

EFFET DES TRAITEMENTS HYDROTHERMIQUES DU COUSCOUS DE BLE DUR SUR LE COMPORTEMENT DES PROTEINES

GUEZLANE L. (1) MOREL M.H. (2) ABECASSIS J. (2)

(1) : Institut National Agronomique - El-Harrach - Algérie.

(2) : Laboratoire de technologie des céréales INRA, 2 Place Viala 34060 Cedex-Montpellier France.

Résumé : L'influence des traitements hydrothermiques subis par la semoule au cours de sa fabrication en couscous a été étudiée .

Ces traitements hydrothermiques entraînent une dénaturation des protéines. Les HMWG et LMWG s'agrègent très rapidement dès le début du traitement hydrothermique pour former des agrégats de taille très élevée. Les ω -gliadines ne sont guère affectées par ces traitements. Le rapport ω -gliadines/gliadines thermocoagulables est recommandé comme marqueur biochimique de l'intensité du traitement hydrothermique du couscous.

Mots clés : Traitement hydrothermique, couscous, protéines, blé dur, semoule.

Hydrothermal treatments effects of hard weath couscous proteins behaviour

Abstract : The influence of hydrothermal treatment undergone by semolina during its processing into couscous has been studied. These hydrothermal treatment involve a denaturation of proteins. The HMWG and LMWG aggregate very quickly at the ofform aggregates of beginning of hydrothermal treatment of form aggregates of larger sizes. The ω -gliadins are not affected by this treatment. The thermocoagulable ω -gliadins/gliadins ratio is recommended as a biochemical recorder of couscous hydrothermal treatment intensity.

INTRODUCTION

Le couscous est un produit composé de semoules de blé dur auxquelles est ajoutée , pour les agglomérer , de l'eau potable et soumis à des traitements physiques (malaxage et roulage) et à des traitements thermique (précuisson et séchage). La norme AFNOR, 1991. Souligne qu' aucun additif alimentaire ou aucun autre ingrédient n'entre dans la composition de ce produits sauf le sel éventuellement présent dans l'eau d'hydratation utilisée pour l'agglomération de la semoule.

Parmi toutes les opérations unitaires, l'opération de précuisson constitue le traitement hydrothermique (obligatoire (que l'on impose au couscous juste après l'avoir mis en forme pour gélatiniser l'amidon et éviter d'autre part l'agglomération des particules de couscous au cours de la réhydratation. L'optimisation des conditions de traitements hydrothermique à faire subir au couscous frais n'apparaît possible qu'à partir d'une meilleure compréhension des modifications physico-chimiques subies par les composants de la semoule de blé dur au cours de la précuisson. L'une des premières conséquences du traitement hydrothermique sur les protéines est la dénaturation de la structure native par modification des interactions faibles (hydrogènes, hydrophobes et ioniques) et covalentes. C'est pourquoi, nous avons cherché à préciser l'influence de la propriété hydrothermique sur les propriétés physico-chimique des protéines.

MATERIEL ET METHODES

1. Fabrication du couscous et traitement hydrothermique

Ces couscous ont été fabriqués à partir d'une même semoule (variété ARCOUR provenant du sud de la France, fournissant des pâtes alimentaires d'excellente qualité culinaire avec un profil électrophorétique typ β -45) sur la ligne pilote INRA - Montpellier (Institut National de la Recherche Agronomique). Hormis la précuisson, les mêmes conditions de fabrication ont été appliquées à l'ensemble des produits : hydratation (31.5%. M.H), malaxage (20mn), roulage(10mn) et séchage(55°C pendant 17 heures).

Les traitements hydrothermiques ont été réalisés soit en vapeur détendue (1 et 3 bars) soit en vapeur sous-pression (0,5 bar) pendant des durées de 1,2,4,8,16 et 24 minutes. La température des produits au cours des traitements est déterminée à l'aide de capsules d'indicateurs thermosensibles (THERMAX). L'énergie absorbée par le produit au cours du traitement hydrothermique a été calculée par la relation suivante (DELLA VALLE 1992, COMMUNICATION PERSONELLE) :

$$E_a \text{ (J/g)} = h_1 M_1 - h_2 M_2$$

h_1 = enthalpie de l'eau en ébullition (J/g)

h_2 = enthalpie de vapeur d'eau (J/g)

M_1 = quantité de vapeur d'eau avant traitement (g)

M_2 = quantité d'eau récupérée après traitement (g)

2. Séparation de protéines par chromatographie d'exclusion diffusion (SE=HPLC)

80 mg de semoule ou de couscous broyés sont mis en suspension dans 10ml de tampon phosphate de sodium 0,1 M pH 6,9 contenant 2% de SDS pendant 2 heures à 60°C sur agitateur rotatif (60 Tr/mn). Après centrifugation 30 minutes à 37000 g à 20°C, une partie aliquote de 20 µl de surnageant limpide est injectée automatiquement (injection type SPARK Holland modèle 125). La colonne est de type TSK 4000 SW remplie d'un gel de silice rigide hydrophile et sphérique de granulométrie de 13 mm et une porosité de 45 µm (limites d'exclusions entre 5 kDa et 1000 kDa). Les protéines sont détectées par absorption à 214 nm (lampe à zinc) grâce à un détecteur d'absorption U.V modèle 160 (type Beckman). L'acquisition et le traitement des données sont réalisés à l'aide d'un logiciel Nelson Analytical 3000.

3. Electrophorèse (PAGE-SDS) à 17% d'acrylamide

Les protéines sont extraites à partir de 40 mg de semoule ou de couscous par 1ml d'une solution extractrice contenant 2% de SDS ; 60mM Tris HCl pH 6.8 ; 10% de glycérol et 0.01% de pyronine G, d'après la méthode de PAYNE et CORFIELD (1979) pendant 2 heures à température ambiante sur vibrax (Jank et Kunkel, type Vx8, vitesse 1400 T/mn). Après centrifugation 10 minutes à 10.000g, les surnageants sont réduits au mercapto-éthanol durant 3 minutes au bain-marie bouillant.

Les gels colorés sont analysés par densitomètre LASER LKB modèle 2202 ULTROSCAN. Le traitement de courbes densitométriques est réalisé grâce au logiciel Spectre Static.

4. Méthodes statistiques

Le traitement des données fait appel à des méthodes statistiques (Logiciel STAT I.T.C.F).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les conditions du traitement hydrothermique des échantillons sont rappelées sur le tableau 1. Ces conditions ont permis d'explorer un large domaine expérimental dans la mesure où les quantités de vapeur (g/100g de produit) ont varié de 0 à 460, la température des produits de 90°C à 135°C et l'énergie absorbée de 300 à 90000 J/100g de produit. En revanche, la quantité de vapeur fixée par le produit a peu varié (8.2 à 10.2%) ce qui correspond à des teneurs en eau comprises entre 32 et 33% M.H.

TABLEAU -1- TRAITEMENT HYDROTHERMIQUE

PRESSI ON Bars	DURE EN mn	T(°C) CHAUD- IERE	T(°C) PROD- UITS	E. absorbée Ea(J/100g)	Quantité de vapeur fixée g eau/100g produit	Quantité de vapeur traversée g eau/100g produit
1 vapeur détendu e	1	120	91	2920	9,1	N.M
	2		-	4810	8,2	N.M
	4		104	6730	8,9	20
	8		-	9580	8,7	57
	16		113	13960	9,1	121
	24		116	23610	9,2	250
3 Vapeur détendu e	1	144	116	7650	9,2	10
	2		-	11810	9,2	22
	4		130	22510	10,0	73
	8		-	35980	10,2	142
	16		135	55560	10,2	230
	24		135	92550	10,0	458
0,5 Vapeur sous pression	1	134	113	4750	9,2	6
	2		-	7160	9,2	14
	4		129	10860	9,0	46
	8		-	17960	9,2	105
	16		132	29910	9,0	214
	24		132	49340	9,5	419

N.M : non mesurable

1. Degré d'agrégation des protéines par S.E-HPLC

L'examen des profils d'éluion de d'évolution de la semoule au couscous non traité séché (tableau 2) montre une diminution de l'aire totale de 20%. La transformation de la semoule en couscous provoque une diminution des aires des différentes fractions de l'ordre de 20% pour F2, 15% pour F4 et 12% pour F5 à l'exception du pic F1 (35%).

Le traitement hydrothermique provoque une forte diminution de la surface totale du chromatogramme et entraîne la quasi disparition des deux premières fractions F1 et F2 constituées des agrégats gluténines HMWG et LMWG, sous-unités les plus agrégatives. 1 mn de traitement hydrothermique, l'insolubilisation est déjà quasiment réalisée.

L'insolubilisation ne paraît pas s'accroître au delà de 8 minutes puisque pour les traitements à 8 et 24 mn les résultats presque identiques sont obtenus. Ces résultats sont tout à fait en accord avec les conclusions de BOOTH et al, 1980 et de AIT-MOUH, 1989 sur les pâtes alimentaires. Les gliadines constituent le groupe le plus intéressant. Nos travaux confirment la stabilité thermique du groupe ω -gliadines, stabilité signalée par AUTRAN et BERRIER, 1984 ; KOBREHEL et ABECASSIS, 1985 et AIT-MOUH, 1989. Les autres gliadines sont par contre thermo-coagulables. Les résultats de ces travaux nous conduisent à recommander d'utiliser le rapport ω - gliadines/gliadines thermo-coagulables comme marqueur de l'intensité de traitement hydrothermique du couscous. A l'aide de ce marqueur, nous pourrions classer les traitements par ordre de sévérité décroissant suivant : traitement vapeur détendue 3 bars > traitement vapeur sous pression 0,5 bar > traitement vapeur détendue 1 bar.

2. Nature des agrégats des protéines par électrophorèse SDS-PAGE

La caractérisation des protéines des couscous traités et non traités a été réalisée à l'aide du système généralement utilisé pour étudier les protéines du blé : l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide à pH=8,8 en présence de SDS après réduction des extraits protéiques par le (β -Mercaptoéthanol).

L'étude des différents profils électrophorétiques (Fig.1) permet de tirer les conclusions suivantes : 1) Les HMWG présentes dans la semoule de départ et dans le couscous non traité disparaissent totalement pour l'ensemble des produits traités. Par contre, si les LMWG s'agrègent très rapidement sous l'effet du traitement hydrothermique, leur disparition reste rapide que celle des HMWG ; 2) Au niveau de la composition protéique, une disparition progressive de protéines hydrosolubles, ainsi que les α , β , et δ gliadines, au fur et à mesure que le traitement augmente est observée. En revanche, les ω -gliadines, qui demeurent extractibles, ne semblent guère touchées par ces traitements. Cette résistance à la chaleur est due à leur manque de cystéine et à leur structure fortement stabilisée par des interactions hydrophobes (CHARBONNIER, 1974 ; TATHAM et SHEWRY, 1985).

**TABLEAU -2- EVOLUTION DES AIRES DES PICS D'ELUTION SE-HPLC (F1-F5)
DE LA SEMOULE AU CNPS PUIS AU CPS : (résultats exprimé par rapport à
l'aire totale du profil de chaque échantillon (F%) et par rapport à l'aire de la
fraction correspondante du profil semoule (F/S))**

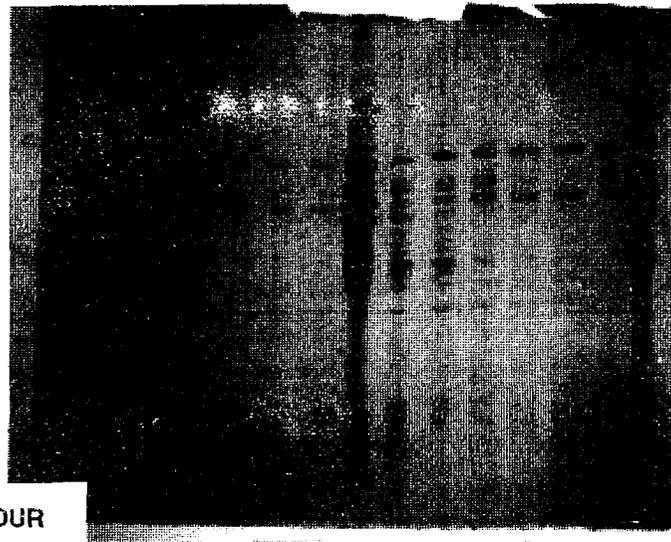
DUREE (mn)	PRESSI ON (bars)	F1		F2		F3		F4		F5		F3/F4		Aire Total (%)
		F1	F1/ S	F2	F2/S	F3	F3/ S	F4	F4/S	F5	F5/ S	F3/F 4	F3/F4 S	
SEMOUL E CNPS	- -	11.1 9.1	100 65.5	19.9 20.1	100 80.5	21. 8	100 75.1	29.9 31.6	100 84.7	17.3 19.1	100 88.	0.73 0.64	1 0.88	100 80.1
1 8 24	1 Vapeur détendue	1.3 1.1 2.5	3.4 1.6 3.8	11.2 6.2 7.5	16.3 5.5 6.4	34. 6 35. 1	45.9 28.3 24.7	28.9 19.8 18.1	27.9 11.1 10.6	27.7 37.9 36.3	46. 3 38.	1.21 1.78 1.78	1.65 2.55 2.33	28.9 17.6 16.9
1 8 24	3 Vapeur Détendu e	2.5 0.9 1.1	3.1 1.3 3.1	11.2 5.4 6.5	18.4 4.2 4.5	32. 1 36. 7 32. 1	48.2 25.9 20.2	27.3 16.2 16.8	29.9 8.3 7.7	27.3 40.8 43.6	51. 6 36. 3 34. 5	1.18 2.26 1.91	1.61 3.12 2.62	32.7 15.4 13.7
1 8 24	0.5 Vapeur s/pressio n	1.2 1.3 0.9	2.3 2.1 1.5	7.5 7.6 5.2	7.9 6.6 3.7	33. 5 35. 4 30. 4	32.3 28.3 19.5	25.5 16.1 17.4	17.9 9.4 8.2	32.3 39.7 46.1	39. 2 39. 9 37. 2	1.31 2.19 1.74	1.81 3.01 2.38	21.1 17.4 14.1

C.N.P.S : couscous non précuit séché

Figure-1- Séparation électrophorétique sur gel de polyacrylamide SDS-PAGE à 17% d'acrylamide (pH 8.8) des protéines extraites du CNPS, du CNPC, du CPS, du CPC et de la semoule (variété ARCOUR) Dépôt en milieu réduit
Traitement à 3 bars en pression détendue

- 1-CNPS
- 2-CPS3-1mn
- 3-CPS3-2mn
- 4-CPS3-4mn
- 5-CPS3-8mn
- 6-CPS3-16mn
- 7-CPS3-24mn

- 8-CNPC
- 9-CPC3-1mn
- 10-CPC3-2mn
- 11-CPC3-4mn
- 12-CPC3-8mn
- 13-CPC3-16mn
- 14-CPC3-24mn
- 15-SEMOULE ARCOUR



- } ← HMW
- ← W-GLIADINES
- } ← LMW
- ← α, β, δ GLIADINES
- } ← ALBUMINES
et GLOBULINES

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

Les analyses densitométriques des diagrammes SDS-PAGE (tableau 3) montrent que dès 1mn de traitement le choc hydrothermique provoque la disparition de 44% des protéines (à 1 bar, vapeur détendue), 61% (en vapeur détendue à 3 bars) et 75% (à 0,5 bar en vapeur sous pression). L'insolubilisation continue entre 1 et 4 mn de traitement, elle est totale au delà de 8 mn puisque les profils chromatographiques ne varient pas entre 8 et 24 mn. L'insolubilisation maximale des protéines intervient donc entre 4 et 8 mn alors que dans le même temps, l'indice de prise en masse décroît pour atteindre sa valeur minimale après 8mn de traitement. La prise en masse importante du couscous pourrait ainsi être mise sur le compte de l'hydratation des protéines et de leur aptitude à interagir via des liaisons de type secondaire, notamment hydrophobes.

CONCLUSION

Parmi les groupes protéiques, les HMWG et LMWG s'agrègent très rapidement dès le début du traitement pour former des agrégats de taille très élevée. A l'inverse, les ω -gliadines sont guère affectées par ces traitements. Le rapport ω -gliadines/gliadines thermocoagulables apparait comme un bon marqueur du traitement subi par le couscous. L'agrégation des protéines intervient par la création de liaisons disulfures. Ces liaisons covalentes imposent une nouvelle structure plus rigide aux protéines ce qui réduit leurs possibilités d'interagir et pourrait ainsi limiter l'apparition du collant entre les particules de couscous.

**TABLEAU -3- ANALYSE DENSITOMETRIQUES DES PROFILS SDS-PAGE
DES COUSCOUS PRECUITS-SECHES (CPS) ET DES COUSCOUS
PRECUITS-CONGELES(CPC) (% de l'aire totale des couscous précuits
séchés
et précuits par rapport à l'aire totale du profil CNPS et CNPC)**

DUREES (mn)	PRESSION (bars)	AIRE TOTALE		POURCENTAGE	
		PREC+SECHAGE	PRECUSSION	CPS/CNPS	CPC/CP
CNPC*		-	16342034	-	100,0
CNPS**		3686699	-	100,0	-
1	1	3606244	6694567	56,5	41,0
2	Vapeur	2030509	5434262	31,8	33,3
4	Détendue	1798291	4770641	28,2	29,2
8		1592387	2478009	24,9	15,2
1	3	2468315	2681926	38,6	16,4
2	Vapeur	1595820	1409747	25,0	8,6
4	Détendue	517720	871504	8,1	5,3
8		486378	673874	7,6	4,1
1	0.5	1591840	3583337	24,9	21,9
2	Vapeur	1456119	2714142	22,8	16,6
4	sous	1373742	2404970	21,5	14,7
8	pression	1030934	1862064	16,1	11,4

* couscous non précuit congelé puis lyophilisé

** couscous non précuit séché

Références

AIT MOUH O. , 1989 : Influence des conditions de séchage à très haute T° sur les propriétés des pâtes alimentaires. Thèse de Doctorat Université des Sciences Techniques du Languedoc. Montpellier 94 pages.

AFNOR., 1991 : Recueil des normes françaises : Céréales et produits à base de céréales, couscous et spécifications, 1-10.

AUFRAN J.C.,and BERRIER R., 1984 : Durum wheat protein subunit revealed through heat treatments. Biochemical and genetic implication in (Gluten proteins (Wageningen, the Netherland (A. Graveland A. and J.H.E Moonen, Ed) 175-183.

BOOTH M.R., BOTTOMLEY M.C., Ellis J.R.S., MALLOCH G., SCHOFIELD J.D TIMMS M.F., 1980 : The effect of wheat on gluten physico-chemical properties and baking quality . Ann. Tech. Agr. 29, 399-408.

CHARBONNIER L., 1974 : Isolation and caractérisation of omega-gliadine fractions, Biochim , Biophys. Acta., 359, 142-151.

KOBREHEL K et ABECASSIS., 1985 : Influence de la température de séchage des pâtes alimentaires sur l'activité et la composition des peroxydases en relation avec la couleur des produits. Lebensn. Wiss. u. Technol., 18, 227-280.

RAYNE P.I., CORFIELD. K.G., 1979 Subunit composition of wheat glutenin proteins isolated by gel filtration in a dissociating medium. Planta., 145, 83-88.

TATHAM A.S. ; SHEWRY P.r. ; 1985 : The conformation of wheat gluten proteins. I. The secondary structure and thermal stabilities of alpha-beta-gamma and omega gliadine J. Cereal. Science., 3,103-113.