



République Algérienne Démocratique et Populaire

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

N°D04/SNV/2016

M<sup>me</sup> AMIER LEILA épouse Nasri

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: Valorisation des substances naturelles végétales**

THÈME

*Profil électrophorétique d'un blé dur fermenté  
traditionnellement type Hamoum BFH par  
rapport au blé dur normal*

Soutenue publiquement le 23/06./2016

DEVANT LE JURY

Président	M. Cherriguene A.	Professeur U. Mostaganem
Encadreur	M. Benakhriche B.	MCA U. Mostaganem
Examineurs	M. Bekkada A.	Professeur Centre Universitaire de Tissemsilet

*Thème réalisé au Laboratoire de physiologie de la nutrition et de la sécurité alimentaire Oran  
-LPNSA-*

## *Résumé*

Nos ancêtres ont toujours utilisés la fermentation des aliments sans avoir une explication scientifique. Ce n'est qu'au début du vingtième siècle que les chercheurs ont commencé à s'intéressé à ces phénomènes naturels ayant un potentiel thérapeutique.

Des recherches récentes ont montré que le BFH est considéré comme un produit miracle pour le traitement et la prévention contre le cancer.

Dans le but d'identifier l'influence de la fermentation par la technique traditionnelle due au stockage souterrain (Matmora) pendant 12 mois, sur les composantes biochimiques du blé, nous avons essayé de faire une étude comparative entre les propriétés des deux échantillons de blé dur (BFH et BNF) et d'évaluer leurs valeurs nutritionnelles et de trouver que le blé dur fermenté possède un effet moins allergisant et qui serait conseillé pour les personnes ayant une allergie et/ ou intolérance au gluten.

Les résultats de l'électrophorèse sur gel polyacrilamide SDS-PAGE a montré une dégradation totale de 100 % des protéines du blé dur normal fermenté type Hamoum que se soit pour les protéines de structure (albumines/globulines) ou de réserve (gliadines et gluténines) et cela après extraction séquentielle de chaque protéines séparée selon leur solubilité dans les trois solutions d'extraction de base avec une solubilisation dans une solution saline pour les Albumines/Globulines, solubilisation alcoolique pour les Gliadines et une solubilisation en présence d'alcool et d'un agent réducteur pour les sous-unités de Glutenines.

En conclusion, le BFH pourrait être une bonne alternative aux personnes ayant une allergie et/ ou intolérance au gluten, mais ces résultats reste à confirmer par des testes d'allergénicité, d'antigénicité et des dosages de protéines.

Mots clé : BFH, fermentation ; albumine ; globuline ; gliadines ; gluténines ; SDS-PAGE.

## *Abstract*

Our ancestors always used the fermentation of food without having a scientific explanation. It was only in the beginning of the twentieth century which the researchers began to interest in these natural phenomena having a therapeutic potential.

Recent researches showed that the BFH is considered as a miraculous product for the treatment and the prevention of the cancer.

With the aim of identifying the influence of the fermentation by the traditional storage (Matmora) during 12 months, on the biochemical components of the wheat, we tried to make a comparative study between the properties of both samples of durum wheat and to estimate their nutritional values and to find that the fermented durum wheat possesses a less allergenic effect and which would be recommended for the people having an allergy and / or intolerance of the gluten

The results of the electrophoresis on SDS-PAGE gel, showed a total degradation of proteins of the normal durum wheat after fermentation for albumins / globulin, gliadins and gluténins after sequential extraction of every proteins.

In conclusion, the BFH could be a good alternative to the people having an allergy or intolerance for the gluten, but these results should be confirmed by others studies like allergenicity, antigénicité and dosages of proteins.

Words key : BFH – Fermentation – albumin – globulin – gliadin – glutenin – SDS PAGE

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b>	Distribution des glucides dans les fractions de blé (g/100grs)	<b>7</b>
<b>Tableau 2</b>	Composition chimique d'un grain de blé	<b>7</b>
<b>Tableau 3</b>	Distribution de la vitamine du groupe B (g / 100 gr) dans les différentes parties du grain de blé	<b>9</b>
<b>Tableau 4</b>	Eléments minéraux du grain de blé	<b>9</b>
<b>Tableau 5</b>	Description macroscopique du grain de blé fermenté type «Hamoum »BFH	<b>21</b>

## *Liste des figures*

<b>Figure 1</b>	Classification des céréales	<b>3</b>
<b>Figure 2</b>	Coupe longitudinale d'un grain de blé	<b>5</b>
<b>Figure 3</b>	Préparation d'une Matmora souterrain	<b>11</b>
<b>Figure 4</b>	Schéma représentant les différentes conformations des gliadines	<b>18</b>
<b>Figure 5</b>	Photos d'un grenier sous terrain type Matmora (localité de Negmaria, Mostaganem).	<b>20</b>
<b>Figure 6</b>	Photos des échantillons utilisés.	<b>22</b>
<b>Figure 7</b>	Protocole d'extraction séquentielle des fractions albumines/globulines, gliadines et glutenines.	<b>24</b>
<b>Figure 8</b>	Dispositif d'électrophorèse.	<b>26</b>
<b>Figure 9</b>	Electrophorèse sur gel polyacrylamide (15%) en présence de SDS des albumines/globulines avec et sans $\beta$ - mercaptoéthanol.	<b>31</b>
<b>Figure 10</b>	Electrophorèse sur gel polyacrylamide (15%) en présence de SDS des gliadines avec et sans $\beta$ -mercaptoéthanol.	<b>33</b>
<b>Figure 11</b>	Electrophorèse sur gel polyacrylamide (15%) en présence de SDS des glutenines avec et sans $\beta$ -mercaptoéthanol.	<b>35</b>

# *Introduction*

Le règne végétal source importante d'une immense variété de molécules bioactives (Ferrari, 2002) ayant des propriétés antimicrobiennes, anti-oxydantes, anti-inflammatoires.....

Le blé, la matière première la plus consommée après le riz, il assure 15% des besoins énergétiques chez les humains (Bajji, 1999) d'où l'importance de son stockage pour assurer sa consommation annuelle (Druvefors, 2004 ; Scholten, 2001).

En Algérie, le blé fermente traditionnellement dans des greniers sous terrain « Matmora» (Doumandjie *et al.*, 2003) ou dans des silos est très apprécié pour ces propriétés organoleptiques qui sont dus principalement à la fermentation lactiques (Paul Ross *et al.*, 2002 ; Nout, 2009) ou à la fermentation acétique (Viéra-Dalodé *et al.*, 2007).

Les bactéries lactiques sont les microorganismes dominants retrouvés au cours de la fermentation dans la majeure partie des aliments. Leurs principales fonctions comprennent : la production d'acides organiques et des composés aromatiques, L'inhibition des microorganismes pathogènes, les propriétés probiotiques, l'élaboration de la texture de l'aliment et la dégradation des composés toxiques (Yao *et al.*, 2009). Ainsi qu'à sa composition chimique qui est très pauvre en sucre, ce qui est bénéfique pour les personnes diabétiques (Gourchala *et al.*, 2014), il est conseillé aussi pour la prévention et le traitement de nombreuses complications physiopathologiques intestinales.

Jusqu'à ce jour aucune étude scientifique ne s'est penchée sur la biochimie nutritionnelle du blé fermenté.

L'objectif de ce travail est d'évaluer le profil électrophorétique des protéines d'un blé fermenté type Hamoum BFH par rapport à un blé normale BNF en utilisant la technique d'électrophorèse SDS-PAGE et surtout de démontrer les différences entre les fractions protéiques comme l'albumine/ globuline, la gliadine et la gluténine entre les deux types de blés (BFH et BNF), car ces dernières s'avèrent être impliquées dans certaines situations physiopathologiques comme l'intolérance au gluten (maladie cœliaque), donc, trouver une solution à ce problème reste toujours un choix judicieux quant à la valorisation nutritionnelle de nos produits de terroir comme le BFH.

# Rappel bibliographique

# Chapitre 1

## 1. Intérêt alimentaire des céréales

Le blé dur est exclusivement destiné à l'alimentation humaine. C'est la céréale de base de l'Afrique du Nord et du proche et moyen orient. Les céréales présentent l'avantage important de constituer des provisions pouvant se conserver sous forme de grains de grande valeur nutritionnelle et constituées par des substances amylacées et d'environ 10% de protéines. Elles sont de transformation aisée et variée par cuisson (**Doussinault, 1993**).

Aujourd'hui les céréales constituent une part importante des ressources alimentaires et des échanges économiques. La facilité de la culture permet d'atteindre une sécurité alimentaire qui est renforcée par les possibilités de stockage.

## 2. Importance des céréales et du blé dur en Algérie

Depuis l'indépendance, les différentes politiques et interventions de l'état dans le secteur agricole avaient pour but d'améliorer le niveau de production des céréales en Algérie, et du blé dur en particulier. Les céréales sont les cultures annuelles les plus importantes pour l'agriculture algérienne (**Bourras, 2001**).

D'après les statistiques du Ministère de l'agriculture (1992), les céréales occupent annuellement presque 50% en moyenne de la superficie agricole utile (SAU), et représentent près de 60% des apports énergétiques (calories) de la ration algérienne moyenne, 70% des protéines totales et 88% de protéines végétales. La production nationale des céréales demeure insuffisante et couvre moins de 25 à 30% des besoins nationaux.

Parmi toutes les espèces céréalières, le blé représente la production alimentaire la plus importante pour une grande partie de la population algérienne, pour cela, l'état est toujours intervenu dans le marché pour assurer à tous les citoyens un accès équitable à cet aliment.

L'Algérie est devenue le premier importateur dans le monde, puisque ses importations annuelles représentent 50 % des disponibilités totales du marché mondial.

### 2.1. Historique

Le blé fait partie des trois céréales, plante la plupart du temps graminée dont les grains sont utilisés pour la nourriture humaine ou animale. L'origine du blé (*Triticum*), du maïs (*Zea*) et du riz (*Oryza*) semble être commune, le terme de blé vient probablement du gaulois blato (à l'origine du vieux français et désigne les grains qui, broyés, fournissent de la farine. On retrouve donc sous le nom de blé des espèces variées : le genre *Triticum*: le blé moderne (froment), mais aussi l'orge (*Hordeum*) et le seigle, le blé noir, le blé des canaries, le blé de Turquie (maïs) (**Henry et Jacques, 2000**) (**Figure 1**).

## 2.2. Botanique

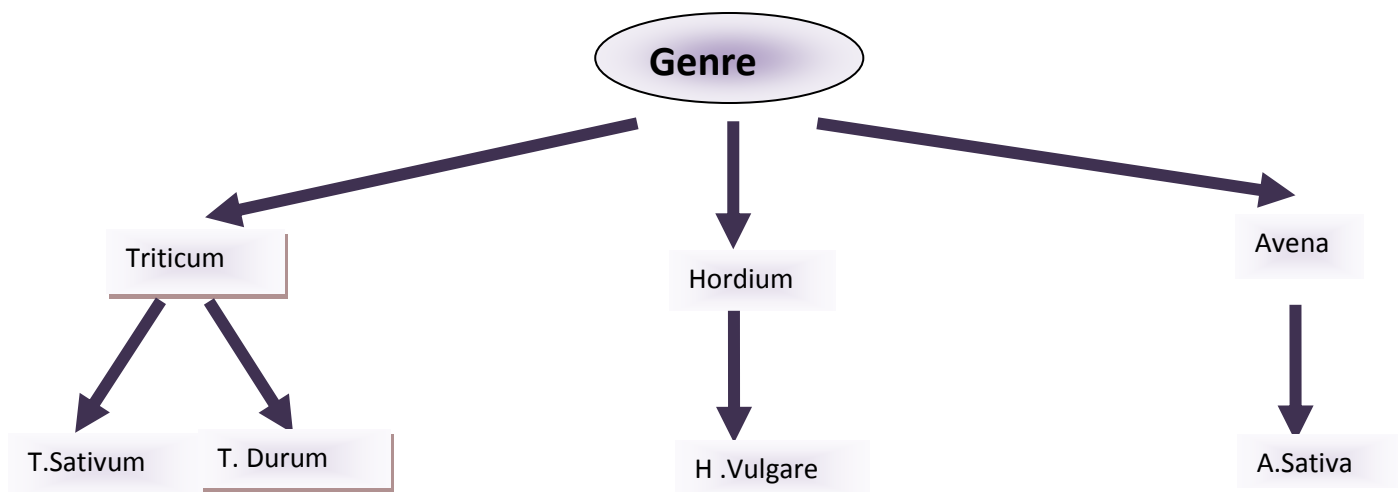
Le blé appartient à:

**Règne:** Plantae

**Classe:** Liliopsidea

**Ordre:** Cyperales

**Famille:** Poaceae



**Figure 1:** Classification des céréales d'après (Moule, 1980).

## 2.3. Origine du blé

Le blé constitue le genre *Triticum* qui comporte de nombreuses espèces, se répartissant en trois groupes selon leur nombre de chromosomes (Allioui, 1993).

- Le groupe Diploïde : ( $2n=14$  chromosomes) ou *triticum monococcum* : Le foyer Syrien et Nord palestinien.
- Le groupe Tétraploïde : ( $2n = 28$  chromosomes) ou *triticum dicoccum* (Amidonnier), ici on trouve *Triticum durum* (blé dur). Le foyer Abyssin.
- Le groupe Héxaploïde ( $2n = 42$  chromosomes) ou *triticum sativum*. Le foyer Afghano-Indien.

## 2.4. Caractéristiques morphologiques

Le blé est composé de :

**2.4.1. Le grain:** Le fruit des graminées est un caryopse sec indéhiscent à maturité. Le grain de blé a une forme ovoïde, un sillon qui s'étend sur toute sa longueur. À la base du grain on trouve le germe, et à l'opposé, il est surmonté d'une brosse. La longueur du grain est comprise entre 5 et 9 mm, et le poids est compris entre 20 et 50 mg (*Šramková et al., 2009*).

**2.4.2. Appareil végétatif:** Le système aérien de la plante se développe en produisant un certain nombre de tiges, qui se développent en tiges cylindriques formées par des nœuds séparés par des entre-nœuds. Chaque tige porte à son extrémité une inflorescence.

Deux systèmes racinaires se forment au cours de développement:

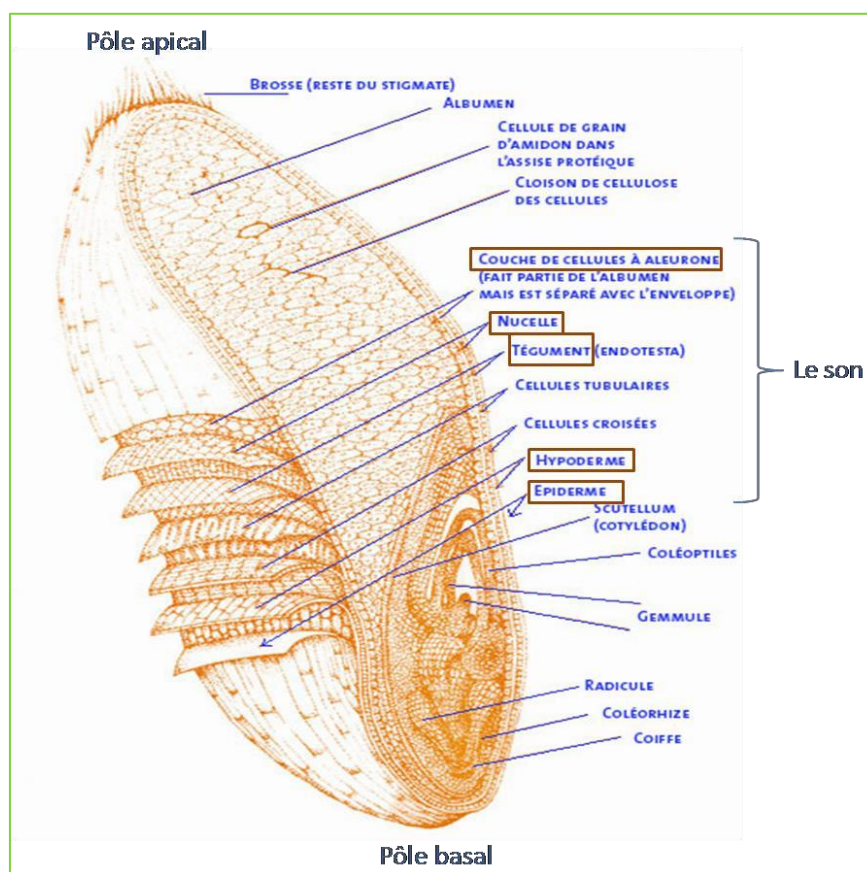
- Un système primaire : ce sont des racines séminales qui fonctionnent de la germination au tallage.
- Un système secondaire: de type fasciculé, les racines partent des nœuds les plus bas et sont presque toutes au même niveau (plateau de tallage).

**2.4.3. Appareil reproducteur:** Les fleurs sont groupées en inflorescence. Chacune est composée d'unités morphologiques de base : les épillets. Le blé dur, le blé tendre et l'orge sont des plantes autogames ou à auto-fécondation.

## 2.5. Composition histologique

La composition des différentes parties d'un grain de blé dépend d'un certain nombre de facteurs tels que le climat, la variété du blé, la nature du sol et de la semence, et les techniques culturales (*Selselet-Attou, 1991*).

Le grain de blé se compose d'un certain nombre de tissus des structures et des compositions particulières (*Hemery et al., 2007*). Cependant, on distingue de la surface externe vers le centre du grain ; l'enveloppe du fruit ou péricarpe, puis l'enveloppe de la graine ou testa, et enfin à l'intérieur de la graine, la bande hyaline, l'albumen et le germe (*Barron et al., 2005*) (**Figure 2**).



**Figure 2.** Coupe longitudinale d'un grain de blé (Pomeranz, 1987)

## 2.6. Composition biochimique

### 2.6.1. Les glucides

Les glucides présentent 60 à 80 % de la matière sèche du grain de blé. L'amidon est le glucide principal trouvé dans l'albumen, les sucres (oses, dioses et trioses) sont présents dans le germe, et les glucides des enveloppes sont principalement; la cellulose et l'hémicellulose, les pentosanes, et la lignine (Dunford, 2012) (Tableau 1).

### 2.6.2. Les protéines

Le blé est considéré comme une source importante de protéines pour l'alimentation humaine (Battais *et al.*, 2007). Les protéines de réserve représentent 80 à 95 % des protéines du blé et forment ensemble le gluten; le reste est constitué par d'autres types de protéines (Roudaut et Lefrancq, 2005).

#### 2.6.2.1. Les protéines métaboliques

Les albumines et globulines sont solubles dans l'eau et dans les solutions salines, elles représentent 15 à 20 % des protéines présentes dans la farine de blé. Ce groupe de protéines est très diversifié par ses

propriétés physicochimiques. Ces protéines participent à la formation du grain et à l'accumulation des réserves dans l'albumen (**Vensel *et al.*, 2005**).

#### **2.6.2.2. Les protéines de réserves**

Elles font partie des prolamines et sont constituées par un mélange complexe de protéines. Les prolamines regroupent d'une part les protéines monomériques (les gliadines) qui sont solubles dans une solution eau / éthanol et d'autre part les protéines polymériques (les gluténines) qui sont partiellement solubles dans les solutions diluées d'acide et dans certains détergents (**Osborne, 1924**)

#### **2.6.3. Les lipides**

Les lipides sont peu abondants et inégalement distribués dans le grain, 8-11 % d'eux sont présents surtout au niveau du germe. Les principales matières grasses du blé sont des acides gras insaturés, des glycérides simples des glycolipides et des phospholipides (**Feillet, 2000**).

#### **2.6.4. Autres composants**

##### **a. L'eau**

Le grain de blé est naturellement un peu hydraté, sa teneur en eau varie avec le taux d'humidité de l'air. L'équilibre se situe entre 13 et 15 %. Du point de vue chimique et physique, son action solvant favorise les réactions enzymatiques et les attaques microbiennes (**Feillet, 2000**) (**Tableau 2**).

**Tableau 1 :** Distribution des glucides dans les fractions de blé (g/100 grs) (Manay et Shadaksharaswamy, 2001)

<b>Glucides</b>	<b>Albumen</b>	<b>Germe</b>	<b>Enveloppes</b>
<b>Amidon</b>	95,8	31,5	14,1
<b>Sucres</b>	1,5	36,4	7,6
<b>Cellulose</b>	0,3	16,8	35 ,2
<b>Hémicellulose</b>	2,4	15,3	43,1

**Tableau 2:** Composition chimique d'un grain de blé (Feillet, 2000).

	<b>Eau (%)</b>	<b>Glucides (%)</b>	<b>Matière protéique</b>	<b>Matière gras</b>	<b>Matière minérale</b>
<b>Blé entier</b>	13	68-72	10	1,5-2	1,7-2,1
<b>Enveloppe</b>	13	65-68	17-19	4-5	6-7
<b>Amande farineuse</b>	13	74-76	9-12	0,7-1	0,4-0,5
<b>Germe</b>	13	37-43	22-32	15-18	4-5

## **b. Les vitamines et les minéraux**

Les grains renferment une quantité importante de vitamines du groupe B à l'exception de la vitamine B12. La teneur en vitamines liposolubles des gains est faible. Les grains sont dépourvus de vitamines D et A. Seul le germe présente une richesse relative en vitamine E (Vierling, 2008) (Tableau 3).

Les minéraux formant une petite partie du grain de blé, et en proportion encore plus faible dans l'albumen moins de 1 %. Le blé contient du fer, du magnésium, du Manganèse, du

Cuivre et du zinc. Ces constituants sont distribués principalement dans les couches extérieures et dans le germe (Manay et Shadaksharaswamy, 2001) (Tableau 4).

**Tableau 3 :** Distribution de la vitamine du groupe B (g / 100 grs) dans les différentes parties du grain de blé (Manay et Shadaksharaswamy, 2001).

	<b>Thiamine (B1)</b>	<b>Niacine (B3)</b>	<b>Riboflavine (B2)</b>	<b>Acide pantothénique</b>
<b>Péricarpe, Testa, bande II</b>		4	5	8
<b>Couche à aleurone</b>	31	84	37	39
<b>Albumen</b>	3	11.5	32	41
<b>Scutellum</b>	62.5	1	14	4
<b>Embryon</b>	2	1	12	3.5

**Tableau 4 : Eléments minéraux du grain de blé (Matz, 1991)**

	<b>Grain entier</b>	<b>Germe</b>	<b>Albumen</b>	<b>Couche à aleurone</b>
<b>Total(%)</b>	0,42	1,66	0,11	1,39
<b>Zn (ppm)</b>	40,4	222	14,1	119
<b>Fe (ppm)</b>	54,6	235	21,5	186
<b>Mn (ppm)</b>	56,4	402	8,80	130
<b>Cu (ppm)</b>	4,25	18	2,8	12
<b>Ca (ppm)</b>	335	1760	173	730
<b>Mg (%)</b>	0,15	0,54	0,02	0,58
<b>K(%)</b>	0,37	0,91	0,12	1,10

### **c. Les enzymes**

Les enzymes des grains de blé sont des protéines qui exercent une activité catalytique spécifique d'un très grand nombre de réactions chimiques. Leur fonctionnement est contrôlé par des principaux facteurs du milieu tels que la température, le pH et l'activité de l'eau (Feillet, 2000).

### **d. Les polyphénols**

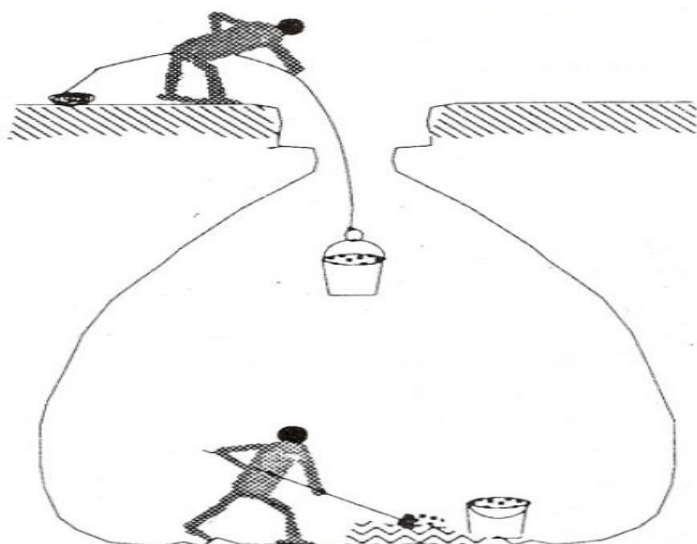
Les polyphénols sont des métabolites secondaires que les plantes produisent pour se protéger contre d'autres organismes (Tsao, 2010). Ils ont en commun un noyau benzénique portant au moins un groupement hydroxyle. Ils comprennent essentiellement les phénols simples, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les lignanes et lignines (Martin et Andrantsitohaina, 2002).

## **3. Stockage du blé**

A travers l'histoire, le stockage des grains des blés a fourni à des humains un amortisseur contre l'échec et la famine de récolte (Druvefors, 2004).

### 3.1. Systèmes de stockage traditionnels « Matmora »

L'homme fait des efforts pour améliorer les conditions de stockage depuis, Matmora jusqu'aux silos modernes. Le stockage de blé dans « Matmora » est une technique archaïque peut être encore utilisée dans certaines régions isolées. Elle est assez répandue à l'Algérie, le paysan algérien, sur les Hauts plateaux, conservait le produit de ses champs de blé, dans des enceintes creusées dans un sol argileux sous forme sphérique tronconique, généralement à un endroit surélevé ou proche de la ferme. C'est ce qu'on appelle « El matmour ». La capacité de ces lieux de stockage est variable (**Bartali et al., 1994**). L'inconvénient majeur de cette méthode de stockage, est la trop forte humidité et les eaux d'infiltration qui favorisent le développement des microorganismes et les phénomènes de fermentation bactérienne (**Doumandji et al., 2003**).



**Figure 3** : Préparation d'une Matmora sou terrain (**Bartali et al., 1994**).

#### La face cachée de Matmora

Le blé comme tout matériel biologique à l'état de vie subit une évolution physiologique qui peut avoir des effets bénéfiques sur sa valeur d'utilisation. Les grains du blé comportent des parties vivantes, germe, assise protéique se trouvant à l'état de vie ralentie à s'accélérer dans un milieu favorable. Les manifestations vitales des grains sont de deux ordres :

- En aérobiose: Respiration active dégagement de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  et énergie.

- En anaérobiose: Conduisent à des fermentations intracellulaires en conférant aux grains une odeur caractéristique (Molinié et Pfohl-Leszkowicz, 2003).

**A la campagne et au mois de Septembre, les graines de blé sont versées dans des fosses tapissées de foin, puis recouvertes à nouveau de foin et de terre. Par la suite, de l'eau est versée abondamment sur ces fosses, jusqu'à ce qu'il y ait une marre d'eau au-dessus de chacune. Au fil des jours et suite à l'exposition au soleil, l'eau s'évapore et le blé se fermente, par conséquent, la vapeur qui se dégage des fosses devient visible. La fermentation est possible grâce à la présence de bactéries en faible nombre sur les graines de céréales (quelques milliers). Des champignons et bactéries résident dans leur capacité à transformer et à créer des molécules indispensables à l'être humain. La fermentation des céréales est afin d'obtenir un mélange riche en levures, bactéries et vitamines, utilisables très intéressant d'un point de vue santé. Il s'agit d'une fermentation lactique, assurée par des lactobacilles, qui est un procédé totalement naturel permettant d'augmenter la teneur en nutriments d'un aliment.**

**C'est à ce stade-là que le blé est retiré, les graines contiennent une substance ressemblant au lait, elles ont un goût acide, avec un aspect métadiné non vitraux plus au mois échaudée. Ce produit appelé « Hamoum ». Elles sont séchées au soleil pendant des jours jusqu'à ce qu'elles deviennent dures. Après cela, elles sont broyées et peuvent être utilisées pour la préparation d'un genre particulier de grains de couscous, qui est le « Couscous el Hamoum » ou « couscous noir » au blé fermenté qui est un plat traditionnel. Ce dernier a deux particularités: un goût un peu acide, et une forte odeur qui s'y dégage quand on le passe à la vapeur, cela est dû à la fermentation du blé.**

### **3.2. Stockage moderne**

Les modalités techniques ont varié avec les époques et lieux. Les enjeux sont toujours restés les mêmes et l'évolution technique a surtout permis une augmentation des capacités de stockage et une accélération des échanges (ITCF, 2003). De nos jours, les silos permettent de stocker plusieurs types de céréales en même temps (Duron, 1999; Doumandji *et al.*, 2003).

- Les silos en béton armé.
- Les silos métalliques.
- Les cases en métal ou en béton.
- Stockage en sacs dans les entrepôts.
- Stockage en plein air.

## **4. La fermentation du blé**

La fermentation est considérée comme l'un des procédés le plus ancien et le plus économique pour la conservation des aliments, particulièrement dans les pays tropicaux où les fortes températures combinées aux niveaux élevés d'humidité favorisent la fermentation spontanée (Nout, 2009), il peut y a voir une ou plusieurs étapes de fermentation allant de quelques heures à plusieurs mois selon l'aliment (Prückler *et al.*, 2015).

### **4.1. Les aliments fermentés**

Les aliments fermentés sont très variés et nombreux. Ces aliments sont le plus souvent d'origine laitière et les principales bactéries impliquées dans leur fermentation sont les bactéries lactiques (Songre-Ouattara *et al.*, 2008 ; Djermoun A, 2009; Yao *et al.*, 2009).

#### **4.1.1. Le blé fermenté traditionnel**

Les aliments fermentés traditionnels sont très divers. Même si l'on se limite au continent Africain on constate que les matières premières sont également très variables et comprennent des céréales (blé, mil, maïs, riz, sorgho), des racines (manioc, taro), des légumes secs (haricot, pois chiche, graine de soja), mais également les graines de cacao ou les grains de café. Ils sont consommés sous forme de couscous, boissons, bouillies, soupes etc. (Paul Ross *et al.*, 2002 ; Carine *et al.*, 2009).

Lors du stockage dans (Matmora), l'équilibre de la flore bactérienne endogène totale présente dans les grains de blé peut être affecté par de nombreux facteurs importants pour le développement de certaines bactéries et levures et des moisissures responsables de la fermentation spontanées des grains (Yao *et al.*, 2009).

De plus, il a été montré que les aliments à base de céréales leurs microbiote est dominé par des bactéries lactiques associées à des levures présentes en moindre proportion. Contrairement aux autres types d'aliments fermentés, comme ceux à base de légumineuses la microflore dominante est constituée de bactéries du genre *Bacillus* qui réalisent une fermentation alcaline (Ouoba *et al.*, 2005).

#### **4.1.2. Les avantages de la fermentation lactique**

L'action des bactéries lactiques au cours de la fermentation a été associée tout d'abord à l'élaboration de l'arôme et de la texture du produit final, mais aussi au maintien d'une bonne sécurité alimentaire grâce aux acides organiques produits (Yao *et al.*, 2009).

Les bactéries lactiques produisent plusieurs composés antimicrobiens naturels, à savoir des acides organiques, le dioxyde de carbone et des bactériocines pour inhiber les microflores pathogènes (**Prückler et al., 2015**).

Cependant, l'amélioration de la digestibilité des protéines est due à l'hydrolyse de celles-ci en acides aminés par les protéases des bactéries lactiques (**Teniola et Odunfa, 2001**).

Et l'amélioration de la digestibilité de l'amidon, grâce à l'activité amylolytique de certaines bactéries lactiques amylolytiques (**Songré-Ouattara et al., 2009**).

En plus la réduction de composés toxiques comme les amines biogènes, les composés cyanogéniques (**Corsetti et Settanni, 2007**).

Les études sur le germe de blé fermenté montrent qu'il agit sur différents types de lignées cellulaires. Il est efficace, que ce soit sur les cellules cancéreuses du sein, de la prostate, du pancréas, du côlon, mélanome, leucémie et bien d'autres encore (**Mueller et al., 2011**).

Il améliore l'énergie, l'état général et la qualité de vie des patients atteints de cancer (**Hidvégi, 2003**). Il ralentit la progression de la maladie et améliore leur survie, même dans les cancers à un stade avancé. Il permet de réduire de 82 % l'apparition de nouvelles tumeurs chez des patients souffrant de cancer du côlon (**Jakab, 2003**). Par ailleurs, au-delà de ses actions chez les adultes, il présente également des bénéfices pour les enfants atteints de cancer, car il permet de diminuer les risques de survenue d'une infection lors des chimiothérapies (**Garami, 2004**).

# Chapitre 2

Le grain de blé renferme de nombreuses protéines qui représentent entre 7 et 18% du poids de la graine. Ces protéines ont été classifiées par Osborne en 1907 en quatre groupes : albumine, globuline, prolamine (gliadines) et gluténines en fonction de leur solubilité.

Bien que ce fractionnement soit encore largement utilisé, il est maintenant reconnu que les quatre classes ne sont pas tout à fait pures et qu'il y a des contaminations d'une classe à l'autre d'après (Amiour, 2002).

## **1. Les protéines solubles**

Les albumines et les globulines font partie des protéines fonctionnelles. 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. Elles sont caractérisées par une teneur faible en acide glutamique (20%) et en proline (7%) mais riches en lysine et en histidine (7%). Le taux d'albumine et de globuline est très largement supérieur à celui des prolamines (gliadines) et des gluténines dans le grain non mature.

### **1.1. Les albumines**

Les albumines sont solubles dans l'eau. Elles sont présentes chez les monocotylédones comme chez les dicotylédones. Elles se composent de deux chaînes polypeptidiques (chez la napine,  $\alpha$  vaut 4 kDa et  $\beta$  vaut 9 kDa) obtenu par clivage à partir d'une seule protéine après biosynthèse et reliées par deux ponts disulfures. Deux autres ponts disulfures sont présents sur la chaîne  $\beta$ . Leur structure secondaire comprend 50% d'hélices  $\alpha$  et très peu de feuillets  $\beta$ .

### **1.2. Les globulines**

Les globulines sont solubles dans les solutions salines (force ionique différente de zéro). Ces protéines globulaires, présentes majoritairement chez les dicotylédones, comprennent deux groupes : les 7S (du type vicilines) et les 11S (du type légumine). Les globulines 11S et 12S sont des hexamères de sous-unités composées de deux chaînes polypeptidiques reliées par un pont disulfure. Les deux chaînes font respectivement 40 kDa et 20 kDa. Elles proviennent d'un précurseur protéique qui est

clivé après formation du pont disulfure. La chaîne (acide) s'oriente vers la périphérie de l'hexamère.

La chaîne  $\beta$ (Basique) s'oriente vers le cœur du complexe. Ces molécules ne sont habituellement pas glycosylées, à l'exception de la 12S du lupin. Les globulines 7S se composent de trimères de 150 à 190 kDa qui, en raison de l'absence de cystéines, ne forment pas de ponts disulfure. Elles subissent des étapes de protéolyse et de glycosylation.

## 2. Les protéines insolubles

Les prolamines (gliadines) et les gluténines sont bio synthétisées tardivement dans la graine. Ces dernières apparaissent sous la forme de corps protéiques, de faible densité (surtout des gliadines) en début de maturation et de forte densité quand le grain est à maturité (présence des gliadines et de gluténines de haute masse moléculaire). La taille des corpuscules protéiques varie de 0,8 $\mu$ m à 2 $\mu$ m. Ces corpuscules disparaissent (30 jours après l'anthèse) laissant comme preuve de leur existence leur membrane lipoprotéique et la mise en place d'un réseau protéique englobant les amyloplastes. Dans le grain mature la teneur en prolamines et gluténines est très largement supérieure à l'ensemble des protéines solubles. Les prolamines et les gluténines sont plus connues sous l'appellation de gluten.

### 2.1. Les prolamines (les gliadines)

Comme les autres composantes du gluten, les gliadines sont caractérisées par leur insolubilité dans l'eau. Les gliadines représentent 40 à 50 % des protéines de réserve dans le grain de blé (**Shewry *et al.*, 1986**). Ce sont des protéines monomères solubles dans l'éthanol à 70 % dont les ponts disulfures sont intra-moléculaires (**Kasarda, 1989**).

L'électrophorèse a montré que les gliadines forment un groupe de prolamines hautement hydrogène forme de plus de 100 composantes (**Anderson *et al.*, 1997**; **Payne, 1987**). Leur polymorphisme est si important qu'il sert de moyen d'identification variétale (Evans *et al.*, 1972). L'étude de la composition en gliadines sur 70 variétés a montré qu'elles sont formées de 20 % d'alpha, 28 % de bêta, 34 % de gamma et 18 % d'oméga gliadines (**Branlard et Dardevet, 1985**).

Les omégas gliadines se distinguent des autres familles par leur poids moléculaire (55-75 kDa), une forte teneur en glutamine et en proline (**Weiser *et al.*,**

1987) et surtout par l'absence de cystéine. Alors que, l'alpha, bêta et gamma-gliadines contiennent moins de glutamine et de proline. Mais elles sont riches en acides aminés soufrés avec des poids moléculaires variant de 30 kDa à 60 kDa.

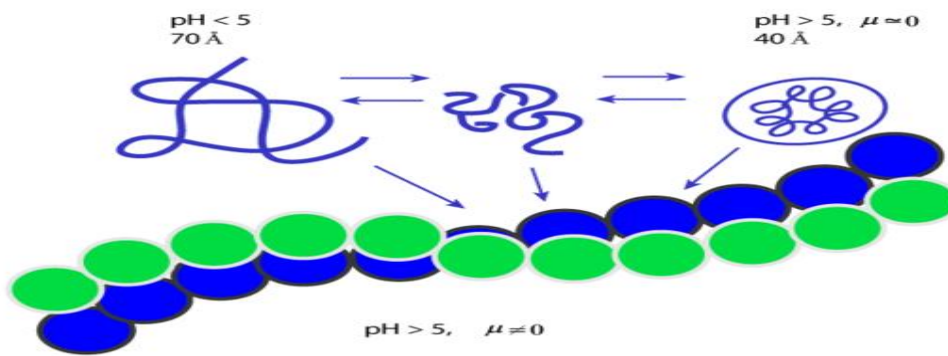
Les prolamines sont caractérisées par une forte teneur en acide glutamique (37 à 56%) et en proline (15 à 30%) mais une faible teneur en acides aminés basiques (0,1 à 0,7%).

Trois groupes de prolamine ont été caractérisés. Les prolamines riches en soufre de hauts poids moléculaires (30 kDa à 55 kDa) et de faibles poids moléculaires ainsi que des gliadines pauvres en soufre (pas de cystéine) de haut poids moléculaire (de 40 kDa à 80 kDa).

Les prolamines sont toutes construites selon le même schéma : une séquence N-terminale variable de 5 à 15 résidus d'acides aminés, des parties répétitives constituées de dodécapeptides (R) et non répétitives (NR) séparées ou non par des zones de polyglutamines (Q) et une partie C-terminal.

La conformation des gliadines monomériques peut varier en fonction des conditions du milieu. Elles peuvent passer de l'état de pelote statistique pour des pH inférieurs à 5 (diamètre de la molécule 70 Å) à celui de protéine globulaire compacte (diamètre de 40 Å) lorsque le pH du milieu est supérieur à 5 et que la force ionique est très faible (voisine de zéro). Ces structures globulaires s'agrègent pour donner des structures fibrillaires (diamètre de l'hélice 60 Å) quand le pH est supérieur à 5 et la force ionique différente de zéro. Ces modifications de conformation s'accompagnent de modification de l'hydrophobie de surface.

Les gliadines pauvres en soufre (gliadine  $\omega$ ) sont riches par contre en glutamine, proline et phénylalanine mais l'hydrophobie de surface est inférieure aux gliadines  $\gamma$ ,  $\alpha$ , et  $\beta$ . Le domaine répétitif pourrait dans de nombreux cas recouvrir la totalité de la séquence. La structure en hélice  $\alpha$  des gliadines est très stable (**Tatham et Shewry, 1985**).



**Figure 4 :** Schéma représentant les différentes conformations des gliadines (Green et Cellier., 2007).

## 2.2. Les gluténines

Les gluténines sont des polymères de protéines dont les chaînes polypeptidiques élémentaires, qualifiées de sous-unités de gluténines, sont réunies par des ponts bisulfures intermoléculaires (Shewry *et al.*, 1995). Leur capacité à se polymériser leur permet d'atteindre un poids moléculaire de plusieurs millions de dalton.

En plus de représenter 40 à 50% des protéines de réserve totale de la graine de blé, elles jouent un rôle déterminant dans la qualité de la farine de blé (Gupta *et al.*, 1990; Payne *et al.*, 1987; Wrigley et Bietz, 1988). Elles sont insolubles dans l'eau mais solubles dans des solutions acides ou basiques. Elles possèdent une forme allongée (5000 Å x 17,5 Å) et une composition qui diffère de celle des gliadines. Ces molécules polymériques sont caractérisées par des masses moléculaires importantes 500 kDa à 10000 kDa. Selon leur mobilité dans un gel SDS-PAGE, on distingue deux classes de sous-unités (Shewry et Tatham, 1990): une plus mobile, regroupe les gluténines à faible poids moléculaire (FPM), l'autre moins mobile, elle représenté les gluténines à haut poids moléculaire (HPM).

- **Les sous-unités de gluténines à faible poids moléculaire (FPM)**

Solubles en milieu acide ou dans 70 % en présence d'agents réducteurs (Payne *et al.*, 1987). Elles sont riches en acides aminés soufrés, ayant la capacité de se polymériser. Elles ont un important groupe de polypeptides représentant 60 à 70 % des gluténines, impliquées dans les propriétés rhéologiques du gluten, dont les poids moléculaires sont compris entre 30 kDa et 75 kDa (Mac Ritchie *et al.*, 1990). Elles ont été classées en trois groupes (Payne et Corfield, 1979; Jackson *et al.*, 1983).

- **Les sous-unités de gluténines à haut poids moléculaire (HPM)**

Plusieurs études ont été faites sur la variation des gluténines à HPM et leur contribution à la qualité de la farine (**Gupta *et al.*, 1990**; **Mac Ritchie *et al.*, 1990**; **Kloster *et al.*, 1991**). Précisément, un effet significatif de la variation de leurs allèles sur l'élasticité de la pâte a été rapporté par Payne et al (1984). C'est un groupe qui représente 30 à 40 % des gluténines.

En se basant sur la position des sous-unités HPM dans un gel SDS-PAGE (**Payne *et al.*, 1981**) ont suggère leur subdivision en deux sous-groupes. L'un dont les sous-unités de type y qui migrent plus rapidement avec un poids moléculaire variant de 67 à 74 kDa et l'autre dont les sous-unités de type x migrent plus lentement avec un poids moléculaire de 83-120 kDa sur un gel SDS-PAGE (**Shewry *et al.*, 1984**). Elles sont responsables de l'élasticité des pâtes boulangères.

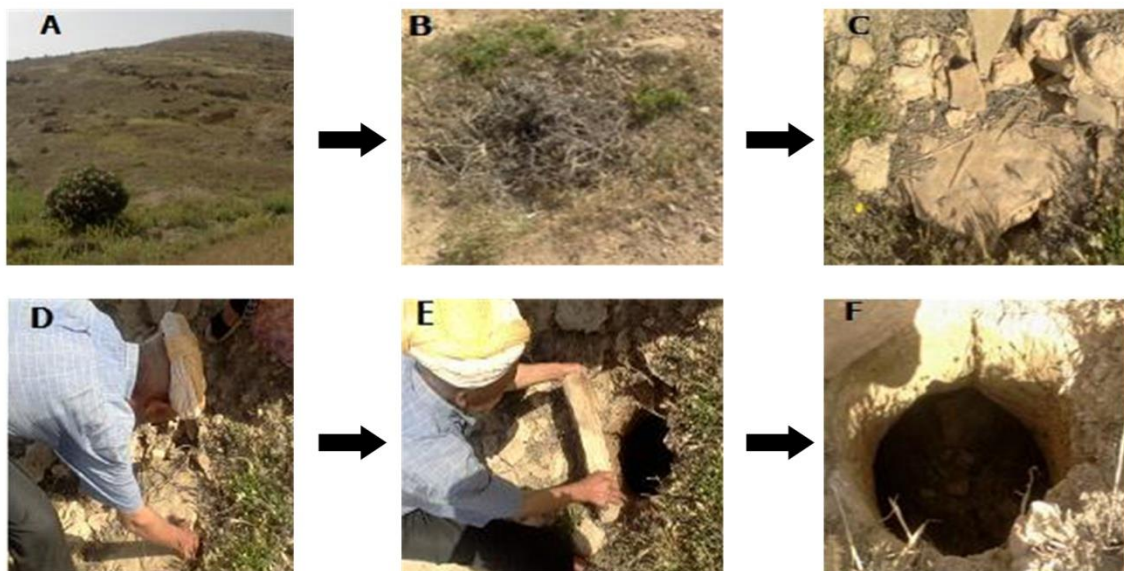
Matériels  
&  
méthodes

## 1. Objectif

Notre travail consiste à étudier et évaluer le profil protéique (albumine/globuline, gliadines et gluténines) de deux échantillons de blé dur de la même variété. L'un à l'état normal non fermenté (BNF) et l'autre ayant subi une fermentation naturelle dans un grenier sous terrain (Matmora) appelé Hamoum (BFH) après un stockage souterrain.

Nos échantillons ont été prélevés dans une région rurale dans la commune de Negmaria, daïra d'Achaâcha (Wilaya de Mostaganem) au courant du mois de mai 2015.

Après un stockage traditionnel d'une période de 12 mois à partir de la date de récolte. Le blé fermenté a été prélevé de Matmora dans des conditions aseptiques et hygiéniques, le prélèvement a été réalisé dans des conditions stériles puis conservé dans des pots stériles afin d'éviter toute contamination qui peut influencer la flore bactérienne. Le BFH a été prélevé dans la partie périphérique de la Matmora en contact avec le sol, par contre le BNF a été prélevée dans la partie centrale du grenier (**Figure 5**).



**Figure 5 :** Photos d'un grenier sous terrain type Matmora (localité de Negmaria, Mostaganem).

**Tableau 5 :** Caractéristiques du grain de blé fermenté type « Hamoum »BFH.

Variétés de blé	Blé fermenté « Hamoum »BFH								
	Distribution Géographique	Le ment	Nature de t prélevé	Durée de ckage	Quantité	Forme du blé	Taille du blé	Couleur	Goût
caractéristiques fruits	Negmaria Daira haacha Mostaganem grenier Matmora	mai 2015 conditions pties	Blé dur de amoum BFH	12 mois à partir de récolte	1 Kg	Ovoïde	Petite à moyenne Longueur 6 à 8mm Largeur : 2 et 3mm	Marron	Acide

## 2. Matériel végétale

Le choix du BFH a été pris en compte selon des critères ancestraux justifiés mais non définis scientifiquement. Depuis des décennies, Il est considéré comme un aliment miracle car il possède une grande valeur nutritive surtout chez les personnes présentant des troubles digestifs et même chez les diabétiques et cancéreux.



**Figure 6 :** Photos des échantillons utilisés :

1. Blé dur fermenté type Hamoum BFH.
2. Blé dur non fermenté.

## 3. Extraction séquentielle des fractions albumines/globulines, gliadines et gluténines

### 3.1. Principe de la méthode

L'extraction des protéines du BFH et du BNF est réalisée à partir de la farine de grains de blé obtenue après broyage et recueillie dans des tubes stériles.

La technique est basée sur la différence de solubilité des trois classes principales de protéines du blé.

Les albumines et globulines sont solubles dans les solutions salines et sont extraites dans un tampon phosphate NaCl selon le protocole décrit par Marion et al(1994), tandis que les gliadines et gluténines précipitent. Les gliadines et les gluténines sont extraites selon le protocole de Singh et al (1991) avec une solubilisation alcoolique

pour les gliadines et une solubilisation en présence d'alcool et d'un agent réducteur Dithiothréitol (DTT) pour les sous-unités gluténines.

Les sous-unités gluténines sont alkylées pour une meilleure séparation par SDS-PAGE. Malgré les lavages réalisés entre chaque étape, des contaminations croisées existent entre les extraits obtenus.

### **3.1.1. Extraction des albumines/globulines**

- 1g de farine à solubiliser du tampon phosphate/NaCl pH 7.8.
- Agitation à 4°C pendant 2heures.
- Centrifugation à 4°C pendant 15 min à 8000g.
- dialyser le surnageant à 4°C, 48 à 72 heures contre de l'eau.
- Congeler et lyophiliser.
- Réaliser plusieurs lavages du culot avec le tampon phosphate et centrifuger 10 min 8000g.
- La méthode d'extraction utilisée est la technique d'extraction séquentielle décrite par Singh et al (1991) et modifiée par Amieur et al (2002) et qui consiste à extraire les protéines de réserve séquentiellement selon leur solubilité dans les trois solutions d'extraction de base avec une solubilisation alcoolique pour les gliadines et une solubilisation en présence d'alcool et d'un agent réducteur pour les sous-unités gluténines (**Figure 7**).

### **3.1.2. Extraction des gliadines**

- Suspendre le culot dans de l'éthanol 50%.
- Agitation à 20°C.
- Centrifugation à 12.000 t/min pendant 20 min à température ambiante.
- Dialyser le surnageant contre de l'acide acétique 0.01N (48 à 72h).
- Congeler et lyophiliser.

- Réaliser plusieurs lavages du culot avec de l'éthanol 50% et centrifuger pendant 10min à 12.000 t/min.

### **3.1.3. Extraction des sous-unités gluténines**

- Suspendre le culot dans 5 ml de tampon B1 propanol1/DTT.
- Vortexer et incuber 30 min dans une étuve à 60°C.
- Ajouter 5 ml de tampon B2 Propanol1/ DTT/ 4VP puis extraire 1 h à 60°C dans les mêmes conditions que précédemment.
- Laisser une nuit à température ambiante.
- Centrifuger 20 min à 12.000 t/min à température ambiante.

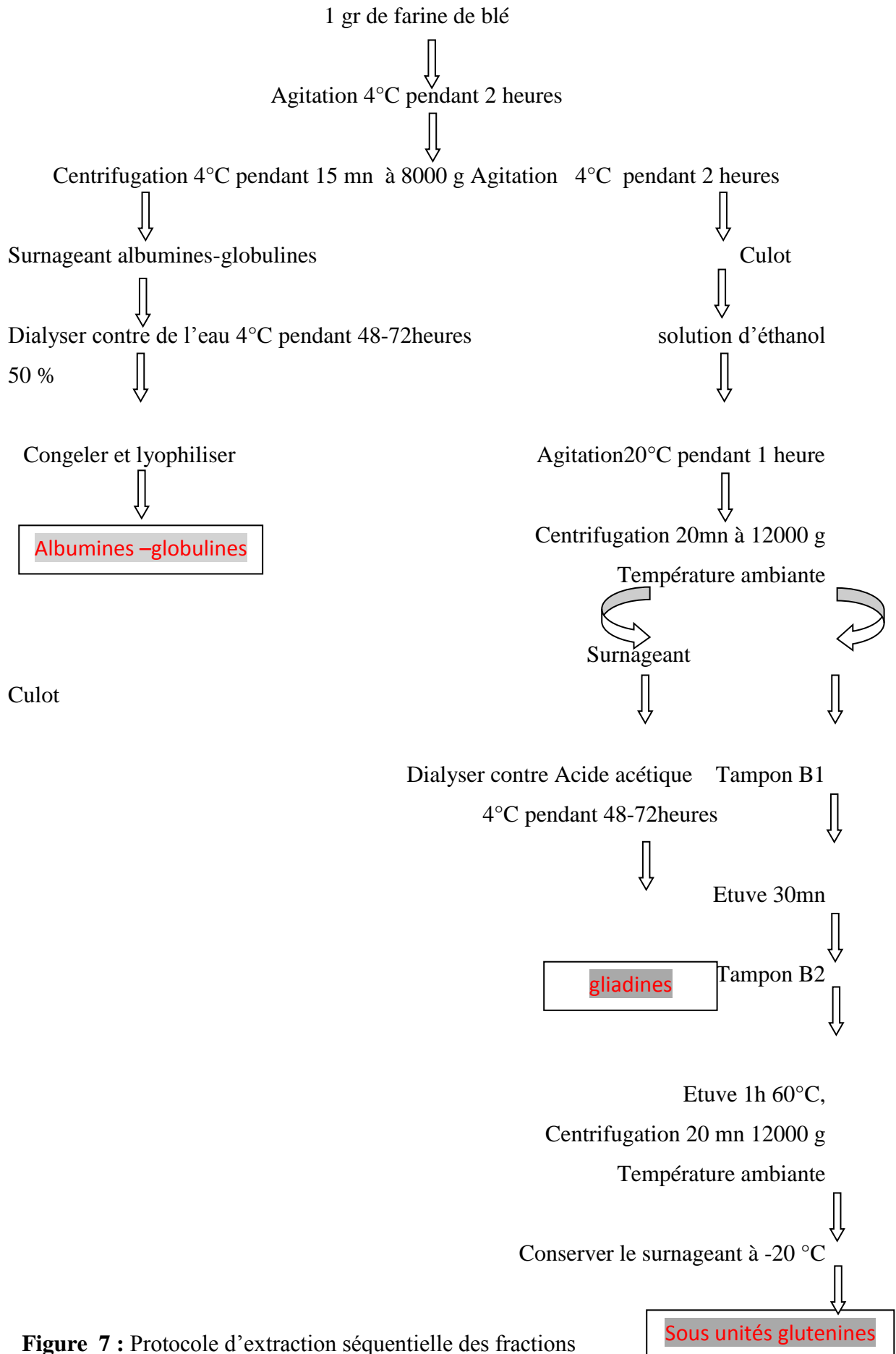
### **Préparation de l'échantillon pour électrophorèse**

Ajouter à un aliquote de surnageant un même volume de la solution C, faire bouillir 3 min et déposer 10 à 20 µL/ puits.

### **Séparation des extraits par SDS-PAGE pour l'identification des allergènes**

L'extrait albumines/globulines est séparé sur un gel à 14 ou 15 % d'acrylamide. Les gliadines sont séparées sur un gel à 10% d'acrylamide en conditions non réductrices si l'on veut éviter la migration des gluténines contaminants. Dépôt 10 à 20µl.

Les gluténines sont séparées sur un gel à 10% d'acrylamide en conditions réductrices. Dépôt 10 à 20µl,



**Figure 7 :** Protocole d'extraction séquentielle des fractions albumines/globulines, gliadines et gluténines.

## 4. L'électrophorèse

L'électrophorèse c'est la principale technique utilisée en biochimie et en biologie moléculaire pour la séparation et la caractérisation des molécules. Dans un milieu donné, la séparation des particules se fait selon leur charge électrique et pour des charges semblables, selon leur taille. Cette technique a été mise au point par Laemmli (1970) où la séparation des molécules se fait en milieu basique à pH 8.

L'électrophorèse est une technique permettant de déplacer des ions (molécules ayant perdu leur neutralité électrique) sous l'effet d'un champ électrique. Ceux-ci migrent vers leur électrode respective: les anions (chargés négativement) migrent vers l'anode (potentiel positif) et les cations (chargés positivement) migrent vers la cathode (potentiel négatif).

Du fait de leurs caractéristiques propres et des conditions de l'électrophorèse, la vitesse de migration et la distance parcourue dans la matrice par ces ions différents. Cela permet ainsi de les séparer. L'électrophorèse permet de traiter simultanément plusieurs échantillons en même temps. La séparation est fine.

### 4.1. Principe de la SDS-PAGE

Cette technique permet de séparer des protéines selon leur poids moléculaire. La matrice est conçue par la polymérisation d'acrylamide et de bis-acrylamide. Le TEMED et le persulfate d'ammonium sont les agents de polymérisation. La grosseur des pores formés est fonction de la concentration d'acrylamide. Plus la concentration est élevée plus les pores seront petits et les molécules les mieux séparées seront celles de petits poids moléculaires.

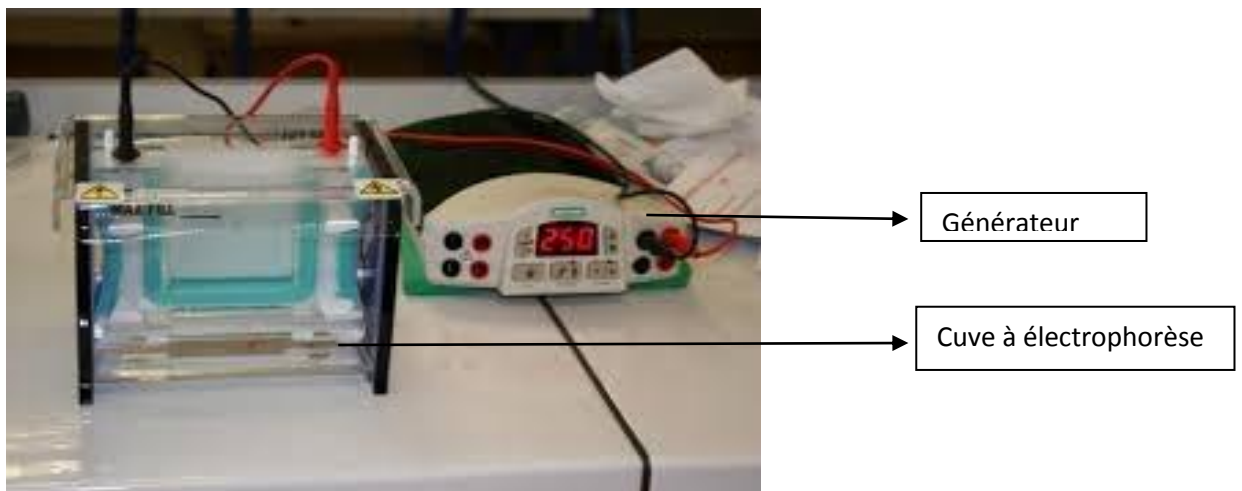
Cette méthode de séparation, par rapport à l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide (ou PAGE pour *Poly-Acrylamide Gel Electrophoresis*) classique, c'est une méthode dénaturante en raison de l'ajout de Lauryl sulfate de sodium (Sodium Dodécyl Sulfate).

Dans ce gel dénaturant, on retrouve ce SDS qui se lie aux protéines selon un ratio constant (une molécule de SDS pour deux acides aminés). Le SDS est un détergent fort possédant une longue queue hydrocarbonée hydrophobe et une extrémité chargée négativement interagit avec les protéines par sa portion hydrocarbonée en liant leurs régions hydrophobes. En se liant à la protéine, le SDS empêche son repliement et lui confère une charge nette négative.

Cela signifie que seul le poids moléculaire apparent (et non réel) des protéines sera le facteur de leur séparation. Ceci permet sa migration dans la matrice à l'aide d'un courant électrique et la séparation des protéines s'effectue uniquement en fonction de leurs poids moléculaires (les protéines ayant un petit poids moléculaire migreront plus loin que les grosses).

Par ailleurs, la migration dans le gel est aussi en fonction de modifications post-traductionnelles des protéines (glycosylations ou phosphorylations). Les protéines sont tout d'abord condensées dans un gel de concentration puis séparées dans un gel de séparation. Lorsque les protéines sont séparées, leur visualisation peut être effectuée en les colorant directement (Bleu de Coomassie).

Cette coloration permet de visualiser toutes les protéines dans l'échantillon dont la concentration dépasse la limite de détection de la coloration. Le gel coloré au bleu de Coomassie peut être ensuite décoloré par un mélange méthanol/acide acétique glacial/eau.



**Figure 08** : Dispositif d'électrophorèse

#### **4.1.1. Préparation de l'échantillon**

Ajouter à un aliquote de surnageant un même volume de la solution C, faire bouillir pendant 03 minutes et déposer 10 à 20  $\mu\text{L}$ / puits.

#### **4.1.2. Préparation des gels**

Dans la méthode de séparation par SDS-PAGE nous devons préparer deux types de gels: Un gel de séparation qui permet de fractionner les différentes protéines et les

sous-unités protéiques selon leurs poids moléculaires et un gel de concentration permettant de retenir les impuretés et de tasser les protéines.

Avant de préparer les gels on doit procéder au montage des plaques, après les avoir nettoyées à l'éthanol, puis on les place l'une contre l'autre.

#### **4.1.2. 1. Le gel de séparation (running gel)**

Le gel de séparation est constitué d'acrylamide à 30% (p/v), de N-N'-Méthylen-bisacrylamide à 2% (p/v), de Tris HCL à pH=8.8, de SDS à 10% (p/v) et d'eau distillée. La réaction de polyacrylamide est catalysée par l'ammonium persulfate (APS) à 1% (p/v) et le TEMED.

Une fois tous les constituants mélangés (les catalyseurs sont ajoutés en dernier lieu), le gel est coulé doucement entre les plaques (montées au paravent) pour ne pas faire de bulles jusqu'à un niveau délimité sur l'une des plaques pour laisser la place au gel de concentration.

Ensuite, on coule une fine couche d'alcool pour égaliser la surface du gel et éviter son contact avec l'air afin de faciliter la polymérisation.

#### **4.1.2. 2. Le gel de concentration (Stacking gel)**

Le gel est constitué de la même façon que le gel de séparation avec une seule différence au niveau du Tris Hcl 0.5 mmol qui a un pH de 6.8. Le gel de concentration est coulé sur le gel de séparation, les peignes sont posés bien centrés entre les plaques en évitant de faire de bulles. Après polymérisation du gel les peignes sont retirés soigneusement puis on dépose nos échantillons.

#### **4.1.3. Le tampon d'électrophorèse**

Le tampon de migration est constitué de glycine, de Tris base et de SDS (voir annexe).

#### **4.1.4. La migration**

Après le dépôt des différents échantillons, la cuve d'électrophorèse (bac inférieur) est remplie à un niveau suffisant avec le tampon d'électrophorèse.

Le bac supérieur situé entre les deux plaques est rempli lui aussi avec le même tampon jusqu'à ce que les faces supérieures des gels soient immergées; ce dernier est

placé dans la cuve d'électrophorèse pour que les faces inférieures des gels plongent dans le tampon.

Enfin, on ferme la cuve puis on la relie à un générateur qui va assurer le passage du courant électrique. La migration est menée avec une intensité constante.

#### **4.1. 5. Fixation et coloration**

Après la sortie du front de migration (coloré en bleu), la migration est arrêtée. Les gels sont démoulés et récupérés dans des bacs en plastique puis recouverts avec une solution de fixation constituée d'un fixateur des protéines, le TCA (acide trichloroacétique) à 30% puis dans la solution de coloration, le bleu de Coomassie R250. Les gels doivent être maintenus en agitation pendant 24 heures pour éviter le dépôt du colorant. Après, ils sont décolorés par une solution de décoloration.

#### **4. 1. 6. Lecture des gels**

La lecture des gels est faite sur la base des nomenclatures établies par Payne et Lawrence (1983) ; Vallega et Waines (1987), modifiée par Branlardet et al (1990) adoptées pour les gluténines de haut et de faible poids moléculaire.

Résultats  
et  
Discussion

Ce chapitre présente tous les résultats obtenus au cours des expériences effectuées ainsi que leurs interprétations.

### **Observation macroscopique de blé fermenté Types « Hamoum »**

L'observation macroscopique des grains de blé fermenté « Hamoum » nous a montré des grains ovoïdes, plus ou moins allongés d'une longueur de 6 et 8 mm et largeur entre 2 et 3 mm, ayant une forte odeur. Ces résultats concordent avec la littérature scientifique qui confirme que La longueur du grain (plus grande dimension) est comprise entre 5 et 8 mm, sa largeur entre 2 et 4 mm (**Feillet, 2000**). Elle dépend des conditions de développement des grains. Elle est d'autant plus élevée que leur teneur en protéines est élevée (**Feillet, 2000**). Notre blé est métadiné, avec un aspect non vitreux est une couleur un peu marron.

La décoloration peut être causée par les champignons de champ et de stockage et peut entraîner un noircissement du germe de blé (**Heredia et al., 2009**). Les moisissures des champs peuvent induire une décoloration des grains de blé, La contamination fongique des grains de blé est responsable du rejet des odeurs indésirables. Il a été constaté que les grains stockés à des conditions d'humidité élevée sentent une odeur de mois.

Le profil protéique étudié consiste à séparer par la technique électrophorétique SDS- PAGE de l'albumine/globuline, gliadines et gluténines.

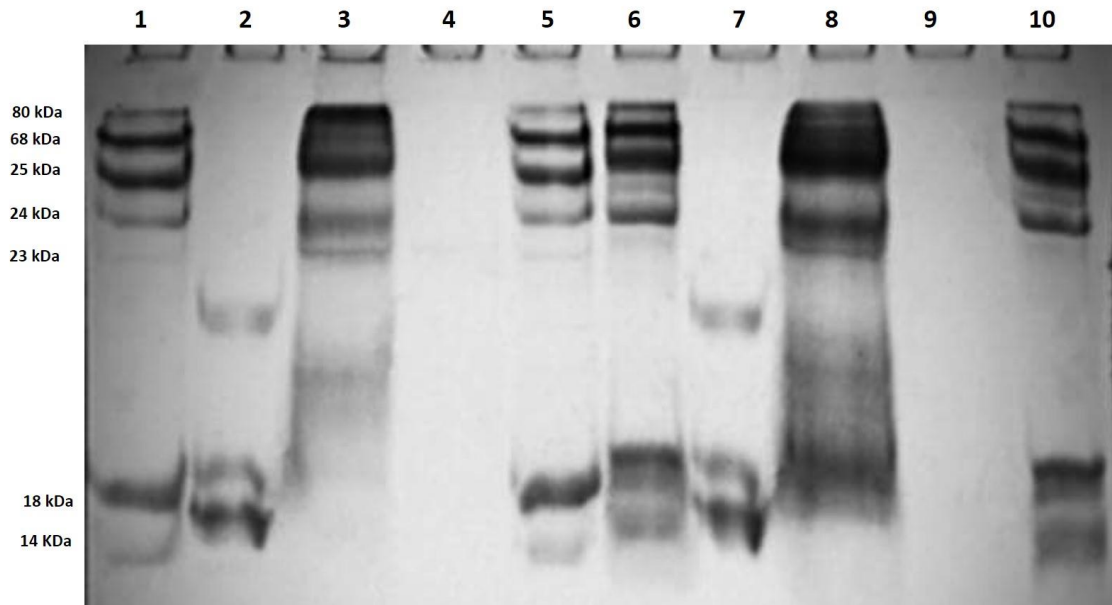
Les résultats de l'électrophorèse SDS-PAGE du BFH montre des séquences polypeptidiques de l'albumines/globulines, de gliadines et de gluténines (bandes électrophorétiques) bien distinctes et différentes de celle du BNF par rapport au témoin (Kit Protéique préparé et kit peptidique Commercial).

- l'albumine qui est une protéine de structure et de fonction qui est soluble dans de l'eau ayant un poids moléculaire 5-30 kDa (**Godon et al.,1987, Feillet,2000**).
- les globulines qui sont solubles dans des solutions salines ayant un poids moléculaire de 20-90 kDa.

L'électrophorèse des albumines et globulines de nos deux échantillons (BFH et BNF) contient différentes fractions d'albumine contrairement au blé fermenté, nous avons observé une dégradation totale de 100% de l'albumine et globuline ce qui est expliqué sa fermentation par la flore bactérienne et fongique endogène (**Doumandji et**

*al., 2003*). D'après les études de Thiele et al(2004) la dégradation de l'albumine et de 83.4% cette différence peut être expliquée par la durée de la fermentation, il peut y avoir une ou plusieurs étapes de fermentation allant de quelques heures à plusieurs mois selon la nature du blé et les espèces bactériennes (**Prückler et al.,2015**). Cependant, l'équilibre de la flore bactérienne endogène totale présente dans les grains de blé peut être affecté par de nombreux facteurs importants pour le développement de certaines bactéries, levures et des moisissures responsables de la fermentation spontanées des grains (**Yao et al., 2009**).

L'hydrolyse des protéines en polypeptides et en acides aminés assimilables par les microorganismes ne se fait que très lentement dans les conditions de stockage (**Multon, 1982**). La plupart des protéases microbiennes sont spécifiques. Elles agissent aussi bien sur les protéines que sur les oligopeptides, il s'agit des enzymes généralement exo-cellulaires (**Guiraud, 2003**)(**Figure 09**).



**Figure 09:** Electrophorèse sur gel polyacrylamide (15%) en présence de SDS des albumines/globulines avec et sans  $\beta$ -mercaptoéthanol.

- 1- Kit protéique sans  $\beta$ -mercaptoéthanol (Lactoferrine 80 kDa, SAB 68 kDa, Ovalbumine 45kDa, Caséines 19-25 kDa,  $\beta$ -Lactoglobuline,  $\alpha$ -Lactalbumine).
- 2- Kit peptidique avec  $\beta$ -mercaptoéthanol (Triose phosphate Isomerase from rabbit muscle 26.6kDa, Myoglobin from horse heart 17 kDa,  $\alpha$ -Lactalbumine from bovine milk 14.2kDa, Aprotinin from bovine lung 6.5kDa, Insulin chain B, oxidized, bovine 3.496 kDa, Bradykinin 1.06 kDa).
- 3- Blé dur normal sans  $\beta$ -mercaptoéthanol.
- 4- Blé dur fermenté BFH sans  $\beta$ -mercaptoéthanol.
- 5- Kit protéique sans  $\beta$ -mercaptoéthanol (Lactoferrine 80 kDa, SAB 68 kDa, Ovalbumine 45kDa, Caséines 19-25 kDa,  $\beta$ -Lactoglobuline,  $\alpha$ -Lactalbumine).
- 6- Kit protéique avec  $\beta$ -mercaptoéthanol (Lactoferrine 80 kDa, SAB 68 kDa, Ovalbumine 45kDa, Caséines 19-25 kDa,  $\beta$ -Lactoglobuline,  $\alpha$ -Lactalbumine).
- 7- Kit peptidique avec  $\beta$ -mercaptoéthanol (Triose phosphate Isomerase from rabbit muscle 26.6kDa, Myoglobin from horse heart 17 kDa,  $\alpha$ -Lactalbumine from bovine milk 14.2kDa, Aprotinin from bovine lung 6.5kDa, Insulin chain B, oxidized, bovine 3.496 kDa, Bradykinin 1.06 kDa).
- 8- Blé dur normal avec  $\beta$ -mercaptoéthanol.
- 9- Blé dur fermenté BFH avec  $\beta$ -mercaptoéthanol.
- 10- Kit protéique avec  $\beta$ -mercaptoéthanol (Lactoferrine 80 kDa, SAB 68 kDa, Ovalbumine 45kDa, Caséines 19-25 kDa,  $\beta$ -Lactoglobuline,  $\alpha$ -Lactalbumine).

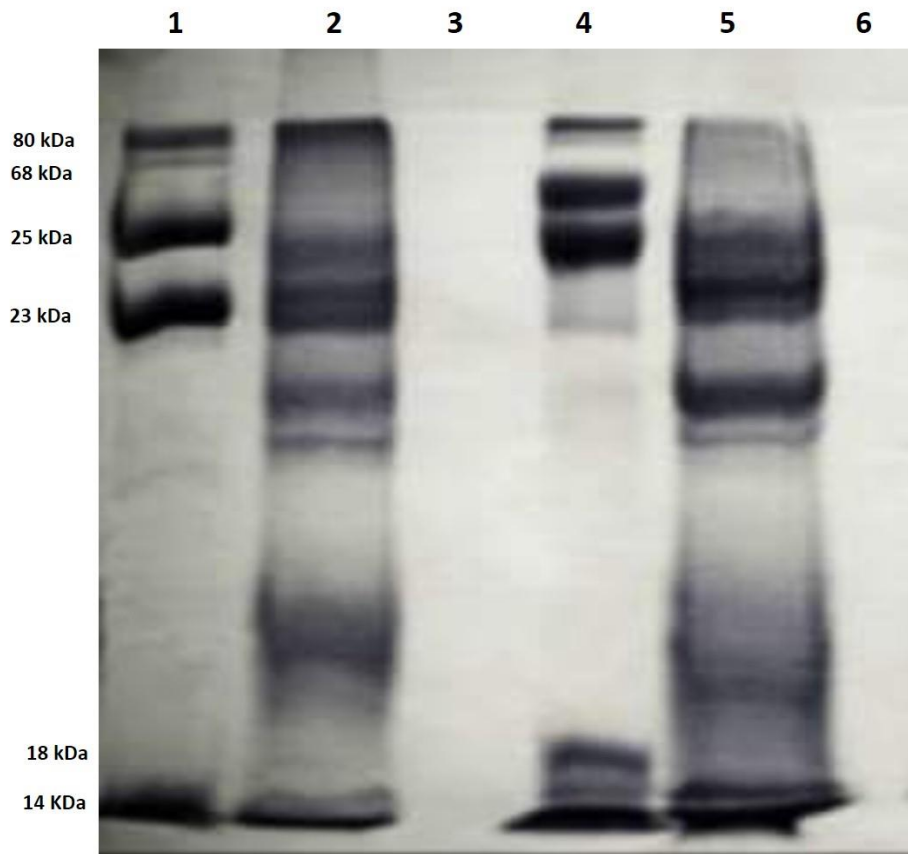
L'électrophorèse sur gel SDS page à 10 % a également montré une dégradation totale à 100% de la gliadine qui est une protéine soluble dans des solutions d'éthanol diluées ayant un poids moléculaire de 30 kDa et 80 kDa. Gourchala et al (2014) ont montré que la dégradation des gliadines a été de 57.3 %, ceci explique en partie la dépolymérisation du gluten (**Figure 10**).

La qualité des protéines est un caractère extrêmement sensible et seulement une partie est influencée par l'environnement (**Liu et Shepherd, 1995**). Sur le plan quantitatif, la teneur en protéines dépend essentiellement des conditions agronomiques du développement de la plante dans son biotope. Sur le plan qualitatif, elle est basée sur des propriétés différentielles, celles-ci étant liées au patrimoine génétique de la variété (**Mok, 1997**).

Le taux de protéines dans le blé fermenté est faible par rapport à celui du blé non fermenté BFH. Cela peut être expliquée selon les travaux de Mugula et al (2003) qui ont constaté que la fermentation des céréales par les bactéries lactiques signale une augmentation des acides aminés libres et leurs dérivés par protéolyse et / ou par synthèse métabolique. La lyse des cellules par une charge microbienne élevée peut également provoquer une diminution des molécules azotées.

De même, une amélioration dans la digestibilité des protéines des produits fermentés est principalement associée à une activité protéolytique due à la microflore (**Kohajdova et Karovicova, 2007**). D'après Reed (1981), la fermentation ne peut pas augmenter la teneur en protéines et en acides aminés, à moins que l'ammoniac ou l'urée soit ajoutée en tant que source d'azote dans le milieu de fermentation, métabolites qui pourraient être présents dans le sol, partie intégrante du biotope.

La fermentation permet une amélioration de la valeur nutritionnelle des céréales telles que le blé et le riz, essentiellement par une augmentation de la teneur des acides aminés essentiels comme la lysine, la méthionine et le tryptophane (**Adams, 1990**), ainsi qu'une amélioration de la saveur, la valeur nutritive et la biodisponibilité de la teneur en lysine (**Lee et al., 1999**).

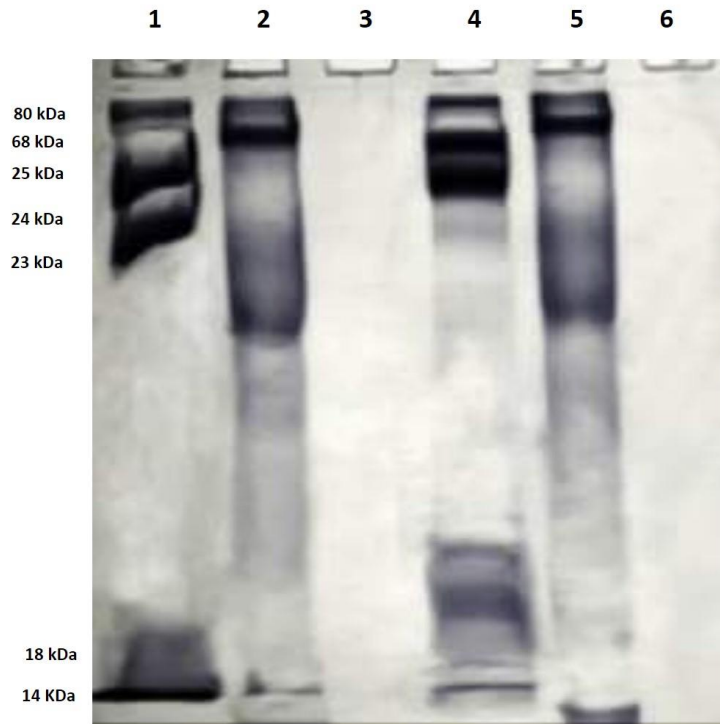


**Figure 10:** Electrophorèse sur gel polyacrylamide (10%) en présence de SDS des gliadines avec et sans  $\beta$ -mercaptoéthanol.

1. Kit protéique sans  $\beta$ -mercaptoéthanol (Lactoferrine 80 kDa, SAB 68 kDa, Ovalbumine 45kDa, Caséines 19-25 kDa,  $\beta$ -Lactoglobuline,  $\alpha$ -Lactalbumine).
2. Blé dur normal BNF sans  $\beta$ -mercaptoéthanol.
3. Blé dur fermenté BFH sans  $\beta$ -mercaptoéthanol.
4. Kit protéique avec  $\beta$ -mercaptoéthanol (Lactoferrine 80 kDa, SAB 68 kDa, Ovalbumine 45kDa, Caséines 19-25 kDa,  $\beta$ -Lactoglobuline,  $\alpha$ -Lactalbumine).
5. Blé dur normal BNF avec  $\beta$ -mercaptoéthanol.
6. Blé dur fermenté BFH avec  $\beta$ -mercaptoéthanol.

L'électrophorèse sur gel SDS page à 10% des gluténines (protéines soluble dans des solutions d'acide dilué ayant un poids moléculaire de 67-120 kDa) avec et sans  $\beta$ -mercaptoéthanol a montré une dégradation totale des gluténines aussi. Cette étude a démontré que la fermentation, dû à l'action des bactéries et des champignons, est à l'origine des modifications de la composition biochimique et la valeur nutritionnelle du blé pendant la période du stockage, en effet le BFH présente un pH acide, il est riche en eau, en cendres, en sucres réducteurs et en polyphénols totaux et pauvre en lipides, en sucres totaux, en fibres et en protéines par rapport au blé non fermenté BNF (**Doukani et al.,2013**).

Gourchala et al (2014) ont montré que la dégradation des gluténines est de 20%, ceci explique en partie la dépolymérisation du gluten. Contrairement à nos résultats qui ont montré une dégradation à 100% ce qui traduit la bonne qualité biochimique et en l'occurrence nutritionnelle de notre BFH, cela pourrait être expliqué par la nature du blé, la durée de stockage, la nature de la semence, le climat et la nature du sol (Biotop) par sa richesse en éléments minéraux ainsi que la nature de la flore bactérienne endogène, ces paramètres ont été soulevés par Prückler et al (2015) (**Figure 11**).



**Figure 11:** Electrophorèse sur gel polyacrylamide (10%) en présence de SDS des gluténines avec et sans  $\beta$ -mercaptoéthanol.

1. Kit protéique sans  $\beta$ -mercaptoéthanol (Lactoferrine 80 kDa, SAB 68 kDa, Ovalbumine 45kDa, Caséines 19-25 kDa,  $\beta$ -Lactoglobuline,  $\alpha$ -Lactalbumine).
2. Blé dur normal BNF sans  $\beta$ -mercaptoéthanol.
3. Blé dur fermenté BFH sans  $\beta$ -mercaptoéthanol
4. Kit protéique avec  $\beta$ -mercaptoéthanol (Lactoferrine 80 kDa, SAB 68 kDa, Ovalbumine 45kDa, Caséines 19-25 kDa,  $\beta$ -Lactoglobuline,  $\alpha$ -Lactalbumine).
5. Blé dur normal BNF avec  $\beta$ -mercaptoéthanol.
6. Blé dur fermenté BFH avec  $\beta$ -mercaptoéthanol.

# Conclusion

Cette étude a été conduite dans le but de comparer la composition biochimique et la valeur nutritionnelle de deux échantillons de blé avant et après fermentation résultante d'un stockage souterrain traditionnel Matmora durant 12 mois dans la wilaya de Mostaganem. Très peu de travaux ont abordé le BFH, c'est pour cela, il nous a paru judicieux de faire une étude qui consiste à connaître l'influence de la fermentation qui est due à la flore bactérienne endogène sur la modification des composants du blé dur.

Les résultats d'électrophorèse sur gel SDS-PAGE à 15% avec et sans  $\beta$ -mercaptoéthanol pour les albumines/globulines et 10 % dans les mêmes conditions pour les gliadines et gluténines après extraction séquentielle de chaque protéines selon sa différence de solubilité ont montré une dégradation totale de ces dernière. Cette différence entre le BFH et BNF est due à l'influence de la fermentation qui dégrade partiellement ou totalement les protéines du blé, les sucres, fractions de gliadines.

Le BFH peut être considéré comme un produit de diète et/ou alicament très intéressant ainsi que pour les personnes diabétique, ayant une allergie et/ou intolérance au gluten.

C'est pour cela, il serait judicieux d'étudier l'allergénicité et l'antigénicité dans certaines situations physiopathologiques par l'apport digestif du BFH pour prouver son efficacité.

# Références

## Bibliographiques

## A

- **Adams M.R (1990).** Topical aspects of fermented foods. Trends in Food Science and Technology; 8: 140-144.
- **Allioui N (1997).** Effet de quelques altérations physiologiques et biochimiques causées par la rouille brune du blé. Thèse Magister .univ. Annaba.
- **Amiour N, Jahier J, Tanguy A.M, Chiron H, and Branlard G (2002).** Effect of 1R (1A), 1R (1B) and 1R (1D) substitution on technological value of bread wheat. Journal of Cereal Science **35** (2) : 149-160.
- **Anderson O.D, Litts F.C, Greene F.C (1997).** The  $\alpha$ -gliadine gene family characterization on ten new wheat  $\alpha$  gliadine genomic clones, evidence for limited sequence conservation of flanking DNA, and southern analysis of the gene family. Theo Appl Genet; 95:50-58.

## B

- **Bajji M (1999).** Etude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur : caractérisation de cultivars différents par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variantes soma clonales sélectionnés In vitro. Thèse de doctorat. Univ Louvain; 65.
- **Barron C, Surget A (2005).** Histologie du grain de blé. Industrie des céréales ; 145:4-7.
- **Bartali E.H, Parsons E et Vertraeten C.H (1994).** La conservation des denrées :cas des céréales In :Agronomie moderne bases physiologique et agronomique de la production végétale T E Ameziane et person (eds). Hatier-Aupelf-Uref (ed) :465-486.
- **Battais F, Richard C, Leduc V (2007).** Les allergènes du grain de blé. Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique ; 47:171–174.
- **Bourras L (2001).** Effet du stress hydrique sur les composantes du rendement de quelques génotypes du blé dur. Thèse de Magister INA El Harrach.
- **Branlard G and Dardevet M (1985).** Diversity of grain protein and bread wheat quality .I. Correlation between gliadin band and flour quality characteristics .Journal of cereal Science : 3 :329-343.
- **Branlard G, Khelifi D, Lookhartt G (1990a).** Identification of some wheat proteins separated by two steps acid poly acrylamide gel electrophoresis and sodium dodecyl sulphate –polyacrylamide gel electrophoresis technique Cereales Chemistry ;69 :677-678.

## C

- **Carine D, Tonart P (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques caractéristiques et intérêts pour la bio conservation des produits alimentaires.
- **Corsetti A, and Settanni.L (2007).** Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Res. Int.* 40, 539–558

## D

- **Djermoun A (2009).** La production céréalière en Algérie: les principales caractéristiques. *Nature et Technologie*; 01:45-53.
- **Doukani K, Tabak S, Gourchala F, Mihoub, Founes M, Benbaguara M (2013).** Caractérisation physico-chimique du blé fermenté par stockage souterrain (Matmora). *Revue Ecologie-Environnement* ; 9 :1112-5888.
- **Doumandji A, Doumandji Mitiche B, Salaheddine D (2003).** Cours de technologie des céréales: technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Ed. Office des Publications Universitaires. Alger ; pp 1-22.
- **Druvefords U.Å (2004).** Yeast Bio control of grain Spoilage Moulds Mode of Action of *Pichia anomala*. Thèse de Doctorat. Université des Sciences Agronomiques, Uppsala, Suède; 466.
- **Dunford N.T (2012).** Food and industrial bioproducts and bioprocessing. Wiley-Blackwell ; 392 P
- **DURON B.S (1999).** Le Transport Maritime des Céréales. Mémoire de D.E.S.S. Université d'Aix-Marseille ; 81p.
- **DOUMANDJI A, DOUMANDJI-MITICHE B & SALAHEDDINE D (2003).** Cours de technologie des céréales technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Office des Publications Universitaires ;1-22p.

## E

- **Evans C.A, and Hendriks C.D (1972).** *Rev. Sci. Instrum.* 43 ; 1527-1530.

## F

- **Feillet P (2000)** .Le grain de blé: composition et utilisation. INRA. Paris.
- **Ferrari J (2002).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles ; *Gnidia involucrata* Steud.ex A.RICH. Thèse de doctorat. Lausanne.

## G

- **Garami M, Schuler D, Babosa M, Borgulya G, Hauser P, Müller J, Paksy A, Szabó E, Hidvégi M, Fekete Gy (2004).** Fermented wheat germ extract reduces chemotherapy-induced febrile neutropenia in pediatric cancer patients, *J. Pediatr Hematol Oncol*; 10: 631-635.
- **Godon B, Loisel W, Buré J (1987).** Guide pratique d'analyse dans les industries des céréales. Tec & Doc. Lavoisier. Aparia Ed .685 p.
- **Gourchala F, Hobamahoro A.F, Mihoub F, Henchiri C (2014).** Effect of natural fermentation on the nutritional quality of "el hammoum" durum wheat (*triticum durum*) fermented product of the Algerian country. *International Journal of Bio-Technology and Research (IJBTR)*; 4: 9-18.
- **Green PH, Cellier C(2007).** *Celiac disease. N Engl J Med*; 357:1731-1743.
- **Guiraud J.P (2003).** Microbiologie alimentaire : Série agro-alimentaire. Ed Dunod : 696.
- **Gupta R.B, and Shepherd K.W (1990).** Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin 2. Genetic control of subunits in species related to wheat. *Theoretical and Applied Genetics* **80**: 183-189.

## H

- **Hemery Y, Rouau X, Lullien-Pellerin V, Barron C, Abecassis J (2007).** Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality. *Journal of Cereal Science*; 46: 327-347.
- **Henry Y, Beyser J (2000).** Origine des blés dans la science – H séné 26 : 60-62.
- **Heredia N, Wesley I, García S (2009).** Microbiologically safe foods. John Wiley; 596p.
- **Hidvégi M, Moldvay J, Lapis K, Ajkay Z (2003).** The fermented wheat germ containing product enhances quality of life for patients with lung cancer, *Pulmonology*.

## I

- **ITCF (2003).** Stockage et conservation des grains à la ferme : 7-15-91-101.
- **Jackson E.A, Holot L.M, and Payne P.I (1983).** Characterization of high molecular weight gliadin and low molecular weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal localization of their controlling genes. *Theor Appl Genet*; **66**:29-37.

## J

- **Jakab F, Shoenfeld Y, Balogh A, Nichelatti M, Hoffman A, Kahan Z, Lapis K, Mayer A, Sapy P, Szentpetery F, Telekes A, Thurzo L, Vagvolgyi A, Hidvegi M (2003).**Un nutriment medical a la valeur de support dans le traitement du cancer colorectal .Cancer du Br J le 4 Aout ,89(3) :465-9.

## K

- **Kasarda D.D (1989).** Glutenin structure in relation to wheat quality, pages 277-302, in: Wheat is unique. Pomeranz, Y, eds., Am. Assoc. Cereal Chern., St Paul, MN.
- **Kloster P, Krechting C.F, and Van Gelder W.M.J (1991).** Quantitative variation in individual high-molecular-weight glutenin subunits of wheat in relation to variation in environmental conditions. J. Sci. Food. Agric ; **57** : 405415.
- **Kohajdova Z, and Karovicova J (2007).** Fermentation of cereals for a specific purpose. J Food and Nutritional. Research ; 46 (2) : 51-57.

## L

- **Laemmli U.K (1970).** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature ; 227 : 680-685.
- **Lee J.H, Lee S.K, Park K.I, Hwang I. K, Ji G.E (1999).** Fermentation of rice using amyolytic Bifidobacterium. International J. of Food Microbiology ; 50:155-161.
- **Liu C.Y, Shepherd K.W (1995).** Inheritance of B subunits of glutenin and gliadins in tetraploid wheats. Theor. Appl. Genet ; 90: 1149-1157.

## M

- **MacRitchie F, DuCros D.L, and Wrigley C.W (1990).** Flour polypeptides related to wheat quality. In : Pomeranz Ed, Advances in cereal science and technology, Am. Assoc. Cereal Chem., St Paul, MN ; **10** :19-145.
- **ManayShakuntala N, Shadaksharaswamy M (2001).**Foods: Facts and principles, Second Edition. New Age International Publishers.
- **MARION D, MUKERJI T, and MAVKO G (1994).** Scale effects on velocity dispersion: From ray to effective medium theories in stratified media, Geophysics ; 59 :1613–1619.

- **Martin S, Andriantsitohaina R (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des poly phénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéologie*; 51: 304-315.
- **Mathew S (2010).** A review on the wheat grain quality under post harvest storage. *International Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences/1 (2)*. ISSN : 0976-6936.
- **Matz S A (1991).** The chemistry and technology of cereals as food and feed. Second
- **Mok C (1997).** Mixing properties of durum wheat semolina as influenced by protein quality and quantity. *Food and Technology* ; 6 (1):1-4.
- **Molinié A, & Pfohl-Leszkowicz A (2003).** Les mycotoxines dans les céréales :les points importants de contrôle de la production au stockage, le devenir dans les produits dérivés. Laboratoire de Toxicologie et sécurité alimentaire-Auzeville- Tolosane. Note de l'ASEDIS-SO N° spécial Mycotoxines : 9p.
- **Moule C (1980).**Orge :In. *Céréales*. Pub. La maison rustique .Paris ; 155-188.
- **Müller R, Müller D, Schierhorn F, Gerold G(2011).** Spatiotemporal modeling of the expansion of mechanized agriculture in the Bolivian lowland forests. *Appl. Geogr.* 31, 631–640
- **Mugula J.K, Sorhaug T, Stepaniak L (2003).** Proteolytic activities in to gwa, a Tanzanian fermented food. *International J of Food Microbiology*; 84:1-12.
- **Multon JL (1982).**Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés : céréales, protéagineux ; oléagineux, aliment pour animaux. *Technique et Documentation Ed Lavoisier Paris* : 576.

## N

- **Nout MJR (2009).** Rich nutrition from the poorest-Cereal fermentations in Africa and Asia.

## O

- **Osborne T.B (1907).**The proteins of the wheat kernel. Carnegie institute, Washington DC Publication; 84:1-119.
- **Osborne T.B (1924).**The vegetables proteins 2<sup>nd</sup> Edition. Longmans, Green & Co-edition London, England;154p.

- **Ouoba L.II, Diawara B, Annan N.T, Poll L, Jakobsen M (2005).** Volatile compounds of Soumbala, a fermented African locust bean (*Parkia biglobosa*) food condiment, *Journal of Applied Microbiology*; **99**: 1413-1421.

## P

- **Paul Ross R, Morgan S, Hill C (2002).** Preservation and Fermentation: present and future, *Journal of Food. Microbiol*; 79: 3– 16.
- **Payne P.I, Holt L.M, and Jackson E.A (1984 b).** Genetical analysis of wheat endosperm storage proteins. In : Proc 2<sup>nd</sup> Int Workshop Gluten Proteins (Graveland A and Moomen JHE Eds) Wageningen, The Netherlands : 11-119.
- **Payne P.I (1987).** Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread- making quality. *Annual Revue Of Plant Phisiology* ; **38** : 141- 153.
- **Payne P.I, Nighting M.A, Krattinger A.F, and Holt L (1987).** The relationship between HMW glutenin composition and the bread-making- quality of British grown varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* ; **40** :51-65.
- **Payne P.I and Corfield K.G (1979).** Subunits composition of glutenin wheaty proteins isolated by filtration in a dissociating medium. *Planta* ; **145** : 83-88.
- **Payne P.I, and Corfield K.G, and Blackman J.A (1979).** Identification of a high molecular- weight subunits of glutenin whose presence correlates with bread-making quality in wheats of related pedigree. *Theoretical and Applied Genetics* ; **55** : 153-159.
- **Payne P.I, and Corfield K.G, Holt L.M, and Blackman J.A (1981).** Correlation between the inheritance of certain high molecular weight subunit of glutnin and breadmaking quality in progenies of six crosses of bread wheat. *J. Sci. Food Agric* ; **32** : 51-60.
- **Payne P.I, and Lawrence G.J (1983).** Catalogues of alleles of the complex gene loci, Glu-B1 and Glu-D1 which code for high molecular subunits of glutenin in hexaploids wheat. *Cereal Res Commun* ; 11: 29-35
- **Payne P.I (1987).** Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread- making quality. *Annual Review of Plant Phisiology*; **38**: 141- 153.

- **Pomeranz Yeshajahu (1987).** Cereal Crops general. In Modern cereal science and technology Pomeranz Y (eds), VCH Publishers, Inc, New York: 14-23p.
- **Prückler M, Cindy L, Akihito E, Manuel K, Klaus D.K, Francisco S, Eric A, Wolfgang K (2015).** Comparison of homo- and hetero fermentative lactic acid bacteria for implementation of fermented wheat bran in bread; 211-219.

#### R

- **Reed G (1981).** Use of microbial cultures: yeast products. Food Technology ;35 :89-94.
- **Roudaut H, Lefrancq E (2005).** Alimentation théorique:Sciences des aliments. Doin éditeurs. France; 303p.

#### S

- **Selselet-Attou G (1991).** Technologie des céréales et produits dérivés. Institut de Technologie Agricole-Mostaganem. Document à l'usage des étudiants, option: Technologie Agro- alimentaire ; 147p.
- **Shewry P.R, Bradberry D, Franclin J, and White P.R (1984).** The chromosomal localization and linkage relationships of the structural genes for the prolamin storage proteins (secalins) of rye. Theoretical and Applied Genetics ; **69** : 63-69.
- **Shewry P.R, Tatham A.S, Forde J, Kreis M, Miflin B.J (1986).** The classification and nomenclature of wheat gluten proteins. A reassessment. J. Cereal Sci ; 4: 97-106.
- **Shewry P.R, Napier J.A, Tatham A.S (1995).** Seed storage proteins: structures and biosynthesis .Plant.Cell; 7:945-956 p.
- **Shewry P.R and Tatham A.S (1990).** The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. Biochem. J ; 267:1-12.
- **Singh S.P, Gepts P, & Debouk D.G (1991).**Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae).Economic Botany; 45(3) :379-396.
- **Songre O, Mouquet R, Icard V, Humblot, Diawara (2008).** Enzyme activities of lactic acid bacteria from a pearlmillet fermented gruel (ben-saalga) off unfunctionalinterestin nutrition.Int JFood Microbiol; 128; 395-400.
- **Songré-Ouattara L.T, Mouquet R, Icard V, Rochette I, Diawara B, Guyot J.P (2009).** Potential of amylolytic lactic acid bacteria tore place the use of malt

for partial starch hydrolysis to produce African fermented pearl millet gruel for fortified with groundnut, *International Journal of Food Microbiology* ;130: 258-264.

- **Šramková Z, Gregová E, Šturdíka E (2009).** Chemical composition and nutritional quality of wheat grain. *Acta Chimica Slovaca*; 2: 115-138.

#### T

- **Tatham A.S, and Shewry P.R (1985).** The conformation of wheat gluten proteins. The secondary and thermal stabilities of a, b, g-gliadins. *Journal of Cereal Science* ; 3 : 103.
- **Teniola OSA (2001).** The effects of processing methods on the levels of lysine, methionine and the general acceptability of ogiprocessed using starter cultures. *International Journal Food Microbiology*; 63:1-9.
- **Thiele C, Gras S, Ganzle M. (2004).** Gluten hydrolysis and depolymerization during Sourdough fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ; 52 : 1307-1314.
- **Tsao R (2010).** Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. Guelph Food Research Centre, Agriculture et Agri-Food Canada. *Nutriments*; 2: 1231-1246.

#### V

- **Vallega V, and. et Waines J.G (1987).** High molecular weight glutenin subunit variation in *Triticum turgidum* var. *dicoccum*. *Theor Appl Genet* ; **74** : 706-710.
- **Vensel W.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.
- **Viéra-Dalodé G, Jespersen L, Hounhouigan J, Moller P.L, Nago C.M, Jakobsen M (2007).** Lactic acid bacteria and yeasts associated with gowe production from orghumin Bénin. *Journal. Applied. Microbiology*; 103 (2), 342-349.
- **Vierling E (2008).** *Aliments et Boissons: Filière et Produits*. Doin éditeurs. 3<sup>ème</sup> édition; 277p.

#### W

- **Weiser H, Mödl A, Seilmeier W, and Belitz H.D (1987).** High-performance liquid chromatography of gliadins from different wheat varieties:

amino-acid composition and N-terminal amino-acid sequence of components.  
Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und- Forschung ; 185 : 371.

- **Wrigley G.W and Bietz J.A (1988).** Proteins and amino-acids, Y. Pomeranz (ed). Wheat chemistry and technology, 3<sup>rd</sup> Ed, St Paul, MN, American Association of Cereal Chemists: 159 p.

#### Y

- **Yao A.A, Egounlety M, Kouame L.P, Thonart P (2009).** Les bactéries lactiques dans les aliments ou Boissons amylacés et fermentés de l’Afrique de l’Ouest: leur utilisation actuelle. Ann1.Méd. Vét; 153: 54-65.

# ANNEXES

## **Solutions utilisées dans l'extraction séquentielle des fractions albumines/globulines, gliadines et glutenines.**

- **Tampon phosphate Nacl**

**Solution1** :  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0.05 M Nacl 0.1 M.

**Solution 2** :  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0.05 M Nacl 0.1 M.

Prendre 500 ml de la solution 1 et ajuster à pH7.8 avec solution 2.

- **Solution B1** (à préparer le jour de l'extraction)

Propanol-1(50%)	10 ml
Tris Hcl 1 M pH 8.5	1.6ml
Eau distillée	qsp 20ml
Dithiothréitol (DTT)	1% (p/v)

- **Solution B2** (à préparer le jour de l'extraction)

Solution B1	10 ml
1.4 %-Vinyl-Pyridine (4-VP)	0.28ml

- **Solution C**

SDS	0.2g
Glycérol	4ml
Bleu de Bromophénol	0.002gr
Tris Hcl 1M pH8.5	0.8ml
Eau distillée	qsp10 ml

## Solutions utilisées pour la SDS-PAGE

- **Tampon d'échantillon**

Tris Hcl 1M pH 6.8	5g
$\beta$ mercaptoéthanol	1.5 g
Glycérol	10 ml
SDS	2 gr
Bleu de bromophenol 0.4 %	traces
Eau distillée	50 ml qsp

- **Tampon de migration**

Glycine	57.6 g
Tris base	12 g
SDS	2 g
Eau distillée	2000 ml

- **Tampon de coloration**

Eau distillée	650 ml
Ethanol 96 %	300 ml
Acide acétique	50 ml
Bleu de Coomassie R250	2 g

- **Solution de décoloration**

Eau distillée	650 ml
Ethanol 96 %	300 ml
Acide acétique	50 ml

## Préparation des gels

(Quantités pour une cuve de deux gels)

### Gel de séparation (Running gel) a 15%

Acrylamide à 30 %	1.500ml
Tris-Hcl 2 M Ph 8.8	0665ml
Eau	1.835 ml
SDS à 10%	40 µl
APS à 10 %	40 µ l
TEMED	8 µl

### Gel de séparation (Running gel) a 10%

Acrylamide à 30 %	1000ml
Tris-Hcl 2 M Ph 8.8	0665ml
Eau	2.335 ml
SDS à 10%	40 µl
APS à 10 %	40 µ l
TEMED	8 µl

### Gel de concentration (Stacking-gel):

Acrylamide	0.200 ml
Eau distillée	2ml
Tris-Hcl pH 6.8	0.300 ml
SDS à 10 %	25 µl
APS à 1 %	20 µl
TEMED	4 µl