

N° d'enregistrement : 80

T H E S E

présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITE DE LILLE

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITE

(Mention Sciences)

par

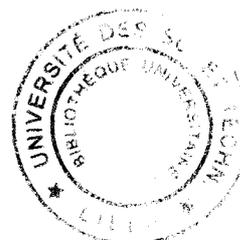
Jutta CERNING

Sujet de la Thèse :

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'EVOLUTION DE LA COMPOSITION GLUCIDIQUE
DES CEREALES AU COURS DE LEUR MATURATION : MAÏS, BLE, ORGE.

Soutenue le 23 octobre 1970 devant la Commission d'Examen :

MM. MONTREUIL	Président
MONSIGNY	} Examineurs
GUILBOT	
PETIT	Invité



A mes parents

A mon frère

A mes amis

- TABLE DES MATIERES -

INTRODUCTION	page	1
<u>TRAVAUX ANTERIEURS</u>		3
I - Les glucides dans les grains de céréales mûrs :		
Maïs, Blé, Orge		3
A. Les polyholosides		3
B. Les oses et les oligosides		5
1°) Maïs		5
2°) Blé, Orge		7
II - Evolution de certains constituants glucidiques des céréales au cours de leur maturation		11
A. Maïs		11
B. Blé		18
C. Orge		22
Conclusion		23
<u>MATERIEL ET METHODES</u>		28
I - Matériel utilisé		28
A. Espèces de céréales		28
1°) Evolution générale des conditions climatiques		28
2°) Protocole expérimental des prélèvements et de la préparation des échantillons ..		29
II - Méthodes d'analyses		29
A. Dosage de l'eau		29
B. Dosage des polyholosides		29
1°) Dosage de l'amidon		29
2°) Dosage des pentosanes		30
3°) Dosage de la cellulose		36
C. Extraction et dosage des oses et oligosides.		36
1°) Problèmes généraux posés par ces opérations.		36
2°) Extraction des glucides alcoolosolubles totaux		38
3°) Caractérisation des glucides par chroma- tographie sur papier		42

4°) Dosage des glucides alcoolosolubles par la méthode à l'anthrone	42
5°) Dosage du glucose et du saccharose par la glucose-oxydase	44
6°) Dosage du fructose et ses homologues supérieurs	49
7°) Dosage du raffinose	52
 <u>RESULTATS OBTENUS ET DISCUSSION</u>	 55
I - Evolution des divers constituants glucidiques des trois céréales, rapportée à la substance sèche	55
A. Polyholosides	62
1°) Amidon	62
2°) Pentosanes	65
3°) Cellulose	67
B. Les oses et les oligosides	68
1°) Caractérisation qualitative des glucides alcoolosolubles par chromatographie sur papier	68
2°) Teneur en glucides alcoolosolubles totaux	79
3°) Saccharose	74
4°) Glucose	77
5°) Fructose et fructosanes	79
6°) Raffinose	81
7°) Fraction "X"	81
8°) Proportion des oses et des oligosides, constituant la fraction glucidique alcoolosoluble	82
 II - Comparaison de l'évolution de la matière sèche, de l'eau et de chacun des constituants glucidi- ques, rapportés au poids de 1000 grains dans le cas des trois céréales étudiées	 90
A. Matière sèche et eau	90
B. Les polyholosides	95
1°) Amidon	95
2°) Pentosanes	97
3°) Cellulose	99
C. Les oses et les oligosides	100
1°) Glucides alcoolosolubles totaux	100

2°) Saccharose	102
3°) Glucose	104
4°) Fructose et fructosanes	104
III - Evolution des divers constituants glucidiques rapportés au poids de 1000 grains secs dans le cas de chaque espèce de céréale	106
A. Maïs	106
B. Blé	109
C. Orge	112
IV - Discussion générale et conclusions	114

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

AVANT PROPOS

Cette étude a été effectuée à la Station de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales de l'INRA. Je suis très heureuse de trouver ici l'occasion d'exprimer toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude à Monsieur A. GUILBOT, Directeur de Recherches à l'INRA pour le temps qu'il m'a consacré et pour les efforts qu'il s'est imposés en vue de m'inculquer l'esprit clair et précis de ses propres recherches. Il m'a guidée et conseillée avec toute la compétence qui lui est reconnue et je lui dois d'avoir pu mener à bien ce travail.

Je tiens également à exprimer mes plus vifs remerciements à Monsieur L. PETIT, Docteur ès sciences, Directeur de Recherches à l'INRA, pour sa compréhension et son encouragement qu'il a manifestés à mon égard. Par sa manière directe d'envisager la rédaction d'un mémoire, il a pu me prodiguer un enseignement précieux de la langue française.

Ma respectueuse reconnaissance va vers Monsieur J. MONTREUIL, Professeur à la Faculté des Sciences à Lille, qui m'a fait le grand honneur d'accepter la présidence du Jury.

Je remercie également Monsieur M. MONSIGNY, Maître de conférences à la Faculté des Sciences de Lille pour avoir bien voulu faire partie du jury.

Qu'il me soit permis ici de rendre hommage à la mémoire de Monsieur P. NEUMAYER, Ingénieur conseil, il a été pour moi, il y a bien longtemps déjà, un premier guide en France et il m'a toujours témoigné la plus grande bienveillance et gentillesse.

Je tiens à remercier particulièrement Madame M.Th. TOLLIER, Ingénieur du CNAM, de m'avoir si aimablement accueillie dans son laboratoire. Qu'il me soit permis, après des années d'une agréable collaboration, de lui dire combien je suis sensible à l'amitié qu'elle m'a toujours témoignée.

Le travail entrepris n'aurait pas pu être réalisé sans l'aide efficace de la Station d'Amélioration des Plantes de l'INRA à Clermont-Ferrand et Versailles, et je tiens à remercier tous ceux, et en particulier MM. FELIX et JONARD, qui ont participé à la préparation du matériel d'étude.

Enfin, que Madame S. AGUDO, trouve ici mes sincères remerciements pour la gentillesse et le dévouement avec lesquels elle a participé à la réalisation de ce travail, ainsi que tous ceux qui à des titres divers ont contribué à son achèvement.

I N T R O D U C T I O N

La composition glucidique des céréales a fait l'objet d'un nombre important de publications: les glucides constituent en effet, de loin la partie la plus importante de toute céréale et il est bien connu que c'est en raison de cette teneur élevée en glucides que les céréales sont cultivées sur toute la terre, afin de satisfaire une large partie des besoins énergétiques dans l'alimentation humaine et animale.

Sur le plan botanique, les grains de céréales représentent des fruits secs aux enveloppes intimement soudées à celles de la graine, ce sont des caryopses. Contrairement aux grains de blé (Triticum vulgare ou durum) et de maïs (Zea mays), le grain d'orge (Hordeum vulgare) est encore entouré de ses glumelles après battage, ce qui classe cette espèce parmi les céréales "vêtues" ; les deux premières par contre appartiennent aux caryopses "nus".

La coupe d'un grain de céréale révèle l'existence de trois zones principales dont les proportions varient en fonction de l'espèce : les couches périphériques : péricarpe et assise protéique, l'albumen amylicé et le germe. L'ensemble des couches périphériques représente 5 à 8,7 p.100 du grain de maïs, 12 à 15 p.100 du grain de blé et en y incluant les glumelles, près de 20 p.100, du grain d'orge. Le germe qui représente 2,5 à 3 p.100 des grains de blé et d'orge atteint une proportion de 11 à 13 p.100 chez le maïs. La proportion de l'amande des 3 céréales considérées avoisine 82 p.100 chez le maïs et le blé, elle est de l'ordre de 76 p.100 pour l'orge.

Ces différences anatomiques ont des répercussions sur la composition biochimique de ces différentes céréales et le blé, l'orge et le maïs peuvent être considérés comme typiques à ce point de vue.

Les premières recherches sur la composition glucidique des céréales datent du siècle dernier. En fait, si les travaux réalisés jusque dans la première décennie du 20ème, et faisant bien entendu appel à des méthodes globales, ont été relativement nombreux, il n'y a eu que très peu de publications jusqu'en 1940. Ceci s'explique probablement par le fait que cette période n'a pas vu la mise au point de meilleures méthodes de séparation et de dosage des glucides.

Les techniques nouvelles, telles que la séparation par chromatographie sur papier, sur colonne, en phase gazeuse et par électrophorèse, ainsi que les méthodes de dosage enzymatiques ont marqué une nouvelle étape dans la recherche de la composition glucidique des céréales.

Malgré ce progrès, les résultats obtenus, parfois concordants, parfois contradictoires, ne permettent pas toujours de considérer comme suffisantes les connaissances rassemblées à ce sujet. Une partie des travaux effectués sur les céréales à l'état mûr reste difficile à apprécier en raison d'un manque de précision à la fois sur les variétés étudiées, les conditions de culture, de récolte et de stockage et les modalités opératoires. Toutes ces observations s'appliquent également, à des titres divers, aux études relatives à l'évolution biochimique du grain au cours de sa maturation. De plus, s'ajoute un autre problème, celui de l'expression des résultats.

En effet, la seule expression des résultats obtenus par rapport à la substance sèche ne permet pas de suivre certains aspects de la physiologie du grain au cours de sa formation, en raison de l'évolution incessante de cette matière sèche. Il semble donc également nécessaire de rapporter les résultats à une unité qui est le grain.

Dans l'exposé qui va suivre, nous présentons d'abord l'essentiel de nos connaissances sur la composition glucidique des trois céréales, maïs, blé, orge à l'état mûr, ou en cours de maturation.

Nous indiquerons ensuite les résultats que nous avons pu obtenir dans l'étude entreprise sur l'évolution de cette composition glucidique au cours de la maturation des grains avec l'aide de méthodes plus spécifiques et en précisant au mieux nos conditions expérimentales.

TRAVAUX ANTERIEURS

I - LES GLUCIDES DES GRAINS DE CEREALES MURS : MAIS, BLE, ORGE.

A - LES POLYHOLOSIDES.

Malgré un nombre important de publications, les chiffres précis sur la teneur en amidon des céréales sont peu nombreux. Ceci s'explique en partie par une habitude très fréquente, d'estimer la teneur en amidon par différence (FRASER, 1956 ; WATT et MER-RIL, 1950 ; FLAN, 1963). Autrement dit, le pourcentage de l'amidon est calculé comme le complément à 100 des teneurs en matières celluloses, composés azotés, matières minérales et matières grasses. Sans doute faut-il expliquer cette modalité par un manque de méthodes de détermination appropriées, précises et reproductibles. Les chiffres ainsi obtenus n'ont donc qu'une valeur limitée, étant donné qu'ils comprennent la teneur en sucres réducteurs et non réducteurs d'une part, et celle des pentosanes d'autre part, et nous savons que les proportions de ces constituants sont loin d'être négligeables. Même lorsque la teneur en amidon est déterminée par une méthode analytique donnée, (EARLE et MILNER, 1944 ; CLENDENNING, 1942, 1945 ; FRASER, 1956 ; EWERS) il est bien connu que les résultats obtenus peuvent varier selon la technique appliquée (THIVEND et al., 1965).

Nous n'aborderons pas ici en détail ce problème complexe. Ainsi n'avons-nous résumé que la composition moyenne en polyholosides des grains de céréales dans le tableau I. Il apparaît que la teneur en amidon du grain de maïs peut aller, selon les variétés étudiées, de 65 à 70 p.100 en substance sèche (LECLERCQ-DUCATEL, 1964), et de 71,0 à 74,5 p.100 (MONTREUIL, 1966 ; TOLLIER, 1969). On peut donc considérer globalement comme moyenne une teneur de 70p.100, ce qui situe le maïs par rapport aux autres céréales étudiées comme celle étant la plus riche en amidon.

Chez le blé et l'orge, cette teneur est respectivement de l'ordre de 62 à 68 p.100 (GUILBOT, 1963 ; BECHTEL et al., 1964) et de 60 à 65 p.100 (HARRIS, 1955)

Les pentosanes et les dérivés celluloses sont les principaux constituants des membranes cellulaires.

Tableau I - Composition moyenne en polyholosides du grain de blé, d'orge et de maïs.

	BLE	ORGE	MAÏS
	GUILBOT, 1963 BECHTEL et al., 1964	HARRIS, 1955 HARRIS, 1962	PORST, 1912 LECLERCQ-DUCATEL, 1964 MONTREUIL J. et al., 1966 TOLLIER et al., 1969
AMIDON	62 - 68	60 - 65	65 - 70 / 71,0 - 74,5
PENTOSANES	8 - 9	8 - 10 (hemicellulose)	4,7 - 5,8
CELLULOSE	2,3 - 3,3	4 - 5	1,5 - 3,0

Les pentosanes sont essentiellement constitués de xylose et d'arabinose ainsi que de faibles proportions de glucose et de galactose. Par ailleurs, on sait qu'ils sont aussi accompagnés de faibles quantités de protéines. Leur proportion dans le grain entier est de l'ordre de 5 à 8 p.100 en substance sèche, alors que les parties périphériques en contiennent 20 à 30 p.100 environ, selon la céréale considérée. Si nous savons que les propriétés physico-chimiques sont semblables dans le cas du blé et de l'orge (HARRIS, 1962), à savoir par exemple qu'une partie de ces composés est hydro-soluble, nous manquons totalement de renseignements à ce sujet dans le cas du maïs. La teneur en pentosanes du grain de blé (tableau I) est de l'ordre de 7 à 9 p.100 en substance sèche, elle varie entre 4,7 (TOLLIER, 1969) et 5,8 p.100 (PORST, 1912) dans le grain de maïs.

Quant au grain d'orge, nous avons une indication seulement sur les teneurs en hemicelluloses (fraction soluble dans la soude à 4 p.100) qui sont de l'ordre de 8 à 10 p.100. (HARRIS, 1962).

La cellulose, principal polyholoside structural des plantes, est un β -glucane, constitué d'unités anhydroglucose liées par des liaisons 4,1 β -D-glucosidiques.

Le grain d'orge est de loin le plus riche en cellulose (tab. I) en raison de la présence de glumelles, sa teneur peut aller de 4 à

6 p.100 en substance sèche (HARRIS, 1962), dans le grain de blé cette teneur varie entre 2,3 et 3,3 p.100 (BECHTEL et al., 1964 ; GUILBOT, 1963), et enfin elle représente 1,5 à 3,0 p.100 dans le grain de maïs (MONTREUIL, 1966 ; LECLERCQ-DUCATEL, 1964), et cette teneur semble sujette à des variations (1,5 à 6,0 p.100) dans l'ensemble des céréales. Comme nous l'avons indiqué dans l'introduction, ces variations s'expliquent par les différentes caractéristiques de l'anatomie des grains.

B - LES OSES ET LES OLIGOSIDES.

Nous allons maintenant brièvement rappeler nos connaissances sur la composition osidique des trois céréales, en traitant d'abord le maïs seul et ensuite le blé et l'orge ensemble, ces deux derniers ayant une composition assez semblable.

1°) Maïs.

Le tableau II résume l'essentiel des résultats relatifs à la teneur en oses et oligosides du grain de maïs et met en évidence certaines variations dans les résultats obtenus. Le maïs ne contient que de faibles quantités de glucose, de fructose et un peu plus de raffinose ; le saccharose représente de loin le constituant le plus important de la fraction osidique.

Les deux variétés particulières d'un maïs denté et d'un maïs sucré mises à part, nous constatons que la teneur en sucres totaux varie globalement entre 1,10 p.100 et 1,30 p.100. Toutefois, il semble opportun de souligner les deux cas où les différences sont plus marquées, puisqu'elles illustrent les problèmes souvent rencontrés. Il y a d'abord les deux chiffres de MONTREUIL, 1966, qui indiquent une teneur en sucres totaux de 1,43 p.100 lorsque le résultat est obtenu par la méthode à l'orcinol. Le même maïs, analysé par une autre technique d'extraction et dosage colorimétrique (anthrone) donne un pourcentage en sucres totaux de 2,12 p.100. Cet écart observé selon les deux méthodes utilisées souligne bien l'importance qu'il faut attacher aux modalités opératoires. TOLLIER et al. (1969) trouvent des valeurs allant de 1,28 à 2,00 p.100 de sucres totaux pour un même maïs français (INRA 258) cultivé en 1966 et 1967. Cette grande différence constatée d'une année à l'autre chez un même maïs, cultivé dans un même lieu et récolté dans des conditions optimales, met en évidence le rôle important que joue le climat sur la composition biochimique du grain, comme l'ont d'ailleurs constaté GESLIN et JONARD (1946 ; 1948).

Tableau II - Oses et oligosides du grain de maïs.

Echantillons origine	Glucides alcool sol. totaux*	Raffinose	Maltose	Saccharose	Glucose	Fructose	Auteurs
Maïs U.S.A.	1,10	0,186	Traces	0,783	0,05	0,06	MACLEOD, 1954
SCHINDESMEISER D.D.R.	1,30	0,090	-	1,03	0,10	0,08	TAÜFEL, 1960
STREUZ FELDER D.D.R.	1,33	0,080	-	1,13	0,07	0,06	
MARANY Italy	1,41	0,250	-	1,02	0,09	0,06	
QUARANTO	1,22	0,190	-	0,92	0,08	0,05	
<u>Moyenne</u> **							
Maïs sucré Hongrie	3,77	0,19	-	2,24	1,07	0,26	
Maïs Denté Italy-BRD	1,91	0,23	-	1,56	0,15	0,12	
INRA 200 France TEMOIN	2,12 anthrom 1,48 orcinol	0,35	-	0,84	0,03	0,03	MONTREUIL et al. 1960
INRA 258 France 1966 - 1967	1,28		-	0,74	0,035		LAGRANDEUR et al. 1968
INRA 258 France 1965 - 1966	2,00		-				TOLLIER et al. (1969)
1968 - 1969	1,45		-				

* Dans le texte appelés sucres totaux.

** Moyenne des quatres résultats indiquée par TAÜFEL.

Le tableau II nous renseigne également sur la quantité de chacun des oses et oligosides présents dans le grain de maïs, la plupart de ces résultats étant obtenus par chromatographie sur papier. On constate des différences non négligeables entre les teneurs en raffinose indiquées, qui vont de 0,08 p.100 (TAÜFEL, 1960) à 0,35 p.100 (MONTREUIL, 1966). Les différences parmi les pourcentages en saccharose paraissent moins importantes, ils varient entre 0,74 p.100 (LAGRANDEUR et al., 1968) et 1,13 p.100 (TAÜFEL, 1960).

Le maltose n'a pu être mis en évidence qu'à l'état de traces par MONTREUIL (1966) et MacLEOD (1954). MONTREUIL (1966) et al. soulignent d'ailleurs que les traces de maltose témoigneraient d'un léger début d'hydrolyse de l'amidon et considèrent que ce diholoside peut ne pas être présent dans un maïs comme dans le blé et l'orge, récoltés dans des conditions climatiques optimales. Par ailleurs, TOLLIER et al. (1969), dans une étude sur les conditions de stockage, montrent que le maltose n'apparaît dans le maïs qu'après un stockage prolongé, le grain en étant dépourvu à la récolte.

Tous les auteurs s'accordent pour ne trouver que des traces ou de faibles quantités de fructose et de glucose ; les valeurs pour le fructose vont de 0,03 p.100 (MONTREUIL, 1966) à 0,08 p.100 (TAÜFEL, 1960), et pour le glucose de 0,03 p.100 (MONTREUIL, 1966) à 0,1 p.100 (TAÜFEL, 1960).

2°) Blé et Orge.

La composition en oses et oligosides du grain de blé et du grain d'orge est bien plus complexe que celle du maïs. Ces céréales contiennent, en plus des oligosides rencontrés dans le maïs, une fraction osidique de poids moléculaire sensiblement plus élevé. En effet, dans ces osides les résidus D-fructofuranose sont liés par des liaisons soit β -2,1 (type inuline) soit β -2,6 (type phléine) ; de longueur de chaîne variable (DP 2 à 12), ces constituants comportent en bout de chaîne un résidu glucose fixé par une liaison du type α -glucosidique, analogue à celle existant dans la molécule de saccharose. La plus petite unité de ces gluco-fructosanes serait le glucodiffructose. Cette fraction a été appelée lévosiine, (TANRET, 1891 ; COLIN et BELVAL, 1923), fructosanes (MacLEOD, 1953), gluco-fructosanes (ROHRLICH, 1960) et polyfructosanes (SCHULBACH, 1965).

MacLEOD (1953) en a fait une étude critique, indiquant que le terme fructosanes n'apparaît pas tout à fait justifié : selon l'auteur l'appellation plus correcte serait ^{gluc}monopolypolyfructosanes ; toutefois l'auteur conclut que ce terme est d'un usage peu commode et la plupart des auteurs continuent d'utiliser l'appellation fructosanes ou glucofructosanes.

La présence d'un fructosyl-raffinose dans le grain de blé a été mise en évidence par WHITE (1959) et MENGER (1961) ; récemment, SANDERS et WALKER (1969) ont trouvé du néokestose et du stachyose dans le son de blé et puis STEVANS (1970) signale également la présence de néokestose et probablement de stachyose dans la couche aleurone du blé*. (tableau III).

Tableau III - Constitution de quelques di- et oligosides du grain de blé.

Nom	Constitution
Saccharose	α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranose
Maltose	α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -D-glucopyranose
Néokestose*	β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 6)- α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranose
Raffinose	α -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranose
Fructosyl-raffinose*	α -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranosyl-(? \rightarrow 2)- β -D-fructofuranose
Stachyose*	α -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- α -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranose

* SAUNDERS, R.M. ; WALKER, H.G. (1969).

* Nous avons indiqué dans le tableau III la constitution de quelques di- et oligosides du grain de blé.

Les tableaux IV et V résument les principales données quantitatives relatives aux grains de blé et d'orge. La teneur en glucofructosanes est de l'ordre de 1,0 p.100 chez l'orge (MacLEOD, 1952). Ces derniers chiffres représentent les extrêmes minimaux et maximaux relevés dans une étude de MacLEOD (1954) sur 10 variétés d'orge, dont 6 écossaises et 4 scandinaves, aboutissant à une valeur moyenne en glucofructosanes de 0,32 p.100. Par ailleurs nous ne donnerons que cette valeur moyenne pour l'orge.

Tableau IV - Oses et oligosides du grain de blé.

Glucofructosanes	Raffinose	Glucodifructose	Maltose	Saccharose	Glucose	Fructose	Galactose	Auteur
1,03	0,331	0,406	Traces	0,84	0,09	0,06	-	MacLEOD, 1954
-	0,19	0,26	0,04	0,88				TÄUFEL, 1959
-	0,68		0,18	0,74	0,03		0,02	MENGER, 1961
			0,05	0,54	0,08	0,08	0,02	LUNCH, 1962

Tableau V - Oses et oligosides du grain d'orge.

Glucofructosanes	Saccharides non séparés	Tetrahexose fructosyl-raffinose	Glucodifructose	Raffinose	Saccharose	Maltose	Glucose	Fructose	Auteur
					1,43			0,041	TÄUFEL 1942
0,097			0,097	0,144	2,32 0,342	0,06	0,029	0,036	MacLEOD min. 1952
0,536			0,433	0,832	1,286	0,135	0,092	0,159	10 variétés max.
<u>0,314</u>			<u>0,256</u>	<u>0,452</u>	<u>0,916</u>	<u>0,064</u>	<u>0,058</u>	<u>0,078</u>	<u>Moyenne</u>
	0,14	0,08	0,12	0,29	0,99	0,06			TÄUFEL 1954
				0,341	0,680	-	0,04	0,07	SCHMID-HAUSER 1955
0,642			0,09	0,159	0,810		0,041	0,07	HARRIS 1955

Le pourcentage de glucodifructose dans le grain de blé varie entre 0,25 (TÄUFEL, 1959) et 0,41 p.100 (MacLEOD, 1954), sa proportion dans l'orge va de 0,1 (HARRIS, 1955) à 0,26 p.100 (MacLEOD, 1952).

Les teneurs en raffinose dans le grain de blé vont de 0,2 p.100 (TÄUFEL, 1959) à 0,68 p.100 (MENGER, 1961). Toutefois MENGER (1961) signale que le raffinose a été dosé après séparation chromatographique et élution et il n'est pas exclu que son résultat, relativement élevé, soit dû à la présence d'un frucosylraffinose, superposé au raffinose.

La quantité de saccharose trouvée dans le grain de blé va de 0,54 (LYNCH, 1962) à 1,43 p.100 (TÄUFEL, 1941), MacLEOD, (1952) indique une valeur moyenne de 0,92 p.100 dans l'orge.

Le maltose est présent à l'état de traces ou en quantités très faibles, c'est-à-dire 0,04 p.100 (TÄUFEL, 1959) à 0,1 p.100 (MacLEOD, 1952). Le fructose se trouve en faible quantité dans les deux céréales, on indique une teneur de l'ordre de 0,07 p.100, le pourcentage de glucose trouvé est du même ordre de grandeur, quoique légèrement plus faible.

Si nous avons déjà pu constater certaines différences parmi les teneurs en oses et oligosides dans le grain de maïs, elles apparaissent plus importantes dans le cas du blé et de l'orge.

Ces variations peuvent s'expliquer partiellement par les différentes méthodes d'analyses utilisées, mais les travaux de MacLEOD réalisés sur des variétés différentes (écossaises, scandinaves) cultivées la même année et d'une année à l'autre au même lieu, ainsi que ceux de HARRIS et al. (1954, 1955, 1957), HALL et al. (1956) et SCHMIDHAUSER (1955) illustrent bien l'importance variétale et culturale dans la composition glucidique des céréales. En effet, ces résultats, tous obtenus par les mêmes techniques opératoires, montrent autant de différences entre les diverses variétés d'orge cultivées la même année qu'entre la même variété cultivée d'une année à l'autre.

En somme, tout ce que nous pouvons dire avec certitude, malgré ces différences constatées, c'est que :

- le blé et l'orge contiennent une fraction osidique de poids moléculaire relativement élevé, qui représente une proportion plus ou moins importante des glucides alcoolosolubles ;

- le saccharose est le principal constituant glucidique parmi les oses et oligosides des deux céréales ;
- le raffinose est présent en quantités plus faibles représentant globalement 25 p.100 des sucres trouvés ;
- le pourcentage de glucose et de fructose reste faible dans tous les cas.

II - EVOLUTION DE CERTAINS CONSTITUANTS GLUCIDIQUES AU COURS DE LA MATURATION DES GRAINS DE CEREALES.

Les travaux réalisés en Europe sur la formation biochimique des grains de céréales sont relativement peu nombreux. On constate, en effet, que les recherches à ce sujet ont été essentiellement entreprises aux Etats Unis. Nous allons d'abord exposer brièvement les résultats, exprimés en majeure partie par rapport à la substance sèche, obtenus par les différents auteurs, avant de dégager une synthèse de l'ensemble de ces recherches.

A - MAIS.

C'est aux environs de 1940 que les problèmes concernant la formation et la maturation du grain de maïs ont incité un certain nombre de chercheurs à poursuivre des études à ce sujet.

EVANS a publié en 1941 un travail sur l'évolution de la composition glucidique du grain de maïs, en s'adressant à des méthodes de dosages globales, telles que la détermination des sucres réducteurs et non-réducteurs. L'étude s'est échelonnée entre le 15ème et le 57ème jour après l'apparition des soies. Pour illustrer les résultats obtenus par cet auteur, nous nous sommes permis de les représenter sous forme d'un graphique (fig. 1). Nous constatons alors que la teneur en amidon augmente rapidement de 22,8 à 71 p.100 en substance sèche. Le pourcentage de cellulose diminue d'abord vite, puis plus lentement, atteint son minimum au 36ème jour et n'évolue plus ensuite. La teneur en sucres réducteurs diminue de façon presque linéaire jusqu'au 36ème jour, puis reste pratiquement constante. La quantité de sucres non-réducteurs diminue plus lentement que celle des réducteurs entre le 25ème et le 29ème jour, puis cette quantité reste constante pour les prélèvements ultérieurs.

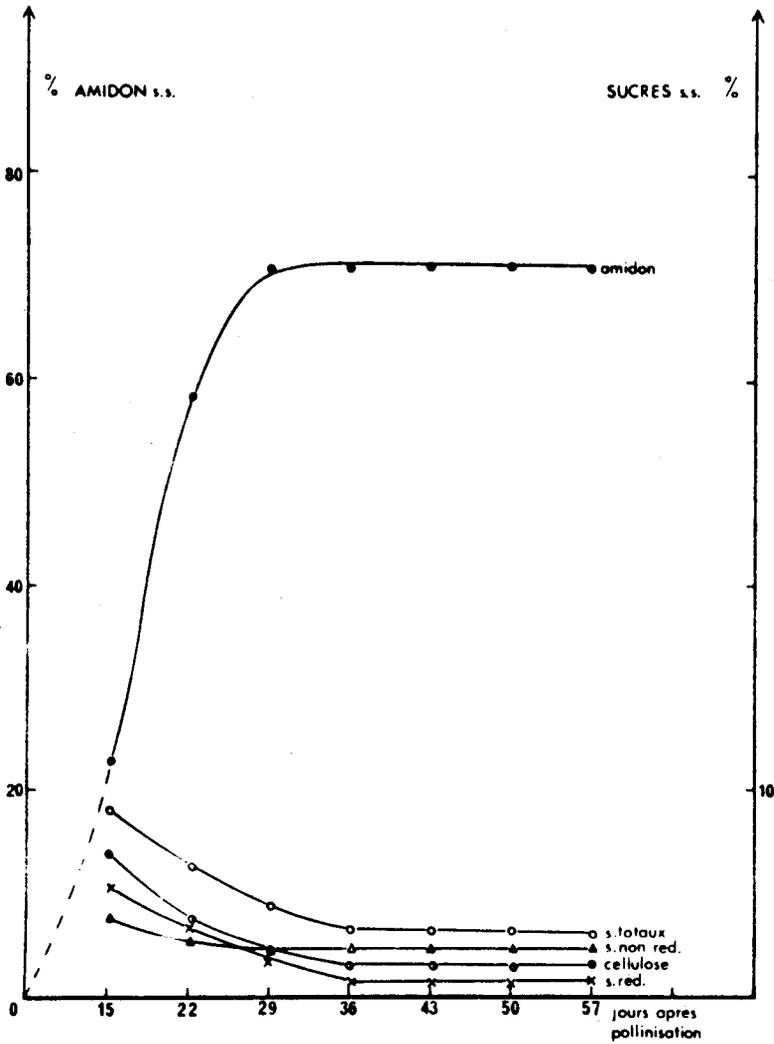


Figure 1.

Teneur en glucides des grains de maïs, exprimée en p.100 de la matière sèche selon EVANS (1941).

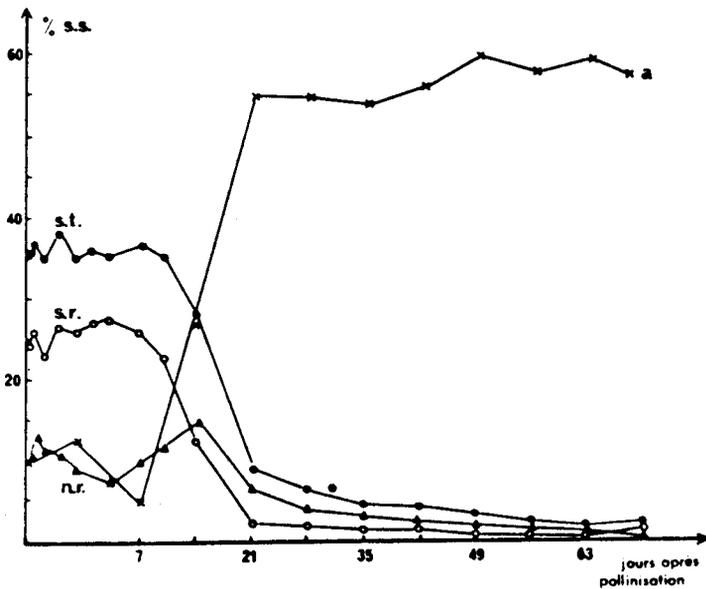


Figure 2.

Pourcentage des glucides en S.S. du grain de maïs à différents stades de son développement selon EARLY (1951).

- a - amidon
- s.t. - sucres totaux
- s.r. - sucres réducteurs
- n.r. - sucres non réducteurs

En somme, on remarque que le premier et le deuxième prélèvement contiennent plus de sucres réducteurs que de non-réducteurs et qu'à partir du 3ème prélèvement la concentration de ces derniers est bien plus importante que celle des sucres réducteurs.

L'intérêt du travail d'EARLY (1951) par rapport à celui d'EVANS (1941) vient du fait que l'auteur a commencé son étude sur les grains plus jeunes et même sur les ovules non fécondés ainsi que les soies (fig. 2). Il montre que l'ovule du maïs avant et après la pollinisation contient déjà de l'amidon. Cependant, la synthèse active de l'amidon ne commence qu'à partir de la deuxième semaine suivant la pollinisation, et elle atteint, avec quelques variations, un palier au bout de 21 jours, la teneur en amidon étant de l'ordre de 55 à 60 p.100 en substance sèche. Notons toutefois que le palier de la synthèse de l'amidon semble moins net et régulier que celui observé dans l'étude d'EVANS.

Le pourcentage des sucres totaux et réducteurs, important dans la toute première phase étudiée, diminue rapidement entre le 10ème et le 24ème jour et n'évolue que très peu ensuite. La teneur en sucres non-réducteurs déterminée entre la pollinisation et les deux semaines suivantes, montre une évolution différente de celles des autres sucres pendant la même période. Si pour les deux derniers, on ne voit que des variations légères, les sucres non-réducteurs par contre montrent d'abord un minimum puis un maximum net le 14ème jour. A partir de ce moment, la courbe suit la même allure que celle des sucres totaux et réducteurs. Notons qu'ici également la quantité de sucres non-réducteurs, plus importante au début de la formation du grain, dépasse vite celle des non-réducteurs.

L'étude de GRZESUIK, 1960 (fig. 3 et 4) a porté sur un maïs Malopolanke, sur lequel des prélèvements ont été effectués tous les 4 jours jusqu'au 80ème jour compté depuis la pollinisation. La teneur en amidon croît lentement et par palier et arrive à son maximum de 47,8 p.100 en substance sèche 80 jours après la pollinisation. On remarque ici que le palier de la synthèse de l'amidon est beaucoup moins net par rapport à ce qu'ont observé EVANS, 1941 et EARLY, 1951.

Le pourcentage des pentosanes qui s'accroît entre le 4ème et le 20ème jour, diminue ensuite rapidement, puis plus lentement et arrive à une valeur constante aux environs du 32ème jour.

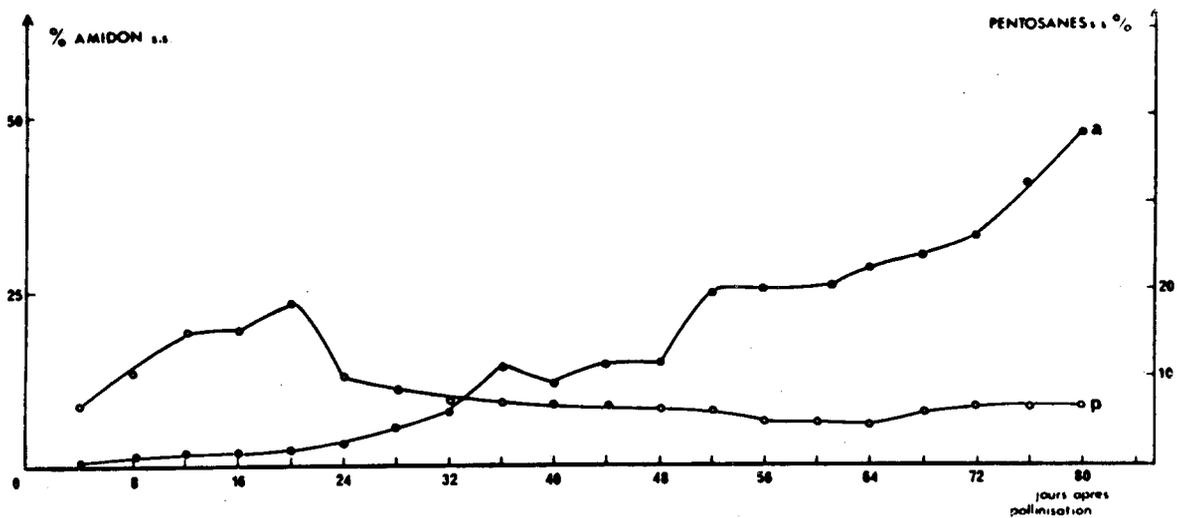


Figure 3.

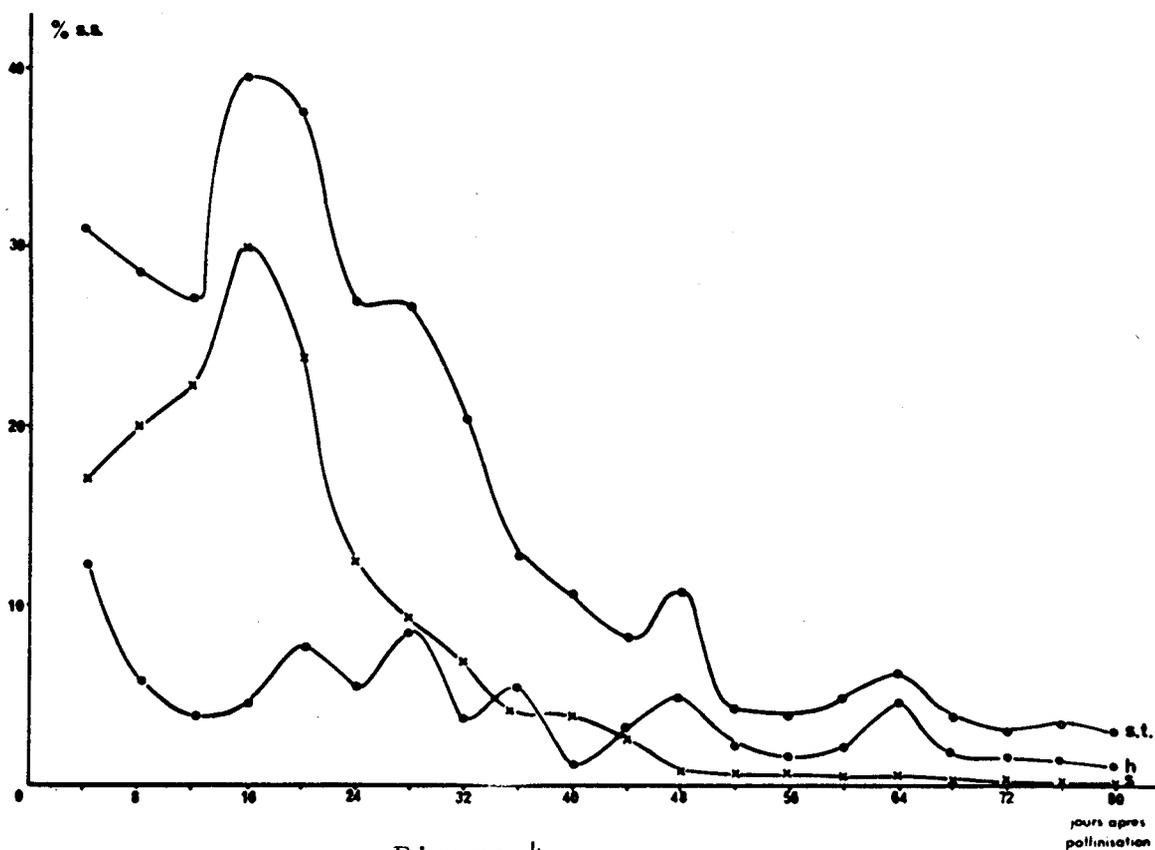


Figure 4.

Pourcentage en S.S. des glucides du grain de maïs à différents stades de sa maturité selon GRZESUIK (1960).

a - amidon
p - pentosanes

s.t. - sucres totaux
h - hexoses
s - saccharose

GRZESUIK (1960) montre par ailleurs que la teneur en saccharose diminue entre le 4^{ème} et le 12^{ème} jour et qu'elle évolue d'une façon irrégulière dans la phase ultérieure, à savoir qu'elle augmente et diminue d'un prélèvement à l'autre. La teneur en hexoses augmente à partir du 4^{ème} jour suivant la pollinisation et arrive à son maximum au 16^{ème} jour pour diminuer ensuite. Notons également les teneurs en maltose trouvées par GRZESUIK (1960), qui sont particulièrement élevées entre le 12^{ème} et le 40^{ème} jour (3 à 9 p.100 en substance sèche), mais qui restent non négligeables (1,7 p.100) à la maturité des grains.

Le travail de SHANNON (1968) apporte quelques renseignements sur la constitution glucidique de différents mutants de maïs au cours de la toute première période de leur maturation (12 à 18 jours après la pollinisation) ; il a l'intérêt d'avoir fait appel à des méthodes plus sélectives, telles que la séparation chromatographique sur papier. L'auteur constate que le fructose, le glucose et le saccharose sont les principaux sucres dans le maïs immature. L'accumulation des glucides de réserve, tels que l'amidon, le phytoglucogène et le saccharose commence au même âge physiologique ; cet âge dépend des conditions d'environnement existant pendant les deux premières semaines après la pollinisation. Parallèlement à l'augmentation de la substance sèche on constate un "dépôt actif" de ces glucides : "amidon et saccharose". Le début de cette accumulation est fortement influencé par les conditions d'environnement, 10 à 12 jours après la pollinisation, la synthèse de l'amidon semble indépendante de l'environnement. A un âge plus avancé, les grains prélevés après une période de quelques jours de temps chaud et ensoleillé ont synthétisé plus d'amidon que ceux d'un même âge, mais récoltés après une période froide et pluvieuse. Des résultats similaires sont observés sur la synthèse du phytoglycogène et du saccharose.

JENNINGS, 1969 (fig. 5) dans une étude récente examine l'évolution des glucides de quatre mutants de maïs dont un maïs denté normal, au cours d'une période comprise entre le 6^{ème} et le 27^{ème} jour suivant la pollinisation. La synthèse de l'amidon du maïs denté normal, qui n'évolue guère au début, s'accroît rapidement du 15^{ème} au 21^{ème} jour, la plus grande partie de ce constituant est formée pendant cette période. Après un palier, la synthèse s'amorce de nouveau et atteint un maximum de 69 p.100 en substance sèche au 27^{ème} jour après la pollinisation.

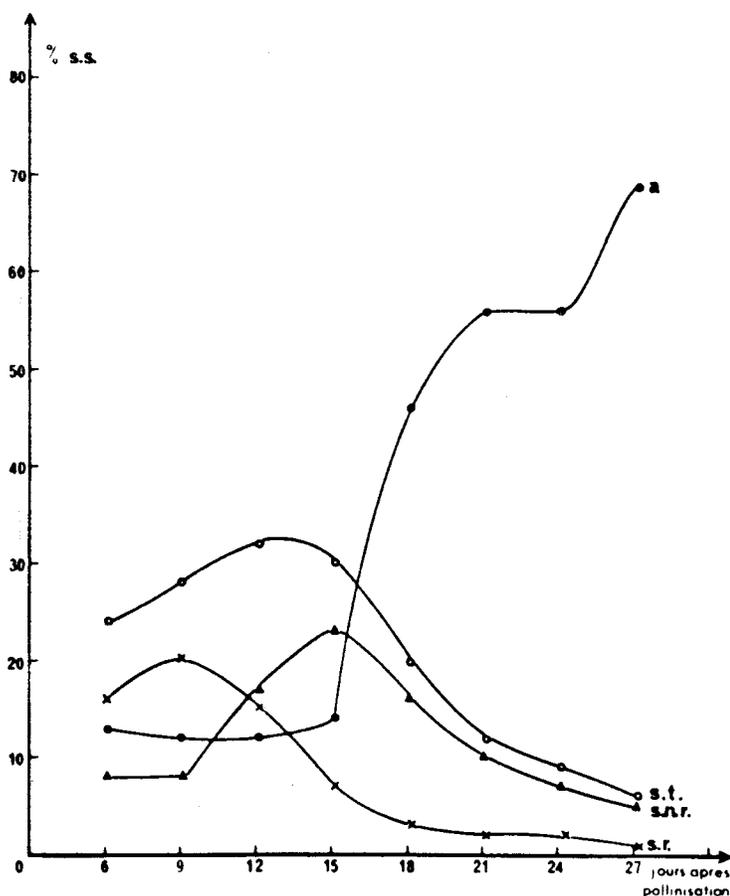


Figure 5.

Pourcentage des glucides en S.S. du grain de maïs pendant sa formation selon JENNINGS (1969).

a - amidon

s.n.r. - sucres non réducteurs

s.t. - sucres totaux

s.r. - sucres réducteurs

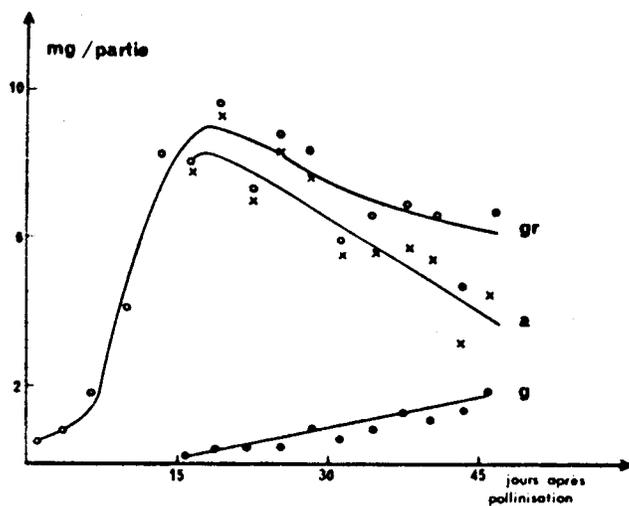


Figure 6.

Evolution de la teneur en sucres totaux du grain de maïs pendant une période comprise entre 15 et 45 jours après la pollinisation selon INGLE (1965).

gr - grain entier

a - amande

g - germe

Nous remarquons ici, que la synthèse de l'amidon s'est effectuée d'une façon bien différente de celle que nous avons pu observées dans le cas des travaux d'EVANS, d'EARLY et surtout de GRZESIUK (1960). Il est regrettable que nous ne possédions pas de renseignements précis sur les conditions climatiques existant au cours de ces études, ce qui aurait pu aider à expliquer ces différences. Toutefois, compte tenu de la situation des lieux géographiques différente des cultures de maïs étudiés par EVANS (1941) dans l'Etat d'Illinois, et par EARLY (1951) à Minnesota, tous deux caractérisés par un climat continental et celui étudié par JENNINGS (1969) au North Carolina, situé au 32ème degré de latitude, on peut supposer que les différences observées peuvent s'expliquer en partie par les conditions d'environnement.

JENNINGS (1969) observe par ailleurs que les sucres réducteurs, après un maximum, diminuent rapidement dans la première phase de la maturation et plus lentement dans la deuxième. Le pourcentage des sucres non réducteurs augmente entre le 9ème et le 15ème jour, pour diminuer ensuite de façon sensiblement symétrique à la montée. Puis ils continuent à diminuer mais plus lentement jusqu'à la fin de la maturation.

Par ailleurs nous voyons, comme nous avons déjà pu le constater dans les études d'EVANS (1941) et d'EARLY (1951) que la teneur en sucres réducteurs, qui est plus forte que celle des non réducteurs au début, est rapidement dépassée par ces derniers, qui restent par la suite pondéralement les plus importants.

Les expériences entreprises par INGLE en 1965 (fig. 6) sur l'évolution de la composition du maïs au cours de son développement avaient comme but de donner des renseignements à la fois sur la teneur en sucres totaux dans le grain entier, dans l'endosperme et le germe, entre le 15ème et le 45ème jour suivant la pollinisation. Dans le grain entier, la teneur en sucres totaux augmente rapidement et atteint un maximum 20 jours après la pollinisation, puis on note une diminution progressive.

Lorsque le germe et l'endosperme sont examinés séparément, le premier, 15 jours après la pollinisation, n'a qu'une teneur en sucres très faible, par la suite cette teneur augmente de façon presque linéaire en fonction de la maturation. L'endosperme par contre contient une forte quantité de sucres au début qui diminue progressivement jusqu'à la maturité.

Les travaux que nous venons d'exposer nous fournissent uniquement des résultats relatifs à l'évolution globale des sucres réducteurs ou non, ainsi que des sucres totaux. Seul GRZESUIK (1960) apporte une indication sur l'aspect qualitatif des sucres individuels, présents dans le grain au cours de sa formation.

En effet, l'auteur met en évidence la présence de glucose, de fructose et de saccharose dans tous les échantillons étudiés. Dans ceux prélevés jusqu'au 44^{ème} jour, il trouve également du raffinose, du glucodiffructose et du maltose. Après cette période ces trois sucres disparaissent presque totalement.

B - BLE.

Les premières publications relatives au développement histologique et à la composition du grain de blé datent du début du siècle. Citons, sans aller dans les détails, celles de BRENCHLEY (1909), BRENCHLEY et HALL (1909), THATCHER (1913, 1915), PERCIVAL (1921) et de BELVAL (1924). Loin de vouloir sous-estimer la valeur de ces recherches, nous nous limiterons ici à la discussion des travaux plus récents.

Le laboratoire de Biochimie et physico-chimie des céréales de l'I.N.R.A. a entrepris en 1950 une étude sur l'évolution du contenu du grain de blé de la fécondation à la maturité (fig. 7 et 8). Les résultats obtenus, lorsqu'ils sont exprimés par rapport à la substance sèche montrent une croissance lente presque régulière mais non linéaire de l'amidon, une diminution de la teneur en pentosanes tout au début, puis une augmentation de ceux-ci. Le pourcentage de cellulose par contre, augmente après une première chute légère en deux étapes, diminue et puis s'accroît de nouveau. Le saccharose présente un important maximum au début, et après une diminution rapide, un deuxième moins accentué. La lévuline suit globalement la même allure que le saccharose. La quantité de sucres réducteurs diminue assez régulièrement pendant toute la période étudiée.

Mais l'intérêt principal de ce travail réside dans le mode d'expression des résultats également par rapport à une unité qui est le grain, ce qui permet en effet de donner une image plus réelle de la physiologie des grains. Représentés par rapport au poids de mille grains secs, les résultats sont alors les suivants : le poids sec, l'amidon et les pentosanes évoluent selon une courbe

sigmoïde classique, la quantité de sucres réducteurs reste sensiblement constante. Par contre, le saccharose et la lévulosine montrent tous les deux un maximum vers le 22^{ème} jour après la fécondation. Le saccharose passe par un deuxième maximum vers le 35^{ème} jour et diminue ensuite, alors que la lévulosine décroît régulièrement jusqu'à la maturité, où sa teneur est égale à celle du saccharose. BELVAL en 1924 a déjà signalé cette diminution de la teneur en saccharose et en lévulosine.

L'étude de MENGER (1951) qui a suivi l'évolution des glucides d'un blé durum (*Triticum durum*) au cours de sa maturation aux U.S.A. fournit plus de précisions encore à la fois sur la présence et la quantité de chacun des sucres présents, grâce à la séparation chromatographique sur papier.

Du point de vue quantitatif, on note que les sucres réducteurs et non réducteurs diminuent lorsque la maturation progresse.

Les résultats obtenus par chromatographie sur papier sont les suivants : teneur en raffinose relativement élevée, présence d'importantes traces de maltose, 2 maxima de saccharose, le premier étant plus élevé que le deuxième et puis, un seul maximum de glucose et de fructose, suivi par une diminution de ceux-ci.

Les teneurs élevées en raffinose, déterminées après l'élution du chromatogramme, en particulier pour les premiers échantillons, semblent être dues, selon l'auteur à la présence du glucodifrutose dans la tache éluée. MENGER signale par ailleurs que la présence de maltose serait à attribuer à une dégradation de l'amidon survenue au cours de la préparation et du séchage de l'échantillon.

Elle souligne aussi que le rôle du fructose dans le métabolisme du grain et la raison pour laquelle sa teneur reste peu élevée lorsque les fructosanes diminuent, ne sont pas complètement éclaircis. MENGER remarque également que la mise en évidence des variations observées dans son étude ne concerne que la quantité de chacun des constituants et non l'absence ou la présence de ceux-ci. En effet, tous les sucres sont présents dès le début de la formation du grain; leur distribution typique semble déjà visible à l'état pâteux, les différences constatées ne concernent que l'aspect quantitatif.

Il semble difficile d'établir un certain parallélisme entre ce travail et celui du Laboratoire de Biochimie et Physico-chimie des Céréales (1950), d'abord en raison des lieux géographiques fort éloignés des deux études et puis surtout en raison du fait des différences entre les constituants analysés.

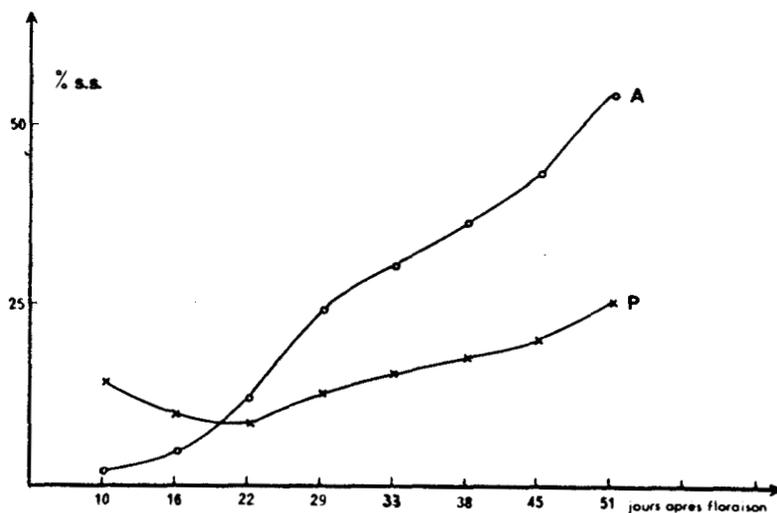


Figure 7

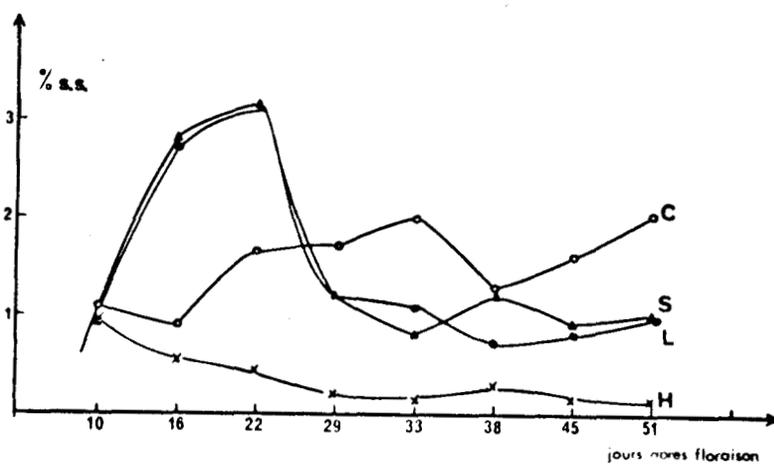


Figure 8.

Evolution de la teneur en glucides rapportée à la S.S. du grain de blé pendant sa formation, selon le Laboratoire de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales (1950).

A - amidon
P - pentosanes

C - cellulose
S - saccharose

L - lévuline
H - hexoses

Un point commun semble toutefois se dégager : dans les deux cas on observe 2 maxima du pourcentage de saccharose exprimé par rapport à la substance sèche le premier étant plus élevé que le deuxième.

Les expériences sur les glucides au cours de la formation du blé, du seigle et de l'orge entreprises par CRZESIUK (1960) nous indiquent que le nombre et la quantité des glucides solubles et des pentosanes diminuent vers la fin de la maturation. La constitution qualitative et quantitative des glucides varient lorsque les conditions climatiques changent fortement. Saccharose, glucodifructose et raffinose prédominent dans le grain, le germe contient en plus du glucose et du fructose.

Si nous citons ici l'étude de ROHRLICH (1960) qui a principalement porté sur la maturation du seigle, c'est parce que nous pensons qu'un certain parallélisme existe entre cette céréale et le blé. La teneur en oligosaccharides, qui diminue lorsque l'amidon croît considérablement, augmente de nouveau lorsque la synthèse de l'amidon ralentit. ROHRLICH constate : apparemment le procédé de polymérisation ne dépasse plus, en fin de maturation le stade des oligosaccharides à courte chaîne. Ces premiers résultats, à première vue surprenant, illustrent l'importance de cette fraction dans la synthèse de l'amidon. Par ailleurs, les teneurs en glucofructosanes, en glucose, fructose et saccharose, ce dernier étant particulièrement important au début, diminuent dans la mesure où la teneur en amidon s'accroît. Il convient de remarquer ici que le glucose et le fructose ont été également déterminés au cours de la maturation du blé ; les résultats obtenus sont analogues à ceux observés chez le seigle.

En résumé, ROHRLICH constate, qu'il n'y a présent, en fin de maturation, qu'une fraction de la quantité des sucres, trouvée au début de la formation. L'hypothèse de CARLES (1956) qui dit que la formation de l'amidon se produit aux dépens des mono et oligosaccharides se trouve ici confirmée. Toutefois l'auteur affirme que les différentes étapes de l'équilibre compliqué entre les hexoses et l'amidon restent à préciser en détail.

HECHT et STÖHR (1968) constatant que les teneurs en sucres totaux et réducteurs et en pentoses du grain de blé, prélevés 20 jours avant la récolte réelle, diffèrent peu de celles obtenues sur les grains mûrs. Il n'y a que l'amidon qui croît encore de façon constante pendant cette période.

C - ORGE.

Si les travaux sur l'orge à l'état mûr ont été relativement nombreux, ils le sont nettement moins au sujet de la maturation de ce grain. Citons celui de HARRIS (1957) qui a porté sur la formation et le développement des glucides solubles dans cette céréale au cours de sa maturation. L'expression des résultats par rapport au poids de mille grains conduit l'auteur à remarquer que l'amidon augmente de façon logarithmique et que le saccharose et les fructosanes, par contre, montrent un maximum 4 semaines après la formation de l'épi. Les glucosanes arrivent à un maximum 5 semaines après l'apparition de l'épi, diminuent la 6ème semaine, augmentent de nouveau pendant la 8ème semaine, et puis décroissent vers la fin de la maturation.

Ce comportement peut, selon HARRIS, être expliqué de différentes façons :

- l'augmentation vers une valeur maximum représente la translocation des sucres des zones périphériques vers l'intérieur du grain ;
- les enzymes nécessaires pour convertir ces sucres en amidon ne sont pas disponibles en quantité suffisante que 4 semaines après la formation de l'épi ;
- ces sucres servent comme substrat de la respiration pendant la nuit et ils se développent à ce stade plus rapidement que nécessaire pour ce but ; plus tard, par contre, l'approvisionnement de la translocation est coupé et il est d'avantage réduit par la demande de la synthèse de l'amidon.

HARRIS montre par ailleurs que le fructose, le saccharose ainsi que les fructosanes se trouvent dans la plante dès le début de sa formation, il est de même en ce qui concerne le glucodifrutose. Cependant il semble intéressant de noter que le raffinose est encore absent dans le grain 6 semaines après la formation de l'épi et qu'il apparaît seulement après cette période, pour ensuite être présent dans tous les échantillons ultérieurs. L'apparition retardée de ce sucre, qui est localisé en prédominance dans le germe, semble indiquer une activité métabolique accrue du germe à ce stade.

CONCLUSION.

Il n'est pas facile de dégager de cet ensemble de résultats des conclusions générales. De nombreux facteurs doivent être pris en considération.

Il semble d'abord indispensable de souligner un certain nombre de points en ce qui concerne l'importance des variétés de céréales, le mode de leur prélèvement et de stabilisation d'une part et les techniques d'extraction des glucides et leur dosage d'autre part.

Toutes ces recherches citées ont porté sur des variétés de céréales différentes, cultivées dans des pays ayant des conditions climatiques variables et insuffisamment précisées. A ces problèmes, s'ajoute que les dates, le nombre et le mode de prélèvements varient considérablement d'une part et que les modalités opératoires de l'extraction des glucides, leur dosage et surtout l'expression des résultats diffèrent dans une très large mesure d'autre part.

Nous ne pouvons évidemment pas, par défaut de renseignements, prendre en considération l'influence des lieux de culture et du climat pour expliquer les différents résultats, par contre, il nous est possible de discuter ici très brièvement les modes de stabilisation, d'extraction et de dosage mis en oeuvre par les différents auteurs.

Si nous avons déjà pu constater à quel point le facteur variétal, les conditions de récolte et de stockage sont importants dans le cas des céréales mûres, (TOLLIER, 1968) il est d'autant plus nécessaire de prendre certaines précautions lors d'une étude des céréales immatures.

La nécessité d'une stabilisation d'un matériel à étudier, qui présente une teneur en eau plus ou moins élevée et en même temps une forte activité enzymatique semble évidente. C'est ainsi que certains auteurs ont utilisé une stabilisation par l'alcool à 96 p.100 (I.N.R.A., 1960 ; ROHRLICH, 1960) suivie d'une extraction des glucides sans séchage de l'échantillon au préalable ; d'autres ont procédé à un séchage de l'échantillon à 70°C à forte ventilation sous vide (MENGER, 1961 ; EVANS, 1941 ; EARLY, 1951) et puis GRZESIUK (1960) et HECHT (1968) ont fait appel à une stabilisation par un traitement thermique à haute température, à savoir que le premier a effectué une stabilisation pendant 15 mn à la vapeur (stérilisateur KOCH sans précision de la température)

suivi d'un séchage à 40°C, alors que HECHT (1968) a soumis ses échantillons à une température de 105 à 115°C pendant 12 à 14 heures.

Ce dernier auteur précise qu'une "perte" en sucres ne peut être tout à fait exclue par ce procédé, mais il indique aussi qu'une comparaison d'un dosage de sucres d'un échantillon de blé après séchage à 70°C sous vide et après lyophilisation a montré le même résultat. HECHT (1968) suppose que le mode de séchage des céréales à une haute température raccourcit considérablement l'échange de chaleur avec l'environnement et provoque une perte importante et rapide dans le grain, donnant ainsi une inactivation des enzymes en quelques minutes. Ces constatations rejoignent celles de MONTREUIL et al. (1966).

Soulignons cependant que l'étude de HECHT n'a porté que sur des grains de blé prélevés 20 jours avant la récolte réelle, il s'agit donc d'un matériel d'une plus faible teneur en eau que celui de GRZESIUK (1960) qui a commencé son étude 4 jours après la floraison. Il est intéressant d'indiquer que les auteurs qui ont utilisé la stabilisation à une haute température (GRZESIUK, 1960) ou un séchage à 70°C sous vide (MENGER, 1961) sont également ceux, qui constatent les plus fortes teneurs en maltose. Ceci laisse supposer (MENGER, 1961) qu'il s'est produit un début d'hydrolyse de l'amidon. Enfin, SHANNON (1968) et JENNINGS (1968) ont fait appel au froid pour la stabilisation, mais aucun auteur semble avoir utilisé le séchage par la lyophilisation de l'échantillon.

Signalons également l'importance des modifications qui peuvent être provoquées par un broyage des grains sans présence de neige carbonique.

Les modalités de l'extraction des glucides alcool-solubles, mises en oeuvre par les auteurs cités, diffèrent moins que celles de la stabilisation. En effet, l'extraction à chaud par l'alcool à 50 p.100, mais plus souvent 75 à 80 p.100 semble assurer dans la plupart des cas un épuisement complet. Il faut toutefois se demander si les techniques d'extraction (soit extraction à chaud, 1 heure avec l'alcool à 50 p.100, soit extraction à froid) selon les méthodes AACC (1962), sont adaptées à l'étude des produits riches en sucres tels que les céréales immatures.

Quant aux dosages des sucres proprement dits, ils ont été effectués chez le maïs par le pouvoir réducteur avant et après hydrolyse, dans le cas du blé et de l'orge on s'est adressé plus souvent aux méthodes chromatographiques.

Les éventuelles critiques au sujet des dosages du pouvoir réducteur mises à part, il ressort de cette recherche bibliographique que nous possédons, grâce aux travaux de MENGER (1961) et HARRIS (1955), quelques renseignements sur l'évolution du glucose et fructose au cours de la maturation des grains de blé et de l'orge. Par contre, les résultats obtenus du grain de maïs se limitent aux teneurs en sucres réducteurs avant et après hydrolyse, par conséquent nous manquons presque totalement de connaissances sur l'évolution des pentosanes, du glucose et du fructose et sur l'apparition du raffinose pendant la formation du maïs.

Enfin, aucun auteur semble avoir fait appel aux méthodes spécifiques de dosage des sucres au moyen des enzymes telles que la glucose-oxydase, l'invertase et la galactose-oxydase.

Si nous essayons maintenant de comparer brièvement entre eux les résultats des différents auteurs, il se révèle que la durée de maturation des grains apparaît plus courte dans un climat sec que dans un climat humide. En effet, la synthèse de l'amidon des grains de maïs étudiée aux Etats Unis s'amorce rapidement montrant une courbe sigmoïde qui atteint son palier aux environs du 25ème jour après la floraison (EVANS, 1941 ; EARLY, 1951 ; JENNINGS, 1968). La formation de l'amidon du maïs étudié en Pologne (GRZESUIK, 1960) par contre semble se faire lentement et par palier entre le 4ème et le 80ème jour après la pollinisation.

Chez le blé étudié par le Laboratoire de Biochimie et Physicochimie des Céréales (1950), cette synthèse apparaît presque linéaire entre le 10ème et le 51ème jour après la floraison sans atteindre un véritable palier.

Les teneurs en pentosanes diminuent dans la première phase de la formation du grain de blé (Laboratoire de Biochimie et Physicochimie des céréales, 1950) pour augmenter progressivement ensuite. Dans le maïs par contre (GRZESUIK, 1960), on a une évolution inverse, à savoir que la quantité de pentosanes s'accroît d'abord pour ensuite diminuer rapidement et puis plus lentement dans la phase ultérieure.

Nous avons peu de renseignements sur l'évolution de la cellulose au cours de la maturation. EVANS (1941) montre dans son étude relative au maïs que ce constituant diminue dans la première phase pour se stabiliser ensuite. Chez le blé (Laboratoire de Biochimie et Physicochimie des Céréales, 1950) la formation de la cellulose s'effectue de façon différente: ce polyholoside augmente d'abord en deux étapes, diminue ensuite et puis croît de nouveau dans la dernière phase.

Les sucres totaux paraissent à leur maximum aux alentours du 15ème jour après la floraison et ceci indépendamment du pays de culture; ils diminuent ensuite progressivement jusqu'à la fin de la maturation. Les sucres réducteurs, dans le cas du maïs, considérés globalement montrent la même évolution. Chez le blé, MENGER (1961) observe le maximum de sucres réducteurs le 10ème jour après la floraison, ROHRLICH (1960) le constate aux environs du 8ème jour; les deux auteurs voient la diminution s'effectuer ensuite en deux étapes successives. EARLY (1951), EVANS (1941) et JENNINGS (1968) observent chez le maïs le maximum de saccharose 15 jours après la pollinisation, suivi d'une diminution plus ou moins rapide dans la phase ultérieure. MENGER (1961) constate le premier maximum à la même période, toutefois elle signale une nouvelle augmentation de ce diholoside aux environs du 35ème jour. GRZESUIK (1960) met en évidence de grandes fluctuations du saccharose tout au long de la maturation.

Malgré les travaux déjà réalisés, plusieurs points demandent encore à être mieux étudiés. Il apparaît d'abord que le repérage de l'âge physiologique des grains n'a pas été toujours suffisamment bien précisé. Il s'est avéré préférable par ailleurs, de chercher un mode d'expression qui fait intervenir non seulement la durée de la maturation, mais des facteurs climatiques pouvant influencer directement la formation des grains, tels que la somme des températures moyennes journalières. En outre, les méthodes mises en application restent dans la plupart des cas limitées aux dosages globaux de groupes d'oses et d'oligosides, tels que les sucres réducteurs ou non. Enfin le mode d'expression des résultats obtenus par rapport à la substance sèche n'aboutit pas à des renseignements concluants lorsque l'on suit la formation des grains dont le poids sec est en évolution constante; ce mode d'expression peut même,

sur le plan de la physiologie des grains, conduire à des conclusions erronées.

Dans l'espoir de contribuer à éclaircir certains de ces problèmes, nous avons choisi trois espèces de céréales, maïs, blé, orge, cultivées dans différentes conditions climatiques (lieux ou années) et nos recherches ont été orientées dans les voies suivantes:

- étude de la composition glucidique des céréales au cours de leur maturation à un âge physiologique des grains déterminé de façon précise (épis bagués à la floraison) ;
- mise au point ou adaptation de méthodes de dosage spécifiques fournissant des résultats précis et reproductibles ;
- représentation des résultats obtenus en fonction d'un facteur commun, la température moyenne journalière accumulée par la plante depuis la floraison, ce qui devrait aider à la comparaison d'une même céréale cultivée d'une année à l'autre et des diverses céréales entre elles, provenant des différents lieux de culture.

Dans la première partie de l'exposé des travaux personnels, nous précisons le matériel et les méthodes d'analyses utilisés.

Dans la seconde partie, nous comparons d'abord pour chaque constituant son évolution dans les divers^{es} céréales, et nous avons représenté ensuite pour chaque céréale l'évolution de sa teneur en ses divers constituants glucidiques. Les résultats sont rapportés d'une part à la substance sèche et d'autre part au poids de mille grains, ce qui permet de mieux suivre l'accumulation des divers constituants dans le grain évoluant vers la maturité.

Enfin, dans les conclusions générales nous essayerons de dégager l'essentiel des faits nouveaux en mettant l'accent sur la comparaison des résultats relatifs aux trois différentes céréales.

MATERIEL ET METHODES

I - MATERIEL UTILISE

A - ESPECES DE CEREALES.

Les recherches effectuées portent sur un maïs INRA 260, cultivé dans la région parisienne (La Minière) en 1967 et 1968, sur un blé Cappelle cultivé dans le centre de la France à Clermont Ferrand en 1967, sur un blé Joss, cultivé à Versailles et puis sur un orge de printemps, ce dernier étant cultivé à Clermont Ferrand.

1°) Evolution générale du climat entre la floraison et la récolte. (GESLIN, 1968, 1969).

a) Maïs.

Le climat en 1967 entre la floraison (26.7) et la maturité (25.10) du maïs INRA 260 cultivé à la Minière a présenté, comme le précise GESLIN (1968), les caractéristiques suivantes : les mois d'août et septembre ont été dans l'ensemble froids, la dernière décade du mois de septembre par contre a été plus chaude, le mois d'octobre s'est présenté particulièrement doux et souvent pluvieux. L'insolation a été voisine de la normale, mais faible en septembre.

La floraison du maïs INRA 260 en 1968 a eu lieu le 12.8, la récolte s'est effectuée le 8.11.1968, les mois août et septembre étaient particulièrement pluvieux, en octobre par contre les températures moyennes ont été très supérieures à la normale, mais ce mois a été marqué par un déficit considérable (-29 p.100) d'insolation

b) Blé - Orge.

La période qui concerne la culture du blé Cappelle (floraison 14.6.1967, maturité 29.7.1967) et de l'orge Iris (floraison 25.5.1967, maturité 17.7.1967) à Clermont Ferrand, a été marquée par un mois de juin sec et froid, surtout durant la 2ème décade et un mois de juillet très ensoleillé et chaud.

La période qui concerne la culture du blé Joss, à Versailles (floraison 15.6.68, récolte 10.8) a été marquée par un mois de juillet pluvieux et peu ensoleillé, les deux dernières décades de ce mois ayant été très fraîches.

2°) Protocole expérimental des prélèvements et de la préparation des échantillons.

Dans le but de bien définir l'âge physiologique des épis, ceux-ci ont été bagués au jour de leur floraison. Dans le cas du blé et de l'orge, au moment de chaque prélèvement, les épis sitôt coupés sont immergés dans l'azote liquide. Au moyen d'une écumoire les épis sont sortis, et pour chacun les deux quarts extrêmes sont coupés et éliminés. La moitié médiane est alors battue immédiatement dans une petite batteuse monoépi au sortir de laquelle les grains tombent directement dans un récipient également rempli d'azote liquide.

Dans le cas du maïs, les épis récoltés ne sont soumis au traitement à l'azote liquide que 30 minutes environ après leur coupe (durée du trajet de La Minière à Massy). Ici encore il n'y a que la partie médiane des épis qui est conservée.

Les échantillons sont ensuite cryodesséchés à une teneur en eau voisine de 10 p.100, et broyés au Bühler en présence de neige carbonique.

II - METHODES D'ANALYSES.

A - DOSAGE DE L'EAU.

La teneur en eau des grains au moment du prélèvement est déterminée dans le cas du maïs sur une rangée verticale de chacun des 4 épis, dans le cas du blé sur les grains provenant de 10 épis environ. L'étuvage est réalisé à 102°C à circulation d'air froid pendant 17 heures, sur des grains broyés préséchés à une teneur en eau voisine de 15 p.100 (CNERNA, 1958).

B - DOSAGE DES POLYHOLOSIDES.

1°) Dosage de l'amidon.

a) Dosage de l'amidon par la glucoamylase.

Il est effectué selon la méthode de THIVEND et al. (1965), qui consiste à empeser l'amidon pour le disperser, puis à autoclaver l'empois et finalement à hydrolyser quantitativement l'amidon en glucose par l'action d'une glucoamylase ; le glucose obtenu est dosé par l'action de la glucose-oxydase.

La présence d'importantes quantités de glucose et générateurs de glucose dans certains des produits étudiés, nécessite une extraction préalable de ceux-ci. La reproductibilité de la méthode est de l'ordre de 3 p.100.

b) Dosage de l'amidon selon la méthode d'EWERS (1965).

L'amidon est dispersé par l'acide chlorhydrique dilué au bain marie bouillant pendant 15 mn. Après défécation de la solution, on détermine le pouvoir rotatoire total en degrés polarimétriques. Afin de procéder à des corrections, le pouvoir rotatoire des substances optiquement actives et solubles dans l'alcool éthylique à 40 p.100 en volume, est déterminé après traitement à l'acide chlorhydrique dilué.

La différence entre les deux déviations optiques multipliée par un facteur déterminé donne le pour cent en amidon. La reproductibilité de la méthode est de l'ordre de 2,5 p.100.

2°) Dosage des pentosanes.

Principe.

Hydrolyse des pentosanes par une solution d'HCL de concentration déterminée, déshydratation des pentoses qui fournissent le furfural, distillation et dosage colorimétrique de ce dernier avec l'acétate d'aniline.

Matériel.

- Appareil de distillation à entraînement par la vapeur selon DUFFAU (1946).
- Spectrophotomètre pour le visible.
- Fioles jaugées de précision, avec bouchon rodé, de 250 cm³ et 50 cm³.
- Pipettes de précision.
- Bain-marie.
- Balance analytique.

Réactifs.

- Xylose MERCK.
- Solution d'HCL de densité 1,06 (4,25 N).
- Solution d'aniline :
Dissoudre 10 cm³ d'aniline Merck, fraîchement distillée, dans 1000 cm³ d'alcool à 95° GL.

- Tampon

Dissoudre 40 g d'acétate d'ammonium anhydre pur

2,7 g SnCl_2 , 2 H_2O pur

4,2 g SnCl_4 , 5 H_2O pur

dans 133 cm^3 d'acide acétique et compléter à un volume de 240 cm^3 avec l'eau distillée.

- Un mélange de la solution d'aniline et du tampon dans les proportions 2/1 doit être préparé extemporanément.

Mode opératoire.

- Détermination des pentosanes dans un produit céréalier.
.....

Introduire 250 à 500 mg de l'échantillon dans le réacteur central de l'appareil à entraînement par la vapeur et ajouter 30 cm^3 de la solution d'acide chlorhydrique, 4,25 N. Fermer à l'aide du bouchon émeri et introduire 300 cm^3 du même acide dans l'enceinte extérieure de l'appareil. Raccorder à l'appareil un réfrigérant à serpentín dont la partie inférieure plonge dans une fiole jaugée de 250 cm^3 et chauffer. Lorsque l'ébullition commence, régler le chauffage de façon à distiller 250 cm^3 dans un temps compris entre 75 et 90 minutes.

Le distillat est filtré afin d'éliminer les acides gras provenant de l'hydrolyse par l'acide des matières grasses présent dans l'échantillon.

- Dosage colorimétrique du furfural.
.....

Introduire 5 cm^3 du distillat ou d'une dilution dont la concentration en furfural est comprise entre 40 et 120 $\%$, dans une fiole jaugée de 50 cm^3 . Compléter au volume avec le mélange tampon-aniline. Laisser la coloration rose se développer pendant 45 minutes à une température de 25°C au bain-marie. L'intensité de la coloration, qui est stable pendant 30 minutes, est mesurée à 530 nm.

La quantité de furfural de l'échantillon est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage et le résultat est exprimé en xylose.

- Courbe d'étalonnage.
.....

Distiller 100 mg de xylose en présence de la solution d'acide chlorhydrique. Diluer respectivement 1, 2 et 3 cm^3 de ce distillat.

dans des fioles jaugées de 50 cm³, en complétant avec la même solution d'acide. Prélever 5 cm³ de chacune des dilutions qui constituent des solutions étalons à 40, 80 et 120 %. Procéder au dosage colorimétrique comme décrit auparavant. La reproductibilité de la méthode est de l'ordre de 2 p.100.

Justification du mode opératoire.

- Rendement en furfural à partir du xylose pur.
.....

Le rendement en furfural au cours de la distillation à entraînement par la vapeur a été vérifié par un dosage au phloroglucinol (AOAC, 1945). Bien que cette méthode présente des inconvénients lorsqu'elle est appliquée aux produits complexes, (interférence des dérivés d'hexoses, 5 HMF), elle peut très bien servir comme moyen de contrôle d'un distillat de xylose pur.

Tableau VI.

mg de xylose mis en oeuvre	mg de xylose retrouvés après distillation (Körber)*		
80	79.1	±	0.5
120	122	±	0.5
160	163	±	0.6

Les résultats résumés dans le tableau VI, montrent que le rendement en furfural est satisfaisant.

* Calculés selon le tableau Körber.

- Réaction entre le furfural et l'acétate d'aniline.
.....

Le réactif, dans les conditions décrites par DUFFAU (1946), présente l'inconvénient, de donner une coloration très fugace, ce qui rend la mesure très délicate sinon impossible. L'utilisation d'un tampon contenant du SnCl₂ et du SnCl₄ nous a permis d'obtenir une coloration, qui se développe plus lentement et qui atteint une stabilité durant 30 minutes au moins, après un temps de réaction de 45 minutes, (BETHGE, EGGERS, 1960).

- Linéarité de la courbe d'étalonnage avec plusieurs
.....
distillats de quantités variables de xylose pur.
.....

La droite d'étalonnage est la même avec trois dilutions d'un distillat de xylose ou avec trois distillats de quantités variables de xylose, convenablement dilués.

- Stabilité du distillat.
.....

La détermination du furfural dans les distillats en fonction de leur conservation au froid (4°C) a montré, contrairement à ce que certains auteurs ont indiqué (DUFFAU), que le furfural est stable pendant au moins une semaine. Ceci facilite l'adaptation de la méthode à un travail de série. Nous avons même effectué une deuxième distillation de furfural provenant d'un premier distillat sans constater de pertes. Le tableau VII illustre les observations de cette expérience.

Tableau VII - Quantité de furfural retrouvée à la suite d'une double distillation.

mg de furfural dans le distillat initial.	mg de furfural après la seconde distillation.
49,6 ± 0,4	51,0 ± 0,5
99,8 ± 0,7	97,0 ± 0,6
149,4 ± 0,7	149,0 ± 0,5

- Coloration donnée, par d'autres pentoses que le xylose,
.....
avec le réactif à l'acétate d'aniline.
.....

A quantités égales et dans les mêmes conditions opératoires, le ribose et l'arabinose donnent des colorations dont les absorbances sont inférieures à celle du xylose.

Tableau VIII - Absorbances des colorations données par les pentoses,

Nature du pentose	Absorbance à 530 nm		
	40 γ	80 γ	120 γ
Xylose	120	240	360
Ribose	90	180	265
Arabinose	80	155	235

Malgré l'importance de cette différence de coloration ainsi constatée, il ne nous a pas été possible d'en tenir compte dans la composition de notre témoin. En effet, si nous possédons des renseignements sur la nature et la constitution des pentosanes, nos connaissances des proportions précises des divers pentoses dans l'ensemble des pentosanes des céréales sont encore trop fragmentaires, pour permettre de constituer un mélange témoin, dont les proportions seraient voisines de celles existant dans la céréale. Ceci est vrai pour le blé et l'orge et l'est encore plus pour le maïs. Nous nous sommes donc servis du xylose, constituant pondéralement le plus important des pentosanes dans les produits étudiés. L'expression des résultats en xylose doit être considérée comme arbitraire, analogue à l'expression souvent utilisée des divers sucres en glucose.

- Influence des dérivés d'hexoses sur la réaction.

L'influence de dérivés des hexoses, tels que le 5 HMF, sur le dosage colorimétrique du furfural a été étudiée par addition d'importantes quantités de glucose au xylose avant la distillation. Aucune interférence n'a pu être constatée même lorsque la concentration du glucose atteignait 400 fois celle du xylose. (Tableau IX).

Tableau IX - Influence de l'hydroxyméthylfurfural, résultant du glucose, sur le dosage du furfural par l'acétate d'aniline.

Distillation		mg xylose retrouvés
mg glucose	mg xylose	
250	2,5	2,48 ± 0,06
500	1,25	1,27 ± 0,05

Influence des acides uroniques sur la réaction.

Nous avons également déterminé l'influence des acides uroniques au cours du dosage. Un distillat d'acide glucuronique a donné une coloration légère à l'acétate d'aniline. Nous avons ensuite systématiquement étudié cette interférence avec des quantités croissantes d'acide glucuronique, et nous avons pu constater que ce corps n'intervient pas lorsque sa teneur est inférieure à 10 p.100 par rapport au xylose. Au-dessus de cette valeur, il convient d'appliquer un facteur de correction. (Tableau X).

Tableau X - Absorbances des colorations données par le xylose sans ou avec la présence d'acide glucuronique.

Nature du glucide	Absorbances 530 nm		
	40 γ	80 γ	120 γ
Xylose	120	240	361
Xylose + addition d'acide glucuronique.			
5 p.100	120	240	360
10 p.100	128	255	390
25 p.100	135	270	410
50 p.100	142	288	430
100 p.100	158	299	460

Remarque.

Les pentoses éventuellement présents dans les échantillons sont également dosés par cette méthode. Cependant leur proportion dans les céréales est faible et ils ne présentent pas une cause d'erreur dans ce dosage.

2°) Dosage de la cellulose.

Le dosage de la cellulose a été effectué selon la méthode de WENDE qui consiste en deux digestions successives de l'échantillon, l'une par l'acide chlorhydrique, l'autre par la soude, le résidu après ces deux traitements étant considéré comme matières cellulosiques brutes. (1968).

C - EXTRACTION ET DOSAGE DES OSES ET OLIGOSIDES.

1°) Problèmes généraux posés par ces opérations.

Le premier problème qui se pose dans l'étude de la fraction glucidique de faible poids moléculaire présent dans les céréales concerne son extraction ; elle peut en effet être effectuée à froid ou à chaud. En opérant à température ambiante, on risque de ne pas aboutir à un épuisement complet, même après plusieurs traitements et notamment dans l'étude d'un matériel riche en glucides alcoolosolubles, tel que les céréales immatures. Les extractions répétées à chaud par contre assurent un épuisement complet, mais présentent l'inconvénient d'entraîner des substances non glucidiques, telles que les protéines et les lipides, qui, perturbent souvent le dosage colorimétrique des glucides. Cependant, après avoir défini les conditions permettant d'éliminer les substances perturbatrices, seule la dernière technique nous a semblé appropriée dans le cadre de nos recherches.

Le deuxième problème concerne les méthodes de dosage des glucides totaux, ainsi que des différents oses et oligosides présents dans l'extrait alcoolique ; elles sont en fait nombreuses, et il est nécessaire de faire un choix de celles qui sont les plus adaptées au problème posé et au produit à étudier. Malgré certaines critiques qui existent vis-à-vis de cette méthode, nous avons choisi parmi les nombreux réactifs l'anthrone, d'abord pour des raisons

de commodité d'emploi, la méthode pouvant être appliquée en milieu alcoolique, et aussi comme nous le verrons plus tard, parce que le procédé de purification des extraits élimine, dans une très large mesure, les substances qui interfèrent au cours de ce dosage.

Comme tous les autres réactifs, -phénol, orcinol, chlorhydrate de cystéine-, l'anthrone donne, à quantités égales de glucides des absorbances différentes. Mais, s'il avait été possible de connaître la composition glucidique d'un extrait de maïs, afin de constituer une solution de référence dont la nature et les proportions correspondent à celles existant dans l'échantillon, il n'était pas possible d'arriver à la même connaissance dans le cas du blé et de l'orge. En effet, la fraction glucidique alcoolosoluble de ces deux dernières céréales a une composition très complexe, encore imparfaitement connue.

Par ailleurs, nous verrons que la teneur en sucres totaux, déterminée par l'anthrone et exprimée en glucose, et la somme de sucres déterminés séparément ne diffèrent que légèrement chez le maïs, compte tenu des écarts admissibles des divers dosages.

Enfin, pour étudier la quantité de chacun des oses et oligosides présents dans les milieux complexes, il existe peu de méthodes qui sont d'une application facile. La séparation par chromatographie sur papier, suivie d'un dosage quantitatif des sucres élués, possible dans le cas du maïs, ne peut être appliquée dans l'étude du blé et de l'orge ; la complexité de la composition glucidique de ceux-ci ne permet pas une assez bonne séparation.

Nous avons donc fait appel aux méthodes enzymatiques, qui ont permis, combinées avec des méthodes chimiques, de déterminer dans les meilleurs cas le glucose, le fructose, le saccharose et le raffinose.

Ces modalités opératoires aboutissent en effet à des résultats satisfaisants dans l'étude de la composition glucidique du maïs. Par contre, elles doivent être considérées comme une première tentative d'estimation, seulement lorsqu'elles sont appliquées aux céréales, telles que le blé et l'orge. Dans ce cas, la teneur en fructose, déterminée par l'anthrone à 50°C comprend le fructose libre et les fructosanes, sans que l'on puisse faire la distinction des deux ; la teneur en saccharose estimée par la glucose-oxydase après l'action de l'invertase comprend un certain nombre d'unités de glucose provenant des glucofructosanes de faible poids moléculaire.

Cependant, nous considérons que les techniques utilisées malgré leur imperfection, ont permis dans le cadre de nos recherches une étude comparative de l'évolution de la composition glucidique des céréales entre la floraison et la récolte.

2°) Extraction des glucides alcoolosolubles.

Conditions opératoires.

Peser 2,5 g de céréales broyées (taille de particule inférieure à 0,5 mm) dans un tube de centrifugeuse rodé. Ajouter 40 cm³ d'alcool à 80° GL, extraire à reflux pendant 30 min., assurer pendant cette période plusieurs agitations à l'aide d'une baguette de verre. Centrifuger, décanter le surnageant dans une fiole jaugée de 250 cm³. Répéter la même opération une deuxième fois. Laver ensuite 2 fois à froid avec 40 cm³ d'alcool à 80° GL en agitant soigneusement avec une baguette de verre, centrifuger et décanter entre chaque lavage le surnageant dans la fiole, compléter à 250 cm³ avec de l'alcool à 80° GL.

Transvaser l'extrait alcoolique dans une fiole Erlenmeyer de 300 ml, placer à -15°C pendant 48 heures, ce séjour au froid provoque une précipitation partielle de protéines. Concentrer au rotavapeur ensuite à un volume de 5 cm³ environ ; transvaser quantitativement, en rinçant avec un peu d'alcool (10 à 15 cm³), dans un tube de centrifugeuse et ajouter 15 cm³ d'eau distillée, pour faciliter la séparation des protéines et des lipides. Remettre à 4°C pendant 24 heures, centrifuger et filtrer quantitativement le surnageant dans une fiole jaugée de 50 cm³ ; compléter au volume avec de l'eau. La concentration en alcool finale de l'extrait est de l'ordre de 30 à 35° GL.

Justification du mode opératoire.

La comparaison de l'extraction à chaud avec celle à froid utilisée par MERCIER (1967) a mis en évidence que la deuxième technique fournit des résultats inférieurs et moins reproductibles que la première. Par ailleurs, la faible prise d'essai (125 à 250 mg) utilisée pour l'extraction à froid aboutit à un extrait d'une trop faible concentration en glucides, ne permettant pas un dosage individuel de ceux-ci.

L'extraction à chaud que nous avons utilisée a posé deux problèmes, le premier concerne l'obtention d'une quantité suffisante de chaque sucre pour effectuer leur dosage, et le second est relatif à l'entraînement au cours de cette extraction de substances non glucidiques, en particulier des protéines et des proportions importantes de lipides.

Ces substances perturbent le dosage des glucides à l'anthrone (MONTREUIL, 1963) d'une part et rendent impossible la détermination enzymatique du glucose d'autre part, notamment lorsque ce dernier est présent en faibles quantités dans un extrait contenant des proportions importantes de protéines (précipitation par le mélange réactionnel à pH 7,0).

En raison du nombre important d'échantillons à analyser, nous avons recherché une technique de purification et de concentration à réalisation rapide et facile des extraits alcooliques initiaux, sans faire appel au passage sur résine.

Basés sur les travaux de TAUFFEL (1959), nous avons tenté d'éliminer une large partie des protéines et lipides par un traitement au froid et par addition d'eau aux extraits alcooliques une fois concentrés. Après le procédé indiqué auparavant, les extraits ainsi purifiés sont, dans la plupart des cas, clairs et permettent de déterminer des quantités aussi faibles que 0,02 à 0,04 p.100 de glucose. Cette sensibilité est d'une importance capitale étant donné que la teneur en glucose intervient dans le calcul du dosage du saccharose.

Pour contrôler une éventuelle perte en glucides au cours de ce procédé, un dosage à l'anthrone a été effectué avant et après purification. Tous les résultats après purification étaient en moyenne 10 p.100 inférieurs à ceux obtenus avant purification.

L'observation de cette différence nous a conduits à étudier plus en détail quelques uns de ces précipités, qui sont en principe éliminés, en choisissant des cas extrêmes, tels qu'un maïs et un blé immature d'une part, et les mêmes céréales à maturité d'autre part.

Nous avons réalisé sur ces 4 précipités :

- . un spectre d'absorption (protéines)
- . un dosage d'azote
- . un dosage des lipides totaux

- . un chromatogramme en couche mince (lipides)
 - . un chromatogramme sur papier après l'hydrolyse acide (glucides)
 - . un dosage à l'anthrone après addition d'une quantité connue de glucose.
- Le spectre d'absorption a mis en évidence la présence de protéines dans les précipités, elle est d'autant plus grande que la maturité de la céréale est avancée. Le précipité en provenance du blé immature paraît le plus pauvre en protéine, celui provenant du maïs mûr en est le plus riche ; il montre d'ailleurs la présence de tryptophane, acide aminé qui selon MONTREUIL (1963), perturbe le dosage des glucides à l'anthrone.
 - Le dosage des protéines par KJELDAHL, au technicon confirme ces données spectrales (tableau XI). Les précipités obtenus du blé et du maïs contiennent respectivement 0,41 et 1,09 p.100 de protéines dans le cas des céréales immatures, et 2,69 et 3,53 p.100 dans le cas des mêmes céréales à maturité.
 - Le dosage des lipides totaux montre que les précipités en contiennent respectivement 1,74 et 2,34 p.100 dans le cas du blé et du maïs immatures, et 1,62 et 1,66 p.100 dans le cas des mêmes céréales à maturité (tableau XI).
 - Le chromatogramme sur couche mince des précipités obtenus toujours des mêmes céréales, extraits à l'éther, met en évidence la présence d'esters de stérol, de glycérides et d'acides gras dans tous les cas.
 - Le chromatogramme sur papier des précipités après leur hydrolyse acide (H_2SO_4 1N, 2 heures) montre la présence de glucides, en particulier de glucose et de fructose ; toutefois leur proportion ne peut pas être considérée comme étant responsable de la diminution d'environ 10 p.100 des teneurs en glucides, déterminées après purification des extraits initiaux.
 - Par ailleurs, des quantités connues de glucose ont été ajoutées à ces précipités et un dosage à l'anthrone a été effectué sur le mélange (tableau XII). Les résultats obtenus présentent des valeurs par excès de 6 à 13,75 p.100. Les écarts observés vont dans le même sens que ceux mis en évidence avant et après purification des extraits alcooliques ; ils restent de la même importance chez le blé immature et mûr, par contre l'écart est plus important chez le maïs à sa maturité.

Tableau XI - Influence de substances lipoprotéiques sur le dosage à l'anthrone de la fraction glucidique alcoolosoluble.

	Valeurs obtenues avant et après purification			
	Maïs 2	Maïs 12	Blé 1	Blé 11
Glucides alcoolosolubles totaux avant purification °/o S.S.	30,3	2,50	50,3	3,05
Après purification °/o S.S.	26,9	2,18	47,1	2,79
Constituants non glucidiques				
Lipides	2,34	1,66	1,74	1,62
Protéines	1,09	3,53	0,41	2,69
Total	3,43	5,19	2,15	4,31
Part relatif p.100	11,8	13,00	7,25	8,50

Tableau XII - Influence du précipité lipoprotéique avec le dosage à l'anthrone d'une quantité connue de glucose.

g glucose théoriques	230	21,2	412	22,5
g glucose trouvés après mélange au précipité	249	24,1	445	24,0
Part relatif °/o	8,3	13,8	8,0	6,0

Il ressort de l'ensemble de ces résultats que l'extraction à chaud avec l'alcool à 80 GL entraîne d'importantes proportions de substances non glucidiques d'une part, que ces substances perturbent le dosage des glucides à l'anthrone d'autre part et finalement il est possible de les éliminer dans une large mesure par le procédé utilisé.

3°) Caractérisation qualitative des glucides par chromatographie sur papier.

L'examen qualitatif des différents oses et oligoholosides est effectué par chromatographie sur papier selon la technique de ISHERWOOD et JERMIN, 1951, par l'écoulement descendant de la phase mobile. Deux solvants sont utilisés :

- le solvant biphasique n-butanol-acide acétique-eau (4-1-5), (PARTRIDGE, 1949 ; DAVY, 1966) ;
- le solvant monophasique pyridine-acétate d'éthyle-n-butanol-eau (7-8-9-5).

Une quantité d'extrait à étudier, comprenant entre 1 et 1,2 mg de sucre est déposée sur du papier Whatman , selon les solvants, le temps d'élution varie entre 62 et 92 heures.

Le chromatogramme, après séchage à l'air, est révélé par immersion. Les deux révélateurs utilisés, préparés en milieu acétonique, sont les suivants :

- le réactif au trichloracétate de benzidine (HORROCKS, 1949), la révélation se fait à 105°C, tous les sucres donnent une coloration brune ;
- le réactif au phosphate d'aniline la diphénylamine (GIRI et NIGAM, 1953), ici la révélation s'effectue à 80°C la coloration obtenue est brune pour le fructose, bleu-gris pour le glucose, vert-jaune pour le saccharose, bleu pour le maltose, bleu-vert pour le melibiose, vert-bleu pour le raffinose.

4°) Dosage des glucides par la méthode à l'anthrone.

Principe.

L'acide sulfurique concentré à chaud agit sur les hexoses et leurs homologues supérieurs en formant des dérivés furfuriques qui produisent avec l'anthrone une coloration verte dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des glucides. La coloration présente un maximum à 625 nm et suit la loi de BEER-LAMBERT entre 30 et 120 γ .

Compte tenu des modifications apportées par LOEWUS (1952) nous avons adopté le mode opératoire indiqué ci-après.

Réactifs.

- . Solution à 2 p.100 d'anthrone (Serlabo) dans l'acétate d'éthyle redistillé : cette solution n'atteint sa stabilité que 4 heures après sa préparation et peut se conserver 24 heures dans un flacon brun bouché émeri.
- . Solution 'étalon de glucose à 0,600 g/l. Au moment de l'emploi, diluer avec de l'eau ou l'éthanol à 95° GL, dans les proportions telles que le titre alcoolique final soit de 30° GL ; prélever des fractions de 0,5, 1, 1,5 et 2 ml qui constituent les solutions étalons à 30, 60, 90, et 120 Y de glucose.
- . Acide sulfurique Merck.

Mode opératoire.

Dans des tubes maintenus dans un bain d'eau glacée, verser 2 ml des prises d'essais convenablement diluées, ajouter 0,5 ml de solution d'anthrone, puis lentement 5 ml d'acide sulfurique. Agiter et plonger aussitôt dans un bain-marie bouillant et les y maintenir pendant exactement 12 minutes. Refroidir dans un bain d'eau glacée et mesurer au spectrophotomètre, à 625 nm la densité optique des solutions colorées obtenues, contre un essai à blanc. La reproductibilité de la méthode est de l'ordre de 2 p.100.

Remarques.

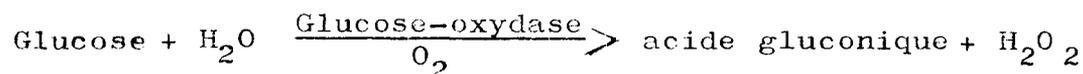
L'acétate d'éthyle contient parfois des aldéhydes et des peroxydes; ces impuretés peuvent être mises en évidence, les unes par le réactif de SCHIFF, les autres par la phénolphthaléine. Pour les éliminer, on procède aux opérations suivantes : laver 2 fois à l'eau distillée volume à volume, décanté la phase aqueuse, transvaser le solvant dans une fiole d'Erlenmeyer, y ajouter 12 g de sulfate de soude anhydre, après filtration y ajouter progressivement 150 g d'anhydride phosphorique en agitant la fiole d'Erlenmeyer dans un bain d'eau glacée, afin d'éviter une élévation trop brutale de la température. Laisser le tout en contact au moins 48 heures, décanté et distiller.

5°) Détermination du glucose et du saccharose par la glucose-oxydase.

La méthode à la glucose-oxydase (HUGGETT et NIXON, 1957) a été modifiée en raison de l'instabilité de la coloration, par plusieurs auteurs, (GUIDOTTI et al., 1961 ; GLEMMING et PEGLER, 1963). PIRT et WHELAN (1951), ainsi que TÄUFFEL et al. (1962) l'ont rendue plus spécifique par l'utilisation d'inhibiteurs d' α -glucosidases, qui risquent d'être présents soit dans les extraits étudiés, soit dans la préparation de glucose-oxydase purifiée. Nous avons étendu l'application de cette technique au dosage du saccharose après l'action de l'invertase, (JOHNSEN et al., 1964).

Principe.

Le glucose initialement présent dans les céréales et le glucose libéré du saccharose par l'action de l'invertase sont déterminés par la méthode à la glucose-oxydase, dont la réaction est la suivante :



Le glucose est transformé en acide gluconique par une oxydation catalysée par la glucose-oxydase, l'eau oxygénée est libérée.



L'eau oxygénée en présence de peroxydase réagit avec un donneur d'hydrogène l'orthodianisidine.

L'intensité de la coloration rouge orangée qui se forme, est proportionnelle à la quantité de glucose présent.

Réactifs.

- Solution étalon de glucose à 0,4 g/l

- Tampon TRIS

Dissoudre 61g trihydroxyméthylaminométhane dans 85 cm³ HCL 5 N et compléter à 1 litre avec l'eau distillée. Conserver au réfrigérateur.

- Solution de glucose-oxydase

Dissoudre 25 mg de glucose-oxydase type II Sigma, dans 25 cm³ de tampon TRIS. (Peut être conservée pendant 10 jours à -5°C).

- Solution de peroxydase

Dissoudre 15 mg de peroxydase type 1 Sigma, dans 25 cm³ tampon TRIS. (Peut être conservée pendant 10 jours à -5°C).

- Solution de chromogène

Dissoudre 50 mg d'orthodianisidine dans 10 cm³ d'alcool à 95° GL (Conserver au réfrigérateur).

- Solution d'invertase

Préparer une solution d'invertase (type IISigma levure) à raison de 2 mg dans 1 cm³ d'eau distillée.

- Tampon acétate 2M pH 4,7

Dissoudre 164 g d'acétate de sodium anhydre et 120 cm³ d'acide acétique dans 1 litre d'eau distillée, conserver au froid.

- HCL 5 N

- Alcool distillé 95° GL

Mode opératoire.

Hydrolyse enzymatique du saccharose.

Pipeter une quantité d'extrait ou d'une dilution de celui-ci, contenant entre 0,5 et 1,5 mg de glucose total dans une fiole jaugée de 25 cm³, ajouter 2,5 cm³ de tampon acétate préalablement dilué à une concentration de 0,1 molaire, ensuite ajouter 1 cm³ de la solution d'invertase, compléter au volume avec l'alcool à 30° GL et laisser agir pendant une nuit. (Titre de l'alcool 20° GL).

Détermination du glucose libre et du glucose libéré par

l'invertase.

Préparation de l'extrait alcoolique de céréales.

Pour la détermination du glucose libre, diluer si nécessaire l'extrait à une concentration de 20 à 60 Y de glucose par cm³.

Dilution de la solution étalon de glucose.

Diluer avec l'eau et l'alcool dans les proportions telles que le titre alcoolique final soit de 30° GL ou de 20° GL : 5, 10, et 15 cm³ respectivement dans 100 cm³. La prise d'essai de 1 cm³ de chacune de ces dilutions constitue les solutions étalons à : 20, 40 et 60 Y de glucose.

Mélange tampon-enzyme chromogène.

Préparer le mélange tampon-enzyme chromogène extemporanément du dosage dans les proportions suivantes :

Pipeter 20 cm³ de la solution de glucose-oxydase
 5 cm³ de la solution de peroxydase
 0,5 cm³ de la solution de chromogène

dans une fiole de 125 cm³ et compléter au volume avec du tampon Tris. La quantité de ce réactif doit être préparée en accord avec le nombre d'extraits à analyser.

Dosage.

- Pipeter 1 cm³ de chaque dilution de la solution étalon de glucose dans une série de tubes à essai ;
- Inclure un essai à blanc ;
- Pipeter 1 cm³ de l'extrait ou de l'hydrolysate enzymatique ou d'une dilution appropriée de celui-ci dans un tube à essai.

Au temps zéro ajouter 5 cm³ de la solution tampon-enzyme chromogène et laisser la réaction se développer à l'obscurité à la température ambiante (19 à 22°C). Après exactement 45 min., bloquer la réaction par addition de 0,25 cm³ HCL 5 N dans chaque tube. Lire la coloration jaune contre l'essai à blanc avec un spectrophotomètre à 400 nm.

Calcul.

Tracer une courbe d'étalonnage correspondant à chaque concentration d'alcool utilisée. La courbe doit passer par l'origine. En se reportant à cette droite, déterminer la concentration du glucose dans les extraits en prenant en considération les dilutions éventuelles. Déterminer la teneur en saccharose comme suit :
 (glucose total - glucose libre) x 1,90.

Dans les conditions opératoires, la reproductibilité des résultats est de l'ordre de 4 p.100 pour le glucose et de l'ordre de 5 p.100 pour le saccharose, cette reproductibilité comprend l'extraction et le dosage.

Remarques.

Inclure un essai avec le saccharose pur pour chaque série d'analyse, afin de vérifier si l'hydrolyse est complète. Augmenter si nécessaire la concentration de la préparation d'invertase.

Justifications du mode opératoire.

- Nous nous sommes assurés par plusieurs essais en milieu aqueux aussi bien qu'en milieu alcoolique des conditions optimales d'action de l'invertase. Dans les conditions décrites et en milieu alcoolique de 20 à 30° GL à pH 4,7 l'hydrolyse du saccharose est de 100 p.100 \pm 1 p.100.

- Nous avons également recherché la présence éventuelle dans les extraits alcooliques de substances inhibitrices vis-à-vis de l'invertase. Dans ce but, des quantités connues de saccharose ont été ajoutées à des extraits alcooliques provenant aussi bien des céréales immatures que mûres. Comme le montre le tableau XIII, aucun effet inhibiteur n'a été constaté, la quantité de saccharose étant retrouvée à 1,8 p.100 près.

Tableau XIII - Vérification de l'activité de l'invertase dans les conditions opératoires décrites par l'emploi d'une surcharge en saccharose.

	Extrait sur- chargé de 50 γ de saccharose	Extrait initial	Différence	Ecart sur le saccharose ajouté en γ
Maïs immature	113,9	62,7	51,2	+ 1,2
Maïs mûr	112,7	62,7	50,0	0
Blé immature	72,8	25,0	47,8	- 2,2
Blé mûr	81,9	32,7	50,2	+ 0,2

- Nous avons enfin examiné si des réactions de réversion se produisent en présence de l'invertase.

D'importantes quantités de glucose et de fructose purs, seules ou avec des quantités variables de saccharose, ont été mises en contact avec l'invertase dans des conditions opératoires décrites précédemment. Le tableau XIV montre que la quantité de glucose mise en oeuvre est retrouvée quantitativement.

Cette observation permet de penser que la réaction de l'invertase, dans nos conditions opératoires est uniquement celle de l'hydrolyse du saccharose en glucose et fructose.

Tableau XIV - Examen de l'action de l'invertase sur le saccharose en présence d'importantes quantités de glucose et de fructose.

Composition en glucides du milieu		Valeur en glucose γ				
Nature	Proportion en γ	Calculée	Dosée			
			Milieu aqueux	Ecart en γ	Milieu alcoolique 30°C	Ecart en γ
1) Saccharose	100	52,5	53,9	1,3	53,2	0,6
2) Glucose Fructose	50 50	50,0	50,2	0,2	49,9	0,1
3) Saccharose Glucose Fructose	50 25 25	52,3	50,4	1,9	51,7	0,6
4) Saccharose Glucose Fructose	10 40 40	55,5	54,4	1,10	54,5	1,0

- Selon WILLIAMS, (1951), les glucofructosanes, caractérisés par une mobilité lente sur un chromatogramme de papier sont hydrolysés par l'invertase, alors que ceux qui sont pratiquement immobiles ne le sont pas. Autrement dit, il semble que l'hydrolyse de la liaison β -glucosidique entre l'unité de glucose et de fructose se fait d'autant plus vite que la longueur de chaîne de ces constituants est courte.

Ceci signifie que la teneur en saccharose, déterminée par la glucose-oxydase après l'action de l'invertase, doit comprendre chez le blé et l'orge, un certain nombre d'unités glucose, provenant de glucofructosanes de poids moléculaire faible.

6°) Dosages du fructose et de ses homologues supérieurs.

Un grand nombre de réactifs, tels que le chlorhydrate de cystéine (DISCHE, 1951) le phénol (NAKAMURA, 1968) le résorcinol (ROE, 1949) la skatole (NAKAMURA, 1968) et l'antrone (GUIMBERTAU, 1960 ; BRUYN et al., 1968 ; VAN HANDEL, 1967 ; NAKAMURA, 1968) ont été proposés pour le dosage du fructose en présence d'autres oses et oligosides.

Aucun de ces réactifs ne peut être considéré comme spécifique. Pour aboutir à une réaction exclusive du fructose, on joue alors sur la température ou le temps de chauffage ; un autre moyen fréquemment utilisé pour essayer de distinguer entre le fructose et d'autres oses et oligosides, consiste à mesurer l'absorption des colorations obtenues à des longueurs d'ondes variables.

Cependant les méthodes au chlorhydrate de cystéine, au phénol et au résorcinol ne sont pas applicables en milieu alcoolique. C'est pour cette raison que nous nous sommes servis du réactif à l'antrone, qui permet de travailler directement avec l'extrait alcoolique.

Principe.

L'acide sulfurique concentré à 50°C ne transforme que le fructose et ses homologues supérieurs en dérivés furfuriques, formant avec l'antrone une coloration bleue, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de fructose présent.

Après avoir vérifié que, dans les conditions précisées par JOHNSON (1964), il n'y a effectivement en dehors du fructose et des fructosanes aucune réaction avec les autres glucides, nous avons adopté le mode opératoire suivant :

Réactifs.

- Solution d'antrone

Peser 0,5 g d'antrone (Serlabo) et 10 g de thiourée dans une fiole Erlenmeyer, ajouter 340 cm³ d'eau distillée. Puis, lentement ajouter 660 cm³ H₂SO₄ conc. Merck. Lorsque la température de

la solution atteint 90°C, l'anthrone se dissout. Ce réactif peut être conservé dans un flacon brun pendant 8 jours au réfrigérateur sans risque d'une décomposition, puisque la thiourée stabilise la solution.

- Solution étalon de fructose à 0,5 g/l

Au moment de l'emploi diluer respectivement avec l'alcool et l'eau dans les proportions telles que le titre alcoolique final soit 30° GL 2,5, 5, 7,5 et 10 cm³ dans une fiole de 50 cm³. Prélever de chacune de ces 4 dilutions 1 cm³ qui constituent des solutions étalons à 50, 100, 150 et 200 γ de fructose.

Mode opératoire.

Dans des tubes à essai, maintenus dans un bain d'eau glacée verser 1 ml de la prise d'essai contenant entre 50 et 200 γ de fructose. Ajouter 10 cm³ de réactif à l'anthrone. Agiter et plonger les tubes dans un bain-marie à 50°C, les y maintenir pendant 20 min. exactement. Refroidir sous l'eau courante. Préparer dans les mêmes conditions un essai à blanc et des solutions diluées de fructose pour chaque série.

Lire contre l'essai à blanc la densité optique des colorations bleues à 620 nm avec un spectrophotomètre.

Calcul.

Déterminer la concentration de fructose par rapport à la droite d'étalonnage, obtenue à partir des densités optiques des solutions de fructose de concentration connue. Tenir compte de la molécule de fructose du saccharose et, s'il y a lieu, de celle provenant du raffinose, lorsque ces oligosides ont été déterminés par ailleurs. (Reproductibilité 3 p.100).

L'application de la méthode décrite donne, dans le cas du blé et de l'orge un résultat qui comprend à la fois le fructose libre et les fructosanes.

Justifications du mode opératoire.

Nous nous sommes assurés par l'examen de la réaction dans des conditions opératoires précisées auparavant, avec divers glucides que le réactif de l'anthrone à 50°C réagit exclusivement avec la

molécule de fructose libre ou liée. Lorsque l'on soumet un mélange de glucides purs, constitué de glucose, de fructose et de saccharose, à la détermination du fructose, ce dernier est dosé avec une précision de 1,3 p.100.

Tableau XV - Vérification de la spécificité du dosage du fructose libre ou combiné par l'anthrone à 50°C, en présence de glucose.

Substrat	Valeur en fructose		
	Calculé	Dosé	Ecart en p.100
Glucose 50	0	0	0
Fructose 50	50	50,5	1,0
Glucose 25			
Fructose 25	38	37,5	1,3
Saccharose 25			

Nous avons été amenés également à étudier la méthode du dosage de fructose en utilisant l'inuline (Merck), substance qui s'approche quant à sa structure aux glucofructosanes rencontrés dans le blé et l'orge.

Avec un essai à l'anthrone à 100°C nous avons retrouvé 99,5 p.100 par rapport à une gamme de fructose de cette substance mise en oeuvre. L'essai à l'anthrone à 50°C, qui ne devait nous donner que la teneur en fructosanes en a montré 88,2 p.100. Compte tenu de 10 p.100 de glucose, qui sont présents dans l'inuline (catalogue Merck), on peut en déduire que les fructosanes totaux sont dosés de façon quantitative par la méthode décrite.

7°) Dosage du raffinose.

a) Dosage du raffinose par chromatographie sur papier.

La séparation du raffinose par chromatographie sur papier est effectuée selon la technique décrite par DRAPRON (1962), suivie du dosage à l'anthrone après son élution.

b) Dosage du raffinose par la galactose-oxydase d'origine Polyporus circinatus, Fr.

La galactose-oxydase, isolée d'abord par COOPER et al. en 1959, et identifiée par ces auteurs comme étant de nature flavo-protéique, a été ensuite étudiée par plusieurs chercheurs (ASENSIO et AMARAL, 1961 ; AVIGAD et al., 1962 ; AGRANOFF et al., 1962 et AMARAL et al., 1963).

En 1962, AVIGAD et al. signalent qu'il s'agit plutôt d'une protéine cuprique. La réaction de l'enzyme apparaît à première vue similaire à l'oxydation observée entre la glucose-oxydase et le glucose ; elle peut être suivie par la consommation d'oxygène (COOPER et al., 1959), la production d'eau oxygénée, ou par formation d'une coloration au moyen d'un chromogène (ROTH et al., 1965).

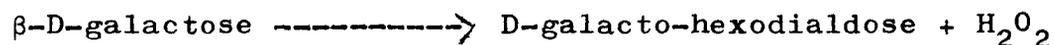
Cependant il existe une différence importante entre la réaction de ces deux enzymes ; l'oxydation catalysée par la galactose-oxydase d'origine *Polyporus circinatus* a lieu au groupement alcool primaire en position C-6 avec formation de D-galacto-hexodialdose et non en C-1 comme dans le cas de la glucose-oxydase.

La galactose-oxydase ne produit aucune réaction avec les glucides tels que fructose, glucose, saccharose ou maltose, elle ne réagit qu'avec le galactose libre ou lié, à condition que le groupement alcool primaire en position C-6 soit libre. Il apparaît même, selon les valeurs Km que les polyholosides constitués d'unités de galactose sont le véritable substrat de cette enzyme (AVIGAD et al., 1962). Nos propres expériences vont dans le même sens, puisque la vitesse de réaction observée avec le raffinose et le melibiose est plus grande que celle du galactose.

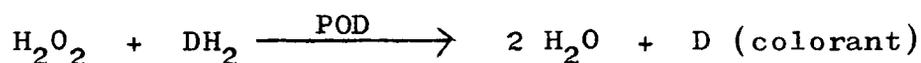
Toutefois, les produits étudiés dans le cadre de ce travail n'ont montré à aucun stade des expériences la présence de galactose libre ou de melibiose, ce qui nous a permis de doser le raffinose dans les céréales par cette méthode enzymatique.

Principe.

Par une réaction d'oxydation catalysée par la galactose-oxydase, le galactose est transformé en l'aldéhyde correspondant avec libération d'eau oxygénée.



L'eau oxygénée en présence de peroxydase réagit avec un donateur d'hydrogène.



L'intensité de la coloration rouge orangée qui se forme est proportionnelle à la quantité de raffinose présente.

Réactifs.

- Solution étalon de raffinose de 0,4 g/l
- Tampon glycine, 0,25 molaire, pH 9,7
- Réactif "Galactostat" (*), constitué de galactose-oxydase, de peroxydase et d'o-tolidine.

Dissoudre le chromogène dans 0,5 cm³ de méthanol, ajouter 30 cm³ d'eau environ, dissoudre le "galactostat" dans l'eau, l'ajouter à la solution de chromogène et compléter à 50 cm³ avec de l'eau.

Mode opératoire.

A 2 cm³ de la solution à doser, qui doit renfermer une quantité de raffinose comprise entre 20 et 60 γ, ajouter 2 cm³ du réactif "Galactostat", agiter et laisser une heure à 37°C. Bloquer la réaction avec 6,0 cm³ du tampon glycine. Lire la coloration jaune obtenue à 425 nm.

Calcul.

Préparer une courbe d'étalonnage de 20, 40 et 60 γ de raffinose dans les mêmes conditions. Cette courbe doit passer par l'origine. En se reportant à cette droite, déterminer la concentration en raffinose dans les extraits en prenant en considération les dilutions éventuelles.

Dans les conditions opératoires décrites la reproductibilité est de l'ordre de 2,5 p.100.

* Worthington Biochemical Corp., Freehols, N.J.

Remarque .

Il est également possible de préparer un mélange réactionnel à partir des produits fournis par SIGMA (*) (Galactose-oxydase, peroxydase, chromogène) dans les proportions analogues à celles du "Galactostat".

* SIGMA Chemical Company, St. Louis, Miss.

RESULTATS OBTENUS ET DISCUSSION

Les résultats que nous avons obtenus au cours de ces recherches seront exprimés en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison. Ceci devrait, comme nous l'avons déjà indiqué, faciliter la comparaison des évolutions observées pour les trois espèces de céréales et pour 2 années de culture avec une même variété.

Dans la figure 9, sont représentées les relations existantes entre la somme des températures moyennes journalières ($t_m^{\circ}C$) et le nombre de jours écoulés après la floraison, par rapport auquel sont généralement exprimés les résultats des travaux antérieurs.

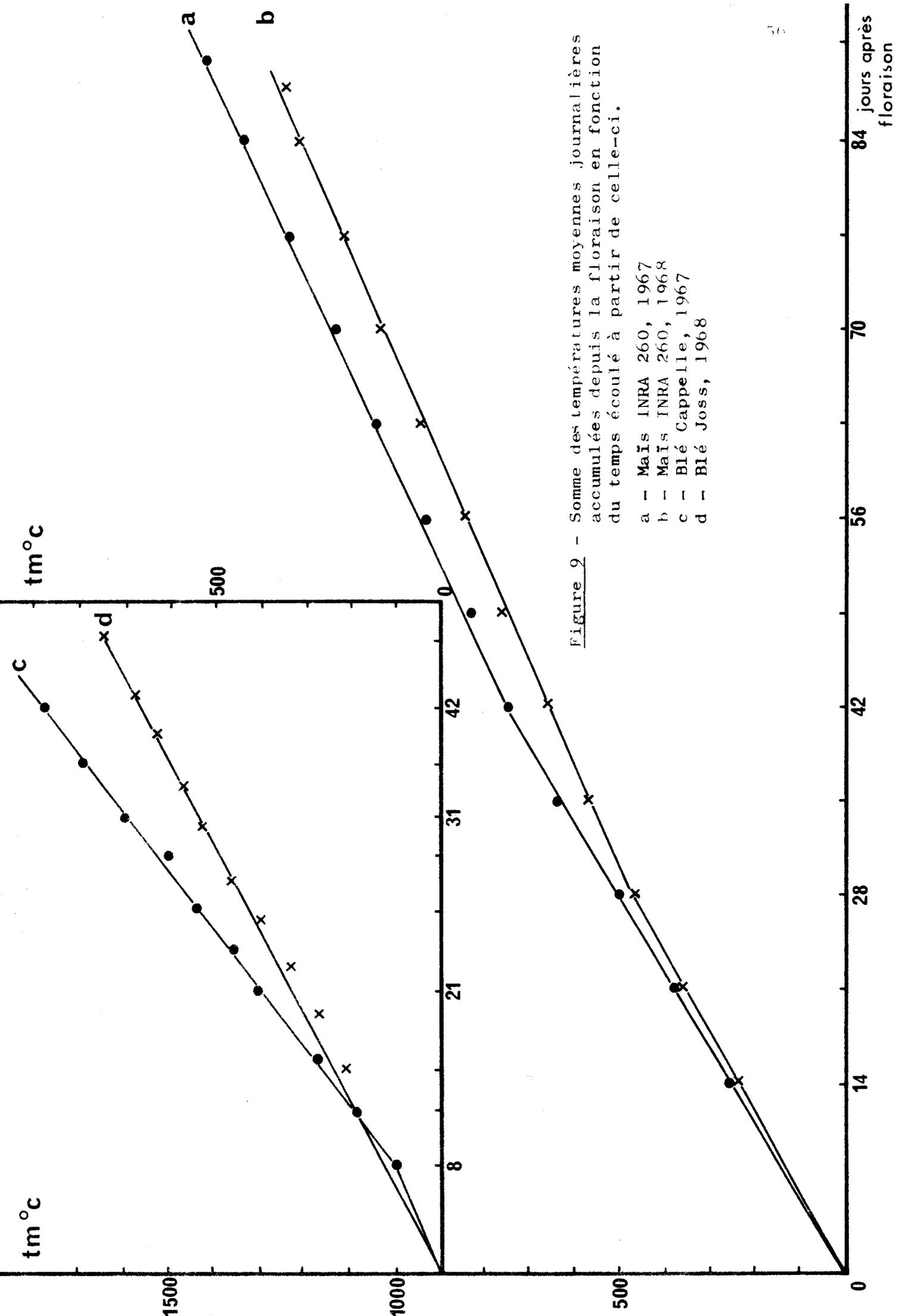
Par ailleurs nos résultats vont être présentés sous trois aspects différents :

- Nous suivrons, d'une part, l'évolution des divers constituants glucidiques des trois céréales rapportés à la substance sèche ;
- Nous exprimerons, d'autre part, les résultats obtenus par rapport au grain, c'est-à-dire, en suivant l'accumulation des constituants dans cet organe. Ceci permet de comparer l'évolution de la formation de chaque composant, pour les 3 céréales étudiées et dans le cas du maïs pour deux années de récolte.
- Enfin, nous examinerons pour chaque céréale l'évolution des divers constituants glucidiques, ainsi accumulés dans le grain pour tenter d'établir des relations éventuelles entre la formation de ces différents glucides.

I - EVOLUTION DES DIVERS CONSTITUANTS GLUCIDIQUES DES TROIS CEREALES RAPPORTES A LA SUBSTANCE SECHE.

Les tableaux XVI, XVII, XVIII, XIX et XX, résument l'ensemble de nos résultats rapportés à la substance sèche ; ils comportent les teneurs en polyholosides, amidon, pentosanes, cellulose et celles en glucides alcoolosolubles totaux et en certains des constituants de cette dernière fraction. Nous y avons figuré également le nombre de jours après la floraison ainsi que le facteur $t_m^{\circ}C$ correspondant à chaque prélèvement ; pour la plupart de ces expériences sont également indiqués la teneur en eau des grains au moment du prélèvement et le poids sec de 1000 grains.

Nous allons maintenant discuter ces résultats en nous reportant aux courbes que nous avons tracées à partir de ces données.



					Composition glucidique exprimée en p.100 de la substance sèche							
P.*	Nbre. de j. après floraison	tm °C**	H ₂ O prélèvement % s.h.	Poids de 1000 grains secs	Amidon	Pentosanes	Cellulose	Glucides alc.sol. totaux	Glucose	Fructose	Saccharose	Raffinose
1	14	263	88,3	22,2	20,55	7,16	2,47	40,43	11,10	6,07	19,10	-
2	21	383	77,7	56,4	46,80	5,71	2,26	16,61	6,54	6,22	1,54	-
3	28	505	65,5	95,2	52,95	4,00	2,05	10,40	4,02	4,07	2,12	-
4	35	640	56,6	123,8	57,95	4,60	1,85	10,49	1,82	2,14	4,47	-
5	42	750	51,7	189,0	58,75	4,34	1,65	7,34	0,88	2,64	3,30	-
6	49	830	46,6	204,0	57,95	3,94	1,71	6,31	0,63	0,60	4,55	-
7	56	930	45,4	220,0	60,75	3,73	1,76	4,87	0,41	0,52	3,49	-
8	63	1030	41,0	267,0	64,40	3,90	1,57	3,44	0,15	0,21	2,86	0,05
9	70	1130	37,5	270,0	71,70	4,55	1,55	3,57	0,11	0,37	2,34	0,12
10	77	1230	40,0	270,0	72,80	4,10	1,61	1,81	0,05	0,24	1,19	0,20
11	84	1330	35,1	280,0	71,50	4,42	1,82	1,39	0,02	0,14	0,89	0,23
12	91	1415	34,9	265,0	71,35	3,84	1,71	1,44	-	0,18	0,72	0,23

* = Prélèvement

** tm °C = somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison.

					Composition glucidique exprimée en p.100 de la substance sèche							
P.*	Nbre. de j. après floraison	tm °C**	H ₂ O pré-lèvement % s.h.	Poids de 1000 grains secs	Amidon	Pentosanes	Cellulose	Glucides alc. sol. totaux	Glucose	Fructose	Saccharose	Raffinose
1	14	235	89,8	9,5	6,1	10,28	5,20	40,65	13,05	11,18	10,40	-
2	21	355	83,6	38,7	34,7	6,81	3,20	25,75	7,93	6,36	8,10	-
3	27	470	76,3	77,1	56,8	5,45	2,48	14,50	4,40	1,86	8,75	-
4	35	565	63,9	122,7	57,5	5,08	1,97	11,90	1,25	1,20	7,30	-
5	42	665	64,1	169,6	60,0	4,08	1,74	9,74	1,37	2,31	4,95	-
6	49	760	53,8	205,5	62,2	4,13	1,85	7,65	0,85	1,31	5,25	-
7	56	845	50,2	275,8	64,4	4,11	1,78	5,45	0,44	1,10	3,84	-
8	63	945	45,2	270,5	60,9	4,44	2,04	5,40	0,27	0,45	3,54	0,12
9	70	1030	42,1	303,5	66,5	4,72	2,06	5,50	0,26	0,38	3,97	0,15
10	77	1115	44,2	305,3	67,7	4,71	1,89	4,20	0,12	0,40	2,78	0,20
11	84	1210	41,6	304,0	69,4	4,39	1,61	3,10	0,11	0,41	1,86	0,28
12	88	1240	43,4	301,5	71,1	4,49	1,80	2,25	0,03	0,26	1,25	0,31

* P. = Prélèvement

** tm °C = somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison.

Tableau XVIII - BLE CAPPELLE 1967

				Composition glucidique exprimée en p.100 de la substance sèche								
P*	Nbre. de j. après floraison	tm °C**	Poids de 100 g secs	Amidon	Pentosanes	Cellulose	Glucides calc.sol. totaux	Glucose	Saccharose	Raffinose	Fructoses Fructose	Fraction "X"
1	8	100	3,9	23,45	5,32	2,76	45,20	3,88	8,02	-	25,28	8,02
2	12	190	9,2	34,20	7,26	2,49	37,60	1,78	12,18	-	14,22	9,42
3	15	240	17,2	43,55	7,48	2,59	18,70	0,72	6,65	-	5,75	5,58
4	19	330	20,6	53,22	7,82	1,88	12,16	0,79	4,54	-	5,41	1,42
5	21	405	27,0	65,85	6,81	1,50	7,78	0,37	3,96	-	3,00	0,45
6	24	460	32,4	63,80	6,62	1,52	6,44	0,24	2,77	-	2,10	1,33
7	27	545	37,6	64,60	6,04	2,14	5,06	0,12	3,08	-	1,04	0,82
8	31	605	42,8	67,10	6,10	1,85	4,58	0,05	2,32	0,07	1,38	0,76
9	34	705	43,8	68,50	5,74	1,71	3,54	0,02	1,74	0,23	0,94	0,61
10	38	795	43,1	66,35	5,94	1,63	2,95	0,02	1,64	0,31	0,92	0,06
11	42	880	42,5	68,40	5,74	1,80	3,23	-	1,55	0,35	0,94	0,39

* P. = Prélèvement

** tm °C = somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison.

Tableau XIX - BLE JOSS 1968

					Composition glucidique exprimée en p.100 de la substance sèche								
P*	Nbre.de j.après floraison	tm °C**	H ₂ O pré-lèvement % s.h.	Poids de 1000 grains secs	Amidon	Pentosanes	Cellulose	Glucides alc. sol. totaux	Glucose	Saccharose	Raffinose	Fructosanes Fructose	Fraction "X"
1	15	210	74,6	6,26	19,10	6,4	2,97	46,20	5,56	5,06	-	28,93	6,55
2	19	275	72,6	11,80	35,1	6,24	2,98	25,80	1,25	8,83	-	14,67	1,05
3	22	335	66,3	16,60	52,1	6,34	2,77	15,50	0,30	7,10	-	6,71	1,35
4	26	405	61,0	22,75	60,8	6,60	2,75	8,75	0,89	3,93	-	4,05	-
5	29	465	56,6	29,20	65,5	6,95	2,20	5,80	0,09	2,71	-	2,31	0,69
6	33	525	52,6	33,35	65,6	6,60	2,70	5,00	0,08	2,50	-	2,40	-
7	36	570	48,2	35,25	65,8	6,92	2,11	4,57	0,08	2,17	traces	1,72	0,60
8	40	630	43,9	38,95	67,3	6,80	1,57	3,84	0,02	2,15	0,03	1,57	0,07
9	43	680	42,1	40,80	67,9	6,50	1,46	3,65	0,04	1,68	0,120	1,22	0,60
10	47	745	33,1	41,0	67,2	7,05	1,91	2,87	0,04	1,40	0,200	1,14	0,09

* P. = prélèvement.

** tm °C = somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison.

Tableau XX - ORGE IRIS 1967

				Composition glucidique exprimée en p.100 de la substance sèche								
P*	Nbre. de j. après floraison	tm °C**	Poids de 1000 grains secs	Amidon	Pentosanes	Celulose	Glucides alc. sol. totaux	Glucose	Saccharose	Raffinose	Fructosanes Fructose	Fraction "X"
1	9	140	4,50	13,23	3,63	1,32	63,95	1,90	16,60	-	22,10	23,35
2	12	195	7,00	27,32	3,78	1,18	43,05	0,392	14,10	-	9,60	18,95
3	15	235	9,30	40,10	3,81	1,17	29,60	0,351	9,27	-	13,33	6,65
4	18	280	17,55	43,20	8,63	7,81	14,20	0,16	5,04	-	5,53	3,46
5	21	315	19,75	47,90	8,24	7,05	8,94	0,16	3,62	-	3,96	1,20
6	24	360	24,55	49,60	10,10	5,06	7,10	0,19	3,22	-	2,36	1,36
7	28	455	29,85	57,00	8,14	4,93	4,62	0,06	2,85	-	0,65	1,06
8	32	525	34,50	57,50	7,28	4,30	4,90	0,07	2,54	0,080	1,00	1,21
9	38	670	36,70	59,60	7,09	3,77	2,97	0,02	0,98	0,200	0,62	1,14
10	44	760	36,90	58,90	7,12	3,83	2,55	0,01	0,72	0,250	1,17	0,40
11	49	870	37,80	60,20	6,15	4,10	2,70	0,02	0,74	0,280	1,10	0,56

* P. = prélèvement.

** tm °C = somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison.

A - POLYHOLOSIDES.

1°) Amidon.a) Cas du maïs.

Considérées très globalement les deux courbes (fig. 10) qui représentent la formation de l'amidon au cours de la maturation du grain de maïs en 1967 et 1968 ont une allure semblable. L'amidon, dans une première phase allant jusqu'à une somme de températures de $t_m = 450^\circ\text{C}$ (25e et 27e j.)* est, après une période de "latence", synthétisé rapidement, puis dans un stade ultérieur, son évolution se poursuit plus lentement.

Cependant, l'examen plus attentif des courbes met en évidence certaines différences. Le maïs cultivé en 1967 contient au début, pour des sommes de températures identiques, un plus fort pourcentage d'amidon que celui de 1968. Cette différence est de l'ordre de 10 p.100 en S.S. aux environs de $t_m = 250^\circ\text{C}$ (14e et 15e j.). Autrement dit, à cette somme de températures le maïs en 1967 a une teneur en amidon de 18 p.100 alors qu'en 1968 il n'en contient que 8 p.100.

Au-delà de cette somme de températures et jusqu'à $t_m = 400^\circ\text{C}$ (22e et 23e j.) pour les deux années l'évolution se présente d'une manière identique et c'est seulement à partir de $t_m = 425^\circ\text{C}$ (23e et 25e j.) que les phénomènes sont différents. A ce stade, le maïs cultivé en 1968 devient plus riche en amidon ; la teneur de celui-ci s'accroît de façon sensiblement linéaire et atteint son maximum de 71,1 p.100 pour une $t_m = 1250^\circ\text{C}$ (85e j.) Il en est autrement chez le maïs cultivé en 1967 ; après une croissance linéaire entre $t_m = 425^\circ\text{C}$ (23e j.) et 650°C (37e j.), la teneur cesse d'évoluer entre $t_m = 675^\circ\text{C}$ (38e j.) et 875°C (52e j.), puis au-delà un accroissement s'amorce de nouveau. Le palier final voisin de 71 p.100 est atteint à $t_m = 1150^\circ\text{C}$ (72e j.) ce qui représente un décalage de $t_m = 100^\circ\text{C}$ par rapport à l'année précédente.

* Les chiffres entre parenthèse correspondent aux jours écoulés depuis la floraison, le premier en 1967, le deuxième en 1968.

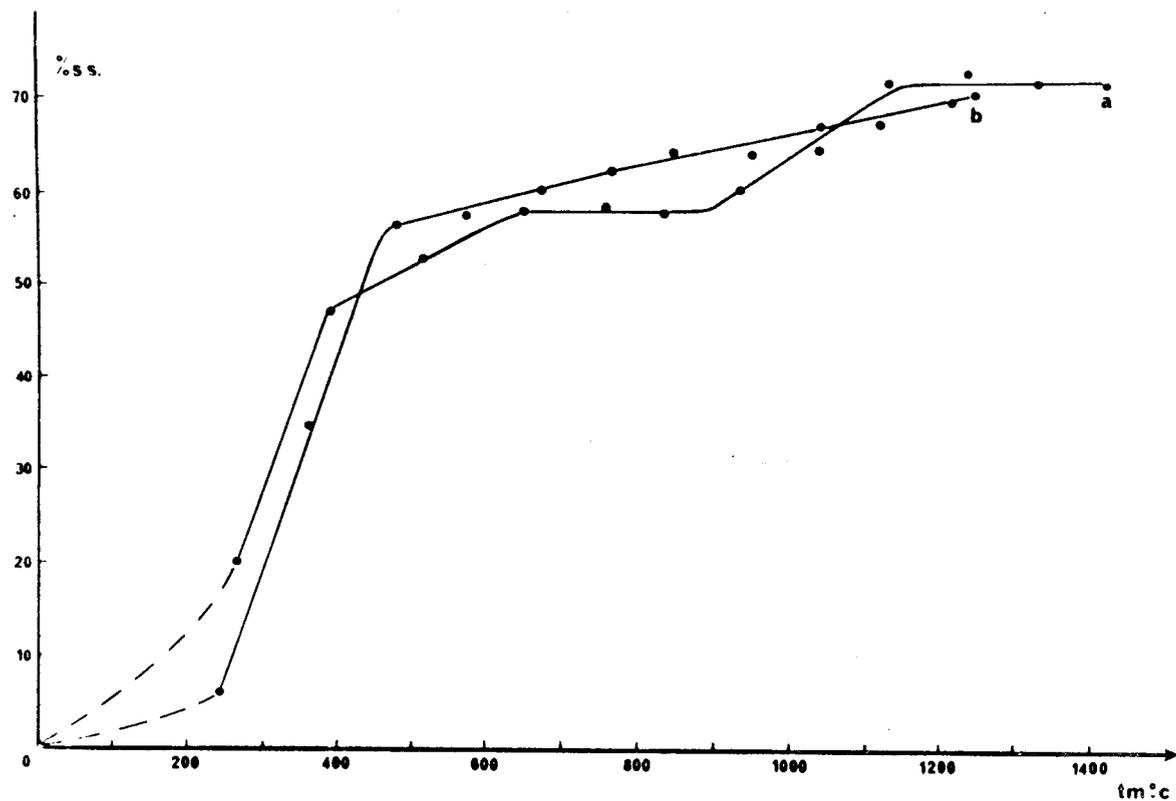


Figure 10.

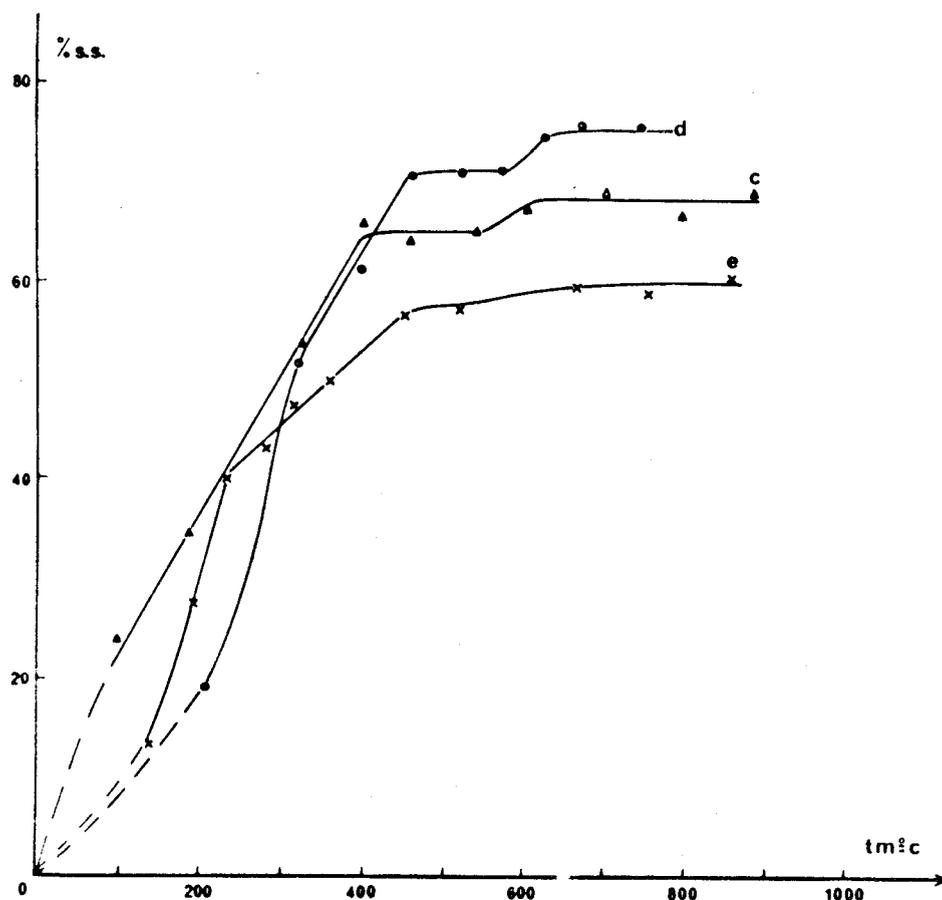


Figure 11.

Evolution de la teneur en amidon, rapportée à la substance sèche, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$)

a - maïs INRA 260, 1967

b - maïs INRA 260, 1968

c - blé Cappelle

d - blé Joss

e - orge Iris

b) Cas du blé et de l'orge.

Pour ces grains de céréales, les courbes (fig. 11) qui représentent l'évolution de leur teneur en amidon se ressemblent aussi quant à leur allure générale : formation rapide de l'amidon dans la première phase, ralentissement avec apparition d'un ou deux paliers dans la dernière.

Remarquons toutefois, que la teneur en amidon de Cappelle en 1967 s'accroît au début plus rapidement que celle de Joss (1968), l'inverse se produisant ensuite. Pour la somme de températures égale à $t_m = 350^\circ\text{C}$ (20e et 23e j. *) les deux courbes se rencontrent ; au-delà, le pourcentage d'amidon formé chez le blé Joss commence à dépasser celui du Cappelle. Dans la dernière phase allant de $t_m = 400^\circ\text{C}$ (21e et 25e j.) - 750°C (37e et 47e j.) l'évolution de l'amidon des deux blés se poursuit en deux étapes avec la seule différence que la teneur en amidon de Joss est sensiblement plus élevée que celle de Cappelle.

La courbe qui montre l'évolution de l'amidon dans le grain d'orge ressemble par sa forme dans la première phase à celle du blé Joss, avec une période d'accroissement très rapide suivie d'une évolution un peu plus lente. La seconde phase a une allure comparable à celle observée pour les deux blés ; la teneur finale en amidon de l'orge reste très sensiblement inférieure à celle de ces derniers.

Malgré des variations dans l'allure des différentes courbes obtenues, la comparaison des trois céréales permet de dégager les points suivants : la période d'accroissement très rapide de l'amidon dans les grains débute à une somme de températures moyennes plus faible pour le blé et l'orge que pour le maïs, respectivement vers $t_m = 100^\circ\text{C}$ (7e j.), 180°C (11e j.) et 250°C (14e j.). Par contre, pour les trois céréales la fin de croissance rapide de la teneur en amidon se produit aux environs de $t_m = 475 - 500^\circ\text{C}$ (soit entre le 28e et le 31e j., sauf pour le Cappelle 25e j.).

Enfin le palier final est atteint chez l'orge et chez les blés Joss et Cappelle vers $t_m = 625^\circ\text{C}$ (soit respectivement au 37e, 40e 36e j.), alors qu'il n'apparaît chez le maïs que pour une somme de température moyenne de l'ordre de 1.200°C (75e et 83e j.).

* Les chiffres entre parenthèse correspondent aux jours écoulés depuis la floraison, le premier blé Cappelle, le deuxième blé Joss.

2°) Pentosanes.a) Cas du maïs.

L'allure générale des courbes représentées dans la fig. 12 est caractérisée par une décroissance plus ou moins régulière avec tendance vers un palier.

La comparaison des teneurs en pentosanes des deux maïs met en évidence des différences surtout au début de la formation des grains ; le maïs récolté en 1968 en contient plus que celui de 1967 entre $t_m = 250^\circ\text{C}$ (14e et 15e j.) et 600°C (34e - 35e j.). Dans la période ultérieure, la teneur est sensiblement la même dans les deux cas.

b) Cas du blé et de l'orge.

Chez les deux blés l'évolution est sensiblement différente (fig. 13) ; la teneur en pentosanes de Joss ne montre que de très faibles fluctuations tout au long de la formation du grain ; Cappelle par contre, en présente une quantité croissante entre les températures moyennes de 100°C (7e j.) et 325°C (18e j.), qui diminue lentement jusqu'à $t_m = 550^\circ\text{C}$ (28e j.) pour ensuite rester pratiquement constante.

Cappelle a une plus forte teneur en pentosanes que Joss , jusqu'à $t_m = 400^\circ\text{C}$ (21e j. et 26e j.), c'est l'inverse qui se produit par la suite.

La teneur en pentosanes de l'orge d'abord stable, augmente en deux étapes successives entre $t_m = 225^\circ\text{C}$ (14e j.) et 370°C (23e j.) pour diminuer et ensuite jusque vers $t_m = 525^\circ\text{C}$ (31e j.) et pratiquement ne plus varier jusqu'à la fin de la maturation.

En somme, dans la première phase de la formation du grain, jusqu'à t_m voisin de 250°C (14e et 15e j.) le maïs contient à peu près autant sinon plus de pentosanes que le blé et l'orge. Par contre, dans la dernière phase de la maturation, les teneurs en pentosanes des blés sont supérieures à celles des maïs, et l'orge présente la teneur la plus élevée.

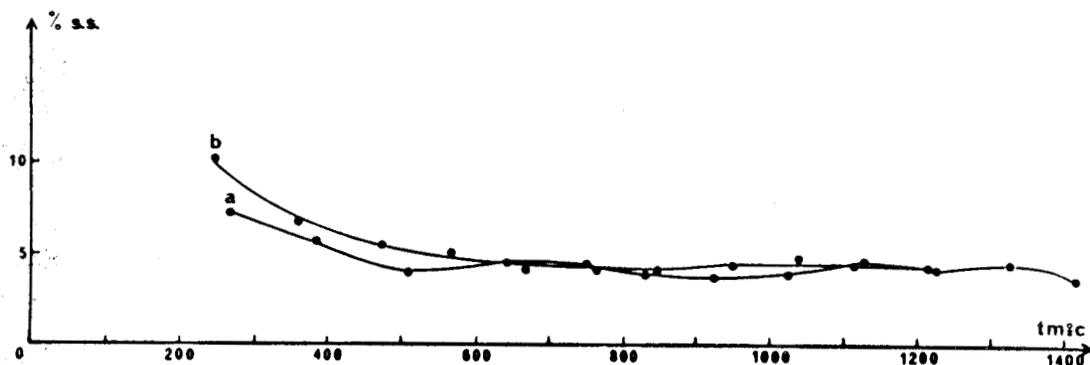


Figure 12.

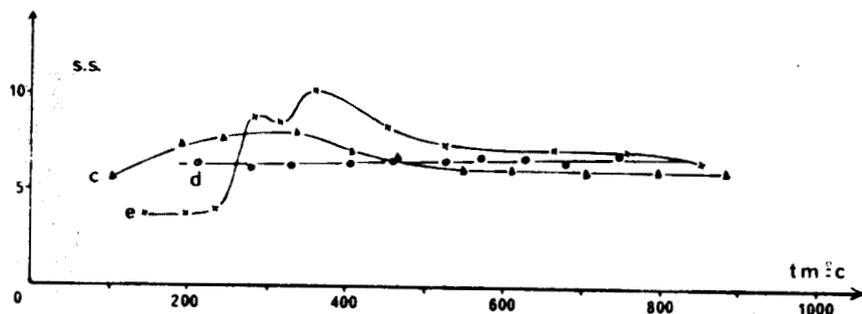


Figure 13.

Evolution de la teneur en pentosanes, rapportée à la substance sèche, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$).

a - maïs INRA 260, 1967 c - blé Cappelle e - orge Iris
b - maïs INRA 260, 1968 d - blé Joss

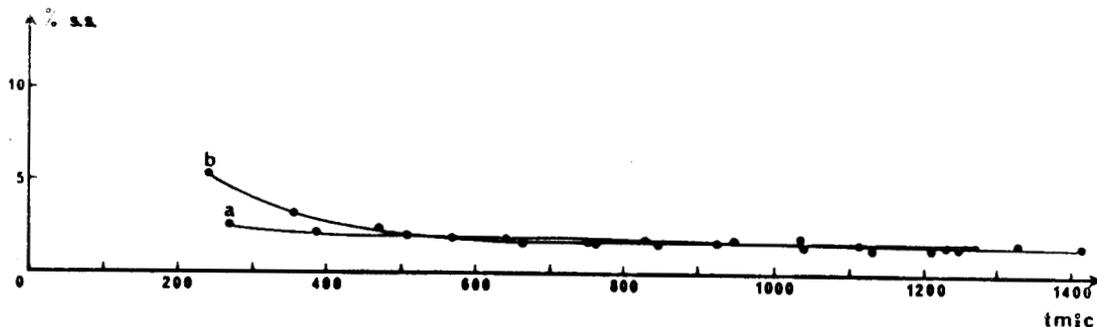


Figure 14.

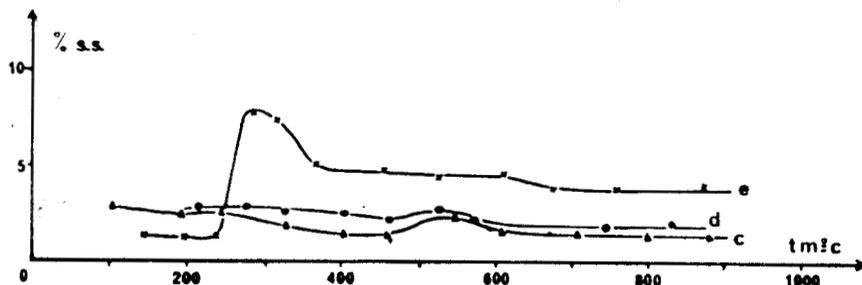


Figure 15.

Evolution de la teneur en cellulose, rapportée à la substance sèche, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$).

a - maïs INRA 260, 1967 c - blé Cappelle e - orge Iris
b - maïs INRA 260, 1968 d - blé Joss

On peut penser que des prélèvements du maïs réalisés plus tôt, auraient permis de mettre en évidence le passage de la courbe par un léger maximum comme chez les autres céréales. Quoi qu'il en soit, il convient de souligner l'allure très particulière présentée par l'évolution des pentosanes de l'orge, due au fait que l'on a affaire à un caryopse encore recouvert de ses glumelles qui sont particulièrement riches en ce constituant. De même, les teneurs finales plus faibles du maïs sont à attribuer à la plus faible proportion de parties périphériques existant dans ce grain.

3°) Cellulose.

a) Cas du maïs.

Si les différences entre les teneurs en pentosanes des deux maïs sont déjà très faibles, elles le sont encore plus en ce qui concerne la cellulose, sauf pour le grain très jeune (fig. 14); à nouveau le maïs 1968 est plus riche en cellulose entre $t_m = 250^\circ\text{C}$ (14e - 15e j.) et 450°C (27e et 29e j.). Au-delà de cette somme de températures, les deux courbes sont pratiquement confondues.

b) Cas du blé et de l'orge.

Nous remarquons (fig. 15) que les teneurs en cellulose des deux blés ne sont pas très différentes ; du début de la formation du grain à la maturité, elles décroissent lentement pour tendre vers un palier avec cependant un passage par un léger maximum aux environs de $t_m = 525^\circ\text{C}$ (27e et 33e j.).

L'orge, par contre, montre une évolution différente, sa teneur en cellulose au début est plus faible que celle des blés. A partir de $t_m = 250^\circ\text{C}$ (15e j.) elle augmente considérablement, croissance qui d'ailleurs coïncide avec celle des pentosanes pour ensuite diminuer rapidement et tendre par étapes vers une valeur constante, supérieure à celle des blés.

A la maturité, les grains de maïs et de blé ont sensiblement la même teneur en cellulose qui est de l'ordre de 1,80 p.100, l'orge en est environ deux fois plus riche.

B - LES OLIGOSIDES ET LES OSES.

1°) Caractérisation qualitative par chromatographie sur papier.

En raison des très grandes différences existant entre les teneurs en glucides alcoolosolubles totaux des échantillons récoltés à différents stades de leur maturation, une quantité donnée d'un extrait alcoolique renfermant le même nombre de γ (900) de glucides a été déposée sur les chromatogrammes. Ceci permet de distinguer les différents glucides présents, d'en identifier certains par repérage vis-à-vis de "marqueurs" et d'avoir une idée approximative de la proportion respective qu'ils représentent dans la fraction glucidique alcoolosoluble.

Il convient ici de remarquer qu'il n'a malheureusement pas été possible de rendre sur les photographies l'image exacte des chromatogrammes originaux. En effet, les légères nuances de coloration, ainsi que de faibles traces de certains composants visibles immédiatement après la révélation, n'apparaissent pas sur les photographies. Aussi, serons-nous amenés à faire état de ces observations au cours de la discussion, car elles permettent de montrer certains aspects intéressants.

a) Cas du maïs.

Etant donné que les expériences en 1967 et 1968 ont porté sur la même variété de maïs (INRA 260) et que cette appréciation qualitative a pour ainsi dire été identique dans les deux cas, nous ne représenterons ici que les chromatogrammes relatifs au maïs 1968; (fig. 16).

Le fructose, le glucose et le saccharose sont présents dans tous les échantillons, cependant leur proportion dans la fraction alcoolosoluble varie en fonction de l'état de maturation des grains. L'apparition du raffinose a lieu 63 jours après la floraison ($t_m = 940^\circ\text{C}$); sa proportion est faible à ce stade, mais elle augmente ensuite progressivement jusqu'à la maturité.

En dehors de ces quatre sucres, glucose, fructose, saccharose et raffinose, nous avons pu constater sur les chromatogrammes la présence de traces extrêmement faibles de glucides situées entre la ligne de départ et le saccharose. Afin de mettre ces constituants plus nettement en évidence et dans le but de mieux juger la coloration qu'ils donnent avec la diphénylamine-aniline, une grande quantité de sucres (5400 γ) a été déposée sur le papier (fig. 17).

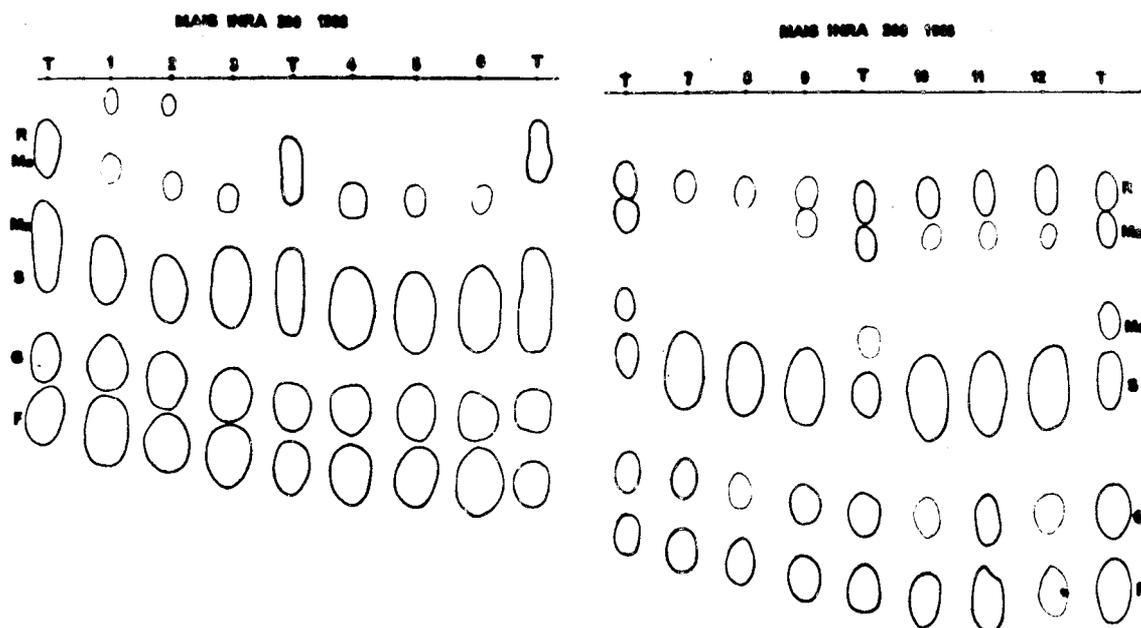


Figure 16

Chromatogrammes des glucides alcoolosolubles extraits du maïs INRA 260, 1968 (dépôt 900Y) T - marqueurs, R - raffinose, Me - melibiose, Ma - maltose, Sa - saccharose, G - glucose, F - fructose.

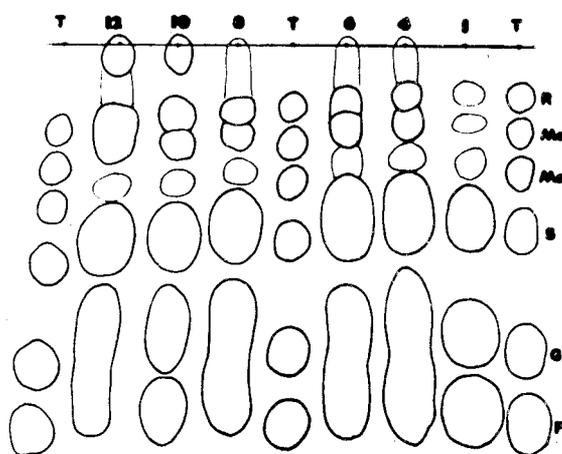


Figure 17

Chromatogramme des glucides alcoolosolubles extraits du maïs INRA 260, 1968 (dépôts 5400 Y) T - marqueurs, R - raffinose, Me - melibiose, Ma - maltose, Sa - saccharose, G - glucose, F - fructose.

Après révélation on note, dans les "traînéees" de la fraction peu mobile, trois taches, dont une est sans ambiguïté du maltose, du fait de son Rf et de sa coloration par rapport au témoin maltose. La deuxième tache, ayant la même valeur Rf que le melibiose, donne une couleur vert-gris, qui n'est pas celle du melibiose pur, (vert-bleu). La troisième tache, qui se place à la hauteur du raffinose doit pourtant être, au moins pour les échantillons prélevés 14 à 56 jours après la floraison, ($t_m = 250 - 850^\circ\text{C}$) d'une autre nature, étant donné que sa coloration est gris-bleu, alors que celle du raffinose est vert-bleu. C'est seulement 63 jours après la floraison ($t_m = 950^\circ\text{C}$) que vient se surajouter le raffinose, comme nous avons déjà pu le constater sur les chromatogrammes, réalisés avec un plus faible dépôt de glucides.

La connaissance précise de la nature de ces oligosides nécessite leur étude, une fois isolés des autres constituants, soit par voie enzymatique soit par hydrolyse acide. A l'heure actuelle, on peut faire l'hypothèse qu'il s'agit de petites chaînes de glucosanes, déjà signalé^{es} par d'autres auteurs (LECLERC-DUCATEL, 1964 ; TOLLIER, 1968).

b) Cas du blé.

En raison de la grande similitude des chromatogrammes obtenus avec la fraction glucidique alcoolosoluble des deux blés étudiés, nous limiterons notre discussion au cas du blé Joss (fig. 18). Nous remarquons dans tous les prélèvements la présence de : fructose, glucose, saccharose. Précisons que les quantités de fructose et glucose importantes au début, deviennent vite très faibles et que le maltose est présent à l'état de traces seulement. La tache qui se situe entre le melibiose et le maltose et qui semble être un glucodifuctose (néokestose ?) est présente dans tous les échantillons et en quantité croissante en fonction de la maturation.

A partir du 36^e jour après la floraison ($t_m = 610^\circ\text{C}$) on observe l'apparition du raffinose, ce dernier étant présent en quantité croissante jusqu'à la fin de la maturation.

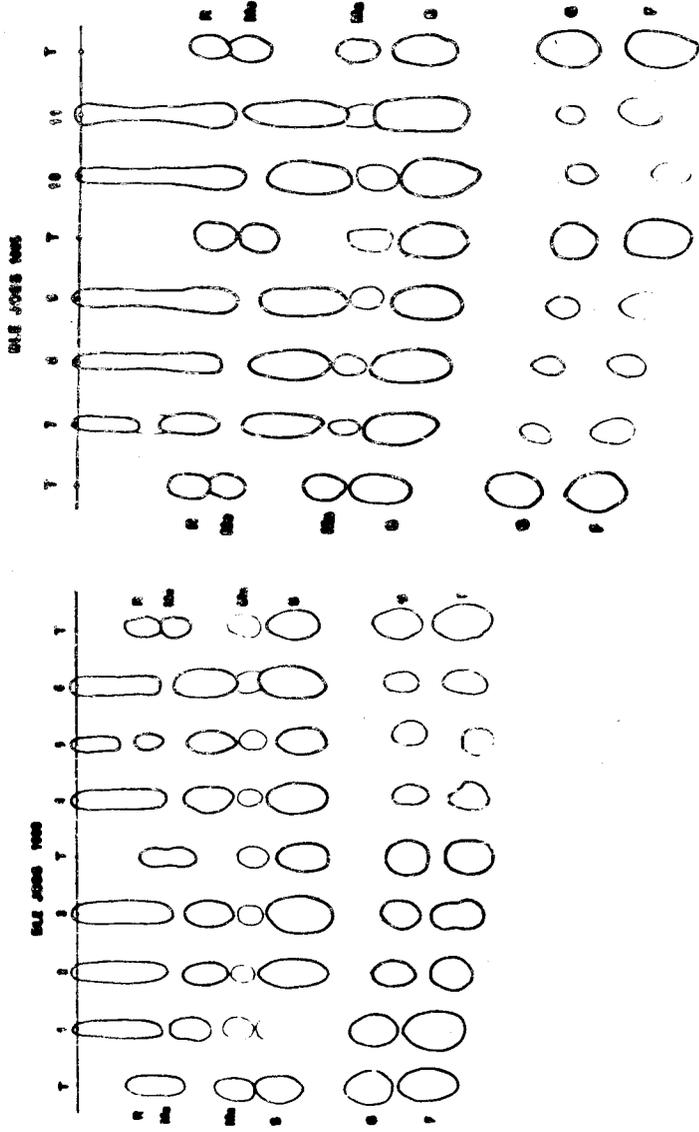


Figure 10

Chromatogrammes des glucides alcoolosolubles extraits du blé Joss (dépôt 900Y) T - marqueurs, R - raffinose, Me - melibiose, Ma - maltose, S - saccharose, G - glucose, F - fructose.

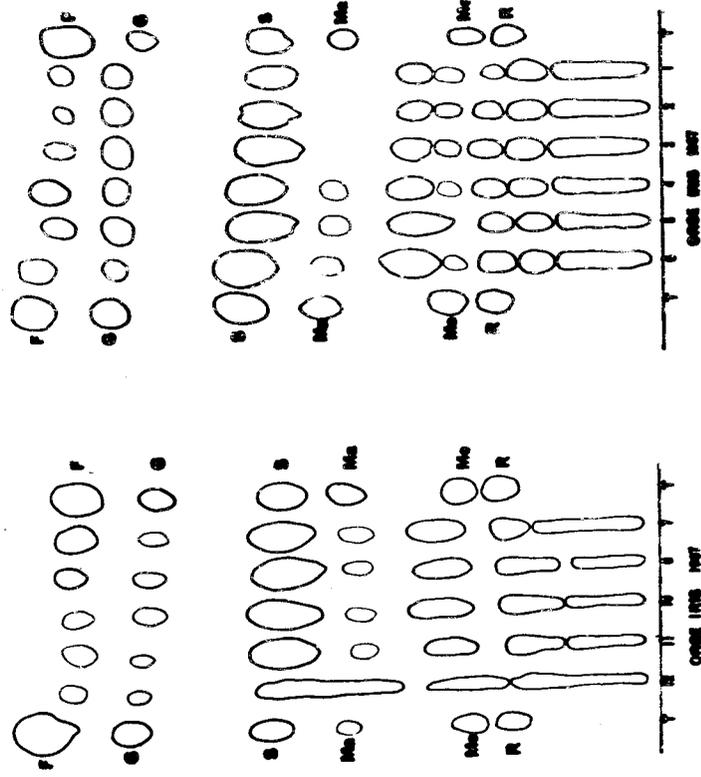


Figure 11

Chromatogrammes des glucides alcoolosolubles extraits de l'orge Iris (dépôt 900Y) T - marqueurs, R - raffinose, Me - melibiose, Ma - maltose, S - saccharose, G - glucose, F - fructose.

Il convient de noter par ailleurs la présence dans tous les échantillons, d'un oligoside dont la tache se place à la hauteur du témoin raffinose. La révélation à la diphénylamine-aniline nous a permis de voir que ce sucre, ayant la même valeur Rf que le raffinose, est d'une autre nature jusqu'au 31^e jour après la floraison ($t_m = 520^\circ\text{C}$) : la tache correspondante montre très nettement une couleur brune, alors que le raffinose se colore en vert-bleu.

En dehors des sucres mentionnés, on remarque une fraction peu mobile, voire même immobile, constituée de divers oligosides mal séparés. Cette fraction, qui est particulièrement importante 15 à 26 jours après la floraison ($t_m = 200 - 400^\circ\text{C}$) diminue ensuite mais l'extrait alcoolosoluble du grain mûr en semble de nouveau plus riche.

c) Cas de l'orge.

Considérés globalement, les chromatogrammes (fig. 19) des extraits de l'orge ressemblent à ceux du blé, à savoir qu'ils contiennent à tous les stades de la formation de ce grain : saccharose, glucose et fructose ; ces deux derniers apparaissent en quantité faible pendant toute la période étudiée. Nous remarquons également des traces de maltose à partir du 15^e jour après la floraison ($t_m = 240^\circ\text{C}$). Ici encore, il existe comme dans le blé un oligoside avec la même valeur Rf que le raffinose, mais qui se colore en brun avec la diphénylamine-aniline ; l'apparition du raffinose proprement dit ne s'observe que 32 jours après la floraison ($t_m = 540^\circ\text{C}$).

Légèrement au-dessus du melibiose se place une tache colorée en brun qui diminue 18 à 21 jours après la floraison ($t_m = 300 - 350^\circ\text{C}$) pour ensuite disparaître totalement. Enfin nous retrouvons également ici la fraction peu mobile, constituée d'oligosides de poids moléculaire plus élevé, dans laquelle on peut distinguer la présence de trois taches importantes au début de la formation du grain et qui, en fonction de la maturation diminuent.

Tous ces oligosides non identifiés dans le cas du blé et de l'orge, ainsi que la fraction peu mobile prennent, après la révélation à la diphénylamine-aniline une coloration brune, qui se rapproche de celle du fructose et on peut supposer qu'il s'agit de petites chaînes de glucofructosanes. Le chromatogramme d'un

hydrolysats de cette fraction peu mobile provenant d'un blé a d'ailleurs permis de mettre en évidence la présence de fructose, accompagnée d'une plus faible proportion de glucose.

2°) Teneur en glucides alcoolosolubles totaux.

a) Cas du maïs.

La figure 20 montre comment évoluent les teneurs en glucides alcoolosolubles totaux des deux maïs au cours de la maturation. Les courbes relatives aux deux années de culture ont une allure semblable. Une chute brutale des importantes quantités de sucres présentes au début se produit dans la première phase entre $t_m = 250^\circ\text{C}$ (14e - 15e j.) et 600°C (34e - 39e j.), les teneurs diminuent à peu près de 40 à 10 p.100. Cette diminution se poursuit dans le stade ultérieur, mais de façon plus lente et semble-t-il par étapes successives. Le maïs de 1968 contient à maturité plus de glucides alcoolosolubles que celui de 1967 (respectivement 2,25 et 1,44 p.100).

Il convient peut-être ici de discuter très brièvement les résultats des teneurs en glucides alcoolosolubles totaux dosés à l'anthrone, dont les valeurs sont arbitraires en raison de leur expression par rapport à une gamme d'étalonnage de glucose. Ceci d'autant plus que le maïs à ses différents stades de la maturation, contient des proportions fort variables de saccharose, de glucose, de fructose et dans certains cas de raffinose. Il est certain que ces oses et oligosides donnent avec l'anthrone une coloration dont les absorbances diffèrent sensiblement. Toutefois, il s'est avéré que la comparaison des sucres dosés à l'anthrone et la somme des sucres dosés individuellement aboutit à la même évolution de ces constituants, malgré certaines différences entre les résultats respectifs (ces écarts sont en moyenne de l'ordre de 10 à 15 p.100, tableau XXI).

Tableau XXI - Comparaison de la teneur en glucides alcoolosolubles dosée à l'anthrone ou calculée à partir du dosage des différents composants (Maïs INRA, 1968).

Jours après la floraison	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84	88
Gluc. alc. sol. totaux :												
Dosés	40,4	16,6	10,4	10,5	7,34	6,30	4,90	3,44	3,57	1,81	1,39	1,44
par sommation	36,3	14,3	10,2	8,5	5,10	6,00	4,52	2,44	3,05	1,79	1,39	1,24

b) Cas du blé et de l'orge.

Les courbes présentées dans la figure 21 ont la même allure générale que celle déjà constatée pour les maïs. Toutefois, la diminution des oses et oligosides totaux s'effectue plus rapidement au début ; elle passe dans un intervalle de $t_m = 200^\circ\text{C}$ (entre $t_m = 200^\circ\text{C}$, 12^e j. et 400°C , 21^e, 26^e et 23^e j.) de 40 à 10 p.100. L'orge et le blé Cappelle ont pour ainsi dire la même teneur en glucides alcoolosolubles à la maturité, le blé Joss en est un peu plus riche.

En somme la seule différence que l'on peut constater entre le maïs et les autres céréales, c'est qu'il contient plus d'oses et oligosides pour les mêmes sommes de températures pendant sa formation, mais qu'à l'état mûr, son grain en est plus pauvre.

3°) Saccharose.

a) Cas du maïs.

Le sens général de la variation observée pour la teneur en saccharose (fig. 22) au cours de la formation des grains est une diminution par étapes, le minimum étant atteint à la maturité. Cependant, les courbes présentent au début des différences sensibles d'une année à l'autre. La teneur en saccharose du maïs en 1967, de l'ordre de 20 p.100 pour $t_m = 250^\circ\text{C}$ (14^e j.), tombe brutalement à 3 p.100 vers $t_m = 350^\circ\text{C}$ (20^e j.), celle du maïs 1968 évolue de 10 à 8 p.100 seulement dans le même intervalle de températures. On peut se demander, si pour des prélèvements plus précoces il aurait été possible d'observer également des teneurs en saccharose plus élevées chez le maïs 1968.

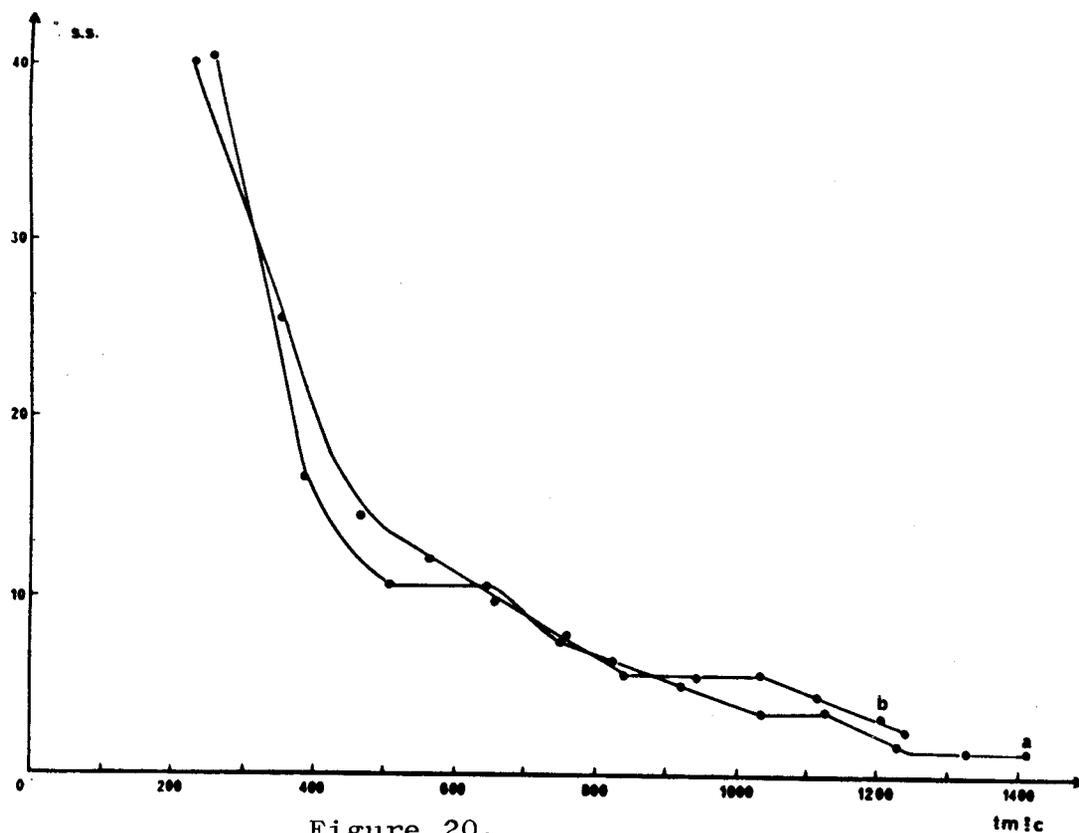
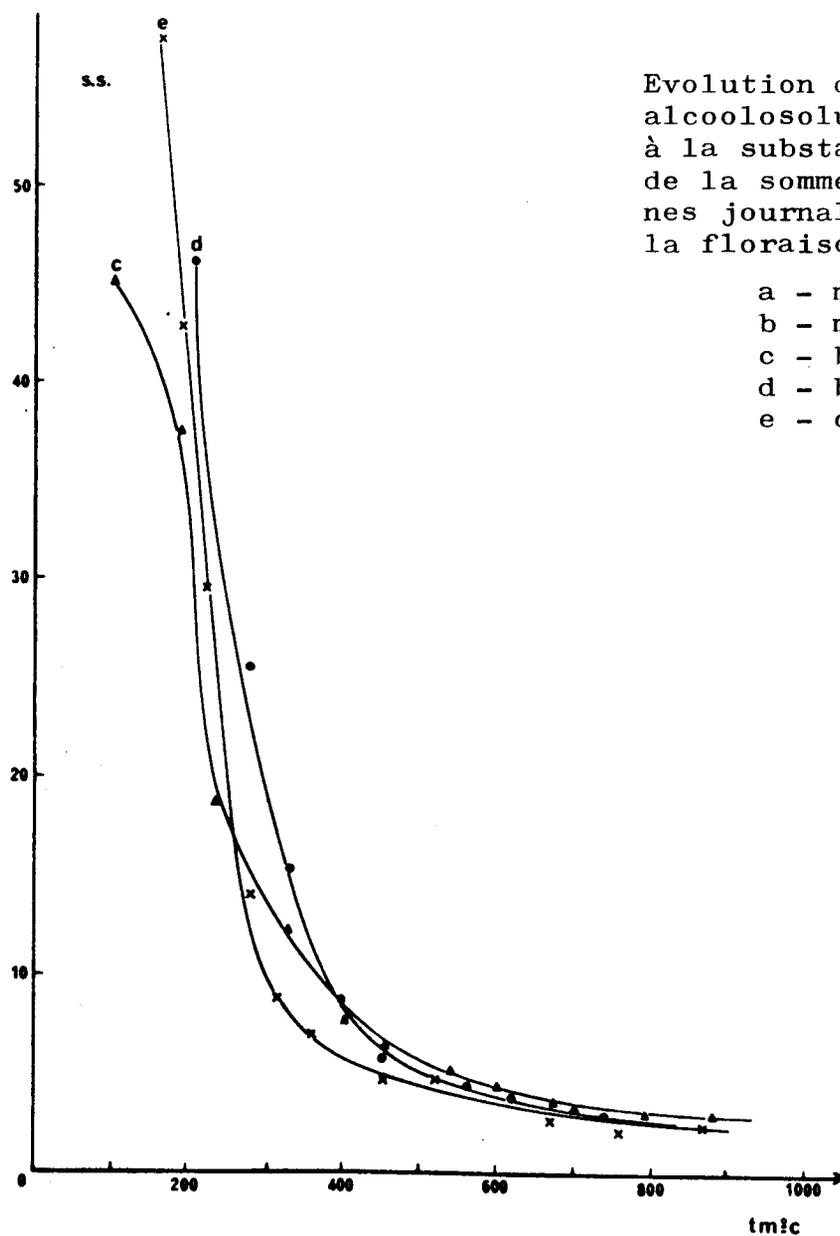


Figure 20.



Evolution de la teneur en glucides alcoolosolubles totaux, rapportée à la substance sèche, en fonction de la somme des températures moyennes journalières, accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$).

- a - maïs INRA 260, 1967
- b - maïs INRA 260, 1968
- c - blé Cappelle
- d - blé Joss
- e - orge Iris

Figure 21.

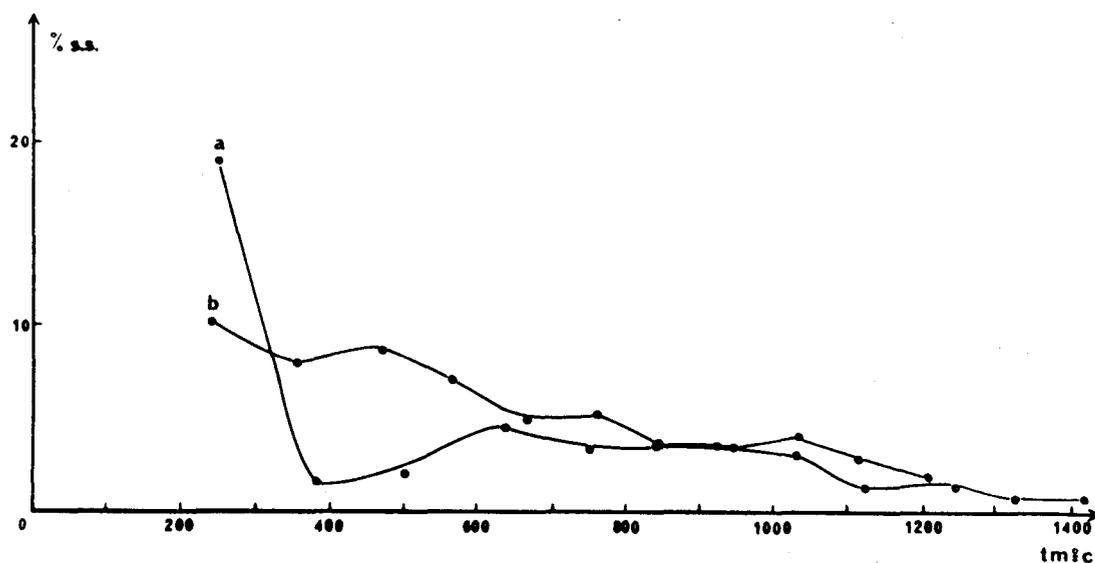


Figure 22.

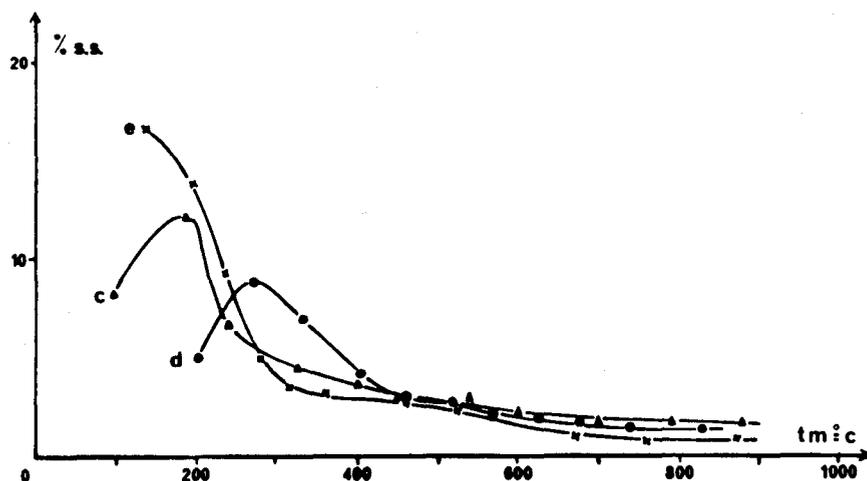


Figure 23

Evolution de la teneur en saccharose, rapportée à la substance sèche, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$).

- | | | |
|-------------------------|------------------|---------------|
| a - maïs INRA 260, 1967 | c - blé Cappelle | e - Orge Iris |
| b - maïs INRA 260, 1968 | d - blé Joss | |

b) Cas du blé et de l'orge.

Rappelons d'abord, comme nous l'avons déjà indiqué (p. 48) que pour ces céréales contenant des glucofructosanes, le mode de dosage utilisé pour le saccharose conduit sans doute à des valeurs par excès. Cependant on peut estimer que les résultats obtenus reflètent essentiellement l'évolution du saccharose.

On constate sur la figure 23 un maximum de saccharose pour les deux blés et on peut supposer que l'on aurait pu observer la même chose chez l'orge si on avait effectué un prélèvement plus précoce. La courbe relative à la quantité de saccharose présente dans le blé Joss est semblable à celle du Cappelle, mais les positions des 2 maxima sont nettement décalées. L'orge montre aux premiers stades une quantité de saccharose supérieure aux blés, à la fin, c'est l'inverse qui est observé.

En fait, si l'on compare les évolutions des teneurs en saccharose observées pour le maïs, le blé et l'orge, on peut se demander si, dans le cas du maïs, les valeurs ne passent pas également par un maximum dans les premiers jours après la fécondation, l'aspect général des variations étant assez comparable pour les diverses céréales. Dans les grains mûrs, il apparaît enfin que les teneurs en ce diholoside sont assez comparables pour les deux blés, (1,4 et 1,6 p.100), elles sont plus faibles pour l'orge (0,74 p.100) et cette teneur varie pour le maïs entre 0,89 p.100 (1967) et 1,25 p.100 (1968).

4°) Glucose.

a) Cas du maïs.

Comme le montre la figure 24, les courbes qui représentent la teneur en glucose des deux maïs étudiés, sont à peu près identiques : chute rapide et linéaire de 12 à 2 p.100 environ dans la première phase entre $t_m = 250^{\circ}\text{C}$ (14e - 15e j.) et 550°C (29e et 32e j.) ; diminution beaucoup plus lente par la suite. A maturité, les deux maïs ne contiennent que de très faibles quantités de glucose (0,02 p.100).

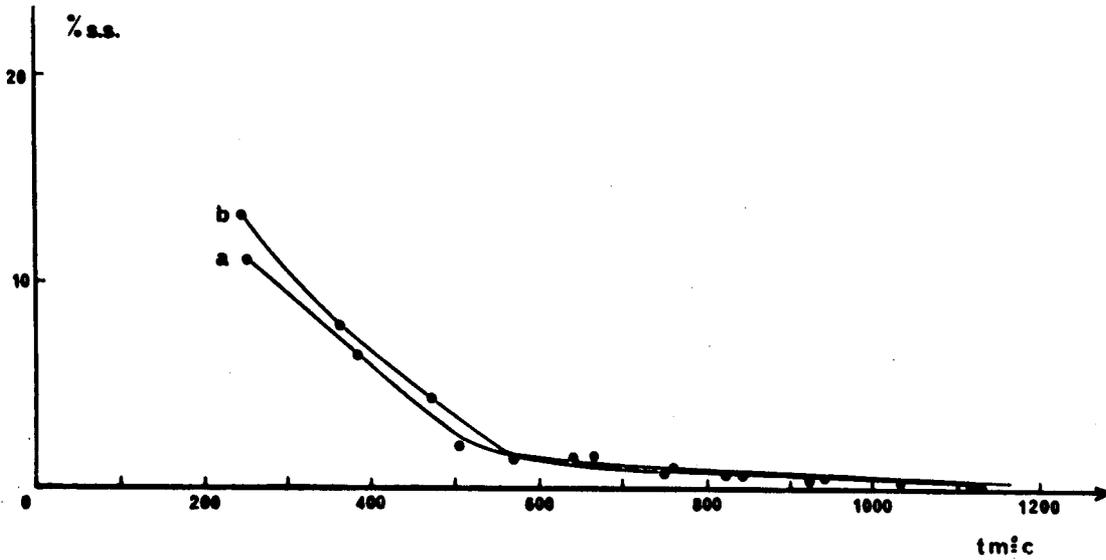


Figure 24.

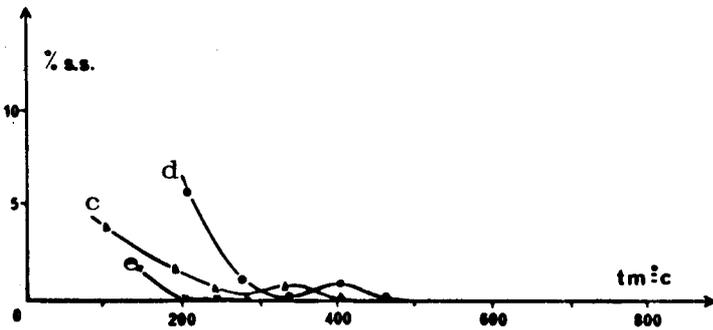


Figure 25.

Evolution de la teneur en glucose, rapportée à la substance sèche, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison (tm°C).

a - maïs INRA 260, 1967
b - maïs INRA 260, 1968

c - blé Cappelle
d - blé Joss

e - orge Iris

b) Cas du blé et de l'orge.

L'évolution générale de la teneur en glucose (fig. 25) se présente pour ces céréales d'une façon assez semblable à celle observée chez le maïs. Cependant les teneurs en glucose des blés et plus encore de l'orge sont inférieures à celles des maïs et ont des valeurs très sensiblement différentes entre elles au début du développement du grain. La valeur minimum est atteinte beaucoup plus rapidement que pour le maïs : dès t_m environ 200°C (12e j.) chez l'orge et à $t_m = 450^{\circ}\text{C}$ (23e - 28e j.) chez les deux blés, avec pour ces derniers, passage préalable par un léger maximum.

A la maturité, cependant, la teneur en glucose est pratiquement identique chez toutes les céréales étudiées et de l'ordre de 0,02 p.100.

5°) Fructose et fructosanes.

a) Cas du maïs.

La teneur en fructose des grains (fig. 26) sensiblement du même ordre de grandeur que celle du glucose (au moins pour le maïs 1968) décroît là encore assez rapidement, en passant cependant par un léger maximum avant d'atteindre la valeur minimum finale. La position de ce faible maximum est différente selon les années, elle correspond à $t_m = 825^{\circ}\text{C}$ (49e j.) en 1967 et à $t_m = 650^{\circ}\text{C}$ (42e j.) en 1968. Le grain récolté en 1968 ayant une teneur finale en fructose légèrement supérieure à celle du grain récolté en 1967 (0,256, 1968 ; 0,18, 1967).

b) Cas du blé et de l'orge.

Rappelons tout d'abord les remarques formulées page 50 au sujet du "dosage de fructose et de ses homologues supérieurs". En effet, contrairement au cas du maïs, les résultats fournis par la méthode employée correspondent chez le blé et l'orge à un chiffre englobant le fructose libre et les unités fructose des glucofructosanes. Il est cependant intéressant d'examiner l'évolution de cette résultante.

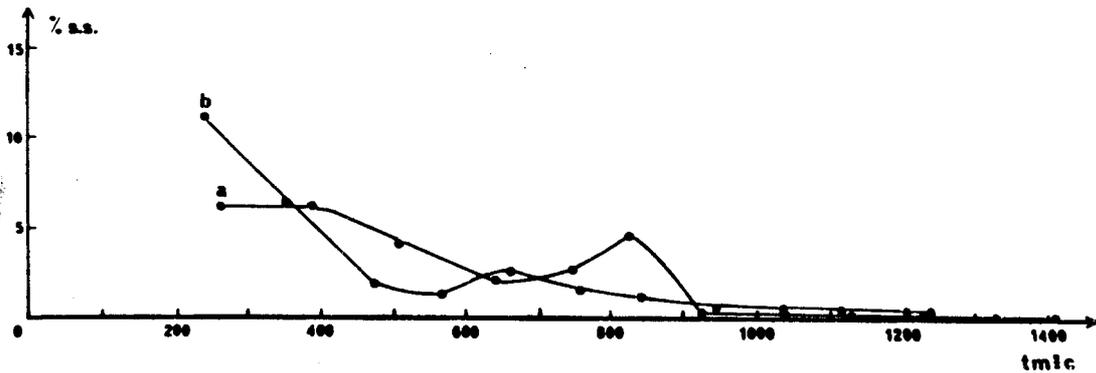


Figure 26.

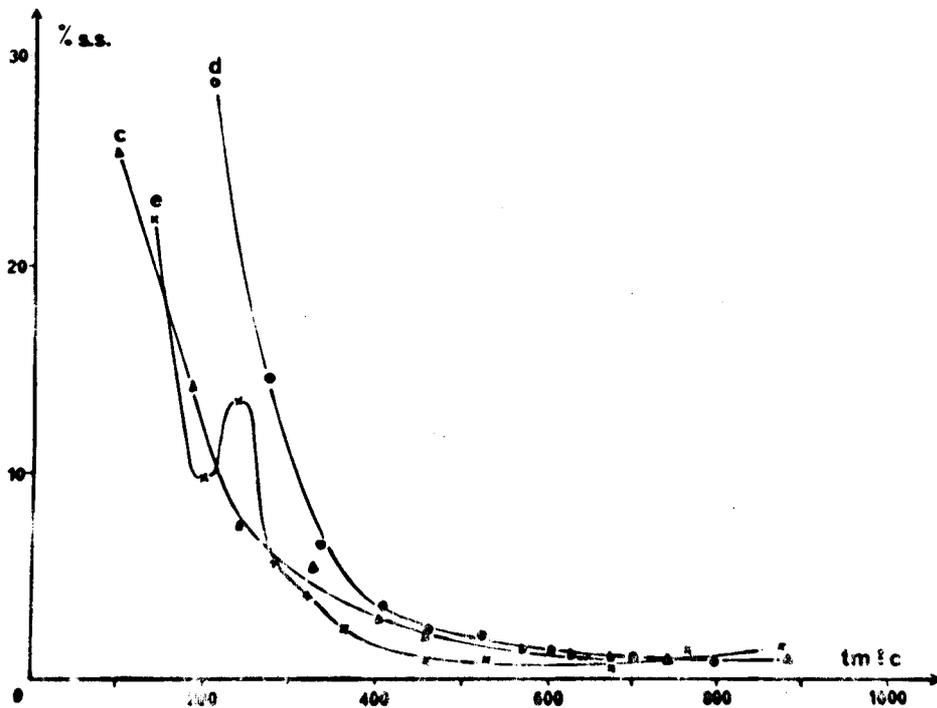


Figure 27.

Evolution de la teneur en fructose, rapportée à la substance sèche, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison (tm°C).

a - maïs INRA 260, 1967
b - maïs INRA 260, 1968

c - blé Cappelle
d - blé Joss

e - orge Iris

La figure 27 montre comment évolue cette fraction. On observe une fois de plus, une décroissance rapide jusque vers $t_m = 350^\circ\text{C}$ (19e et 22e j.) pour tendre ensuite plus progressivement vers une valeur finale de l'ordre de 1 p.100. Dans les premiers stades de développement du grain, Joss présente des teneurs sensiblement plus élevées que celles du blé et de l'orge. Remarquons que la décroissance pour cette dernière céréale paraît perturbée vers $t_m = 250^\circ\text{C}$ (16e j.) par un maximum assez prononcé, dont il conviendrait de confirmer l'existence.

6°) Raffinose.

Que cela soit chez le maïs, le blé ou l'orge, l'apparition du raffinose ne se manifeste que dans la dernière phase de la formation des grains, à un stade où tous les autres oses et oligosides ne montrent pratiquement plus d'évolution. Elle se situe aux environs du 30ème jour après la floraison ($t_m = 500^\circ\text{C}$) pour l'orge et le blé Cappelle au 36ème jour ($t_m = 600^\circ\text{C}$) pour le blé Joss et au 63ème jour ($t_m = 940 - 1040^\circ\text{C}$) pour les maïs 1967 et 1968, après la floraison. Les dosages confirment ce que nous avons déjà constaté sur les chromatogrammes respectifs.

Sur les tableaux XVI, XVII, XVIII, XIX, XX on peut observer qu'après son apparition, la quantité de raffinose continue à croître régulièrement jusqu'à la maturation. Sa teneur dans le grain mûr se situe entre 0,22 et 0,35 p.100 pour les différentes céréales étudiées.

7°) "Fraction X".

Si nous comparons les chiffres des teneurs en oses et oligosides totaux dosés à l'anthrone et la somme des sucres dosés individuellement, nous obtenons les valeurs sensiblement identiques dans le cas du maïs (tab. XXI), alors que pour le blé et l'orge, la quantité obtenue par dosage à l'anthrone est supérieure à la valeur calculée. Cette différence est d'autant plus grande que les grains sont plus jeunes. Il ne nous a pas été possible jusqu'à présent de préciser la nature de cette "fraction X". Compte tenu de ce qui a été dosé séparément -glucose, fructose, fructosanes, saccharose, raffinose- on peut supposer qu'il s'agit de glucosanes,

qui seraient présents en quantité importante au début de la formation des grains (fig. 28). Cette hypothèse paraît vraisemblable, compte tenu que l'orge en présente la plus forte proportion et qu'il est connu que cette céréale à l'état mûr en contient une quantité plus ou moins importante.

8°) Proportion relative des différents oses et oligosides constituant la fraction glucidique alcoolosoluble.

a) Cas du maïs.

Le tableau XXII montre comment évolue la proportion en oses et oligosides constituant la fraction glucidique alcoolosoluble.

Le saccharose représente globalement la moitié des glucides dans l'échantillon prélevé 14 jours après la floraison, ($t_m = 250^\circ\text{C}$) sa proportion diminue ensuite pour croître à nouveau en passant par un maximum de 80 p.100 ; l'échantillon mûr en contient encore 59 p.100.

Le fructose suit, d'une façon générale, l'évolution inverse du saccharose et atteint une proportion de l'ordre de 22 p.100 dans le grain mûr.

La proportion de glucose varie de 30 à 46 p.100 du 14^{ème} au 21^{ème} jour après la floraison ($t_m = 260 - 380^\circ\text{C}$), elle diminue ensuite progressivement et cet ose n'est présent qu'à l'état de traces dans le grain mûr.

Enfin la proportion de raffinose qui ne représente que 2,2 p.100 au 63^{ème} jour ($t_m = 1030^\circ\text{C}$) atteint 18,9 p.100 à la maturité.

Dans le maïs 1968 (tableau XXIII) l'allure générale des phénomènes n'est pas modifiée de façon notable sauf en ce qui concerne le premier prélèvement. Il convient cependant de remarquer que la proportion de saccharose pour ce maïs en 1968 est plus élevée que celle observée en 1967.

b) Cas du blé.

Ici, le saccharose représente (tableaux XXIV et XXV) au cours de la maturation des proportions de plus en plus importantes avec passage par des légers minima et maxima. Cet accroissement semble plus progressif chez Cappelle (tableau XXIV) que chez Joss (tab. XXV).

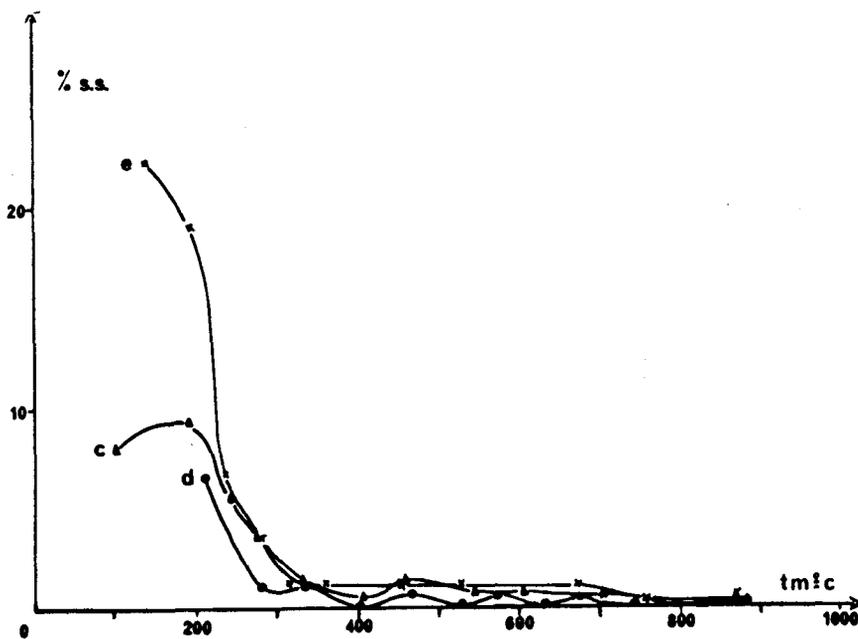


Figure 28

Evolution de la fraction "X", rapportée à la substance sèche, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison (tm°C).

- c - blé Cappelle
- d - blé Joss
- e - orge Iris

Tableau XXII - MAÏS I.N.R.A. 260 1967

Proportion relative des différents oses et oligosides constituant la fraction glucidique alcoolosoluble.

jours*	t m° C**	Glucose	Fructose	Saccharose	Raffinose
14	263	30,6	16,7	52,8	-
21	383	45,7	43,5	10,8	-
27	505	39,4	39,8	20,8	-
35	640	21,4	25,8	52,8	-
42	750	17,2	51,7	31,1	-
49	830	10,5	13,4	76,1	-
56	930	9,2	13,6	77,2	-
63	1030	6,0	10,6	81,2	2,2
70	1113	3,6	15,7	76,8	4,0
77	1230	2,7	19,6	66,5	11,2
84	1330	1,7	22,3	59,6	16,4
91	1415	-	22,3	59,1	18,6

* - Nombre de jours écoulés depuis la floraison.

** - Somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison.

Tableau XXIII - MAÏS I.N.R.A. 260 1968

Proportion relative des différents oses et oligosides constituant la fraction glucidique alcoolosoluble.

jours	t m°C	Glucose	Fructose	Saccharose	Raffinose
14	235	37,7	32,3	30,0	-
21	355	35,4	28,4	36,3	-
27	470	29,3	12,4	58,3	-
35	565	12,9	12,4	74,8	-
42	665	15,9	26,8	57,3	-
49	760	9,1	34,8	56,2	-
56	845	8,2	20,4	71,4	-
63	945	6,1	12,6	79,4	1,4
70	1030	5,3	8,9	82,6	3,2
77	1115	3,4	12,7	77,5	5,7
84	1210	4,1	15,3	69,1	10,4
88	1240	1,3	20,5	62,5	15,5

* - Nombre de jours écoulés depuis la floraison.

** - Somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison.

Tableau XXIV - BLE CAPPELLE 1967

Proportion relative des différents oses et oligosides constituant la fraction glucidique alcoolosoluble.

Jours *	tm°C **	Glucose	Saccharose	Raffinose	Fructosanes Fructose	Fraction "X"
8	100	8,4	17,8	-	56,0	17,9
12	190	4,7	31,6	-	37,9	25,8
15	240	3,8	35,6	-	30,7	29,9
19	330	6,5	37,3	-	44,5	11,7
21	405	4,8	50,9	-	38,6	5,7
24	460	3,8	43,0	-	38,5	14,8
27	545	2,3	60,2	-	20,5	17,0
31	605	1,1	49,6	1,3	34,1	13,9
34	705	0,7	59,2	6,4	26,5	7,2
38	795	0,7	55,6	10,5	31,2	2,0
42	880	0,6	47,0	12,5	29,3	10,7

* - Nombre de jours écoulés depuis la floraison.

** - Somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison.

Tableau XXV - BLE JOSS 1968

Proportion relative des différents oses et oligosides constituant la fraction glucidique alcoolosoluble.

jours	* t	** m°C	Glucose	Saccharose	Raffinose	Fructosanes Fructose	Fraction "X"
15		210	12,2	11,0	-	62,6	14,2
19		275	4,8	34,2	-	56,8	4,1
22		335	2,0	45,8	-	43,3	9,0
26		405	10,2	44,9	-	46,2	-
29		465	1,5	46,8	-	39,8	11,7
33		525	1,6	50,0	-	49,0	-
36		570	1,7	47,5	-	37,6	13,2
40		630	0,5	55,9	0,8	40,8	2,6
43		680	1,1	46,0	3,3	33,4	16,4
47		745	1,5	48,6	7,0	39,7	3,1

* - Nombre de jours écoulés depuis la floraison.

** - Somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison.

Tableau XXVI - ORGE IRIS 1967

Proportion relative des différents oses et oligosides constituant la fraction glucidique alcoolosoluble.

* jours	** t °C	Glucose	Saccharose	Raffinose	Fructosanes Fructose	Fraction "X"
9	140	3,0	26,0	-	34,5	36,0
12	195	0,9	32,7	-	22,3	44,0
15	235	1,2	31,3	-	45,0	22,5
18	280	1,1	35,5	-	38,9	24,5
21	315	1,8	40,5	-	44,3	13,4
24	360	2,6	45,4	-	33,3	18,7
28	455	1,3	61,8	-	14,1	22,8
32	525	1,4	51,8	-	20,3	26,5
38	670	0,7	33,1	6,75	21,0	38,4
44	760	0,5	28,1	9,80	45,9	15,7
49	870	0,6	27,4	10,30	40,8	20,4

* - Nombre de jours écoulés depuis la floraison.

** - Somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison.

Les proportions de glucose sont faibles tout au long de la maturation et celles de fructose et fructosanes, importantes au début, diminuent ensuite légèrement pour se maintenir à une teneur sensiblement inférieure à celle du saccharose. On retrouve chez Cappelle pour le fructose les variations en sens inverse par rapport au saccharose, déjà notées chez le maïs ; ce phénomène semble exister aussi chez Joss, il est toutefois moins net.

La fraction X montre des variations de même sens que celles observées pour le saccharose. Chez les deux variétés de blé le raffinose croît à partir de $t_m = 630^\circ\text{C}$. Dans le grain mûr, la fraction glucidique alcoolosoluble est globalement constituée de 50 p.100 de saccharose, 30 à 40 p.100 de fructose et fructosanes, 10 p.100 de raffinose et 1,0 p.100 de glucose.

c) Cas de l'orge.

Dans un sens général, les proportions de chacun des oses et oligosides dans le grain de l'orge sont comparables à celles des blés (tab. XXVI). Le saccharose passe par un maximum, le fructose et fructosanes passent par un minimum, mais cette dernière fraction est présente au début et à la maturité en proportions plus importantes que le saccharose. Les proportions de glucose et de raffinose ainsi que celles de la fraction X sont assez voisines de celles des deux blés. Chez l'orge mûr, la fraction glucidique alcoolosoluble comprend 27 p.100 de saccharose, 40 p.100 de fructose, 10 p.100 de raffinose et 0,6 p.100 de glucose.

Sauf dans le cas de l'orge, c'est donc généralement le saccharose qui représente la part prépondérante des glucides alcoolosolubles totaux de ces céréales au milieu et en fin de maturation. Le glucose et le raffinose montrent des évolutions comparables ; ceci est vrai également en ce qui concerne le fructose ; la seule différence à noter est une proportion plus faible de cette dernière fraction dans le blé et l'orge. Cette différence peut s'expliquer par le fait que les résultats obtenus pour ces dernières comprennent à la fois le fructose et une partie des glucofructosanes.

II - COMPARAISON DE L'EVOLUTION DE LA MATIERE SECHE, DE L'EAU
ET DE CHACUN DES CONSTITUANTS GLUCIDIQUES RAPPORTEE AU POIDS
DE 1000 GRAINS, DANS LE CAS DES TROIS CEREALES ETUDIEES.

A - MATIERE SECHE ET EAU.

Avant de procéder à l'examen comparé de l'évolution de la quantité de chaque constituant glucidique s'accumulant dans les grains, nous allons présenter l'évolution du poids sec de ces grains et de la quantité d'eau qu'ils renferment (rapportée à 1000 grains), au moins dans le cas du maïs et du blé Joss, pour lesquels nous avons pu recueillir ces indications.

Ceci nous permettra, en effet, de discuter les variations des constituants glucidiques accumulés par rapport à celles de ces deux caractéristiques du grain, qui selon GESLIN et JONARD (1948) paraissent marquer des stades importants au cours de la maturation.

Les figures 29, 30 et 31 représentent ces données respectivement pour le maïs INRA 260 récolté en 1967 et 1968 et pour le blé Joss récolté en 1968. Elles comportent également le pourcentage d'eau des grains au moment du prélèvement, car c'est à partir de cette courbe et celle du poids sec de 1000 grains, tracées en tenant compte au mieux des erreurs expérimentales, que nous avons calculé la quantité d'eau contenue dans le grain frais.

En abscisse est portée la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison (t_m °C), l'ordonnée à droite correspond aux grammes de poids sec et d'eau rapportés à 1000 grains et l'ordonnée à gauche, correspond au pourcentage d'eau des grains au moment du prélèvement.

Les courbes 1 des figures 29 (maïs 1967) et 30 (maïs 1968) sont relatives à la variation du poids de 1000 grains secs. Ce sont des courbes de croissance classiques montrant un palier vers la fin de la maturation. L'examen plus détaillé de ces courbes met en évidence des différences d'évolution d'une année à l'autre. En effet, la partie linéaire des 2 courbes entre $t_m = 500$ à 950 °C (28e et 57e jour en 1967 ; 29e et 61e jour en 1968) montre un accroissement plus rapide en 1968 qu'en 1967 ;

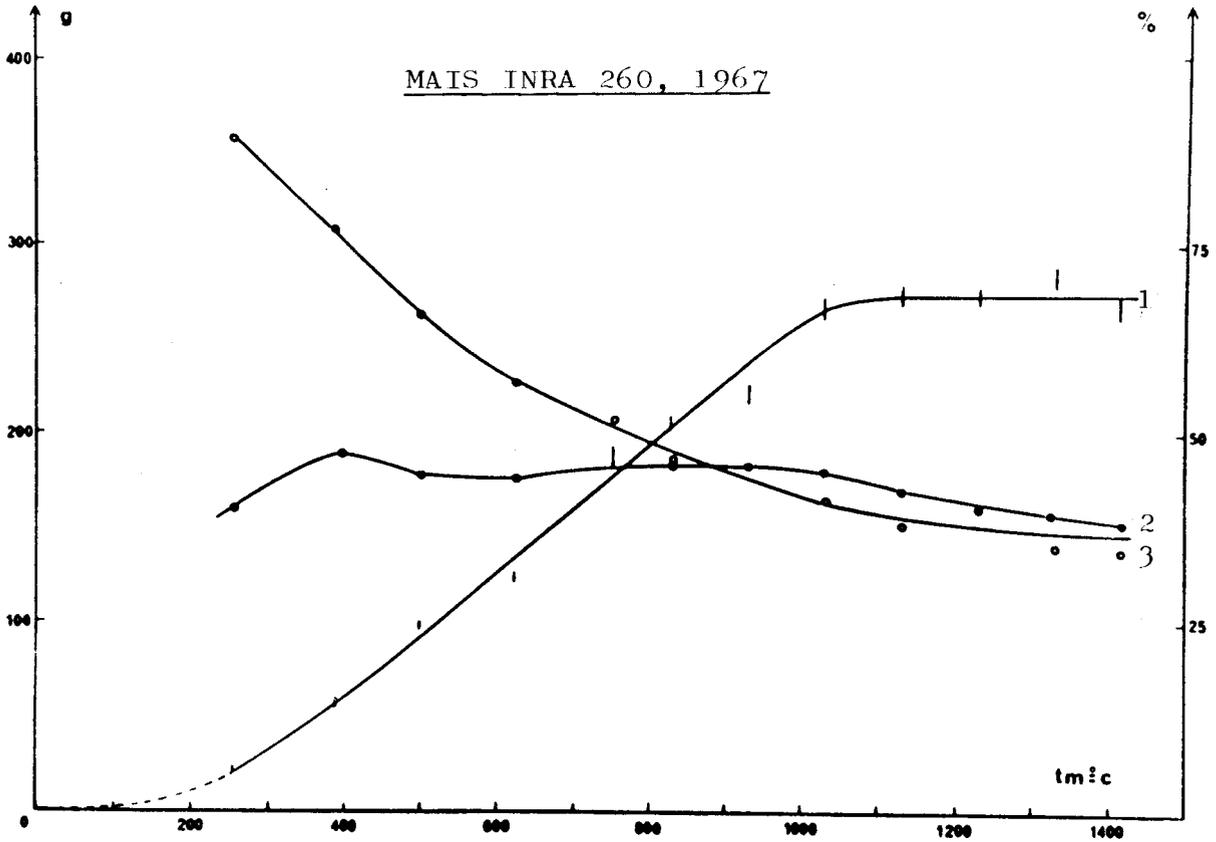


Figure 29

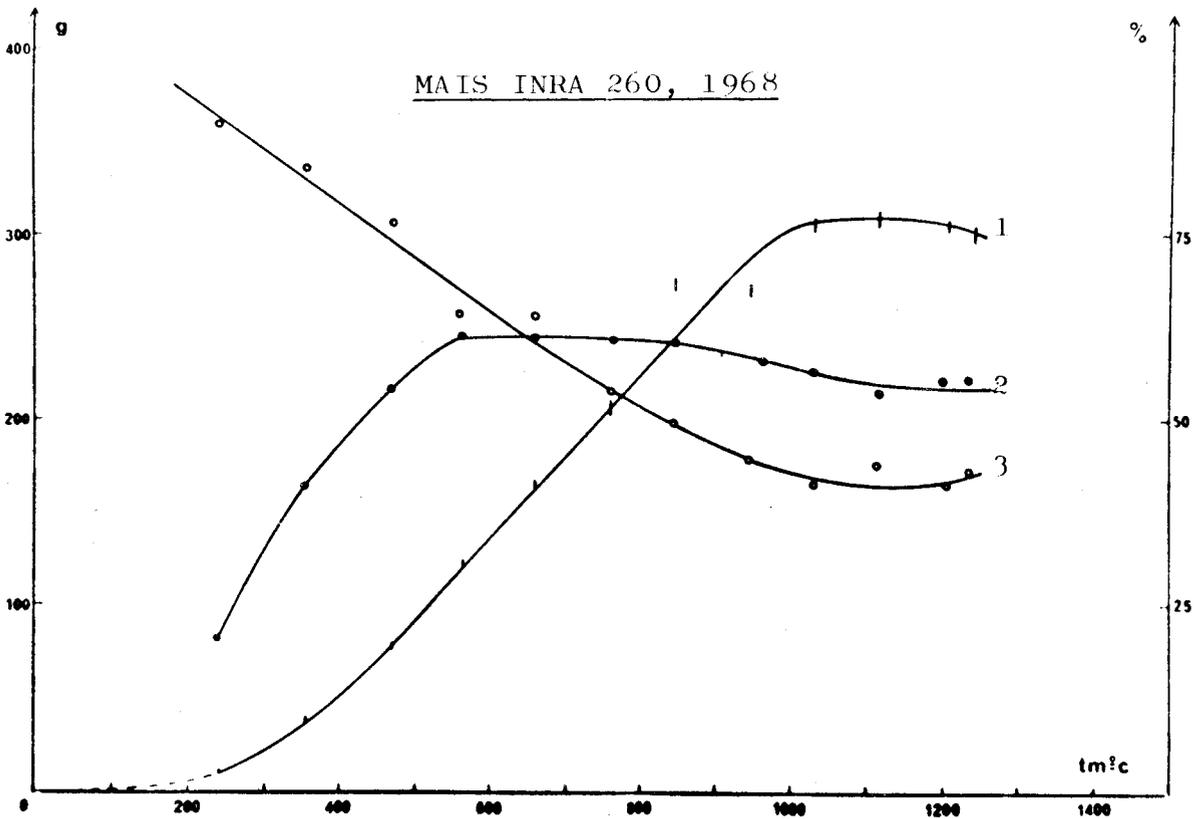


Figure 30

Evolution de la matière sèche (1), de l'eau (2) rapportée au poids de 1000 grains et du pourcentage d'eau des grains au moment du prélèvement (3) en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison (tm°C).

au niveau du palier, on constate également des différences, la matière sèche du grain de maïs étant sensiblement plus importante à ce stade en 1968 qu'en 1967. Dans les deux cas, le maximum est atteint aux environs de $t_m = 1030^{\circ}\text{C}$ (63^e jour en 1967, 70^e jour en 1968) ; au-delà, la matière sèche du maïs 1967 reste constante, alors que celle du maïs 1968 semble diminuer légèrement.

L'examen des courbes 2 (fig. 29 et 30) qui correspondent à la quantité d'eau contenue dans 1000 grains, permet de noter les points suivants :

- Cette quantité n'augmente que très peu entre $t_m = 250$ et 400°C en 1967 (du 14^e au 21^e j.), puis, tandis que la matière sèche du grain continue à augmenter, elle se maintient sensiblement constante pendant 41 jours ($t_m = 400$ à 1030°C) et ne diminue que légèrement ensuite.
- En 1968, par contre la quantité d'eau augmente assez vite et régulièrement entre $t_m \hat{=} 240$ et 500°C (du 14^e au 29^e j.) ; elle se maintient pratiquement constante pendant 34 jours ($t_m = 565$ à 950°C), puis décroît très lentement dans la phase ultérieure.

Nous observons donc, d'une année à l'autre, une durée et un niveau du palier de l'eau assez différents. En 1967, cette durée est de l'ordre de 41 jours contre 33 jours en 1968; de plus la quantité d'eau au niveau du palier est de 180 g en 1967, alors qu'elle est de 240 g en 1968. Ces faits sont sans doute à rapprocher d'une part, d'une pluviosité plus importante en 1968 qu'en 1967 dans la phase précédant le début du palier de l'eau, alors que l'inverse s'est produit à la fin du palier. On peut également penser que l'accroissement plus important de la matière sèche de 1000 grains en 1968 par rapport à 1967 s'explique par le fait que la quantité d'eau dans les grains est restée plus importante en 1968 qu'en 1967 ; alors que l'insolation n'a pas été très différente d'une année à l'autre. Cette hydratation plus élevée dans le grain peut en effet avoir facilité la migration des substances des autres organes de la plante vers ce dernier. Notons enfin qu'au cours des deux années le point correspondant à l'arrêt de l'accumulation de matière sèche dans le grain se situe peu après la fin du palier de l'eau.

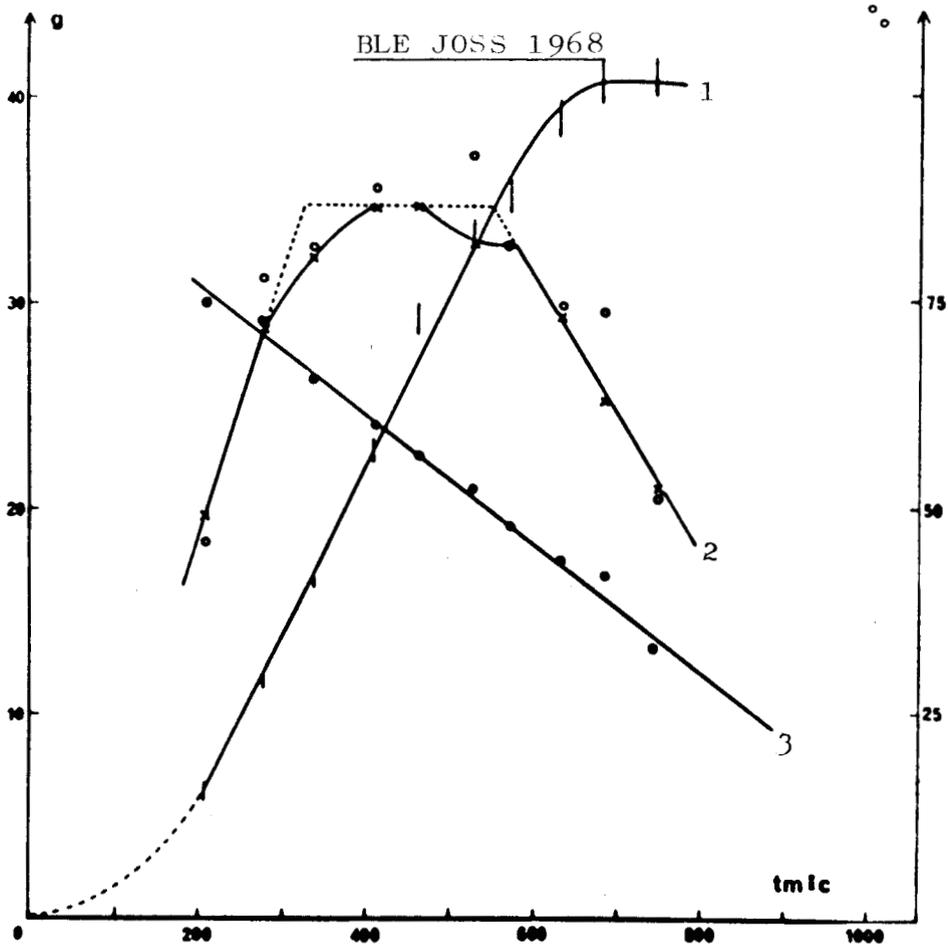


Figure 31

Evolution de la matière sèche (1), de l'eau (2) rapportée au poids de 1000 grains frais et du pourcentage d'eau des grains au moment du prélèvement (3) en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$).

Chez le blé Joss (fig. 30, courbe 1) l'allure de l'évolution de la matière sèche est comparable à celle observée chez le maïs. Ici le palier est atteint à $t_m = 680^\circ\text{C}$ (43e j.). La courbe 2 qui se rapporte à la quantité d'eau dans 1000 grains, par contre, montre une évolution très nettement différente par rapport à celles du maïs. Cette quantité augmente régulièrement et rapidement entre $t_m = 210$ à 320°C (13e au 21e j.) elle se maintient stable pendant 12 jours (23e - 35e j., $t_m = 325 - 550^\circ\text{C}$) ; ensuite on observe une dessiccation rapide du grain suivant une loi pour ainsi dire linéaire entre $t_m = 550 - 750^\circ\text{C}$ (35e et 47e j.). Il convient ici de discuter plus en détail l'aspect du palier de cette courbe 2 (fig. 30) qui est tracée d'une part en pointillés et d'autre part en trait continu : ce dernier tracé tient compte des chiffres expérimentaux ; la partie en pointillés par contre représente le palier d'eau théorique obtenu par extrapolation des parties linéaires initiale et finale de cette courbe, et en repérant leur intersection avec le plateau expérimental. Cette durée de 12 jours du palier théorique correspond à ce qui est observé par GESLIN et JONARD (1948), lorsque les conditions climatiques ne présentent pas de particularités pendant cette période. Les différences expérimentales sont à attribuer à des "coups de chaleur" qui sont survenus à ce stade ; ils ont provoqué une diminution passagère de la quantité d'eau du grain par excès d'évaporation. Ainsi le premier point de divergence entre la courbe théorique et expérimentale correspond avec le maximum absolu de température enregistré en 1968 (33°C , vers $t_m = 275^\circ\text{C}$, 17e j.), le deuxième avec une température de $26,1^\circ\text{C}$ enregistrée au 26e jour après la floraison ($t_m = 405^\circ\text{C}$) ; ce qui signifie un accroissement sensible de température par rapport à la moyenne de cette période.

Notons ici encore que la matière sèche du grain cesse de croître quelques jours après la fin du palier théorique de l'eau.

B - LES POLYHOLOSIDES.

1°) Amidon.a) Cas du maïs.

Les courbes, qui représentent l'évolution de l'accumulation de l'amidon dans les grains de la variété INRA 260 (fig. 32) cultivée, au cours de deux années dans le même champ ont une allure générale semblable avec une phase d'accroissement rapide suivie d'un palier. Toutefois, on observe une pente moyenne et un niveau de palier plus faibles en 1967 qu'en 1968 jusqu'à $t_m = 975^\circ\text{C}$ (58e j. et 65e j.), et en particulier à partir de 750°C (42e j. et 49e j.). Ceci pourrait être dû au fait que la quantité d'eau présente dans les grains en 1968 est plus forte qu'en 1967 au cours des périodes considérées. On peut penser que ceci peut avoir favorisé l'accumulation de l'amidon dans les grains. Par ailleurs, le palier observé à $t_m = 850$ et 950°C (56e et 64e j.) en 1968 pourrait être attribué à une diminution momentanée de l'insolation pendant cette période.

Le début du palier, indiquant la fin de la synthèse de l'amidon, est décalé de $t_m = 100^\circ\text{C}$ d'une année à l'autre ($t_m = 1030^\circ\text{C}$ en 1968, $t_m = 1130^\circ\text{C}$ en 1967). Mais dans les deux cas, ces valeurs de t_m correspondent au 70e jour écoulé depuis la floraison, soit 7 jours après la fin du palier d'eau.

b) Cas du blé et de l'orge.

Les trois courbes (fig. 33) représentant l'évolution de l'amidon pour les deux blés et l'orge montrent la même allure générale sigmoïde.

Dans le cas du blé Joss, un ralentissement de l'accumulation de l'amidon apparaît entre $t_m = 475^\circ\text{C}$ et 630°C , qui peut être rapproché du fait que ce blé semble avoir subi un début d'échaudage par "coup de chaleur" au niveau du palier de l'eau. La fin de l'accumulation de l'amidon coïncide avec celle de la matière sèche ($t_m = 675^\circ\text{C}$; 42e j.).

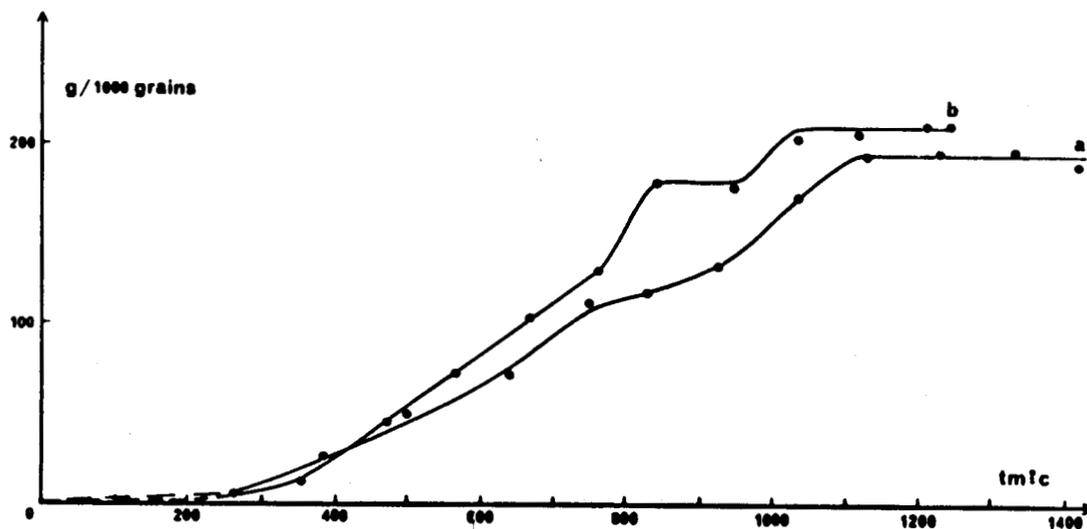


Figure 32

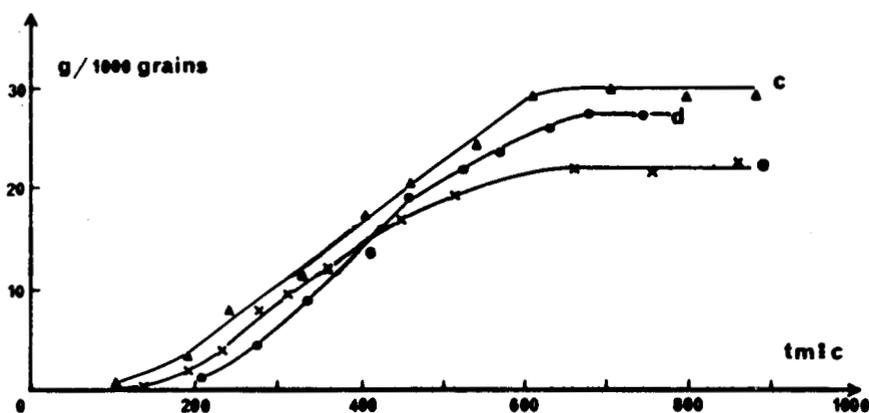


Figure 33

Evolution de la quantité d'amidon rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$).

a - maïs INRA 260, 1967
b - maïs INRA 260, 1968

c - blé Cappelle
d - blé Joss

e - orge Iris

La courbe relative à la formation de l'amidon du blé Cappelle présente une allure plus régulière, le début du palier se situe à $t_m = 625^\circ\text{C}$ (31e j.). Chez l'orge, on note à nouveau un ralentissement de l'accumulation d'amidon à partir de $t_m = 425^\circ\text{C}$ avant que ce dernier n'atteigne sa valeur maximum pour $t_m = 625^\circ\text{C}$ (37e j.).

Une observation convient d'être soulignée : quels que soient l'année, le lieu de culture et la céréale considérée (blé ou orge), la fin de l'accumulation d'amidon se situe toujours entre $t_m = 625$ et 675°C , alors que le nombre de jours écoulés depuis la floraison varie entre 31 et 42 jours. Par ailleurs, la comparaison des deux blés révèle l'existence d'une plus faible quantité d'amidon accumulée dans le grain de Joss par rapport au Cappelle ; ceci provient à la fois d'un pourcentage d'amidon et d'un poids de 1000 grains plus faibles.

2°) Pentosanes.

a) Cas du maïs.

Nous trouvons ici encore (fig. 34) une certaine ressemblance entre les deux courbes relatives à l'accumulation des pentosanes dans les grains de maïs de 1967 et 1968. Entre $t_m = 240^\circ\text{C}$ (13e et 14e j.) et 750°C (42e et 49e j.) l'évolution linéaire est légèrement plus lente en 1967 qu'en 1968.

La synthèse se ralentit fortement en 1967 entre 750 et 925°C (42e et 55e j.), comme nous l'avons déjà observé pour l'amidon ; elle s'amorce ensuite de nouveau et le palier est atteint à $t_m = 1100^\circ\text{C}$ (63e j.) ; il se maintient jusqu'à $t_m = 1300^\circ\text{C}$ (80e j.) puis, vers $t_m = 1415^\circ\text{C}$ (19e j.), on observe une diminution.

En 1968, entre $t_m = 750^\circ\text{C}$ et 850°C (49e et 56e j.), nous voyons une phase de la formation plus rapide suivie d'une évolution assez comparable à celle indiquée pour 1967 : augmentation rapide, passage par un premier palier entre $t_m = 950^\circ\text{C}$ et 1025°C (64e et 70e j.) avant d'aboutir à un maximum. Le stade auquel est atteinte la quantité maximale de pentosanes se situe pour les deux années, 7 jours après la fin du palier de l'eau.

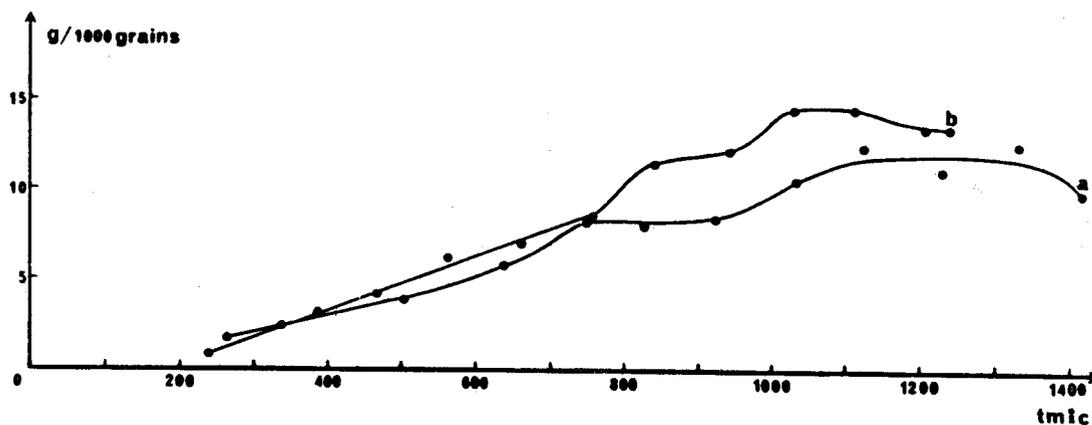


Figure 34

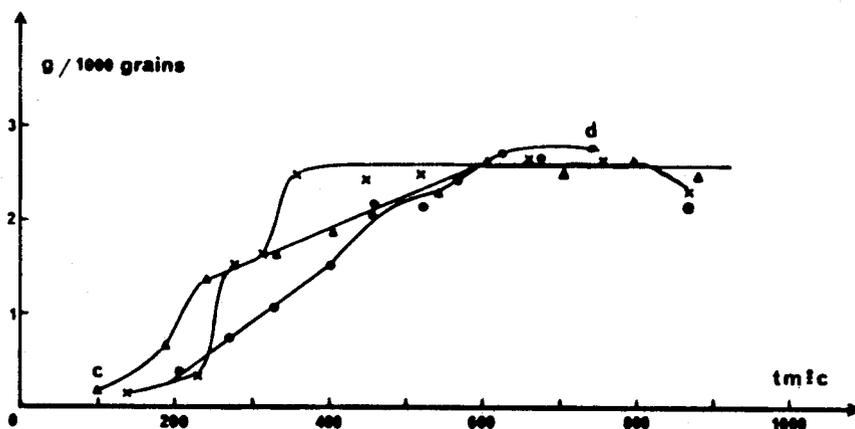


Figure 35

Evolution de la quantité de pentosanes, rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$).

a - maïs INRA 260, 1967 c - blé Cappelle e - orge Iris
b - maïs INRA 260, 1968 d - blé Joss

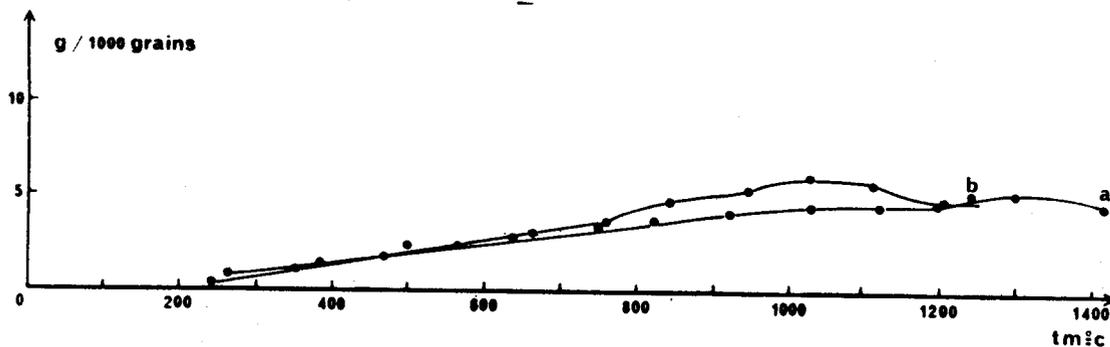


Figure 36

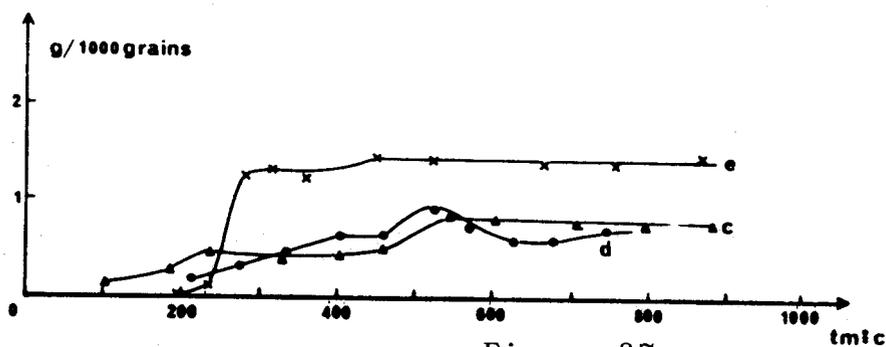


Figure 37

Evolution de la quantité de cellulose, rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$).

a - maïs INRA 260, 1967 ; b - maïs INRA 260, 1968 ; c - blé Cappelle ;
d - blé Joss ; e - orge Iris

b) Cas du blé et de l'orge.

En ce qui concerne le blé Joss (fig. 35, d), on note également pour les pentosanes un ralentissement de leur accumulation avant d'atteindre la fin de celle-ci, qui peut être attribué à l'influence de l'échaudage. La courbe relative au blé Cappelle (fig. 35, c) apparaît assez différente. On remarque un accroissement rapide et bref ($t_m = 190 - 240^\circ\text{C}$) suivi d'une longue période d'accumulation avant d'arriver au palier. Enfin, chez l'orge (fig. 35, e) le début de l'évolution ressemble un peu à celui du Cappelle, mais, après un bref ralentissement de l'accumulation des pentosanes ($t_m = 225 - 320^\circ\text{C}$), on observe un nouvel accroissement rapide ; le maximum est très rapidement atteint chez cette céréale ($t_m = 350^\circ\text{C}$, 23e j.). De plus, pour ce grain on voit la quantité de pentosanes diminuer en fin de maturation.

3*) Cellulose.a) Cas du maïs.

L'évolution de la formation de la cellulose (fig. 36) dans le maïs en 1967 et 1968 est, d'une façon générale, assez comparable. Cependant en 1968 par rapport au palier de l'eau, l'allure de l'accroissement présente une certaine similitude avec celle de l'amidon. En 1967, par contre, l'accumulation de cellulose se fait de façon progressive tout au long de la période de maturation. Enfin, dans la toute dernière phase de l'évolution, la quantité de cellulose diminue dans le grain, aussi bien en 1967 qu'en 1968 et la quantité de cellulose dans les grains est sensiblement la même pour les deux années.

b) Cas du blé et l'orge.

Chez le blé Joss (fig. 37, d), après une croissance assez linéaire, on observe, au niveau du palier de l'eau, un ralentissement de l'accumulation de cellulose, suivi d'une variation présentant un maximum et puis un minimum avant d'atteindre le palier final. La cellulose dans le blé Cappelle (fig. 37, c) semble s'accumuler en deux étapes successives entre $t_m = 100$ et 240°C et $t_m = 240$ et 550°C .

Chez l'orge (fig. 37, e), on retrouve ces deux étapes mais avec une accumulation beaucoup plus marquée au début de la formation du grain.

Ainsi la formation de cellulose se présente différemment dans les trois espèces de céréales étudiées et elle diffère même, dans le cas du blé, pour deux variétés cultivées dans des conditions différentes.

C - LES OSES ET LES OLIGOSIDES.

1°) Glucides alcoolosolubles totaux.

a) Cas du maïs.

L'évolution des glucides alcoolosolubles totaux (fig. 38) se présente comme une série d'accumulations rapides, séparées par des zones où la quantité de ces constituants s'accroît soit plus lentement soit passe par un minimum. En fin de maturation, on note une décroissance marquée de ces composants. L'évolution observée au cours des deux années se ressemble, avec un certain décalage au niveau du premier maximum ($t_m = 660^\circ\text{C}$ en 1967, $t_m = 725^\circ\text{C}$ en 1968), mais en particulier pour le dernier qui se situe à $t_m = 1050^\circ\text{C}$ en 1968 et à $t_m = 1125^\circ\text{C}$ en 1967. Toutefois, ces dernières valeurs de t_m correspondent au même nombre de jours écoulés depuis la floraison, (70 jours), période où l'on observe le palier de l'amidon. Comme nous avons déjà pu constater pour les autres constituants, le maïs 1968 est aussi plus riche en glucides alcoolosolubles totaux que celui de 1967.

b) Cas du blé et de l'orge.

Les courbes de la figure 39 montrent comment évoluent les glucides alcoolosolubles totaux dans les grains de blé et d'orge. Il s'avère d'abord que cette évolution présente un aspect sensiblement différent de celle observée chez le maïs. Par contre, pour les blés et l'orge, on peut remarquer d'une façon générale au début, un maximum, puis, une diminution rapide des sucres totaux suivie d'un palier plus ou moins marqué. Dans cette dernière phase, on note quelques fluctuations avant que ces constituants diminuent à nouveau pour atteindre leurs valeurs finales.

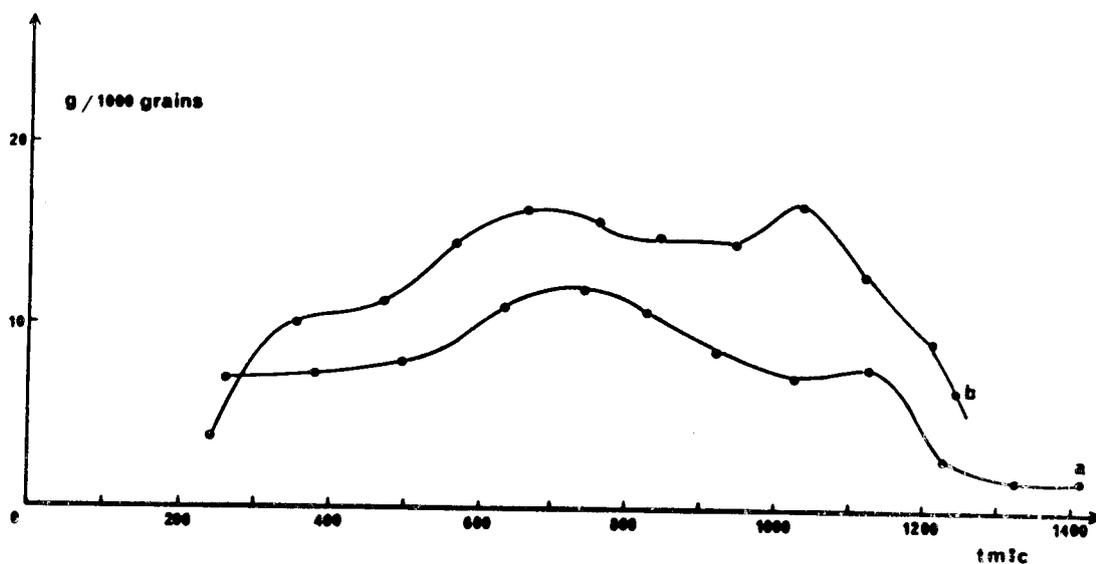


Figure 38

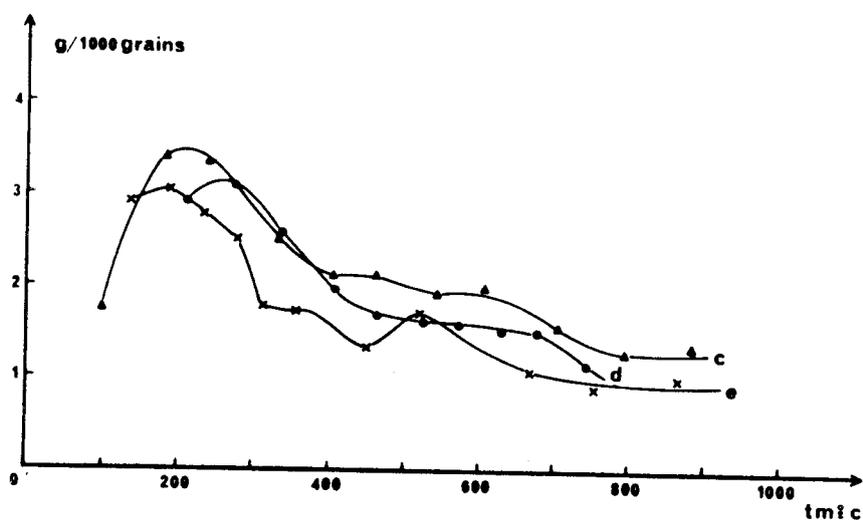


Figure 39

Evolution de la quantité de glucides alcoolosolubles totaux, rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison (tm°C).

a - maïs INRA 260, 1967
b - maïs INRA 260, 1968

c - blé Cappelle
d - blé Joss

e - orge Iris

Le premier maximum observé chez le blé Joss se situe à $t_m = 275^\circ\text{C}$, légèrement avant le début du palier de l'eau. Les plus importantes variations de la quantité de ces glucides dans le grain sont observées pendant la durée du palier d'eau entre $t_m = 325$ et 550°C ; c'est en effet à ce stade que l'on constate la plus forte diminution des sucres totaux. Un deuxième point de fluctuation se situe à $t_m = 675^\circ\text{C}$; les glucides alcoolosolubles totaux décroissent à nouveau alors que la matière sèche a atteint son palier final à ce stade.

Quelles que soient la céréale et l'année, on peut remarquer que le premier maximum est situé aux environs de $t_m = 175^\circ\text{C}$ et 250°C . Mais, si les courbes relatives à l'évolution des sucres totaux dans les deux blés sont assez régulières, on peut, par contre, dire que celle de l'orge semble plus perturbée.

Nous allons maintenant essayer de dégager une explication de ces fluctuations à travers l'évolution des oses et des oligosides constituant la fraction des glucides alcoolosolubles totaux.

2°) Saccharose.

a) Cas du maïs.

L'allure des variations de la quantité de saccharose dans les grains de maïs (fig. 40) est, dans son ensemble, comparable à celle des glucides alcoolosolubles totaux, avec dans la première phase un certain décalage en fonction des valeurs de t_m . Par contre, le maximum final du saccharose se situe au même niveau que celui des sucres totaux, en particulier en 1968. Notons cependant que la quantité de saccharose existante dans le grain en 1967 au début de la formation passe par un minimum, phénomène qui n'a pas pu être observé en 1968. La quantité de saccharose dans le grain est plus importante en 1968 qu'en 1967, au moins pendant la majeure partie de la maturation. Le premier maximum en 1967 et en 1968 se situe avant la fin du palier d'eau. La diminution dans la dernière phase se situe après la fin du palier de l'eau, lorsque s'accroît la teneur en raffinose et que la matière sèche ne varie presque plus.

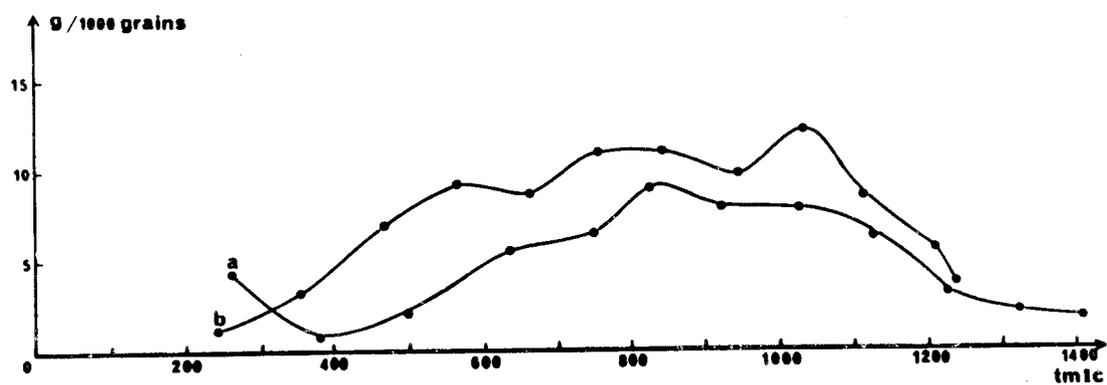


Figure 40

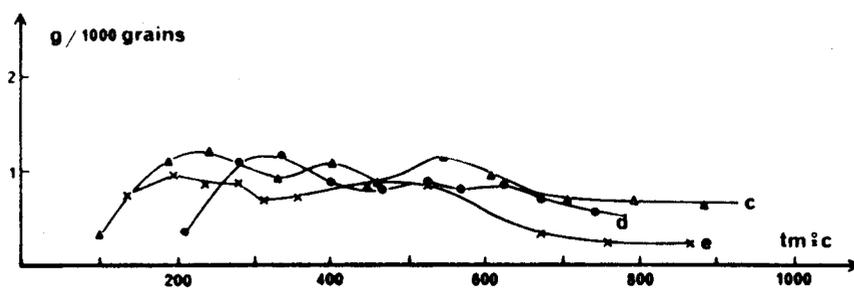


Figure 41

Evolution de la quantité de saccharose, rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison (tm^{°C}).

a - maïs INRA 260, 1967
b - maïs INRA 260, 1968

c - blé Cappelle
d - blé Joss

e - orge Iris

b) Cas du blé et de l'orge.

Chez le blé et l'orge, l'évolution de la quantité de saccharose présente (fig. 41) montre, après un accroissement initial, une fluctuation avec trois maxima successifs particulièrement marqués pour Cappelle. Ensuite, on observe une décroissance avec tendance vers un palier.

Le premier maximum de saccharose chez Joss se situe au début du palier de l'eau et le dernier se trouve quelques jours après la fin de ce palier, lorsque la matière sèche a atteint son maximum.

3°) Glucose.a) Cas du maïs.

Les différences entre l'évolution du glucose (fig. 42) d'une année sur l'autre sont peu importantes et surtout visibles dans la première phase. Le faible accroissement du début entre $t_m = 240^\circ\text{C}$ et 450°C est suivi par une diminution plus ou moins lente. Remarquons en outre que l'amorce et la première partie de cette diminution du glucose correspond^{ent} à peu près en 1967 et 1968 à la durée du palier de l'eau.

b) Cas du blé et de l'orge.

Les quantités de glucose dans le grain de blé et d'orge (fig. 43) sont très faibles tout au long de la maturation. (l'orge en est si pauvre que les valeurs n'ont pas été représentées sur la figure, cf tableau XX).

On peut remarquer de légères fluctuations et noter que le principal maximum correspond, pour Joss, à peu près au palier de l'eau ($t_m = 325$ et 550°C).

4°) Fructose.a) Cas du maïs.

L'accumulation du fructose (fig. 44) passe au début par un maximum assez étalé, puis par un deuxième maximum plus net avant de tendre vers une valeur finale faible et constante. Les deux courbes présentent sensiblement la même allure avec un décalage

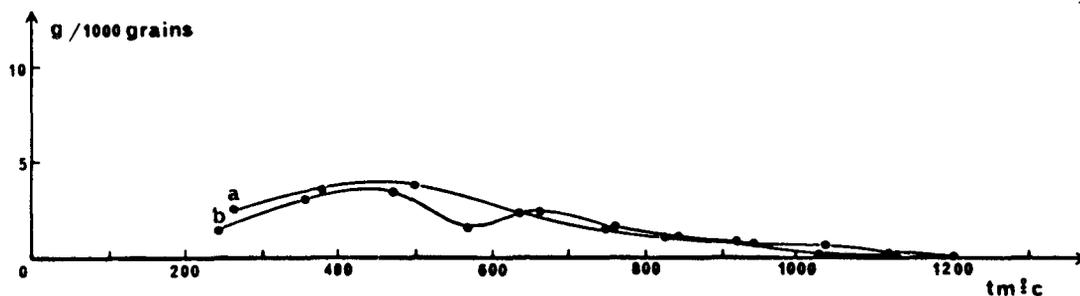


Figure 42

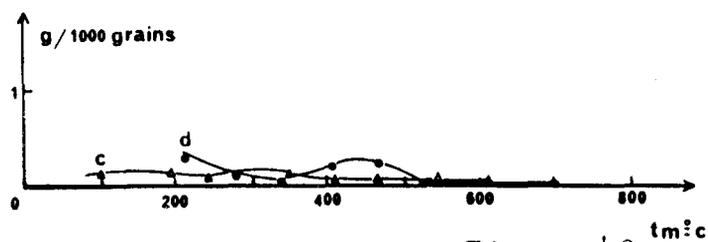


Figure 43

Evolution de la quantité de glucose, rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$)

a - maïs INRA 260, 1967 c - blé Iris e - orge Iris
b - maïs INRA 260, 1968 d - blé Joss

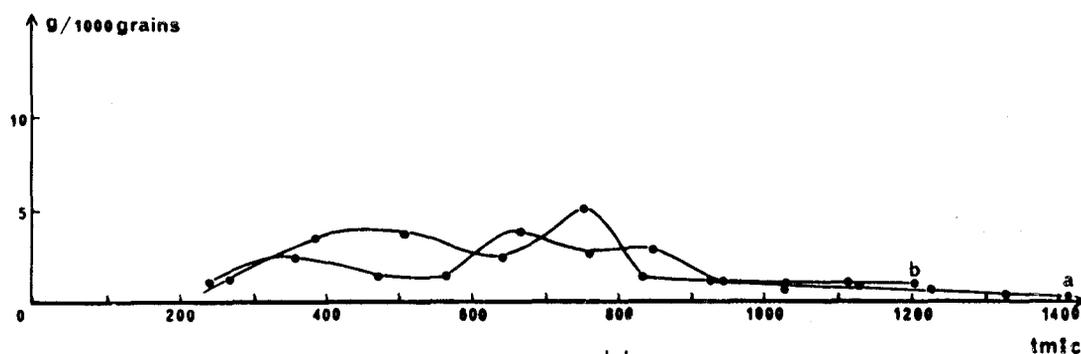


Figure 44

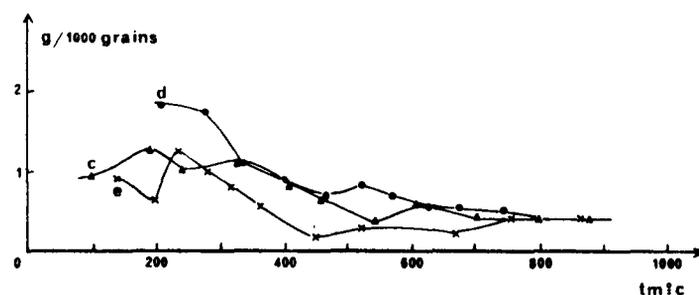


Figure 45

Evolution de la quantité de fructose et de fructosanes, rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$)

a - maïs INRA 260, 1967 c - blé Cappelle e - orge Iris
b - maïs INRA 260, 1968 d - blé Joss

en fonction des valeurs de t_m . Il est intéressant de noter que les maxima les plus marqués se situent respectivement à $t_m = 750^\circ\text{C}$ (1967) et $t_m = 660^\circ\text{C}$ (1968) correspondant au même nombre de jours après la floraison (42 jours). Ceci montre l'influence complexe des divers facteurs climatiques. Remarquons également que c'est pendant la durée du palier de l'eau que se produisent les variations les plus importantes dans l'accumulation de cet osse.

b) Cas du blé.

D'une façon générale, les courbes représentatives de l'évolution du fructose et des fructosanes du blé et de l'orge (fig.45) vont en décroissant, passant par une succession de légers minima et maxima pour tendre vers une valeur comparable pour les trois céréales. On peut remarquer, dans le cas du Joss, que la période de la plus grande décroissance se situe pendant la phase du palier de l'eau ($t_m = 325$ à 550°C).

III - EVOLUTION DES DIVERS CONSTITUANTS GLUCIDIQUES RAPPORTES AU POIDS DE 1000 GRAINS SECS DANS LE CAS DE CHAQUE ESPECE DE CEREALE.

A - MAIS INRA 260.

L'évolution de la quantité de polyholosides, d'oses et d'oligosides rapportée au poids de 1000 grains secs est représentée dans les courbes des figures 46 et 47 pour le maïs 1967 et dans les figures 48 et 49 pour le maïs 1968. Comme dans les cas précédents, ces résultats sont exprimés en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($t_m = ^\circ\text{C}$).

Si l'on considère d'abord les polyholosides, amidon, pentosanes et cellulose, on remarque, pour les deux années, une évolution générale assez comparable. Les courbes diffèrent surtout au début par leurs pentes, qui sont plus importantes pour l'amidon que pour les pentosanes et la cellulose, et par les valeurs des quantités accumulées. Les fluctuations observées se situent au niveau des mêmes valeurs de t_m et aux mêmes périodes. Ceci est

MAIS INRA 260, 1967

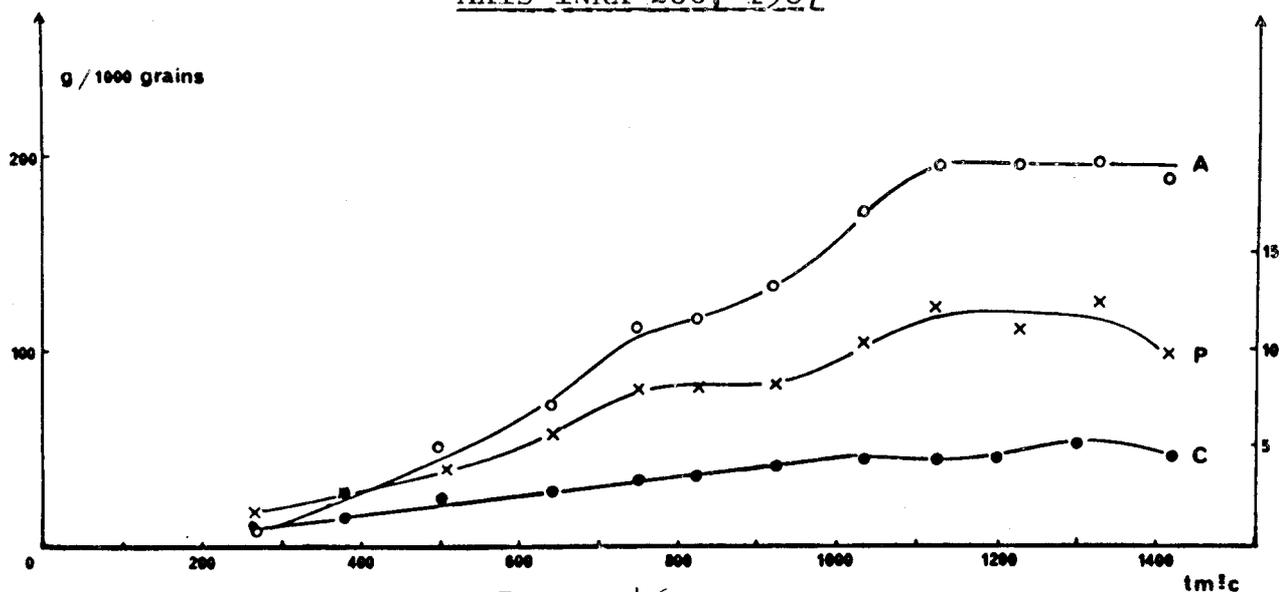


Figure 46

Evolution de la quantité de polyhoses, rapportée au poids de 1000 grains secs en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$). L'ordonnée à gauche est relative à l'amidon (A), celle de droite aux pentosanes (P) et à la cellulose (C).

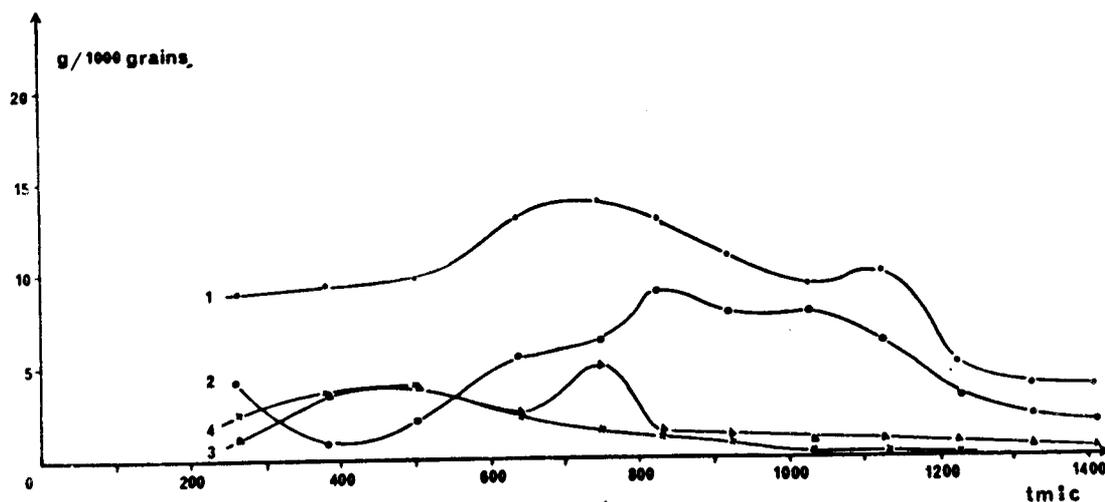
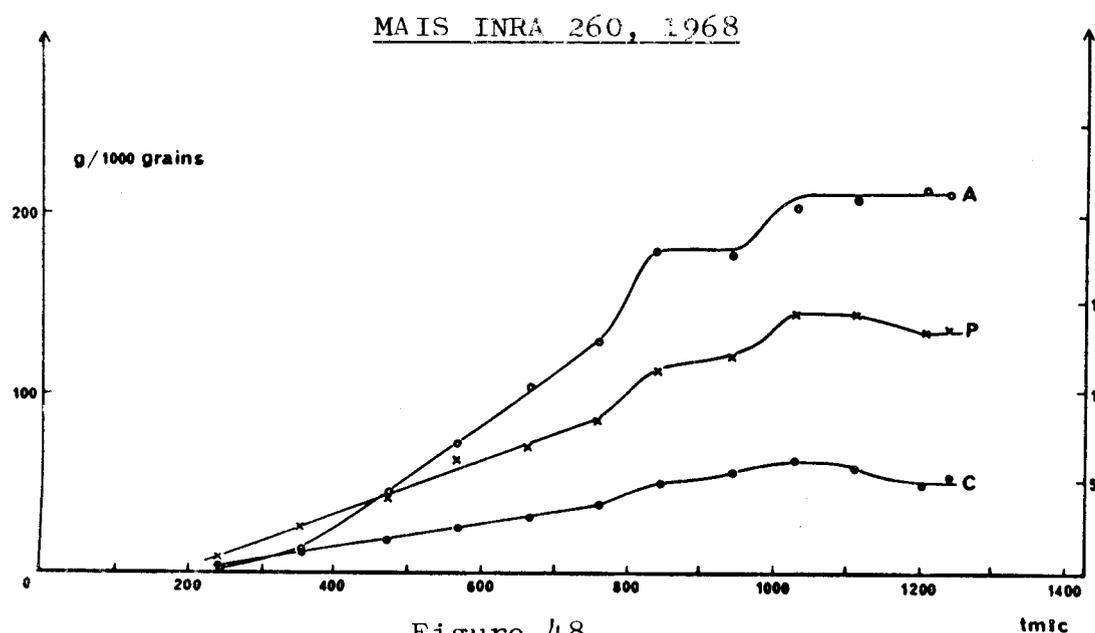


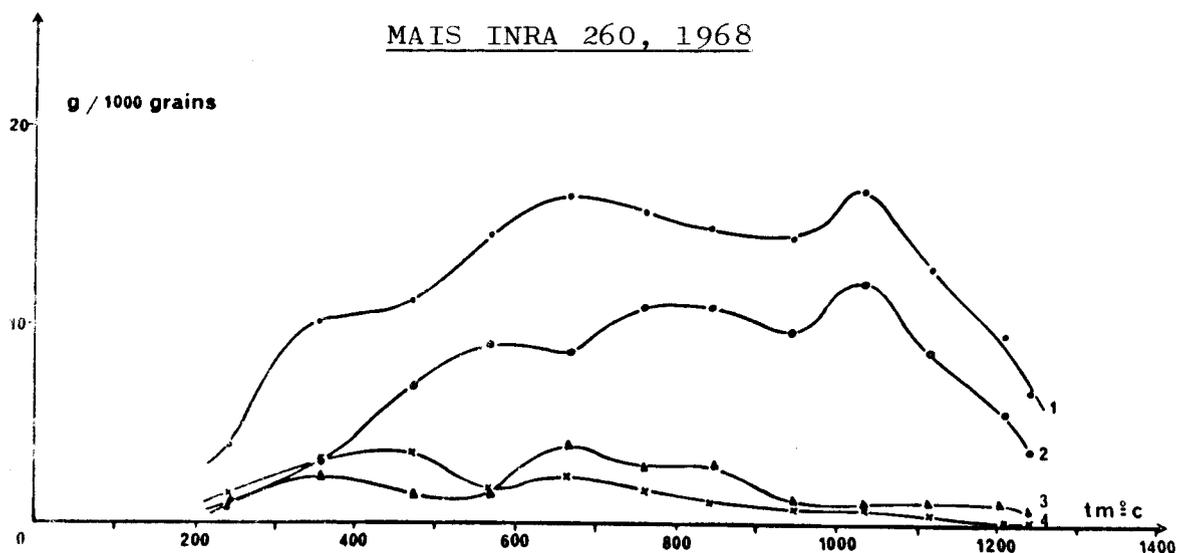
Figure 47

Evolution de la quantité d'oses et oligosides, rapportée au poids de 1000 grains secs en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$).

- | | |
|-------------------------------------|--------------|
| 1 - glucides alcoolosolubles totaux | 3 - fructose |
| 2 - saccharose | 4 - glucose |



Evolution de la quantité de polyhosesides, rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières, accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$). L'ordonnée à gauche est relative à l'amidon (A), celle de droite aux pentosanes (P) et cellulose (C).



Evolution de la quantité d'oses et d'oligosides, rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$).

- | | |
|-------------------------------------|--------------|
| 1 - glucides alcoolosolubles totaux | 3 - fructose |
| 2 - saccharose | 4 - glucose |

particulièrement net chez l'amidon et les pentosanes. L'accumulation de ces trois polyholosides semble donc s'effectuer de façon parallèle. On peut aussi noter dans tous les cas, sauf peut-être pour l'amidon en 1968, une légère chute de la quantité de ces constituants dans les grains en fin de maturation. Rappelons que cette légère diminution se retrouve également au niveau de la matière sèche de 1000 grains si l'on se rapporte aux valeurs expérimentales. Par contre, le début du palier de la matière sèche apparaît plus tôt que le palier d'accumulation des polyholosides, en particulier en 1967 ; ceci laisse prévoir une décroissance assez notable des oses et des oligosides du grain pendant cette dernière phase.

C'est en effet ce qui est observé lorsque l'on examine l'évolution des glucides alcoolosolubles totaux et, parmi eux, plus spécialement le saccharose. Le glucose montre peu de fluctuation, l'apparition du raffinose coïncide avec le dernier maximum des glucides alcoolosolubles totaux et le palier de la matière sèche. Si l'on considère l'allure des courbes des oses et des oligosides, le point qui semble le plus net est relatif aux variations inverses entre la quantité de saccharose accumulée d'une part et celle du fructose et, en partie, du glucose, d'autre part. En fait, tout se passe comme si le fructose, le glucose et le saccharose correspondent à des termes de passage dans la synthèse des polyholosides étudiés.

B - BLE.

Ici encore on remarque une vitesse et une accumulation de l'amidon (fig. 50 et 51) supérieures à celles des pentosanes et de la cellulose. Contrairement à l'observation faite chez le maïs, l'allure des courbes de l'accumulation d'amidon est assez différente de celle de la cellulose et des pentosanes dans la première phase. Ceci est le plus net chez le Cappelle où, dès le début de la formation du grain, on constate une accumulation importante de cellulose et de pentosanes. Il convient de souligner que la formation de cellulose de Joss, contrairement à celle de Cappelle, semble passer par un léger maximum. On peut noter, d'autre part, que les glucides alcoolosolubles, (fig. 52 et 53) montrent un maximum qui se situe au début de la formation du grain.

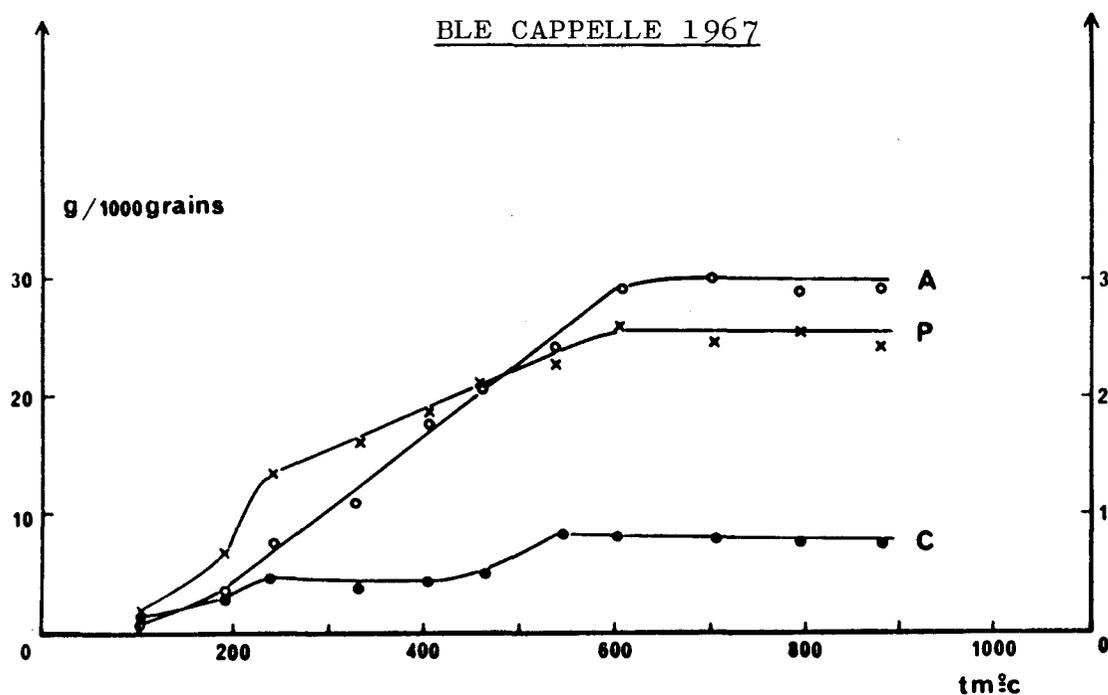


Figure 50

Evolution de la quantité de polyholosides, rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières, accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$). L'ordonnée à gauche est relative à l'amidon (A), celle de droite aux pentosanes (P) et à la cellulose (C).

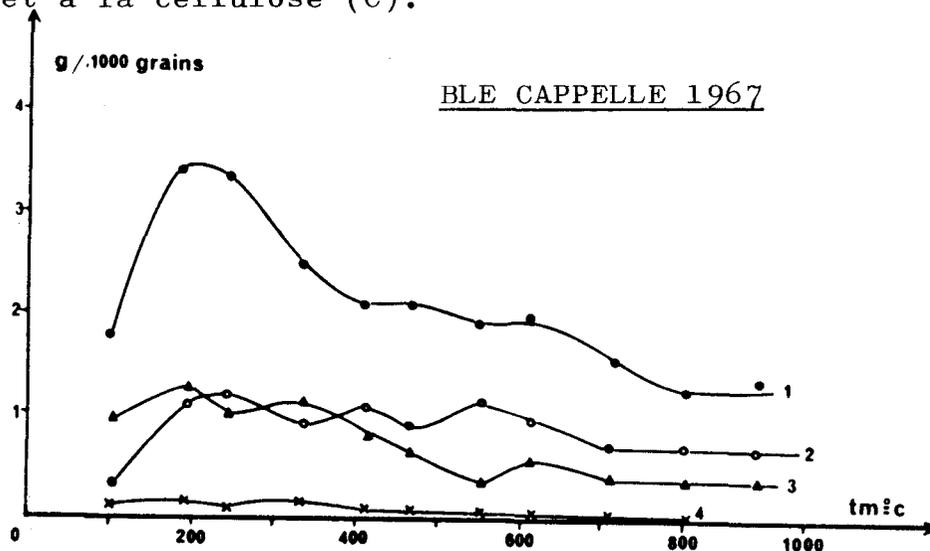


Figure 51

Evolution de la quantité d'oses et d'oligosides, rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$).

- | | |
|-------------------------------------|--------------|
| 1 - glucides alcoolosolubles totaux | 3 - fructose |
| 2 - saccharose | 4 - glucose |

BLE JOSS 1968

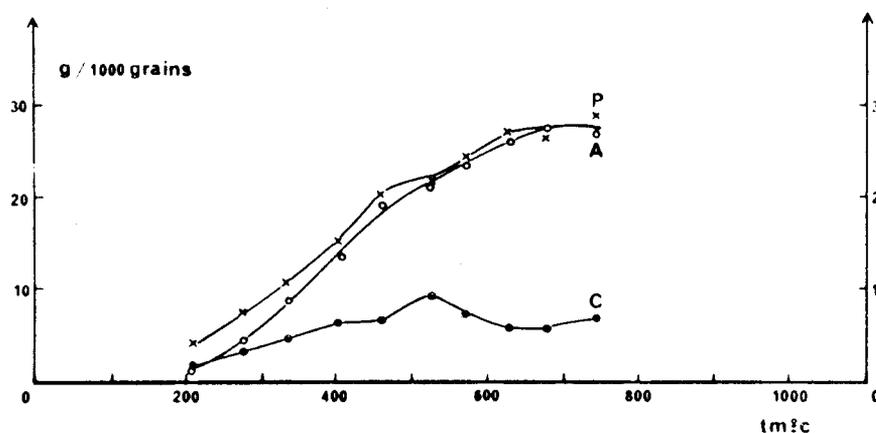


Figure 52

Evolution de la quantité de polyholosides, rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison (tm°C). L'ordonnée à gauche est relative à l'amidon (A), celle de droite aux pentosanes (P) et à la cellulose (C).

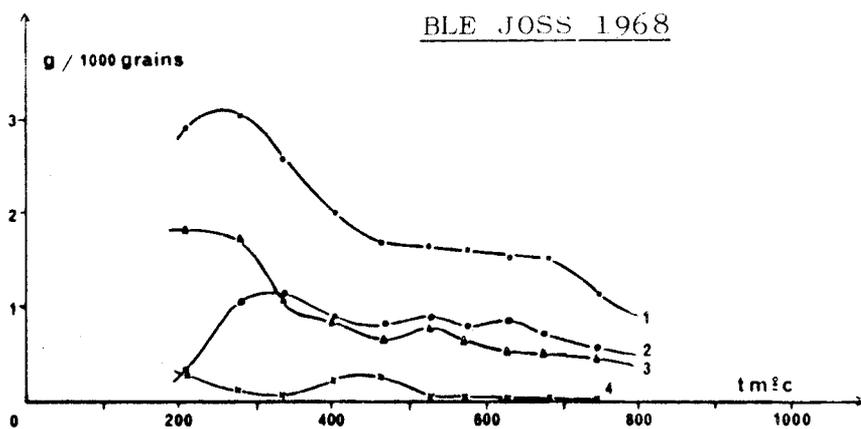


Figure 53

Evolution de la quantité d'oses et d'oligosides, rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison (tm°C).

- | | |
|-------------------------------------|--------------|
| 1 - glucides alcoolosolubles totaux | 3 - fructose |
| 2 - saccharose | 4 - glucose |

Leur diminution s'effectue ensuite par paliers successifs, alors que les polyholosides croissent. Cette diminution s'observe même au-delà du palier des polyholosides, ce qui laisse entendre que ces composants de faible poids moléculaire sont utilisés dans d'autres processus métaboliques (respiration par exemple).

Le saccharose, le fructose libre et les fructosanes semblent évoluer de façon sensiblement comparable, avec toutefois un léger décalage des maxima et minima, en particulier chez Cappelle et pour le début de la formation du Joss.

L'évolution de ces différents oses et oligosides paraît indiquer que ces constituants, au moins pour une partie, sont des termes de passage dans la synthèse des polyholosides examinés. Le glucose, dont la quantité reste faible, semble avoir le même rôle, et il est à noter que son maximum correspond à la période de ralentissement de l'accumulation d'amidon.

C - ORGE.

Cette céréale montre, encore plus que le blé, une différence nette entre l'allure des courbes d'accumulation de pentosanes et cellulose par rapport à celle de l'amidon. Ces courbes (fig. 54, P et C) présentent globalement la même allure ; l'accumulation des deux constituants est rapide au début de la formation des grains ; cependant elle est suivie très vite d'une seconde accumulation importante pour les pentosanes alors que la cellulose ne s'accroît plus que lentement et assez faiblement. Enfin il semble se manifester en fin de maturation une légère diminution des quantités de pentosanes présentes.

La quantité de glucides alcoolosolubles totaux (fig. 55) se trouve à son maximum au tout début de la formation des grains ; elle diminue très sensiblement dès que commencent à croître les polyholosides. Les fructosanes semblent plus impliqués dans le processus que le saccharose, dont la quantité varie moins pendant cette période ($t_m = 200$ et 400°C).

Au-delà, c'est au contraire la quantité de saccharose qui décroît pendant que l'amidon continue de s'accumuler. Ici encore le glucose est présent en quantité très faible, ce ^{qui} témoigne de son intervention comme élément de transition dans la formation des polyholosides.

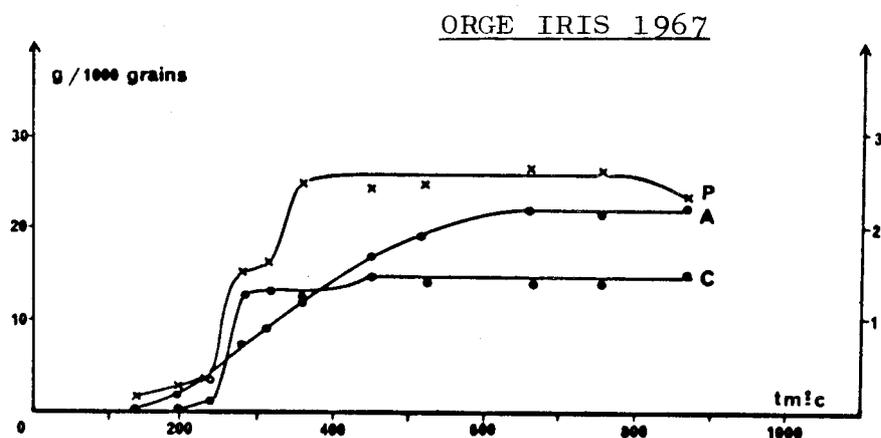


Figure 54

Evolution de la quantité de polyhoses rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$). L'ordonnée à gauche est relative à l'amidon (A), celle de droite aux pentosanes (P) et à la cellulose (C).

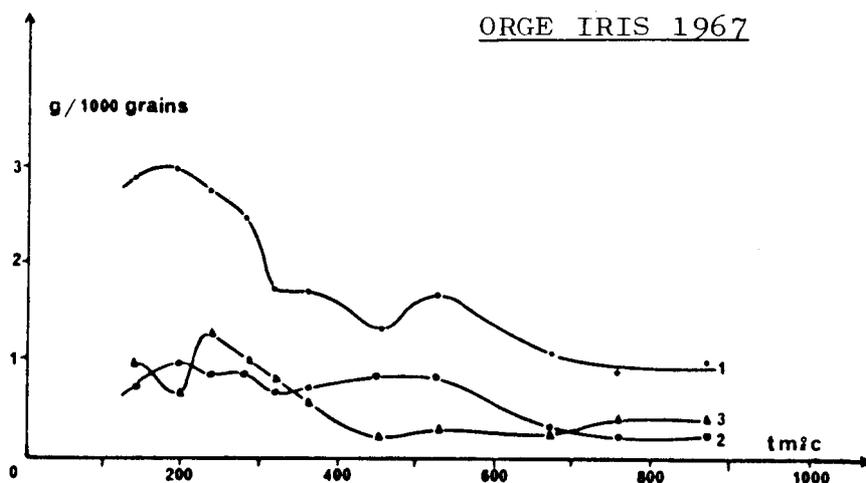


Figure 55

Evolution de la quantité d'oses et d'oligosides, rapportée au poids de 1000 grains secs, en fonction de la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($tm^{\circ}C$).

- | | |
|-------------------------------------|--------------|
| 1 - glucides alcoolosolubles totaux | 3 - fructose |
| 2 - saccharose | 4 - glucose |

IV - DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS.

Dans cette partie, nous comparerons brièvement les résultats obtenus au cours de nos recherches et ceux indiqués dans les travaux antérieurs.

Avant d'aborder cette discussion, il convient de rappeler les deux caractères originaux de notre contribution : d'une part, nous nous sommes efforcés dans la mesure du possible de mettre en application des méthodes de dosage spécifiques ; pour certaines d'entre elles nous avons dû procéder au préalable à leur mise au point : c'est le cas pour le dosage des pentosanes, du saccharose et du raffinose.

D'autre part, nous avons attaché beaucoup d'importance à une extraction complète des glucides alcoolosolubles. Il a donc été possible de distinguer l'évolution des différents composants glucidiques, mais il sera quelquefois difficile de comparer ces résultats avec ceux indiqués dans les travaux antérieurs, car ces derniers ont été dans la majorité des cas obtenus au moyen des méthodes de dosage global qui ne distinguent que le caractère réducteur ou non de la fraction osidique.

Aspect qualitatif de la fraction glucidique.

Considérons d'abord l'aspect qualitatif relatif à ces constituants glucidiques et en particulier ce qui concerne les oses et les oligosides.

Il se confirme que l'on relève dans les trois céréales étudiées la présence de glucose, de fructose, de saccharose et de traces de maltose ; en fin de maturation, on observe l'apparition du raffinose. Soulignons que les traces de maltose, toutes proportions gardées, semblent plus importantes dans les grains de blé et d'orge que dans ceux de maïs. De plus, nous avons pu repérer dans la fraction des oligosides de poids moléculaire assez élevé du maïs, trois constituants que l'on suppose être des glucosanes à courtes chaînes.

Nos observations sont donc en contradiction avec celles de GRZESUIK -pour qui le grain de maïs contient du glucodifuctose et, en quantités importantes, du maltose- et d'après qui le raffinose se forme au début de maturation pour disparaître dans le grain mûr.

On peut supposer que ces divergences sont dues à des conditions insuffisantes de stabilisation du grain et à l'utilisation de révélateurs insuffisamment spécifiques.

Tous les oses et oligosides, sauf le raffinose, sont présents dès le début dans les grains, seules leurs proportions varient en cours de maturation.

Nous n'avons pu étudier en détail la fraction des glucofructosanes du blé et de l'orge, mais nos observations rejoignent celles d'autres auteurs (MENGER, 1961 ; HARRIS, 1962) relatives à la présence de glucodifructose et des polymères de ce triholoside.

Evolution quantitative des composants glucidiques.

La comparaison de nos résultats relatifs à l'évolution quantitative des glucides du grain exprimée en pour cent de la matière sèche avec ceux indiqués par d'autres auteurs conduit aux remarques ci-après.

L'allure sigmoïde générale des courbes représentant l'évolution de l'amidon au cours de la maturation est assez comparable à celle observée par différents auteurs et nous confirmons ces observations. Dans la phase d'accumulation rapide de l'amidon, l'allure de la courbe semble d'autant plus perturbée que cet accroissement est étalé dans le temps (durée de maturation plus longue), Ceci ressort en particulier de la comparaison des résultats obtenus sur le maïs par EVANS (1941), par GRZESUIK (1960) et par nous-mêmes. On peut d'ailleurs noter que nos résultats sont intermédiaires à ceux de ces auteurs.

L'évolution des pentosanes et de la cellulose que nous avons observée chez le maïs, rejoint celle trouvée respectivement par GRZESUIK (1960) et EVANS (1941) qui semblent être les seuls à avoir étudié précédemment les variations de ces constituants.

Nos résultats concernant ces deux types de polyholosides constituent pour le blé et l'orge les premières indications relatives à l'évolution de ces composants. L'orge se distingue des autres céréales en raison de l'adhérence des glumelles.

L'allure des variations des glucides alcoolosolubles totaux des trois céréales est dans son ensemble, comparable à celle relevée par EVANS (1941) pour le maïs. EARLY (1951), GRZESUIK (1960) et JENNINGS (1969) ont pu mettre en évidence au tout début de la

formation du grain, le passage par un maximum ou l'existence d'un palier avant la diminution brutale de ces constituants. Nous pensons que nous aurions pu observer la même évolution, si nous avions effectué des prélèvements à un stade plus précoce.

L'évolution des sucres réducteurs (glucose et fructose) et celle des sucres non réducteurs (saccharose et raffinose) que nous avons trouvées pour les trois céréales, sont également en bon accord avec les observations des autres auteurs.

Grâce à la spécificité des dosages, il nous a été possible de suivre séparément l'évolution du glucose, du saccharose et du raffinose. Nous avons confirmé le passage par un maximum de la teneur en saccharose chez le blé et nous avons pu montrer que le raffinose apparaît seulement vers la fin de la formation du grain.

Nous pensons qu'il est important de souligner que la composition en oses et oligosides des grains mûrs, telle que nous l'avons déterminée (présence de glucose, fructose, saccharose, raffinose, trace de maltose, et en plus dans le blé et l'orge de glucodifrutose et de glucofructosanes) correspond à celle des grains récoltés dans des conditions optimales et qui n'ont donc pas été altérés par un stockage.

Il est donc possible que les différences de composition observées par certains auteurs, soient dues à des conditions de stockage défectueuses: les proportions parfois importantes de maltose et de ses homologues supérieurs, ainsi que la présence de melibiose trouvées par certains auteurs, peuvent s'expliquer par l'intervention des amylases sur l'amidon, de l'invertase sur le saccharose et le raffinose. Remarquons également que selon l'espèce et la variété, les teneurs en ces différents composants glucidiques alcoolosolubles peuvent varier sensiblement.

Le fait d'avoir rapporté nos résultats à l'organe en cours de formation (résultats rapportés au poids de 1000 grains) nous a permis de suivre plus facilement l'accumulation des différents glucides. Ce mode d'expression donne en effet la possibilité de faire la part des constituants qui représentent seulement des termes de passage dans la migration et l'accumulation des substances de réserve et de structure.

Ainsi on peut distinguer les glucides qui s'accumulent progressivement et plus ou moins rapidement dans le grain (essentiellement amidon, pentosanes, cellulose et raffinose) et ceux dont la quantité passe par un ou une série de maximums plus ou moins étalés au début et diminuant en fin de maturation ; cette évolution des glucides alcoolosolubles, en particulier la présence de maxima au début de la maturation est plus marquée chez le blé et l'orge que chez le maïs. Ceci semble devoir être attribué à la présence dans les deux premiers de glucofructosanes, qui sont absents dans le maïs. De façon générale, ces oligosides ont tendance à diminuer en cours de maturation. On peut penser qu'ils sont dégradés par le jeu d'un certain nombre d'enzymes pour être utilisés soit dans la synthèse des polyholosides de réserve soit dans d'autres voies métaboliques. Le fait de considérer le glucose et le fructose comme termes de passage rejoint l'hypothèse de certains auteurs cités dans les travaux antérieurs, qui estiment que la synthèse de l'amidon se fait à partir des sucres réducteurs ou non. Cependant il convient de remarquer qu'il n'est pas possible de tirer de telles conclusions à partir des résultats exprimés en pour cent de la matière sèche, car le pourcentage de certains constituants diminue en cours de maturation du simple fait de l'accumulation rapide de l'amidon. Il est erroné d'émettre comme l'a fait GRZESUIK (1960) l'hypothèse de la transformation des pentosanes en amidon sur la base de résultats exprimés en pour cent de matière sèche. Nous observons en effet dans tous les cas que l'évolution des pentosanes et de la cellulose ou bien suit celle de l'amidon, ou bien montre un accroissement rapide pour aboutir à un palier.

L'allure générale de l'accumulation des constituants glucidiques reste sensiblement la même pour le maïs, le blé et l'orge. Cependant deux différences sont à souligner. On observe d'une part, une accumulation très rapide des pentosanes et de la cellulose dans l'orge, ce qui peut s'expliquer par le fait que le grain de cette céréale n'est pas séparé de ses glumelles; on note d'autre part l'existence d'un maximum du saccharose et du fructose au début de la formation des grains. La présence de ce maximum peut être due au développement pendant cette période de l'assise protéique (Laboratoire de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales, 1950); cette dernière est d'ailleurs plus importante chez le blé et l'orge que chez le maïs.

Nous nous sommes efforcés de présenter nos résultats non pas en fonction du nombre de jours écoulés depuis la floraison mais en fonction de l'un des facteurs climatique (GESLIN et JONARD, 1948) ayant une action importante sur le développement du grain, tel que la somme des températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ($t_m^{\circ}\text{C}$).

Ceci nous a permis, dans le cas du blé et de l'orge, d'observer certains points singuliers de l'évolution des glucides qui se situent indépendamment de l'année de culture, de l'espèce et de la variété, sensiblement aux mêmes valeurs de t_m . Nous avons ainsi pu observer que la fin de l'accumulation de l'amidon se situe toujours à des valeurs de t_m comprises entre 625 et 675 $^{\circ}\text{C}$, alors que le nombre de jours écoulés depuis la floraison varie plus largement. (Cappelle 31e jour, Joss 42e jour, Iris 42e jour). Nous avons également pu situer certaines de ces variations par rapport au palier de l'eau (blé Joss) et de ses caractéristiques indiquant un échouage.

Par contre l'accumulation de l'amidon dans le grain de maïs semble moins étroitement liée à la valeur de ce paramètre t_m . Pour deux cultures successives d'une même variété en un même lieu, la fin de l'accumulation de l'amidon est atteinte en un même nombre de jours, alors que les valeurs de t_m diffèrent de 100 unités. Cette différence entre le blé et le maïs n'est pas tellement surprenante du fait que la maturation de ce dernier intervient en septembre-octobre, période relativement froide ; de ce fait il aurait peut-être été préférable de tenir compte des valeurs de températures moyennes journalières supérieures à un certain minimum. Ceci aurait pu modifier les positions respectives des courbes en fin de maturation. Par ailleurs, il est évident que cette somme de températures moyennes journalières accumulées depuis la floraison ne tient compte que d'un des facteurs intervenant dans le développement du grain. Comme nous l'avons vu dans le cas du maïs, l'insolation et la pluviosité entre autres doivent être prises en considération. C'est ce qui nous a permis de noter pour le maïs l'influence vraisemblable de ces facteurs sur l'évolution des polyholosides tels que l'amidon et les pentosanes.

Il n'est malheureusement pas possible pour l'instant d'aller plus loin dans l'analyse de l'influence de ces facteurs climatiques.

Toutefois, nous espérons que cette étude, au cours de laquelle nous nous sommes efforcés d'utiliser des méthodes de dosage spécifiques et d'exprimer les résultats sur des bases susceptibles de faciliter leur interprétation, contribuera à une meilleure connaissance de l'évolution des glucides au cours de la maturation des grains. Nous pensons également que les observations relatives à l'influence du climat, malgré leurs limitations, peuvent constituer une orientation pour des recherches ultérieures.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AGRANOFF B.W., RADIN N., SUOMI W., 1962. Biochim. Biophys. Acta, 57, 194.
- AMARAL D., BERNSTEIN L., MORSE D., HORECKER B.L., 1963. J. Biol. Chem., 238, 2281.
- A.A.C.C., 1962. Cereal Laboratory Methods. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Mi., U.S.A.
- A.O.A.C., 1945. Pentosans in grain and stock feed, Official and tentative method of analysis (Association of official agricultural chemists, Washington, DC), U.S.A.
- ASENSIO C., AMARAL D., 1961. Fed. Proc., 20, 85.
- AVIGAD G., AMARAL D., ASENSIO C., HORECKER B.L., 1962. The D-galactose-oxidase from Polyporus circinatus. J. Biol. Chem., 237, 2736-2743.
- BECHTEL W.G., GEDDES W.F., GILLES K.A., 1964. WHEAT Chemistry and Technology, edited by HLYNKA I., Chapter 7, Carbohydrates.
- BELVAL H., 1924. Thèse de doctorat ès sciences, Paris.
- BETHGE P.O., EGGERS J.H., 1960. Determination of pentosans. Part 5. Colorimetric determination of furfural in the presence of 5-hydroxymethylfurfural. Svensk Papperstidning, 63, (21), 745-748.
- BRENCHLEY W.E., 1909. On the strength and development of the grain of wheat (Triticum vulgare). Ann. Botany, 23, 117-138.
- BRENCHLEY W.H., HALL A.D., 1909. The development of the grain of wheat. J. Agric. Sci., 3, 195-217.
- BRUYN J.W., VAN KEUMEN H.A., FERGUSON J.H.A., 1968. Rapid method for the simultaneous determination of glucose and fructose using anthrone reagent. J. Sci. Fd. Agric., 19, 597-601.
- CARLES J.M., 1956. L'évolution des glucides du blé. Bull. Sci. Bot., 137, 103.
- CLENDENNING K.A., 1942. Canad. J. Res. Sect. C, (20), 403.
- CLENDENNING K.A., 1945. Canad. J. Res., Sect. B., (23), 113.
- C.N.E.R.N.A., 1958. Teneur en eau déterminée selon la méthode de référence mentionnée dans "Méthodes analytiques des Céréales du C.N.E.R.N.A."
- COLIN H., BELVAL H., 1923. La lévuline dans les céréales. C.R. hebd. Séances Acad., 177, 973.

- COOPER J.A., SMITH W., BACILA M., MEDINA H., 1959. Galactose-oxidase from *Polyporus circinatus*, Fr. J. Biol. Chem., 234, 445-448.
- DAVY, 1966. Thèse de doctorat de l'université, Faculté de Pharmacie, Paris.
- DISCHE Z., BOREN FREUND E., 1951. J. Biol. Chem., 192, 583.
- DRAPRON R., GUILBOT A., 1962. Contribution à l'étude des réactions enzymatiques dans les milieux biologiques peu hydratés. Ann. Technol. Agric., 11, (3), 175-218.
- DUFFAU F., 1946. Nouvel appareil à entraînement par la vapeur. Application au microdosage des générateurs de furfural par une technique colorimétrique. Bull. Soc. Chim. Biol., 28, (10-12), 873-877.
- EARLE F.R., MILNER R.T., 1944. Improvement in the determination of starch in corn and wheat. Cereal Chem., 21, 567-575.
- EARLY E.B., 1952. Percentage of carbohydrates in the kernel of station reid yellow dent corn at several stades of development. Pl. Physiol., 27, 184-190.
- EVANS J.W., 1941. Changes in the biochemical composition of the corn kernel during development. Cereal Chem., 18, 468-473.
- EWERS, 1965. Determination of starch by extraction and dispersion with hydrochloric acid., International Organisation for Standardization (ISO/TC 93/WGL).
- FLAN L., CHU P., SHELLENBERGER J.A., 1963. Diffusion of water in the kernel of corn and sorghum. Cereal Chem., 40, 303.
- FLEMING I.D., PELGER H.F., 1963. The determination of glucose in the presence of maltose and iso-maltose by a stable enzymatic reagent. Anal., 88, 967.
- FRASER J.R., BRANDON-BRAVO M., HOLMES D.C., 1956. The proximate analysis of wheat flour carbohydrates. I. Methods and scheme of analysis. J. Sci. Food Agric., 7, 577-589.
- FRASER J.R. HOLMES D.C., 1956. The proximate analysis of wheat flour carbohydrates. II. The analysis of the carbohydrate fractions of different flour types. J. Sci. Food Agric., 7, 589-594.
- GESLIN H., JONARD J., 1946. C.R. Ac. Sci., 32, 165-169.
- GESLIN H., JONARD J., 1948. Maturation du blé et climat. Les journées scientifiques du pain. Ann. Nutr. Alim., 2, (3-4-5-6), 111-121.
- GIRI K.V., NIGAM V.N., 1953. Separation of simple saccharides and oligosaccharides by circular paper chromatography. Naturw., 40, 343-344.

GUIDOTTI G., COLOMBO J.P., FOA P.P., 1961. Enzymatic determination of glucose : stabilisation of color developed by oxidation of o-dianisidine. Anal. Chem., 33, 151-153.

GUILBOT A., 1963. Etat de nos connaissances sur les glucides de la farine - spécialement sur l'amidon. Cycle de Conférences "Farines" du C.T.U., Bulletin du C.T.U., 43-63.

GUIMBERTEAU G., 1960. Application de l'anthrone au dosage des sucres fermentescibles du vin. Ann. Technol., 1, 67-78.

GRZESIUK St., PIECZENCZYK J., REJOWSKI A., 1960. Les sucres du grain de maïs (*Zea mays* ssp. *Indurata*) au cours du développement (en polonais). Hodowla Roslin, Aklimatyzacja i Nasiennictwo, 4, (2), 97-110.

HARRIS G., HALL R.D., MacWILLIAMS I.C., 1954. J. Inst. Nerw., 60, 466.

HALL R.D., HARRIS G., MacWILLIAMS I.C., 1956. J. Inst. Brew., 62, 232.

HARRIS G., HALL R.D., MacWILLIAM I.C., 1955. A contribution to the assessment of the carbohydrates of malt and wort. Proc. Europ. Brew. Conv., 27-36.

HARRIS G., 1962. The structural Chemistry of Barley and Malt, Barley and Malt, édité par COOK, H.G. Academic Press, New York et Londres.

HARRIS G., MacWILLIAM I.C., PHILLIPS A.W., 1957. Proc. Eur. Brew. Conv., 178.

HECHT H., STÖHR G., 1968. Spektrophotometrische Kohlenhydratbestimmung an erntenahe gezogenen Weizenährenproben. Bayer. Landw. Jahrbuch., 45, (8), 1010-1019.

HORROCKS R.H., 1949. Paper partition chromatography of reducing sugars with benzidine as a spraying reagent. Nature, 164, 444.

HUGGETT A.S.O., NIXON D.A., 1957. Enzymatic determination of blood glucose. Biochem. J., 66, 12.

INGLE J., BEITZ D., HAGEMANN R.H., 1965. Changes in composition during development and maturation of maize seeds. Pl. Physiol., 40, 835-839.

ISHERWOOD F.A., JERMYN M.A., 1951. Relationship between the structure of the simple sugars and their behaviour on the paper chromatogram. Biochem. J., 48, 515.

JENNINGS P.H., McCOMBS C.L., 1969. Effects of sugary-1 and shrunken-2 loci on the kernel carbohydrate contents, phosphorylase and branching enzyme activities during maize kernel ontogeny. Phytochemistry, 8, 1357-1363.

JOHNSON G., LAMBERT C., JOHNSON D.K., SUNDERWIRTH S.G., 1964. Colorimetric determination of glucose, fructose, and sucrose in plant material using a combination of enzymatic and chemical methods. *J. Agr. Food Chem.*, 12, (3), 216-219.

Laboratoire de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales, INRA, 1950. Etude biochimique de la formation du grain de blé. *Ind. Agric. Alim.*, 1-2, 43-49.

LAGRANDEUR G., TOLLIER M.Th., GUILBOT A., 1968. Evolution de certains constituants du grain de maïs en fonction de divers conditions de stockage ou de séchage. *Industr. Alim. Agric.* (6-7), 837-842.

LECLERCQ-DUCATEL G., 1964. Les glucides et les protides du grain de maïs (*Zea mays*). Diplôme d'études supérieures, Université de Lille, Faculté des Sciences.

LOEWUS F.A., 1952. Improvement in anthrone method for the determination of carbohydrates. *Anal. Chem.*, 24, 219.

LYNCH B.T., GLASS R.L., 1962. Grain storage studies. XXXII. Quantitative changes occurring in the sugars of wheat deteriorating in the presence and absence of molds. *Cereal Chem.*, 39, (3), 256-262.

MACLEOD A.M., 1952. Studies on the free sugars of the barley grain. I. Historical survey. *J. Inst. Brew.*, 58, 270-276.

MACLEOD A.M., 1952. Studies on the free sugars of the barley grain. II. Distribution of the individual sugar fractions. *J. Inst. Brew.*, 58, 363-371.

MACLEOD A.M., 1953. Studies on the free sugars of the barley grain. IV. Low molecular fructosans. *J. Inst. Brew.*, 59, 462-469.

MACLEOD A.M., PREECE I.A., 1954. Studies on the free sugars of the barley grain. V. Comparison of sugars and fructosans with those of other cereals. *J. Inst. Brew.*, 60, 46-55.

MENGER A., 1961. Untersuchungen über die Möglichkeiten einer Beziehung zwischen löslichen Kohlenhydraten im Durumweizen und nicht enzymatischen Bräunungserscheinungen. Bericht über die Getreidechemikertagung 7-9. Juin, Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung A.G. Detmold.

MERCIER Ch., 1967. Communication personnelle.

MONTREUIL J., SPIK G., 1963. Microdosage des glucides. Fasc.1. Méthodes colorimétriques de dosage des glucides totaux, 35-36.

MONTREUIL J., MONSIGNY M., LECLERCQ-DUCATEL G., MERCIER Ch., TOLLIER M.Th., GUILBOT A., 1966. Influence des conditions de production, de récolte et de stockage sur la composition biochimique des céréales ; répercussion des variations sur la valeur nutritionnelle. II Glucides. *Ann. Nutr. Aliment.*, 20, (2), 165-175.

- PARTRIGDE S.M., 1949. Aniline H phtalate as a spraying reagent for chromatography of sugars. *Nature*, 164, 443.
- PERCIVAL J., 1921. *The wheat plant*, Duckworth and Co., London.
- PIRT S.J., WHEALAN W.J., 1951. The determination of starch by acid hydrolysis. *J. Sci. Food Agric.*, 2, 224-228.
- PCORST C.E.G., 1912. Occurrence of pentosans and hydrolysed pentosans in corn and corn products. *Orig. Com. 8th Intern. Congr. Appl. Chem.*, 13, 205-212.
- ROE J.H., EPSTEIN J.H., GOLDSTEIN N.P., 1949. *J. Biol. Chem.*, 178, 839.
- ROHRLICH M., ESSNER W., 1960. Untersuchungen über die Mono- und Oligosaccharide im reifenden Korn. *Getreide und Mehl*, 10, 121-125.
- ROTH H., SEGAL S., BERTOLI D., 1965. The quantitative determination of galactose - An enzymatic method using galactose-oxidase with application to blood and other biological fluids. *Analytical Chem.*, 10, 33-52.
- SAUNDERS R.M., WALKER H.G., Jr., 1969. The sugars of wheat bran. *Cereal Chem.*, 47, (1), 85-92.
- SCHMIDHAUSER Th., 1955. Natur und Verteilung der löslichen Kohlenhydrate im ruhenden und keimenden Gerstenkorn. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.*, 65, 302-342.
- SCHULBACH H.H., 1965. Der Kohlenhydratstoffwechsel der Getreidearten. *Getreide und Mehl*, 15 (5), 63-70.
- SHANNON J.C., 1968. A procedure for the extraction and fractionation of carbohydrates from immature Zea mays kernels. *Research Bulletin*, n° 842, august, Purdue University, Lafayette, Indiana.
- TANRET Ch., 1891. Sur la lévuline, nouveau principe immédiat de quelques céréales. *C.R. hebd. Séances Acad. Sci.*, 112, 293.
- TÄUFEL K., MÜLLER K., 1942. Über den Gehalt von Gerste und Malz an Mono- und Oligosacchariden. *Z. Lebensmittel-Untersuch.*, 83, (1), 49-54.
- TÄUFEL K., ROMMINGER K., HIRSCHFELD W., 1959. Oligosaccharide von Getreide und Mehl. *Z. Lebensmittel-Untersuch. Forsch.*, 109, (1), 1-12.
- TÄUFEL K., STEINBACH K.J., HARTMANN B., 1960. Über die niedrigen Saccharide des Mais und ihr Verhalten während Lagerung und Keimung. *Nahrung*, 4, 452-465.
- TÄUFEL K., RUTTLOFF H., FREISE R., 1962. Zur Bestimmung der Glucose in Stärkesirup mittels Glucose-oxydase. *Die Stärke*, 14, 309-318.

THATCHER R.W., 1913. The progressive development of the wheat kernel. I. J. Am. Soc. Agron., 5, 203-313.

THATCHER R.W., 1915. The progressive development of the wheat kernel II. J. Am. Soc. Agron., 7, 273-282.

THIVEND P., MERCIER Ch., GUILBOT A., 1965. Dosage de l'amidon dans les milieux complexes. Ann. Biol. Anim., Bioch., 5, (4), 513-526.

TOLLIER M.Th., 1969. Communication personnelle.

WATT B.K., MERRIL A.L., 1950. Composition of foods, US Dept. Agric., Handbook 8.

WEENDE, 1968. Méthodes officielles d'analyses des aliments des animaux. F.N.I.A.A., Paris.

WILLIAMS K.T., BEVENUE A., 1951. The chromatographic examination of sugars in wheat flour. Cereal Chem., 28, 415-423.

VAN HANDEL E., 1967. Determination of fructose and fructose yielding carbohydrates with cold anthrone. Anal. Biochem., 19, 193-194.