




---

**Modélisation de la déshydratation et de la destruction de l'activité  $\alpha$ -amylase lors du touraillage d'un malt vert d'un écotype de sorgho rouge (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)**

Jean-Claude Bwanganga Tawaba\*, Arthur Amisi Kapepa, Feza Kabiona, Patrick Baguma Kalimba

Université de Kinshasa. Faculté des Sciences Agronomiques. BP 117 Kinshasa XI (RDC). E-mail : jcbwanganga@alumni.uliege.be; jcbwangson@yahoo.fr

Reçu le 06 octobre 2018, accepté le 21 décembre 2018

---

## RESUME

Dans ce travail, la diminution de l'humidité des grains et la destruction thermique de l'activité  $\alpha$ -amylase ont été suivies et modélisées lors du touraillage du malt vert d'une variété de sorgho rouge. Ces cinétiques ont été étudiées pour 7 températures de touraillage (40, 50, 60, 70, 80, 90 et 100 °C) pour des durées de touraillage allant jusqu'à 48 heures. Lorsque l'humidité des grains est élevée et la température encore faible, il est difficile de modéliser aussi bien l'humidité que la dégradation thermique de l'activité  $\alpha$ -amylase. Lorsque la température augmente et que l'humidité devient incompatible à la vie de la plantule, l'humidité des grains peut être modélisée comme un phénomène diffusif selon la solution à l'équation de Fick. Pour le sorgho utilisé dans cette étude, les valeurs de diffusivité effective ( $D_{eff}$ ) obtenues entre 40 °C et 100 °C sont comprises entre  $6,53 \times 10^{-12}$  et  $1,32 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , le facteur pré-exponentiel  $D_0$  vaut  $5,34 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  et l'énergie d'activation  $E_a$  vaut  $10,984 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ . La dégradation thermique de l'activité  $\alpha$ -amylase suit une cinétique d'ordre 1. Dans la plage de température étudiée (40 à 100 °C), la constante de vitesse de la réaction de dénaturation thermique de l' $\alpha$ -amylase varie entre  $0,0021$  et  $0,243 \text{ s}^{-1}$  et la valeur de l'énergie d'activation ( $E_a$ ) obtenue est de  $23,4 \text{ kJ} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$  - ce qui correspond à des temps de demi-vie variant entre 330,1 à 2,9 heures.

**Mots clés :** Touraillage, sorgho, modélisation,  $\alpha$ -amylase, humidité

## ABSTRACT

**Modeling of the dehydration and destruction of  $\alpha$ -amylase activity during the milling of a green malt from an ecotype of red sorghum.** In this work, the reduction of grain moisture and the thermal destruction of  $\alpha$ -amylase activity were monitored and modeled during the kilning of green malt of a red sorghum. These kinetics were studied for 7 kilning temperatures (40, 50, 60, 70, 80, 90 and 100 °C) for kilning times up to 48 hours. When grain moisture is high and the temperature is still low, it is difficult to model both moisture and thermal degradation of  $\alpha$ -amylase activity. When the temperature increases and the moisture content becomes incompatible with the growth of the seedling, grain moisture can be modeled as a diffusive phenomenon according to the solution to the Fick equation. For the sorghum used in this study, the effective diffusivity ( $D_{eff}$ ) values obtained between 40°C and 100°C are between  $6.53 \times 10^{-12}$  and  $1.32 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , the pre-exponential factor  $D_0$  is  $5.34 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  and the activation energy  $E_a$  is  $10.984 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ . The thermal degradation of the  $\alpha$ -amylase activity follows a first-order kinetics. In the temperature range studied (40 to 100 °C), the rate constant of the thermal denaturation reaction of  $\alpha$ -amylase varies between  $0.0021$  and  $0.243 \text{ s}^{-1}$  and the value of the activation energy ( $E_a$ ) obtained is  $23.4 \text{ kJ} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$  - corresponding to half-life times of between 330.1 to 2.9 hours.

**Keywords:** Kilning, sorghum, modeling,  $\alpha$ -amylase, moisture

---

## 1. INTRODUCTION

La fabrication de la bière se fait en trois grandes étapes, à savoir: le maltage, le brassage et la fermentation. Le maltage consiste en un trempage, une germination et un touraillage. La germination, qui dure généralement entre 48 et 72 heures, a pour objectifs le développement des enzymes, la désagrégation des constituants du grain (amidon,

protéines, paroi, etc.) pour donner ce qui convient d'être qualifié de malts verts (grains trempés et germés). Lorsque les objectifs de la germination sont atteints, le malt vert est séché, ce qui permet de faire passer son humidité d'environ  $42,5 \pm 2,5 \%$  à moins de  $5 \%$  voire près de  $1$  à  $2 \%$  pour certains malts spéciaux. Cette dernière phase de maltage – le touraillage – est très importante en ce sens qu'elle est à la fois un moyen de conservation et une étape de la

fabrication de la bière à part entière. Ce séchage est tout à fait particulier de par le fait qu'il s'agit de sécher un vivant en pleine croissance, ce qui entraîne des modifications métaboliques importantes. En effet, il est clair que dans le cas du séchage d'un grain en pleine germination, la diffusion aussi bien de la chaleur que de l'eau est fortement régulée tant que la petite plantule vit. Ceci a pour conséquence le fait que la modélisation des phénomènes qui ont lieu durant cette phase ne peut se faire sans la compréhension du processus métabolique sous-jacent même si les spécificités des techniques à utiliser peuvent être les mêmes. Aussi, si au tout début du touraillage les réactions sont celles contrôlées par le grain en germination, le contrôle de cette phase peut être, petit à petit, pris par le malteur ; et cette phase peut donc être modélisée en tenant compte des lois classiques de transfert de matière et de chaleur. On sait en effet que durant la 5<sup>ème</sup> phase de maltage souvent appelée « coup de feu », l'humidité des grains ne permet plus la poursuite de la germination et des réactions enzymatiques, mais plusieurs réactions chimiques et physico-chimiques peuvent avoir lieu durant cette phase (dégradation de certains composés comme le DiMéthylSulfure (DMS), réactions de Maillard, oxydation des polyphénols, etc.) (Lewis and Bamforth, 2006; Bwanganga, 2013). Durant cette phase, la déshydratation peut être considérée comme totalement diffusive et être modélisée en utilisant la loi de diffusion de Fick.

Si plusieurs études ont été réalisées ces dernières années sur l'optimisation des conditions de trempage et de germination (Okolo and Ezeogu, 1996; Dewar *et al.*, 1997a, 1997b; Lefyedi and Taylor, 2006; Lefyedi and Taylor, 2007, Bwanganga *et al.*, 2012, 2013a, 2013b, 2013c - pour ne citer que celles-là), quelques études seulement ont été menées sur l'effet de la température et de la durée du touraillage sur les propriétés des malts de sorgho (activités enzymatiques: amylases, glucanase, cellulase, etc.) (Agu *et al.*, 1996 ; Agu and Palmer, 1997 ; Uriyo and Eigel, 1999; Ballogou *et al.*, 2011). Si l'effet de la température sur les différentes enzymes est reconnu, aucune étude n'a clairement montré la façon dont cette température affecte les enzymes en question lors du touraillage du sorgho.

Cette étude a pour objet la modélisation de l'effet de la température et de la durée de touraillage sur l'activité  $\alpha$ -amylase lors du maltage du sorgho rouge, en relation avec la cinétique de déshydratation des grains. En effet, des études sur la dégradation thermique de l'activité  $\alpha$ -amylase ont déjà été réalisées, mais ces études ont consisté en l'extraction et la purification de l'enzyme suivi de sa dégradation à différentes températures (Kumar *et al.*, 2005; Adefila *et al.* (2012). L'intérêt de cette étude est d'aider au bon management de la dénaturation de l'activité  $\alpha$ -amylase, qui est l'activité amylolytique majeure du malt de sorgho rouge, lors du touraillage.

On sait que, l'un des objectifs - sinon l'objectif majeur - du maltage est ce qu'on résume dans le terme désagrégation, c'est-à-dire la synthèse et à la mobilisation des enzymes hydrolytiques, ainsi que toutes les réactions biochimiques résultant du métabolisme de la graine en germination.

La connaissance de la destruction thermique (dénaturation) des enzymes développées lors de la germination est importante. Aussi, l'une des questions auxquelles le malteur est obligé de répondre est celle de savoir à quel moment précis doit-il arrêter le touraillage - une étape fortement consommatrice d'énergie - tout en conservant le maximum possible des propriétés développées lors de la germination. L'intérêt de la modélisation est donc d'aider le malteur à répondre à ce genre de questions en très peu de temps - les problèmes du monde réel ne laissant parfois pas à l'ingénieur assez de temps pour pouvoir décider et/ou nécessitant des moyens et des ressources énormes que les industriels ne sont pas toujours prêts à disponibiliser.

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1. Maltage

Quatre cents grammes (400 g) de grains obtenus de la province du Nord Kivu (ville de Goma) ont été triés manuellement et trempés dans 800 ml d'une solution de NaOH 0,2 % pendant 12 heures puis retrempés pendant 12 heures dans une solution contenant  $10^8$  cellules de *Bacillus subtilis* S499 /ml. Les grains trempés ont été germés dans une mini serre pendant 72 heures et séchés aux températures de touraillage (KT) suivantes 40, 50, 60, 70, 80, 90 et 100 °C pendant 48 heures. Un échantillon d'environ 5 g préalablement pesé a été prélevé après les durées de touraillage (DT) suivantes: 0,25 - 0,5 - 0,75 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 9 - 12 - 15 - 18 - 21 - 24 - 30 - 36 - 42 et 48 heures. L'humidité des grains a été obtenue après séchage à 105 °C jusqu'à poids constant.

### 2.2. Mesure de l'activité $\alpha$ -amylase

L'enzyme a été extraite à l'aide d'un tampon maléate de sodium (100 mM, pH 6,0) plus  $\text{CaCl}_2$  (5 mM) et de l'azide de sodium 0,02 % (tampon d'extraction) conformément à la méthode Megazyme CERALPHA K-CERA 01/12 avec quelques modifications. Dix millilitres de tampon maléate ont été ajoutés dans un tube contenant 500 mg de farine de malt tamisée à 0,5 mm de diamètre. Le mélange a été réalisé par retournement manuel pendant 15 minutes. Le mélange a ensuite été centrifugé à 5000 tours/min puis dilué 10 fois.

L'extrait d'enzyme a été mis dans un tube contenant préalablement de l'amidon gélatinisé (2 % dans l'eau) et l'ensemble a été incubé à 40 °C pendant 5 min. L'enzyme attaque l'amidon et libère des sucres réducteurs qui réduisent le 3,5-dinitrosalicylate

(DNS) à 100 °C en milieu alcalin (coloration rouge). L'absorbance à 540 nm est proportionnelle à la concentration en sucres réducteurs qui est exprimée en équivalents maltose libérés (la calibration étant ainsi réalisée avec du maltose). Une unité d'activité enzymatique est la quantité d'enzymes qui libère 1 μmole d'équivalent maltose par minute au départ d'une solution d'amidon soluble 1 % à 40 °C et à pH = 6.9.

La droite de calibration a été obtenue à l'aide des solutions contenant 0 – 0,21 – 0,31 – 0,42 – 0,52 – 0,63 et 0,73 mg de maltose dans 500 μl de solution (D.0 à 540 nm en ordonnée et concentration en maltose en abscisse). Cinq cents microlitres (500 μl) de chaque solution de calibration ont été introduits dans un tube à essai de 10 ml, 500 μl de tampon d'extraction puis 1000 μl de DNS ont été ajoutés. Les tubes ont été incubés dans un bain-marie à 100 °C pendant 5 minutes, puis refroidis dans l'eau courante. Cinq milles microlitres (5000 μl) d'eau distillée ont été ajoutés et l'absorbance a été mesurée à 540 nm.

Pour chaque essai, 9 tubes ont été disposés de la manière suivante : 3 tubes T<sub>0</sub> (amidon + tampon + DNS + H<sub>2</sub>O sans extrait d'enzyme); 3 tubes B<sub>0</sub> (blancs : extrait d'enzyme + tampon + DNS + H<sub>2</sub>O) et 3 tubes T (traitement : extrait d'enzyme + amidon + tampon + DNS + H<sub>2</sub>O). Cinq cents microlitres (500 μl) de solution d'amidon 1 % ont été introduits dans les tubes T<sub>0</sub> et T, 500 μl de tampon d'extraction ont été introduit dans les tubes B<sub>0</sub> et les tubes ont été placés dans un bain à 40 °C. Cinq cents microlitres (500 μL) de tampon d'extraction ont été ajoutés dans les tubes T<sub>0</sub> et 500 μl d'extrait d'enzyme ont été ajoutés dans les tubes B<sub>0</sub> et T. Les tubes ont été mis à incuber à 40 °C pendant 5 min. Mille microlitres (1000 μl) de solution de DNS ont été ajoutés dans tous les tubes qui ont ensuite été plongés dans l'eau bouillante pendant 5 min. Les tubes ont été refroidis dans l'eau glacée et 5000 μl d'eau distillée ont été ajoutés et l'absorbance a été mesurée à 540 nm.

### 2.3. Modélisation de la déshydratation

Les grains utilisés ont été assimilés à des sphères de rayon r<sub>éq</sub> calculé après estimation du volume moyen des grains de la manière suivante: 50 g de grains de sorgho ont été placés dans un pied gradué, 500 ml d'eau distillée ont été ajoutés et le volume final a été obtenu (V<sub>f</sub>). Le volume moyen des grains a été calculé en soustrayant du volume final le volume d'eau utilisé (500 ml). Le rayon moyen a été calculé de la manière suivante:

$$r_{\text{éq}} \approx 1,333 \cdot (V_f - 500) \cdot \pi^{-1} \quad (\text{Équation 1})$$

où  $\pi = 22/7$ .

Lorsque l'on suppose que la déshydratation n'est due qu'à la diffusion – ce qui n'est vrai que lorsque la phase métabolique active s'arrête et que la perte en eau n'est plus qu'un phénomène physique – la

déshydratation peut être modélisée selon la loi de diffusion de Fick en assimilant le grain à une sphère de rayon r<sub>éq</sub> de la manière suivante :

$$\delta X/\delta t = \nabla \cdot (D_{\text{eff}} \cdot \nabla X) \quad (\text{Équation 2})$$

où X, D<sub>eff</sub> et t représentent respectivement la teneur en eau du produit (sur base sèche), le coefficient de diffusivité (m<sup>2</sup>/s) effective et le temps (s).

Lorsque l'on suppose en plus que le volume des grains ne varie pas durant toute la période de séchage et que la température et le coefficient de diffusion ne sont pas dépendants du temps, la solution à l'équation de Fick est celle proposée par Cranck (1975) – solution qui peut être simplifiée comme suit :

$$RM = k e^{-ct} \quad (\text{Équation 3})$$

où RM, sans dimension, est le rapport d'humidité sur poids sec et vaut  $M - M_{\text{éq}}/M_0 - M_{\text{éq}}$ , avec M, M<sub>éq</sub> et M<sub>0</sub> (kg d'eau/kg matière sèche) respectivement l'humidité au temps t, l'humidité d'équilibre et l'humidité initiale (Doymaz and Pala, 2003). La constante « k » est une constante sans dimension et caractéristique de la matière à sécher et la constante « c » exprimée en s<sup>-1</sup> est une constante de vitesse. En plotant « ln RM » en fonction de « t » on obtient une droite dont la pente « c » permet de calculer le coefficient de diffusivité D.

En effet, pour des durées de séchage élevées, la solution de Cranck à l'équation de Fick peut être approchée de la manière suivante (Doymaz and Pala, 2003) :  $\ln RM = \ln(M - M_S)/(M_0 - M_{\text{éq}}) = \ln(6/\pi^2) - (\pi^2 D_{\text{eff}}/r^2) t$  (Équation 4)

La droite de l'Équation 4 a été obtenue en plotant « ln MR » en fonction du temps à partir des données expérimentales et les paramètres de la droite obtenue ont été utilisés pour estimer les valeurs de début d'itération pour déterminer les vraies valeurs des paramètres du modèle à l'aide du logiciel Minitab 16.

La pente de la droite donnée à l'Équation 4 permet ainsi de calculer le coefficient de diffusivité effective D<sub>eff</sub> de l'équation de Fick. En plotant le logarithme népérien de la diffusivité effective calculée (ln D<sub>eff</sub>) en fonction de l'inverse de la température absolue (1/T) de touraillage, on obtient une droite (équation d'Arrhénius):  $D_{\text{eff}} = D_0 \cdot \text{Exp}(-E_a/RT)$  (Équation 5) où D<sub>eff</sub> est la diffusivité effective (m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>); D<sub>0</sub> le facteur préexponentiel (m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>); E<sub>a</sub> l'énergie d'activation (J.mol<sup>-1</sup>); R la constante des gaz parfaits (J.mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>) et T la température de touraillage (K).

Le modèle global décrivant la déshydratation lors du touraillage comme une fonction de la durée et de la température de touraillage peut ainsi être obtenu en remplaçant l'Équation 5 dans l'Équation 4, ce qui donne:  $\ln MR = \ln[(M - M_S)/(M_0 - M_{\text{éq}})] = \ln(6/\pi^2) - [\pi^2 D_0 \cdot \text{Exp}(-E_a/RT) / r^2] t$  (Équation 6).

## 2.4. Modélisation de l'activité $\alpha$ -amylase lors du touraillage

L'activité  $\alpha$ -amylase a été modélisée en deux étapes. La première étape a consisté en la modélisation de l'activité  $\alpha$ -amylase au tout début du touraillage. Pendant cette phase, l'activité  $\alpha$ -amylase augmente encore, atteint un maximum puis diminue. Durant cette phase, l'activité  $\alpha$ -amylase a donc été modélisée comme une fonction polynomiale du temps.

$$A = a t^2 + b t + c \quad (\text{Équation 7})$$

où A est l'activité  $\alpha$ -amylase (U/g de malt), a, b, c étant des constantes dont les valeurs sont fonction de la température.

La dégradation de l'activité  $\alpha$ -amylase (A) a ensuite été modélisée comme suivant une cinétique d'ordre 1 de la manière :  $v = k A = -dA/dt$  (Équation 8) où v est la vitesse de dégradation de l'activité  $\alpha$ -amylase ( $U \cdot g^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ), A l'activité  $\alpha$ -amylase ( $U \cdot g^{-1}$ ), t le temps (min) et k la constante de vitesse ( $\text{min}^{-1}$ ).

Lorsque l'on intègre l'Équation 8 du début du touraillage ( $t_0$ ) jusqu'à un instant t on obtient:

$$\ln A = -kt + \text{constante} \quad (\text{Équation 9})$$

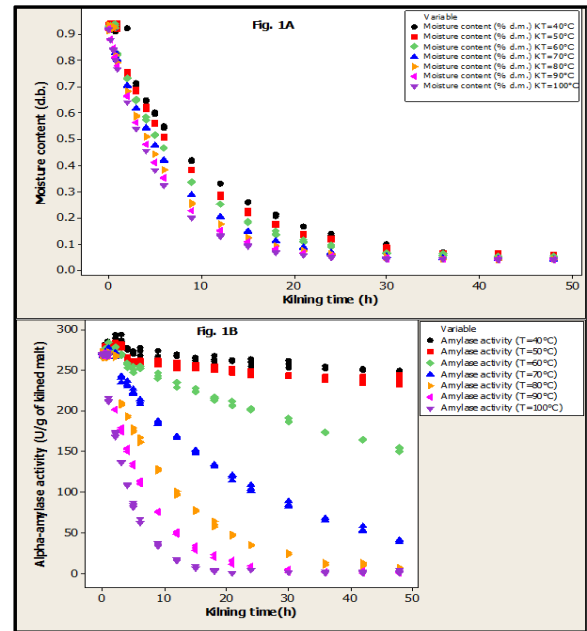
Ce qui peut s'écrire:  $\ln A = \ln A_0 - kt$  (Équation 10).

La constante étant ainsi obtenue en considérant qu'à l'instant  $t_0$ ,  $\ln A$  n'est rien d'autre que le logarithme népérien de l'activité  $\alpha$ -amylase du malt vert. Les valeurs approximatives des paramètres de ce modèle ( $\ln A_0$  et k) obtenues en plotant «  $\ln A$  » en fonction du temps à partir des données expérimentales ont été utilisées pour estimer les valeurs de début d'itération pour déterminer les vraies valeurs des paramètres du modèle à l'aide du logiciel Minitab 16. Cette approche concerne essentiellement la phase non germinative du touraillage. Le temps de demi-vie ( $t_{0,5}$ ) est obtenu à partir de l'Équation 10 en considérant  $A = 0,5 \times A_0$  et est donné par la relation:

$$t_{0,5} = (\ln 2)/k \quad (\text{Équation 11})$$

## 3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

L'évolution de l'humidité des grains en fonction de la durée et de la température de touraillage est présentée sur la Figure 1A et les résultats de l'effet de la durée et de la température de touraillage sont présentés dans le Tableau 1 (ANOVA 2 facteurs).



**Figure 1.** Humidité (Fig. 1A) et activité  $\alpha$ -amylase (Fig. 1B) telles que affectées par la température et de la durée de touraillage

L'évolution de l'activité  $\alpha$ -amylase en fonction de la durée et de la température de touraillage est présentée sur la Figure 1B et les résultats de l'effet de la durée et de la température de touraillage sont présentés dans le Tableau 1 (ANOVA 2 facteurs).

**Tableau 1.** Résultats de l'ANOVA à 2 facteurs appliqués aux données de la Fig. 1A (évolution de l'humidité durant le touraillage) et Fig. 1B (évolution de l'activité  $\alpha$ -amylase durant le touraillage). Ces résultats ont été obtenus en utilisant le modèle linéaire généralisé.

Source	DL	Humidité (masse d'eau/masse sèche)		Activité $\alpha$ -amylase (U/g de malt)	
		SC	P	SC	P
Temps (h)	19	46,3939	0,00	1705901	0,00
Température de touraillage (°C)	6	0,7917	0,00	1761026	0,00
Interaction	114	0,3448	0,00	754566	0,00
Erreur	280	0,0036		1775	
Total	419	47,5340		4223267	

Ces résultats montrent que la température et la durée de touraillage influencent significativement aussi bien la déshydratation que l'activité  $\alpha$ -amylase des malts. Les nuages des points obtenus pour la déshydratation montrent que contrairement à la déshydratation des grains non germés, celle du malt vert est caractérisée par une phase de stagnation de plus en plus courte lorsque la température de touraillage augmente suivie d'une phase où la déshydratation peut être modélisée - comme toute diffusion - selon la loi de Fick. Cette phase de stagnation de l'humidité est en fait la 4<sup>ème</sup> phase du maltage où l'humidité encore élevée et la température encore compatible à la vie de la plantule permettent

la poursuite de la germination lors du maltage et, partant, une forte régulation de la teneur en eau des grains (Bwanganga, 2013).

**Tableau 2.** Diffusivité effectives prédites et paramètres ( $\Theta_1$ ,  $\Theta_2$  et  $\Theta_3$ ) des modèles décrivant l'évolution de l'humidité en fonction du temps à différentes températures de touraillage (KT).

KT (°C)	$D_{\text{eff}}$ Prédite	$\Theta_1$	$\Theta_2$	$\Theta_3$	Inadéquation du modèle (valeur de p)
40	$6.663 \times 10^{-12}$	0.042	0.0874	0.092	0.25
50	$7.631 \times 10^{-12}$	0.053	0.0876	0.109	0.20
60	$8.669 \times 10^{-12}$	0.042	0.0874	0.123	0.43
70	$9.775 \times 10^{-12}$	0.042	0.0876	0.140	0.73
80	$1.095 \times 10^{-11}$	0.042	0.0876	0.156	0.71
90	$1.218 \times 10^{-11}$	0.042	0.0876	0.172	0.94
100	$1.348 \times 10^{-11}$	0.042	0.0876	0.188	0.05

Les paramètres  $\Theta_1$ ,  $\Theta_2$  et  $\Theta_3$  sont obtenus en modélisant l'humidité en fonction de la durée de trempage conformément à l'équation  $M = \Theta_1 + \Theta_2 + \exp(-\Theta_3 t)$  où M est l'humidité (masse d'eau/masse sèche) et t le temps (h).

Le Tableau 2 présente les paramètres ( $\Theta_1$ ,  $\Theta_2$  et  $\Theta_3$ ) des modèles décrivant l'évolution de l'humidité en fonction du temps à différentes températures de touraillage (KT). En effet, ces résultats montrent que les inadéquations des modèles obtenus ne sont pas significatives - les premières valeurs d'humidité n'étant pas intégrées dans les ajustements. Lorsque les premières valeurs d'humidité sont intégrées dans le modèle, pour les valeurs obtenues à 40 °C par exemple, l'inadéquation du modèle devient significative de sorte que le meilleur ajustement n'a été obtenu qu'avec les humidités obtenues après 4 heures de touraillage.

A partir des paramètres des modèles présentés dans le Tableau 2, obtenus en transformant l'Équation 4 sous forme d'une équation de type:

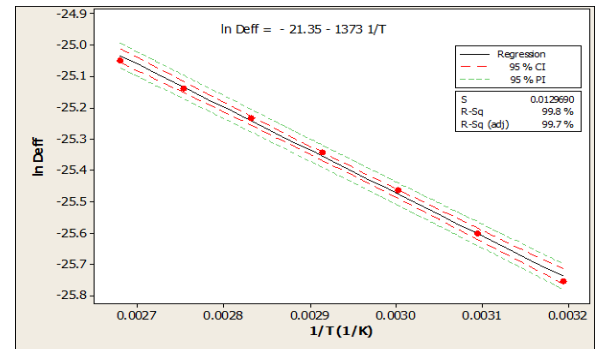
$$M = \Theta_1 + \Theta_2 + \exp(-\Theta_3 t) \quad (\text{Équation 12})$$

où M est l'humidité sur base sèche et t le temps (h), les coefficients de diffusion effective ont été calculés de la manière suivante:

$$D_{\text{eff}} = \Theta_3 \cdot R_e^2 / 3600 \cdot \pi^2 \quad (\text{Équation 13})$$

où  $D_{\text{eff}}$  est la diffusivité effective ( $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ),  $R_e$  le rayon équivalent (m) et  $\pi = 3,14$ . Les valeurs de  $D_{\text{eff}}$  obtenues entre 40°C et 100°C varient entre  $6,53 \times 10^{-12}$  et  $1,32 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ .

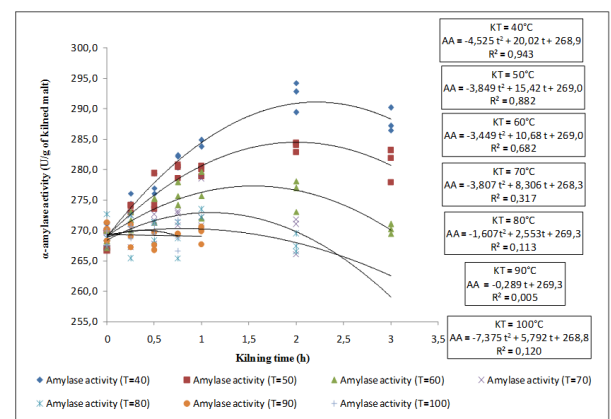
Les résultats de la Figure 2 montrent que le logarithme népérien de la diffusivité effective est une fonction linéaire de l'inverse de la température absolue de touraillage ( $1/T$  en  $\text{K}^{-1}$ ). Pour le sorgho utilisé dans cette étude,  $D_0$  vaut  $5,34 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  et l'énergie d'activation  $E_a$  vaut  $10,984 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ .



**Figure 2.** Effet de l'inverse de la température absolue ( $1/T$ ) sur le logarithme népérien de la diffusivité effective des malts verts. CI, PI, S, R-Sq et R-Sq (adj) désignent respectivement l'intervalle de confiance, l'intervalle de précision, l'écart-type, le coefficient de détermination et le coefficient de détermination ajusté.

Les résultats de la Figure 2 montrent que le logarithme népérien de la diffusivité effective est une fonction linéaire de l'inverse de la température absolue de touraillage ( $1/T$  en  $\text{K}^{-1}$ ). Pour le sorgho utilisé dans cette étude,  $D_0$  vaut  $5,34 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  et l'énergie d'activation  $E_a$  vaut  $10,984 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ .

La phase de stagnation de l'humidité est caractérisée par une augmentation de l'activité  $\alpha$ -amylase qui a été modélisée comme une fonction polynomiale de la durée de touraillage. Les résultats obtenus dans cette étude montrent que, durant cette phase, l'activité  $\alpha$ -amylase augmente, atteint un maximum puis diminue. Ce maximum est atteint de plus en plus vite lorsque la température augmente et sa valeur diminue sensiblement avec l'augmentation de la température (Figure 3). Ces résultats montrent que cette tendance polynomiale s'arrête lorsque la température de touraillage dépasse 60 °C (Fig. 3).



**Figure 3.** Activité  $\alpha$ -amylase telle que affectée par la température et de la durée de touraillage au début du touraillage.

Après cette phase, l'activité  $\alpha$ -amylase a été modélisée conformément à l'Équation 10 et les

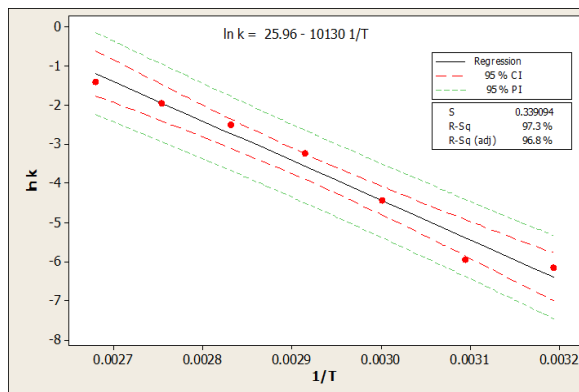
paramètres des modèles sont présentés dans le Tableau 3.

**Tableau 3.** Paramètres  $A_0$  (activité  $\alpha$ -amylase initiale) et  $k$  (constante de vitesse:  $s^{-1}$ ) des modèles décrivant l'évolution de l'activité  $\alpha$ -amylase en fonction du temps à différentes températures de touraillage (KT), inadéquation des ajustements et temps de demi-vie de l' $\alpha$ -amylase à différentes températures

KT (°C)	$A_0$ (U/g de malt touraillé)	K	Inadéquation du modèle (valeur de p)	$t_{0,5}$ (h)
40	274.5	0.0021	0.09	330.1
50	271.2	0.0026	0.25	266.6
60	268.6	0.0118	0.75	58.7
70	269.7	0.0390	0.28	17.8
80	267.7	0.0826	0.12	8.4
90	268.2	0.1411	0.32	4.9
100	288.2	0.2425	0.00	2.9

Un modèle est d'autant plus adéquat que la valeur de  $p$  de l'inadéquation de l'ajustement est supérieure à 0.05 (inadéquation non significative à  $p = 0.05$ ).

Ces résultats permettent de calculer, pour chaque température de touraillage, le temps nécessaire pour réduire de moitié l'activité  $\alpha$ -amylase initiale qui diminue très fortement lorsque la température augmente. L'effet de la température sur la vitesse de dégradation de l'activité  $\alpha$ -amylase est décrit par la loi d'Arrhénius de la manière suivante (Figure 4):  $k = A \exp(-E_a/RT)$  ou  $\ln k = \ln A - (E_a/RT)$  où  $A$  est le facteur de fréquence de la réaction de dégradation,  $E_a$  est l'énergie d'activation de la réaction,  $R = 8,31 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$  est la constante des gaz parfaits et  $T$  la température absolue (K).



**Figure 4.** Effet de l'inverse de la température absolue sur l'inactivation de l'activité amylase des malts verts. La droite d'Arrhénius pour l'inactivation de  $\alpha$ -amylase du malt vert (la pente de la droite  $\ln k = 25 - 10130 T^{-1}$  vaut  $-E_a/R$  où  $E_a$  est l'énergie d'activation et  $R$  la constante des gaz parfaits).

La valeur de l'énergie d'activation ( $E_a$ ) obtenue est de  $23,4 \text{ kJ K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ . Cette valeur est légèrement

inférieure à celle de  $25,9 \text{ Kcal K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$  obtenue par Adefila *et al.* (2012) pour la dégradation thermique de l' $\alpha$ -amylase du sorgho, mais de loin inférieure à celle de  $45,3 \text{ Kcal K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$  obtenue par Kumar *et al.* (2005). En effet, on sait que  $\text{Ca}^{2+}$  stabilise l' $\alpha$ -amylase (Lewis and Bamforth, 2006). Dans le travail de Kumar *et al.* (2005), l'enzyme en solution dans un tampon  $0,05 \text{ M}$  acétate contenant  $13,6 \text{ mM Ca}^{2+}$ ,  $\text{pH } 4,8$ , ce qui est - selon les résultats de Bressant and Rios (1962) cité par Bwanganga (2013) - l'équivalent de la quantité de  $\text{Ca}^{2+}$  contenu dans environ  $3 \text{ kg}$  de sorgho, la teneur moyenne en  $\text{Ca}^{2+}$  étant d'environ  $18,1 \text{ mg}/100 \text{ g}$  soient  $4,5 \text{ mM}$  de dans  $1 \text{ kg}$ . Les temps de demi-vie décroissent avec la température de touraillage (Tableau 3) de sorte que sa valeur atteint environ  $2,9$  heures à  $100^\circ\text{C}$ . Les activités  $\alpha$ -amylases résiduelles obtenues après le touraillage sont, par contre, restées supérieures à celles obtenues par Kumar *et al.* (2005) et Adefila *et al.* (2012).

On obtient en effet  $7,7 - 13,6 - 42,2 - 84,6 - 97,4 - 99,5 - 98,4 \%$  de réduction de l'activité  $\alpha$ -amylase initiale à  $40 - 50 - 60 - 70 - 80 - 90$  et  $100^\circ\text{C}$  respectivement. En effet, la réduction de l'activité  $\alpha$ -amylase est due à la dénaturation. L'effet de la température sur cette activité enzymatique, tel que présenté par Kumar *et al.* (2005) et Adefila *et al.* (2012) a été évalué en solution aqueuse alors que dans le cas de cette étude l'humidité diminue tout au long du touraillage. La température optimale n'est, en effet, pas une propriété intrinsèque de l'enzyme alors que le  $\text{pH}$  l'est (Lewis and Bamforth, 2006), mais dépend plutôt des conditions opératoires. Sous réserve des défauts pouvant être générés par l'utilisation des faibles températures de touraillage - survie importante de S-MéthylMéthionine (SMM) par exemple - cette étude montre qu'il est préférable de sécher à la température de  $40^\circ\text{C}$  (seulement  $7,7 \%$  de perte d'activité  $\alpha$ -amylase observée à cette température de touraillage).

Aussi, les résultats de la Figure 1A montrent que l'humidité de  $0,054 \text{ kg}$  d'eau par  $\text{kg}$  de matière sèche peut être obtenue plus tôt lorsque la température de touraillage est élevée. Mais, les résultats de la Figure 1B montrent qu'à humidité égales, les activités  $\alpha$ -amylases obtenues à des températures élevées sont restées inférieures à celle obtenue à  $40^\circ\text{C}$  - le malteur ayant ainsi la liberté de choisir entre les économies d'énergie et de temps réalisées par rapport aux pertes de l'activité  $\alpha$ -amylase correspondantes. La modélisation de l'activité  $\alpha$ -amylase lors du touraillage peut aussi être modélisée de la manière suivante:  $A = A_0 \times 10^{-t/D}$ , où  $A$  est l'activité  $\alpha$ -amylase,  $A_0$  l'activité  $\alpha$ -amylase initiale,  $t$  la durée de touraillage et  $D$  la durée de réduction décimale (durée pour laquelle l'activité  $\alpha$ -amylase est divisée par 10). Le modèle que l'on obtient en plotant le logarithme décimal de l'activité amylase en fonction du temps permet de calculer la durée de réduction décimale de l'activité  $\alpha$ -amylase qui diminue avec la température

de touraillage (Figure 4) de la même manière que le temps de demi-vie.

#### 4. CONCLUSION

Lors du touraillage (séchage du malt vert), l'humidité des grains diminue et cette diminution peut être modélisée comme tout phénomène diffusif selon la loi de Fick. L'activité  $\alpha$ -amylase est une activité enzymatique importante qu'il faut conserver lors du maltage. Cette activité est fortement affectée par la température de touraillage. Sa dégradation thermique suit une cinétique d'ordre 1- modèle qui donne accès à deux valeurs importantes à savoir: le temps de demi-vie et la durée de réduction décimale de l'activité  $\alpha$ -amylase. Ces deux valeurs dépendent de la température de touraillage. Au début du touraillage par contre - l'humidité encore élevée et la température encore faible étant compatibles à la vie de la plantule -les résultats de cette étude montrent que la modélisation aussi bien de la déshydratation que celle de la dégradation thermique de l'activité  $\alpha$ -amylase est difficile. En effet, lorsque les valeurs obtenues lors des premières heures de touraillage sont intégrées dans les modèles, les inadéquations des modèles proposés dans cette étude sont toutes significatives.

#### Remerciements

Les auteurs remercient l'ONG Feed my people pour son soutien financier à la réalisation de cette recherche.

#### Références

Adefila O.A., Bakare M.K. & Adewale I.O., 2012. Characterization of an  $\alpha$ -amylase from sorghum. *J. Inst. Brew.*, 118, 63–69.

Agu R.C., Ugwu A.H., Okenchi M.U., Aneke I. B. & Anyanwd T.U., 1996. Effect of low kilning temperatures on diastase and cellulase development of Nigerian malted sorghum (*Sorghum bicolor*). *Process Biochemistry*, 31 (1), 63-68.

Agu R.C. & Palmer G. H., 1997. The effect of temperature on the modification of sorghum and barley during malting. *Process Biochemistry*, 32 (6), 501-507.

Ballogou V.Y., Dossou J. & De Souza C.A., 2011. Controlled drying effect on the quality of sorghum malts used for the chakpalo production in Benin. *Food and Nutrition Sciences*, 2, 156-161.

Bwanganga T. J.C., 2013. *Use of Bacillus subtilis starters during red sorghum malting*. Ph.D thesis, University of Liege, Gembloux Agro-Bio Tech (Belgium), 145 p.

Bwanganga T. J.C., Béra F., & Thonart P. 2012. Optimizing red sorghum malt quality when *Bacillus subtilis* is used during steeping to control mould growth. *J., Inst., Brew.*, 118(3), 295-304.

Bwanganga T. J.C., Béra F., & Thonart P. 2013a. Modeling the  $\beta$ -amylase activity during red sorghum malting when *Bacillus subtilis* is used to control mould growth. *J., Cereal Sc.*, 57, 115-119.

Bwanganga T. J.C., Destain J., Malumba K.P., Béra F. & Thonart P., 2013b. Effect of the use of dilute alkaline prior to *Bacillus subtilis*-based biocontrol steeping and germination conditions on red sorghum malt  $\beta$ -glucanase. *J. Cereal Sc.*, 58(1), 148-155.

Bwanganga T. J.C., Pondo K. B., Malumba K.P., Destain J., Béra F., & Thonart P., 2013c. Suitability of the Weibull four parameters model to predict the induction phase of  $\alpha$ -amylase production during red sorghum malting when a steep in dilute NaOH is used prior to a re-steep in a *Bacillus subtilis*-S499 based treatment. *J., Inst., Brew.*, 119, 265-270.

Crank J., 1975. *The mathematics of diffusion* (second ed). Oxford, UK: Clarendon Press.

Dewar J, Taylor J.R.N. & Berjak P., 1997a. Determination of improved steeping conditions for sorghum malting. *J. Cereal sci.*, 26, 129-136.

Dewar J. & Orovan E., 1997b. Effect of alkaline steeping on water uptake and malt quality in sorghum. *J. Inst. Brew.*, 103, 283-285.

Doymaz I. & Pala M., 2003. The thin-layer drying characteristics of corn, *Journal of Food Engineering*, 60, 125–130.

Kumar R.S.S., Singh S.A. & Appu Rao A.G., 2005. Thermal stability of  $\alpha$ -amylase from malted Jowar (*Sorghum bicolor*). *J. Agric. Food Chemistry*, 53(17), 6883–6888.

Lefyedi & Taylor, 2006. Effect of dilute alkaline steeping on the microbial contamination, toxicity and diastatic power of sorghum malt. *J. Inst. Brew.*, 112, 108-116.

Lefyedi & Taylor, 2007. Control of the Growth of Coliforms and Moulds in Sorghum Malting By Bacterial and Yeast Cultures, *J. Inst. Brew.*, 113(2), 123-129

Lewis M.J. & Bamforth C.W., 2006. *Essays in Brewing Science*, University of California–Davis, USA.

Okolo B.N. & Ezeogu L.I., 1996. Enhancement of amyolytic potential of sorghum malts by alkaline steep treatment. *J. Inst. Brew.*, 102, 79–85.

Uriyo M. & Eigel W.E., 1999. Duration of kilning treatment on  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase and endo-(1,3)(1,4)- $\beta$ -D-glucanase activity of malted sorghum (*Sorghum bicolor*). *Process Biochemistry*, 35, 433–436.