

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

N° d'Ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V.)

Filière : Sciences alimentaires

Spécialité : Biochimie de la Nutrition

Intitulé du thème :

**Extraction et dosage des protéines (Albumine
et globulines) de blé tendre en grain en
développement**

Présenté par :

Melle SOHBI Lamia

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury :	Mme Demmouche Abassia	(M.C.A/ UDL/SBA)
Examineur :	Mr Zairi Mohamed	(M.C.A/ UDL/SBA)
Promoteur :	Mme Meziani Samira	(M.C.A/ UDL/SBA)
Co-Promoteur :	Mme Saidani Souad	(Doctorant/ UDL/SBA)

Année universitaire 2020 – 2021

Session : « Juin »

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah le tout miséricordieux, le très miséricordieux, louange à vous qui nous a inculqué la force nécessaire et le courage pour mener à bien ce travail. Nous vous prions de nous aider d'avantage à percer dans la recherche du savoir.

Le travail qui a fait l'objet de ce mémoire a été réalisé au laboratoire d'immunologie du département de Biologie. Faculté des sciences de la nature et de la Vie. UDL de Sidi Bel Abbès.

Au terme de ce travail je remercie

Mon Promoteur. **Dr MEZIANI Samira**, qui m'a fait le grand honneur de guider et orienter judicieusement ce travail et pour m'avoir aidé et donné cette opportunité de réaliser ce beau travail scientifique, je la remercie également pour sa grande disponibilité, à tout moment, tout au long de cette mémoire.

Je remercie **M^{me} SAIDANI Souad** Co-encadrer pour sa disponibilité et son aide et sa compétence.

Je tiens à remercier responsable du laboratoire d'immunologie **M^{me} Labгаа Houaria** pour son aide si importante au laboratoire pour ces conseils.

Nous remercions enfin tous ce qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire dans les meilleurs conditions

Dédicace

Que ce travail témoigne de mes respects :

A MES PARENTS : grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux. Je prie le bon dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fières de moi.

**A tous mes frères : Abbas, Mohamed, Abdenour, Rafik et mes sœurs
DjaImila, Faiza, Siham, Rofaida.**

Ils vont trouver ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance pour le soutien qu'ils n'ont cessé de me porter.

A tous ceux qui me sont chères.

Résumé

L'augmentation des rendements est un enjeu majeur dans les céréales. Dans cet objectif, il est nécessaire de maintenir la qualité du grain de blé, qui est principalement déterminée par sa teneur et sa composition en protéines de réserve pendant le remplissage des grains. L'objectif de cette étude est de faire une étude sur le plan physico-chimique et nutritionnel à la cour de développement de blé tendre cultivé dans la région de l'ouest d'Algérie.

On a procédé aux différentes analyses physicochimiques d'une variété de blé tendre Hd 1220 à savoir : le taux d'humidité, poids de mille grains, taux de cendre, taux de la matière grasse, dosage des protéines par méthode de Bradford et Lowry, pour de fins agronomiques, économiques et nutritionnelles. Les résultats montrent que, le taux d'humidité du blé tendre est de moyenne de 9.44% avec des grains de petites tailles. Le taux de matière minérale de la farine de blé tendre est inférieur à 0.8%, est riche en matière grasse (45.14%). La teneur en protéines obtenues par deux méthodes utilisées enregistre des valeurs faibles, dans le stade laiteux correspondant au début de remplissage du grain qui augmente faiblement pendant le remplissage.

Les quantités de protéines accumulées au cours de développement du grain est dépendante du nombre de cellules de l'albumen et de la taille finale des cellules, elle-même influencée considérablement en fonction des génotypes et des conditions thermiques de culture.

Mots clés : blé tendre, variété, physico-chimique, paramètres, stade de remplissage.

Abstract

Increasing yields is a major issue in cereals. For this purpose, it is necessary to maintain the quality of the wheat grain, which is mainly determined by its content and composition of reserve proteins during grain filling. The objective of this study is to conduct a physicochemical and nutritional study of the development of common wheat grown in the western region of Algeria.

Various physicochemical analyzes were carried out on a variety of soft wheat HD 1220, namely: moisture content, weight of a thousand grains, ash content, fat content, protein dosage by Bradford and Lowry method, for agronomic, economic and nutritional purposes. The results show that the moisture content of soft wheat averages 9.44% with small grain sizes. The rate of mineral matter of common wheat flour is less than 0.8%, is rich in fat (45.14%). The protein content obtained by two methods used records low values, in the milky stage corresponding to the beginning of grain filling which increases slightly during filling.

The amounts of proteins accumulated during the development of the grain is dependent on the number of cells of the albumen and the final size of the cells, which is itself influenced considerably depending on the genotypes and the thermal conditions of culture.

Key words: soft wheat, variety, physicochemical, parameters, filling stage.

ملخص

تعتبر زيادة الغلة قضية رئيسية في الحبوب ، ولهذا الغرض من الضروري الحفاظ على جودة حبوب القمح ، والتي يتم تحديدها بشكل أساسي من خلال محتواها من البروتين وتكوينها أثناء تعبئة الحبوب. الهدف من هذه الدراسة هو إجراء دراسة حول الخطة الفيزيائية والكيميائية والتغذوية في سياق تطوير القمح اللين المزروع في منطقة غرب الجزائر

أجرينا العديد من التحليلات الفيزيائية والكيميائية لمجموعة متنوعة من عطاء القمح Hd 1220 وهي: محتوى الرطوبة ، وزن ألف حبة ، محتوى الرماد ، محتوى الدهون وجرعة البروتين بطريقة برادفورد ولوري للأغراض الزراعية والاقتصادية والغذائية ، وأظهرت النتائج أن محتوى الرطوبة في القمح اللين هو في المتوسط 9.44% مع الحبوب الصغيرة ، والمحتوى المعدني لدقيق القمح الطري أقل من 0.8 % ، غنية بالدهون (45.14%) محتوى البروتين يتم الحصول عليها بطريقتين مستخدمة تسجل قيمًا منخفضة ، في المرحلة اللبئية المقابلة لبداية حشو الحبوب والتي تزداد قليلاً أثناء الملء.

تعتمد كميات البروتين المتراكمة أثناء نمو الحبوب على عدد خلايا الزلال والحجم النهائي للحبوب. الخلايا نفسها تأثرت بشكل كبير بالاعتماد على الأنماط الجينية والظروف الحرارية للزراعة .

الكلمات المفتاحية: القمح الطري ، التنوع ، الفيزيائية الكيميائية ، المعلمات ، مرحلة الملء.

Liste des abréviations

* : Ajout de 4 microlitre de l'inhibiteur de protéase

** : Le culot peut être conservé à -20°C ou ré solubilité pour une électrophorèse.

% : Pourcentage

H : Humidité

ITCF : Institut technique des Céréales et des Fourrages

ITGC : institut technique des grandes cultures

G : Gramme

MG : Matière grasse

MI : Millilitre

Nm : Nanomètre

PH : Potentiel hydrogène

PMG : Poids de mille grains.

TH : Taux d'humidité

TC : Taux de cendre

µl : Microlitre

µg : Microgramme

Liste des figures

Figure 01 : Cycle de développement du blé.

Figure 02 : L'appareil végétatif de blé dur.

Figure 03 : L'appareil reproducteur de blé dur.

Figure 4. Histologie du grain de blé.

Figure 5 : Couches cellulaires du grain de blé.

Figure 06. Composition protéique de la farine du blé.

Figure 07 : L'échantillon avec la coupelle avant séchage, refroidissement de l'échantillon, après séchage

Figure 08: la pesée de l'échantillon prélevé Approximativement de 500 g

Figure 09 : La pré-incinération (l'ajout d'éthanol pour enflammer l'échantillon

Figure 10 : L'incinération et refroidissement des capsules retirées du four

Figure 11 : ébullition et l'extraction est maintenue continuellement durée de 4 heures

Figure 12 : La pré-incinération (l'ajout d'éthanol pour enflammer l'échantillon)

Figure 13 : L'incinération

Figure 14 : Réactif bleu de coomassie préparé

Figure 15 : Résultats relatifs au taux de protéines des différents stades de développement de blé HD1220 selon la méthode de Bradford

Figure 16 : Résultats relatifs au taux de protéines (Albumine et Globulines) de différentes variétés de blé tendre selon la méthode de Lowry

Figure 17 : Four à moufle électrique

Figure 18 : Balance électrique

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les échelles de notation des stades du blé

Tableau 02 : Les caractères morphologiques

Tableau 03 : Les caractères technologiques.

Tableau 04 : différents stades récolté des champs d'essai de l'ITGC de Sidi Bel Abbes dans la région de Tassala

Sommaire

Remerciements

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

La liste des figures

La liste des tableaux

Introduction.....01

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Origine et classification de blé02

1.1. Origine du blé.....02

1.1.1. Origine génétique.....02

1.1.2 Origine géographique.....03

1.2. Classification botanique.....03

2. Biologie de blé.....04

2.1. Le cycle biologique de blé.....04

2.1.1. La période végétative.....04

2.1.1.1. Phase germination-levée.....04

2.1.1.2. Phase levée-tallage.....04

2.1.2. La période reproductrice.....04

2.1.2.1. La montaison-gonflement.....04

2.1.2.2. L'épiaison- fécondation.....05

2.1.2.3. Le grossissement du grain.....05

2.1.2.4. Maturation du grain.....05

2.2. Les caractères morphologiques de blé.....07

2.2.1. L'appareil végétatif.....07

2.2.2. L'appareil reproducteur.....08

2.2.3. Le grain.....09

2.2.3.1. Structure et composition du grain de blé.....09

A) Les enveloppes et la couche à aleurone.....09

B) Le germe.....11

C) L'albumen12

2.2.3.2. Les protéines du grain de blé.....14

A) Les protéines métaboliques.....14

b) Les protéines amphiphiles.....	14
C) Les protéines de réserves.....	15

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

1-Materiels et méthodes.....	17
1.1 Objectif de l'étude.....	17
1.2 Matériel végétal.....	17
2. Méthode d'analyse.....	17
2.1 Paramètres relatifs aux caractéristiques physicochimiques des grains de blé.....	18
2.1.1 Teneur en eau.....	18
2.1.2 Poids de mille grains.....	20
2.1.3 Dosage des cendres.....	21
2.1.4 Extraction de la matière grasse.....	23
2.1.4.1. Extraction au soxhlet.....	23
2.2. Dosage des protéines.....	25
2.2.1. Extraction des protéines.....	26
2.2.2. Dosage par la méthode de Bradford.....	28
2.2.3. Dosage par la méthode de Lowry.....	29

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Paramètres physicochimiques.....	30
1.1. Détermination du Taux d'humidité.....	30
1.2 Détermination du Poids de mille grains.....	30
1. 3 Détermination du Taux de cendres.....	31
1.4 Matière grasse (extraction de soxhlet).....	32
2. Dosage des protéines par différentes techniques.....	33
2.1. Dosage par la méthode de Bradford.....	33
2.2. Dosage des protéines par méthode de Lowry.....	33

Conclusion

Annexes

Références

INTRODUCTION

Introduction

Les produits céréaliers constituent la base de l'alimentation humaine dans la plupart des pays du monde, du fait qu'ils apportent la plus grande part des Protéines de la ration alimentaire.

Ils fournissent 57 % de protéines consommées contre 23 % apportées par les tubercules et les légumineuses ainsi que 20 % par les produits d'origine animale (**GODON, 1982**).

Cette filière occupe une place très importante dans l'économie algérienne car l'Algérie appartient au groupe des plus gros importateurs de blé dans le monde.

Les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire algérien. (TALAMALIL, 2000). Le blé tendre représente 60% de la ration alimentaire du citoyen algérien, et ses habitudes alimentaires (pâte, biscuit, pain) font de lui un grand consommateur de cette denrée (**BENBELKACEM F., et al., 1995**).

La qualité technologique du blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et son amélioration sont parmi les principales préoccupations des céréaliers, elle dépend essentiellement de ses protéines de réserve, dont principalement le groupe des prolamines qui englobent les gliadines et les gluténines. En effet, ces protéines sont déterminantes à la capacité du gluten à former un réseau viscoélastique, essentiel aux processus technologiques (**SHEWRY, 1997**).

Or, si le produit naturel n'est pas stable, le meunier s'engage, lui à fournir une farine de qualité qui soit régulière, et plus exactement des gammes de farine, qui permettent au boulanger d'appliquer ses recettes, dans les meilleures conditions.

Notre travail s'inscrit dans ce contexte qui a pour objectif l'appréciation de la qualité technologique des farines de blé tendre commercialisées en Algérie par l'étude de leurs caractères physicochimiques et leurs taux de protéines par l'utilisation de quelques méthode de dosage.

Partie bibliographique

1. Origine et classification de blé

1.1. Origine du blé

Depuis la naissance de l'agriculture, le blé est la base de la nourriture de l'homme (Ruel, 2006), c'est une espèce connue depuis la plus haute antiquité, dont il constitue la base alimentaire des populations du globe (**Yves et Buyer, 2000**). Pendant plusieurs siècles, il a été vénéré comme un dieu et associé à la pluie, l'agriculture et la fécondité (**Ruel, 2006**).

La découverte du blé remonte à 15000 ans avant Jésus-Christ dans la région du croissant fertile, vaste territoire comprenant, la vallée du Jourdain et des zones adjacentes de Palestine, de la Jordanie, de l'Iraq, et la bordure Ouest de l'Iran (**Feldman et Sears, 1981 ; Mouellef, 2010**). C'était à une époque où l'homme pratiquait déjà la cueillette et faisait ses débuts comme agriculteur. Cette période coïncidait avec un épisode climatique sec, aboutissant à l'arrêt du mode de vie de 'chasseur-cueilleur', et engendrant la domestication progressive des plantes, associée à la création des premières communautés villageoises (**Wadley et Martin, 1993 in Ouazar, 2012**).

Le blé est l'une des principales ressources alimentaires de l'humanité. La saga du bléac compagne celle de l'homme et de l'agriculture, sa culture précède l'histoire et caractérise l'agriculture néolithique, née en Europe il y a 8000 ans. La plus ancienne culture semble être le blé dur dans le croissant fertile de la Mésopotamie (**Feillet, 2000**). **Léon Ducellier (1878-1937)** en particulier, parcourant le blé fit au début du siècle le recensement d'une flore mal connue. Il découvrit et analysé les nombreuses variétés, qui peuplaient les champs cultivés, recueillit les échantillons les plus caractérisés, les plus productifs, les plus résistants à la sécheresse ou à quelques maladies. Les blés ont d'abord évolué en dehors de l'intervention humaine, puis sous la pression de sélection qu'ont exercée les premiers agriculteurs (**Henry et Buysse, 2001**).

1.1.1. Origine génétique

C'est il y a environ 10 000 ans, au Proche-Orient, dans la région du Croissant fertile, que le blé a été domestiqué par hybridation entre trois espèces d'une graminée sauvage, l'épeautre ou engrain sauvage : *Triticumspelta* L., *Triticumboeoticum* et *Aegilops longissima*. Il a gagné l'Europe occidentale par deux grands axes : d'une part la Méditerranée dès 5000 avant notre ère, un blé panifiable était cultivé dans le sud de la France, d'autre part la vallée du Danube deux espèces de blés non panifiables (amidonnier et engrain), vieux de 4000 ans, ont été retrouvées dans la région parisienne, ainsi que du froment en Bretagne et en Normandie. La détermination

de l'origine de chacun des génomes du blé est difficile du fait de l'évolution des espèces (**Cauderon, 1979 ; Liu et al, 1996 in Nadjem, 2012**).

Sakamura (1918) cité par **Cauderon (1979)**, fut le premier à déterminer le nombre exact des chromosomes de diverses espèces de *Triticum* de niveaux de ploïdie différents :

- *Triticumaestivum* : 42 chromosomes, hexaploïde.
- *Triticumturgidum* : 28 chromosomes, tétraploïde [$2n = 4x = 28$] Génome AABB.
- *Triticummonococcum* : 14 chromosomes, diploïde.

1.1.1 Origine géographique

Selon **Vavilové in Ounzar, (2012)**, le blé dur a deux origines : l'Abyssinie et l'Afrique du Nord. Alors que pour Grignac (1978), le Moyen Orient est le centre générateur du blé dur, où il s'est différencié dans trois régions : le bassin occidental de la méditerranée, le sud de la Russie et le Proche Orient (Syrie et nord de la Palestine).

1.1. Classification botanique

Selon **Prats, 1960., Crête, 1965., Bonjean et Picard, 1990 ; Feillet, 2000**, Le blé dur est une plante herbacée, appartenant au groupe des céréales à paille, qui sont caractérisée par des critères morphologiques particuliers. Le blé dur est une monocotylédone qui obéit à la classification suivante : Embranchement : Spermaphytes

S/Embranchement : Angiospermes

Classe : Monocotylédones

Super Ordre : Commeliniflorales

Ordre : Poales

Famille : Graminacée

Tribu : Triticeae

Sous tribu : Triticinae

Genre : *Triticum*

Espèce : *Triticumdurum*Desf.

2. Biologie de blé

Qu'elle soit vivace ou annuelle, toutes les graminées ont un rythme de végétation et de fructification annuel Au cours de ses différents stades de croissance, le blé présente des exigences variables en eau et en matières minérales (**Gate et al., 1997 in Nadjem, 2012**).

2.1. Le cycle biologique de blé

2.1.1. La période végétative

Elle se caractérise par un développement strictement herbacé et s'étend du semis jusqu'à fin de tallage (**Figure 01**).

2.1.1.1. Phase germination-levée

La germination de la graine se caractérise par l'émergence du coléorhize donnant naissance à des racines séminales et de la coléoptile qui protège la sortie de première feuille fonctionnelle. La levée se fait réellement de la sortie des feuilles à la surface du sol.

Au sien d'un peuplement, la levée est atteinte lorsque la majorité des tiges de semis sont visibles (**Gate, 1995**). Durant la phase semis-levée l'alimentation de la plante dépend uniquement de son système racinaire primaire et des réserves de la graine. La réalisation de cette phase dépend de la chaleur, l'aération et l'humidité (**Eliard, 1979 in Nadjem, 2012**).

2.1.1.2. Phase levée-tallage

La production de talle commence à l'issue du développement de la troisième feuille, à 45 jours environ après la date du semis (**Moule, 1971 in Nadjem, 2012**). Les talles secondaires peuvent apparaître et être susceptibles d'émettre des talles tertiaires. Le nombre de talles produites est fonction de la variété, du climat, de l'alimentation minérale et hydrique de la plante, ainsi que de la densité de semis (**Masale, 1980 in Nadjem, 2012**).

2.1.2. La période reproductrice

2.1.2.1. La montaison-gonflement

La montaison débute à la fin de tallage. Elle est caractérisée par l'allongement des entrenœuds et la différenciation des pièces florales. A cette phase, un certain nombre de talle herbacée commence à régresser alors que d'autres se trouvent couronnées par des épis. Pendant cette phase de croissance active, les besoins en élément nutritifs notamment en azote sont accrus. La montaison s'achèvera la fin de l'émission de la dernière feuille et les manifestations du gonflement que provoquent les épis dans la graine (**Clement- Grancourt et Prats, 1971 in Nadjem, 2012**).

2.1.2.2. L'épiaison- fécondation

Elle est marquée par la méiose pollinique, l'éclatement de la gaine avec l'émergence de l'épi. C'est au cours de cette phase que s'achève la formation des organes floraux (l'anthèse) et s'effectue la fécondation. Cette phase est atteinte quand 50% des épis sont à moitié sortis de la gaine de la dernière feuille (**Gate, 1995**). Elle correspond au maximum de la croissance de la plante qui aura élaboré les trois quarts de la matière sèche totale et dépend étroitement de

nutrition minérale et de la transpiration qui influencent le nombre final des grains par épi (Masale, 1980).

2.1.2.3. Le grossissement du grain

Cette phase marque la modification du fonctionnement de la plante qui sera alors orientée vers le remplissage des grains à partir de la biomasse produite. Au début, le grain s'organise, les cellules se multiplient, Les besoins des grains sont inférieurs a ce que fournissent les parties aériennes (plus de $\frac{3}{4}$ de la matière sèche sont stockés au niveau des tiges et des feuilles). Par la suite, les besoins augmentent et le poids des grains dans l'épi s'élève, alors que la matière sèche des parties aérienne diminue progressivement. Seulement 10% à 15% de l'amidon du grain peut provenir de réserves antérieures a la floraison. A l'issue de cette phase, 40 à 50% des réserves se sont accumulées dans le grain qui, bien qu'il a atteint sa taille définitive, se trouve encore vert et mou, c'est le stade « Grain laiteux » (Hoppenot et al, 1991 in Boulelouch, 2002).

2.1.2.4. Maturation du grain

La phase de maturation succède au stade pâteux (45% d'humidité). Elle correspond à la phase au cours de laquelle le grain va perdre progressivement son humidité en passant par divers stade. Elle débute à la fin du palier hydrique marqué par la stabilité de la teneur en eau du grain pendant 10 à 15 jours au-delà de cette période, le grain ne perdra que l'excès d'eau qu'il contient et passera progressivement aux stades « rayable à l'angle » (20% d'humidité) puis « cassant sous la dent » (15-16% d'humidité)(Gate, 1995) (Tableau 1).

Tableau 01: Les échelles de notation des stades du blé (Soltner, 2005).

Stade	Échelle de Feekes	Échelle de Zadocks	Échelle de Jonard	Caractéristiques
Levée	1	10 11 12 13		-1 ^{ère} feuille traverse la coléoptile -1 ^{ère} feuille étalée -2 ^{ème} feuille étalée -3 ^{ème} feuille étalée
Début tallage	2	21 (1 talle)	A	-Formation de la 1 ^{ère} talle
Plein tallage	3			
Fin tallage	4	29		
Début montaison	5	30	B	Sommet de l'épi distant à 1cm du plateau de tallage
1 nœud	6	31	C1	1 nœud
2 nœuds	7	32	C2	2 nœuds, élongation de la tige
	8	37		Apparition de la dernière feuille
Gonflement: épi gonfle la gaine de la dernière feuille	9	39	D (méiose du pollen)	Ligule juste visible
	10			Gaine de la dernière feuille sortie
Epiaison	10-1	40-49	E	Gaine éclatée
	10-2	50		1/4 épiaisons
	10-3	A		1/2 épiaisons
	10-4	59		3/4 épiaisons
	10-5			Tous les épis hors de la gaine
Floraison	10-5-1	60 à 69	F	Début floraison
	10-5-2			Demi-floraison
	10-5-3			Floraison complète
Formation Et Du Maturation Du grain	10-5-1			Formation du grain
	11-1	70à79	M0	Grain laiteux
	11-2	80à89		Grain pâteux
	11-3	90à94		Grain jaune
	11-4		M	Grain mur

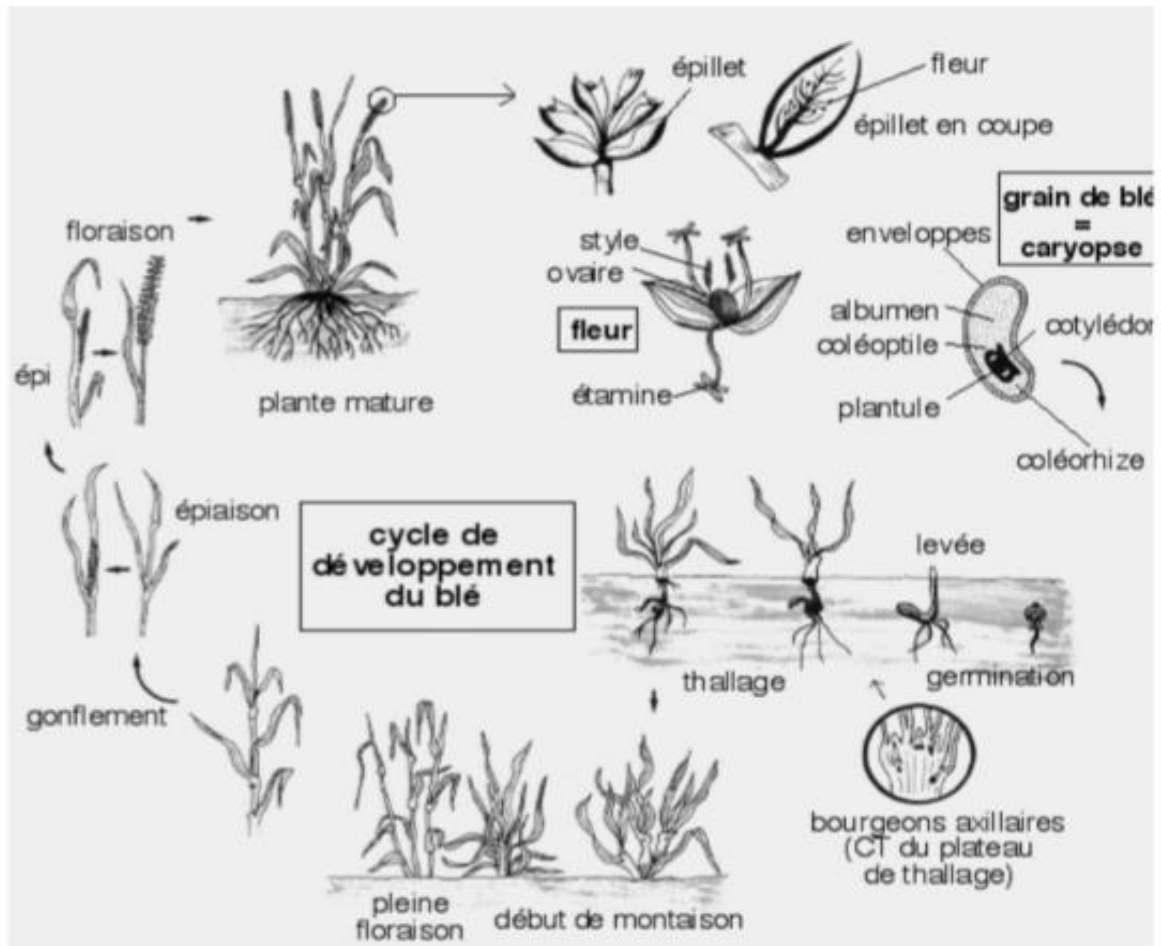


Figure 01 : Cycle de développement du blé (Henry, 2000).

2.2. Les caractères morphologiques de blé

2.2.1. L'appareil végétatif

- Les racines

On deux sortes de racines : Les racines primaires ou séminales issues de la semence qui se développent au moment de la germination, un système racinaire fasciculé assez développé, (racines adventifs ou coronaires) ; qui sont produites par le développement de nouvelles talles. Elles peuvent atteindre jusqu'à 1m50 (Soltner, 1990).

- La tige

Sont des chaumes, cylindriques, souvent creux par résorption de la moelle centrale mais chez le blé dur est pleine. Ils se présentent comme des tubes cannelés, avec de longs et nombreux faisceaux conducteurs de sève. Ces faisceaux sont régulièrement entrecroisés et renferment des fibres à parois épaisses, assurant la solidité de la structure. Les chaumes sont interrompus par des noeuds qui sont une succession de zones d'où émerge une longue feuille (Soltner, 1990).

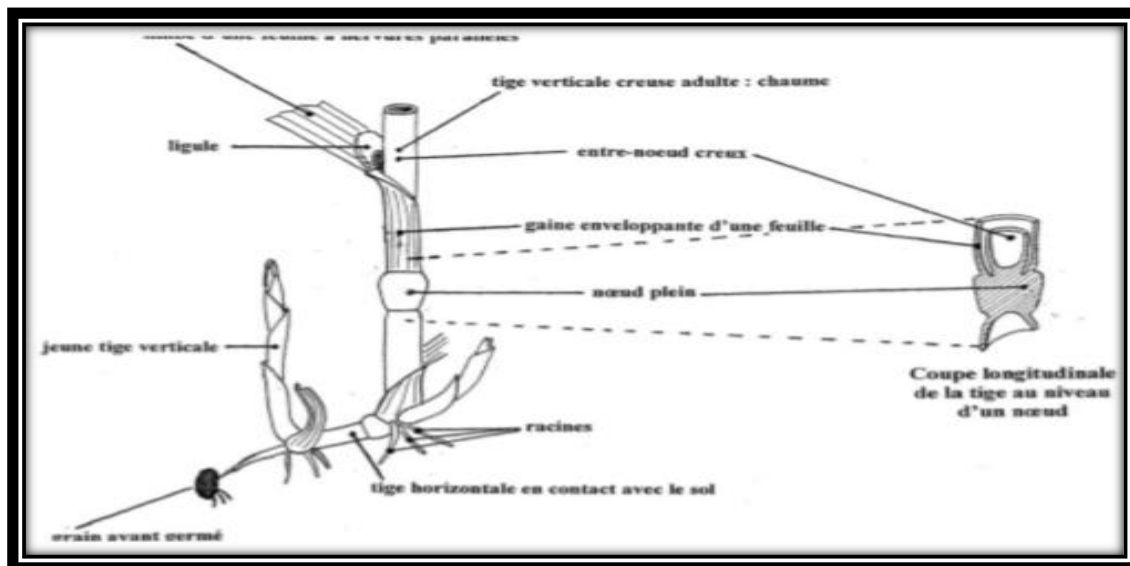


Figure 02 : L'appareil végétatif de blé dur (Jouve et Daoudi, 2001).

2.2.2. L'appareil reproducteur

Les fleurs sont regroupées en inflorescence correspondant à l'épi dont l'unité morphologique de base est l'épillet constitué de grappe de fleurs enveloppées de leurs glumelles et incluses dans deux bractées appelées les glumes (inférieure et supérieure) (Gate, 1995).

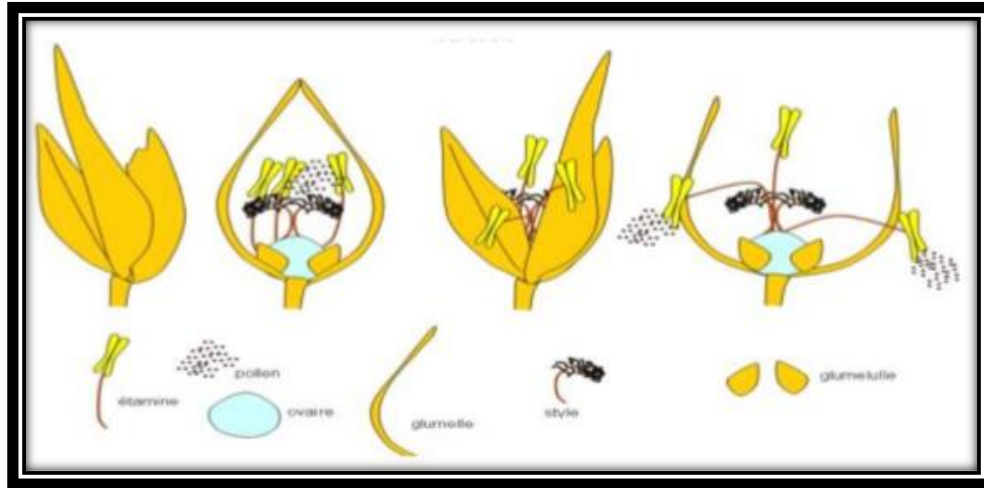


Figure 03 : L'appareil reproducteur de blé dur (Gate, 1995).

2.2.3. Le grain

2.2.3.1. Structure et composition du grain de blé

Le grain de blé est constitué de 3 grandes parties : le germe, l'albumen et les Enveloppes. (Figure 4). Il est constitué majoritairement d'amidon qui représente environ 70% De la matière sèche du grain et qui est situé dans l'albumen. Les protéines représentent entre 10 et 15% de la matière sèche et se retrouvent dans tous les tissus du grain de blé avec une Concentration plus importante dans le germe et la couche à aleurone (Pomeranz, 1988). Les pentosanes (polysaccharides non amylacés) représentent quant à eux entre 2 et 3% de la Matière sèche et sont les principaux constituants des parois cellulaires de l'albumen (70 à 80%)

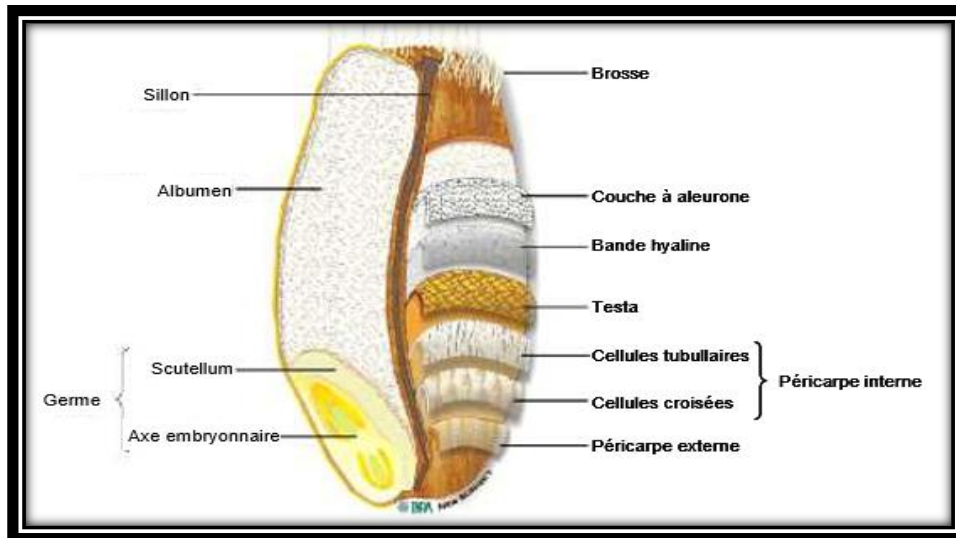


Figure 4. Histologie du grain de blé (Surget et Barron, 2005)

A) Les enveloppes et la couche à aleurone

Les enveloppes sont constituées de quatre tissus : le péricarpe externe, le péricarpe interne, la testa et la couche nucellaire ou bande hyaline (qui correspond à l'épiderme du nucelle). Ces enveloppes et la couche à aleurone sont composées principalement de polysaccharides (arabinoxylanes, xyloglucanes et cellulose) mais aussi d'acides phénoliques Lignine et de protéines (principalement albumines globulines localisées dans la couche à Aleurone) (Figure 5).

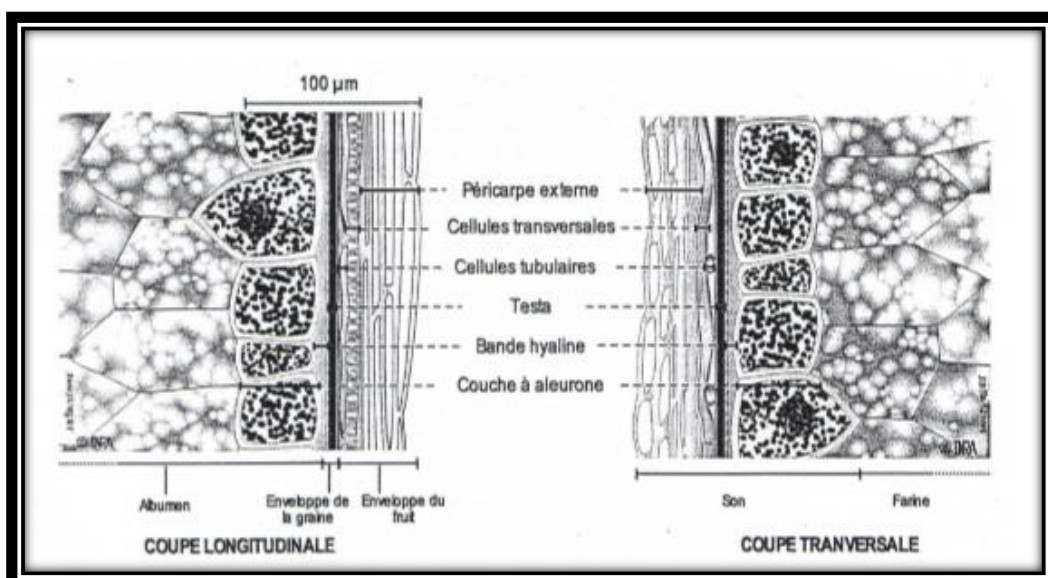


Figure 5 : Couches cellulaires du grain de blé (Surget et Barron, 2005).

Le péricarpe externe d'une épaisseur de 15-30 μ m correspond à l'épiderme et est constitué de deux tissus composés de cellules mortes : l'épiderme et l'hypoderme. L'épiderme est constitué de cellules allongées mesurant 80 à 300 μ m (**Bradbury, 1956**) et disposées selon l'axe embryonnaire. L'hypoderme possède la même structure que l'épiderme et lui est fortement adhérent. Le péricarpe externe est constitué de 45% d'arabinoxylane, 25% de glucose, 10% de lignine et 6-7% de protéines (**Pomeranz, 1988 ; Surget et Barron, 2005**).

Le péricarpe interne correspond à l'endocarpe et au mésocarpe, respectivement Constitués de cellules tubulaires et de cellules croisées. Les cellules croisées sont Perpendiculaires à l'axe longitudinal du grain tandis que les cellules tubulaires lui sont Parallèles. Les cellules croisées sont de tailles variables mesurant en moyenne 150 μ m de Longueur sur 20 μ m de largeur. Chez le blé, la continuité entre les cellules croisées et le péricarpe externe est interrompue au niveau de l'arête dorsale du grain du fait de l'autolyse des cellules parachymateuses lors de la maturation.

Le péricarpe permet d'éviter les pertes d'eau durant le développement du grain mais N'empêche pas sa pénétration (**Evers et al. 1999**). Les cellules mortes du péricarpe sont capables de retenir l'eau et d'augmenter le poids du grain de 4-5% après seulement quelques minutes d'imbibition (**Hinton, 1955**).

La testa correspond au spermoderme. Sa face interne repose sur la cuticule de la couche hyaline. Elle est constituée de deux cuticules compressées riches en lipides et composées de cellules allongées mesurant entre 120 et 190 μ m de longueur et 20 μ m de largeur (**Bradbury et al., 1956**) qui fusionnent avec un film pigmentaire. Les axes des cellules de ces deux couches sont perpendiculaires ; l'un parallèle au sillon, l'autre perpendiculaire à celui-ci (**Evers et Bechtel, 1988**). La testa est décrite comme très hydrophobe.

La couche nucellaire ou bande hyaline correspond au péricarpe. Son épaisseur est d'environ 20 μ m. Elle est constituée d'une assise cellulaire tassée due au remplissage de l'albumen amylicé et au développement de l'embryon (**Fulcher et Wong, 1980**). Elle est composée de cellules de taille comprise entre 30 et 200 μ m de longueur et 15 à 40 μ m de largeur. Cette couche est tapissée d'une fine cuticule qui la relie à la couche à aleurone aussi appelée couche du lysat nucellaire. Cette bande hyaline est très hydrophobe et semble avoir un rôle important dans la circulation de l'eau entre l'intérieur et l'extérieur de la graine.

Une seule **couche à aleurone** entoure l'albumen amylicé chez le blé. Elle est, avec le germe, la seule partie du grain constituée de cellules vivantes. Les cellules de la couche à aleurone sont de forme polygonale et mesurent approximativement 65µm. Elles possèdent de gros noyaux, des parois épaisses (jusqu'à 8µm) et sont riches en vitamines (B1, B2, B3, B6, B9 et E) et en minéraux (P, K, Mg, Mn et Fe) (**Pomeranz, 1988 ; Antoine et al., 2002 ; McKevith, 2004**). La couche à aleurone par sa richesse en métabolites a un rôle nourricier et par sa structure un rôle de protection.

B) Le germe

Le germe provient de la fusion des gamètes mâles et femelles. Il est constitué d'une part, de l'axe embryonnaire qui donnera la tigelle, le mésocotyle et la radicule et d'autre part du scutellum qui donnera le cotylédon (**Evers et Millar, 2002 ; Surget et Barron, 2005**). Le germe est la partie du grain où le taux d'humidité et la concentration en lipides sont les plus importantes (**Pomeranz, 1988**). Les protéines dans le germe sont des albumines et globulines et représentent environ 35% de la matière sèche.

C) L'albumen

L'albumen constitue le plus important compartiment du grain et représente environ 80% de son poids (**Pomeranz, 1988**). Il correspond au tissu de réserve. L'albumen amylicé est essentiellement constitué des granules d'amidon enchâssés dans une matrice protéique composée en grande partie de prolamines (gliadines, gluténines de hauts et faibles poids moléculaires) mais aussi d'albumines et de globulines. Ces deux familles protéiques, gluténines et gliadines, sont hydrolysées lors de la germination et du développement de la plantule par les enzymes produites dans l'embryon et la couche à aleurone. Elles constituent la source d'acides aminés nécessaires à la germination de la graine.

Les cellules de l'albumen amylicé possèdent des parois fines et peuvent être classées en trois grands groupes (**Evers et Millar, 2002**) :

- Les cellules périphériques situées sous la couche à aleurone et mesurant 60µm
- Les cellules prismatiques situées sous les cellules périphériques qui mesurent entre 128-200µm de long et 40-60µm de large
- Les cellules situées dans la partie centrale de l'albumen qui sont de forme arrondie ou polygonale mesurant entre 72-144µm de long et 69-120µm de large.

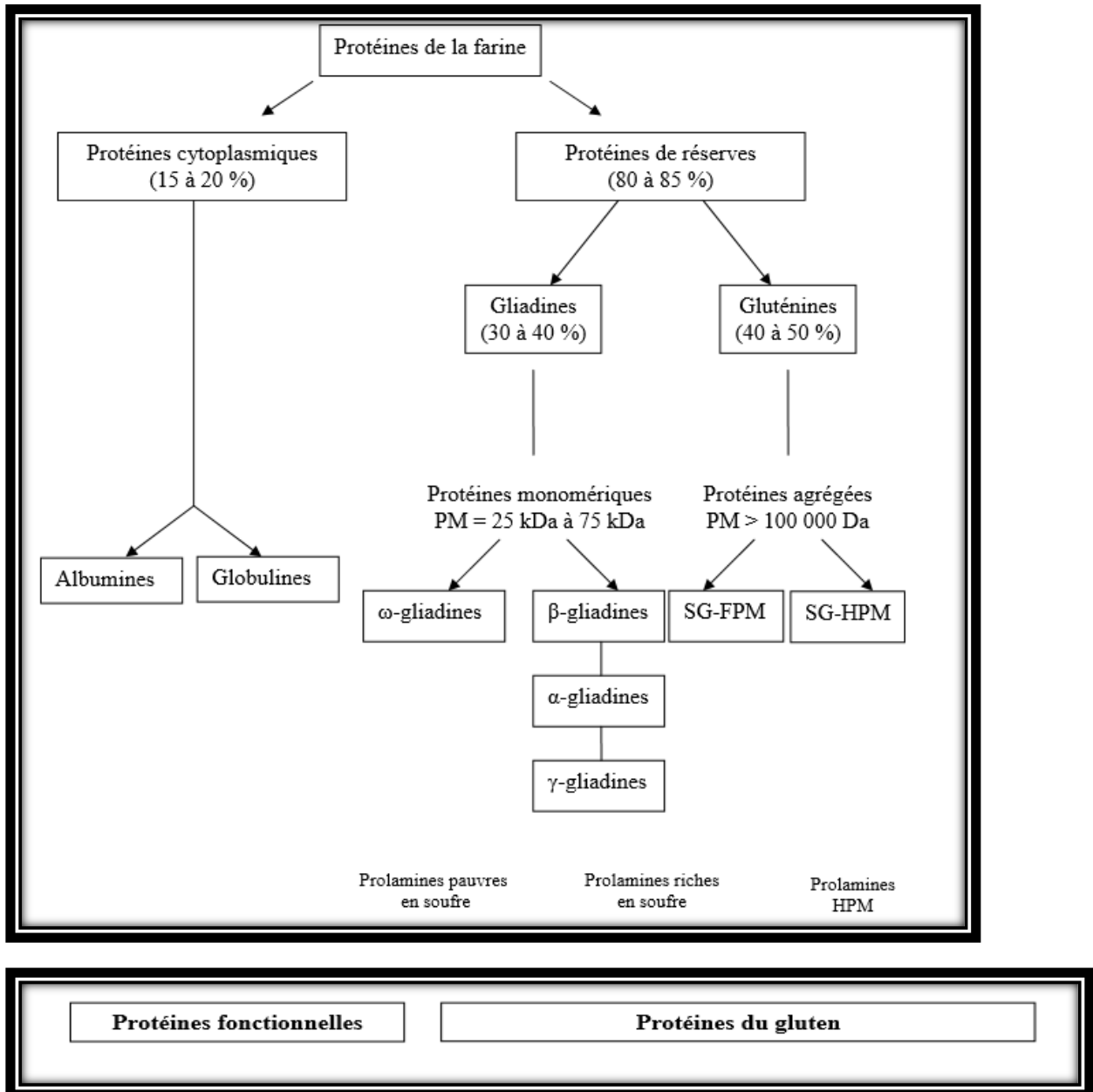


Figure 06. Composition protéique de la farine du blé (rapprochement des classifications de Osborne et Shewry).

L'albumen est la partie du grain qui présente le plus d'intérêt du point de vue de l'utilisation. En effet, les protéines de réserve qui le constituent ont la capacité de former en présence d'eau des liaisons covalentes, hydrogènes et des interactions notamment de type hydrophobe aboutissant sous l'action du pétrissage à un réseau glutineux qui possède des propriétés viscoélastiques aux multiples usages. De plus, il est également constitué d'amidon qui est d'intérêt pour de nouveaux usages comme la production de biocarburant.

2.2.4.1. Les protéines du grain de blé

Osborne, en 1907, a été le premier à s'intéresser à la classification des protéines du grain de blé. En 1924, il définit quatre groupes de protéines caractérisés par leur solubilité dans différents milieux (**Osborne, 1924**), (**Figure 6**) :

- les albumines qui sont solubles dans l'eau ;
- les globulines qui sont solubles dans les tampons salins ;
- les gliadines qui sont solubles dans une solution d'alcool à 70% ;
- les gluténines qui sont solubles dans une base ou un acide ou des détergents en présence d'un réducteur.

Cette classification a été revue en **1986** par (**Shewry et collaborateurs**) qui ont proposé deux grandes catégories :

- les protéines métaboliques : les albumines et globulines, les amphiphiles ;
- les protéines de réserves : les gliadines et les gluténines.

2.2.4.2 Les protéines métaboliques

a) Les albumines et globulines

Les albumines et globulines représentent 15 à 20% des protéines présentes dans la farine de blé et sont solubles respectivement dans l'eau et les tampons salins. Ce groupe de protéines est très diversifié de par ses propriétés physicochimiques (compositions en acides aminés, points isoélectriques et poids moléculaires). Ces protéines participent à la formation du grain et à l'accumulation des réserves dans l'albumen (**Vensel et al. 2005**).

b) Les protéines amphiphiles

Les protéines amphiphiles représentent entre 5 et 9% des protéines présentes dans la farine de blé. Elles possèdent un pôle hydrophobe et un pôle hydrophile. Ces protéines sont solubles dans le détergent Triton X114 et sont liées aux membranes. Elles jouent un rôle important dans la qualité, notamment les puroindolines qui sont connues pour avoir un effet sur les propriétés technologiques de la pâte (**Dubreil et al. 1997 ; Igrejas et al. 2001**).

Les travaux réalisés par Amiour et al. En 2003 ont permis d'assigner certaines de ces protéines sur les chromosomes du blé tendre.

2.2.4.3 Les protéines de réserves

Les protéines de réserves font partie des prolamines et sont constituées par un mélange complexe de protéines. Chez le blé, les gènes codant pour ces protéines sont situés sous forme de « cluster » de 2 à plus de 40 séquences codantes dépourvues d'introns sur les bras courts et longs des chromosomes du groupe 1 et les bras courts des chromosomes 6A, 6B et 6D. Ces protéines ont largement été étudiées du fait de leur relation avec la qualité technologique du blé. Une synthèse bibliographique a été rassemblée par (**Wrigley, Békés et Bushuk en 2006**) dans l'ouvrage « Gliadin and Glutenin : the unique balance of wheat quality ».

Les prolamines regroupent d'une part les protéines monomériques (les gliadines) et d'autre part les protéines polymériques (les gluténines) qui sont elles mêmes constituées de deux sous groupes : les sous unités de gluténines de haut poids moléculaire (SG-HPM) et les sous unités de gluténines de faible poids moléculaire (SG-FPM). D'une manière générale, la proportion entre ces différentes prolamines est la suivante : 40% de gliadines, 40% SG-FPM et 20% de SG-HPM.

Ces protéines ont aussi été classées selon leur composition et séquences. On distingue:

- les prolamines riches en soufre
- les prolamines pauvres en soufre
- les prolamines de haut poids moléculaire

Les prolamines riches en soufre représentent 70% des prolamines et sont constituées des gliadines de type α , β , γ et des SG-FPM.

Les prolamines pauvres en soufre représentent entre 10 et 12% des prolamines totales et sont exclusivement constituées des gliadines de type ω .

Les prolamines de haut poids moléculaire représentent 20% des prolamines. Les SG-HPM peuvent être de deux types différents : x et y. Ces prolamines ont la capacité de former des structures polymériques avec les SG-FPM et certaines gliadines par l'intermédiaire de ponts disulfures. La masse du réseau polymérisé, en fonction des allèles de gluténines et gliadines, va de 600000 Da à plus de 107 Da.

Matériels & Méthodes

1. Objectif de l'étude

Cette étude vise à étudier les caractéristiques physicochimiques sur des grains entiers de blé tendre, qui a été conduite aussi dans le but de comparer la composition en protéines types albumines et globulines des grains de blé tendre en développement cultivés dans la région de Sidi Bel Abbès. en utilisant deux méthodes différentes (Méthode de Bradford et la méthode de Lowry)

Matériel végétal

L'étude a portée sur une lignée de blé tendre (Hiddab HD 1220) fournis par l'ITGC de sidi bel abbés. Les différentes caractéristiques morphologiques et technologiques sont représentées dans les tableaux suivants :

Tableau 02 : Les caractères morphologiques

Epi	Blanc, demi, compact à barbes divergente
Paille	Moyenne, creuse,
Grain	Roux, allongé

PMG	Moyen
Indice Zéleney	Très bonne force boulangère
Caractéristiques alvéographiques	Force boulangère
W	Elevé
Gonflement	Bon
Utilisation	Blé correcteur

Tableau 03 : Les caractères technologiques.

Précoce	Jours
Semi Précoce	>110 < 120 jours
Tardif	+ de 120 jours
<u>Le cycle végétatif</u> Productivité zone d'adaptation	Bonne Littorale, plaine intérieur, hauts plateaux et zones saharienne

2. Méthode d'analyse

Les méthodes d'analyses consistent à déterminer les paramètres physicochimiques et de la qualité technologique de blé.

2.1 Paramètres physicochimiques :

2.1.1 Teneur en eau (TH) (NF V 03-707)

- **Définition**

L'eau est un des constituants de base du grain (environ 13%). L'intérêt de connaître précisément la teneur en eau d'une céréale ou de la farine est avant tout réglementaire. En effet, la réglementation impose une teneur en eau < à 15% afin de faciliter la conservation et d'éviter une altération.

Connaître la teneur en eau du grain permet aux meuniers de savoir la quantité d'eau à rajouter avant la mouture pour une meilleure séparation des couches du grain.

- **Principe**

Son principe repose sur la détermination de la perte en masse après étuvage pendant 90 minutes, de 5g de farine dans une étuve adaptée et réglée entre 130 et 133 °C. À la fin du chauffage, l'échantillon, est refroidi dans un dessiccateur à plaque métallique ou en porcelaine contenant de l'anhydride phosphorique ou autre déshydratant. Une fois séchée, la capsule est pesée. (La différence de poids représente la quantité d'eau initialement présente dans la farine.

- **2.1.1.4 Mode opératoire**

- Débarrasser l'échantillon des grosses matières étrangères par tamisage sur tamis
- Homogénéiser l'échantillon par division au moyen d'un diviseur conique ou à fentes multiples. L'échantillon ainsi préparé devra peser environ 5g.
- Poser la balance sur une surface plane et régulière, à l'abri des vibrations, niveau tourné vers l'opérateur.
- Peser l'échantillon à 5g (m0), puis peser la coupelle avec l'échantillon (m1) avant séchage **(Figure 07)**.
- Etuvage d'échantillon dans une étuve adaptée et réglée entre 130 et 133°C pendant 90 minutes.
- Laisser l'échantillon refroidis dans un dessiccateur à plaque métallique pour déshydrater l'échantillon.
- Peser la capsule avec l'échantillon après séchage (m2).



Figure 07 :L'échantillon avec la coupelle avant séchage, refroidissement de l'échantillon, après séchage

- **Expression des résultats**

La teneur en eau est exprimée en pourcentage de masse de produit :

$$H\% = (m_1 - m_2 / m_0) \times 100$$

m₀ : Masse en gramme de la prise d'essai

m₁ : Masse en gramme de la prise d'essai avant séchage

m₂ : Masse en gramme de la prise d'essai après séchage

2.1.2. Poids de Mille Grains

- **Définition**

C'est la masse de mille grains entiers (dépourvue de grains cassés et d'impuretés) ; déterminée par la formule suivante: (**Godon et Loisel, 1984**).

- **Principe**

Une prise d'essai est séparée en séparant les grains entiers. La prise d'essai est pesée et les grains entiers sont comptés. La masse des grains entiers est divisée par leurs nombre et exprimée sur la base de mille grains.

- **Mode opératoire**

- Prélever par division une masse composée approximativement de 500 grains de l'échantillon (blé tendre), peser l'échantillon à 30 g (**Figure 8**). .
- Sélectionner les grains entiers et peser le reste, et déduire par différence la masse des grains entiers puis compter ces derniers à l'aide de compteur de grains ou manuellement.



Figure 08: la pesée de l'échantillon prélevé Approximativement de 500 g

- **Expression des résultats**

La masse en gramme de 1000 grains entiers tels quels (mh). Est donnée par la formule suivante (ITCF., 2001).

$$mh = m_0 \times 100 / N$$

m₀ : masse des grains entiers (en gramme)

N : le nombre des grains entiers contenus dans la masse m₀

La masse en gramme, de 1000 grains sur sec (ms) est donnée par la formule :

$$Ms = mh (100 - H) / N$$

mh : masse de mille grains de blé tendre (en gramme)

ms : masse de mille grains sec (en gramme)

H : teneur en eau des grains (en pour-cent)

N : nombre des grains contenus dans m₀

2.1.3. Dosage des cendres (TC) (ISO 2171,2007)

- **Définition**

C'est le taux de carbone dans la farine. Le taux de cendre a été mis au point pour la mouture par cylindre. Quelle quantité d'enveloppe on rajoute dans la farine : c'est le taux de carbone (quantité de minéraux dans la farine).

- **Principe**

Le principe de la méthode repose sur la calcination d'un échantillon de 2 g de farine (pesé à 0.1 mg près), à une température de 550°C.

- **Mode opératoire**

- Peser les creusés vides avant de mettre l'échantillon
- Prélever une quantité d'échantillon et Peser l'échantillon à 2 g
- Les capsules à incinération convenant pour l'essai à 550°C, sont préalablement nettoyées et portées aux températures d'incinération utilisée
- Peser l'ensemble de capsule avec l'échantillon
- La pré-incinération, il est nécessaire d'ajouter l'éthanol pour les enflammer **(figure 09)**
- Placer la capsule et son contenu à l'entrée du four porté à la température d'incinération à 550°C.
- Incinération : attendre que le produit ait fini de bruler puis introduire la capsule à l'intérieur du four **(Figure 10)**. Fermer la porte du four. Poursuivre l'incinération jusqu'à combustion complète du produit, compris des particules charbonneuses contenues dans les résidus, pendant 4 heures à 550 °C. Une fois l'incinération terminée :
 - ✓ Retirer la capsule du four, et mettre à refroidir dans le dessiccateur pendant 15 minutes minimum **(Figure 10)**.
 - ✓ Retires les capsules du dessiccateur et peser autre fois.



Figure 09 : La pré-incinération (l'ajout d'éthanol pour enflammer l'échantillon



Figure 10 : L'incinération et refroidissement des capsules retirées du four

2.1.3.5. Expression des résultats

Le taux de cendre est exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche.

$$TC = (m_2 - m_1) \times 100 / m_0 \times 100 / 100 - H$$

m₀ : la masse de la prise d'essai (en gramme)

m₁ : le poids initial (en gramme)

m₂ : le poids final (en gramme)

H : la teneur en eau (en pourcentage)

TC : le taux de cendre (en pourcentage)

2.1.4. Extraction de la matière grasse

2.1.4.1. Extraction au soxhlet

- **Définition**

La méthode de soxhlet est à pour but de déterminer la teneur en matière grasse dans les denrées alimentaires et l'alimentation animale, et de préparer les échantillons pour les analyses environnementales et les analyses de résidus.

- **Principe**

Son utilisation permet d'utiliser des petites quantités de solvants ce qui est avantageux. Par ailleurs, le solvant qui se condense est toujours pur. La solubilisation de la substance est donc favorisée grâce à des meilleurs coefficients de partage

- **Mode opératoire**

- Peser 20 g de l'échantillon (Farine de blé)
- Introduire la prise d'essai dans la cartouche de cellulose du soxhlet
- Puis l'ensemble est mis dans l'extracteur à siphon
- Le ballon est rempli au 200 ml de l'hexane (solvant).

- Les parties du soxlhet sont montées et l'ensemble est placé dans un bain marie à la température du solvant.
- Puis le chauffage conduit à ébullition et l'extraction est maintenue continuellement pour une durée de 4 heures (**Figure 11**).
- Retirer le ballon de l'extracteur puis le pesé.
- Mettre le ballon sous rotation.
- Ouvrir le robinet d'eau froide reliait au réfrigérant.
- Fermer ensuite la vanne reliant le montage à la pression extérieure (vanne de fermeture) et faire le vide à l'intérieur de l'appareillage à l'aide d'une trompe à eau.
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant.
- Ouvrir la vanne de fermeture pour remettre la pression atmosphérique à l'intérieur du dispositif.
- Couper l'eau du réfrigérant et de la trompe à eau.
- chauffer le ballon dans le bain marie pour conserver que la matière grasse.
- Faire la pesé



Figure 11 : ébullition et l'extraction est maintenue continuellement durée de 4 heures

2.1.4.6. Expression des résultats

La teneur en matière grasse totale de l'échantillon est calculée ainsi :

$$\text{MG \%} = \frac{M2 - M0}{M1} \times 100$$

M1

M0 : Masse en gramme du ballon vide.

M1 : Masse en gramme de la prise d'essai.

M2 : Masse en gramme de ballon après extraction et séchage

2.2. Dosage des protéines (Albumines et globulines) par la méthode de Bradford et la méthode de Lowry

- **Matériel végétal**

Le matériel végétal utilisé est constitué de grains de blé entier pour les analyses physico chimique et de l'albumen de grain de blé aux différents stades récolté des champs d'essai de l'ITGC de Sidi Bel Abbes dans la région de Tassala selon le tableau ci-dessous

Tableau 04 : différents stades récolté des champs d'essai de l'ITGC de Sidi Bel Abbes dans la région de Tassala.

Nom de l'échantillon	Date de récolte	Stade de développement
HD 1220/1	27/04/2020	Laireux
HD1220/2	03/05 /2020	Pateux
HD 1220/3	12 /05 /2020	vitreux
HD 1220/4	juin 2020	mature

Les grains récoltés ont été disséqués manuellement et conservés séparément (albumen et couches périphériques) jusqu'à la manipulation

- **Objectif**

- ✓ Connaitre les différentes méthodes de dosage des protéines.
- ✓ Savoir préparer une gamme d'étalonnage.
- ✓ Déterminer la concentration de la solution inconnue.
- ✓ Savoir choisir la meilleure méthode de dosage des protéines.
- ✓

- **Matériels et réactifs**

- Balance de précision Colorimètre et spectrophotomètre.
- Agitateur magnétique.
- Plaques chauffantes agitatrices.
- Barreaux magnétiques.
- Vortex.
- Bécher 100 ml, erlenmeyer 100 ml, éprouvette 100 et 500 ml, pipette 1,2 et 5 ml.
- Micropipette réglable : 50 – 100 μ l, 100-1000 μ l.
- Pro-pipette ou poires.
- Tubes à essai.
- Cuves en plastiques et en quartz.
- BSA.
- Eau physiologique 0.9%.
- Réactif au bleu de coomassie.
- Solution R.

- **Mode opératoire**

➤ **Tampon d'extraction : Solution tampon phosphate 50 mM, NaCl, pH 7,8**

a. Solution Acide A

- Peser 3.40 g H_2KO_4P (50 mM) + 2.92 NaCl (0.1 M) dans 500 ml d'eau.

b. Solution basique B

- Peser 17.08 g HNa_2O_4P+ 11.69 NaCl (0.1M) dans 2000 ml d'eau

c. Tampon phosphate (2 Litres)

- 1800 ml de solution basique B.
- Prendre le pH.
- Ajuster le pH à 7.8 avec 150 ml de solution acide A.

Le tampon d'extraction se conserve à 4°C plusieurs semaines

2.2.1 Extraction des protéines

Principe de la méthode

Extraction préférentielle dans un tampon salin des protéines hydrosolubles (Albumines) et salinosolubles (globulines) selon le protocole décrit par Marion et al(1994),

Mode opératoire

Avant l'extraction, faire la mouture de 3 ou 4 graines (l'équivalent de 100 mg de farine)

- Peser 100 mg de farine.
 - Ajouter 1 ml de tampon* (phosphate 50 mM, NaCl .0 M, pH 7.8, 4°C).
 - Ajouter un barreau magnétique et vortexer .
 - Placer en agitation à la chambre froide (pendant 2H).
 - Enlever les barreaux et centrifuger (prog 19 : 20 min, 8000g, 4°C).
 - Récupérer 500 microlitre du surnageant dans un eppendorf (jusqu'à 700 microlitre dans un eppendorf, Ajouter alors 1400 microlitre d'acétone).
 - Ajouter 1 ml d'acétone à -20°C (pour précipiter les protéines)
 - Laisser minimum 2H à -20°C
 - Centrifuger (20 : 5 min, 10000g, 4°C)
 - Reprendre le culot dans 500 microlitre d'acétone
 - Sécher le culot sous vide** (minimum 1H)
- } Répéter 3 fois (3 lavages)



Figure 13 : Vortex et Agitation à la chambre froide

2.2.2 Dosage par la méthode de Bradford (1976)

- **Principe**

Le dosage des protéines a été effectué par la méthode colorimétrique de Bradford. Le réactif bradford contient du chromophore (Le bleu de Coomassie G-250) qui existe sous deux formes selon son état d'ionisation, la forme libre du chromophore est cationique de couleur rouge et verte et absorbe un maximum à 465-470 nm. La forme libre liée du chromophore est anionique de couleur bleu et absorbe à 595 nm.

En milieu acide, ce colorant s'absorbe sur les protéines et cette complexation provoque un changement de couleur du rouge au bleu. Le bleu de Coomassie réagit avec les protéines en se complexant aux résidus arginine et aux résidus lysines. La variation d'absorbance à 595 nm indique la quantité de chromophore complexé qui est proportionnel à la concentration en protéine dans l'échantillon.

C'est une méthode rapide car la réaction est complète après 5 minutes et l'absorbance du complexe colorant-protéine est relativement stable, elle est encore plus sensible que celle de Lowry (0.2-20 µg de protéine).

- **Mode opératoire**

- ✚ **Coloration Bradford pour dosage des protéines**

- 1- Préparation du réactif bleu de coomassie G250 (Figure 14)**

- Dissoudre 50 mg de G250 dans 25 ml d'éthanol 95%.
- Mixer la solution avec 50 ml de l'acide phosphorique 85%.
- Ajuster à 500 ml avec de l'eau distillée.
- Filtrer à l'aide de papier Whatman n° 1.

La solution est conservable plusieurs semaines à l'abri de la lumière et à température ambiante.

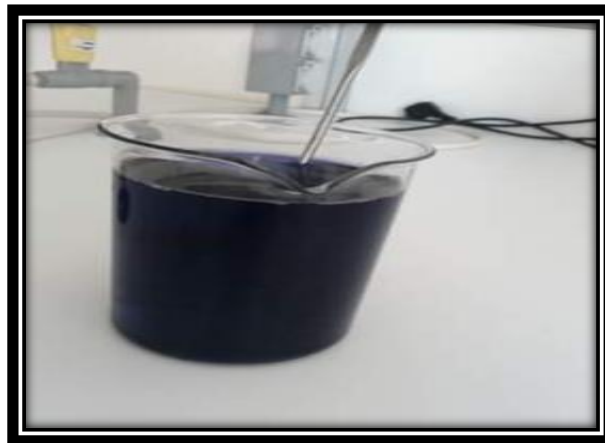


Figure 14 : Réactif bleu de coomassie préparé

- ✚ **Préparation de la courbe d'étalonnage avec la BSA**

La solution mère de la protéine de référence (BSA à mg/ml).

- Préparer dans les tubes à essai : 10, 20, 40, 60, 80, 100 µl de la solution mère, préparer trois par dilution.
- Ajuster à 100 microlitre avec l'eau distillée + 3 tubes contenant 100 µl d'eau distillée (blanc).

- Ajouter 5 ml du réactif dans tube + agitation légère au vortex en évitant de mousser la solution.
- Après 2 minutes à 1 heures de contact, mesurer l'absorbance A595.

Dosage

- On ajoute 100 µl de l'échantillon à 5 ml du réactif de Bradford et on mélange bien avec le vortex.
- On laisse incuber entre 2 minutes à 1 minute heure à l'obscurité puis on mesure l'absorbance à 595 nm.
- Les concentrations des protéines sont déterminées en référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec la BSA dans les mêmes conditions réactionnelles.

2.2.3 Dosage par la méthode de Lowry

- **Définition**

La méthode de Lowry est une méthode de dosage colorimétrique des protéines créée en 1951 par le biochimiste américain (**Lowry**). Elle est essentiellement basée sur la méthode du biuret. L'article originel est l'un des articles de recherches les plus cités de l'histoire.

- **Principe**

Cette technique bénéficie d'une meilleure sensibilité que la méthode du Biuret (augmentation d'un facteur cent). Il est ainsi possible de réaliser des mesures dans des mélanges pauvres en protéines ou dans des solutions relativement diluées. Les interférences dues aux détergents et aux lipides sont également supprimées.

- **Mode opératoire**

- Préparer une gamme d'étalonnage de 6 tubes a essai à partir de la solution de BSA à 1g/L
- Ajouter le volume final de chaque tube à microlitre
- Additionner 1ml du réactif R dans chaque tube.
- Homogénéiser le contenu des tubes à l'aide d'un vortex.
- Incuber les tubes pendant 10 minutes.
- Ajouter 250 microlitres de folin dilué au 1/2 dans chaque tube.
- Homogénéiser le contenu des tubes à l'aide d'un vortex
- Incuber pendant 30 minutes à l'abri de la lumière.
- Lire les absorbances 750 nm contre un blanc.
- Tracer la courbe d'étalonnage : absorbance à 750nm en fonction de la concentration de BSA.

Résultats et discussions

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Paramètres physicochimiques

Les résultats des paramètres physico chimiques trouvés pour la variété de blé tendre étudiée sont représentés dans le tableau suivant :

Variété	Humidité %	Cendres %	Poids de milles grains (g)	Matière grasse %
HD 1220	9,44	0,3	Grains de petite taille	45,14%.
Normes ISO 8981	10% a 16%	inférieur à 0.8%	//	//

1.1 Détermination du Taux d'humidité

Le taux d'humidité est un paramètre important puisqu'il nous renseigne sur la durée de conservation et de stockage. En effet, un blé riche en eau se conserve très mal. Teneur en eau doit être comprise entre 10% et 16% minimum selon **Dubois (1996)** Mais est également entre 13 à 15 %. (Scotti, 1997)

D'après les résultats trouvés, on constate que le taux d'humidité du blé tendre est de moyenne de 9.44%, on peut dire que sont conforme à la norme qui ne dépasse pas 16%. Cette variété peut être stocke sans aucun dommage. Connaitre la teneur en eau du grain permet aux meuniers de savoir la quantité d'eau à rajouter avant la mouture pour une meilleure séparation des couches du grain.

1.2 Détermination du Poids de Mille grains

La masse de 1000 grains est un critère qui rend compte de la bonne formation et alimentation des grains, Il sert à déterminer le rendement d'une céréale.

La masse en gramme de 1000 grains entiers tels quels (mh). Est donnée par la formule suivante (**ITCF., 2001**).

$$mh = m_0 \times 100 / N$$

m 0 : masse des grains entiers (en gramme)

N : le nombre des grains entiers contenus dans la masse m 0

La masse en gramme, de 1000 grains sur sec (ms) est donnée par la formule :

$$M_s = \frac{m_h (100 - H)}{N}$$

m_h : masse de mille grains de blé tendre (en gramme)

m_s : masse de mille grains sec (en gramme)

H : teneur en eau des grains (en pour-cent)

N : nombre des grains contenus dans m₀

La masse de 1000 grains est un critère qui rend compte de la bonne formation et

Les grains sont classés suivant leur masse :

- ✓ De 70 à 45 : Le blé est gros.
- ✓ De 45 à 30 g : Le blé est moyen.
- ✓ Inférieur à 30 g : Le blé est petit

Les résultats obtenus de cette variété de blé tendre montre qu'on a des petits grains de blé tendre est classé inférieur à 30 g.

1. 3 Détermination du Taux de cendres

Le taux de cendres d'une farine constitue l'une des caractéristiques de la pureté celle-ci et peut aider à déterminer le taux d'extraction d'une farine.

Plus le taux d'extraction est faible, la teneur en cendre est faible et réciproquement. Le taux de cendre varie dans le grain, selon la variété de blé, la région de culture, les méthodes culturelles, l'origine histologique et l'année de récolte. Le taux de cendre est exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche.

$$TC = \frac{(m_2 - m_1) \times 100}{m_0 \times 100 / 100 - H}$$

m₀ : la masse de la prise d'essai (en gramme)

m₁ : le poids initial (en gramme)

m₂ : le poids final (en gramme)

H : la teneur en eau (en pourcentage)

TC : le taux de cendre (en pourcentage)

Le taux de matière minérale de la farine de blé tendre est inférieur à 0.8%, Donc ces valeurs sont conformes aux normes ((ISO 2171,2007) ont subi une bonne mouture. D'après les résultats on peut dire que la farine est de bonne qualité.

1.4 Matière grasse (extraction de soxhlet)

La teneur en matières grasses est l'un des cinq principaux paramètres utilisés pour évaluer la qualité d'un aliment humain ou animal, avec la teneur en eau, en protéines, en fibres et en sodium (Feillet, 2000). En outre, celle-ci constitue un facteur déterminant pour la fixation des prix. D'après les résultats on peut dire la variété étudié de blé tendre est riche en matière grasse.

La teneur en matière grasse totale de l'échantillon est calculée ainsi :

$$\text{MG \%} = \frac{M2 - M0}{M1} \times 100$$

M0 : Masse en gramme du ballon vide.

M1 : Masse en gramme de la prise d'essai.

M2 : Masse en gramme de ballon après extraction et séchage

2. Résultats du dosage des protéines par la technique de Bradford et Lowry

2.1. Résultats du dosage des protéines (Albumines et globulines) par la méthode de Bradford

La technique de Bradford (1976) a été utilisée pour doser les faibles quantités de protéines dans la solution. Elle utilise du bleu de Coomassie et elle permet de doser des quantités de protéine de l'ordre du microgramme. Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 15**, on remarque que le taux des protéines dans les différents échantillons augmente tout au long du développement du grain de blé.

La figure 15, montre que les valeurs enregistrées pour les différents échantillons étudiés sont comprises entre 1,151 mg/ml et 1.783 mg/ml. La valeur la plus élevée est notée chez l'albumen du grain mature (Dernier stade), alors que l'échantillon HD1220 (2) du stade laiteux correspondant au début de remplissage du grain de blé a enregistré la valeur la plus faible. Ces résultats sont faibles à la littérature qui indique que les albumines et les globulines font partie des protéines fonctionnelles de l'albumen. Ce sont des molécules globulaires dont les masses moléculaires sont comprises entre 10 et 100 kDa. Elles peuvent représenter jusqu'à 20% des

protéines totales de la graine. Les valeurs moyennes sont de l'ordre de 9% pour les albumines et de 6% pour les globulines. (Haiying et al., 2012 ; Branković et al 2015 ;

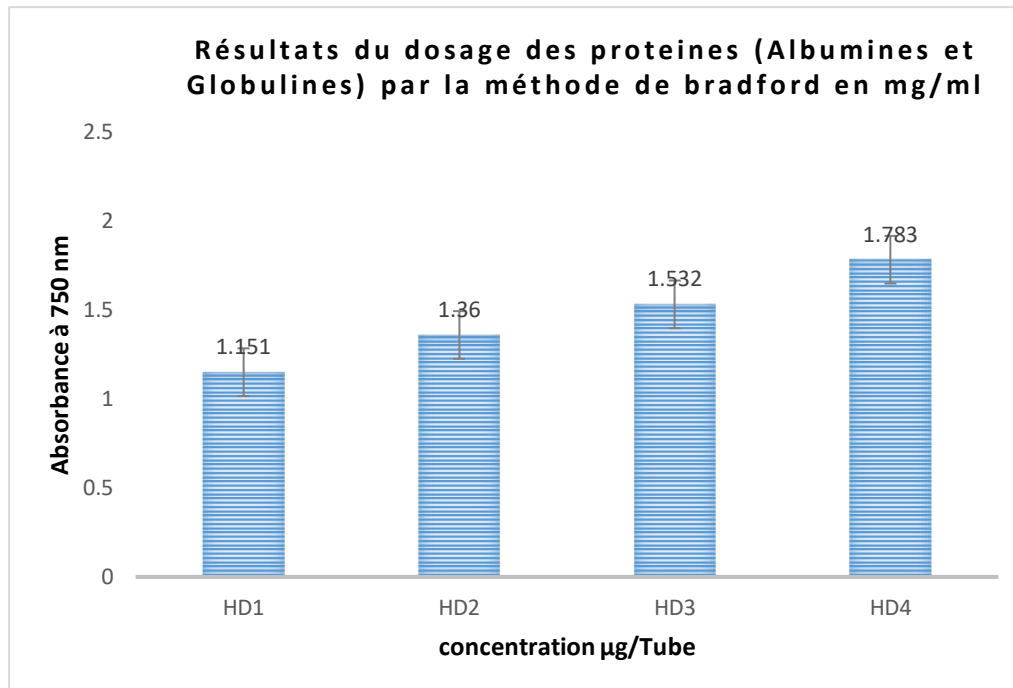


Figure 15 : Résultats relatifs au taux de protéines des différents stades de développement de blé HD1220 selon la méthode de Bradford

2.2. Résultats du dosage des protéines (Albumines et globulines) par la méthode de Lowry

Les protéines de blé de différents stades de développement ont été dosées selon la méthode de Lowry et al. (1951). Les protéines réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu pour donner des complexes colorés. Selon la composition en amino acides des protéines à doser, la capacité de réduction réactive de Folin est plus ou moins importante.

Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 16**. On constate que le taux des ds albumines et globulines dans les différents échantillons de différents stades augmente tout au long du développement du grain du a leur accumulation. (Branlard, 1983) et que la quantité de protéines synthétisées au niveau de l'albumen est vrai semblablement influencée par les facteurs agro-climatiques qui jouent un rôle important dans les qualités technologiques du blé.

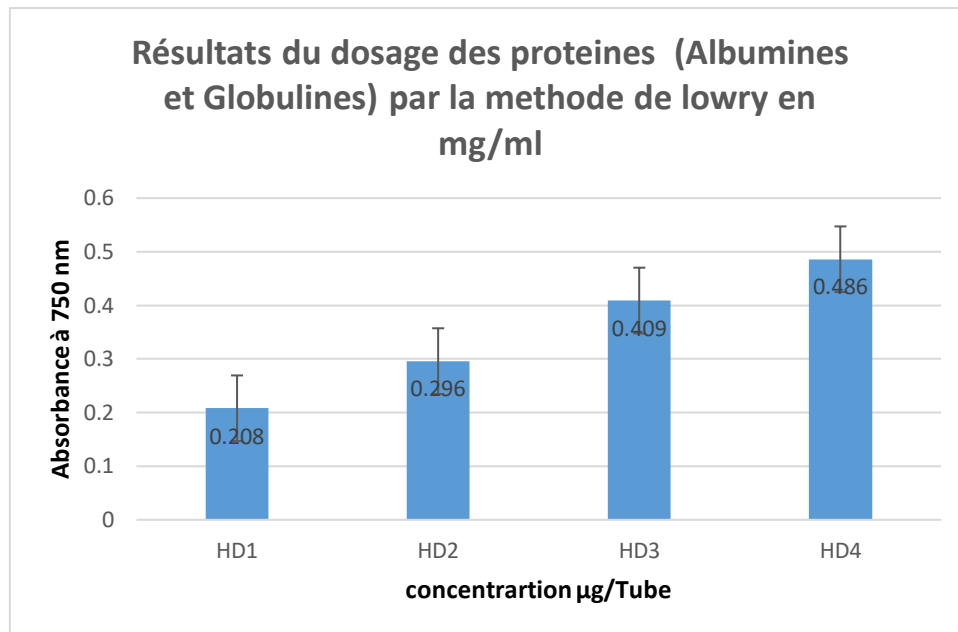


Figure 16 : Résultats relatifs au taux de protéines (Albumine et Globulines) de différentes variétés de blé tendre selon la méthode de Lowry

L'accumulation et l'augmentation du taux des protéines dans l'albumen du grain est le résultat d'une très bonne utilisation de l'azote par la plante au cours de son développement d'une part et d'un transfert efficace de l'azote de la partie végétative vers les grains au cours du remplissage d'autre part (Feillet, 2000).

Les quantités de protéines accumulées au cours de développement du grain est dépendante du nombre de cellules de l'albumen et de la taille finale des cellules, elle même influencée par l'absorption d'eau, la plasticité de la paroi cellulaire, la vitesse et la durée de remplissage du grain (Egli, 1998) et qui peut varier considérablement en fonction des génotypes et des conditions thermiques de culture (Yin et al. 2009).

C'est à Osborne (1907) que l'on doit la première classification des protéines. Il les a séparait en deux grands groupes suivant leur solubilité dans l'eau (Linden et Lorient, 1994). Les protéines solubles représentent 15 à 20 % des protéines totales (Albumines solubles dans l'eau, Globulines solubles dans les solutions salines) (Hernandez et al. 2004).

CONCLUSION

CONCLUSION

Ce travail a pour objectif d'étudier la qualité du blé tendre. Les résultats qui peuvent être tirés à partir des différentes analyses effectuées d'une part sur le blé sont : taux d'humidité, poids de mille grains, taux de cendre, extraction de la matière grasse. D'autre part : Dosage des protéines par la méthode de Bradford et Lowry.

Les résultats de différentes analyses de blé montrent que la qualité globale du blé tendre approvisionné est satisfaisante et se situe à l'intérieur des limites définies par les normes algériennes.

A la fin nous pouvons conclure que la qualité de farine englobe un ensemble de plusieurs paramètres suivant la composition de chaque molécule qui compose, et l'influence de chacun sur l'autre. Aussi bien, dépend en grande partie de la qualité des blés approvisionnés.

Afin d'aboutir à une bonne qualité de farine, il faut assurer :

- Achat consciencieux des céréales suivant des spécifications explicites ;
- Comporter les techniques de correction au diagramme de mouture ;
- Exiger l'implantation des laboratoires d'autocontrôle aux niveaux des minoteries ;
- Former le personnel des moulins ;
- Classer les blés selon leurs caractéristiques technologiques pour aboutir à des farines d'utilisation connue ;
- Classer les farines selon leurs caractéristiques technologiques en farine panifiable, biscottière, biscuitière, ou autre ;
- Étudier la possibilité de produire un nouveau mélange de germe et farine, ou de commercialiser le germe.

Annexes

Annexe 01

Mode opératoire des analyses effectuées

Détermination du taux d'humidité (NF V 03-707)

- Effectuer deux déterminations sur le même échantillon. Avec les couvercles et faire leur
- Régler l'étuve à une température allant de 130 à 133 °C.
- Prendre le nombre nécessaire de nacelle avec les couvercles et faire leur dessiccation à l'étuve pendant 15 minutes.
- Laisser les nacelles refroidir jusqu'à Température ambiante. Cette dernière doit être manipulée avec une pièce et non les doigts.
- Peser alors 5g de broyé.
- Introduire les nacelles avec leurs couvercles et les laisser pendant environ 2 heures.
- Retirer les nacelles remplies de l'étuve.
- Les laisser refroidir dans le dessiccateur pendant 20 à 30 minutes.
- Peser les nacelles remplies.

Détermination du taux de cendre (NA.733/1999)

Effectuer deux déterminations sur le même échantillon.

- Porter les creuser préalablement nettoyées à la Température d'incinération utilisée en les plaçant dans le four a moufle pendant 5 minutes, les laisser refroidir dans le dessiccateur puis les peser à 0.1 mg près.
- Peser rapidement à 0.1 mg près une prise d'essai 2g, à répartir le produit sans le tasser, en une couche uniforme.
- Ajouter au creuser rempli de 1 à 2 ml d'éthanol.
- Placer la capsule et son contenu à l'entrée du four porté à la température d'incinération.
- Attendre que le produit ait fini de bruler puis introduire la capsule à l'intérieur du four et fermer la porte du four.
- Poursuivre l'incinération jusqu'à combustion complète du produit, y compris des particules carboneuses contenues dans le résidu, soit 1 h et 30 minutes après la remontée du four à 900°C
- Une fois l'incinération terminée, retirer la capsule du four, et mettre à refroidir dans le dessiccateur. Pour maintenir l'efficacité du dessiccateur, ne pas superposer les capsules.
- Dès que la capsule a atteint la température ambiante, soit 15 à 20minutes peser a 0.1 mg près.



Figure 17 : Four à moufle électrique

Détermination du Poids de Mille Grains

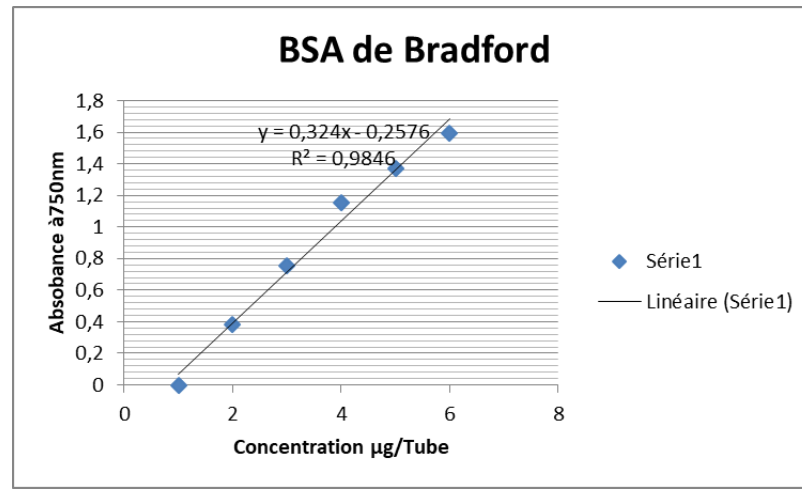
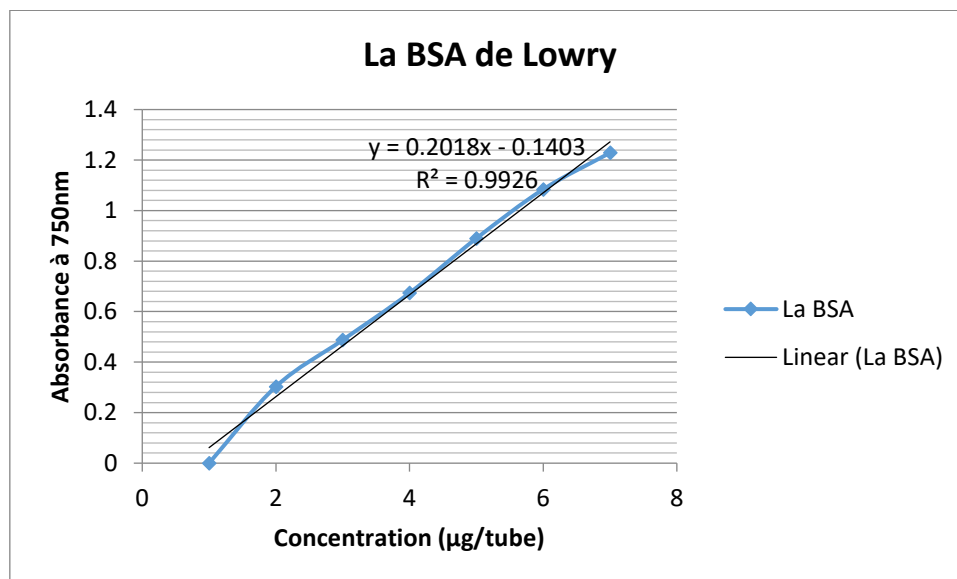
Effectuer deux déterminations sur le même échantillon.

- Prélever au hasard une quantité à peu près égale à la masse de 500 grains de l'échantillon de laboratoire.
- Sélectionner les grains entiers et les peser à 0.1 mg près.

Comparer les grains entiers à l'aide du compteur de grains ou à défaut, faire un comptage manuel.



Figure 18 : Balance électrique

Annexe 2**Courbe d'étalonnage pour la méthode e Bradford et la méthode de Lowry****Pour la méthode de Lowry**

1. **BENBELKACEM F., Saldi A., Brinis. (1995).** La recherche pour la qualité des blés en Algérie ., Séminaire de blé dans la région méditerranéenne , N° 22.
2. **Bencharif A., rastoin j. L., (2007)** .Concepts et Méthodes de l'Analyse de Filières
3. **Bencharif A., Tozanli S., Lemeillieur S., (2009).** Dynamique des acteurs dans les filières agronomiques et agroalimentaires. Options Méditerranéennes, B 64, Perspectives des politiques agricoles en Afrique du Nord ; pp 94-142
4. **Bradbury, D., MacMasters, M.M., Cull, I.M., 1956.** Structure of the mature wheat kernel.11. Microscopicstructure of pericarp, seed coat, and other coverings of the endosperm and germ of hard red winterwheat. Cereal Chemistry 33, 342-360.
5. **Boufnar-zaghouane et zaghouane (2006).**, Guide de principales variétés de céréales à paille en algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). Institut technique des grandes cultures (ITGC), Algérie. 152p
6. **Clement G., Prats., (1971).** Les céréales. Ed.J.B. Bailliers et Fils, 360p.
7. **Derbal (2009).**, Etude de la variation spatio-temporelle de certaines caractéristiques de quelques variétés de blé dur cultivées en Algérie. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magistère en Biologie Végétale. Université Mentouri, Constantine : 200 p
8. **Djermoun A., (2009).** La Production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques.
9. **Dubois. (1996).** les farines : caractéristiques des farines et des pâtes. In : industries des céréales. N°97. Ed : lavoisier. Paris.
10. **Dubreil, L., Compoint, J.P., Marion, D., 1997.** Interaction of puroindolines with wheat flour polar lipids determines their foaming properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45, 108-116
11. **Eliard J.L., (1979).** Manuel d'agriculture générale. Bases de la production végétale. Ed. J.B. Bailliére, 344p.
12. **Evers, A.D., Blakeney, A.B., O'Brien, L., 1999.** Céréale structure and composition. Australian Journal of Agricultural Research 50, 629-65
13. **Evers, T., Millar, S., 2002.** Cereal grain structure and development: some implication for quality. Journal of Cereal Science 36, 261-28
14. **Feillet P., (2000).** Le grain de blé : composition et utilisation. INRA. Paris
15. **Feillet P., 2000.** Le grain de blé composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, 308p.

16. **Feldman M., ER. Sears. 1981.** The wild gene resources of wheat. *Sci. Am.* 244 : 98–109.
17. **Fulcher, R.G., Wong, S.I., 1980.** Inside Cereals — a fluorescence microchemical view. In *cereals for food and beverages*, Inglett GE, Munck L (eds) New York, Academic Press pp 126.
18. **Henry Y., De Buyser J, (2001).** L'origine des blés. In : Belin. Pour la science (Ed.). De la graine à la plante. Ed. Belin, Paris, pp. 69-72.
19. **Hinton J.J.C., 1955.** Resistance of the testa to entry of water into wheat kernel. *Cereal Chemistry* 32, 296-306.
20. **ITCF(2001) .,** Institut technique des céréales et des fourrages
21. **Madr., (2009).** Statistiques Agricoles Série B 09
22. **MARION, D, NICOLAS, Y, POPINEAU, Y, BRANLARD, G and LANDRY, J, (1994).** New improved sequential extraction procedure of wheat proteins, In : wheat kernel proteins-molecular and functional aspects. Università Studi della toscana consiglio nazionale delle ricerche, pp 197-199.
23. **Masale M.J., (1980).** L'élaboration du nombre d'épi chez le blé d'hiver. Influences de différentes caractéristiques de la structure du peuplement sur l'utilisation de l'azote et de la lumière. Thèse. Doc. Ing. INA, Paris Grignon, 274 p
24. **Moule C., (1971).** Céréales II. Phytotechnique spéciale. Ed. La maison rustique, Paris, 236 p.
25. **Osborne T.B., 1924.** The vegetable proteins 2nd edition. Longmans, Green & Co edition London, England, pp 154.
26. **Godon B., Willm C.L., (1991).** Les industries de première transformation des céréales. Coll. Agro. Alimentaire. Lavoisier. Pp. 78 – 91.
27. **Gate P., (1995).** Ecophysiologie du blé : de la plante à la culture. Ed Lavoisier. 429p.
28. **Mekhlouf A. Bouzerzour H. et Dehbi F/. (2001)** Rythme de développement et variabilité de réponses du blé dur (*Triticum durum* Desf.) aux basses températures. Tentatives de sélection pour la tolérance au gel. In : Proceedings séminaire sur la valorisation des milieux semi-arides. Oum El Bouaghi, 23 : 75-80.
29. **Oliosio A., (2006)** .Spatialisation des transferts sol-végétation-atmosphère de l'échelle de la parcelle à celle du paysage agricole en combinant modèles de fonctionnement de la végétation et du sol, modèles de transfert radiatif et systèmes de mesure de télédétection. Mémoire de HDR, spécialité "Physique de l'Environnement (Sciences

- de l'eau, Télédétection)", Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon (FRA), 330 pp.
30. Oliver H. Lowry, Nira J. Rosebrough, A Lewis Farr et Rose J. Randall, « Protein measurement with the Folin phenol reagent », *J. biol. Chem.*, vol. 193, n° 1, 1951, p. 265-275.
- 31.
32. **Ouanzar S., (2012)**. Etude comparative de l'effet du semis direct et du labour conventionnel
 a. sur le comportement du blé dur (*Triticum durum* Desf.). Thèse Magister, Université de Sétif, 67p.
33. **Pomeranz, Y., 1988**. Chemical composition of kernel structures. Wheat: chemistry and technology. Volume I., 97-158.
34. **Ruel T., (2006)**, Document sur la culture du blé, édition Educagri.
35. **Shewry, P.R., Tatham, A.S., Forde, J., Kreis, M., Mifflin, B.J. 1986**. The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: a reassessment. *Journal of Cereal Science* 4, 97-106
36. **Soltner D., (2000)** .Phytotechnie générale : les bases de la production végétales. Tome 1 : le sol et son amélioration. Sciences et techniques agricoles, 22ième édition, 467 p.
37. **Soltner D., (1990)**. Les grandes productions végétales : Céréales, plantes sarclées.
38. **SHEWRY P.R., TATTHAM A.S., LAZZERI P., (1997)**. Biotechnology of wheat gluten. *J. Sci. Food Agric.*, vol. 73, p.p. 397-406.
39. **Vensel.H., Tanaka, C.K., Cai, N., Wong, J.H., Buchanan, B.B., Hurkman, W.J., 2005**. Developmental changes in the metabolic protein profiles of wheat endosperm. *Proteomics* 5, 1594-1611
40. **Wadley G., Martin., (1993)**. The Origins of Agriculture? A Biological Perspective and New Hypothesis. Australian Bi
41. **Wrigley, C., Bekes, F., Bushuk, W., 2006**. **Gliadin and glutenin: the unique balance of wheat quality**, edited by AACCI international press, 446 pp.
42. **Yves,H et Buyer.J., (2000)**, l'origine des blés. Pour les sciences hors-série n° 26,60 - 62 pp