

**Rôle des différentes protéines du blé dans l'extensibilité de la pâte boulangère.
Exposé à la réunion du programme IRTAC "Rhéologie de la pâte", Paris, 6 mars 1991.**

Il ressort des conclusions récentes de plusieurs groupes de travail (IRTAC Blé tendre, IRTAC Gluten, CTPS Blé tendre) une forte demande de la part des industriels pour une meilleure maîtrise de l'équilibre ténacité / extensibilité (P/L) de la pâte, par la voie de la sélection variétale, de l'agronomie, ou de la technologie.

Il ne s'agit pas forcément de viser une valeur déterminée de P/L, mais d'avoir plutôt des valeurs adaptées à chacune des utilisations des farines (panification française, panification spéciale, biscuiterie, ...) et être donc en mesure de corriger ce paramètre, soit en diminuant l'extensibilité, soit en l'augmentant (ce qui est généralement plus malaisé et rarement possible par simple adjonction de gluten industriel).

Cette maîtrise passe certainement par une meilleure compréhension des bases fondamentales des paramètres P, G et P/L.

A - Que sait-on actuellement de ces bases fondamentales ?

En dépit de nombreuses années de travail, personne n'a actuellement de connaissance détaillée (et de représentation moléculaire exacte) des bases des propriétés viscoélastiques de la pâte, ni de l'origine exacte des différences au sein d'une variété ou entre variétés.

Les premières approches fondées sur la solubilité des protéines (classification d'Osborne) et sur la reconstitution des farines à partir de leurs différentes protéines (Finney, MacRitchie) ont démontré le rôle des gliadines (ou des fractions solubles dans l'acide acétique) dans l'extensibilité de la pâte et celui des gluténines les plus insolubles dans l'élasticité et la ténacité.

Il est cependant apparu que les gluténines étaient constituées de deux familles de sous-unités, très différentes au plan structural : celles de haut poids moléculaire (HMW) et celles de faible poids moléculaire (LMW). Si la connaissance biochimique et structurale des HMW a bien progressé, celle des LMW, pourtant prédominantes (75-80 % de la gluténine) n'en est qu'à ses débuts.

B - Compréhension des bases de la ténacité et de l'élasticité d'une pâte

Les connaissances dans ce domaine ont progressé depuis une dizaine d'années notamment grâce aux travaux des équipes britanniques (Payne, Miflin, Shewry). Compte tenu du fait que les blés anglais manquaient traditionnellement de ténacité, ces équipes ont décidé d'axer leurs recherches sur les sous-unités HMW-gluténines dont le rôle dans la ténacité était pressenti.

Ces travaux ont pu avancer rapidement du fait que les sous-unités HMW sont facilement caractérisables par simple électrophorèse SDS-PAGE, sans confusion possible avec les autres catégories de protéines.

Les travaux génétiques de Payne ont permis de corrélérer la présence de certaines HMW à la force boulangère. Des progrès dans la sélection de blés de force élevée à partir du repérage de sous-unités telles que 1 ou 2* (génome A), 17+18 ou 7+9 (génome B) et 5+10 (génome D) sont ainsi apparus possibles.

Plus récemment, grâce aux progrès des outils de la biologie moléculaire, (travaux de Shewry, Halford, Greene, 1989) qui ont permis de déterminer la séquence nucléotidique des gènes, la structure primaire complète des principales sous-unités HMW a été obtenue et des modèles de structure secondaire ont été proposés (Tatham, 1984; Shewry et al., 1989).

Il paraît aujourd'hui bien admis que l'élasticité (aptitude des complexes qui ont subi un étirement à reprendre leur conformation initiale après suppression de la contrainte) repose sur :

- 1) la présence de 1 ou plusieurs groupements -SH à chacune des extrémités de la molécule (Figure 1),
- 2) un domaine central possédant des motifs répétés (β -spirale), présentant des analogies avec la structure de l'élastine, protéine élastomérique des tissus conjonctifs des mammifères (Figure 2).

Selon Popineau (1990), cette conformation représenterait un état thermodynamiquement stable de la protéine. L'élongation, sous l'effet d'une contrainte, modifie cette conformation en déformant la chaîne polypeptidique et en perturbant les liaisons hydrogènes et les interactions hydrophobes qui la stabilisent. La forme allongée est de ce fait thermodynamiquement moins stable : lorsque la contrainte cesse, la protéine reprend sa conformation la plus stable.

On se retrouve ainsi en accord avec l'ancienne hypothèse de Ewart (1972) et Greenwood et Ewart (1975) selon laquelle l'élasticité reposait sur l'existence de longs polymères linéaires consistant en des sous-unités réunies bout à bout par des ponts disulfures intermoléculaires, mais ce modèle est aujourd'hui complété avec la découverte du domaine central en β -spirale des HMW-gluténines.

Cependant, aucune conclusion nette ne ressort pour ce qui concerne la localisation des ponts S-S et de l'effet de -SH supplémentaires sur la formation d'un réseau bi- ou éventuellement tridimensionnel (Kasarda, 1989),

Enfin, bien que certaines autres sous-unités HMW (1, 13+16, 17+18) soient apparues davantage corrélées au G qu'au P ou au W (Branlard et Dardevet, 1985), il est probable que l'essentiel de l'explication de l'extensibilité se situe dans d'autres fractions protéiques.

C - Bases physico-chimiques de l'extensibilité d'une pâte

Les bases physico-chimiques de l'extensibilité d'une pâte (c'est-à-dire une faible résistance à l'extension avec un glissement ordonné, sans rupture, des complexes protéiques dans la pâte lorsque celle-ci est étirée) sont beaucoup plus mal comprises. Il ne semble pas y avoir de consensus pour dire à quel type de complexe protéique correspond une extensibilité donnée, ni dans quel sens il faudrait modifier une structure protéique pour diminuer le P/L.

Schématiquement (et sans chercher à faire intervenir de constituants autres que les protéines, dont le rôle n'est peut-être pas à écarter), il semble cependant avoir été dégagé que :

- 1) L'extensibilité est plutôt associée à la présence d'agrégats de taille moyenne: en HPLC, la proportion de fraction F2 (150-650 kDa) a été

positivement corrélée au G et au volume du pain, alors que les agrégats de taille très élevée (> 650 kDa) paraissent associés au W et au P (travaux de Dachkevitch et Aufran, 1989) (Figure 3, Tableau I).

2) L'équilibre P/L pourrait donc être une conséquence de la distribution des masses moléculaires dans les agrégats de gluténines.

3) Ceci est en accord avec le fait que, ni les gliadines (protéines monomériques, ne pouvant s'associer que par interactions de faible énergie), ni les LMW (qui ne possèdent de groupements SH que d'un côté de leur molécule) ne semblent permettre la formation de complexes de taille très élevée (à l'inverse de ce qui a été démontré chez les sous-unités HMW : groupements -SH à chaque extrémité de la molécule) (Figure 4).

4) Mais, selon Fullington (à partir d'une étude des protéines chez des blés déficients en soufre), une extensibilité élevée n'existerait que grâce à une proportion élevée de protéines riches en soufre - c'est-à-dire, encore, les gliadines (α -, β -, γ -) et les LMW-gluténines. D'ailleurs, seule une proportion suffisamment élevée de groupements thiols (autorisant des réactions d'échanges SH/SS imaginées par Bloksma (1972)) peut permettre d'expliquer le glissement ordonné des protéines, sans rupture, qui caractérise l'extensibilité (Figure 5).

5) L'extensibilité pourrait donc découler soit des propriétés intrinsèques d'agrégation des sous-unités qui sont assemblées dans le complexe protéique, soit de leur teneur en groupements soufrés, soit d'une combinaison des deux. On observe d'ailleurs que la taille moléculaire moyenne la distribution peut se trouver réduite suite à la présence de composés thiols.

D - Recherches en cours et perspectives futures

D'actives recherches se poursuivent dans plusieurs équipes du monde pour tenter de mieux comprendre les relations entre la structure des complexes protéiques et les propriétés rhéologiques de la pâte.

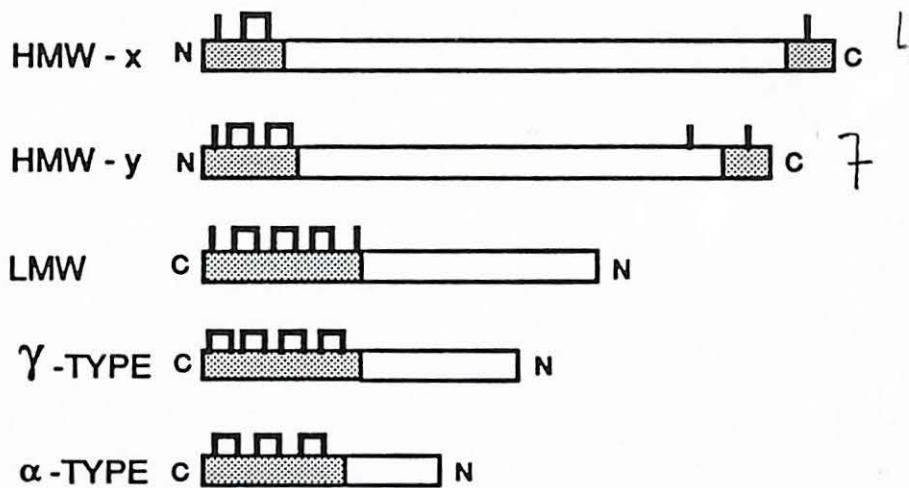
En ce qui concerne les équipes françaises, les principales idées susceptibles de faire avancer ce problème ont été introduites dans le projet CEE ECLAIR sur la QUALITE DES BLES qui démarre actuellement.

Comme les fractions protéiques du gluten les plus mal connues restent aujourd'hui les LMW gluténines et comme ces fractions jouent peut-être un rôle plus important que les fractions HMW en panification de type français, il est apparu prioritaire d'accentuer les efforts pour une meilleure connaissance biochimique, physico-chimique et génétique de ces LMW gluténines. C'est l'une des composantes majeures de l'action des différents participants français (INRA de Clermont-Ferrand, Montpellier et Nantes) et européens du sud (ISC de Milan, Universités de Padoue et Viterbo) dans ce programme ECLAIR.

Plus précisément, les différents aspects suivants vont être étudiés en vue d'une meilleure compréhension des propriétés fonctionnelles des protéines dans le contexte de la pâte et d'une meilleure maîtrise (génétique ou technologique) du rapport ténacité / extensibilité :

- variabilité génétique et quantification des sous-unités LMW gluténines (double électrophorèse 1D + densitométrie et électrophorèse 2D + analyse d'images).

- corrélation entre composition des LMW et propriétés rhéologiques de la pâte (pour affiner les index de qualité actuels qui ne prennent en compte que la composition en HMW gluténines) et recherche de meilleurs marqueurs du G ou du P/L de la pâte.
- démonstration directe de l'effet de certaines sous-unités grâce à la création de lignées isogéniques ou de lignées de substitution chromosomique.
- contribution des sous-unités aux différentes tailles de complexes protéiques et relation entre comportement agrégatif et propriétés rhéologiques.
- purification des sous-unités LMW gluténines (notamment de celles trouvées corrélées à la qualité) en vue d'une meilleure connaissance de leurs propriétés physico-chimiques (composition et séquence des acides aminés, localisation des groupements -SH et des ponts S-S potentiels, hydrophobicité,...) et fonctionnelles (viscosité, viscoélasticité dans différents systèmes modèles, propriétés de surface, modification du comportement agrégatif en fonction de l'addition de gli ou de LMW).
- étude biophysique des complexes protéiques : diffraction des rayons X, résonance électronique de spin, diffusion quasi élastique de la lumière, etc.
- aspects physiologiques: évolution des complexes protéiques au cours de la maturation et de la dessiccation du grain (selon la disponibilité respective en sous-unités LMW et HMW).



Schematic representations of x-type and y-type HMW-GS, LMW-GS, γ -type gliadins, and α -type gliadins: patterned areas, unique sequence; plain areas, repeating sequences; black bars, intermolecular disulfide linkages; linked black bars, intramolecular disulfide linkages; N, N-terminal end; C, C-terminal end. Representations are very approximately to scale.

Figure 1: Représentation schématique des différents types de séquences, avec position des cystéines et des groupements S-S potentiels (d'après Kasarda, 1989)

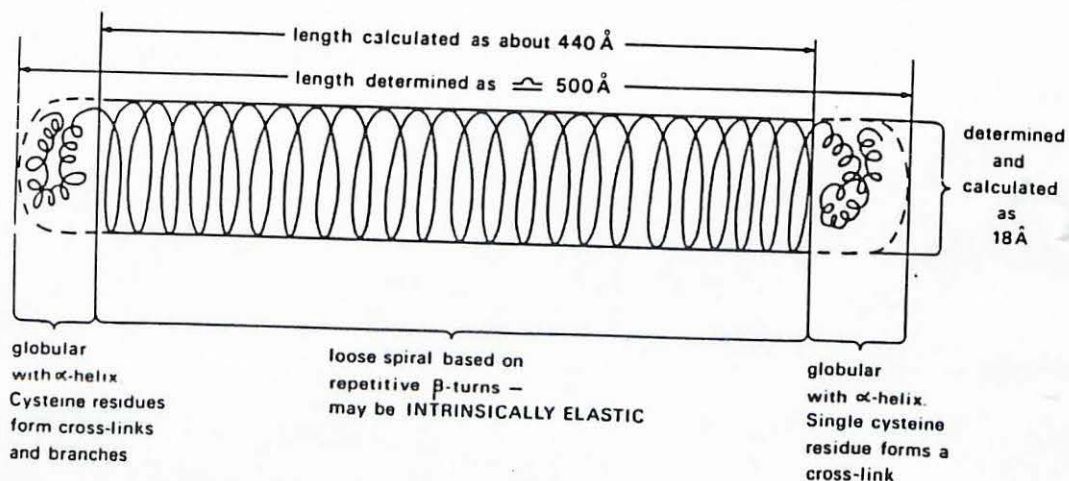


Figure 2: - Modèle structural d'une sous-unité HMW-G (d'après Field et al. 1987, Shewry et al. 1989).

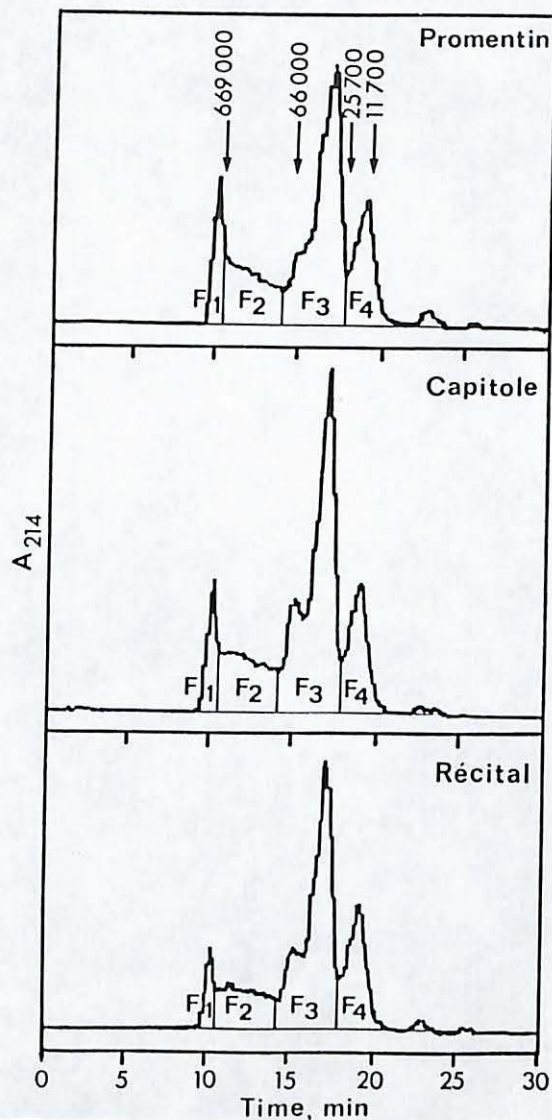


Figure 3: Profils d'élution des protéines de 3 variétés de blé en SE-HPLC avec identification des 4 fractions F1, F2, F3, F4 (d'après Dachkevitch et Autran, 1989).

Summary of the Correlation Coefficients for Relationships between HPLC and Technological Data from Genotypes Grown in 1985, 1986, and 1987^a

Flour Protein	Alveograph			Zelany Volume	Mixograph Index	Gluten Elastic Recovery	Gluten Firmness	Loaf Volume	ELEC ^b	
	W	P	G							
1985 (n = 15)										
% F1	-0.34	-0.19	-0.03	-0.06	0.00	-0.38	-0.11	0.13	-0.65**	
% F2	-0.09	0.31	0.24	0.56*	0.48*	0.28	0.44	0.70**	-0.13	
F1/F2	-0.32	-0.59*	-0.27	-0.51*	-0.61**	-0.86**	-0.56*	-0.64**	-0.34**	
1986 (n = 63)										
% F1	-0.10	-0.51***	-0.29*	0.16	-0.24*	-0.68***	-0.26*	-0.47***	NA ^c	NA
F1/F2	-0.06	-0.53***	-0.33**	0.17	-0.25*	-0.66***	-0.30*	-0.51***	NA	NA
1987 (n = 65)										
% F1	-0.52***	-0.72***	-0.49***	-0.25*	-0.55***	-0.67***	NA	NA	NA	NA
F1/F2	-0.44**	-0.80***	-0.53***	-0.38**	-0.65***	-0.80***	NA	NA	NA	NA

^aData from the different growing locations were averaged. Correlation coefficients above 0.85 (n = 15) or 0.45 (n = 65) are very highly significant (***) P < 0.001; those over 0.60 (n = 15) or 0.31 (n = 65) are highly significant (**) P < 0.01; those over 0.47 (n = 15) or 0.24 (n = 65) are significant (*) P < 0.05.

^bELEC, Baking strength index based on electrophoresis of high molecular weight glutenin subunits.

^cNA, Technological data not available.

Tableau I: Corrélations entre la composition en fractions HPLC (% de F1, F2, F3, F4) et différentes données technologiques (d'après Dachkevitch et Autran, 1989).

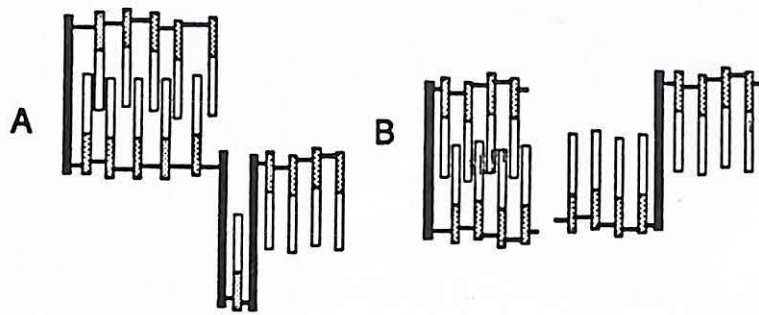


Figure 4: Structures hypothétiques des complexes HMW-LMW gluténines (d'après Kasarda, 1989)

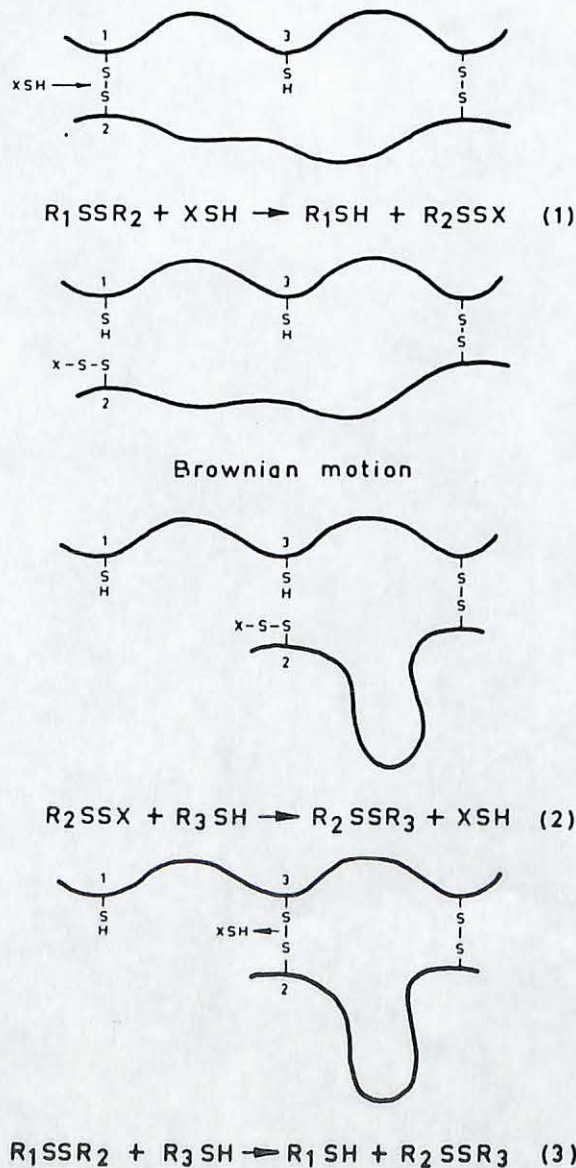


Figure 5: Représentation schématique de l'échange de groupements -SH/SS (d'après Bloksma, 1972)