



HAL
open science

Étude micromécanique et microstructurale au sein de l'albumen amylicé du grain de blé par AFM

Michel Ramonda, Olivier Arnould, Matthieu George, Jean-Yves Delenne,
Valérie Lullien-Pellerin

► **To cite this version:**

Michel Ramonda, Olivier Arnould, Matthieu George, Jean-Yves Delenne, Valérie Lullien-Pellerin.
Étude micromécanique et microstructurale au sein de l'albumen amylicé du grain de blé par AFM.
25e forum des microscopies à sonde locale, Apr 2024, Lyon, France. hal-04569542

HAL Id: hal-04569542

<https://hal.science/hal-04569542>

Submitted on 6 May 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Etude micromécanique et microstructurale au sein de l'albumen amyacé du grain de blé par AFM

Michel Ramonda^a, Olivier Arnould^b, Matthieu George^c, Jean-Yves Delenne^d, Valérie Lullien-Pellerin^{d*}

a) CTM-LMCP, U. Montpellier, Montpellier, France

b) LMGC, U. Montpellier, CNRS, Montpellier, France

c) L2C, U. Montpellier, CNRS, Montpellier, France

d) IATE, U. Montpellier, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

* valerie.lullien-pellerin@inrae.fr



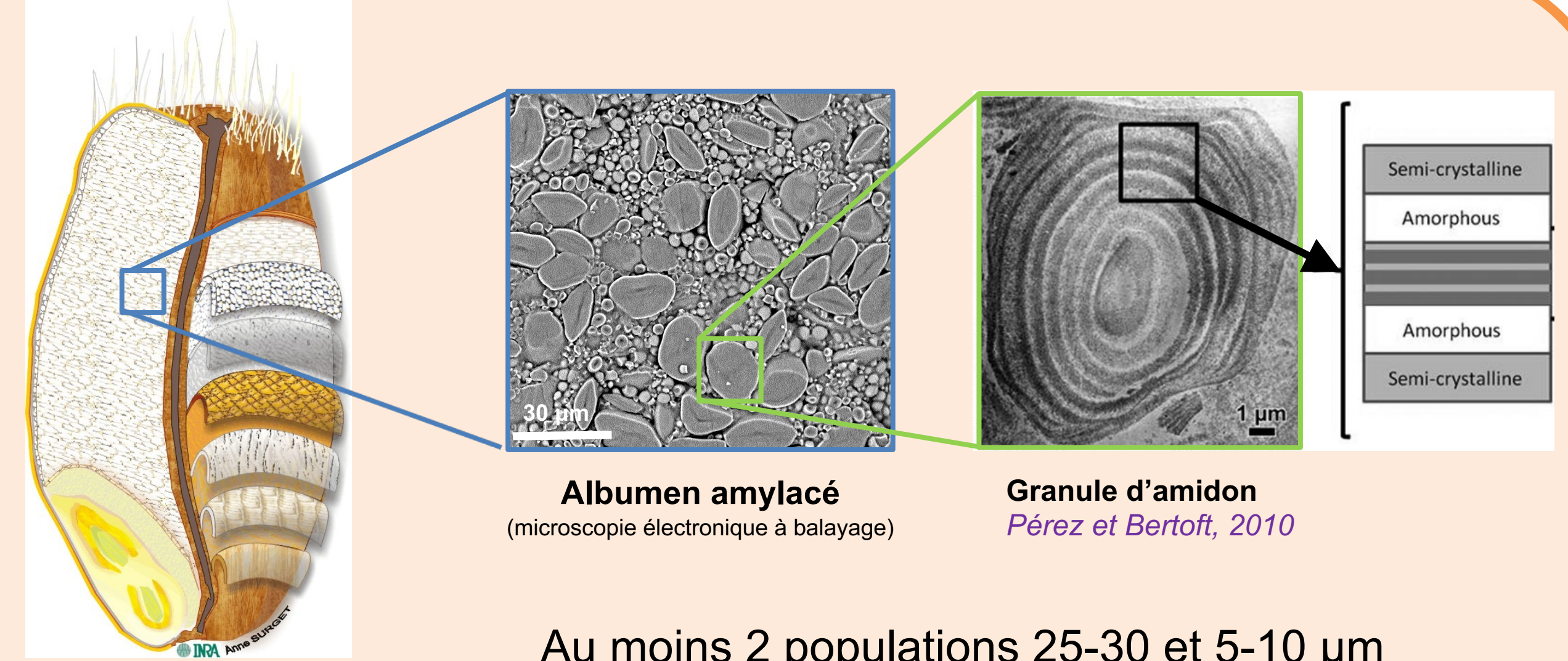
Contexte et objectifs

Le grain de blé et son albumen amyacé

Les procédés de fractionnement du grain de blé visent à isoler le cœur du grain ou albumen amyacé (80-85 % de la masse du grain), constitué principalement de granules d'amidon et de protéines de réserve, des tissus périphériques. L'albumen amyacé est récupéré sous forme de farine utilisée pour fabriquer des produits alimentaires (pains, biscuits, ...) aux propriétés viscoélastiques uniques du fait du gluten, un réseau protéique de haut poids moléculaire aux caractéristiques particulières. Le comportement des grains au cours de ces procédés dépend essentiellement de ses propriétés mécaniques, et notamment de sa dureté, guidée à la fois par la génétique et les conditions environnementales (Oury et al. 2015 et 2017).

Chez le blé tendre on distingue des blés soft, friables, et des blés hard, plus résistants selon la présence d'allèles sauvages ou mutés des gènes codant les Puroindolines (PINs) A et B. Les conditions environnementales jouant sur la porosité de l'albumen amyacé.

Des travaux en AFM par micro-indentation ont cherché à caractériser les forces micromécaniques des constituants majeurs (amidon et protéines) au sein de l'albumen sans identifier de différences majeures entre-eux et avaient conclu que les différences de dureté provenaient des différences de forces à l'interface entre les constituants (faible pour les blés friables-soft, forte pour les blés résistants-hard).

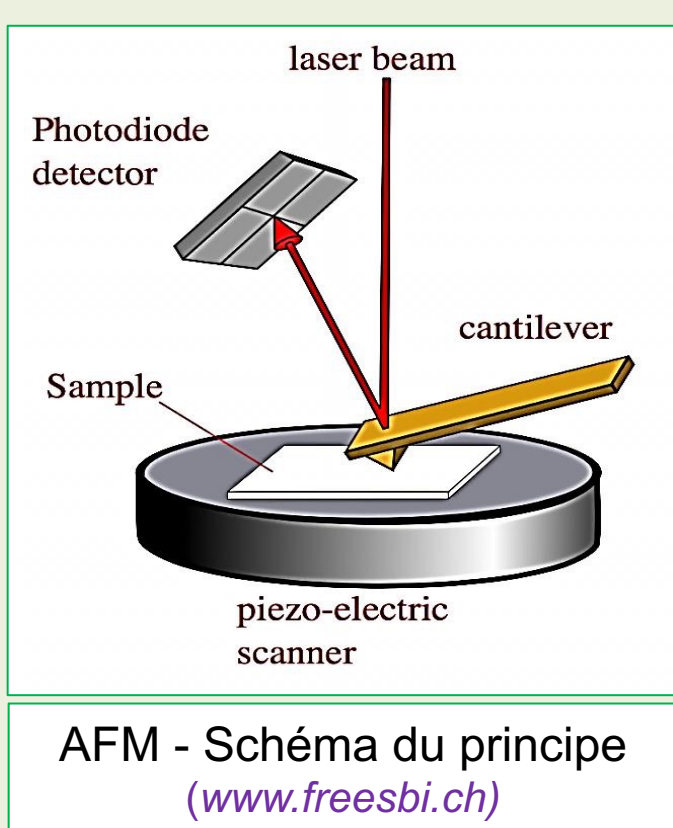


Au moins 2 populations 25-30 et 5-10 μm
Formes lenticulaires/sphériques
Composés d'amylose (15-30 %) et amylopectine (70-85 %)
Alternance de parties amorphes et cristallines

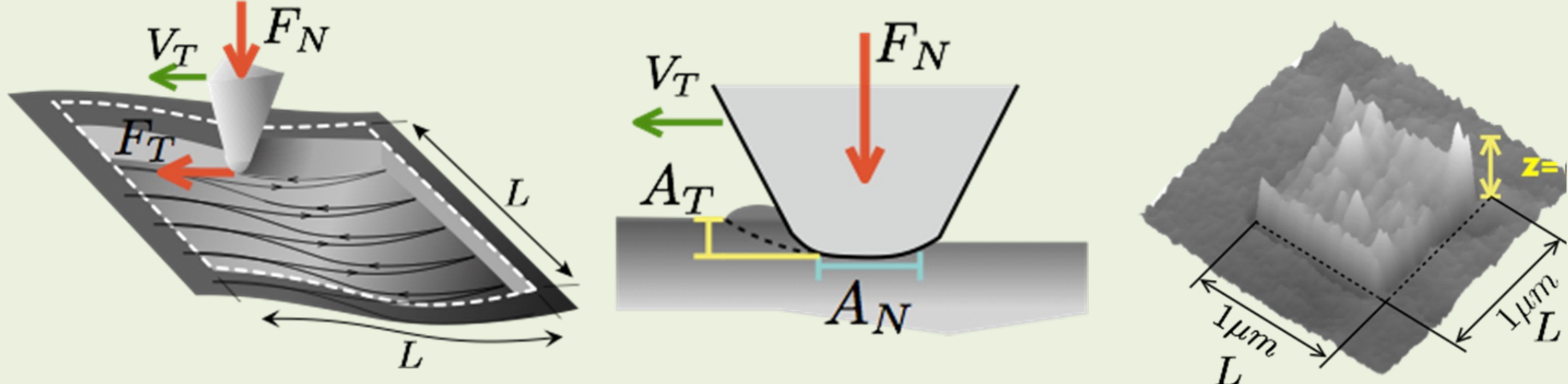
Entourés d'une matrice protéique avec une interaction : Faible (blés tendres soft-friable) ou Forte (blés durs hard-résistant)

Nous avons cherché à caractériser les propriétés mécaniques *in situ* de ces polymères et de leurs interfaces au sein de l'albumen amyacé grâce à deux approches par AFM

Dureté des polymères isolés ou *in situ* dans les grains : abrasion par AFM



Utilisation de la pointe AFM pour user progressivement la surface du matériau sur une surface $1 \mu\text{m}^2$ ($F_N \geq 200\text{nN}$, $V_T = 2 \mu\text{m/s}$) + suivi topographique par imagerie de la profondeur z d'abrasion sur une surface de $5 \mu\text{m}^2$ ($F_N = 100\text{nN}$, $V_T = 10 \mu\text{m/s}$)



Profondeur d'abrasion fonction du nombre de passages N

AFM Nanoscope V (Bruker instruments, Madison, WI, USA) en mode contact à température et humidité contrôllées

Calibration sur silicium des forces normales et tangentielles avant mesure

Prise en compte de la géométrie et de l'usure de la pointe sphérique de rayon mesuré $R = 82 \pm 32 \text{ nm}$

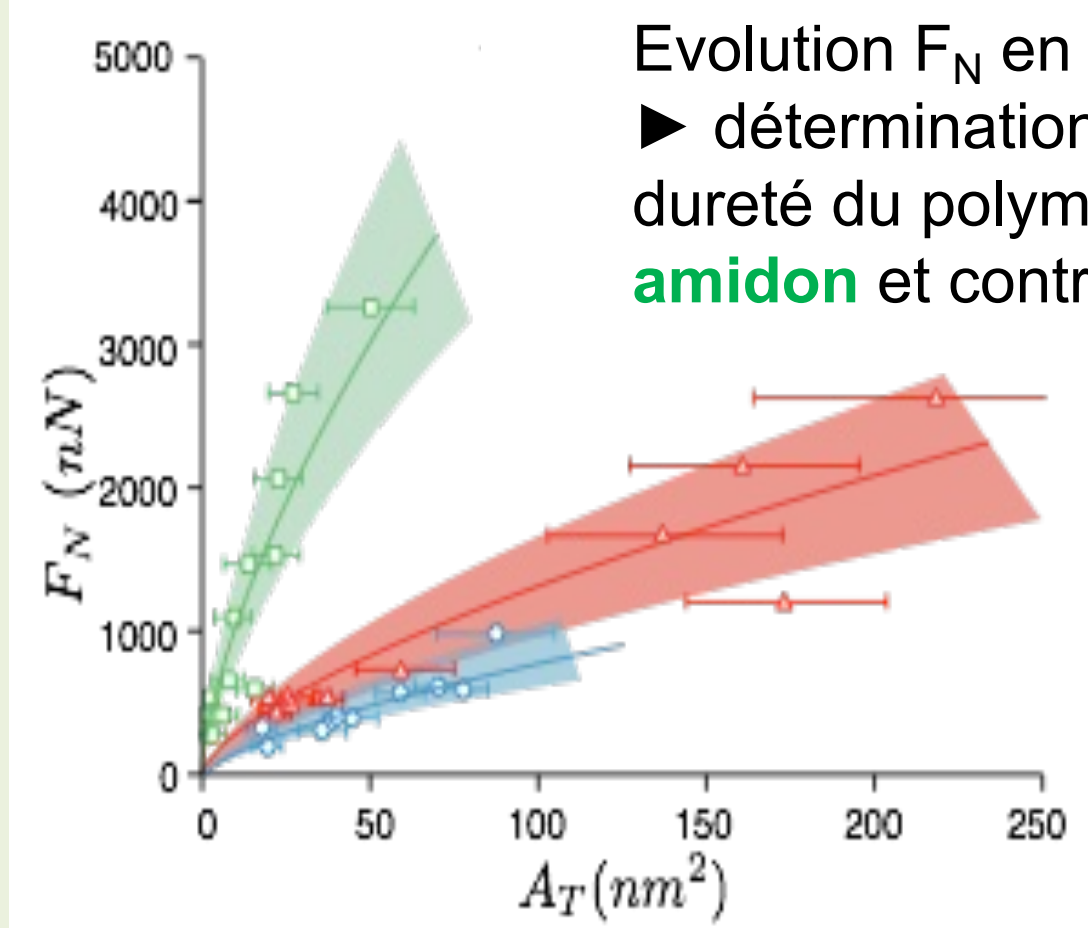
Analyse d'images avec le logiciel Gwyddion (Department of Nanometrology, Czech Metrology Institute, Brno, CZ)

& au cœur de l'albumen.....

Abrasion par AFM sur des coupes cryogéniques de grains soft et hard (lignées quasi-isogéniques pour la dureté, PINs sauvages ou mutés), positionnement au niveau d'un granule d'amidon non tranché



Abrasion AFM sur tablettes de **gluten** ou d'**amidon** (polymères isolés)



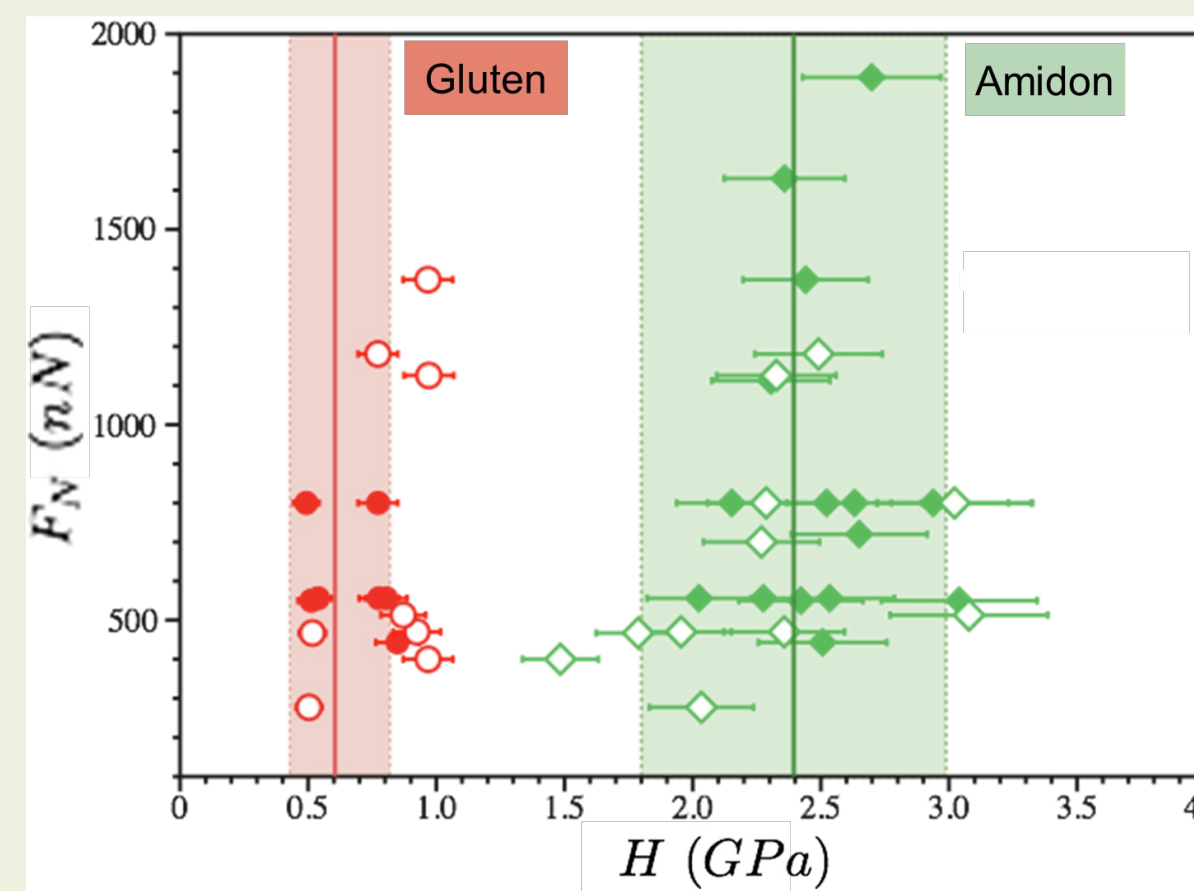
Evolution F_N en fonction de A_T
► détermination de H , dureté du polymère **gluten** ou **amidon** et contrôle **PMMA**

$$H = \frac{F_N}{\pi(2RA_T)^{2/3}} \text{ avec } A_T = \frac{zL}{2nLN}$$

H amidon = $2,4 \pm 0,6 \text{ GPa}$ (proche de la calcite)

H gluten = $0,64 \pm 0,2 \text{ GPa}$ (proche du talc)

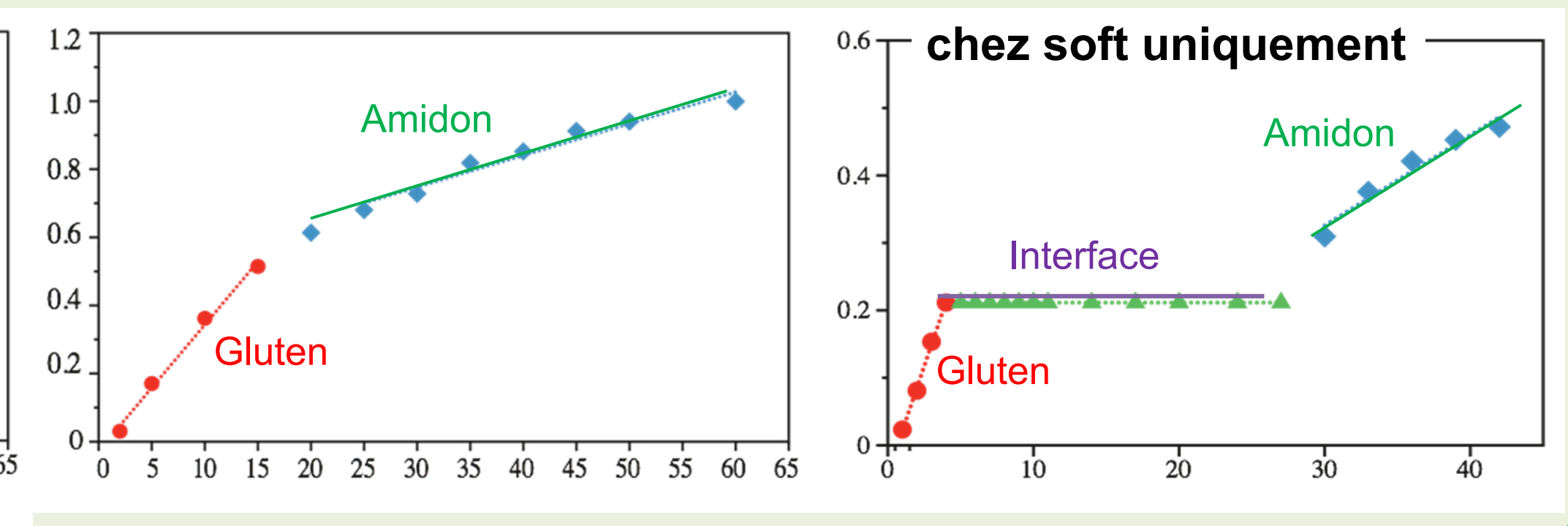
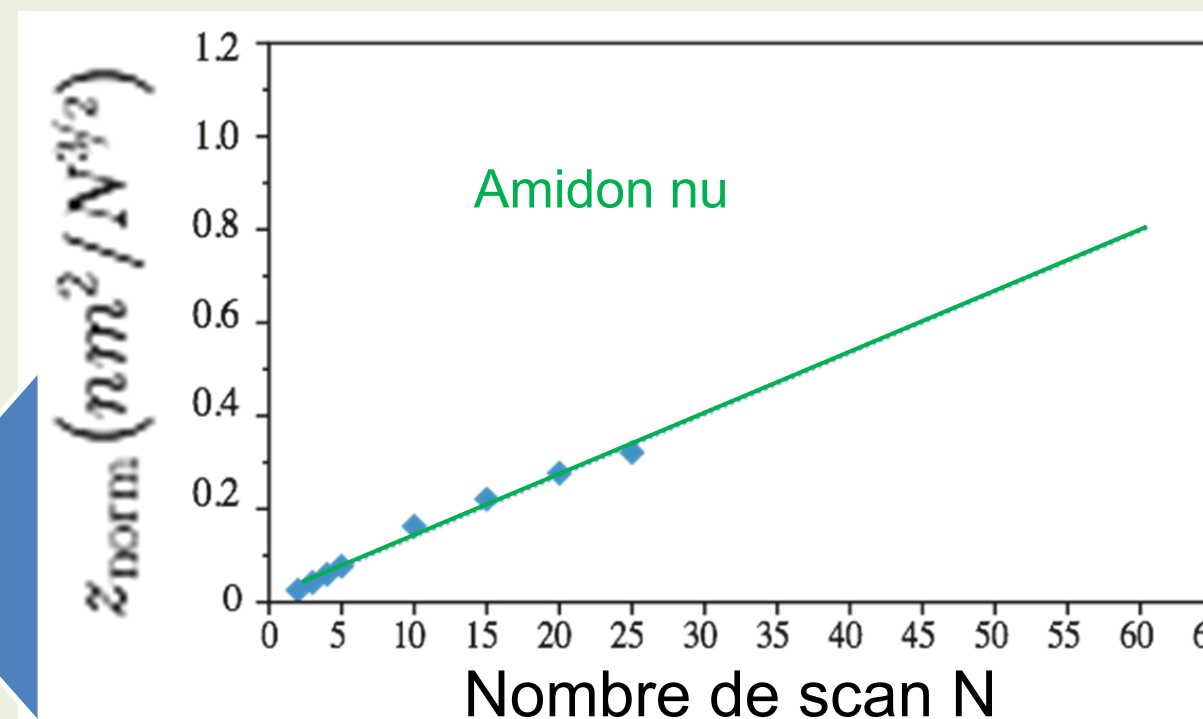
H PMMA attendu = $0,3-0,6 \text{ GPa}$



Quelle que soit la dureté du grain, on retrouve les duretés spécifiques des polymères

Nous montrons, contrairement à la littérature, des différences de dureté entre les 2 polymères majeurs de l'albumen (Chichti et al, 2013)

Ces résultats sont en faveur des hypothèses sur le rôle des PINs dans l'interface amidon-gluten mais la méthode d'abrasion AFM est très gourmande en temps (Chichti et al, 2015)

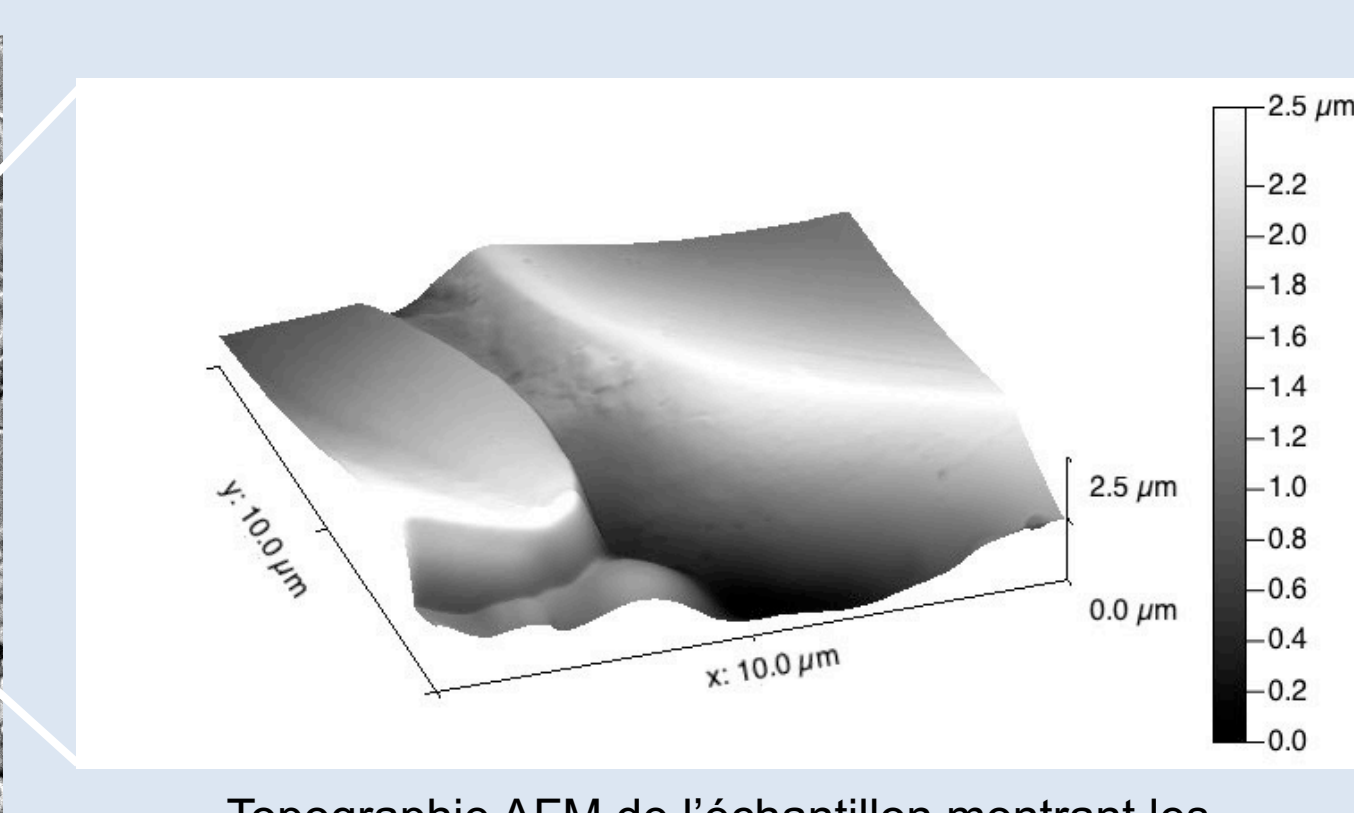
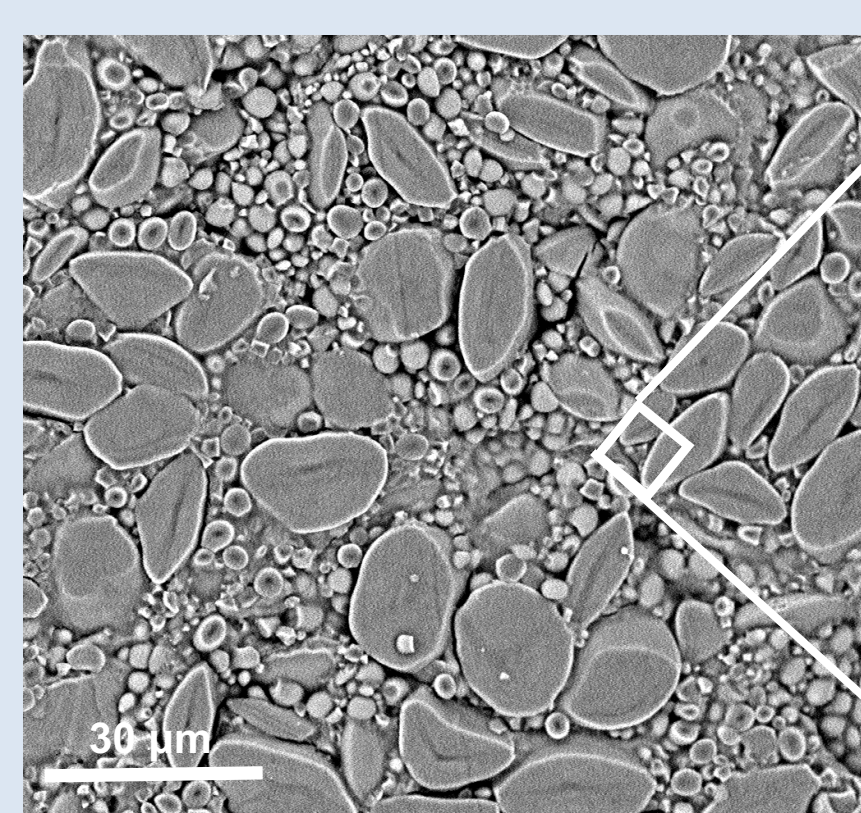
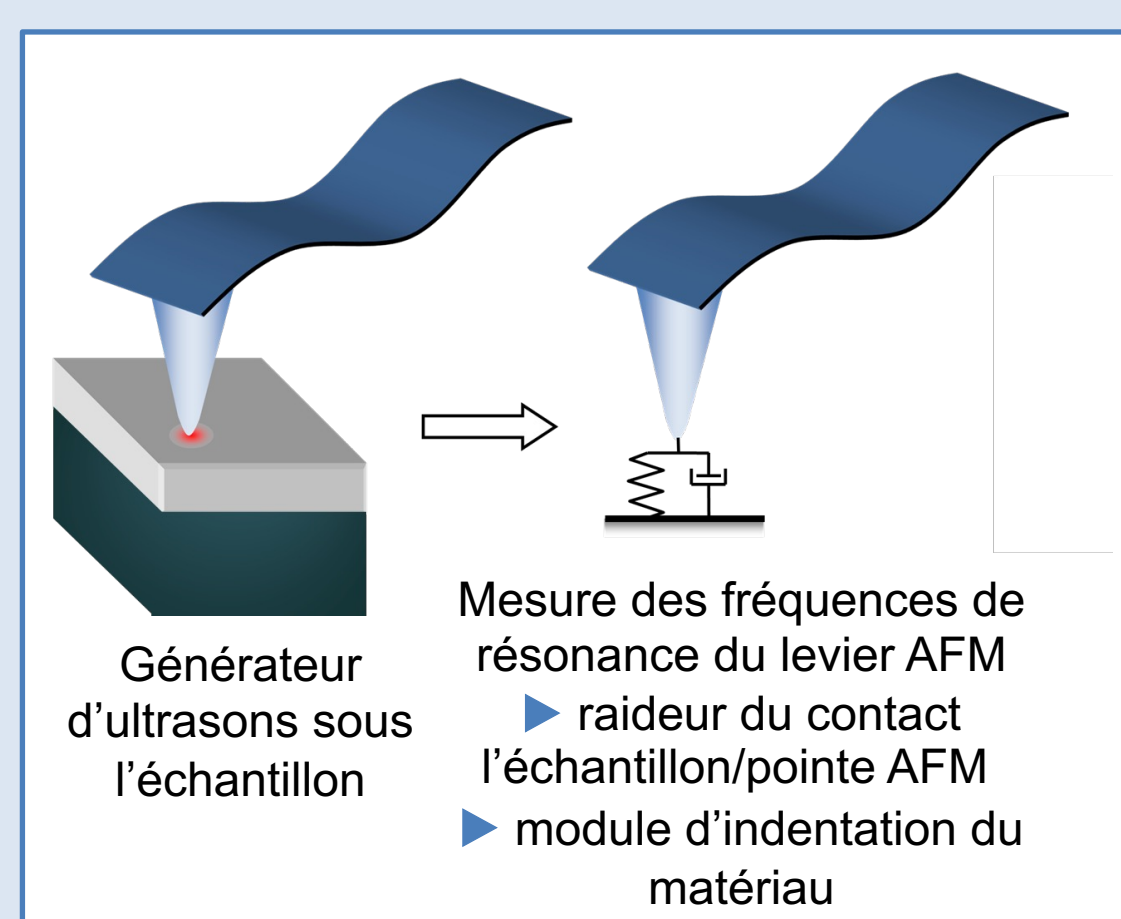


Mesures des propriétés élastiques des polymères par CR-AFM

Etude des propriétés dans des granules d'amidon issus de différentes espèces botaniques

Méthode AFM par résonance de contact (CR-AFM) ► mesure du module d'indentation (élastique) des granules d'amidon à l'échelle de la centaine de nanomètres.

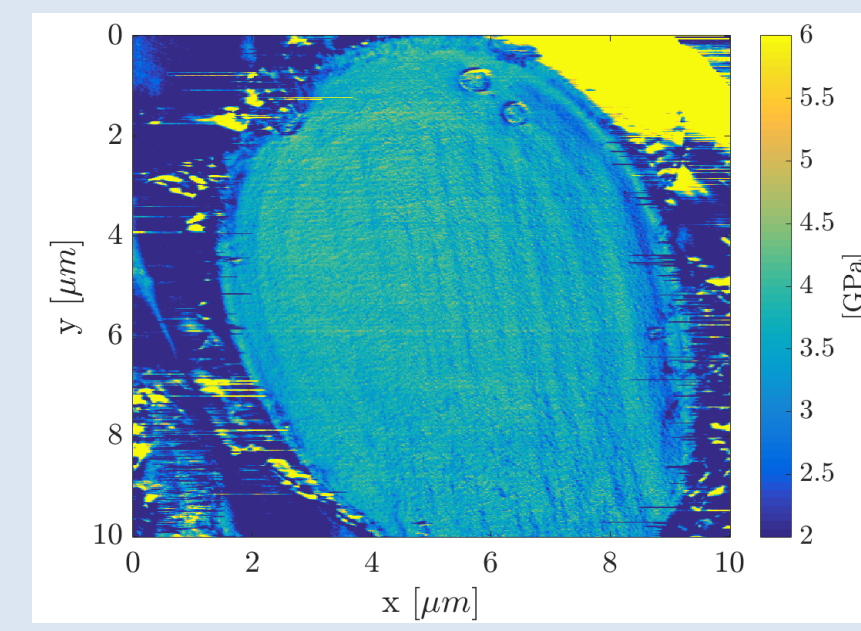
Effet significatif de l'angle de contact α entre la pointe et la surface de l'échantillon (inclinaison de la surface de l'échantillon, rugosité) sur la fréquence des modes de vibrations du levier AFM ► mesures mécaniques faussées



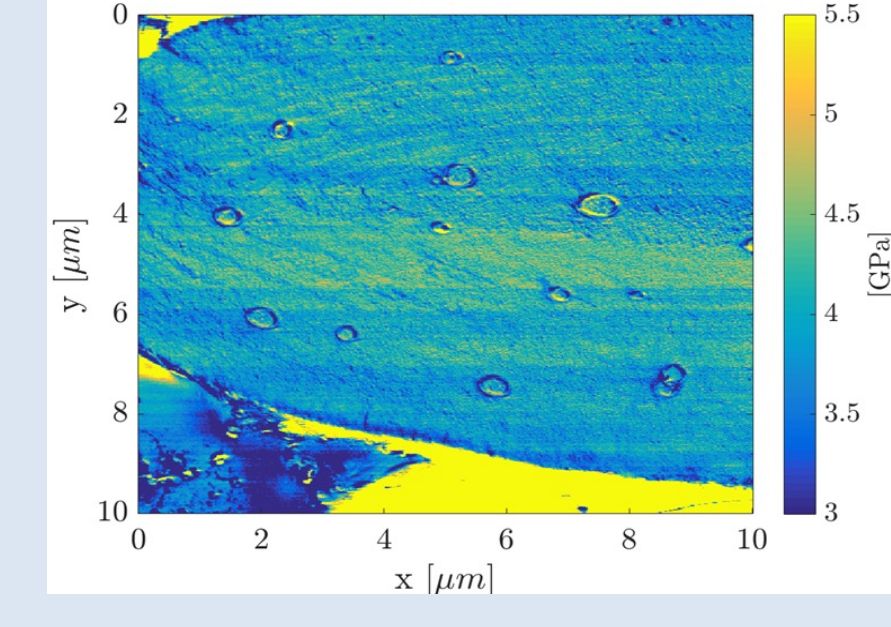
Coupe de grain à analyser (image microscopie électronique à balayage)

Topographie AFM de l'échantillon montrant les surfaces de granules d'amidon

Pois chiche



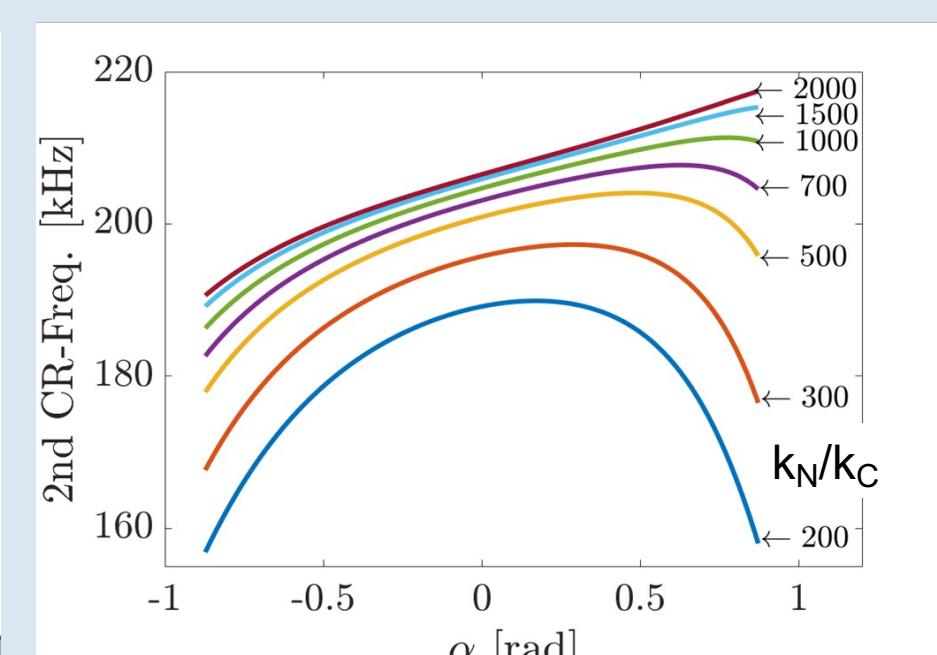
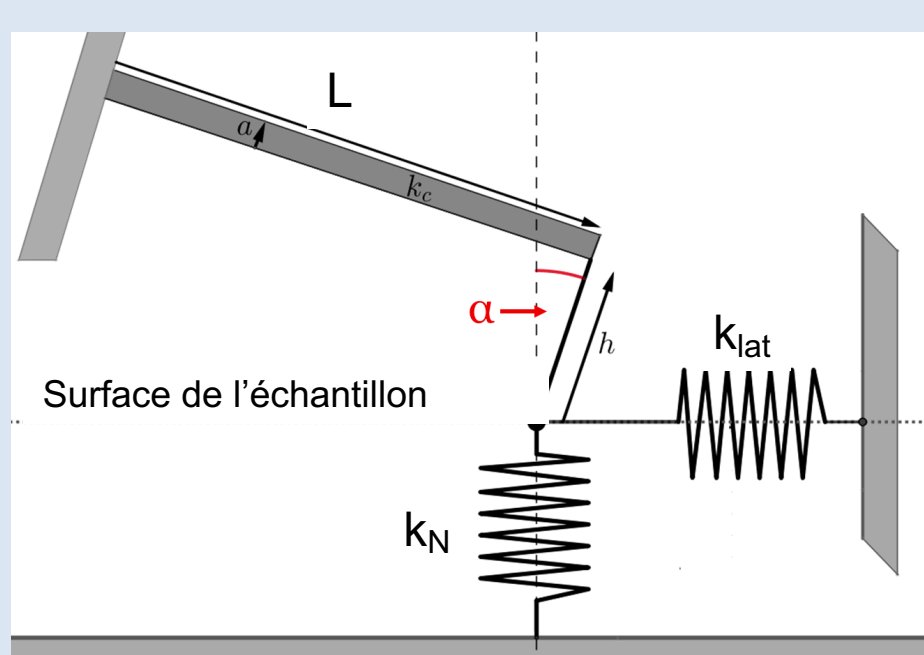
Blé tendre



Cartographie des modules d'indentation mesurés et corrigés

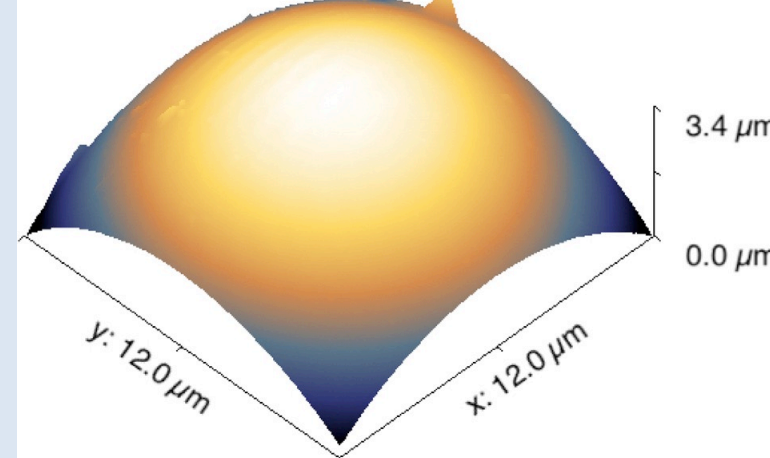
Méthode de correction prenant en compte la topographie locale de l'échantillon pour corriger les mesures (Heinze et al., 2018)

Calibration sur bille de silice de rayon 13 μm recouverte d'or (topographie AFM)

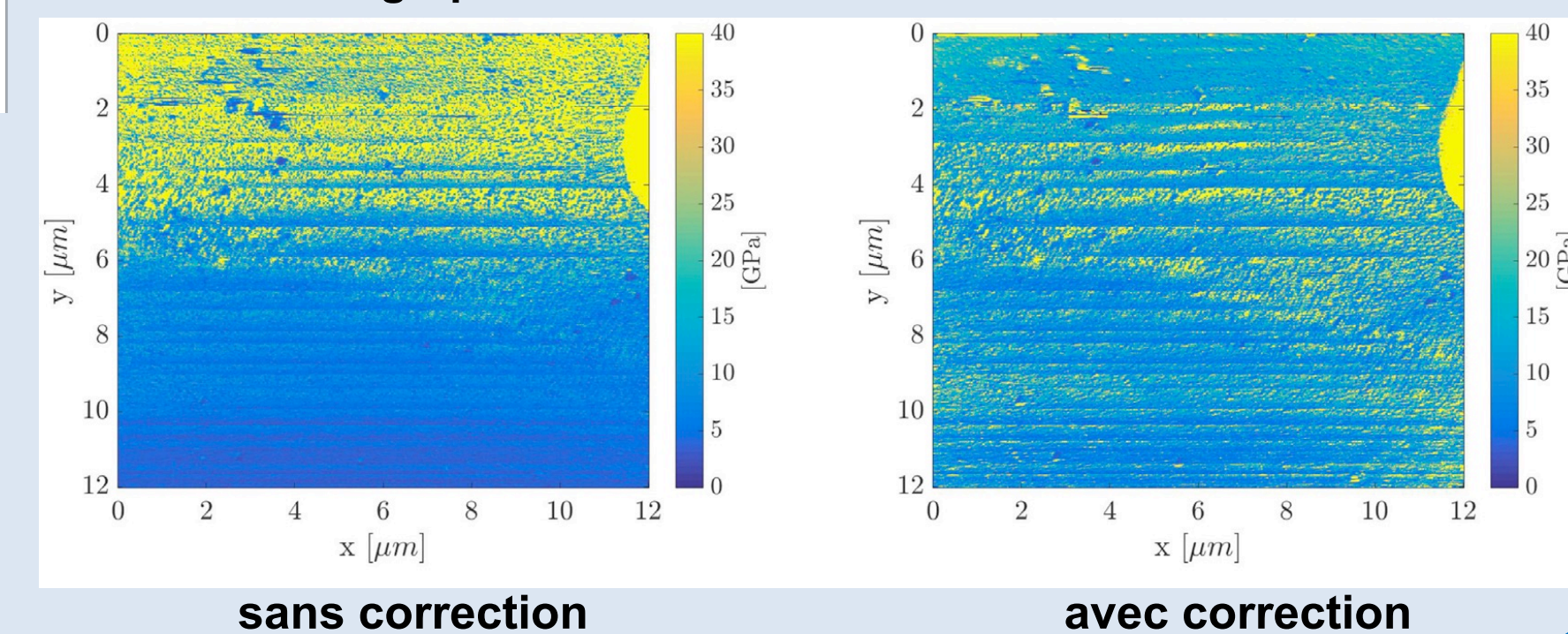


Modèle simplifié du contact
 α : angle de la pointe avec la normale à l'échantillon,
 L : longueur du levier AFM
 k_C : rigidité du levier AFM
 h : hauteur de la pointe AFM
 k_N, k_{lat} : rigidité normale et latérale de l'échantillon au contact

Evolution non linéaire des fréquences de résonance en fonction de α et du rapport rigidité du contact pointe-échantillon/rigidité levier



Cartographie des modules d'indentation mesurés



Conclusions

- Mise en évidence par AFM de dureté différentes entre l'amidon et le gluten pour les polymères isolés et au sein du grain de blé
- Mise en évidence de différentes interfaces amidon/gluten
- Identification dans les grains soft (friable) d'une interface spécifique
- Mise au point d'une méthode de correction des mesures de modules d'indentation qui prend en compte la pente locale de l'échantillon analysé
- Application à la mesure des propriétés mécaniques de différents amidons issus d'espèces botaniques différentes



Chichti E. et al, 2015, *Plant Science*, 239, 1-8
Chichti E. et al, 2013, *European Polymer Journal*, 49 (12), 3788-3795
Heinze K. et al, 2018, *Ultramicroscopy*, 194, 76-88
Oury F.-X. et al, 2015, *Theoretical and Applied Genetics*, 128 (5), 913-929
Oury F.-X. et al, 2017, *Theoretical and Applied Genetics*, 130 (5), 929-950
Pérez F. et Bertoft E., 2010, *Starch*, 62, 389-420