
COMPRÉHENSION DES MÉCANISMES DE FORMATION DES DÉFAUTS DE FLAVEUR DE FRACTIONS DE FÉVEROLE OBTENUES PAR TURBO-SÉPARATION

Thèse d'Adeline **KAROLKOWSKI**¹

Analysée par Hervé **THIS**²

Co-directeurs de la thèse :

Christian **SALLES**, directeur de recherche INRAE, Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, (CSGA)

Loïc **BRIAND**, directeur de recherche INRAE, Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, (CSGA)

Cette thèse a été réalisée au sein de l'UMR CSGA (Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, INRAE, Dijon), et co-dirigée par Christian Salles et Loïc Briand, dans le cadre d'une convention CIFRE, en partenariat avec le Groupe Soufflet-Invivo.

La question de la végétalisation de l'alimentation humaine se pose pour tous les pays. Pour tous, il s'agit d'assurer la durabilité des systèmes de production, tout en assurant un apport suffisant de protéines de bonne qualité. Pour certains, déjà industrialisés, la question s'accompagne d'une préoccupation nutritionnelle : il faut réduire la consommation des protéines animales. Face aux difficultés de la transition alimentaire qui semble nécessaire, la Food and Agriculture Organization (FAO) de l'Organisation des nations unies avait fait de 2016 l'Année internationale des légumineuses, plantes fixatrices d'azote et productrices de protéines.

La féverole (*Vicia faba L. minor*) est une légumineuse prometteuse, mais son amertume, son astringence et ses notes olfactives désagréables limitent son utilisation en alimentation humaine. C'était un objectif de la thèse d'Adeline Karolkowski que de déterminer les composés responsables de ces défauts gustatifs et d'identifier les mécanismes de leur formation, en vue de suggérer des stratégies pour améliorer l'acceptabilité des féveroles et des produits à base de féverole par les consommateurs.

A. Karolkowski a cherché à mieux comprendre les caractéristiques sensorielles de fractions de féverole, les composés impliqués dans ces sensations, et les mécanismes responsables de ces phénomènes. Elle a exploré différents cultivars de féveroles, différentes fractions obtenues par turbo-séparation, mettant en œuvre des approches sensorielles, cellulaires et analytiques afin

¹ Thèse de doctorat de l'Établissement Université Bourgogne Franche-Comté, préparée au Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, École doctorale n° 554, Environnements-Santé, Doctorat en Biotechnologies Agro-alimentaires, soutenue à Dijon le 27 septembre 2023.

² Membre de l'Académie d'agriculture de France, section 8 « Alimentation humaine », directeur de l'INRAE-AgroParisTech International Centre for Molecular and Physical Gastronomy.

d'identifier les composés responsables des défauts sensoriels et leur origine. Le manuscrit, dont une partie importante est en anglais, est classiquement organisé en trois grandes sections : (1) l'état de l'art, (2) les méthodes mises en œuvre et les résultats, (3) une section présentant une discussion générale, des conclusions et des perspectives.

Évidemment l'exploration des caractéristiques sensorielles de la féverole devait être fondée sur une meilleure appréciation des diverses caractéristiques, et, notamment, de l'astringence, qui est définie comme une sensation de dessèchement, de rugosité ou de picotement de l'épithélium buccal (Briand & Salles, 2016). Cette perception, engendrée par certains aliments, contribue parfois à diminuer leur acceptabilité par les mangeurs, mais le mécanisme moléculaire de la sensation n'est pas encore aussi bien compris que celui de l'amertume, d'où de nombreuses publications dans les dernières années.

Trois hypothèses sont aujourd'hui proposées pour expliquer les mécanismes à l'origine de la sensation d'astringence... à moins qu'il ne faille parler « des » sensations d'astringence. Deux hypothèses, plus classiques, considèrent l'astringence comme une sensation tactile. Les composés astringents modifient les propriétés de lubrification des protéines salivaires ou de la pellicule muqueuse qui recouvre l'épithélium buccal, ce qui provoque une augmentation des forces de frottement dans la cavité buccale et l'activation de mécanorécepteurs présents dans la muqueuse. Les stimuli physiques (pression, vibration et étirement) sont ainsi transmis aux mécanorécepteurs *via* l'épithélium buccal. Cette première hypothèse propose que les protéines riches en proline (PRP) de la salive sont capables de se lier à des composés phénoliques variés (notamment des tannins). Ces protéines ont pour l'instant été uniquement identifiées dans la salive des omnivores et des herbivores. Une augmentation de la concentration en composés phénoliques conduit, par exemple, à la formation d'agrégats PRP-composés phénoliques dans la salive, ce qui diminuerait les propriétés lubrifiantes de cette dernière à l'origine de frictions buccales, par un mécanisme qui reste à préciser.

La deuxième hypothèse fait intervenir les protéines salivaires qui adhèrent aux cellules de la muqueuse buccale et forment la pellicule mucosale. L'interaction de ces protéines et de certains composés phénoliques conduit à leur neutralisation, limitant ainsi leur action lubrifiante. Cette sensation diffère en fonction de la nature ou de la concentration en composés phénoliques en interactions avec ces protéines salivaires. Les PRP ont ici un rôle préventif sur la sensation d'astringence grâce à leur interaction avec les composés phénoliques, qui ne peuvent donc plus se lier à la pellicule mucosale.

Une troisième hypothèse plus récente fait intervenir la mucine (MUC1), protéine transmembranaire localisée à la surface des cellules de la muqueuse orale. Cette protéine, qui est constituée de deux sous-unités, dont une est ancrée dans la membrane cellulaire, contribue à la fois à la lubrification des cellules épithéliales et à l'ancrage des protéines salivaires composant la pellicule des muqueuses. L'agrégation de MUC1 par un composé astringent provoque la rupture de ces deux sous-unités conduisant à deux mécanismes cellulaires impliqués dans la perception d'astringence. Dans le premier mécanisme, une perte de lubrification s'explique par la libération de la sous-unité α de MUC1, qui assure initialement ce rôle. De surcroît, la dissociation de cette protéine peut arracher la pellicule muqueuse, et augmenter ainsi les forces de frottement à la surface de la muqueuse buccale. Dans le second mécanisme, la dissociation des deux sous-unités de la mucine est à l'origine d'une cascade de réactions qui conduisent à la formation d'un signal électrique, puis à la libération de ce neuromédiateur qu'est l'acétylcholine. Cette dernière active ensuite les extrémités libres du nerf trijumeau situé dans l'épithélium buccal à l'origine de la sensation consciente d'astringence. Deux articles de synthèse ont été publiés, au cours du travail de thèse examiné ici, à propos de l'origine des composés volatils responsable de la perception des odeurs (ante-ou rétronasales) et des composés non-volatils responsables des perceptions d'astringence et d'amertume.

Ces travaux ont été suivis par la description sensorielle des fractions protéiques de trois cultivars de féverole. Ces fractions (avec ou sans traitement thermique) ont été présentées à des jurys de dégustation dans des gels formulés en vue de reproduire des conditions alimentaires classiques. Une approche multidisciplinaire combinant analyses sensorielle, chimique et cellulaire a été conduite sur les fractions turbo-séparées (farine, fraction riche en protéines et fraction riche en amidon). La corrélation des données d'un profil sensoriel et d'un test consommateur a permis d'identifier les défauts de goût de fractions de féverole incorporées aux gels. La composition en composés volatils, composés odorants et composés amers de ces fractions a également été déterminée par des analyses, chimique et sensorielle. L'amertume de saponines et d'alcaloïdes (vicine et convicine) a été étudiée par des tests cellulaires (approche cellulaire *in vitro*) afin d'évaluer la capacité de certains de ces composés à activer un ou plusieurs récepteurs à l'amertume (TAS2R). Les résultats sensoriels démontrent que l'amertume et les notes vertes, rances et métalliques contribuent aux défauts sensoriels de fractions de féverole.

Puis plusieurs composés non-volatils, corrélés positivement avec l'amertume, ont été identifiés. Ces composés potentiellement amers appartiennent majoritairement aux composés phénoliques ainsi qu'aux dérivés d'alcaloïdes et d'acides aminés.

Ce travail a montré le rôle clé des alcaloïdes et de leurs dérivés que sont la vicine (2,6-diamino-5-[(2*S*,3*R*,4*S*,5*S*,6*R*)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxyméthyl)-2-tétrahydropyranyl]oxy]-1*H*-pyrimidin-4-one) et la convicine (6-amino-5-[(2*S*,3*R*,4*S*,5*S*,6*R*)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxyméthyl)oxan-2-yl]oxy-1*H*-pyrimidine-2,4-dione), dans la perception de l'amertume des fractions de féveroles, avec une activation de la vicine pour le récepteur TAS2R16. Bien que la soyasaponine βb active onze récepteurs à l'amertume (TAS2R), sa concentration dans cette légumineuse semble trop faible pour activer les récepteurs à l'amertume.

Un autre travail a porté sur l'identification des composés volatils et odorants de différentes fractions de féverole. Le contenu volatil de trois cultivars et de trois fractions pour chaque cultivar a été déterminé par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) : 147 composés volatils ont été identifiés. Sur la base de l'analyse de la littérature et de la mesure de l'activité lipoxygénase des fractions, une analyse du fractionnement, du cultivar et du lieu de culture a été faite. Puis des analyses de chromatographie en phase gazeuse couplées à l'olfactométrie (GC-O), conduites sur les neuf fractions, ont permis d'identifier un total de 35 composés odorants, principalement issus de l'oxydation des acides gras libres ; 21 des composés identifiés étaient, pour la première fois, associés à des légumineuses ; leur synthèse semble dépendre du cultivar, du lieu de culture et du procédé de transformation.

Finalement la thèse a retrouvé des idées précédemment émises, à savoir que la majorité des composés contribuant aux défauts sensoriels de féverole sont, comme pour d'autres légumineuses, issues de mécanismes de défense de la plante. On savait que leur perception peut être réduite par un traitement thermique, par exemple, mais les travaux permettent d'aller plus loin, pour élaborer des stratégies visant à réduire la concentration ou la perception de ces molécules indésirables, afin d'améliorer le goût de la féverole.

Le manuscrit de A. Karolkowski se termine par une section qui reprend les connaissances acquises pendant la thèse, les confrontant aux itinéraires techniques des graines, ainsi qu'à des publications, pour proposer des pistes d'améliorations du goût des fractions protéiques de féveroles.

La thèse, qui synthétise et met en cohérence les travaux présentés dans plusieurs articles, correspond à un travail important, qui mérite qu'il soit mis en valeur sur le site de l'Académie d'agriculture de France.