

**Protéines et acides nucléiques du grain de blé:
leur répartition dans les produits de mouture et
le germe**

**PROCEEDINGS
OF THE IV INTER
NATIONAL CONGRESS
OF FOOD SCIENCE
AND TECHNOLOGY**

Reprint
Tirée - à - part
Sonderdruck
Separata

Protéines et acides nucléiques du grain de blé: leur répartition dans les produits de mouture et le germe

A. Bourdet and J.C. Aufran

Lab. Rech. Qualité Blés - I.N.R.A.

16, rue N. Fortin

75 013 Paris, France.

ABSTRACT

The protein and nucleic composition of the main structural parts of the wheat grain, as represented by its milled products, was determined. After fractionation by differential solubility, electrophoresis confirms the presence in each product of the classical 4 protein groups and evidences that heterogeneity of the gliadin fraction is qualitatively unchanged among the tissues of the same variety. As regards soluble proteins, the Globulins rate is prevailing in the peripheral products, that of Albumins in endosperm. Concerning insoluble proteins, Glutenins are in larger proportions in bran, shorts and germ, when Gliadins prevail in flour. The protein content of the rough preparations isolated from the milled products varies according to their histological origin.

Both types of nucleic acids are present at various rates in each milled fraction. The nucleic components of the kernel appear to be distributed approximately by thirds between flour, shorts and bran; germ contains by itself 32 % of the grain nucleic acids, with a rate of 37 % for RNA and 24 % for DNA. In most cases, the Albumins, Gliadins and Glutenins preparations have a low nucleic acid content (0,5 to 1,5 % protein), when it reaches 10 % for Globulins. The corresponding values for the germ proteins are 5,4 % for Albumins and 18 % for Globulins. DNA is in a high concentration in Globulins from endosperm and RNA prevails in Globulins from germ, when in the same tissue, most of DNA is gathered in the Glutenin fraction.

Physiological and technological aspects of this study are discussed.

INTRODUCTION

La structure histologique du grain de blé est à la base des opérations industrielles consistant à séparer l'albumen, consommé par l'homme sous forme de farines, des tissus périphériques ou issues généralement destinés aux animaux.

Le fractionnement des différents tissus du grain par la mouture, variable selon le taux d'extraction pratiqué, ne fournit toutefois qu'une image très grossière de leur répartition histologique et seules les méthodes de dissection manuelle permettent de rendre compte objectivement de cette distribution.

Plusieurs auteurs se sont préoccupés de préciser la répartition pondérale et la teneur en protides totaux des différentes zones histologiques du grain séparées par dissection manuelle et des travaux analogues ont été réalisés sur les produits obtenus en mouture industrielle (25). Les valeurs rapportées ci-dessous, mettent en parallèle les caractéristiques de répartition et de composition des produits dans l'un et l'autre cas.

	Dissection manuelle HINTON (12)			Mouture industrielle FARREL et coll. (5)	
	% du grain	Protides %		% du grain	Protides %
Albumen	80 - 82,5	10	Farine	72,3 - 77	8,4 - 12,7
Germe	2 - 3	26	Germe	0,6 - 1	21,7 - 24,5
Péricarpe + testa	8 - 9	4 - 5	Sons	12,5 - 16,9	12,1 - 15,4
Couche aleurone (bande hyaline + assise protéique)	7 - 8	18	Remoulages	6,6 - 8,9	13,8 - 16,5

Les informations relatives à la nature et à la répartition des protéines constitutives des différents tissus du grain, représentés par les produits de la mouture, sont néanmoins encore actuellement très fragmentaires. Pour ce qui concerne les différents types de protéines tels que les a définis OSBORNE (20), les informations disponibles se réfèrent principalement aux grains et aux farines (3-6-24), mais restent limitées pour les autres produits. Nous citerons à ce sujet les études déjà anciennes de TELLER (28) sur la composition moyenne en protéines des sons industriels et celles de GREWE et LECLERC (11) relative aux germes commerciaux. Toutefois, la diversité des techniques analytiques utilisées a donné lieu à beaucoup d'imprécisions.

Pour ce qui est des constituants nucléiques, autre forme azotée qualitativement importante mais quantitativement mineure, les informations apparaissent encore plus restreintes. Après MATSUSHITA (18), BOURDET et FEILLET (4) ont fourni certaines précisions sur la composition nucléique du grain de blé et de la farine, et une étude très ancienne (19) a estimé à 1,24 % la teneur des sons en nucléoprotéines. En raison de sa richesse particulière en ces constituants, le germe a été le plus étudié. Reprenant les premiers travaux de OSBORNE et HEYL (22), JAVILLIER et COLLIN (13) ont estimé à 4,2 % la teneur du germe de blé en acides nucléiques, tandis que LUSENA (16) proposait une méthode d'isolement de l'ARN permettant d'établir à 2,2 % sa concentration dans le germe.

En s'appuyant sur des méthodes analytiques convenablement éprouvées, la présente étude se propose donc d'élargir et de préciser nos connaissances sur la composition protéique et nucléique des différents tissus du grain, tels que les opérations de mouture permettent de les isoler. Tout en cherchant à mieux connaître la répartition qualitative et quantitative de ces 2 types de constituants azotés, elle vise aussi à préciser leur interdépendance.

MATERIELS ET METHODES

Matériels d'étude

2 variétés françaises de blé tendre: Cappelle et Etoile de Choisy ont été examinées. Leur mouture, réalisée au moulin pilote expérimental des Grands Moulins de Paris, dans des conditions semi-industrielles (débit 2 Qx/heure) a permis d'isoler 4 types de produits: farines, sons, remoulages bis et remoulages blancs. Le diagramme utilisé ne sépare pas les germes qui se trouvent répartis entre les 2 types de remoulages. Une préparation purifiée de germes, obtenue par mouture industrielle d'un lot commercial de la variété Cappelle, a été examinée parallèlement.

A l'exception des farines, les grains et les issues ont été finement divisés au broyeur à marteau de laboratoire (modèle Culatti) avant d'être analysés. Les germes eux mêmes préalablement purifiés par tamisage et partiellement délipidés (éther de pétrole) ont été broyés de la même façon.

Méthodes d'analyse

Fractionnement et détermination des groupes protéiques

Les grains, les produits de mouture et les germes ont été traités successivement par ClNa 0,5 M pH 6,8, l'éthanol 60 % et la glycolmonochlorhydrine 70 % (GMC) dans les conditions déjà décrites (6). Une dialyse de l'extrait salin permet de déterminer respectivement l'azote non protéique (ANP), les albumines et les globulines. Les gliadines sont contenues dans l'extrait éthanol, les gluténines dans l'extrait GMC; la solubilisation de cette dernière fraction a nécessité dans certains cas (sons, germe) une dispersion mécanique intense du résidu (Ultra Turrax).

La dialyse et la lyophilisation des différents extraits ont permis d'isoler à l'état brut les préparations protéiques correspondantes.

L'azote a été déterminé selon Kjeldahl sur les produits d'origine, les extraits protéiques et les préparations isolées.

Electrophorèse des protéines solubles et des gliadines

La nature des protéines solubilisées ou isolées à partir des différents produits a été contrôlée par fractionnement électrophorétique en tampon lactate d'Aluminium pH 3,2, en gel de polyacrylamide 7,5 % pour les fractions albumines et globulines (2 h 45 à 10 v/cm), en gel d'amidon 10 % pour les gliadines (4 h 30 à 8 v/cm).

Détermination des acides nucléiques totaux, de l'ARN et de l'ADN

Les méthodes récemment décrites par AUTRAN et BOURDET (2) ont été utilisées. Après élimination des constituants acido-solubles, elles conjuguent l'extraction des nucléoprotéines par NaCl 1 M, l'isolement des bases puriques après hydrolyse par NO_3Ag 0,5 M et une extraction différentielle par l'acide perchlorique. Des mesures colorimétriques et d'absorption UV permettent ensuite de déterminer les 2 types d'acides nucléiques.

L'extraction par GMC 70 % des nucléoprotéines contenues dans la fraction gluténine ne convient pas; elle a été réalisée par dispersion mécanique intense en présence de ClNa 1M.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les valeurs du Tableau 1 précisent les proportions et les teneurs en Protides totaux des différents produits de mouture obtenus à partir des 2 variétés.

TABLEAU 1

	Farines				
	Grains (% du grain)	Sons	Remoul. Bis	Remoul. Blancs	
Etoile de Choisy.	100	76,5	16,4	5,5	1,6
Cappelle.	100	78,3	14,3	5,8	1,6
	Protides totaux % s.s.				
Etoile de Choisy.	10,85	9,60	13,85	16,20	16,40
Cappelle.	12,15	10,85	16,30	18,00	17,50

Les germes étudiés contenaient eux mêmes 35,1 % de protides totaux.

Les rendements en farine, sons et remoulages réalisés dans les conditions de mouture indiquées apparaissent très comparables à ceux obtenus en meunerie industrielle (5) à partir de 9 types de blés. Dans cette étude, les rendements du germe s'échelonnaient entre 0,6 et 1 %.

Il en est de même en ce qui concerne les teneurs en protides totaux. Comparativement aux résultats de FARREL, on note toutefois que les sons, formés du péricarpe auquel adhère la couche d'aleurone et une proportion plus ou moins importante d'albumen, apparaissent un peu plus riches en protides, du fait sans doute d'une moindre efficacité à la mouture dans la séparation albumen-enveloppes. La même observation s'applique aux remoulages, répartis ici en "bis", constitués principalement de sons et de germe et d'un peu d'albumen, et en "blancs" riches en aleurone, moyennement riches en albumen et

germe, et pauvres en sons. Selon GONZAGA (10) les remoulages bis et blancs obtenus en mouture industrielle, contiendraient respectivement 19 et 16 % de protides. Cette différence entre les 2 types de produits n'apparaît pas ici. Notons enfin, pour ce qui est de la teneur en protides des germes, l'écart important entre les produits industriels (5) et le matériel plus purifié sur lequel nous avons travaillé.

Caractéristiques des protéines constituantes des produits de mouture

La nature des différentes fractions protéiques extraites selon le protocole expérimental indiqué a été contrôlée par leur comportement en électrophorèse, la fraction gluténine étant caractérisée par l'absence de tout composant mobile.

Ce contrôle électrophorétique justifie la validité d'un protocole de fractionnement des groupes protéiques fondé sur leurs caractéristiques de solubilité, lesquelles constituent encore actuellement le meilleur critère de différenciation.

A titre d'exemple, la Figure 1 illustre les protéinogrammes obtenus à partir des fractions alcool-solubles extraites respectivement du grain, de la farine, des sons, des remoulages et du germe (variété Cappelle), et ajustées, pour une meilleure comparaison, à des concentrations en protéines sensiblement égales.

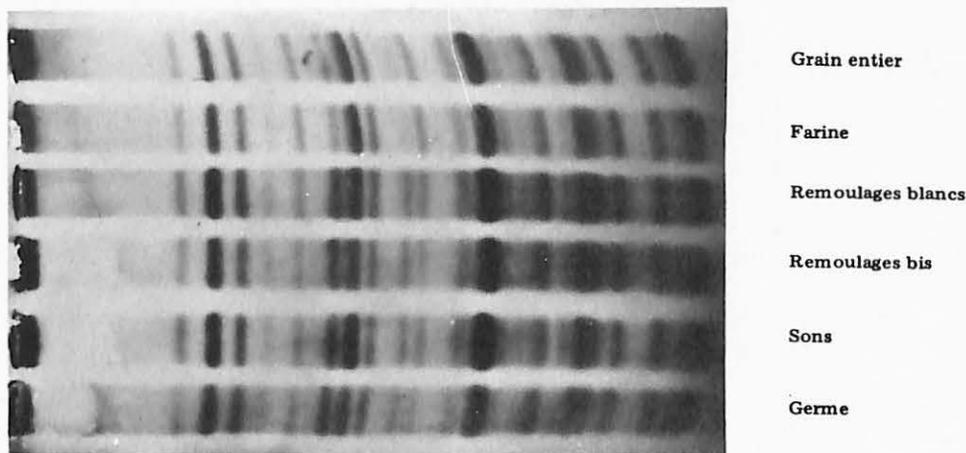


Fig. 1.—Electrophérogramme des gliadines extraites de différents produits de mouture (variété Cappelle).

Ces diagrammes montrent d'abord, par les caractéristiques de mobilité, que les protéines ainsi extraites du germe et des divers produits de mouture, sont bien de nature gliadine, ce qui, dans le cas particulier des sons, répond aux doutes émis par KRETOVITCH (15).

Ils montrent d'autre part que la constitution de ces gliadines demeure qualitative-ment identique entre le grain entier, le germe et les divers produits de la mouture, grossièrement assimilables aux différentes régions histologiques.

Des observations similaires ont été faites sur la variété Etoile de Choisy. Dans le cas des protéines salino-solubles du type Albumines et Globulines, on retrouve cette identité de constitution entre grain entier, farine, sons et remoulages. Toutefois le germe, tissu vivant particulièrement riche en protéines enzymatiques, conduit à un protéinogramme qualitativement et quantitativement différent.

Composition protéique du grain, de ses produits de mouture et du germe

Les valeurs rapportées dans le Tableau 2 relatives à Cappelle rendent compte des teneurs respectives des divers produits de mouture en différentes formes azotées (% de s.s.) ainsi que de leurs proportions relatives (% de N total).

On constate, en ce qui concerne les teneurs des différents produits, que les tissus périphériques sont plus riches en constituants azotés solubles que ceux de l'albumen. Les

TABLEAU 2

	Grain	Farine	Sons	Remoul. Bis	Remoul. Blancs	Germe
	N mg p 100 g produit sec					
ANP.	112	50	226	287	237	1036
Albumines.	330	208	440	536	468	1725
Globulines.	130	103	384	997	870	2030
Gliadines.	813	892	535	445	795	147
Gluténines.	745	652	1275	890	720	1212
	% N total					
ANP.	5,3	2,6	7,9	9,1	7,7	16,8
Albumines.	15,5	10,9	15,4	17	15,1	28
Globulines.	6,1	5,4	13,4	31,6	28,2	33,2
Gliadines.	38,1	46,8	18,7	14,1	25,7	2,4
Gluténines.	35	34,3	44,6	28,2	23,3	19,6

sons et les remoulages contiennent environ 5 fois plus d'azote non protéique (ANP), de 2 à 2,5 fois plus d'albumines et entre 4 (sons) et 9 fois plus (remoulages) de globulines que la farine. Quant au germe isolé, il renferme à lui seul 20 fois plus d'ANP, 8 fois plus d'albumines et 20 fois plus de globulines que l'amande du grain.

Du point de vue de la composition en protéines de type gluten, la concentration des gliadines est la plus élevée dans la farine et la plus faible dans les remoulages bis et les sons. A l'inverse, les sons et, à un degré moindre, les remoulages, se révèlent les plus riches en gluténines. Enfin le germe se caractérise par une relative richesse en gluténines et une très faible teneur en gliadines.

Exprimés par rapport à l'azote total, les résultats précédents permettent de préciser les proportions relatives des différentes formes azotées présentes dans chaque produit de mouture. Ils montrent que la séparation de l'albumen des tissus périphériques du grain se traduit par une diminution du taux des protéines solubles et un accroissement marqué de celui de la fraction gliadine.

Alors que dans la farine les formes azotées solubles représentent environ 19 % de l'azote total, cette proportion passe à 37 % dans les sons, à 57-58 % dans les remoulages pour atteindre 78 % dans le germe. Le rapport globulines/albumines fait apparaître que les globulines sont nettement prépondérantes dans les remoulages (1,86), le restent encore dans le germe (1,18) alors que les albumines l'emportent dans la farine (0,50) et à un degré moindre dans les sons (0,87).

Inversement, la proportion des protéines du type gliadines gluténines, qui atteint plus de 80 % dans les tissus de l'amande, n'est que de 63 % dans les sons, reste inférieure à 50 % dans les remoulages et est limitée à 22 % dans le germe.

Le rapport gluténines/gliadines montre par ailleurs que la fraction gluténine prédomine dans les sons (2,37) et les remoulages bis (2) alors que les gliadines l'emportent dans la farine (0,73), et, pour une plus faible part, dans les remoulages blancs (0,9).

Tout en les précisant, ces observations rejoignent les remarques de TELLER (28) sur la composition protéique des sons, "notamment différente en quantités et en proportions de celles de la farine". Peut-être en raison d'une plus grande diversité dans le matériel d'étude et des conditions de mouture quelque peu différentes, les résultats moyens relatifs aux sons précédemment rapportés (28) font apparaître, comparativement aux présents résultats, une proportion plus élevée de constituants solubles (44 %) et inversement, un taux plus faible de gliadines (12,4 %).

Il convient par ailleurs de souligner, par opposition à l'ensemble des tissus de réserve du grain, la composition protéique particulière de ce tissu vivant qu'est le germe. Les valeurs moyennes rapportées antérieurement (11) correspondaient à des proportions de 57 % pour les formes solubles et de 43 % pour les formes insolubles, celle revenant à la fraction prolamine étant proche de 14 %. Si, comme nous l'avons montré, la présence dans le germe d'une fraction gliadine ne saurait être mise en doute, elle ne représenterait en fait qu'un peu plus de 2 % de l'azote total. De toute façon, l'existence de près de 80 % de cet azote à l'état de constituants solubles (17 % d'ANP, 28 % d'albumines, 33 % de globulines) témoigne suffisamment des particularités métaboliques de cette région du grain.

Répartition moyenne des protéines du grain de blé dans ses produits de mouture

La composition en protéines et les proportions respectives des différents produits de mouture permettent de préciser la répartition des constituants azotés du grain après mouture.

Les valeurs du Tableau 3, exprimées en % des protéines correspondantes du grain, sont les moyennes obtenues à partir des 2 variétés examinées, pour des taux d'extraction en farine respectifs de 76,5 et 78,3 %.

TABLEAU 3

	Prot. tot.	Prot. Sol. + ANP	Gliadines	Gluténines
Farine.	69	52,8	87	63,7
Sons.	20,1	24,7	8,6	26,4
Remoul. Bis.	8,5	18	3	8,3
Remoul. Blancs.	2,4	4,5	1,4	1,6

La proportion de protides totaux du grain contenue dans la farine (69 %) se révèle très proche de celle indiquée par HINTON (12) pour l'amande isolée par dissection manuelle (70 % environ); on en retrouve 1/5^e dans les sons et 1/10^e dans les remoulages.

Les formes azotées solubles du grain sont réparties approximativement par moitié entre la farine et les issues; on retrouve au contraire dans la farine près de 90 % des gliadines du grain, et un peu plus de 10 % dans les produits périphériques. Quant aux gluténines, la farine en contient environ les 2/3 alors que le reste est contenu dans les issues et plus particulièrement dans les sons.

Teneurs en protéines des préparations brutes isolées

Les préparations isolées à l'état brut du grain total, de ses produits de mouture et du germe, par dialyse et lyophilisation des différents extraits, présentent, comme en témoignent les valeurs du Tableau 4 (% du produit sec) obtenues sur Cappelle, des teneurs en protéines assez variables, bien que les conditions et les réactifs d'extraction aient été les mêmes dans tous les cas.

TABLEAU 4

	Grain	Farine	Sons	Remoul. Bis	Remoul. Blancs	Germe
Albumines.	45	37,9	56,3	62	54,9	74,7
Globulines.	75	74	68,7	71,7	66,7	81,2
Gliadines.	69,5	63	40,9	35,2	56,6	28,4
Gluténines.	63,5	77,5	36,2	35,7	52,5	40

Il semble que les variations observées soient tributaires à la fois de la nature protéique des préparations isolées et du type de produit dont elles proviennent.

La teneur en protéines des fractions albumines par exemple, qui n'est que de 38 %

pour les préparations isolées de l'amande, passe à 55-62 % pour les tissus périphériques pour atteindre jusqu'à 75 % dans le cas du germe.

L'évolution est inversée avec les fractions protéiques du type gluten: les gliadines isolées de la farine contiennent 63 % de protéines; pour les issues, ces teneurs évoluent entre 57 % (remoulages blancs) et 35 % (remoulages bis) pour tomber à 28 % dans le cas du germe. Les mêmes observations s'appliquent aux gluténines avec 77,5 % de protéines pour les préparations isolées de la farine, contre respectivement 36 et 40 % pour celles en provenance des sons et du germe.

Les préparations de globulines sont les seules dont le taux en protéines demeure élevé et relativement constant, qu'elles soient obtenues à partir de farine (74 %) des sons et des remoulages (67 à 72 %) ou du germe (81 %).

Composition nucléique du grain, de ses produits de mouture et du germe (variété Cappelle)

Une étude antérieure (4) estimait à 200 mg la teneur en acides nucléiques totaux du grain de blé, calculée à partir du phosphore. La valeur de 210 mg, déterminée selon une méthodologie plus spécifique et rapportée dans le Tableau 5, confirme donc les premiers résultats.

TABLEAU 5

	Grain	Farine	Sons	Remoul. Bis	Remoul. Blancs	Germe
	mg AN p 100 g de produit sec					
AN totaux.	210	106	478	1175	765	3345
ARN.	126	57	324	826	524	2340
ADN.	84	49	154	349	241	1005
ARN/ADN.	1,5	1,16	2,1	2,37	2,17	2,33

Ainsi, la quantité d'acides nucléiques contenue dans la farine serait environ moitié de celle du grain. Comparativement à l'amande, les tissus périphériques en contiendraient de 5 (remoulages blancs) à 11 fois plus (remoulages bis). Quant au germe, sa teneur en constituants nucléiques atteint plus de 30 fois celle de la farine.

Les 2 types d'acides nucléiques sont présents de façon constante mais en proportions variables dans les différents produits, l'ARN étant prédominant dans tous les cas, comme en témoignent les valeurs du rapport ARN/ADN.

La teneur en ARN de la farine rapportée ici (57 mg) est sans doute plus conforme à la réalité que celle de 180 mg estimée de façon indirecte dans l'étude antérieure citée. Pour le germe, il y a en revanche bonne concordance entre le taux d'ARN figurant ci-dessus (2,34 %) et la valeur trouvée (2,2 %) par LUSENA (16).

Les tissus périphériques contiennent de 6 à 14 fois plus d'ARN que l'albumen, ceux du germe 40 fois plus. On constate de même que les teneurs en ADN des sons, des remoulages et du germe sont respectivement 3, 7 et 20 fois supérieures à celles de la farine.

C'est dans le germe et les fractions de mouture qui le contiennent (notamment les remoulages bis) que l'ARN domine le plus nettement. Son importance dans les sons, comparativement au grain entier, peut être reliée au fait qu'une forte proportion de l'assise protéique du grain se retrouve dans cette fraction. On peut également admettre que la moindre importance de l'ARN dans les tissus de l'album en traduit peut-être l'activité métabolique particulière de cette région du grain au cours de son développement. On trouve en effet dans la farine une proportion importante de formes nucléiques dégradées acido-solubles pouvant résulter des transformations antérieures subies par l'ARN. Dans le germe au contraire, la proportion de ces formes dégradées acido-solubles reste faible. D'où les différences observées dans les rapports ARN/ADN entre le germe, tissu vivant (2,33) et l'albumen, tissu de réserve (1,16).

En se référant aux rendements à la mouture des différents produits, on peut considérer que le matériel nucléaire du grain est réparti approximativement par tiers entre l'amande farineuse, les tissus périphériques représentés par les sons et les remoulages, produits intermédiaires caractérisés par leur richesse en germe. L'ARN lui-même serait distribué à raison de 29 % dans la farine, 34 % dans les sons et 37 % dans les remoulages. Si l'on considère que le germe représente au moins 2 % du poids du grain, il contiendrait à lui seul 32 % de ses acides nucléiques, dont 37 % de son ARN et 24 % de son ADN.

Composition nucléaire des préparations protéiques isolées des produits de mouture et du germe

On a montré précédemment que les préparations protéiques isolées des différentes fractions de la mouture étaient, selon leur nature et leur origine, plus ou moins riches en protéines.

Les résultats du Tableau 6 rendent compte de la teneur de ces préparations en acides nucléiques totaux, rapportées à 100 parties de protéines présentes.

TABLEAU 6

	Grain	Farine	Sons	Remoul. Bis	Remoul. Blancs	Germe
Albumines.	0,7	0,8	1,5	0,4	0,5	5,4
Globulines.	9,3	10	10,6	9,4	9,4	18,1
Gliadines.	0,6	0,5	1,4	1,8	0,4	1,8
Gluténines.	3,6	5,1	3,9	14,3	8,2	18,7

Quel que soit le produit de mouture dont elles proviennent, les fractions Albumines et Gliadines se révèlent pauvres en constituants nucléiques (moyennes respectives 0,8 et 0,9) comparativement aux Gluténines (moyenne 7 %) et principalement aux Globulines (moyenne 9,8 %). Avec des teneurs différentes, les fractions protéiques isolées du germe présentent les mêmes caractéristiques.

En considérant à la fois la composition nucléaire de chaque fraction et son importance quantitative dans chacun des produits, le calcul met en évidence que les fractions Globulines et Gluténines contiennent à elles seules 82 % des acides nucléiques du grain. Cette proportion n'est que de 68 % dans la farine, s'élève à 91 % dans les sons et atteint 94-96 % dans les 2 types de remoulages. Dans le cas du germe, Globulines et Gluténines rassemblent 85 % des acides nucléiques totaux.

Composition en ARN et ADN des Globulines et des Gluténines dans les produits de mouture et le germe

La place particulière occupée par ces 2 groupes protéiques dans la répartition du matériel nucléaire conduisait à préciser leurs teneurs respectives en ARN et ADN. C'est ce qu'expriment les résultats du Tableau 7.

Les globulines extraites de l'albumen sont caractérisées par une prédominance de l'ADN alors que l'ARN est relativement plus important dans celles provenant des régions périphériques du grain.

Les gluténines de l'amande farineuse ne présentent pas cette particularité: l'ADN n'est détectable qu'à l'état de traces, ce qui se traduit par un rapport ARN/ADN élevé, comparable à celui des gluténines isolées des remoulages blancs, produits contenant une proportion non négligeable de fractions d'amande.

La prédominance de l'ARN est moins marquée dans les gluténines isolées des sons et des remoulages bis, pauvres en tissus de l'albumen. La valeur plus élevée du rapport ARN/ADN dans le cas des remoulages bis pourrait rendre compte que ces produits intermédiaires s'apparentent à la fois aux sons et au germe.

La répartition des 2 types d'acides nucléiques apparaît tout à fait différente dans

TABLEAU 7

		Grain	Farine	Sons	Remoul. Bis	Remoul. Blancs	Germe
		mg AN p 100 g de produit sec					
Globu- lines	ARN	32	18	145	318	278	1954
	ADN	37	40	88	216	188	142
	ARN/ADN	0,86	0,45	1,65	1,47	1,48	13,7
Gluté- nines	ARN	80	18	155	498	248	42
	ADN	35	traces	53	130	29	872
	ARN/ADN	2,3	10	2,9	3,8	8,5	0,05

les protéines correspondantes isolées du germe, puisque les globulines contiennent près de 14 fois plus d'ARN que d'ADN alors que dans les gluténines le taux d'ADN est 20 fois supérieur à celui de l'ARN.

Ces différences manifestes de composition nucléique des fractions globulines et gluténines, selon qu'elles proviennent des régions centrales et périphériques du grain ou du germe lui-même, semblent pouvoir être expliquées à la fois par les caractéristiques de solubilité des nucléoprotéines et par le comportement des différents tissus vis à vis des réactifs d'extraction en fonction de leurs particularités histologiques.

Alors que la solubilité maximum des ribonucléoprotéines (RNP) en milieu salin est atteinte à 0,14 M, celle des desoxyribonucléoprotéines (DNP) se situe à une force ionique de 1M. Or, le protocole d'extraction des Albumines et Globulines mis en oeuvre dans cette étude utilise une solution NaCl 0,5 M qui a pour effet, comme l'un de nous l'a montré (1), de solubiliser préférentiellement les RNP.

Il apparaît donc normal que les fractions globulines présentent un rapport ARN/ADN supérieur à 1; c'est en effet ce qui s'observe pour les différentes régions du grain, à l'exception toutefois de l'albumen pour lequel, au contraire, l'ARN est minoritaire.

Cette particularité de composition nucléique des globulines de l'albumen résulte sans doute des dégradations antérieures subies par l'ARN lors de la transformation des cellules vivantes en cellules de réserve et d'une moindre accessibilité de cet ARN résiduel aux solvants classiques des RNP, du fait de son inclusion dans le réseau des protéines de réserve de l'albumen du grain. A l'inverse, la non inclusion des DNP primitives dans le réseau protéique (associée à une dépolymérisation possible de l'ADN lors de l'évolution des cellules actives en cellules de réserve) les rendrait plus accessibles à l'extractant C1Na 0,5 M.

La composition nucléique des globulines du germe, tissu formé de cellules jeunes, pauvres en constituants de réserve, rend parfaitement compte à l'opposé, des caractéristiques classiques de solubilité des nucléoprotéines, puisque la quasi totalité des RNP et une faible proportion des DNP sont contenues dans cette fraction.

Les nucléoprotéines non extraites par action de C1Na 0,5 M, et non solubles dans le réactif alcoolique utilisé pour l'extraction des gliadines, se retrouvent donc en définitive dans la fraction résiduelle contenant les gluténines. Si l'emploi de GMC 70 % convient à l'isolement de cette fraction protéique, il n'en est pas de même pour les nucléoprotéines dont la solubilité dans ce réactif n'est que partielle. Seul un traitement du résidu par NaCl 1 M permet d'extraire en totalité les RNP et les DNP ayant échappé à l'action de NaCl 0,5 M.

Ainsi retrouve-t-on dans la fraction gluténine le complément du matériel nucléique extrait antérieurement avec les globulines. Pour les différentes régions du grain représen-

tées par les produits de mouture, cette composition nucléique se caractérise par une prédominance de l'ARN allant en décroissant de la farine et des remoulages blancs aux remoulages bis et aux sons. Pour le germe au contraire, l'ADN constitue la quasi totalité des constituants nucléiques présents.

CONCLUSIONS

L'étude de la composition protéique et nucléique des différentes régions du grain de blé, telles que la mouture permet de les isoler, met en évidence les différences profondes existant entre l'albumen, les tissus périphériques et le germe. Pour un blé donné, une séparation plus ou moins poussée de l'amande se répercute davantage sur les propriétés technologiques de la farine que sur sa valeur nutritionnelle (17).

Avec plus de 80 % de protéines "insolubles" dont 47 % de gliadines, les caractéristiques de composition protéique d'une farine de type industriel répondent donc avant tout à des nécessités technologiques.

Les sous-produits de la mouture se caractérisent à l'inverse par des taux relativement faibles en protéines du type gluten: près de 40 % de l'azote des sons et 80 % de l'azote du germe sont présents à l'état de composés solubles, les remoulages accusant une composition intermédiaire selon qu'ils s'apparentent préférentiellement aux germes, à l'albumen ou aux enveloppes externes. La richesse du germe et des remoulages en protéines du type globulines et le taux élevé en gluténine de sons apparaissent comme les caractéristiques dominantes des différentes issues.

Les constituants nucléiques, où prédomine l'ARN, principalement concentrés dans le germe, sont eux mêmes de 5 à 11 fois plus abondants dans les issues que dans la farine. Les différences de répartition des 2 types d'acides nucléiques observées comparativement dans l'albumen, les zones périphériques et le germe, seraient associées aux antécédents physiologiques des différentes régions du grain et, en conséquence, aux particularités histologiques différenciant les tissus jeunes du germe des autres tissus de réserve et notamment ceux de l'amande. Il est intéressant de noter que les fractions globulines et gluténines de ces "sous-produits" rassemblent à elles seules de 85 à 95 % de leur matériel nucléique, alors que cette proportion est inférieure dans l'albumen.

Il convient néanmoins de souligner que le schéma expérimental utilisé pour réaliser un fractionnement spécifique des différents types protéiques ne tient pas compte des caractéristiques de solubilité particulières aux nucléoprotéines et n'aboutit en fait, qu'à une répartition artificielle des composants nucléiques entre les fractions globulines et gluténines.

Quoi qu'il en soit, les sons, auxquels reste associée l'assise protéique, et les remoulages s'apparentant à la fois aux sons, aux germes et à l'amande, constituent des produits particulièrement riches en protéines du type globulines et gluténines et, en conséquence, en nucléoprotéines.

Ces caractéristiques de composition rejoignent certaines observations sur la composition en acides aminés des différents groupes protéiques constitutifs de la farine (6) selon lesquelles les fractions gluténines et globulines contiennent respectivement 3,5 et 8,5 fois plus de lysine que la fraction gliadine. On a par ailleurs mis récemment en évidence la nature histone des protéines associées à l'ADN dans différentes régions du grain de blé (1) et leur particulière richesse en lysine.

Les variations de composition en acides aminés entre les différents produits de mouture du grain sont donc directement associées à la nature même des matériels protéiques qui les constituent.

Comme l'indiquent les valeurs ci-dessous, empruntées à une étude récente (14) et relative à 3 acides aminés essentiels (expression en g p 16 g d'N), c'est principalement au niveau de la lysine que s'observent les variations les plus marquées.

	Grain	Farine	Sons	Remoulages	Germe
Lysine	2,3 - 3,2	1,9 - 2,4	3,4 - 4,8	3,1 - 5,2	5,3 - 6,2
Méthionine	1,4 - 1,9	1,4 - 1,9	1 - 1,6	1,6 - 2	1,6 - 2,3
Thréonine	2,8 - 3,4	2,6 - 3,1	2,9 - 3,3	3 - 3,8	3,4 - 4,1

La séparation grossière des différentes régions du grain que réalise la mouture industrielle conduit, en ce qui concerne la lysine, à un appauvrissement des farines et, à l'inverse, à un enrichissement des sous-produits: les sons et les remoulages contiennent environ 2 fois plus de lysine que les farines et le germe 3 fois plus.

Ainsi, et malgré leur importance relativement limitée par rapport au grain mis en oeuvre, les "sous-produits" de la transformation du blé constituent, par leur composition protéique et nucléique, un matériel de choix d'où peuvent être isolées des préparations à haute valeur biologique. Jusqu'alors destinées à l'alimentation animale, les issues de meunerie semblent pouvoir constituer des sources de protéines particulièrement intéressantes pour l'alimentation humaine, ainsi qu'en témoignent certains travaux récents (9-26-27).

Une connaissance plus précise des caractéristiques de solubilité et de composition des matériels protéiques et nucléiques contenus dans ces produits, telle qu'elle ressort de la présente étude, devrait contribuer à leur valorisation optimale.

REFERENCES

- Autran, J.C. - 1973. Les desoxyribonucléoprotéines et les histones du grain de blé: aspects physico-chimique et physiologique. Thèse Doct. Etat Univ. Paris VI.
- Autran, J.C. et Bourdet, A. - 1971. La détermination des constituants nucléiques du blé et leur répartition dans le grain. Ann. Techn. INRA 20, 179.
- Bourdet, A., - 1966. Influence des conditions de production, de récolte et de stockage sur la composition biochimique des céréales: azote total et protéines - Ann. Nutr. Aliment. 20, 177.
- Bourdet, A. et Feillet, P. - 1967. Distribution of P compounds in the protein fractions of various types of wheat flour - Cereal Chem. 44, 457.
- Farrel, E.P., Ward, A.B., Miller, G.D. et Lovett, L.A. - 1967. Extensive analysis of flours and millfeeds made from nine different wheat mixes. I. Amounts and analysis. Cereal Chem. 44, 39.
- Feillet, P. - 1965. Contribution à l'étude des protéines du blé. Influence des facteurs génétiques, agronomiques et technologiques. Ann. Technol. INRA 14. H.S.
- Feillet, P. et Bourdet, A. - 1967. Composition protéique et caractéristiques génétiques des blés. Bull. Sté. Chim. Biol. 49, 1273.
- Fellers, D.A., Shepherd, A.D., Bellard, N.J., Mossman, A.P., Johnston, P.H. et Wasserman, T. 1968. Protein concentrates by dry milling of wheat millfeeds. II. Compositional aspects. Cereal Chem. 45, 520.
- Fellers, D.A., Sinkey, V., Shepherd, A.D. et Pence, J.W. 1966. Solubilization and recovery of protein from wheat millfeeds. Cereal Chem. 43, 1.
- Gonzaga, E.L. et Bressani, R. 1970. Protein value of by-products in the wheat industry. I. Chemical composition and amino acid supplementation of wheat shorts. Arch. Latino Amer. Nutr. 20, 403.
- Grewe, E. et Leclerc, J.A. - 1943. Commercial wheat germ; its composition. Cereal Chem. 20, 423.
- Hinton, J.J.C. - 1947. The distribution of vitamin B and nitrogen in wheat grain. Proc. Roy. Soc. 134 B, 418.
- Javillier, M. et Collin, Y. - 1933. Etudes sur le dosage des principes immédiats phosphorés des végétaux en vue de recherches de physiologie végétale. Bull. Soc. Chim. Biol. 15, 1552.
- Kasarda, D.D., Nimmo, C.C. et Kohler, G.O. - 1971. Proteins and the amino acid compositions of wheat fractions. Wheat Chemistry and Technology 2ème Edit., 227.
- Kretowitch, W. - 1933. Distribution of sugar and nitrogenous substances in wheat grain. Biochem. J. 27, 1687.

- Lusena, C.V. - 1951. Preparation of ribonucleoprotein and ribonucleic acid from wheat germ. *Cereal Chem.* 28, 400.
- MacDonald et Gilles, K.A. - 1967. Amino acid composition of wheat as related to quality. *Bakers Digest*, 41, 45.
- Matsushita, S. - 1958. Studies on the nucleic acid in plants. I. Nucleic acid content of cereal and pulse seeds and their nucleic acid containing fractions. *Bull. Res. Inst. Food Sci.* 14, 14,
- Mazoni, G. - 1915. Nutritive value of wheat flour and of bread in relation to phosphorus fertilizers. *Staz. Sper. Agrar. Ital.* 48, 385.
- Osborne, T.B. - 1907. The protein of the wheat kernel. *Carnegie Inst. of Washington.*
- Osborne, T.B. et Harris, T.F. - 1902. Die Nucleinesaure des Weizenembryos. *Z. Physiol. Chem.* 36, 85.
- Osborne, T.B. et Heyl, F.W. - 1908. The pyrimidine derivatives in nucleic acid. *Ann. J. Physiol.* 21, 157.
- Pence, J.W. et Elder, A.H. - 1953. The albumin and globulin proteins of wheat. *Cereal Chem.* 30, 275.
- Pence, J.W., Weinstein, N.E. et Mecham, D.K. - 1954. The albumin and globulin contents of wheat flour and their relationship to protein quality. *Cereal Chem.* 31, 303.
- Pomeranz, Y. et MacMaster, M.M. - 1968. Structure and composition of the wheat kernel. *Bakers Digest.* 42, 24.
- Saunders, R.M., Betschard, A.A., Connor, M.A., Edwards, R.H. et Kohler, G.O. - 1973. Properties of wheat protein concentrates prepared by wet processing of wheat milling fractions. *Abst. 173, 58th Ann. Meet. A.A.C.C.* 4-8 Nov.
- Simmonds, D.H. - 1973. Structure and composition of cereal proteins as related to their potential industrial utilization. *Abst. 128, 58th Ann. Meet. A.A.C.C.* 4-8. Nov.
- Teller, G.L. et Teller, W.K. - 1932. A study of proteins of wheat bran. *Cereal Chem.* 9, 560.



Organized by



Sponsored by

Printed by: Seigraf, c/ Valencia 164, Torrente (Valencia)

ISBN (O.C.): 84-00-04249-2

P-74-2AUTRAN

IV INTERNATIONAL CONGRESS OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

MADRID, SEPTEMBER 22/27, 1974

FORM FOR SUBMISSION OF SUMMARIZED TEXTS

(DEADLINE FOR RECEIPT OF SUMMARIZED TEXTS: DECEMBER 1, 1973)

Key of the Session: Chemistry and Biochemistry of Foods - 1 C -
Title of the paper: PROTEINS AND NUCLEIC ACIDS IN THE WHEAT GRAIN, ITS MILLED PRODUCTS AND GERM
Author/s: A. Bourdet and J.C. Autran
Address: Lab. Rech. Qualité Blés, INRA - ENSMIC - 16, rue N. Fortin - PARIS 13e

ABSTRACT.

The protein and nucleic composition of the main structural parts of the wheat grain, as represented by its milled products, was determined. After fractionation by differential solubility, electrophoresis confirms the presence in each product of the classical 4 protein groups and evidences that heterogeneity of the gliadin fraction is qualitatively unchanged among the tissues of the same variety. As regards soluble proteins, the Globulins rate is prevailing in the peripheral products, that of Albumins in endosperm. Concerning insoluble proteins, Glutenins are in larger proportions in bran, shorts and germ, when Gliadins prevail in flour. The protein content of the rough preparations isolated from the milled products varies according to their histological origin.

Both types of nucleic acids are present at various rates in each milled fraction. The nucleic components of the kernel appear to be distributed approximately by thirds between flour, shorts and bran ; germ contains by itself 32 % of the grain nucleic acids, with a rate of 37 % for RNA and 24 % for DNA. In most cases, the Albumins, Gliadins and Glutenins preparations have a low nucleic acid content (0,5 to 1,5 % protein), when it reaches 10 % for Globulins. The corresponding values for the germ proteins are 5,4 % for Albumins and 18 % for Globulins. DNA is in a high concentration in Globulins from endosperm and RNA prevails in Globulins from germ, when in the same tissue, most of DNA is gathered in the Glutenin fraction.

Physiological and technological aspects of this study are discussed.

Industrial processes intended to separate the starchy endosperm used in human nutrition from the peripheral tissues supplied for animal feeding are based on the histological structure of the wheat kernel. Several informations concerning total protein and amino-acid contents of the grain and its milled products are already available, but little is known about the nature and the distribution of the various nitrogen components.

The present study brings contribution for a more precise knowledge on the protein and nucleic composition of the main structural parts of the wheat grain, as represented by its milled products. It was carried out on flours, shorts (including germ) and brans obtained by semi-industrial milled from several french wheat varieties and on industrial separated germs.

Protein components were fractionated by differential solubility in non-protein nitrogen (NP), and the four classical protein groups. Rough protein preparations were obtained from the corresponding extracts by dialysis and freeze-drying, and electrophoretic fractionation of soluble proteins and Gliadins from each product was made. The use of several conditions for extraction and isolation of nucleic components, completed with colorimetric

M. 1258-21

DO NOT FOLD THESE SHEETS. Use cardboard backing when mailing

Remittir a:

IV INTERNATIONAL CONGRESS OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
 Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Jaime Roig, 11
 Valencia - 10, España

Session:
proposed
definitive
Paper n°.
Date of receipt
For secretarial use only

and UV absorption measurements, allowed to determine total nucleic acids, RNA and DNA.

Yields of the various products obtained in the milled ^{mg} conditions used are given and results concerning their protein composition are expressed as contents (% dry matter) and proportions (% total N).

The NP compounds, whose proportion is about 3 % in flour, account for about 8 % in shorts and bran and 17 % in germ. For soluble proteins, the corresponding values are 17 % in flour, 29 % in bran, 43 % in shorts and 61 % in separated germs. The mean values of the soluble N/insoluble N ratio point out that soluble nitrogen compounds of grain are prevailing in shorts (1,3) and chiefly in germ (3,5), compared with flour (0,25) and bran (0,60) : Inversely, the Gliadin fraction accounts for 45 % total N in flour, 23 % in shorts, 19 % in bran and only 2 % in germ. As for Glutenins, they account for about 35 % in flour and shorts total N, as high as 44 % in bran and only 20 % in separated germ.

On the basis of a flour mean extraction rate of 71 %, endosperm contains 61,5 % grain whole protein ; shorts 10,1 % and bran 22,5 %. The corresponding rates for NP plus soluble proteins are respectively 53-21 and 26 %, for Gliadins 4-5 and 11 % and for Glutenins 04-10 and 26 %.

The Globulins/Albumins ratio points out that Globulins prevail in soluble proteins from shorts (1,85) and germ (1,20), when Albumins predominate in flour (0,5) and slightly in bran (0,85). In the same way, the Glutenin/Gliadin ratio, which varies according to the type of wheat, evidences prevailing of Gliadins in endosperm (0,75) when Glutenins are in a higher rate in the peripheral parts as shorts (2,5) and bran (2,3). The insoluble proteins in germ occur almost essentially as Glutenin (8,6).

The electrophoretic behaviour of proteins extracted from the various milled products confirms their nature as Albumins, Globulins, Gliadins and Glutenins and brings evidence that the heterogeneity of the Gliadin fraction remains qualitatively unchanged among the different parts of the kernel, for a given variety.

The protein content of the rough preparations isolated from milled products varies with their histological origin. Albumins from endosperm contain 38 % protein when those extracted in similar conditions from peripheral tissues and germ contain 50 and 75 % respectively. At the contrary, Gliadins preparations from flour have a higher protein content (63 %) than those from shorts and bran (44 %) or germ (20 %) ; similar observations are made for Glutenins extracted from endosperm (77,5 %) compared with peripheral tissues and germ (40-41 %). Globulins preparations are the only ones whose protein contents remains high wether extracted from flour (74 %) shorts and bran (69 %) or germ (81 %). It is shown further that they contain about 10 % nucleic acids.

Whereas the rather spent-time experimental procedures used, studies for nucleic composition were restricted to a single variety. Expressed in mg nucleic acid p.100 g dry product, the content of flour (106) is about half that of grain (210). Bran contains 4,5 times more nucleic acids than endosperm, and shorts 7 to 11 times. Germ by itself has a nucleic content about 30 times more that of flour.

Remittir a:

IV INTERNATIONAL CONGRESS OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Jaime Roig. 11

Valencia - 10, España

M-1258-2-2

DO NOT FOLD THESE SHEETS. Use cardboard backing when mailing

Session:

proposed

definitive

Paper n°

Date of receipt

For secretarial use only

Both nucleic types are present in various rates in each product, RNA prevailing in all cases. DNA accounts for 40 % grain total nucleic acids, and 46 % for endosperm. The proportion is lower and rather constant in bran, shorts and germ. Total nucleic acids of grain are distributed approximately by thirds between flour, bran and shorts. RNA of grain accounts for 29 % in flour, 34 % in bran and 37 % in shorts. Admitting that proportion of germ in grain is at less 2 % (in weight), separated germ would contain by itself 33 % total nucleic acids, 37 % RNA and 24 % DNA present in the whole kernel.

The nucleic composition of the rough protein preparations extracted from the various milled products shows that both RNA and DNA are present, but that their distribution fluctuates strongly according to the original tissue. Expressed in p.100 protein, the total nucleic acids content of Albumins from germ is 5,4 %, when for the corresponding protein from endosperm, shorts and bran, its is only 1 % - 0,5 % and 1,5 % respectively. Similar observations are made for Gliadins and Glutenins originated from germ comparatively with other tissues. An exception arises for Globulins, very rich in nucleic acids in all cases, whatever extracted from flour (10 %) bran (10,6 %) or shorts (9,4 %). Globulins isolated from germ contains by itself 18,1 % nucleic compounds.

When the RNA and DNA contents of each constitutive protein group are expressed as percentages in the corresponding milled fraction, it is pointed out that for endosperm, DNA is concentrated in Globulins, when RNA is distributed equally in the four protein fractions. For separated germ, at the contrary, RNA is prevailing in Globulins and DNA in Glutenins. Less marked but similar differences are observed in the composition of proteins originated from peripheral tissues.

Results are discussed for their physiological significance and their occasional utilization in further studies viewing to developp technological processes for valorizing the nitrogen compounds of wheat milled products.

DO NOT FOLD THESE SHEETS. Use cardboard backing when mailing

M. 1258-2-2

Remittir a:

IV INTERNATIONAL CONGRESS OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Jaime Roig, 11

Valencia - 10, España