

T1972TECH06

TRAITEMENT DES GRAINES DE TOURNESOL PAR L'ACIDE PROPIONIQUE - ACTION SUR LEUR MICROFLORE ET SUR CERTAINES DE LEURS CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES

Mme POISSON J., CAHAGNIER B., CHANET M. et Melle GUENOT M.-C. (France)

Les graines de tournesol sont souvent récoltées à des teneurs en eau trop élevées pour qu'elles puissent être stockées sans un séchage préalable. Mais l'augmentation de la production et la mécanisation de la récolte, qui réduit la durée de la collecte, provoquent des engorgements au niveau des séchoirs.

Dans le but de pallier de tels inconvénients nous nous sommes proposés de recourir à l'action stabilisante d'un traitement des akènes de tournesol par l'acide propionique.

En effet ce procédé a été récemment utilisé pour soustraire aux dégradations d'origine microbienne un fort tonnage de grains humides, destinés à l'alimentation animale.

Il a donné des résultats assez satisfaisants en Angleterre, au Canada, dans les pays nordiques, en Allemagne et en France (1) (2) (3).

Les principaux avantages du traitement par l'acide propionique sont :

- la simplicité d'application par pulvérisation de l'acide pur sur les graines.
- et le coût très modique des investissements nécessaires.

L'acide propionique appartient à la série aliphatique des acides monocarboxyliques.

C'est un liquide incolore miscible à l'eau en toute proportion, dont les propriétés antimicrobiennes, comme celles des autres acides de la même série, sont connues depuis 1913 (4).

Son pouvoir inhibiteur est d'autant plus grand que le pH du substrat est plus bas puisque c'est la forme non dissociée qui est la plus active.

Mais le grand intérêt de l'acide propionique réside dans le fait qu'il est facilement métabolisable par les organismes à sang chaud.

Des essais de nutrition effectués sur bovins, ovins et porcins, ont permis de montrer que les animaux utilisent aussi bien et mieux, parfois, des grains humides traités que des grains secs (5).

Pour l'homme adulte, la dose acceptable, sans aucun risque, pour une absorption prolongée, est de l'ordre de 1 gramme par jour.

En 1970, l'utilisation de l'acide propionique a été autorisée en France, jusqu'à une dose de 3 %, mais uniquement pour la conservation des céréales.

En ce qui concerne les graines oléagineuses, l'utilisation de l'acide propionique n'a fait l'objet, jusqu'à ce jour, que de quelques sondages expérimentaux :

Des essais de stockage effectués en laboratoire avec du colza traité par l'acide propionique à des doses supérieures à 0,5 %, ont donné des résultats satisfaisants : le développement de la microflore est inhibé, l'acidification retardée ; l'acide propionique ne se retrouve pas dans les huiles, et même s'il s'y trouvait à l'état de traces, celles-ci seraient éliminées au cours du raffinage (6).

Par ailleurs, la présence d'acide propionique dans les tourteaux ne présente pas d'inconvénients, bien au contraire.

Des lots de soja ayant des teneurs en eau de 18 et 22 %, traités avec 0,75 d'acide propionique, ont pu être stockés pendant 10 semaines sans échauffement, sans développement microbien et sans que l'on note de changements significatifs dans la composition de l'huile (7).

Les premières expériences réalisées avec le tournesol aux U.S.A. se sont soldées par un échec, la dose d'acide utilisée, de l'ordre de 0,02 %, étant trop faible (8).

Par contre, en Europe centrale, notamment en Hongrie, des essais de traitement en laboratoire, à des doses supérieures, ont donné satisfaction (résultats non encore publiés).

Les essais préliminaires que nous avons effectués avec des graines de tournesol traitées par l'acide propionique à des doses plus élevées, ont surtout eu pour but de vérifier l'efficacité du procédé vis à vis du peuplement microbien des akènes et de l'acidification de l'huile.

Les premiers résultats obtenus, bien que fragmentaires, vont faire l'objet du présent exposé.

MATERIEL, PROTOCOLE EXPERIMENTAL ET METHODES D'ANALYSE

1 - Matériel

Les graines entières de tournesol (variétés Ienissei et Pérédovic) mises en expérience, proviennent, pour la plupart, de lots stockés pendant 4 à 9 mois après la récolte, à température ambiante sous une humidité relative de 60 - 65 %.

Elles ont un indice d'acide de 0,3 à 0,6 et une faible charge microbienne (moins de 200 00 bactéries par gramme et quelques milliers de moisissures) ; les autres, plus humides, possèdent un indice d'acide de 2,3 et une population microbienne beaucoup plus importante (plusieurs millions de bactéries par gramme et plus de 100 00 moisissures).

2 - Protocole expérimental

Suivant les cas, les graines sont utilisées telles quelles ou nettoyées par tamisage et ventilation, puis réhumidifiées jusqu'à des teneurs en eau de 9,5 à 10 % - 11 à 11,5 - 13 - 14,5 à 15,5 et 17,5 % de la substance humide (sh) par addition d'eau stérile et homogénéisation à 5°C.

L'acide propionique pur est pulvérisé sur les graines à raison de 0,5 - 1 et 2% de leur poids.

Chaque fraction traitée est homogénéisée dans un mélangeur cubique pendant trente minutes.

Les graines sont ensuite réparties dans des sachets en mailles de nylon suspendus dans des enceintes en verre d'une capacité de 10 litres, fermées de façon non étanche et thermorégulées à 13 et 22°C, où le degré hygrométrique est maintenu à un niveau constant, en équilibre hydrique avec des solutions salines saturées.

Le volume des graines représente 1/5 environ de celui des enceintes.

3 - Méthodes d'analyse

Au cours du stockage, les échantillons prélevés sont soumis aux analyses et examens suivants :

- détermination de la teneur en eau par séchage de 10 grammes de graines entières à l'étuve à 102°C suivant la norme AFNOR NF V 03 903 ;
- détermination de l'indice d'acide par la méthode AFNOR NF V 03 906, exprimé en mg de KOH nécessaire pour neutraliser les acides gras libres dans 1 g d'huile.
- dénombrement des populations bactériennes et fongiques des graines par broyage aseptique de 25 g de graines dans 200 ml de diluant, dilutions décimales et ensemencements sur milieux nutritifs (9).
- dosage de l'acide propionique résiduel dans l'huile et dans les tourteaux déshuilés, par chromatographie en phase gazeuse ;
- détermination de la capacité germinative par la méthode éditée par l'association internationale d'essais de semences.
- dosage de l'azote total par la méthode de Berthelot adaptée au Technicon.

RESULTATS OBTENUS ET DISCUSSION

1 - ACTION DU TRAITEMENT SUR LA MICROFLORE DES GRAINES

1-1 Action extemporanée du traitement sur les éléments dominants de la population microbienne des graines.

1.1.1. - Action dépressive

Au moment du traitement, la population bactérienne des graines diminue dans des proportions d'autant plus importantes que la dose d'acide propionique est plus élevée.

Ainsi de 92.000 par gramme elle tombe à 49.000 après addition de 0,5% d'acide et à 2.250 après addition de 1% d'acide à un lot de tournesol ayant une teneur en eau de 15%.

L'action dépressive du traitement vis à vis du nombre de moisissures est également une fonction croissante de la dose ; dans l'essai précité ce nombre décroît de 8.900 par gramme à 25 après addition de 0,5% d'acide et à moins de 1 après addition de 1%.

Le coefficient de réduction* de la population microbienne varie beaucoup d'un essai à l'autre; il dépend, entre autres facteurs de la teneur en eau des graines et de la nature des microorganismes.

Par exemple, pour des lots de même origine, mais réhumidifiés jusqu'à des teneurs en eau de 12 - 15 et 18%, les coefficients de réduction des bactéries sont respectivement de 7,4 - 26 et 33,5 après addition de 1% d'acide propionique.

Le même phénomène s'observe pour les moisissures.

Cependant plus la flore bactérienne est riche en espèces sporulantes ou la flore fongique en espèces de stockage (*Penicillium* - *Aspergillus*), plus le coefficient de réduction est faible. (Fig 1).

1.1.2 - Action sélective

Les bactéries gram négatif du tournesol et en particulier les Entérobactéries se sont révélées être plus sensibles à l'action de l'acide propionique que les bactéries gram positif; parmi ces dernières les bactéries sporulées sont les moins affectées par le traitement.

Ces constatations concordent avec les résultats antérieurement acquis sur les céréales et les fourrages mixtes (10).

L'acide propionique exerce également une action sélective vis à vis des moisissures du tournesol.

Par exemple, dans un lot dont la population initiale renferme environ 98% d'espèces champêtres (*Verticillium*, *Cladosporium* et surtout *Alternaria*) et 3% d'espèces de stockage (*Penicillium*, *Aspergillus*), le traitement à 0,5% abaisse la proportion des espèces champêtres jusque vers 50%, alors que celle des espèces de stockage s'élève; parmi ces dernières figurent surtout des *Aspergillus*: *Aspergillus repens* et *amstelodami*, *versicolor* et *candidus*, et de *Penicillium*: *P. granulatum*, *P. chrysogenum*, *P. brevicompactum* et *P. roqueforti*.

Dans la majeure partie des cas, l'ensemble de la population fongique est plus sensible au traitement que la population bactérienne; ceci est dû à la nature de la mycoflore des échantillons étudiés essentiellement constituée par des moisissures champêtres plus sensibles aux différents types d'agression que les moisissures de stockage.

Ce phénomène a également été signalé dans le cas des céréales.

1.2 - Evolution, pendant le stockage, de la microflore des graines traitées.

A titre d'exemple, seul sera examiné ici le cas des graines nettoyées ou non nettoyées, ayant une teneur en eau voisine de 16%, stockées à 22°C, après un traitement avec 0,5 et 1% d'acide propionique.

1.2.1. - Evolution de la population bactérienne (Fig 2)

Au début du stockage le nombre de bactéries régresse dans tous les lots, témoins et traités.

Puis il augmente légèrement pour s'abaisser à nouveau.

* Le coefficient de réduction est la valeur du rapport du nombre de microorganismes par gramme de graines avant traitement au nombre de microorganismes par gramme de graines après traitement.

La courte phase d'augmentation étant d'autant plus tardive que la dose est plus élevée, les populations bactériennes restent toujours numériquement inférieures aux populations initiales.

1.2.2. - Evolution de la population fongique (fig. 3₁, 3₂, 3₃)

1.2.2.1. - Quantitative

Le nombre de moisissures augmente rapidement dans les lots témoins dès les premiers jours de stockage. Dans les lots traités avec 0,5 %, au contraire, cette régression dure vingt à trente jours, puis la population résiduelle prend son essor, lequel une fois amorcé est très rapide, de sorte qu'en un mois et demi environ, les populations fongiques des lots traités sont numériquement aussi importantes que la population initiale du lot témoin, mais beaucoup moins variées (fig. 3₁).

Après deux mois de stockage, aucune augmentation des moisissures résiduelles n'est à signaler dans les lots traités avec 1 % d'acide propionique.

Dans les lots traités avec 1 % d'acide propionique, aucune augmentation des moisissures résiduelles n'est à signaler après trois mois et demi de stockage, excepté dans le lot ayant une teneur en eau de 17,5 % stocké à 22°C.

1.2.2.2. - Qualitative

Au début de l'essai, toutes les espèces présentes initialement sur les graines se développent dans les lots témoins, mais, très rapidement, des Aspergillus (A. candidus, A. ochraceus et A. glaucus) et surtout des Penicillium (P. brevicompactum, P. terrestre et P. roqueforti) prédominent.

Dans les lots traités avec 0,5 % d'acide propionique, les espèces des champs continuent à régresser après le début de l'essai, tandis que les Penicillium (P. brevicompactum et P. roqueforti) et des Aspergillus (A. glaucus et A. candidus) prennent leur essor. Dans les lots nettoyés, les Penicillium et les Aspergillus occupent également le terrain; dans les lots tout venant, les Aspergillus sont plus abondants que les Penicillium (fig. 3₂ - 3₃).

1.2.3. - Importance de divers facteurs conditionnant le développement des microorganismes dans les graines

traitées ; leur influence sur la durée de conservation.

1.2.3.1. - Dose d'acide propionique et son mode d'incorporation

Plus la dose est élevée, plus la colonisation des graines par les moisissures est retardée, ainsi qu'en témoignent les résultats qui figurent au tableau 1. Par exemple, les lots de teneur en eau égale à 17,5 %, stockés à 22°C, restent exempts de moisissures apparentes pendant 4 jours sans traitement, 35 jours après addition de 0,5 % d'acide propionique, 90 jours après addition de 1 %, et plus de 135 jours (durée actuelle de l'essai) après addition de 2 %.

1.2.3.2. - Facteurs d'ambiance ou caractéristiques du stockage

Ces facteurs jouent dans le même sens, que les lots soient traités ou non.

Une diminution de la teneur en eau retarde le développement des moisissures, dans les lots témoins comme dans les lots traités ; ainsi, à 22°C, des lots ayant reçu une dose de 0,5 % d'acide et se trouvant à des teneurs en eau de 17,5 % - 14,6 % et 10,5 % sont visiblement moisissés après 35, 40 et environ

105 jours de stockage. Bien qu'un abaissement de la température retarde généralement le développement des microorganismes, il n'y a pas, dans les conditions de nos essais, de différence notable entre la multiplication des moisissures à 22° et à 13°C. Ce phénomène a été observé avec du maïs qui, comme le tournesol, est récolté à une période où la température extérieure est fraîche, tout au moins la nuit et possède une flore adaptée à ces conditions.

2 - ACTION DU TRAITEMENT SUR L'ACIDITE DE L'HUILE EXTRAITE DES GRAINES

2.1. - Action extemporanée

Nous avons vérifié que la pulvérisation d'acide propionique sur les graines de tournesol n'entraîne aucune augmentation de leur indice d'acide déterminé par la méthode utilisée.

2.2. - Au cours du stockage des graines

Les lots traités s'acidifient plus lentement que les lots non traités.

- Plus la dose d'acide est élevée, plus l'acidification de l'huile des graines est lente (fig. 4). Ainsi, des graines d'une teneur en eau moyenne de 14,5 %, ayant reçu 2 % d'acide propionique, stockées à 22°C, ont un indice d'acide qui ne se trouve multiplié que par 1,37 en un mois et demi, tandis que celui du lot traité avec 0,75 % est multiplié par 2,57 et celui du témoin par 6.

- Plus la teneur en eau des lots est élevée, plus leur acidification est rapide :

soient deux lots de graines ayant même indice d'acide initial (0,35) et des teneurs en eau moyennes de 10 % et de 13 %. En 49 jours, l'acidité du premier est multipliée par 3,1 et celle du second par 8, après un traitement avec 0,5 % d'acide (fig. 5).

3 - INFLUENCE DU TRAITEMENT SUR LA CAPACITE GERMINATIVE DES GRAINES DE TOURNESOL

L'acide propionique a une action dépressive immédiate sur la capacité germinative des graines de tournesol. Celle-ci est d'autant plus forte que la dose d'acide utilisée et la teneur en eau de la graine sont plus élevées (fig. 6).

Au cours du stockage, la capacité germinative décroît d'autant plus vite que l'action dépressive initiale du traitement est plus sévère, donc que la dose d'acide et la teneur en eau de la graine sont plus élevées. Par exemple, pour les lots conservés avec une teneur en eau de 9,5 %, après 2 semaines de stockage, la capacité germinative des lots traités avec 0,5 % d'acide représente encore 84,5 % de la capacité germinative mesurée aussitôt après la pulvérisation, tandis que ce rapport tombe à 10 % pour les lots traités avec 1 % d'acide. Pour les lots ayant une teneur en eau de 15,5 % et une dose de 0,5 %, cette valeur passe de 84,5 % à 31,5 %.

Donc, pas plus dans le cas du tournesol que dans celui des céréales, le traitement par l'acide propionique ne saurait être retenu pour les semences, puisqu'il détruit le germe.

4 - MIGRATION DE L'ACIDE PROPIONIQUE DANS LES GRAINES TRAITÉES

Après traitement, l'acide propionique migre rapidement à travers la coque et s'infiltré dans l'amande.

Au cours de 5 semaines de stockage de graines ayant des teneurs en eau voisines de 11 %, la quantité d'acide reste relativement constante dans les amandes traitées (fig. 7).

5 - INFLUENCE DU TRAITEMENT SUR LA MATIERE PROTEIQUE BRUTE

L'addition de 0,5 % et 1 % d'acide propionique à des graines ayant des teneurs en eau de 12, 15 et 18 %, ne modifie pas leur taux de matière protéique brute.

6 - DUREE DE CONSERVATION DES GRAINES TRAITEES

A partir des données acquises sur l'évolution, pendant le stockage, des microorganismes des graines de tournesol traitées et de leur indice d'acide, nous avons tenté de dégager quelques indications sur leur durée de conservation en fonction de la dose d'acide propionique appliquée.

Bien que, dans les conditions hydriques et thermiques de stockage réalisées, l'augmentation de la population fongique des graines soit plus rapide que celle de leur acidité, nous n'avons retenu, pour l'instant, et très provisoirement, que le critère indice d'acide pour juger de la qualité technologique des graines, critère moins sévère pour l'huilier qu'un critère microbiologique, mais insuffisant sur le plan hygiénique, surtout quand les tourteaux sont destinés à l'alimentation animale.

En fixant arbitrairement à 3 la valeur limite de l'indice d'acide au-delà de laquelle les graines seront considérées comme dégradées, nous avons pu apprécier leur durée de conservation. Les résultats obtenus à partir des données expérimentalement acquises sont consignés dans le tableau 1, pour un certain nombre d'essais.

A partir des courbes d'évolution établies, il est possible d'évaluer la durée minimale de conservation des graines. Les valeurs obtenues, en fixant à 3 la limite supérieure de l'indice d'acide, sont portées dans le tableau 1 pour un certain nombre d'essais.

Ainsi, une durée de conservation supérieure à 105 jours (durée de l'essai) est assurée à 22°C avec 1 % d'acide propionique dans le cas de graines ayant une teneur en eau de 11 %; et avec 2 % dans le cas de graines ayant une teneur en eau de 14,5 %; de telles doses inhibent totalement le développement de la flore fongique résiduelle, pendant la période d'observation au moins.

Un lot ayant une teneur en eau de 14,5 % conserve un indice d'acide inférieur à 3 pendant 54 jours après un traitement avec 0,75 % d'acide propionique, tandis que sa mycoflore n'est stable que pendant 30 jours et qu'il est visiblement moisi en 40 jours environ.

Les renseignements figurant au tableau 1 sont susceptibles d'être utilisés dans la pratique pour fixer en première approximation les doses efficaces en fonction des caractéristiques des graines. Ils seront vérifiés à l'échelle industrielle dès la prochaine récolte. Par ailleurs, des essais seront poursuivis au laboratoire pour compléter et préciser les résultats de ce premier sondage.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BURREL N.J., HAVERS S.J., BISS P.M., GORDON S.L., STEPHEN C.J., FAULKNER D., 1969 - Storage of grain treated with propionic acid. Pest infestation research, the report of the pest infestation laboratory, 23.
- (2) BOSSET B., 1970 - L'acide propionique - C.R. Réunion acide propionique, A.G.P.M., 8 avril, 6 - 10.
- (3) PARNEIX P., COMBE P., FEVRIER C., 1971 - La conservation du maïs grain à l'état humide et son utilisation zootechnique - B.T.L., 264-265, 1019-1045.
- (4) KIESEL A., 1913 - Cité dans Handbook of food additives, 159.
- (5) FEVRIER C., BOURDON D., CHOMBOLLE M., 1971 - Valeur alimentaire du maïs humide conservé par l'acide propionique pour la truie et le porcelet, et du maïs ensilé pour le porc en croissance. Journées de la recherche porcine en France.
- (6) CHANET M., POISSON J., 1971 - Conservation des graines oléagineuses par l'acide propionique. Compte-rendu au sous comité "Conservation" CETIOM (29 octobre)
- (7) STEVENSON K.R., ALEXANDER J.C., 1972 - Propionic acid for storage of high moisture soybeans. Can. J. Plant. Sci. 52, 291-294.

- (8) CHRISTENSEN C.M., 1971 - Tests with propionic acid as mold preventive on moist stored grains (Department of plant pathology, University of Minnesota).
- (9) POISSON J., CAHAGNIER B., 1972 - Aspect microbiologique de la conservation du maïs grain humide par l'acide propionique. Ann. Technol. Agric.
- (10) SINGH-VERMA S.B., 1970 - Über den Einsatz der Propionsäure zur Konservierung von industriell hergestellten Mischfuttermitteln sowie von feuchtem Getreide und Maïs. Ergebnisse der Mikrobiologischen Untersuchungen. Zbl. Bakt. Parasit. Infekt. Hyg., 125, 1, 100-111.

LEGENDES DES FIGURES

Fig. 1 - Evolution du coefficient de réduction des micro-organismes des graines ayant une teneur en eau voisine de 14,5 - 15 %, traitées par l'acide propionique en fonction de la dose utilisée et de la nature de la flore.

- flore bactérienne mésophile variée
- o flore bactérienne riche en bactéries sporulées
- + flore fongique riche en espèces du champ
- * flore fongique riche en espèces de stockage

Fig. 2 - Evolution du nombre de bactéries par gramme de graines ayant une teneur en eau voisine de 14,5 % - 15 %, au cours d'un stockage à 22°C en atmosphère légèrement confinée.

- lot témoin
- o lot traité avec 0,5 % d'acide propionique
- + lot traité avec 1 % d'acide propionique

Fig. 3 - Evolution du nombre de moisissures par gramme de graines ayant une teneur en eau voisine de 14,5 - 15 %, au cours d'un stockage à 22°C en atmosphère légèrement confinée.

- + lot témoin
- o lot traité avec 0,5 % d'acide propionique
- 1 population fongique globale
- 2 Aspergillus
- 3 Penicillium

Fig. 4 - Influence de la dose d'acide propionique sur l'évolution de l'indice d'acide de graines ayant une teneur en eau voisine de 14,5 - 15 % au cours d'un stockage à 22°C en atmosphère légèrement confinée.

- o lot témoin
- lot traité avec 0,75 % d'acide propionique
- + lot traité avec 2 % d'acide propionique

Fig. 5 - Influence de la teneur en eau des graines traitées par 0,5 % d'acide propionique sur l'évolution de leur indice d'acide au cours d'un stockage à 22°C en atmosphère légèrement confinée.

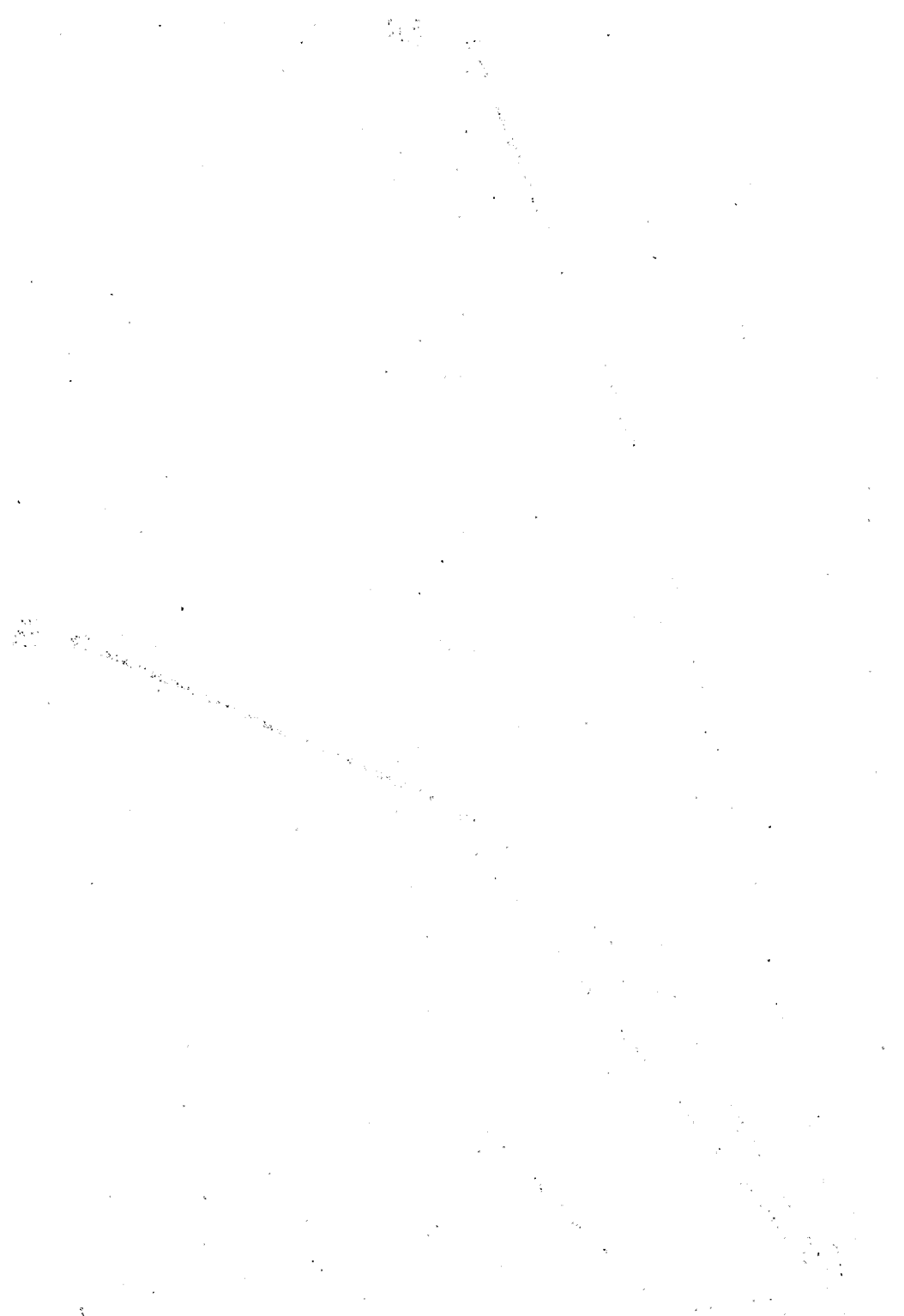
- + teneur en eau des graines 9,5 - 10 %
- o " " " " 13 %

Fig. 6 - Influence de la dose d'acide propionique sur la capacité germinative (c.g.) des graines traitées pour diverses teneurs en eau

- — — — c.g. au moment du traitement
- c.g. 12 jours après le traitement
- teneur en eau 9,5 à 10 %
- o " " " " 15 %
- + " " " " 18 %

Fig. 7 - Evolution de la teneur en acide propionique au niveau des coques et des amandes des graines ayant une teneur en eau de 11 % traitées au cours d'un stockage à 22°C en atmosphère légèrement confinée.

----- coques
----- amandes
o + teneur en acide propionique 0,5 %
x teneur en acide propionique 1 %



C.de reduction

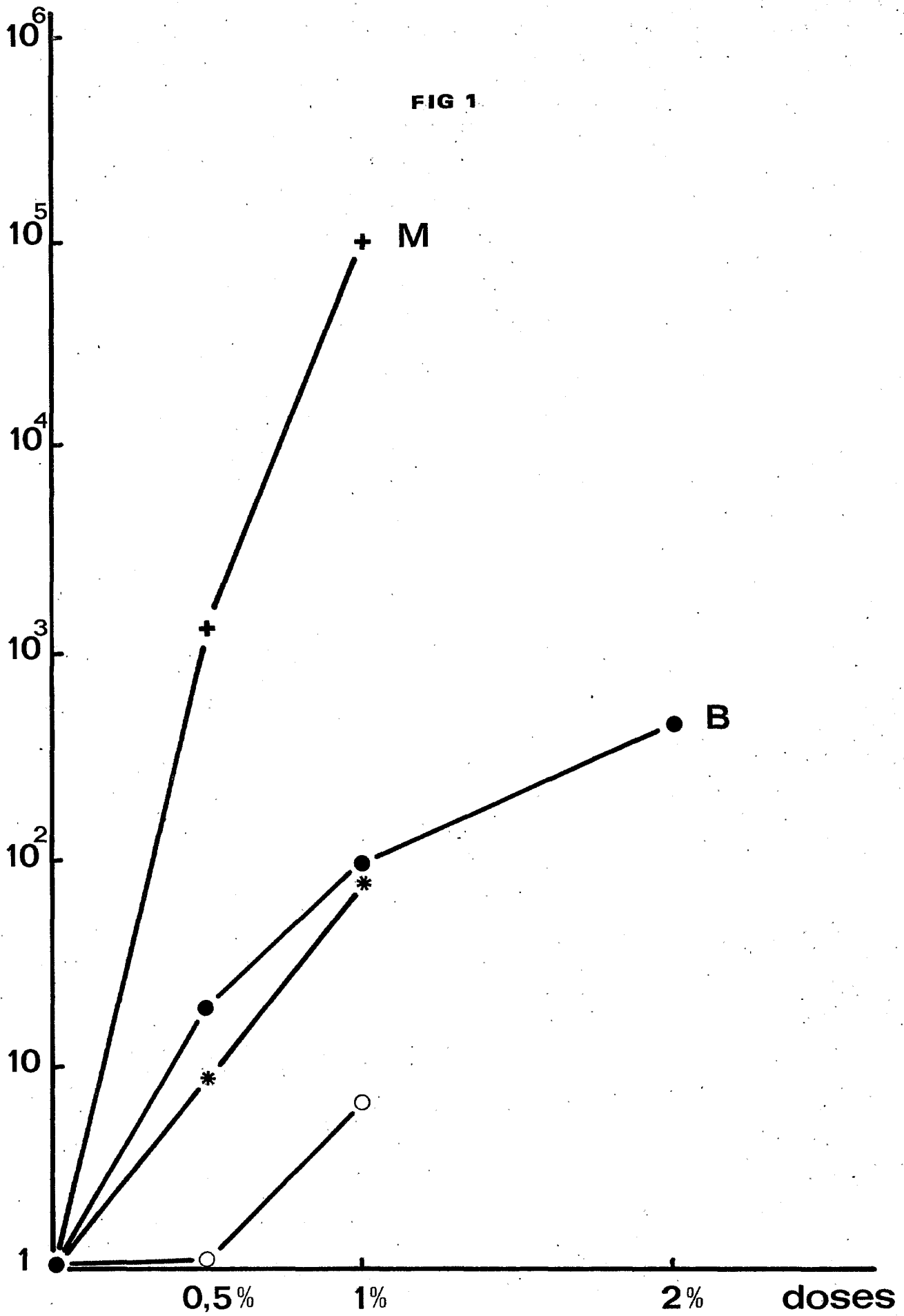
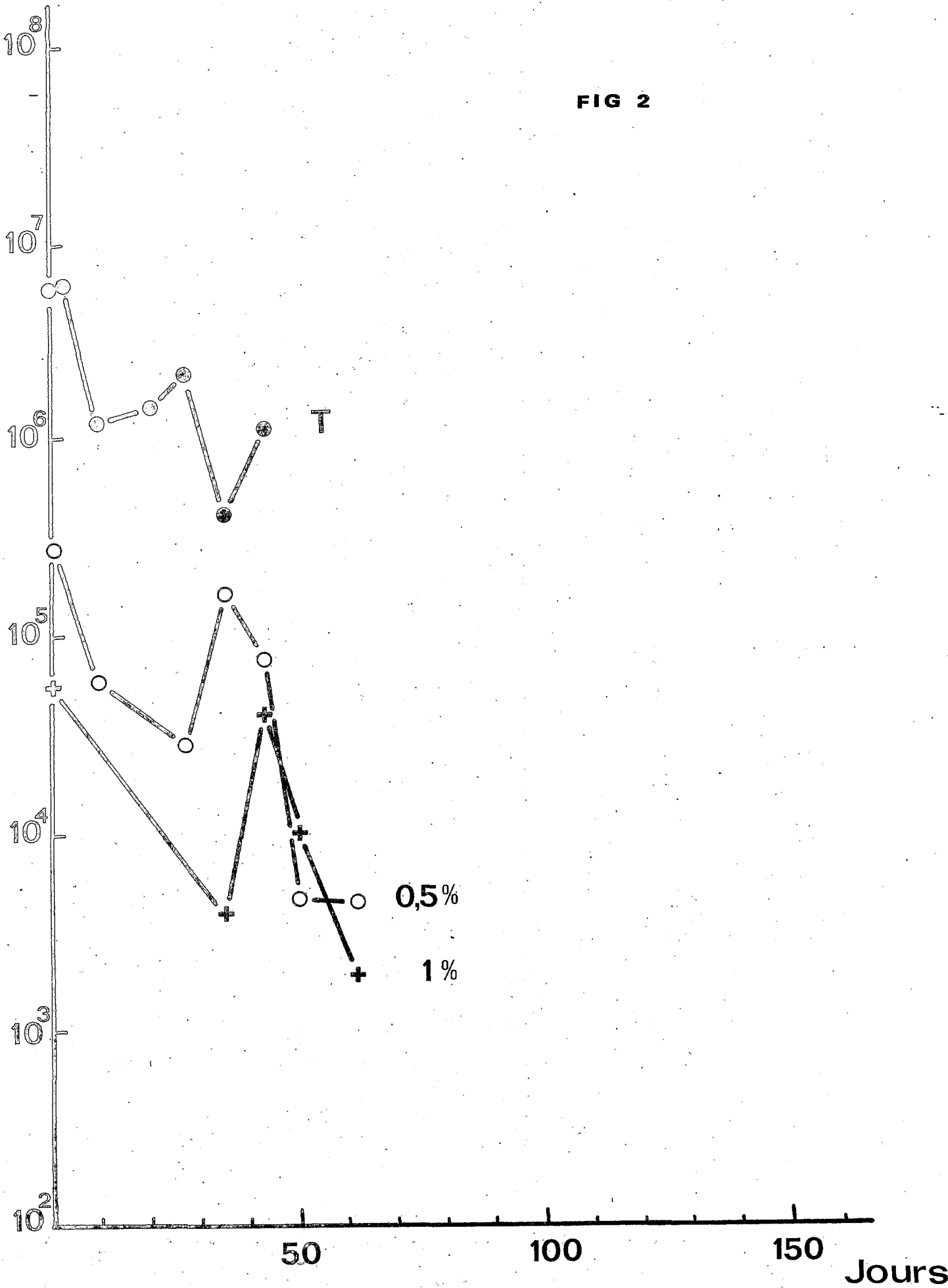
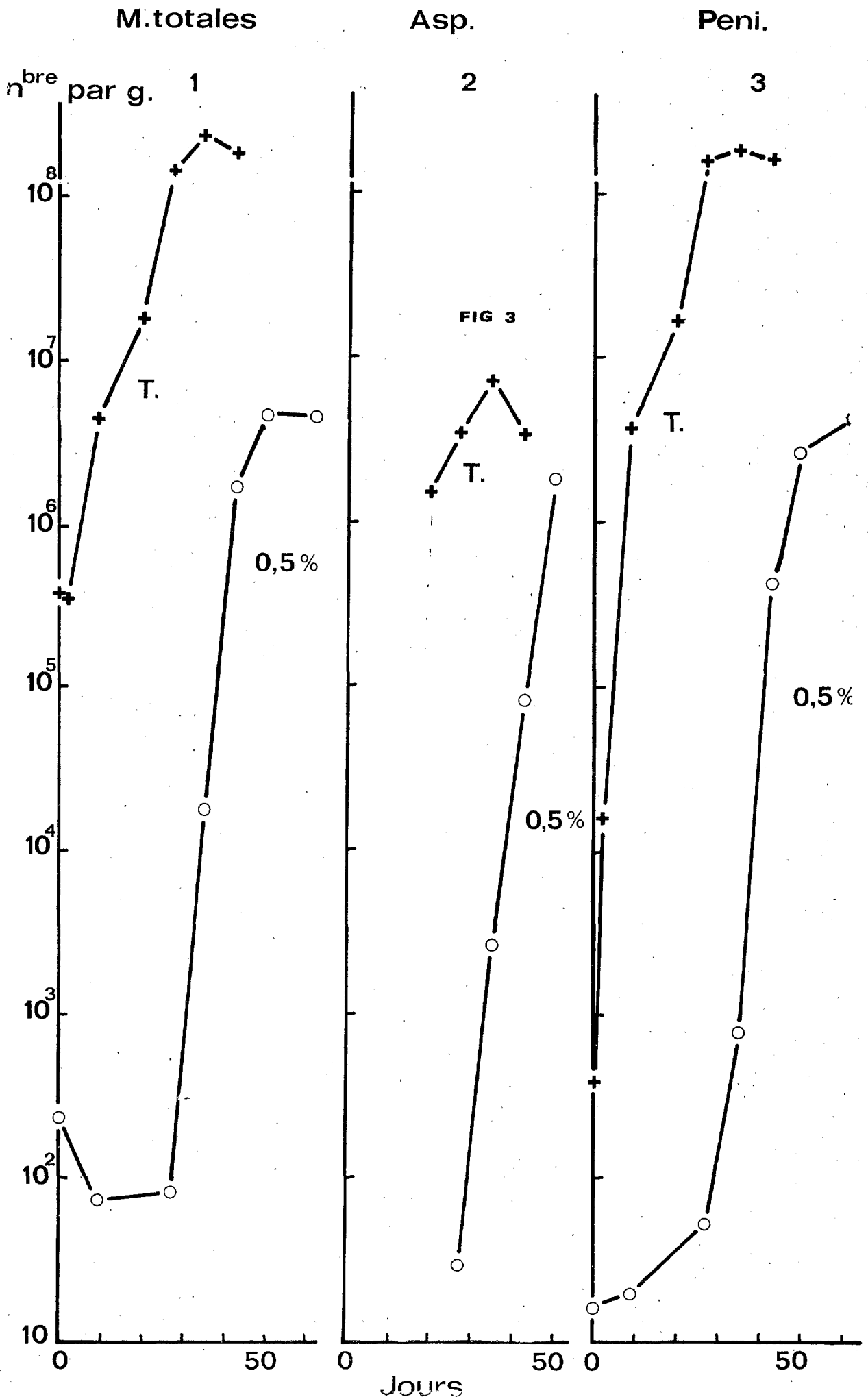


FIG 2

n^{bre} par g.





I.a.

FIG 4

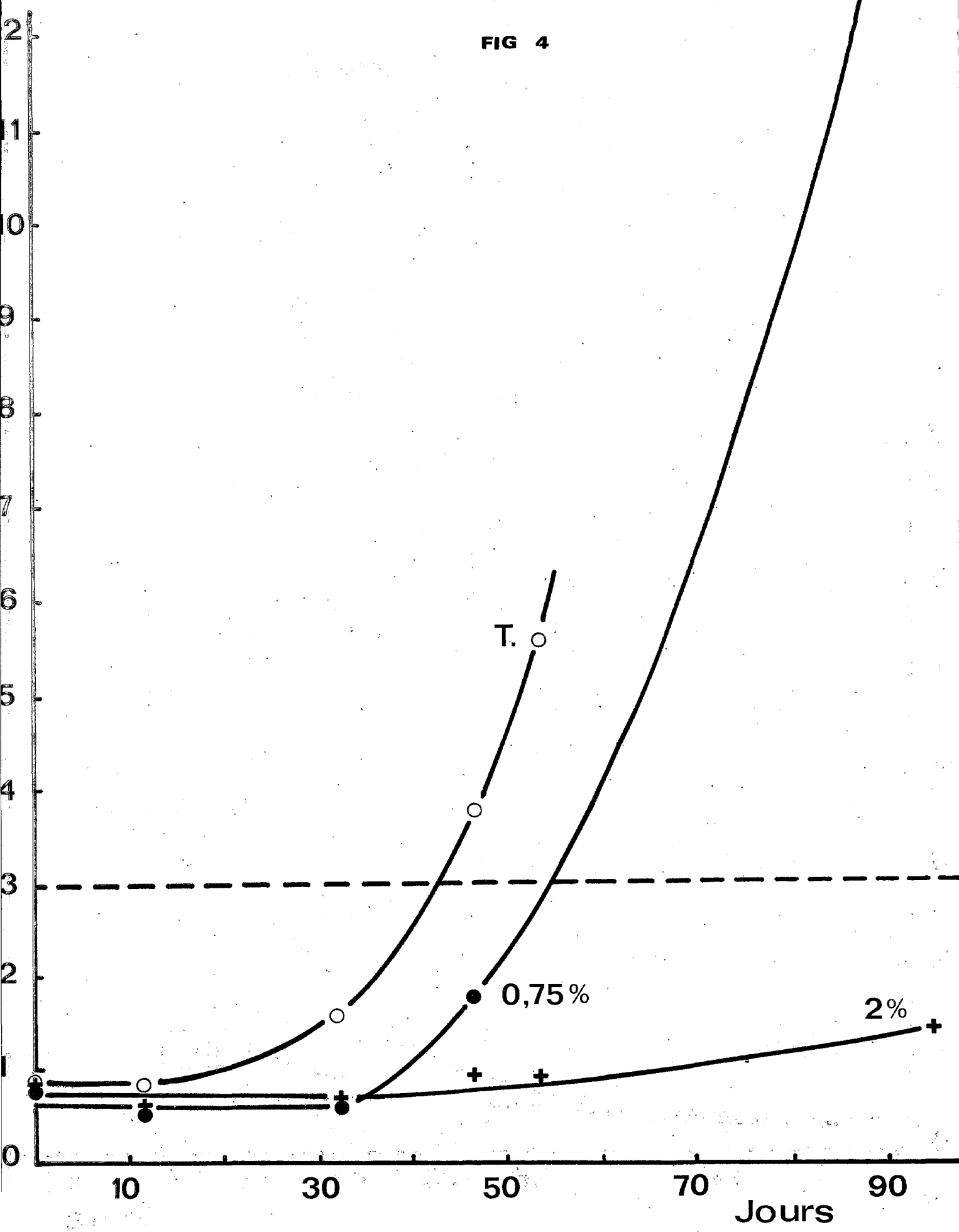
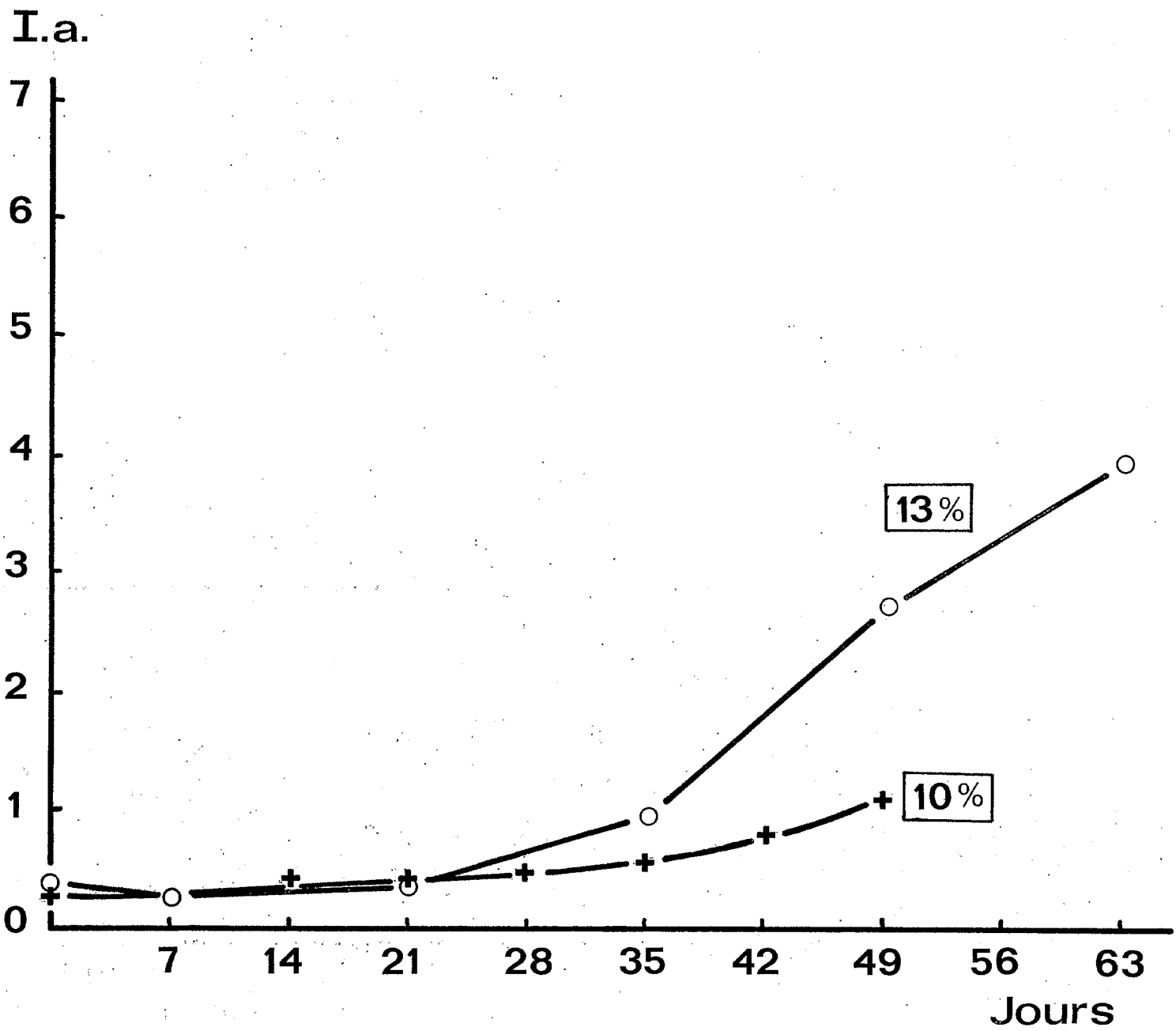


FIG 5



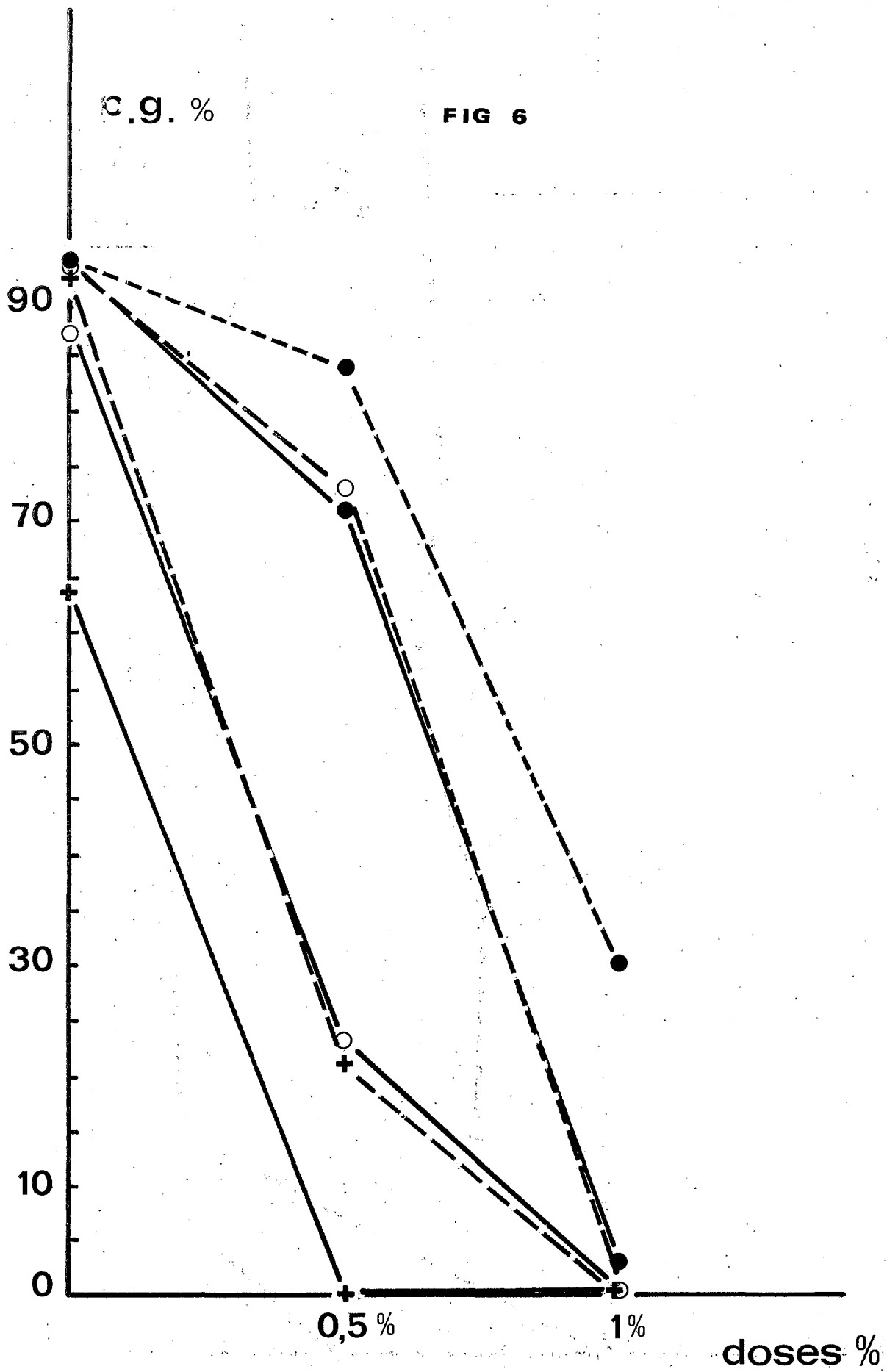


FIG 7

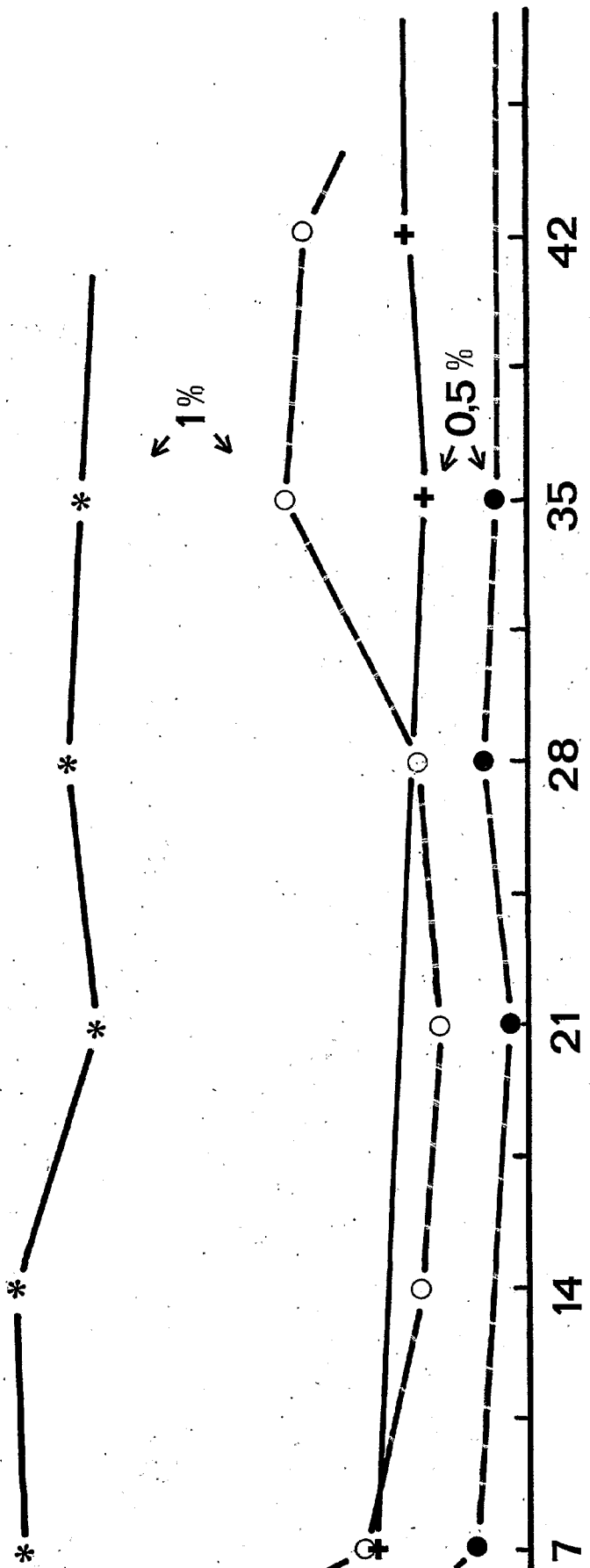
a.p. %

1,5

1

0,5

0



42

35

28

21

14

7

Jours

1%

0,5%

durée de conservation en jours (I.a. = 3)						
22 °C						
doses a.p. en %						
	0	0,5	0,75	1	2	
teneurs en eau	11%	63	>105	>105	>105	>105
	13%	49	52	70	>105	
	14,5%	42	54		>105	