

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE & POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR & DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES
FACULTE DES SCIENCES
DE LA NATURE ET DE LA VIE
SIDI BEL ABBES

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée par : Mme REMIL Asma épouse Hamid

Spécialité : Sciences biologiques

Option : Biochimie-Immunologie

Intitulé

Etude électrophorétique et physicochimique de quelques variétés de blé et des produits à base de blé consommés dans l'ouest Algérien. Recherche des protéines inductrices de la maladie cœliaque

Soutenue le : / /2018

Devant le jury composé de :

Président :

Mr ABBOUNI Bouziane

Pr Université de Sidi Bel Abbés

Examineurs :

Mr AOUES Abdelkader

Pr Université d'Oran 1

Mr KHAROUBI Omar

Pr Université d'Oran 1

Mr HARIRI Ahmed

MCA Université de Mascara

Mme MEZIANI Samira

MCA Université de Sidi Bel Abbés

Rapporteur :

Mr BENALI Mohammed

Pr Université de Sidi Bel Abbés

Remerciements

Mes premiers remerciements s'adressent à Monsieur BENALI Mohammed, Professeur à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Sidi Bel Abbés pour son encadrement efficace et rigoureux. Je le remercie pour m'avoir dirigé avec beaucoup de compétence, de dévouement, de disponibilité et pour ses judicieux conseils.

Qu'il veuille bien accepter l'expression de ma gratitude et de mon entière reconnaissance.

J'exprime mes plus vifs remerciements à Monsieur ABBOUNI Bouziane, Professeur à l'Université de Sidi Bel Abbés qui a bien voulu accepter de présider ce jury.

Qu'il trouve ici l'expression de ma respectueuse gratitude et mon profond respect.

Monsieur AOUES Abdelkader et Monsieur KHAROUBI Omar, Professeurs à l'Université d'Oran 1, me font l'honneur d'examiner ce travail et de siéger dans ce jury.

Qu'ils trouvent ici l'expression de mes sincères remerciements.

Je suis très sensible à l'honneur que me fait, Monsieur HARIRI Ahmed, Maître de Conférences Classe A à l'Université de Mascara et Madame MEZIANI Samira, Maître de Conférences Classe A à l'Université de Sidi Bel Abbés, en acceptant de juger ce travail.

J'adresse des sincères remerciements à Madame TAGHOUTI Mouna, Ingénieure en Chef Principal et Monsieur KAMAR Mustapha, Technicien de l'Unité de Recherche sur l'Amélioration des Plantes, Conservation des Ressources Phytogénétiques de l'Institut National de Recherche Agronomique de Rabat-Maroc, pour la part active qu'ils ont entreprise dans la réalisation de ce travail et pour leur bonne
humeur.

Résumé

La maladie cœliaque est une entéropathie inflammatoire induite par l'ingestion des protéines de blé. L'objectif de cette étude est d'analyser sur le plan physicochimique et électrophorétique des variétés de blé local et importé dans l'ouest de l'Algérie ainsi que d'étudier la qualité physicochimique et suivre le mode de fabrication de certains produits à base de blé tels que le couscous et les pâtes alimentaires afin de vérifier si effectivement la qualité de ces denrées est responsable de la diminution de la maladie cœliaque comme affirmé par les cliniciens qui rapportent que l'incidence annuelle de la forme symptomatique est en diminution progressive et significative depuis plus de 20 ans. Sur trente quatre échantillons de blé dur et tendre, nous avons déterminé le taux de gluten, le taux de protéines, l'indice de sédimentation de Zéleny des blés tendres et l'indice de sédimentation au SDS du blé dur. Parallèlement, nous avons caractérisé les gluténines et les gliadines de treize variétés céréalières respectivement par électrophorèse monodimensionnelle sur gel de polyacrylamide en milieu dissociant (SDS-PAGE) et acide (Acide-PAGE). Les résultats montrent des taux de gluten allant de $26,82 \pm 3,99\%$ à $56,1 \pm 1,43\%$. Les taux de protéines totales varient de $11,35 \pm 0,42\%$ à $20,57 \pm 0,98\%$. Les variétés étudiées ont des valeurs de Zeleny comprises entre $7,79 \pm 1,45\text{ml}$ et $40,07 \pm 2,96\text{ml}$ pour le blé tendre, et le volume de sédimentation du SDS variait de $24,5 \pm 0,70\text{ml}$ à $51,25 \pm 2,47\text{ml}$ pour les variétés de blé dur. L'étude des électrophorégrammes montre l'existence de fractions α - et ω -gliadines responsables de la maladie cœliaque. De plus, les résultats ont révélé la présence de sous-unités gliadines « γ -45» et de gluténines «SG-FPM Type2» qui sont liées à la bonne qualité de gluten dans certaines variétés de blé. L'étude physicochimique des produits à base de blé permet de trouver des valeurs de gluten et de protéines totales de l'ordre de $(26.23 \pm 0.82)\%$ et $(12.85 \pm 0.28)\%$ respectivement toute en répondant aux normes internationales. Le contrôle de la température au cours de la chaîne de fabrication montre qu'il ya un respect des seuils exigés par les recommandations internationales. On peut conclure que le blé et ses dérivés (couscous et pâtes alimentaires) consommés dans l'ouest d'Algérie présente une bonne qualité en matière de protéines de réserve et ils sont loin d'être responsable de la diminution de la maladie cœliaque dans cette région depuis 1990.

Mots clés : Ouest Algérien, Maladie Cœliaque, Gluténine, Gliadine, Electrophorèse, Produits à Base de Blé.

Abstract

Celiac disease is an inflammatory enteropathy induced by ingestion of wheat proteins. This study aims at analyzing the different varieties of local and imported wheat in Western Algeria at the level of their physicochemical quality. It also tends to follow the manufacturing process of some wheat-based products such as couscous and pasta in order to verify whether the quality of these foods is actually responsible for the decrease of celiac disease as claimed by some clinicians who reported that the annual incidence of symptomatic form has been progressively and significantly decreased for more than 20 years.

We carry out physicochemical analysis of thirty-four samples of durum and bread wheat, such as gluten, proteins. The quality of gluten is measured by Zeleny volume of bread wheat and the SDS sedimentation test for durum wheat. Meanwhile, we characterize glutenins and gliadins into thirteen cereal varieties by monodimensional electrophoresis on SDS-PAGE and Acid-PAGE respectively. The results show that gluten levels' ranges vary from $26.82 \pm 3.99\%$ to $56.1 \pm 1.43\%$. The values of the total protein content have the range of $11.35 \pm 0.42\%$ - $20.57 \pm 0.98\%$. The varieties studied have Zeleny values between 7.79 ± 1.45 ml to 40.07 ± 2.96 ml for bread wheat, and the SDS sedimentation volume ranged from 24.5 ± 0.70 ml to 51.25 ± 2.47 ml for durum varieties. The analysis of the glutenin and gliadin composition of the wheat varieties by electrophoresis showed the existence of α - and ω -gliadins subunits, which are responsible for celiac disease. Furthermore, the results revealed the presence of gliadin subunits " γ -45" and glutenins "GS-LMW Type2" which are related to the good quality of gluten in some varieties of wheat. The physicochemical study of wheat-based products showed a gluten and total protein values of $(26.23 \pm 0.82)\%$ and $(12.85 \pm 0.28)\%$ respectively, all meeting international standards. The control of the temperature during the production line showed that there is a respect of the thresholds required by the international recommendations. As a result, we can conclude that the wheat and wheat-based products consumed in Western Algeria has a good quality of storage proteins. Therefore, it is far from being responsible for the decrease of celiac disease in this region since 1990.

Keywords: Western Algeria, Celiac Disease, glutenin, gliadin, Electrophoresis, Wheat-Based Products.

ملخص

مرض الاضطرابات الهضمية هو اعتلال الأمعاء الالتهابي الناجم عن ابتلاع بروتينات القمح. الهدف من هذه الدراسة هو تحليل أصناف القمح المحلية والمستوردة في غرب الجزائر على المستوى الفيزيوكيميائي والكهربائي، وكذلك دراسة الجودة الفيزيائية والكيميائية ومتابعة عملية تصنيع بعض المنتجات المتحصل عليها من القمح مثل الكسكس والمعكرونة للتحقق إذا ما كانت نوعية هذه الأطعمة هي المسؤولة عن نقص حالات مرض الاضطرابات الهضمية كما ادعي من قبل الأطباء الذين أفادوا بأن معدل الإصابة السنوي بمرض الاضطرابات الهضمية يتناقص تدريجيا وبشكل كبير لمدة تزيد عن 20 عاما.

من بين أربعين عينة من القمح الصلب والقمح اللين، حددنا مستوى الغلوتين ومحتوى البروتين ومؤشر الترسيب لزيليني الخاص بالقمح اللين ومؤشر الترسيب صوديوم دوديسيل كبريتات للقمح الصلب. بالموازاة مع هذا، قمنا بالبحث عن غلوتينينات و غليادينات ثلاثة عشر صنفا من الحبوب بواسطة الهجرة الكهربائية أحادية البعد على سدز-بادج وأسيد-بادج على التوالي. أظهرت النتائج أن مستويات الغلوتين تتراوح بين $3.99 \pm 26.82\%$ إلى $1.43 \pm 56.1\%$. أما مستويات البروتين الكلي فتتراوح من $0.42 \pm 11.35\%$ إلى $0.98 \pm 20.57\%$. وكانت قيم زيليني لأصناف القمح اللين التي تمت دراستها تتراوح بين 1.45 ± 7.79 مل و 2.96 ± 40.07 مل، وتراوح حجم الترسيب من سدز من 0.70 ± 24.5 مل الى 2.47 ± 51.25 مل من أصناف القمح الصلب. ولقد بينت دراسة الهجرة الكهربائية وجود مركبات α - و ω -غليادين المسؤولة عن مرض الاضطرابات الهضمية. بالإضافة إلى ذلك، كشفت النتائج عن وجود غليادين "45- γ " و "وتحت وحدات غلوتينين منخفضة الوزن الجزيئي" المسؤولة عن النوعية الجيدة للغلوتين في بعض أصناف القمح. كما أن الدراسة الفيزيوكيميائية لمشتقات القمح مكنت من الحصول على قيم الغلوتين التالية : $(26.23 \pm 0.82)\%$ بينما كانت القيم الكلية للبروتين $(12.85 \pm 0.28)\%$ و هي مطابقة للمعايير الدولية. و لوحظ أثناء خط الإنتاج السيطرة على درجة الحرارة مع احترام العتبات التي تقتضيها التوصيات الدولية. وفي الأخير، يمكن الاستنتاج أن القمح ومشتقاته (الكسكس والمعكرونة) المستهلكة في غرب الجزائر تتمتع بنوعية جيدة من حيث البروتينات الغلوتينية وهي بعيدة كل البعد على أن تكون مسؤولة عن الحد من مرض الاضطرابات الهضمية في منطقتنا منذ عام 1990.

كلمات البحث: غرب الجزائر، مرض الاضطرابات الهضمية، غلوتينين، غليادين، الهجرة الكهربائية، مشتقات

القمح.

Table Des Matières

Introduction	1
Partie bibliographique	
Chapitre I : Maladie Cœliaque	
I Historique de la maladie cœliaque	5
II Définition de la maladie cœliaque	6
III Formes de la maladie cœliaque	6
III.1 Maladie cœliaque symptomatique	6
III.2 Maladie cœliaque typique	7
III.3 Maladie cœliaque atypique (pauci-symptomatique)	7
III.4 Maladie cœliaque classique.....	7
III.5 Maladie cœliaque non classique.....	8
III.6 Maladie cœliaque asymptomatique	8
III.7 Maladie cœliaque silencieuse	8
III.8 Maladie cœliaque subclinique	8
III.9 Maladie cœliaque réfractaire	8
III. 10 Maladie cœliaque latente.....	9
III. 11 Maladie cœliaque potentielle	9
IV Spectre de la maladie cœliaque.....	9
V Epidémiologie	10
VI Physiopathologie de la maladie cœliaque	12
VII Complications de la maladie cœliaque	13
Chapitre II : Blé et Protéines de Réserve	
I Généralités sur le blé.....	16
I.1 Caractéristiques botaniques	16
I.2 Origines du blé.....	16
II Composition morphologique et histologique	17
III Composition biochimique	18
III.1 Glucides.....	18

III.2 Lipides	18
III.3 Sels minéraux	18
III.4 Enzymes	18
III.5 Protéines	19
III.5.1 Protéines métaboliques.....	19
III.5.1.1 Albumines et globulines.....	19
III.5.1.2 Protéines amphiphiles	20
III.5.2 Protéines de réserve.....	20
III.5.2.1 Gliadines.....	21
III.5.2.1.1 Génétique	21
III.5.2.1.2 Caractéristiques des fractions de gliadines.....	21
III.5.2.1.2.1 Les α - et β - gliadines	21
III.5.2.1.2.2 Les γ - gliadines.....	21
III.5.2.1.2.3 Les ω - gliadines.....	22
III.5.2.2 Gluténines.....	22
III.5.2.2.1 Génétique	23
III.5.2.2.2 Caractéristiques des sous-unités de gluténines.....	23
III.5.2.2.2.1 Sous-unités de gluténines de haut poids moléculaire (SG-HPM)	23
III.5.2.2.2.2 Sous-unités de gluténines de faible poids moléculaire (SG-FPM)	23
VI Séquences peptidiques impliquées dans la maladie cœliaque	24

Partie Expérimentale

Matériel et Méthodes

Déroulement de l'expérimentation.....	28
Partie I : Analyse physicochimique et électrophorétique de blé.....	28
I Matériel végétal	28
II Détermination des caractéristiques physicochimiques de blé par spectroscopie proche infrarouge (NIRS)	30
II.1 Principe.....	30
II.2 Mode opératoire.....	30
III Détermination de l'indice de sédimentation : SDS sédimentation.....	31

III.1 Définition	31
III.2 Principe.....	31
III.3 Réactifs.....	31
III.4 Méthode de travail.....	31
III.5 Expression des résultats	32
IV Extraction des protéines de réserve et caractérisation électrophorétique	32
IV.1 Extraction des gluténines	32
IV.1.1 Principe	32
IV.1.2 Solutions utilisées	32
IV.1.3 Mode opératoire	32
IV.2 Extraction des gliadines	33
IV.2.1 Principe	33
IV.2.2 Réactifs utilisés	33
IV.2.3 Mode opératoire	33
IV.3 Electrophorèse des prolamines en gel de polyacrylamide	33
IV.3.1 Electrophorèse des gluténines sur SDS-PAGE.....	33
IV.3.1.1 Principe	33
IV.3.1.2 Description de l'électrophorèse des gluténines.....	33
IV.3.1.3 Préparation des gels	34
IV.3.1.3.1 Le gel de séparation (running gel)	34
IV.3.1.3.2 Le gel de concentration (stacking gel)	34
IV.3.1.4 Dépôt des échantillons	35
IV.3.1.5 Préparation du tampon d'électrophorèse.....	35
IV.3.1.6 Conditions de migration.....	35
IV.3.1.7 Coloration et décoloration.....	35
IV.3.2 Electrophorèse des gliadines sur Acide-PAGE.....	35
IV.3.2.1 Principe	35
IV.3.2.2 Description de l'électrophorèse des gliadines.....	35
IV.3.2.3 Préparation du gel de séparation	36

IV.3.2.4 Dépôt des échantillons	36
IV.3.2.5 Tampon de migration	36
IV.3.2.6 Conditions de migration.....	36
IV.3.2.7 Coloration et décoloration.....	36
IV.3.3 Photographie et lecture des gels	36
Partie II : Analyse des produits à base de blé et étude de leur mode de fabrication : Cas de couscous et pâtes alimentaires.....	37
I Dosage de gluten.....	37
I.1 Principe	37
I.2 Appareillage.....	37
I.3 Produits	37
I.4 Mode opératoire	37
I.4.1 Préparation de la pâte.....	37
I.4.2 Lixiviation.....	37
I.4.3 Lavage.....	37
I.4.4 Essorage	37
II Détermination des protéines totales par spectroscopie proche infrarouge	38
III Suivi de la chaîne de fabrication	38
III.1 Procédé de fabrication de couscous	38
III.1.1 Hydratation et Roulage.....	38
III.1.2 Roulage et Calibrage	38
III.1.3 Cuisson vapeur	38
III.1.4 Démottage et Emottage	39
III.1.5 Séchage.....	39
III.1.6 Refroidissement.....	39
III.1.7 Recyclage	39
III.2 Procédé de fabrication des pâtes alimentaires.....	39
III.2.1 Hydratation et malaxage.....	39
III.2.2 Pétrissage.....	40
III.2.3 Extrusion	40

III.2.4 Séchage et refroidissement.....	40
III.2.5 Emballage.....	40
Analyse statistique.....	42
Résultats et discussion	
Partie I : Résultats de l'analyse physicochimique et électrophorétique de blé	44
I Paramètres physicochimiques de blé	44
I.1 Evaluation du taux de gluten des variétés de blé étudiées	44
I.2 Evaluation du taux de protéines	44
I.3 Evaluation de l'indice de sédimentation	44
II Etude électrophorétique	46
II.1 Etude de l'homogénéité des variétés analysées	46
II.2 Etude des diagrammes électrophorétiques des gluténines	48
II.3 Etude de diagramme électrophorétique de gliadines	50
Partie II : Résultats de l'analyse physicochimique des produits à base de blé.....	52
I Résultats de dosage de gluten	52
II Résultats de dosage des protéines totales	52
III Résultat de suivi de la température au cours de la chaîne de fabrication.....	53
III.1 Cas de couscous	53
III.1 Cas des pâtes alimentaires.....	53
Discussion	54
Conclusion.....	60
Références bibliographiques	63
Annexes.....	71

Liste Des Abréviations

3SE : Semoule Sauté Super Extra

A: Alanine

C: Cystéine

CD: Cluster of Differentiation

CTLA: Cytotoxic T lymphocyte-associated molecule

D: Aspartate

DTT: Dithiothréitol

E: Glutamine

EATL: Enteropathy-Associated T-cell Lymphoma

EMA : Endomysium Antibody

F:Phenyl alanine

G: Glycine

H: Histidine

HLA: Human Leukocyte Antigen

I: Isoleucine

IEL: Intra Epithelial lymphocytes

IL: Interleukine

ITGC: Institut Technique des Grandes Cultures

K: Lysine

L: Leucine

M: Méthionine

MC : Maladie Cœliaque

MCR : Maladie Cœliaque Réfractaire

Mt : Million de tonnes

N: Asparagine

NIRS: Near Infra-Red Spectroscopy

P: Proline

Q: Glutamine

R: Arginine

RCT : Récepteur des Cellules T

RSG : Régime Sans Gluten

S: Serine

SBA : Sidi Bel Abbés

SDS : Sodium Dodécyl Sulfate

SDS-PAGE : Sodium Dodécyl Sulfate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis

SG-FPM : Sous-unités de Gluténines de Faible Poids Moléculaire

SG-HPM : Sous-unités de Gluténines de Haut Poids Moléculaire

SGM : Semoule Grosse Moyenne

T: Thréonine

TGF: Transforming Growth Factor

Th1: Type 1 T helper

TNF: Tumor Necrosis Factor

tTG: Tissue Transglutaminase

V: Valine

W: Tryptophane

Y: Tyrosine

Liste Des Tableaux

Tableau 1: Incidence de la maladie cœliaque dans les pays du Maghreb	11
Tableau 2: Principales complications de la maladie cœliaque	14
Tableau 3: Composition en protéines de la farine de blé	19
Tableau 4: Teneur en acides aminés des gliadines (nombre de résidus pour 100 résidus)	22
Tableau 5 : Composition en acides aminés des sous-unités gluténines (nombre de résidus pour 100)	24
Tableau 6 : Peptides toxiques de la fraction gliadine	24
Tableau 7 : Peptides immunogènes de la fraction gliadine et gluténine	25
Tableau 8 : Origine et année de récolte des différentes variétés de blé étudiées	29
Tableau 9 : Caractéristiques physico-chimiques des variétés de blé étudiées	45
Tableau 10: Composition des variétés de blé en fractions protéiques (SG-HPM: SG-FPM: gliadines)	51
Tableau 11: Teneur en gluten et protéines totales des produits à base de blé (Moy±ET)	52

Liste des figures

Figure 1 : Modèle de l'iceberg	10
Figure 2 : Courbe d'évolution de l'incidence annuelle de la maladie cœliaque dans la région d'Oranie.....	12
Figure 3 : Mécanisme de la physiopathologie de la maladie cœliaque	13
Figure 4 : Coupe longitudinale d'un grain de blé.....	17
Figure 5 : Composition des protéines de la farine selon le rapprochement entre les classifications d'Osborne et de Shewry	20
Figure 6 : Procédé de fabrication des produits à base de blé chez les deux unités	41
Figure 7: Electrophorégramme des gluténines montrant l'homogénéité des variétés de blé étudiées (Bousselem, Ofento, Semito)	46
Figure 8: Electrophorégramme des gluténines montrant l'homogénéité des variétés de blé étudiées (Waha, Manssourah, Chen's)	47
Figure 9: Electrophorégramme des gluténines montrant l'homogénéité des variétés de blé étudiées (Hedba, Vitron) et l'hétérogénéité de la variété de blé dur importé	47
Figure 10 : Electrophorégramme des gluténines montrant l'homogénéité des variétés de blé tendre étudiées (Arz, Hidab, Ain Abid, Blé tendre importé)	48
Figure 11: Electrophorégramme des gluténines des variétés de blé dur	49
Figure 12: Electrophorégramme des gluténines des variétés de blé tendre	49
Figure 13 : Electrophorégramme des fractions de gliadines	50

Introduction

Le blé est une partie importante de l'alimentation quotidienne de millions de personnes et fait partie des trois grandes céréales avec le maïs et le riz. Actuellement, près de 715 millions de tonnes de blé sont produites chaque année dans le monde. En 2013, La production de blé en Algérie dépasse les 3 millions de tonnes ([FAOSTAT, 2015](#)).

Les blés constituent la principale source de protéines pour l'alimentation humaine. Ils fournissent également une ressource privilégiée pour l'alimentation animale et de multiples applications industrielles ([Bonjean et Picard, 1990](#)).

Les produits à base de blé sont des produits de consommation quasi-quotidienne de tous les ménages, ce sont des produits de base qui se caractérisent par une forte fréquence d'achat. Ils doivent leur valeur nutritionnelle à la semoule de blé dur qui les compose.

Le blé et ses différentes formes sont également responsables des allergies alimentaires. Les protéines de blé peuvent être ingérées et entraîner toute une série de manifestations cliniques digestives, comme dans le cas de l'intolérance au gluten ou maladie cœliaque. Cette dernière est une réaction gastro-intestinale d'hypersensibilité aux protéines du gluten de blé, de l'orge, de l'avoine et de seigle. Elle se caractérise par une réponse immunitaire déclenchée par les lymphocytes T auxiliaires (Th1) en entraînant la destruction de la surface de la muqueuse de l'intestin grêle ([DeFranco et al., 2007](#)).

Durant ces deux dernières décennies, le visage de la maladie cœliaque s'est considérablement modifié. Ainsi, elle est passée du statut de maladie rare touchant surtout l'enfant dans une présentation clinique classique à celui d'une des maladies chroniques les plus fréquentes dans le monde sous les traits d'une affection pouvant être diagnostiquée à tout âge et comprenant surtout des expressions atypiques (celles qui prédominent chez l'adulte). Ce changement de conception est principalement lié au développement de marqueurs sérologiques fiables ([Murray, 1999](#)).

En Algérie, et plus précisément, à l'ouest, la maladie cœliaque connaît une diminution depuis 1990 malgré l'utilisation des marqueurs et des tests sérologiques permettant de détecter des formes silencieuses et latentes de la maladie. Les médecins de la clinique Saint-Michel du CHU d'Oran ont publié un article en 2011 montrant que l'incidence annuelle de la forme symptomatique est en diminution progressive et significative depuis 20 ans ([Bessahraoui et al., 2011](#)). La maladie cœliaque est la conséquence de la présence de trois facteurs, en l'occurrence le gluten, facteur environnemental déclenchant, les haplotypes HLA-DQ2 et

DQ8 qui jouent un rôle prépondérant dans la physiopathologie de la maladie cœliaque et l'autoantigène, la transglutaminase tissulaire ([Frexinos et Escourrou, 1992](#) ; [Meresse et al., 2006](#)). Les cliniciens ont à cet effet suspecté des modifications au niveau des protéines du gluten (prolamines) de blé local et/ou importé.

L'objectif principal de notre travail est d'analyser la quantité et la qualité des protéines et vérifier la présence des prolamines responsables de la maladie cœliaque des variétés de blé dur et tendre importées et cultivées dans l'ouest de l'Algérie en procédant à la caractérisation physicochimique et électrophorétique des protéines de gluten. Notre second objectif consiste à suivre le processus de fabrication et la qualité des protéines de quelques produits à base de blé (Couscous et pâtes alimentaires) dans deux grandes unités de production agroalimentaire de l'ouest algérien : l'unité "Azzouz" de Sidi Bel-Abbés et celle "Safina" de Sig-Mascara.

I. Historique de la maladie cœliaque

La première description d'une entité proche de la maladie cœliaque date de la deuxième moitié du deuxième siècle après Jésus-Christ. L'auteur de cette description est Aretaeus de Cappadoce, dont les écrits furent traduits du grec par Francis Adams en 1856 (Marsh, 1992).

En 1888, Samuel Gee a présenté la première description clinique de la maladie cœliaque (maladie cœliaque également connue sous le nom d'entéropathie au gluten). C'est ainsi que la maladie cœliaque est également connue sous le nom de «maladie de Gee» (Marsh, 1992).

Au début du XXème siècle, Frédéric Still observe que les hydrates de carbone sont bien moins tolérés que les graisses, et montre, en 1918, l'effet particulièrement néfaste du pain chez les malades cœliaques (Uibo *et al.*, 2011).

La cause de l'entéropathie au gluten était inexplicée jusqu'à 1950, ce qu'un pédiatre hollandais, Willem K. Dicke, reconnaît une association entre la consommation du pain et de céréales et des diarrhées récurrentes. Il a découvert la gliadine, la fraction du blé soluble dans l'alcool, et son rôle d'agent déclencheur de la maladie et est ainsi devenu le pionnier dans le régime alimentaire sans gluten (RSG) (Marsh, 1992).

La description par Paulley en 1954 de l'atrophie villositaire de la muqueuse intestinale du grêle et la découverte par Berger en 1958 des anticorps anti-gliadine ont permis d'affiner encore le diagnostic de cette maladie.

La première définition consensuelle de la MC était publiée dans Acta Paediatrica en 1972. Cette publication a défini la MC comme un état permanent de l'intolérance au gluten avec un aplatissement de la muqueuse qui peut être renversé par l'introduction d'un régime sans gluten (RSG), puis rechute après une réintroduction du gluten dans le régime alimentaire (Ludvigsson *et al.*, 2013). Les facteurs de prédisposition génétique HLA-DQ2 et DQ8 sont démontrés grâce aux travaux de Howell en 1986, et décrits par Sollid en 1989 (Marsh, 1992).

Une étape importante dans la pathologie de la MC est l'introduction des critères Marsh en 1992, dans lequel les altérations histologiques de la muqueuse du grêle proximal ont été classées en cinq étapes où la MC passe de lésions pré-infiltratives, infiltratives, hyperplasiques, destructives puis aux lésions hypoplasiques. Sept ans plus tard, Oberhuber et ses collègues ont subdivisé la troisième étape en trois grades (Mathias *et al.*, 2011) en fonction de l'atrophie villositaire (IIIa : atrophie villositaire partielle, IIIb : atrophie villositaire subtotale, IIIc : atrophie villositaire totale) (Richard, 2007).

En 1997, Dieterich et ses collaborateurs ont identifié la transglutaminase tissulaire (tTG) comme l'un des principaux auto-antigènes de la MC. L'étape la plus récente était l'identification de la résistante à la digestion des peptides de la gliadine par Shan en 2002 (Mathias *et al.*, 2011).

Le développement de l'endoscopie digestive et les études immunologiques permettront ensuite de préciser la physiopathologie de la maladie (Weber, 2012).

II Définition de la maladie cœliaque

La maladie cœliaque, sprue non tropicale, entéropathie au gluten ou sprue cœliaque est une intolérance héréditaire au gluten, une protéine présente dans le blé, l'orge et l'avoine, qui entraîne des altérations caractéristiques de la muqueuse de l'intestin grêle, en provoquant une malabsorption (Ruiz, 2007).

Le mot cœliaque signifie littéralement l'abdomen. Cœliaque vient du mot latin «*cœliques*», qui vient du mot grec *koiliakos*. *Koilia* en Grec signifie l'abdomen.

La maladie cœliaque est secondaire à une réaction immuno-allergique aux protéines du gluten et se définit par:

- Un syndrome clinique et/ou biologique de malabsorption entérique globale ou plus souvent dissocié ;
- Une atrophie villositaire totale ou subtotale en histologie au niveau des biopsies duodénales;
- Une régression habituelle des signes anatomiques par le régime sans gluten (RSG) (Bigard, 2001).

Selon la définition d'Oslo (un groupe de travail pluridisciplinaire de 16 médecins de sept pays examinant la littérature des termes liés à la MC), la maladie cœliaque a été définie comme «une entéropathie intestinale chronique auto-immune provoquée par l'exposition au gluten alimentaire, le composant de protéine de blé, de seigle, d'orge, mais pas de maïs, chez les individus génétiquement prédisposés. Les résultats de cette exposition ont un degré variable de dommage intestinal. La MC présente des signes et des symptômes de malabsorption : Diarrhée, stéatorrhée, perte ou échec de la croissance du poids est nécessaire (Di Sabatino and Coazza, 2013).

III Formes de la maladie cœliaque

III.1 Maladie cœliaque symptomatique

Elle est caractérisée par des signes cliniques, des symptômes gastro-intestinaux et/ou extra-intestinaux attribuables à l'apport en gluten.

Les manifestations cliniques de la MC varient d'une personne à une autre pour un large spectre de symptômes. La grande majorité des auteurs décrivant la MC symptomatique ne distinguent pas entre les cœliaques avec des symptômes gastro-intestinaux et ceux avec des symptômes extra-intestinaux (Ludvigsson *et al.*, 2013).

III.2 Maladie cœliaque typique

Historiquement, la MC typique a désigné une entéropathie au gluten présentant des signes ou des symptômes de malabsorption (comme la diarrhée ou la malnutrition) ou un syndrome de malabsorption (indiqué par une perte de poids, stéatorrhée et œdème secondaire à l'hypo-albuminémie). Le mot «typique» indique que cette forme est la forme la plus fréquemment rencontrée de MC. En revanche, de nombreux patients actuels présentent des symptômes tels que l'anémie, la fatigue et les douleurs abdominales (Ludvigsson *et al.*, 2013).

III.3 Maladie cœliaque atypique (pauci-symptomatique)

Historiquement, la MC atypique a été utilisée pour décrire les patients avec entéropathie induite par le gluten, qui n'ont pas de perte de poids mais présentent l'un des symptômes suivants: symptômes gastro-intestinaux, y compris des symptômes évocateurs de syndrome de l'intestin irritable et de dysfonctionnement de foie ; les manifestations extra-intestinales, telles que les symptômes des maladies métaboliques (retard de croissance, dysfonctionnement de la thyroïde (hypo/hyperthyroïdie), neurologiques y compris la dépression et l'ataxie au gluten; les maladies de la reproduction, y compris des anomalies dans la puberté et la ménopause; des maladies cutanées : la dermatite herpétiforme.

La MC atypique a également été utilisée pour désigner les patients avec une entéropathie induite par le gluten avec des carences nutritionnelles significatives (telle que la carence en fer) (Ludvigsson *et al.*, 2013).

III.4 Maladie cœliaque classique

La MC classique présente des symptômes de malabsorption : diarrhée, stéatorrhée, une perte de poids ou un retard de croissance est requis.

La MC classique et typique ont traditionnellement été des concepts similaires définissant la présence d'une entéropathie induite par le gluten présentant une diarrhée, une malnutrition ou un syndrome de malabsorption (indiqué par perte de poids, stéatorrhée et œdème secondaire à une hypo-albuminémie). Les exemples de la MC classique sont des patients souffrant de diarrhée et perte de poids, mais aussi des patients avec perte de poids et anémie.

La MC classique chez l'enfant est souvent caractérisée par un retard de croissance, diarrhée, perte de masse musculaire, perte d'appétit et une distension abdominale. Beaucoup

d'enfants avec MC et malabsorption classique montrent également des signes de détresse émotionnelle (changement d'humeur) et léthargie (Ludvigsson *et al.*, 2013).

III.5 Maladie cœliaque non classique

Cette forme se présente sans signes et symptômes de malabsorption, le patient ne souffre pas de malabsorption (un patient présente une constipation et des douleurs abdominales, mais pas de malabsorption). Les patients atteints de la maladie mono-symptomatique (autre que la diarrhée ou la stéatorrhée) ont généralement une MC non classique (Ludvigsson *et al.*, 2013).

III.6 Maladie cœliaque asymptomatique

La MC asymptomatique n'est pas accompagnée de symptômes, même dans la réponse à une question directe au moment du diagnostic initial. Les individus avec MC asymptomatique ne manifestent pas tous les symptômes couramment associés à la MC et n'ont pas de symptômes qui répondent à un retrait de gluten. Parfois les symptômes mineurs (par exemple, la fatigue) ne sont reconnus qu'après l'introduction d'un RSG (Ludvigsson *et al.*, 2013).

III.7 Maladie cœliaque silencieuse

La MC silencieuse est équivalente à celle asymptomatique (Ludvigsson *et al.*, 2013).

Dans les formes silencieuses, on observe des lésions histologiques propres à la maladie et des anticorps anti-endomysium ou anti-transglutaminase, alors que le sujet ne présente aucun symptôme ou simplement une anémie ferriprive.

Cette forme peut être associée à d'autres maladies à caractère immunitaire telles que la dermatite herpétiforme, le diabète de type 1, la thyroïdite auto-immune et l'arthrite chronique juvénile (Weber, 2012).

III.8 Maladie cœliaque subclinique

La MC subclinique est inférieure au seuil de détection clinique. Le terme subclinique a souvent été utilisé pour désigner la MC silencieuse ou les patients atteints de MC et de symptômes extra-intestinaux (et n'ont pas de symptômes gastro-intestinaux). Le terme a également été utilisé pour les patients atteints de MC qui ont des signes cliniques ou de laboratoire (anémie ferrique, anomalies de la fonction hépatique, défauts de l'émail, lésions endoscopiques accidentels, ostéoporose, etc.) mais aucun symptôme.

III.9 Maladie cœliaque réfractaire

La MC réfractaire (MCR) se caractérise par des symptômes persistants ou récurrents de malabsorption et des signes avec atrophie villositaire malgré un RSG strict pendant une

période supérieure à 12 mois. Les signes comprennent des diarrhées, des douleurs abdominales, perte involontaire de poids, faible taux d'hémoglobine et hypo-albuminémie.

En général, la plupart des patients sont négatifs pour le test EMA (anticorps anti-endomysium) et le tTG (anticorps anti-transglutaminase) au moment du diagnostic différentiel.

La MCR est divisée en deux catégories : type I, dans lequel un phénotype normal des LIE (lymphocytes intra-épithéliaux) est trouvé, et de type II où il y a une expansion clonale d'une population LIE aberrante. Le phénotype anormal est caractérisé par la perte de marqueurs de surface normale CD3, CD4 et CD8 avec conservation de l'expression de CD3 intra-cytoplasmique (Ludvigsson et al., 2013).

III.10 Maladie cœliaque latente

La MC latente est définie par une sérologie positive de la MC chez les patients avec une muqueuse normale, ou absence d'atrophie villositaire et muqueuse normale chez les patients qui sont sous un régime alimentaire contenant du gluten, mais ont plus tôt ou auront plus tard une muqueuse plane quand ils consomment du gluten.

Certains médecins définissent ce type de MC comme tout simplement l'équivalent de MC non diagnostiquée, alors que d'autres se réfèrent à la MC latente comme celle précédée par une autre maladie auto-immune (par exemple, le diabète de type I ou la maladie de la thyroïde). Enfin, la MC latente est parfois utilisée pour désigner la muqueuse normale avec des anomalies non sérologiques, telles que l'augmentation du nombre de lymphocytes T gama (γ) ou delta (δ), ou l'augmentation de la perméabilité muqueuse (Ludvigsson et al., 2013).

III.11 Maladie cœliaque potentielle

Elle se caractérise par un statut génétique et immunologique particulier et des résultats analytiques positifs (anticorps anti-transglutaminase et/ou anticorps endomysium et HLA-DQ2 ou DQ8), mais des biopsies intestinales normales ou des altérations anormales minimales qui représentent une prédisposition à développer dans certaines conditions favorisant une maladie cœliaque active. Ces patients doivent être soumis à des contrôles réguliers (Ludvigsson et al., 2013).

IV Spectre de la maladie cœliaque

La maladie cœliaque a été comparée à un iceberg par le professeur Anne Ferguson. Ce modèle d'iceberg (Figure 1) considère que, à un certain moment de l'évolution, la maladie cœliaque s'exprime peu sur le plan clinique. Il n'illustre qu'un stade de maladie latente, ne s'exprimant pas sur le plan clinique, précède ainsi le diagnostic de maladie cœliaque active.

Pendant cette phase de latence, la biopsie intestinale ne montre pas d'atrophie villositaire, mais des signes d'activation immunologique peuvent être présents dans la muqueuse intestinale ainsi que la présence des auto-anticorps spécifiques. Chez ces sujets, des symptômes peuvent apparaître progressivement accompagnés de lésions intestinales, signant le passage à la forme active de la maladie qui est caractérisée par la présence de symptômes intestinaux ou extra-digestifs, d'une atrophie villositaire avec hyperplasie des cryptes et d'auto-anticorps circulants (Olives, 2013).

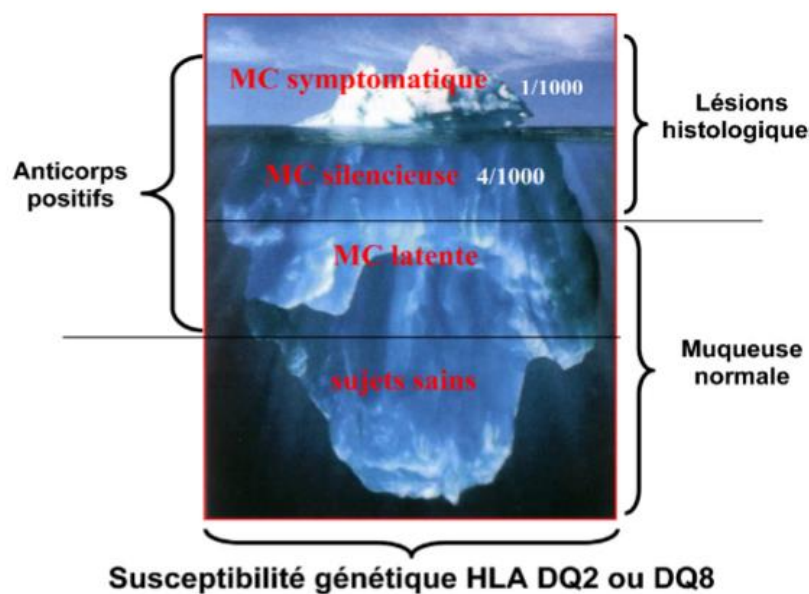


Figure 1 : Modèle de l'iceberg (Fasano et Catassi, 2001).

V. Épidémiologie

La fréquence de la maladie cœliaque (MC) a longtemps été sous-estimée, en raison des formes silencieuses, pauci-symptomatiques ou atypiques qui sont actuellement majoritaires.

Des études séro-épidémiologiques récentes font état d'une prévalence d'environ 1/200 à 1/100 en Afrique du Nord, en Europe et aux États-Unis. La MC affecte essentiellement les sujets de type caucasien. Elle reste exceptionnelle chez les Noirs Africains, les Chinois et les Japonais. Elle a deux pics de fréquence avec une révélation soit à l'enfance ou à l'âge adulte le plus souvent entre 20 et 40 ans. La majorité des diagnostics se font actuellement à l'âge adulte et les formes à révélation tardive sont en constante augmentation. Cette maladie est deux à trois fois plus fréquente chez la femme (Malamut et Cellier, 2011).

Dans les pays du Maghreb, les données statistiques sont différentes d'une région à une autre (Tableau 1) (Bekkat-Berkani, 2000).

Tableau 1: Incidence de la maladie cœliaque dans les pays du Maghreb

Pays	Incidence de la MC	Références
Algérie :		
- Région d'Attatba (1983)	1 cas/278	Bekkat-Berkani, 2000
- Oran (1996)	1 cas/600	
(1989)	4.7/1000 enfants	Boudraa, 2010
(2000)	1.4/1000 enfants	
(2008)	1.2/869 enfants	Bessahraoui, 2011
(2010)	1/869 enfants	
Maghreb :		
- Tunis	1 cas/830	Bekkat-Berkani, 2000
- Casablanca	1 cas/5263	

La prévalence de la maladie cœliaque en Algérie est en nette augmentation dans l'Est. L'étude de [Bouasla et al. en 2011](#) sur la prévalence de la MC à Constantine sur une période de 13 ans (1996-2008) a conclu que cette prévalence était 0.11‰ en 1996 et atteignait jusqu'à 0.97‰ en 2008. Cette valeur reste inférieure que celle de l'extrême Est, car la prévalence de la MC à Guelma était de 1,4‰, 1,7‰ à Mila et 0,88‰ à Khanchela (la moyenne de la prévalence calculée sur les trois villes est au moins 1.33‰).

Dans l'ouest de l'Algérie, une étude rétrospective menée au CHU d'Oran (1975-2007) par [Bessahraoui](#) et ses collaborateurs a montré les résultats mentionnés dans la figure 2. La prévalence a été exprimée en nombre de cas pour 100000 enfants vivants, de moins de 15 ans. Tous les enfants MC ont été comptabilisés. L'incidence a été exprimée en nombre de nouveaux cas annuels pour 1000 naissances vivantes. Tous les patients MC dont la maladie avait été diagnostiquée du 1^{er} janvier 1978 au 31 décembre 2008 et résidant dans la wilaya d'Oran au moins 6 mois avant le début des troubles ont été retenus.

Les résultats montrent une baisse significative et continue de l'incidence de la MC symptomatique depuis 1990. Cette baisse spectaculaire de la fréquence de la MC symptomatique est liée, selon l'étude, à deux facteurs dont le premier est la nature du blé après l'ouverture du marché du blé en Algérie depuis 1990. Le deuxième facteur est le changement de l'expression de la MC dans laquelle les formes asymptomatiques remplacent celles symptomatiques ([Bessahraoui et al., 2011](#)).

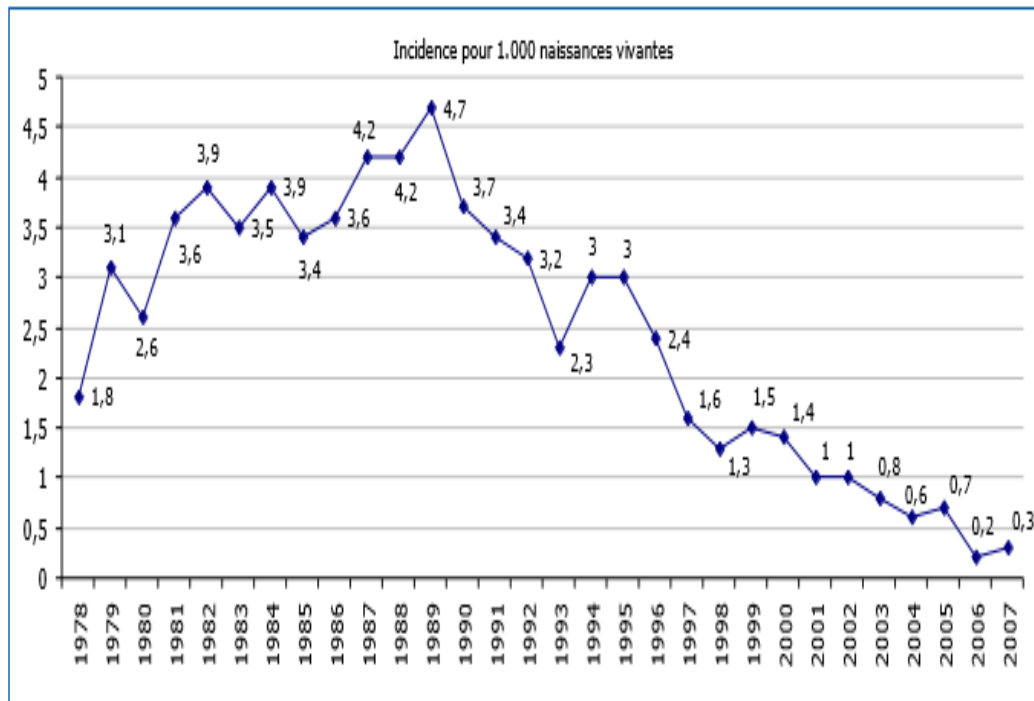


Figure 2 : Courbe d'évolution de l'incidence annuelle de la maladie cœliaque dans la région d'Oranie (Bessahraoui et al., 2011).

VI Physiopathologie de la maladie cœliaque

Lors de la digestion, les peptides toxiques résistent à la protéolyse intraluminaire et de la bordure en brosse ; ils entrent alors dans la sous-muqueuse soit à travers, soit entre les cellules épithéliales, et se transforment en des formes plus antigéniques par l'activité enzymatique de la transglutaminase tissulaire (Heizer, 2011). La transglutaminase tissulaire favorise la réponse immunitaire par la conversion des chaînes latérales des glutamines des peptides toxiques en glutamates, et aussi en interconnectant ces résidus à la lysine dans d'autres protéines, y compris dans l'enzyme elle-même. Les peptides ainsi déamidés par la transglutaminase (TG) dans la muqueuse intestinale se fixent sur les molécules HLA-DQ2/DQ8 à la surface des cellules dendritiques. Celles-ci présentent les complexes peptide-HLA-DQ à des lymphocytes T (LT) CD4+, et initient ainsi la réponse immune adaptative contre le gluten. À travers la production de cytokines (interleukines IL-2 et IL-21), les LT CD4+ spécifiques du gluten coopèrent avec l'IL-15 produite en excès dans l'intestin des patients, pour induire l'expansion et la cytotoxicité des lymphocytes intra-épithéliaux (LIE) CD8+. Les LT CD4+ coopèrent aussi avec les lymphocytes B (LB) afin d'induire leur différenciation en plasmocytes sécréteurs d'IgA anti-gliadines et anti-TG (Clément et al., 2015). Les dommages à la muqueuse de l'intestin grêle se manifestent histologiquement par

des changements progressifs : hyperplasie des cryptes, épaissement et raccourcissement des villosités et atrophie des cellules épithéliales cylindriques (Heizer, 2011).

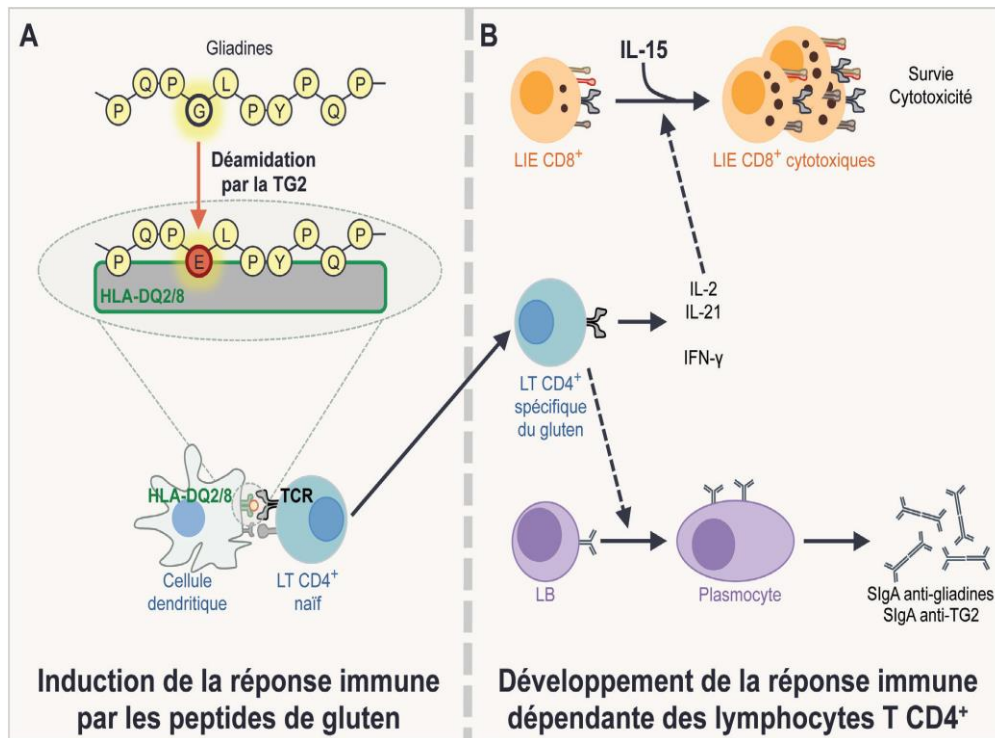


Figure 3 : Mécanisme de la physiopathologie de la maladie cœliaque (Clément *et al.*, 2015).

VII Complications de la maladie cœliaque

Le pronostic à long terme de la maladie cœliaque est dépendant du développement de complications, en particulier l'ostéoporose et les affections malignes. Les complications peuvent révéler la maladie, car l'atrophie villositaire peut n'avoir aucune expression digestive, surtout chez l'adulte, c'est le cas souvent des complications hématologiques et endocriniennes. Elles peuvent aussi apparaître après le diagnostic au cours d'une maladie traitée et surveillée. Dans la plupart des cas, elles se développent à cause d'une mauvaise observance du régime sans gluten (RSG) (Cosnes et Nion-Larmurier, 2011). Le tableau n°2 regroupe les principales complications de la MC.

Tableau 2 : Principales complications de la maladie cœliaque (Cosnes et Nion-Larmurier, 2011)

Complications nutritionnelles	Amaigrissement, dénutrition Retard de croissance (enfant), petite taille Carence en vitamine K Fractures, ostéoporose, ostéomalacie
Complications hématologiques	Anémie ferriprive, hypoferritinémie Anémie macrocytaire, macrocytose Hyposplénisme
Complications endocriniennes	Retard pubertaire, ménopause précoce, Aménorrhée, infertilité, fausses couches
Complications neurologiques	Neuropathie périphérique, ataxie, épilepsie Anxiété, dépression, troubles du comportement démence
Complications cardiovasculaires	Thromboses veineuses Coronaropathies
Complications digestives	Colite microscopique Sprue réfractaire Lymphomes EATL Lymphomes B Cancers digestifs, carcinomes hépatocellulaires
Complications diverses et/ou maladies associées	Hépatopathies Maladies auto-immunes (diabète, thyroïdite...etc.)

I Généralités sur le blé

I.1 Caractéristiques botaniques

Les blés sont des plantes herbacées annuelles, monocotylédones, à feuilles alternes, formées d'un chaume portant un épi constitué de deux rangées d'épillets sessiles et aplatis. Les fleurs sont nombreuses, petites et peu visibles. Elles sont groupées en épis situés à l'extrémité des chaumes. La fleur est dite «cléistogame», ce qui favorise l'autofécondation qui est le mode de reproduction le plus fréquent chez les blés.

Le blé appartient au genre *Triticum* de la famille des graminées (*poacées*). C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscence, appelé caryopse, constitué d'une graine et de tégument (Feillet, 2000).

La période végétative se caractérise par un développement strictement herbacée et s'étend de semis jusqu'à la fin du tallage.

La germination est un ensemble de phénomènes par lesquels la plantule, en vie ralentie dans la graine mure, commence une vie active et se développe grâce à l'énergie contenue dans les réserves de la graine. Pendant la germination, la plantule utilise pour la couverture de ses besoins énergétiques les réserves de la graine (grains d'amidon, grains d'aleurone, lipides, etc.), qui sont transformés, sous l'action d'enzymes appropriées, en substances directement utilisables pour la croissance (glucose, maltose, acides aminés) (Clément, 1981).

Lorsque ces substances sont épuisées, la jeune plante qui possède un appareil racinaire et un appareil aérien formés et fonctionnels, devient autonome et peut assurer elle-même sa propre croissance. Au moment du battage, les glumes et les glumelles sont perdues. Ses réserves sont contenues dans l'albumen composé à 70 % d'amidon et 15 % de gluten (Feillet, 2000).

I.2 Origines du blé

Les deux espèces de blé les plus cultivés sont le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*) mais il existe de nombreuses autres espèces de *Triticum* qui se différencient par leur degré de ploïdie (blés diploïdes: génome AA; blés tétraploïdes: génomes AA et BB; blés hexaploïdes: génomes AA, BB, DD) et par leur nombre de chromosomes. Le blé tendre possède les trois génomes AA, BB, DD constitués chacun de sept paires de chromosomes homéologues numérotés de 1 à 7 (A1...A7, B1...B7, D1...D7), soit au total 42 chromosomes: le blé dur ne contient que les deux génomes AA et BB et 28 chromosomes. La filiation génétique des blés est complexe et incomplètement élucidée. Il est acquis que le génome A provient de *Triticum monococum*, le génome B d'un *Aegilops* (*bicornis*, *speltoides*, *longissima* et *searcii*) et le génome D d'*Aegilops squarrosa* (également dénomé *Triticum*

tauschii). Le croisement naturel *T. monococcum* × *Aegilops* (porteur du génome B) a permis l'apparition d'un blé dur sauvage de type AABB (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*) qui a ensuite progressivement évolué vers *T. durum* (blé dur cultivé). Les blés tendres cultivés (AA BB DD) seraient issus d'un croisement, également naturel entre *T. turgidum* ssp. *dicoccum* (AA BB) et *Aegilops squarrosa* (DD) (Feillet, 2000).

II Composition morphologique et histologique

Morphologiquement, le grain de blé a une forme ovoïde et présente sur la face ventrale un sillon qui s'étend sur toute la longueur. A la base dorsale, se trouve le germe qui est surmonté par une brosse. Le grain de blé mesure entre 5 et 7 mm de long, et entre 2,5 et 3,5 mm d'épaisseur, pour un poids compris entre 20 et 50 mg (Surget et Barron, 2005). Le grain est constitué de différentes couches, ainsi, de la surface externe vers le centre du grain, on trouvera 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 (figure 4).

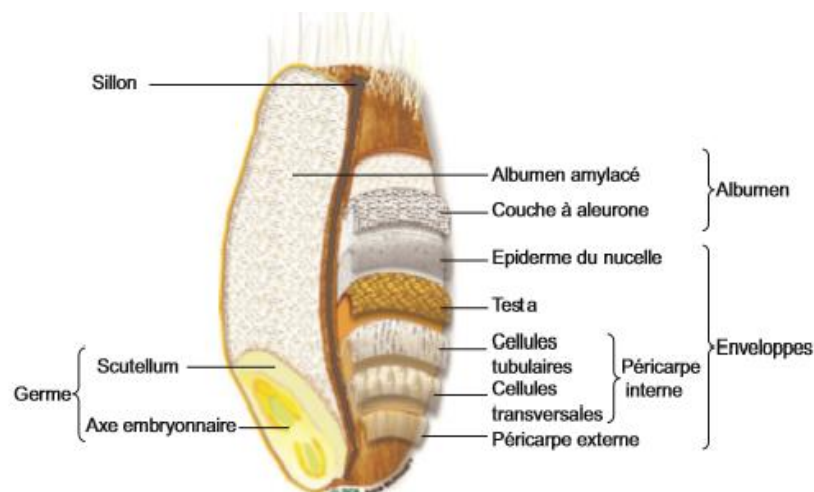


Figure 4 : Coupe longitudinale d'un grain de blé (Surget et Barron, 2005).

Du point de vue histologique, Le grain de blé dur est formé de trois types de tissus : le germe (3%), les enveloppes (13-16% du grain) et l'albumen (80-85% du grain) (Kent et Evers, 1994; Barron et al., 2005).

L'albumen, constitué de l'albumen amylicé (au sein duquel subsistent des cellules remplies de granules d'amidon dispersés au milieu d'une matrice protéique et dont les parois celluloses sont peu visibles) et de la couche à aleurone;

Les enveloppes de la graine et du fruit, formées de six tissus différents: épiderme du nucelle, tégument séminal ou testa (enveloppe de la graine), cellules tubulaires, cellules

croisées, mésocarpe et épicarpe;

Le germe, composé d'un embryon (lui-même formé de la coléoptile, de la gemmule, de la radicule, le coléorhize et de la coiffe) et du scutellum ([Feillet, 2000](#)).

III Composition biochimique

Le grain est principalement constitué de glucides (amidon et fibres, 65-75%) et de protéines (8 à 17%, selon les variétés et les conditions de culture), mais aussi de lipides (2-6%), d'eau (12-14%) et de micronutriments ([Pomeranz, 1988](#) ; [Kent et Evers, 1994](#)). Ces constituants se répartissent de manière inégale au sein des différentes fractions histologiques du grain.

III.1 Glucides

Ces substances énergétiques majoritaires dans le grain sont constituées de 80% d'amidon polymère de glucose, il est constitué à 17-28% de chaînes linéaires d'amylose et de chaînes ramifiées plus longues d'amylopectines. Ces deux types de chaînes sont associés dans le grain d'amidon par couches concentriques formant successivement des zones amorphes et des zones cristallines. Un ensemble de composées glucidiques de structure, comme la cellulose, est présent à environ 5% dans le gluten ([Godon, 1991](#)).

III.2 Lipides

Ils sont en faible proportion dans le grain de blé et se trouvent essentiellement dans le germe, les acides gras sont essentiellement des acides gras insaturés (63% d'acide linoléique, 15% d'acide oléique) contre 18% d'acides gras saturés (palmitique). Les deux tiers de ces lipides sont alors libres, alors que les autres sont liés aux autres constituants de la farine (glucides, protides). Ces lipides liés jouent un rôle important dans la cohésion et les propriétés du gluten ([Godon, 1991](#)).

III.3 Sels minéraux

Le taux de sels minéraux de la farine ou de la semoule est fonction du degré de minéralisation du grain, mais surtout des paramètres du conditionnement et du diagramme de mouture (taux d'extraction), mis en œuvre par le meunier ou le semoulier. Le bore (B), le cuivre (Cu), le fer (Fe), le Zinc (Zn), le calcium (Ca), le soufre (S) et le potassium (K) sont les principaux éléments minéraux que constitue la graine de blé ([Hussain et al., 2010](#)).

III.4 Enzymes

Les enzymes sont présentes en petite quantité dans la farine et la semoule. Les plus courantes sont les protéases, les lipases, les lipoxygénases et les amylases ([Boudreau et Ménard, 1992](#)).

III.5 Protéines

En 1907, Osborne était 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 (Shewry, 1996) :

- 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, un acide ou des détergents en présence d'un réducteur (tableau 3).

Tableau 3: Composition en protéines de la farine de blé (Feillet, 2000).

Solvant	Groupe protéique	Protéines totales (%)	Poids moléculaire (Dalton)
Eau	Albumines	15	5 000-30 000
NaCl 0.5 N	Globulines	5	20 000-90 000
Ethanol 70%	Gliadines	30-40	25 000-75 000
Acid acétique	Gluténines solubles	15-20	100 000 et plus
	Gluténines insolubles	25-35	1 000 000 et plus

En 1986, Shewry et ses collaborateurs ont proposé une autre classification comprenant deux grandes catégories de protéines de blé:

- les protéines métaboliques : les albumines et globulines, les amphiphiles ;
- les protéines de réserve : les gliadines et les gluténines (figure 5) (Feillet, 2000).

III.5.1 Protéines métaboliques

III.5.1.1 Albumines et globulines

Les albumines et globulines sont des protéines physiologiquement actives, ce qui signifie qu'une plus grande concentration de ces entités se trouve dans les grains de blé avant maturité. Ces protéines présentent 15 à 20% des protéines totales et sont solubilisées dans les

solutions salines diluées (Boudreau et Ménard, 1992). Ce groupe de protéines est très diversifié par ses propriétés physicochimiques (composition en acides aminés, points isoélectriques et poids moléculaires). Elles participent à la formation du grain et à l'accumulation des réserves dans l'albumen (Vensel *et al.*, 2005).

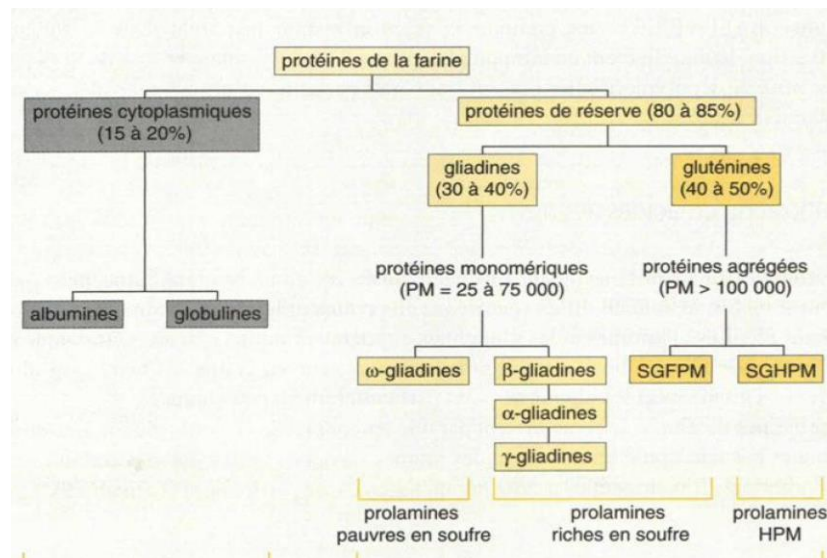


Figure 5 : Composition des protéines de la farine selon le rapprochement entre les classifications d'Osborne et de Shewry (Feillet, 2000).

III.5.1.2 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 puro-indolines qui sont connues pour avoir un effet sur les propriétés technologiques de la pâte (Dubreil *et al.*, 1997).

III.5.2 Protéines de réserve

La concentration de ces protéines augmente avec la maturité du grain pour atteindre une teneur constante au moment de la moisson. Elles présentent 80 à 85% des protéines totales. Ainsi appelées prolamines, ces protéines sont caractérisées par leur composition en acides aminés, très riche en proline et en glutamine. Dans la graine, leur fonction est le stockage d'azote sous forme d'acides aminés utilisables lors de la germination (Boudreau et Ménard, 1992).

La classification des prolamines est assez complexe et fait appel à différents critères : composition en acides aminés, taille, association.

Deux grands groupes de prolamines peuvent être distingués: les gliadines monomériques, c'est-à-dire formées d'une seule chaîne polypeptidique, et les gluténines polymériques formées de l'association de plusieurs sous-unités par des ponts disulfures intermoléculaires (Popineau et Denery-Papini, 1996).

III.5.2.1 Gliadines

Les gliadines, monomériques, représentent environ 45% des prolamines totales et 30 à 40% des protéines totales après extraction des protéines solubles dans l'eau (albumines) et les protéines solubles dans l'eau salée (globulines). Elles sont la fraction soluble dans l'éthanol à 70% des protéines de la farine. Elles représentent un grand polymorphisme d'origine génétique, et une variété de blé peut renfermer entre 20 et 40 constituants différents (Brown et Flavell, 1981 ; Feillet, 2000).

Les gliadines sont divisées sur la base de mobilités électrophorétiques en α -, β -, γ - et ω -gliadines. Leur masse moléculaire estimée par électrophorèse en présence de SDS est comprise entre 30 000 et 40 000Da pour les α / β et γ -gliadines et entre 60 000 et 80 000Da pour les ω -gliadines (Bunce *et al.*, 1985).

III.5.2.1.1 Génétique

Toutes les fractions de gliadines sont codées par les gènes situés sur les bras courts du chromosome 1 au locus Gli-1 et ceux du chromosome 6 (locus Gli-2) (Payne *et al.*, 1982). L'analyse de 45 croisements de 350 variétés de blé a permis d'identifier 120 allèles : 18, 16, 22, 24, 22 et 18 pour les loci Gli-A1, Gli-B1, Gli-D1, Gli-A2, Gli-B2, Gli-D2 respectivement (Feillet, 2000).

III.5.2.1.2 Caractéristiques des fractions de gliadines

III.5.2.1.2.1 Les α - et β - gliadines

Les α - et β - gliadines représentent 44-60% des gliadines totales (Wieser *et al.*, 1994) et possèdent six cystéines engagés dans des liaisons intramoléculaires. Leur domaine N-terminal répétitif contient une majorité de coudes β contribueraient à la formation d'une structure en spirale. Le domaine C-terminal est constitué d'hélices α et serait plus compact. Compte tenu de leur grande similarité (même composition, même structure, même loci), la différence entre les α - et les β - gliadines peut paraître artificielle. Donc les deux groupes peuvent se réunir dans la même famille de α - gliadines ou α/β gliadines (Feillet, 2000).

III.5.2.1.2.2 Les γ - gliadines

Elles représentent 30 à 46% des gliadines totales (Wieser *et al.*, 1994). Elles contiennent huit cystéines, généralement engagées dans quatre ponts disulfures

intramoléculaires, et présentent une forte analogie structurale avec les sous unités gluténines de faible poids moléculaire (SG-FPM). Leur composition en acides aminés est proche de celle des α -gliadines, mais se différencie néanmoins par une teneur légèrement plus élevée en glutamine, proline et phénylalanine et plus faible en tyrosine (tableau 4). Leur structure tridimensionnelle est similaire. Le domaine C-terminal est particulièrement riche en hélices α (Feillet, 2000).

III.5.2.1.2.3 Les ω - gliadines

Elles représentent 6-20% des gliadines totales (Wieser *et al.*, 1994) et se différencient des α -, β - et γ -gliadines par leur teneur très élevée en glutamine, proline et phénylalanine et par l'absence d'acides aminés soufrés (cystéine et méthionine) (tableau 4) ; elles sont donc dépourvues de ponts disulfures et sont incapables à participer à la formation d'un réseau protéique par formation de liaisons covalentes. Leur structure secondaire contient de nombreux coudes β et elle aurait la forme d'un bâtonnet (Feillet, 2000).

Tableau 4 : Teneur en acides aminés des gliadines (nombre de résidus pour 100 résidus) (Feillet, 2000).

Gliadines	α	β	γ_2	γ_3	ω_1	ω_5
Tryptophane	3	4	6	5		
Lysine	5	6	7	7	3	5
Histidine	25	13	14	16	6	13
Arginine	24	16	15	16	3	9
Acide aspartique	30	24	18	17	2	6
Thréonine	16	15	20	22	17	8
Sérine	52	54	49	42	56	37
Acide glutamique	372	389	391	396	437	534
Proline	155	169	189	187	300	200
Glycocolle	25	25	27	27	10	11
Alanine	29	27	30	32	4	6
Cystéine	19	23	19	20	0	0
Valine	40	46	34	37	4	4
Méthionine	12	6	17	14	0	0
Isoleucine	41	42	37	35	16	37
Leucine	81	71	72	65	39	35
Tyrosine	31	33	5	4	15	8
Phénylalanine	39	35	52	56	90	87

III.5.2.2 Gluténines

Les gluténines sont la fraction des protéines du blé insolubles dans l'eau, les solutions salines et l'éthanol à 70%. Elles représentent 40 à 50% des protéines totales de la farine. Légèrement plus riches en acides aminés basiques que les gliadines, elles se caractérisent

comme celles-ci par leur richesse en proline et en acide glutamique. Elles constituent une famille hétérogène de polymères résultant de la polymérisation de sous-unités gluténines de hauts (SG-HPM) et de faibles (SG-FPM) poids moléculaires et forment des agrégats très complexes. Leurs poids moléculaires sont compris entre quelques centaines de mille et plusieurs millions de daltons (Feillet, 2000).

III.5.2.2.1 Génétique

Les SG-HPM sont codées par les gènes situées sur le bras long du chromosome 1 au locus Glu-1 (Payne *et al.*, 1980), tandis que les SG-FPM sont codées par des gènes du locus Glu-3 sur le bras court du chromosome 1 et qui est étroitement lié au locus Gli-1.

III.5.2.2.2 Caractéristiques des sous-unités de gluténines

III.5.2.2.2.1 Sous-unités de gluténines de haut poids moléculaire (SG-HPM)

Le poids moléculaire des SG-HPM est compris entre 67 495 et 88 137 Da. Ce sont des protéines linéaires qui doivent leurs propriétés à la présence de résidus cystéines en positions C- et N-terminales et une région centrale dont la structure, répétitive, contribuerait à l'élasticité du gluten. Leur teneur en glycoColle est particulièrement élevée, cinq fois plus que celle des albumines et globulines, 10 fois plus que celle des gliadines et des SG-FPM mais celle en phénylalanine est très faible (tableau 5).

Les domaines N- et C-terminaux ont une structure globulaire en hélices α et entourent un domaine répétitif central, de longueur moyenne estimée à 500Å, qui possède une conformation en spirale basée sur la présence de coudes β (Feillet, 2000).

III.5.2.2.2.2 Sous-unités de gluténines de faible poids moléculaire (SG-FPM)

Représentent 60 à 80%, voire 90% des gluténines, soit 20-30% des protéines totales. Leur masse moléculaire est comprise entre 36 et 44KDa. Elles sont classées sur la base de leur poids moléculaire ou de la composition en acides aminés de leur séquence N-terminale. Elles ont une composition en acides aminés voisine de celle des α - et γ -gliadines mais avec davantage de sérine et de valine et moins d'acide aspartique et d'alanine. Elles contiennent une teneur élevée de cystéine et acides aminés non polaires (phénylalanine, leucine, isoleucine, valine, méthionine) ce qui les rend particulièrement hydrophobes. Leur teneur en glycoColle est faible.

L'analyse de leur structure fait ressortir deux grands domaines : un domaine répétitif situé à l'extrémité N-terminale, riche en proline et en glutamine et dépourvu en cystéine ; un domaine variable pauvre en proline et riche en cystéine (Feillet, 2000).

Tableau 5 : Composition en acides aminés des sous-unités gluténines (nombre de résidus pour 100) (Feillet, 2000).

Acide aminé	SG-FPM	SG-HPM	Acide aminé	SG-FPM	SG-HPM
Tryptophane	0-0,6	0,6-1,2	Glycocolle	1-3,3	17,6-20
Lysine	0,2-0,9	0,6-1,4	Alanine	1,7-4,8	2-3,7
Histidine	1,3-1,9	0,5-2,1	Cystine	1,9-2,6	0,5-1,1
Arginine	1,2-2,4	1,1-2,4	Valine	3,8-5	1,4-2,5
Acide aspartique	0,3-1,5	0,4-0,8	Méthionine	0,9-1,6	0,1-0,6
Thréonine	1,8-2,9	2,9-3,8	Isoleucine	3,6-4,5	0,5-1,3
Sérine	5,4-9,5	5,7-8,8	Leucine	5,3-8,7	2,9-4,9
Acide glutamique	34-39,6	35,5-37,9	Tyrosine	1-2,2	5,3-7
Proline	13,7-16,2	10,8-13,2	Phénylalanine	3,5-5,5	0,1-0,4

IV Séquences peptidiques de gluten impliquées dans la maladie cœliaque

Il existe de nombreux fragments peptidiques de gluten, stimulatrices de lymphocytes T. Certains fragments sont «toxiques» et d'autres «immunogènes». Ceux qui sont définis comme «toxiques» sont capables d'induire des lésions muqueuses lorsqu'ils sont ajoutés en culture à une biopsie endoscopique duodénale ou lorsqu'ils sont administrés in vivo, tandis que ceux définis comme «immunogènes» sont capables de stimuler spécifiquement les clones de lymphocytes T isolés de la muqueuse jéjunale ou du sang périphérique de patients cœliaques. Les tableaux 6 et 7 montrent, respectivement, les peptides toxiques et immunogènes impliqués dans la MC (Ciccocioppo et al., 2005).

Tableau 6 : Peptides toxiques de la fraction gliadine (Ciccocioppo et al., 2005)

Séquences d'acides aminés	Position	Toxicité
VPVPQLQPQNPSQQQPQEQ	α 3-21	-
PGQQQPFPPQQPY	α 31-43	+
PGQQQPFPPQQPYPQPQPF	α 31-49	+
PGQQQPFPPQQPYPQPQPFPSQQPY	α 31-55	+
PQPQPFPSQQPY	α 44-55	+
SQQPYLQLQPFQPQLPY	α 51-70	+
LQLQPFQPQLPYPQPQLPY	α 56-75	+
QQYPLGQGSFRPSQQNPQA	α 202-220	-
LGQGSFRPSQQN	α 206-217	+

Tableau 7 : Peptides immunogènes de la fraction gliadine et gluténine (Ciccocioppo et al., 2005)

Séquences d'acides aminés	Position	Immunogénicité
VRVPVPLQLPQNPSQQQPQ	α -gliadine: 1-19	+
QNPSQQQPQEQVPLVQQQ	α -gliadine: 11-28	+
QVPLVQQQQFPGQQQPFPQ	α -gliadine: 21-40	+
PGQQQPFPQPYPQPQPF	α -gliadine : 31-49	+
FPGQQQPFPQPYPQPQPF	α -gliadine: 30-49	+
QPYPQPQFPFSQQPYLQL	α -gliadine: 41-58	+
PQPFPSQQPYLQLQPFQ	α -gliadine: 46-63	+
PQPQLPYPQPQLPY	α -gliadine: 62-75/(a)	-
QLQPFQPQLPY	α -gliadine: 57-68 (a)	+ /+++
QLQPFQ	α -gliadine: 57-63 (a)	+++
LQLQPFQPQLPYPQPQLPYPQPQLPYPQ PQPF	α -gliadine: 57-89/(a)	+ /+++
QLQPFQPQLPY	α -gliadine: 58-69/(a)	+ /+++
PQPQLPYPQPQLPY	α -gliadine: 63-76/(a)	+ /+++
PFRPQQPYPQPQPQ	α -gliadine: 93-106 (a)	+
LIFCMDVVLQ	α -gliadine: 123-132	+
QQPLQYPLGQGSFRPSQQNPQAQG	α -gliadine: 198-222	+
QYPLGQGSFRPSQQNPQA	α -gliadine: 203-220/(a)	+ /+
PSGQGSFQPSQQ	α -gliadine: 205-216/(a)	+ /++
SGQGSFQPSQQN	α -gliadine: 206-217/(a)	+ /++
QGSFQPSQQN	α -gliadine: 208-217/(a)	- /+++
LQPQQPFPQPQPYPQPQPQ	γ -gliadine: 60-79	+
FPQQPQPYPQPQPQ	γ -gliadine: 66-78	+
FSQPQQQFPQPQ	γ -gliadine: 102-113/(a)	- /+
OQPQQSFPEQQ	γ -gliadine: 134-153/(a)	+ /+++
VQGQGIQPQQAQL	γ -gliadine: 222-236/(a)	+ /+
QQQQPPFSQQQQSPFSQQQQ	gluténine: 40-59/(a)	- /+
QQPPFSQQQQPLPQ	gluténine: 46-60/(a)	- /+
SGQGQRPGQWLQPGQGQGYPTSPQQ SGQGQQLGQ	gluténine: 707-742/(a)	+ /+
PGQGQGYPTSPQQSGQ	gluténine: 719-736	+
GYPTSPQQSGQGQQLGQ	gluténine: 725-742	+
GYPTSPQQSG	gluténine: 725-735	+
QGYPTSPQQS	gluténine: 724-734/(a)	- /+
QQGYPTSPQQSG	gluténine: 723-735	+
GQGYPTSPQQSG	gluténine: 722-735	+
GQGYPTSPQQS	gluténine: 722-734	+

(a) : désaminé

Déroulement de l'expérimentation

Notre travail se résume en deux parties ; la première est basée sur l'étude des paramètres physicochimiques et l'analyse électrophorétique des protéines de réserve, responsables de la maladie cœliaque, de différentes variétés de blé consommées à l'ouest d'Algérie durant les années 2013 et 2016. Pour ce faire, nous avons adopté des protocoles qui ont été réalisés au sein du laboratoire de l'amélioration des Plantes, la conservation et la valorisation des ressources phytogénétiques de l'Institut National de Recherche Agronomique (INRA) de Rabat-Maroc.

La deuxième partie consiste à faire une analyse physicochimique des produits à base de blé (couscous et pâtes alimentaires) réalisée dans le laboratoire de Biochimie Appliquée de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Sidi Bel-Abbés et suivre les fluctuations de température au cours du processus de fabrication dans deux grandes unités de l'ouest algérien en l'occurrence l'unité "Azouz" de Sidi Bel Abbés et celle "Safina" de Mascara.

Partie I : Analyse physicochimique et électrophorétique de blé

I Matériel végétal

Afin d'avoir un échantillonnage représentatif, nous avons ciblé les variétés de blé les plus demandées par les agriculteurs et circulées dans l'ouest de l'Algérie.

Pour cela, nous avons procédé initialement à une présélection des variétés de blé dur (*Triticum durum*) et tendre (*Triticum aestivum*) fournies par trois instituts techniques des grandes cultures (ITGC) répartis dans notre région et qui sont responsables de la diffusion du matériel végétal (céréales, légumes secs....) à l'agriculteur : l'ITGC de Sidi Bel Abbés, de Saida et de Tiaret (ITGC, 2003).

D'autre part, un mélange de variétés inconnues de blé dur et tendre importées obtenues de la coopérative de céréales et de légumes secs (CCLS) de Sidi Bel Abbés a été étudié.

La présélection a abouti à un choix de treize variétés soit l'équivalent de trente-quatre échantillons de blé dur et tendre (tableau 8).

Tableau 8: Origine et année de récolte des différentes variétés de blé étudiées

Numéro de la variété	Blé dur (<i>Triticum durum</i>)	Région	Année de récolte
1	Bousselem	SBA*	2013
1'	Bousselem	SBA	2016
1''	Bousselem	Tiaret	2016
2	Ofento	SBA	2013
2'	Ofento	SBA	2016
2''	Ofento	Tiaret	2016
3	Semito	SBA	2013
3'	Semito	SBA	2016
3''	Semito	Tiaret	2016
4	Waha	SBA	2013
4'	Waha	SBA	2016
4''	Waha	Saida	2013
4'''	Waha	Saida	2016
5	Manssourah	SBA	2016
6	Chen's	SBA	2016
6'	Chen's	Saida	2013
6''	Chen's	Saida	2016
7	Hedba	Saida	2013
7'	Hedba	Saida	2016
7''	Hedba	Tiaret	2016
8	Vitron	Tiaret	2016
9	Blé importé	/	2016
	Blé tendre (<i>Triticum aestivum</i>)		
10	Arz	SBA	2013
10'	Arz	SBA	2016
10''	Arz	Saida	2013
11	Hidab (HD1220)	SBA	2013
11'	Hidab	SBA	2016
11''	Hidab	Saida	2013
11'''	Hidab	Saida	2016
11''''	Hidab	Tiaret	2016
12	Ain abid	Saida	2013
12'	Ain abid	Saida	2016
12''	Ain abid	Tiaret	2016
13	Blé importé	/	2016

*Sidi Bel Abbés

II Détermination des caractéristiques physicochimiques du blé par spectroscopie proche infrarouge (NIRS)

La spectroscopie proche infrarouge (dite aussi NIRS, pour Near Infra-Red Spectroscopy) est une méthode spectroscopique non invasive utilisée dans la gamme infrarouge du spectre électromagnétique allant de 780 à 2500nm (Mcclure, 2006).

La spectroscopie proche infrarouge permet de caractériser simultanément de multiples propriétés physicochimiques des aliments et produits alimentaires, à haut débit, et de façon non destructive d'échantillons. Elle mesure la quantité d'un certain nombre de composants présents dans les grains et ses dérivés telles que les protéines, le gluten ou encore le taux de cendres (Mcclure, 2006 ; Compan *et al.*, 2014).

Pour les propriétés qualitatives du blé (absorption d'eau, valeur de sédimentation de Zeleny), des différences plus importantes ont été trouvées entre les données mesurées par la méthode NIRS et les données calculées, la méthode NIRS présente une précision élevée par rapport à d'autres techniques basées sur les calculs (Hrušková *et al.*, 2003).

II.1 Principe

Le principe de fonctionnement se base sur la transmittance de la lumière qui traverse l'échantillon qui est analysé et comparé à une base de données afin de déterminer avec précision la quantité présente des constituants détectés. L'appareil est équipé d'un monochromateur et d'un système de calage automatique. A chaque mise sous tension une série de test est effectuée automatiquement afin d'assurer le bon fonctionnement de l'appareil. Ainsi, La détermination de ces paramètres physicochimiques nécessite un étalonnage préalable mémorisé dans un microprocesseur à l'aide de l'échantillon, de composition connue et un traitement mathématique du spectre résultant de l'analyse de l'échantillon inconnu (Osborne, 2006).

II.2 Mode opératoire

Des mesures de quelques paramètres physicochimiques tels que : le taux de gluten, la teneur en protéines et l'indice de Zeleny (pour les variétés de blé tendre) ont été réalisées sur les variétés de blé dur et tendre en utilisant l'appareil Infraneo Chopin Technologies, France.

Le mode opératoire est simple. Après sélection du produit analysé à l'aide du menu déroulant, l'échantillon (blé dur ou tendre) est versé dans la trémie et le choix de la variété de blé analysé est précisé. Les résultats sont lus après un certain temps sur écran ou peuvent être imprimés. Les taux de gluten et de protéines sont exprimés en pourcentage (%) par rapport à la matière sèche et l'indice de Zeleny est exprimé en millilitre (ml). Toutes les analyses jusqu'à 100 000 sont affichées classées par date afin de garantir une traçabilité.

III Détermination de l'indice de sédimentation (SDS sédimentation)

III.1 Définition

L'indice de sédimentation au Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) est le nombre indiquant le volume exprimé en millilitres, du dépôt obtenu, dans des conditions spécifiées, à partir d'une suspension de mouture entière ou de farine expérimentale de blé dur, dans une solution de SDS et d'acide lactique ([American Association for Cereal Chemistry, 1984](#)).

III.2 Principe

Le principe repose sur l'aptitude du gluten à gonfler en milieu aqueux et à coaguler dans un milieu faiblement acide à l'aide d'une solution SDS-acide lactique ([Dexter et al., 1981](#)). La mouture entière ou la farine expérimentale préparée à partir de blé dur, dans des conditions spécifiées de broyage et de tamisage est mise en suspension dans une solution de SDS-acide lactique. Après des temps d'agitations et des temps de repos définis, on lit le volume du dépôt résultant de la sédimentation des particules de farine ([American Association for Cereal Chemistry, 1984](#)).

III.3 Réactifs

L'eau utilisée pour la préparation des solutions doit être distillée ou avoir une pureté équivalente. Les réactifs utilisés sont le sodium dodecyl sulfate de pureté supérieure à 99 %, l'acide lactique concentré à 85 % et le bleu de bromophénol.

III.4 Méthode de travail

6.3g de chaque échantillon de blé dur, broyé préalablement en fines particules de 1mm de diamètre et mis dans une éprouvette graduée est ajoutée à une solution constituée de 50ml d'eau distillée et quelques gouttes de bleu de bromophénol. Après agitation manuelle pendant 5secondes en mettant l'éprouvette en position horizontale, la solution est placée dans l'agitateur en déclenchant le chronomètre. Deux agitations successives après 2 et 4secondes sont effectuées pendant 15secondes chacune. 6secondes après, les éprouvettes sont retirées de l'agitateur et 50ml du réactif d'acide lactique-SDS (annexe 1) est ajoutée en agitant pendant 15secondes. Deux autres agitations pendant 6secondes chacune sont réalisées après 2 et 4secondes. Les éprouvettes sont ensuite retirées et mis en position verticale et le volume de sédimentation est enregistré après 20minutes. La température du laboratoire est prise en compte pour corriger celle du liquide de sédimentation.

III.5 Expression des résultats

Le nombre indiquant le volume, exprimé en millilitres, du dépôt, représente l'indice de sédimentation par SDS. Le résultat est la moyenne arithmétique de deux déterminations, à condition qu'elles ne s'écartent pas de plus de 2 unités (ml). Le résultat est exprimé en millilitres.

IV Extraction des protéines de réserve et caractérisation électrophorétique

IV.1 Extraction des gluténines

Pour extraire les gluténines, nous avons adopté le protocole d'extraction de [Singh et al. \(1991\)](#) avec quelques modifications.

IV.1.1 Principe

La technique d'extraction de [Singh et al. \(1991\)](#) est une technique de séparation séquentielle des protéines en fonction de leur solubilité dans trois solutions différentes. Elle permet une meilleure séparation des sous unités de gluténines de haut poids moléculaire (HPM) et de faible poids moléculaire (FPM).

IV.1.2 Solutions utilisées

Les solutions utilisées dans l'extraction : Solution A : 50% (v/v) propanol-1, solution B : 50% (v/v) propanol-1 + 0,08M Tris-HCl, pH=8.0, solution B1= solution B (0,1ml) + 1% (w/v) dithiothreitol (DTT) fraîchement ajouté, solution B2= solution B + 1,4 (v/v)% 4-vinylpyridine, solution C : 2% SDS (w/v) + 40% Glycérol (w/v) + 0,02% de bleu de bromophénol (w/v) + Tris-HCl 0,08M (pH=8.0). La préparation des solutions et des tampons se trouve dans la partie annexe (annexe 2).

IV.1.3 Mode opératoire

Le matériel de départ est la farine d'au moins cinq graines choisies de façon aléatoire pour toutes les variétés. L'extraction des gluténines est précédée par une étape de lavage avec la solution A ajoutée à 20mg de chaque échantillon avec agitation au vortex. Le mélange est centrifugé 1min à 10 000g et le surnageant est éliminé. Cette extraction est répétée deux fois pour éliminer toute protéine soluble restante. Les gluténines sont extraites 30min dans 0,1ml de tampon d'extraction (solution B1). Après agitation au vortex, les échantillons sont centrifugés 5minutes à 10 000g. 0,1ml de la solution B2 est ajoutée aux tubes qui sont par la suite incubés pendant 15min à 65°C pour l'alkylation des protéines. Les échantillons sont ensuite centrifugés 2min à 10 000g. Un aliquote de 0,1ml de surnageant est ajoutée à 0,1ml de tampon d'échantillon (solution C) et stocké à -20°C jusqu'à utilisation ([Singh et al., 1991](#)).

IV.2 Extraction des gliadines

IV.2.1 Principe

Les gliadines sont extraites en utilisant la technique de [Bushuk et Zillman, 1978](#). Cette technique se base sur un simple contact entre le grain de blé et une solution d'éthanol aqueux à 70% permettant la solubilisation des fractions de gliadines.

IV.2.2 Réactifs utilisés

Solution d'éthanol aqueux à 70%, glycérol, colorant de vert de méthyle à 1%

IV.2.3 Mode opératoire

Un grain pesé et broyé préalablement en une fine poudre est extrait avec trois fois son poids d'éthanol aqueux à 70% dans un tube Eppendorf en mélangeant brièvement au vortex et en laissant le mélange reposer à température ambiante pendant au moins une heure. Le contenu est ensuite centrifugé pendant 10min à 10 000g à température ambiante. Le surnageant est ajouté à 150µl de glycérol et une petite quantité de colorant de vert de méthyle à 1%.

IV.3 Electrophorèse des prolamines en gel de polyacrylamide

Dans cette étape, nous avons effectué une électrophorèse des gluténines et des gliadines sur SDS-PAGE et Acide-PAGE respectivement.

IV.3.1 Electrophorèse des gluténines sur SDS-PAGE

IV.3.1.1 Principe

La technique SDS-PAGE est décrite pour la première fois par [Laemmli, 1970](#), et modifiée par [Payne et Cornfield, 1979](#). Elle est basée sur le fractionnement des protéines selon leur mobilité, en leur conférant une charge homogène par l'ajout d'un détergeant, le SDS, qui charge négativement les protéines donc les séparer seulement sur la base de leur poids moléculaire.

IV.3.1.2 Description de l'électrophorèse des gluténines

C'est une électrophorèse verticale se fait par système discontinu dans des conditions dénaturantes ([Taham and Shewry, 2000](#)).

En effet, le DTT utilisé dans l'extraction dénature les protéines en rompant les ponts disulfures, et le SDS détruit les liaisons faibles. Ce ci aboutit à la formation d'un complexe SDS-protéines dénaturé avec une charge négative qui masque la charge des protéines et annule ainsi les différences de migration due à la charge électrique. La plus part des protéines peuvent complexer de grandes quantités de SDS, environ 1.4g de dodécylsulfate par gramme de protéines. Cela représente une moyenne de deux molécules de dodécylsulfate par résidu d'acides aminé. Il permet donc une séparation selon la taille, la conformation et le poids

moléculaire. La vitesse de migration des protéines dépend surtout de la taille des mailles des gels et de la température de l'électrolyte (Reynolds et Tanford, 1970).

IV.3.1.3 Préparation des gels

La séparation par la technique SDS-PAGE nécessite la préparation de deux types de gels : un gel de séparation et un gel de concentration. Le gel de séparation permet le fractionnement des protéines selon leurs poids moléculaires, alors que le gel de concentration permet de stoker les impuretés (tamis, etc...) et de tasser les protéines, avant leur rentrée dans le gel de séparation.

IV.3.1.3.1 Le gel de séparation (running gel)

Le gel est préparé avec une concentration de monomère (T) égale à 14% et avec des dimensions de 18*20*1.5cm. Après la préparation des solutions mères (annexe 3), on commence par le montage des plaques nettoyées préalablement avec de l'éthanol. Ces plaques sont placées l'une contre l'autre en les séparant avec deux séparateurs dont la largeur est choisie selon les paramètres recherchés (1.5cm dans notre cas). Ce gel à pH=8,8 est constitué d'acrylamide, N-N'-méthylène-bisacrylamide (bisacrylamide), Tris-HCl et de SDS. Le gel est préparé en respectant les mesures et en travaillant en continuité, puis une étape de dégazage est appliquée. La polymérisation de ces constituants est catalysée par le persulfate (APS) et le tétraméthyléthylènediamine (TEMED), qui sont ajoutés en dernier.

Le remplissage du gel se fait doucement afin d'éviter la formation de bulles d'air. A l'aide d'une seringue, une fine couche de butanol ou d'eau distillée est appliquée tout au long du gel. Le butanol aplatira le gel et fera une barrière contre l'air en évitant l'oxydation. Quand le gel se polymérise, le butanol est éliminé et un rinçage trois fois avec l'eau distillé est effectué.

IV.3.1.3.2 Le gel de concentration (stacking gel)

La concentration de monomère dans le gel de concentration est égale à 4% (T=4%) avec des dimensions de 2*20*1.5cm. Ses constituants sont ceux du gel de séparation mais une différence au niveau de Tris-HCl qui a un pH de 6,8. L'application du gel se fait à l'aide d'une micropipette et le gel est coulé au dessus du gel de séparation, d'une façon plus rapide que pour le premier gel.

Des pistes individuelles sont réalisées par l'utilisation de « peignes » qui séparent le gel et forment des puits égaux permettant la migration des échantillons (Laemmli, 1970).

IV.3.1.4 Dépôt des échantillons

A l'aide d'une micro-seringue (seringue de Hamilton), 20µl de chaque extrait protéique (gluténines) sont déposés dans les puits formés précédemment par les peignes. Les sous-unités des cultivars standards : Karim (7 + 8), Marzak (6 + 8), Duramba (13 + 16), Chinese Spring (7 + 8), Mexicalis (7 + 8), Massira (17+18) et Tilila (7 + 9) sont utilisées comme témoins.

IV.3.1.5 Préparation du tampon d'électrophorèse

Le système tampon Tris-HCl/glycine de [Laemmli, 1970](#), a été utilisé. Après polymérisation du gel, on verse la solution du tampon dans la cuve. Le tampon d'électrophorèse contient de la glycine, du Tris et le SDS (voir annexe 3). Il contient beaucoup d'électrolytes, ce qui permettra au courant électrique de passer dans la cuve et donc aux protéines de migrer.

IV.3.1.6 Conditions de migration

L'électrophorèse est effectuée sous un courant constant d'une intensité de 20mA/gel et d'une tension de 80V. La température est maintenue à 12°C grâce à un système de refroidissement qui lui est raccordé. L'appareil est arrêté après la migration hors du gel du colorant de repérage.

IV.3.1.7 Coloration et décoloration

Après la sortie du front de migration, les gels sont démoulés et mis dans un bac contenant la solution de coloration avec agitation pendant une nuit afin d'homogénéiser la coloration dans tout le gel. Cette dernière se fait avec une solution d'acide acétique à 10% (v/v) contenant 25% (v/v) de méthanol et 0,1% (w/v) de bleu de Coomassie R-250. Les gels sont décolorés en les recouvrant avec l'eau du robinet.

IV.3.2 Electrophorèse des gliadines sur Acide-PAGE

IV.3.2.1 Principe

La technique Acide-PAGE permet une meilleure résolution des gliadines dont les gènes sont sur le groupe 6 car les protéines sont séparées selon leur poids moléculaire mais aussi selon leur charge. Les conditions en milieu acide permettent de fractionner le complexe gliadines ([Bushuk et Zillman, 1978](#)).

IV.3.2.2 Description de l'électrophorèse des gliadines

Les gliadines sont séparées en système continu par électrophorèse Acide-PAGE. La séparation s'effectue à pH acide (pH=3,1). En gel acide les gliadines seront séparées en fonction de leur mobilité croissante : ω , γ , β , α .

IV.3.2.3 Préparation du gel de séparation

Le gel de séparation se compose de 5% de concentration en polyacrylamide. Le gel est constitué d'acrylamide, bis-acrylamide, lactate d'aluminium, acide ascorbique, sulfate de fer (FeSO₄), acide acétique et de l'eau oxygénée (annexe 4) (Bushuk et Zillman, 1978). Le montage est effectué en suivant les mêmes instructions que dans le cas de la technique SDS-PAGE.

IV.3.2.4 Dépôt des échantillons

20µl d'échantillons et de contrôle sont déposés avec soin dans les puits rincés préalablement avec le tampon de migration. Des variétés nationales et internationales comme Karim (7+8), Marzak (6+8) et Duramba (13+16) sont utilisées comme cultivars témoins.

IV.3.2.5 Tampon de migration

Le tampon lactate d'aluminium/acide lactique à pH=3.1 est utilisé selon le protocole de Bushuk et Zillman, 1978 (annexe 4).

IV.3.2.6 Conditions de migration

Pour une cuve de deux gels, les conditions de migration des gliadines sont fixées à 500 V/gel à 15°C pendant environ 3h.

IV.3.2.7 Coloration et décoloration

Les gels sont colorés pendant une nuit avec une solution d'acide acétique à 10% (v/v) contenant 20% (v/v) de méthanol et 0,085% (w/v) de bleu de Coomassie R-250. La décoloration est effectuée avec l'eau de robinet.

IV.3.3 Photographie et lecture des gels

Après décoloration, les gels sont photographiés avec un système de scanner (Vilber Lourmat, Allemagne). La lecture des diagrammes électrophorétiques des gluténines et des gliadines est faite selon la nomenclature de Payne et al., 1982.

Partie II : Analyse des produits à base de blé et étude de leur mode de fabrication : Cas de couscous et pâtes alimentaires

I Dosage de gluten

I.1 Principe

Le dosage de gluten constitue un moyen approximatif d'appréciation de la quantité et de la qualité des protéines insolubles de la farine ou de blé. Il peut se réaliser manuellement ou à l'aide d'appareil spécifique. Pour déterminer la teneur en gluten, nous avons adopté le protocole de [Mauze et al., 1972](#).

I.2 Appareillage

Balance de précision à 0,01 g, Mortier en porcelaine, Spatule, Burette de 10 ml.

I.3 Produits

Solution salée à 2% (20g de chlorure de sodium dans un litre d'eau distillée).

I.4 Mode opératoire

Au moins deux déterminations sont effectuées sur le même échantillon.

I.4.1 Préparation de la pâte

Peser 10g de pâtes alimentaires ou de couscous finement broyés. A l'aide de la burette, verser 5ml de la solution de chlorure de sodium à 2% sur l'échantillon, en s'aidant d'une spatule de façon à obtenir un pâton homogène qu'au bout de 2 à 3 min de pétrissage n'adhère plus au mortier.

La pâte ainsi obtenue est malaxée entre la paume de la main jusqu'à l'obtention d'un pâton doux à toucher. On passe à l'extraction qui dure 8 à 9 min et comporte trois opérations :

I.4.2 Lixiviation

Malaxer le pâton en le plaçant dans la paume de la main tout en versant dessus goutte à goutte mais assez rapidement la solution de chlorure de sodium.

I.4.3 Lavage

Le gluten est lavé en étant malaxé énergiquement entre les mains ouverts jusqu'au moment où l'eau du lavage ne prend plus un aspect laiteux mais à peine trouble (l'eau limpide), ce lavage doit se faire au-dessus du tamis afin de récupérer d'éventuelles petites particules de gluten qui auraient pu s'échapper avec l'eau de lavage. L'amidon est éliminé et il ne reste qu'une masse gommeuse (le gluten se soude à lin).

I.4.4 Essorage

Lorsque le rinçage est terminé, la plus grande partie de la solution du rinçage adhérent à la boucle de gluten est éliminée. Ensuite, le gluten doit être comprimé entre les mains en appliquant cette opération plusieurs reprises jusqu'à ce que le gluten commence à adhérer. Le

gluten est séché entre deux plaques de verres poreuses qui absorbent l'eau et que les on essuie régulièrement, on pèse le gluten et on obtient la masse de gluten humide (Mauze *et al.*, 1972).

II Dosage des protéines totales par spectroscopie proche infrarouge

Le taux des protéines totales des produits à base de blé fabriqué chez les deux unités Azouz et Safina a été déterminé par la technique NIRS expliqué précédemment. Nous avons analysé la matière première telle que : La semoule sassée super extra (3SE), la semoule grosse (SG), la semoule moyenne (SM), ainsi que les produits finis : Le Couscous et les différents types de pâtes alimentaires (escargot, spaghetti, vermicelle, longue oiseau, coude 8, coude 6, fusilli, coquillette).

III Suivi de la chaîne de fabrication

Dans chaque unité, nous avons suivi la chaîne de fabrication pendant 21 jours. Nous avons contrôlé le paramètre température afin de savoir s'il existe des modifications qui peuvent avoir un effet sur le taux de gluten et/ou de protéines des produits étudiés.

III.1 Procédé de fabrication de couscous

Le procédé de fabrication de couscous industriel chez Safina et Azzouz est le même. La figure 6a montre les étapes de fabrication du couscous industriel chez les deux unités.

La température doit être maîtrisée dans trois étapes : Cuisson vapeur, séchage et refroidissement.

Le procédé de fabrication du couscous, adopté par les deux unités, se fait comme suit :

III.1.1 Hydratation et Roulage

Il s'agit de mélanger la semoule avec de l'eau suivant une recette bien déterminée. Ceci se fait dans une mélangeuse automatique pour permettre l'agglomération des particules de matière première afin de former les grains de couscous et d'hydrater suffisamment chaque grain d'amidon pour qu'il puisse être bien cuit en vapeur atmosphérique de 100°C.

III.1.2 Roulage et Calibrage

Le produit ainsi obtenu est introduit dans un rouleau à tambour rotatif qui forme les boules de couscous cru. Deux opérations sont réunies dans un même appareil: une formation des grains sphériques et une sélection granulométrique.

III.1.3 Cuisson vapeur

Après une série de calibration, le couscous est transporté vers un cuiseur vapeur qui assure une cuisson régulière à une température de 110°C avec une faible consommation d'énergie. Cette opération induit de profondes modifications physicochimiques en permettant la gélatinisation des grains d'amidon, la formation de complexes amylose-lipides et

l'insolubilisation des protéines de blé. La cuisson est responsable de la légèreté du produit prêt à être consommé.

III.1.4 Démottage et Emottage

En sortie du cuiseur, la couche de couscous est cassée en mottes à travers un démotteur à arbres à rotation rapide. Ce produit passe ensuite à travers un appareil appelé émotteur qui émiette et pré-calibre le couscous avant d'être transféré à l'étape de séchage.

III.1.5 Séchage

Le but de séchage est de stabiliser le produit à une teneur en eau qui permettra une bonne conservation. Il se fait dans une rotante de séchage à air chaud qui permet un séchage à très haute température (90°C), ce qui signifie que le couscous peut être cuit au moins de 30min.

III.1.6 Refroidissement

Le refroidissement se fait par un refroidisseur à un châssis vibrant. Le couscous est reparti en fine couche sur un châssis perforé. Un courant d'air activé par un ventilateur traverse cette couche puis est refoulé à l'extérieur.

III.1.7 Recyclage

Après refroidissement, le couscous est envoyé vers un tamiseur vibrant qui permet de sélectionner le produit en fonction de la taille. Les graines de couscous fines et moyennes sont transportées pour être stockées puis emballées, les produits non acceptés comme les grosses boules d'une humidité de 13,5% sont renvoyées une autre fois vers le séchoir. Après broyage, les fines reviennent à nouveau dans la mélangeuse avec une teneur en eau différente par rapport au moment de leur sortie de cet appareil.

La poussière récupérée par les deux vis d'extraction de chaque rotante ainsi que les farines du tamiseur sont incorporés automatiquement en continu par un doseur à vis en tête de ligne. Ces recyclages s'effectuent après chaque phase de la ligne.

Le couscous est trié en fonction de sa granulométrie et acheminé vers les silos de stockage. Il présente des particules plus ou moins sphériques, avec une forme homogène et lisse.

III.2 Procédé de fabrication des pâtes alimentaires

III.2.1 Hydratation et malaxage

Le mélange des constituants (semoule+eau) de la pâte s'effectue dans un malaxeur qui tourne à 120 tours/min pendant 20 minutes (figure 6b).

III.2.2 Pétrissage

Afin d'obtenir une pâte homogène, c'est-à-dire où la quantité d'eau est reprise par toutes les particules de semoule, il faut pétrir. On pétrit dans un pétrin continu avec des bras lourds. Ce pétrissage prend entre 15 et 20 minutes.

III.2.3 Extrusion

Il s'agit d'enlever l'air de la pâte pour éviter que cet air soit extrudé dans la pâte qui est poussée à travers une chambre vide. Ensuite, la pâte est poussée dans la vis d'Archimède où se trouvent les moules qui donnent la forme et l'aspect à la pâte. Pour les pâtes longues, telles que macaroni et spaghetti, des moules rectangulaires sont utilisées. Pour les pâtes coupées, on emploie des moules ronds.

III.2.4 Séchage et refroidissement

Les pâtes pressées doivent être séchées à un taux humidité de 12,5% et refroidies jusqu'à 30°C.

III.2.5 Emballage

Les pâtes alimentaires ainsi produites sont passées dans des lignes d'emballage dont le matériel utilisé pour l'emballage est un film polypropylène.

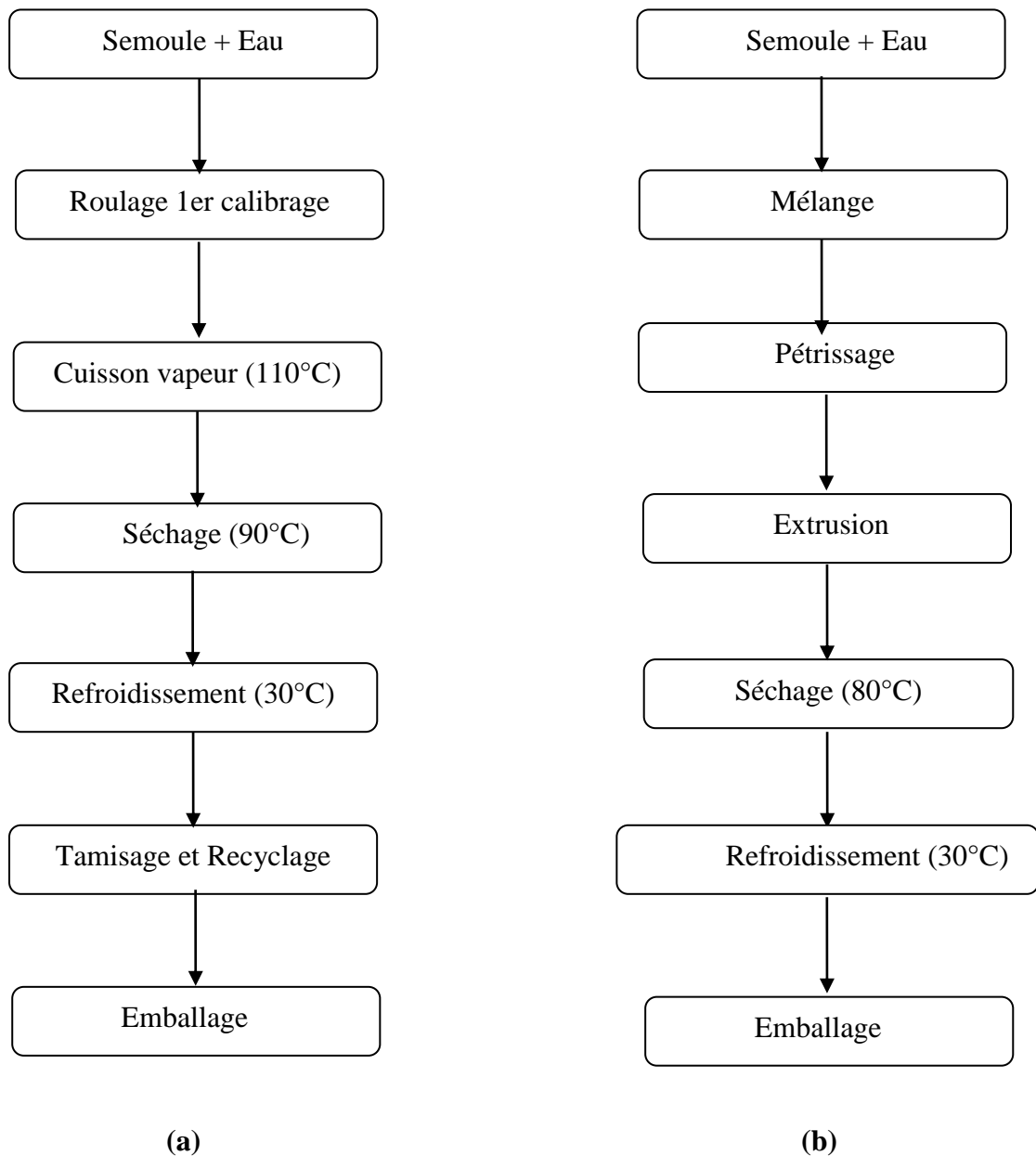


Figure 6 : Procédé de fabrication des produits à base de blé dans les deux unités de production (a) Couscous, (b) Pâtes alimentaires

Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes et leurs écart-types (Moy \pm ET). L'analyse statistique des données est conduite en utilisant le logiciel *Statview 5.0*.

L'analyse de la variance entre les différentes variables et les témoins est réalisée par le test ANOVA et la valeur de $p < 0,05$ est considérée comme significative

Partie I : Résultats de l'analyse physicochimique et électrophorétique de blé

I Paramètres physicochimiques de blé

Les résultats de l'étude des paramètres physicochimiques : taux de gluten, taux de protéines totales, indice de Zeleny de blé tendre et SDS sédimentation de blé dur sont présentés dans le tableau 9.

I.1 Evaluation du taux de gluten des variétés de blé étudiées

Les analyses effectuées sur les grains des variétés testées montrent que le taux de gluten varie entre $23,39 \pm 0,68\%$ et $56,1 \pm 1,43\%$.

Les taux de gluten des variétés 2', 2'', 3, 3', 3'', 4'', 4''', 6', 6'', 7, 7', 8, 10'', 11''', 11'''' et 12' se situent dans une gamme de $37,96 \pm 1,97\%$ à $56,1 \pm 1,43\%$ et sont significativement élevés par rapport à celui du témoin (variété Marzak) ($26 \pm 2,85\%$) ($p < 0,05$).

I.2 Evaluation du taux de protéines des variétés testées

Les valeurs du taux de protéines des variétés de blé dur et tendre oscillent entre $10,45 \pm 1,41\%$ et $20,57 \pm 0,98\%$.

En comparant avec la variété témoin « Marzak », Les variétés céréalières 1, 1', 1'', 2', 2'', 3, 3', 3'', 4'', 4''', 5, 6, 6', 6'', 7, 7', 8, 9, 10, 10'', 11''', 11'''' et 12' présentent des taux moyens de protéines variant de $14,54 \pm 0,05$ à $20,57 \pm 0,98\%$ et sont significativement élevées par rapport au témoin ($12,6 \pm 1,55\%$) ($p < 0,05$).

I.3 Evaluation de l'indice de sédimentation des variétés de blé dur et tendre

Quelque soit la technique utilisée, les volumes de test de sédimentation présentent des variations entre $7,79 \pm 1,45\text{ml}$ et $58,85 \pm 3,04\text{ml}$.

Les valeurs de sédimentation les plus faibles ($12,54 \pm 2,64\text{ml}$) et ($7,79 \pm 1,45\text{ml}$; $8,85 \pm 1,20\text{ml}$; $11,57 \pm 1,44$) sont présentées par les variétés Arz (10') et Hidab (11', 11'', 11''') respectivement.

Les indices de sédimentation des variétés 3', 3'', 6'', 7, 7' et 9 donnent des valeurs qui varient de $51,25 \pm 0,70\text{ml}$ à $58,85 \pm 3,04\text{ml}$ et qui sont augmentées par rapport à la variété contrôle ($42,7 \pm 1,83\text{ml}$) ($P < 0,05$).

Tableau 9 : Caractéristiques physico-chimiques des variétés de blé étudiées. (Les résultats sont présentés sous forme de moyennes (Moy) suivies de l'écart-type (ET))

Numéro de variété	Gluten (%) (Moy±ET)	Protéines totales (%) (Moy±ET)	Indice de Zeleny/sédimentation (ml) (Moy±ET)
Témoin (Marzak)	26±2,85	12,6±1,55	42,7±1,83
1	33,54±3,29	14,32±0,70*	26,5±0,70
1'	33,83±2,61	15,86±1,69*	42,7±1,83
1''	35,96±4,24	14,56±2,26*	42,7±1,83
2	24,37±2,83	11,51±0,28	27,35±0,91
2'	37,96±1,97*	15,75±0,70*	37±1,41
2''	39,95±12,40*	15,82±3,08*	43,35±9,40
3	38,2±1,27*	15,4±0,98*	34,1±1,27
3'	37,93±2,19*	15,52±2,12*	51,25±2,47*
3''	48,7±2,68*	18,1±1,48*	56,05±2,75*
4	31,01±4,27	13,25±0,70	24,5±0,70
4'	31,87±4,42	13,89±0,84	29,35±0,91
4''	41,29±2,97*	16,22±0,70*	27,35±0,91
4'''	53,92±1,10*	20,36±1,41*	42,7±1,83
5	35,54±1,27	14,55±0,01*	37,9±1,55
6	34,45±5,66	14,54±0,05*	37,9±1,55
6'	40,28±3,73*	15,98±0,07*	32,2±1,13
6''	52,99±4,27*	20,03±1,13*	51,25±2,47*
7	56,1±1,43*	20,57±0,98*	29,35±0,91
7'	42,02±2,48*	16,65±0,70*	58,85±3,04*
7''	28,98±1,90	13,84±0,12	37±1,41
8	36,63±13,49*	14,77±3,38*	38,8±1,69
9	32,08±3,88	14,29±1,42*	51,25±2,47*
10	35,7±2,82	14,16±1,49*	28,09±1,27
10'	28,62±2,25	12,86±1,41	8,85±1,20
10''	42,71±4,15*	16,44±1,97*	19,44±1,78
11	25,52±4,53	11,54±1,97	17,72±3,32
11'	23,39±0,68	10,45±1,41	11,57±1,44

11"	34,09±1,98	13,53±2,84	7,79±1,45
11'''	43,35±2,25*	16,78±1,83*	12,54±2,64
11''''	47,97±2,78*	16,91±0,12*	24±2,83
12	25,13±11,35	11,35±0,42	18,12±5,17
12'	40,37±0,008*	16,41±1,27*	40,07±2,96
12''	27,04±5,65	11,21±1,41	18,09±4,89
13	26,82±3,99	12,76±0,28	35,41±4,70

* $p < 0.05$: significativité par rapport au contrôle

II Etude électrophorétique

II.1 Etude de l'homogénéité des variétés analysées

Les gels issus de l'électrophorèse monodimensionnelle de cinq grains de toutes les variétés étudiées présentent des profils génétiques identiques. Les grains des accessions de blé dur dont les électrophorégrammes sont présentés sur la figure 7 (Bousselem, Ofento, Semito), figure 8 (Waha, Mansourah, Chen's) et la figure 9 (Hedba et Vitron) sont homogènes. Aussi, pour le blé tendre, toutes les accessions (ARZ, Hidab, Ain Abid, blé tendre importé) présentent le même profil génétique pour chacune (figure 10). En revanche, le gel de blé dur importé montre un profil génétique hétérogène avec la présence d'une bande étrange (*) (figure 9).

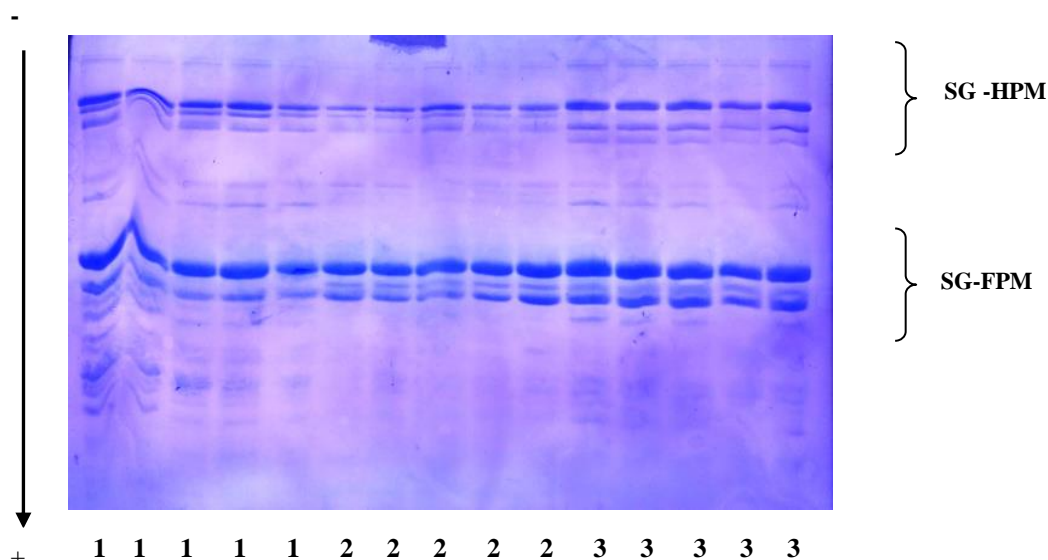


Figure 7: Electrophorégramme des gluténines montrant l'homogénéité des variétés de blé dur étudiées

1: Bousselem, 2: Ofento, 3: Semito

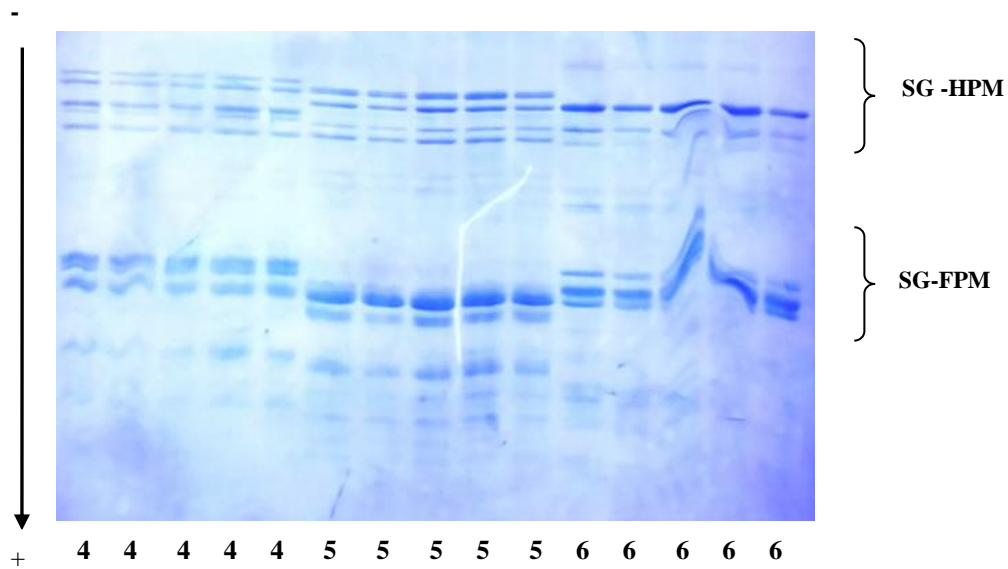


Figure 8: Electrophorégramme des gluténines montrant l'homogénéité des variétés de blé dur étudiées
4: Waha, 5: Manssourah, 6: Chen's

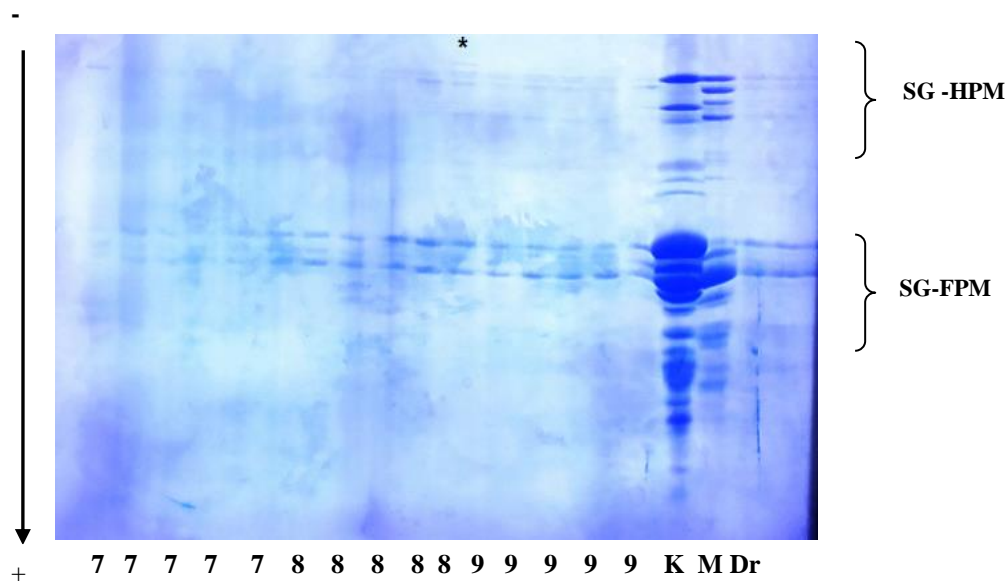


Figure 9: Electrophorégramme des gluténines montrant l'homogénéité des variétés de blé dur (7: Hedba, 8: Vitron) et l'hétérogénéité de la variété de blé dur importé (9) (* : Présence d'une bande étrange).

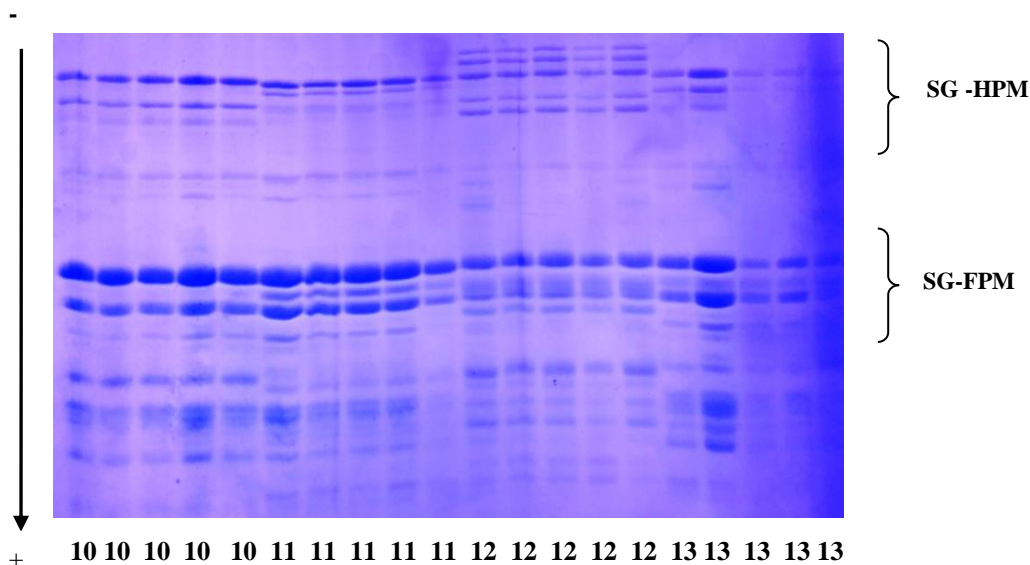


Figure 10: Electrophorogramme des gluténines montrant l'homogénéité des variétés de blé tendre étudiées.

10: *Arz*, 11: *Hidab*, 12: *Ain Abid*, 13: *Blé tendre importé*

II.2 Etude des diagrammes électrophorétiques des gluténines

Les sous-unités de gluténines de blé dur et blé tendre séparées par SDS-PAGE sont représentées respectivement dans les figures 11 et 12.

Les électrophorégrammes présentent deux types de gluténines en l'occurrence les sous-unités de gluténines de haut poids moléculaire (SG-HPM) et les sous-unités de gluténines de faible poids moléculaire (SG-FPM). Le premier groupe se caractérise par un poids moléculaire entre 70 000 et 90 000 daltons, tandis que le second groupe a un poids moléculaire entre 20 000 et 45 000 daltons (Wrigley, 1996).

Les SG-HPM sont situées sur les trois loci Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1 et comportent 4 à 5 bandes protéiques. Ces bandes (GluB1-7 + 8, GluB1-6 + 8, GluB1-5 + 10) ayant une bonne qualité protéique existent dans la quasi-totalité des accessions étudiées. La sous-unité de gluténines GluB1-13 + 16 est présente uniquement dans la variété 7 (blé dur) tandis que la sous-unité GluB1-17 + 18 existe dans la variété 11 (blé tendre) (Tableau 10).

Pour les SG-FPM, on distingue deux groupes de mobilité différente (rapide et lente) : les SG-FPM type 1 et les SG-FPM type 2. Ces deux types sont situés au niveau des trois loci Glu-A3, Glu-B3 et Glu-B2.

Le premier groupe se caractérise par un poids moléculaire compris entre 30 000 et 40 000 daltons alors que le deuxième groupe possède un poids moléculaire variant entre 40 000

et 50 000 daltons (Payne and Cornfield, 1979). Toutes les lignées possèdent les marqueurs de qualité de type FPM2 à l'exception des variétés 4 (Waha) et 11 (Hidab) qui contiennent les SG-FPM de type 1.

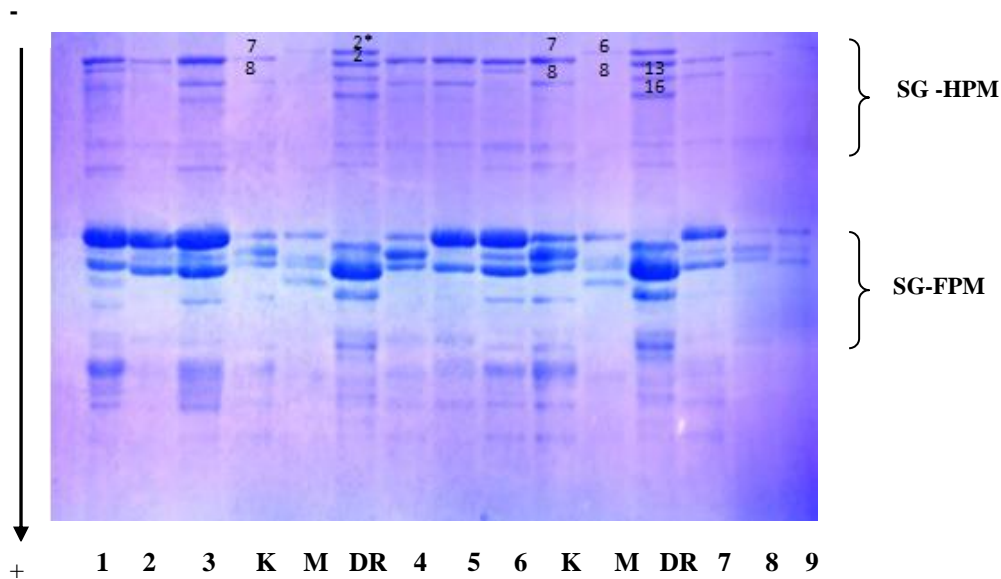


Figure 11: Electrophorégramme des gluténines des variétés de blé dur.

1: Bousselem, 2: Ofento, 3: Semito, K: Karim, M: Marzak, Dr: Duramba, 4: Waha, 5: Manssourah, 6: Chen's, K: Karim, M: Marzak, Dr: Duramba, 7: Hedba, 8: Vitron, 9: Blé importé

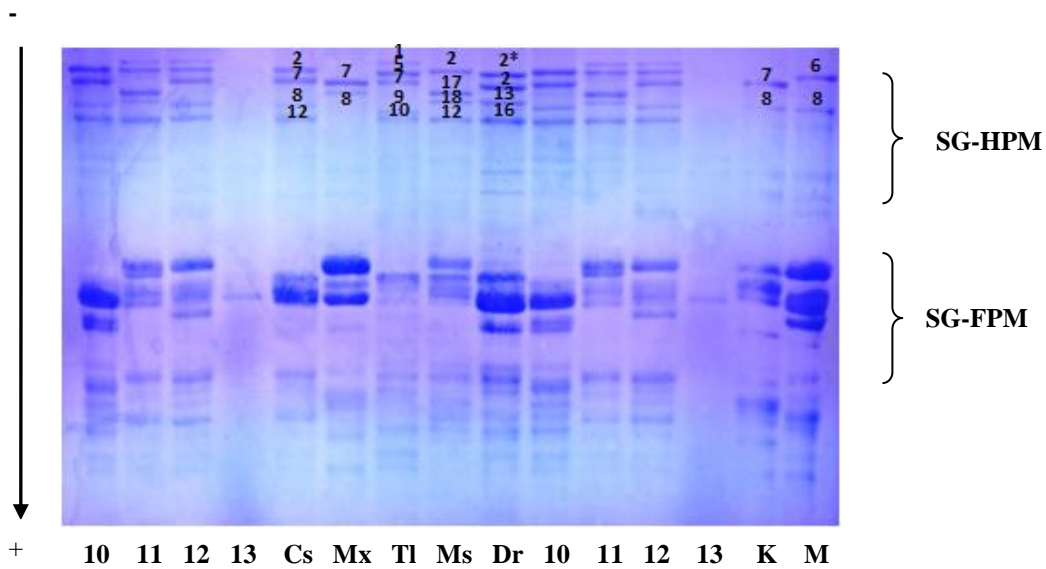


Figure 12: Electrophorégramme des gluténines des variétés de blé tendre.

10: Arz, 11: Hidab, 12: Ain Abid, 13: Blé Importé, Cs: Chinese Spring, Mx: Mexicalis, Tl: Tilila, Ms: Massira, Dr: Duramba, 10: Arz, 11: Hidab, 12: Ain Abid, 13: Blé Importé, K: Karim, M: Marzak

II.3 Etude de diagramme électrophorétique des gliadines

Le diagramme électrophorétique des gliadines obtenu par Acide-PAGE à partir de treize variétés de *Triticum durum*, *Triticum aestivum* et standards (Karim, Marzak) est représenté par la figure 13.

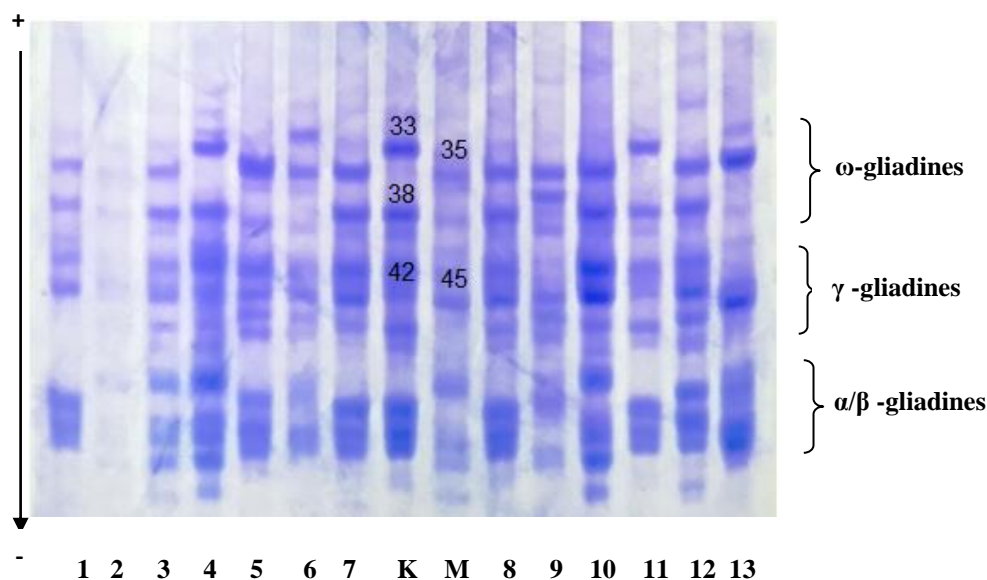


Figure 13 : Electrophorégramme des fractions de gliadines.

1: Bousselem, 2: Ofento, 3: Semito, 4: Waha, 5: Manssourah, 6: Chen's, 7: Hedba, K: Karim, M: Marzak, 8: Vitron, 9: blé dur importé, 10: Arz, 11: Hidab, 12: Ain Abid, 13: Blé tendre importé

Selon leur mobilité électrophorétique à faible pH, nous pouvons distinguer quatre fractions de gliadines, α , β , γ and ω -gliadines dans toutes les variétés étudiées ainsi que dans les standards. Toutes ces fractions sont contrôlées par six loci situés sur les chromosomes du groupe 1 (Gli1) et 6 (Gli2) (Payne *et al.*, 1982). Les α -, β -gliadines se caractérisent par un poids moléculaire compris entre 30 000 et 35 000 daltons. Les γ -gliadines ont un poids moléculaire de 40 000 daltons et les ω -gliadines de l'ordre de 43 000 à 70 000 daltons (Denery-Papini *et al.*, 2007). En se basant sur les bandes qui caractérisent les deux variétés témoins (Karim : bandes ω -35, γ -45 et Marzak : bandes ω -33, ω -38, γ -42), on a pu identifier les bandes de nos variétés. Les variétés 4 (Waha), 11 (Hidab) possèdent les bandes ω -33, ω -38, γ -42. Les bandes ω -35 et γ -45 caractérisent les variétés 3 (Semito), 5 (Manssourah), 7 (Hedba), 8 (Vitron), 10 (Arz) et 13 (Blé tendre importé).

Tableau 10: Composition des variétés de blé en fractions protéiques (SG-HPM, SG-FPM, gliadines)

Locus	Gluténines		Gliadines
	SG-HPM	SG-FPM (type 1, type 2)	
Numéro de la variété dans l'étude	Glu-A1/ Glu-B1/Glu-D1	Glu-A3/Glu-B3/ Glu-B2	Gli-B1
1	7+8, 2+12	FPM2	ω -35, γ -45
2	2, 7+8	FPM2	ω -35, γ -45
3	7+8, 2+12	FPM2	ω -35, γ -45
K	2+7+8	FPM1	ω -33, ω -38, γ -42
M	6+8	FPM2	ω -35, γ -45
Dr	2*, 13+16	FPM2	/
4	2, 7+8	FPM1	ω -33, ω -38, γ -42
5	2, 7+8	FPM2	ω -35, γ -45
6	2*, 2	FPM2	ω -35, γ -45
7	13+16	FPM2	ω -35, γ -45
8	2, 7+8	FPM2	ω -35, γ -45
9	6+8	FPM2	ω -35, γ -45
10	7+8, 2+12	FPM2	ω -35, γ -45
11	1,17+18, 2+12	FPM1	ω -33, ω -38, γ -42
12	1, 7+8, 2+12	FPM2	ω -35 ω -45
13	7+8	FPM2	ω -35, γ -45
Cs	7+8, 2+12	FPM2	/
Mx	7+8	FPM2	/
Tl	1, 7+9, 5+10	FPM1	/
Ms	17+18, 2+12	FPM2	/

Partie II : Résultats de l'analyse physicochimique des produits à base de blé

Les résultats du dosage manuel de gluten par la technique de [Mauze et al., 1972](#) et celui des protéines totales par spectroscopie proche infrarouge des produits à base de blé chez l'unité de Safina et Azouz sont présentés ci-dessous (tableau 11) sous forme de Moyenne±Ecartype (Moy±ET).

I Résultats de dosage de gluten

La valeur moyenne de gluten est dans l'ordre de $26,65 \pm 1,10\%$ quelque soit l'échantillon (semoules, couscous ou pâtes alimentaires). La semoule sassée super extra et les pâtes alimentaires (type coquillette) présentent les taux les plus élevés ($28,85 \pm 1,06\%$ et $28,66 \pm 1,52\%$ respectivement) alors que les pâtes alimentaires (Longue Oiseau) présente la valeur la plus faible ($25,06 \pm 0,5\%$).

II Résultats de dosage de protéines totales

Les protéines présentent des valeurs oscillent entre $11,56 \pm 0,9\%$ et $15,35 \pm 0,26\%$ avec une moyenne de $11,91 \pm 4,18\%$. La semoule sassée super extra (3SE) présente la valeur la plus élevée ($15,35 \pm 0,26\%$) suivie par la semoule grosse/moyenne ($14,55 \pm 0,22\%$). En revanche le couscous présente le taux le plus faible ($11,56 \pm 0,9\%$) suivi par les pâtes alimentaires type coude 6 avec un taux de $11,64 \pm 0,63\%$.

Tableau 11: Teneur en gluten et protéines totales des produits à base de blé (Moy±ET)

Echantillon	Gluten % (Moy±ET)	Protéines % (Moy±ET)
Semoule sassée super extra (3SE)	$28,85 \pm 1,06$	$15,35 \pm 0,26$
Semoule grosse/moyenne (SG /SM)	$26 \pm 0,81$	$14,55 \pm 0,22$
Couscous	27 ± 1	$11,56 \pm 0,9$
Pâtes alimentaires (Escargot)	$27,02 \pm 0,6$	$12,695 \pm 0,23$
Pâtes alimentaires (Spaghetti)	$26 \pm 0,2$	$12,96 \pm 0,06$
Pâtes alimentaires (Vermicelle)	$27 \pm 0,08$	$12,82 \pm 0,15$
Pâtes alimentaires (Longue Oiseau)	$25,06 \pm 0,5$	$13,005 \pm 0,33$
Pâtes alimentaires (Coude 8)	$26,7 \pm 0,08$	$12,41 \pm 0,49$
Pâtes alimentaires (Coude 6)	27 ± 1	$11,64 \pm 0,63$
Pâtes alimentaires (Fusilli)	$27,3 \pm 0,4$	$12 \pm 0,02$
Pâtes alimentaires (Coquillette)	$28,66 \pm 1,52$	$12,47 \pm 0,75$

III Résultat de suivi de la température au cours de la chaîne de fabrication

Quelque soit l'unité de fabrication Azouz de « Sidi Bel Abbés » ou Safina de « Sig-Mascara », le personnel veille à contrôler la température afin de vérifier que les protéines du gluten ne subissent aucun dommage pour garantir la qualité du produit fini.

III.1 Cas du couscous

Pour la fabrication de couscous, le paramètre température est utilisé dans l'étape de cuisson à la vapeur pour assurer la coagulation du réseau de gluten. La valeur oscille entre 100 et 110°C. L'étape de séchage des grains de couscous exige une température de 90°C pour garantir une réticulation du réseau de gluten. En revanche le refroidissement de couscous s'effectue à une température de 30°C.

Notre suivi de la chaîne de fabrication a permis de voir qu'il y a une surveillance permanente de la température au cours de la chaîne de fabrication avec l'observation d'un seul cas où la température a dépassé le seuil de 110°C et a atteint 140°C et ce dans la phase de séchage du couscous chez l'une des unités.

III.1 Cas des pâtes alimentaires

La température utilisée dans l'étape de séchage des pâtes alimentaires ne doit pas dépasser 80°C, alors que le refroidissement est exercé à une température de 30°C. Des fluctuations au niveau de la température ont été relevées chez les deux unités avec une augmentation de température de 30 à 40°C par rapport au seuil normal.

Discussion

Notre étude a concerné des analyses physicochimiques et électrophorétiques des blés cultivés et importés dans l'ouest algérien ainsi que des produits à base de blé (couscous et pâtes alimentaires) fabriqués par deux unités de la même région.

Les résultats obtenus révèlent une augmentation significative du taux de gluten qui atteint jusqu'à $56,1 \pm 1,43\%$ chez la variété 7 (variété Hedba). De même pour les protéines totales dont le taux dépasse $20,03 \pm 1,13\%$ chez les variétés 4 (Waha), 5 (Manssourah) et 6 (Chen's).

Pour l'indice de sédimentation, nous avons relevé que nos échantillons possèdent des indices significativement élevés par rapport à la variété marocaine Marzak qui est considérée comme référence en matière de force de gluten (SDS sédimentation=44ml) ([Amallah et al., 2015](#)). Cet indice atteint la valeur de 61 ml chez la variété 7 (Hedba) et 3 (Semito) à l'exception de la variété 10' (Arz) et 11', 11'', 11''' (Hidab) qui possèdent une force de gluten relativement faible.

Les résultats des trois paramètres corroborent que nos échantillons sont de bonne qualité protéique car de nombreux travaux ont montré la relation entre ces paramètres et la qualité de blé et leur analyse constitue un critère de qualité des blés durs et tendres ([Branlard et Dardevet, 1985](#) ; [Blanco et al., 2011](#)).

Si on compare les résultats avec les normes, les paramètres étudiés sont supérieurs aux normes nationales et internationales (25%, 11 % au minimum pour le gluten et les protéines respectivement) ([Codex Alimentarius, 1991](#)). Les valeurs du test de sédimentation au SDS et l'indice de Zeleny, qui nous informent sur la force boulangère et qui sont influencés par la teneur en protéines du grain ([Branlard et Dardevet, 1985](#)), sont élevées par rapport à la norme qui montre qu'un intervalle de 28ml à 38ml révèle une très bonne force boulangère.

L'étude électrophorétique a permis de vérifier l'homogénéité des variétés de blé collectées. Le profil génétique montre que les grains de chaque variété testée sont uniformes et stables. Cela confirme que toutes les accessions utilisées dans l'étude appartiennent soit à la génération 1 ou 2 (G1 ou G2). L'homogénéité est obtenue grâce à la pureté de la variété elle-même qui est produite de la multiplication des plantes homozygotes identiques entre elles ([Bouharmont, 1994](#)). Le profil génétique de blé dur ou importé n'était pas le même pour toutes les graines étudiées avec la présence des bandes étrangères, cela signifie que le blé dur importé dans l'ouest Algérien est un mélange de différentes variétés.

L'analyse du polymorphisme des gluténines nous a montré qu'il y a une diversité au niveau des trois loci Glu-A1, Glu-B1, et Glu-D1. Les variétés étudiées possèdent des bandes corrélées positivement à la qualité et qui sont présentes de façon remarquable : 1,7+8, 7+9, 5+10 et 13+16 (Branlard et Dardevet, 1985). Aussi, nos échantillons contiennent les sous-unités de gluténines de faible poids moléculaire type 2 qui confèrent au gluten une bonne élasticité et améliore la qualité de cuisson des pâtes alimentaires (Payne *et al.*, 1984). De même, la variabilité de la force de gluten est principalement due à la variation allélique des loci Glu-A1, Glu-B1, Glu-A3, Glu-B3, Glu-B2 (Brites et Carrillo, 2001).

Les sous-unités gluténines ne sont pas impliquées seulement dans la qualité protéique de blé, mais aussi, elles ont un effet immunostimulant similaire à celui des fractions de gliadines. Les peptides gluténiques sont répétés tout au long des protéines de gluténines, y compris celles de haut poids moléculaires (Howdle, 2006) dont la composition en acides aminés est caractérisée par des teneurs élevées en glycine, glutamine et proline (Wieser, 2008). Ces deux derniers acides aminés sont à la base des deux étapes majeures dans la cascade inflammatoire de la maladie cœliaque :

1- Ils confèrent une résistance à la dégradation enzymatique, car l'intestin humain n'a pas de prolyl-endopeptidase qui peut aisément couper les peptides de gluten riches en proline.

2- Les peptides de gluten riches en glutamine sont un substrat idéal pour la désamination par la transglutaminase tissulaire (Roujona *et al.*, 2011).

A propos du diagramme des gliadines, nous avons noté la présence de la fraction α -gliadine qui est la fraction la plus toxique pour les malades cœliaques (Ciccocioppo, 2005 ; Herpen *et al.*, 2006) et la fraction ω -gliadine qui a été démontrée comme étant active dans la maladie cœliaque (Camarca *et al.*, 2009), ainsi que la fraction la moins toxique : γ -gliadine (Tollefsen *et al.*, 2006). Les deux premières (α -/ ω -gliadines) sont extrêmement riches en acides aminés glutamine et proline induisant de fortes réponses aux lymphocytes T (Wieser, 2008). Cela se traduit par une production des cytokines notamment l'interféron INF- γ et l'interleukine 15 (IL-15) (Nilsen *et al.*, 1998). Il en résulte une activation non spécifique des lymphocytes T intra-épithéliaux CD8+, des polynucléaires et des macrophages, qui vont exercer leur action cytotoxique directe ou indirecte sur les entérocytes intestinaux et provoquer des lésions de la muqueuse intestinale (WGO, 2007).

Parmi les épitopes de la fraction α -gliadine, la séquence gli-a2 a été identifiée comme l'initiateur primaire de la réponse inflammatoire au gluten dans la maladie cœliaque. La

dégradation intraluminale de la séquence peptidique $\text{glia-}\alpha 2$ donne naissance à un nouveau peptide appelé 33-mer (Meresse et al., 2006).

Les travaux de Shan et al., 2002 ont identifié ce peptide qui correspondait à un grand fragment constitué de 33 acides aminés : LQLQPFQPQLPYQPQLPYPQPQLPYPQPQLPYPQPQPF. Ce peptide possède la propriété de résister à l'acidité gastrique et de rester intact malgré une exposition prolongée aux protéases digestives (Qiao et al., 2004).

Pour la fraction γ -gliadine et malgré sa toxicité faible, des études ont montré qu'elle peut induire des réactions et ses dérivés peptidiques peuvent être reconnus par les molécules HLA-DQ2/DQ8 en suscitant une réaction immunitaire qui se traduit par l'activation des lymphocytes T (Tollefsen et al., 2006 ; Sollid et al., 2012).

En revanche, nous avons relevé chez les variétés étudiées, l'existence des bandes γ -45 gliadines. Ces dernières sont liées à la bonne qualité du blé (Branlard et Dardevet, 1985).

Le grand nombre de bandes observées dans les variétés de blé dur et tendre cultivées dans l'ouest algérien nous révèle la grande diversité des protéines de réserve qu'elles renferment (Branlard et al., 2001).

L'étude des paramètres physicochimiques telles que la teneur en gluten et protéines totales des pâtes alimentaires et de couscous chez les deux unités présentent des valeurs dans les normes (25%, 11 % au minimum respectivement pour le gluten et les protéines) (Codex Alimentarius, 1991).

Le suivi du mode de fabrication des produits à base de blé : Couscous et pâtes alimentaires dans les deux unités agroalimentaires Safina et Azzouz a permis de contrôler la température dans chaque étape de la chaîne de fabrication. Nous avons remarqué qu'il y a généralement un contrôle strict et un respect des températures selon les recommandations internationales. Cependant, nous avons noté qu'il existe des cas exceptionnels où les températures dépassent les seuils normaux en raison d'un mauvais contrôle. Le traitement thermique à hautes températures entraîne généralement des changements dans la structure secondaire et tertiaire des molécules de protéines qui sont à la fin dénaturées. Le processus de dénaturation implique la dissociation et le dépliage des protéines, et est souvent accompagné par la formation de liaisons disulfures et l'exposition des acides aminés hydrophobes à la surface (Lamacchia et al., 2007).

Les travaux de Louardi et al., 1998 sur l'effet des traitements hydro-thermiques du couscous de blé dur sur le comportement des protéines a montré que les groupes protéiques de gluténines (SG-HPM et les SG-FPM) s'agrègent très rapidement dès le début du traitement pour former des agrégats de taille très élevée. A l'inverse, les ω -gliadines ne sont guère

affecté par ces traitements. L'agrégation des protéines intervient par la création de liaisons disulfures. Ces liaisons covalentes imposent une nouvelle structure plus rigide aux protéines et réduit leurs possibilités d'interagir et pourrait ainsi limiter l'apparition du collant entre les particules de couscous. Ces mêmes auteurs ont conclu que le rapport ω -gliadines/gliadines thermo-coagulables apparaît comme un bon marqueur du traitement subi par le couscous.

Aussi, les travaux de [Pasini et al., 2001](#) sur les modifications des protéines de la farine de blé au cours de la digestion in vitro de la pâte à pain ont montré que l'agrégation des protéines induite par la chaleur aboutit à une diminution de leur dégradabilité par la pepsine et qui pourrait être due à l'accessibilité réduite de la protéase à ses sites d'action. Sur le plan immunologique, l'étude a montré que le degré de protéolyse et les caractéristiques immunologiques des composants de la prolamine sont modifiés après traitement par la chaleur ainsi qu'une diminution de la production digestive des peptides toxiques pour les personnes souffrant de la maladie cœliaque.

L'étude de [Petitot et al., 2009](#) sur les effets de séchage sur la structure des pâtes, la digestibilité de l'amidon et des protéines et l'allergénicité potentielle, a relevé les mêmes résultats. Il a été conclu que le séchage des pâtes alimentaires à hautes températures (70°C) et très hautes températures (90°C) induit une agrégation élevée des protéines qui est probablement produite par la formation de liaisons disulfure supplémentaires et d'autres liaisons covalentes (c'est-à-dire des liaisons isopeptidiques). Ces changements structuraux diminuent la digestibilité des protéines et conduisent à une hydrolyse protéique des pâtes cuites limitée au niveau bucco-gastrique. L'effet du profil de séchage sur la digestibilité des protéines est plus marqué dans la partie duodénale, l'hydrolyse des protéines est réduite de 10 % pour les pâtes alimentaires cuites à 70°C et 90°C comparée à celles cuites à température faible (55°C).

L'augmentation des températures de séchage ($\geq 110^\circ\text{C}$) entraîne une dénaturation et une agrégation accrue des protéines qui deviennent de plus en plus insolubles formant des agrégats avec disparition de certaines prolamines. Ceci les rend moins impliquées dans la causalité de la maladie cœliaque ([De Zorzi et al., 2007](#)).

L'étude de la qualité protéique des variétés cultivées dans l'ouest Algérien et des variétés de blé importé a donné des résultats très satisfaisants sur le plan physicochimique et électrophorétique.

Les analyses physicochimiques du taux de gluten, du taux de protéines et qualité du gluten par indice de sédimentation et test de Zeleny des variétés étudiées ont montré des valeurs supérieures aux variétés contrôles et aux normes internationales quelque soit la région et l'année.

L'analyse électrophorétique des gluténines par SDS-PAGE et des gliadines par Acide-PAGE n'a montré aucune différence dans le profil électrophorétique entre les variétés consommées dans l'ouest Algérien et les variétés utilisées comme témoin. Par contre nos variétés contiennent les bandes de qualité recherchées en technologie alimentaire confirmant les résultats précédents.

Le suivi du paramètre température dans la chaîne de fabrication des produits à base de blé montre qu'il existe un contrôle strict dans les étapes de fabrication nécessitant le traitement thermique (Cuisson, séchage et refroidissement) avec observation de certains cas exceptionnels où les températures dépassent leurs seuils normaux.

Cette étude nous amène à conclure que les variétés de blé étudiées possèdent toutes les fractions protéiques (prolamines) inductrices de la maladie cœliaque. En revanche le blé consommé dans l'ouest d'Algérie présente de bonnes caractéristiques en matière de force de gluten. Cela permet de dire que le blé analysé et ses dérivés sont loin d'être suspectés dans la diminution de cette sprue dans l'ouest de l'Algérie depuis des dizaines d'années.

Ce travail peut initier une approche protéomique telles que la caractérisation électrophorétique bidimensionnelle et la spectrométrie de masse pour analyser le blé et dérivés à l'échelle moléculaire.

Et comme le facteur génétique de la maladie cœliaque peut varier avec le temps et la région, nous suggérons d'examiner les fréquences des allèles HLA-DQ2 et DQ8 et voir la stabilité de ces fréquences dans notre population depuis 1975.

Aussi, nous proposons d'augmenter l'investigation biologique afin de découvrir les formes asymptomatiques parce que, selon plusieurs études récentes, un changement d'expression de la maladie cœliaque du à une transformation de la forme symptomatique vers

la forme asymptomatique peu ou pas expressive avec disparition de signes cliniques a été décelée (Rutz *et al.*, 2002 ; Schmitz et Garnier-Lengliné, 2008 ; Liu *et al.*, 2017 ; Almallouhi *et al.*, 2017). Cette forme atypique, faite de symptômes extra-digestifs ou digestifs mais non spécifiques, est la plus fréquente. Elle est caractérisée par la présence des sujets HLA-DQ2 ou DQ8 positifs mais asymptomatiques (Lamireau et Clouzeau, 2011). Ces derniers sujets peuvent ultérieurement développer la maladie sous une de ses formes.

Et selon certains auteurs, la tendance actuelle est de suggérer de mieux faire le diagnostic dans des formes peu symptomatiques ou associées à d'autres troubles, et de ne pas dépister dans la population générale. Les études de dépistage puis de suivi de cohortes permettront de mieux apprécier les enjeux (Mouterde *et al.*, 2008).

-
- Almallouhi E., King K. S., Patel B., Wi C., Juhn Y. J., Murray J. A. and Absah I., 2017: Increasing incidence and altered presentation in a population-based study of pediatric celiac disease in North America, *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 65(4), 432-437.
- Amallah L., Taghouti M., Rhrib K., Gaboun F. and Hassikou R., 2015: Genetic variability in agro-morphological and quality traits of Mediterranean durum wheat landraces, *Cereal Research Communications*, 43 (1), 123-132.
- American Association of Cereal Chemistry (AACC), 1984: International approved methods, physicochemical tests, AACCI Method 56-61.02. Sedimentation test for wheat. [en ligne], [<http://methods.aaccnet.org/methods/56-61.pdf>].
- Bahrman N., Zivy M. and Thiellement H., 1988: Genetic relationships in the Sitopsis section of Triticum and the origin of the B genome of polyploidy wheats, *Heredity*, 61: 474-480.
- Barron C., Surget A. and Rouau X., 2007: Relative amounts of tissues in mature wheat (*Triticum aestivum* L.) grain and their carbohydrate and phenolic acid composition. *Journal of Cereal Science*, 45, 88-96.
- Bekkat-Berkani D., 2000 : Épidémiologie de la maladie cœliaque de l'enfant, *Société Algérienne de Pédiatrie*. [en ligne], [<http://www.ands.dz/sap/sap.html>].
- Bessahraoui M., Bouziane-Nedjadi K., Niar S., Naceur M., Boudraa G. and Touhami M., 2011: Fréquence de la maladie cœliaque de l'enfant dans la wilaya d'Oran, Algérie, *Médecine du Magreb*, n°191 :5-14.
- Bigard M. A., 2001 : Guide pratique des maladies du tube digestif, Ed : Masson, Paris-France, PP : 167-168.
- Blanco A., Colasuonno P., Gadaleta A., Mangini G., Schiavulli A., Sincone Digesù A. M., De Vita P., Mastrangelo A. M. and Cattivelli L., 2011: Quantitative trait loci for yellow pigment concentration and individual carotenoid compounds in durum wheat. *Journal of Cereal Science*, 54, 255-264.
- Bonjean A. and Picard E., 1990 : Les céréales à paille : Origine, histoire, économie, sélection. Softword-Groupe ITM, Paris, P208.
- Bouasla A., Benatallah L. and Zidoune M. N., 2011 : Prévalence de la maladie cœliaque à Constantine (1996–2008), *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 46, S71.
- Boudraa G., 2010 : Situation épidémiologique de la maladie cœliaque dans l'Ouest Algérien, Service de Pédiatrie « C » - CHU Oran-Algérie. [en ligne], [<http://www.calameo.com/books/00034344567ee31db1624>].
- Boudreau A. and Ménard G., 1992: Le Blé: éléments fondamentaux et transformation, Ed: Presses Université Laval, Québec-Canada, P33, 35, 36.
- Bouharmont J., 1994 : Création variétale et amélioration des plantes, *Agronomie moderne, bases physiologiques et agronomiques de la production végétale*, 312-338.
-

-
- Branlard G. and Dardevet M., 1985: Diversity of Grain Proteins and Bread Wheat Quality, I. Correlation between gliadin bands and flour quality characteristics. *Journal of Cereal Science*, 3, 345-354.
- Branlard G., Dardevet M., Saccomano R., Lagoutte F., and Gourdon J., 2001: Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. In *Wheat in a global environment*. Ed: Springer, Netherlands, PP: 157-169.
- Brites C. and Carrillo J. M., 2001: Influence of high molecular weight (HMW) and low molecular weight (LMW) glutenin subunits controlled by Glu-1 and Glu-3 loci on durum wheat quality, *Cereal Chemistry*, 78(1), 59-63.
- Brown J. W. S. and Flavell R. B., 1981: Fractionation of wheat gliadin and glutenin subunits by two-dimensional electrophoresis and the role of group 6 and group 2 chromosomes in gliadin synthesis, *Theoretical and Applied Genetics*, 59(6), 349-359.
- Bunce N.A.C., White R.P. and Shewry P.R. 1985: Variation in estimates of molecular weights of cereal prolamins by SDS-PAGE, *Journal of Cereal Science*, 3:131-142.
- Bushuk W., Zillman R. A., 1978: Wheat cultivar identification by gliadin electrophoretograms, apparatus, method and nomenclature, *Canadian Journal of Plant Science*, 58:505-515.
- Camarca A., Anderson R.P., Mamone G., Fierro O., Facchiano A., Costantini S., Zanzi D., Sidney J., Aurichchio S., Sette A., Troncone R. and Gianfrani C., 2009: Intestinal T cell responses to gluten peptides are largely heterogenous, implications for a peptide-based therapy in celiac disease. *Journal of Immunology*, 182(7), 4158-4166.
- Ciccocioppo R., Di Sabatino A. and Corazza G. R., 2005: The immune recognition of gluten in coeliac disease, *Clinical and Experimental Immunology*, 140(3), 408-416.
- Clément B. J., Lebreton C., Malamut G. and Cerf-Bensussan N., 2015: Perméabilité intestinale et maladie cœliaque, *Médecine des maladies Métaboliques*, 9(1), 19-26.
- Clément J-M., 1981: Larousse agricole, Librairie Larousse, Paris-France.
- Codex Alimentarius, 1991: Standard for Durum Wheat Semolina and Durum Wheat Flour, Codex Standard 178, [en ligne], [<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius>].
- Cosnes J. et Nion-Larmurier I., 2011 : Les complications de la maladie cœliaque, *Pathologie Biologie*, 2(61), 21-26.
- De Zorzi M., Curioni A., Simonato B., Giannattasio M. and Pasini, G., 2007: Effect of pasta drying temperature on gastrointestinal digestibility and allergenicity of durum wheat proteins. *Food Chemistry*, 104(1), 353-363.
- DeFranco A. L., Robertson M., Locksley R. et Cunin R., 2009 : Immunité: la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires, Ed : de boeck, Bruxelles, p313
- Denery-Papini, S., Laurieäre, M., Branlard, G., Morisset, M., Pecquet, C., Choudat, D., Merlino, M., Pineau, F., Popineau, Y., Boulenc, E., Bouchez-Mahiout, I., Bodinier, M. and Moneret-Vautrin, D. A., 2007: Influence of the Allelic Variants Encoded at the Gli-B1 Locus,
-

Responsible for a Major Allergen of Wheat, on IgE Reactivity for Patients Suffering from Food Allergy to Wheat, *Journal of Agriculture and Food chemistry*, 55, 799-805.

Dexter J. E., Matsuo R. R., Kosmolak F. G., Leisle D. and Marchylo B. A., 1980: The suitability of the SDS-sedimentation test for assessing gluten strength in durum wheat, *Canadian Journal of Plant Science*, 60(1), 25-29.

Di Sabatino A. and Coazza G. R., 2013: Some clarification is necessary on the Oslo definitions for celiac disease-related terms. *Gastroenterology and Hepatology*, 62 (1):182.

Dubreil L., Compoin J.P. and Marion D., 1997: Interaction of puroindolines with wheat flour polar lipids determines their foaming properties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(1), 108-116.

Fasano A. and Catassi C., 2001: Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology*, 120(3), 636-651.

Feillet P., 2000 : Le Grain de Blé ; Composition et Utilisation Ed: INRA, Paris-France.

FOSTAT, 2015: Crops, [en ligne] [<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>].

Frexinos J. et Escourrou J., 1992 : Syndrome de malabsorption, In : Frexinos, J. : Hépatogastro-entérologie clinique, Ed : SIMEP, 4^{ème} édition, Paris-France, PP : 165-170.

Godon B., 1991 : La composition biochimique des céréales. In: Godon B. et Willm C.: Les industries de première transformation des céréales, Ed : Tech et Doc Lavoisier, Paris-France, PP : 77-94.

Heizer W. D., 2011: Maladie cœliaque, Ed : Médecine interne de Netter, 2^{ème} édition, PP : 512-520.

Howdle P. D., 2006: Gliadin, glutenin or both? The search for the Holy Grail in coeliac disease, *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 18(7), 703-706.

Hrušková M. and Faměra O., 2003: Prediction of wheat and flour Zeleny sedimentation value using NIR technique, *Czech Journal of Food Sciences*, 21, 91-96.

Hussain A., Larsson H., Kuktaite R. and Johansson E., 2010: Mineral Composition of Organically Grown Wheat Genotypes: Contribution to Daily Minerals Intake, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7, 3442-3456.

ITGC, 2003: Institut Technique des Grandes Cultures, [en ligne] [<http://www.itgc.entreprises-dz.com/pages/stations.htm>].

Kent N. L. and Evers A. D., 1994: Technology of Cereals, Ed: Pergamon Press Ltd, Oxford.

Laemmli U. K., 1970: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, 227:680-685

Lamacchia C., Di Luccia A., Baiano A., Gambacorta G., La Gatta B., Pati S. and La Notte E., 2007: Changes in pasta proteins induced by drying cycles and their relationship to cooking behaviour. *Journal of Cereal Science*, 46(1), 58-63.

Lamireau T. and Clouzeau H., 2011 : Epidémiologie de la maladie cœliaque, *Pathologie Biologie*, 2(61), 1-4.

Liu E., Dong F., Barón A. E., Taki I., Norris J. M., Frohnert B. I., Hoffenberg E. J. and Rewers, M., 2017 : High incidence of celiac disease in a long-term study of adolescents with susceptibility genotypes, *Gastroenterology*, 152(6), 1329-1336.

Louardi G., Morel M. H. and Abecassis J., 1998: Effet des traitements hydrothermiques du couscous de blé dur sur le comportement des protéines, *Annales de l'Institut National Agronomique - El Harrach -*, 19, 72-81.

Ludvigsson J. F., Leffler D. A., Bai J.C., Biagi F., Fasano A., Green P.H., Hadjivassiliou M., Kaukinen K., Kelly C. P., Leonard J. N., Lundin K. E., Murray J. A., Sanders D. S., Walker M. M., Zingone F. and Ciacci C., 2013: The Oslo definitions for celiac disease and related terms, *GUT*, 62(1):43-52.

Malamut G et Cellier C, 2011 : Manifestations de la maladie cœliaque de l'adulte, *Pathologie Biologie*, 3(61), 47-51.

Marsh M.N., 1992: Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. *Gastroenterology*, 102, 330-354.

Matthias T., Neidhoïfe S., Pfeiffer S., Prager K., Reuter S. and Gershwin E. 2011: Novel trends in celiac disease. *Cellular and Molecular Immunology*, 8, 121-125.

Mauze C, Richard M. et Scotti G, 1972 : Guide pratique : Contrôle de la qualité des blés. Institut Technique des Céréales et des Fourragères, 177, P 2.

McClure F., 2006: Introduction, In: Ozaki Y., McClure F. and Christy A.: Near-infrared spectroscopy in food science and technology, Ed: John Wiley & Sons, New Jersey-USA, P1.

Meresse B., Malmut G., Cellier C. et Cerf-Bensussan N., 2006 : La maladie cœliaque, un modèle d'étude de l'inflammation intestinale et de la lymphogénèse T, *Hépatogastroentérologie*, 3(13), 223-235.

Mouterde O., Hariz M. B. et Dumant C., 2008 : Le nouveau visage de la maladie cœliaque, *Archives de pédiatrie*, 15(5), 501-503.

Murray J. A., 1999: The Widening Spectrum of Celiac Disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(3), 354-365.

Nilsen E. M., Jahnsen F. L., Lundin K. E., Johansen F. E., Fausa O., Sollid L. M., Jahnsen J., Scott H. and Brandtzaeg P., (1998). Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon gamma in patients with celiac disease, *Gastroenterology*, 115(3), 551-563.

Olives J.-P., 2013 : La maladie cœliaque, *Post'U*, 13-20.

Osborne B. G., 2006: Near-infrared spectroscopy in food analysis, *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, 1-14.

Pasini G., Simonato B., Giannattasio M., Peruffo A. D. and Curioni A., 2001: Modifications of wheat flour proteins during in vitro digestion of bread dough, crumb, and crust: an electrophoretic and immunological study, *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(5), 2254-2261.

Payne P. I. and Cornfield K. G., 1979: Subunit composition of wheat glutenin proteins, isolated by gel filtration in a dissociating medium, *Planta*, 145: 83-88.

Payne P. I., Holt L. M., Lawrence G. J. and Law C.N. 1982: The genetics of gliadin and glutenin, the major storage proteins of the wheat endosperm, *Plant Foods Human Nutrition*, 31, 229-241.

Payne P. I., Jackson E. A. and Holt L. M., 1984: The association between γ -gliadin 45 and gluten strength in durum wheat varieties, a direct causal effect or the result of genetic linkage?. *Journal of Cereal Science*, 2, 73-81.

Payne P. L, Law C. N. and Mudd E. E. 1980: Control by Homoeologous Group 1 Chromosomes of the High-Molecular Weight Subunits of Glutenin, a Major Protein of Wheat Endosperm. *Theoretical and Applied Genetics*, 58 (3), 113-120.

Petitot M., Brossard C., Barron C., Larré C., Morel M. H. and Micard V., 2009: Modification of pasta structure induced by high drying temperatures. Effects on the in vitro digestibility of protein and starch fractions and the potential allergenicity of protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 116(2), 401-412.

Pomeranz Y., 1988: Chemical composition of kernel structures. In: Pomeranz Y.: Wheat: Chemistry and Technology, Vol. 4, Ed: St. Paul, MN: AACC, PP: 97-158.

Popineau Y. et Denery-Papini S., 1996 : Les protéines de réserve du grain de blé. In: Godon B., Protéines végétales, Ed: Tec et Doc, Lavoisier, Paris-France, PP : 120-172.

Qiao S. W., Bergseng E., Molberg Ø., Xia J., Fleckenstein B., Khosla C. and Sollid L. M., 2004: Antigen presentation to celiac lesion-derived T cells of a 33-mer gliadin peptide naturally formed by gastrointestinal digestion, *The Journal of Immunology*, 173(3), 1757-1762.

Reynolds J. A. and Tanford C., 1970: Binding of dodecyl sulfate to proteins at high binding ratios. Possible implications for the state of proteins in biological membranes, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 66(3), 1002-1007.

Richard I., 2007 : La maladie cœliaque, du diagnostic la prise en charge, Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Nantes, France.

Roujona P., Guidicellia G., Moreau J.-F. et Taupna J.-L., 2011 : Immunogénétique de la maladie cœliaque, *Pathologie Biologie*, 2(61), 5-11.

Ruiz A. M. R., 2007 : Malabsorption, appareil digestif. In : Beers H. M. : L'Encyclopédie médicale, Ed : Larousse, Paris-France, P 736.

Rutz R., Ritzler E., Fierz W. and Herzog D., 2002: Prevalence of asymptomatic celiac disease in adolescents of eastern Switzerland, *Swiss Medical Weekly*, 132(3-4), 43-47.

-
- Sarker, P. and Stebbins, G.L., 1956: Morphological evidence concerning the origin of the B genome in Wheat, *American Journal of Botany*, 43(4), 297-304.
- Schmitz, J. et Garnier-Lengliné, H., 2008 : Diagnostic de la maladie cœliaque en 2008, *Archives de pédiatrie*, 15(4), 456-461.
- Shan L., Molberg Ø., Parro, I., Hausch F., Filiz F., Gray G. M., Ludvig M., Sollid and Khosla C., 2002: Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*, 297(5590), 2275-2279.
- Shewry P. R., 1996: Cereal grain proteins. In: Henry R. J., Kettlewell P. S.: Cereal grain quality, Ed: Chapman et Hall, London-UK, PP: 227-250.
- Singh N.K., Shepherd K.W., Cornish G.B., 1991: A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science*, 14:203-208.
- Sollid L. M., Qiao S. W., Anderson R. P., Gianfrani C. and Koning F., 2012: Nomenclature and listing of celiac disease relevant gluten T-cell epitopes restricted by HLA-DQ molecules, *Immunogenetics*, 64(6), 455-460.
- Surget A. et Barron C., 2005: Histologie du grain de blé. *Industrie des céréales*, 145, 3-7.
- Tatham A. S and Shewry P. R., 2000: The S-poor prolamins of wheat, barley and rye: Revisited, *Journal of Cereal Science*, 55(2), 79-99.
- Tollefsen S., Arentz-Hansen H., Fleckenstein B., Molberg Ø., Ráki M., Kwok W. W., Jung G., Ludin K.E.A. and Sollid L. M., 2006: HLA-DQ2 and-DQ8 signatures of gluten T cell epitopes in celiac disease, *The Journal of clinical investigation*, 116(8), 2226-2236.
- Uibo R., Tian Z. and Gershwi E., 2011: Celiac disease: A model disease for gene–environment Interaction, *Cellular and Molecular Immunology*, 8, 93–95.
- Van Herpen T. W., Goryunova S. V., van der Schoot J., Mitreva M., Salentijn E., Vorst O. and Vosman B., 2006: Alpha-gliadin genes from the A, B, and D genomes of wheat contain different sets of celiac disease epitopes. *BMC genomics*, 7(1), 1.
- Vensel W. H., Tanaka C. K., Cai N., Wong J. H., Buchanan B. B. and Hurkman W. J., 2005: Developmental changes in the metabolic protein profiles of wheat endosperm, *Proteomics*, 5, 1594-1611.
- Weber A. L., 2012: La Maladie cœliaque : Physiopathologie et traitement «Guide» de conseils pour le pharmacien d'officine, Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lorraine, France.
- WGO (World Gastroenterology Organization), 2007: Practice guidelines: Maladie cœliaque, [en ligne], [<http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/ceeliac-disease>].
- Wieser H. and Koehler P., 2008: The biochemical basis of celiac disease, *Cereal Chemistry*. 85(1):1-13.
-

Wieser H., Seilmeier W. and Belitz H. D., 1994: Quantitative determination of gliadin subgroups from different wheat cultivars, *Journal of Cereal Science*, 19(2): 149-155.

Wrigley C.W., 1996: Giant proteins with flour power, *Nature*, 381, 738-739.

Annexe 1 : Préparation du réactif SDS-acide lactique

1- Réactifs

- Sodium Dodecyl Sulfate : de pureté supérieure à 99 %
- Acide lactique concentré à 85 %
- Hydroxyde de sodium (NaOH 0,1 N)
- Phénophtaléine

2- Préparation de la solution d'acide lactique

Diluer 100 ml d'acide lactique dans 800 ml d'eau distillée. Porter la solution diluée à ébullition et la maintenir sous reflux durant 6 h.

Note : L'acide lactique concentré contient des molécules associées, qui, par dilution se dissocient lentement jusqu'à un certain équilibre. L'ébullition accélère ce processus de dissociation qui est indispensable pour obtenir des valeurs de sédimentation reproductibles.

Après refroidissement à la température ambiante du laboratoire, diluer 10 ml de cette solution dans 100 ml d'eau distillée et titrer 10 ml de cette solution diluée, avec de l'hydroxyde de sodium 0,1 N (NaOH), en présence de la phénophtaléine.

Le titre, de la solution d'acide lactique, doit être de $1,2 \text{ N} \pm 0,1 \text{ N}$.

3- Préparation du réactif SDS-acide lactique

Dissoudre $30 \text{ g} \pm 0,2 \text{ g}$ de SDS dans 970 ml d'eau distillée pour avoir une solution SDS à 3 %.

Ajouter $20 \text{ ml} \pm 0,1 \text{ ml}$ de la solution d'acide lactique 1,2 N au SDS 3 % et mélanger intimement.

Annexe 2 : Préparation des solutions pour l'extraction des gluténines du blé dur et du blé tendre
(Singh et al., 1991)

Nombre d'échantillons = 20

Solution A :

Propanol-1	50ml
Eau distillée (qsp)	100ml

Conservation : deux mois à 4°C.

Tompan Tris HCl 0.08M pH=8:

Tris(hydroxy methyl) amino methane	0.969g
Eau distillée (qsp)	100ml

Ajuster à pH=8 avec HCl concentré

Conservation : plusieurs semaines à 4°C

Solution B :

Propanol-1	50ml
Eau distillée (qsp)	20ml
0.08MTris-HCl	1ml

Ajuster à pH=8

Conservation : deux mois à 4°C.

Solution B1 : (solution B+ 1% DTT)

Solution B	2ml
DL-Dithiothréitol	0.02g

Conservation : à faire le jour de l'extraction.

SolutionB2 : (solution B+ 1.4% 4-VP)

Solution B	2ml
4-vinylpyridine	0.028ml

Conservation : à faire le jour de l'extraction.

Solution C :

Sodium dodécyl sulphate	2g
Glycérol	40g
Bleu de bromophémol	0.02 g
Eau distillée (qsp)	100ml
0.08MTris-HCl	1ml
Ajuster à pH=8	

Conservation : plusieurs semaines à températures ambiantes.

Annexe 3 : Préparation du gel de séparation et de concentration des gluténines (Laemmli, 1970)
1- Composition du gel

	Gel de séparation				Gel de concentration
Concentration de monomère (%T, 2,67%C)	7,5%	12%	14%	X%	4%
Acrylamide/bis (Solution stock 30%T, 2,67%C)	25 ml	40 ml	46,66 ml	*ml	3.25ml
Eau distillée	48,5 ml	33,5 ml	26, ml	*ml	15.25ml
1,5M Tris-HCl, pH 8,8	25 ml	25 ml	25 ml	25 ml	---

0,5M Tris-HCl, pH 6,8	---	---	---	---	6.25ml
10% (w/v) SDS	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	250µl
10% persulfate d'ammonium (Solution fraîche)	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	125 µl
TEMED	50 % µl	50 µl	50 µl	50 µl	25 µl
TOTAL	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	25 ml

2- Préparation de la solution stock

A. Acrylamide/ Bis Acrylamide (30% T, 2.67% C)

Acrylamide	146.0 g
NN Méthylène-Bis Acrylamide	4.0 g
l'eau distillée	à 500 ml

Filtrer et conserver à 4 ° C dans l'obscurité (conserver dans ces conditions 30 jours au maximum)

B. 1.5 M Tris-HCl, pH 8.8

Tris Base	54.45 g
Eau distillée	150 ml
Ajuster à pH 8.8 avec HCl. Compléter avec l'eau distillée à 300ml	

Conserver à 4 ° C

C. 0.5 M Tris-HCl, pH 6.8

Tris Base	6 g
Eau distillée	60 ml
Ajuster à pH 6.8 with HCl. Compléter avec l'eau distillée à 100ml	

Conserver à 4 ° C

D. 10% (W/V) SDS

SDS	10 g
Eau distillée	60 ml avec agitation douce
Compléter avec l'eau distillée à 100ml	

E. 10% Ammonium Persulfate (W/V)

Persulfate d'Ammonium	100 mg
Eau distillée	1 ml

F. 5x tampon de migration (1x=25mM Tris, 192 mM glycine, 0.1% SDS, pH 8.3)

Tris base	45.0 g
Glycine	216.0 g
SDS	15.0 g
Eau distillée	3000 ml

Ne pas ajuster le pH. Conserver à 4 ° C. En cas de précipitations, réchauffer à 37 ° C avant utilisation.

Diluer 300 ml de solution mère 5x avec 1,2 L d'eau distillée pour un cycle électrophorétique

Annexe 4 : Préparation du gel de séparation et de tampon de migration des gliadines**1- Composition du gel de séparation**

Réactifs	Quantité
Acrylamide	6.0 g
Bis acrylamide	0.3 g
Lactate d'aluminium	0.25 g
Acide ascorbique	0.1g
FeSO4 à 0.1% (p/v)	0.2ml
Acide Lactique	à pH 3.1
Eau distillée	à 100ml
H2O2 à 3%	500µl

2- Tampon de migration pH=3.1: Préparer cinq fois la quantité

Lactate d'aluminium	0.5 g
Eau distillée	200 ml
Ajuster le pH à 3.1 avec l'acide lactique	

**REGULAR ARTICLE**

Physicochemical Analysis, Electrophoretic Characterization and Verification of the Protein Fractions Responsible for Celiac Disease of Wheat Varieties Imported and Grown in Western Algeria

¹Remil Asma, ²Taghouti Mona, ¹Benali Mohammed, ^{3*}Belbraouet Slimane

¹Laboratory of Biotoxicology, Department of Biology, Faculty of Science of Nature and Life, Djilali Liabés University, Sidi Bel Abbés, Algeria

²Research Unit on the Improvement, Conservation and Valorisation of Plant Genetic Resources, National Institute of Agronomic Research (INRA), Rabat, Morocco

³School of Nutrition, University of Moncton, Moncton, Canada

ARTICLE INFO**Article History:**

Received: 13 Nov 2017

Revised: 14 Jan 2018

Accepted: 19 Jan 2018

***Corresponding Author:**

Email:

slimane.belbraouet@umoncton.ca

Telephone: 1-506-8583792

Keywords: Cereals, Celiac Disease, Glutenin, Gliadin, Electrophoresis

ABSTRACT

Celiac disease is an inflammatory enteropathy induced by ingestion of wheat proteins. This study aims to verify the protein quality of wheat varieties that are either grown in or imported into Western Algeria, by carrying out physicochemical and electrophoretic characterisations of the gluten proteins. We carry out physicochemical analysis of thirty-four samples of durum and bread wheat, with regard to gluten proteins. The quality of gluten was appreciated by Zeleny volume of bread wheat and the SDS sedimentation test for durum wheat. Meanwhile, we also characterized glutenins and gliadins into thirteen cereal varieties by monodimensional electrophoresis on SDS-PAGE and Acid-PAGE respectively. The results showed that gluten levels ranges varied from 26.82±3.99% to 56.1±1.43%. The values of the total protein content had the range of 11.35±0.42% to 20.57±0.98%. The varieties studied had Zeleny values between 7.79±1.45 mL to 40.07±2.96 mL for bread wheat, and the SDS sedimentation volume ranged from 24.5±0.70 mL to 51.25±2.47 mL for durum varieties. The analysis of the glutenin and gliadin composition of the wheat varieties by electrophoresis showed the existence of α - and ω -gliadins subunits, responsible for celiac disease. Furthermore, the results revealed the presence of gliadin subunits " γ -45" and glutenins "GS-LMW Type2" related to the good quality of gluten in some varieties of wheat. As a result, we can conclude that the wheat consumed in Western Algeria has a good quality of storage proteins. Therefore, it is far from being responsible for the decrease of celiac disease in this region.

1. Introduction

Wheat is an important part of the daily food needs of millions of people around the world. Currently, about 715 million tons of wheat is produced each year. In 2013, Algerian wheat production exceeded

three million tons (FOSTAT 2015).

Food allergies can be caused by wheat and its various forms. Wheat proteins can cause a variety of gastrointestinal symptoms as is the case in gluten sensitivity or celiac disease. Celiac disease is an in-

testinal enteropathy triggered by the ingestion of storage proteins of wheat, barley or rye. It is characterised by an immune response that is triggered by T helper lymphocytes (Th1) which leads to the destruction of the mucosal surface of the small intestine (DeFranco et al., 2009). In the last two decades, the face of celiac disease has changed considerably in worldwide.

The status of celiac disease has developed from a disease that mostly affected children, identified through the appearance of typical clinical indicators, to one of the most common chronic diseases worldwide, that can be diagnosed at any age via atypical indicators. This change in conception is mainly related to the development of reliable serological markers (Murray, 1999).

According to the retrospective study in 2011 in Western Algeria, the occurrence of celiac disease has decreased since 1990, despite the use of markers and serological tests that allow for the detection of the silent and latent forms of celiac sprue. Doctors, from the Saint-Michel Clinic of Oran University Hospital, have shown that the annual incidence of the symptomatic form of the disease has been decreasing significantly for 10 years (Bessahraoui et al., 2011).

Celiac disease is the result of three main factors: gluten, which is considered the triggering environmental factor; HLA-DQ2/DQ8 haplotypes, or the main genetic risk factors; and the autoantigen, identified as the tissue transglutaminase (Meresse et al., 2006). Thus far, clinicians have assumed that differences can occur in the gluten proteins (prolamins) depending whether the source is locally cultivated wheat or imported wheat. So far, there has been no single study that has dealt with the causes of the celiac disease decrease, and the verification of Proteins responsible for this sprue in Western Algeria. Therefore, this study aims at verifying the protein quality of wheat varieties that are either, grown in or imported into Western Algeria, by carrying out physicochemical and electrophoretic characterisations of the gluten proteins.

2. Material and methods

2.1. Plant material

First, we collected a selection of durum wheat (*Triticum durum*) and bread wheat (*Triticum aestivum*) varieties that are commonly grown by farmers. The seeds were supplied by the Technological Institute of Large Culture (TILC) and originated from

three regions in the west of Algeria: Sidi Bel Abbes (SBA), Saida, and Tiaret, in the harvest years of 2014 and 2016. A mixture of unknown varieties of imported durum wheat and bread wheat were obtained from the cooperative cereals and dried vegetables (CCDV) of Sidi Bel Abbes, and were also used in this study. This resulted in a total of 13 varieties (n = 13), equivalent to 34 samples (Table 1).

2.2. Determination of physicochemical characteristics of wheat by near-infrared spectroscopy (NIRS)

Near-infrared spectroscopy allows simultaneous characterisation of multiple physicochemical properties at high throughput and is non-destructive to the samples (Compan et al., 2013). Basic analytical properties of wheat samples (gluten content, total protein content, Zeleny volume or SDS sedimentation volume) were determined by NIRS (*Infraneo Chopin Technologies, France*) methods.

2.3. Sodium dodecyl sulphate (SDS) sedimentation test

The present method is applicable to assess the quality of gluten mainly from durum wheat. In total, 24 samples of durum wheat were analysed for the purpose of determining the sedimentation volume. In this technique, 6.3 grams of experimental flour (prepared from the wheat) was mixed with a solution of lactic acid and SDS under specific conditions of grinding and sieving. After stirring and a subsequent defined resting time, the volume of the deposit resulting from the sedimentation of the flour particles was measured (AACC, 1984). The Moroccan durum wheat variety "Marzak" was used as a control.

2.4. Gluten protein extraction and electrophoretic characterisation

2.4.1 Extraction

To extract the glutenins, we adopted the modified extraction protocol of Singh et al. (1991).

2.4.1.1 Extraction solutions

The solutions used in the extractions included: solution A: 50% (v/v) propanol-1; solution B: 50% (v/v) propanol-1 + 0.08 M Tris-HCl (pH = 8.0); solution B1: solution B (0.1 mL) + 1% (w/v) dithiothreitol (DTT) freshly added; solution B2: solution B + 1,4 (v/v)% 4-vinylpyridine; and solution C: 2% (w/v) SDS + 40% (w/v) glycerol + 0.02% (w/v) bromophenol blue + 0.08 M Tris-HCl (pH = 8.0).

Number of variety used in the study	Name of variety	Regions	Harvest years
	Durum wheat (<i>Triticum durum</i>)		
1	Bousselem	SBA*	2013
1'	Bousselem	SBA	2016
1''	Bousselem	Tiaret	2016
2	Ofento	SBA	2013
2'	Ofento	SBA	2016
2''	Ofento	Tiaret	2016
3	Semito	SBA	2013
3'	Semito	SBA	2016
3''	Semito	Tiaret	2016
4	Waha	SBA	2013
4'	Waha	SBA	2016
4''	Waha	Saida	2013
4'''	Waha	Saida	2016
5	Manssourah	SBA	2016
6	Chen's	SBA	2016
6'	Chen's	Saida	2013
6''	Chen's	Saida	2016
7	Hedba	Saida	2013
7'	Hedba	Saida	2016
7''	Hedba	Tiaret	2016
8	Vitron	Tiaret	2016
9	Imported wheat	/	2016
	Bread wheat (<i>Triticum aestivum</i>)		
10	Arz	SBA	2013
10'	Arz	SBA	2016
10''	Arz	Saida	2013
11	Hidab (HD1220)	SBA	2013
11'	Hidab	SBA	2016
11''	Hidab	Saida	2013
11'''	Hidab	Saida	2016
11''''	Hidab	Tiaret	2016
12	Ain abid	Saida	2013
12'	Ain abid	Saida	2016
12''	Ain abid	Tiaret	2016
13	Imported wheat	/	2016

Table 1: The region and the harvest years of different wheat varieties used.

2.4.1.2. Extraction protocol

Glutenins were extracted from five seeds that were randomly selected for each of the varieties and ground using a mortar and pestle. The glutenin extraction was preceded by a washing step, solution A was added to 20 mg of each sample and mixed using a vortex. The mixture was centrifuged for 1 min at 10,000 × g, and then the supernatant was discarded. This step was repeated twice to remove any remaining soluble protein. Glutenins were subsequently extracted for 30 min in an extraction buffer that contains 0.1 mL of solution B1. After mixing with a vortex, the samples were centrifuged for 5 min at 10,000 × g. Following centrifugation,

0.1 mL of solution B2 was added to the tubes which were subsequently incubated for 15 min at 65 °C to ensure protein alkylation. The samples were then centrifuged for 2 min at 10,000 × g. Finally, an aliquot of 0.1 mL of supernatant was added to 0.1 mL of sample buffer (solution C) (Singh et al., 1991).

The gliadins were extracted using the technique of Bushuk and Zillman (1977). A single kernel was weighed and ground into a fine powder using a mortar and pestle. The ground grain was extracted by adding three times its weight of 70% (v/v) aqueous ethanol in an Eppendorf tube, mixing briefly with a vortex, and allowing the mixture to stand at room temperature for at least one hour. Later, the

Number of variety	Gluten (%) (M±SD)	Total proteins (%) (M±SD)	Sedimentation volume (ml) (M±SD)
Control (Marzak)	26±2.85	12.6±1.55	42.7±1.83
1	33.54±3.29	14.32±0.70*	26.5±0.70*
1'	33.83±2.61	15.86±1.69	42.7±1.83
1''	35.96±4.24	14.56±2.26	42.7±1.83
2	24.37±2.83	11.51±0.28*	27.35±0.91*
2'	37.96±1.97*	15.75±0.70*	37±1.41
2''	39.95±12.40	15.82±3.08	43.35±9.40
3	38.2±1.27*	15.4±0.98*	34.1±1.27*
3'	37.93±2.19*	15.52±2.12	51.25±2.47*
3''	48.7±2.68*	18.1±1.48*	56.05±2.75*
4	31.01±4.27	13.25±0.70	24.5±0.70*
4'	31.87±4.42	13.89±0.84	29.35±0.91*
4''	41.29±2.97*	16.22±0.70*	27.35±0.91*
4'''	53.92±1.10	20.36±1.41	42.7±1.83*
5	35.54±1.27	14.55±0.01	37.9±1.55
6	34.45±5.66	14.54±0.05*	37.9±1.55
6'	40.28±3.73*	15.98±0.07*	32.2±1.13*
6''	52.99±4.27*	20.03±1.13*	51.25±2.47*
7	56.1±1.43*	20.57±0.98*	29.35±0.91*
7'	42.02±2.48*	16.65±0.70*	58.85±3.04*
7''	28.98±1.90	13.84±0.12*	37±1.41*
8	36.63±13.49*	14.77±3.38	38.8±1.69
9	32.08±3.88	14.29±1.42*	51.25±2.47*
10	35.7±2.82*	14.16±1.49	28.09±1.27
10'	28.62±2.25	12.86±1.41	8.85±1.20
10''	42.71±4.15*	16.44±1.97	19.44±1.78
11	25.52±4.53	11.54±1.97	17.72±3.32
11'	23.39±0.68	10.45±1.41	11.57±1.44
11''	34.09±1.98*	13.53±2.84	7.79±1.45
11'''	43.35±2.25*	16.78±1.83*	12.54±2.64
11''''	47.97±2.78*	16.91±0.12*	24±2.83
12	25.13±11.35	11.35±0.42*	18.12±5.17
12'	40.37±0.008*	16.41±1.27*	40.07±2.96
12''	27.04±5.65*	11.21±1.41	18.09±4.89
13	26.82±3.99	12.76±0.28	35.41±4.70

Table 2: Physicochemical characteristics of wheat varieties studied (Results are presented as means (M) followed by standard deviation (SD)).

*p< 0.05: significant compared to the control

samples were centrifuged at 10000 × g for 10 min at room temperature. Finally, the supernatant was added to 150 µL of glycerol and a minimal amount of 1% methyl green dye.

2.4.2 Electrophoresis

After extraction, glutenin subunits were fractionated by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) in vertical SDS-PAGE slabs in a discontinuous system. The stacking and separating gels were prepared with 4% (w/v) and 14% (w/v) of polyacrylamide concentration, respectively. The Tris-HCl/glycine buffer system of Laemmli (1970) was used. Electrophoresis was performed at a constant current of 20 mA for each gel at 12 °C for 24 h, after which time

the tracking dye had migrated out of the gel. All the gels were stained overnight in 10% (v/v) acetic acid solution containing 25% (v/v) methanol and 0.1% (w/v) Coomassie Brilliant Blue R-250. De-staining was carried out with tap water.

The subunits of the control cultivars: Karim (GluB1-7 + 8), Marzak (GluB1-6 + 8), Duramba (GluB1-13 + 16), Chinese Spring and Mexicalis (GluB1-7 + 8), Massira (GluB1-17 + 18) and Tilila (GluB1-7 + 9) were used as controls for reference bands.

The gliadins were separated in a continuous system with acid-PAGE electrophoresis (or A-PAGE). The separating gel consists of 5% (w/v) of polyacrylamide concentration. The aluminium lactate/lactic-

Number of variety	HMW-GS	LMW-GS (type 1, type 2)	Gliadins
Locus	<i>GluA1/ Glu B1/ Glu D1</i>	<i>Glu A3/ Glu B3/ Glu B2</i>	<i>Gli B1</i>
1	7+8, 2+12	LMW2	ω -35, γ -45
2	2, 7+8	LMW2	ω -35, γ -45
3	7+8, 2+12	LMW2	ω -35, γ -45
K	2+7+8	LMW1	ω -33, ω -38, γ -42
M	6+8	LMW2	ω -35, γ -45
Dr	2*, 13+16	LMW2	/
4	2, 7+8	LMW1	ω -33, ω -38, γ -42
5	2, 7+8	LMW2	ω -35, γ -45
6	2*, 2	LMW2	ω -35, γ -45
7	13+16	LMW2	ω -35, γ -45
8	2, 7+8	LMW2	ω -35, γ -45
9	6+8	LMW2	ω -35, γ -45
10	7+8, 2+12	LMW2	ω -35, γ -45
11	1,17+18, 2+12	LMW1	ω -33, ω -38, γ -42
12	1, 7+8, 2+12	LMW2	ω -35 ω -45
13	7+8	LMW2	ω -35, γ -45
Cs	7+8, 2+12	LMW2	/
Mx	7+8	LMW2	/
TI	1, 7+9, 5+10	LMW1	/
Ms	17+18, 2+12	LMW2	/

Table 3: Composition of protein fractions of varieties used in the study.

acid buffer of Laemmli (1970) was used. The migration conditions of gliadins were fixed at 500 V per gel at 15 °C for around 3 h. The gels were stained overnight with 10% (v/v) acetic acid solution containing 20% (v/v) methanol and 0.085% (w/v) of Coomassie Brilliant Blue R-250. De-staining was carried out with tap water. We used the varieties of Karim GliB1-42 and Marzak GliB1-45 as control cultivars. The electrophoretic diagrams of glutenins and gliadins were annotated according to the nomenclature of Payne et al., (1982).

2.4.3 Data analysis

The resultant data were used to calculate the means and standard deviations ($X \pm SD$). Statistical analysis of the data was conducted using *Statview 5.0* software.

Analysis of variance between the different values of variables and controls was performed using ANOVA and the value of $p < 0.05$ was considered significant.

3. Results

3.1. Physicochemical parameters

The values of different physicochemical parameters were determined: gluten content, protein content, Zeleny volume and SDS sedimentation test values are shown in Table 2.

3.1.1 Evaluation of the gluten content of the varieties studied

Gluten levels of the varieties 2', 3, 3', 3'', 4'', 6', 6'', 7, 7', 8, 10, 10'', 11'', 11''', 11''', 12', and 12'', range between $37.96 \pm 1.97\%$ and $56.1 \pm 1.43\%$ (Table 2), a significant increase compared to the control (Marzak, $26 \pm 2.85\%$) (where $p < 0.05$ is considered significant).

3.1.2 Evaluation of the protein levels

The varieties 1, 2, 2', 3, 3'', 4'', 6, 6', 6'', 7, 7', 7'', 9, 11''', 11''', 12, and 12' have protein levels that range between $11.51 \pm 0.28\%$ and $20.57 \pm 0.98\%$. These values are significantly higher than that of the control ($12.6 \pm 1.55\%$) ($p < 0.05$).

3.1.3 Evaluation of sedimentation volume

The sedimentation volume of the varieties 1, 2, 3, 3', 3'', 4, 4', 4'', 4''', 6', 6'', 7, 7', 7'', and 9 were determined and the values ranged from 26.5 ± 0.70 mL to 58.85 ± 3.04 mL, which are increased compared to the control variety (42.7 ± 1.83 mL). This increase is considered statistically significant ($p < 0.05$).

3.2. Electrophoresis

The durum wheat and bread wheat glutenin subunits separated by SDS-PAGE are shown below in Figures 1 and 2, respectively. Electropherograms show two types of glutenins: high-molecular-

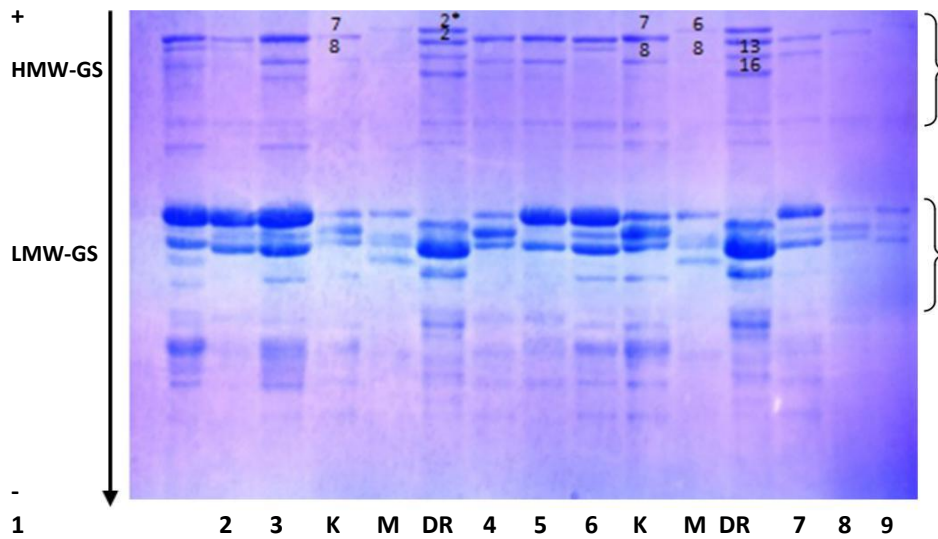


Figure 1: Electrophoregram of glutenins fractions of durum wheat

1: Bousselem, 2: Ofento, 3: Semito, K: Karim, M: Marzak, Dr: Duramba, 4: Waha, 5: Manssourah, 6: Chens, K: Karim, M: Marzak, Dr: Duramba, 7: Hedba, 8: Vitron, 9: Imported Durum Wheat

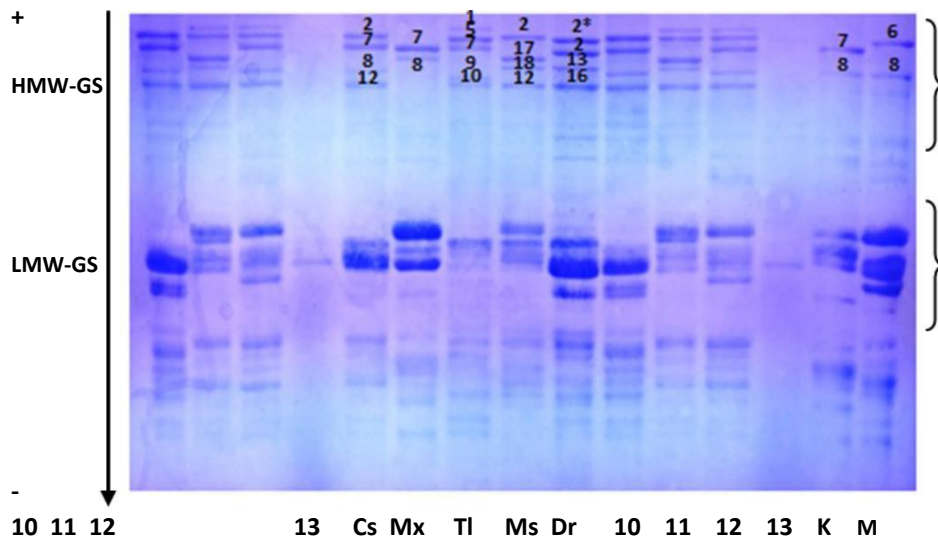


Figure 2: Electrophoregram of glutenins fractions of bread wheat

10: Arz, 11: Hidab, 12: Ain Abid, 13: Imported Bread Wheat, Cs: Chinese Spring, Mx: Mexicalis, TI: Tilila, Ms: Massira, Dr: Duramba, 10: Arz, 11: Hidab, 12: Ain Abid, 13: Imported Bread Wheat, K: Karim, M: Marzak

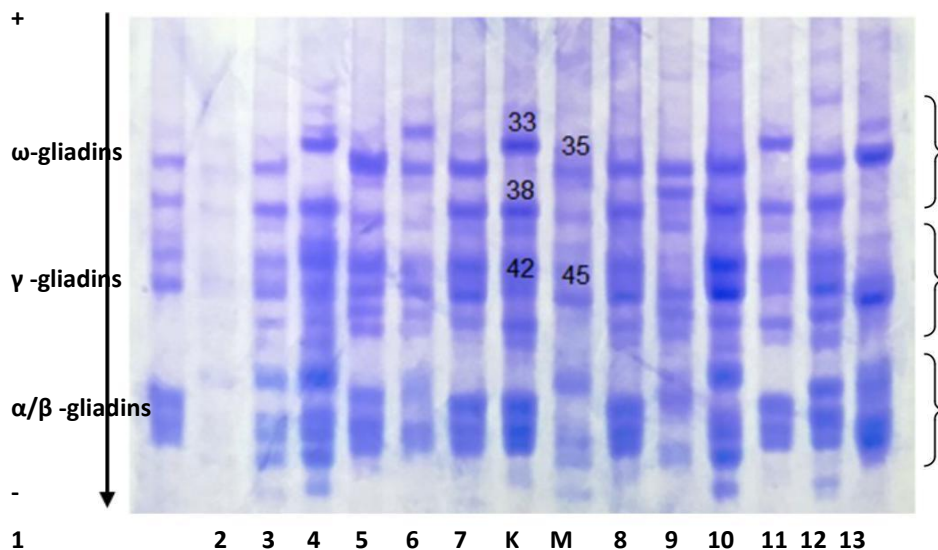


Figure 3: Electrophoregram of gliadin fractions

1: Bousselem, 2: Ofento, 3: Semito, 4: Waha, 5: Manssourah, 6: Chen's, 7: Hedba, K: Karim, M: Marzak, 8: Vitron, 9: Imported Durum Wheat, 10: Arz, 11: Hidab, 12: Ain Abid, 13: Imported Bread Wheat

weight glutenin subunits (HMW-GS) and low-molecular-weight glutenin subunits (LMW-GS). The first group is characterised by a molecular weight of between 70,000 and 90,000 daltons, whereas the second group has a molecular weight of between 20,000 and 45,000 daltons (Wrigley, 1996).

HMW-GS are located in the three loci: Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1, and have 4 to 5 protein bands. The bands with a good protein quality, such as, GluB1-7 + 8, GluB1-6 + 8, GluB1-5 + 10, existed in almost all the varieties studied. The glutenin subunit GluB1-13 + 16 is present only in variety 7 of durum wheat, while the glutenin subunit GluB1-17 + 18 exists only in variety 11 of bread wheat (Table 3).

For LMW-GS, we distinguish two different mobility groups, fast (LMW1-GS) and slow (LMW2-GS). Both types are located in the three loci: Glu-A3, Glu-B3, and Glu-B2. All varieties have bands corresponding to LMW-GS type 2, except varieties 4 and 11 which contain LMW-GS type 1.

Acid-PAGE patterns of the gliadins obtained from 13 varieties of wheat and standards (Karim, Marzak) are shown in Figure 3. According to their electrophoretic mobility at low pH, we can distinguish four subunits of gliadins: α , β , γ , and ω , which appear in all the varieties studied as well as the standards. These four subunits are controlled by six loci located on the chromosomes of group 1 (Gli1) and group 6 (Gli2) (Payne et al., 1982). The α -/ β -gliadins are characterised by a molecular weight of between 30,000 and 35,000 daltons. Based on their electrophoretic migrations, it is estimated that the γ -gliadins have a molecular weight of ~40,000 daltons, while the ω -gliadins were estimated to be between 43,000 and 70,000 daltons (Denery-Papini et al., 2007).

Based on the bands that characterise the two control varieties Karim (ω -33, ω -38, γ -42 bands) and Marzak (ω -35, γ -45 bands), we have been able to identify the bands that correspond to our varieties. Varieties 4 and 11 have ω -33, ω -38, and γ -42 bands. The ω -35, γ -45 bands are present in varieties 3, 5, 7, 8, 10, and 13.

4. Discussion and conclusion

Our study involved determining the biochemical and electrophoretic parameters of wheat either locally cultivated or imported into Western Algeria.

The results obtained show a significant increase in the gluten content, with the maximum value ob-

served being $56.1 \pm 1.43\%$ in variety 7 (Hedba variety) compared to Merzak variety ($26 \pm 2.85\%$) ($p < 0.05$). Similarly, the total proteins have a value of higher than $20.36 \pm 1.13\%$ in 4 (Waha), 5 (Manssourah) and 6 (Chen's) varieties compared with control (Merzak variety) ($12.6 \pm 1.55\%$) ($p < 0.05$). For the sedimentation volume, we observe that 15 samples have significantly higher values compared to the Moroccan Marzak variety, which is used as a reference for gluten strength (SDS sedimentation volume = 44 mL) (Amallah et al., 2015). This volume exceeds 61 mL in varieties 7 (Hedba) and 3 (Semito). The results obtained for these three parameters (gluten content, total protein and sedimentation volume) indicate that our

samples contain good protein quality. This conclusion is based on previous studies which have established the relationship between these parameters and the quality of wheat, hence, the analysis of such parameters can be used as criteria for assessing the quality of durum and bread wheat (Amallah et al., 2015). When compared to standards, the parameters studied are greater than the national and international standards (an increase of 25% for gluten, and at least 11% for total proteins) (Codex Alimentarius, 1991). The sedimentation values, which can be used as indicators of baking strength, are significantly higher when compared to the normal range of 28 mL to 38 mL, demonstrating that the samples have a very good baking strength. The analysis of the polymorphism of glutenins shows that there is diversity in the level of the three loci: Glu A1, Glu B1, and, Glu D1. The varieties studied that have bands that indicate high quality are 1, 7+8, 7+9, 5+10, 13+16 (Branlard et al., 1985). Also, our samples contain the low-molecular-weight subunits type 2 (LMW2-GS), that give the gluten a good elasticity and subsequently can improve the cooking quality of pasta. We also noticed the presence of the α -gliadin fraction, which is the most toxic fraction for celiac patients (van Herpen et al., 2006). Further, we observed the presence of the ω -gliadin fraction which has also been demonstrated to be active in celiac disease (Camarca et al., 2009). All of the varieties also have γ -45 gliadin bands, that are related to good wheat quality (Branlard et al., 1985). The large number of bands observed in the durum wheat and bread wheat varieties, grown in Western Algeria, reveals a great diversity in the storage proteins of these varieties.

The studies of the protein quality of the wheat varieties cultivated in Western Algeria, and the varieties of imported wheat, have successfully yielded

results for the physicochemical and electrophoretic properties.

The physicochemical analysis of gluten content, protein content, and gluten quality (as determined by the sedimentation volume) of the varieties studied show that the values of each are greater than the control varieties and international standards, regardless of the region or the year.

The electrophoretic analysis of glutenins by SDS-PAGE, and gliadins by acid-PAGE, showed no differences in the electrophoretic profiles between the varieties consumed in Western Algeria and the varieties used as controls. In addition, the locally cultivated varieties contain the quality bands, that are sought after in the food technology industry, confirming the previous results.

To summarise, the wheat varieties studied have the protein fractions (prolamins) that are known to induce celiac disease. Furthermore, the wheat consumed in Western Algeria has been shown to have a high degree of gluten strength. The results appear to contradict the view that wheat from Western Algeria was suspected to be responsible for the decrease in the incidence of celiac sprue.

Since the genetic factors of celiac disease can vary over time and region, we suggest examining the frequencies of the HLA-DQ2 and HLA-DQ8 alleles and observe the stability of these frequencies from 1990.

We propose that an increase in the biological investigations into the mechanisms of the asymptomatic form of celiac disease is required. It is known that the symptomatic form of celiac disease can transform to the asymptomatic form, with the disappearance of detectable clinical signs.

Acknowledgments

The authors express their thanks to Mr Kamar Mustapha for his technical assistance.

References

Amallah L, Taghouti M, Rhrib k, Gaboun F, Hassikou R (2015) Genetic variability in agro-morphological and quality traits of Mediterranean durum wheat landraces. *Cereal Research Communications* 43(1):123-132

American Association of Cereal Chemistry (1984) International approved methods, physicochemical tests, AACCI Method 56-61.02. Sedimentation test for wheat <http://methods.aaccnet.org/methods/56-61.pdf>

Bessahraoui M, Bouziane-Nedjadi K, Niar S, Naceur M, Boudraa G, Touhami M (2011) Fréquence de la maladie cœliaque de l'enfant dans la wilaya d'Oran, Algérie. *Médecine du Maghreb* 191:5-14

Blanco A, Colasuonno P, Gadaleta A, Mangini G, Schiavulli A, Si-meone R, Digesù A M, Vita P, Mastrangelo A M, Cattivelli L (2011) Quantitative trait loci for yellow pigment concentration and individual carotenoid compounds in durum wheat. *Journal of Cereal Science* 54:255-264

Branlard G, Dardevet M (1985) Diversity of grain proteins and bread wheat quality, I Correlation between gliadin bands and flour quality characteristics. *Journal of Cereal Science* 3:345-354

Branlard G, Dardevet M (1985) Diversity of grain protein and bread wheat quality, II Correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics. *Journal of Cereal Science* 3:329-343

Bushuk W, Zillman R A (1978) Wheat cultivar identification by gliadin electrophoretograms. *Canadian Journal of Plant Science* 58:505-515

Camarca A, Anderson R P, Mamone G, Fierro O, Facchiano A, Costantini S, Zanz, D, Sidney J, Aurichchio S, Sette A, Troncone R, Gianfrani C (2009) Intestinal T cell responses to gluten peptides are largely heterogeneous, implications for a peptide-based therapy in celiac disease. *Journal of Immunology* 182(7):4158-4166

Codex Alimentarius (1991) Standard for durum wheat semolina and durum wheat flour, Codex Standard 178 <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius>

Compan F, Ecartot M, Roumet P (2013) Mesure de la qualité du grain de blé dur par spectrométrie proche infrarouge. *Cahiers des Techniques de l'INRA* 80(3):1-8

DeFranco A L, Robertson M, Locksley R, Cunin R (2009) Immunité, la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires, de boeck, Bruxelles

Denery-Papini S, Laurieère M, Branlard G, Morisset M, Pecquet C, Choudat D, Merlino M, Pineau F, Popineau Y, Boulenc E, Bouchez-Mahiou I, Bodinier M, Moneret-Vautrin, D A (2007) Influence of the allelic variants encoded at the Gli-B1 locus, responsible for a major allergen of wheat, on IgE reactivity for patients suffering from food allergy to wheat. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 55:799-805

FOSTAT (2015) Crops <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

Laemmli U K (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685

Meresse B, Malamut G, Cellier CH, Cerf-Bensussan, N. (2006) La maladie cœliaque, un modèle d'étude de l'inflammation intestinale et de la lymphomagenèse T. *Hépatogastrologie et Oncologie Digestive* 3(13):223-235

Murray J A (1999) The widening spectrum of celiac disease. *The American Journal of Clinical Nutrition* 69(3):354-365

Payne P I, Holt L M, Lawrence, G J, Law C N (1982) The genetics of gliadin and glutenin, the major storage proteins of the wheat endosperm. *Plant Foods Human Nutrition* 31:229-24

Payne P I, Jackson E A, Holt L M (1984) The association between γ -gliadin 45 and gluten strength in durum wheat varieties, a direct causal effect or the result of genetic linkage?. *Journal of Cereal Science* 2:73-81

Singh N K, Shepherd K W, Cornish G B (1991) A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal*

Remil et al., South Asian J Exp Biol; 7 (2): 113-121; 2017

of Cereal Science 14:203-208

ease epitopes. BMC genomics 7(1):1

van Herpen T W, Goryunova S V, van der Schoot J, Mitreva M, Salentijn E, Vorst O, Vosman B (2006) Alpha-gliadin genes from the A, B, and D genomes of wheat contain different sets of celiac dis-

Wrigley C W (1996) Giant proteins with flour power. Nature 381:738-739



ABOUT THE JOURNAL: SAJEB (eISSN: 2230-9799) is a peer-reviewed, open-access and online journal aimed at advancement and rapid dissemination of scientific knowledge generated by the highly motivated researchers in the field of biological sciences through publication of high-quality original research and critical up-to-date re-view articles covering all the aspects of biological sciences. Every year, it publishes six issues. SAJEB has received Global Impact Factor (GIF)-2015, 0.765; Index Copernicus Value-2015, 93.0 and NAAS (ICAR)-India 2017 rating, 4.79. SAJEB has been included in the ISI master list of journals of Thomson Reuters under Zoological Record. The SAJEB is also covered by CABI (UK), AGRICOLA, NLM catalogue, CAS (ACS, USA), DOAJ, Journal TOCs (ICBL, Edinburgh), Directory of research Journals Indexing (DRJI) and Indian Science Abstracts (ISA, NISCAIR).