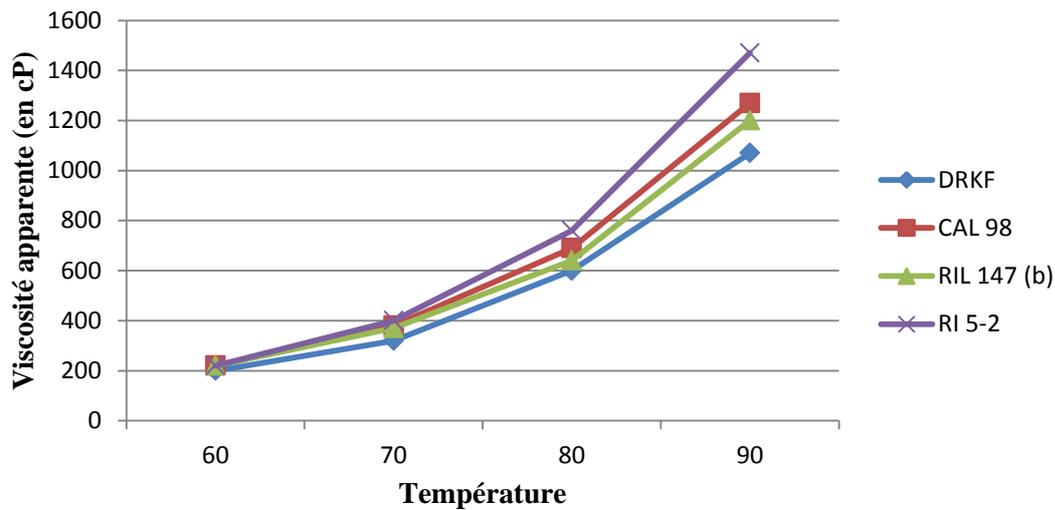


Figure 10: Viscosité apparente de l'amidon

La viscosité monte de façon progressive. L'allure des quatre courbes est identique. Entre 60°C et 80°C, la viscosité augmente faiblement. Elle augmente de façon plus importante après 80°C, pour atteindre des viscosités finales de 1000, 1200, 1270 et de 1470 cP à 90°C, respectivement pour les amidons des variétés *DRKF*, *CAL 98*, *RIL 147* et *RI 5-2*. La variété *RI 5-2* présente une forte viscosité.

III.1.6. Apport énergétique des graines

Le tableau 13 présente l'apport en énergie des graines exprimées en Kcal/100 g MS.

Tableau 13: Valeur énergétique des échantillons

	DRKF	CAL	RIL 147	RI 5-2
Valeur énergétique (en Kcal)	383,81	383,88	384,07	383,27

Les valeurs énergétiques sont comprises entre 383,27 Kcal (*RI 5-2*) et 384,07 Kcal pour 100 g de MS (*DRKF*). La variété *RIL 147(b)* est la plus énergétique parmi les variétés du fait de sa teneur en matière sèche importante.

III.1.7. Récapitulation des valeurs nutritionnelles des échantillons

Le tableau 14 résume les valeurs nutritionnelles des échantillons étudiés tandis que le tableau 15 montre les valeurs nutritionnelles de quelques légumineuses.

Tableau 14: Récapitulation des valeurs nutritionnelles des échantillons

	Protéine % MS	Lipides % MS	Glucides % MS	CB % MS
DRKF	23,5	1,58	68,90	6,02
CAL 98	27,60	1,54	64,89	5,96
RIL 147 (b)	22,89	1,74	69,22	6,15
RI 5-2	23,98	1,47	68,53	6,01

Tableau 15: Valeurs nutritionnelles de quelques légumineuses

Légumineuses	Protéines % MS	Lipides % MS	Glucides% MS	CB%MS	Sources
Haricot	21	1-2	60-65	4-5	ANDRIAMAZAORO, 1994
Pois du cap	23	0,9	71,4	4,7	FENO.M.R, 2011
Voandzou	17,11	7,62	72,14	3,11	RAMAHERISOA M, 2004
Niébé rouge	22,20	1,88	59,7	3,95	RANDRIANASOLO, 2013

Comparativement aux autres légumineuses, la variété *CAL 98* se distingue du point de vue richesse en protéines ; les quatre échantillons étudiés apparaissent plus riches en cendres ; 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.

III.2. TENEURS EN FACTEURS ANTINUTRITIONNELS DES GRAINES

Comme le montre le tableau 16, les échantillons étudiés renferment des facteurs antinutritionnels tels que les phytates, les polyphénols totaux et des tanins condensés.

Tableau 16: Teneurs en facteurs antinutritionnels des graines

Echantillons	DRKF	CAL 98	RIL 147 (b)	RI 5-2
Acide phytique (en mg/g de MS)	12,00± 0,11c	11,70±0,08d	14,18±0,03b	15,92±0,05a
Phénols totaux (en g AG /100 g de MS)	0,20± 0,03 b	0,17± 0,01c	0,24± 0,02a	0,15± 0,08d
Tanins condensés (en g/100 g de MS)	1,86± 0,05 b	1,64± 0,05 c	1,92± 0,11 a	1,31± 0,10 d

Résultats et interprétations

Les teneurs en facteurs antinutritionnels des échantillons sont significativement différentes.

Les teneurs en phytates des échantillons sont comprises entre 11 et 16 mg/g MS. Le *RI 5-2* en est le plus riche, suivi par le *CAL 98*, puis le *DRKF* et enfin le *RIL 147 (b)*.

Les teneurs en phénols totaux sont comprises entre 0,15 et 0,24 g AG/100 g de MS. Dans l'ordre décroissant des teneurs, on a : la variété *RIL 147 (b)* > *DRKF* > *CAL98* > *RI 5-2*.

Les tanins condensés font partie du groupe des composés phénoliques avec les tanins hydrolysables. Les teneurs en tanins condensés varient entre 1,31 et 1,92 % MS. La teneur la plus élevée correspond à la variété *RIL147 (b)*, suivie de la variété *DRKF* et de la variété *CAL 98*. Cependant la variété *RI 5-2* a une teneur faible en tanins condensés.

Tableau 17: Teneurs en facteurs antinutritionnels de quelques légumineuses

Légumineuses	Mucuna	Voanemba mena	Tsaramaso vanda mena	Tsaramaso mena
Phytates (en mg/g de MS)	15,47 ± 0,19	8,76 ± 0,24	11,35 ± 1,34	14,61 ± 0,41
Phénols totaux (en g AG /100 g de MS)	0,51 ± 0,40	0,11 ± 0,15	0,15 ± 0,18	0,22 ± 0,09
Tanins condensés (en g/100 g de MS)	0,24 ± 0,01	0,63 ± 0,11	1,92 ± 0,03	1,99 ± 0,09

Source : Andriamasinandraina, 2012

Le tableau 17 montre les teneurs en facteurs antinutritionnels de quelques légumineuses d'Androy.

Discussion

PARTIE IV. : DISCUSSION

Les teneurs en eau libre des échantillons, comprises entre 9,12 % et 14,40 %, correspondent à la norme requise pour la conservation des graines, de l'ordre de 10 à 15 % (Borget 1989; Come, 1982). Cette faible teneur en eau libre présente des avantages sur la durée de stockage, la prolifération des microorganismes, la vitesse d'oxydation et l'activité enzymatique susceptibles d'altérer le produit sont inhibés.

Les teneurs élevées en cendres des graines avec une moyenne de 6,04 % MS traduisent une richesse relative en éléments minéraux par rapport à celles des céréales autour de 1,8 % MS (Feinberg, 1991).

La teneur moyenne en protéines, 24,54 % MS, indique que ces graines sont d'excellentes sources de protéines par rapport aux autres aliments d'origine végétale. En plus, le pourcentage des acides aminés essentiels est très important par rapport aux taux des acides aminés totaux. Mais, d'après le calcul d'indice chimique, les protéines sont pauvres en méthionine et cystéine, qui constituent alors les facteurs limitants. Cette faible teneur en acides aminés soufrés est caractéristique des légumineuses en générale (Andriamamonjy, 2000). Pour corriger ce déficit, une complémentation avec d'autres aliments riches en ces acides aminés comme les céréales (riz, maïs...) est nécessaire, étant donné que ces derniers sont riches en acides aminés soufrés mais pauvres en Lysine (Cheftel, 1985). Cette complémentation présente un profil d'acides aminés de bonne qualité surtout pour les enfants âgés de moins de 2 ans qui ont des besoins en acides aminés essentiels élevés.

La teneur moyenne en lipides des variétés (1,58 % MS) est relativement faible par rapport aux autres légumineuses oléagineuses notamment les arachides avec 18 % à 45 % MS (Dupin, 1992 ; Poisson, 1991).

Les teneurs en glucides totaux des graines comprises entre 64,89 % et 69,22 % MS corroborent les données de la littérature, 50 à 80 % de glucides totaux dans les légumineuses (Cuq *et al.*, 1992). Les glucides et les protéines constituent les nutriments majoritaires des échantillons étudiés. Alors, les échantillons appartiennent aux groupes de légumineuses protéagineux.

La teneur en amylose influence le pouvoir de gonflement et la viscosité de l'amidon des quatre variétés ; en effet, l'amidon ayant la composition en amylose très basse présente un fort pouvoir de gonflement (Galliard et Bowler, 1987).

Les échantillons apportent environ 383 kcal/100 g de MS dont environ 71 % sont fournis par les glucides, 25 % par les protéines et 4 % par les lipides. La consommation de 100 g de graines dans la ration journalière peut donc fournir environ 17 % du besoin énergétique journalier du malgache de 2133 Kcal (SECALINE, 1997).

La consommation de 100 g de matière sèche de ces variétés de haricot peut satisfaire le besoin journalier en fibre pour les femmes en âge de procréer selon la recommandation de l'OMS (25 g/j).

D'après les études faites par Andriamasinandraina (voir tableau 17), la valeur en phytates (13,53 mg/g de MS) des échantillons est comparable à celle du Tsaramaso vanda mena et Tsaramaso mena d'Androy. Elle est faible par rapport à celle du Mucuna mais élevée par rapport à celle du Voanemba mena.

Pour les phénols totaux, la valeur moyenne pour les échantillons (0,19 g AG/100 g de MS) est également comparable à celles des deux autres variétés de haricot d'Androy. Cette valeur est supérieure à celle du Voanemba mena mais faible par rapport à celle du Mucuna.

La valeur moyenne en tanins condensés (1,90 g/100 g de MS) est identique à celle des deux autres variétés de haricot d'Androy mais élevée comparées celles du Mucuna et du Voanemba mena.

Conclusion et perspectives

PARTIE V. : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La présente étude nous a permis de :

- nous familiariser avec les techniques courantes utilisées en Sciences de l'Alimentation ;
- étudier la valeur nutritionnelle des graines de nouvelles variétés de haricot ;
- caractériser de façon partielle quelques amidons de haricot ;
- déterminer quelques propriétés fonctionnelles de ces amidons.

Au final, les variétés étudiées constituent un excellent aliment du fait de leur richesse en différents nutriments. Leur principal ingrédient nutritif comprend des glucides complexes: fibre et amidon résistant ou à assimilation lente, une protéine végétale de bonne qualité riche en acides aminés essentiels, des cendres donc des minéraux.

Cependant la présence des facteurs nutritionnels nécessite des traitements adéquats afin de ne pas perturber la disponibilité des éléments nutritifs.

Dans l'avenir, il serait intéressant de :

- poursuivre les analyses biochimiques des graines sur la détermination de la teneur en vitamines, et en éléments minéraux de chaque variété ;
- étudier les qualités nutritionnelles et organoleptiques des graines cuites ;
- étudier les propriétés antioxydantes des graines ;
- contribuer à la diffusion de ces variétés auprès des paysans ;
- intégrer ces nouvelles variétés dans l'alimentation quotidienne.

*Références
bibliographiques*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ADRIAN J., POTUS J., FRANGNE R**, 1995. La science alimentaire de A à Z, 2^èd. Paris : Technique et documentation LAVOISIER, 477p.
2. **AFNOR**, 1989. Contrôle de la qualité des produits alimentaires. Méthodes d'analyse officielle, 1^{ère} éd. AFNOR, Paris, 373p.
3. **AFNOR**, 1993. Graines oléagineuses – échantillonnage. In: Corps gras, graines oléagineuses et produits dérivés, 5^{ème} éd. Parisp : 322 – 327.
4. **ANDERSON**, 1920. Synthesis of phytic acid. J Bio. Chem. 1920, 43: 117-128.
5. **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, 76p.
6. **ANDRIAMASINANDRAINAINA 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, 73p.
7. **ANDRIAMAZAORO H**, 1994. Contribution à l'étude de la valeur nutritionnelle de 5 variétés de haricot commun (*Phaseolus vulgaris*). (Mémoire de DEA en Biochimie Pharmacodynamie). Antananarivo: Université d'Antananarivo.
8. **BANKS W., GREENWOOD**, 1975. Starch and starch Components". Edinburgh University Press: Edinburgh, England, p: 270–273.
9. **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.
10. **BESANÇON P**, 1978. La valeur nutritionnelle des légumes secs et des protéines de Légumineuses. *Revue française de diététique*, 43 : 5-17p.
11. **BORGET M**, 1989. Les légumineuses vivrières tropicales. Paris : Maisonneuve et Larose, 161p.
12. **BRUNETON J**, 1987. Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Paris: Technique et documentation Lavoisier, 585p.

13. **CHEFTEL J C**, 1985. Protéines alimentaires. Paris : technique et documentation Lavoisier, 310p.
14. **CHEFTEL J C., CUQ J L., LORIENT D**, 1985. Protéines alimentaires : Biochimie, propriétés fonctionnelles, valeurs nutritionnelles, modifications chimiques. Paris: TECHNIQUE et .DOCUMENTATION, Lavoisier, 309p.
15. **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.
16. **COMELADE E**, 1990. Technologie et hygiène alimentaire : les nutriments. Paris : Editions JACQUES LANORE, 144p.
17. **CUQ J-L., LEYNAUD-ROUAUD C**, 1992. Les graines de légumineuses. In: **DUPIN H, CUQ J-L., MALEWIAK M.I.** Alimentation et nutrition humaines. Paris: ESF éditeur, 941-964p.
18. **DADALO., DENDY D**, 1987. La teneur en cyanures des céréales germées et effet des techniques de conditionnement. In: **ALNWICK D., MOSES., SCHMIDTOG., EDS.** Pour améliorer l'alimentation des jeunes enfants en Afrique orientale et Australe. Kenya : IDRC, 14-107p.
19. **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, 290-385p.
20. **DUVAC**, 1953. Analyse chimique. Paris : Presse universitaire de France, 128p.
21. **FAO/OMS/UNU**, 1986. Besoins énergétiques et besoins en protéines. Série Rapports Techniques 724. OMS. Genève.
22. **FAO**, 1995. Guide des aliments de base dans le monde. Rome, 52p
23. **FAO**, 1990. Utilisation des aliments tropicaux : légumineuses tropicales. Rome: FAO; 47/4, 76p.
24. **FAO/WHO**, 2003. Régime alimentaire, nutrition et prévention des maladies chroniques. Rapport d'une consultation d'experts. OMS. Genève.
25. **FEINBERG M. et al.**, 1991. Répertoire général des aliments : table de composition. Paris: Techniques et documentation Lavoisier, 291p.

26. **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.
27. **FO.FI.FA**, 2010. Fiches techniques de Niébé.
28. **GALLANT D.J., BOUCHET B., BALDWIN P. M.**, 1997. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. *Carbohydrate Polymers*, 32,177-191.
29. **GALLIARD, T. & BOWLER, P.**, 1987. Morphology and composition of starch, In: Starch: Properties and potential. Ed. T. Galliard. John Wiley & Sons, New York, p 281.
30. **GERARD D**, 1996. Valeur alimentaire et usage des grains de Légumineuses.
31. **GODON B., LOISEL W**, 1991. Dosage des protéines. In : MULTON J. L. Analyse des constituants alimentaires. Paris : Technique et documentation. Lavoisier; Tome 4 : 201-216p.
32. **GREENFELD H., SOUTHGATE**, 1992. Food composition data, New York : CHAPMAN et Hall, 263p.
33. **HARLAND., MORRIS**, 1995. Phytate: a good or a bad food component Nutrition 19.
34. **HARRIS H B., BURNS R E**, 1970. Influence of tannin content on preharvest germination in .20.sorgum. *Agro.J*, 62: 835-836.
35. **HAYES, J.E., ALLEN P., BRUNTOIL N., O'GRADY M.N., KERRY J. P.**, 2011. Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea*), lutein, sesamol and ellagic acid.
36. **HUBERT P**, 1978. « Recueil de fiches techniques d'Agricultures à l'usage des Lycée Agricoles à Madagascar, Antananarivo » BPDA.
37. **INSTAT**, 2014. Statistiques agricoles, annuaire 2014. Antananarivo : Service de la statistique Agricole, 45p.
38. **INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS**, 1979. Polyphenols in cereals and legumes; Proceedings of a symposium held during the 36th annual meeting of the IFT, St LOUIS, Missouri; Joseph HULSE edit.

39. **ISO**, 1987. Norme ISO 6647, 1^{er} éd. Suisse, 4p.
40. **JENKINS D J A**, 1994. Carbohydrates. Diet factors affecting nutrient absorption and metabolism. In: **SHILS M E., OLSON J A., SHIKE M.** (eds). Modern nutrition in health and disease. Philadelphie : Lea and Febiger, p583-602.
41. **LAURENT L**, 1991. Eléments minéraux. In **MULTUN J.L.** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. 2^{ème} Ed. Tome 4. Paris Lavoisier Tec et Doc.
42. **LEACH, H.W., COWEN, L.D., SCHOCH., T.J**, 1959. Structure of the starch granule 1, Swelling and solubility patterns of various starches. Cereal Chemistry 36: 534-544p.
43. **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.
44. **LINDEN G**, 1991. Biochimie alimentaire. Paris : MASSON, 245p.
45. **MAEP**, 2004. Filière Grains secs. Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche, Madagascar, 13p.
46. **MALEWIAK M**, 1992. Aliments et Nutriment In : Dupin H ; CUQ J-L ; MALEWIAK M. I. Alimentation et nutrition humains. Paris, ESF éditeur, p 85-192.
47. **MARLETT JA., MCBURNEY MI., SLACIN JL**, 2002. Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. J Am Diet Assoc : 107(7) : 993-1000p.
48. **MOSSE J**, 1990. Les acides aminés des céréales et des légumineuses ; INRA Prod Anim. 3(2) : 103-119p.
49. **MULTON J L**, 1991. Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries Agroalimentaires. 372^{ed}. Paris : TECHNIQUE et DOCUMENTATION, Lavoisier, 396p.
50. **NAGO CM**, 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.

51. **NAYOUF M**, 2003. Etude rhéologique et structurale de la qualité texturale du système amidon/kappa-caraghénane en relation avec le traitement thermomécanique. *Thèse*, Nantes, 198p.
52. **POISSON J. P**, 1991. Métabolisme des acides gras essentiels in: LEMONNIER D., INGENBLEEK Y., HENNER T. Alimentation et nutrition dans les pays en voie de développement. Paris: KARTHALA, 464-476p.
53. **PORTER J., HRSTICH L. N., CHAN., B. G.**, 1986. The conversion of Procyanidins and Prodelphinidins to Cyanidin and Delphinidin. *Phytochemistry*. 25(1), 223-230p.
54. **OMS**, 2003. Régime alimentaire, nutrition et prévention des maladies chroniques. Rapport d'une Consultation OMS/FAO d'experts. OMS, Série de Rapports techniques 916. OMS. Genève.
55. **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, 56p.
56. **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, 66p.
57. **SECALINE**, 1997. La situation alimentaire et nutritionnelle à Madagascar. Antananarivo: SECALINE, 134p.
58. **SINGLETON V. L., ORTHOFER R., LAMUELA-RAVENTOS 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, 152-178p.
59. **VAINTRAUB I.A., LAPTEVA N.A**, 1988. Colorimetric determination of phytate in unpurified extracts of seeds and the products of their processing. *Analytical Biochemistry*, 175: 227-230p.
60. **WHISTLER R., BEMILLER J., PASCHALL E**, 1984. Starch: Chemistry and Technology, 2nd ed., Academic Press, New York, 146-187p.

61. **WOLFF J. P**, 1991. Analyse et dosage des lipides. In : Multon J.L. Technique d'analyse et contrôle dans les industries agroalimentaire : Technique et documentation. Lavoisier, 4 : 157-199p.
62. **YOON J.H., THOMPSON L.U., JENKINS D.J.A**, 1983. The effect of phytic acid on in vitro rate of starch digestibility and blood glucose response. The American Journal of Clinical Nutrition, 38: 835-842p.
63. **YOUNG V., PELLETT P.L**, 1994. Plant proteins in relation to human protein and amino acid nutrition, Am. J. Clin. Nutr., 59 (Suppl), 1203-1212p.

e-bibliographie

<http://www.adrianor.com/Amidons%201%E8re%20partie.pdf>

<http://www.caducee.net/Fiches-techniques/EUFIC/nutrition2.asp>

<http://www.forum.mikroscopia.com>

<http://www.ilerouge.org>

<http://www.maep.gov.mg/fr/donstat.htm>

Annexes

Annexe 1: Caractères morphologiques des échantillons

Variété		DRKF	CAL 98	RIL 147 (b)	RI-5-2
Nom commun		Haricot	Haricot	Haricot	Haricot
Nom botanique		<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>
Dénomination		DRKF	CAL 98	RIL 147 (b)	RI-5-2
Classification commerciale		Red kidney	Speckled red		Large white
Origine		Cali Colombie	Cali Colombie		
Nature génétique		Lignée	Lignée	Lignée	Lignée Issue de croisement Ranjonomby et Ikinimba
Obtenteur		CIAT	CIAT	CIAT	FOFIFA (2005)
mainteneur		FOFIFA	FOFIFA	FOFIFA	FOFIFA
Type de croissance		Nain à croissance déterminée	Nain à croissance déterminée	Incomplet	Nain à croissance déterminée
Fleur : Couleur		violet clair	Violet clair	Incomplet	Blanche
Gousse	Type de gousse	Fibreux	Fibreux	Incomplet	Fibreux
	Nombres de loges	4 – 5 loges	4-5 loges	Incomplet	4-5 loges
	Ceinture	Peu marquée	Peu marquée	Incomplet	Peu marquée
	couleur	Jaune clair (à maturité)	Panaché violet	Incomplet	Jaune claire à maturité
Graine	Couleur	Rose	Rouge foncé	Incomplet	Blanche
	Forme	Rognon	Rognon	Incomplet	Tronquée,
	longueur	13 -15 mm	13-15 mm	Incomplet	Droite 13 – 15 mm
	Tégument	Non anastomosé	Non anastomosé	Incomplet	Non anastomosé
	Brillance de la graine	brillant	Intermédiaire	Incomplet	brillant

Annexe 2: Caractères agronomiques des échantillons

Variété		DRKF	Cal 98	RIL 147 (b)	RI-5-2
Zone d'adaptation	Altitude	200 – 1200 m d'altitude	400 – 1200 m d'altitude	incomplet	Variété plastique 400 – 1200 m d'altitude
	Isohyète	400 – 1200 m	200 – 1200 m	incomplet	800 – 1200 m
	Aire de culture	Sud Ouest, Nord Ouest, moyen Est, hauts plateaux	Sud ouest, moyen est, haut plateaux	incomplet	Sud ouest, nord ouest, moyen est, hauts plateaux
	Cycle végétatif	80 – 85 jours	85 – 90 jours	incomplet	75 – 80 jours
	Productivité en gousse	Bonne	excellente	incomplet	bonne
	Valeur culturale	90 – 100 kg/ha	90 – 100 kg/ha	incomplet	90 – 100 kg/ha
	Rendement à l'hectare	1400 – 1600 kg/ha	1600 – 2000 kg/ha	incomplet	1200 – 1500 kg/ha
	Rendement au décortilage	75 %	77 %	incomplet	72 %
	Poids de 1000 graines	47 à 49 g	47 – 49 g	incomplet	45 – 47 g
Comportement vis-à-vis des bioagresseurs	Anthraxnose, rouille, tâche angulaire	Tolérant	Tolérant	incomplet	Tolérant
	Fertilisation	Répond très bien à la fertilisation	Répond très bien à la fertilisation	incomplet	Moyennement exigeant
	Pluie abondante		Sensible (au stade de maturation, peu nuire à la qualité des graines)	incomplet	Sensible (au stade de maturation, peu nuire à la qualité des graines)

Annexe 3: Photos des échantillons



Variété DRKF



Variété CAL 98



Variété RIL 147



Variété RI 5-2

Annexe 4: 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

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

$r_2 = 0,955 : P = 0,01$

$r_3 = 0,804 : P = 0,1$

Chacun des 19 acides aminés (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 5: Profils de référence en acides aminés essentiels

Acides aminés essentiels	Nourrissons (mg/g de protéine)	Enfants de plus de 2ans et adulte (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 6: Préparation des réactifs pour dosage de l'amidon

Acide chlorhydrique à 25 % (P/P) $d=1,126$

Acide chlorhydrique à 1,128 % (P/V)

Solution de Carrez I : 21,9 g d'acétate de zinc $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ et 3 g d'acide acétique glacé sont dissous dans 100 ml d'eau distillée

Solution de Carrez II : 10,6 g de ferrocyanure de potassium $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ sont dissous dans 100 ml d'eau distillée.

Annexe 7: Préparation de la gamme de concentration en amylose

Amylose % (m/m)	Suspension amylose (ml)	NaOH 0,09 M
0	0	20
10	2	18
20	4	16
25	5	15
30	6	14

Annexe 8: Préparation des réactifs et de la gamme étalon (Dosage des phytates)

1 -Préparation des réactifs

Rose de Wade (0,03 % $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ et 0,3 % d'acide sulfosalicylique) : 1,5 g d'acide sulfosalicylique et 150 mg de chlorure ferrique ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) sont dissous 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.

2 -Préparation de la gamme étalon

Solution mère de phytates à 1,5mM : 27,6 mg de phytates (acide phytique) sont dissous dans 20 ml d'eau distillée. Cette solution est ensuite conservée à 4°C au frigo.

Solution d'acide chlorhydrique 0,1% : 20 ml d'acide chlorhydrique 2,4% sont dilués dans 500 ml d'eau distillée. Cette solution est utilisée pour diluer la gamme étalon.

Solution fille : 300 μ l de solution mère de phytates à 1,5 mM sont mélangés avec 120 μ 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 $1/10^{\text{ème}}$ dans de l'acide chlorhydrique à 0,1 %.

Une nouvelle gamme étalon d'acide phytique doit être préparée chaque jour. La gamme étalon est obtenue en diluant la solution fille comme suit :

Concentration (en µg/ml)	Dilution	Préparation de la dilution
41,5	1/2	1ml de solution fille + 1 ml de HCl 0,1%
27,7	1/3	0,5 ml de solution fille + 1 ml de HCl 0,1%
20,8	1/4	1 ml de dilution 1/2 + 1 ml de HCl 0,1%
13,8	1/6	0,5 ml de dilution 1/3 + 0,5 ml de HCl 0,1%
10,4	1/8	1 ml de dilution 1/4 + 1 ml de HCl 0,1%
5,2	1/16	0,5 ml de dilution 1/8 + 0,5 ml de HCl 0,1%
0		0,75 ml HCl 0,1%

Cette gamme est faite en double.

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

Annexe 9: Préparation des réactifs et de la gamme étalon (Dosage des phénols totaux)

1 - Préparation des réactifs

Solution de carbonate de Sodium à 20 % : 50 g de carbonate de Sodium sont dissouts dans 200 ml d'eau distillée par agitation à l'aide d'un barreau magnétique. Puis 50 ml d'eau distillée y sont versées pour compléter la solution à 250 ml.

2 - Préparation de la gamme étalon

La gamme étalon est préparée lors de chaque série de dosage, en réalisant une série de « dilution en cascade » à partir d'une solution mère d'acide gallique (AG), qui peut être stockée pendant 2 à 3 semaines (au maximum).

2.1 - Pour préparer la solution mère

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

2.2 - Pour préparer la gamme étalon

Le tableau ci-dessous montre les séries de dilutions préparées à partir de la solution mère d'acide gallique à 1mg/ml.

Concentration (en µg/ml)	Préparation de la dilution
400	500 µl de solution mère + 1000 µl de méthanol
200	250 µl de solution mère + 100 µl de méthanol
100	1000 µl de solution à 200 µg/ml + 1000 µl de méthanol
50	500 µl de solution à 100 µg/ml + 1000 µl de méthanol
25	500 µl de solution 50 µg/ml + 1000 µl de méthanol
	Pour le point zéro, on utilise du méthanol

Annexe 10: Préparation de la gamme étalon (Dosage des tanins condensés)

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 :

Quantité de tanin de pépins de raisin purifié (mg)	Concentration en tanin de la solution (mg/ml)
3,8 mg	0,613 mg/ml
10,1 mg	1,629 mg/ml
16,8 mg	2,71 mg/ml

Annexe 11: Différents matériels utilisés lors des études physico-chimiques



VISCOSTAR R



SECHOIR SOLAIRE INDIRECT



ETUVE



DISTILLATEUR



MINERALISATEUR



FOUR A MOUFLE



CENTRIFUGEUSE



DESSICCATEUR



POLARIMETRE DE LAURENT



SOXHLET AVEC UN BALLON
A COL RODE



SPECTROPHOTOMETRE



VORTEX

Titre : Analyse nutritionnelle de quatre nouvelles variétés de *Phaseolus vulgaris*
(DRKF; CAL 98 ; RIL 147 (b) ; RI 5-2)

Auteur: ANDRIATODISOA Vonjiniaina

RESUME :

Quatre (4) variétés de graines sèches de haricot commun fournies par le DRA du FO.FI.FA ont fait l'objet de l'étude nutritionnelle.

L'analyse montre que la teneur moyenne en eau des graines est de 12 %, soit 88 % de matière sèche. Cette faible teneur en eau permet une longue conservation. Les graines sont riches en éléments nutritifs notamment 23 à 27 % MS de protéines, 64 à 69 % MS de glucides. L'amidon des échantillons a une forte teneur en amylose (24-26 %). Du fait des teneurs en fibres (44-47 % glucides totaux) et amylose importantes, les échantillons sont considérés comme un aliment à un index glycémique bas. Les graines sont aussi riches en éléments minéraux (5 à 7 % MS). Les protéines sont de bonne qualité avec des taux d'acides aminés essentiels supérieurs à 40 %. Mais, les acides aminés soufrés (méthionine et cystéine) constituent les facteurs limitant primaires. Les scores chimiques des protéines sont relativement bas lorsqu'ils sont utilisés dans l'alimentation des enfants de moins de 2 ans. La présence des fibres dans les variétés a des effets bénéfiques sur l'organisme. Comme d'autres variétés de haricot, la teneur en lipides (entre 1 à 2 % MS) des graines est faible. La valeur énergétique des échantillons se situe autour de 383 Kcal % MS.

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 présentent des phytates avec des teneurs allant de 11,70 mg à 15,92 mg/g MS, des phénols totaux de 0,15 à 0,24 en g AG/ 100 g MS et de tannins condensés entre 1,31 g à 1,92 g/100 g MS.

Mots – clés :

Haricot, nouvelles variétés, valeur nutritionnelle, amidon, amylose, facteurs antinutritionnels.

Encadreur: Professeur RALISON Charlotte

Co-encadreur : Docteur RAHANITRARIVONY Veronirina

Title: Nutrition analysis of four new varieties of *Phaseolus vulgaris*
(DRKF; CAL 98; RIL 147 (b); RI 5-2)

Author: Vonjiniaina ANDRIATODISOA

SUMMARY:

Four (4) new varieties of common bean dry seeds provided by the ARD FO.FI.FA were the subject of nutrition study.

The analysis showed that the average content of water in the seeds is 12 % or 88 % of dry matter. This low water content allows a long shelf life. The seeds were rich in nutrients including 23-27 % DM of protein, 64-69 % DM carbohydrates. The starch sample has high amylose content (24-26 %). Due to the fiber content (44-47 total carbohydrates) and amylose important, the samples were considered food for a low glycemic index. The seeds are also rich in mineral elements (5 to 7 % DM). Proteins are of good quality with high levels of essential amino acids at 40 %. But sulfur amino acids (methionine and cysteine) were the primary limiting factors. Chemical protein scores were relatively low when used in the diet of children under 2. The presence of fibers in varieties has beneficial effects on the body. Like other varieties of beans, fat content (between 1-2 % DM) in seeds was low. The energy value of samples was around 383 Kcal % DM.

Despite the relative richness of the samples in nutrients bioavailability of them can be reduced by the presence of antinutrients factors. Indeed, the seeds had phytates with contents ranging from 11.70 mg to 15.92 mg/g DM, total phenols 0.15 to 0.24 g AG/100 DM and condensed tannins between 1.31 g to 1.92 g/100 g DM

16 mg /g DM, total phenols 0.15 to 0.21 g AG/ 100 g DM and condensed tannins 1.31g to 1.92 g/100 g DM.

Keywords:

Beans, new varieties, nutritional value, starch, amylase, antinutrients factors.

Coach: Professor Charlotte RALISON

Co-supervisor: Dr. Veronirina RAHANITRARIVONY