

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR**  
**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA**

FACULTE DES SCIENCES `

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE  
ET MICROBIOLOGIE

N° :.....



DOMAINE : SCIENCES DE LA  
NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCES ALIMENTAIRES

OPTION : NUTRITION ET SCIENCE  
DES ALIMENTS

**Mémoire présenté pour l'obtention**  
**du diplôme de Master Académique**

**Par** MIZI Khadidja Ismahan  
MOUSSAOUI Rim ghaniya

**Intitulé**

**Évaluation de la qualité de graines germées et valorisation**  
**sous forme de poudre protéique**

**Soutenu devant le jury composé de :**

Pr. AOUN Omar	Université de M'sila	Président
Dr. BELBAHI Amine	Université de M'sila	Rapporteur
Dr. HAMAOUY Yasmina	Université de M'sila	Examinatrice

**Année universitaire : 2024 /2025**

**REMERCIEMENT**

D'abord et avant tout, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Dieu, le Tout-Puissant et Miséricordieux, de nous avoir donné la force et la patience nécessaires à l'accomplissement de ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadrant, Monsieur BELBAHI Amine, à qui nous sommes profondément reconnaissante pour ses précieux conseils, sa confiance, sa patience et son encadrement rigoureux tout au long de notre recherche.

Nos remerciements s'adressent aussi aux membres de jury Madame HAMAOUI Yasmina et monsieur AOUN Omar qui ont accepté de lire et d'évaluer notre travail.

Nos sincères reconnaissances vont à tous ceux qui nous ont aidées dans notre parcours d'études. Nous exprimons notre profonde gratitude à nos chères mamans, à nos frères, à nos collègues et à nos amis pour leur soutien moral et intellectuel tout au long de ce parcours.

*Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail, tout d'abord à : L'âme de mon père « MIZI NOURI » : le secret de ma motivation à étudier, Et mon espérance que dieu l'accueille en son vaste paradis.*

*A ma très chère mère « HARKAT FATIMA » Mon paradis quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit, ton affection me couvre, ta bienveillance me guide, et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différentes entraves.*

*A mes très chères sœurs et mon pilier dans la vie (Latifa et aya).*

*Je prie Dieu de nous garder ensemble et de toujours nous soutenir les uns les autres.*

*À ma chère grand-mère paternelle, avec tout mon amour et ma gratitude*

*A tous la famille MIZI et HARKAT.*

*À mes fleurs de cœur Niama et Rima et zyneb et amira et marwa et djomana et aya et Nossaïba et randa, grand merci.*

*À Celle qui partage mon chemin, à la fois dans les études et dans la vie MOUSSAOUI Rim ghaniya), mon amie d'enfance précieuse... Merci pour ta présence."*

*Khadidja*

*Dédicace*

*A ma très chère mère ; (SLAMANI Fatîha) la lumière qui m'a toujours guidée vers le bon chemin, Qui n'a jamais cessé de prier pour moi Pour son amour infini ainsi que pour l'espoir de vivre qu'elle me donne, À celle qui a tout fait pour ma réussite, pour ses sacrifices et ses encouragements.*

*A mon très cher père (MOUSSAOUI Nasser) : Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduise ma gratitude et mon affection.*

*A mes chers frères et sœurs Zeyneb, Ayoub, Zakaria et Aymen ; vous serez toujours mon soutien.*

*À ma chère Yemma Ghaniya, qui ne m'a jamais oubliée dans ses prières, et dont les larmes coulaient à chaque fois qu'elle voyait ma fatigue, m'encourageant toujours à continuer avec tout son amour et sa tendresse.*

*À mes chères tantes Ouarda, Amel, Hadjer , Zohra, Fatima, Achwak, Asma, Badra, Sabrina, Noura, rania, que je considère comme des modèles dans ma vie. Avec tout mon amour et ma reconnaissance.*

*À mes chères cousines (Doua, Isma, Radja, Aïcha, Yasmine, Tina, Amina, Dhoïa, Meriem, Roua, Alya Latifa, Aya) complices de cœur et d'enfance, vous êtes une belle source de joie et d'inspiration dans ma vie.*

*À mon binôme MIZI Khadija Ismahan, partenaire de confiance et d'efforts partagés, merci pour ta collaboration précieuse.*

*Rim*

## RÉSUMÉ

Ce travail explore l'impact de la germination sur la qualité nutritionnelle, microbiologique et physicochimique des graines de lentilles, en vue de produire une poudre protéique végétale fonctionnelle et sûre. La germination des graines de lentille s'est déroulée en cinq jours, avec une protrusion radiculaire visible dès J3 et une plantule bien formée à J5. Le poids des graines a presque doublé entre J0 (50 g) et J3 (environ 110 g) sous l'effet de l'imbibition, avant de fluctuer, puis de retomber à 80 g après séchage, signe du retrait d'eau libre. Le traitement vapeur (94 °C, 10 min) a réduit efficacement la charge microbienne : les coliformes fécaux, *E. coli* et *Salmonella* sont restés indétectables après J1, tandis que les coliformes totaux, bien que diminués, sont demeurés présents, confirmant une contamination endogène difficile à éradiquer. Les levures et la flore mésophile aérobie ont décliné progressivement, atteignant des valeurs négligeables dans le produit fini. Sur le plan physico-chimique, l'activité de l'eau est passée de 0,33 (J0) à 1,00 (J4) lors de la germination, puis est redescendue à 0,77 après séchage, assurant la stabilité du produit. La teneur en eau a culminé à 71,8 % (J5) avant de chuter à 20 % dans la poudre finale. Le pH s'est légèrement acidifié (6,64 vers 6,37), reflétant la production d'acides organiques bénéfiques. Enfin, l'absorbance de l'acide phytique (méthode de Wade) a augmenté de 0,21 à 1,04, témoignant d'une hydrolyse enzymatique substantielle et d'une amélioration attendue de la biodisponibilité minérale. La cinétique de séchage a montré que 85 % de l'eau est éliminée en 30 min, permettant d'atteindre une masse résiduelle de 44,7 g en 70 min, avec un impact énergétique et nutritionnel maîtrisé. La combinaison germination–traitement thermique–séchage permet d'obtenir une poudre de lentille stable, hygiéniquement acceptable et potentiellement plus biodisponible sur le plan minéral. Ces résultats ouvrent la voie à la formulation d'ingrédients fonctionnels à base de légumineuses germées, sous réserve d'une maîtrise plus poussée des contaminations endogènes.

---

**Mots-clés** : Germination, lentilles, qualité microbiologique, poudre protéique, acide phytique, séchage.

**ABSTRACT**

This study explores the impact of germination on the nutritional, microbiological, and physicochemical quality of lentil seeds, with the aim of producing a safe and functional plant-based protein powder. Lentil seed germination lasted five days, with radicle protrusion visible by day 3 and a well-developed seedling by day 5. Seed weight nearly doubled from day 0 (50 g) to day 3 ( $\approx 110$  g) due to water uptake, then fluctuated before dropping to 80 g after drying, indicating the loss of free water. Steam treatment (94 °C, 10 min) effectively reduced microbial load: fecal coliforms, *E. coli*, and *Salmonella* remained undetectable after day 1, while total coliforms, although reduced, persisted, confirming the presence of hard-to-eliminate endogenous contamination. Yeasts and aerobic mesophilic flora gradually declined, reaching negligible levels in the final product. From a physicochemical perspective, water activity increased from 0.33 (day 0) to 1.00 (day 4) during germination, then decreased to 0.77 after drying, ensuring product stability. Moisture content peaked at 71.8% (day 5) before dropping to 20% in the final powder. A slight acidification of pH (from 6.64 to 6.37) reflected the formation of beneficial organic acids. Finally, phytic acid absorbance (Wade reagent method) increased from 0.21 to 1.04, indicating substantial enzymatic hydrolysis and an expected improvement in mineral bioavailability. Drying kinetics showed that 85% of water was removed within 30 minutes, yielding a residual mass of 44.7 g in 70 minutes, with a controlled energy and nutritional impact. The combination of germination, thermal treatment, and drying yielded a lentil powder that is stable, hygienically acceptable, and potentially more bioavailable in terms of minerals. These findings support the development of functional ingredients from germinated legumes, provided that endogenous contamination is more effectively controlled.

---

**Keywords:** Germination, lentils, microbiological quality, protein powder, phytic acid, drying.

## ملخص

تتناول هذه الدراسة تأثير الإنبات على الجودة الغذائية والميكروبيولوجية والفيزيوكيميائية لبذور العدس، بهدف إنتاج مسحوق بروتيني نباتي وظيفي وآمن. استمر إنبات بذور العدس لمدة خمسة أيام، حيث ظهرت بداية الجذر في اليوم الثالث، وتكوّنت نبتة مكتملة في اليوم الخامس. تضاعف وزن البذور تقريباً من 50 غ في اليوم 0 إلى حوالي 110 غ في اليوم 3 نتيجة الامتصاص المائي، ثم تذبذب وانخفض إلى 80 غ بعد التجفيف، مما يدل على فقدان الماء الحر. ساهمت المعالجة بالبخار (94 درجة مئوية، 10 دقائق) في تقليل الحمولة الميكروبية بفعالية؛ حيث بقيت الكوليفورم البرازية، الإشريكية القولونية والسالمونيلا غير قابلة للكشف بعد اليوم الأول، بينما انخفضت الكوليفورم الكلية لكنها استمرت في الظهور، مما يشير إلى وجود تلوث داخلي يصعب القضاء عليه. كما انخفضت أعداد الخمائر والفلورا الهوائية المتوسطة تدريجياً حتى أصبحت شبه معدومة في المنتج النهائي.

من الناحية الفيزيوكيميائية، ارتفعت فعالية الماء من 0.33 (اليوم 0) إلى 1.00 (اليوم 4) أثناء الإنبات، ثم انخفضت إلى 0.77 بعد التجفيف، مما يضمن استقرار المنتج. بلغت نسبة الرطوبة ذروتها عند 71.8% في اليوم الخامس، ثم انخفضت إلى 20% في المسحوق النهائي. شهد الرقم الهيدروجيني انخفاضاً طفيفاً من 6.64 إلى 6.37، مما يعكس إنتاج أحماض عضوية مفيدة. وارتفع امتصاص حمض الفيتيك (بطريقة ويد) من 0.21 إلى 1.04، مما يدل على حدوث تحلل إنزيمي كبير وتحسن مرتقب في التوافر الحيوي للمعادن. أظهرت دراسة حركية التجفيف أن 85% من الماء تمت إزالته خلال 30 دقيقة، مع الوصول إلى كتلة نهائية قدرها 44.7 غ خلال 70 دقيقة، دون تأثير كبير على الطاقة أو القيمة الغذائية. إن الجمع بين الإنبات والمعالجة الحرارية والتجفيف يمكّن من الحصول على مسحوق عدس مستقر، مقبول من الناحية الميكروبيولوجية، وربما أكثر توفراً من حيث المعادن. تفتح هذه النتائج آفاقاً لتطوير مكونات غذائية وظيفية انطلاقاً من البقوليات المنبّة، بشرط التحكم بشكل أفضل في التلوثات الداخلية.

**الكلمات المفتاحية:** الإنبات، العدس، الجودة الميكروبيولوجية، المسحوق البروتيني، حمض الفيتيك، التجفيف

## SOMMAIRE

<b>RÉSUMÉ</b> .....	I
<b>ABSTRACT</b> .....	II
ملخص.....	III
<b>SOMMAIRE</b> .....	IV
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	VII
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	VIII
<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>CHAPITRE I. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>3</b>
<b>1. Généralités sur les graines germées</b> .....	<b>3</b>
1.1. Définitions .....	3
1.1.1. Germination des graines .....	3
1.1.2. Graines germées .....	4
1.2. Condition de la germination .....	4
1.3. Phases de la germination .....	5
<b>2. Germination d'un point de vue nutritionnel</b> .....	<b>6</b>
2.1. Utilisation des graines germées en nutrition humaine.....	6
2.2. Germination et les changements nutritionnels.....	7
2.3. Protéines dans les graines germés .....	8
<b>3. Facteurs antinutritionnels</b> .....	<b>9</b>
3.1. Définition.....	9
3.2. Types des facteurs antinutritionnels .....	9
3.2.1. Acide phytique .....	10
3.2.2. Tanins .....	10
3.2.3. Cyanure .....	10
3.3. Effets indésirables de certains anti nutriments .....	10
<b>4. Sécurité sanitaire et la qualité des graines germées</b> .....	<b>11</b>
4.1. Contamination bactériologique des graines germées .....	12
4.2. Conservation de la qualité .....	12
<b>5. Farines végétales riches en protéines</b> .....	<b>13</b>
5.1. Protéines végétales issues des légumineuses.....	13
5.2. Lentilles .....	13

---

5.2.1.	Protéines de réserve des graines de lentilles .....	14
5.2.2.	Facteurs antinutritionnels affectant les protéines de lentilles.....	15
5.2.3.	Applications alimentaires des protéines de lentilles .....	15
<b>CHAPITRE II. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....</b>		<b>17</b>
<b>1.</b>	<b>Lieux de stage .....</b>	<b>17</b>
<b>2.</b>	<b>Matériel biologique .....</b>	<b>17</b>
<b>3.</b>	<b>Protocole de germination graines de lentille.....</b>	<b>17</b>
<b>4.</b>	<b>Analyses microbiologiques .....</b>	<b>18</b>
4.1.	Préparation des milieux .....	18
4.1.1.	Milieu PDA (Potato Dextrose Agar).....	18
4.1.2.	Milieu BCPL (Brilliant Green Bile Lactose Broth modifié).....	19
4.2.	Coliformes totaux et coliformes fécaux.....	19
4.3.	Flore mésophile aérobie totale (FMAT).....	20
4.4.	Levures et moisissures .....	20
4.5.	<i>Escherichia coli</i> .....	21
4.6.	<i>Salmonella</i> spp.....	21
<b>5.</b>	<b>Analyses physicochimiques.....</b>	<b>21</b>
5.1.	Activité de l'eau.....	21
5.2.	Teneur en eau.....	22
5.3.	pH .....	23
5.4.	Dosage de l'acide phytique.....	23
5.4.1.	Principe.....	23
5.4.2.	Préparation des réactifs .....	23
5.4.3.	Protocole et analyse expérimental.....	24
<b>6.</b>	<b>Traitement thermique.....</b>	<b>24</b>
<b>7.</b>	<b>Séchage des graines .....</b>	<b>25</b>
7.1.	Principe et objectif.....	25
7.2.	Protocole expérimental .....	26
<b>8.</b>	<b>Broyage des graines germées de lentilles.....</b>	<b>27</b>
<b>CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSIONS .....</b>		<b>28</b>
<b>1.</b>	<b>Description des étapes de germination de la graine de lentille .....</b>	<b>28</b>
1.1.	Description morphologique .....	28
1.2.	Description du poids des graines .....	29

---

<b>2.</b>	<b>Traitement thermique des graines germées .....</b>	<b>29</b>
<b>3.</b>	<b>Qualité microbiologique .....</b>	<b>31</b>
3.1.	Coliformes totaux .....	31
3.2.	Coliformes fécaux.....	32
3.3.	Levures .....	33
3.4.	Flore mésophile aérobie totale.....	35
3.5.	<i>Escherichia coli</i> et <i>Salmonella</i> .....	35
<b>4.</b>	<b>Paramètres physicochimiques des graines .....</b>	<b>37</b>
4.1.	Activité de l'eau.....	37
4.2.	Teneur en eau.....	37
4.3.	pH .....	38
4.4.	Évolution de l'acide phytique.....	39
<b>5.</b>	<b>Séchage de séchage des graines germées .....</b>	<b>40</b>
	<b>CONCLUSION.....</b>	<b>43</b>
	<b>RÉFÉRENCES.....</b>	<b>44</b>

---

**LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1. Effets indésirables de certains anti nutriments. (Gemedé and Ratta, 2014).....	11
Tableau 2. Résumé des analyses rapportées des fractions de protéines de stockage des graines de lentilles cultivées (%) en fonction de leur solubilité dans différents solvants (Khzzaei et al., 2019).....	15
Tableau 3. Microorganismes recherchés, milieux de culture et conditions d'incubation. ....	18
Tableau 4. Évolution du poids des graines de lentilles au cours des cinq jours de germination. ....	29
Tableau 5. Résultats des analyses des coliformes totaux obtenus lors de la germination des graines de lentilles (0 à 5 jours) et pour le produit final (PF). ....	32
Tableau 6. Résultats des analyses des coliformes fécaux obtenus lors de la germination des graines de lentilles (0 à 5 jours) et pour le produit final (PF). ....	33
Tableau 7. Résultats des analyses de levures obtenus lors de la germination des graines de lentilles (0 à 5 jours) et pour le produit final (PF).....	34
Tableau 8. Résultats des analyses d' <i>E. coli</i> obtenus lors de la germination des graines de lentilles à 0 et à 5 jours. ....	36
Tableau 9. Résultats des analyses d' <i>E. coli</i> obtenus lors de la germination des graines de lentilles à 0 et à 5 jours. ....	36
Tableau 10. Évolution de l' $a_w$ des graines de lentilles au cours du processus germinatif. ....	37
Tableau 11. Évolution de la teneur en eau des graines de lentilles au cours du processus germinatif .....	38
Tableau 12. Évolution du pH des graines de lentilles au cours du processus germinatif .....	39
Tableau 13. Évolution de l'acide phytique des graines de lentilles au cours du processus germinatif .....	40
Tableau 14. Paramètres de la cinétique de séchage par entraînement des graines de lentilles germées.....	42

## LISTE DES FIGURES

Figure 1. Développement d'une pousse à partir d'une graine (a), puis d'une graine imbibée (b), puis d'une graine en germination avec une « radicule » ou racine primaire émergente (c), puis d'une jeune pousse avec un « tégument » ou enveloppe de la graine qui se détache (d), puis d'une pousse avec des « cotylédons » ou « feuilles de la graine » qui verdissent et de vraies feuilles primaires émergentes (e), puis d'une micro-pousse ou grande pousse (f) (Fahey et al., 2013).....	3
Figure 2. Photographie de petit poids (A) et de pois chiche germés (B) .....	4
Figure 3. Les trois phases de la germination (Huillier et al., 2010) .....	6
Figure 4. Effet de la germination sur les caractéristiques nutritionnelles des graines de céréales et de légumineuses (Kathuria et al., 2024). .....	8
Figure 5. Photographie des deux étapes principales de préparation du milieu BCPL. ....	19
Figure 6. Photographies d'un $a_w$ -mètre (A) ainsi que la capsule de mesure contenant l'échantillon à analyser (B). .....	22
Figure 7. Photographes des principales composantes du traitement thermique : Thermocouple de type K (A), Data-logger de type ALMEMO (B), source de vapeur (C) et les graines germées (D). .....	25
Figure 8. Photographes des principales composantes du traitement thermique : Séchoir (A), claies pour les graines (B), source d'air chaud (C). .....	27
Figure 9. Photographie de la germination d'une graine de lentille sur cinq jours. ....	28
Figure 10. Évolution de la température au cours du traitement thermique .....	30

## INTRODUCTION

Dans un contexte global où l'on privilégie de plus en plus une alimentation fonctionnelle, saine et durable, l'intérêt pour les produits d'origine végétale n'a jamais été aussi marqué. Parmi ces produits, les graines germées suscitent une attention croissante en raison de leurs propriétés nutritionnelles améliorées, de leur meilleure biodisponibilité en micronutriments et de leurs effets bénéfiques potentiels sur la santé humaine (**Secinaro, 2017**).

La germination est un processus naturel au cours duquel une graine sèche se transforme en une jeune plante active. Ce phénomène active diverses enzymes et induit d'importants changements biochimiques, tels que la dégradation des composés antinutritionnels, l'augmentation des teneurs en composés bioactifs, ainsi qu'une amélioration de la qualité des protéines (**Gunathunga et al., 2024**).

Les poudres végétales riches en protéines offrent une teneur élevée en acides aminés essentiels, en fibres, en vitamines et en minéraux. Bien que certaines poudres végétales puissent présenter une digestibilité légèrement inférieure à celle des protéines animales, des stratégies telles que la combinaison de différentes sources végétales permet d'obtenir un profil d'acides aminés complet. Les poudres végétales riches en protéines obtenues à partir de graines germées gagnent en popularité en tant qu'alternatives durables aux protéines animales. En effet, elles offrent une meilleure digestibilité et une absorption accrue des nutriments, ce qui les rend particulièrement adaptées aux personnes souffrant d'intolérances alimentaires ou recherchant des options protéiques végétales de haute qualité (**Kathuria et al., 2024**).

Des études récentes ont mis en évidence les nombreux avantages de la germination, tant sur le plan nutritionnel (hausse des teneurs en vitamines, composés phénoliques, acides aminés essentiels) que fonctionnel (activité antioxydante, effets hypocholestérolémiants, propriétés anti-inflammatoires, etc.). Toutefois, plusieurs défis scientifiques et technologiques subsistent, notamment en ce qui concerne l'optimisation des conditions de germination, la conservation des produits obtenus et la préservation de leurs qualités sensorielles (**Chinma et al., 2024**).

Par ailleurs, l'impact de la germination sur la composition chimique, la sécurité sanitaire, les propriétés techno-fonctionnelles et les potentiels de prévention nutritionnelle des graines germées, de leurs farines et de leurs sous-produits reste encore peu exploré (**Elena Peñas et al., 2020**).

Dans ce contexte, une meilleure compréhension de l'effet de la germination sur la qualité nutritionnelle et fonctionnelle de graines telles que la lentille et le chia est essentielle. Quelles

sont les conditions optimales permettant de maximiser ces bienfaits ? À la lumière de cette problématique, les objectifs de ce travail sont les suivants :

1. Réaliser une comparaison de différentes graines germées afin de sélectionner celles présentant le plus d'intérêt.
2. Effectuer une analyse de la qualité microbiologique et physico-chimique des graines sélectionnées.
3. Suivre l'évolution de la qualité au cours de la cinétique de germination.
4. Optimiser les cinétiques de séchage par entraînement à l'air chaud.
5. Évaluer les teneurs en composés antinutritionnels des graines séchées et réduites en poudre.

## Chapitre I. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

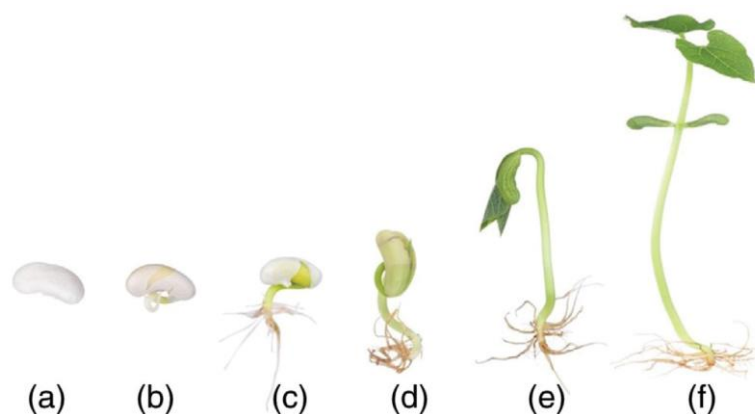
### 1. Généralités sur les graines germées

#### 1.1. Définitions

##### 1.1.1. Germination des graines

La germination des grains c'est un processus naturel qui se produit lorsque des grains sont humidifiés dans un environnement propre en termes de température d'air et d'obscurité. La germination signifie l'activation des activités enzymatique dans toutes les parties de la graine (embryon et tissus de réserve), ce qui entraîne la croissance de l'embryon et la formation d'un germe. Les processus globaux qui orchestrent la germination sont l'hydrolyse de l'amidon et des protéines végétales. Effectivement, les protéines se transforment en acides aminés et l'amidon en sucre simples. Cette propriété améliore la digestibilité par rapport aux graines qui ne sont pas germées. Cela nécessite une moindre mobilisation de l'appareil digestif. Ainsi, l'organisme peut directement absorber les sucres simples et les acides aminés. (**Baumgartner, M., et Emonet, E., 2007**).

Les graines renferment des réserves d'énergie (lipides, glucides) indispensables à la germination. L'imbibition d'eau déclenche l'activation enzymatique qui permet de mobiliser ces réserves. Les protéines proviennent principalement de l'embryon. Cette énergie soutient la croissance de la jeune plante et la formation de ses organes (racines, tiges, feuilles), à partir des primordiums embryonnaires (Figure 1).



**Figure 1.** Développement d'une pousse à partir d'une graine (a), puis d'une graine imbibée (b), puis d'une graine en germination avec une « racicule » ou racine primaire émergente (c), puis d'une jeune pousse avec un « tégument » ou enveloppe de la graine qui se détache (d), puis d'une pousse avec des « cotylédons » ou « feuilles de la graine » qui verdissent et de vraies feuilles primaires émergentes (e), puis d'une micro-pousse ou grande pousse (f) (**Fahey et al., 2013**).

### 1.1.2. Graines germées

Les grains germés, souvent identifiés par la présence d'une radicle visible ont été utilisés comme ingrédient alimentaire pendant de nombreuses années, en raison de l'idée largement répandue qu'ils offrent d'importants avantages nutritionnels, gustatifs et texturaux par rapport aux graines non germées. (Peñas, E et al., 2020).



Figure 2. Photographie de petit pois (A) et de pois chiche germés (B)

### 1.2. Condition de la germination

La germination des graines est influencée par un ensemble de facteurs internes et externes qui déterminent son déclenchement, sa rapidité et son efficacité. Ses facteurs se déclinent :

*a) Facteurs internes.* Parmi les conditions internes essentielles à la germination figure d'abord le degré de maturité de la graine. Une graine physiologiquement immature n'a pas atteint un développement suffisant pour initier correctement le processus germinatif (Heller et al., 2000). Un autre facteur clé est la disponibilité des réserves nutritives (amidon, protéines, lipides), qui sont mobilisées via l'action d'enzymes spécifiques afin de nourrir l'embryon durant les premières phases de croissance. Ces substances de réserve sont stockées principalement dans les tissus de l'albumen ou des cotylédons, et leur dégradation enzymatique assure l'apport énergétique nécessaire à la germination. Enfin, la longévité des semences, c'est-à-dire leur capacité à rester viables au fil du temps, joue un rôle déterminant : plus une graine vieillit, plus son pouvoir germinatif diminue en raison de la dégradation de ses constituants vitaux (Heller et al., 2000).

*b) Facteurs externes.* La réussite de la germination dépend également de conditions environnementales favorables. En premier lieu, l'eau est un facteur indispensable : elle hydrate

les tissus de la graine, active les enzymes et permet la reprise du métabolisme cellulaire. Elle pénètre dans la graine par capillarité à travers les enveloppes, réhydrate les réserves, favorise leur mise en solution, et permet leur assimilation par l'embryon. Ce processus induit alors un gonflement cellulaire et une reprise de la division cellulaire (**Difallah, 2015**).

L'oxygène est également crucial : la germination étant un processus aérobie, l'embryon a besoin de dioxygène pour activer la respiration cellulaire et produire l'énergie nécessaire à la croissance. La température joue, quant à elle, un rôle fondamental en influençant la vitesse des réactions métaboliques. Chaque espèce présente des plages de température spécifiques : la germination peut ainsi s'amorcer à des températures minimales comprises entre 0 et 5 °C, atteindre des températures maximales de 45 à 48 °C, avec une température optimale généralement située entre 25 et 30 °C. Enfin, la lumière intervient comme un facteur secondaire ou indirect, dont l'effet dépend des exigences spécifiques de chaque espèce : certaines graines nécessitent la lumière pour germer, d'autres au contraire germent mieux dans l'obscurité (**Difallah, 2015**).

### **1.3. Phases de la germination**

La germination est un processus dynamique qui se déroule en plusieurs étapes successives. Elle est généralement divisée en trois phases principales, chacune marquée par des changements physiologiques et métaboliques caractéristiques :

#### **a) Phase 1 : Imbibition**

La première phase de la germination est celle de l'imbibition, qui correspond à l'entrée rapide d'eau dans la graine sèche. Cette hydratation intense des tissus provoque une réactivation des processus métaboliques, notamment une augmentation marquée de l'activité respiratoire. L'eau s'infiltre dans les cellules par capillarité, suivant le gradient du potentiel hydrique, et entraîne une reprise de la consommation d'oxygène, en lien avec l'activation des enzymes mitochondriales responsables de la respiration cellulaire (**Laouari & Chabi, 2024**).

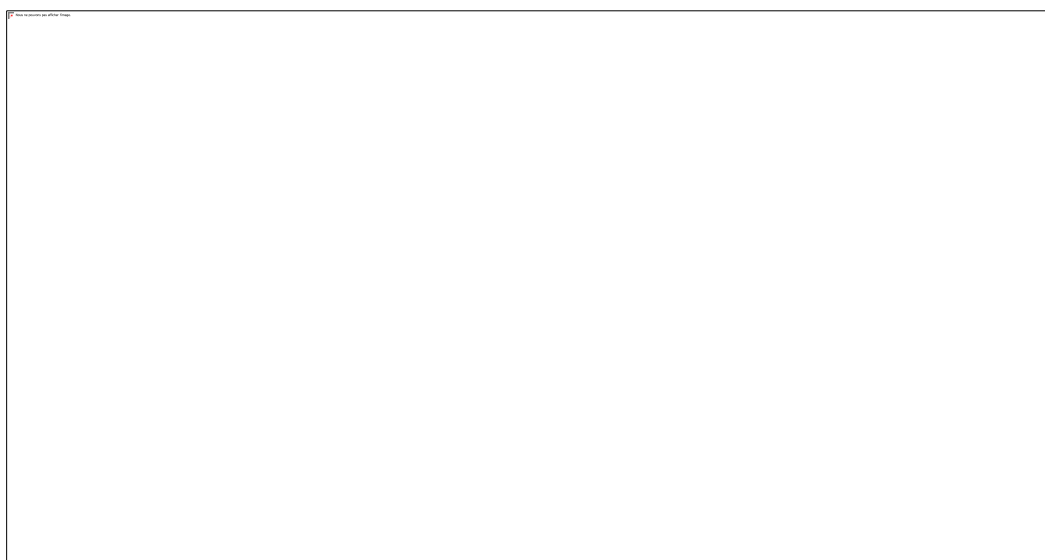
#### **b) Phase 2 : Germination au sens strict**

La deuxième phase correspond à la germination au sens strict. Elle est caractérisée par une stabilisation de l'hydratation des tissus et une respiration cellulaire maintenue à un niveau élevé. Cette phase, généralement courte (12 à 48 heures), est marquée par la mobilisation des réserves énergétiques et enzymatiques nécessaires à la croissance embryonnaire. Elle se termine par l'émergence de la radicule, signe visible que la germination est réussie. À ce stade, la graine

peut encore être déshydratée et réhydratée sans perte apparente de viabilité, ce qui montre une certaine réversibilité physiologique (Difallah, 2015).

**c) Phase 3 : Croissance post-germinative**

La dernière phase est celle de la croissance post-germinative. Elle se distingue par un nouvel afflux d'eau et une augmentation significative de la respiration. La synthèse de nouvelles enzymes, notamment celles impliquées dans la division cellulaire et l'allongement des tissus, devient active. Cette phase marque le début de la croissance visible de la plantule, avec une multiplication rapide des cellules et la mise en place des premiers organes (Laouari & Chabi, 2024).



**Figure 3.** Les trois phases de la germination (Huillier et al., 2010)

## **2. Germination d'un point de vue nutritionnel**

### **2.1. Utilisation des graines germées en nutrition humaine**

L'intérêt pour les graines germées en nutrition humaine ne cesse de croître, notamment en raison de leurs atouts sensoriels et nutritionnels. Consommées depuis longtemps dans les pays d'Asie, ces graines ont gagné en popularité en Occident à partir des années 1980, portées par une demande croissante pour des aliments diététiques, naturels et sans additifs. Riches en composés bioactifs, elles se distinguent par leur couleur attrayante, leur goût prononcé et leur texture agréable. Faciles à produire, les graines germées nécessitent peu d'espace, un équipement minimal, et présentent un cycle de production court (2 à 3 semaines), tout en offrant des rendements satisfaisants (Lorenz et al., 1980). Elles sont aujourd'hui utilisées aussi bien

dans les salades que comme garniture de plats raffinés, et leur transformation permet de diversifier les produits proposés : séchées, torrifiées ou intégrées à des recettes innovantes, elles enrichissent l'offre alimentaire en ingrédients fonctionnels (**Hübner et al., 2013**).

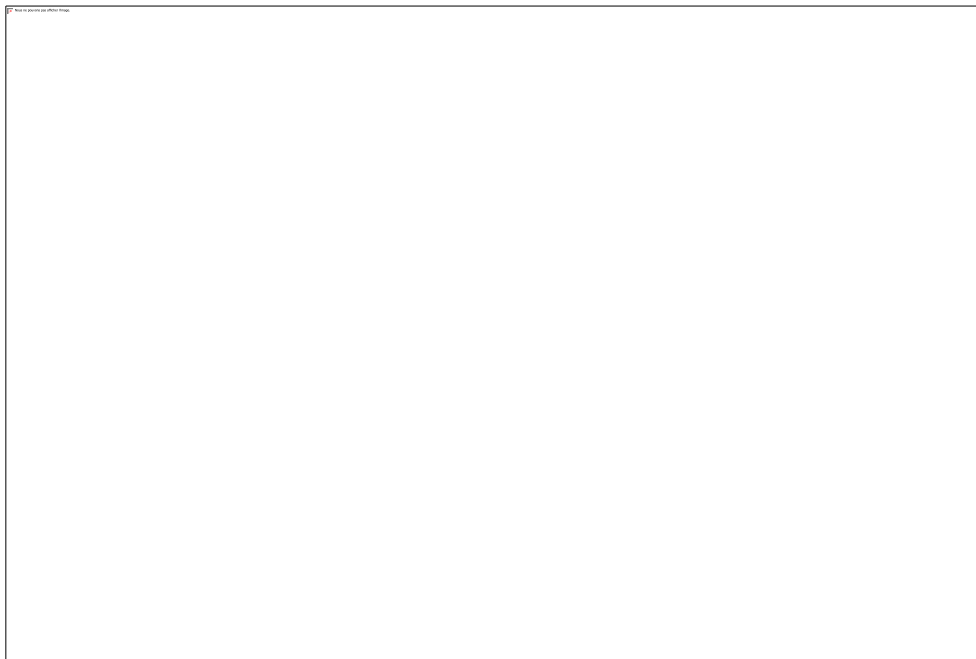
Les céréales et pseudo-céréales germées déshydratées peuvent être incorporées dans diverses formulations : pain, nouilles, bouillies, *laddu*, ou encore boissons fermentées à base de grains germés, offrant ainsi des opportunités dans le domaine des aliments fonctionnels (**Falcinellie et al., 2018**). Ces poudres végétales, obtenues après germination, sont particulièrement appréciées pour leur richesse en fibres, en protéines, en amidon résistant et en oligosaccharides, des composés reconnus pour leur intérêt prébiotique. Toutefois, l'optimisation des conditions de germination reste essentielle, car une activité enzymatique excessive peut altérer les propriétés technologiques des produits finis, notamment dans la panification (**Marti et al., 2018**). Enfin, au-delà de la consommation humaine, les pousses issues de céréales germées sont également envisagées comme compléments alimentaires pour l'alimentation animale, renforçant ainsi leur potentiel dans une approche agroalimentaire durable (**Mattioli et al., 2016**).

## **2.2. Germination et les changements nutritionnels**

Le processus de germination se divise en trois phases. La phase I correspond à l'hydratation (imbibition) des tissus de la graine. Durant la phase II, le métabolisme s'active pour mobiliser les réserves telles que les glucides et les triacylglycérols présents dans l'embryon, fournissant ainsi l'énergie nécessaire à la croissance de la radicule et du plant en développement. La phase III voit une absorption d'eau supplémentaire qui soutient la mobilisation continue des réserves situées dans l'albumen pour assurer la croissance (**Nonogaki et al., 2010**). Il est bien connu que les grains entiers et les légumineuses stockent de nombreux nutriments dans l'albumen, et la germination entraîne d'importants changements biochimiques et sensoriels (Figure XX).

La germination provoque des modifications biochimiques majeures dans les graines, principalement par l'activation d'enzymes endogènes. Ces changements améliorent la qualité nutritionnelle en augmentant la teneur en protéines, fibres et cendres via la dégradation des réserves de la graine par les endoprotéases (**Zhang et al., 2015**). Par ailleurs, la germination stimule la synthèse de nouvelles protéines et mobilise les réserves des cotylédons. Les glucides sont décomposés et associés à l'azote atmosphérique pour former des acides aminés. L'hydrolyse enzymatique de l'amidon augmente également le taux de vitamine C grâce à une meilleure disponibilité du glucose (**Faltermaier, et al., 2015; Rodriguez et al., 2008**).

La teneur en minéraux augmente généralement dans les céréales et légumineuses germées, bien que certains minéraux comme le fer (dans le maïs et l'orge) ainsi que le magnésium, le phosphore et le potassium (dans le blé) puissent diminuer. L'activation de la phytase réduit la formation de complexes phytates, améliorant ainsi la biodisponibilité minérale. Globalement, la germination contribue à diminuer les facteurs antinutritionnels en mobilisant les nutriments nécessaires à la croissance des plantules (**Rodriguez et al., 2008**).



**Figure 4.** Effet de la germination sur les caractéristiques nutritionnelles des graines de céréales et de légumineuses (Kathuria et al., 2024).

### **2.3. Protéines dans les graines germés**

Les principales protéines de réserve des grains entiers de céréales sont classées selon leur solubilité en albumines (solubles dans l'eau), globulines (solubles dans les solutions salines), glutélines (solubles dans les alcalis) et prolamines (solubles dans l'alcool). Lors de la germination, ces protéines sont hydrolysées en peptides et acides aminés par des enzymes protéolytiques après 2 à 3 jours d'imbibition, ce qui améliore la biodisponibilité des nutriments (**Taylor et al., 1985**). Il est bien établi que la teneur en prolamines diminue avec le temps de germination, comme observé chez le triticale, l'orge, le seigle, l'avoine et le blé. À l'inverse, plusieurs études ont rapporté une augmentation des protéines brutes dans l'orge, le blé cireux,

le riz complet et l'avoine, due à la dégradation des protéines et à la redistribution des acides aminés vers les jeunes tissus. La teneur finale en protéines dépend de l'équilibre entre leur dégradation et leur biosynthèse pendant la germination (**Megat et al., 2011**).

En plus de l'augmentation globale des acides aminés, des changements importants dans leur composition ont été observés. Les grains germés présentent généralement des teneurs plus élevées en acides aminés essentiels, utiles à la synthèse protéique humaine. Le type de grain et la durée de germination influencent fortement cette composition. Chez le blé cireux, par exemple, l'isoleucine, la leucine, la phénylalanine et la valine culminent après 36 h de germination, tandis que la thréonine et la méthionine atteignent leur maximum après 24 et 48 h (**Benincasa et al., 2019**). Les malts de riz et de sarrasin produisent plus d'acides aminés après respectivement 5 et 4 jours de germination, bien que leur teneur en asparagine, méthionine et histidine reste faible. Chez l'avoine, la germination entraîne une hausse des albumines (riches en lysine et tryptophane) et une baisse des globulines et prolamines (pauvres en lysine) (**Agu et al., 2012**).

### **3. Facteurs antinutritionnels**

#### **3.1. Définition**

Les facteurs antinutritionnels sont des composés présents dans de nombreuses plantes et produits végétaux qui réduisent l'absorption ou l'utilisation des nutriments par l'organisme. Ils jouent un rôle protecteur pour la plante, en empêchant leur consommation par les prédateurs. Toutefois, en cas de consommation excessive ou d'alimentation peu diversifiée, ces substances peuvent s'accumuler dans le corps et devenir toxiques. Certaines d'entre elles peuvent même détruire des vitamines essentielles (**Thakur et al., 2019**).

On les retrouve en quantités variables selon les aliments. Les légumineuses, par exemple, présentent souvent une faible digestibilité protéique en raison de la présence de composés comme les phytates, oxalates, nitrates, phénols ou même le cyanure. Ces substances perturbent l'absorption des nutriments et des micronutriments. Heureusement, plusieurs techniques de transformation telles que le trempage, la germination, l'ébullition ou la fermentation permettent de réduire ou d'éliminer ces effets indésirables ( v.

#### **3.2. Types des facteurs antinutritionnels**

Trois principaux types de facteurs antinutritionnels sont fréquemment rencontrés en abondance dans les graines et les grains. Ils peuvent interférer avec l'absorption des nutriments essentiels ou exercer des effets toxiques sur l'organisme.

### 3.2.1. Acide phytique

L'acide phytique, également connu sous le nom de phytate (ou inositol hexakisphosphate, InsP<sub>6</sub>), est considéré comme un facteur "antiminéral". Il est abondant dans les graines de légumineuses et de céréales. Ce composé réduit la biodisponibilité de minéraux essentiels tels que le calcium (Ca) et le fer (Fe) en formant des complexes insolubles non absorbables dans l'intestin grêle. Ainsi, il diminue l'efficacité de l'absorption digestive de ces minéraux (**Thakur et al., 2019**).

### 3.2.2. Tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques d'origine végétale, généralement amers et astringents. Ils peuvent se lier ou précipiter les protéines ainsi que d'autres composés organiques comme les acides aminés et les alcaloïdes. Leur présence dans les aliments perturbe notamment l'assimilation du fer alimentaire, réduisant ainsi sa disponibilité pour l'organisme (**Thakur et al., 2019**).

### 3.2.3. Cyanure

Certaines espèces végétales produisent du cyanure d'hydrogène (HCN) à partir de glycosides cyanogéniques lorsqu'elles sont mastiquées ou ingérées. Ces glycosides sont constitués d'un sucre (souvent le glucose) lié à un aglycone contenant un groupe cyanure. Le cyanure libéré inhibe l'enzyme cytochrome oxydase dans les mitochondries en se fixant au fer ( $Fe^{3+}/Fe^{2+}$ ), bloquant ainsi la respiration cellulaire. Cette inhibition réduit l'utilisation de l'oxygène par les tissus et entraîne une augmentation de la glycémie et de l'acide lactique, tout en diminuant le rapport énergétique ATP/ADP (**Thakur et al., 2019**).

## 3.3. Effets indésirables de certains anti nutriments

Le tableau 1 résume les principaux effets indésirables associés à certains anti-nutriments présents dans les aliments d'origine végétale. Ces composés, produits naturellement par les plantes, peuvent interférer avec l'absorption ou l'utilisation de nutriments essentiels. Par exemple, les phytates et les oxalates réduisent l'absorption du calcium, les oxalates pouvant aussi favoriser la formation de calculs rénaux. Le cyanure agit comme un inhibiteur respiratoire, tandis que les lectines perturbent l'absorption des nutriments dans l'intestin grêle. Les inhibiteurs de protéase ralentissent la digestion des protéines. Quant aux composés phénoliques, ils diminuent la biodisponibilité de certains minéraux, comme le zinc, et peuvent affecter la digestion des protéines. Bien que ces effets soient généralement modérés dans le cadre d'une

alimentation équilibrée, une consommation excessive peut poser problème, notamment chez les personnes vulnérables.

**Tableau 1.** Effets indésirables de certains anti nutriments (**Gemedé and Ratta, 2014**).

Anti-nutriments	Effets sur le corps
Phytates	Réduit l'absorption de Ca et de Fe
Oxalates	Réduit l'absorption de Ca et favorise la formation de calculs rénaux
Cyanure	Inhibiteurs respiratoires
Lectines (hémagglutinines)	Empêchent l'absorption des produits finaux de la digestion dans l'intestin grêle.
Inhibiteurs de protéase	Les substances réduisent la digestion des protéines.
Composés phénoliques	Ils réduisent la biodisponibilité de certains minéraux (notamment le zinc). Ils peuvent affecter négativement le pH et réduire la digestion des protéines.

#### 4. Sécurité sanitaire et la qualité des graines germées

Les graines germées sont généralement récoltées et consommées fraîches, car elles présentent naturellement une perte rapide de qualité, même à basse température. Par conséquent, il est nécessaire d'optimiser les conditions de stockage par le contrôle de la température et l'utilisation d'atmosphères modifiées ou d'emballages actifs, permettant de gérer précisément la composition chimique de l'atmosphère interne durant la durée de conservation (**Benincasa et al., 2019**).

Cependant, la consommation de graines germées a été impliquée dans plusieurs épidémies d'origine alimentaire, en raison de l'absence d'un traitement létal après germination. De nombreuses études ont été menées sur ces questions, bien que peu d'entre elles concernent les graines germées de céréales et pseudo-céréales. Les technologies appliquées à d'autres espèces reposent sur des principes communs, mais la variation génotypique de la composition biochimique des grains pourrait nécessiter des protocoles d'optimisation spécifiques (**Benincasa et al., 2019**).

Il est important de noter que, selon leur définition commerciale, les *microgreens* n'incluent pas la consommation des radicules et sont donc considérés comme des légumes frais coupés. Les risques microbiologiques peuvent ainsi être gérés à l'aide des technologies et emballages déjà disponibles, avant et pendant la commercialisation. Il en résulte que la section « Sécurité microbiologique » concerne principalement la consommation fraîche des graines germées, y compris les graines elles-mêmes (**Benincasa et al., 2019**).

#### **4.1. Contamination bactériologique des graines germées**

La contamination microbiologique des graines germées peut survenir avant ou après la récolte, à partir des graines, de l'eau d'irrigation ou de trempage, du sol, des excréments, des insectes, ou encore du matériel et du personnel de manipulation (Iwu et Okoh, 2019). Selon la FDA, les épidémies sont souvent dues à des graines contaminées avant germination. Ces graines peuvent abriter des bactéries pathogènes résistantes aux conditions de stockage sec, difficilement détectables en raison de leur faible concentration et distribution hétérogène (Cui et al., 2017).

La germination favorise fortement la croissance bactérienne, notamment de *Salmonella*, en raison de l'humidité, de la chaleur et des nutriments. Une contamination initiale, même minime, peut donc entraîner l'infection de tout le lot (Turner et al., 2020). Des études ont montré que *Salmonella* adhère plus efficacement aux graines que *E. coli*, avec des différences selon les espèces végétales. Une fois internalisées dans les graines, ces bactéries peuvent contaminer les tissus des jeunes pousses, leur prolifération dépendant du type de graine et de la souche bactérienne (Cui et al., 2017).

Les graines germées étant souvent consommées crues, elles représentent un risque pour les populations vulnérables (enfants, personnes âgées, immunodéprimées), qui devraient les éviter sans traitement préalable (Gill et al., 2003).

#### **4.2. Conservation de la qualité**

Les basses températures de stockage ralentissent la respiration, la sénescence et la croissance des microorganismes, limitant ainsi la perte de qualité des jeunes pousses. Cependant, la température optimale varie selon les espèces, certaines étant plus sensibles au froid que d'autres. Par exemple, les radis se conservent mieux que la roquette ou le chou rouge. L'emballage sous atmosphère modifiée (réduisant l'O<sub>2</sub> et augmentant le CO<sub>2</sub>) prolonge également la durée de conservation, tout comme le choix d'un film adapté en termes de perméabilité à l'oxygène (OTR). Les traitements pré-stockage, comme le lavage chloré ou le séchage, influencent aussi la qualité microbiologique. Enfin, des méthodes telles que le trempage dans l'eau chaude ou l'exposition à l'éthanol peuvent réduire la détérioration sans altérer les propriétés sensorielles (Xiao et al., 2014 ; Goyal et al., 2014).

D'autres facteurs, comme l'exposition à la lumière pendant le stockage, peuvent accélérer la dégradation, comme observé avec les pousses de radis, qui se conservent mieux dans l'obscurité. Certains traitements, comme l'application de calcium ou de UV-B, améliorent la

teneur en composés bioactifs (ex. glucosinolates) et prolongent la durée de vie. Les techniques combinées (ex. réfrigération + atmosphère modifiée + traitements antimicrobiens) sont les plus efficaces, suivant le principe de la *technologie des barrières*. Ainsi, une approche multifactorielle, adaptée à chaque type de pousse, est essentielle pour préserver leur qualité nutritionnelle et sensorielle tout en minimisant les pertes post-récolte (**Mir et al., 2017 ; Goyal et al., 2014**).

## **5. Farines végétales riches en protéines**

### **5.1. Protéines végétales issues des légumineuses**

Les protéines d'origine végétale issues des légumineuses suscitent un intérêt croissant, car elles jouent un rôle clé dans le maintien d'un régime sain et pauvre en viande. En raison de l'intérêt grandissant pour les considérations éthiques, environnementales, les habitudes alimentaires et l'impact sur la santé de notre alimentation, le passage aux aliments d'origine végétale a largement contribué à renforcer la sensibilisation mondiale à l'importance nutritionnelle des légumineuses et à leur rôle potentiel dans des systèmes alimentaires durables au cours de ces dernières années (**Rousseau et al., 2020**).

**Baugreet et al. (2018)** ont montré que l'ajout de protéines végétales (isolat de pois IP, protéines de riz PR, farine de lentilles FL) à 4 % et 8 %, combiné à des agents liants, améliore certaines propriétés des steaks de bœuf restructurés. L'enrichissement avec l'IP et les PR a permis d'augmenter significativement la teneur en protéines. Toutefois, bien que cet enrichissement soit bénéfique sur le plan nutritionnel, il s'est accompagné d'une augmentation de la dureté du produit. À l'inverse, l'incorporation de farine de lentilles, combinée à l'un ou l'autre des agents liants, a exercé un effet attendrissant sur les steaks, sans toutefois entraîner une amélioration notable de la teneur en protéines par rapport aux témoins.

### **5.2. Lentilles**

La lentille cultivée (*Lens culinaris* Medik.) est une légumineuse ancienne, nutritive et à cuisson rapide, largement cultivée et consommée dans le monde sous forme entière, décortiquée ou cassée. Ses graines, en forme de lentille, présentent une grande variété de couleurs de tégument (vert, brun, noir, etc.) et de cotylédons (rouge, jaune, vert). Les lentilles rouges, consommées principalement sous forme décortiquée, sont un aliment de base dans le sous-continent indien et la Méditerranée orientale. Les principales classes commerciales sont les lentilles rouges (couleur des cotylédons) et vertes (couleur du tégument). Les grosses lentilles vertes à

cotylédon jaune sont surtout consommées entières en Europe, au Moyen-Orient et en Amérique du Sud (**Vandenberg, 2009**).

Les lentilles sont riches en protéines, fibres, glucides complexes et micronutriments (fer, zinc, vitamines B), avec une activité antioxydante élevée due à des composés phénoliques spécifiques. Les différences de teneur en protéines entre lentilles rouges et vertes sont faibles. Leur consommation mondiale connaît une croissance rapide (plus de 10 % par an), dépassant celle des autres légumineuses, en raison notamment de leur temps de cuisson court, malgré un coût parfois plus élevé (**Khazaei et al., 2017**).

### **5.2.1. Protéines de réserve des graines de lentilles**

Les protéines de réserve des graines de lentille sont principalement localisées dans les cotylédons, où elles représentent jusqu'à 80 % des protéines totales. Elles fournissent les éléments essentiels (azote, carbone et soufre) nécessaires à la germination et au développement des plantules. En plus de leur rôle nutritionnel, ces protéines interviennent dans les mécanismes de défense des plantes, notamment contre les bruches chez les légumineuses, et possèdent des propriétés antimicrobiennes (**Sales et al., 2000**).

Les protéines de réserve sont classées selon leur solubilité dans différents solvants. Le premier rapport sur les protéines de la lentille a été sur l'isolement des globulines des graines. Par la suite, ces globulines sont divisées en deux classes : les 7S (de type viciline et convicine) et les 11S (de type légumine), selon leurs coefficients de sédimentation (**Jarpa-Parra, 2018**). Comme chez d'autres légumineuses, les principales protéines de réserve des lentilles sont les globulines (solubles dans les solutions salines) et les albumines (solubles dans l'eau) comme décrit dans le Tableau 3. Ces deux fractions sont hétérogènes, et les légumineuses en général présentent des teneurs relativement élevées en globulines (**Scippa et al., 2010**).

Le rapport 7S/11S est un indicateur important de la qualité nutritionnelle des graines, et il est particulièrement élevé chez la lentille, atteignant environ 3, soit un ratio douze fois supérieur à celui observé chez le pois. Ces résultats suggèrent que la lentille présente un profil protéique particulièrement intéressant pour certaines applications spécifiques (**Scippa et al., 2010**).

**Tableau 2.** Résumé des analyses rapportées des fractions de protéines de stockage des graines de lentilles cultivées (%) en fonction de leur solubilité dans différents solvants (Khzzaei et al., 2019).

<b>Salt Soluble</b>	<b>Water Soluble</b>	<b>Acid Soluble</b>	<b>Ethanol Soluble</b>
<b>Globulins</b>	<b>Albumins</b>	<b>Glutelins</b>	<b>Prolamins</b>
44%	26%	20%	2%
47%	4%	15%	3%
54%	20%	-	-
42%	11%	47%	-
27%	61%	3%	2%
70%	16%	11%	3%

### 5.2.2. Facteurs antinutritionnels affectant les protéines de lentilles

La valeur nutritionnelle des protéines de lentille dépend principalement de la présence de facteurs antinutritionnels (FAN) et de la digestibilité des acides aminés. En général, les lentilles entières sont pauvres en FAN, bien qu'elles contiennent une teneur relativement élevée en tanins par rapport à d'autres légumineuses. Ces tanins, localisés dans le tégument, peuvent être éliminés par le décorticage. Ils réduisent la digestibilité des protéines en se liant à la lysine et à la méthionine. Des variétés sans tanins existent, grâce à un gène récessif (*tan*) qui entraîne une réduction importante des polyphénols du tégument (Gatel, 1994 ; Matus, 1993).

Les inhibiteurs de trypsine, qui bloquent la digestion des protéines et réduisent la biodisponibilité des acides aminés, sont présents en plus faible quantité dans les lentilles que dans la plupart des autres légumineuses, à l'exception du pois. Leur teneur peut être réduite par le trempage, la cuisson ou la germination (Shi, 2017).

### 5.2.3. Applications alimentaires des protéines de lentilles

Les ingrédients protéiques issus de la lentille représentent une alternative intéressante aux protéines d'origine animale et au soja. Bien qu'ils soient souvent commercialisés sous forme de farines, les ingrédients protéiques de lentille peuvent être fractionnés davantage pour obtenir des farines enrichies en protéines (<60 %), des concentrés (60-85 %) ou des isolats (>85 %) (Pelgrom et al., 2015). Les farines enrichies et les concentrés secs sont généralement obtenus par classification à l'air, tandis que les concentrés et isolats sont produits par extraction humide, par exemple par extraction alcaline suivie d'une précipitation isoélectrique. Ces fractions présentent de bonnes qualités nutritionnelles et fonctionnelles. Toutefois, les propriétés

fonctionnelles des ingrédients dépendent fortement de la méthode et des conditions de production utilisées (**Aryee and Boye, 2016**).

Les concentrés de protéines de lentille ont été utilisés pour remplacer les œufs dans la fabrication de beignets enrichis en protéines, de gâteaux et de muffins. La farine de lentille a servi à produire des crackers sans gluten, tandis que son association avec la transglutaminase a permis la fabrication de steaks et galettes de bœuf restructurés enrichis en protéines. Les isolats protéiques de lentille ont été utilisés comme émulsifiants dans les vinaigrettes, comme stabilisants dans des nanoémulsions, ou comme agents d'encapsulation pour des huiles riches en oméga-3. Associés à la zéine, ils ont également permis la fabrication de films antimicrobiens et de nanofibres. Grâce à leurs multiples fonctions technologiques, les protéines de lentille trouvent aujourd'hui des applications prometteuses dans les aliments fonctionnels, les nutraceutiques et les cosmétiques (**Khazaei et al., 2017**).

## Chapitre II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. Lieux de stage

Ce travail de recherche a été réalisé au sein des laboratoires pédagogiques du département de Microbiologie et Biochimie, relevant de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université de M'sila, en Algérie.

### 2. Matériel biologique

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de graines de lentilles (*Lens culinaris* L.), achetées dans le commerce local (M'sila, Algérie). Ces graines, issues de l'agriculture conventionnelle, ont été sélectionnées pour leur accessibilité, leur richesse en protéines et leur potentiel de germination élevé, critères essentiels pour évaluer leur qualité et leur valorisation sous forme de poudre protéique.

### 3. Protocole de germination graines de lentille

Le protocole de germination a été adapté de **Santos et al. (2020)**, avec quelques ajustements adaptés au contexte expérimental du laboratoire. Avant la mise en germination, les graines de lentille (choisies pour leur richesse en protéines et leur accessibilité économique en Algérie) ont été placées dans un béccher contenant une solution d'acide acétique (5 ml d'acide acétique dilués dans 250 ml d'eau distillée). Ce mélange a été laissé au repos pendant 5 minutes sans agitation afin d'éliminer les éventuelles contaminations de surface. Par la suite, l'acide acétique a été éliminé et les graines ont été rincées soigneusement à cinq reprises avec de l'eau distillée stérile afin d'enlever toute trace résiduelle d'acide.

Pour la germination, 100 g de graines de lentille ont été pesées à l'aide d'une balance électronique, puis transférées dans des germoirs en verre préalablement stérilisés à l'autoclave (121°C, 30 min). Les graines ont ensuite été trempées dans de l'eau distillée à 20 °C pendant 24 heures dans un incubateur. Après cette étape, les graines ont été rincées deux fois par jour avec de l'eau distillée stérile pour prévenir la prolifération microbienne. La germination a été poursuivie pendant la durée expérimentale prévue.

#### 4. Analyses microbiologiques

L'analyse microbiologique visait, d'une part, à rechercher ou quantifier certains micro-organismes indicateurs d'une mauvaise maîtrise des conditions d'hygiène lors du processus de germination, et, d'autre part, à évaluer la propreté des surfaces, l'hygiène des opérateurs ainsi que la qualité microbiologique des ingrédients utilisés. Cette étape est essentielle pour garantir l'innocuité du produit final et prévenir tout risque pour la santé du consommateur. Durant les cinq jours de germination des graines de lentille, des échantillons ont été prélevés quotidiennement afin d'effectuer des analyses microbiologiques ciblant les flores suivantes : flore mésophile aérobie totale (FMAT), coliformes totaux, coliformes fécaux, levures, *Escherichia coli* et *Salmonella* spp. Les flores recherchées, les milieux de culture utilisés ainsi que les conditions d'incubation sont récapitulés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 3.** Microorganismes recherchés, milieux de culture et conditions d'incubation.

Microorganismes recherchés	Milieu de culture utilisé	Température et durée d'incubation
Flore mésophile aérobie totale (FMAT)	PCA (Plate Count Agar)	72 h à 30 °C
Coliformes totaux	VRBL (Gélose lactosée biliée au cristal violet et rouge neutre) ou BCPL	24 h à 37 °C
Coliformes fécaux	BCPL	24 h à 44 °C
Levures	PDA (Potato Dextrose Agar)	2 à 5 jours à 25 °C
<i>Salmonella</i> spp.	SS (Salmonella-Shigella agar)	24 h à 37 °C
<i>Escherichia coli</i>	CHROMagar™ ECC	24 h à 37 °C

#### 4.1. Préparation des milieux

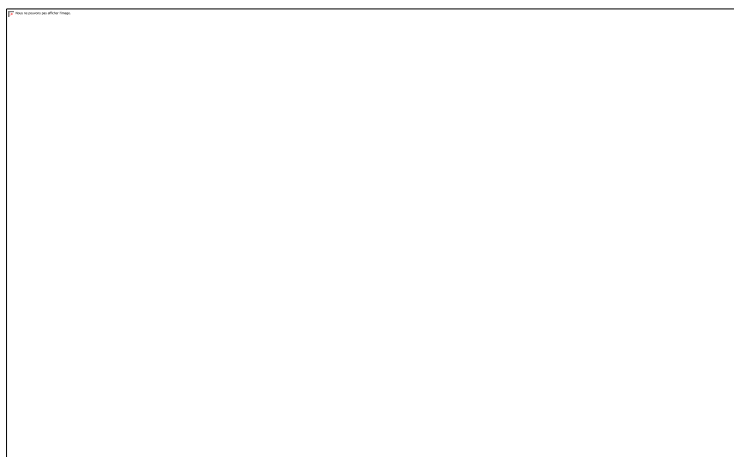
##### 4.1.1. Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)

Le milieu PDA a été utilisé pour l'isolement et le dénombrement des levures et moisissures. Sa préparation a débuté par l'extraction du jus de pomme de terre : 200 g de pommes de terre ont été pesées, pelées, coupées en petits morceaux, puis bouillies dans 1 litre d'eau distillée. Après cuisson, le mélange a été filtré à l'aide d'un papier filtre pour séparer le jus clair des résidus solides. À ce filtrat, 20 g de glucose et 20 g d'agar-agar ont été ajoutés. Le mélange a été chauffé avec agitation jusqu'à dissolution complète des composants. Une fois homogène, le milieu a été transféré dans un flacon en verre et stérilisé à l'autoclave à 120 °C pendant 2 heures. Ce

milieu, riche en nutriments, favorise la croissance optimale des levures lors de l'incubation à 25 °C pendant 2 à 5 jours.

#### 4.1.2. Milieu BCPL (Brilliant Green Bile Lactose Broth modifié)

Le milieu BCPL a été utilisé pour la détection et la quantification des coliformes totaux et fécaux. Pour sa préparation, 3,25 g de poudre de BCPL ont été pesés avec précision, puis dissous dans 250 mL d'eau distillée dans un bécher. Le mélange a été agité pendant 2 à 3 minutes afin d'obtenir une solution homogène. Cette préparation a ensuite été distribuée dans des tubes contenant des cloches de Durham, destinées à collecter les gaz produits en cas de fermentation. Les tubes ont été stérilisés à l'autoclave à 121 °C pendant 15 à 20 minutes. Ce milieu sélectif permet la mise en évidence de la fermentation du lactose par les coliformes, notamment à 37 °C pour les coliformes totaux et à 44 °C pour les coliformes fécaux.



**Figure 5.** Photographie des deux étapes principales de préparation du milieu BCPL.

#### 4.2. Coliformes totaux et coliformes fécaux

Les coliformes totaux et fécaux constituent des indicateurs classiques d'hygiène et de sécurité sanitaire des aliments. Dans le cas particulier des graines germées, leur présence traduit une possible contamination d'origine fécale, ou des pratiques de manipulation inadéquates tout au long du processus de production ou de germination. Ces micro-organismes, notamment les coliformes fécaux comme *Escherichia coli*, peuvent proliférer rapidement à température ambiante, surtout dans un environnement humide et riche en nutriments tel que celui des graines en germination. Leur détection est essentielle car certaines souches, pathogènes, sont responsables de toxi-infections alimentaires (Berger et al., 2010).

L'ensemencement a été réalisé dans un milieu liquide BCPL (Bouillon au Cristal Violet, Sels Biliaires et Lactose), utilisé en remplacement du milieu VRBL, plus couramment utilisé en gélose. À partir de dilutions décimales appropriées, 1 ml de l'échantillon a été inoculé dans des tubes contenant le milieu BCPL et une cloche de Durham, permettant de détecter la production de gaz, témoin d'une fermentation. Les tubes ont été incubés à 37 °C pendant 24 à 48 heures pour les coliformes totaux, puis à 44,5 °C pour les coliformes fécaux. Une turbidité du milieu, accompagnée d'un dégagement gazeux dans la cloche de Durham et/ou d'un changement de couleur (selon l'indicateur de pH utilisé), indique un résultat positif. L'interprétation des résultats s'est faite selon la méthode du Nombre le Plus Probable (NPP), permettant d'estimer la concentration en coliformes dans l'échantillon analysé (**Bourdoux et al., 2016**).

### **4.3. Flore mésophile aérobie totale (FMAT)**

La flore mésophile aérobie totale regroupe l'ensemble des micro-organismes aérobies capables de se développer à des températures comprises entre 20 et 45°C. Elle inclut aussi bien des bactéries pathogènes que des germes d'altération. Le dénombrement de cette flore constitue un indicateur global de la qualité microbiologique d'un aliment. Pour les graines germées, une charge microbienne élevée est généralement révélatrice de mauvaises conditions d'hygiène ou de conservation, et peut remettre en cause leur salubrité (**Verne-Bourdais et al., 2002**).

Un ensemencement en profondeur a été effectué à l'aide du milieu PCA (Plate Count Agar), fondu et refroidi à 45°C. Le mélange a été versé dans des boîtes de Pétri stériles, puis homogénéisé. Après solidification, les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 72 heures, conformément à la norme ISO 4833. Le nombre de colonies formées a permis d'estimer la charge microbienne globale (**Guergour & Maache, 2021**).

### **4.4. Levures et moisissures**

Les levures et les moisissures sont fréquemment retrouvées sur les graines germées en raison de leur teneur élevée en humidité et de leur stockage à température ambiante. Leur présence peut entraîner une altération organoleptique du produit (odeur, texture, couleur), voire une dégradation de sa qualité sanitaire. Certaines espèces fongiques peuvent également produire des mycotoxines, ce qui constitue un risque pour la santé du consommateur. Le dénombrement des levures et moisissures a été réalisé sur un milieu PDA (préalablement préparé, fondu et refroidi à 45 °C. Ce milieu a été coulé dans des boîtes de Pétri stériles, puis les échantillons y ont été ensemencés. L'incubation a été conduite à 25 °C pendant 3 à 5 jours, permettant l'apparition de colonies caractéristiques.

#### 4.5. *Escherichia coli*

*Escherichia coli* est une bactérie indicatrice d'une contamination fécale. Elle est naturellement présente dans le tube digestif des mammifères, et sa détection dans les graines germées signale une défaillance au niveau de l'hygiène, que ce soit par l'eau d'arrosage, les surfaces de travail ou les mains des opérateurs. Certaines souches, notamment entéro-pathogènes, peuvent provoquer de graves infections gastro-intestinales, en particulier chez les populations sensibles (AFSSA, 2005). Le dénombrement de *E. coli* a été effectué à l'aide du milieu CHROMagar ECC, spécifique à cette bactérie. Le milieu, fondu puis refroidi à 45 °C, a été versé dans des boîtes de Pétri stériles, suivies de l'ensemencement de l'échantillon. L'incubation a été réalisée à 37 °C pendant 24 heures. La présence de colonies de couleur caractéristique permet l'identification directe des souches de *E. coli* (Gilbert et al., 2008).

#### 4.6. *Salmonella* spp.

Les *Salmonella* sont des entérobactéries pathogènes, responsables de nombreuses toxi-infections alimentaires d'origine animale ou humaine. Elles peuvent contaminer les graines germées à différents stades du processus, notamment via des matières premières souillées, des eaux non contrôlées ou le contact avec des manipulateurs porteurs sains. Leur mise en évidence repose sur un protocole en plusieurs étapes (Bougeois et al., 1996).

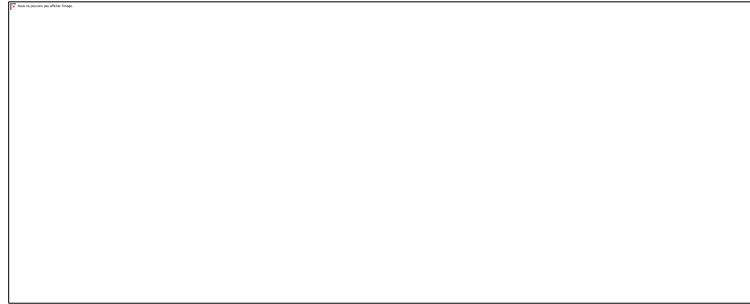
Un gramme de graines germées a été mélangé à 9 mL de Tampon Salin Enrichi (TSE) pour effectuer un pré-enrichissement non sélectif. Ce mélange a été incubé à 37 °C pendant 24 heures. Après cette étape, un volume du mélange a été transféré dans un bouillon de sélénite de Leifson (SFB) et incubé à nouveau pendant 24 heures à 37 °C. L'échantillon enrichi a ensuite été ensemencé sur une gélose sélective SS (*Salmonella-Shigella*) et incubé 24 h à 37°C. Les colonies suspectes de *Salmonella* se présentent sous forme incolore ou grisâtre, souvent avec un centre noir caractéristique dû à la production de sulfure d'hydrogène (Benchabane, 2015).

### 5. Analyses physicochimiques

#### 5.1. Activité de l'eau

L'activité de l'eau  $a_w$  représente la fraction d'eau libre dans un aliment, c'est-à-dire l'eau qui n'est ni chimiquement ni physiquement liée aux autres composants. Elle correspond à la quantité d'eau disponible pour les réactions biochimiques et, surtout, pour le développement des micro-organismes. Contrairement à l'humidité totale,  $a_w$  reflète la part d'eau réellement accessible à la flore microbienne. Plus la valeur de  $a_w$  est élevée, plus le produit est vulnérable à la contamination microbienne. En effet, de nombreux micro-organismes pathogènes et

d'altération ne peuvent se développer qu'au-dessus d'un certain seuil d'activité de l'eau, généralement autour de 0,90 pour les bactéries, et un peu moins pour les moisissures et levures. Dans le cadre de cette étude, la mesure de l'activité de l'eau a été effectuée quotidiennement durant les cinq jours de germination, afin de suivre l'évolution de ce paramètre critique sur la qualité et la stabilité microbiologique des graines germées. Les mesures ont été réalisées à l'aide d'un appareil spécifique permettant d'estimer précisément  $a_w$  (voir Figure 7).



**Figure 6.** Photographies d'un  $a_w$ -mètre (A) ainsi que la capsule de mesure contenant l'échantillon à analyser (B).

## 5.2. Teneur en eau

La teneur en eau constitue un paramètre fondamental pour évaluer la qualité, la stabilité et la conservation des graines germées. Durant la germination, les graines absorbent une quantité importante d'eau, ce qui augmente leur humidité et peut favoriser la détérioration si elle n'est pas maîtrisée.

La teneur en eau a été déterminée par la méthode gravimétrique, consistant à sécher les échantillons à 105 °C jusqu'à obtention d'un poids constant, conformément à la méthode décrite par **Hay et al. (2023)**. Des échantillons représentatifs des différentes étapes de germination ont été pesés (poids frais), puis placés en étuve à 105 °C pendant environ 17 heures. Des pesées successives ont été réalisées jusqu'à ce que deux mesures consécutives montrent une variation inférieure à 0,01 g. Le poids sec ainsi obtenu a permis de calculer la teneur en eau selon la formule :

$$Teneur\ en\ eau\ (\%) = \frac{poids\ frais - poids\ sec}{poids\ frais} \times 100 \quad (1)$$

### 5.3. pH

Le pH est un paramètre physico-chimique clé qui influence fortement la stabilité microbiologique, la disponibilité des nutriments et les caractéristiques organoleptiques des aliments, notamment dans les graines germées. Au cours du processus de germination, des transformations biochimiques naturelles peuvent entraîner des modifications du pH, en lien avec l'activité enzymatique, la respiration cellulaire ou la production de composés organiques. Le suivi de ces variations permet de mieux comprendre l'évolution de la matrice au fil du temps. Dans cette étude, le pH des graines germées a été mesuré quotidiennement pendant toute la durée de la germination, à l'aide d'un pH-mètre électronique préalablement calibré. Cette surveillance a permis de documenter les éventuelles fluctuations du pH et leur impact potentiel sur la qualité et la sécurité du produit.

### 5.4. Dosage de l'acide phytique

#### 5.4.1. Principe

L'acide phytique, ou phytate, est un composé antinutritionnel présent naturellement dans les graines. Il se distingue par sa capacité à former des complexes insolubles avec des minéraux essentiels tels que le fer, le zinc, le calcium et le magnésium, réduisant ainsi leur biodisponibilité. Cependant, durant la germination, l'activité des phytases augmente, ce qui induit une hydrolyse progressive de l'acide phytique et améliore l'assimilation des minéraux.

#### 5.4.2. Préparation des réactifs

La détermination de l'acide phytique repose sur la méthode colorimétrique de Wade (**Makkar et al., 2007**). Elle nécessite la préparation de plusieurs solutions :

- HCl à 3,5 % (p/v) : 50 mL d'HCl concentré (37 %) complétés avec de l'eau distillée jusqu'à 529 mL.
- NaCl 0,7 M : 40,91 g de NaCl dissous dans 1 litre d'eau distillée.
- NaCl 0,1 M : dilution de 100 ml de NaCl 0,7 M dans 600 ml d'eau distillée.
- Réactif de Wade : 30 mg de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  et 300 mg d'acide sulfosalicylique dissous dans environ 70 ml d'eau distillée, puis ajustement à 100 ml.
- Résine échangeuse d'anions Amberlite AG1-X8 : 0,5 g introduit dans une colonne de  $0,75 \times 25$  cm bouchée à la base avec de la laine de verre.

### 5.4.3. Protocole et analyse expérimental

Les extraits de graines sont préparés dans une solution d'HCl, puis purifiés par passage sur la colonne contenant la résine échangeuse d'anions. Une fois purifié, l'échantillon est mélangé avec le réactif de Wade. Le phytate présent dans l'échantillon réagit avec le complexe fer-acide sulfosalicylique, entraînant une modification de la coloration initiale. Cette réaction est suivie par mesure de l'absorbance à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

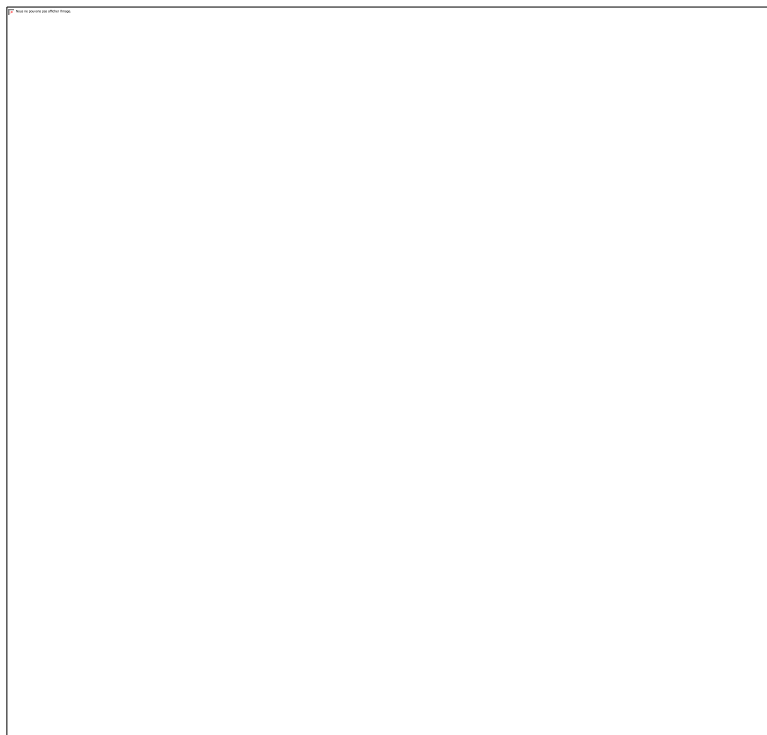
L'absorbance mesurée varie en fonction de la quantité d'acide phytique présente. Des valeurs comprises entre 0,1 et 0,4 indiquent une teneur élevée en acide phytique, suggérant que les graines contiennent encore des quantités significatives de ce composé. En revanche, des absorbances entre 0,6 et 0,9 reflètent une dégradation avancée de l'acide phytique, traduisant une meilleure qualité nutritionnelle des graines germées. L'évolution de ces valeurs au cours des cinq jours de germination permet de suivre la dégradation enzymatique du phytate.

## 6. Traitement thermique

Le traitement thermique par vapeur chaude a été appliqué aux graines de lentilles au 5<sup>ème</sup> jour de germination, moment où l'activité physiologique et la teneur en humidité sont les plus élevées. Ce traitement est réalisé comme suit :

- a. **Nettoyage et tri** : Les graines germées ont été soigneusement nettoyées à l'eau potable afin d'éliminer les résidus, les impuretés visibles et les graines endommagées. Ce prétraitement permet de limiter les contaminations croisées et d'assurer une répartition homogène de la chaleur lors du traitement thermique.
- b. **Traitement thermique** : Les graines germées encore fraîches ont été soumises à un traitement à la vapeur chaude à une température de 90 °C pendant 10 minutes. La vapeur a été appliquée de manière homogène à l'aide d'un générateur de vapeur à circulation contrôlée, garantissant une pénétration thermique efficace dans la masse des graines tout en évitant les points froids. Le choix de ce temps et de cette température repose sur un compromis entre réduction de la charge microbienne et maintien de la viabilité physiologique des graines.
- c. **Refroidissement** : Immédiatement après le traitement, les graines ont été refroidies rapidement à température ambiante à l'air libre dans des conditions hygiéniques contrôlées. Cette étape est cruciale pour éviter une éventuelle reprise de croissance microbienne due à une température résiduelle favorable à la prolifération.

- d. Stockage temporaire** : Après refroidissement, les graines ont été transférées dans des contenants stériles pour une analyse microbiologique ultérieure. Elles ont été conservées à 4°C jusqu'aux tests de quantification de la flore mésophile, des coliformes totaux, fécaux, levures et moisissures.



**Figure 7.** Photographes des principales composantes du traitement thermique : Thermocouple de type K (A), Data-logger de type ALMEMO (B), source de vapeur (C) et les graines germées (D).

## 7. Séchage des graines

### 7.1. Principe et objectif

Le séchage est le procédé par lequel on réduit la teneur en eau d'un matériau alimentaire afin d'abaisser son  $a_w$  et, par conséquent, de limiter les réactions chimiques, biochimiques ou microbiologiques responsables de la détérioration (Salem & Khelifi, 2020). Le transfert de masse repose sur l'évaporation de l'eau contenue dans le produit et son entraînement par un courant d'air chaud plus sec que l'atmosphère interne de la matrice. Lorsque l'énergie nécessaire à la vaporisation est fournie intégralement par convection à partir de l'air et qu'il n'y a pas de pertes thermiques, le séchage est qualifié d'isenthalpique.

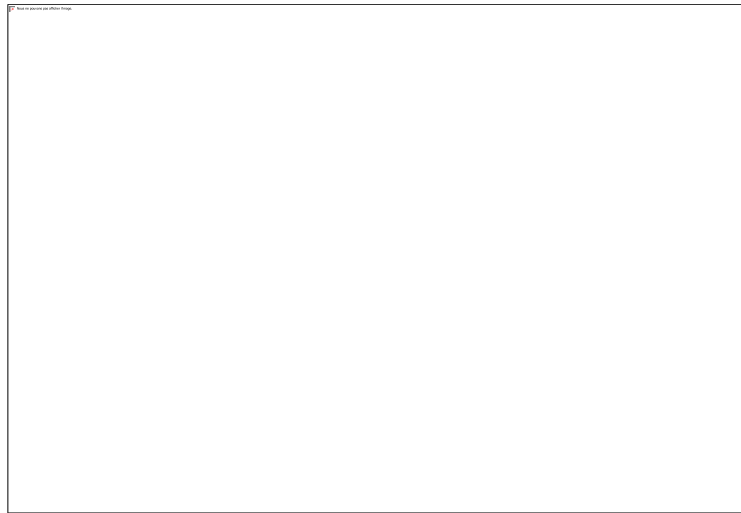
Outre la stabilisation microbiologique, la diminution de la teneur en eau : réduit le poids (et souvent le volume) des produits, facilitant leur conditionnement, leur transport et leur stockage ; accroît la durée de conservation en maîtrisant  $a_w$ ; prépare la matière première (graines germées) à des opérations ultérieures, ici la transformation en poudre protéinée.

### **7.2. Protocole expérimental**

Le séchage des graines de lentilles germées a été réalisé à l'aide d'une armoire de séchage à convection forcée, équipée d'une résistance électrique permettant un contrôle précis de la température (Figure 8). L'opération a été conduite à une température d'air maintenue à  $50 \pm 1$  °C, pendant une durée de 70 minutes (soit 1 heure et 10 minutes). L'objectif du séchage était d'atteindre une teneur en eau stable, confirmée par l'obtention d'une masse constante (variation inférieure à 0,01 g entre deux pesées successives).

Après l'étape de traitement thermique à la vapeur, les graines germées ont été soigneusement réparties en une couche mince de moins de 1 cm d'épaisseur sur des plateaux perforés, afin de favoriser une diffusion homogène de la chaleur et d'optimiser le transfert de masse. Ces plateaux ont ensuite été placés dans le séchoir préalablement préchauffé à la température souhaitée. Durant toute la durée du séchage, la masse des échantillons a été relevée toutes les 10 minutes, permettant ainsi de tracer la courbe de déshydratation ( $X = f(t)$ ), qui renseigne sur l'évolution de la teneur en eau en fonction du temps.

À l'issue des 70 minutes de traitement, les graines ont été sorties du séchoir et laissées à l'équilibre thermique dans un dessiccateur à température ambiante pendant 30 minutes. Une dernière pesée a été effectuée afin de s'assurer de la stabilité du poids final et donc de l'atteinte de la masse constante, critère indicatif de la fin du séchage.



**Figure 8.** Photographes des principales composantes du traitement thermique : Séchoir (A), claies pour les graines (B), source d'air chaud (C).

### **8. Broyage des graines germées de lentilles**

Le broyage constitue l'étape finale du procédé, visant à transformer les graines de lentilles germées en une poudre protéique fine et homogène. Cette opération permet d'obtenir une farine adaptée à diverses formulations alimentaires, tout en améliorant la maniabilité et la conservation du produit. Après germination, les structures cellulaires des graines sont partiellement dégradées par l'action des enzymes endogènes, ce qui fragilise les parois cellulaires et facilite considérablement le broyage. Cette transformation biologique réduit ainsi l'énergie nécessaire pour le broyage mécanique, tout en préservant les composés bioactifs sensibles à la chaleur ou à l'oxydation. Le broyage s'effectue après séchage complet des graines, garantissant ainsi une faible teneur en eau qui limite les risques de dégradation et prolonge la durée de conservation de la poudre finale.

## Chapitre III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

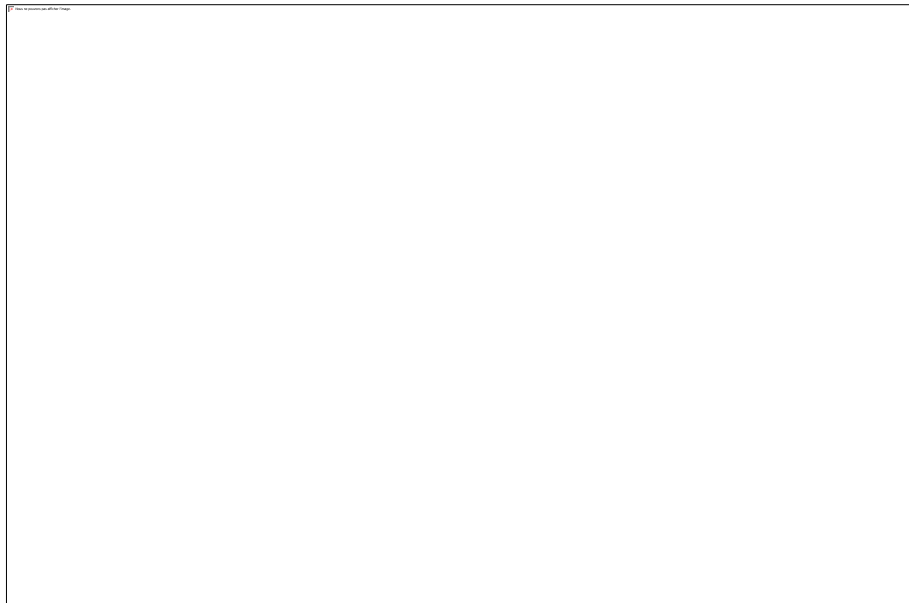
### 1. Description des étapes de germination de la graine de lentille

#### 1.1. Description morphologique

L'évolution morphologique des graines de lentille durant le processus de germination a été suivie quotidiennement pendant cinq jours (Figure 9). Dès le premier jour, aucun changement notable n'a été observé : les graines conservaient leur forme initiale, témoignant d'une phase de latence précédant l'activation métabolique.

À partir du deuxième jour, un léger gonflement des graines a été constaté, principalement attribué à l'absorption d'eau (imbibition), qui amorce les processus enzymatiques internes nécessaires à la germination. Ce phénomène a été suivi, au troisième jour, par le début de la division de la graine et l'émergence d'un germe rudimentaire, marquant le stade de protrusion radiculaire.

Au quatrième jour, le tégument (ou coque extérieure) s'est détaché chez la majorité des graines, facilitant ainsi la croissance du germe. Une augmentation nette de la longueur de celui-ci a été relevée, indiquant une activité cellulaire intense. Enfin, au cinquième jour, une croissance significative du germe a été observée, correspondant à l'achèvement du processus de germination. À ce stade, les graines présentaient une structure allongée bien développée, signe d'une transition vers le stade de plantule.



**Figure 9.** Photographie de la germination d'une graine de lentille sur cinq jours.

## 1.2. Description du poids des graines

L'évolution du poids des graines de lentille au cours de la germination décrit dans le Tableau 10 révèle une variation notable en fonction du temps. À l'état initial (J0), les graines présentent un poids stable de 50 g, qui reste inchangé à J1. Dès J2, une augmentation significative du poids est observée, atteignant 101,35 g, ce qui traduit une absorption rapide d'eau, phénomène caractéristique des premières phases de la germination. Ce gain de poids se poursuit jusqu'à J3 (109,59 g), traduisant une activité métabolique croissante et une intensification des échanges hydriques. Cependant, à partir de J4 (105,25 g), une légère diminution est enregistrée, pouvant s'expliquer par le début de la consommation des réserves endogènes pour soutenir la croissance des jeunes plantules. Une hausse importante du poids est notée à J5 (125,92 g), probablement due à une reprise de l'absorption d'eau et à l'accélération des processus physiologiques, notamment la division cellulaire et l'allongement des tiges. Enfin, une baisse marquée est observée à J6 (80,10 g), consécutive au séchage des graines, visant à interrompre la germination et à stabiliser les échantillons. Cette réduction finale confirme l'élimination d'une grande partie de l'eau accumulée durant le processus germinatif.

Ces résultats confirment que la germination est accompagnée d'importantes fluctuations du poids, principalement liées à l'imbibition, aux transformations biochimiques internes et aux conditions expérimentales appliquées, notamment le séchage en fin de cycle.

**Tableau 4.** Évolution du poids des graines de lentilles au cours des cinq jours de germination.

Jours	0	1	2	3	4	5	6
Poids (g)	50	50	101.35	109.59	105.25	125.92	80.1

## 2. Traitement thermique des graines germées

La germination crée un environnement humide, riche en nutriments, favorable non seulement à l'activité enzymatique bénéfique mais également à la prolifération de micro-organismes pathogènes tels que *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* et certaines levures ou moisissures (Taormina et al., 1999). Cette vulnérabilité microbiologique impose l'application de traitements d'assainissement rigoureux afin de garantir la sécurité des produits finis destinés à la consommation.

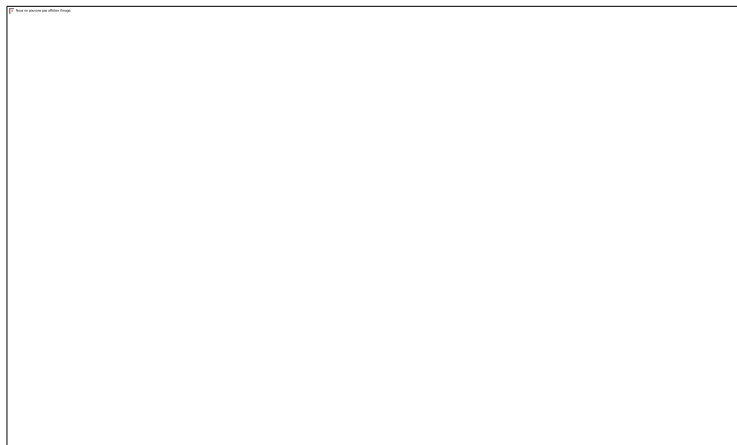
Le traitement thermique par vapeur chaude, appliqué ici pendant 10 minutes à des températures relativement stables autour de 94 °C (Figure 10), s'avère être une stratégie efficace pour réduire

la charge microbienne sans altérer les propriétés nutritionnelles ou sensorielles des graines germées (**Beuchat, 1997 ; Bari et al., 2009**). Ce type de traitement agit en dénaturant les protéines des membranes cellulaires des micro-organismes, provoquant leur inactivation irréversible.

L'effet du traitement se manifeste notamment par la réduction des coliformes totaux et fécaux, qui sont souvent utilisés comme indicateurs de contamination d'origine fécale ou d'hygiène déficiente au cours du processus de germination (**FDA, 2017**). En outre, la maîtrise de la flore mésophile aérobie totale, également visée par ce traitement, constitue un bon reflet de l'efficacité globale de la désinfection thermique et du risque sanitaire associé au produit.

Des études antérieures ont confirmé que l'exposition des graines germées à des températures de 85–95 °C pendant 3 à 10 minutes permet une réduction significative de *Salmonella* et *E. coli*, tout en conservant les attributs nutritionnels essentiels tels que les protéines, fibres et antioxydants (**Stasiewicz et al., 2011 ; Neal et al., 2012**). Cependant, un équilibre doit être trouvé entre température, durée et préservation des qualités fonctionnelles du produit.

Enfin, le traitement thermique à la vapeur peut être avantageusement combiné à d'autres stratégies comme l'usage d'agents naturels (acide acétique, peroxyde d'hydrogène, huiles essentielles) pour un effet synergique sur la réduction de la contamination (**Nguyen et al., 2013**). Une telle approche intégrée renforce la sécurité sanitaire tout en s'inscrivant dans une logique de transformation douce, sans recours excessif aux procédés chimiques.



**Figure 10.** Évolution de la température au cours du traitement thermique

### 3. Qualité microbiologique

#### 3.1. Coliformes totaux

Les résultats de l'analyse microbiologique (Tableau 5) révèlent une contamination persistante en coliformes totaux tout au long du processus de germination des graines de lentille, depuis la matière première (J0) jusqu'au produit final (Pf). L'incubation des échantillons pendant 24 heures à 37 °C a permis de détecter la présence systématique de ces bactéries dans toutes les dilutions testées, y compris à  $10^{-3}$ , ce qui témoigne d'une charge microbienne initiale élevée. La valeur du Nombre le Plus Probable (NPP), estimée à 930 UFC/g, confirme cette forte contamination.

La détection répétée des coliformes à travers les différents jours de germination suggère non seulement une présence initiale importante, mais aussi des conditions favorables à leur prolifération, telles qu'un environnement humide et riche en nutriments. La persistance de cette contamination jusqu'au stade final de transformation (poudre protéique) met en évidence l'inefficacité des méthodes de désinfection appliquées en amont, probablement limitées à des traitements de surface.

Ces résultats corroborent les observations de **Berger et al. (2010)**, qui ont montré que les coliformes et autres entérobactéries peuvent coloniser les graines de manière endogène, rendant leur élimination par simple désinfection de surface difficile. La présence interne des micro-organismes dans les tissus des graines limite l'efficacité des procédés de trempage classiques.

En conséquence, il apparaît indispensable de réévaluer les protocoles de décontamination appliqués avant la germination. Plusieurs approches peuvent être envisagées, telles que l'utilisation de solutions désinfectantes à base d'acide acétique, de mélanges éthanol-SDS (**Santos et al., 2020**), ou encore l'application de traitements thermiques doux. L'exploration d'agents antimicrobiens naturels ou de techniques comme l'irradiation pourrait également contribuer à améliorer la qualité microbiologique des graines germées destinées à la consommation humaine (**Gil et al., 2009**). Une attention particulière doit ainsi être portée à l'étape pré-germination, afin d'assurer la sécurité sanitaire des produits finis.

**Tableau 5.** Résultats des analyses des coliformes totaux obtenus lors de la germination des graines de lentilles (0 à 5 jours) et pour le produit final (PF).

<b>Jour</b> <b>Dilution</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>Pf</b>
<b>10<sup>-1</sup></b>	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+
	+	-	+	+	+	+	+
<b>10<sup>-2</sup></b>	+	-	+	+	+	+	-
	+	-	+	+	+	+	+
	+	-	+	+	+	+	+
<b>10<sup>-3</sup></b>	+	-	+	+	+	+	+
	+	-	+	+	+	+	+
	+	-	+	+	+	+	+

### 3.2. Coliformes fécaux

L'analyse microbiologique des coliformes fécaux après incubation à 44 °C pendant 24 heures (Tableau 6) indique une présence uniquement détectée dans les échantillons de la matière première (J0), à travers toutes les dilutions (de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-3</sup>). Ce résultat suggère une contamination initiale par des micro-organismes d'origine fécale, tels qu'*Escherichia coli*, souvent utilisés comme indicateurs classiques de pollution fécale. Le choix d'une température d'incubation de 44 °C, sélective pour les coliformes fécaux, renforce la fiabilité de cette détection.

À partir de J1 et jusqu'au produit final (Pf), tous les tubes se révèlent négatifs, avec un Nombre le Plus Probable (NPP) estimé à 0 UFC/g. Cette disparition rapide de la contamination fécale suggère que les conditions de germination (température, aération, manipulation) n'ont pas favorisé la survie ni la multiplication de ces bactéries spécifiques. Elle peut également témoigner d'une certaine efficacité des premières étapes de lavage ou de trempage, bien que celles-ci se soient révélées insuffisantes face aux coliformes totaux.

Cette évolution favorable renforce la validité du protocole expérimental mis en œuvre, tout en soulignant que la germination, lorsqu'elle est correctement encadrée par des pratiques d'hygiène strictes, pourrait contribuer à l'élimination ou à la réduction de certains contaminants d'origine fécale (Berthold-Pluta et al., 2021). Toutefois, la détection initiale de coliformes

fécaux à J0 reste préoccupante et justifie la mise en place systématique de traitements désinfectants avant le démarrage de la germination.

Ces résultats indiquent que, bien que la contamination fécale ait été éliminée dès les premières phases du processus, la maîtrise de la qualité microbiologique des graines nécessite des précautions en amont. L'absence de coliformes fécaux après J1 constitue un indicateur encourageant pour la sécurité du produit fini, mais elle ne dispense pas de l'application rigoureuse de mesures de décontamination dès la réception des graines.

**Tableau 6.** Résultats des analyses des coliformes fécaux obtenus lors de la germination des graines de lentilles (0 à 5 jours) et pour le produit final (PF).

<b>Dilution \ Jour</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>Pf</b>
<b>10<sup>-1</sup></b>	+	-	-	-	-	-	-
	+	-	-	-	-	-	-
	+	-	-	-	-	-	-
<b>10<sup>-2</sup></b>	+	-	-	-	-	-	-
	+	-	-	-	-	-	-
	+	-	-	-	-	-	-
<b>10<sup>-3</sup></b>	+	-	-	-	-	-	-
	+	-	-	-	-	-	-
	+	-	-	-	-	-	-

### 3.3. Levures

L'analyse des résultats obtenus à 25 °C entre J0 et le produit final (Pf), présentés dans le Tableau 9, révèle une évolution notable de la charge en levures au cours du processus de germination. À l'état initial (J0), les comptages élevés observés dans l'ensemble des dilutions indiquent une contamination fongique significative de la matière première. Ce constat rejoint les observations de **De Vuyst et al. (2017)**, qui soulignent la prévalence des levures dans les matrices végétales non traitées.

Dès le premier jour (J1), et de manière plus marquée à partir du troisième jour (J3), une décroissance progressive du nombre de levures est observée, aboutissant à des valeurs très faibles, voire nulles, à J5 et dans le produit final. Cette diminution peut s'expliquer par divers facteurs : la compétition avec d'autres micro-organismes présents, l'épuisement des substrats

fermentescibles disponibles, ou encore l'accumulation de métabolites antimicrobiens tels que l'éthanol ou certains acides organiques (Fleet, 2007).

L'absence totale de levures dans certaines dilutions du produit final, notamment à  $10^{-2}$ , suggère une forme de stabilisation microbiologique. Ce résultat est particulièrement encourageant dans une optique de sécurité sanitaire, en lien avec la production d'ingrédients issus de la germination, comme les poudres protéiques. En effet, la réduction, voire l'élimination, de microflore fermentaires non contrôlées est un critère essentiel pour garantir la qualité et la stabilité des produits finis (Pérez-Alvarez et al., 2020).

Il convient toutefois de souligner que la présence de levures n'est pas toujours indésirable. Certaines souches peuvent jouer un rôle bénéfique dans la biotransformation des composés végétaux : elles participent à la dégradation des polysaccharides complexes, à la libération de composés aromatiques volatils, et peuvent même contribuer à la réduction de certains facteurs antinutritionnels (Vlassa et al., 2022). Ainsi, la maîtrise de leur dynamique constitue un levier potentiellement intéressant dans le développement de produits fermentés ou fonctionnels.

Ces résultats traduisent une réduction efficace des populations de levures au cours de la germination, sans pour autant exclure leur rôle possible dans l'amélioration de certaines propriétés organoleptiques ou nutritionnelles. Le contrôle de ces microflore devrait donc être adapté en fonction des objectifs visés pour le produit final.

**Tableau 7.** Résultats des analyses de levures obtenus lors de la germination des graines de lentilles (0 à 5 jours) et pour le produit final (PF).

<b>Dilution \ Jour</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>Pf</b>
<b><math>10^{-1}</math></b>	23	13	10	3	5
	18	9	3	0	10
<b><math>10^{-2}</math></b>	16	21	5	1	0
	9	2	3	1	
<b><math>10^{-3}</math></b>	20	12	0	1	4
	19	10	4	1	

### 3.4. Flore mésophile aérobie totale

Les résultats obtenus après incubation des échantillons pendant 72 heures à 30 °C (Tableau 10) révèlent une présence significative de la flore mésophile aérobie totale (FMAT), notamment au stade initial de la germination (J0). Les dénombrements les plus élevés ont été observés dans la dilution  $10^{-1}$ , atteignant jusqu'à 206 colonies, traduisant une charge microbienne relativement importante dès le début du processus.

Cette forte contamination initiale peut s'expliquer par la présence d'une flore microbienne naturellement endogène sur les graines de lentilles, combinée à des conditions favorables à la prolifération microbienne telles que l'humidité élevée et la température optimale induites par les étapes de trempage et de germination (Tournas et al., 2006). En effet, les graines sèches constituent un réservoir potentiel de micro-organismes mésophiles, qui trouvent dans l'environnement humide et tempéré de la germination un terrain propice à leur croissance.

Une diminution notable du nombre de colonies est observée à partir du premier jour (J1), suivie de fluctuations au cours du processus, avec un pic de développement autour du troisième jour (J3), avant une nouvelle baisse à J5 et dans le produit final (Jf). Ces variations pourraient résulter de phénomènes de compétition microbienne, de l'épuisement progressif des nutriments, ou encore de la mise en place de mécanismes de défense par certaines souches présentes.

Malgré cette diminution, la persistance de la FMAT jusqu'au produit final met en évidence la nécessité d'un contrôle rigoureux des conditions d'hygiène durant l'ensemble du procédé de germination. En effet, la flore mésophile aérobie, bien que non nécessairement pathogène, peut servir d'indicateur global de la qualité microbiologique et de l'efficacité des bonnes pratiques de fabrication. En somme, cela souligne l'importance de maîtriser les étapes critiques du procédé (notamment le trempage et les conditions d'incubation) pour limiter la prolifération de micro-organismes aérobies mésophiles et garantir la salubrité du produit germé final.

### 3.5. *Escherichia coli* et *Salmonella*

Les résultats obtenus après incubation à 37 °C pendant 24 h montrent une absence totale d'*E. coli* dans toutes les dilutions analysées, aussi bien au jour 1 qu'au jour 5 (Tableau 8). Cette absence est un indicateur essentiel de l'efficacité des mesures de désinfection mises en place en amont de la germination, en particulier l'usage de l'acide acétique, reconnu pour ses propriétés antimicrobiennes contre les entérobactéries (Santos et al., 2020). Ces résultats suggèrent également que les conditions d'hygiène durant le trempage et la germination ont été bien

contrôlées, limitant ainsi les risques de contamination croisée. De telles observations sont cohérentes avec les travaux de **Beuchat (1996)**, qui indiquent que l'absence d'*E. coli* est un critère clé pour la sécurité sanitaire des graines germées.

**Tableau 8.** Résultats des analyses d'*E. coli* obtenus lors de la germination des graines de lentilles à 0 et à 5 jours.

<b>Dilution \ Jour</b>	<b>0</b>	<b>5</b>
<b>10<sup>-1</sup></b>	Abs	Abs
	Abs	Abs
<b>10<sup>-2</sup></b>	Abs	Abs
	Abs	Abs

Concernant *Salmonella*, les données présentées dans le Tableau 9 confirment également une absence complète de ce pathogène aux trois temps d'analyse (J0, J1, J5), et ce pour toutes les dilutions. Cette absence est d'autant plus significative qu'elle concerne la matière première (J0), suggérant une bonne qualité microbiologique initiale des graines utilisées. Elle reflète également la robustesse du protocole de décontamination appliqué avant germination. Selon les recommandations de l'**EFSA (2020)** et les études de **Pérez-Alvarez et al. (2020)**, l'absence de *Salmonella* est indispensable pour considérer un produit germé comme sûr à la consommation, notamment en raison des risques associés à la consommation de produits crus ou peu transformés. Ces résultats confirment ainsi la pertinence des pratiques hygiéniques appliquées tout au long du procédé.

**Tableau 9.** Résultats des analyses d'*E. coli* obtenus lors de la germination des graines de lentilles à 0 et à 5 jours.

<b>Dilution \ Jour</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>5</b>
<b>10<sup>-1</sup></b>	Abs	Abs	Abs
<b>10<sup>-2</sup></b>	Abs	Abs	Abs
<b>10<sup>-3</sup></b>	Abs	Abs	Abs

## 4. Paramètres physicochimiques des graines

### 4.1. Activité de l'eau

L' $a_w$  constitue un paramètre déterminant dans l'évaluation de la qualité microbiologique et de la stabilité biochimique des graines en germination. Dans cette étude, on observe dans le tableau 10 une évolution marquée de l' $a_w$  tout au long du processus germinatif. À l'état initial (J0), la valeur très basse de 0.3312 indique une faible disponibilité en eau libre, ce qui limite fortement le développement microbien. Cependant, dès le deuxième jour (J2), une hausse brutale de l' $a_w$  est enregistrée, atteignant un maximum de 1 à J4. Cette augmentation est directement liée à l'imbibition des graines lors du trempage, phénomène essentiel pour déclencher les processus métaboliques de germination (**Huang et al., 2014**).

Cette élévation de l' $a_w$  est favorable à la croissance microbienne, ce qui explique en partie l'évolution des flores observée dans les résultats microbiologiques précédents. Toutefois, à J6, après l'étape de séchage, de l' $a_w$  chute à 0.774, traduisant l'élimination d'une partie importante de l'eau libre. Cette réduction est cruciale pour assurer la stabilité du produit final en limitant la reprise d'activité microbienne et enzymatique. Un tel comportement est conforme aux attentes dans la transformation de graines germées en poudre stable et fonctionnelle, comme l'ont également souligné **Fellows (2009)** et **Quezada-Gallo et al. (2019)** dans le cadre de la conservation de produits déshydratés.

**Tableau 10.** Évolution de l' $a_w$  des graines de lentilles au cours du processus germinatif.

Jours	0	2	3	4	5	PF
$a_w$	0.331	0.945	1.000	1.000	0.984	0.774
Température	24.0	22.3	22.1	22.0	24.3	24.6

### 4.2. Teneur en eau

La teneur en eau est un paramètre essentiel pour le bon déroulement des processus physiologiques des graines, en particulier durant la germination. Dans cette étude, une forte augmentation de la teneur en eau est observée dès le premier jour (J1), passant de 12,4 % à 58,4

%, et atteignant un maximum de 71,8 % au cinquième jour (J5), comme présenté dans le tableau 16. Cette évolution traduit une hydratation rapide des graines après le trempage, condition indispensable à l'activation des mécanismes métaboliques de la germination (**Nonogaki et al., 2010**).

L'absorption d'eau favorise notamment l'activité enzymatique, la mobilisation des réserves et la croissance embryonnaire. Ces phénomènes ont été largement documentés comme cruciaux pour initier et maintenir le développement des semences (**Vertucci & Leopold, 1987**). Toutefois, une teneur en eau trop élevée peut également créer des conditions favorables à la prolifération microbienne, ce qui justifie l'importance d'un contrôle rigoureux de ce paramètre pendant la germination.

Enfin, la nette diminution observée dans l'échantillon final (20 % au Pf) résulte de la phase de séchage post-germination, visant à stabiliser le produit fini et à réduire les risques de détérioration. Cette dessiccation contribue également à prolonger la durée de conservation des graines germées transformées en poudre protéique, tout en préservant leurs qualités nutritionnelles et fonctionnelles.

**Tableau 11.** Évolution de la teneur en eau des graines de lentilles au cours du processus germinatif

Jours	0	1	2	3	4	5	PF
Poids	4.38	2.08	1.93	2.81	1.7	1.41	4
Teneur en eau	12.4	58.4	61.4	43.8	66	71.8	20

#### 4.3. pH

L'évolution du pH mesurée pendant la germination des graines de lentille (Tableau 12) montre une tendance générale à la diminution, passant de 6.640 au jour 0 (J0) à 6.37 dans le produit final sous forme de poudre (Pf), comme indiqué dans le tableau 11. Bien que cette variation semble modérée, elle reste significative et cohérente avec les processus biochimiques associés à la germination.

Cette légère acidification peut être attribuée à la production d'acides organiques résultant de l'activation enzymatique, notamment des phytases. Ces enzymes dégradent l'acide phytique, un facteur antinutritionnel majeur, en libérant du phosphate inorganique et en favorisant la mobilisation des minéraux (**Bohn et al., 2008**). Ce phénomène est bénéfique d'un point de vue

nutritionnel, car il améliore la biodisponibilité des éléments minéraux essentiels tels que le fer, le zinc et le calcium.

En parallèle, la baisse du pH pourrait également contribuer à la maîtrise du développement microbien indésirable, en créant un environnement moins favorable à certaines bactéries pathogènes. Cette dynamique de pH, bien que discrète, est donc révélatrice d'un processus de transformation fonctionnel des graines germées, soutenant leur intérêt comme ingrédient à valeur ajoutée dans les formulations alimentaires (Swieca et al., 2014).

**Tableau 12.** Évolution du pH des graines de lentilles au cours du processus germinatif

Jours	0	1	2	3	4	5	PF
<i>pH</i>	6.64	6.60	6.60	6.62	6.51	6.48	6.37

#### 4.4. Évolution de l'acide phytique

Les mesures spectrophotométriques réalisées à 500 nm par la méthode de Wade montrent une augmentation régulière de l'absorbance, passant de 0,2114 au jour 0 (J0) à 1,0444 dans le produit final (Jf). Étant donné que, dans ce test colorimétrique, l'absorbance varie inversement avec la teneur réelle en phytate, ces valeurs indiquent une diminution progressive de l'acide phytique au cours de la germination (Latta & Eskin, 1980).

Cette réduction reflète l'activation des phytases endogènes, enzymes qui hydrolysent le phytate en libérant du phosphate inorganique. L'activité phytasique est connue pour s'intensifier dès que les graines sont réhydratées, puis croît jusqu'aux jours 3 à 5, période pendant laquelle la mobilisation du phosphore est maximale (Lopez et al., 2002). Le profil d'absorbance observé, pic d'hydrolyse entre J3 et J5, suivi d'une poursuite de la dégradation jusqu'au séchage final est donc cohérent avec cette cinétique enzymatique.

La diminution de l'acide phytique présente plusieurs avantages nutritionnels :

- Elle libère des minéraux liés (Fe, Zn, Ca), améliorant ainsi leur biodisponibilité ;
- Elle atténue l'effet chélatant du phytate, facteur antinutritionnel majeur dans les légumineuses ;
- Elle réduit le risque de formation de complexes insolubles dans l'intestin, ce qui peut être particulièrement bénéfique pour les populations ayant des besoins accrus (sportifs, enfants, personnes anémiées).

Enfin, ces résultats confirment que la germination constitue une stratégie simple et efficace de bio-transformation pour abaisser la charge en phytate, étape souvent recommandée avant la production de poudres protéiques ou d'ingrédients fonctionnels à base de lentille. Ils rejoignent ainsi les conclusions de travaux antérieurs qui préconisent la germination comme méthode naturelle d'amélioration nutritionnelle (**Bohn et al., 2008**).

**Tableau 13.** Évolution de l'acide phytique des graines de lentilles au cours du processus germinatif

Jours	0	1	2	3	4	5	PF
<i>Absorbance</i>	0.211	0.364	0.565	0.497	0.524	0.671	1.044

### 5. Séchage de séchage des graines germées

L'évolution du poids des graines de lentilles germées au cours du séchage révèle une perte significative en eau. En effet, la masse de l'échantillon passe de 100,1 g à 44,7 g en 70 minutes, soit une réduction de 55,4 % par rapport à la masse initiale. Cette perte progressive reflète l'élimination de l'eau contenue dans les graines, principalement sous forme libre dans un premier temps, puis liée dans les structures cellulaires. La majorité de l'eau est éliminée durant les 30 premières minutes du séchage. Durant cette phase, le poids chute rapidement de 100,1 g à 53,7 g, ce qui correspond à près de 85 % de la perte totale d'humidité. Cette phase de séchage rapide coïncide avec des conditions favorables : une température d'air stable et relativement élevée (autour de 50 à 55 °C) et une humidité relative faible à l'entrée du séchoir (entre 14 % et 8,5 %). Le gradient hygrométrique important entre l'air sec entrant et l'humidité du produit facilite alors l'évaporation de l'eau à la surface des graines.

Au-delà de 30 minutes, la vitesse de séchage ralentit sensiblement. Entre 30 et 70 minutes, la perte de masse est moins marquée, avec une diminution de seulement 9 g. Cette phase correspond au séchage lent, dominé par la diffusion de l'eau interne vers la surface. Parallèlement, on observe une élévation de l'humidité relative en sortie du séchoir (atteignant 21,8 % à 70 min) et une chute de température en sortie (jusqu'à 30,6 °C), traduisant un affaiblissement du flux thermique et une accumulation de vapeur d'eau. Ces conditions réduisent le potentiel de transfert d'humidité, limitant l'efficacité du séchage en fin de processus.

La cinétique de séchage observée correspond au schéma classique en deux phases décrit dans la littérature : une phase initiale de séchage rapide, dominée par l'évaporation de l'eau libre en surface, suivie d'une phase de séchage lent contrôlée par la diffusion interne de l'eau (**Mujumdar, 2007**). Dans notre étude, près de 85 % de la perte totale de masse se produit durant les 30 premières minutes, lorsque l'air d'entrée présente une faible humidité et une température élevée. De telles conditions maximisent le gradient hygrométrique, facteur clé du transfert de masse (**Lewicki, 2006**).

Au-delà de 30 min, le ralentissement marqué de la déshydratation est cohérent avec les travaux de **Stasiewicz et al. (2011)**, qui montrent qu'une fois l'eau libre éliminée, la résistance interne au transfert devient prépondérante et l'économie énergétique décroît rapidement. La hausse de l'humidité relative en sortie suggère par ailleurs une saturation partielle du flux d'air, phénomène déjà signalé par **Mujumdar (2007)** comme limitant l'efficacité thermique lorsque la ventilation ou la purge d'air humide ne sont pas optimales.

D'un point de vue microbiologique, la phase de séchage rapide contribue à réduire l'activité en eau en dessous des seuils favorables à la prolifération de pathogènes tels que *Salmonella* ou *E. coli* (**Taormina, Beuchat & Slutsker, 1999**). Plusieurs auteurs ont montré que l'association d'un séchage à air chaud (85-95 °C, 3-10 min) et d'un prétraitement à la vapeur ou à l'eau chaude réduit significativement ces bactéries sans altérer la qualité nutritionnelle des graines germées (**Beuchat, 1997 ; Bari et al., 2009 ; Neal et al., 2012**). L'intégration éventuelle d'agents antimicrobiens naturels, par exemple l'acide acétique ou les huiles essentielles, peut encore renforcer l'effet létal du traitement thermique, tout en répondant aux lignes directrices de la **FDA (2017)** sur la sécurité des germes consommés crus.

Sur le plan énergétique, nos résultats confirment que limiter la durée totale à 30-40 minutes pourrait suffire à atteindre l'activité en eau cible, en accord avec les recommandations de **Lewicki (2006)** pour les séchoirs à air chaud destinés aux produits végétaux. Au-delà, le gain de déshydratation devient marginal, alors que la consommation d'énergie et l'usure du matériel augmentent. Ces constats soutiennent l'idée qu'un arrêt anticipé du séchage (dès que la masse résiduelle ou l'activité en eau souhaitées sont atteintes) permettrait de préserver la valeur nutritionnelle des graines germées tout en minimisant l'impact environnemental et économique du procédé.

**Tableau 14.** Paramètres de la cinétique de séchage par entrainement des graines de lentilles germées.

Temps (min)	Poids de l'échantillon (g)	Entrée du séchoir		Sortie du séchoir	
		Humidité de l'air (%)	Température de l'air (°C)	Humidité de l'air (%)	Température de l'air (°C)
0	100,1	14	50,09	13,9	46,03
10	64,1	13,3	50,66	12,7	46,46
20	56,2	11,5	53,6	12,5	46,86
30	53,7	8,5	55,15	12,1	45,8
40	49,7	8,8	56,22	12,4	45,87
50	46,3	10	52,64	12,4	44,48
60	44,9	8,9	53,58	12,4	42,44
70	44,7	8,7	52,75	21,8	30,57

**CONCLUSION**

La combinaison de la germination contrôlée, d'un traitement vapeur court et d'un séchage optimisé confère aux graines de lentille germées une double valeur : une sécurité microbiologique satisfaisante, marquée par l'absence de pathogènes majeurs et la réduction globale des flores d'altération ; une amélioration nutritionnelle significative, illustrée par la baisse de l'acide phytique, l'activation enzymatique et la mobilisation des réserves. Néanmoins, la persistance des coliformes totaux souligne la nécessité de renforcer la décontamination en amont (solution acide ou agents naturels) et de valider des protocoles intégrés combinant traitements thermiques et antimicrobiens naturels. In fine, ce procédé simple, peu énergivore et compatible avec une transformation douce positionne la poudre protéique de lentille germée comme un ingrédient fonctionnel prometteur pour les formulations alimentaires enrichies en protéines végétales, à condition d'optimiser encore les étapes critiques de sécurité sanitaire. En perspective, l'intégration de ces poudres germées dans des formulations alimentaires (barres protéiques, compléments) pourrait répondre à la demande croissante en protéines végétales durables. Cependant, leur industrialisation nécessitera des validations à plus grande échelle, incluant des tests de stabilité et d'acceptabilité sensorielle. Ce travail ouvre ainsi la voie à des applications innovantes, tout en identifiant des leviers critiques pour une production sûre et optimisée.

**REFERENCES**

- Agu, R. C., Chiba, Y., Goodfellow, V., Mackinlay, J., Brosnan, J. M., Bringham, T. A., ... & Bryce, J. H. (2012). Effect of germination temperatures on proteolysis of the gluten-free grains rice and buckwheat during malting and mashing. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(40), 10147-10154.
- Aryee, A. N., & Boye, J. I. (2016). Improving the digestibility of lentil flours and protein isolate and characterization of their enzymatically prepared hydrolysates. *International Journal of Food Properties*, 19 (12), 2649-2665.
- Bari, M. L., Nei, D., Enomoto, K., Todoriki, S., & Kawamoto, S. (2009). Combination treatments for killing *Escherichia coli* O157: H7 on alfalfa, radish, broccoli, and mung bean seeds. *Journal of Food Protection*, 72 (3), 631-636.
- Baugreet, S., Gomez, C., Auty, M. A., Kerry, J. P., Hamill, R. M., & Brodkorb, A. (2019). In vitro digestion of protein-enriched restructured beef steaks with pea protein isolate, rice protein and lentil flour following sous vide processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 54, 152-161.
- Beuchat, L. R. (1997). Comparison of chemical treatments to kill *Salmonella* on alfalfa seeds destined for sprout production. *International Journal of Food Microbiology*, 34 (3), 329-333.
- Benincasa, P., Falcinelli, B., Lutts, S., Stagnari, F., & Galieni, A. (2019). Sprouted grains: A comprehensive review. *Nutrients*, 11 (2), 421.
- Chinma, C. E., Adedeji, O. E., Jolayemi, O. S., Ezeocha, V. C., Ilowefah, M. A., Rosell, C. M., ... & Adebo, O. A. (2024). Impact of germination on the techno-functional properties, nutritional composition, and health-promoting compounds of brown rice and its products: A review. *Journal of food science*, 89 (1), 8-32.
- Falcinelli, B., Calzuola, I., Gigliarelli, L., Torricelli, R., Polegri, L., Vizioli, V., ... & Marsili, V. (2018). Phenolic content and antioxidant activity of wholegrain breads from modern and old wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars and ancestors enriched with wheat sprout powder. *Italian Journal of Agronomy*, 13 (4), 1220.
- Faltermaier, A.; Zarnkow, M.; Becker, T.; Gastl, M.; Arendt, E. K. Common Wheat (*Triticum Aestivum* L.): Evaluating Microstructural Changes During the Malting Process by Using Confocal Laser Scanning Microscopy and Scanning Electron Microscopy. *Eur. Food Res. Technol.* 2015, 241(2), 239–252. DOI: 10.1007/s00217-015- 2450-x.
- Fahey, J. W., Smilovitz Burak, J., & Evans, D. (2023). Sprout microbial safety: a reappraisal after a quarter-century. *Food Frontiers*, 4(1), 318-324.
- FDA. (2017). *Sprout Safety Alliance: Best Practices for Growing Sprouts*.
- Gatel, F. (1994). Protein quality of legume seeds for non-ruminant animals: a literature review. *Animal feed science and technology*, 45(3-4), 317-348.
- Goyal, A., & Siddiqui, S. (2014). Effects of ultraviolet irradiation, pulsed electric field, hot water dip and ethanol vapours treatment on keeping and sensory quality of mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) sprouts. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 2664-2670.

- Gunathunga, C., Senanayake, S., Jayasinghe, M. A., Brennan, C. S., Truong, T., Marapana, U., & Chandrapala, J. (2024). Germination effects on nutritional quality: A comprehensive review of selected cereals and pulses changes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 128, 106024.
- Hübner, F., & Arendt, E. K. (2013). Germination of cereal grains as a way to improve the nutritional value: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(8), 853-861.
- Jarpa-Parra, M. (2018). Lentil protein: A review of functional properties and food application. An overview of lentil protein functionality. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 892-903.
- Kathuria, D., Hamid, Chavan, P., Jaiswal, A. K., Thakur, A., & Dhiman, A. K. (2024). A comprehensive review on sprouted seeds bioactives, the impact of novel processing techniques and health benefits. *Food Reviews International*, 40 (1), 370-398.
- Khazaei, H., Podder, R., Caron, C. T., Kundu, S. S., Diapari, M., Vandenberg, A., & Bett, K. E. (2017). Marker–trait association analysis of iron and zinc concentration in lentil (*Lens culinaris* Medik.) seeds. *The plant genome*, 10 (2), plantgenome 2017-02.
- Lewicki, P. P. (2006). Design of hot air drying for better foods. *Trends in Food Science & Technology*, 17 (4), 153-163.
- Lorenz, K., & D'Appolonia, B. (1980). Cereal sprouts: composition, nutritive value, food applications. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 13(4), 353-385.
- Marti, A., Cardone, G., Pagani, M. A., & Casiraghi, M. C. (2018). Flour from sprouted wheat as a new ingredient in bread-making. *Lwt*, 89, 237-243.
- Mattioli, S., Dal Bosco, A., Martino, M., Ruggeri, S., Marconi, O., Sileoni, V., ... & Benincasa, P. (2016). Alfalfa and flax sprouts supplementation enriches the content of bioactive compounds and lowers the cholesterol in hen egg. *Journal of Functional Foods*, 22, 454-462.
- Matus, A., Slinkard, A. E., & Vandenberg, A. (1993). The potential of zero tannin lentil. *New Crops*, 279, 282.
- Megat Rusydi, M. R., Noraliza, C. W., Azrina, A., & Zulhairi, A. (2011). Nutritional changes in germinated legumes and rice varieties. *International food research journal*, 18 (2).
- Mir, S. A., Shah, M. A., & Mir, M. M. (2017). Microgreens: Production, shelf life, and bioactive components. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(12), 2730-2736.
- Neal, J. A., Marquez-Gonzalez, M., Cabrera-Diaz, E., Lucia, L. M., O'Bryan, C. A., Crandall, P. G., ... & Castillo, A. (2012). Comparison of multiple chemical sanitizers for reducing *Salmonella* and *Escherichia coli* O157: H7 on spinach (*Spinacia oleracea*) leaves. *Food Research International*, 45(2), 1123-1128.
- Mujumdar, A. S. (2006). *Handbook of industrial drying*. CRC press.
- Nonogaki, H.; Bassel, G. W.; Bewley, J. D. Germination-still a Mystery. *Plant Sci*. 2010, 179(6), 574–581. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.02.010>

- Pelgrom, P. J., Boom, R. M., & Schutyser, M. A. (2015). Method development to increase protein enrichment during dry fractionation of starch-rich legumes. *Food and Bioprocess Technology*, 8, 1495-1502.
- Rousseau, S., Celus, M., Duijsens, D., Gwala, S., Hendrickx, M. & Grauwet, T. (2020). The impact of postharvest storage and cooking time on mineral bioaccessibility in common beans. *Food and Function*, 11, 7584–7595.
- Sales, M. P., Gerhardt, I. R., Grossi-de-Sá, M. F., & Xavier-Filho, J. (2000). Do legume storage proteins play a role in defending seeds against bruchids?. *Plant physiology*, 124(2), 515-522.
- Scippa, G. S., Rocco, M., Iallicco, M., Trupiano, D., Viscosi, V., Di Michele, M., ... & Scaloni, A. (2010). The proteome of lentil (*Lens culinaris* Medik.) seeds: discriminating between landraces. *Electrophoresis*, 31(3), 497-506.
- Secinaro, S. (2017). *Are sprouted grains more nutritious than regular whole grains?* Harvard Health Blog. <https://www.health.harvard.edu/blog/sprouted-grains-nutritious-regular-whole-grains-2017110612692>
- Shi, L., Mu, K., Arntfield, S. D., & Nickerson, M. T. (2017). Changes in levels of enzyme inhibitors during soaking and cooking for pulses available in Canada. *Journal of food science and technology*, 54, 1014-1022.
- Taylor, J. R., Novellie, L., & Liebenberg, N. V. (1985). Protein body degradation in the starchy endosperm of germinating sorghum. *Journal of experimental botany*, 36 (8), 1287-1295.
- Vandenberg, A. (2009). Lentil: Improvement in developing countries. *The Lentil: Botany, Production and Uses; Erskine, W., Muehlbauer, FJ, Sarker, A., Sharma, B., Eds*, 391-424.
- Rodriguez, C.; Frias, J.; Vidal Valverde, C.; Hernandez, A. Correlation Between Some Nitrogen Fraction, Lysine, Histidine, Tyrosine and Ornithine Contents During the Germination of Peas, Beans and Lentils. *Food Chem.* 2008, 8(1), 245–252. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.10.073.
- Xiao, Z., Luo, Y., Lester, G. E., Kou, L., Yang, T., & Wang, Q. (2014). Postharvest quality and shelf life of radish microgreens as impacted by storage temperature, packaging film, and chlorine wash treatment. *LWT-Food Science and Technology*, 55 (2), 551-558.
- Yang, Y., Meier, F., Ann Lo, J., Yuan, W., Lee Pei Sze, V., Chung, H. J., & Yuk, H. G. (2013). Overview of recent events in the microbiological safety of sprouts and new intervention technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(3), 265-280.
- Zhang, G.; Xu, Z.; Gao, Y.; Huang, X. Effects of Germination on the Nutritional Properties, Phenolic Profiles, and Antioxidant Activities of Buckwheat. *J. Food Sci.* 2015, 80(5), H1111–1119. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12830>
- Ray, B., & Bhunia, A. (2007). *Fundamental food microbiology*. CRC press.
- S. Santos, C., Silva, B., MP Valente, L., Gruber, S., & W. Vasconcelos, M. (2020). The effect of sprouting in lentil (*Lens culinaris*) nutritional and microbiological profile. *Foods*, 9(4), 400.
- Vlassa M, Filip M, Țăranu I, Marin D, Untea AE, Ropotă M, Dragomir C, Sărăcilă M. The Yeast Fermentation Effect on Content of Bioactive, Nutritional and Anti-Nutritional Factors in

- Rapeseed Meal. *Foods*. 2022 Sep 23;11(19):2972. doi: 10.3390/foods11192972. PMID: 36230048; PMCID: PMC9562236.
- Huang, Z., Wang, X., & Zhang, Q. (2014). *Water activity and its significance in food preservation and microbiology*. *Food Chemistry*, 144, 310–318.
- Bohn, L., Meyer, A. S., & Rasmussen, S. K. (2008). *Phytate: impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding*. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 9(3), 165–191.
- Lopez, H. W., Leenhardt, F., Coudray, C., & Remesy, C. (2002). *Mineral and phytic acid interactions: is it a real problem for human nutrition?*. *International Journal of Food Science & Technology*, 37(7), 727–739.
- Vertucci, C. W., & Leopold, A. C. (1987). Water binding in legume seeds. *Plant Physiology*, 85(1), 224–231. <https://doi.org/10.1104/pp.85.1.224>
- Nonogaki, H., Bassel, G. W., & Bewley, J. D. (2010). Germination—still a mystery. *Plant Science*, 179(6), 574–581.
- Gil, M. I., Selma, M. V., López-Gálvez, F., & Allende, A. (2009). *Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions*. *International Journal of Food Microbiology*, 134(1–2), 37–45. DOI : 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.021
- Berger, C. N., Sodha, S. V., Shaw, R. K., Griffin, P. M., Pink, D., Hand, P., & Frankel, G. (2010). *Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens*. *Environmental Microbiology*, 12(9), 2385–2397. DOI : 10.1111/j.1462-2920.2010.02297.x
- Fleet, G. H. (2007). *Yeasts in foods and beverages: impact on product quality and safety*. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(2), 170–175.
- De Vuyst, L., et al. (2017). *Microbial ecology and process technology of sourdough fermentation*. *Food Microbiology*, 20(5), 525-538.
- Pérez-Alvarez, J. A., et al. (2020). *Germinated grains: Biochemical modifications and health benefits*. *Journal of Cereal Science*, 95, 103063.
- Berthold-Pluta, A., Pluta, A., & Garbowska, M. (2021). Microbiological quality of edible seeds and their products. **Foods**, 10(7), 1500.
- Taormina, P. J., Beuchat, L. R., & Slutsker, L. (1999). *Infectious diseases associated with eating seed sprouts: an international concern*. **Emerging Infectious Diseases**, 5(5), 626–634. <https://doi.org/10.3201/eid0505.990502>
- Guergour Kawther, M. B. (2021). Recherches des flores contaminantes dans le yaourt entrepose dans les commerces de la ville de Guelma.
- Salem, C., Boussaha, A., & Ferhat, L. (2020). Analyse microbiologique des plats cuisinés servis dans les restaurants de deux résidences universitaires de la wilaya d’Alger (Cité A et Cité B) (Doctoral dissertation, École Nationale Supérieure Vétérinaire).
- Benchabane Razika, M. N. (2015). Contribution a l’étude De La Qualite Bacteriologique et Phytoplantonique De l’eau Du Marais de BOUSSEDRA EL BOUNI (ANNABA).
- Salem, M., & Khelifi, Z.** (2020). *Étude comparative de l’influence du séchage sur la valeur nutritionnelle de deux graines oléagineuses, graines de Lin et de soja (Linum usitatissimum et Glycine max)*. Mémoire de Master, Université Djilali Bounaama Khemis Miliana, Algérie

- Makkar, H. P. S., Siddhuraju, P., & Becker, K. (2007). Phytic acid. In *Plant Secondary Metabolites* (Vol. 393, pp. 93–100). Totowa, NJ: Humana Press. [https://doi.org/10.1007/978-1-59745-513-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-513-8_5)
- Hay et al. (2023)** – “**Determination and Control of Seed Moisture**”, *Seed Science and Technology*, 51(2):267–285.
- Stasiewicz, M. J., Brichta-Harhay, D. M., & Oliver, H. F. (2011). Evaluation of aerated steam treatment of alfalfa and mung bean seeds to eliminate high levels of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection*, 74(11), 1831–1838.
- Latta, M., & Eskin, M. (1980). A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(6), 1313–1315.
- Bourdoux, S., Hambidge, M., Devlieghere, F., et al. (2016). Microbial safety of sprouted seeds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(4), 802–813.
- Gunathunga, K. M., Ranawana, V., & Chaturika, P. D. (2024). Nutritional enhancements in legumes through germination: A review. *Food Chemistry Advances*, 3, 100168.
- Makkar, H. P. S., Francis, G., & Becker, K. (2007). Bioavailability of phytate phosphorus in some important food ingredients for aquaculture species. *Aquaculture*, 267(1-4), 260–272.
- Salem, M., & Khelifi, L. (2020). Techniques de séchage appliquées aux produits agroalimentaires. *Revue des Sciences Agroalimentaires*, 14(2), 33–41.
- Stasiewicz, M. J., et al. (2011). Efficacy of various interventions on microbial safety of sprouted seeds. *Journal of Food Protection*, 74(5), 828–851.

**ANNEXES**