QUALIBLEBIO ANALYSES DES FRACTIONS PROTEIQUES DE VARIETE DE BLE POUR L'AB,20

02/2020

Synthèse des résultats

Ce rapport présente les résultats d'analyse du spectre protéique réalisée dans le cadre du projet QUALIBLEBIO coordonné par la CAB PdL. 24 farines (variétés) ont fait l'objet d'une analyse du gluten index par glutomatic et d'une analyse du spectre protéique par Chromatographie. Les farines ont été échantillonné à l'occasion des test panification qui se sont déroulés aux minoteries Suires les 11 et 12 février 2020. Les résultats mettent en évidence des différences marquées entre variétés sur la qualité des protéines et plus particulièrement le spectre en gluténine.

QUALIBLEBIO des fractions protéiques de variétés de blé pour l'AB

SYNTHESE DES RESULTATS

Dans le cadre du projet QUALIBLEBIO, les partenaires ont souhaités se concentrer sur la caractérisation des protéines pour approcher les aspects de la digestibilité des protéines sur un grand nombre de variétés. Les résultats montrent de grandes gammes de variations sur les *glutens index* et le pourcentage de polymère non solubilisé. Les groupes de variétés se distinguent particulièrement sur le rapport gliadine / gluténine (très élevé chez les poulards) et sur le pourcentage de polymères inextractibles versus l'ensemble des polymères présents.

OBJECTIFS

Une hypothèse sur l'augmentation des cas de sensibilité non cœliaque au gluten concerne la taille des polymères de gluten. Plus ceux-ci sont grand et lourd, plus ils engendrent des problèmes de digestibilité. Pour répondre à un objectif de caractérisation de la digestibilité de différents types de variétés (populations, poulards, lignées pures sélectionnées pour la bio et « commerciales »), plusieurs analyses ont été réalisées pour évaluer la quantité et la qualité des protéines d'un grand nombre de variétés.

MATERIEL ET METHODES

Matériel

32 variétés ont été cultivées et observées sur deux plateformes (Bouchemaine, Treize Septier). Il a été choisi de réaliser les observations sur les variétés issues d'un même environnement de culture pour se concentrer sur l'effet de la variété. 24 variétés (populations, poulards, lignées, correspondant au potentiel de panification) ont été sélectionnées sur la base de leur diversité et performances agronomiques. Ces 24 variétés ont été moulues en meule de pierre puis ont fait l'objet de tests de panification. En parallèle des échantillons de farines ont été envoyé dans deux laboratoires afin de caractériser la quantité et la qualité de leurs protéines.

Méthodes

La qualité technologique des grains de blé est fortement influencée par les conditions de cultures et par la génétique. Les facteurs génétiques jouent principalement sur la composition en protéines tandis que les conditions de culture sont primordiales vis-à-vis de la quantité et de la proportion des différentes classes de protéines[1][2].

Sur la base de leur solubilité dans différents solvants, les protéines du blé ont été classées en albumines, globulines, gliadines et gluténines. Les albumines et les globulines appartiennent à la catégorie des protéines dites solubles (dans l'eau et les solutions salines), ce sont essentiellement les protéines nécessaires au métabolisme des cellules ; ces protéines sont peu intéressantes sur le plan technologique mais sur le plan nutritionnel (par un meilleur équilibre des acides aminés essentiels en particulier la lysine). Les gliadines et les gluténines appartiennent à la catégorie des protéines insolubles et constituent les protéines de réserve du grain. Elles sont plus ou moins solubles dans les alcools, les acides et les bases dilués et en présence de

---

1 Effect of Environment and Genotype on Durum Wheat Gluten Strength and Pasta Viscoelasticity
Ames, N. P., Clarke, J. M., Marchylo, B. A., Dexter, J. E. and Woods, S. M. 1999. *Cereal Chem. 76*: 582–586

2 The Effect of Nitrogen and Sulphur Fertilisation and their Interaction with Genotype on Wheat Glutenins and Quality Parameters
Luo, C., Branlard, G., Griffin, W. B. and McNeil, D. L. 2000. *J. Cereal Sci. 31*: 185-194.

détergents. Ce sont ces deux dernières catégories qui vont former le gluten. Les gliadines sont réparties en quatre familles : oméga, alpha, bêta et gamma ; les gluténines sont divisées en gluténines de hauts poids moléculaires (SG-HPM ou HMW-GS en anglais) et en gluténines de faibles poids moléculaires (SG-FPM ou LMW-GS).

Les protéines du blé peuvent également être classées selon la manière dont les sous-unités s'assemblent : on distingue les protéines monomériques comme les gliadines, responsable des propriétés de viscosité et d'extensibilité des pâtes et les protéines polymériques comme les gluténines qui leur confèrent plutôt les propriétés d'élasticité et de ténacité. Du point de vue physiologique, la structure compacte et hydrophobe des prolamines du gluten, ainsi que ses teneurs élevées en proline et glutamine, rendent le gluten très résistant à la digestion pancréatique[3], et les remaniements du gluten liés au pétrissage pourraient accentuer cette résistance. Nous manquons d'études sur la digestibilité de polymères de gluten de taille différente et sur la digestibilité comparée des protéines du pain et des pâtes. On peut faire l'hypothèse qu'il y aurait moins de problèmes d'intolérances au gluten au sens large si son hydrolyse pancréatique était suffisamment rapide et complète. Or de nombreux facteurs pourraient rendre le gluten plus indigestible à ce niveau. Outre la nature des blés, et **leur composition en gluten, le mode de panification pourrait aussi jouer un rôle majeur** dans le développement des intolérances au gluten, notamment l'allergie et l'hypersensibilité.

Plusieurs méthodes existent pour évaluer la quantité et la qualité des protéines. Les expériences passées ont montré une faible corrélation entre les 'réels' propriétés rhéologiques des blés populations, caractérisés par des glutens 'mou' et les mesures à l'alvéographe de Chopin. Une mesure simple cependant apparait adaptée à ces variétés, le *gluten index*.

Le gluten humide est préparé à partir de farines ou farines complètes avec l'extracteur de gluten Glutomatic 2200. Le Gluten Index Centrifuge 2015 est utilisé afin de faire passer le gluten humide à travers un tamis spécialement conçu à cet effet. La quantité relative du gluten tamisé indique les caractéristiques du gluten. Le séchage du gluten se poursuit dans le Glutork 2020 qui calcule la teneur en gluten sec et la capacité de fixation de l'eau du gluten humide. Le **Gluten Index** est la quantité de **gluten** qui reste dans le tamis de la centrifugeuse par rapport au poids total du **gluten** humide (figure 1). C'est donc la proportion de gluten de haut poids moléculaire ne passant pas à travers le tamis du gluten humide.

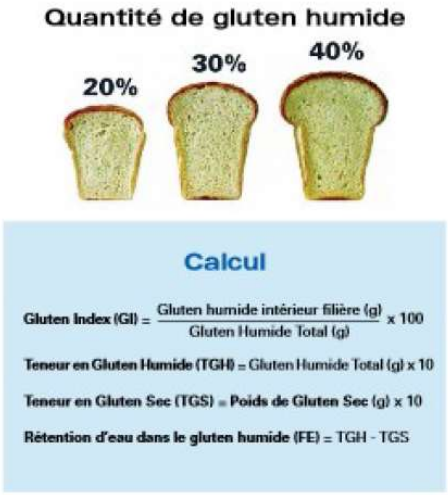


FIGURE 1: CALCUL DU GLUTEN INDEX, SOURCE : WWW.PERTEN.FR

La spectroscopie proche infra-rouge (NIRS) ainsi que les méthodes de Kjeldahl et de Dumas vont permettre de quantifier les protéines totales (protéines = contenu en azote x 5.7). Les techniques chromatographiques,

[3] C. Rémésy et al., 2015, Donner un nouvel avenir au pain dans le cadre d'une alimentation durable et préventive

comme la SE-HPLC ou la RP-HPLC (Reverse Phase HPLC) vont permettre de quantifier respectivement les grandes familles de protéines du grain ou individuellement les protéines de réserve (Figure 2).

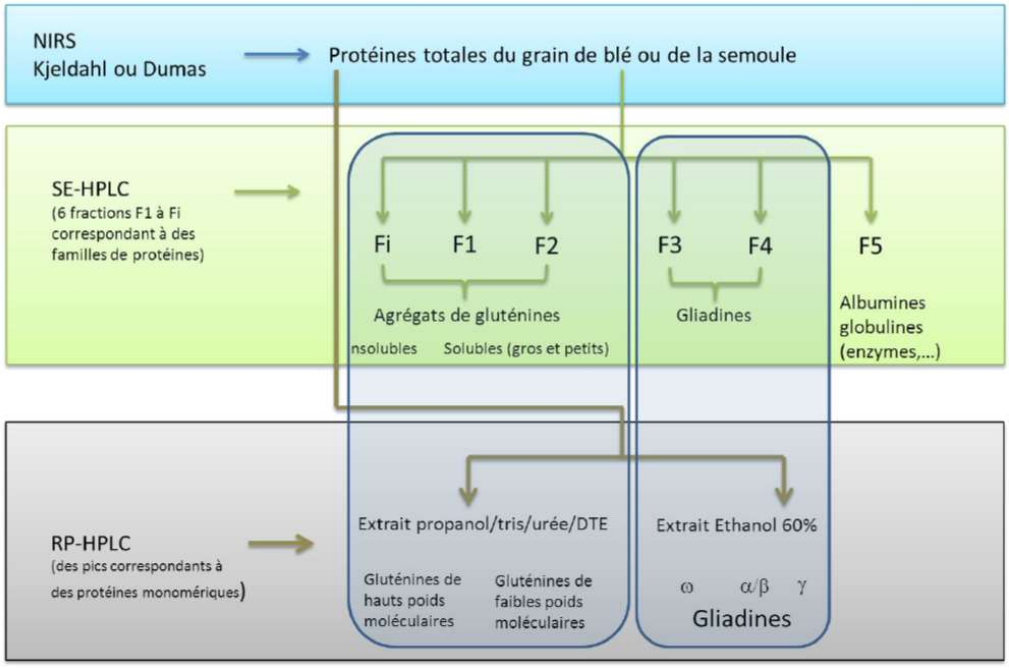


FIGURE 2: METHODES DE QUANTIFICATION DES PROTEINES DU GRAIN DE BLE, SOURCE : RAPPORT PRESTATAIRE INRAE IATE

Le chromatogramme distingue 5 fractions protéiques correspondants aux différentes protéines du blé sur la base de leur poids moléculaires. Un % UPP (Unextractable Polymeric Protein) est ainsi calculé et correspond à la quantité de protéines non solubilisées lors de la première extraction. Il est exprimé en % de polymère totaux.

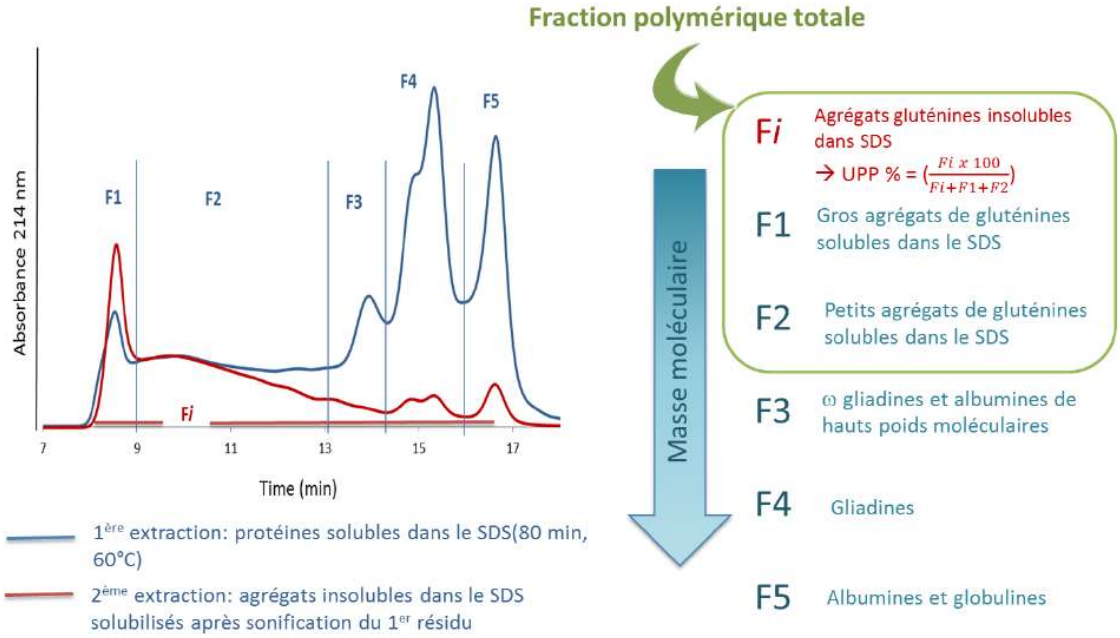


FIGURE 3: EXEMPLE DE CHROMATOGRAMME SE-HPLC TYPES OBTENUS A PARTIR D'UN ECHANTILLON DE BLE, SOURCE : RAPPORT PRESTATAIRE INRAE IATE

RESULTATS

Gluten index

Les mesures ont été réalisées en prestation par le laboratoire ENSMIC.

Les mesures de *gluten index* montrent une grande gamme de variation, allant de 18% à 95%. Ceci démontre une grande variabilité sur la qualité des glutens entre les 24 variétés. Les poulards sont de type blé dur, et ne peuvent être comparer au blé tendre. On note cependant qu'un des poulards présente le plus faible index. Les variétés présentant les plus forts taux de gluten index sont essentiellement les lignées pures. Dans l'histogramme ci-dessous, les échantillons sont colorés en fonction de leur type : vert pour les poulards, bleu pour les populations, orange pour les lignées. Cependant la distinction entre les types de variétés n'est pas tranchée sur la base du gluten index : on trouve parmi les variétés à faible taux 'RUBISKO', et parmi les variétés à fort taux 'Chandamour' et 'St Priest'.

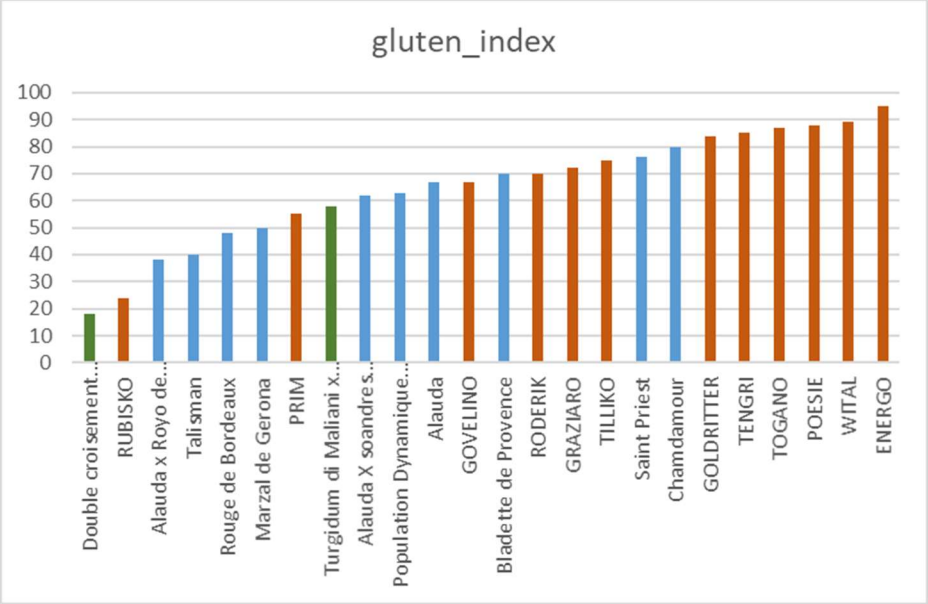


FIGURE 4: GLUTEN INDEX DE 24 VARIETES DE BLES TENDRE

Spectre protéinique

Les mesures ont été réalisées en prestation par le laboratoire INRAE IATE.

La composition en protéines sur la base de la proportion Polymères versus Monomères a été évaluée par SE-HPLC. Les chromatogrammes issus de la 1ère extraction ont été découpés en 5 fractions : F1 à F5. L'aire de chacune des fractions a été calculée ainsi que l'aire totale sous la courbe du chromatogramme correspondant à la 2ème extraction. Les % relatifs de chaque fraction (exprimés par rapport à la somme des aires totale - aire totale de la 1ère extraction + celle de la 2ème extraction) sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau I). La teneur en protéines totales a aussi été estimée à partir de la somme des aires totales (Tableau II). Les analyses ont été réalisées en double, les données présentées sont des données moyennes.

TABLEAU 1: PROPORTION DES DIFFERNETES FAMILLES DE PROTEINES (POLYUERES, MONOMERES) EN % DES PROTEINES EXTRAITES DES FARINES

N°	Variété	%F1	%F2	%F3	%F4	%F5	%Fi
1	Rouge de Bordeaux	4.4	19.5	13.0	33.6	17.6	11.9
2	Maryal de Gerona	4.7	19.9	11.5	34.8	17.5	11.5
3	Alandra x Soendres Laracha	4.3	18.5	12.1	34.8	17.0	13.2
4	Talisman	5.1	19.3	10.7	35.6	17.3	12.0
5	Alandra	4.9	18.4	13.2	36.8	15.5	11.2
6	Chandamour	4.1	17.6	12.4	37.2	15.3	13.4
7	Alandra x Royo de Pampelona	4.8	19.0	12.8	35.7	17.3	10.5
8	Population dynamique n°2	4.7	19.4	12.1	35.6	17.1	11.1
9	Saint Priest	3.7	17.2	11.1	37.0	15.4	15.6
10	Bladette de Provence	4.6	19.4	11.2	33.9	17.0	13.9
11	Blanco de corella x Nonette de Lausanne Nocorno	4.3	18.4	13.3	38.5	17.6	7.8
12	Turgidum di Maliani x Nonette de Lausanne	4.0	18.1	13.5	41.9	17.5	5.1
13	Tengri	4.2	18.9	11.6	34.5	16.9	13.9
14	Poésie	4.1	18.8	11.3	33.4	17.5	14.9
15	Prim	3.8	17.9	11.5	34.4	15.3	17.1
16	Wital	3.6	17.3	10.5	33.6	15.2	19.9
17	Rodrik	4.2	16.6	11.6	34.7	16.7	16.3
18	Govelino	3.9	16.9	11.6	36.0	16.6	15.1
19	Goldritter	4.1	18.2	11.5	32.6	18.5	15.1
20	Graziaro	4.1	18.2	12.0	32.9	17.3	15.6
21	Tilliko	4.0	18.4	11.7	33.0	17.2	15.8
22	Rubisko	3.8	18.7	12.5	32.0	19.6	13.5
23	Energo	3.4	17.1	11.3	34.6	16.4	17.2
24	Tagano	3.5	17.6	10.6	34.6	16.5	17.1

Tableau II : Pourcentage de polymères inextractibles (% UPP), teneur en protéines totales estimée des échantillons (P % matière sèche) et rapport gliadines sur gluténines (Glia/Glu)

N°	Variété	% UPP	P % m.s.	Glia/Glu
1	Rouge de Bordeaux	33.2	12.2	0.94
2	Maryal de Gerona	31.9	10.8	0.96
3	Alandra x Soendres Laracha	36.7	12.4	0.96
4	Talisman	32.9	11.8	0.98
5	Alandra	32.4	13.8	1.07
6	Chandamour	38.1	13.4	1.06
7	Alandra x Royo de Pampelona	30.6	12.2	1.04
8	Population dynamique n°2	31.6	11.7	1.01
9	Saint Priest	42.7	13.0	1.02
10	Bladette de Provence	36.6	12.0	0.89
11	Blanco de corella x Nonette de Lausanne Nocorno	25.6	10.6	1.26
12	Turgidum di Maliani x Nonette de Lausanne	18.7	12.4	1.54
13	Tengri	37.6	12.1	0.93
14	Poésie	39.5	11.8	0.88
15	Prim	44.2	13.2	0.89
16	Wital	48.8	12.8	0.82
17	Rodrik	44.0	11.9	0.94
18	Govelino	42.2	11.8	1.00
19	Goldritter	40.5	12.0	0.87
20	Graziaro	41.2	11.2	0.87
21	Tilliko	41.4	12.1	0.87
22	Rubisko	37.3	9.3	0.90
23	Energo	45.6	11.6	0.92
24	Tagano	44.7	12.9	0.90

La teneur en protéines estimée moyenne est de 12% (m.s.), avec des teneurs contrastées allant de 9.3 % pour Rubisko à 13.8 % pour Alandra.

Si l'on s'intéresse à la composition en polymères des échantillons, notamment à la proportion de polymères insolubles (ou inextractibles, **%UPP**) versus l'ensemble des polymères présents dans l'échantillon, on constate que ce chiffre **est très variable,** l'échantillon 12 (un poulard) présente un % d'UPP faible (18.7%) alors que le 16 une lignée de blé tendre) affiche un % très élevé de 48.8%.

Les rapports gliadines/gluténines (F4/F1+F2+Fi) sont également très variables. Les poulards, de par la généalogie forment un groupe à part avec un rapport gliadines / gluténines élevé.

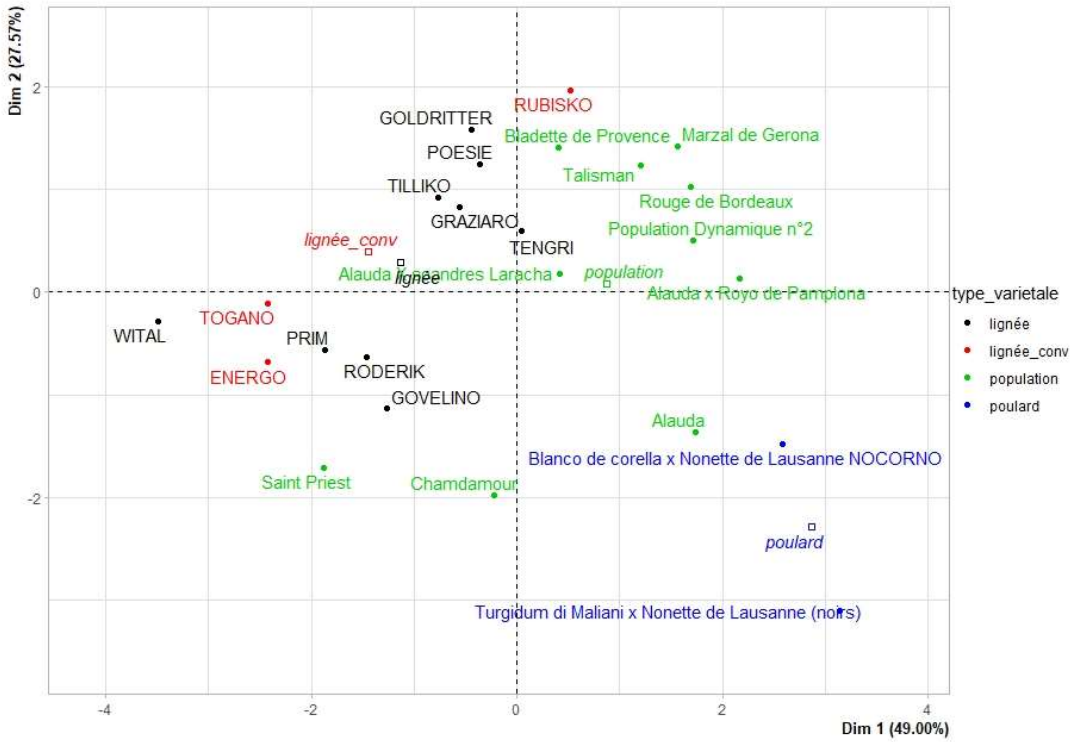
Une ACP a été réalisée sur les fractions protéiques, pour bien repérer les profils associés aux types variétaux. La fraction F5 est intéressante d'un point de vue nutritionnelle car elle a une composition équilibrée en Acide Aminé et est riche en lysine et méthionine.

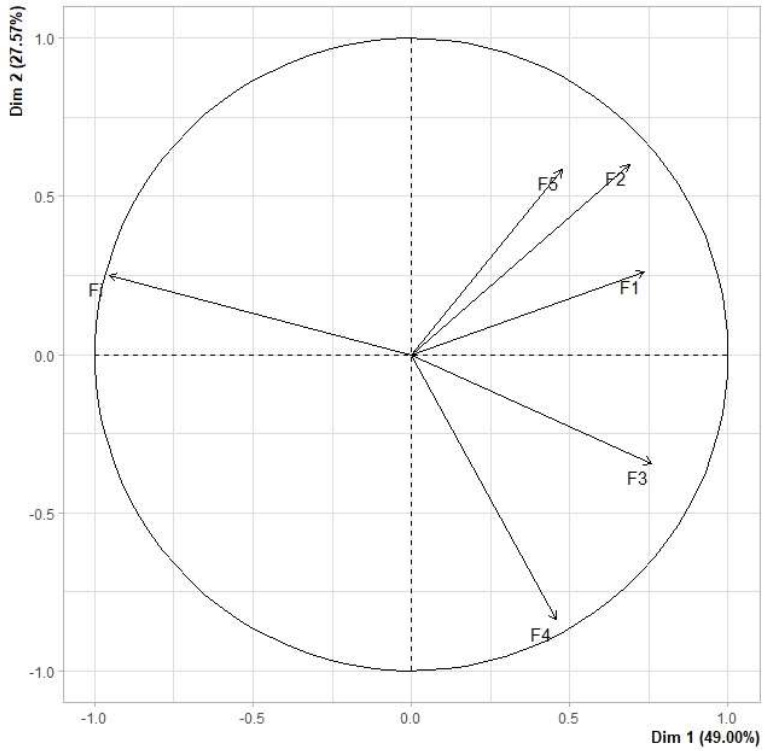
Une première observation réside dans la diversité des profils protéiques : les 24 variétés se répartissent sur les deux dimensions de l'ACP, qui explique 76% de la variabilité. C'est sur la fraction Fi, qu'il y a les plus grandes variations.

La première dimension oppose les variétés sur la fraction Fi, c'est-à-dire la fraction de protéines les plus lourde. A droite, 'WITAL', 'ENERGO', 'TOGANO' (deux des trois variétés témoins de la sélection conventionnel) sont les plus riches en cette fraction. A gauche, les populations 'Rouge de Bordeaux', 'Marzal de Gerona', 'Population Dynamique 2' présentent de faibles teneurs en Fi et de fortes teneurs en F5 et F2.

Elles contiennent donc des petits agrégats de gluténines mais sont également riches en albumines et globulines, et présentent donc un intérêt d'un point de vue nutritionnelle.

La deuxième dimension distingue les variétés sur la teneur en gliadine. Les poulards sont caractérisés par de fortes teneurs, on trouve également dans ce groupe les variétés 'Alauda' et 'Chamdamour'.





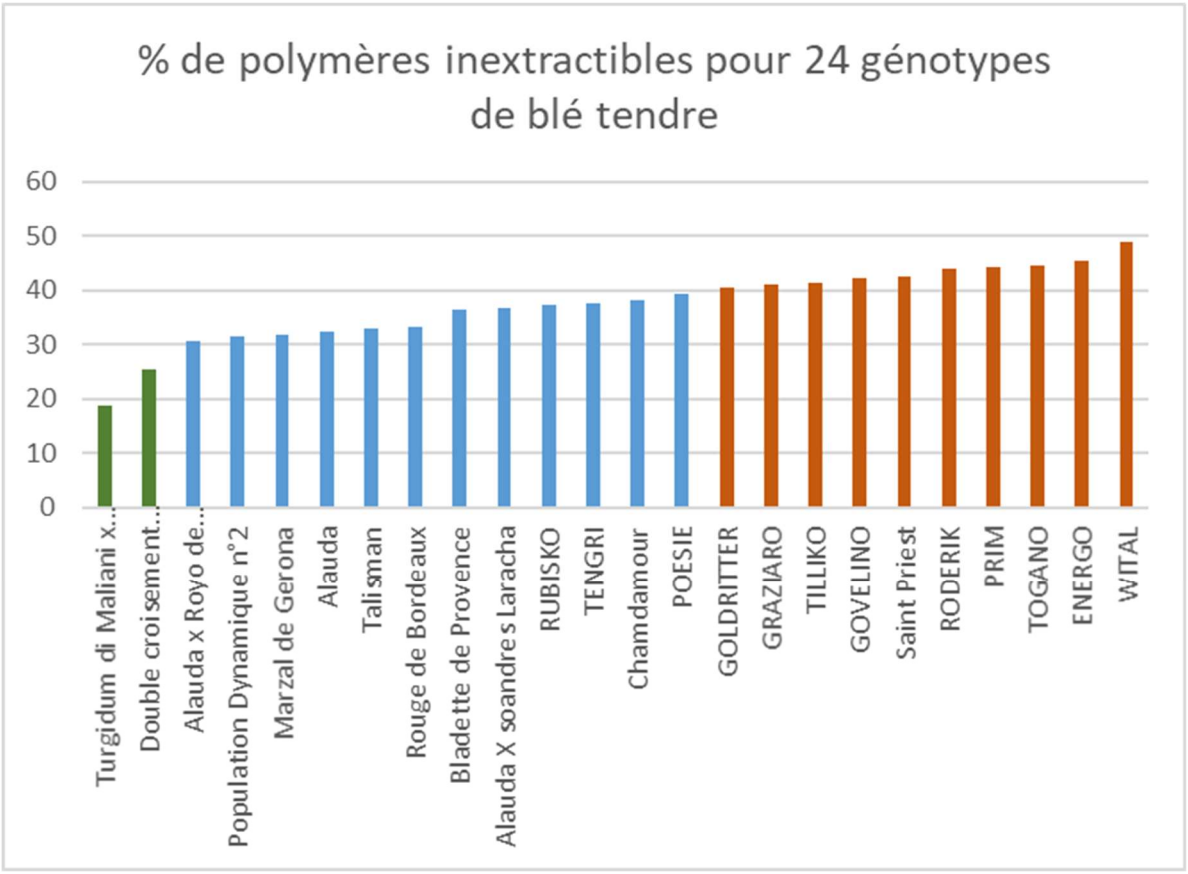


FIGURE 5: % DE POLYMERES INEXTRACTIBLES (%UPP)

Les échantillons, sur la base de leur teneur en polymères inextractibles, peuvent être classés en 3 groupes. Les deux poulards constituent le 1er groupe (en vert) avec un % d'UPP plutôt faible (< 30%) associé à un rapport Glia/Glu élevé (>1.50) ce qui est cohérent avec leur type « blé dur » dont les % UPP tournent autour 20%). Le 2ème groupe (en bleu), est composé d'une grande majorité de blés populations, présente un % d'UPP moyen (30<UPP<40). Trois lignées présentent des caractéristiques similaires aux populations : 'RUBISKO', 'TENGRI' et 'POESIE'. Le dernier groupe (en orange) est constitué exclusivement de lignées pures (à l'exception de 'St Priest') et présente un taux d'UPP supérieur à 40% qui est généralement associé pour des blés tendres, à une bonne aptitude technologique (panification). A noter, les rapports Glia/Glu de ces deux derniers groupes ne sont pas très différents (0.97 et 0.91 respectivement).

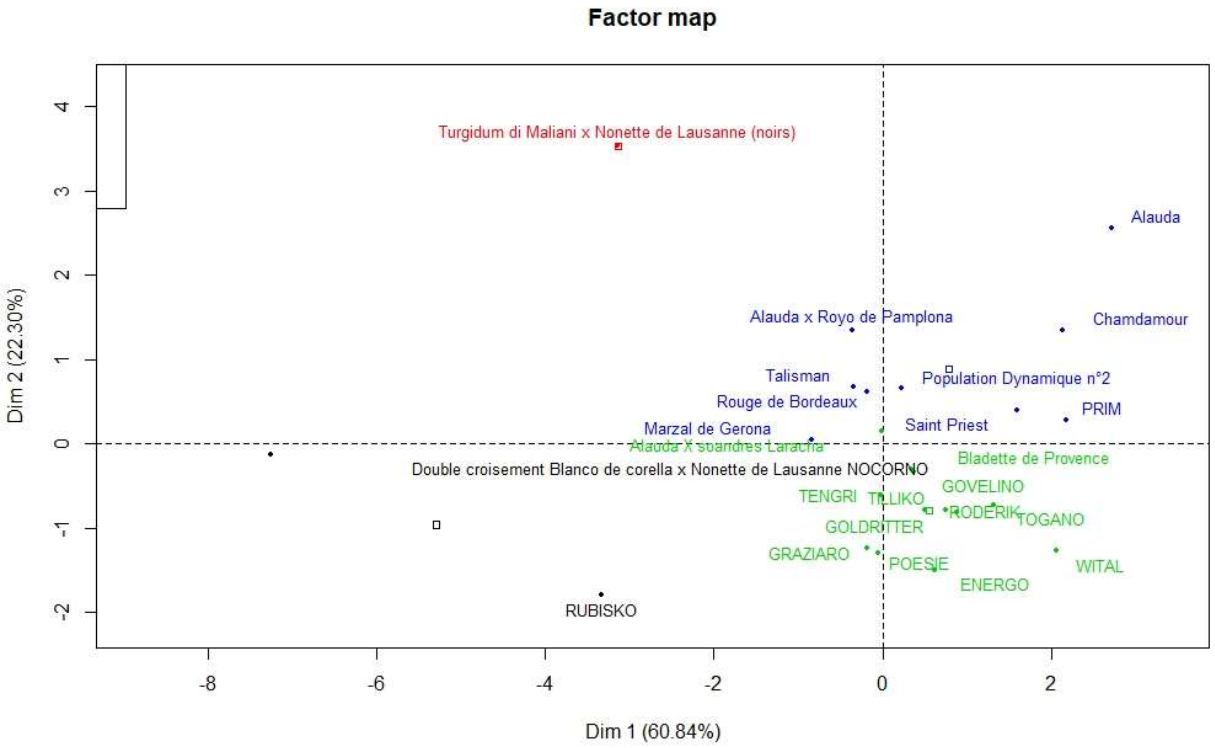
Corrélation gluten et %UPP

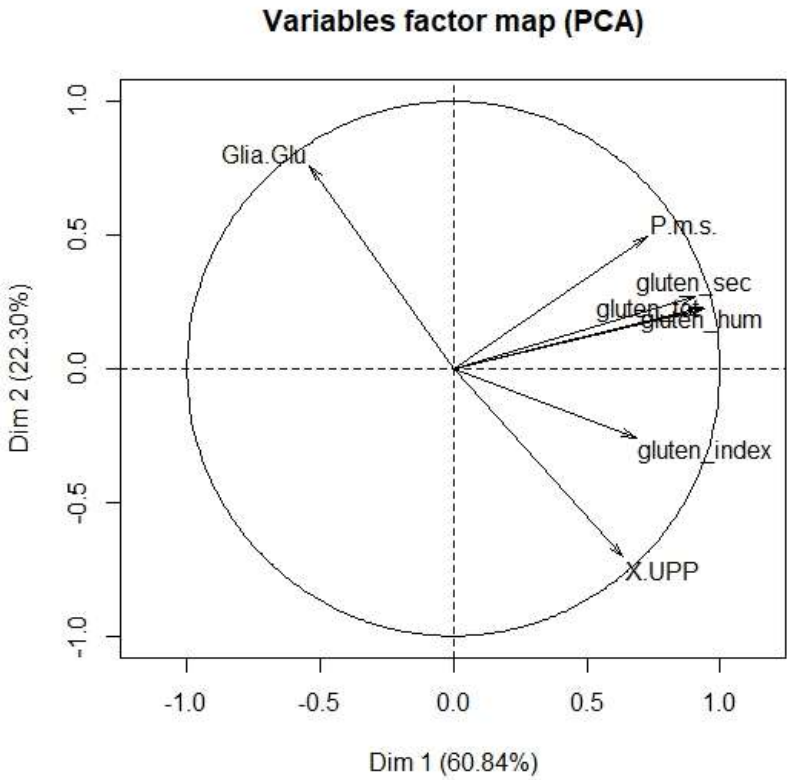
Les classements des variétés selon le gluten index et le %UPP sont similaires mais pas identiques. Ils semblent que les mesures par chromatographie soient plus fines et plus détaillées sur la nature et la quantité des protéines. Cependant, ces mesures sont coûteuses (350€ / ech.). Si le gluten index apparaît bien corrélé au %UPP, il pourra servir de critère de sélection pour des blés dont les glutens sont moins lourd, car bien meilleur marché (30€ / éch.). Une Analyse en Composante Multiple est réalisée pour observer les corrélations entre les variables. Plusieurs observations peuvent être réalisées.

- Le rapport gliadine/gluténine est inversement corrélée au %UPP
- Le gluten index est corrélé positivement au %UPP, Le gluten index apparaît donc fiable pour caractériser la nature des protéines et plus particulièrement est un indicateur du % de protéines inextractibles. Il semble cependant moins bien capter la variabilité (car moins représenté sur les deux dimensions que les données par chromatographie)

- La quantité de protéines est indépendante de la composition.

La distinction entre les variétés se fait bien sur la nature des protéines (dimension 2) et non sur la quantité. La représentation ci-dessous indique d'ailleurs des teneurs en protéines sensiblement plus élevé dans les populations que dans les lignées.





CONCLUSIONS

C'est donc bien sur le spectre en protéines que se joue la différentiation entre les variétés plutôt que sur leurs performances (quantité de protéines). Les 'poulards' sont caractérisés par un rapport gliadine/gluténine très élevé par rapport aux autres variétés, ce qui correspond à leur profil « blé dur ». **Les populations et les lignées pures présentent des rapport gliadine/gluténine très proches mais se distinguent sur la quantité de polymères inextractibles (ceux à plus haut poids moléculaire)**. Ainsi ce n'est là encore pas sur la quantité totale de gliadines et de gluténines que se fait la distinction mais bien sur le spectre en gluténine. Ce sont ces molécules à très haut poids moléculaires qui seraient un des facteurs favorisant l'intolérance au gluten. Par ailleurs, le caractère 'mou' des glutens des populations donne lieu à une activité accrue des enzymes amylases avec libération de glucides simples fermentescibles[4].

Lectures suggérées

Mutwali, Noha I. A., Abdelmoniem I. Mustafa, Isam A. Mohamed Ahmed, et Elfadil E. Babiker. « Effect of Environment and Genotype on the Protein Quality Attributes and Baking Characteristic of Newly Developed Wheat Inbred Lines ». *Tarım Bilimleri Dergisi*, 5 avril 2018, 119-29. https://doi.org/10.15832/ankutbd.446407.

Surma, Maria, Tadeusz Adamski, Zofia Banaszak, Zygmunt Kaczmarek, Hideyuki Kuczyńska, Małgorzata Majcher, Bogusława Ługowska, Wiktor Obuchowskił, Bolesław Salmanowicz, et Karolina Krystkowiak. « Effect of Genotype, Environment and Their Interaction on Quality Parameters of Wheat Breeding Lines of Diverse Grain Hardness ». *Plant Production Science* 15, n° 3 (janvier 2012): 192-203. https://doi.org/10.1626/pps.15.192.

Chope, G. A., Y. Wan, S. P. Penson, D. G. Bhandari, S. J. Powers, P. R. Shewry, et M. J. Hawkesford. « Effects of Genotype, Season, and Nitrogen Nutrition on Gene Expression and Protein Accumulation in Wheat Grain ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62, n° 19 (14 mai 2014): 4399-4407. https://doi.org/10.1021/jf500625c.

Peterson, C. J., R. A. Graybosch, P. S. Baenziger, et A. W. Grombacher. « Genotype and Environment Effects on Quality Characteristics of Hard Red Winter Wheat ». *Crop Science* 32, n° 1 (1992): cropsci1992.0011183X003200010022x. https://doi.org/10.2135/cropsci1992.0011183X003200010022x.

Johansson, Eva, Gérard Branlard, Marta Cuniberti, Zina Flagella, Alexandra Hüsken, Eric Nurit, Roberto Javier Peña, Mike Sissons, et Daniel Vazquez. « Genotypic and Environmental Effects on Wheat Technological and Nutritional Quality ». In *Wheat Quality For Improving Processing And Human Health*, édité par Gilberto Igrejas, Tatsuya M. Ikeda, et Carlos Guzmán, 171-204. Cham: Springer International Publishing, 2020. https://doi.org/10.1007/978-3-030-34163-3_8.

Avec la contribution financière du compte d'affectation spéciale développement agricole et rural CASDAR

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION
Liberté
Égalité
Fraternité

Remerciements financeurs : région Pays de la Loire et CASDAR

Auteurs : Camille Fouillet, ITAB, relecture par les partenaires

Comment citer ce document : Fouillet, C., Rapport technique. 2020. Analyse de la composition en protéines de variétés de blé tendre pour l'AB. Projet QUALIBLEBIO

CC BY SA

4 Élisa Michel, résultats vulgarisés de thèse « ma thèse pour tous »