

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



SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE FRERES MENTOURI CONSTANTINE 1

U.F.M.C.1

INSTITUT DE LA NUTRITION, DE L'ALIMENTATION  
ET DES TECHNOLOGIES AGRO-ALIMENTAIRES

I.N.A.T.A.A.



N° d'ordre :.....

N° de série :.....

## Thèse de Doctorat en Sciences Spécialité : Sciences Alimentaires

Présentée par :

M<sup>me</sup> FETOUHI-SALMI Awatif

---

### **Panification sans gluten: Recherche de corrélations entre les aptitudes technologiques et les interactions moléculaires mises en œuvre**

---

Soutenu le : 14/10/2021

#### **Devant le jury composé de :**

President:	<b>AGLI A.N.</b>	Prof.	Univ. de Biskra
Promoteur:	<b>BENATALLAH Le.</b>	Prof.	I.N.A.T.A.A. U.F.M.C.1
Co. Promoteur:	<b>ZIDOUNE M.N.</b>	Prof.	I.N.A.T.A.A. U.F.M.C.1
Examineurs :	<b>SUJAK A.</b>	Prof.	Univ. Sciences de la vie- Poznań-Pologne
	<b>(Co-promoteur étranger)</b>		
	<b>ALLAF K.</b>	Prof.	Univ. de la Rochelle, France
	<b>ADOUI F.</b>	M.C/A	I.N.A.T.A.A. U.F.M.C.1

## **Remerciement**

*Avant tout je tiens à remercier celui qui nous a créé, protégé, aidé et celui qui m'a donné la patience, la volonté et le courage pour pouvoir accomplir entre autre ma formation de doctorat dans les meilleures conditions en disant "الحمد لله"*

*Au terme de ce travail, Je tiens à remercier Madame **BENATALLAH Leila** Professeur à l'I.N.A.T.A.A., Université de Constantine 1 et directrice de laboratoire GENIAL pour m'avoir encadré et m'avoir dirigé tout au long de cette formation. Merci madame pour votre aide, votre accompagnement et votre compréhension.*

*C'est avec un grand honneur et plaisir, je remercie mon enseignant, Monsieur **ZIDOUNE Mohammed Nasreddine**, Professeur à l'université de Constantine 1 et Chef de l'équipe de Transformation et de l'Elaboration des Produits Agro-alimentaires (T.E.P.A.) du Laboratoire de Recherche en Nutrition et Technologie Alimentaire (L.N.T.A.), pour m'avoir proposé ce sujet et pour m'avoir encouragé pour finir ce travail dans les meilleures conditions. Merci beaucoup monsieur pour votre esprit scientifique, pour vos précieux conseils et pour l'honneur que vous m'avez fait en Co-encadrant ce travail.*

*C'est avec un grand honneur et un grand plaisir que je remercie Monsieur **AGLI Abdel Nacer**, professeur à l'université de Biskra pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse, de juger et d'enrichir avec son savoir mes travaux de recherche.*

*Mes sincères et vifs remerciement sont dédiés à Madame **SUJAK Agnieszka**, Professeur au Département d'ingénierie des biosystèmes, Faculté de génie environnemental et mécanique, université de sciences de la vie, Poznań, Pologne pour son formidable accueil, ses précieux conseils, son aide inestimable, ses orientations dans le domaine de la biophysique. C'est vraiment un grand honneur de vous connaître et de travailler avec vous. Merci Madame pour vos beaux sourires et votre esprit brillant qui m'encouragé tout au long de mes stages. J'estime que votre connaissance est une chance inouïe. Un grand merci pour avoir accepté de juger ce modeste travail.*

*J'adresse également mes vifs remerciement à :*

*Monsieur **ALLAF ABDUL Karim**, Professeur à l'université de la Rochelle-France et chef du Laboratoire de l'Intensification des Eco-procédés industriels au La SIE UMR 7356*

CNRS (France) pour avoir accepté de juger ma thèse de doctorat. Je suis vraiment honorée, monsieur, par le précieux savoir que vous m'avez accepté de le partager avec moi.

Madame **ADOUI Faiza**, Maître de conférences classe A à l'I.N.A.T.A.A., université de Constantine 1 pour avoir accepté de juger et d'enrichir ce travail. Etre un membre de jury de ma thèse de doctorat est un honneur pour moi.

Je remercie particulièrement Monsieur **BOUAASLA Abdul-Allah**, Mes dames **BOUREKOUA Hayat et DIB Ahlem** pour leurs précieux conseils, leur aide et leur encouragement.

Je remercie vivement Madame **NAWROCKA Agnieszka**, Madame **Monika SZYMANSKA-CHARGOT**, Monsieur **ZDUNEK Artur** et Monsieur **MARIUSZ PIECZYWEK Piotr** de l'institut d'Agro- physiques, Académie Polonaise des Sciences, Lublin, Pologne, Madame **Marta** et Monsieur **Stanislaw MLEKO** et à Madame **ROZYLO Renata** de l'université des sciences de la vie, Lublin, Pologne, pour le temps qu'ils m'ont consacré pour achever mes analyses spectrales, structurales et rhéologiques. Merci beaucoup pour votre aide, votre compréhension et votre esprit scientifique et encouragements.

Un remerciement très spécial est dédié à Madame **WOJTOWICZ Agnieszka**, Professeur à l'université des Sciences de la vie, Lublin, Pologne pour son aide, son soutien et son brillant esprit. Merci beaucoup Madame pour les moments familiaux que vous m'avez offert en Pologne.

Mes remerciements à tous ceux et celles qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de ce travail et à tous mes amis et collègues : **Fairouz, Hamida, Hocine, Rima, Alaâ, Rima et Hiba** pour leurs encouragements et leur amitié.

Je remercie également tout le personnel de l'I.N.A.T.A.A. en partant de Monsieur le Directeur **BOUDJLAL Abdughani** jusqu'au simple travailleur.

Enfin, je remercie du fond de mon cœur, ma famille qui m'a soutenu et m'a encouragé tout au long de mon parcours.

# DEDICACE

*A la bougie qu'éclaircie mes moments sombres, celle qui sacrifie toute sa vie pour me voir à ce niveau, c'est grâce ses encouragements que j'ai atteint la réussite.*

*Ma très chère mère*

*Au mon professeur de la vie, la personne qui ma donné les nobles principes pour savoir-vivre. Pour tous les efforts consentis afin de m'armer du savoir, je dédis ce travail à*

*Mon très cher père*

*A la personne qui partage avec moi sa vie, qui me soutient et m'encourage. Merci pour ta patience et ton amour, A mon mari*

*Très cher Moufdi*

*A mon petit cœur, ma petite docteur, à ma fille*

*Zayzafoune Assal'ha*

*A ma belle mère et mon beau-père*

*Votre présence dans ma vie est un plus pour moi*

*A ma soeur Ibtissem, ma belle sœur Abir et mes frères Tarek et Abderrezak.*

*A Alla et Daqi : la fierté de la famille*

*A tous mes oncles*

*A la joie de la famille Haïthem, Sidou, MIM, Yahya, Ayoub, Amin, yaâkoub, Ihab et Ibrahim, et Akram*

*A toutes les personnes qui me poussent pour continuer cette formation et surtout à Khadidja*

*Une dédicace spéciale*

*A soumia et mon oncle Abdul baki. Merci pour votre aimable accueil.*

*A tous mes professeurs dès mes premières études*

*Awatif*

*«ومن يتمي به صعود الجبال يعش»* *أبد الدهر بين الحفر* *أبو القاسم الشابي*

*«That, which doesn't kill you, makes you stronger» Friedrich Nietzsche*

## *SOMMAIRE*

**Liste des Publications et de communications**

**Liste des Abréviations**

**Liste des Figures**

**Liste des Tableaux**

**Introduction générale..... 1**

### *Données bibliographiques*

#### **Chapitre 01. Farines avec et sans gluten : Caractéristiques biochimiques et propriétés techno-fonctionnelles de leurs constituants**

1. Farine de blé tendre.....	4
1.1. Glucides.....	4
1.2. Lipides.....	8
1.3. Protéines.....	9
1.3.1. Albumines et Globulines.....	10
1.3.2. Protéines de gluten et fonctionnalité en panification.....	11
2. Ingrédients exempts du gluten.....	15
2.1. Riz.....	15
2.2. Maïs.....	17
2.3. Fèveole.....	17

#### **Chapitre 02. Aptitudes technologiques des pâtes panifiables avec et sans gluten : approche comparative**

1. Développement de la pâte à panifier au cours du processus de panification.....	19
2. Panification sans gluten.....	20
3. Aptitudes technologiques des pâtes à panifier.....	21
3.1. Rhéologie de la pâte .....	21
3.2. Termes d'évaluation du comportement rhéologique .....	22
3.3. Aspects technologiques du pain.....	23

#### **Chapitre 03. Interactions biochimiques au sein de la pâte à panifier**

1. Nature chimique des interactions moléculaires impliquées dans le mécanisme de formation d'une pâte à panifier.....	24
1.1. Liaisons covalentes de type S-S.....	24
1.2. Interactions électrostatiques.....	24
1.2.1. Interactions ioniques.....	25
1.2.2. Interactions hydrogènes.....	25
1.4. Interactions hydrophobes.....	25
2. Origine des interactions moléculaires dans les protéines de la farine de blé tendre .....	25

3. Evolution des caractéristiques rhéologiques en fonction des interactions moléculaires au cours de la formation de la pâte à panifier .....	28
4. Méthodes d'étude des interactions moléculaires.....	30
4.1. Méthodes chimiques .....	30
4.2. Méthodes physiques.....	32

## *Etude expérimentale*

<b>Démarche globale de la thèse.....</b>	<b>33</b>
--	-----------

### **Matériel et méthodes**

#### **Partie 01. Caractérisation physico-chimique des matières premières et évaluation des propriétés rhéologiques et des aptitudes technologiques des pâtes**

1. Matières premières.....	37
1.1. Farines de blé tendre.....	37
1.2. Grains sans gluten .....	37
1.2.1. Riz.....	37
1.2.2. Maïs.....	37
1.2.3. Féverole.....	37
1.2.4. Mouture des grains et obtention de farines sans gluten.....	37
1.3. Autres ingrédients.....	38
2. Caractérisation physico-chimique des matières premières.....	38
2.1. Teneur en eau.....	38
2.2. Teneur en protéines totales.....	39
2.3. Teneur en lipides libres.....	41
2.4. Teneur en cendres.....	42
3. Diagramme de préparation des pâtes et des échantillons à étudier.....	42
4. Caractérisation rhéologiques des pâtes avec et sans gluten .....	47
4.1. Propriétés de pétrissage par Farinographe.....	48
4.2. Comportement viscoélastique : test de déformation dynamique oscillatoire....	49
4.3. Propriétés de la viscosité .....	50
5. Aptitude technologique des pâtes à étudier : Test de panification.....	51
6. Analyse statistique.....	52

#### **Partie 02. Approche des interactions moléculaires installées dans la pâte à panifier : Ponts disulfures et Interactions hydrophobes**

1. Méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires : Recherche de corrélations qualité-interactions moléculaires.....	53
1.1. Description du mode opératoire .....	55
1.2. Optimisation par la méthode des surfaces de réponse.....	58
1.3. Validation : Test de classification des pâtes à panifier de différentes qualités.....	62

2. Approche de l'effet des interactions moléculaires sur le comportement rhéologique...	63
2.1. Etablissement du mode opératoire.....	63
2.2. Optimisation du mode opératoire par la méthode des surfaces de réponse pour l'effet perturbant du SDS.....	65
2.3. Mise en relation : Comportement rhéologique - Interactions moléculaires.....	67
3. Analyse statistique.....	68

### **Partie 03. Etude structurale des pâtes sans gluten**

1. Principe de l'analyse spectroscopique infrarouge et Raman.....	72
2. Acquisition spectrale.....	72
2.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR).....	72
2.2. Spectroscopie de diffusion Raman à transformée de Fourier (FT-Raman).....	74
3. Traitement des données : Détermination des caractéristiques biophysiques et leurs variations à partir des spectres obtenus.....	74
3.1. Prétraitement des spectres.....	75
3.2. Caractérisation structurale des protéines.....	75
3.2.1. Structure secondaire.....	75
3.2.2. Conformation des ponts disulfures.....	79
3.2.3. Acides aminés aromatiques.....	80
3.3. Etude des changements de la structure des protéines.....	80
3.4. Aspects biophysiques de l'amidon au sein de la matrice de la pâte.....	81
4. Analyse statistique.....	82

## **Résultats et discussion**

### **Partie 01. Caractéristiques physico-chimiques et aptitude à la panification des farines étudiées**

1. Caractéristiques physico-chimiques des farines.....	83
2. Caractéristiques rhéologiques des pâtes.....	86
2.1. Propriétés du pétrissage.....	86
2.2. Comportement viscoélastique.....	88
2.3. Propriétés de la viscosité.....	93
3. Caractéristiques technologiques des pains par le volume spécifique.....	96
4. Conclusion de la partie 01.....	97

### **Partie 02. Aptitudes technologiques des pâtes à panifier et les interactions moléculaires approchées**

1. Corrélations entre les aptitudes technologiques des pâtes et les interactions moléculaires approchées.....	99
1.1. Mode opératoire de la dissociation chimique des liaisons disulfures et des interactions hydrophobes.....	99
1.1.1. Modélisation mathématique de la réponse « taux de dissociation ».....	99

1.1.2. Surfaces de réponses Taux de dissociation des ponts S-S et des interactions hydrophobes.....	101
1.1.3. Optimisation de l'effet dissociant de $\beta$ -mercaptoéthanol et de SDS.....	103
1.2. Classification de pâtes sur la base de la dissociation chimique des interactions moléculaires.....	105
1.2.1. Classification en fonction de la dissociation des ponts S-S.....	105
1.2.2. Classification en fonction de la dissociation des interactions hydrophobes.....	107
1.3. Corrélation entre les aptitudes technologiques de pâtes et leurs taux de dissociation.....	109
2. Interactions moléculaires et comportement rhéologique des pâtes à panifier.....	112
2.1. Optimisation de l'effet perturbant de SDS sur les paramètres rhéologiques.....	112
2.1.1. Modélisation mathématique des réponses «G' », « G" » et « tan $\delta$ ».....	112
2.1.2. Evolution des Paramètres rhéologiques en fonction de la quantité en SDS ajoutée et le moment de son ajout.....	113
2.2. Relation : Paramètres rhéologiques des pâtes- Type d'interactions moléculaires enregistrées.....	116
2.2.1. Effet des interactions hydrophobes .....	116
2.2.1. Effet des ponts disulfures .....	120
3. Conclusion de la partie 02.....	123

### **Partie 03. Etude structurale et aspects biophysiques des pâtes à panifier sans gluten**

1. Mécanismes structuraux de développement des matrices de pâtes sans gluten .....	125
1.1. Spectres FT-IR des pâtes étudiées.....	125
1.2. Similitudes et différences des aspects biophysiques des pâtes sans gluten en comparaison avec le témoin de blé tendre.....	128
1.2.1. Structure secondaire des protéines .....	128
1.2.2. Conformation des ponts S-S.....	143
1.2.3. Propriétés des acides aminés aromatiques.....	146
1.2.4. Caractéristiques de l'organisation de l'amidon.....	144
1.3. Corrélation entre les propriétés rhéologiques et le comportement biophysique des pâtes sans gluten.....	150
2. Impact des liaisons disulfures et de l'effet hydrophobe sur la mise en place des pâtes sans gluten : Approche comparative au témoin de blé tendre .....	154
2.1. Ponts disulfures.....	154
2.2. Interactions hydrophobes.....	158
3. Conclusion de la partie 03.....	162
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>164</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>168</b>
<b>Annexes</b>	



## Liste de publications et de communications

### Publications scientifiques

1. **A. Fetouhi**, L. Benatallah, A. Nawrocka, M. Szymańska-Chargot, A. Bouasla, M. Tomczyńska-Mleko, M. N. Zidoune, A. Sujak (2019). Investigation of viscoelastic behaviour of rice-field bean glutenfree dough using the biophysical characterization of proteins and starch: a FT-IR study. *J Food Sci Technol*. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03602-2>.
2. **A. Fetouhi**, A. Sujak, L. Bentallah, A. Nawrocka, M. Szymańska-Chargot, M. Tomczyńska-Mleko, A. Wójtowicz, M. N. Zidoune (2021). Development of New Gluten-Free Maize-Field Bean Bread Dough: Relationships Between Rheological Properties and Structure of Non-Gluten Proteins. *Polish Journal of Food Nutrition Sciences*, Vol. 71, No. 2, pp. 161–175.

### Communication

1. **A. Fetouhi**, L. Benatallah, A. Nawrocka, M. Szymańska-Chargot, M. N. Zidoune, A. Sujak. Relationship between rheological behavior of gluten free maize-field bean dough and protein conformation using Fourier Transformed infrared spectroscopy. SISA- Constantine -2018.

## Liste des Abréviations

**ACP** : Analyse en Composantes Principales ;  
**AFNOR** : Association Française de Normalisation  
**AE** : Absorption d'Eau ;  
**A-F- $\beta$**  : Antiparallèle-Feuillet-B ;  
**agr** : Agrégats ;  
**CAD** : Concentration en Agent Dissociant ;  
**CCD** : Central Composite Design ;  
**Cr** : Creux ;  
**Cou-  $\beta$**  : Coude-  $\beta$  ;  
**FAO** : Food and Agricultural Organisation  
**F-  $\beta$**  : Feuillet-  $\beta$  ;  
**FBT** : Farine de Blé Tendre ;  
**FMF** : Formule Maïs-Fèverole ;  
**FRF** : Formule Riz-Fèverole  
**FT-IR** : Infrarouge à Transformée de Fourier ;  
**FT-Raman** : diffusion Raman à Transformée de Fourier ;  
**GGG** : Gauche-Gauche-Gauche ;  
**GGT** : Gauche-Gauche-Trans ;  
**Hél- $\alpha$**  : Hélice-  $\alpha$  ;  
**I** : Intensité ;  
**MA** : Moment d' Ajout ;  
**MDCIM** : Méthodologie de Dissociation Chimique des Interactions Moléculaires ;  
**NEMI** : N-Ethylmaleimide ;  
**PBT** : Pâte de Blé Tendre.  
**PMF** : Pâte Maïs-Fèverole ;  
**PRF** : Pâte Riz-Fèverole ;  
**P-F- $\beta$**  : Pseudo-Feuillet- $\beta$  ;  
**QAD** : Quantité en Agent Dissociant ;  
**rétrog**: Rétrogradation ;  
**SDS** : Sodium SodécyLSulfate ;  
**TC** : Temps de Contact ;  
**TG** : Température de Gélatinisation ;

**TGT** : Trans-Gauche Trans ;

**UA** : Unité Arbitraire ;

**UB** : Unité Brabender ;

**Vis F** : Viscosité Finale;

**Vis I** : Viscosité Initiale ;

**Vis M** : Viscosité Maximale ;

**Vsp** : Volume spécifique.

## Liste des Figures

<b>Figure 01.</b> Représentation schématique de la structure du granule de l'amidon et ses différents constituants .....	5
<b>Figure 02.</b> Eléments structurels des arabinoxylanes .....	7
<b>Figure 03.</b> Schéma récapitulatif de la composition lipidique de la farine de blé tendre .....	9
<b>Figure 04.</b> Modèle de l'effet de l'hydratation sur le rapport boucle / train de gluten.....	14
<b>Figure 05.</b> Schéma représentatif des ponts S-S dans les différentes classes des sous unités gliadines .....	26
<b>Figure 06.</b> Schéma représentatif des groupements SH dans les différentes classes des sous unités gluténines .....	26
<b>Figure 07.</b> Image prise à l'aide de la Microscopie Confocale à Balayage Laser montre l'effet des pont S-S dans le maintien de l'homogénéité et la continuité du réseau de gluten au sein de la pâte.....	29
<b>Figure 08.</b> Schéma récapitulatif de la démarche globale de la thèse.....	35
<b>Figure 09.</b> Diagramme récapitulatif des différentes voies suivies pour la préparation des pâtes et l'obtention des échantillons d'étude.....	43
<b>Figure 10.</b> Schéma récapitulatif de la démarche poursuivie pour approcher les interactions moléculaires installées dans la pâte à panifier.....	54
<b>Figure 11.</b> Mode opératoire, à optimiser, de la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires.....	57
<b>Figure 12.</b> Schéma récapitulatif des étapes suivies pour la réalisation de la partie 03.....	71
<b>Figure 13.</b> Schémas descriptif du mode de fonctionnement du dispositif ATR .....	73
<b>Figure 14.</b> Spectres FT-IR de l'échantillon traité ( — ), du D <sub>2</sub> O ( - - - ) et de la différence des deux ( —●— ) .....	76
<b>Figure 15.</b> Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'analyse de la bande Amide I pour la détermination des structures secondaires .....	77
<b>Figure 16.</b> Evolution des caractéristiques viscoélastiques des pâtes (G' (A), G'' (B) et tan δ (C)) en fonction de la fréquence (Hz).....	89
<b>Figure 17.</b> Volumes spécifiques des pains fabriqués à partir des pâtes étudiées. ....	96
<b>Figure 18.</b> Surfaces de réponses décrivant l'évolution de la dissociation des ponts S-S (A) et des interactions hydrophobes (B) en fonction du couple (concentrations en agent dissociant et temps de contact au repos).....	102
<b>Figure 19.</b> Evolution du taux de dissociation des ponts S-S des pâtes étudiées en fonction de la concentration du β-mercaptoéthanol. ....	106
<b>Figure 20.</b> Classification des pâtes en fonction de l'effet dissociant du SDS sur les interactions hydrophobes. ....	108
<b>Figure 21.</b> Surfaces de réponses décrivant l'évolution des paramètres rhéologiques de la pâte de blé tendre en fonction de la quantité du SDS ajoutée et le moment de son ajout. <b>A</b> : G' (Pa), <b>B</b> : G'' (Pa), <b>C</b> : tan δ.....	114
<b>Figure 22.</b> Graphique de contours superposés du G'(Pa), G'' (Pa) et de tan δ.....	116
<b>Figure 23.</b> Evolution de l'effet de l'ajout de SDS suite à la dissociation des interactions hydrophobes sur les paramètres rhéologiques G' (A), G'' (B) et tan δ (C) des pâtes avec et sans gluten étudiées .....	117
<b>Figure 24.</b> Evolution de l'effet de l'ajout de NEMI suite à la dissociation des ponts S-S sur les paramètres rhéologiques G' (A), G'' (B) et tan δ (C) des pâtes avec et sans gluten étudiées .....	121
<b>Figure 25.</b> Spectres FTIR corrigés à la ligne de base des pâtes étudiées.....	126

<b>Figure 26.</b> Spectres FTIR corrigés à la ligne de base des pâtes hydro-thermiquement traitées.....	<b>127</b>
<b>Figure 27.</b> Deuxième dérivé des spectres FT-IR des pâtes dans la région Amide I (1590–1720 cm <sup>-1</sup> ).....	<b>129</b>
<b>Figure 28.</b> Bandes Amide I déconvolutées (1590–1720 cm <sup>-1</sup> ) issues des spectres FT-IR des pâtes étudiées.....	<b>131</b>
<b>Figure 29.</b> Spectres de différences de la région Amide I (1590–1720 cm <sup>-1</sup> ) entre les pâtes sans gluten et le témoin de blé tendre.....	<b>135</b>
<b>Figure 30.</b> Spectres de différences des bandes Amide I (1590–1720 cm <sup>-1</sup> ) entre les pâtes sans gluten.....	<b>137</b>
<b>Figure 31.</b> Bandes Amide I déconvolutées (1590–1720 cm <sup>-1</sup> ) issues des spectres FT-Raman des pâtes étudiées.....	<b>139</b>
<b>Figure 32.</b> Région S-S déconvolutée.....	<b>144</b>
<b>Figure 33.</b> Spectres de différence dans la zone Amide I (1590-1720 cm <sup>-1</sup> ) entre les pâtes traitées avec le NEMI et les pâtes témoins non traités correspondantes.....	<b>155</b>
<b>Figure 34.</b> Spectres Raman superposés dans la zone Amide I (1590-1720 cm <sup>-1</sup> ) des pâtes traitées avec le NEMI et les pâtes témoins non traités correspondantes.....	<b>156</b>
<b>Figure 35.</b> Spectres de différence dans la zone Amide I (1590-1720 cm <sup>-1</sup> ) entre les pâtes traitées avec le SDS et les pâtes témoins non traités correspondantes.....	<b>159</b>
<b>Figure 36.</b> Spectres Raman superposés dans la zone Amide I (1590-1720 cm <sup>-1</sup> ) des pâtes traitées avec le SDS et les pâtes témoins non traités correspondantes.....	<b>160</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01.</b> Nature des ponts entre les protéines de la pâte.....	<b>28</b>
<b>Tableau 2.</b> Teneur en eau à jouter pour la préparation de chaque type de pâte, exprimée en ml d'eau distillée pour 100 g de la masse sèche de farine.....	<b>47</b>
<b>Tableau 03.</b> Matrices d'expériences du plan composite orthogonal centré à deux variables pour le SDS et le $\beta$ -mercaptoéthanol.....	<b>60</b>
<b>Tableau 04.</b> Valeurs calculées des variables codées correspondant aux niveaux attribués pour le SDS.....	<b>61</b>
<b>Tableau 05.</b> Valeurs calculées des variables codées correspondant aux niveaux attribués pour le $\beta$ -mercaptoéthanol.....	<b>61</b>
<b>Tableau 06.</b> Valeurs réelles non codées des couples temps de contact au repos-concentration en agent dissociant pour le SDS et le $\beta$ -mercaptoéthanol.....	<b>61</b>
<b>Tableau 07.</b> Matrices d'expériences du plan composite orthogonal centré à deux variables pour le SDS.....	<b>66</b>
<b>Tableau 08.</b> Valeurs calculées des variables codées correspondant aux niveaux attribués pour le SDS.....	<b>66</b>
<b>Tableau 09.</b> Valeurs réelles non codées des couples moment de l'ajout –quantité du SDS.....	<b>67</b>
<b>Tableau 10.</b> Composition biochimique des farines en g pour 100g de la matière sèche.....	<b>83</b>
<b>Tableau 11.</b> Propriétés de pétrissage des pâtes étudiées mesurées à 500 UB.....	<b>87</b>
<b>Tableau 12.</b> Paramètres rhéologiques ( $G'$ , $G''$ et $\tan \delta$ ) des pâtes dans le domaine viscoélastique linéaire à une fréquence de 1 Hz.....	<b>91</b>
<b>Tableau 13.</b> Caractéristiques de la viscosité des pâtes étudiées.....	<b>94</b>
<b>Tableau 14.</b> Taux de dissociation des ponts S-S de 13 points du Plan Centrale Composite à deux facteurs et à cinq niveaux .....	<b>100</b>
<b>Tableau 15.</b> Taux de dissociation des interactions hydrophobes de 13 points du Plan Centrale Composite à deux facteurs et à cinq niveaux .....	<b>100</b>
<b>Tableau 16.</b> Points d'optimisation du taux de dissociation des ponts S-S et des interactions hydrophobes.....	<b>104</b>
<b>Tableau 17.</b> Matrice de corrélation des propriétés technologiques ( $V_{sp}$ ) et rhéologiques ( $G'$ , $G''$ et $\tan \delta$ ) avec les taux de dissociations des pâtes par le $\beta$ -mercaptoéthanol et le SDS.....	<b>111</b>
<b>Tableau 18.</b> Résultats de 13 essais du CCD à deux facteurs et à cinq niveaux décrivant l'effet perturbant du SDS sur le comportement rhéologique de la pâte de blé tendre .....	<b>112</b>
<b>Tableau 19.</b> Composition relative des structures secondaires des protéines de pâtes participant à la bande Amide I, calculée sur la base de la déconvolution des spectres FT-IR dans cette région.....	<b>132</b>

<b>Tableau 20.</b> Distribution des structures secondaires des protéines de pâte calculées sur la base de la déconvolution des spectres FT-Raman dans la région Amide I.....	<b>140</b>
<b>Tableau 21.</b> Distribution des conformations des pont S-S des pâtes étudiées.....	<b>143</b>
<b>Tableau 22.</b> Résultat de l'analyse de l'environnement des acides aminés aromatiques (tyrosine et tryptophane) pour les pâtes étudiées.....	<b>147</b>
<b>Tableau 23.</b> Valeurs de R' calculées pour les pâtes étudiées.....	<b>149</b>
<b>Tableau 24.</b> Matrice de corrélation entre les propriétés de pétrissage, les propriétés de la viscosité, les caractéristiques viscoélastiques et les caractéristiques biophysiques de la structure des protéines.....	<b>151</b>

# ***Introduction***



La pâte panifiable à base de blé tendre est le résultat de la formation d'un réseau protéique de gluten dans lequel se dispersent les granules d'amidon (NAWROCKA *et al.*, 2017). Le secret de la réussite des pâtes à pain de bonne qualité réside dans les propriétés uniques que possèdent les protéines de gluten (OOMS et DELCOUR, 2019). Sous l'effet de l'hydratation et de l'énergie apportée par le pétrissage, les gliadines et les gluténines présentes dans la pâte forment un réseau protéique continu. Ce dernier est défini comme une masse viscoélastique capable de retenir le gaz carbonique issu de la fermentation, ce qui permettrait à la pâte de se dilater et devenir un aliment plus mou, plus léger et agréable au goût après la cuisson (de la HERA *et al.*, 2012 ; DEMIRKESEN *et al.*, 2013). Les qualités de la pâte et du pain qui en résultent sont étroitement liées à la présence de gluten (SIVAM *et al.*, 2013).

Les pâtes à pain sans gluten présentent de faibles aptitudes technologiques à la panification par rapport à celles de blé tendre. Elles ont montré beaucoup moins de cohésion et d'élasticité. Elles sont plus lisses, plus collantes, moins élastiques et plus pâteuses montrant plus de similitudes avec la pâte à gâteau (CAUVAIN, 1998). Ce genre de pâtes est alors incapable de retenir le gaz carbonique produit pendant la fermentation conduisant à une pâte instable et à un produit fini de faible qualité, caractérisé par une mauvaise sensation en bouche, une mie sèche et friable, une mauvaise saveur et un taux de rassissement élevé (ARENDRT *et al.*, 2002). Ces faibles aptitudes rhéologiques et technologiques sont étroitement liées à l'absence du gluten et à l'incapacité des protéines des ingrédients sans gluten de former un réseau viscoélastique similaire (HOUBEN *et al.*, 2012).

Le contrôle ainsi que l'estimation de la qualité des systèmes alimentaires ne se focalisent pas uniquement sur la caractérisation physico-chimique, biochimique et rhéologique mais il fait appel aussi à l'analyse structurale des bio-polymères et à l'estimation de leur comportement biophysique. Ce dernier reflète l'évolution des propriétés physico-chimiques de ces macromolécules sous leur forme complexe et individuelle (KADDOUR *et al.* 2008). L'aspect structurel des pâtes sans gluten reste mal connu et mal étudié cependant, il reste un moyen intéressant de la compréhension de leur mauvaise qualité par rapport à celle du blé tendre. Plusieurs investigations ont été menées visant à expliquer la fonctionnalité des fractions protéiques de graines sans gluten par rapport à leur aspect structural (riz, maïs, haricots rouges et pois de grande culture) (ELLEPOLA *et al.*, 2005; MEJIA *et al.*, 2007; SHEVKANI *et al.*, 2015). Aucune étude n'a été menée sur l'investigation, à l'échelle structurale, de l'aptitude de ces ingrédients à mettre en place des aliments complexes, à savoir

de la pâte à pain sans gluten. L'étude des mécanismes structuraux de développement de ce genre de pâtes avec ou sans améliorant constitue donc la clé pour comprendre et contrôler la fonctionnalité de leurs composants et proposer des solutions pour améliorer la qualité de ces produits.

Le développement du comportement rhéologique de la pâte à pain durant le pétrissage est le résultat d'une évolution structurale mise en place grâce aux propriétés technofonctionnelles que possèdent ses constituants (OOMS *et al.*, 2018). L'amidon et le gluten représentent les deux composants majeurs de la pâte de blé les plus influant sur ces propriétés mécaniques. En appliquant une action mécanique pendant le pétrissage, les agrégats de gluten hydratés se dissocient partiellement, se déplient et s'étirent pour former une phase de gluten dans toute la pâte (MOHAMMED *et al.*, 2012 ; OOMS et DELCOUR, 2019). Les granules de l'amidon et la phase continue de gluten interagissent ensuite en formant des interactions amidon-amidon, amidon-gluten et gluten-gluten. Les interactions amidon-amidon et amidon-gluten affectent significativement l'élasticité de la pâte qui est influencée par la concentration en amidon présent (OOMS et DELCOUR, 2019). Les interactions stockent l'énergie potentielle lors de la déformation et contribuent au comportement élastique de la pâte. ZHOU *et al.* (2014) apportent que les liens covalents entre les protéines aboutissent à la formation du réseau de gluten. Alors que les liens non covalents favorisent le renforcement de ce réseau et l'assemblage des autres constituants entre eux d'une part et avec le squelette protéique d'autre part. Les liens covalents sont représentés par les liaisons disulfures, et les interactions non covalentes regroupent les interactions hydrophobes, hydrogènes et ioniques (PERESSINI *et al.*, 2008 ; OOMS *et al.*, 2018).

BLOKSMA (1975) a supposé que la déformation élastique de la pâte de gluten était liée au nombre de réticulations disulfures et que le caractère visqueux des pâtes résultait de la rupture et de la reformation des liaisons disulfures par une réaction d'échange thiol-disulfure. Plusieurs études se sont basées sur ces hypothèses et ont prouvé la relation étroite entre le comportement rhéologique des pâtes de blé et l'aptitude des leurs constituants à mettre en place des liens covalents type S-S (PEIGHAMBARDUST *et al.*, 2005 ; PEIGHAMBARDUST *et al.*, 2006; PERESSINI *et al.*, 2008). L'étude de l'effet des liens covalents et non covalents sur le comportement rhéologique des pâtes sans gluten constitue aussi un moyen de compréhension et d'explication de la qualité de ce genre de pâte.

L'une des préoccupations de l'équipe de Transformation et Elaboration des Produits Alimentaires (T.E.P.A) de Laboratoire de la Nutrition et de Technologie Alimentaire (L.N.T.A.), en plus de la formulation et l'amélioration des pâtes à pain sans gluten, est d'approcher l'effet des interactions moléculaires sur leurs aptitudes technologiques. Dans ce contexte, une première étude a été réalisée visant à mettre en place une méthode simple, rapide et pratique de prédiction et d'explication de la qualité des pâtes panifiables avec et sans gluten en fonction des interactions moléculaires établies (FETOUHI, 2014). Les premiers résultats ont montré que cette méthodologie ne permettait pas de différencier les pâtes panifiables qu'à des intervalles étroits de concentrations en agents dissociant. D'autre part, l'effet dissociant, exprimé en taux de dissociation, restait faible, quelque'était la concentration en agent dissociant utilisée. Dans le but d'augmenter l'effet dissociant des agents chimiques tout en les appliquant à de faibles concentrations et afin assurer une discrimination significative entre les pâtes avec et sans gluten, l'optimisation et la validation de cette méthodologie restent parmi les principaux objectifs de notre équipe.

A la lumière de tout ce qui est évoqué, s'inscrit l'objectif de notre étude qui vise à situer à l'échelle structurale et moléculaire les réponses rhéologiques et technologiques des pâtes levées sans gluten par rapport à celles témoins de blé tendre afin de maîtriser les interactions moléculaires mises en œuvre et de savoir les exploiter. Ceci devrait être atteint à travers :

- L'optimisation et la validation de la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires en tant qu'une méthode expérimentale permettant la prédiction de la qualité des pâtes destinées à la panification avec et sans gluten en terme de leur aptitude à mettre en place les différents types de liens moléculaires;
- La recherche de corrélations entre les aptitudes technologiques des pâtes sans gluten et leurs mécanismes structuraux de développement, et l'estimation de l'effet des interactions moléculaires sur ceux-ci.

**Données**

**Bibliographiques**

# **Chapitre 01**

***Farines avec et sans gluten :***

***Caractéristiques biochimiques et propriétés  
techno-fonctionnelles de leurs constituants***

## **Chapitre 01. Farines avec et sans gluten : Caractéristiques biochimiques et propriétés techno-fonctionnelles de leurs constituants**

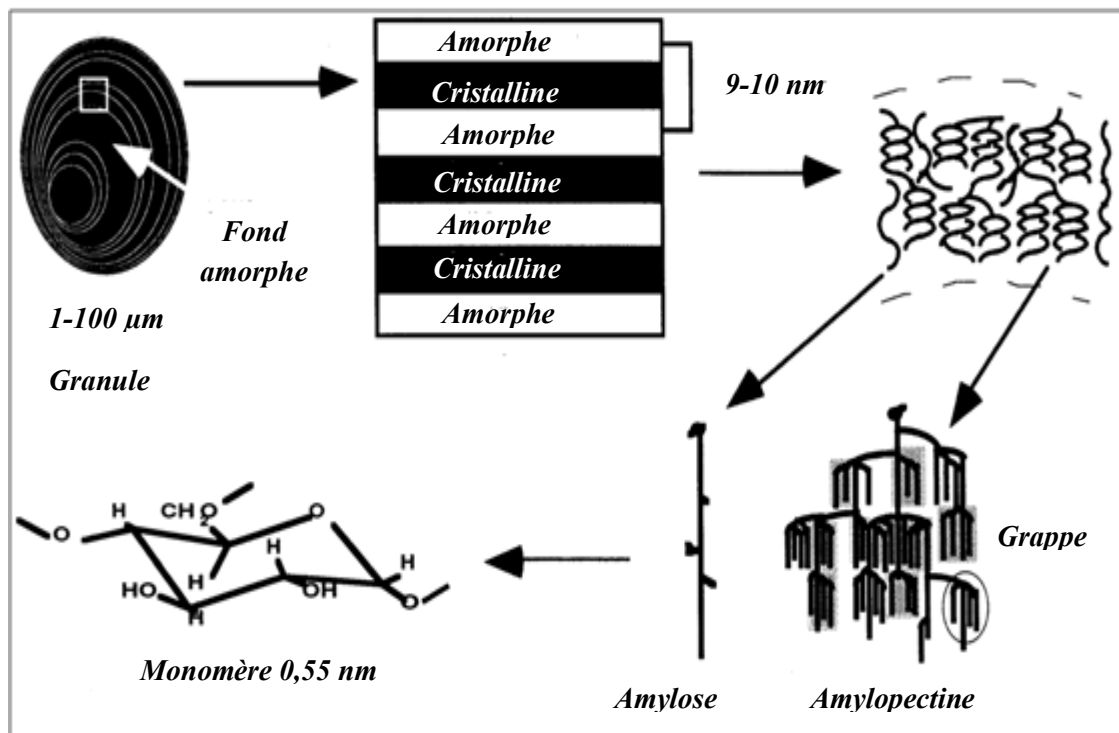
### **1. Farine de blé tendre**

La farine du blé tendre constitue l'ingrédient fondamental de la panification. Elle est principalement composée de 70 à 75% d'amidon, de 14% d'eau, de 10 à 12 % de protéines, de 2 à 3 % des polysaccharides non amylacés en particulier les arabinoxylanes, et de 2% de lipides. Ce dernier élément représente le principal constituant mineur affectant le processus de la transformation de la matière première et la qualité des produits finis (GOESAERT *et al.*, 2005).

#### **1.1. Glucides**

##### **1.1.1. Amidon**

C'est le bio-polymère le plus abondant de la farine de blé tendre du fait qu'il représente 80% de la matière sèche. Il s'agit d'un polysaccharide complexe constitué de deux fractions, une glucidique majeure dont l'unité constitutive est le résidu glucosyl (98 à 99)%. L'autre mineure non glucidique (1 à 2) % constituée essentiellement de protéines (0,2 à 0,3) %, de lipides (0,5 à 1,1)% (incluant principalement des phospholipides et des acides gras libres), des enzymes liées à la surface des granules et de la matière minérale (0,15 à 0,3) % (FEILLET, 2000). Ce même auteur apporte que les granules de l'amidon de blé tendre sont des entités semi-cristallines formées de l'association de deux molécules à savoir l'amylose (26 à 28)% et l'amylopectine (72 à 74)%. Ils se composent tous les deux par des unités de D-glucose liées par une liaison de type  $\alpha$ -(1, 4). L'amylose est essentiellement linéaire, tandis que l'amylopectine est un polymère très ramifié à raison de 5 à 6% de liaisons  $\alpha$ -(1, 6) (BULÉON *et al.*, 1998 ; JEANTET, 2007 ; ALIAS *et al.*, 2008).



**Figure 01.** Représentation schématique de la structure de granule de l'amidon et ses différents constituants (BULÉON *et al.*, 1998).

La structure native de l'amidon est constituée d'hélices plus ou moins radialement organisées formant un granule (Figure 01). L'architecture interne des granules d'amidon natif est caractérisée par des anneaux concentriques représentant des coquilles semi-cristallines (épaisseur 120–400 nm) séparées par des régions essentiellement amorphes. Il existe de nombreuses preuves montrant que les coquilles semi-cristallines sont constituées de lamelles amorphes et cristallines alternées régulièrement, se répètent à 9-10 nm (SHEVKANI *et al.*, 2016). Dans cette organisation structurale, des doubles hélices parallèles de chaînes latérales d'amylopectine sont assemblées en amas orientés radialement.

L'amidon de blé est semi-cristallin avec un degré de cristallinité variant de 9% pour les amidons riches en amylose à 40% pour les amidons cireux (amidon riche en amylopectine). La propriété cristalline est à l'origine de l'organisation hiérarchique des doubles hélices d'amylopectine au sein des granules. Tandis que l'amylose, l'amylopectine moins ordonnée et les points de branchement reliant les doubles hélices sont responsables des régions amorphes (WATERSCHOOT *et al.*, 2015). Les amidons avec une proportion plus élevée de longues chaînes d'amylopectine présentent un degré de cristallinité plus élevé et vice versa (SHEVKANI *et al.*, 2016).

L'amidon joue un rôle primordial en panification en raison de ses propriétés techno-fonctionnelles. Lors de l'hydratation, l'amidon absorbe environ 45% de l'eau ajoutée à la farine. Il est alors un bon fixateur d'eau et contribue à la dilution des autres constituants de la pâte (FEILLET, 2000). Néanmoins, une augmentation de la teneur en amidon implique une réduction de l'extensibilité de la pâte (BLOSKMA, 1990a).

Dans le même sens, LARSSON et ELIASSON (1997) apportent que la modification des propriétés de la surface des granules d'amidon induit un changement significatif dans le comportement rhéologique de la pâte.

Selon les travaux d'ELIASSON et GUDMUNDSSON (1995), l'aptitude à la panification des amidons de blé serait d'autant meilleure que leur température de gélatinisation est plus élevée. Ce phénomène a été expliqué par le fait que la prise de volume du pain dans le four s'arrête au moment où l'amidon est gélatinisé et que le pain se développe d'autant que la gélatinisation de l'amidon est tardive (FEILLET, 2000).

L'amidon contribue également à la levée du pain. Sous l'action des amylases, une certaine quantité d'amidon est hydrolysée en maltose. Ceci favorise l'action de la levure en augmentant la production de gaz carbonique et entraîne le ramollissement de la pâte et donc l'évolution ses propriétés rhéologiques (FEILLET, 2000).

### **1.1.2. Pentosanes**

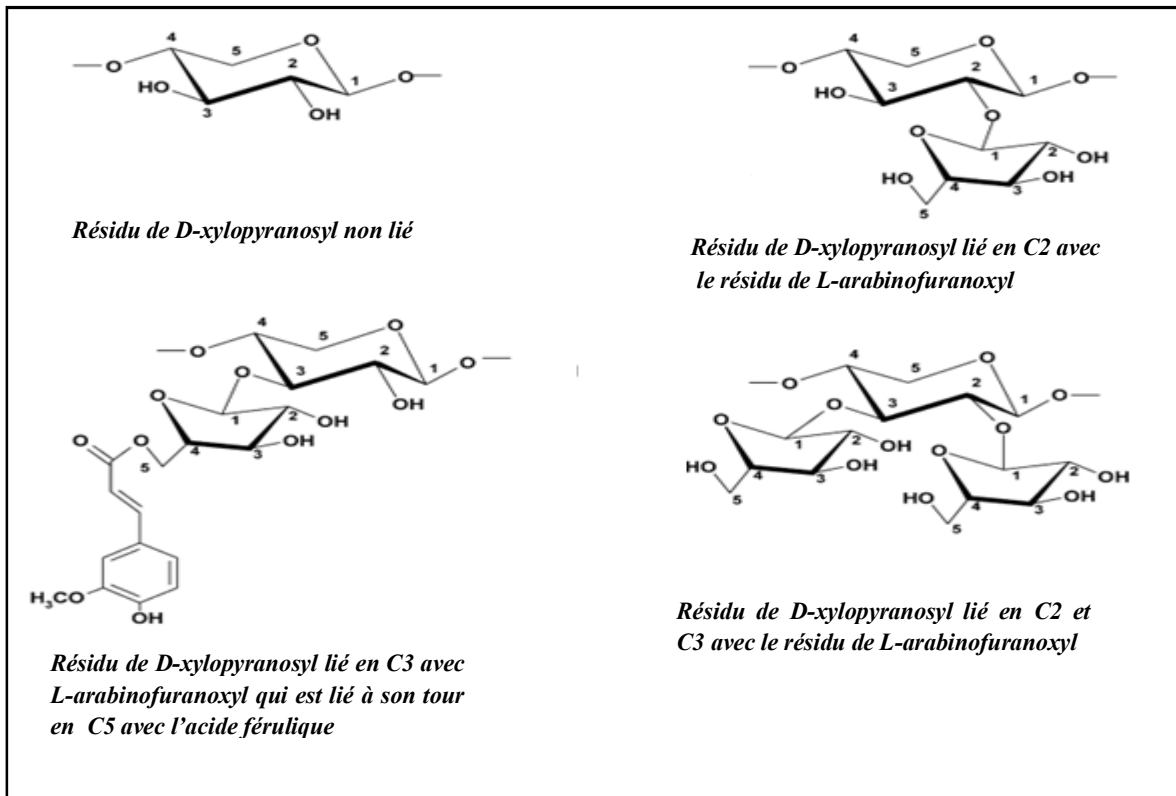
Ce sont des polysaccharides qui représentent plus de 75% de la matière sèche des parois cellulaires de l'endosperme, dont les constituants majeurs sont des arabinoxylanes (plus de 85%) (MARES et STONE, 1973a). En fonction de leurs unités structurales, les pentosanes regroupent les arabinoxylanes et les arabinogalactanes.

Les arabinoxylanes sont des hétéro-polymères de longues chaînes linéaires de xylose associées par des liaisons  $\beta$ -(1,4) sur lesquelles sont griffées des molécules d'arabinofuranose au niveau des carbones C3 et/ou C2. Les arabinoxylanes contiennent également une faible quantité d'acide férulique à raison de 2 mg par g de pentosane (Figure 02) (FEILLET, 2000). Selon leur solubilité dans l'eau, les arabinoxylanes se subdivisent en deux groupes : les arabinoxylanes solubles et les arabinoxylanes insolubles.

Contrairement aux arabinoxylanes, les arabinogalactanes sont des molécules solubles dans l'eau, constituées d'un squelette ramifié d'unité D galactose liée par des



liaisons  $\beta$ -(1,3) et  $\beta$ -(1,6) et sur lesquelles sont branchées des unités d' $\alpha$ -arabinofuranose (Figure 02) (FEILLET, 2000).



**Figure 02.** Eléments structuraux des arabinoxyanes (COURTIN et DELCOUR, 2002).

Malgré leur présence en petites quantités dans la farine de blé (généralement de 1,5 à 2,1 g/100g de la farine), les pentosanes sont connus pour jouer un rôle important dans la détermination de la fonctionnalité de la farine destinée à la fabrication du pain (BILIADERIS *et al.*, 1995).

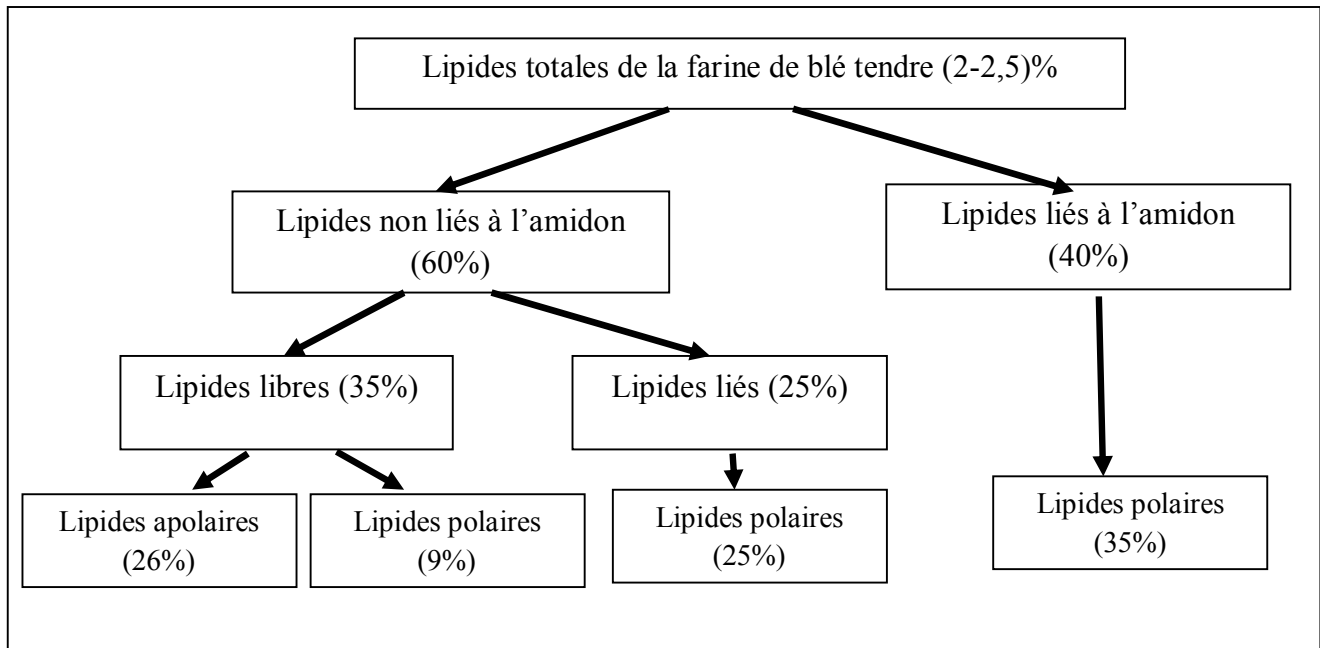
Les propriétés physico-chimiques des pentosanes en général et les arabinoxyanes en particulier à savoir la réticulation et la gélification oxydative, la solubilité et la viscosité conditionnent leur fonctionnalité en panification (ATWELL, 1998). Les pentosanes se caractérisent par l'absence de la structure cristalline ce qui leur confère une forte capacité d'absorption d'eau. Ceci leur permet d'absorber et fixer facilement plus d'un-quart de l'eau ajoutée lors de la préparation de la pâte et de libérer sous certaines conditions une partie de l'eau absorbée (ELIASSON et LARSSON 1993b ; ARIF *et al.*, 2018). Ils jouent alors un rôle de régulateurs de l'hydratation lors de la préparation de la pâte (FEILLET, 2000).

Les caractéristiques visqueuses des gels des arabinoxylanes solubles interviennent sur la tenue et l'extensibilité de la pâte du fait qu'ils peuvent associer les protéines, essentiellement, par l'intermédiaire de l'acide férulique. Ils assurent également la stabilité des microalvéoles gazeuses en stabilisant le film protéique vis-à-vis de la perturbation thermique (ELIASSON et LARSSON, 1993 ; SARKER *et al.*, 1998 ; WANG *et al.*, 2003 ; ARIF *et al.*, 2018). Les arabinoxylanes solubles influent aussi sur l'aptitude de développement de la pâte au cours de la fermentation en inhibant la diffusion du gaz carbonique hors de celle-ci du fait qu'ils stabilisent les alvéoles gazeuses par la formation d'un environnement aqueux saturé en CO<sub>2</sub> autour des alvéoles durant leur formation dans la mie (GAN *et al.*, 1990 ; FEILLET, 2000).

Les arabinoxylanes insolubles constituent une fraction biochimique qui joue un rôle significatif dans les paramètres alvéographiques. Afin de déterminer leur rôle, des essais de reconstitution de la farine en arabinoxylanes ont été réalisés. En effet, l'addition d'une certaine quantité d'arabinoxylanes insolubles à la pâte entraîne une augmentation de l'absorption d'eau, du temps de développement et de la résistance à l'extension de la pâte avec une diminution de la formation du réseau de gluten. Ce phénomène est expliqué par la grande aptitude d'absorption d'eau des arabinoxylanes insolubles gênant la formation du réseau de gluten ce qui entraîne une déstabilisation des alvéoles gazeuses durant le développement de la pâte (MICHNIEWICZ *et al.*, 1991; COURTIN *et al.*, 1999).

## 1.2. Lipides

La farine de blé tendre renferme approximativement entre 2 et 2,5% de lipides (PAREYT *et al.*, 2011). Cette fraction grasse est traditionnellement subdivisée en fonction de leur solubilité lors de l'extraction sélective, en lipides liés à l'amidon (polaires) et lipides non liés à l'amidon. Ces derniers englobent les lipides libres (polaires et apolaires) et les lipides liés aux autres constituants (polaires) (Figure 03) (ELIASSON et LARSSON, 1993; HOSENEY, 1994 ; CHUNG *et al.*, 2009). D'après ces auteurs, les lipides non liés à l'amidon représentent environ 2/3 à 3/4 des lipides totaux de la farine. Les triglycérides et les lipides non polaires sont les lipides majoritaires de cette fraction.



**Figure 03.** Schéma récapitulatif de la composition lipidique de la farine de blé tendre (GOESAERT *et al.*, 2005).

Il est généralement connu que les lipides de la farine, en particulier ceux de la fraction non liés à l'amidon, affectent significativement la qualité de la panification, tandis que les lipides liés à l'amidon n'ont aucun effet parce qu'ils ne seront disponibles qu'après sa gélatinisation (GOESAERT *et al.*, 2005).

Grace à leur capacité de se lier avec les protéines du gluten, les lipides libres polaires peuvent s'aligner à l'interface eau-air des alvéoles gazeuses durant la première étape de pétrissage en agissant comme des agents tensioactifs, ce qui entraîne la stabilité de cette structure lors des différentes étapes de la panification, en particulier la fermentation (GAN *et al.*, 1990 ; SROAN et MACRITCHIE, 2009).

Au cours de pétrissage, les lipides s'oxydent par les lipoxygénases produisant des radicaux libres. Ces derniers participent à l'oxydation couplée des groupements thiols du gluten en ponts disulfures favorisant, alors, le développement de la charpente protéique et l'amélioration des propriétés rhéologiques de la pâte (HOSENE, 1994).

### 1.3. Protéines

Le plus souvent, les protéines de blé sont divisées, selon leurs propriétés fonctionnelles, en protéines insolubles de gluten (les gliadines et les gluténines appelées prolamines) et un groupe très hétérogène de protéines solubles autre que le gluten (les

albumines et les globulines) (VERAVERBEKE et DELCOUR, 2002 ; GOESAERT *et al.*, 2005 ).

Selon SHEWRY et HALFORD (2002), un nouveau système de classification divise les protéines de blé en trois classes :

- **Protéines riches en soufre** :  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  gliadines, B et D sous unité gluténines de faible poids moléculaire ;
- **Protéines pauvres en soufre** :  $\omega$ -gliadines, et C sous unité gluténines de faible poids moléculaire ;
- **Sous unité gluténine de haut poids moléculaire.**

### 1.3.1. Albumines et Globulines

Les albumines et les globulines de l'endosperme représentent environ 20% du total des protéines du blé. Ce sont des protéines monomériques ayant une masse moléculaire comprise entre 5 et 30 kDa. Des sous-unités entre 60 et 70 kDa sont également présentes en proportions importantes. Généralement, ce genre de protéines donnent un rôle physiologique et structural (VERAVERBEKE et DELCOUR, 2002 ; GOESAERT *et al.*, 2005 ; MERLINO *et al.*, 2009). DONG *et al.* (2012) ont établi le caractère enzymatique de ces protéines et ont constaté que parmi les 89 protéines identifiées qui ne font pas partie des prolamines, plus de 80% étaient des enzymes diverses. Bien que l'importance de ce groupe de protéines sur les propriétés fonctionnelles de la farine n'était pas évident, HOSENEY *et al.* (1969) ont indiqué que leur présence était essentielle pour obtenir un volume optimal du pain (TOMIĆ *et al.*, 2016).

Il existe au sein de cette famille des protéines qui s'échappent de la classification traditionnelle. Ce sont essentiellement les petites protéines riches en cystéines. Elles sont qualifiées, selon les équipes de recherche et les conditions de leur purification en CM protéines (protéines solubles dans le mélange Chloroforme-Méthanol). Il existe, à titre d'exemple, les S-safarines, les ligolines, les friabilines, les puroindolines et les purothionines (FEILLET, 2000). Elles participent grâce à leur forte affinité aux lipides et leurs propriétés tensioactives particulièrement élevées à la formation et à la stabilisation de la couche mono-moléculaire protéines/lipides située à l'interface eau/gaz des alvéoles gazeuses. L'addition de 0,1% de puroindoline à la farine améliore les propriétés

rhéologiques de la pâte, le volume du pain et la structure de la mie où l'alvéolage devient plus fin et régulier (FEILLET, 2000).

### 1.3.2. Protéines de gluten et fonctionnalité en panification

Cette fraction constitue 80 à 85% des protéines totales de la farine du blé tendre. Elle regroupe les gliadines monomériques et les gluténines polymériques. Le gluten est défini comme étant l'association des gliadines et des gluténines. Il contient également des lipides (3,5 - 6,8) %, des minéraux (0,5 - 0,9) %, et des hydrates de carbone (7 - 16)% (SONG et ZHENG, 2007).

#### 1.3.2.1. Gliadines

Les gliadines sont des protéines monomériques associées par des liaisons hydrogènes et des interactions hydrophobes. Elles présentent un poids moléculaire compris entre 60 et 80 kDa (FEILLET, 2000 ; SONG et ZHENG, 2007). Elles se subdivisent en  $\alpha$ -,  $\gamma$ - et  $\omega$ -gliadine (LAGRAIN *et al.*, 2008). Les  $\alpha$ - et les  $\gamma$ -gliadines renferment, respectivement, 6 et 8 résidus cystéines qui s'impliquent dans 3 et 4 liaisons disulfures intramoléculaires. Néanmoins, les  $\omega$ -gliadines sont y dépourvues (LAGRAIN *et al.*, 2008). Elles sont donc incapables de participer à l'établissement du réseau protéique par la formation des liaisons covalentes de types S-S (WANG *et al.*, 2008).

La structure primaire de la gliadine consiste en un domaine N-terminal court, un domaine central répétitif contenant principalement de la glutamine, de la proline et des acides aminés hydrophobes et un domaine C-terminal non répétitif, qui contient la plupart des résidus cystéine, s'ils sont présents (DELCOUR *et al.*, 2012). La structure secondaire des gliadines se compose principalement de coudes- $\beta$  dans le domaine N-terminal et de structures en hélice- $\alpha$  et feuillet- $\beta$  dans le domaine C-terminal (WIESER, 2007).

#### 1.3.2.2. Gluténines

Les polymères de gluténines sont constitués de sous-unités de haut poids moléculaire (60 à 120) kDa et de faible poids moléculaire (12 à 60) kDa. Ces sous unités sont liées entre elles par des liaisons S-S (BRUNEEL *et al.*, 2011). Les gluténines contiennent, non seulement, ces liaisons S-S intermoléculaires mais aussi des liaisons S-S intramoléculaires (GIANIBELLI *et al.*, 2001; DELCOUR *et al.*, 2012). En plus de ces

liens covalents, des liaisons hydrogènes non covalentes et des interactions hydrophobes sont aussi mises en œuvre pour assurer cet assemblage (FEILLET, 2000).

Les sous unités gluténines montrent une structure primaire se caractérise par des domaines N- et C-terminaux hydrophobes non répétitifs contiennent la plus part des résidus cystéine. Ces domaines terminaux N et C englobent un domaine central répétitif hydrophile riche en résidus glutamine (GIANIBELLI *et al.*, 2001 ; VERAVERBEKE et DELCOUR, 2002). La structure secondaire des sous unités gluténines de haut poids moléculaire montre une prédominance de conformations a périodiques et hélice- $\alpha$  au niveaux des extrémités N et C-terminales (LI *et al.*, 2006). Tandis que le domaine central se caractérise par une structure  $\beta$ -spirale (BOCK et SEETHARAMAN, 2012). La conformation secondaire des sous unités gluténines de faible poids moléculaire reste mal connue. D'OVIDIO *et al.* (2004), proposent que de domaine N-terminal contient principalement des  $\beta$ -spires alors que les hélices- $\alpha$  sont prédominants dans le domaine C-terminal.

### 1.3.2. 3. Fonctionnalités des protéines de gluten en panification

Les propriétés viscoélastiques du gluten affectent significativement le comportement rhéologique de la pâte de blé tendre. Durant le développement de la pâte et au cours de pétrissage, les protéines de gluten forment un réseau viscoélastique tridimensionnel continu renferme les granules de l'amidon qui se comportent comme charge. La structure tridimensionnelle de la matrice de gluten est stabilisée par des liaisons disulfures covalentes, hydrogènes et ioniques non covalentes et des interactions hydrophobes (BARAK *et al.*, 2014).

Lors de la formation de la pâte, les gliadines agissent comme un «plastifiant» favorisant l'écoulement visqueux et l'extensibilité qui sont considérées comme des caractéristiques rhéologiques importantes de la pâte (BARAK *et al.*, 2014).

UTHAYAKUMARAN *et al.* (2001) ont étudié les effets des fractions de gliadines sur les propriétés fonctionnelles de la pâte de blé en fonction de leur taille moléculaire et de l'hydrophobicité. Les résultats obtenus démontrent que l'ajout de toutes les fractions de gliadines a entraîné une diminution du temps de pétrissage, de la résistance maximale à l'extension et de volume de pain avec une augmentation de la résistance à la rupture et de l'extensibilité. Les différentes fractions de gliadines affectent différemment les propriétés

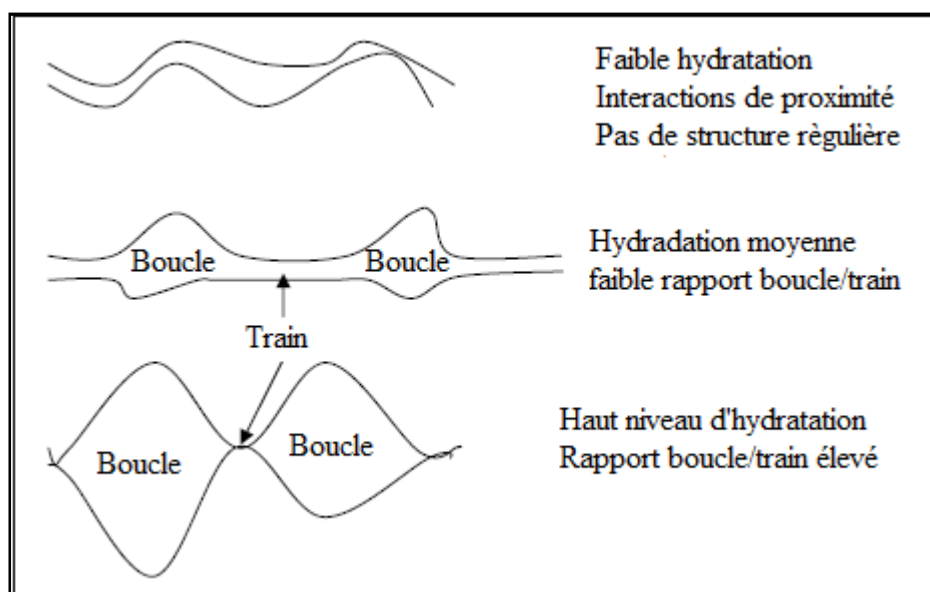
fonctionnelles de la pâte. Les  $\gamma$ -gliadines réduisent le temps de pétrissage et la résistance maximale à l'extension, les  $\omega$ -gliadines contribuent à la réduction du volume du pain, tandis que les  $\alpha$ - et  $\beta$ -gliadines pour lesquelles on note le moins d'effet. Ces auteurs estiment que l'effet des fractions de gliadines sur le volume du pain est corrélé avec la masse moléculaire alors que leur effet sur le temps de pétrissage, la résistance maximale à l'extension et l'extensibilité est corrélé avec l'hydrophobicité.

L'influence des gliadines et de leurs sous-groupes sur la qualité du pain est discutable depuis de nombreuses années. Le type et la quantité des protéines de gluten sont importants pour déterminer les propriétés de panification de la farine de blé (GOMEZ *et al.*, 2013). KHATKAR *et al.* (2002a) démontrent que l'ajout de gliadines ou leurs sous groupes à la pâte améliore sa performance de la panification qui se traduisait par l'augmentation du volume du pain. Parmi les quatre sous groupes de gliadines, les  $\omega$ -gliadines montrent l'effet le plus faible cela était expliqué par l'incapacité de cette fraction à mettre en place des liaisons covalentes de type S-S avec les gluténines et ne participeraient à la structuration du réseau du gluten que par des interactions non covalentes. Ceci rend cette fraction moins efficace pour influencer les propriétés viscoélastiques et la qualité de la panification (TATHAM et SHEWRY, 1995).

Les propriétés d'élasticité (résistance) de la pâte sont attribuées aux polymères gluténines. La grande taille de ces dernières assure la continuité du système de la pâte, une condition préalable à l'élasticité (SIVAM *et al.*, 2010). L'élasticité de la gluténine dépend, probablement, de l'étirement réversible d'une conformation de gluténine pliée énergétiquement d'une manière plus favorable. Les détails au niveau moléculaire sont cependant largement inconnus. GOESAERT *et al.* (2005) ont suggéré que l'élasticité de la gluténine est favorisée par des interactions non covalentes, principalement des liaisons hydrogènes, entre et au sein des chaînes de gluténines individuelles.

Un équilibre adéquat de la viscosité et de l'élasticité (résistance) est requis pour une panification de qualité. Le gluten insuffisamment élastique conduit à un faible volume de pain. Une élasticité accrue conduit à un volume de pain plus élevé, tandis qu'un gluten trop élastique empêche l'expansion des cellules à gaz conduisant à nouveau à un volume de pain plus faible (HOSENEY, 1994). Ceci montre l'importance de l'équilibre de la ration gliadines/gluténines qui confère à la pâte son caractère viscoélastique adéquat (PENA *et al.*, 2006).

Le comportement viscoélastique caractérisant les protéines de gluten est conditionné par le type de structures secondaires impliquées dans le développement de ce réseau protéique avec ses propriétés uniques. Afin d'expliquer ce comportement rhéologique, plusieurs modèles sont proposés pour décrire la structure de ce réseau protéique (BOCK et SEETHARAMAN, 2012). Le modèle le plus accepté est celui proposé par BELTON (1999) nommé "modèle de train en boucle" (Figure 04). Il s'agit ici de sous unités gluténines de haut poids moléculaires qui s'allongent en longues chaînes formant à la fois des zones dominées par des interactions polymères-polymères (Trains) et des zones dominées par des interactions polymères-solvant (Boucles) (OOMS et DELCOUR, 2019). Ces interactions sont des liens hydrogènes pour les deux cas. Ce même auteur associe les trains avec la formation des feuillets- $\beta$  et les boucles avec la formation des coudes- $\beta$  hydratés. SIVAM *et al.* (2010) apportent que l'augmentation de la résistance à l'extension est le résultat de la formation en faveur des régions en trains riche en structure type feuillet- $\beta$ .



**Figure 04.** Modèle expliquant l'effet de l'hydratation sur le rapport boucle / train de gluten (BELTON, 1999).

Ce modèle est mis en place dans le but d'expliquer le comportement du réseau de gluten au cours de son hydratation (SIVAM *et al.*, 2010) (Figure 04). A un faible niveau d'hydratation, la plupart des interactions protéine-protéine se produisent via des liaisons hydrogènes inter-chaînes entre les résidus de glutamine dans les structures coudes- $\beta$  (BELTON *et al.*, 1995; SHEWRY *et al.*, 2001). En augmentant le niveau de l'hydratation,



la plastification de système favorise la formation d'une structure riche en liens hydrogènes entre les chaînes protéiques permettant l'orientation des coudes- $\beta$  en feuillets- $\beta$  dites interchaînes (SHEWRY *et al.* 2001). Un ajout supplémentaire d'eau entraîne la formation des liaisons hydrogènes « eau-glutamine » en réduisant le nombre des interactions protéines-protéines. Ceci conduit à la formation des boucles libres (WELLNER *et al.*, 2005). BELTON (1999) suggère que l'augmentation accrue de l'hydratation conduit à la diminution des trains tout en favorisant la formation des boucles.

## 2. Ingrédients exemptes du gluten

Les farines issues des céréales sans gluten sont jugées inutilisables pour la fabrication des produits levés cuits en raison du manque de la viscoélasticité de leurs protéines de stockage qui est ce n'est pas le cas pour le gluten de blé. Ce dernier est capable de former un réseau viscoélastique retenant le CO<sub>2</sub> en donnant des produits de boulangerie aérés et légers (SHEWRY et HARLFORD, 2002). L'utilisation des farines exemptes du gluten pour la fabrication des produits levés reste le seul traitement pour les malades ayant des intolérances vis-à-vis des protéines du gluten.

Afin de répondre aux demandes du marché sans gluten et aux exigences des malades, nombreuses variétés de formulations sans gluten ont été développées en utilisant des farines de maïs, de riz, de sarrasin et de sorgho et des amidons de maïs, de la pomme de terre, de manioc, de riz ou de blé comme base et des protéines et des hydrocolloïdes comme agents de liaison (NEUMANN et BRUEMMER, 1997 ; CAPRILES et ARÊAS, 2014). Dans le but de présenter des aliments de bonne qualité nutritionnelle aux malades et de garder l'équilibre de l'apport en acides aminés essentiels, l'approche de la supplémentation céréales-légumes secs (pois chiche, fève) à été développée (BENATALLAH *et al.*, 2012).

### 2.1. Riz

Le riz (*Oryza sativa*) est considéré comme la céréale la plus consommée dans le monde (GUIMARÃS, 2009). La farine de riz a de nombreux attributs uniques tels que le goût neutre, la couleur blanche, la facilité de digestion et les propriétés hypoallergéniques. De faibles niveaux de protéines et de sodium, l'absence de gliadine et la présence de glucides facilement digérés font de la farine de riz un aliment idéal pour les patients souffrant de la maladie cœliaque. Cependant, malgré ces nombreux avantages, le manque de protéines de gluten rend très difficile l'obtention d'un produit levé acceptable tel que le

pain en raison de l'absence d'un réseau adéquat nécessaire pour retenir le dioxyde de carbone produit lors de la fermentation (GUJRAL *et al.*, 2003; ALVAREZ-JUBETE *et al.*, 2010 ; KAWAMURA-KONISHI *et al.*, 2013).

Comme toute sorte de céréales, la farine de riz se compose principalement de glucides dont les 80% représentent l'amidon. Ce dernier se caractérise par une meilleure digestibilité comparativement à celui du blé (HO et YIP, 2001 ; ROSELL et MARCO, 2008). L'amidon de riz est considéré comme non allergène en raison de la présence de protéines hypoallergéniques. Il détermine les propriétés physiques et la fonctionnalité des grains de riz qui dépendent fortement du rapport amylose / amylopectine (ROSELL et MARCO, 2008).

Les protéines constituent le second composant de la farine de riz, après l'amidon, avec une teneur comprise entre 6,3 et 7,1%. Celle-ci représente la teneur la plus faible comparativement aux autres céréales (FAVIER *et al.*, 1995). L'extraction séquentielle de ces derniers montre que la fraction protéique de la farine de riz se compose de 9% de prolamines (solubles dans l'alcool), 7% d'albumine (soluble dans l'eau) et de globuline (soluble dans les solutions salées) et de 84% de glutéline (solubles dans les alcalis) (HUEBNER *et al.* 1991). Malgré que cette classification est proche à celle du blé, les protéines de riz sont dépourvues de la capacité de la formation d'un réseau viscoélastique semblable à celui formé par les protéines de blé (KAWAMURA-KONISHI *et al.*, 2013).

En plus de l'amidon et les protéines, la farine de riz contient également des lipides avec de faibles proportions. Les lipides du riz sont classés comme lipides amylicés et non amylicés. La majorité des lipides sont non amylicés (ROSELL et MARCO, 2008).

Les protéines de riz ont des propriétés fonctionnelles relativement médiocres pour la transformation en aliments notamment dans le cas de la panification. En raison de leur nature hydrophobe, les protéines de riz sont insolubles et incapables de former une pâte viscoélastique nécessaire pour retenir le dioxyde de carbone produit lors de la fermentation. La faible teneur en prolamines dans les farines de riz se traduit par l'absence de la formation d'un réseau protéique lorsque la farine de riz est pétrie avec de l'eau. En conséquence, le dioxyde de carbone produit lors de la fermentation ne peut pas être retenu conduisant alors à un produit de faible volume spécifique et d'une mie très compacte (ROSELL et MARCO, 2008).

## 2.2. Maïs

Le maïs (*Zea Mays L.*) est une céréale majeure cultivée dans le monde. Elle se classe au deuxième rang derrière le blé dans la zone de production totale et au deuxième rang derrière le riz en quantité totale produite (SCHOBER et BEAN, 2008). Les limites de l'utilisation de la farine de maïs conventionnelle pour la production de pain sont en partie dues à sa couleur jaune et à sa saveur distinctive. Cependant, BRITES *et al.* (2010) ont appliqué avec succès la technologie de fabrication du pain *Broa* (pain ethnique portugais) pour la production de pain de maïs sans gluten. En utilisant différentes souches de bactéries lactiques, SANNI *et al.* (1998) ont produit un pain de maïs aigre de qualité variable. Ces auteurs ont signalé une mie dure mais une durée de conservation allant jusqu'à 6 jours. Les qualités organoleptiques se situaient dans les limites acceptables attendues pour un pain au levain.

Comme pour toutes les céréales, l'amidon est le principal composant de la mouture du grain de maïs suivi par les protéines. La classe de protéines dominante correspond aux prolamines qui sont appelées zéïnes (SCHOBER et BEAN, 2008). Biologiquement, la zéïne est un mélange de protéines variant en taille moléculaire et en solubilité. Ces protéines peuvent être séparées par leur solubilité différentielle et leurs structures apparentées en quatre types distincts:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  (COLEMAN et LARKINS, 1999). L' $\alpha$ -Zeïn est la protéine de stockage la plus abondante de maïs représentant jusqu'à 70% de la teneur en protéines totales (THOMPSON et LARKINS, 1989). Elle contient de grandes quantités de résidus hydrophobes tels que la leucine, la proline, l'alanine et la phénylalanine, ce qui expliquerait les propriétés hydrophobes importantes de ce genre de protéines (GIANAZZA *et al.*, 1977). Lorsqu'elle est dissoute dans de l'alcool aqueux, la protéine est connue pour être riche en structure de type hélice- $\alpha$  (50–60%) avec des configurations en coudes ou en spires aléatoires (ARGOS *et al.*, 1982).

## 2.3. Fève

La fève (*Vicia faba L.*) est une légumineuse appartenant à la famille des *Papilionacées*. Elle appartient à la variété *minor* dite aussi *equina*. Le moyen Orient (surtout l'Égypte) et le Maghreb en sont de gros consommateurs (BOYDELDIEU, 1991). L'utilisation de la fève dans les formules sans gluten ne repose pas uniquement sur la

complémentation nutritionnelle mais aussi sur l'amélioration de leurs caractéristiques technologiques et sensorielles (WITCZAK *et al.*, 2010).

Selon l' FAO (1982), la farine de la fêverole se compose de 27 à 31% de protéines, 2% des lipides, 48,9 à 52% de glucides totaux, 4 à 5% de minéraux et 10% de fibres. Par rapport aux céréales, la fêverole se caractérise par une quantité en protéines plus importante de qualité différente que celle des céréales d'où son rôle dans la complémentation nutritionnelle.

# *Chapitre 02*

*Aptitudes technologiques des pâtes  
panifiables avec et sans gluten : approche  
comparative*

## Chapitre 02. Aptitudes technologiques des pâtes panifiables avec et sans gluten : Approche comparative

Le gluten est le nom scientifique des protéines activatrices de la maladie cœliaque dans le blé. En panification sans gluten, les faibles aptitudes technologiques que montrent les protéines autres que celles du gluten conduit à l'obtention de produits finis de qualité médiocre sur le plan technologique et nutritionnel ainsi qu'une faible acceptabilité par la communauté désignée (MARCO et ROSELL, 2008).

### 1. Développement de la pâte à panifier au cours du processus de panification

La panification est un processus complexe qui comporte le pétrissage, la fermentation, la cuisson et le refroidissement. Au cours de ces étapes l'évaporation de l'eau, l'expansion du volume, la désactivation des enzymes et des levures, la gélatinisation de l'amidon, la coagulation des protéines et la formation de la mie et de la croûte se produisent (SIVAM *et al.*, 2010).

L'étape de pétrissage transforme le mélange de la farine, de l'eau et des autres ingrédients (sel, sucre, levure boulangère) en une pâte homogène. Pendant que la pâte est pétrie, l'énergie mécanique induit des changements conformationnels dans les protéines de blé hydratées, par la rupture et la formation de liaisons covalentes (-S-S-) et non covalentes (hydrophobes et hydrogènes). Des bulles d'air sont incorporées dans la pâte pour fournir des noyaux gazeux au dioxyde de carbone généré par la fermentation (CAUVAIN et YOUNG, 1999; SLUIMER, 2005; SIVAM *et al.*, 2010).

La fermentation consiste en la conversion du glucose ou d'autres sucres en éthanol et en dioxyde de carbone. Ce dernier diffuse vers les noyaux de gaz et les fait développer, entraînant alors la dilatation de la pâte. Les caractéristiques viscoélastiques de la pâte de blé empêchent la sortie du gaz carbonique à l'extérieur de la matrice. Les cellules gazeuses formées sont alors régulières et stables (SLUIMER 2005).

L'étape de cuisson implique un transfert de chaleur et de masse entraînant la transformation de la pâte en pain. Initialement, le centre de pain commence à se réchauffer et gagne un temps supplémentaire de fermentation, ce qui favorise la production du gaz et l'expansion du pain. L'activité des levures diminue au fur et à mesure que la pâte se réchauffe. Elle s'arrête lorsque la température atteint environ 55 °C. A ce moment là, La stabilité

structurale est maintenue suite à la dilatation des gaz piégés qui entraînent une pression positive à l'intérieur des cellules de gaz. À environ 60 °C, la gélatinisation de l'amidon de blé commence et se poursuit parallèlement avec la coagulation des protéines. Cette dernière, permet la libération des molécules d'eau nécessaire pour le gonflement des granules de l'amidon. Le gluten subit alors une dénaturation et une polymérisation. À mesure que la température augmente, le pain subit une progression complexe de changements physiques, chimiques et biochimiques qui se produisent simultanément entraînant la transformation de la structure mousseuse de la pâte en une structure spongieuse de la mie (CAUVAIN et YOUNG, 1999; SLUIMER, 2005; SIVAM *et al.*, 2010).

La couche externe de la pâte sèche se transforme en croûte. La couleur de celle-ci est le produit des réactions de Maillard et de caramélisation. Le brunissement se produit lorsque la température de la cuisson est supérieure à 110 °C. Les réactions de Maillard contribuent également à la saveur du pain et à l'arôme de cuisson (CAUVAIN et YOUNG 1999; SIVAM *et al.*, 2010).

## 2. Panification sans gluten

Le pain à base de blé tendre présente une structure spongieuse formée par une phase continue d'amidon gélatinisé enfermée dans un réseau continu de gluten coagulé (CAUVAIN et YOUNG, 1999; SLUIMER, 2005). L'absence de cet élément rend la production de pain sans gluten un défi technologique en raison de l'incapacité des farines sans gluten à former une pâte viscoélastique semblable à celle du blé tendre (CAPRILES et ARÊAS, 2014).

Les farines sans gluten nécessitent des quantités d'eau plus élevées que la farine de blé tendre pour former une mie acceptable. A cause de sa faible viscoélasticité, la pâte sans gluten est difficile à manipuler ressemble à la pâte à gâteau (MOORE *et al.*, 2004; ONYANGO *et al.*, 2009a; HAGER *et al.*, 2012). Les gaz issues de l'opération de la fermentation s'échappent trop tôt et ceux qui sont retenus forment des cellules irrégulières et instables (ONYANGO *et al.*, 2009b). Le pain est ensuite cuit dans un moule à parois définies pour contrôler sa forme et son apparence (ONYANGO *et al.*, 2011a).

Le résultat de la cuisson des pâtes sans gluten est un pain contenant de nombreux défauts de qualité y compris un volume réduit, un manque de structure cellulaire, une texture sèche, friable et granuleuse, une croûte craquelée, une sensation en bouche et une saveur médiocres et un rassissement rapide. Il est difficile pour les consommateurs de trouver un pain

sans gluten qui a une apparence, une texture, une saveur et des propriétés de sensation en bouche souhaitables (PSZCZOLA, 2012).

Au cours de ces dernières années, un intérêt croissant a été soulevé pour les pains sans gluten impliquant principalement d'incorporation d'amidons, de protéines laitières et d'hydrocolloïdes dans une base de farine sans gluten (riz et maïs) dans le but d'imiter les propriétés viscoélastiques du gluten et d'améliorer la structure, la sensation en bouche, l'acceptabilité et la durée de conservation de ces produits (LAZARIDOU *et al.*, 2007).

### **3. Aptitudes technologiques des pâtes à panifier**

#### **3.1. Rhéologie de la pâte**

Selon DOBRASZCZYK *et al.* (2003) et BELTON (2005), pour déterminer le comportement rhéologique de la pâte, cette dernière doit subir, pendant un temps fixe, une certaine déformation. La valeur mesurée de celle-ci exprime les paramètres rhéologiques de la pâte à savoir la rigidité (dureté, fermeté), la viscosité, la ténacité, l'élasticité et l'extensibilité.

Plusieurs techniques rhéologiques, y compris les mesures d'oscillation, de relaxation des contraintes, de fluage et de récupération par fluage ont été utilisées dans de nombreuses études pour estimer les propriétés mécaniques fondamentales de gluten et des pâtes de blé (EDWARDS *et al.*, 2001; EDWARDS *et al.*, 2003). Ces techniques ont aussi été utilisées pour établir des relations entre ces propriétés et les attributs de qualité du produit fini.

Parmi les farines de céréales, celle de blé est la seule qui possède une bonne aptitude à former une pâte avec un réseau viscoélastique tridimensionnel lorsqu'elle est pétrie avec l'eau. Selon UPADHYAY *et al.* (2011), la pâte associe les propriétés élastiques d'un solide et visqueuses d'un liquide en raison d'une structure interne très particulière où les chaînes protéiques de la pâte se comportent comme des ressorts et confèrent à celle-ci ses propriétés viscoélastiques. Ces caractéristiques rhéologiques traduisent l'évolution structurelle de la pâte au cours des différents stades de sa préparation. Elles sont considérées comme des indicateurs de la qualité de la pâte et par conséquent du produit fini. D'autre part, elles renseignent sur la performance des différents stades du processus de la panification.

La pâte panifiable doit être suffisamment visqueuse pour empêcher l'ascension vers le haut des petites bulles à l'arrêt du pétrissage (stabilité de la pâte) et assez extensible sur un



large domaine de temps pour qu'il y ait déformation sans rupture (extensibilité de la pâte) (BLOKSMA, 1990a). Cette propriété d'extensibilité correspond à la capacité de la pâte, entourant les bulles gazeuses, à s'étirer sans rupture durant les étapes postérieures au pétrissage. Cette conclusion est montrée par les résultats de l'étude de KHATKAR et SCHOFIELD (2002a), qui indiquent une proportionnalité ( $r=0,73$ ) entre le volume du pain et l'élasticité du gluten et de la pâte.

La viscosité élevée de la pâte en fin de pétrissage retarde les phénomènes de coalescence et d'agrégation des bulles gazeuses (VAN VLIET *et al.*, 1992). La faible extensibilité entraîne des ruptures précoces des membranes des cellules provoquant une diminution de la rétention gazeuse (GAN *et al.*, 1990). Cette propriété d'extensibilité est étroitement liée à l'étape de la fermentation. Un rapport optimal de la viscosité et de l'élasticité de la pâte est nécessaire pour une panification de qualité. Une pâte insuffisamment élastique ainsi qu'une pâte trop rigide conduisent à un faible volume de pain, car elle ne peut pas retenir efficacement le dioxyde de carbone produit ou entraver l'expansion des cellules à gaz, respectivement (KASARDA, 1989).

### 3.2. Termes d'évaluation du comportement rhéologique

Il existe plusieurs façons d'évaluer le comportement rhéologique d'une pâte boulangère, où le module élastique ( $G'$ ), le module visqueux ( $G''$ ), et l'angle de perte  $\tan \delta$  ( $G''/G'$ ) étant les termes couramment utilisés. Le  $G'$  et le  $G''$  du gluten présentent des corrélations significatives avec le volume du pain alors que la valeur de l'angle de perte est plus utile pour comprendre le comportement de ce matériau (STEFFE, 1992). Si un matériau est élastique idéal, la contrainte et la déformation est en phase et  $\delta = 0$ . Par conséquent,  $G''$  est également nul car il n'y a pas d'énergie de dissipation visqueuse (BELTON, 2005).

La valeur élevée de  $\tan \delta$  des pâtes fabriquées à partir d'une farine de mauvaise qualité pourrait être le résultat d'enchevêtrements faibles ou d'enchevêtrements facilement dissociables en raison de l'interaction hydrophile entre les protéines de gluten (MILLER et HOSENEY, 1999).

ATTENBURROW *et al.* (1990) ont apporté que la valeur  $G'$  du gluten varie de 2000 à 8000 Pa, selon la température utilisée. Le  $G'$  a augmenté à des températures plus élevées (par exemple  $> 60$  °C), probablement en raison de la gélatinisation de l'amidon résiduel (KIM et CORNILLON, 2001) et / ou de la formation de nouvelles réticulations via l'établissement de

liaisons disulfures (ATTENBURROW *et al.*, 1990). Par conséquent, le gluten riche en sous-unités gluténines de haut poids moléculaire présente un faible  $G'$  et  $G''$  (DOBRASZCZYK et SCHOFIELD, 2003). Le gluten riche en sous-unités gluténine de faible poids moléculaire est visqueux avant la cuisson, tandis que le traitement thermique peut le transformer complètement en un matériau élastique (SONG et ZHENG, 2007).

### **3.3. Aspect technologique du pain**

La qualité du pain dépend de la quantité et de la qualité des protéines, de son volume, de la qualité du grain de mie et de la texture. La mie est décrite comme un réseau de cellules gazeuses contenant des bulles de gaz initialement introduites dans la pâte lors de pétrissage. Le volume final du pain peut dépasser 70% de son volume initiale. La taille et la densité numérique des cellules à gaz varient, ce qui entraîne d'énormes différences dans la texture et les propriétés sensorielles du produit final (SCANLON et ZGHAL, 2001). L'évaluation de la structure alvéolaire de la mie est basée sur plusieurs critères tels que la taille et la forme des cellules et l'épaisseur de leur paroi cellulaire (HAYMAN *et al.*, 1998).

# **Chapitre 03**

## **Interactions biochimiques au sein de la pâte à panifier**

## Chapitre 03. Interactions biochimiques au sein de la pâte à panifier

Le comportement rhéologique de la pâte à panifier est en relation directe avec son évolution structurale au cours des différents stades de sa préparation. Cette architecture tridimensionnelle est formée par l'intermédiaire de liaisons covalentes et des interactions moléculaires non covalentes qui s'établissent d'une manière spécifique entre les constituants de la pâte. LEVAVASSEUR (2007) a également évoqué que l'organisation spatiale de la charpente de la pâte est considérée comme le résultat d'un équilibre entre les forces d'attractions et de répulsions non covalentes ainsi que des liens covalents.

### 1. Nature chimique des interactions moléculaires impliquées dans le mécanisme de la formation d'une pâte à panifier

D'après HOSENEY (1994) et BUSHUK (1998), le développement et la fonctionnalité de la pâte dépend non seulement de la structure spéciale de la protéine de gluten, mais aussi de l'aptitude de ce genre de protéines à mettre en place des liens au sein de leurs composantes. D'après ces auteurs, Les protéines contiennent des liaisons covalentes et non covalentes contribuant à la formation et à la structuration de la pâte. Les liaisons non covalentes comprennent les liaisons hydrogènes, les interactions hydrophobes et les liaisons ioniques alors que les liens covalents renferment les ponts disulfures (HOSENEY, 1994).

#### 1.1. Liaisons covalentes de type S-S

Une liaison est dite covalente entre deux molécules, si chacune met en commun un électron pour assurer son équilibre électronique (MONTEL *et al.*, 1979). Les ponts disulfures sont formés dans la pâte par l'oxydation des groupements SH libres sous l'action des enzymes endogènes de la farine ainsi que de ses agents oxydatifs (glutathion, radicaux libres de lipides) (TILLEY *et al.*, 2001 ; WIESER, 2007). Ce type de liaisons se trouve fréquemment dans les structures plus développées des protéines de différentes natures (STRYER *et al.*, 2003).

#### 1.2. Interactions électrostatiques

Les forces d'attraction et de répulsion entre deux molécules ou un groupe de molécules sont qualifiées comme des interactions électrostatiques. Une interaction électrostatique dite d'attraction se produit entre les molécules de charges opposées. Néanmoins, les molécules possédant des charge similaires ont une tendance à créer des

interactions électrostatiques dites de répulsion (MONTEL *et al.*, 1979). Cette catégorie englobe les liaisons ioniques et hydrogènes. Ces dernières nécessitent pour leur établissement la présence des cations  $H^+$  (CREIGHTON, 1993).

### 1.2.1. Interactions ioniques

Les interactions ioniques s'établissent entre les molécules portant des charges électriques, elles sont régies par la loi de Coulomb. L'énergie potentielle d'interaction de deux charges électriques  $Q_1$  et  $Q_2$  séparées par une distance  $d$  est obtenue en calculant le travail nécessaire à la séparation de ces deux charges à une distance infinie (CHEVREUX, 2005).

Malgré que les interactions ioniques sont caractérisées par leur force, celles-ci ne permettant pas la stabilité des protéines. En effet, en milieu aqueux, les acides aminés chargés sont majoritairement exposés à la surface de la protéine et sont donc très solvatés. Ceci réduit considérablement l'interaction charge/charge (RATTÉ, 2013).

### 1.2.2. Interactions hydrogènes

Ces liens se produisent lorsqu'un atome d'hydrogène (H) lié à un atome de carbone (C), d'oxygène (O), ou d'azote (N) est attiré par un autre atome par le biais d'une interaction électrostatique (MONTEL *et al.*, 1979). Généralement, le dipôle contenant l'hydrogène qui possède une charge partielle positive interagit avec la charge négative de l'autre atome (CREIGHTON, 1993).

### 1.3. Interactions hydrophobes

L'effet hydrophobe est considéré comme une tendance spontanée des groupements non polaires à se regrouper pour minimiser leur contact avec l'eau dans une solution aqueuse (CREIGHTON, 1993; MEYER *et al.*, 2006).

## 2. Origine des interactions moléculaires dans les protéines de la farine de blé tendre

L'aptitude des protéines de gluten à former des interactions entre elles et avec les autres constituants de la farine est étroitement liée avec leur composition particulière en résidus d'acides aminés ainsi que le positionnement de ces derniers (FEILLET, 2000).

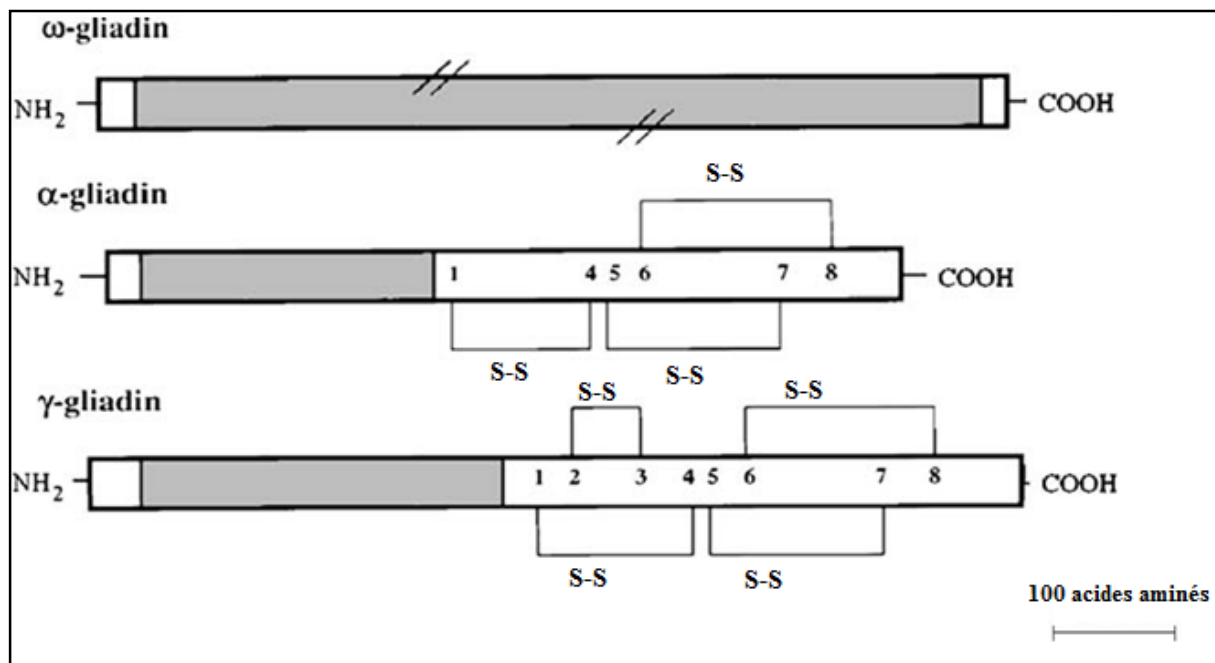


Figure 05. Schéma représentatif des ponts S-S dans les différentes classes des sous unités gliadines (d'après JOYE et *al.*, 2009).

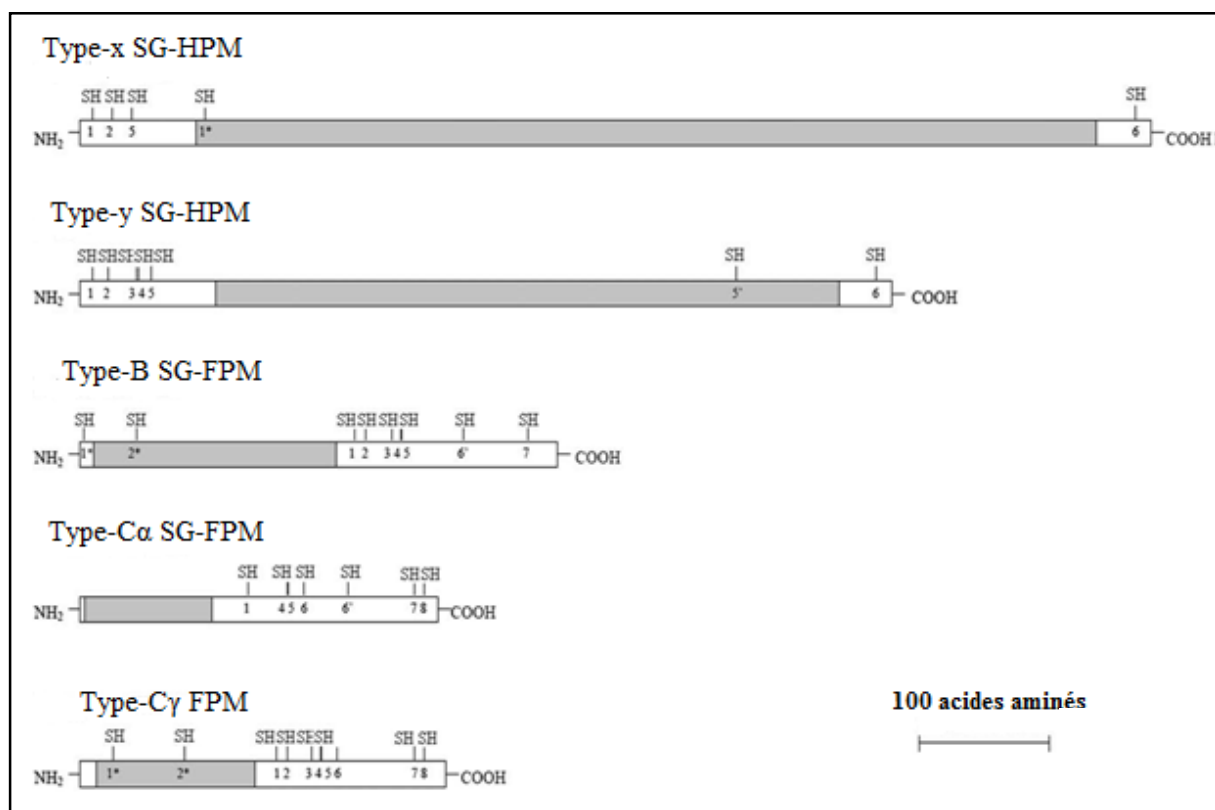


Figure 06. Schéma représentatif des groupements SH dans les différentes classes des sous unités gluténines (d'après JOYE et *al.*, 2009).

Les  $\alpha$  et  $\gamma$  gliadines renferment, respectivement, trois et quatre ponts disulfures grâce aux résidus cystéines (Figure 05). Ces derniers sont totalement engagés dans la formation de liaisons S-S, de ce fait, ces protéines ne sont capables de former que des ponts disulfures intramoléculaires. A cause de leur pauvreté en cystéine, les  $\omega$  gliadines sont incapables de participer à la formation de réseau de gluten par l'établissement des ponts disulfures (Figure 05) (LINDSAY *et al.*, 2000 ; WANG *et al.*, 2008). L'assemblage de ces protéines monomériques (gliadines) se fait principalement par des liaisons hydrogènes par rapport aux interactions hydrophobes (FEILLET, 2000).

La teneur élevée en résidus cystéines caractérisant les gluténines leur donnent une grande aptitude à s'associer principalement par des liaisons disulfures. Le positionnement de ces résidus donne aux gluténines la capacité de former des ponts disulfures intra et intermoléculaires, engendrant alors leur polymérisation (Figure 05) (LINDSAY *et al.*, 2000, SIVAM *et al.*, 2010). Les interactions hydrophobes assurent l'agrégation des gluténines grâce à la présence des résidus d'acides aminés non polaires (phénylalanine, valine, leucine, isoleucine et méthionine) (KOHLER *et al.*, 1993 ; ZHOU *et al.*, 2014).

Les gliadines peuvent interagir avec les polymères de gluténine via des interactions hydrophobes non covalentes et des liaisons hydrogènes par l'intermédiaire les résidus de glutamine (WELLNER *et al.*, 2003).

Un autre type de liaison covalente se forme lors de la panification, il s'agit de la réticulation tyrosine-tyrosine entre les protéines de gluten et de l'acide tyrosine-déshydro-férulique ou entre les protéines de gluten et les glucides non amyliques de la farine (les arabinoxylanes) (WIESER, 2007).

Bien que les liaisons hydrogènes soient individuellement faibles, elles créent une stabilité à la pâte lorsqu'un grand nombre de ce genre de liaisons est établi pendant le développement de celle-ci (OOMS, et DELCOUR, 2019). Les liaisons hydrophobes et ioniques, malgré qu'elles soient présentes en très petites quantités, jouent un rôle important dans les interactions entre les bio-polymères dans la pâte à pain qui favorisent par conséquent sa stabilité (SIVAM *et al.*, 2010).

Le Tableau 01 récapitule les natures des liaisons pouvant exister entre les protéines de la pâte ainsi que les différents agents responsable de leur rupture, selon FEILLET (2000).

**Tableau 01.** Nature des liaisons entre les protéines de la pâte (FEILLET, 2000).

Liaisons / Interactions	Nature	Exemples	Agents de rupture
Covalentes	Mise en commun d'électrons entre atomes liés	-Liaison peptidiques - Liaisons disulfures	-Protéases -Agents réducteurs
Ioniques	Attraction ou répulsion entre charges électriques opposées	Groupement acides et basiques chargés	Eau, pH acide, Force ionique élevée.
Hydrogènes	Attraction entre un atome hydrogène et un atome électronégatif	-Acide glutamique sous forme amidée. -Acide aminé non polaire.	Eau, Urée, Solvant Polaire, Elévation de la température.
hydrophobes	Agrégation des groupements non polaires	Alanine, Phénylalanine, Isoleucine, Valine.	-Solvant apolaire ; -Détergents ; -Baisse de température.

### 3. Evolution des caractéristiques rhéologiques en fonction des interactions moléculaires au cours de la formation de la pâte à panifier

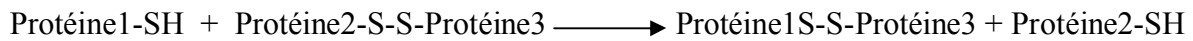
FEILLET (2000) apporte que la farine doit sa réactivité à la capacité des molécules qui la composent (protéines du gluten, pentosanes, lipides et à un moindre degré l'amidon) à former de nouvelles liaisons en présence de l'eau et à en rompre les anciennes.

Au cours de la formation de la pâte, l'hydratation et l'énergie mécanique induisent un changement de la configuration structurale des protéines de la farine favorisant, grâce à la fonctionnalité de ses acides aminés, la formation d'un réseau de gluten par l'établissement à la fois de liens chimiques covalents (S-S) et d'interactions non covalentes (interactions hydrophobes et hydrogènes) (AÏT KADDOUR *et al.*, 2007). Ces liaisons ont un rôle déterminant dans la structuration ainsi que dans le comportement rhéologique du réseau de gluten et par conséquent du devenir de la pâte (PERESSINI *et al.*, 2008).

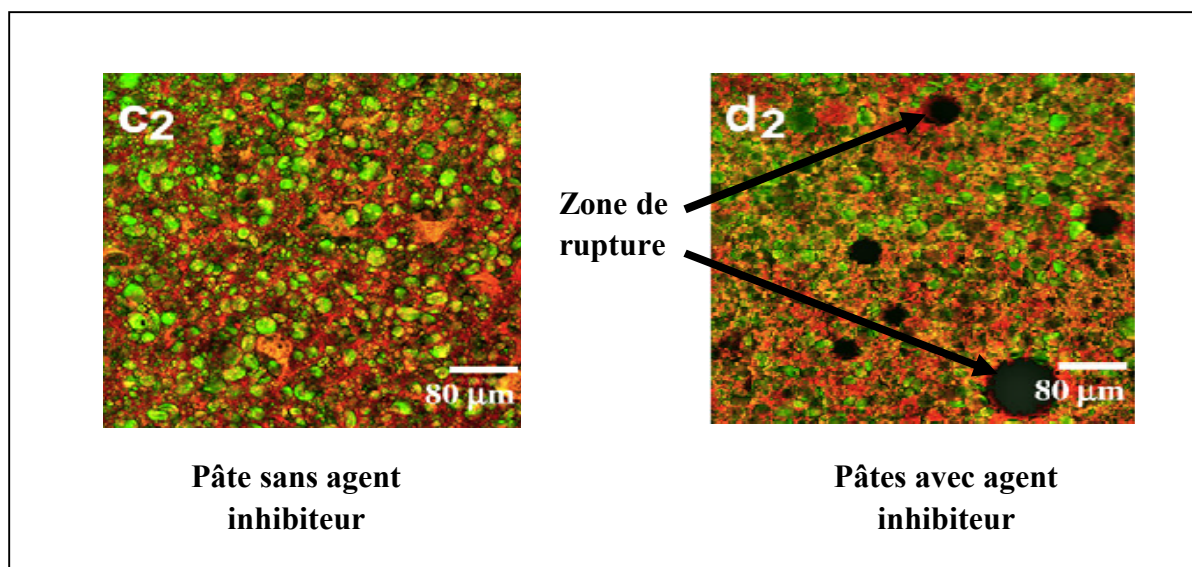
BLOKSMA et BUSHUK (1998) ont proposé que l'élasticité et le comportement visqueux du gluten traduisent l'effet rhéologique des liaisons disulfures. Cet effet est le résultat de la rupture et de la reformation des ponts disulfures à travers l'oxydation des



groupements SH libres et la réduction des ponts S-S préexistants dans les protéines natives de la farine selon la réaction suivante :



PERESSINI *et al.* (2008) montrent, par observation à travers la Microscopie Confocale à Balayage Laser, l'effet significatif des ponts disulfures dans le maintien et la continuité du réseau du gluten autour des granules de l'amidon. Afin d'acquies cet objectif, les auteurs ont additionné à la pâte un agent inhibiteur de la formation des liaisons S-S au cours de sa préparation. Ils ont remarqué une diminution du nombre des liaisons et la présence de zones de rupture au niveau du réseau de gluten (Figure 07).



**Figure 07.** Image prise à l'aide de la Microscopie Confocale à Balayage Laser montre l'effet des ponts S-S dans le maintien de l'homogénéité et la continuité du réseau de gluten au sein de la pâte (PERESSINI *et al.*, 2008).

Les interactions non covalentes comme les liens hydrogènes et les forces hydrophobes peuvent aussi jouer un effet significatif (POTUS *et al.*, 1992). Une preuve décrivant le rôle des liens hydrogènes a été apportée en remplaçant l'eau (H<sub>2</sub>O) de pétrissage par de l'eau lourde (D<sub>2</sub>O). La pâte devient alors plus ferme. Par contre, l'apport de l'urée, connue par sa capacité à rompre les liaisons hydrogènes, affaiblit la consistance de la pâte (FEILLET, 2000).

Dès que la farine est hydratée, les acides aminés hydrophobes, qui se trouvent dans la composition des protéines du gluten s'assemblent pour minimiser leur contact avec le milieu

hydrophile, provoquant alors leur agrégation via la mise en place des interactions hydrophobes. Ces dernières sont aussi impliquées dans la formation de liaisons entre les lipides et les protéines du gluten. La qualité de la pâte serait d'autant meilleure que les protéines forment davantage des liaisons hydrophobes (FEILLET, 2000).

MCCANN *et al.* (2009) montrent que les lipides libres se lient avec les gluténines et les gliadines via des liaisons hydrogènes et des interactions hydrophobes, et que ces interactions participent à la stabilisation de la structure alvéolaire durant le processus de la panification.

Le nombre de forces ioniques dans une pâte de blé est généralement considéré faible à cause de la faible proportion en acides aminés contenant des groupements ionisables (LINDSAY *et al.*, 2000).

#### **4. Méthodes d'étude des interactions moléculaires**

Une multitude de méthodes notamment physiques, existent pour l'étude des interactions moléculaires. Parmi celles-ci on trouve les méthodes spectroscopiques (Ultraviolet, Infrarouge et fluorescence), la microcalorimétrie, la résonance magnétique nucléaire (RMN), etc..... (CHEVREUX, 2005). En plus des méthodes physiques, des méthodes chimiques sont aussi mises en place pour l'appréciation des interactions moléculaires en utilisant d'agents chimiques dissociant (LEFEBVER-CASES *et al.*, 1998).

##### **4.1. Méthodes chimiques**

L'une de ces méthodes est basée sur la dissociation des interactions moléculaires par l'utilisation d'agents dissociant spécifiques pour la rupture de chaque type d'interaction. Cette idée n'a été pratiquement réalisée que dans le cas des gels laitiers par LEFEBVRE-CASES *et al.* (1998). En fonction des types d'interactions existantes dans la pâte, les agents dissociant les plus utilisés sont le SDS pour les interactions hydrophobes, le  $\beta$ -mercaptoéthanol pour les ponts disulfures, l'acide acétique pour les interactions ioniques et l'urée pour les interactions hydrogènes.

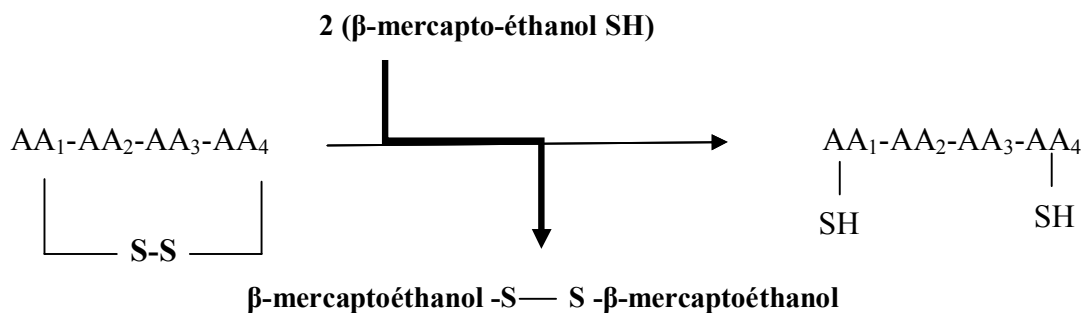
###### **4.1.1. Sodium Dodécyl-Sulfate (SDS)**

Il s'agit d'un détergent anionique qui provoque la rupture des interactions hydrophobes. Les molécules d'SDS sont principalement liées avec les groupements polaires

et non polaires des extrémités des protéines, induisant une répulsion électrostatique intramoléculaire et donc une rupture compétitive des interactions hydrophobes (STRYER et *al.*, 2003). Il est important de noter que la fixation des molécules d' SDS peut entraîner une élimination indirecte des liaisons hydrogènes (MARKUS et *al.*, 1957).

#### 4.1.2. $\beta$ -mercapto-éthanol

C'est un agent réducteur destiné à la rupture des liaisons covalentes type S-S. Son mécanisme d'action repose sur une réaction d'oxydoréduction, où la réduction d'une liaison S-S nécessite l'oxydation de deux molécules de  $\beta$ -mercapto-éthanol portant chacune un groupement SH libre. Comme illustre la réaction suivante :



#### 4.1.3. Acide acétique

C'est un acide organique faible dont la formule chimique est « $\text{CH}_3\text{-COO}^-$ ,  $\text{H}^+$  ». Il est utilisé comme un agent dissociant des interactions ioniques, où il contribue grâce à des anions  $\text{CH}_3\text{-COO}^-$  et à des cations  $\text{H}^+$  à la neutralisation des charges positives et négatives des groupements ionisables de la pâte.

#### 4.1.4. Urée

Grace à sa composition chimique, l'urée ( $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ ) représente une capacité particulière à établir des interactions hydrogènes fortes avec les polypeptides des protéines, provoquant alors la dissociation du milieu où elle agit par rupture des interactions hydrogènes (NOZAKI et *al.*, 1963).

## 4.2. Méthodes physiques

Des méthodes basant sur des principes physiques ont été utilisées pour l'approche des interactions moléculaires au cours de développement structurale des matrices alimentaires (MITO *et al.*, 2012). Les méthodes spectroscopiques tel que la spectroscopie infrarouge et celle de diffusion Raman sont considérées comme des outils précieux permettant d'évaluer les structures protéiques en donnant une information sur les mécanismes de la mise en place des liens moléculaires au sein des protéines ainsi que leur niveau de structuration à travers l'estimation de repliement et dépliement de celles-ci (ARRONDO *et al.*, 1993 ; SIEBERT , 1995 ; FABIAN ET MÄNTELE, 2002 ; BARTH, 2006).

La richesse des informations apportées par le spectre infrarouge ou Raman peut être exploitée même pour des systèmes biologiques plus grands que les protéines. Les pâtes panifiables, parmi ces systèmes biologiques, connaissent une vaste utilisation de ces techniques spectrales tout en appliquant les principes de l'étude des protéines (SIVAM *et al.*, 2013 ; NAWROCKA *et al.*, 2015 ; NAWROCKA *et al.*, 2016a ; NAWROCKA *et al.*, 2017). En plus des informations sur le type des structures secondaires des protéines que peut apporter par le spectre infrarouge (MEZIANI *et al.*, 2011 ; BOCK ET DAMODARAN, 2013), le spectre Raman permet d'apporter plus d'informations sur les structures secondaires et d'étudier les structures tertiaires à travers l'analyse de la conformation des ponts disulfures et des liens peptidiques de type tyrosine-tyrosine. L'environnement hydrophobe à l'intérieur de la charpente de la pâte est aussi approché suite à l'étude du mode d'emplacement des résidus tryptophanes (NAWROCKA *et al.*, 2015 ; NAWROCKA *et al.*, 2017).

**Etude**

**expérimentale**

**Démarche globale de la**  
**thèse**

## **Démarche globale de la thèse**

La présente thèse a pour objectif de situer à l'échelle structurale et moléculaire les réponses rhéologiques et technologiques des pâtes à panifier sans gluten par rapport à celles témoins de blé tendre à fin de connaître les interactions moléculaires mises en œuvre et de savoir les exploiter.

A fin d'atteindre cet objectif, la démarche globale de ce travail se subdivise en deux volets. Le premier vise la recherche de corrélations entre les aptitudes technologiques de pâtes à panifier avec et sans gluten et les interactions moléculaires mises en œuvre. Le deuxième concerne l'étude structurale des pâtes sans gluten en vue de mettre en relation leurs propriétés rhéologiques et le comportement biophysique de leurs constituants en présence et en absence d'interactions moléculaires. Dans ce travail nous n'étudierons que deux types d'interactions moléculaires en raison de manque d'agents dissociant spécifiques pour les autres types d'interactions permettant l'obtention d'un effet dissociant estimable. Il s'agira des ponts disulfures et des interactions hydrophobes.

Notre étude expérimentale englobe trois parties (Figure 09) :

La première partie vise la caractérisation physico-chimique des matières premières et l'évaluation du comportement rhéologique et des aptitudes technologiques des pâtes. L'analyse du comportement rhéologique s'est faite par la détermination des propriétés de pétrissage (absorption d'eau, temps de développement de la pâte), l'estimation du comportement viscoélastique (module élastique ( $G'$ ), module visqueux ( $G''$ ) et l'angle de perte ( $\tan \delta$ )) et l'analyse des propriétés de la viscosité (température de gélatinisation, viscosité initiale, viscosité maximale, viscosité finale, rétrogradation et creux). La qualité technologique a été déterminée par la mesure du volume spécifique des pains.

La deuxième partie a pour objectif d'approcher les interactions moléculaires installées au cours de développement de la pâte à panifier à travers la recherche des relations entre les aptitudes technologiques des pâtes à panifier sans gluten avec les interactions moléculaires entrant dans sa structuration. Deux sous-parties sont envisagées pour atteindre cet objectif. La première traite l'optimisation et la validation de la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires entant qu'une méthode prédictive et explicative des aptitudes technologiques des pâtes panifiables avec et sans gluten en fonctions des interactions moléculaires établies. L'approche de l'effet des ponts S-S et des interactions hydrophobes sur

le comportement rhéologique des pâtes sans gluten en comparaison avec celles témoins de blé tendre constitue le travail réalisé dans la seconde sous-partie. Cette dernière a également pour objectif de répondre à la question suivante « au moment de contact de la pâte avec l'agent dissociant est ce que la pâte qui développe plus d'interactions moléculaires donne plus de dissociation que celle qui contient moins d'interactions ? Et est ce que le contraire est vrai ? ». L'optimisation s'est faite à l'aide d'un plan d'expérience type Central Composite (CCD) à deux facteurs et cinq niveaux.

La troisième partie vise à rechercher de corrélations entre les propriétés rhéologiques des pâtes sans gluten, leurs aspects structuraux et les interactions moléculaires établies. Cette partie est à son tour subdivisée en deux sous-parties. Dans la première, les mécanismes structuraux de développement des matrices de pâtes sans gluten sont étudiés à travers la mise en place de corrélations entre le comportement rhéologique des pâtes et l'aspect biophysique de leurs polymères majeurs : protéines et amidon. La seconde partie permet d'approcher l'effet des liaisons S-S et des interactions hydrophobes sur l'évolution structurale de la matrice des pâtes sans gluten au cours de leur développement. Les techniques spectroscopiques FT-IR et FT-Raman sont utilisées pour l'investigation structurale. Les aspects biophysiques estimés englobent les caractéristiques structurales des protéines (structure secondaire, conformation des ponts S-S et des acides aminés aromatiques ; tyrosine et tryptophane) et les propriétés de la réorganisation des constituants de l'amidon.



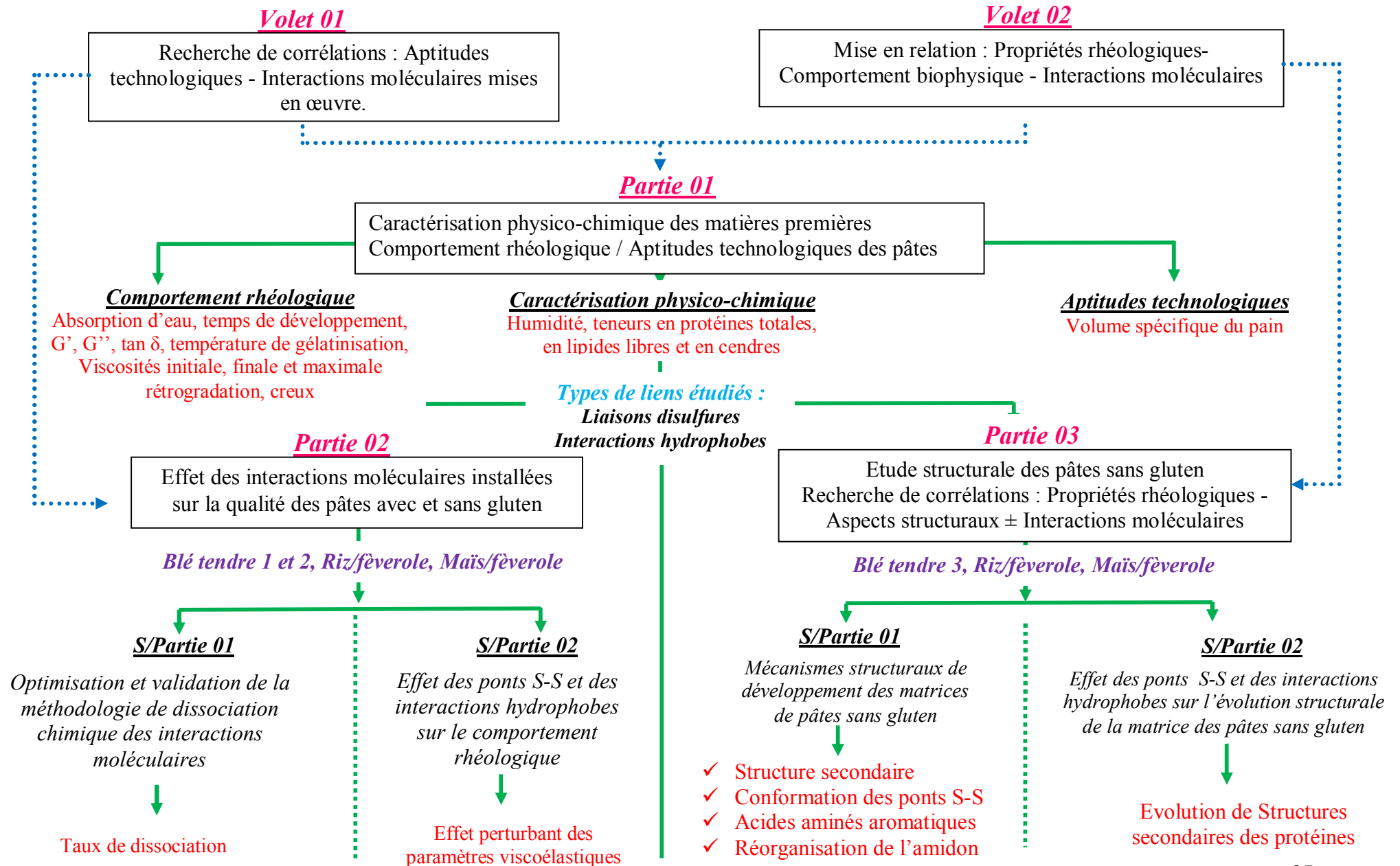


Figure 08. Schéma récapitulatif de la démarche globale de la thèse

# **Matériel et Méthodes**

## **Partie 01. Caractérisation physico-chimique des matières premières et évaluation des propriétés rhéologiques et des aptitudes technologiques des pâtes**

Notre étude vise situer à l'échelle structurale et moléculaire les réponses rhéologiques et technologiques des pâtes à panifier sans gluten par rapport à celles témoins de blé tendre à fin de connaître les interactions moléculaires impliquées et de savoir les exploiter.

Trois types de farines de blé tendre ont été utilisés.

Les farines de blé tendre type 1 (FBT1) et type 2 (FBT2) sont destinées à l'optimisation et à la validation de la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires et à l'estimation de l'effet des interactions moléculaires sur le comportement rhéologique des pâtes à panifier. Le choix des farines s'est fait selon les propriétés rhéologiques de leurs pâtes et les aptitudes technologiques de leurs pains. L'utilisation de deux types de farines à base de blé tendre réside dans le but de tester l'aptitude de la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires à faire discriminer entre les pâtes à panifier à base de blé tendre de différentes qualités, d'une part, et d'approcher les différences en comportement rhéologique de ces pâtes en fonction de la capacité de leurs constituants à mettre en place les différents types d'interactions moléculaires, de l'autre.

La farine de blé tendre type 3 (FBT3) a été utilisée comme témoin pour l'étude spectrale.

Deux types de formules sans gluten sont étudiées à savoir la Formule Riz-Fèverole (FRF) et Maïs-Fèverole (FMF) avec un rapport massique 2/3 céréales et 1/3 légumes secs. Ce choix repose sur les résultats d'études antérieures réalisées par l'Equipe de Transformation et Elaboration des Produits Alimentaires (T.E.P.A.) au niveau du Laboratoire de Nutrition et Technologie Alimentaire (L.N.T.A.).

Afin d'estimer l'effet de la substitution de 1/3 de la farine de riz et/ou de maïs par celle de la fèverole sur les aptitudes technologiques des formules sans gluten (FRF et FMF), les pâtes à base des farines de riz, de maïs et de fèverole ont aussi fait l'objectif de ce travail.

L'effet améliorant du traitement hydro-thermique de la farine riz et celle de maïs sur la qualité des pâtes sans gluten a aussi fait partie des objectifs de cette investigation. Ce choix repose sur l'effet améliorant de la qualité technologique apporté par ce traitement sur les matrices sans gluten (Riz-Fèverole (BOUREKOUA *et al.*, 2016) et Maïs-Fèverole

(BOUREKOUA *et al.*, 2016 ; DJEGHIM *et al.*, 2018). La disponibilité de cet agent améliorant est aussi l'une des raisons de notre choix.

## **1. Matières premières**

### **1.1. Farines de blé tendre**

La farine de blé tendre type 1 (FBT1) destinée à la panification, conditionnée dans des sacs de 25 kg, a été achetée au niveau d'une boulangerie locale de Mila-Algérie. La farine de blé tendre type 2 (FBT2) destinée à la biscuiterie a été achetée d'un marché local de Constantine-Algérie dans des sacs de 1 kg.

La farine de blé tendre type 3 (FBT3) de la marque MłynPiaski destinée à la panification a été achetée à partir d'un marché local de Lublin-Pologne dans des sacs de 1 kg.

### **1.2. Grains sans gluten**

#### **1.2.1. Riz**

Le riz (*Oryza sativa*) de la marque Indienne Basmati est acheté sous forme de grains dégermés blanc, long, conditionnés dans des sacs de 5 kg d'un marché local de Constantine-Algérie.

#### **1.2.2. Maïs**

Le maïs (*Zea mays L.*) produit par la société Alicampo- Argentine, stocké dans des sacs de 50 kg a été acheté du moulin El-chat-Constantine.

#### **1.2.3. Fèverole**

La fèverole (*Vicia faba L.*) décortiquée, dégermée et conditionnée dans des sacs de 25 kg a été achetée d'un marché local de Constantine. Elle est importée de l'Albehera-Egypte.

#### **1.2.4. Mouture des grains et obtention de farines sans gluten**

Les grains de maïs et les cotylédons de fèverole ont été triés manuellement à fin d'éliminer les grains endommagés et les déchets. Les grains exempts du gluten (riz, maïs, fèverole) sont alors broyés à l'aide d'un broyeur à meules de marque UMA Rouïba-Algérie de type MG E3. Le broyat des grains est tamisé manuellement à l'aide d'un tamis avec une ouverture de mailles de 200µm de diamètre. Le tamisage sert à l'obtention d'une farine avec

une granulométrie répondant aux exigences de la panification (diamètre < 212 $\mu$ m) (FEILLET, 2000). Les farines de riz, de maïs et de fève sont alors stockées dans des sacs en fibres synthétiques dans un endroit frais et sec.

### **1.3. Autres ingrédients**

#### **1.3.1. Eau d'hydratation**

L'eau utilisée dans ce travail est de l'eau distillée avec un pH de  $6,5\pm 0,3$  obtenue à partir d'un distillateur de marque SCOTSMAN.

#### **1.3.2. Levure boulangère**

Il s'agit de la levure boulangère *Saccharomyces cerevisiae* de la marque Saf-instant France, lyophilisée conditionnée en paquet de 500g.

#### **1.3.3. Sel**

Le sel utilisé dans notre travail est un sel fin de cuisine iodé, de la marque ENA sel.

## **2. Caractérisation physico-chimique des matières premières**

L'estimation de la composition chimique des matières premières occupe une place primordiale dans cette étude. En plus de la caractérisation du matériel sur lequel se fait notre recherche, la quantification des composants des farines pourrait être un critère affectant la qualité des pâtes et donc des pains. En effet les composants de la farine sont les éléments responsables de l'établissement des différents types d'interactions moléculaires durant le développement de la pâte boulangère, par conséquent, une différence entre les teneurs de ces composants pourrait influencer les interactions au sein de ces pâtes.

### **2.1. Teneur en eau**

L'humidité des farines constitue une composante intéressante du fait de son effet sur la conservation et la manipulation des farines durant la production des pâtes. Elle est utilisée également pour le calcul de la quantité des autres composants sur une base sèche.

### **a. Principe**

La détermination de la teneur en eau repose sur la mesure de la perte en poids après une dessiccation, selon la norme AFNOR NFV03-707(FEILLET, 2000).

### **b. Mode opératoire**

Une prise d'essai de  $5\pm 0,001\text{g}$  est séchée à  $130^\circ\text{C}$  dans une étuve isotherme de la marque MEMERET pendant 2 heures de temps comptées à partir du moment où la température de l'étuve est de nouveau de  $130\pm 3^\circ\text{C}$ . En opérant rapidement, les échantillons sont retirés de l'étuve et placés dans le dessiccateur à fin d'éviter leur humidification. Dès que ces échantillons sont refroidis à la température de laboratoire, sont ensuite pesés à 1 mg près. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

### **c. Expression des résultats**

La teneur en eau (H) est exprimée en g pour 100g de la matière humide selon l'équation suivante :

$$H = [(M_0 - M_1) / M_0] \times 100$$

Où :

**H** : teneur en eau ou taux d'humidité ;

**M<sub>0</sub>** : masse en g de la prise d'essai avant dessiccation ;

**M<sub>1</sub>** : masse en g de résidu après séchage.

## **2.2. Teneur en protéines totales**

La teneur en protéines totales est déterminée selon la norme AFNOR NFV 03-050 de septembre 1970 par la méthode KJELDHAL (AFNOR, 1991). Cette même norme donne le coefficient de conversion de l'azote en protéines totales de 6,25 pour les farines de blé tendre et de 5,7 pour les farines de riz et de fève.

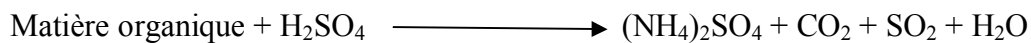
### **a. Principe**

Le principe consiste à minéraliser l'azote de la matière organique par l'acide sulfurique concentré à chaud en présence d'un catalyseur. L'azote minéralisé se trouve alors

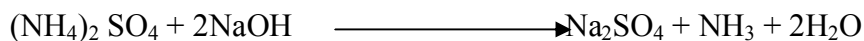
sous forme de sulfate d'ammonium qui sera déplacé de son sel par la lessive de la soude. L'ammoniac produit est titré par de l'acide sulfurique 0,01N en présence d'un indicateur coloré.

### b. Mode opératoire

La méthode de KJELDHAL comporte essentiellement trois étapes. De l'acide sulfurique (96%,  $d = 1,84$ ) concentré, oxyde et détruit la matière organique à chaud. L'azote organique se minéralise selon la réaction suivante (AUDIGIE et *al.*, 1984) :



Le sulfate d'ammonium (( $\text{NH}_4$ )<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) obtenu est alors déplacé de son sel par la lessive de la soude. Comme il est montré par la réaction ci-dessous :



L'ammoniac libéré est déplacé par les vapeurs d'eau de la distillation. Le distillat est récupéré dans un volume connu d'acide borique à 4%. Il se forme alors du borate d'ammonium. Ce dernier est titré par l'acide sulfurique 0,01 N en présence de l'indicateur coloré (rouge de méthyle) (LECOQ, 1965). Le titrage s'achève jusqu'au virage coloré de milieu du jaune vers le rose.

### c. Expression des résultats

La teneur en azote total (A) est exprimée en gramme pour 100 g de la matière sèche :

$$A = (N \times 14 \times D \times V / 1000 \times M_0) \times 100 \times (100 / 100 - H)$$

Où :

**N** : Normalité de l'acide titrant (équivalent gramme/litre);

**14** : Masse en g d'un atome gramme d'azote ;

**V** : Volume en ml de l'acide sulfurique utilisé pour le titrage;

**D** : Coefficient de dilution de l'échantillon ;

**M<sub>0</sub>** : masse en g de la prise d'essai ;

**(100/100-H)** : facteur pour rapporter la teneur en azote sur une base sèche ;

**H** : teneur en eau de l'échantillon en gramme pour 100 g de la masse humide.

### 2.3. Teneur en lipides libres

Selon GORSAERT *et al.* (2005), les lipides libres et/ou faiblement liés avec les protéines constituent la fraction affectant significativement la qualité de la panification d'où l'intérêt d'estimer la quantité de cette fraction lipidique.

#### a. Principe

L'extraction des lipides libres se fait par leur solubilisation puis leur entrainement dans un solvant organique.

#### b. Mode opératoire

L'analyse est effectuée, selon le protocole SOXLET, à l'aide d'un appareil SOXTEC system HT de la marque TECATOR. Un échantillon de  $3 \pm 0,001$ g est pesé directement dans des cartouches (creusets) qui sont ensuite positionnées dans l'unité de l'extraction en les émergeant dans des nacelles, préalablement pesées, contenant 50 ml du solvant organique (hexane) utilisées pour la récupération de la matière lipidique extraite. L'extraction a été faite à 140°C durant 2 heures. A la fin de l'extraction, les nacelles contenant les lipides récupérés sont alors repesées. La différence de poids correspond à la teneur en lipides libres de l'échantillon.

#### c. Expression des résultats

La teneur en lipides libres (Li) est exprimée en gramme pour 100g de la matière sèche:

$$Li = [(m_1 - m_0) / M_0] \times 100 \times (100 / 100 - H)$$

Où

$m_1$  : masse en g de nacelle contient des lipides extraits;

$m_0$  : masse en g de nacelle vide ;

$M_0$  : masse en g de la prise d'essai initiale ;

$(100/100-H)$  : facteur pour rapporter la teneur des lipides sur une base sèche ;

$H$  : teneur en eau de l'échantillon en gramme pour 100 g de la masse humide.



## 2.4. Teneur en cendres

### a. Principe

Les cendres totales sont obtenues par différence de la pesée de l'échantillon avant et après incinération dans un four à moufle (AFNOR, 1991).

### b. Mode opératoire

La technique de dosage est celle décrite par la norme AFNOR NFV03-760 de décembre 1990 (AFNOR, 1991). Une prise d'essai de  $3 \pm 0,001\text{g}$  est incinérée dans un four à moufle à une température de  $500 \pm 10^\circ\text{C}$ . La combustion continue jusqu'à l'obtention d'une masse constante de couleur blanche.

### c. Expression des résultats

Le taux des cendres totales (C) est exprimé en gramme pour 100 g de la matière sèche :

$$C = M_1 \times 100/M_0 \times (100/100-H)$$

**C** : taux de cendres totales ;

**M<sub>0</sub>** : masse en g de la prise d'essai ;

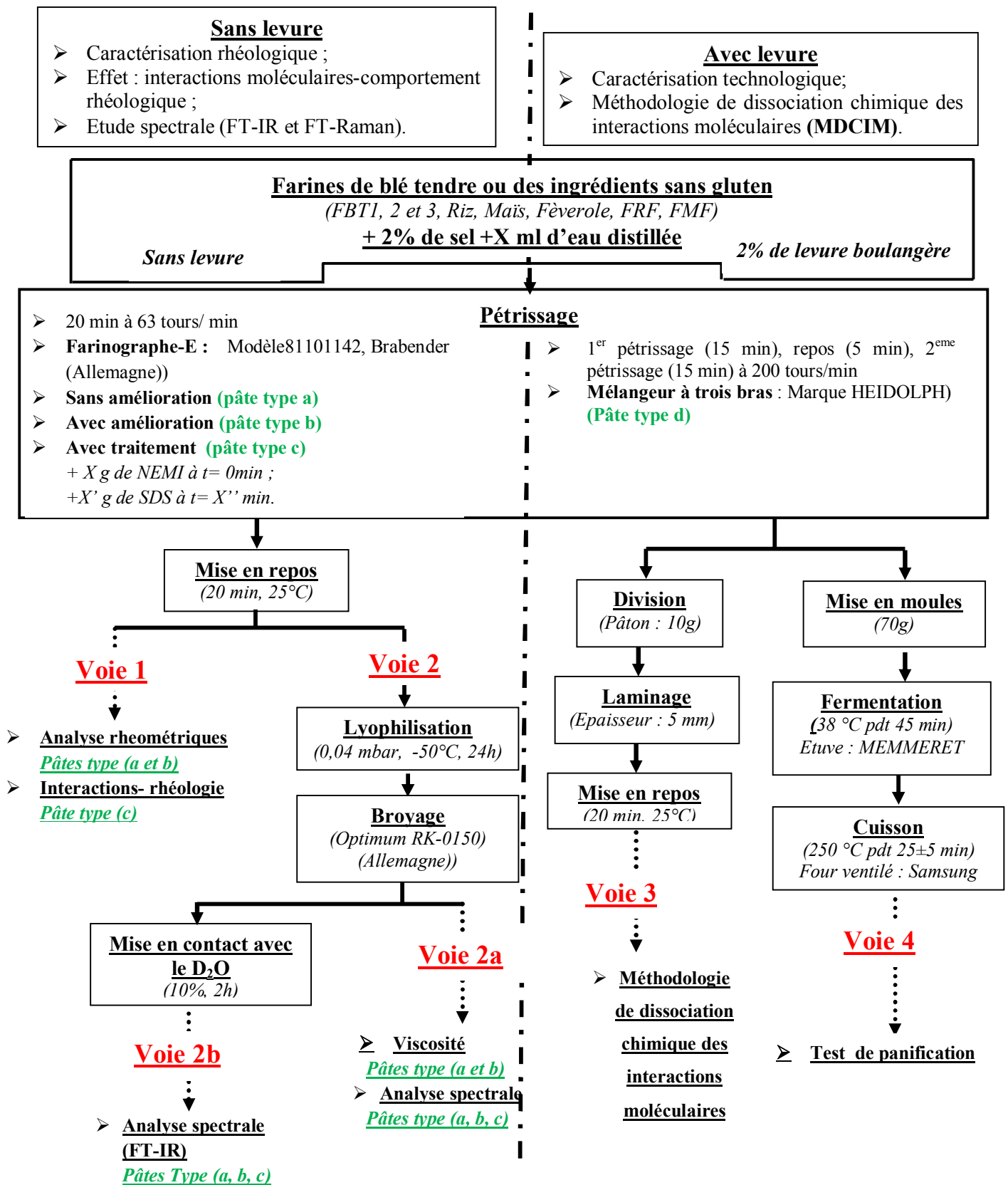
**M<sub>1</sub>** : masse en g de résidu blanc après incinération;

**(100/100- H)** : facteur pour rapporter le taux des cendres sur la base sèche ;

**H** : teneur en eau de l'échantillon en gramme pour 100 g de la masse humide.

## 3. Diagramme de préparation des pâtes et des échantillons à étudier

Le diagramme présenté dans la Figure 09 récapitule les différentes voies suivies pour l'obtention des pâtes servant comme échantillons pour réaliser notre étude. Les pâtes préparées sans levure sont destinées à l'estimation des propriétés rhéologiques (analyse rhéométriques, analyse de la viscosité et les propriétés de pétrissage), à l'étude structurale (analyse spectrale par FTIR et FT-Raman) et à l'approche de l'effet des interactions moléculaires sur le comportement rhéologique. Tandis que les pâtes préparés en présence de levure boulangère sont destinées à la détermination des propriétés technologiques (fermentation) (test de panification) et servent comme échantillons sur les quelles se fait la dissociation chimique des interactions moléculaires



**Figure 09.** Diagramme récapitulatif des différentes voies suivies pour la préparation des pâtes et l'obtention des échantillons d'étude

➤ **Pâtes sans levures**

Ces pâtes sont préparées à l'aide d'un Farinographe-E modèle 81101142, Brabender (Allemagne). Une quantité de 50g de chaque type de farine étudiées est mélangée avec une solution aqueuse de chlorure de sodium (2%, p/p). Chaque préparation est ensuite pétrie pendant 20 min avec une quantité adéquate d'eau distillée. La teneur en eau à ajouter dans la préparation de chaque type de pâte est déterminée à travers des essais préliminaires au Farinographe. La quantité d'eau optimale correspond à celle permettant l'obtention d'une pâte avec une consistance de 500 Unité Brabender (UB) (Tableau 02). (**Pâte Type a**) (Figure 09)

Les pâtes améliorées des formules FRF et FMF ont été préparées selon le protocole établis par BOUREKOUA *et al.* (2016). Une fraction de 6,9g de farine de riz ou celle de maïs est mélangée avec 34,5 ml d'eau distillée et chauffée jusqu'à 65°C en remuant continuellement. Les gels (agents améliorants) de maïs et de riz obtenus sont alors conservés à 4°C pendant 24 heures puis mélangés avec une préparation de 16,67g de la farine de fèverole. A cette préparation on ajoute 26,43g de farine de maïs pour la FMF ou celle de riz pour la FRF. La teneur en eau ajoutée pour chaque type de pâte améliorée est aussi déterminée selon les conditions optimales du Farinographe (500 UB) (Tableau 02) (**Pâte Type b**) (Figure 09)

L'approche de l'effet des interactions moléculaires sur le processus de développement de la pâte et son comportement rhéologique se fait d'une manière indirecte par l'estimation des conséquences de l'absence de chaque type d'interaction sur l'évolution structurale et les propriétés viscoélastiques ( $G'$ ,  $G''$  et  $\tan \delta$ ) des différents types de pâtes, respectivement. Ceci se fait soit par l'inhibition de la mise en place de l'interaction soit par sa dissociation après son installation dans les conditions optimales de préparation de la pâte.

L'estimation de l'effet des ponts disulfures se fait par le blocage de son installation à travers l'ajout d'un agent inhibiteur « le N-éthylmaléimide » (NEMI). En présence de ce dernier, les groupes thiol libres sont bloqués et leur participation à la formation de nouvelles liaisons S-S est inhibée. Le NEMI inhibe donc les réactions d'échange thiol-disulfure (SCHROEDER and HOSENEY, 1978). Le Sodium Dodécyl Sulfate (SDS) est considéré comme un agent dissociant puissant des interactions hydrophobes. Cet agent chimique est utilisé dans notre travail pour étudier l'effet des interactions hydrophobes sur la mise en place des différents types de squelettes protéiques à savoir le gluten et les autres protéines des ingrédients sans gluten.

Afin d'acquies cet objectif, les pâtes (**type a et b**) subissent un traitement par l'ajout de NEMI et/ou de SDS au cours de l'étape de pétrissage (**Type c**). La quantité optimale ajoutée pour chaque agent chimique ainsi que le temps convenable de l'ajout ont été fixés suite aux résultats de l'étude de l'Effet des interactions moléculaires sur le comportement rhéologique des pâtes panifiables avec et sans gluten (Figure 09).

Les différents types de pâtes préparées (type a, b et c) subissent un repos de 20 min, à la température ambiante, afin de se relaxer après le pétrissage (LAZARIDOU *et al.*, 2007).

Après leur préparation, Les pâtes peuvent alors suivre plusieurs voies, selon le type d'analyse à effectuer :

### **Voie 1. Comportement viscoélastique par Rhéomètre**

Après repos, les pâtes préparées sont directement conduites à l'analyse rhéologique par rhéomètre pour déterminer leurs propriétés viscoélastiques (**voie 1, pâtes type a et b**) et estimer l'effet des interactions moléculaires sur ces propriétés (**voie 1, pâte type c**) (Figure 09).

### **Voie 2. Propriétés de la viscosité et analyse spectrale**

Les pâtes reposées (**Types a, b et c**) sont alors lyophilisées pendant 24 heures à 0,04 mbar et -50°C. Après lyophilisation, les pâtes sont broyées sous forme de poudres à l'aide d'un broyeur de laboratoire de la marque Optimum RK-0150 (Allemagne). Les poudres obtenues sont stocké dans des tubes hermétiquement clos afin d'éviter leur ré-humidification et destinés à la détermination des propriétés pastières (Micro-Visco-Amylo-Graphe Brabender) et aux analyses spectroscopiques (spectroscopie infrarouge (FT-IR) et de diffusion Raman à transformée de Fourier (FT-Raman)) (**voie 2a**) (Figure 09).

Dans le cas de l'analyse spectrale, la lyophilisation à pour objectif d'éliminer l'interférence du spectre de l'eau avec celui de l'échantillon (SIVAM *et al.*, 2013).

Dans le but d'éliminer la bande de l'eau, spécialement, de la bande Amide I dans le cas du spectre FT-IR, une partie des échantillons en poudre est mise en contact avec une solution aqueuse de 10% de dioxyde de deutérium (D<sub>2</sub>O) pendant 2 heures. Des prises de poids des poudres de pâtes avant et après contact avec le D<sub>2</sub>O ont été effectuées. Une augmentation de poids de l'échantillon accompagnée par la présence d'une bande à 2500 cm<sup>-1</sup> indique

l'adsorption des molécules de D<sub>2</sub>O sur l'échantillon (NOWROCKA *et al.*, 2017) (**voie 2b**) (Figure 09).

### ➤ Pâtes avec levure

Le protocole adopté par l'Equipe de Transformation et Elaboration des Produits Alimentaires (T.E.P.A.) de Laboratoire de la Nutrition et Technologie Alimentaire (L.N.T.A.) a été utilisé pour la préparation des pâtes et des pains, selon le cas (BENATALLAH, 2009).

Une prise de poids adéquate de farines (100g pour la dissociation et 250g pour le test de panification), 2% (p/p) de sel et 2% (p/p) de levure boulangère ont été pétris avec une quantité adéquate d'eau distillée préalablement déterminée selon les conditions optimales de du Farinographe (500 UB) (Tableau 02). La préparation est ensuite pétrie pendant deux temps de 15 min séparés par 5 min de repos à l'aide d'un mélangeur à trois bras (de la marque HEIDOLPH) à une vitesse de 200 tours/min (**pâte type d**) (Figure 09).

### **Voie 3. Méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires**

La pâte obtenue (**type d**) est subdivisée en pâtons de 10g. Ces derniers sont alors étalés à fin d'obtenir des disques de 5 mm d'épaisseur. Cet étalement a pour objectif d'augmenter la surface de contact interaction-agent dissociant tout en minimisant le plus possible l'effet physique de la contrainte d'étalement sur les interactions constituant la pâte. Les disques de pâtes sont alors laissés au repos pendant 20 min afin de développer leurs propriétés rhéologiques optimales suite à l'établissement d'un maxima d'interactions moléculaires (Figure 09).

### **Voie 4. Test de panification**

A la sortie du pétrissage, 210 g de la pâte (**type d**) ont été prélevés, fractionner et façonner en trois pâtons de 70 g puis déposés dans des moules en TEFAL PROFLEXE sans couvercle (9,5×5,5×3 cm<sup>3</sup>). Les pâtons sont alors subis une fermentation à 38°C pendant 45 min en présence de la buée pour éviter leur fissuration. La fermentation a été réalisée à l'aide d'une étuve ventilée de marque MEMMERET. Après fermentation, les pâtons sont immédiatement placés dans un four de cuisson ventilé à une température de 250°C, en présence également de la buée. L'opération de cuisson se continue jusqu'à l'obtention d'une croûte colorée. Elle dure environ 25±5 min, selon le type de pâte à cuire.

En fin de cette opération, les pains sont alors refroidis à la température du laboratoire (25 °C). Pour chaque type de farine, trois pains ont été préparés et destinés à la caractérisation (Figure 09).

Les teneurs en eau à ajouter correspondent à chaque type de pâtes, fixées pour répondre aux conditions optimales de Farinographe Brabender (500 UB), sont récapitulées dans le Tableau suivant :

**Tableau 02.** Teneur en eau à jouter pour la préparation de chaque type de pâte, exprimée en ml d'eau distillée pour 100 g de la masse sèche de farine

Type de pâte	Teneur en eau à ajoutée (%)
PBT1	58
PBT2	60
PBT3	51,8
Riz	93
Maïs	81
Fèverole	45,6
Riz-Fèverole (PMF)	78
Maïs-Fèverole (PRF)	59
PRF améliorée*	38
PMF améliorée*	83,9

\*PRF et PMF améliorées par l'ajout des farines de riz ou de maïs hydro-thermiquement traitées aux formules FRF et FMF, respectivement.

#### 4. Caractérisation rhéologique des pâtes avec et sans gluten

La détermination des propriétés rhéologiques des pâtes utilisées dans ce travail a pour objectif de mettre en place les différences et les similitudes entre les pâtes panifiables avec et sans gluten. En effet, le comportement rhéologique des pâtes constitue le résultat de leur évolution structurale acquise durant les différentes étapes de préparation. Cette évolution structurale est à son tour conditionnée par l'établissement et/ou le réarrangement des différents types des interactions moléculaires entre les composants des farines.

L'estimation des propriétés rhéologiques dans cette étude consiste à déterminer le comportement des pâtes au pétrissage, leurs propriétés viscoélastiques et pastières.

#### **4.1. Propriétés de pétrissage par Farinographe**

FEILLET (2000) apporte que le farinographe Brabender permet la mesure de l'évolution des caractéristiques de la pâte au cours de sa formation à savoir : sa consistance, son temps de développement et le taux d'absorption d'eau de la farine.

##### **a. Principe**

Le principe de l'expérimentation repose sur le suivi de l'évolution de la consistance de la pâte mesurée en Unité Brabender (UB), au cours de pétrissage en fonction du temps tout en changeant la teneur en eau ajoutée à la farine (FEILLET, 2000).

##### **b. Mode opératoire**

Une prise d'essai de 50 g de chaque type farine de blé tendre, de maïs, de riz, de la fèverole, de FRF et de FMF et une quantité de 1g de sel ont été mélangé avec un apport continu d'eau distillée ajouté à partir de la burette gradué de l'appareil. Le mélange subi un pétrissage continue concomitant avec l'ajout d'eau jusqu'à l'obtention d'une consistance optimale correspondant à 500 UB, qui dure approximativement 12 min avant l'affaiblissement de la pâte. L'opération dure 20 min.

Durant la préparation des pâtes améliorées (PRF et PMF améliorées), les gels de riz ou de maïs sont mélangés avec les farines avant l'ajout d'eau d'une manière à soustraire la quantité d'eau apportée par les gels et obtenir une consistance optimale de ce type de pâtes.

##### **c. Expression des résultats**

La teneur en eau ajoutée pour la préparation des pâtes donnant une consistance optimale est lue directement sur la burette graduée. Cette teneur correspond à la capacité d'absorption d'eau indiquée sur la burette.

Une courbe décrivant l'évolution de la consistance de la pâte (UB) en fonction du temps est affichée par le dispositif. Les paramètres de qualité qu'on peut ressortir de cette courbe sont :

- La consistance de la pâte (UB), à un instant  $t$ , il s'agit de la largeur de la courbe correspondant à 500 UB ;

- Le temps de développement de la pâte (min) est égal au temps nécessaire à l'obtention de la consistance 500 UB.

On n'arrive pas à estimer la consistance de nos pâtes à cause de la faible qualité des courbes obtenues.

#### **4.2. Comportement viscoélastique : test de déformation dynamique oscillatoire**

Le test oscillatoire permet l'estimation du comportement viscoélastique des pâtes avec et sans gluten à travers la détermination du module élastique (le module conservatif) ( $G'$ ), le module visqueux ( $G''$ ) (module dissipatif), et le degré de participation de chacun d'entre eux par l'estimation de l'angle de perte  $\tan \delta$ .

##### **a. Principe**

Les mesures dynamiques oscillatoires consistent à faire varier, d'une manière périodique généralement sinusoïdale et à une contrainte de cisaillement faible et constante, l'intensité de la fréquence en fonction du temps. Il s'agit d'un balayage en fréquence dans un intervalle de 0,1 à 10 Hz (FEILLET, 2000).

##### **b. Mode opératoire**

Le test oscillatoire à faible déformation a été réalisé à l'aide d'un rhéomètre de la marque Rheo-stress 300 (Karlsruhe, Allemagne) doté d'une paire de disques parallèles de 5 cm de diamètre. Le gap entre les disques est ajusté à 2 mm. Après 20 min de repos, un disque de chaque échantillon de pâte (type a et b) préparé selon la voie 01 (partie 01,3 § 9) (Figure 09), est placé entre les deux disques et subit une contrainte de déformation fixe de 0,1% en variant de la fréquence dans l'intervalle de 0,1 à 10 Hz. La contrainte de déformation a été fixée à travers des essais préliminaires à une fréquence constante de 1 Hz (LAZARIDOU *et al.*, 2007 ; RONDA *et al.*, 2013). La réalisation du test à une faible contrainte de déformation a pour objectif de faire ressortir le domaine viscoélastique linéaire où la déformation est très limitée pour ne pas modifier irréversiblement les propriétés de l'échantillon (FEILLET, 2000). Il s'agit alors d'un essai non destructif. Un capteur permet de mesurer la rotation du disque mobile et donc déterminer la déformation que subit l'échantillon. Les essais ont été réalisés à une température de 20°C. Pour chaque échantillon de pâte, le test est réalisé en deux répétitions.



### c. Expression de résultats

Les courbes décrivant la variation de  $G'$  (Pa),  $G''$  (Pa) et  $\tan \delta$  en fonction de la fréquence (Hz) ont été enregistrées.

### 4.3. Propriétés de la viscosité

L'amidon constitue le majeur composant des farines de céréales et de plantes. Durant la formation de la pâte, l'amidon agit comme un agent de remplissage inerte dans la matrice continue de gluten (BLOKSMA, 1990). LARSSON et ELIASSON (1997) apportent que le comportement rhéologique des pâtes est significativement affecté par les propriétés spécifiques de la surface des granules d'amidon. C'est dans ce contexte que les propriétés pastières des pâtes ont été étudiées.

#### a. Principe

La mesure des propriétés pastières consiste à suivre l'évolution de la viscosité d'un empois de poudre de pâtes au cours du chauffage et du refroidissement (SHEVKANI *et al.*, 2016).

#### b. Mode opératoire

Le test a été réalisé à l'aide d'un Micro-Visco-AmyloGraph Brabender (Brabender OHG, Duisburg, Allemagne) ajusté à une vitesse de 250 tours/min. Les échantillons destinés (type a et b) à cette analyse sont préparés selon la voie 2a (partie 01,3 § 10) (Figure 09). Les mesures ont été effectuées selon DIB *et al.* (2018) où une quantité de la poudre de chaque type de pâte lyophilisée, désignée par le logiciel de l'appareil en fonction de son humidité, a été mélangé avec une quantité adéquate en eau distillée (corrigée pour compenser une humidité de 14%). Le mélange obtenu a été agité continuellement pendant 5 min afin d'obtenir une dispersion homogène. La préparation est ensuite placée dans le dispositif de chauffage-refroidissement de l'appareil puis elle subit une série de chauffage-refroidissement comme suit : chauffage de 30 à 90°C, repos à 90°C pendant 5 min, refroidissement de 90 à 50 °C puis repos de 1 min à 50 °C. La vitesse de chauffage-refroidissement est de 7,5°C.min<sup>-1</sup>. Pour chaque type de pâte le test a été appliqué deux fois.

### **c. Expression des résultats**

Des courbes décrivant l'évolution de la viscosité (mPa) en fonction du temps (min) ont été tracées. La température de gélatinisation (TG) (°C), la viscosité initiale (Vis I) (mPa), la viscosité maximale (Vis M) (mPa), la viscosité finale (Vis F) (mPa), le creux (Cr) (mPa) (différence entre la viscosité finale et maximale après chauffage) et la rétrogradation (Rétrog) ont été retirés à partir des courbes tracées. Les courbes et les paramètres de viscosité ont été enregistrés à l'aide du logiciel BRABENDER AMYLO VISCO GRAPH (Version 4.1.1).

## **5. Aptitude technologique des pâtes à étudier : Test de panification**

SCANLON et ZGHAL (2001) apportent que la qualité du produit fini de la panification est étroitement liée avec le volume et la texture du pain et à la structure alvéolaire de la mie. La qualité finale du pain est en fonction de type de farine utilisée et de mode de préparation. Elle constitue donc le résultat de l'évolution structurale que subi la pâte durant les différentes étapes de sa préparation particulièrement le pétrissage et la fermentation. Le volume du pain traduit donc l'aptitude technologique de la pâte à la production d'un bon pain.

C'est dans ce contexte que la détermination de l'aptitude technologique des pâtes avec ou sans gluten se focalise sur l'appréciation du volume spécifique des pains à travers le test de panification.

### **a. Principe**

Il s'agit de préparer des pains à base des farines avec et sans gluten, selon la même procédure. Ils seront caractérisés par leurs volumes spécifiques

### **b. Mode opératoire**

Les pains ont été préparés selon la voie 04 (partie 01, 3, § 14 et 16) (Figure 09). Pour chaque type de pâte, trois pains ont été préparés.

### **c. Expression des résultats (Volume spécifique)**

Le volume spécifique du pain exprimé en  $\text{cm}^3/\text{g}$  est mesuré indirectement par le déplacement de petites particules sphériques de volume spécifique connu dans un récipient où le pain final est placé (BENATALLAH, 2009).

La mesure est basée sur l'utilisation des grains sphériques de volume spécifique préalablement déterminé (0,67 cm<sup>3</sup>/g). Premièrement, un récipient de volume plus grand que celui de pain est rempli à ras avec les grains sphériques puis vidé à moitié de son contenu. Le pain à caractériser, préalablement pesé, est alors placé dans le récipient et recouvert avec le reste des grains qu'on arase à nouveau. L'excès des grains est ensuite récupéré et pesé. Le volume des grains correspond alors à celui de l'échantillon du pain.

Le volume spécifique (V<sub>sp</sub>) du pain est exprimé en cm<sup>3</sup>/g. Il s'agit d'un rapport du volume (V) de pain par sa masse (M). Il est calculé selon la formule suivante :

$$V_{sp} \text{ (cm}^3\text{/g)} = V \text{ (cm}^3\text{)} / M \text{ (g)}$$

d'où

$$V \text{ (cm}^3\text{)} = m \times 0,67$$

avec

**V<sub>sp</sub>** : volume spécifique du pain (cm<sup>3</sup>/g) ;

**M** : masse du pain en (g) ;

**m** : masse de l'excès des grains en (g);

**V** : volume de l'excès des grains sphériques en (cm<sup>3</sup>) ;

**0,67** : volume spécifique des grains sphériques (cm<sup>3</sup>/g).

## 6. Analyse statistique

Les résultats ont été présentés sous forme de Moyenne± Ecart type.

L'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur est effectuée à fin d'établir une comparaison entre plusieurs moyennes suivi par le test à postériori (Tukey (HSD)) à fin d'établir la comparaison entre les groupes individuels de moyennes. Les lettres **a, b, c, d, e**, montrent des différences significatives. Le seuil de signification est fixé à 0,05. Ce type d'analyse est réalisé à l'aide du logiciel XLSTAT (version 2009.1.01, Addinsoft).

## **Partie 02. Approche des interactions moléculaires installées dans la pâte à panifier :**

### **Ponts disulfures et Interactions hydrophobes**

Cette partie vise, d'une part, à mettre en relation la qualité des pâtes avec et sans gluten avec les interactions moléculaires établies lors de leur développement à travers :

- L'optimisation de la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires ;
- La validation de cette méthodologie par un test de classification des pâtes avec et sans gluten de différentes qualités en fonction de leur aptitude à la dissociation ;
- La recherche de corrélations entre les aptitudes technologiques des pâtes ainsi que leur comportement vis-à-vis de la dissociation.

D'autre part, l'approche de l'effet des interactions moléculaires sur le comportement rhéologique des pâtes a aussi fait l'objet de cette partie.

Les pâtes utilisées pour acquérir cet objectif sont à base de la farine de blé tendre type 1 (PBT1) et 2 (PBT2), la formule Riz-Fèverole (PRF) et celle de Maïs-Fèverole (PMF).

La Figure 10 résume la démarche suivie pour approcher les interactions moléculaires installées durant le développement des pâtes à panifier avec et sans gluten.

#### **1. Méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires : Recherche de corrélations Qualité-Interactions moléculaires**

La mise en place de la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires a pour objectif de créer une technique rapide, simple et pratique pour l'appréciation de la qualité des pâtes boulangères en fonction des interactions moléculaires établies au cours de leur développement. Cette méthodologie sert aussi comme un outil explicatif de la qualité des pâtes en fonction la capacité de leurs constituants à développer et mettre en œuvre les différents types d'interaction moléculaires permettant alors de comprendre d'une manière approfondie la relation entre le mécanisme de l'évolution structurale et la qualité.

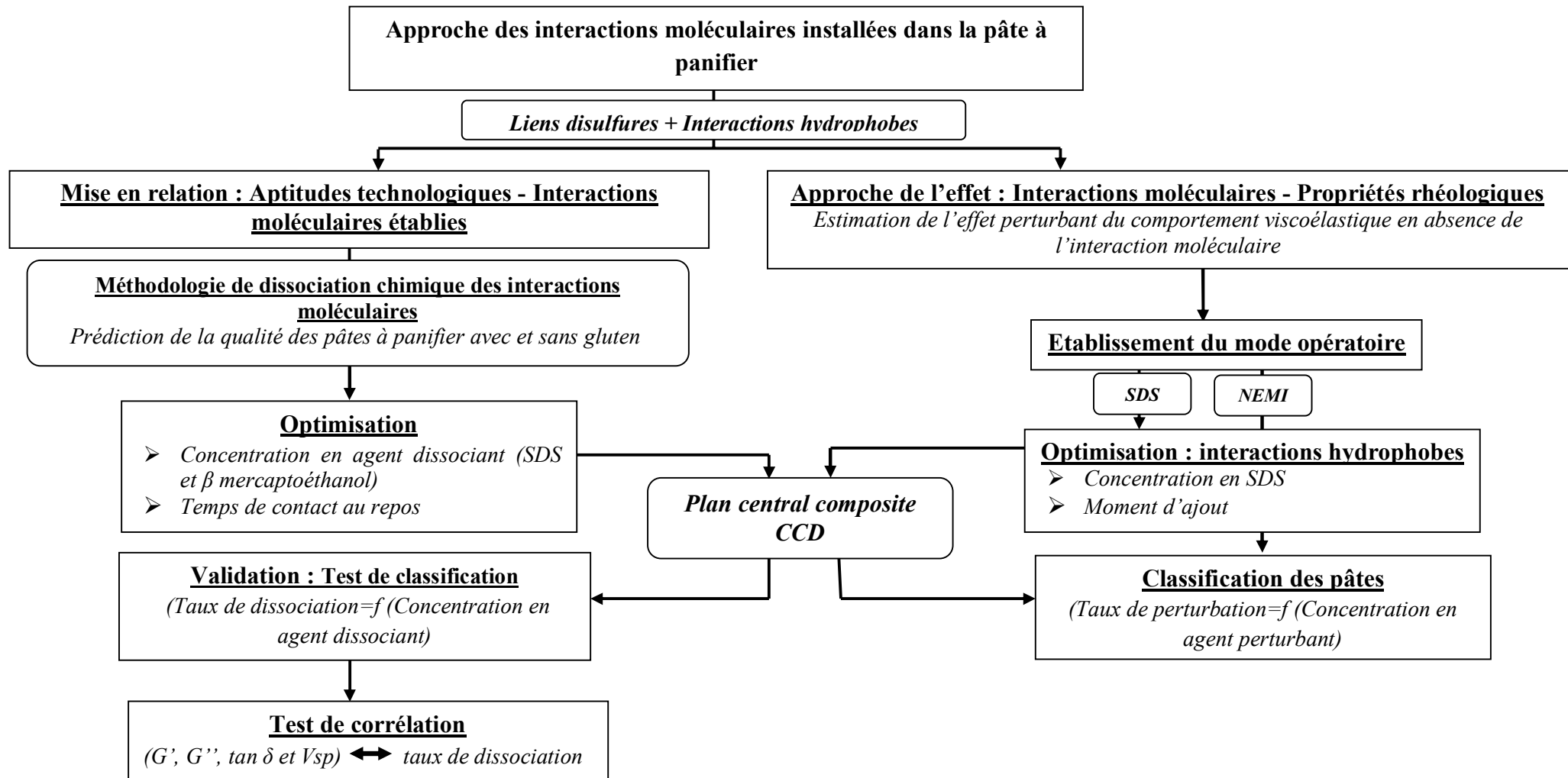


Figure 10. Schéma récapitulatif de la démarche poursuivie pour approcher les interactions moléculaires installées dans la pâte à panifier

La méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires consiste à mettre en contact, pendant un temps convenable, des disques de pâtes avec une solution aqueuse à une concentration précise d'un agent dissociant spécifique pour chaque type d'interaction moléculaire. L'effet dissociant est estimé par la quantification de la matière dissociée après dessiccation

Une étude préliminaire a été réalisée par FETOUHI (2014) au niveau l'Equipe de Transformation et Elaboration des Produits Alimentaires (T.E.P.A.) de Laboratoire de la Nutrition et Technologie Alimentaire (L.N.T.A.). Cette étude a permis d'établir le mode opératoire à optimiser et de fixer les types d'agents dissociant convenable à chaque type d'interaction moléculaire.

Uniquement deux types d'interactions (ponts S-S et interactions hydrophobes) ont été étudiés. Dans cette partie, à cause du manque d'agents dissociant, les autres types d'interaction (hydrogènes et ioniques) n'ont pas pu être estimées.

### **1.1. Description de mode opératoire**

Le mode opératoire comporte trois étapes primordiales :

➤ **Préparation des pâtes**

Les pâtes ont été préparées selon la voie 03 (Figure 09) préalablement décrite dans la partie 01 (3 : § 13, 14 et 15).

➤ **Mise en contact avec la solution de dissociation**

L'étape de la mise en contact consiste à mettre les disques de pâtons avec un volume convenable de solution de dissociation pendant un temps optimal pour obtenir une dissociation maximale. Les disques de pâtons sont totalement immergés dans la solution de dissociation pour que le contact soit uniforme. Le volume de la solution de dissociation convenable permettant l'immersion de ces disques est de 40 ml (Figure 11).

Après la mise en repos, les disques de pâtons sont mis dans une solution contenant un agent dissociant approprié pour chaque type d'interaction. La préparation est ensuite agitée modérément à une vitesse de 30 tours/min. l'objectif de cette opération est de faciliter la séparation des molécules dissociées et permettre le contact de nouveau entre l'agent dissociant et son site d'action. A la fin du contact, les molécules dissociées de la charpente de

la pâte et, qui sont libérées dans la solution de dissociation, sont récupérées par filtration. Le filtrat est alors séché à 105 °C pendant une nuit jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La matière dissociée traduisant l'effet dissociant de l'agent sur la pâte est quantifiée en fin de l'opération de séchage par pesage de l'échantillon.

Selon les résultats de l'étude antérieure (FETOUHI, 2014), l'agent dissociant convenable pour étudier les ponts S-S est le  $\beta$ -mercaptoéthanol, alors que le Sodium Dodécyl-Sulfate est utilisé pour l'étude des interactions hydrophobes.

**NB :** l'estimation de la masse sèche des agents dissociant s'est faite par séchage à 105°C pendant une nuit jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

➤ **Estimation de la dissociation**

L'effet dissociant est évalué en taux de dissociation selon la formule suivante :

$$\text{TD (\%)} = (\text{MSL}/\text{MSI}) \times 100$$

**Où :**  $\text{MSL} = \text{MST} - \text{MSAD}$

$\text{MSI} = \text{MF} + \text{MS} + \text{ML}$

**Or :**

**MSL :** Matière sèche en g libérée de la pâte ;

**MSI :** Matière sèche initiale en g contenant dans 10g de disque de pâton ;

**MST :** Matière sèche totale en g du filtrat ;

**MSAD :** Matière sèche en g de l'agent dissociant;

**MF :** Masse sèche en g de la farine contenant dans 10g de disque de pâton ;

**MS :** Masse sèche en g du sel contenant dans 10g de disque de pâton ;

**ML :** Masse sèche en g de la levure contenant dans 10g de disque de pâton.

Le mode opératoire décrivant la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires est schématisé dans la Figure 11.

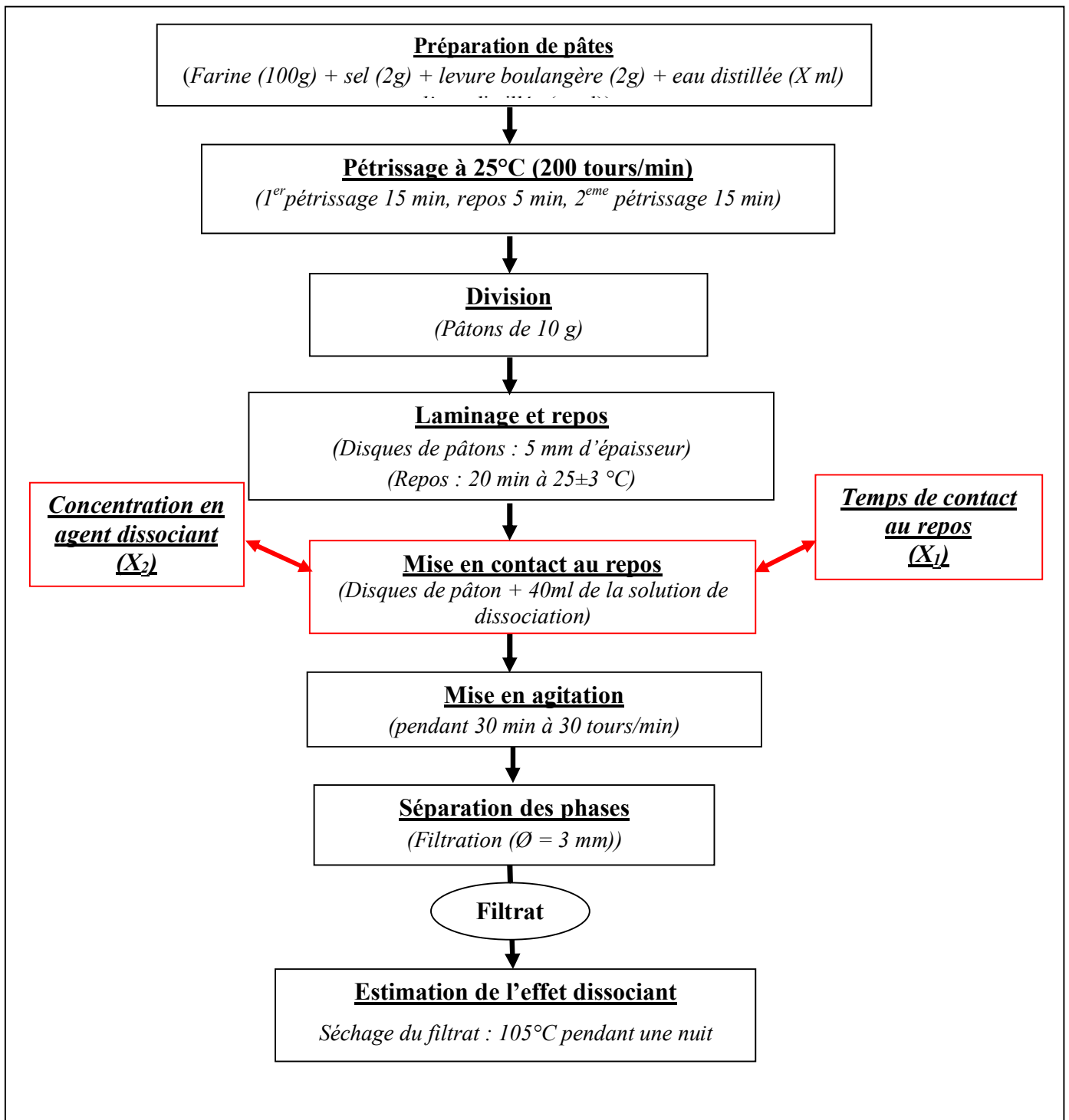


Figure 11. Mode opératoire, à optimiser, de la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires



## 1.2. Optimisation par la méthode des surfaces de réponse

L'optimisation de la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires a pour objectif d'augmenter l'effet dissociant des agents chimiques sur les pâtes à dissocier. Il s'agit de réaliser le mode opératoire préalablement décrit (Figure 11) en variant les facteurs à optimiser selon les conditions décrites par les plans d'expérience établis.

### 1.2.1. Plan d'expérience

D'après GOUPY et CREIGNTON (2006), la méthode des plans d'expérience est une technique d'organisation optimale des expériences de manière à obtenir un maximum d'informations en un minimum d'essais avec la meilleure précision possible.

La méthode des surfaces de réponse est un ensemble de techniques mathématiques qui se basent sur la conception expérimentale pour déterminer la portée des variables d'entrées indépendantes. Elle permet de délimiter l'intervalle optimal des valeurs des variables (concentration en agent dissociant et temps de contact au repos) qui donne une dissociation maximale des interactions moléculaires.

### 1.2.2. Choix des facteurs à optimiser

Une analyse critique de mode opératoire a permis d'ajouter une étape de mise en contact préalable de l'agent dissociant avec la pâte avant la mise en agitation. Cette étape de contact permettrait aux molécules dissociantes de pénétrer et acquérir au maximum leurs sites d'action en favorisant alors leur effet dissociant. Le temps de ce contact avant agitation « **temps de contact au repos (TC)** » est considéré comme le premier facteur à optimiser ( $X_1$ ).

L'effet dissociant est aussi étroitement lié avec le nombre des molécules de l'agent dissociant mises en contact avec la pâte, pour cela la « **concentration en agent dissociant (CAD)** » permettant l'obtention d'une dissociation maximale est choisie comme un deuxième facteur à optimiser ( $X_2$ ).

### 1.2.3. Modélisation mathématique

Dans le but de fixer des valeurs idéales de la concentration en agent dissociant et du temps de contact au repos permettant d'avoir un effet dissociant maximal (réponse), exprimé

en taux de dissociation, on utilise le plan d'expérience Centrale Composite (CCD) à deux variables : la concentration en l'agent dissociant (CAD) et le temps de contact au repos (TC).

Chaque facteur a été étudié à cinq niveaux différents ( $-\alpha$ ,  $-1$ ,  $0$ ,  $+1$ ,  $+\alpha$ ). Dans un plan central composite à 2 facteurs, on donne aux variables les valeurs codées suivantes :  $(+1, +1)$ ,  $(+1, -1)$ ,  $(-1, +1)$  et  $(-1, -1)$  pour les points factoriels ;  $(+1,414, 0)$ ,  $(-1,414, 0)$ ,  $(0, +1,414)$  et  $(0, -1,414)$  pour les points radicaux ;  $(0,0)$  pour le point au centre (DUCAUZE, 2014).

Le point central a été répété 5 fois pour appuyer ce plan d'expérience, ce qui donne un total de  $2^2 + 2^2 + 5 = 13$  essais. Les niveaux  $-1,414$  et  $+1,414$  représentent, respectivement, les valeurs codées minimale et maximale des facteurs (Tableau 03).

Le modèle mathématique utilisé est un modèle du second degré avec des interactions de l'ordre 2, traduisant la dépendance de la réponse étudiée  $Y$ ,  $Y'$  en fonction des deux variables codées ( $X_1, X'_1$  et  $X_2, X'_2$ ). Il s'écrit comme suit :

➤ **Pour la dissociation des interactions hydrophobes avec le SDS**

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_{11} X_1 X_1 + b_{22} X_2 X_2 + b_{12} X_1 X_2$$

➤ **Pour la dissociation des pont S-S avec  $\beta$ -mercaptoéthanol**

$$Y' = b_0 + b_1 X'_1 + b_2 X'_2 + b_{11} X'_1 X'_1 + b_{22} X'_2 X'_2 + b_{12} X'_1 X'_2$$

Avec :

$Y, Y'$ : réponses étudiées ;

$X_1, X_2, X'_1, X'_2$ : formes codées des variables explicatives ;

$b_0$ : constante du modèle ;

$b_1, b_2$ : coefficients linéaires ;

$b_{11}, b_{22}$ : coefficients quadratiques ;

$b_{12}$ : coefficient d'interaction entre les deux variables.

**Tableau 03.** Matrices d'expériences du plan composite orthogonal centré à deux variables pour le SDS et le  $\beta$ -mercaptoéthanol

Essais	Matrices			
	SDS		$\beta$ -mercaptoéthanol	
	$X_1$ (TC)	$X_2$ (CAD)	$X'_1$ (TC)	$X'_2$ (CAD)
1	-1	+1	0	0
2	0	0	+1,414	0
3	0	+1,414	+1	+1
4	+1	-1	-1	-1
5	+1	+1	0	0
6	0	0	0	0
7	-1,414	0	0	0
8	0	-1,414	0	0
9	-1	-1	-1	+1
10	0	0	-1,414	0
11	0	0	+1	-1
12	+1,414	0	0	-1,414
13	0	0	0	+1,414

TC : Temps de Contact au repos, CAD/ Concentration en Agent Dissociant

#### 1.2.4. Détermination des variables réelles

##### ➤ Temps de contact au repos (TC)

Le choix des valeurs réelles de la variable temps de contact au repos s'est fait sur la base d'essais préliminaires où la rapidité de la méthode est prise en considération. La valeur minimale est de 0 min où les disques de pâtons ne subissent aucun contact au repos avec la solution de dissociation alors que la valeur maximale, celle où l'effet dissociant est considérablement maximal (absence totale de la charpente de la pâte), est de 60 min.

##### ➤ Concentration en agent dissociant (CAD)

Le choix des intervalles de concentration pour chaque type d'agent dissociant s'est fait sur la base des résultats de l'étude préliminaire (FETOUHI, 2014). Ils sont de [0 à 5]% et de [0 à 0,01] M pour le SDS et le  $\beta$ -mercaptoéthanol, respectivement.

Les Tableaux 4 et 5 résument les valeurs réelles correspondant aux niveaux des variables étudiées pour le SDS et le  $\beta$ -mercaptoéthanol, respectivement.

**Tableau 04.** Valeurs calculées des variables codées correspondant aux niveaux attribués pour le SDS

Facteurs	-1,414	-1	0	+1	+1,414
TC (min)(X <sub>1</sub> )	0	8,78	30	51,21	60
CAD (%) (X <sub>2</sub> )	0,000	0,73	2,5	4,26	5

TC : Temps de Contact au repos, CAD/ Concentration en Agent Dissociant

**Tableau 05.** Valeurs calculées des variables codées correspondant aux niveaux attribués pour le  $\beta$ -mercaptoéthanol

Facteurs	-1,414	-1	0	+1	+1,414
TC (min) (X' <sub>1</sub> )	0	8,78	30	51,21	60
CAD (M) (X' <sub>2</sub> )	0,000	0,0014	0,005	0,0085	0,01

TC : Temps de Contact au repos, CAD/ Concentration en Agent Dissociant

Les matrices d'expériences des plans composites orthogonaux centrés à 2 variables pour le SDS et le  $\beta$ -mercaptoéthanol sont données par le Tableau 6.

**Tableau 06.** Valeurs réelles non codées des couples Temps de contact au repos-Concentration en agent dissociant pour le SDS et le  $\beta$ -mercaptoéthanol.

Essais	SDS		$\beta$ -mercaptoéthanol	
	X <sub>1</sub> (TC) (min)	X <sub>2</sub> (CAD) (%)	X' <sub>1</sub> (TC) (min)	X' <sub>2</sub> (CAD)(M)
1	8,78	4,26	30	0,005
2	30	2,5	60	0,005
3	30	5	51,21	0,0085
4	51,21	0,73	8,78	0,0014
5	51,21	4,26	30	0,005
6	30	2,5	30	0,005
7	0	2,5	30	0,005
8	30	0	30	0,005
9	8,78	0,73	8,78	0,0085
10	30	2,5	0	0,005
11	30	2,5	51,21	0,0014
12	60	2,5	30	0
13	30	2,5	30	0,01

### **1.2.5. Optimisation des surfaces de réponses**

L'optimisation est faite par la méthode de désirabilité permettant l'obtention, pour chaque type d'interaction, le temps de contact au repos et la concentration en agent dissociant optima permettant l'obtention d'un effet dissociant maximal (GOUPY et CREIGNTON, 2006).

### **1.3. Validation : Test de classification des pâtes à panifier de différentes qualités**

La validation cette méthodologie a pour objectif d'estimer sa capacité de faire distinguer entre plusieurs pâtes ayant des aptitudes technologiques différentes par un test de classification. Les résultats de la classification obtenus sont alors comparés avec ceux établis par des méthodes conventionnelles à fin de référencier cette nouvelle approche.

Le principe consiste à faire classer quatre types de pâtes, deux à base de blé tendre (PBT1 et PBT2) et deux sans gluten (PRF, PMF), en utilisant les intervalles de concentration délimités après optimisation du mode opératoire pour chaque type d'agent dissociant. Ces pâtes sont préalablement classées par des tests de références (Rhéomètre et le test de panification). L'obtention d'une classification logique par rapport aux méthodes conventionnelles permettrait la validation de cette méthodologie.

Le mode opératoire optimisé (Figure 11) a été suivi pour la dissociation des quatre types de pâtes étudiées. Une fois préparés, les disques de pâtons (5 mm d'épaisseur) ont été mis en contact au repos pendant 30 min avec une série de concentrations appropriée pour chaque type d'agent dissociant. Les concentrations en SDS utilisées pour la dissociation des interactions hydrophobes sont : 0 - 0,5 - 1 - 1,5 - 2 - 2,5 - 3 et 3,5%. Pour la dissociation des ponts disulfures, les concentrations en  $\beta$ -mercaptoéthanol (M) utilisées sont : 0 – 0,001 – 0,002 – 0,003 – 0,004 – 0,005 – 0,006 et 0,007 M. L'obtention de ces séries de concentrations se fait par la division, à des pats constants, des intervalles optima fixés suite à l'optimisation du mode opératoire pour chaque type d'interaction. L'estimation de l'effet dissociant a été faite à travers la détermination du taux de dissociation à chaque concentration.

Le comportement de chaque type de pâte vis-à-vis l'effet dissociant est évalué à travers le suivi de l'évolution de taux de dissociation en fonction de la variation de concentration. Les courbes des évolutions obtenues, pour chaque type d'agent dissociant, ont fait l'objectif d'une étude comparative avec la classification conventionnelle.

## **2. Approche de l'effet des interactions moléculaires sur le comportement rhéologique**

Le comportement rhéologique des pâtes panifiables constitue le résultat de son évolution structurale durant les différentes étapes de préparation, d'une part. De l'autre part, le développement de la structure de la charpente de la pâte boulangère se fait essentiellement par la mise en place des nouvelles interactions moléculaires et/ou le réarrangement de celles qui préexistantes entre les différents constituants de la farine. Le type et le nombre des interactions moléculaires conditionneraient alors d'une manière indirecte le comportement rhéologique des pâtes panifiables.

L'effet des ponts disulfures et des interactions hydrophobes sur les propriétés rhéologiques des pâtes panifiables est évalué à travers le suivi de l'évolution de ces propriétés en absence de ces interactions soit par l'inhibition de leur mise en place ou par leur dissociation. Donc, l'effet de l'absence des interactions moléculaires sur le comportement rhéologique des pâtes traduit la relation interactions moléculaires-propriétés rhéologiques.

### **2.1. Etablissement du mode opératoire**

Le principe de cette évaluation consiste à estimer la variation des propriétés rhéologiques des pâtes panifiables après avoir inhibé la formation des ponts S-S par l'ajout de NEMI et dissocié les interactions hydrophobes préalablement établies par le SDS.

Les essais ont été réalisés à l'aide d'un rhéomètre de la marque kinexus Malvern lab+ (Allemagne). Le mode opératoire suivi est analogue à celui des mesures rhéométriques décrites dans la partie 01 (voie 1, § 2,3 et 9) (Figure 09) avec des modifications adoptées pour acquérir l'objectif de l'investigation.

A l'aide du Farinographe, 50g de la farine et 1g de sel ont été pétris pendant 20 min avec 29-3 ml d'eau distillée où 29 ml correspond à la teneur en eau adéquate pour avoir les conditions optimales du farinographe (500 UB). Un volume de 3 ml est soustrait de la teneur en eau optimale à fin de faire dissoudre les poudres de SDS et de NEMI. Cette dissolution facilite le mélange et la dispersion des agents chimiques au sein la pâte permettant donc, le bon contact des molécules actives avec son site d'action. Le choix de 3 ml se base sur les résultats des essais préliminaires où ce volume correspond à la quantité en eau maximale à soustraite tout en n'affectant pas les propriétés de pétrissage de la pâte enregistrées par le farinographe.

Au cours des 20 min de pétrissage, une quantité X g de chaque agent chimique a été ajoutée à la préparation de la pâte à un temps X min de pétrissage. Ces deux variables ont été considéré comme des facteurs à optimiser dans le but d'avoir un effet dissociant et /ou inhibiteur affectant d'une manière significative le comportement viscoélastique des pâtes.

Les conditions du traitement avec l'agent inhibiteur (NEMI) (concentration et moment de l'ajout) sont directement déterminées selon des études antérieurs (PEIGHAMBARDOUST *et al.*, 2006 ; PERESSINI *et al.*, 2008) et ne nécessitent pas une optimisation. Il s'agit de faire ajouter des quantités en NEMI allant de 0 à 0,2% à 0 min (début de pétrissage).

Vu l'absence de travaux décrivant l'effet de SDS sur le comportement rhéologique des pâtes, le traitement avec cet agent a fait l'objectif d'une optimisation.

A la fin du pétrissage, la pâte obtenue après traitement est mise à un repos de 20 min où les propriétés rhéologiques optimales doivent être acquies. La pâte reposée est ensuite destinée aux mesures rhéologiques où elle est soumise entre les deux disques de rhéomètre (gap de 1 mm) est subie alors un balayage de fréquences allant de 0,1 à 10 Hz à une force de contrainte de 0,1%. Cette dernière permet de travailler dans la zone viscoélastique linéaire. Elle est déterminée suite à des essais préliminaires avec un balayage de contraintes à une fréquence de 1 Hz.

Les courbes décrivant la variation des paramètres viscoélastiques à savoir le module élastique ( $G'$ ), le module visqueux ( $G''$ ) et l'angle de perte ( $\tan \delta$ ) en fonction de la fréquence ont été enregistrées.

La variation (augmentation et/ou diminution) des paramètres viscoélastiques induite par l'inhibition des ponts S-S et/ou la dissociation des interactions hydrophobes est exprimée par « l'effet perturbant ». Ce dernier est donné par la relation suivante :

$$\text{Effet perturbant (\%)} = \frac{\text{Valeur de paramètre après traitement} - \text{Valeur initiale de paramètre}}{\text{Valeur initiale de paramètre}} \times 100$$

Les valeurs utilisées pour ces calculs sont prises à 1 Hz de fréquence.

## 2.2. Optimisation du mode opératoire par la méthode des surfaces de réponse pour l'effet perturbant du SDS

L'optimisation consiste à obtenir un effet suffisamment perturbant du comportement rhéologique de la pâte qui pourrait se traduire soit par une augmentation et/ou une diminution de un ou des paramètres rhéologiques ( $G'$ ,  $G''$ , et  $\tan \delta$ ).

Selon le mode opératoire préalablement décrit, la modification apportée au protocole des mesures rhéologiques (voie 01, type c, Figure 10) est l'ajout de l'agent dissociant (SDS). La question qui se pose ici est sur la quantité de SDS à ajouter et à quel moment se fait l'ajout pour que l'effet perturbant soit efficace ?

A fin d'avoir un effet bien estimable sur le comportement rhéologique, la quantité de l'agent dissociant (QAD) ( $X_2$ ) et le moment de l'ajout (MA) ( $X_1$ ) constituent les deux facteurs du plan Central Composite (CCD) utilisé pour l'optimisation de l'effet perturbant.

Le modèle mathématique utilisé est donc un modèle du second degré avec des interactions d'ordre 2, traduisant la dépendance de la réponse étudiée  $Y$  en fonction des deux variables codées ( $X_1$  et  $X_2$ ). Il s'écrit comme suit :

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11} X_1X_1 + b_{22} X_2X_2 + b_{12} X_1X_2$$

Avec :

$Y$ : réponse étudiée ;

$X_1$ ,  $X_2$ : formes codées des variables explicatives ;

$b_0$ : constante du modèle ;

$b_1$ ,  $b_2$ : coefficients linéaires ;

$b_{11}$ ,  $b_{22}$ : coefficients quadratiques ;

$b_{12}$ : coefficient d'interaction.

Le Tableau 07 représente la matrice d'expériences de plan composite orthogonal centré à deux variables pour le SDS.



**Tableau 07.** Matrices d'expériences de plan composite orthogonal centré à deux variables pour le SDS

Essais	X <sub>1</sub> (MA)	X <sub>2</sub> (QAD)
1	-1	-1
2	-1	+1
3	0	0
4	0	+1
5	0	0
6	+1	+1
7	+1,414	0
8	+1	-1
9	0	0
10	0	+1,414
11	0	0
12	0	0
13	-1,414	0

MA : Moment d'Ajout, QAD : Quantité en agent dissociant

### 2.2.1. Détermination des variables réelles

- **Moment de l'ajout (MA) en minutes :** Pour que les molécules de SDS aient un bon mélange avec la pâte, son ajout se fait durant le pétrissage. Pour cela la valeur minimale choisie est de 0 min (début de pétrissage) et maximale est de 18 min. celle-ci a été calculée à partir du début de pétrissage. Les deux minutes restantes sont nécessaires pour bien mélanger la solution traitante.
- **Quantité de l'agent chimique exprimée en g pour 100g de la farine (QAD) :** Elle est fixée selon des essais préliminaires.

Les valeurs réelles correspondant aux niveaux des variables étudiées pour le SDS sont résumées dans le Tableau 08.

**Tableau 08.** Valeurs calculées des variables codées correspondant aux niveaux attribués pour le SDS

Facteurs	-1,414	-1	0	+1	+1,414
MA (min)(X <sub>1</sub> )	0	2,63	9	15,36	18
QAD(%) (X <sub>2</sub> )	0	0,29	1	1,7	2

MA : Moment d'Ajout, QAD : Quantité en agent dissociant

La matrice d'expériences du plan composite orthogonal centré à 2 variables pour le SDS est donnée par le Tableau 09.

**Tableau 09.** Valeurs réelles non codées des couples moment de l'ajout – quantité du SDS

Essais	X <sub>1</sub> (MA) (min)	X <sub>2</sub> (QAD) (%)
1	2,63	0,29
2	2,63	1,7
3	9	1
4	9	0
5	9	1
6	15,36	1,7
7	18	1
8	15,36	0,29
9	9	1
10	9	2
11	9	1
12	9	1
13	0	1

MA : Moment d'Ajout, QAD : Quantité en agent dissociant

### 2.2.2. Optimisation des surfaces de réponses

La méthode de désirabilité a été utilisée pour l'optimisation du plan se qui permet d'obtenir le moment de l'ajout et la quantité en SDS à ajouter optima permettant l'obtention d'un effet perturbant maximal.

### 2.3. Mise en relation : Comportement rhéologique-Interaction moléculaire

L'approche de l'effet de l'interaction moléculaire sur le comportement rhéologique des pâtes avec et sans gluten consiste à étudier la variation (l'évolution) des paramètres rhéologiques en fonction de degré d'inhibition ou de dissociation apportée par la quantité de l'agent chimique ajoutée. Afin de pouvoir mettre en relation « interaction moléculaire-comportement rhéologique », un test de classification de l'effet inhibiteur ou dissociant, exprimé en effet perturbant, sur des pâtes panifiables de différentes qualités rhéologiques a été réalisé.

Dans le but d'expliquer le comportement rhéologique des pâtes sans gluten par rapport à celle témoin de blé tendre en fonction des ponts disulfures et des interactions hydrophobes,

deux formules sans gluten (FRF et FMF) ont fait l'objet d'une classification de l'effet inhibiteur ou dissociant sur leurs paramètres rhéologiques.

Les pâtes à base de FBT1, FBT2, FRF et celles de FMF ont été traitées au cours de leur préparation par l'ajout des différentes quantités en SDS et en NEMI tout en suivant le mode opératoire préalablement optimisé et décrit au dessus. Les quantités utilisées exprimées en g pour 100 g de la farine sont 0 - 0,5 - 1 - 1,5 et 2% pour le SDS et 0- 0,05 - 0,1 - 0,15 et 0,2% pour le NEMI. Ce dernier est ajouté à la préparation farine-sel-eau à 0 min de pétrissage (au début de pétrissage) alors que la solution de SDS est ajoutée à la pâte au cours du 17<sup>ème</sup> min de pétrissage. Une fois traitées et reposées pendant 20 min, les pâtes font alors l'objet des mesures rheométriques.

Les courbes dérivant l'évolution des paramètres rhéologiques en fonction de la variation de la fréquence ont été alors enregistrées pour chaque type de traitement.

L'effet de la dissociation des interactions hydrophobes et de l'inhibition des ponts S-S est exprimé par « l'effet perturbant » des paramètres viscoélastiques. Des courbes décrivant l'évolution de l'effet perturbant des paramètres viscoélastiques en fonction de la quantité de l'agent chimique ajoutée ont été tracées.

### **3. Analyse statistique**

Dans cette partie, d'une manière générale, les résultats ont été présentés sous forme de moyenne  $\pm$  Ecart type.

L'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur est effectuée à fin d'établir une comparaison entre plusieurs moyennes suivi par le test de différence significative (Tukey (HSD)) à fin d'établir la comparaison entre les groupes individuels de moyennes. Le seuil de signification est fixé à 0,05. Ce type d'analyse est réalisé à l'aide du logiciel XLSTAT (version 2009.1.01, Addinsoft).

Le traitement statistique des plans d'expériences a été réalisé à l'aide du logiciel Minitab 13 (version 13.31, Miniab Inc, copyright 2000). Les surfaces de réponses ont été tracées à l'aide de logiciel STATISTICA version 7.0.6.10 (Stat soft, France).

Les modèles des plans d'expériences ont été validés statistiquement par les coefficients de détermination  $R^2$  et le manque d'ajustement. Le premier représente le rapport

de la somme des carrés des réponses calculées à la somme des carrés des réponses mesurées. Plus le  $R^2$  est élevé et proche à 100 plus le modèle est valide. Le manque d'ajustement doit être non significatif pour assurer un bon ajustement (GOUPY et CREIGNTON, 2006)

L'analyse en composantes principales (ACP) est effectuée dans le but de mettre en évidence l'effet des interactions moléculaires sur la qualité rhéologique et technologiques des pâtes avec et sans gluten. Ce traitement est réalisé à l'aide du logiciel XLSTAT (version 2009.1.01, Addinsoft).

### **Partie 03. Etude structurale des pâtes sans gluten**

L'obtention des pâtes panifiables sans gluten ayant une qualité technologique et rhéologique semblable à celles de blé tendre est un défi pour les scientifiques et les technologues (LAZARIDOU *et al.*, 2007). A fin d'assurer l'amélioration de la qualité des pâtes sans gluten, il est nécessaire d'étudier le mécanisme de développement de ce type de pâte en comparaison avec celui témoin de blé tendre et ceci via :

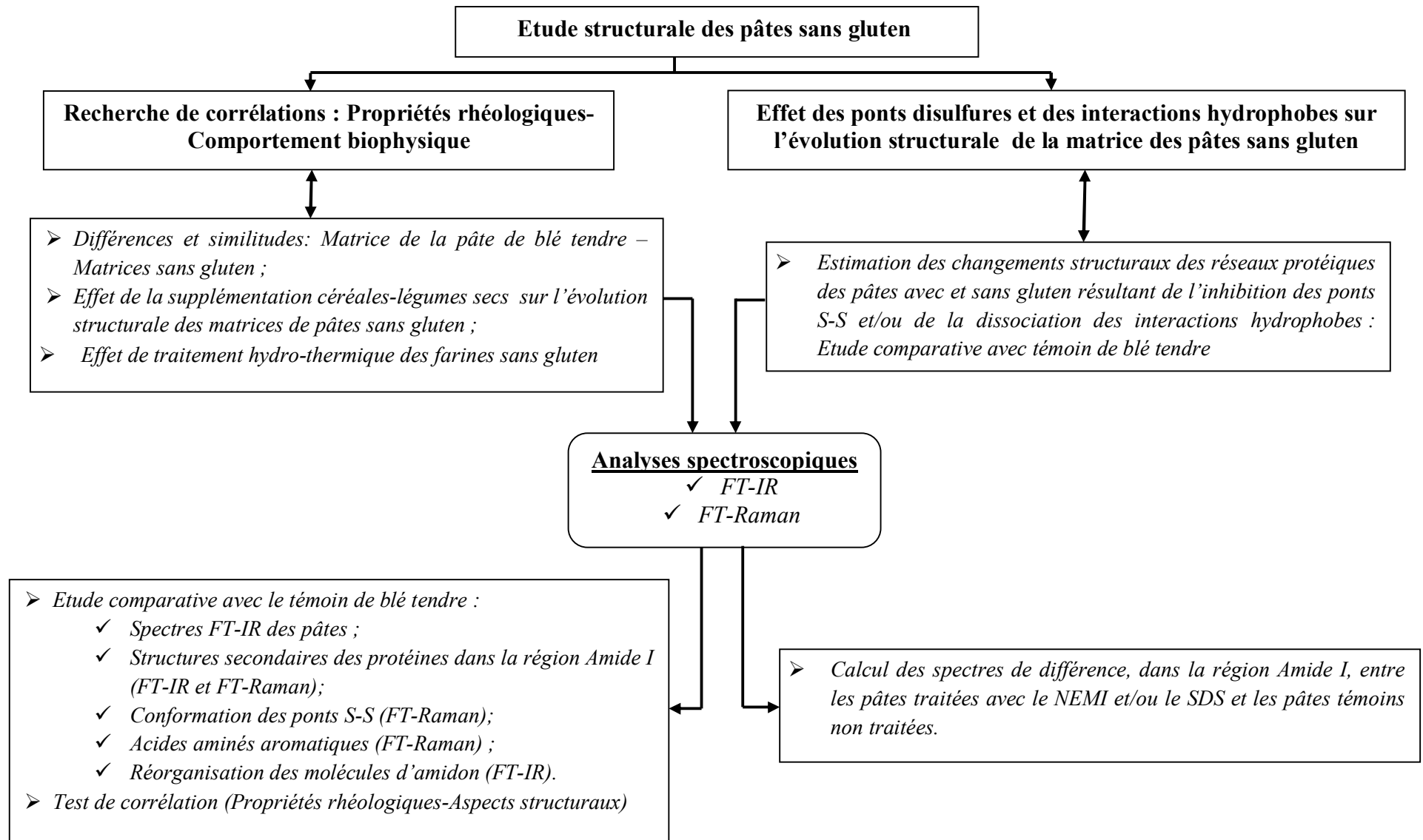
1. La recherche de corrélations entre les propriétés rhéologiques et le comportement biophysique des pâtes sans gluten déterminé par des méthodes spectroscopiques tout en estimant :

- Les différences et les similitudes entre la matrice de la pâte de blé tendre et celles des ingrédients sans gluten ;
- L'effet de la supplémentation céréales-légumes secs (Riz-Fèverole et Maïs-Fèverole) sur l'évolution structurale des matrices de pâtes sans gluten ;
- L'effet du traitement hydro-thermique des farines sans gluten, qui occupe une place intéressante en tant qu'une voie d'amélioration de la qualité simple, naturelle et économique ;

2. L'étude spectroscopique de l'effet des ponts disulfures et des interactions hydrophobes sur l'évolution structurale de la matrice des pâtes sans gluten.

La Figure 12 récapitule les étapes suivies pour acquérir les objectifs de cette partie.

La spectroscopie infrarouge et celle de diffusion Raman à transformée de Fourier (FT-IR et FT-Raman, respectivement) sont des techniques spectroscopiques largement utilisées dans l'étude des systèmes biologiques à savoir l'investigation de la qualité des matrices alimentaires hétérogènes. Elles sont non destructives et capables de travailler avec de faibles quantités de matière sèche ou liquide (WANG *et al.*, 2015). Ces deux techniques sont largement utilisées pour l'investigation et la mise en relation entre la structure secondaire et tertiaire des protéines du gluten avec le comportement rhéologique des pâtes et les propriétés technologiques de pain (SIVAM *et al.*, 2013 ; WANG *et al.*, 2015).



**Figure 12.** Schéma récapitulatif des étapes suivies pour la réalisation de la partie 03

Ces techniques sont également appliquées dans le cas de l'étude des changements de la structure du gluten au cours de l'enrichissement de la pâte à pain avec des fibres alimentaires (NAWROCKA *et al.*, 2015 ; NAWROCKA *et al.*, 2016 ; NAWROCKA *et al.*, 2017). L'étude et l'explication structurale de l'incapacité des ingrédients sans gluten de former des pâtes analogues à celles à base de blé tendre, par les techniques spectroscopiques restent jusqu'à maintenant non exploitées.

C'est dans ce contexte que cette partie vis à tester l'applicabilité et la faisabilité de l'utilisation de ces outils spectroscopiques dans l'étude et l'explication du comportement rhéologique des pâtes à base des formules sans gluten en relation avec les aspects biophysiques des protéines et d'amidon.

## **1. Principe de l'analyse spectroscopique infrarouge et Raman**

La spectroscopie infrarouge est basée sur l'interaction de la lumière infrarouge avec le nuage électronique des liaisons chimiques. Dans le cas de la spectroscopie d'absorption IR, le rayonnement émis par la source polychromatique n'est généralement pas assez énergétique pour provoquer des transitions électroniques, mais il induit des transitions entre les niveaux d'énergie vibrationnelle (MEHROTRA, 2006). La transition vibrationnelle est également observée lors de la diffusion Raman mais les règles de sélections sont plus ou moins différentes de sorte que les faibles bandes dans l'infrarouge peuvent être fortes dans la diffusion Raman et vis versa d'où la complémentarité de ces deux techniques (PELTON et MCLEAN, 2000). La diffusion Raman est une spectroscopie de diffusion inélastique utilisant une radiation monochromatique (laser) pour exciter les électrons d'une liaison chimique. Lors de cette interaction il y a émission de radiations à des longueurs d'onde différentes de celle de la radiation incidente (SMITH et DENT, 2005).

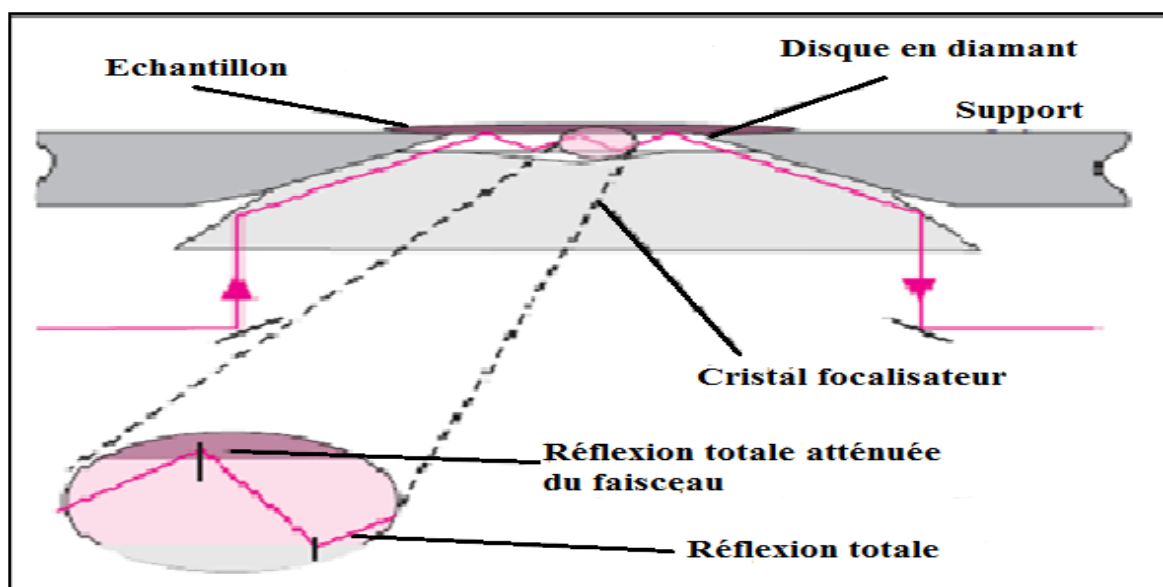
## **2. Acquisition spectrale**

### **2.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)**

L'acquisition des spectres infrarouge de pâtes avec et sans gluten se fait à l'aide d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier de la marque Nicolet 6700 (Thermo Scientific Madison, WI, USA) fonctionnant en mode Réflexion totale Atténuée (Attenuated Total Reflectance ATR) en utilisant le diamant (indice de réfraction  $n=2,4$ ) en contact avec les poudres de pâtes à analyser (pâtes type a, b et c) préparés selon la voie 02 (Figure 09)

préalablement décrite dans la partie 01 (3 : § 10 et 12). Le principe de cette technique repose sur la possibilité de générer à l'interface cristal/échantillon d'une onde dite « évanescente » dont le champ électrique s'atténue le long de la normale à la surface permettant une pénétration de l'onde d'excitation de quelque micromètre au sein de l'échantillon. Ce champ peut se coupler avec les modes de vibration du l'échantillon et donner lieu à une absorption. L'onde évanescente est engendrée suite à une réflexion totale du faisceau optique de la lumière incidente à l'interface l'échantillon-cristal dont un indice de réfraction supérieur à celui de l'échantillon (van VELZEN *et al.*, 2003)(Figure 13).

Le protocole d'analyse suivi pour cette étude est celui adopté par NAWROCKA *et al.*, (2017). Les poudres de pâtes traitées (pâte type c) (voie 2b, Figure 09) et non traitées (pâtes type a et b) (voie 2a, Figure 09) avec le D<sub>2</sub>O ont été placées dans la cellule d'analyse puis elles sont serrées avec elle à l'aide d'une vis mobile à fin d'assurer le bon contact des particules de poudre avec le diamant. Les spectres ont été collectés entre 400 et 4000 cm<sup>-1</sup> avec une résolution de 4 cm<sup>-1</sup>. Chaque spectre est le résultat de 128 scans à fin d'obtenir un taux optimal entre le signal et le bruit. Les spectres collectés décrivent l'évolution de l'absorbance (unité arbitraire (ua)) en fonction du nombre d'ondes exprimé en cm<sup>-1</sup>. Chaque échantillon a fait l'objectif de cinq répétitions. Les spectres obtenus ont été corrigé à la base à l'aide du logiciel OMNIC (version 8.2, Thermo Fischer Scientific Inc., Madison, WI, USA). Le spectre moyen caractérisant chaque type d'échantillon constitue la moyenne des cinq spectres enregistrés et préalablement corrigés à la base.



**Figure 13.** Schémas descriptif du mode de fonctionnement du dispositif ATR (ROUESSAC *et al.*, 2004).



## 2.2. Spectroscopie de diffusion Raman à transformée de Fourier (FT-Raman)

Les spectres FT-Raman ont été acquis sur un module FT-Raman (NXR FT Raman) pour un banc Nicolet 6700 FT-IR. Cet appareil utilise un détecteur InGaAs (Indium gallium arsenide) pour la récolte du signal et un séparateur de faisceau, le CaF<sub>2</sub> (Fluorure de calcium) (Madison, WI, USA), indispensable pour la réalisation de la transformée de Fourier. Les échantillons en poudres (pâtes types a, b et c ; voie 2a) (partie1, 3 § 10) (Figure 09) placés dans des cubes en aciers inoxydables ont été illuminés en utilisant un laser d'excitation Nd-YAG (grenat d'yttrium-aluminium dopé au néodyme) fonctionnant à 1064 nm à fin d'éviter les phénomènes de fluorescence. La puissance laser maximale était utilisée de 1 W (NAWROCKA *et al.*, 2015; NAWROCKA *et al.*, 2016a). Elle est indispensable à l'obtention d'un spectre clair et n'entraînant pas la dégradation de l'échantillon. Les spectres ont été enregistrés sur une étendue de 150-3500cm<sup>-1</sup>. Chaque spectre était la moyenne de 200 scans à une résolution de 8 cm<sup>-1</sup>. Cinq répétitions ont été récoltées pour chaque échantillon. Chaque spectre acquis a fait l'objectif d'une correction à la base à l'aide du logiciel OMNIC (version 8.2, Thermo Fischer Scientific Inc., Madison, WI, USA). Le spectre représentant de chaque type de pâte est la moyenne de ces cinq collections.

Remarque : les spectres FT-IR et FT-Raman caractérisant les molécules utilisées pour le traitement des pâtes (SDS, NEMI et D<sub>2</sub>O) sont aussi déterminés.

## 3. Traitement des données : Détermination des caractéristiques biophysiques et leurs variations à partir des spectres obtenus

Comme il est préalablement évoqué, l'étude de l'évolution structurale des pâtes sans gluten se fait, dans notre cas, à travers l'estimation de leur comportement biophysique en utilisant les spectres acquis. L'estimation du comportement biophysique consiste à déterminer la distribution des structures secondaires des protéines (analyse de la bande Amide I (1600-1700 cm<sup>-1</sup>)) et le mode de réorganisation des molécules d'amidon en analysant les données obtenues par le FT-IR. En plus de ces deux caractéristiques, le FT-Raman permet de donner un aperçu dans la structure globale des protéines. Des caractéristiques supplémentaires dans les spectres Raman, en plus de celles décrivant la distribution des structures secondaires, ont permis la description des modes des chaînes latérales des acides aminés citant le doublet tryptophane et le doublet tyrosine. La conformation des ponts disulfures a aussi fait l'objectif de l'analyse du spectre Raman.

### 3.1. Prétraitement des spectres

Les spectres des pâtes traitées avec le SDS, le NEMI et le D<sub>2</sub>O nécessitent un traitement préalable avant leur utilisation dans l'investigation du comportement biophysique de leurs constituants. Ce traitement consiste à soustraire le spectre de chaque molécule (SDS, NEMI et D<sub>2</sub>O) à partir du spectre de l'échantillon traité qui lui correspond.

Pour le SDS et le NEMI, dont les concentrations sont préalablement connues lors de la préparation des pâtes (pâtes type c), il s'agit de multiplier le spectre de chaque molécule pure par un facteur qui indique sa quantité réelle (concentration) qui se trouve dans la préparation de la pâte traitée. Les spectres de SDS et de NEMI réellement présents dans les pâtes sont alors soustraits à partir de ceux des pâtes traitées, ce qui permet d'éliminer l'effet de ces molécules.

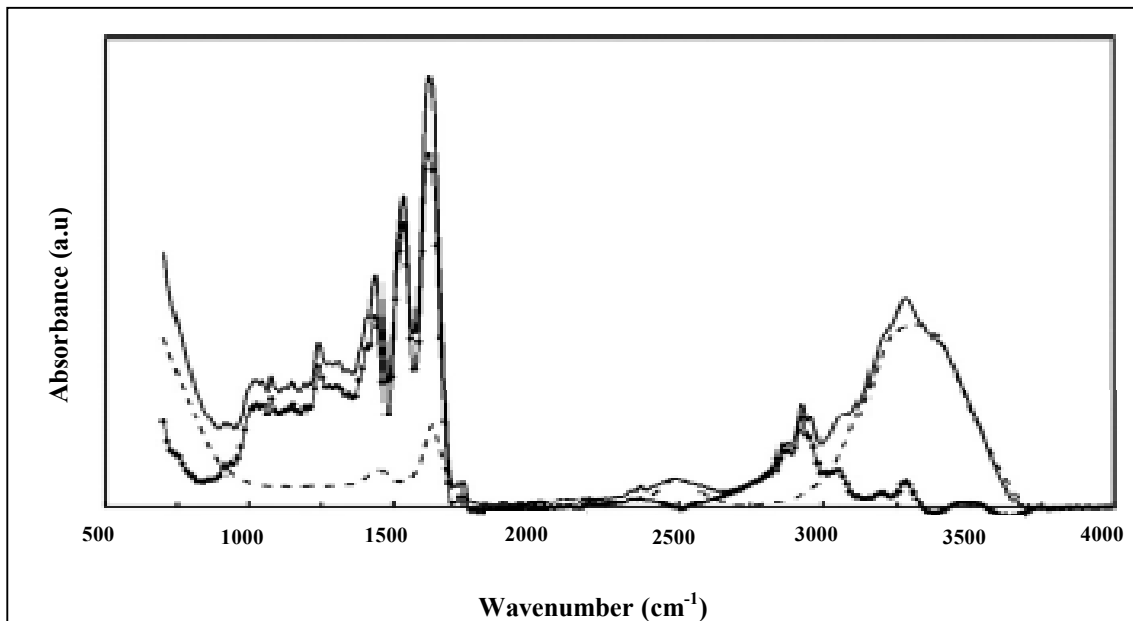
Pour de D<sub>2</sub>O, la quantité qui s'adhère de la pâte reste inconnue. Dans ce cas, on a procédé à une normalisation des spectres (échantillon traité et D<sub>2</sub>O) à la bande caractéristique du D<sub>2</sub>O qui s'apparaît au niveau du spectre de l'échantillon traité à 2503 cm<sup>-1</sup>. IL s'agit d'obtenir la même intensité d'absorbance pour les deux spectres (pâte et D<sub>2</sub>O) à 2503 cm<sup>-1</sup>, selon la méthode décrite par NAWROCKA *et al.* (2017). Ceci permet d'estimer la quantité exacte d'eau lourde qui s'adhère à l'échantillon durant la mise en contact. Une fois normalisé, le spectre de D<sub>2</sub>O est alors soustrait à partir de celui de la pâte (Figure 14).

Le spectre de sel a été également soustrait à partir de ceux des pâtes de la même manière que ceux de SDS et de NEMI.

### 3.2. Caractérisation structurale des protéines

#### 3.2.1. Structure secondaire

Les spectres acquis par les deux méthodes spectroscopiques ont été analysés au sein de la région Amide I (1590-1720) cm<sup>-1</sup> afin d'estimer le type ainsi que le pourcentage de la contribution de chacune des structures secondaires à la formation des réseaux protéiques de nos pâtes. L'objectif de l'utilisation des données de deux méthodes repose sur le fait que les résultats du FT-Raman donnent plus de détail concernant le type de structures secondaires que ceux du FT-IR d'où la complémentarité de ces deux méthodes.

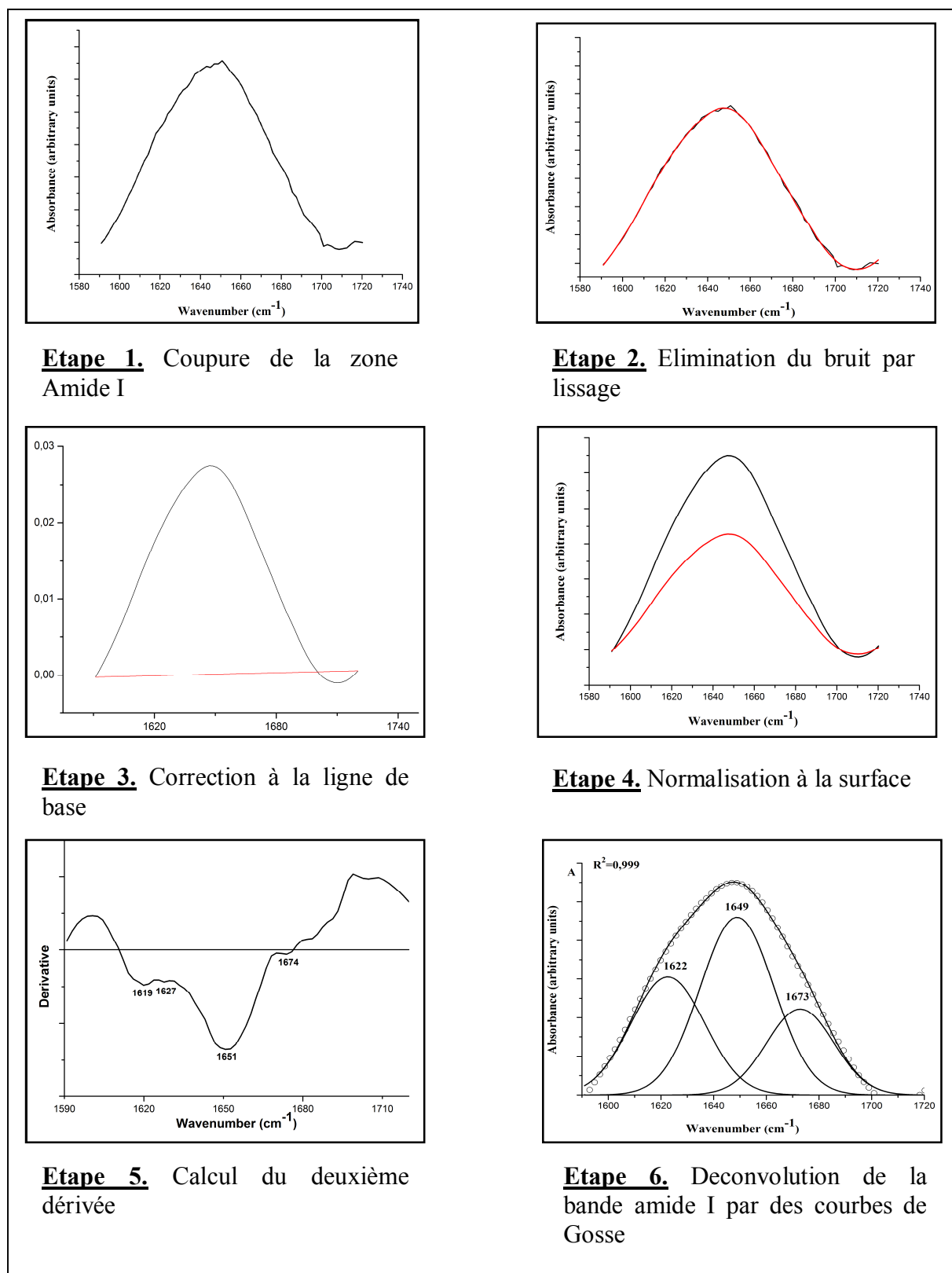


**Figure 14.** Spectres FT-IR de l'échantillon traité (—), du D<sub>2</sub>O (---) et de la différence des deux (—●—) (NAWROCKA *et al.*, 2017).

La bande Amide I ( $1590\text{-}1720\text{ cm}^{-1}$ ) est très sensible aux petites variations de la géométrie moléculaire et des modèles de liaisons hydrogènes, de sorte que chaque type de structure secondaire donne lieu à une fréquence d'étirement (élongation) C=O différente. Elle est donc particulièrement utile pour l'analyse de la composition de la structure secondaire et des changements conformationnels des protéines.

La Figure 15 récapitule les étapes suivies pour la détermination de la composition en structures secondaires de la bande Amide I des différents types de pâtes.

La bande Amide I est coupée du spectre (FT-IR et FT-Raman) dans l'intervalle d'ondes de  $[1590\text{ à }1720]\text{ cm}^{-1}$  (étape 01, Figure 15). Les bandes obtenues, préalablement lissées pour éliminer le bruit de l'analyse (étape 02, Figure 15), subissent des corrections à la ligne de base de telle sorte à ce que l'absorbance au niveau des deux extrémités soit égale à 0 (étape 03, Figure 15). Une fois corrigées, les surfaces de ces bandes sont normalisées pour uniformiser l'aire sous la courbe qui sera égale à 1 pour toutes les régions Amide I (étape 04, Figure 15). Il s'agit de déterminer la surface sous la courbe et la faire diviser sur elle-même. La normalisation de la surface a pour objectif de standardiser les calculs de la composition de la région Amide I en structures secondaires. Ces traitements ont été réalisés à l'aide de logiciel Grams 32 (version 9, Galactic, USA).



**Figure 15.** Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'analyse de la bande Amide I ( $1590-1720$   $\text{cm}^{-1}$ ) pour la détermination des structures secondaires entrant dans la mise en place du réseau protéique : cas de la pâte de blé tendre.

L'apparition d'une large bande Amide I est le résultat de l'accumulation des absorbances des différentes structures secondaires mises en œuvre durant le développement du réseau protéique, ceci rend l'analyse de cette région, en termes de structure secondaire, plus complexe à cause du chevauchement de ces dernières au sein de cette région spectrale (YANG *et al.*, 2015).

Dans le but de séparer les bandes qui se chevauchent dans la région Amide I et de permettre une identification des différents types de structures secondaires composant les réseaux protéiques étudiés, le second dérivé de la bande Amide I a été calculé en utilisant une fonction polynomiale à deux degrés et à cinq points (étape 05, Figure 15). Par la suite, les spectres de second dérivé ont subi un lissage de 11 points avec la fonction polynomiale Savitsky–Golay à deux degrés (SEABOURN *et al.*, 2008). Ce traitement permet l'identification de type de structure secondaire et la position des pics correspondant à chaque type de structure.

La forme intrinsèque d'une seule ligne d'absorption infrarouge est approximée par une fonction Lorentzienne dont la formule est la suivante (SUSI et BYLER, 1983) :

$$A = (S/\pi)/(S^2 + V^2)$$

Où : A représente l'absorbance,  $S^2$  est la largeur à mi-hauteur et V est la fréquence en référence au centre de la ligne.

La deuxième dérivée de cette fonction est donnée par la formule suivante (SUSI et BYLER, 1983) :

$$A'' = -(1/\pi S)[(1 - 3a \cdot V^2)/(1 + a \cdot V^2)^3]$$

Où :  $a = 1/S^2$ .

Pour estimer quantitativement la fraction de chaque type de structure secondaire, la bande Amide I ( $1590-1720 \text{ cm}^{-1}$ ) a été déconvolutive avec des courbes de Gauss en suivant la technique de l'ajustement de la courbe (curve fitting) (étape 06, Figure 15) (PELTON et MCLEAN, 2000; YANG *et al.*, 2015). La détermination du nombre et de la position des pics correspond à chaque courbe de Gauss est basée sur les résultats du deuxième dérivé. Selon SIVAM *et al.* (2013), la qualité de la déconvolution de la bande a été indiquée par les paramètres suivants:  $R^2 > 0,99$ , solution : convergée et  $\chi^2 < 0,001$  ( $\chi^2$  nommé Chi carré réduit). Afin de calculer la contribution en pourcentage de différents types de conformations, les aires

de bandes attribuées à une conformation donnée ont été additionnées et divisées par l'aire totale de la bande Amide I (BOCK et DAMODARAN, 2013 ; NAWROCKA *et al.*, 2016a).

L'analyse de données apportées par cette région se fait à l'aide du logiciel Origin (version 8.0724 PRO, Origin Lab Corporation, USA).

L'attribution des structures secondaires était basée sur le nombre d'ondes d'absorption selon les études de BOCK et DAMODARAN (2013) et YANG *et al.* (2015) pour les régions Amide I du spectre infrarouge. L'attribution des structures secondaires pour la bande Amide I issues du spectre Raman s'est faite selon RYGULA *et al.*, (2013) et NAWROCKA *et al.*, (2016).

### 3.2.2. Conformation des ponts disulfures

La vibration d'étirement disulfure ( $500\text{-}550\text{ cm}^{-1}$ ) est couramment déterminée pour évaluer les changements de conformation, du fait que le pont disulfure est très important pour maintenir une structure tertiaire particulière d'une protéine (LINLAUD *et al.*, 2011). En fonction des différentes conformations des atomes C – S – S – C, la région entre  $500\text{-}550\text{ cm}^{-1}$  a été attribué à la conformation Gauche–Gauche–Gauche (GGG) ( $510\text{ cm}^{-1}$ ), Gauche–Gauche–Trans (GGT) ( $525\text{ cm}^{-1}$ ) et Trans–Gauche–Trans (TGT) ( $540\text{ cm}^{-1}$ ), respectivement (ZHOU *et al.*, 2014).

Dans le but d'éliminer l'effet de l'absorbance de l'amidon dans la région S-S, des spectres d'amidon correspondant à chaque type de pâte ont été collectés et soustraits des spectres de pâtes dans la région  $450\text{-}550\text{ cm}^{-1}$ . Le traitement a été effectué dans la région  $450\text{-}550\text{ cm}^{-1}$  comme suit: premièrement la bande d'amidon et celle de l'échantillon de pâte ont été normalisées au pic maximum d'absorbance d'amidon ( $479\text{ cm}^{-1}$ ), puis la bande d'amidon préalablement normalisée en surface a été soustraite de celle de la pâte. La bande de la région S-S ( $490\text{-}540\text{ cm}^{-1}$ ) a été corrigée à la ligne de base, normalisée en surface et analysée afin d'estimer la conformation structurale des ponts disulfures.

Semblable à la déconvolution de la bande Amide I, les composants Gaussiens dans la région S-S ont été déterminés sur la base du spectre du second dérivé.

### 3.2.3. Acides aminés aromatiques

Le comportement des groupes latéraux est souvent utilisé dans les études de la conformation des protéines (van DAD *et al.*, 1987). En plus de la cystéine, les résidus de tyrosine et du tryptophane sont également impliqués dans le maintien du squelette protéique de la pâte (WIESER, 2007).

A fin d'estimer le comportement des doublets tyrosine vis-à-vis l'établissement du réseau protéique, le rapport « R » entre les intensités à 850 et 830  $\text{cm}^{-1}$  a été calculé. Ce rapport est considéré comme un indicateur de l'état des liens hydrogènes au sein de mélange de phénoxy tyrosine (SIAMWIZA *et al.*, 1975).

L'environnement hydrophobe au sein des protéines a également été étudié par spectroscopie Raman. La bande de tryptophane avec un maximum à 760  $\text{cm}^{-1}$  est utilisée pour indiquer la force de la liaison hydrogène et l'hydrophobicité de l'environnement du cycle indole (LINLAUD *et al.*, 2011). Il s'agit ici de déterminer les intensités à 760  $\text{cm}^{-1}$  et de les comparer.

NAWROCKA *et al.* (2015) suggèrent que l'augmentation de l'intensité de cette bande indique l'enfouissement des résidus de tryptophane à l'intérieur de la molécule protéique. La diminution de son intensité montre la libération de ces résidus de la zone hydrophobe et leur contribution à la production de structures protéiques désordonnées.

### 3.3. Etude des changements de la structure des protéines

Le suivi des changements au niveau de la structure des protéines occupe une place primordiale dans ce travail. Conformément aux objectifs préalablement fixés, ce type de traitement est utilisé pour l'estimation des effets des interactions moléculaires, de la supplémentation céréales-légumes secs et du traitement hydro-thermique des farines sans gluten sur le comportement biophysique des pâtes sans gluten comparativement à celui de la pâte témoin de blé tendre.

Les différences et les similitudes structurales entre les réseaux protéiques sans gluten et celui du gluten ont également été étudiées à travers la soustraction de la bande Amide I de la pâte témoin de blé tendre à partir de celles sans gluten.

Les variations de la structure de réseau protéique produites suite à la supplémentation céréales-légumes secs (Riz/Fèverole et Maïs/Fèverole) ont également pris en considération. Il s'agit ici de faire la soustraction de spectre des pâtes PRF ou PMF à partir de celui de riz ou de maïs, respectivement.

L'estimation du rôle des ponts S-S et des interactions hydrophobes dans le maintien des réseaux protéiques avec et sans gluten est étudiée au niveau de la bande Amide I pour le spectre FT-Raman. Il s'agit de mettre en évidence les changements structuraux induits par l'ajout de NEMI pour les pont S-S et du SDS dans le cas des interactions hydrophobes. Ces changements ont été déterminés par la soustraction de la bande Amide I, préalablement corrigée à la ligne de base et normalisée en surface, de la pâte témoin non traitée à partir de celle de la pâte traitée.

Tous ces traitements ont été inspirés des travaux antérieurs de NAWROCKA *et al.* (2016a) et NAWROCKA *et al.* (2016b).

### 3.4. Aspects biophysiques de l'amidon au sein de la matrice de la pâte

L'étude des aspects biophysiques de l'amidon consiste à déterminer le mode de la réorganisation de ses composants à l'intérieur de son granule. Elle permet d'estimer la participation de la fraction cristalline par rapport à celle amorphe dans le maintien de l'architecture granulaire de l'amidon.

Les bandes d'absorbance à 1047 et 1022  $\text{cm}^{-1}$  caractérisent respectivement les fractions cristallines et amorphes de l'amidon. Le rapport de l'intensité d'absorbance « R » égal à  $I(1047 \text{ cm}^{-1}) / I(1022 \text{ cm}^{-1})$  est fréquemment utilisé comme indicateur du mode de l'organisation de différents types de composants de l'amidon (HERNANDEZ-URIBE *et al.*, 2010; SMITS *et al.*, 1998; MEZIANI *et al.*, 2011).

Une description comparative dans la région d'absorbance de l'amidon (945  $\text{cm}^{-1}$ -1195  $\text{cm}^{-1}$ ) est aussi effectuée pour mettre en place les différences et les similitudes structurales entre l'amidon de la pâte de blé et celui des pâtes à base d'ingrédients sans gluten. Cette discrimination permet aussi la recherche de relations entre la structure de l'amidon et la qualité des pâtes sans gluten.



#### **4. Analyse statistique**

L'analyse en composantes principales (ACP) a été utilisée pour mettre en évidence la relation entre les propriétés rhéologiques et les aspects biophysiques de la structure des protéines ainsi que les caractéristiques de la réorganisation des composants d'amidon afin d'expliquer le comportement rhéologique de la pâte à pain sans gluten par rapport à celle du blé tendre. Ce traitement a été réalisé à l'aide du logiciel XLSTAT (version 2009.1.01, Addinsoft).

# ***Résultats et Discussion***

## Partie 01. Caractéristiques physico-chimiques et aptitudes à la panification des farines étudiées

### 1. Caractéristiques physico-chimiques des farines

La composition biochimique des farines et des formules étudiées est récapitulée dans le Tableau suivant :

**Tableau 10.** Composition biochimique des farines en g pour 100g de la matière sèche

Composants (%)	Humidité	Protéines totales	Lipides libres	Cendres	Glucides totaux*
<b>Riz</b>	10,7±0,85	8,95±0,503	1,39±0,04	2,49±0,65	76,47
<b>Maïs</b>	10,3±0,25	7,05±1,39	6,04±0,11	4,10±0,15	72,51
<b>Fèverole</b>	12,2±0,09	28,12±1,04	2,40±0,51	5,44±0,13	51,84
<b>FRF**</b>	11,2±0,11	15,34	1,72	5,21	68,26
<b>FMF**</b>	10,93±0,025	14,07	4,81	4,54	65,62
<b>FBT3</b>	11,3±0,041	13,31±1,017	1,32±0,47	2,72±0,38	71,35
<b><i>Farines de blé tendre pour l'étude des interactions moléculaires</i></b>					
<b>FBT1</b>	13,81±0,056	10,92±0,055	3,07±0,15	0,59±0,18	71,61
<b>FBT2</b>	13,99±0,018	10,60±0,009	2,17±0,07	0,57±0,75	72,67

\* valeurs des glucides totaux calculées par différences, \*\* valeurs calculées sur la base de la supplémentation 2:1 Céréales : Légumes secs. FRF : Formule Riz-Fèverole, FMF : Formule Maïs-Fèverole. FBT1 : Farine de Blé Tendre type1, FBT2 : Farine de Blé Tendre type 2, FBT3 : Farine de Blé Tendre type 3. L'humidité des farines est calculée par rapport à 100g de la matière humide.

#### 1.1. Teneur en eau

FEILLET (2000) a considéré la teneur en eau des farines comme un facteur déterminant de leur qualité sur le plan hygiénique du fait qu'elle conditionne leur préservation au cours de stockage. Sur le plan technologique, elle est utile à la fois pour calculer les teneurs des autres composants sur une base sèche et déterminer la quantité d'eau à ajouter pour la réalisation des tests rhéologiques et technologiques (test de panification) nécessitant des teneurs en eau finales constantes.

Les résultats obtenus montrent que nos farines donnent des teneurs en eau variant entre 10,3 et 13,99 % (Tableau 10). Ces valeurs sont, respectivement, caractéristiques de la farine de maïs et de FBT2. Toutes nos farines donnent des teneurs en eau inférieur à la valeur exigée (16%) pour assurer une bonne conservation (CHENE, 2001).

GRANDVOINET et PRATX (1994) exigent pour les farines boulangères des teneurs en eau comprises entre 13 et 15,5 %. Uniquement les farines FBT1 (13,81%) et FBT2 (13,99%) donnent des valeurs correspondantes à ces exigences (Tableau 10). La farine FBT3 donne une teneur en eau inférieure à 13%, ceci pourrait être expliqué par les conditions de la mouture ou les normes du pays fabricant. Les farines des ingrédients sans gluten donnent des teneurs en eau inférieure à 13%, ces résultats pourraient être expliqués par le temps court entre la mouture des grains sans gluten et la détermination de leur teneur en eau.

## 1.2. Protéines totales

En panification, les protéines des farines jouent un rôle primordial dans la détermination de la qualité du produit fini à travers leur effet structurant (MARCHETTI *et al.*, 2012). K TENIOUDAKI *et al.*, (2010) estiment que l'aptitude de gluten à produire une pâte avec des caractéristiques rhéologiques désirées est étroitement liée avec sa teneur.

La farine FBT3 donne la teneur en protéines la plus importante ( $13,31 \pm 1,017\%$ ) par rapport aux autres types de farines de blé tendre (Tableau 10). Cette valeur fait partie des exigences de la panification française ( $[12,5 - 13,5] \%$ ) (GUINET et GODON, 1994) et bien positionnée dans l'intervalle donné par MAILHOT et PATTON (1988) ( $[11 - 14] \%$ ) pour que les farines aient une bonne aptitude à la panification.

Les deux autres types de farines de blé tendre FBT1 et FBT2 donnent des teneurs en protéines inférieures à celle obtenue pour la FBT3 avec respectivement  $10,92 \pm 0,055$  et  $10,60 \pm 0\%$  (Tableau 10). Ces valeurs sont inférieures à la recommandation de la panification française (de 12,5 à 13,5%) (GUINET et GODON, 1994) mais elles sont proches à l'intervalle donné par MAILHOT et PATTON (1988) ( $[11 - 14] \%$ ) pour qu'elles puissent présenter de bonnes aptitudes à la panification.

Les farines de riz et de maïs, qui sont à la base des formules sans gluten, présentent les teneurs les plus faibles en protéines avec respectivement  $8,95 \pm 0,503$  et  $7,05 \pm 1,39 \%$  (Tableau 10). Ces valeurs sont supérieures au minimum exigé par le CODEX STAN 154-1985 (7%) (CODEX ALIMENTARUS, 1995). Selon l'intervalle recommandé par MAILHOT et PATTON (1988) ( $[11 - 14] \%$ ), ces deux types de farines ne présentent pas de bonnes aptitudes à la panification.

La farine de la fève, qui représente le supplément des céréales dans la formulation sans gluten, montre la teneur en protéines la plus importante ( $28,12 \pm 1,04\%$ ) (Tableau 10). Cette valeur est bien située dans l'intervalle  $[23 - 38,1] \%$  donné par la FAO (1982) et CUQ *et al.* (1992). Par ailleurs celle-ci reste plus faible que celle trouvée par BENATALLAH (2009) (30%). Les différences observées pourraient être expliquées par l'utilisation des variétés différentes.

La supplémentation céréales-légumes secs prouve son effet améliorant des farines de riz et de maïs en termes de teneur en protéines. L'ajout de 1/3 de la farine de la fève à 2/3 de céréales, augmente la teneur en protéines 1,71 fois pour le riz et 2 fois pour le maïs (Tableau 10). Cette augmentation pourrait assurer l'équilibre de la balance en acides aminés favorisant alors un enrichissement des farines de riz et de maïs en acides aminés essentiels.

### 1.3. Lipides libres

Comme tous les composants de la farine, les lipides libres entrent dans la structuration de la pâte et jouent un rôle important dans le développement de sa qualité rhéologique et donc la qualité technologique de son pain (GOESAERT *et al.*, 2005).

Les farines utilisées dans ce travail donnent des teneurs en lipides libres allant de 1,32 à 6,06% (Tableau 10). La farine de maïs contient la teneur en lipides la plus importante avec  $6,06 \pm 0,11\%$  (Tableau 10). La plus faible teneur en lipide est donnée par la farine de riz avec  $1,32 \pm 0,47\%$ . Toutes les valeurs données par nos farines, à l'exception de la FBT3 ( $1,32 \pm 0,47\%$ ), sont plus ou moins supérieures aux intervalles apportées par la FAO (1982) et ATWELL (2001) : 1 à 2% pour les farines de blé tendre, de 0,3 à 0,5% pour la farine de riz et de 1,5 à 2% pour la farine de la fève. GOESAERT *et al.* (2005) apportent que les lipides dans la farine proviennent d'enveloppes, d'organites et de sphérosomes. La présence importante de ces parties dans la mouture pourrait expliquer la teneur en lipides plus ou moins élevée caractérisant nos farines.

### 1.4. Cendres

La teneur en cendres est considérée comme un critère de choix des farines car elle nous renseigne sur leur richesse en enveloppes (JEANTET *et al.*, 2007).

La farine de blé tendre FBT3 donne une teneur en cendres de  $2,72 \pm 0,38\%$  (Tableau 10). Elle est plus élevée que celles présentées par les deux autres types de farine de

blé tendre FBT1 et FBT2 qui sont respectivement de  $0,59 \pm 0,18$  et de  $0,57 \pm 0,75\%$  (Tableau 10). Uniquement les valeurs données par les farines de blé tendre FBT1 et FBT2 sont incluses dans celles données par BOUDREAU et MENARD (1992), qui préconisent des teneurs en cendres pour les farines panifiables inférieures à 0,6%. La différence en termes de teneur en cendres pourrait être expliquée par la performance de l'extraction des moulins.

Concernant les ingrédients sans gluten, la farine de fèveole représente la teneur en cendres la plus importante ( $5,44 \pm 0,13\%$ ) suivi par celle de maïs ( $4,10 \pm 0,15\%$ ) puis celle de riz ( $2,49 \pm 0,65\%$ ) (Tableau 10). Cette différence pourrait être due au passage de certains fragments d'enveloppes dans les farines au cours du tamisage manuel dans le cas du maïs et de la fèveole.

## **2. Caractéristiques rhéologiques des pâtes**

Les propriétés rhéologiques ont été déterminées afin d'estimer l'aptitude des ingrédients sans gluten à former une pâte à pain sans gluten comparativement à celle obtenue par le témoin de blé tendre.

### **2.1. Propriétés de pétrissage**

Le Tableau 11 résume les propriétés de pétrissage des pâtes utilisées dans notre étude. Ces propriétés sont collectées à partir des farinogrammes enregistrés pour chaque type de pâte.

La pâte de riz avait les valeurs d'absorption d'eau et de temps de développement les plus élevées où elles sont, respectivement, 1,79 et 6,15 fois plus élevées ( $P < 0,05$ ) que celles de la pâte de blé tendre PBT3 (Tableau 11). La forte absorption d'eau pourrait s'expliquer par la nature hydrophile de la farine de riz. A cause du son long temps de développement, la pâte de riz s'est caractérisée par une mauvaise aptitude à la panification, une faible aptitude au pétrissage et des propriétés extensibles relaxantes (SIVARAMAKRISHNAN *et al.*, 2004 ; LAZARIDOU *et al.*, 2007).

La pâte de maïs représente une absorption d'eau ( $79,6 \pm 0,204\%$ ) significativement plus faible que celle de la pâte de riz ( $94 \pm 0,203\%$ ) et plus élevée que celle du témoin de blé tendre (PBT3) ( $52,5 \pm 0,201\%$ ) (Tableau 11). Ce taux d'absorption d'eau permet d'avoir une consistance maximale de 300 UB. Le temps de développement de la pâte de maïs n'a pas été

estimé du fait que ce type de pâte ne peut pas acquérir la consistance de 500 UB quelque soit la quantité d'eau ajoutée.

**Tableau 11.** Propriétés de pétrissage des pâtes étudiées mesurées à 500 UB

Pâtes	Absorption de l'eau (%)	Temps de développement (min)
Riz	94 ± 0,203 <sup>a</sup>	9,85± 0,1 <sup>a</sup>
Maïs	79,6 ± 0,204 <sup>b</sup>	ND
Fèverole	45,6 ± 0,201 <sup>f</sup>	8,21± 0,1 <sup>b</sup>
PRF	79 ± 0,2 <sup>b</sup>	8,07± 0,1 <sup>b</sup>
PMF	58 ± 0,203 <sup>d</sup>	1,58±0,353 <sup>c</sup>
PRF améliorée	38,5 ± 0,204 <sup>g</sup>	7,78±0,1 <sup>b</sup>
PMF améliorée	38,2 ± 0,2 <sup>g</sup>	1,88±0,028 <sup>c</sup>
PBT3	52,5 ± 0,201 <sup>e</sup>	1,6±0,1 <sup>c</sup>
<b><u>Pâtes de blé tendre pour l'étude des interactions moléculaires</u></b>		
PBT1	58,7 ± 0,211 <sup>d</sup>	0,73±0,100 <sup>d</sup>
PBT2	60,8 ± 0,195 <sup>c</sup>	1,06±0,148 <sup>c</sup>

PBT1 : Pâte à base de FBT1, PBT2 : Pâte à base de FBT2, PBT3 : Pâte à base de FBT3, PRF : Pâte à base de la formule Riz-Fèverole, PMF : Pâte à base de la formule Maïs-Fèverole.

ND : non déterminé. Les lettres différents suivant les valeurs dans les colonnes indiquent une différence significative ( $P < 0,05$ ).

La supplémentation Riz-Fèverole entraîne une diminution significative ( $P < 0,05$ ) de l'absorption d'eau (de  $94 \pm 0,23$  % pour la pâte de riz à  $79 \pm 0,2$  % pour la pâte PRF) et du temps de développement (de  $9,85 \pm 0,1$  pour la pâte de riz à  $8,07 \pm 0,1$  min pour la pâte PRF) de la pâte de riz en se rapprochant aux valeurs caractéristiques du témoin de blé tendre (PBT3) (Tableau 11). L'ajout de 1/3 de la farine de fèverole dans la formule FRF conduit à la diminution du caractère hydrophile de la pâte PRF (diminution de la quantité de riz) en augmentant alors son aptitude au pétrissage. En plus de l'effet de la substitution, le traitement hydro-thermique de 13,8% de la fraction de riz constituant la formule FRF a modifié les propriétés hygroscopiques de la farine de riz probablement par l'altération des propriétés fonctionnelles de ses constituants.

La pâte à base de la Formule Maïs-Fèverole (PMF) se caractérise par une absorption d'eau de  $58 \pm 0,203\%$ . Elle est proche à celle du témoin de blé tendre (PBT3) ( $52,5 \pm 0,201\%$ ) et significativement plus faible que celle de la pâte de maïs ( $79,6 \pm 0,204$  %)(Tableau 11). Ce type de pâte (PMF) montre un temps de développement ( $1,58 \pm 0,353$  min) similaire à celui du témoin (PBT3) ( $1,6 \pm 0,1$  min) (Tableau 11). Ces résultats prouvent l'effet améliorant des propriétés de pétrissage de la pâte de maïs induit par la substitution de 1/3 de la farine de maïs

par celle de la fêverole. Cette amélioration permet d'augmenter la consistance de la pâte de maïs de 300 à 500 UB et de corriger donc son aptitude au pétrissage.

Les résultats mentionnés dans le Tableau 11 montrent également que le traitement hydro-thermique d'une fraction de maïs n'affecte pas le temps de développement de la pâte PMF ( $1,58 \pm 0,353$  min pour la pâte PMF et  $1,88 \pm 0,028$  min pour la pâte PMF améliorée) mais il diminue significativement sa capacité d'absorption d'eau ( $58 \pm 0,203$  % pour la pâte PMF contre  $38,2 \pm 0,2$  pour la pâte PMF améliorée). Cette diminution pourrait être expliquée par la quantité d'eau apportée par le gel de maïs ajouté.

Les résultats du farinographe obtenus pour toutes les pâtes indiquent que la pâte de blé tendre (PBT3) présente une meilleure aptitude technologique à la panification par rapport à celles sans gluten vue qu'elle montre, simultanément, le temps de développement le plus court ( $1,6 \pm 0,1$  min) et l'absorption d'eau la plus faible ( $52,5 \pm 0,201$  %) (Tableau 11), observations confirmées par LAZARIDOU *et al.* (2007).

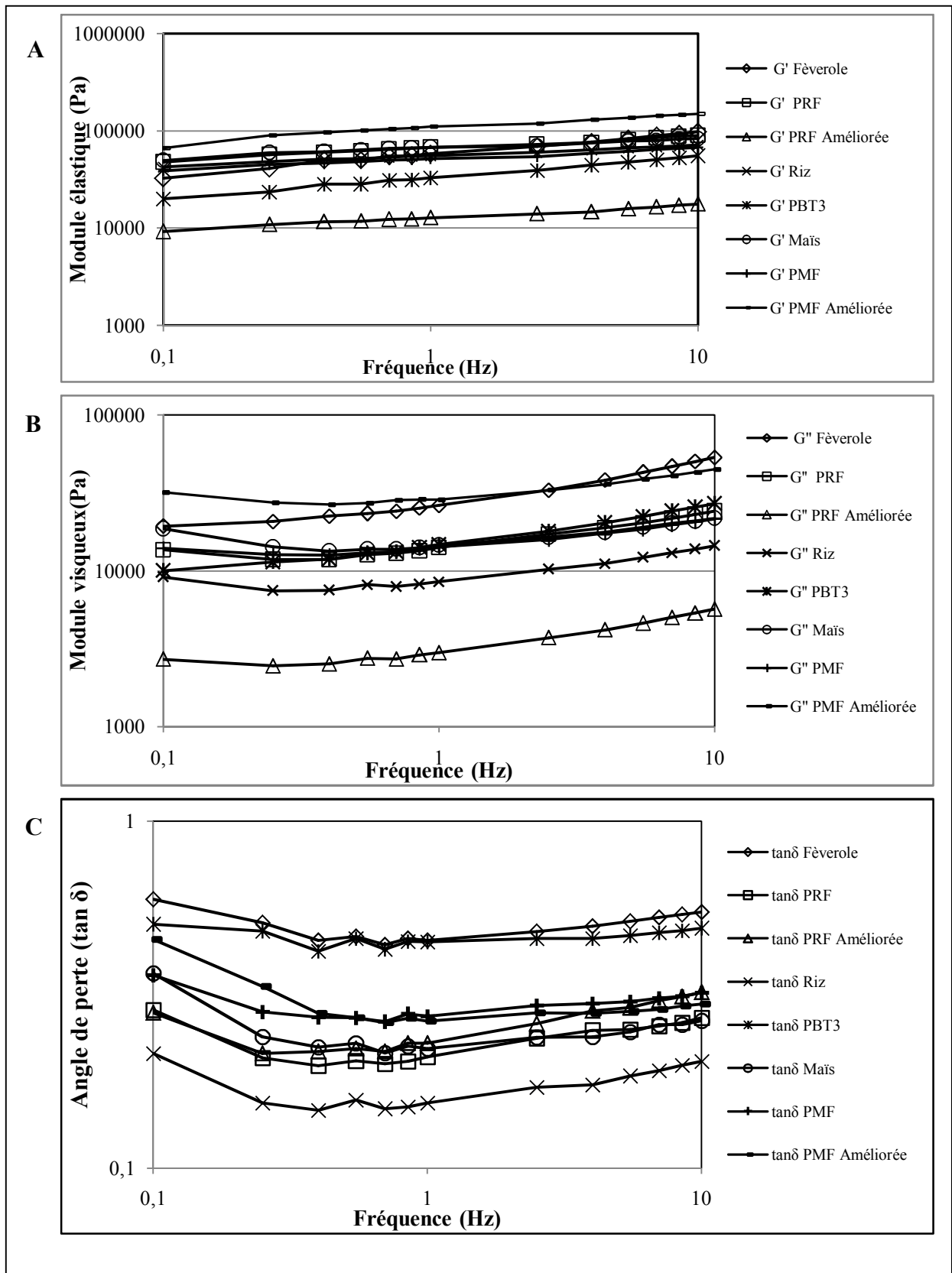
Les pâtes de blé tendre PBT1 et PBT2 donnent des propriétés de pétrissage significativement différentes ( $P < 0,05$ ). La pâte PBT1 présente la meilleure qualité car elle se caractérise par la plus faible capacité d'absorption d'eau ( $58,7 \pm 0,211\%$ ) et le temps de pétrissage le plus court ( $0,73 \pm 0,100$  min) (Tableau 11). Ces deux pâtes donnent également une meilleure aptitude technologique à la panification, en fonction des propriétés de pétrissage, que les pâtes sans gluten PRF et PMF. Cette même constatation a été signalée par LAZARIDOU *et al.* (2007).

## 2.2. Comportement viscoélastique

Le comportement viscoélastique des pâtes a été présenté par les changements du module élastique ( $G'$ ), du module visqueux ( $G''$ ) et de l'angle de perte ( $\tan \delta$ ) en fonction de la variation de la fréquence dans la région viscoélastique linéaire (Figure 16).

Le module élastique ( $G'$ ) représente l'énergie stockée par le système après déformation qui pourrait être libérée après repos. Le module visqueux ( $G''$ ) représente l'énergie dissipée, qui est perdue sous forme de frottement interne. Le  $\tan \delta$  indique la contribution relative des composants visqueux et élastiques dans le comportement des matériaux (DUS et KOKINI, 1990).





**Figure 16.** Evolution des caractéristiques viscoélastiques des pâtes ( $G'$  (A),  $G''$  (B) et  $\tan \delta$  (C)) en fonction de la fréquence (Hz). PBT3 : Pâte à base de FBT3, PRF : Pâte à base de la formule Riz-Fèverole, PMF : Pâte à base de la formule Maïs-Fèverole.

D'après KHATKAR et SCHOFIELD (2002), le  $\tan \delta$  est inférieur à 1 si l'échantillon ressemble davantage à un matériau élastique. Lorsque le  $\tan \delta$  est supérieur à 1, le module visqueux est prédominant et l'échantillon se comporte donc comme un matériau visqueux.

Les valeurs de  $\tan \delta$  sont inférieures à 1 pour toutes les pâtes étudiées, ceci indique que toutes ces pâtes se comportent davantage comme un matériau élastique. Dans notre étude, le  $\tan \delta$  de toutes les pâtes examinées a diminué avec l'augmentation de la fréquence jusqu'à la valeur de 0,07 Hz, puis une augmentation des valeurs de  $\tan \delta$  a été notée (Figure 16C). L'augmentation de la fréquence jusqu'à 0,07 Hz a provoqué un temps de relaxation plus court du matériau « pâte » et il s'est comporté de manière plus élastique avec des valeurs de  $\tan \delta$  diminuées. À des fréquences plus élevées où plus d'énergie est introduite dans les échantillons, certaines de plus faibles liaisons de la structure de la pâte pourraient être rompue et s'est manifestée donc par une augmentation du  $\tan \delta$ .

Le balayage en fréquence des modules  $G'$  et  $G''$  a montré que leurs valeurs sont augmentées dans toute la gamme de fréquences (Figure 16 A et B, respectivement). Cela signifie que les échantillons étaient des gels forts et aucune rupture majeure de la microstructure ne s'est produite sous des déformations dynamiques sinusoïdales. Un comportement similaire des pâtes sans gluten à base de riz a été observé par WEIPERT (1990) et LAZARIDOU *et al.* (2007).

Afin d'établir une discussion comparative du comportement viscoélastique des différents types de pâte étudiées, l'analyse de la variance a été réalisée pour les modules  $G'$ ,  $G''$  et le  $\tan \delta$  des pâtes étudiées à 1 Hz de fréquence. Les résultats sont résumés dans le Tableau 12.

Les résultats obtenus montrent qu'à la fréquence de 1 Hz toutes les pâtes donnent un module élastique supérieur au module visqueux et un  $\tan \delta$  inférieur à 1. La pâte PMF améliorée a montré le module élastique le plus élevé ( $G' = 96420 \pm 20195$  Pa) tandis que celui de la PRF améliorée était le plus faible ( $G' = 11920 \pm 1202$  Pa) (Tableau 12). A l'exception de cette dernière, toutes les pâtes sans gluten avaient un module élastique significativement ( $P < 0,05$ ) plus élevé que celui de la pâte PBT3 ( $32940 \pm 689$  Pa). Ces résultats étaient similaires à ceux de SIVARAMAKRISHNAN *et al.* (2004), qui ont étudié les propriétés rhéologiques de la pâte de riz, où leurs pâtes sans gluten à base de riz ont montré un module élastique plus élevé que celui de la pâte témoin de blé tendre. Selon LAZARIDOU *et al.* (2007), les valeurs

les plus élevées de  $G'$  caractérisant les pâtes de riz ( $55330 \pm 1157$  Pa), de maïs ( $71720 \pm 1562,7$  Pa), de féverole ( $558010 \pm 1213$  Pa) et des formules FRF ( $51071 \pm 1068$  Pa) et FMF ( $50320 \pm 3783$  Pa) (Tableau 12) démontrent que ces pâtes sans gluten sont plus rigides et moins extensibles que la pâte de blé tendre. Ces auteurs indiquent que la rigidité des pâtes sans gluten est affectée par le niveau de la structuration de leurs matrices d'une manière à ce que leurs valeurs de  $G'$  augmentent avec l'augmentation du niveau de structuration. HE et HOSENEY (1992) ont suggéré que la faible valeur de  $G'$  est due à l'existence d'interactions probablement importantes entre les protéines et les autres composants de la pâte. Cela peut indiquer que les protéines des ingrédients sans gluten présentent une faible capacité à interagir avec les autres constituants de la pâte par rapport aux protéines du gluten, ceci pourrait expliquer la faible élasticité des matrices sans gluten.

**Tableau 12.** Paramètres rhéologiques ( $G'$ ,  $G''$  et  $\tan \delta$ ) des pâtes dans le domaine viscoélastique linéaire à une fréquence de 1 Hz

Pâtes	$G'$ (Pa)	$G''$ (Pa)	$\tan \delta$
<b>Riz</b>	$55330 \pm 1157^b$	$8523 \pm 178^c$	$0,154 \pm 0,003^g$
<b>Maïs</b>	$71720 \pm 1562,7^a$	$15705 \pm 6083,6^b$	$0,218 \pm 0,003^f$
<b>Féverole</b>	$58010 \pm 1213^b$	$26350 \pm 551^a$	$0,454 \pm 0,009^a$
<b>PRF</b>	$51075 \pm 1068^b$	$14165 \pm 92^b$	$0,277 \pm 0,004^d$
<b>PMF</b>	$50320 \pm 3783^b$	$14100 \pm 658^b$	$0,280 \pm 0,002^d$
<b>PRF améliorée</b>	$11920 \pm 1202^d$	$2920 \pm 87^c$	$0,254 \pm 0,018^c$
<b>PMF améliorée</b>	$96420 \pm 20195^a$	$24802,5 \pm 5356^a$	$0,257 \pm 0,0015^c$
<b>PBT3</b>	$32940 \pm 689^c$	$14780 \pm 309^b$	$0,449 \pm 0,009^a$

**Pâtes à base de blé tender destinées à l'étude des interactions moléculaires**

<b>PBT1</b>	$33\ 940 \pm 2644,58^c$	$13960 \pm 1442,5^b$	$0,411 \pm 0,0104^b$
<b>PBT2</b>	$37650 \pm 1285,65^c$	$14010 \pm 735,39^b$	$0,372 \pm 0,007^c$

PBT1 : Pâte à base de FBT1, PBT2 : Pâte à base de FBT2, PBT3 : Pâte à base de FBT3, PRF : Pâte à base de la formule Riz-Féverole, PMF : Pâte à base de la formule Maïs-Féverole.

Les lettres différents suivant les valeurs dans les colonnes indiquent une différence significative ( $P < 0,05$ ).

La supplémentation de la farine de maïs avec celle de la féverole a significativement réduit le module élastique de la pâte de maïs de  $71720 \pm 1562,7$  à  $50320 \pm 3783$  Pa (PMF), alors que la supplémentation Riz-Féverole n'affecte pas ce module. Le traitement hydro-thermique entraîne une augmentation significative du caractère élastique de la pâte PMF de  $51075 \pm 1067,7$  à  $96420 \pm 20195$  Pa (PMF améliorée) (Tableau 12). L'effet contraire est noté dans le cas de la farine de riz où on observe une diminution accrue du module élastique de  $51075 \pm 1068$  (PRF) à  $11920 \pm 1202$  Pa (PRF améliorée) (Tableau 12).

La pâte de la fèveole et la pâte PMF améliorée donnent des modules visqueux ( $G''$ ) ( $26350 \pm 551$  Pa et  $24802,5 \pm 5356$  Pa, respectivement) significativement supérieurs à celui de blé tendre ( $14780 \pm 309$  Pa) (Tableau 12). Comme il est indiqué par CABALLERO *et al.* (2016), l'augmentation des modules élastiques ( $G'$ ) et visqueux ( $G''$ ) est le résultat du renforcement de la réticulation des différentes fractions protéiques de la farine. Les mêmes auteurs suggèrent que la structure des protéines de la farine pourrait être modifiée en raison de la formation de gros polymères insolubles.

Le  $G''$  le plus bas est celui de la pâte PRF améliorée ( $2920 \pm 87$  Pa) où il est 5,06 fois plus inférieur à celui du blé tendre. La supplémentation de la farine de riz avec celle de la fèveole augmente considérablement le module visqueux de la pâte de riz de  $8523 \pm 178$  à  $14165 \pm 92$  Pa (PRF) où il sera similaire à celui de la pâte de blé (Tableau 12). Les valeurs identiques du module visqueux présentées par la pâte PRF par rapport à celle de blé tendre (PBT3) indique que la supplémentation Riz-Fèveole affecte beaucoup plus le comportement visqueux que le comportement élastique.

La pâte PMF améliorée a donné une valeur de  $G''$  ( $24802,5 \pm 5356$  Pa) significativement plus élevées que celles du blé tendre (PBT3) (Tableau 12). Contrairement à la pâte PRF, le traitement hydro-thermique augmente significativement les modules visqueux de la pâte PMF.

DOBRSZCZYK et SCTTOFIELD (2003) rapportent que les valeurs élevées des modules élastiques et visqueux que montrent les pâtes sans gluten pourraient être le résultat du faible enchevêtrement de leurs protéines suite à l'incapacité de ces dernières à établir des ponts S-S au cours de développement de la pâte.

Les pâtes de riz, de maïs, PRF, PMF, et des formules améliorées (PRF améliorée et PMF améliorée) ont donné des valeurs de  $\tan \delta$  inférieures à celles des pâtes de la fèveole et de blé tendre (PBT3). Le  $\tan \delta$  le plus faible a été enregistré pour la pâte de riz ( $0,154 \pm 0,003$ ). Il est 2,91 fois plus inférieur à celui de la pâte de blé tendre (PBT3) ( $0,449 \pm 0,009$ ) (Tableau 12). Ceci montre que ce type de pâte se comporte plus comme un matériau très élastique tendant vers le solide. Selon GUJRAL *et al.* (2003), l'augmentation de la valeur de  $\tan \delta$  explique la diminution de la contribution relative du caractère solide à la formation de la pâte. Cela pourrait expliquer que les faibles valeurs de  $\tan \delta$  des pâtes sans gluten pourraient être dues à la forte participation du caractère solide dans la formation de ce type de pâtes que le

caractère visqueux. WEIPERT (1990) a montré que la pâte à faible  $\tan \delta$  reflète un matériau rigide ayant une texture moins élastique et un aspect de surface sec.

La supplémentation Riz-Fèverole et Maïs-Fèverole augmente d'une manière significative ( $P < 0,05$ ) la valeur de  $\tan \delta$  de la pâte de maïs de  $0,218 \pm 0,003$  à  $0,280 \pm 0,002$  et de celle de riz de  $0,154 \pm 0,003$  à  $0,277 \pm 0,004$  (Tableau 12). Ceci indique que la supplémentation Céréales-Légumes secs améliore le comportement viscoélastique des pâtes sans gluten à base de céréales en réduisant la contribution du caractère solide lors de sa formation. Cela pourrait s'expliquer par la diminution du niveau de structuration de la matrice des pâtes PRF et PMF et supposerait que leurs protéines développent plus de liens avec les autres constituants de la pâte.

Le traitement hydro-thermique a produit une diminution significative des  $\tan \delta$  des pâtes PRF et PMF améliorées qui sont respectivement 1,09 et 1,08 fois plus inférieure à celles des pâtes PRF et PMF. Comme il est indiqué dans les propriétés pastières des pâtes des formules améliorées, l'addition de la farine de maïs ou de riz traitée hydro-thermiquement aux formules a réduit la viscosité de leurs pâtes (Tableau 12). Ceci pourrait expliquer leur comportement viscoélastique.

Les farines de blé tendre FBT1 et FBT2 donnent des pâtes significativement différentes sur le plan viscoélastique avec des  $\tan \delta$  respectifs de 0,411 et de 0,372. Ceci indique que la pâte PBT1 est plus viscoélastique que la pâte PBT2.

### **2.3. Propriétés de la viscosité**

Les propriétés de la viscosité des pâtes étudiées sont présentées dans le Tableau 13. Les courbes décrivant l'évolution de la viscosité des pâtes étudiées en fonction du temps sont présentées dans l'Annexe 01.

Il en ressort que la Température de Gélatinisation (TG), qui représente la température à laquelle la viscosité de la suspension commence à augmenter, est similaire pour toutes les pâtes, à l'exception de la pâte de riz qui montre une température de gélatinisation ( $81,7 \pm 1,41$  °C) significativement plus élevée que celles des autres. Au départ toutes les pâtes donnent des Viscosités initiales (Vis I) similaires (Tableau 13).

Les pâtes de blé tendre et de maïs ont les valeurs les plus élevées de la Viscosité Maximale (Vis M) ( $223 \pm 13,43$  et  $213,5 \pm 14,85$  m Pas, respectivement) et du Creux (Cr)

( $80 \pm 7,07$  et  $31 \pm 2,83$  mPas, respectivement) (Tableau 13). Les pâtes de riz et de fèveole montrent des Vis M de  $135 \pm 11,31$  et de  $117,5 \pm 4,95$  mPa et des creux de  $23,5 \pm 2,12$  et de  $2,5 \pm 0,71$  mPa, respectivement (Tableau 13). Ces valeurs sont significativement ( $P < 0,05$ ) plus faibles que celles présentées par le témoin de blé tendre. La supplémentation Riz-Fèveole et Maïs-Fèveole diminue significativement ( $P < 0,05$ ) les Vis M et les Cr de la pâte de riz (de  $135 \pm 11,31$  à  $120,5 \pm 3,45$  mPa pour la Vis M et de  $23,5 \pm 2,12$  à  $20 \pm 4,24$  mPa pour le Cr) et celle de maïs (de  $213,5 \pm 14,85$  à  $166 \pm 5,66$  mPa pour la Vis M et de  $31 \pm 2,83$  à  $26 \pm 2,83$  mPa pour le Cr), respectivement (Tableau 13). Le traitement hydro-thermique affecte significativement la Vis M et le Cr de la pâte PRF où il diminue les valeurs de ces paramètres de  $120,5 \pm 3,45$  à  $91 \pm 11,31$  mPa pour la Vis M et de  $20 \pm 4,24$  à  $12,5 \pm 2,12$  mPa pour le Cr (Tableau 13).

**Tableau 13.** Caractéristiques de la viscosité des pâtes étudiées

Pâtes	TG (°C)	Vis I (mPa)	Vis M (mPa)	Vis F (mPa)	Cr (mPa)	Rétrog (mPa)
<b>PBT3</b>	$73,5 \pm 2,19^b$	$14,5 \pm 0,71^a$	$229,5 \pm 13,43^a$	$333 \pm 12,73^a$	$80 \pm 7,07^a$	$186,5 \pm 6,36^b$
<b>Riz</b>	$81,7 \pm 1,41^a$	$16,5 \pm 0,71^a$	$135 \pm 11,31^b$	$231 \pm 16,97^{b,c}$	$23,5 \pm 2,12^c$	$122,5 \pm 10,61^d$
<b>Maïs</b>	$74,45 \pm 0,07^b$	$13,5 \pm 2,12^a$	$213,5 \pm 14,85^a$	$385,5 \pm 24,75^a$	$31 \pm 2,83^b$	$206,5 \pm 14,85^a$
<b>Fèveole</b>	$72,45 \pm 0,35^b$	$13 \pm 1,41^a$	$117,5 \pm 4,95^c$	$185 \pm 8,49^d$	$2,5 \pm 0,71^d$	$78 \pm 4,24^e$
<b>PRF</b>	$75,6 \pm 0,14^b$	$15 \pm 1,41^a$	$120,5 \pm 3,45^c$	$197 \pm 5,66^{c,d}$	$20 \pm 4,24^c$	$101 \pm 5,66^e$
<b>PMF</b>	$74,8 \pm 0,14^b$	$14 \pm 0^a$	$166 \pm 5,66^b$	$276 \pm 7,07^b$	$26 \pm 2,83^{b,c}$	$141,5 \pm 4,95^c$
<b>PRF améliorée</b>	$76,35 \pm 1,06^b$	$15,5 \pm 0,71^a$	$91 \pm 11,31^d$	$159 \pm 14,85^e$	$12,5 \pm 2,12^c$	$88 \pm 4,24^e$
<b>PMF améliorée</b>	$74,4 \pm 0,14^b$	$14 \pm 0^a$	$146 \pm 2,83^b$	$245 \pm 5,66^{b,c}$	$18 \pm 0^c$	$122 \pm 83^f$

PBT1 : Pâte à base de FBT1, PBT2 : Pâte à base de FBT2, PBT3 : Pâte à base de FBT3, PRF : Pâte à base de la formule Riz-Fèveole, PMF : Pâte à base de la formule Maïs-Fèveole. TG : Température de Gélatinisation, Vis I : Viscosité Initiale, Vis M : Viscosité Maximale, Vis F : Viscosité Finale, Cr : Creux, Rétrog : Rétrogradation.

Les lettres différents suivant les valeurs dans les colonnes indiquent une différence significative ( $P < 0,05$ ).

La Vis M acquise pendant le chauffage représente le point de gonflement maximal des granules d'amidon. Tandis que la diminution de la viscosité (viscosité de rupture où nommée également creux) est une mesure de la résistance des granules gonflés à la désintégration à haute température (SHEVKANI *et al.*, 2016). RAGAE *et al.* (2006) ont suggéré que les valeurs élevées de la Vis M sont en relation avec le degré de gonflement des granules de l'amidon pendant le chauffage. Plus il y a de granules d'amidon ayant une capacité de gonflement élevée, plus le paramètre Vis M est élevé. Ces suggestions permettent d'expliquer nos résultats où la Vis M élevée indiquerait que les granules d'amidon de la pâte PBT3 et de

maïs auraient une capacité de gonflement plus importante que celles des autres types de pâte. Les grains de l'amidon de la pâte de blé tendre se caractérisent par une forte aptitude à la désintégration aux hautes températures par rapport aux autres types de pâtes. Ceci est corroboré par les valeurs de creux les plus élevées que montrent les empois de ce genre de pâte.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par RAGAE *et al.* (2006) qui ont constaté que la farine de blé tendre donnait des valeurs élevées de la viscosité maximale et du creux par rapport aux farines de blé dur entier, de l'orge et de sorgho. Selon RAGAE *et al.* (2006), les faibles valeurs de la Vis M et de Cr caractérisant la pâte de la fève de cacao montre la stabilité la plus élevée de ses granules d'amidon vis-à-vis aux changements de la température. Toutes ces suggestions sont appuyées par les corrélations positives obtenues par SHEVKANI *et al.* (2011) entre le pouvoir de gonflement des granules de l'amidon, la Vis M et le Cr indiquant que les amidons ayant une grande capacité de se gonfler sont moins résistants à la désintégration lors de la cuisson et présentent, par conséquent, une plus grande dégradation de la viscosité après avoir atteint la valeur maximale.

Pendant le refroidissement, les viscosités de toutes les pâtes ont augmenté jusqu'à une Viscosité Finale (Vis F) résultante de la formation d'une structure de gel en raison de la réassociation entre les molécules d'amylose (SHEVKANI *et al.*, 2016).

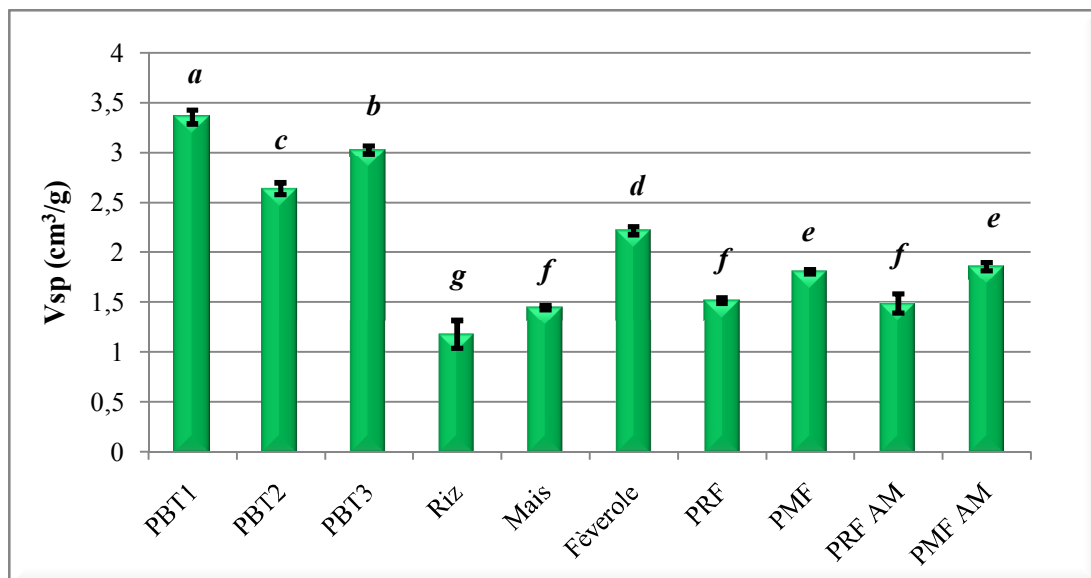
Le paramètre Rétrogradation (Rétrog) ou "viscosité de retrait" mesure la récupération de la viscosité durant le refroidissement (SHEVKANI *et al.*, 2016). La valeur élevée du paramètre « rétrogradation » indique le taux élevé de la rétrogradation et de synérèse de l'amidon (RAGAE *et al.*, 2006). Selon ce concept, les pâtes de blé et de maïs, qui montrent des valeurs élevées du paramètre « rétrogradation » ( $183,5 \pm 6,36$  mPa et  $206,5 \pm 14,85$  mPa respectivement) (Tableau 13), donnent des molécules d'amidon qui se caractérisent par un taux de rétrogradation significativement ( $P < 0,05$ ) plus important. Ceci pourrait être expliqué par la richesse des granules d'amidon du blé et de maïs en amylose (SHEVKANI *et al.*, 2016) et en amylopectine de longues chaînes et de haut Degré de polymérisation (KOHYAMA *et al.*, 2004).

Les pâtes de la fève de cacao, de PRF et de PRF améliorée montrent les plus faibles tendances à la rétrogradation avec respectivement  $78 \pm 4,24$  mPa et  $88 \pm 4,24$  mPa (Tableau 13).

Le traitement hydro-thermique d'une partie de la farine de maïs ou de riz a entraîné une diminution de tous les paramètres de la viscosité de la PMF et de la PRF, respectivement. Ceci pourrait être dû à la modification des propriétés de la viscosité de la farine de maïs et de riz traitées, probablement en raison de la formation de liaisons entre les chaînes de la région amorphe dans les molécules de l'amidon et l'altération de la cristallinité induite par le traitement hydro-thermique (ZAVAREZE et GUERRA DIAS, 2010). Les mêmes résultats ont été trouvés par DIB *et al.* (2018) qui ont étudié l'effet de l'addition de la farine de maïs traitée hydro-thermiquement sur la qualité des pâtes sans gluten à base de la formule Maïs-Fèverole.

### 3. Caractéristiques technologiques des pains par le volume spécifique

La Figure 17 représente les volumes spécifiques des pains issus des pâtes étudiées.



**Figure 17.** Volumes spécifiques des pains fabriqués à partir des pâtes étudiées. PBT1 : Pâte à base de FBT1, PBT2 : Pâte à base de FBT2, PBT3 : Pâte à base de FBT3, PRF : pâte à base de la formule Riz-Fèverole, PMF : Pâte à base de la formule Maïs-Fèverole, AM : améliorée. (Les lettres différents au-dessus des histogrammes montrent des différences significatives ( $\alpha=0,05$ )).

La pâte de blé tendre PBT3 donne des pains avec un volume spécifique ( $3,08 \text{ cm}^3/\text{g}$ ) significativement plus élevé que celui des pains à base d'ingrédients sans gluten (Figure 17). Ceci pourrait être dû à la présence des protéines de gluten capable de former un réseau viscoélastique tridimensionnel qui possède une forte capacité de rétention gazeuse, ce qui n'est pas le cas pour les protéines des ingrédients sans gluten (SIVAM *et al.*, 2013).

La farine de la fèverole donne des pains ayant des volumes spécifiques ( $2,22 \pm 0,04 \text{ cm}^3/\text{g}$ ) significativement élevés que ceux à base de riz ( $1,18 \pm 0,14 \text{ cm}^3/\text{g}$ ) et de maïs



( $1,45 \pm 0,02 \text{ cm}^3/\text{g}$ ) où les pains à base de riz montrent les plus faibles volumes spécifiques (Figure 17). Ces résultats pourraient être expliqués par la teneur en protéines la plus élevée que montre la farine de la fève. Le faible temps de développement, la faible capacité d'absorption d'eau caractérisant la pâte de fève ainsi que son comportement viscoélastique ( $\tan \delta = 0,454 \pm 0,009$ ) similaire à celui de la pâte témoin PBT3 ( $\tan \delta = 0,449 \pm 0,009$ ) sont probablement à l'origine de la capacité de rétention gazeuse de ce type de pâte qui se traduit par des pains avec des volumes spécifiques plus élevés.

En comparaison avec les pains issus des ingrédients sans gluten à base de riz ou de maïs, la supplémentation Riz-Fève et Maïs-Fève améliore significativement ( $p < 0,05$ ) la capacité de rétention gazeuse des pâtes de riz et de maïs (une augmentation du volume spécifique de  $1,18 \pm 0,14$  à  $1,54 \pm 0,025 \text{ cm}^3$  pour la pâte PRF et de  $1,45 \pm 0,02$  à  $1,81 \pm 0,02 \text{ cm}^3$  pour la pâte PMF), respectivement (Figure 17). Ceci pourrait être le résultat de l'amélioration des propriétés techno-fonctionnelles des composants des farines de riz et de maïs suite à la substitution de 1/3 de leurs masses par la farine de fève.

Le traitement hydro-thermique d'une portion de la farine de riz ou de celle du maïs n'entraîne aucun effet sur la capacité de rétention gazeuse des pâtes PRF et PMF du fait qu'il n'y a pas un changement significatif de volume spécifique au cours de l'ajout des gels de riz ou de maïs traités (Figure 17). Nos résultats sont en contradiction avec ceux obtenus par BOUREKOUA *et al.* (2016) qui ont montré un effet améliorant du traitement hydro-thermique dans la matrice de la pâte à pain traditionnel Algérien. Cette contradiction pourrait être expliquée par la différence de la composition des matrices des pâtes dans lesquelles sont ajoutés les gels de riz et/ou de maïs.

La pâte PBT1 donne des pains aient des volumes spécifiques significativement plus élevé que ceux issus de la pâte PBT2. Ceci prouve que la pâte PBT1 montre les meilleurs aptitudes technologiques comparativement à la pâte PBT2.

#### 4. Conclusion de la partie 01

A travers les résultats obtenus, nous avons conclu que :

La supplémentation céréales-légumes secs permet de corriger le taux en protéines totales des farines de riz (de 8,95 à 15,43 % pour FRF) et de maïs (de 7,05 à 14,07 % pour FMF) en se rapprochant au témoin de blé tendre (13,31 %). La supplémentation Riz-Fève

permet la correction des aptitudes au pétrissage de la pâte du riz en diminuant, d'une manière significative, le taux d'absorption d'eau et le temps de pétrissage. Les pâtes sans gluten se comportent comme un matériel rigide et moins extensible. La supplémentation Riz-Fèverole améliore d'une manière significative le comportement visqueux de la pâte de riz. Alors que celle de Maïs-Fèverole corrige positivement le comportement élastique de la pâte de maïs. La supplémentation céréales-légumes secs affecte significativement le comportement viscoélastique des pâtes à base de céréales (riz et maïs) tout en augmentant leurs valeurs de  $\tan \delta$ . Les propriétés de la viscosité montrent que les granules d'amidon des pâtes sans gluten ont une faible capacité de gonflement et une faible tendance à la rétrogradation. Les pâtes sans gluten montrent une mauvaise aptitude à la panification qui se traduit par de faibles volumes spécifiques présentés par leurs pains. La supplémentation céréales-légumes secs augmente significativement la capacité de la rétention gazeuse des pâtes qui se traduit par une élévation des volumes spécifiques des pains.

## **Partie 02. Aptitudes technologiques des pâtes à panifier et les interactions moléculaires approchées**

### **1. Corrélations entre les aptitudes technologiques des pâtes et les interactions moléculaires approchées**

#### **1.1. Mode opératoire de la dissociation chimique des ponts disulfures et des interactions hydrophobes**

L'optimisation de la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires s'est faite par le biais de la méthodologie des surfaces de réponses. Ceci nous a permis de choisir un intervalle de concentration en agents dissociant ( $\beta$ -mercaptoéthanol et SDS) ainsi qu'un temps de contact au repos optima correspond à chaque agent pour un taux de dissociation chimique maximal des pâtes.

##### **1.1.1. Modélisation mathématique de la réponse « Taux de Dissociation »**

Les résultats des 13 essais du Plan Central Composite pour la dissociation chimique des ponts S-S et des interactions hydrophobes sont présentés dans les Tableaux 14 et 15, respectivement.

Selon les résultats présentés dans le Tableau 14, le taux de dissociation des ponts disulfures varie entre 0 et 23,15%. Le taux de dissociation le plus élevé est donné par un temps de contact au repos de 51,21 min et une concentration en  $\beta$ -mercaptoéthanol de 0,0014M. Le traitement statistique a montré que uniquement le temps de contact au repos donne un effet significatif ( $P < 0,05$ ) sur le taux de dissociation. La concentration en  $\beta$ -mercaptoéthanol, par contre, ne montre aucun effet significatif ( $P < 0,05$ ). Tout en restant dans l'intervalle de concentration choisi.

Le taux de dissociation des interactions hydrophobes obtenu varie entre 0 et 13,14% (Tableau 15). L'effet dissociant du SDS atteint son maximum à 2,5% de SDS et 60 min de contact au repos. Le traitement statistique a montré que uniquement le temps de contact au repos donne un effet significatif ( $P < 0,05$ ). Tandis que la concentration en SDS ne montre aucun effet significatif ( $P < 0,05$ ).

Ces résultats montrent l'effet positif de la mise en contact des pâtes avec l'agent dissociant avant l'agitation ce qui lui a permis de dissocier les liaisons moléculaires correspondantes.

**Tableau 14.** Taux de dissociation des ponts S-S de 13 points du Plan Centrale Composite à deux facteurs et à cinq niveaux

Essais	Facteur 1		Facteur 2		Réponse	
	Temps de contact (X <sub>1</sub> )(min)		Concentration en $\beta$ -mercaptoéthanol (X <sub>2</sub> )(M)		Taux de dissociation (%)	
1	30		0,005		12,75	
2	60		0,005		22,77	
3	51,21		0,0085		21,57	
4	8,78		0,0014		7,11	
5	30		0,005		12,91	
6	30		0,005		13,07	
7	30		0,005		13,11	
8	30		0,005		12,74	
9	8,78		0,0085		8,91	
10	0		0,005		5,05	
11	51,21		0,0014		23,15	
12	30		0		0	
13	30		0,01		16,02	

**Tableau 15.** Taux de dissociation des interactions hydrophobes de 13 points du Plan Centrale Composite à deux facteurs et à cinq niveaux

Essais	Facteur 1		Facteur 2		Réponse	
	Temps de contact (X <sub>1</sub> )(min)		Concentration en SDS (X <sub>2</sub> ) (%)		Taux de dissociation (%)	
1	8,78		4,26		4,47	
2	30		2,5		11,71	
3	30		5		6,24	
4	51,21		0,73		12,58	
5	51,21		4,26		7,65	
6	30		2,5		12,04	
7	0		2,5		4,95	
8	30		0		0	
9	8,78		0,73		6,21	
10	30		2,5		12,91	
11	30		2,5		12,21	
12	60		2,5		13,14	
13	30		2,5		12,22	

Les modèles mathématiques décrivant la variation du taux de dissociation des ponts S-S et des interactions hydrophobes en fonction de la concentration en agents dissociant

( $\beta$ -mercaptoéthanol et SDS) et du temps de contact au repos sont donnés par les relations suivantes :

➤ **Pour le taux de dissociation des interactions hydrophobes :**

$$Y = 12,218 + 2,642X_1 + 0,269X_2 - 1,175X_1X_1 - 4,138X_2X_2 - 0,798X_1X_2$$

Où :

$X_1$  : Temps de contact au repos (min) ;

$X_2$  : Concentration en SDS (%) ;

Y : Taux de dissociation des interactions hydrophobes (%).

➤ **Pour le taux de dissociation des ponts S-S :**

$$Y' = 12,738 + 5,814X'_1 + 3,359X'_2 + 0,648X'_1X'_1 - 0,312X'_2X'_2 - 2,32X'_1X'_2$$

Où :

$X'_1$  : Temps de contact au repos (min) ;

$X'_2$  : Concentration en  $\beta$ -mercaptoéthanol (M) ;

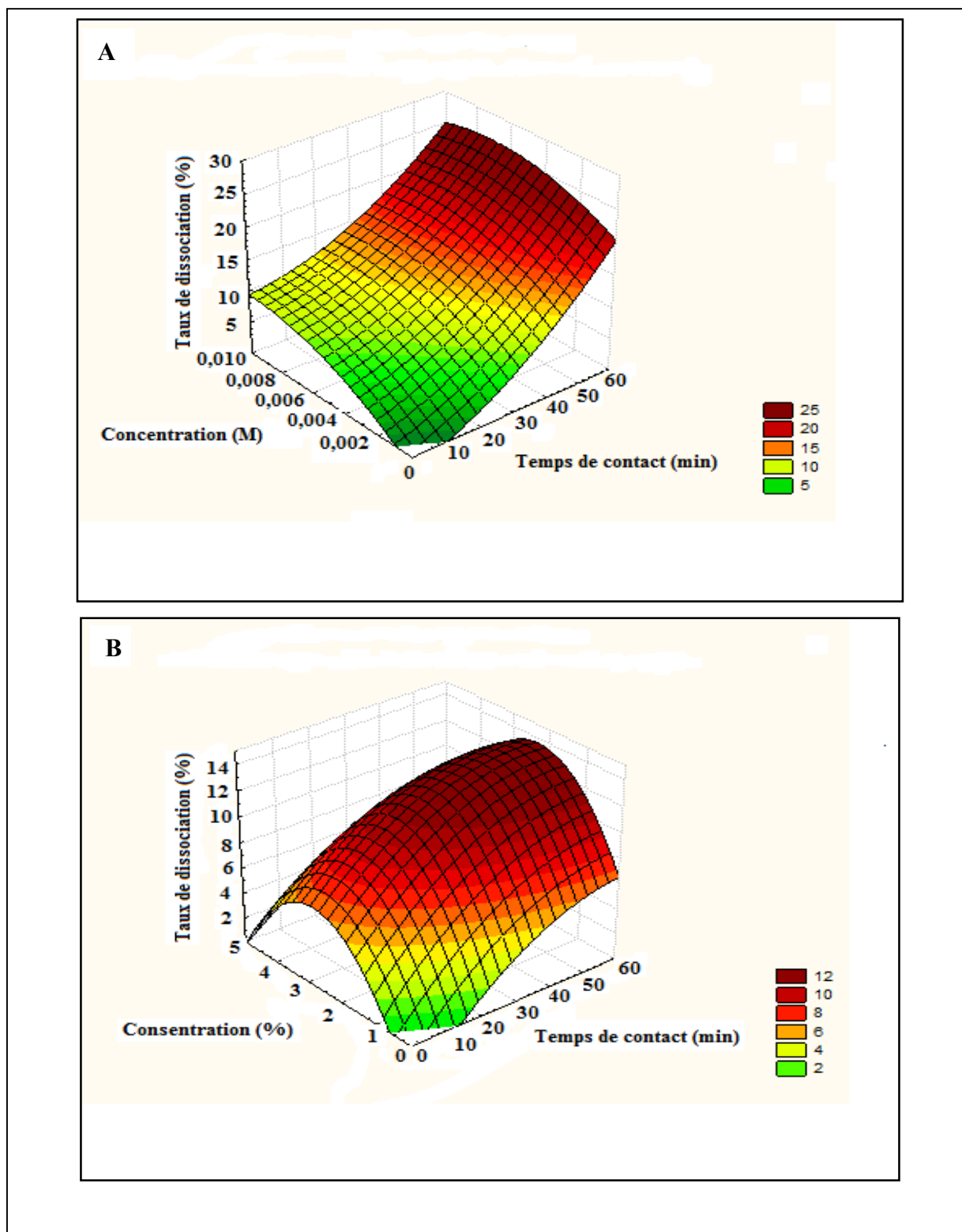
Y : Taux de dissociation des liaisons disulfures (%).

L'analyse statistique a indiqué que les modèles d'ajustement sont adéquats car ils donnent des valeurs  $R^2$  satisfaisantes. Elles sont de 83% pour le SDS et de 63% pour le  $\beta$ -mercaptoéthanol. Ces résultats sont supportés par le paramètre statistique « manque d'ajustement » qui est non significatif pour les deux plans.

### 1.1.2. Surfaces de réponses du taux de dissociation des ponts S-S et des interactions hydrophobes

Selon GOUPY et CREGNTON (2006), chaque point du domaine d'étude correspond à une réponse. L'ensemble de ces réponses se localise sur une surface appelée surface de réponse.

L'évolution de l'effet dissociant de  $\beta$ -mercaptoéthanol et de SDS exprimé en taux de dissociation, en fonction de leur concentration et de temps de contact au repos de leurs molécules avec la pâte est présentée sous forme des surfaces de réponses (Figure 19 A et B, respectivement)



**Figure 18.** Surfaces de réponses décrivant l'évolution de la dissociation des ponts S-S (A) et des interactions hydrophobes (B) en fonction du couple (concentrations en agent dissociant et temps de contact au repos).

En fixant le temps de contact au repos, la surface de réponse décrivant l'effet dissociant des liaisons disulfures (Figure 18 A) montre que l'effet dissociant du  $\beta$ -mercaptoéthanol augmente parallèlement avec sa concentration allant de 0 à 10 % jusqu'à une concentration de 0,007M puis il se stabilise. Si on prend en considération l'effet du temps de contact au repos tout en fixant la concentration, on observe que ce dernier affecte considérablement le taux de dissociation où on note des taux de dissociation atteignant les 25% pour un temps de contact de 60 min. Ceci indique l'effet significatif positif de contact sur l'effet dissociant du  $\beta$ -mercaptoéthanol. En couplant l'effet de la concentration et du temps de contact, on observe que l'effet dissociant le plus élevé (25%) est observé à un temps de contact de 60 min sur un intervalle de concentration allant de 0,001 à 0,01 M. Une stabilisation de l'effet dissociant du  $\beta$ -mercaptoéthanol est notée à partir de la concentration 0,007M quelque soit le temps de contact. De ce fait on a choisi l'intervalle de concentration de 0 à 0,007M avec un temps de contact au repos de 60 min pour la réalisation des essais de classification

L'effet dissociant des interactions hydrophobes, exprimé en taux de dissociation, montre une courbe quadratique sous une forme de parabole avec une ouverture vers le bas (Figure 18 B). En fixant le facteur temps de contact au repos, on note une proportionnalité entre la concentration en SDS et son effet dissociant jusqu'à une valeur de 12% dans l'intervalle [0 - 1,5] %. Une stabilité de l'effet dissociant à un taux de dissociation de 12% est notée entre 1,5 et 3,5% en SDS. A partir de la concentration 3,5% et jusqu'à 5% en SDS, le taux de dissociation diminue de 12 à 4%. Concernant l'effet du temps de contact sur la dissociation des interactions hydrophobes, on note que cette dernière augmente avec l'augmentation du temps de contact. La zone qui donne l'effet dissociant le plus important, correspond à un taux de dissociation de 12%, est délimitée par l'intervalle de concentration de [0 - 3,5]% en SDS et des temps de contact de 30 à 60 min. selon ces résultats, on a choisi de réaliser la classification des pâtes dans un intervalle de concentration de [0-3,5]% en SDS et un temps de contact de 60 min pour assurer un maximum de dissociation.

### **1.1.3. Optimisation de l'effet dissociant de $\beta$ -mercaptoéthanol et de SDS**

La désirabilité est une méthode d'optimisation multicritère très utile dans le cas de la recherche des meilleures conditions pour une réponse donnée. Le facteur de désirabilité (D) varie de 0 à 1 où le 1 représente la satisfaction maximale et le 0 le refus complet (GOUPY et CREGNTON, 2006). Le Tableau 16 montre la fonction de désirabilité pour

l'optimisation du mode opératoire de la dissociation chimique des ponts S-S et des interactions hydrophobes.

**Tableau 16.** Points d'optimisation du taux de dissociation des liaisons S-S et des interactions hydrophobes

Type d'agent dissociant	Désirabilité	Concentration	Temps de contact au repos (min)	Taux de Dissociation (%)
SDS (interactions hydrophobes)	0,99	2,31 (%)	60	13,64
$\beta$ -mercaptoéthanol (ponts S-S)	1	0,01 (M)	60	25,08

D'après le Tableau 16, l'optimisation est réalisée avec une désirabilité  $D = 1$  pour la dissociation des ponts S-S et  $D = 0,99$  pour la dissociation des interactions hydrophobes. Pour les deux cas, la désirabilité est satisfaisante, ce qui appuie les résultats du traitement statistique.

Les conditions optimales permettant l'obtention d'une dissociation maximale prédite de 25,08% des ponts S-S sont 0,01M en  $\beta$ -mercaptoéthanol et 60 min de contact au repos. L'effet dissociant maximal prédit pour les interactions hydrophobes est de 13,64%. Cette valeur est obtenue pour une concentration de 2,31% de SDS et un temps de contact de 60 min (Tableau 16).

En vue de confirmer les résultats de l'optimisation obtenus par la méthodologie de surface de réponses, les valeurs prédites par les modèles sont comparées avec celles obtenues par l'expérimentation dans les mêmes conditions de temps contact (60 min pour les deux agents chimiques) et des concentrations de 0,01M pour le  $\beta$ -mercaptoéthanol et de 2,31% pour le SDS.

Les valeurs des taux de dissociation que nous avons obtenue suite à l'expérimentation sont de  $12,33 \pm 0,03\%$  pour le SDS et de  $24,17 \pm 1,85\%$  pour le  $\beta$ -mercaptoéthanol. Ces valeurs ne présentent pas de différences significatives ( $P < 0,05$ ) avec celles prédites par le modèle, ce qui confirme les résultats de l'optimisation.

Tous ces résultats nous ont permis de valider notre modèle mathématique qui représente l'évolution de l'effet dissociant du  $\beta$ -mercaptoéthanol et du SDS en fonction du couple (concentration en agent dissociant – temps de contact au repos).



## **1.2. Classification de pâtes à panifier sur la base de la dissociation chimique des interactions moléculaires**

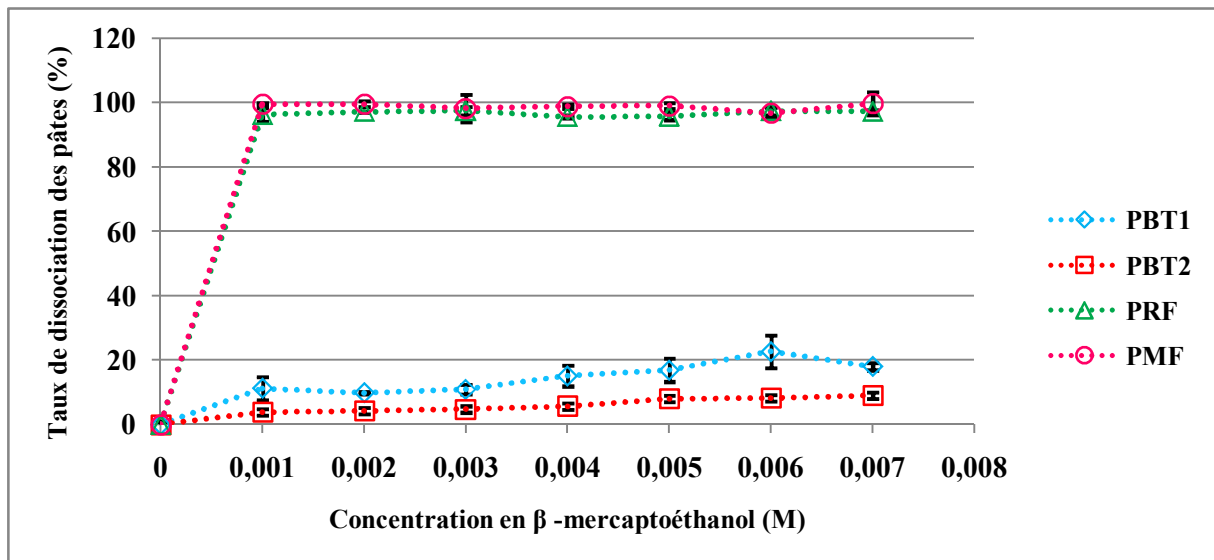
Les pâtes panifiables sont conventionnellement classées selon leur comportement rhéologique qui se traduit par leur aptitude à former des pains avec des volumes spécifiques importants et des structures alvéolaires appropriées. Ces constatations sont le résultat d'une organisation structurale établie par l'association des constituants de la farine hydratée et développée en pâte sous l'action des forces du pétrissage. Cette association se fait grâce à des liaisons chimiques covalentes et non covalentes dont les ponts S-S et les interactions hydrophobes. L'aptitude des composants de la farine à former ces liens est en relation directe avec leurs propriétés techno-fonctionnelles.

C'est dans ce contexte que repose l'objectif de la mise en place d'une méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires, comme étant une méthode simple rapide et pratique, permettant de discriminer les différents types de pâtes en fonction de la capacité de leurs constituants à établir des interactions moléculaires. Ces dernières conditionnent d'une manière étroite la qualité des pâtes et les pains qui en résultent.

Quatre types de pâtes ont fait l'objectif de cette différenciation. Deux à base de blé tendre ont donné des qualités rhéologiques et technologiques significativement différentes. Les deux autres à base des formules sans gluten, ce sont avérées également différentes en termes de qualité par rapport aux deux premières. La pâte PBT1 donnant les meilleures aptitudes technologiques est utilisée comme témoin à lequel se compare les résultats des autres types de pâtes avec et sans gluten.

### **1.2.1. Classification en fonction de la dissociation des ponts S-S**

La Figure 19 montre l'évolution du taux de dissociation des ponts S-S des pâtes étudiées en fonction de la concentration en  $\beta$ -mercaptoéthanol dans l'intervalle de [0-0,007] M et un temps de contact au repos de 60 min.



**Figure 19.** Evolution du taux de dissociation des ponts S-S des pâtes étudiées en fonction de la concentration du  $\beta$ -mercaptoéthanol. PBT1 : Pâte Blé Tendre type 1, PBT2 : Pâte Blé Tendre type 2, PMF : Pâte Maïs-Fèverole, PRF : Pâte Riz-Fèverole

Une vue globale de la Figure au dessus montre que les pâtes sans gluten donnent des taux de dissociation nettement plus importants que ceux observés pour les pâtes à base de blé tendre. Ceci pourrait être expliqué par la fragilité des pâtes sans gluten en comparaison avec celles de blé tendre.

En analysant chaque catégorie de pâte à part, on remarque que la pâte PBT1, qui montre les meilleurs aptitudes technologiques, donne des taux de dissociation plus ou moins 2 fois plus élevés que ceux donnés par la pâte PBT2 sur tout l'intervalle de concentration utilisé (Figure 19). Le maximum de dissociation noté pour la pâte PBT1 est de  $22,64 \pm 5,06\%$  à  $0,006\text{M}$  alors que celui de la pâte PBT2 est de  $9,07 \pm 1,11\%$  noté à  $0,007\text{M}$  (Figure 19). Ceci indique que l'effet dissociant du  $\beta$ -mercaptoéthanol sur la pâte PBT1 est plus important que sur la pâte PBT2.

GREENWOOD et EWART (1975) ont expliqué, d'une part, l'élasticité caoutchouteuse de la gluténine par la formation d'enchevêtrements protéiques. D'autre part, ils soulignent que la polymérisation des unités polypeptidiques, par des liaisons disulfures, est une condition préalable aux agrégations et aux autres enchevêtrements supplémentaires. BLOKSMA (1975) a expliqué quant à lui la déformation élastique de la pâte de gluten au nombre de liens disulfures croisés et que l'écoulement visqueux est le résultat de la rupture et la reformation des liaisons disulfures par une réaction d'échange thiol-disulfure (SH-SS).

Ces suggestions pourraient expliquer les différences de l'effet dissociant du  $\beta$ -mercaptoéthanol sur les pâtes de blé tendre où l'effet dissociant le plus important observé pour la pâte PBT1 pourrait indiquer que le niveau de la structuration du réseau de gluten de ce type de pâte est plus développé que celui de la pâte PBT2. Ceci est le résultat de la forte aptitude que montrent les protéines de gluten de la pâte PBT1 à établir un nombre important de liens disulfures croisés par rapport à ceux de la pâte PBT2. Ces explications sont appuyées par le comportement viscoélastique plus élevé de la pâte PBT1 que celui de la pâte PBT2 ( $\tan \delta = 0,411$  contre  $0,372$  pour PBT1 et PBT2, respectivement).

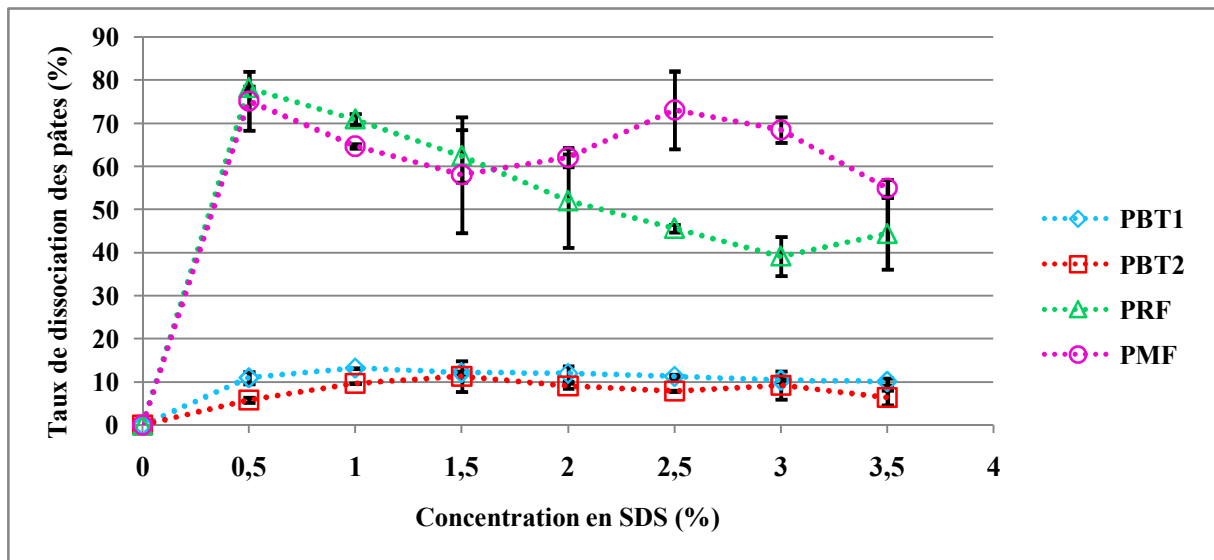
Les pâtes sans gluten donnent des dissociations presque complètes allant jusqu'à un maximum de 99,50% à 0,002M pour la pâte PMF et de 97,42% à 0,003M en  $\beta$ -mercaptoéthanol pour la pâte PRF (Figure 19). Ces deux types de pâtes se dissocient significativement de la même manière.

Le faible comportement viscoélastique prouvé par les pâtes sans gluten comparativement à celles à base de blé tendre est le résultat de la faible capacité que montrent les protéines des ingrédients sans gluten à développer un réseau protéique viscoélastique analogue à celui du gluten (HOUBEN *et al.*, 2012). Selon les propositions de BLOKSMA (1975), le faible comportement viscoélastique des pâtes sans gluten pourrait être le résultat de la faible aptitude de leurs protéines à mettre en place des liens disulfures rhéologiquement efficaces et à réaliser des réactions d'échange SH-SS. Ceci pourrait expliquer l'effet dissociant le plus important du  $\beta$ -mercaptoéthanol sur les pâtes sans gluten en comparaison avec celles de blé tendre.

A partir de ces explications, on estime que le protocole expérimental que nous proposons permet la discrimination entre les différents types de pâtes étudiées d'une manière très logique.

### 1.2.2. Classification en fonction de la dissociation des interactions hydrophobes

La Figure 20 montre l'évolution du taux de dissociation des interactions hydrophobes des pâtes étudiées en fonction de la concentration en SDS dans l'intervalle de concentration de [0-3,5] % et un temps de contact au repos de 60 min.



**Figure 20.** Classification des pâtes en fonction de l'effet dissociant du SDS sur les interactions hydrophobes. PBT1 : Pâte Blé Tendre type 1, PBT2 : Pâte Blé Tendre type 2, PMF : Pâte Maïs-Fèverole, PRF : Pâte Riz-Fèverole

De façon générale, l'effet dissociant du SDS est plus important sur les pâtes sans gluten que sur les pâtes à base de blé tendre.

Sur tout l'intervalle de concentration choisi, uniquement à la concentration 1% en SDS la pâte PBT1 donne un taux de dissociation des interactions hydrophobes significativement plus élevé que celui de la pâte PBT2 (Figure 20). L'évolution du taux de dissociation des interactions hydrophobes pour les pâtes de blé tendre subdivise en deux zones : la zone I entre 0 et 1% en SDS pour la pâte PBT1 et entre 0 et 1,5% en SDS pour la pâte PBT2. La zone II se délimite entre 1 et 3,5% en SDS pour la pâte PBT1 et entre 1,5 et 3,5% en SDS pour la pâte PBT2 (Figure 20).

Dans la zone I l'effet dissociant de SDS augmente avec l'augmentation de sa concentration. Un maximum de dissociation de  $13,15 \pm 0,09\%$  à 1% en SDS est noté pour la pâte PBT1 contre  $11,27 \pm 3,57$  à 1,5% en SDS pour la pâte PBT2 (Figure 20).

La zone II se caractérise par une stabilité de l'effet dissociant de SDS quelque soit sa concentration (Figure 20).

L'effet dissociant de SDS sur les pâtes sans gluten augmente avec l'augmentation de sa concentration dans l'intervalle de  $[0 - 0,5]\%$  en SDS. Un maximum de dissociation de  $78,23 \pm 0,31\%$  pour la pâte PRF et de  $75,18 \pm 6,85\%$  pour la pâte PMF est noté à 0,5% en SDS.

Au-delà de 0,5% en SDS, l'effet dissociant de cet agent sur la pâte PRF diminue avec l'augmentation de sa concentration (Figure 20). L'effet dissociant de cet agent chimique noté sur la pâte PMF montre une diminution jusqu'à la concentration de 1,5% en SDS. Au delà de cette concentration, le taux de dissociation des interactions hydrophobes est proportionnel avec la concentration en SDS jusqu'à un maximum de  $73,11 \pm 9,03\%$  à 2,5% en SDS. Dans la zone de [1,5- 3,5]% en SDS, les taux de dissociation des interactions hydrophobes de la pâte PMF sont significativement plus importants que ceux de la pâte PRF (Figure 20). Ceci permet de dire que la discrimination entre nos pâtes sans gluten en fonction de l'effet dissociant du SDS se fait particulièrement dans l'intervalle de concentration [1,5- 3,5]% en SDS (Figure 20).

### **1.3. Corrélation entre les propriétés technologiques de pâtes et leurs taux de dissociation**

Dans le but de situer les réponses rhéologiques et technologiques des pâtes étudiées en fonction de leur aptitudes à mettre en place des liens moléculaires (liaisons disulfures et interactions hydrophobes), une matrice de corrélation entre les propriétés rhéologiques ( $G'$ ,  $G''$  et  $\tan \delta$ ) et technologiques ( $V_{sp}$ ) des pâtes et leur taux de dissociation par le  $\beta$ -mercaptoéthanol et le SDS est établie (Tableau 17). Cette corrélation a aussi pour objectif de faire référencier la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires par rapport aux méthodes conventionnelles. Les corrélations significatives au seuil de 5% sont montrées en gras.

De façon globale, les taux de dissociation des interactions hydrophobes et des liaisons S-S montrent des fortes corrélations avec les paramètres rhéologiques ( $G'$ ,  $G''$ ,  $\tan \delta$ ) et technologiques ( $V_{sp}$ ). Ceci pourrait indiquer que la méthode de dissociation chimique des interactions moléculaires permet de discriminer d'une manière significative et logique entre les pâtes étudiées en fonction de leur aptitude à mettre en place des liens chimiques type S-S et hydrophobes. Ces résultats permettent de référencier cette nouvelle approche par rapport aux méthodes conventionnelles de discrimination et de la faire donc valider.

De fortes corrélations significatives ( $P < 0,05$ ) et positives sont notées entre les taux de dissociation des liaisons S-S (toutes les concentrations de  $\beta$ -mercaptoéthanol de C1 à C7) et des interactions hydrophobes (concentrations de C1 à C4 et de C7 en SDS) et le module élastique ( $G'$ ) des pâtes étudiées (Tableau 17). Ceci signifie que la pâte qui montre un comportement élastique plus élevé tend vers le solide se dissocie davantage en présence du  $\beta$ -

mercaptoéthanol et du SDS à cause de sa faible aptitude à établir des liens moléculaires type S-S et hydrophobes. DOBRASZCZUK et SCHOFIELD (2003) suggèrent que les grandes valeurs de  $G'$  montrées par les pâtes sans gluten pourrait être le résultat du faible enchevêtrement de leurs réseaux protéiques suite à l'incapacité des protéines sans gluten à établir des pont S-S. De autre part, FEILLET (2000) rapporte que la qualité de la pâte serait d'autant meilleure que les protéines forment davantage des liaisons hydrophobes.

En revanche, les taux de dissociation des liaisons S-S (toutes les concentrations de  $\beta$ -mercaptoéthanol de C1 à C7) et des interactions hydrophobes (concentrations de C1 à C7 en SDS) sont fortement et négativement corrélés avec le comportement viscoélastique des pâtes étudiées et le volume spécifique de leurs pains (Tableau 17). Ceci signifierait que les pâtes les plus visqueuses donnant alors des pains de volumes importants sont moins affectées par les agents dissociant du fait du nombre important des liens moléculaires mis en place durant leur développement.

Les fortes significatives et positives corrélations obtenues entre les taux de dissociation des liaisons S-S et ceux des interactions hydrophobes indiqueraient que la qualité des pâtes panifiables est conditionnée par la mise en place à la fois de ces deux genres de liens moléculaires.

**Tableau 17.** Matrice de corrélation des propriétés technologiques (Vsp) et rhéologiques (G', G'' et Tan  $\delta$ ) avec les taux de dissociations des pâtes par le  $\beta$ -mercaptoéthanol et le SDS

	Variables	G'	G''	Tan $\delta$	Vsp	$\beta$ -merc C1	$\beta$ -merc C2	$\beta$ -merc C3	$\beta$ -merc C4	$\beta$ -merc C5	$\beta$ -merc C6	$\beta$ -merc C7	SDS C1	SDS C2	SDS C3	SDS C4	SDS C5	SDS C6	SDS C7
Paramètres de qualité	G'	<b>1</b>																	
	G''	0,796	<b>1</b>																
	Tan $\delta$	<b>-0,993</b>	-0,722	<b>1</b>															
	Vsp	-0,949	-0,567	<b>0,978</b>	<b>1</b>														
Ponts S-S	$\beta$ -merc C1	<b>0,988</b>	0,857	<b>-0,970</b>	-0,899	<b>1</b>													
	$\beta$ -merc C2	<b>0,990</b>	0,849	<b>-0,974</b>	-0,906	<b>1,000</b>	<b>1</b>												
	$\beta$ -merc C3	<b>0,991</b>	0,852	<b>-0,974</b>	-0,906	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1</b>											
	$\beta$ -merc C4	<b>0,986</b>	0,867	<b>-0,966</b>	-0,891	<b>1,000</b>	<b>0,999</b>	<b>0,999</b>	<b>1</b>										
	$\beta$ -merc C5	<b>0,986</b>	0,865	<b>-0,967</b>	-0,892	<b>1,000</b>	<b>0,999</b>	<b>0,999</b>	<b>1,000</b>	<b>1</b>									
	$\beta$ -merc C6	<b>0,982</b>	0,890	<b>-0,956</b>	-0,875	<b>0,997</b>	<b>0,996</b>	<b>0,997</b>	<b>0,998</b>	<b>0,998</b>	<b>1</b>								
	$\beta$ -merc C7	<b>0,987</b>	0,865	<b>-0,967</b>	-0,893	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>0,998</b>	<b>1</b>							
Interactions hydrophobes	SDS C1	<b>0,993</b>	0,855	<b>-0,976</b>	-0,909	<b>0,998</b>	<b>0,999</b>	<b>0,999</b>	<b>0,998</b>	<b>0,998</b>	<b>0,997</b>	<b>0,998</b>	<b>1</b>						
	SDS C2	<b>0,996</b>	0,848	<b>-0,979</b>	-0,917	<b>0,994</b>	<b>0,995</b>	<b>0,996</b>	<b>0,994</b>	<b>0,994</b>	<b>0,994</b>	<b>0,995</b>	<b>0,999</b>	<b>1</b>					
	SDS C3	<b>0,998</b>	0,832	<b>-0,984</b>	-0,928	<b>0,995</b>	<b>0,996</b>	<b>0,997</b>	<b>0,994</b>	<b>0,994</b>	<b>0,992</b>	<b>0,995</b>	<b>0,999</b>	<b>0,999</b>	<b>1</b>				
	SDS C4	<b>0,967</b>	0,839	<b>-0,953</b>	-0,877	<b>0,992</b>	<b>0,991</b>	<b>0,989</b>	<b>0,992</b>	<b>0,992</b>	<b>0,985</b>	<b>0,991</b>	<b>0,983</b>	<b>0,974</b>	<b>0,977</b>	<b>1</b>			
	SDS C5	0,892	0,790	-0,881	-0,794	0,941	0,939	0,934	0,941	0,941	0,927	0,939	0,920	0,901	0,907	<b>0,976</b>	<b>1</b>		
	SDS C6	0,862	0,753	-0,855	-0,770	0,915	0,912	0,907	0,914	0,915	0,898	0,912	0,891	0,869	0,876	<b>0,958</b>	<b>0,997</b>	<b>1</b>	
	SDS C7	<b>0,959</b>	0,845	-0,943	-0,862	<b>0,989</b>	<b>0,987</b>	<b>0,985</b>	<b>0,989</b>	<b>0,989</b>	<b>0,982</b>	<b>0,988</b>	<b>0,978</b>	<b>0,967</b>	<b>0,970</b>	<b>0,999</b>	<b>0,981</b>	<b>0,965</b>	<b>1</b>

$\beta$ -merc : $\beta$ -mercaptoéthanol, C :Concentration, SDS :sodium Dodécyl-sulfate

## 2. Interactions moléculaires et comportement rhéologique des pâtes à panifier

### 2.1. Optimisation de l'effet perturbant de SDS sur les paramètres rhéologiques

Vu l'absence d'études décrivant l'effet de la dissociation des interactions hydrophobes sur le comportement rhéologique des pâtes panifiables, le suivi de l'effet de l'addition du SDS sur les paramètres rhéologiques est indispensable dans cette partie de ce travail.

#### 2.1.1. Modélisation mathématique des réponses «G' », « G'' » et « tan $\delta$ »

Le Tableau 18 récapitule les résultats des 13 essais du plan Central Composite établis pour le suivi de l'évolution des trois paramètres rhéologiques ( $G'$ ,  $G''$  et  $\tan \delta$ ) suite aux changements structuraux au cours de développement de la pâte panifiable induites par l'addition du SDS.

**Tableau 18.** Résultats de 13 essais du CCD à deux facteurs et à cinq niveaux décrivant l'effet perturbant du SDS sur le comportement rhéologique de la pâte de blé tendre

	Facteur 1	Facteur 2	Réponse 1	Réponse 2	Réponse 3
Essais	MA (min)	QAD (%)	$G'$ (Pa)	$G''$ (Pa)	Tan $\delta$
1	2,63	0,29	19990	7834	0,392
2	2,63	1,7	23240	9543	0,411
3	9	1	22085	8785	0,397
4	9	0	15300	6034	0,395
5	9	1	22800	9003	0,395
6	15,36	1,7	26680	11490	0,431
7	18	1	19720	7826	0,397
8	15,36	0,29	19430	8024	0,413
9	9	1	22540	8896	0,395
10	9	2	26820	10980	0,409
11	9	1	21500	8620	0,401
12	9	1	20990	8092	0,386
13	0	1	23260	9120	0,392

MA : Moment d'Ajout, QAD : Quantité en agent dissociant

Selon les résultats présentés dans le Tableau 18, le  $G'$  évolue de façon proportionnelle avec la concentration en SDS et atteint une valeur maximale de 26820 Pa à 2 % de SDS ajouté à 9 min de pétrissage. L'augmentation du module élastique est accompagnée par une augmentation du module visqueux qui donne un maximum de 11490 Pa correspondant à 1,7%



en SDS et un temps d'ajout de 15,36 min de pétrissage. Cette augmentation, que montrent les modules élastiques et visqueux, conduit à une élévation du comportement viscoélastique où une valeur maximale de  $\tan \delta$  de 0,431 est notée à 1,7% en SDS et un temps d'ajout de 15,36 min du pétrissage.

L'analyse statistique montre que pour tous ces paramètres rhéologiques ni la concentration en SDS ni le temps de son ajout ne présentent un effet significatif dans les intervalles temps-concentration choisis.

L'analyse statistique a indiqué que les modèles d'ajustement des modèles mathématiques sont adéquats car ils donnent des valeurs  $R^2$  satisfaisantes. Elles sont de 85,2% pour le  $G'$ , de 83% pour le  $G''$  et de 61,6% pour le  $\tan \delta$ . Ces résultats sont supportés par le paramètre statistique « manque d'ajustement » qui est non significatif pour les trois paramètres.

Les modèles mathématiques décrivant la variation des paramètres viscoélastiques en fonction de la quantité du SDS ajoutée et le temps de son ajout sont donnés par les équations suivantes :

➤ **Module élastique**

$$G' = 19267 - 272X_1 + 7044X_2 - 1572X_2X_2 + 444 X_1X_2$$

➤ **Module visqueux**

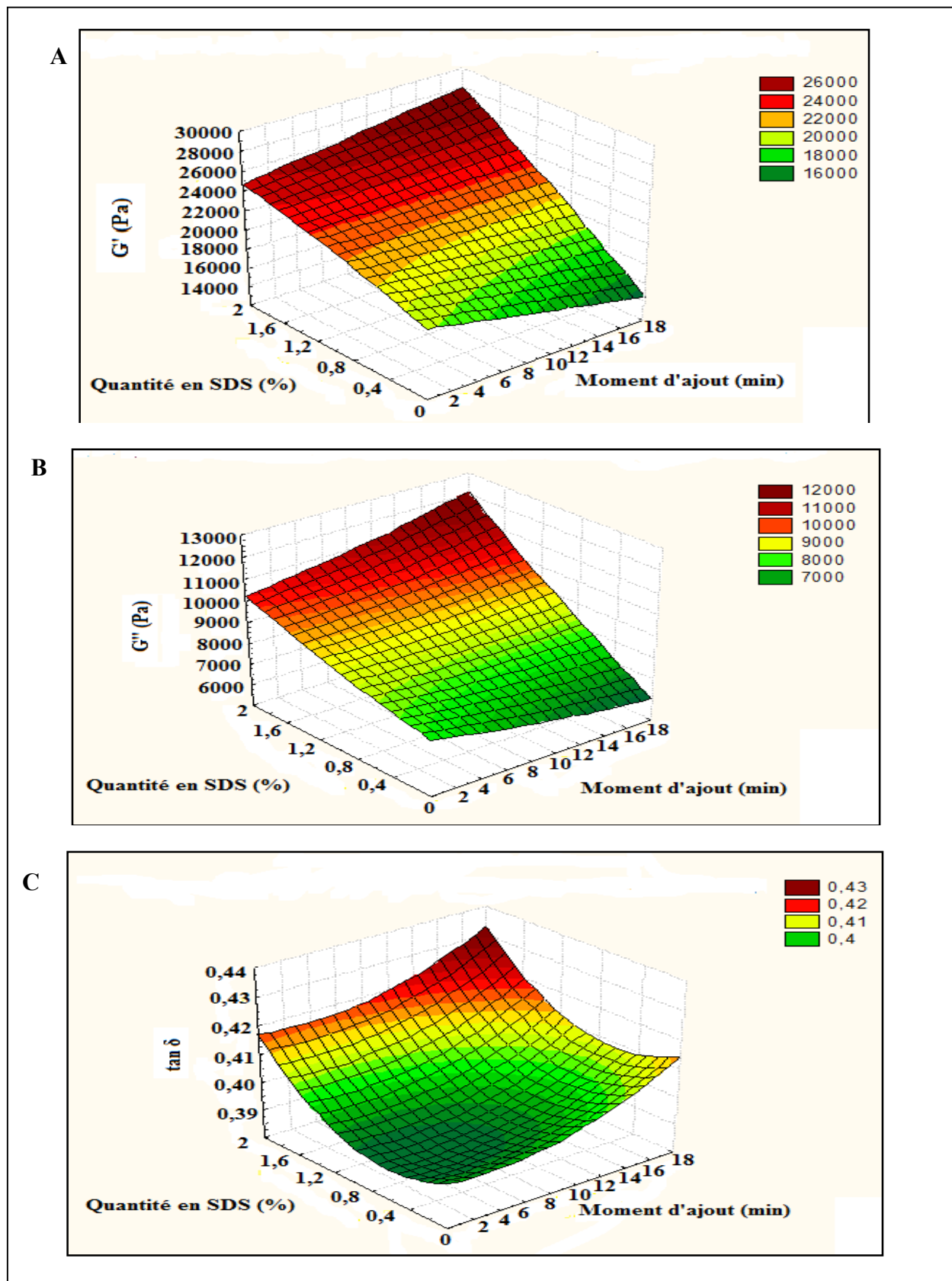
$$G'' = 7706,5 - 127,2X_1 + 1768,9X_2 + 2X_1X_1 + 776,7X_2X_2 + 195,2X_1X_2$$

➤ **Angle de perte**

$$\tan \delta = 0,39616 - 0,00043X_1 - 0,3472X_2 + 0,00008X_1X_1 + 0,5580X_2X_2 - 0,00011X_1X_2$$

### 2.1.2. Evolution des paramètres rhéologiques en fonction de la quantité en SDS ajoutée et le moment de son ajout

Les surfaces de réponses décrivant l'évolution des paramètres rhéologiques  $G'$ ,  $G''$  et  $\tan \delta$  en fonction du couple (quantité en SDS ajoutée-moment d'ajout) sont présentées dans la Figure 21.



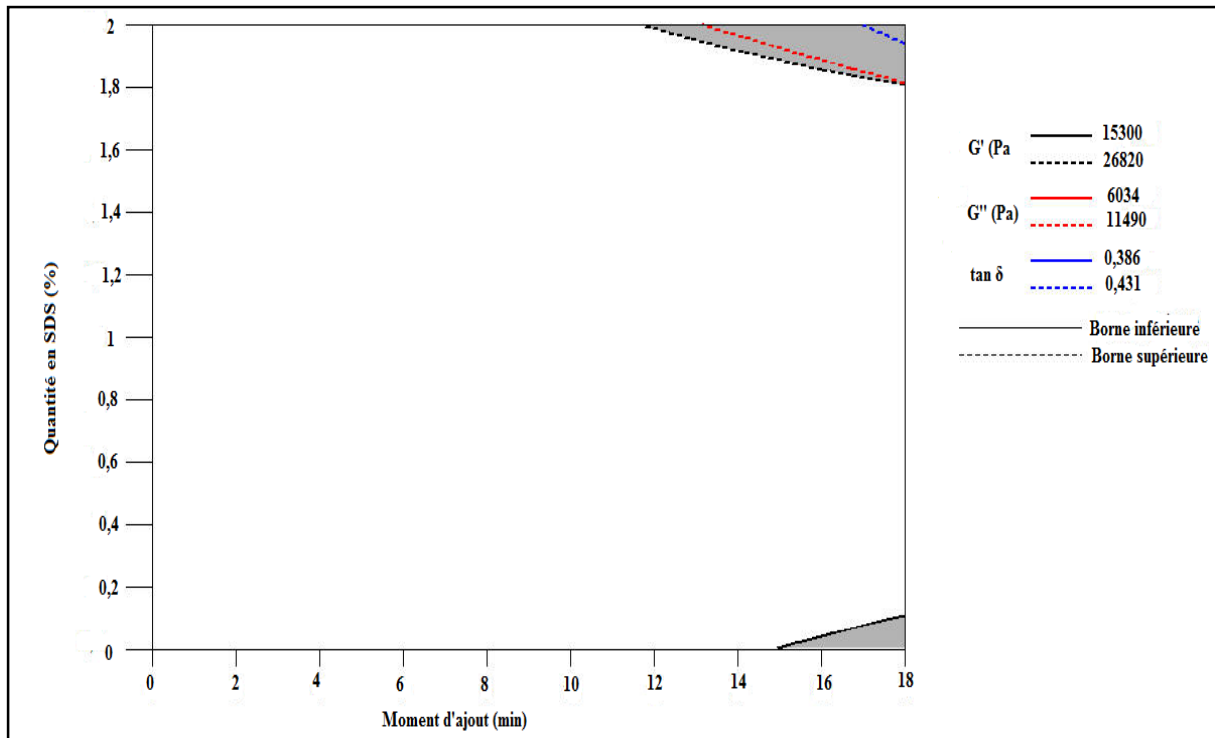
**Figure 21.** Surfaces de réponses décrivant l'évolution des paramètres rhéologiques de la pâte de blé tendre en fonction de la quantité en SDS ajoutée et le moment de son ajout. A :  $G'$  (Pa), B :  $G''$  (Pa), C :  $\tan \delta$ .

L'analyse des surfaces de réponses obtenues, montre que tous les paramètres rhéologiques étudiés ( $G'$ ,  $G''$  et  $\tan \delta$ ) présentent une augmentation considérable avec l'élévation de la quantité en SDS ajoutée au cours de la préparation de la pâte, d'une part (Figure 21). De l'autre, les valeurs maximales de ces trois paramètres sont obtenues avec des temps d'ajout proches à la fin du processus de pétrissage. Ceci pourrait montrer que l'efficacité de l'effet perturbant de SDS est plus importante après le bon développement de la pâte suite à une installation maximale des interactions hydrophobes. Il faut savoir que la pâte témoin sans traitement se caractérise par un  $G'=19290\pm 268,7$  Pa, un  $G''=7657\pm 250,31$  Pa et un  $\tan \delta = 0,397\pm 0,018$

Le module élastique (solide) atteint sa valeur maximale de 28000 Pa dans un intervalle [0,14-2] % de SDS à un moment d'ajout varie entre 13 et 18 min (Figure 21A). Une valeur maximale de 12000 Pa caractérisant l'évolution du module visqueux est obtenue par l'ajout de SDS entre 1,56 et 2 % entre 12 et 18 min de pétrissage (Figure 21B). Le comportement viscoélastique, exprimé par le  $\tan \delta$ , atteint son maximum de 0,43 entre 1,56 et 2 % en SDS ajoutées entre 14 et 18 min de pétrissage (Figure 21C).

Dans le but de déterminer l'intervalle de la quantité en SDS ajoutée et le moment convenable de l'ajout à fin d'avoir des valeurs maximales, concomitante, des trois paramètres rhéologiques étudiés ( $G'$ ,  $G''$  et  $\tan \delta$ ), le graphique des contours superposés est tracé pour délimiter la zone optimale de l'effet perturbant (Figure 22).

Selon la Figure 22, on note que la zone dans laquelle les trois paramètres atteignent à la fois leurs valeurs maximales est délimitée par le bord supérieur de l'angle de perte (trait bleu). En exposant cette zone sur l'axe des X et des Y, on trouve que cette zone cadre une quantité du SDS de [1,92-2] % et un moment d'ajout de [17-18] min.



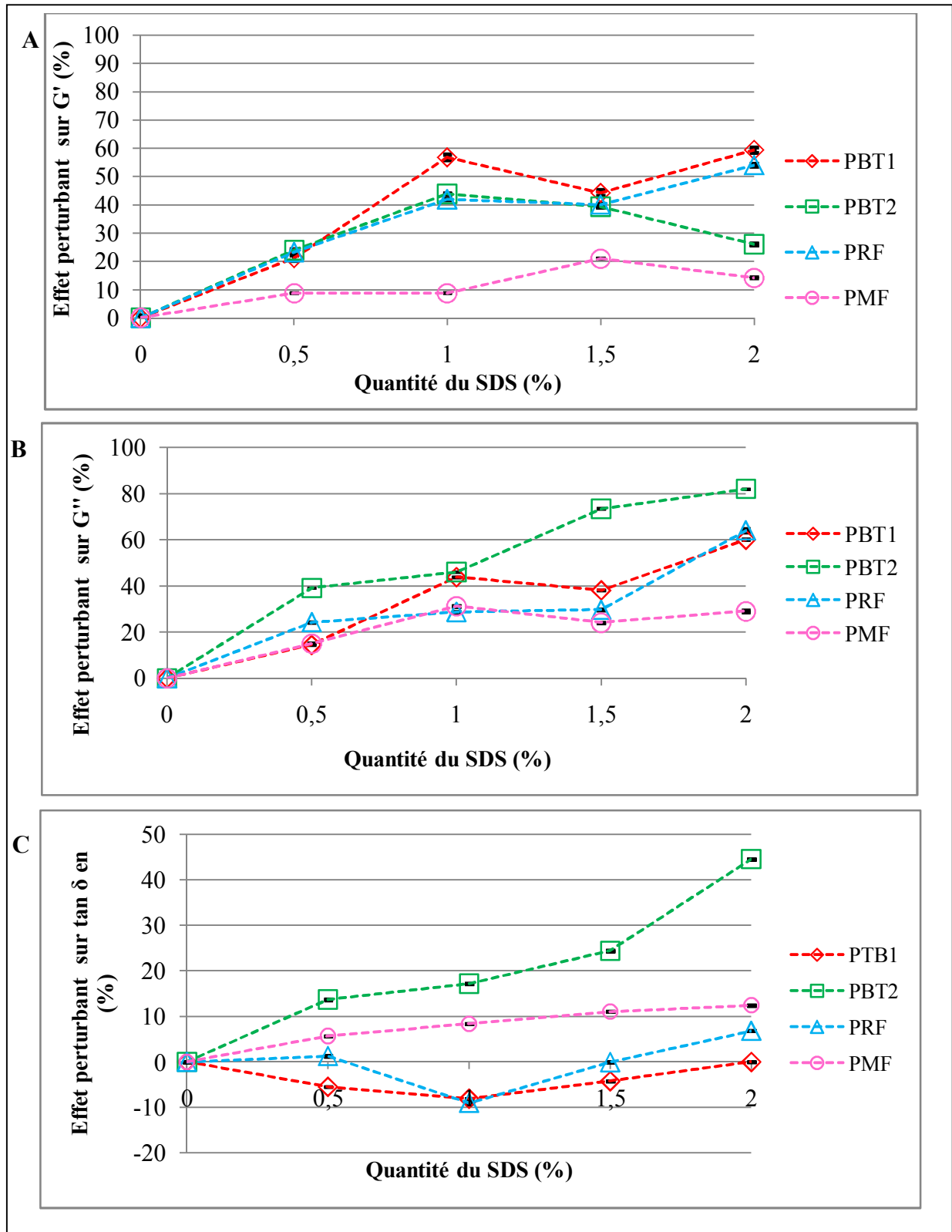
**Figure 22.** Graphique de contours superposés du  $G'$ (Pa),  $G''$  (Pa) et de  $\tan \delta$ .

## 2.2. Relation : Paramètres rhéologiques de pâtes - Type d'interactions moléculaires enregistrées

### 2.2.1. Effet des interactions hydrophobes

La Figure 23 montre l'effet de la dissociation des interactions hydrophobes sur le comportement viscoélastique des pâtes avec et sans gluten étudiées. Le signe positif signifie l'augmentation de la valeur du paramètre alors que le signe négatif signifie sa diminution par rapport à l'état initial (sans traitement).

Selon la Figure 23 A, les modules élastiques de toutes les pâtes étudiées augmentent d'une manière proportionnelle aux quantités de SDS ajoutées Ceci signifie que la diminution de la participation des interactions hydrophobes dans le maintien de la matrice des pâtes augmente son comportement solide et diminue sa tendance à l'élasticité.



**Figure 23.** Evolution de l'effet de l'ajout de SDS suite à la dissociation des interactions hydrophobes sur les paramètres rhéologiques  $G'$  (A),  $G''$  (B) et  $\tan \delta$  (C) des pâtes avec et sans gluten étudiées. PBT1 : Pâte Blé Tendre type 1, PBT2 : Pâte Blé Tendre type 2, PMF : Pâte Maïs-Fèverole, PRF : Pâte Riz-Fèverole

Un effet perturbant considérable est noté sur le comportement élastique de la pâte PBT1, par rapport aux autres types de pâtes, dans toute la gamme des quantités en SDS ajoutées. Cet effet atteint sa valeur maximale de  $59,31 \pm 0,21\%$  à 2% en SDS pour la PBT1 (Figure 23 A). La pâte PBT2 semble moins affectée par l'ajout du SDS que la pâte PBT1 pour tout l'intervalle du SDS testé où on note un effet perturbant maximal de  $43,78 \pm 0,11\%$  à 1% en SDS (Figure 23 A). A partir de cette quantité, l'effet perturbant diminue avec l'augmentation de la quantité en SDS ajoutée jusqu'à une valeur de  $26,01 \pm 0,008\%$  à 2% en SDS (Figure 23 A).

Selon ces résultats, on estime que la dissociation des interactions hydrophobes affecte considérablement le comportement élastique de la pâte PBT1 que la pâte PBT2 en diminuant son élasticité et la rendant plus solide qu'élastique. Ceci pourrait indiquer que dans le cas des pâtes à base de blé tendre, l'élasticité augmente avec le nombre des interactions hydrophobes établies. Cette indication expliquerait d'une manière claire les résultats de l'effet dissociant du SDS obtenus par la méthodologie de dissociation chimique des interactions hydrophobes où la pâte PBT1 montre plus de dissociation que la pâte PBT2.

En ce qui concerne les pâtes sans gluten, le comportement solide de la pâte PRF est plus affecté par la dissociation des interactions hydrophobes que la pâte PMF. Un maximum d'effet perturbant pour la pâte PRF ( $54,04 \pm 0,52\%$ ) est noté à 2% en SDS contre  $21,04 \pm 0,088\%$  pour la pâte PMF à 1,5% en SDS (Figure 23 A).

Ces remarques indiquent que le nombre des interactions hydrophobes entrant dans l'établissement de la matrice de la pâte PRF est plus important que dans le cas de la pâte PMF. Ceci pourrait expliquer les résultats de la classification des pâtes par la méthodologie de dissociation chimique des interactions hydrophobes où dans le cas des pâtes sans gluten la pâte qui donne le moins d'interactions montre le plus de dissociation.

On observe que la pâte PMF, qui se caractérise initialement par un module élastique (877780 Pa) plus important que celui de la pâte PRF (76925 Pa) suivi par celui de la pâte PBT2 (37650 Pa) puis de la pâte PBT1 (33940 Pa), montre moins de perturbation que la pâte PRF, suivi par la pâte PBT2 puis celle PBT1 (Figure 23 A). Ceci pourrait signifier que l'effet perturbant augmente avec l'augmentation de l'élasticité de la pâte et la diminution de sa solidité. Cette observation expliquerait que la faible élasticité caractérisant les pâtes sans

gluten est le résultat de la faible aptitude que montrent leurs constituants à mettre en place des interactions hydrophobes lors de leur développement.

La dissociation des interactions hydrophobes au cours du développement de la pâte PBT1 affecte son comportement visqueux de la même manière que son comportement élastique où on note un maximum de perturbation de  $60,06 \pm 0,29\%$  à 2% en SDS (Figure 23 B). Tandis que dans le cas de la pâte PBT2, le  $G''$  montre une considérable augmentation par rapport au  $G'$  où il atteint un maximum de  $82,01 \pm 0,1\%$  à 2% en SDS (Figure 23B). Cette valeur est presque 2 fois plus importante que celle obtenue pour le  $G'$ . Le même cas est noté pour les pâtes sans gluten où leurs modules visqueux sont plus affectés suite à la dissociation des interactions hydrophobes que les modules élastiques. La pâte PMF donne un effet maximal de  $28,01 \pm 0,62\%$  à 1% en SDS ce qui est deux fois plus important que celui obtenu pour le module élastique. Ceci pourrait indiquer que les interactions hydrophobes conditionnent le comportement visqueux de ce genre de pâtes plus que leur comportement élastique.

La dissociation des interactions hydrophobes affecte considérablement le comportement viscoélastique de la pâte PBT2 où l'effet perturbant entraîne une augmentation du  $\tan \delta$  en fonction de la quantité en SDS ajoutée jusqu'à un maximum de  $44,54 \pm 0,04\%$  à 2% en SDS (Figure 23 C). En comparaison avec la pâte PBT2, l'ajout du SDS au cours de la préparation de la pâte PBT1 n'affecte pas considérablement son comportement viscoélastique. On remarque un effet perturbant nul sur le  $\tan \delta$  de la pâte PBT1 à 2% en SDS (Figure 23 C). Ceci pourrait indiquer qu'en absence de certain nombre d'interactions hydrophobes, ce type de pâte est capable de garder l'équilibre de la participation des modules visqueux et élastiques dans la mise en place de son comportement viscoélastique que la pâte PBT2.

L'ajout du SDS au cours du développement des matrices sans gluten entraîne une augmentation de la valeur de l'angle de perte qui est deux fois plus importante dans le cas de la pâte PMF ( $12,41 \pm 0,01$ ) que la pâte PRF ( $6,81 \pm 0,001$ ) (Figure 23 C). Cette augmentation est le résultat de l'évolution du module visqueux de ces pâtes plus que leur module élastique suite à la dissociation des interactions hydrophobes.

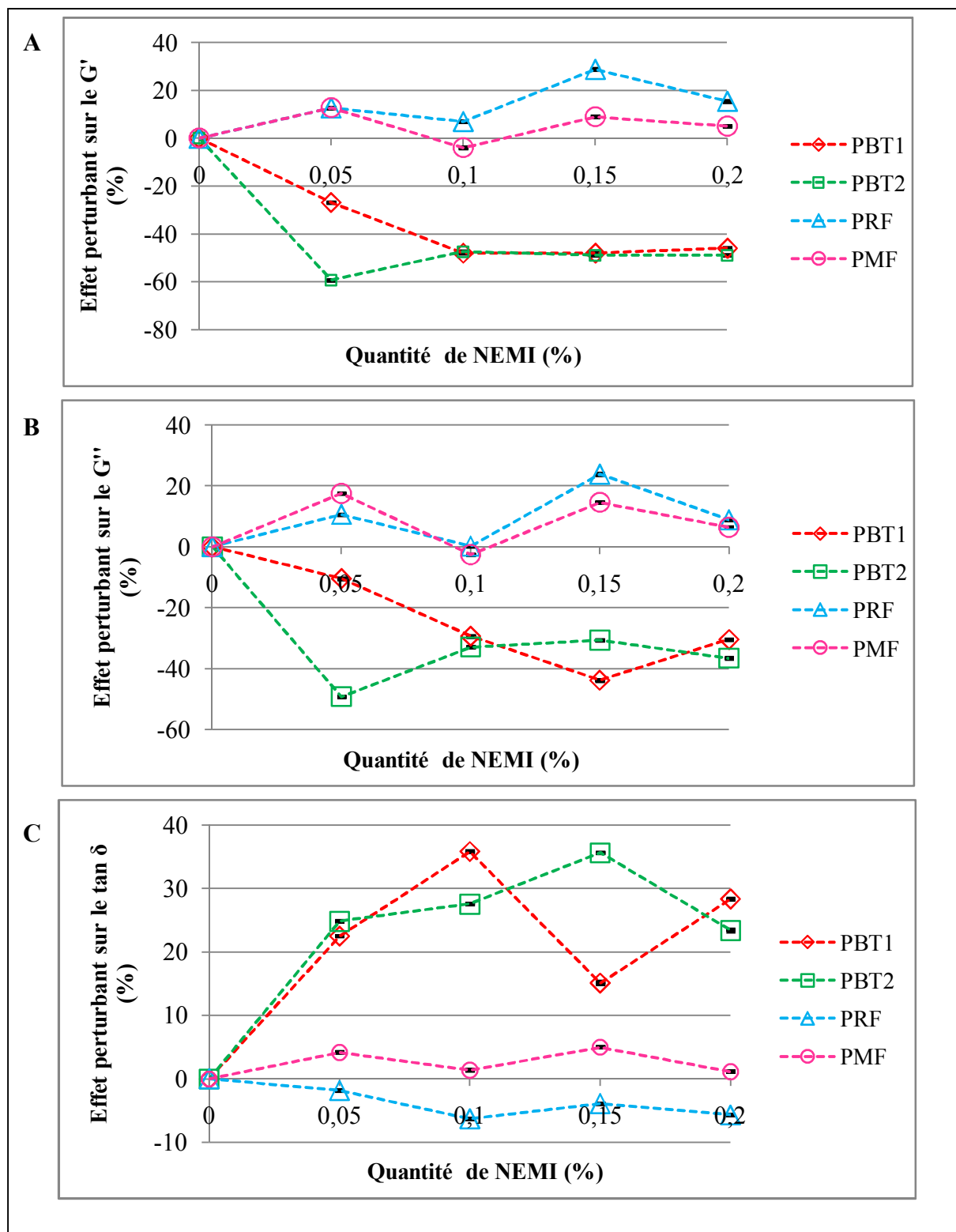
### 2.2.2. Effet des ponts S-S

La Figure 24 montre l'effet de l'inhibition de la formation des ponts S-S sur le comportement viscoélastique des pâtes avec et sans gluten étudiées. Le signe positif signifie l'augmentation de la valeur du paramètre alors que le signe négatif signifie sa diminution par rapport à l'état initiale sans traitement.

La Figure 24 A montre l'évolution de l'effet de l'inhibition des liens disulfures sur le comportement élastique des pâtes avec et sans gluten. La pâte PBT2 est plus affectée par l'ajout du NEMI que la pâte PBT1 dans l'intervalle de [0-0,1]% en NEMI où elle donne un maximum d'effet de  $-59,31 \pm 0,01\%$  à  $0,05\%$  en NEMI contre  $-48,05 \pm 0,13\%$  pour la pâte PBT1. Au-delà de 0,1% en NEMI, l'effet perturbant se stabilise et les deux pâtes s'affectent de la même manière (Figure 24 A). On observe que l'inhibition de l'établissement des liaisons S-S diminue significativement le module élastique des pâtes de blé tendre en augmentant leur extensibilité. Cette suggestion pourrait se confirmer par le comportement de ces pâtes durant leur manipulation, où après l'ajout de NEMI, ces pâtes possèdent une grande tendance à s'allonger sans rupture puis elles se solidifient sous une forme vitreuse. Ceci signifie qu'au cours de l'inhibition de la formation des liaisons disulfures, la pâte perd son aptitude à prendre son état initial après élongation donc elle perd son caractère élastique. Le rapport élasticité/extensibilité des pâtes panifiables à base de blé tendre est conditionné donc par le nombre de liaisons S-S établies. Ces résultats sont en accord total avec les propositions de BLOKSMA (1975).

Contrairement aux pâtes de blé tendre, le module solide des pâtes sans gluten augmente suite à l'inhibition de la formation des liaisons S-S (Figure 24 A). Ceci indiquerait que, dans le cas des pâtes sans gluten, le faible nombre des liens disulfures établis au cours de leur développement serait à l'origine de leur comportement solide et de leur faible élasticité.





**Figure 24.** Evolution de l'effet de l'ajout de NEMI suite à l'inhibition des liaisons S-S sur les paramètres rhéologiques  $G'$  (A),  $G''$  (B) et  $\tan \delta$  (C) des pâtes avec et sans gluten étudiées PBT1 : Pâte Blé Tendre type 1, PBT2 : Pâte Blé Tendre type 2, PMF : Pâte Maïs-Fèverole, PRF : Pâte Riz-Fèverole

Les pâtes sans gluten sont significativement moins affectées par l'ajout de NEMI en comparaison avec celles à base de blé tendre. Ceci pourrait indiquer que les pâtes sans gluten sont moins riches en liaisons S-S et leurs protéines possèdent une faible aptitude à se développer par l'intermédiaire des liaisons S-S que celles de gluten. Ces résultats confirment les explications données pour les taux de dissociation les plus élevés que donnent les pâtes sans gluten par rapport à celles de blé tendre durant la mise en contact avec le  $\beta$ -mercaptoéthanol.

Les modules visqueux (Figure 24 B), caractérisant les pâtes base de blé tendre, sont affectés par l'inhibition des liaisons disulfures de la même façon que le module élastique où ils diminuent suite à l'inhibition de la formation des ponts S-S. Un effet perturbant maximal de  $-49,24 \pm 0,02\%$  à  $0,02\%$  de NEMI est noté pour la pâte PBT2. Ces résultats pourraient indiquer que le comportement visqueux des pâtes de blé tendre est conditionné par la participation importante de pont S-S à la formation de la matrice de ce genre de pâtes.

Les pâtes sans gluten se comportent d'une manière différente par rapport aux les pâtes à base de blé tendre où l'inhibition de la formation des pont S-S augmente leur module visqueux (Figure 24 B). Cet effet reste moins important que dans le cas des pâtes de blé tendre où il ne dépasse pas  $23,80\%$  pour la pâte PRF et  $14,58\%$  pour la pâte PMF. Ceci confirme l'explication donnée pour le module solide où les protéines des ingrédients sans gluten se développent moins par l'intermédiaire des liaisons S-S que celles du gluten.

Le rapport viscoélastique  $G''/G'$  des pâtes de blé tendre augmente suite à la diminution du nombre de liaisons disulfures établies. Les pâtes PBT1 et PBT2 montrent un maximum de perturbation de  $35,82\%$  (à  $0,1\%$  de NEMI) et de  $35,63\%$  (à  $0,15\%$  de NEMI), respectivement (Figure 24 C). Les pâtes à base d'ingrédients sans gluten montrent un effet perturbant sur la rapport  $G''/G'$  nettement plus inférieur (presque 7 fois moins important) que celui observé pour les pâtes de blé tendre où il ne dépasse pas les  $5\%$ .

En classant l'effet perturbant de l'inhibition de la formation des liens disulfures sur les pâtes on trouve que les pâtes PBT1 et PBT2 sont les plus affectées suivies par la pâte PMF puis la pâte PRF. Ceci signifie que la pâte qui a un comportement viscoélastique initial plus important est plus affectée par l'ajout de NEMI et donc elle montre une grande tendance à former des liaisons S-S. Cette indication montre que le faible comportement viscoélastique caractérisant les pâtes sans gluten serait le résultat de l'incapacité de leurs protéines à mettre

en place des enchevêtrements et des polymérisations protéiques à l'aide des liaisons disulfures.

En comparant les effets perturbants de SDS et de  $\beta$ -mercaptoéthanol, on note que l'inhibition de la formation des ponts S-S et la dissociation des interactions hydrophobes affectent le comportement rhéologique des pâtes, particulièrement celles à base de blé tendre, d'une manière différente. L'absence des ponts S-S entraîne une diminution des paramètres viscoélastiques ( $G'$  et  $G''$ ) alors que l'absence des interactions hydrophobes entraîne leur augmentation. Ceci pourrait indiquer qu'un équilibre dans la mise en place de ces deux types de liens moléculaires est indispensable pour établir le comportement viscoélastique de ces pâtes. Où l'augmentation de l'élasticité de la pâte est conditionnée par le nombre des ponts S-S établis alors que sa diminution est assurée par les interactions hydrophobes.

### **3. Conclusion de la partie 02**

L'optimisation de la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires a permis de délimiter les intervalles de concentration optimaux de [0 à 3,5] % pour le SDS et de [0 à 0,007] M pour le  $\beta$ -mercaptoéthanol avec un temps de contact au repos de 60 min. Cette méthodologie a permis la discrimination entre les différents types de pâtes étudiées en fonction de leur aptitude à la dissociation des liaisons disulfures et des interactions hydrophobes. Pour les deux types de liens moléculaires étudiés, les pâtes sans gluten montrent plus de dissociation que les pâtes à base de blé tendre sur tout l'intervalle de concentration délimité montrant leur structure fragile. Les taux de dissociation obtenus sont fortement et positivement corrélés avec le module élastique et, fortement et négativement corrélés avec le comportement viscoélastique des pâtes et le volume spécifique de leurs pains. Ceci indique que le faible comportement viscoélastique des pâtes sans gluten et la forte participation du caractère solide de ce genre de pâte dans ce comportement est le résultat de la faible capacité des ingrédients sans gluten à mettre en place des ponts S-S et des interactions hydrophobes. Ces fortes corrélations ont permis la validation de cette méthodologie entant qu'une méthode rapide, simple et pratique de la prédiction et l'explication de la qualité des pâtes à panifier en fonction de leur aptitude à mettre en place des interactions hydrophobes et la formation de ponts S-S.

La quantité en SDS permettant l'obtention d'une perturbation estimable des paramètres viscoélastiques se délimite dans l'intervalle de [0 à 2] g de SDS pour 100 g de la

farine. L'ajout du SDS au cours de la 17<sup>ème</sup> min de pétrissage est le moment d'ajout convenable pour assurer une dissociation maximale des interactions hydrophobes. Le comportement élastique est plus affecté par l'inhibition de la formation des pont S-S que le comportement visqueux, alors que ce dernier est plus affecté par la dissociation des interactions hydrophobes. Les pont S-S conditionnent le comportement élastique des pâtes alors que les interactions hydrophobes conditionnent le comportement visqueux. La faible élasticité caractérisant les pâtes sans gluten est le résultat de la faible aptitude que montrent leurs constituants à mettre en place des interactions hydrophobes durant leur développement. Les pâtes sans gluten se caractérisent par une faible aptitude à former des pont S-S et des interactions hydrophobes comparées aux pâtes de blé tendre. Le réseau protéique sans gluten se développe à travers la mise en place des interactions hydrophobes plus que par la formation des ponts S-S.



### Partie 03. Etude structurale et aspects biophysiques des pâtes sans gluten

#### 1. Mécanismes structuraux de développement des matrices de pâtes sans gluten

Les méthodes spectroscopiques FT-IR et FT-Raman permettent, suite à la collecte des réponses de l'interaction lumière-pâte sous forme de spectres, à estimer les mécanismes structuraux de développement des pâtes sans gluten. Ceci à travers la détermination de types de structures secondaires impliquées dans la mise en place des réseaux protéiques sans gluten, la conformation des ponts S-S et des acides aminés aromatiques (tyrosine et tryptophane) et le mode de réorganisation des molécules d'amidon.

Les spectres FT-IR et FT-Raman collectés démontrent les mêmes caractéristiques générales des pâtes étudiées. De ce fait nous avons décrit uniquement les spectres FT-IR. Les spectres FT-Raman de nos pâtes sont présentés dans l'Annexe 02.

##### 1.1. Spectres FT-IR des pâtes étudiées

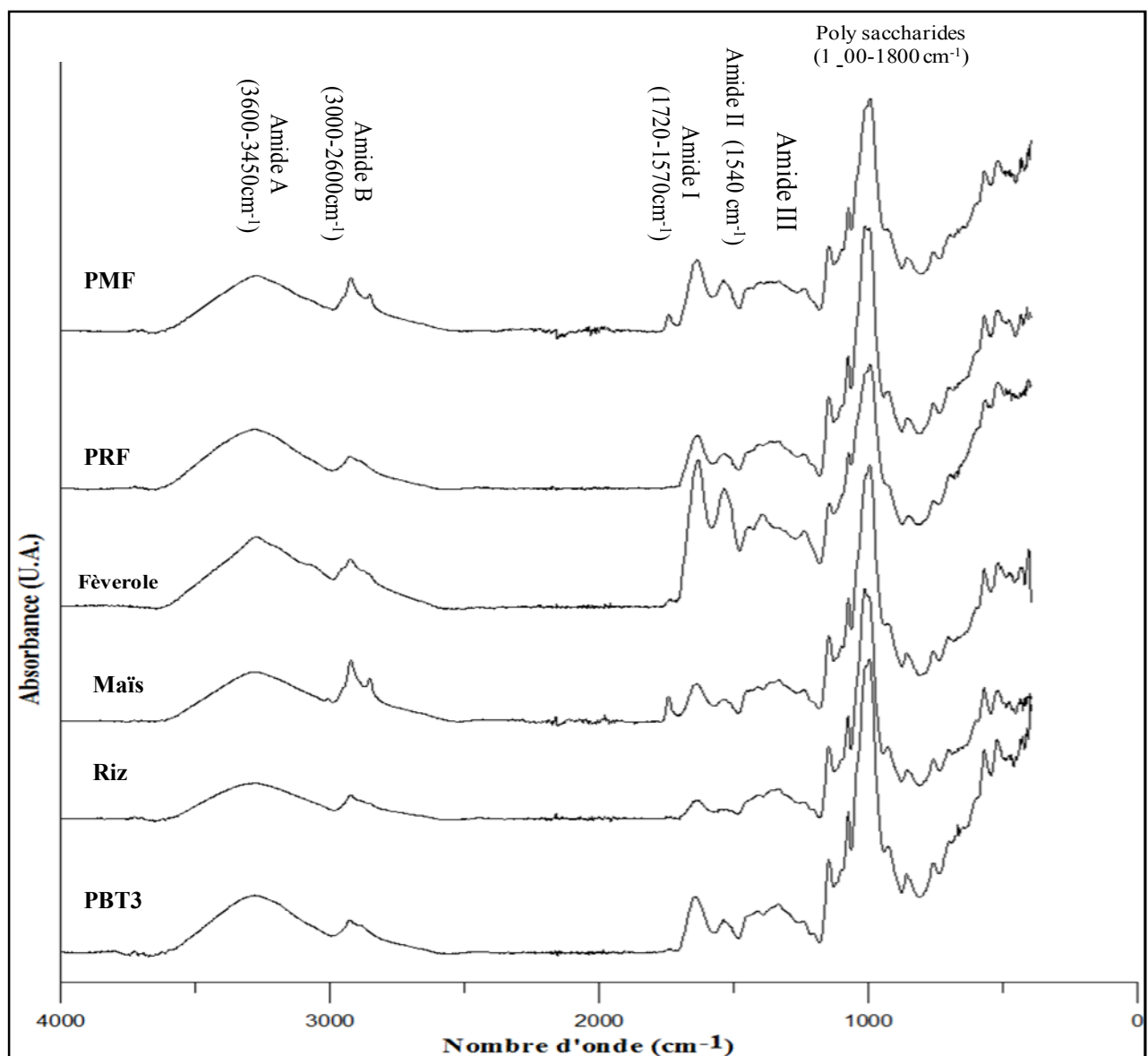
La Figure 25 montre les spectres FT-IR des pâtes lyophilisées à base de blé tendre et des ingrédients sans gluten.

Les spectres enregistrés montrent des bandes caractéristiques entre 3600 et 2600  $\text{cm}^{-1}$  comprenant principalement l'Amide A (3600–3450  $\text{cm}^{-1}$ ) et l'Amide B (3000–2600  $\text{cm}^{-1}$ ) résultant de la vibration d'étirement NH (van VELZEN *et al.*, 2003; SIVAM *et al.*, 2013). Les bandes typiques de protéines : Amide I et Amide II donnent des pics centrés à environ 1640  $\text{cm}^{-1}$  et à environ 1540  $\text{cm}^{-1}$  respectivement, en raison de l'étirement du carbonyle CO avec une contribution mineure de la vibration d'étirement hors plan CN pour la bande Amide I et de la liaison NH et de l'étirement CH des protéines pour la bande Amide II (van VELZEN *et al.*, 2003) (Figure 25). La bande d'Amide III délimitée entre 1350 et 1200  $\text{cm}^{-1}$  représente la déformation dans le plan NH couplée à l'étirement C–N. Elle inclut également les modes de déformation CH et NH (MEZIANI *et al.*, 2011; SIVAM *et al.*, 2013). Au sein de cette bande, une absorbance maximale est notée à  $\sim 1334 \text{ cm}^{-1}$  pour les pâtes e PBT3, de riz, de maïs, de PRF, de PMF et des pâtes PRF et PMF améliorées contre  $\sim 1390 \text{ cm}^{-1}$  pour la pâte de féverole (Figure 25).

Les spectres de la pâte de maïs et celles à base de maïs montrent deux pics caractéristiques à  $\sim 2930$  et  $2849 \text{ cm}^{-1}$  (Figure 25). Ces deux bandes résultent des vibrations

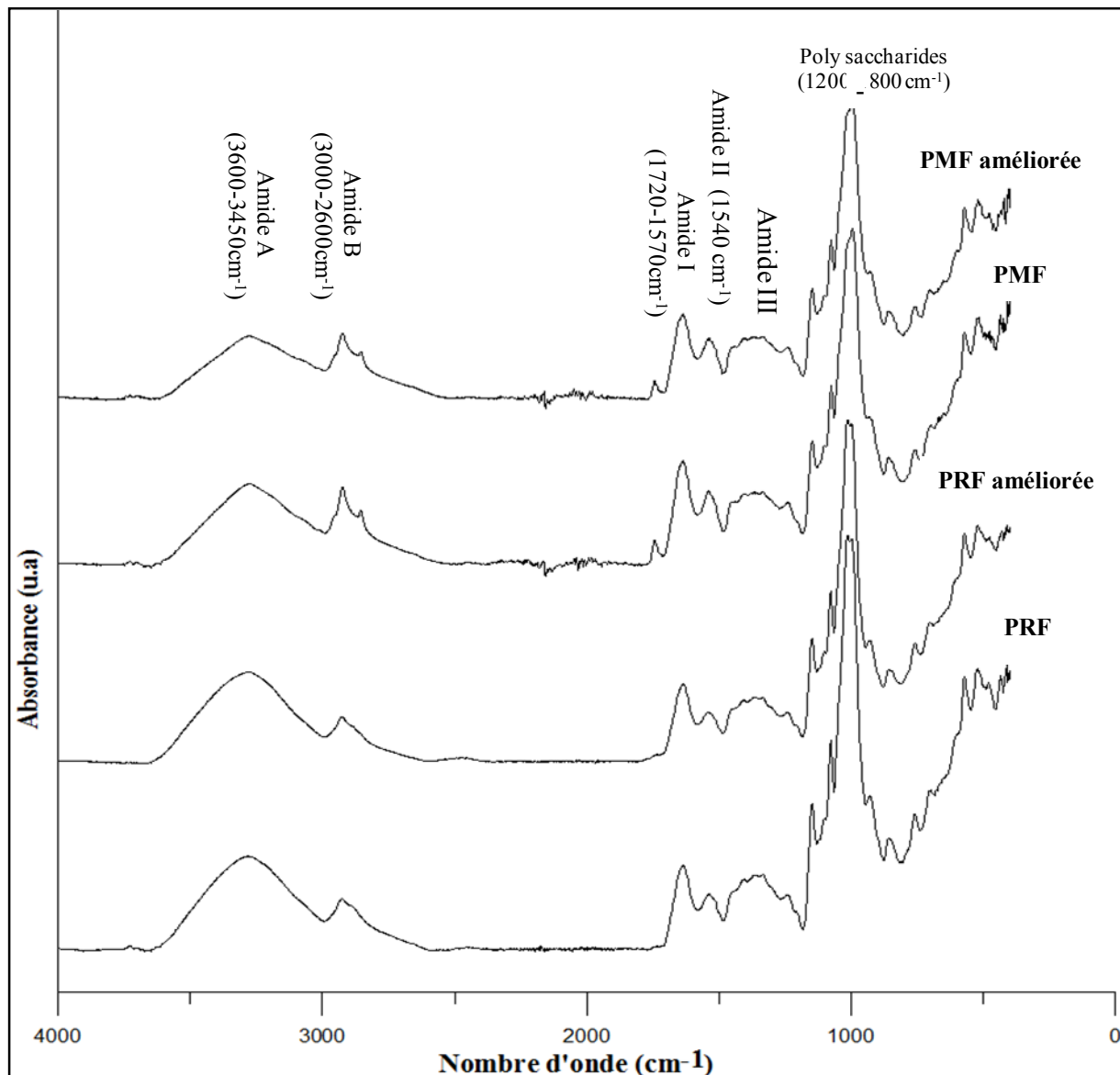
d'étirement C-H. Ces mêmes pâtes ont également une bande à  $\sim 1740 \text{ cm}^{-1}$  (Figure 25). Elle est attribuée aux groupes carbonyle des esters méthyliques (SIVAM *et al.*, 2013). Cette bande est également observée dans les autres types de pâtes, mais elle est plus intense dans les échantillons à base du maïs. Ceci pourrait être dû à la richesse de la farine de maïs en lipides par rapport aux autres types des pâtes comme il est montré par les analyses physico-chimiques des ingrédients de base.

Une autre région spectrale ( $800\text{--}1200 \text{ cm}^{-1}$ ) caractéristique des vibrations du squelette des liaisons CO, CN et CC est fréquemment attribué aux polysaccharides (SIVAM *et al.* 2013).



**Figure 25.** Spectres FTIR corrigés à la ligne de base des pâtes étudiées. PBT3 : Pâte de blé Tendre type 3, PRF : Pâte à base de la formule Riz-Fèverole et PMF : Pâte de la formule Maïs-Fèverole.

L'effet du traitement hydro-thermique des portions de farines de riz ou de maïs sur l'aspect structural des pâtes à base des formules sans gluten est présenté dans la Figure 26.



**Figure 26.** Spectres FTIR corrigés à la ligne de base des pâtes hydro-thermiquement traitées.

PRF ; pâte de la formule riz-fèverole et PMF ; pâte de la formule maïs-fèverole.

Les spectres représentant les pâtes améliorées donnent les mêmes caractéristiques que ceux des témoins préalablement discutées.

L'amidon et les protéines sont les principaux composants des pâtes examinées et ont un rôle fondamental dans la production de la pâte. C'est pourquoi les bandes d'Amide I et celles d'amidon sont examinées en détail afin de comprendre le rôle de ces deux polymères dans la mise en place et la structuration des pâtes étudiées.



## 1.2. Similitudes et différences des aspects biophysiques des pâtes sans gluten en comparaison avec le témoin de blé tendre

### 1.2.1. Structure secondaire des protéines

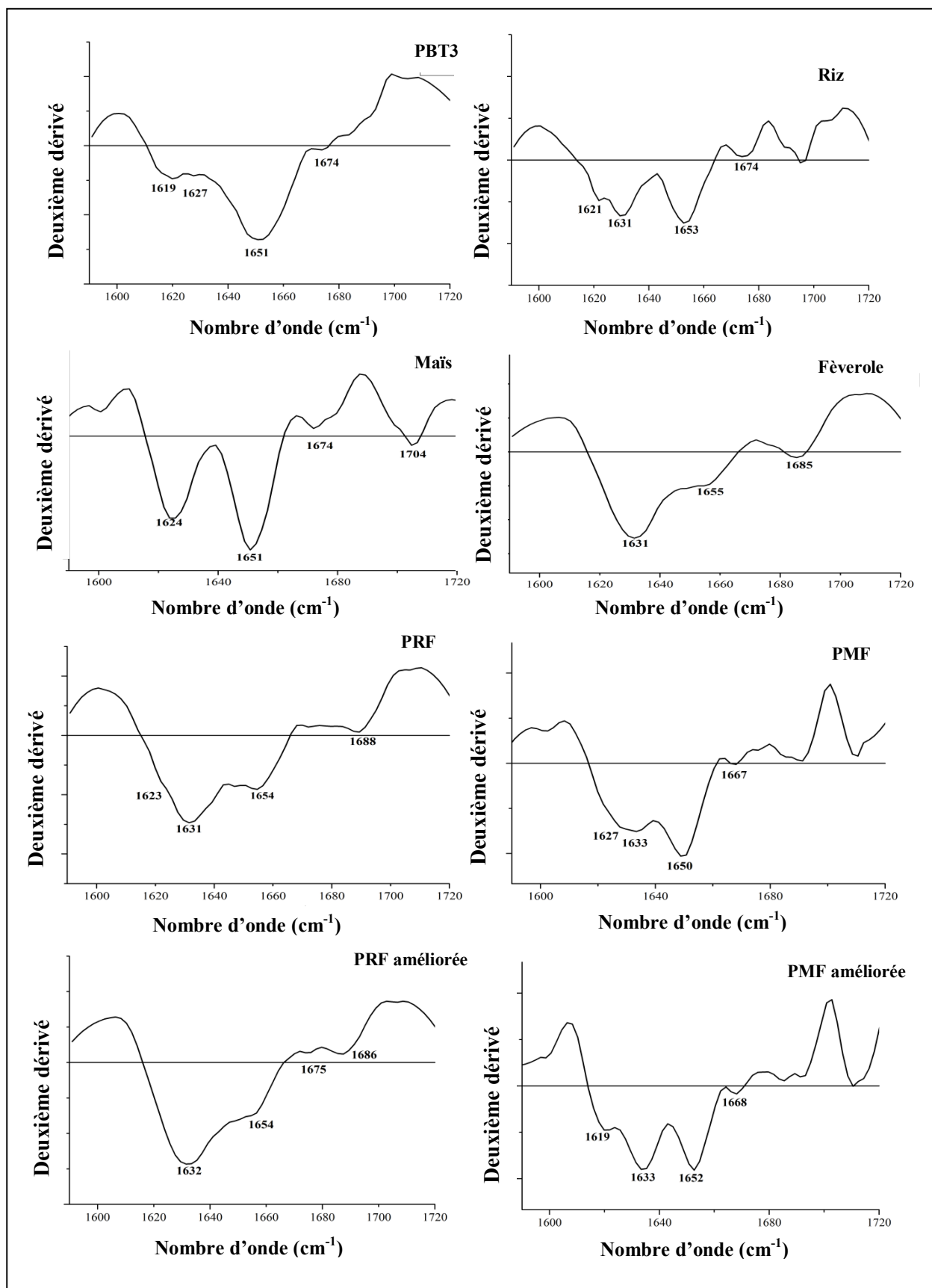
L'analyse des structures peptidiques réalisée par spectroscopie FT-IR et FT-Raman était basée sur les modes vibratoires suivants: Amide A (étirement NH à  $\sim 3500\text{ cm}^{-1}$ ), Amide B (étirement NH à  $\sim 3100\text{ cm}^{-1}$ ) et Amide I à VII (I:  $1600\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$ , II:  $1480\text{--}1580\text{ cm}^{-1}$ , III:  $1230\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$ , IV:  $625\text{--}770\text{ cm}^{-1}$ , V:  $640\text{--}800\text{ cm}^{-1}$ , VI:  $540\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ , VII  $\sim 200\text{ cm}^{-1}$ ) (RYGULA *et al.*, 2013). La bande Amide I était généralement utilisée pour estimer le type et le pourcentage de structures secondaires des protéines dans les matrices de gluten (GOMEZ *et al.*, 2013; NAWROCKA *et al.*, 2015).

#### 1.2.1.1. Estimation par FT-IR

Le deuxième dérivé des spectres FT-IR des pâtes dans la région Amide I ( $1590\text{--}1720\text{ cm}^{-1}$ ) est montré dans la Figure 27.

Les deuxièmes dérivés des spectres FT-IR dans la région Amide I montrent la présence de trois zones caractéristiques pour toutes les pâtes examinées. Les zones comprises entre  $1620$  et  $1644\text{ cm}^{-1}$  sont attribuées à la structure feuillet- $\beta$  (KONG et YU, 2007 ; BOCK et DAMODARAN, 2013). Les bandes suivantes sont visibles au sein de cette région spectrale: bandes centrées à  $1619$  et à  $1627\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte PBT3, à  $1621$  et à  $1631\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte de riz, à  $1624\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte de maïs, à  $1631\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte de la fève, à  $1623$  et à  $1631\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte PRF, à  $1627$  et à  $1633\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte PMF, à  $1632\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte PRF améliorée et à  $1619$  et à  $1633\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte PMF améliorée (Figure 27).

Une autre région spectrale entre  $1649$  et  $1659\text{ cm}^{-1}$  représente la structure hélice- $\alpha$  est notée (van VELZEN *et al.*, 2003 ; POURFARZAD *et al.*, 2015). Dans ce cas, les bandes suivantes sont observées: bandes centrées à  $1651\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte PBT3 et celle de maïs, à  $1653\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte de riz, à  $1655\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte de la fève, à  $1654\text{ cm}^{-1}$  pour les pâtes PRF et PRF améliorée, à  $1650$  et  $1652\text{ cm}^{-1}$  pour les pâtes PMF et PMF améliorées, respectivement (Figure 27).



**Figure 27.** Deuxième dérivé des spectres FT-IR des pâtes dans la région Amide I (1590–1720)  $\text{cm}^{-1}$ . PBT3 : Pâte de Blé tendre Type 3, PRF ; Pâte à base de la formule Riz-Fèverole et PMF ; Pâte à base de la formule Maïs-Fèverole

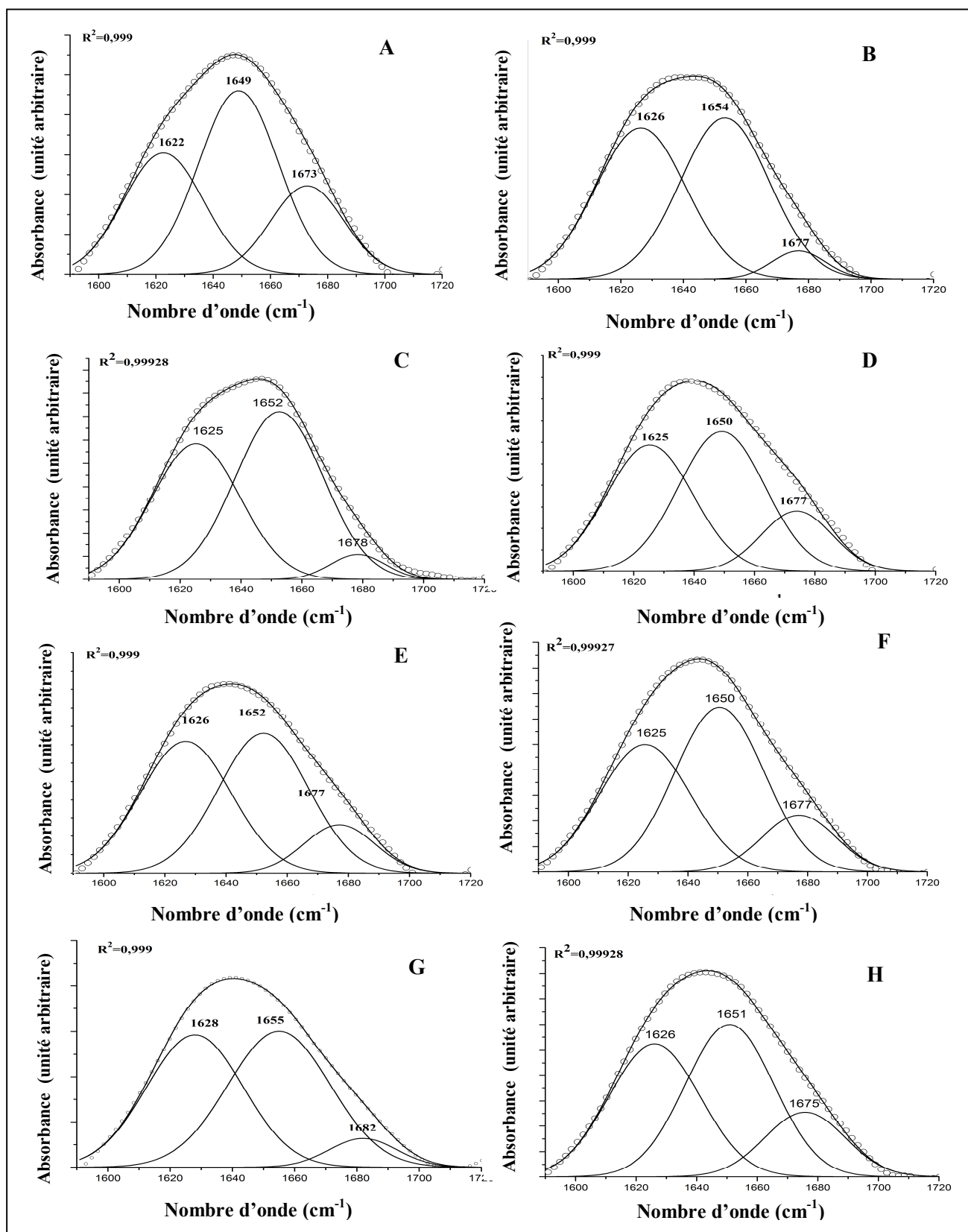
La structure coude- $\beta$  est représentée par la région spectrale entre 1660 et 1688  $\text{cm}^{-1}$  (KONG et YU 2007; YANG *et al.*, 2015). Des bandes centrées à 1674  $\text{cm}^{-1}$  pour la pâte PBT3, à 1674  $\text{cm}^{-1}$  pour la pâte de riz, à 1674  $\text{cm}^{-1}$  pour la pâte de maïs, à 1685  $\text{cm}^{-1}$  pour la pâte de féverole, à 1688  $\text{cm}^{-1}$  pour la pâte PRF, à 1667  $\text{cm}^{-1}$  pour la pâte PMF, à 1686  $\text{cm}^{-1}$  pour la pâte PRF améliorée et à 1668  $\text{cm}^{-1}$  pour la pâte PMF améliorée peuvent être observées (Figure 27). Aucune caractéristique spectrale indiquant la présence de structures désordonnées pour tous les types de pâtes n'est notée et aucune bande n'a été trouvée dans la région entre 1590 et 1619  $\text{cm}^{-1}$  (KONG et YU, 2007).

Le deuxième dérivé des spectres de pâtes sans gluten montre un large pic attribué à la structure feuille- $\beta$  par rapport à celui de blé tendre indiquant la forte implication de ce type de structure secondaire dans la formation des réseaux protéiques sans gluten (SUSI et BYLER, 1983).

Pour estimer la participation quantitative de chaque type de structure secondaire dans le réseau protéique des pâtes, la déconvolution de la bande Amide I est effectuée.

La Figure 28 montre des bandes d'Amide I déconvolutées (1590–1720)  $\text{cm}^{-1}$  où le squelette protéique de toutes les pâtes examinées est constitué de trois pics préalablement identifiés par le deuxième dérivé. Cette identification est similaire à celle donnée par NAWROCKA *et al.* (2017). Le Tableau 19 récapitule les résultats de l'estimation quantitative des structures secondaires.

Le réseau protéique formant la pâte de blé tendre est caractérisé par des pics centrés à 1622, à 1649 et à 1673  $\text{cm}^{-1}$  (Figure 28 A) attribués respectivement aux structures feuillet- $\beta$ , hélice- $\alpha$  et coude- $\beta$  (van VELZEN *et al.*, 2003; KONG et YU, 2007 ; BOCK et DAMODARAN 2013; YANG *et al.*, 2015). Quantitativement, la bande Amide I montre la dominance de la structure hélice- $\alpha$  (48%) suivie par feuillet- $\beta$  (31%), puis coude- $\beta$  (21%) (Tableau 19). Nos résultats sont différents à ceux trouvés par van VELZEN *et al.* (2003) et BOCK et DAMODARAN (2013) qui ont montré la dominance de la structure feuillet- $\beta$  dans les protéines de gluten pur. Les mêmes résultats que ceux présentés par les auteurs ci-dessus ont été trouvés par SIVAM *et al.* (2013) qui ont étudié l'effet des farines enrichies en fibres et polyphénols sur la conformation des polymères au sein de pain. Dans notre cas, il faut être prudent dans l'interprétation des résultats vu la présence d'un étirement C=O à  $\sim 1630 \text{ cm}^{-1}$  qui chevauche avec le pic caractéristique de la structure feuillet- $\beta$ .



**Figure 28.** Bandes Amide I déconvolutées (1590–1720) cm<sup>-1</sup> issues des spectres FT-IR des pâtes étudiées. **A** : PBT3, **B** : riz, **C** : maïs, **D** : fève, **E** : PRF, **F** : PMF. **G** : PRF améliorée, **H** : PMF améliorée, Ligne solide : courbe déconvolutive, cercle : ligne originale. PBT3 : Pâte de Blé tendre Type 3, PRF ; Pâte à base de la formule Riz-Fève et PMF ; Pâte à base de la formule Maïs-Fève.

**Tableau 19.** Composition relative des structures secondaires des protéines de pâte participant à la bande Amide I, calculée sur la base de la déconvolution des spectres FT-IR dans cette région

<b>Pâtes</b>	<b>Feuillet-<math>\beta</math> (%)</b>	<b>Hélice-<math>\alpha</math> (%)</b>	<b>Coude- <math>\beta</math> (%)</b>
<b>PBT3</b>	31	48	21
<b>Riz</b>	46	50	4
<b>Maïs</b>	42	53	5
<b>Fèverole</b>	40	45	15
<b>PRF</b>	43	45	12
<b>PMF</b>	38	48	14
<b>PRF améliorée</b>	44	48	8
<b>PMF améliorée</b>	39	44	17

PBT3 : Pâte de Blé tendre Type 3, PRF ; Pâte à base de la formule Riz-Fèverole et PMF ; Pâte à base de la formule Maïs-Fèverole.

Dans le cas de la structuration des protéines de la pâte de riz (Figure 28 B), les pics trouvés sont centrés à  $1626\text{ cm}^{-1}$ , à  $1654\text{ cm}^{-1}$  et à  $1677\text{ cm}^{-1}$ . Comme pour la pâte PBT3, le réseau protéique de la pâte de riz est caractérisé par une dominance de la structure hélice- $\alpha$  (50%)( $1654\text{ cm}^{-1}$ ). Il contient 46% de la structure feuillet- $\beta$  ( $1626\text{ cm}^{-1}$ ) et une petite fraction (4%) attribuée à la structure coude- $\beta$  ( $1677\text{ cm}^{-1}$ ) (Tableau 19) (KONG et YU 2007; YANG *et al.* 2015). Les mêmes résultats ont été obtenus par GORINSTEIN *et al.* (1996) et ELLEPOLA *et al.* (2005) et qui ont montré la prédominance de la structure hélice- $\alpha$  dans la globuline de riz.

La bande Amide I caractérisant la pâte de maïs (Figure 28 C) montre une forme générale plus proche à celle de la pâte de blé tendre par rapport à celle du riz. Les structures secondaires hélice- $\alpha$  ( $1650\text{ cm}^{-1}$ ) et feuillet- $\beta$  ( $1625\text{ cm}^{-1}$ ) participent principalement à la mise en place de réseau protéique de la pâte de maïs avec des pourcentages de 53 et 42%, respectivement (Tableau 19). La structure coude- $\beta$  ( $1677\text{ cm}^{-1}$ ) ne montre qu'une participation minimale (5%) (KONG et YU, 2007; YANG *et al.*, 2015). Ces valeurs sont presque analogues à celles de la pâte de riz par contre, elles se situent plus loin que celle caractérisant la pâte témoin (PBT3).

La bande Amide I de la pâte de fèverole (Figure 28 D) montre des maxima d'absorbance à  $1625$ , à  $1650$  et à  $1674\text{ cm}^{-1}$ . Dans ce cas, une dominance de la structure

hélice- $\alpha$  (45%) suivie de feuillet- $\beta$  (40%) puis de coude- $\beta$  (15%) est notée. Cette distribution est quantitativement plus proche de celle des protéines de blé que celle du riz (Tableau 19). Contrairement à la pâte de riz, le réseau protéique de la pâte de 1 fève présente une fraction de structure coude- $\beta$  plus élevée (15 % à 1674  $\text{cm}^{-1}$ ) avec un pourcentage inférieur à celui de la pâte de blé tendre (van VELZEN *et al.*, 2003; YANG *et al.*, 2015). Des études antérieures sur la caractérisation structurale et fonctionnelle des haricots et des isolats de protéines de pois de grande culture ont montré la prédominance de la structure feuillet- $\beta$  dans l'établissement de squelette protéique (SHEVKANI *et al.*, 2015). La caractérisation structurale de la fraction de globulines pour différentes graines mono- et dicotylédones, réalisée par MARCONE *et al.* (1998), a révélé que les fractions de globulines avaient généralement des concentrations élevées en feuillet- $\beta$  et des niveaux inférieurs de structures hélice- $\alpha$ . Toutes ces études ont mis en évidence une structure secondaire protéique similaire à celle obtenue dans notre étude pour la pâte de fève.

L'effet de la supplémentation Riz-Fève (PRF) et Maïs-Fève (PMF) sur le comportement des protéines est montré par la Figure 28 E et F, respectivement. Cette supplémentation donne lieu à une légère diminution de la structure feuillet- $\beta$  (43% (1626  $\text{cm}^{-1}$ ) pour la pâte PRF et 38% (1625  $\text{cm}^{-1}$ ) pour la pâte PMF) accompagnée d'une augmentation de la structure coude- $\beta$  (12% (1677  $\text{cm}^{-1}$ ) pour la pâte PRF et 14%(1677  $\text{cm}^{-1}$ ) pour la pâte PMF) (Tableau 19). En comparaison avec le témoin de blé tendre, la supplémentation donne un réseau protéique caractérisé par une fraction plus élevée de feuillets-  $\beta$  formés au détriment de la structure coude- $\beta$  (Figure 28 E, F et A, respectivement). Elle entraîne, également, la diminution de la teneur en hélice- $\alpha$  des pâtes de riz et de maïs, en se rapprochant de celle de la pâte à base de blé.

Les bandes Amide I des pâtes des formules améliorées donnent généralement des formes similaires à celles des pâtes des formules (Figure 28 G (PRF améliorée) et H (PMF améliorée)). La déconvolution de la bande caractérisant la pâte PRF améliorée montre des fractions similaires d'hélice- $\alpha$  (48%) et de feuillet- $\beta$  (44%). Une petite fraction de la structure coude- $\beta$  (8%) est présente dans la composition de cette bande (Tableau 19). En revanche, le traitement hydro-thermique d'une partie de la farine de maïs de la formule FMF entraîne une diminution de la structure hélice- $\alpha$  (de 48 à 44%) qui s'accompagne par une augmentation de la structure coude- $\beta$  (de 14 à 17%). Aucun changement n'a touché la composition en feuillet- $\beta$ . Le traitement hydro-thermique affecte donc la distribution des structures secondaires de la

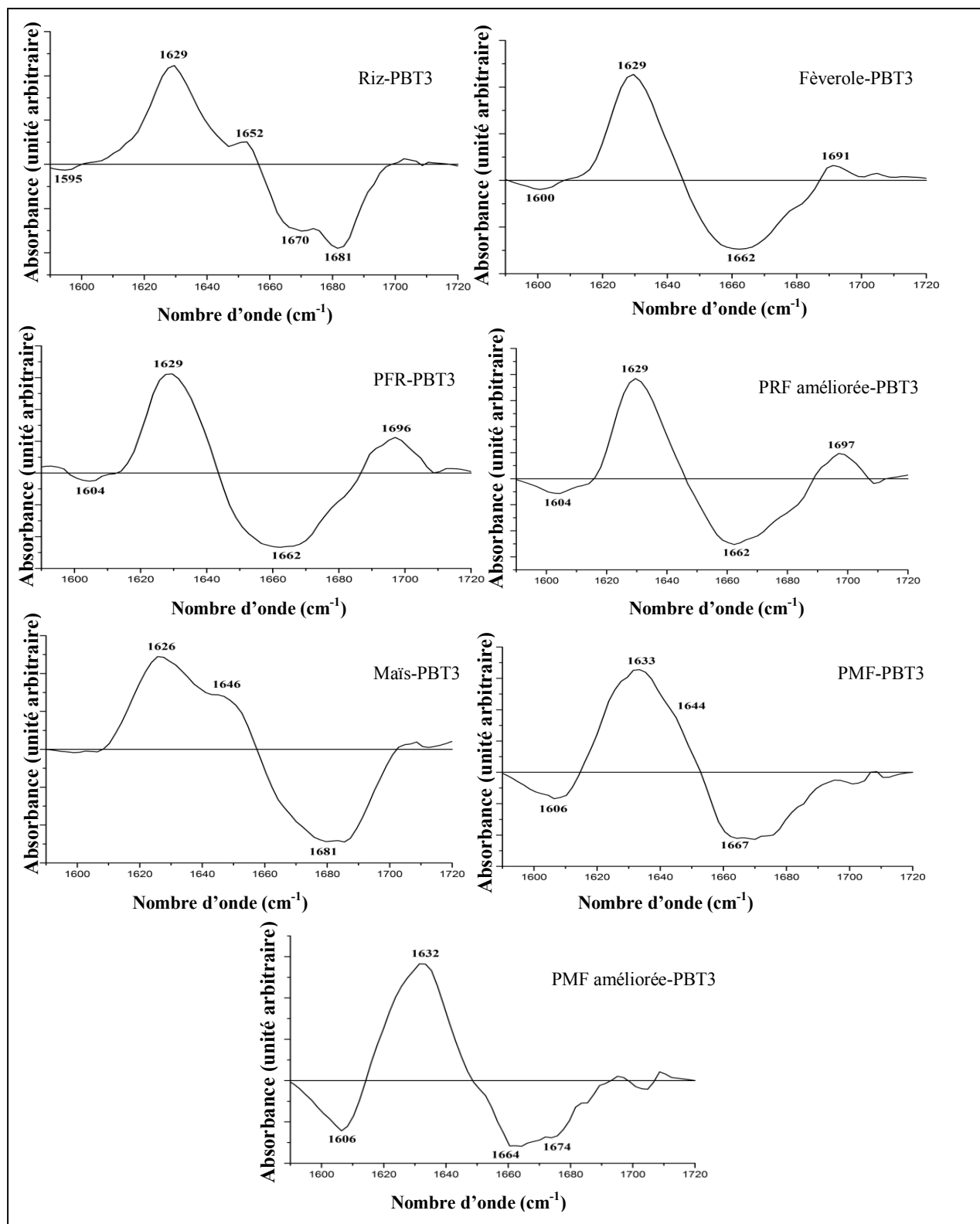
pâte PMF que celle PRF. Ce traitement permet alors de rapprocher la composition de la bande Amide I de la pâte PMF améliorée le plus à celle du témoin de blé tendre (PBT3).

Les pics qui représentent les structures feuillet- $\beta$  et coude- $\beta$ , dans le cas de la pâte PRF améliorée, sont décalés respectivement à 1628 et 1682  $\text{cm}^{-1}$  par rapport à ceux de la pâte de PRF. Le décalage de la position des maxima d'absorbance dans le cas de la pâte PRF améliorée pourrait être expliqué par l'effet du traitement hydro-thermique. Le passage aux fréquences plus élevées montre que les structures secondaires qui constituent le squelette protéique de ce type de pâte sont caractérisées par des liaisons plus courtes et une énergie de vibration plus élevée.

Dans notre étude, les spectres de différence entre la pâte de blé et les pâtes sans gluten ont été analysés pour confirmer la distribution de la structure secondaire obtenue par la déconvolution des bandes Amide I (Figure 29).

Comme le montre la Figure 29, des effets structuraux similaires sont observés pour toutes les pâtes sans gluten. Généralement, une augmentation de contenu de la structure feuillet- $\beta$  est observée au détriment des coude- $\beta$  (pic positif à 1629  $\text{cm}^{-1}$  contre une bande négative entre 1658 et 1690  $\text{cm}^{-1}$ ) (KONG et YU 2007; BOCK et DAMODARAN, 2013; YANG *et al.*, 2015). Dans le cas du réseau protéique de la pâte du riz, le pic centré à 1652  $\text{cm}^{-1}$  montre une légère augmentation de la teneur en hélice- $\alpha$  qui confirme l'analyse obtenue par la déconvolution des spectres. Ce spectre de différence montre une large bande négative avec deux maxima centrés à 1670 et à 1681  $\text{cm}^{-1}$  pouvant être attribuée respectivement aux coude- $\beta$  et antiparallèle feuillet- $\beta$  (KONG et YU, 2007; YANG *et al.* 2015). Le dernier pic (1681  $\text{cm}^{-1}$ ) peut également être attribué au coude- $\beta$  (BOCK et DAMODARAN, 2013).

Dans le cas des pâtes de fève, de PRF et de PRF améliorée, une bande positive avec un maximum entre 1691 et 1697  $\text{cm}^{-1}$ , caractéristique de la structure antiparallèle feuillet- $\beta$  (Figure 29), est apparue (KONG et YU, 2007). Ceci s'accompagne avec la présence d'une large bande caractérisant la structure feuillet- $\beta$  (1629  $\text{cm}^{-1}$ ). Comme la bande avec un maximum à 1629  $\text{cm}^{-1}$  est relativement large, on peut conclure que la structure pseudo-feuillet- $\beta$  peut être formée au détriment des coudes- $\beta$ . Ceci indiquerait la production d'un motif protéique plus structuré pour ces pâtes sans gluten, à l'exception des pâtes de maïs et celles à base de maïs qui sont dépourvues de cette bande (1691-1697  $\text{cm}^{-1}$ ) (Figure 29).



**Figure 29.** Spectres de différences de la région Amide I (1590–1720) cm<sup>-1</sup> entre les pâtes sans gluten et le témoin de blé tendre. PBT3 : Pâte de Blé tendre Type 3, PRF ; Pâte à base de la formule Riz-Fèverole et PMF ; Pâte à base de la formule Maïs-Fèverole.

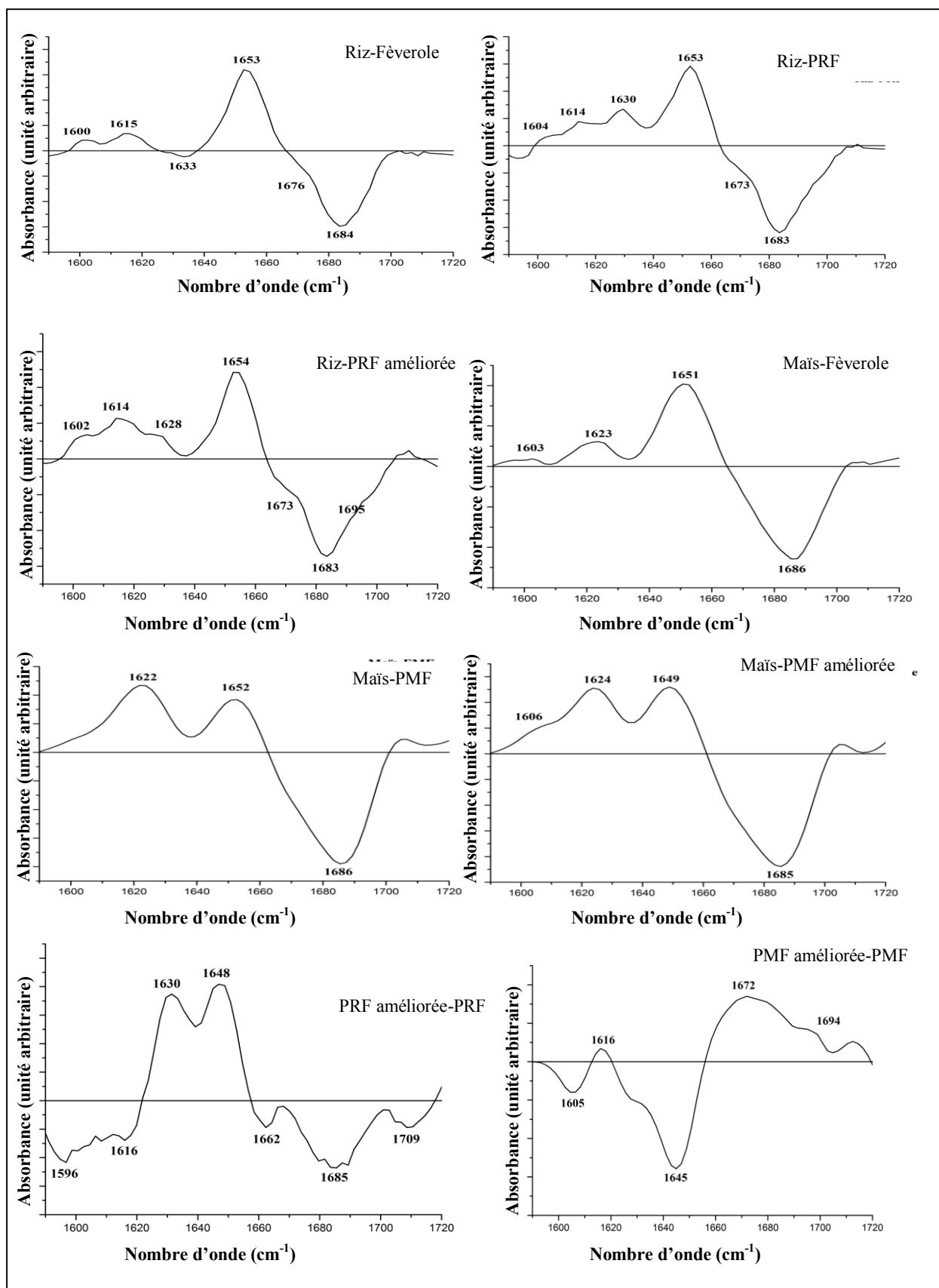


L'hydratation des protéines conduit au remplacement des interactions protéine-protéine par des interactions protéine-eau permettant au mouvement des chaînes polypeptidiques de former le plus de structure feuillet- $\beta$  (CORREA *et al.*, 2014). Cette grande capacité des pâtes sans gluten à former ce type de structure secondaire pourrait s'expliquer par leur forte absorption d'eau. Des études antérieures évaluant l'effet de l'addition des fibres alimentaires sur le comportement rhéologique et la structure des protéines de gluten (NAWROCKA *et al.*, 2016a ; NAWROCKA *et al.*, 2017) ont montré une forte structuration du réseau du gluten en formant des structures de type  $\beta$ , en particulier des feuillets- $\beta$ . Cela confirme nos résultats impliquant la forte structuration des pâtes sans gluten par la formation de structure feuillet-  $\beta$  ce qui expliquerait leur comportement solide et leur faible élasticité.

Pour estimer l'effet de la supplémentation de la farine de riz ou de maïs avec celle de la féverole et pour déterminer l'effet du traitement hydro-thermique sur la conformation des protéines sans gluten, nous avons étudié les changements dans la structure secondaire des protéines sans gluten. Comme le riz et le maïs constituent les farines de base pour les formulations sans gluten étudiées, les courbes de différences ont été analysées par rapport aux protéines des pâtes de riz et de maïs, selon le cas (Figure 30).

Les squelettes protéiques constituant les pâtes de riz et de maïs contiennent plus d'agrégats et de pseudo-feuillets- $\beta$  (bande positive à environ  $1600\text{ cm}^{-1}$  et à environ  $1615\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte de riz et à  $1612\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte de maïs) contre une faible teneur en coude- $\beta$  (bande négative à environ  $1683\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte de riz et à  $1686\text{ cm}^{-1}$  pour la pâte de maïs) que les autres pâtes à base de riz et de maïs, selon le cas ((Figure 30; Riz-PRF et Maïs-PMF). Par conséquent, on peut conclure que les protéines des pâtes à base de céréales non supplémentées sont plus structurées que celles de féverole, des formules et des formules améliorées.

Lorsqu'on examine l'effet du traitement hydro-thermique de la farine de riz, le processus de modification de la structure des protéines semble être plus complexe. Généralement, une augmentation de la structure feuillet- $\beta$  ( $1630\text{ cm}^{-1}$ ) est observée au détriment de la structure coude- $\beta$  ( $1662\text{ cm}^{-1}$ ) et des agrégats ( $1596\text{ cm}^{-1}$ ) (Figure 30). L'intéressant est la présence d'une bande positive avec un maximum à  $1648\text{ cm}^{-1}$ . La bande infrarouge entre  $1640$  et  $1648\text{ cm}^{-1}$  est généralement associée à la conformation non ordonnée (KONG et YU, 2007). Cette bande étant relativement large, elle peut également indiquer une légère augmentation de la fraction d'hélice- $\alpha$ , confirmant ainsi l'analyse de la déconvolution.



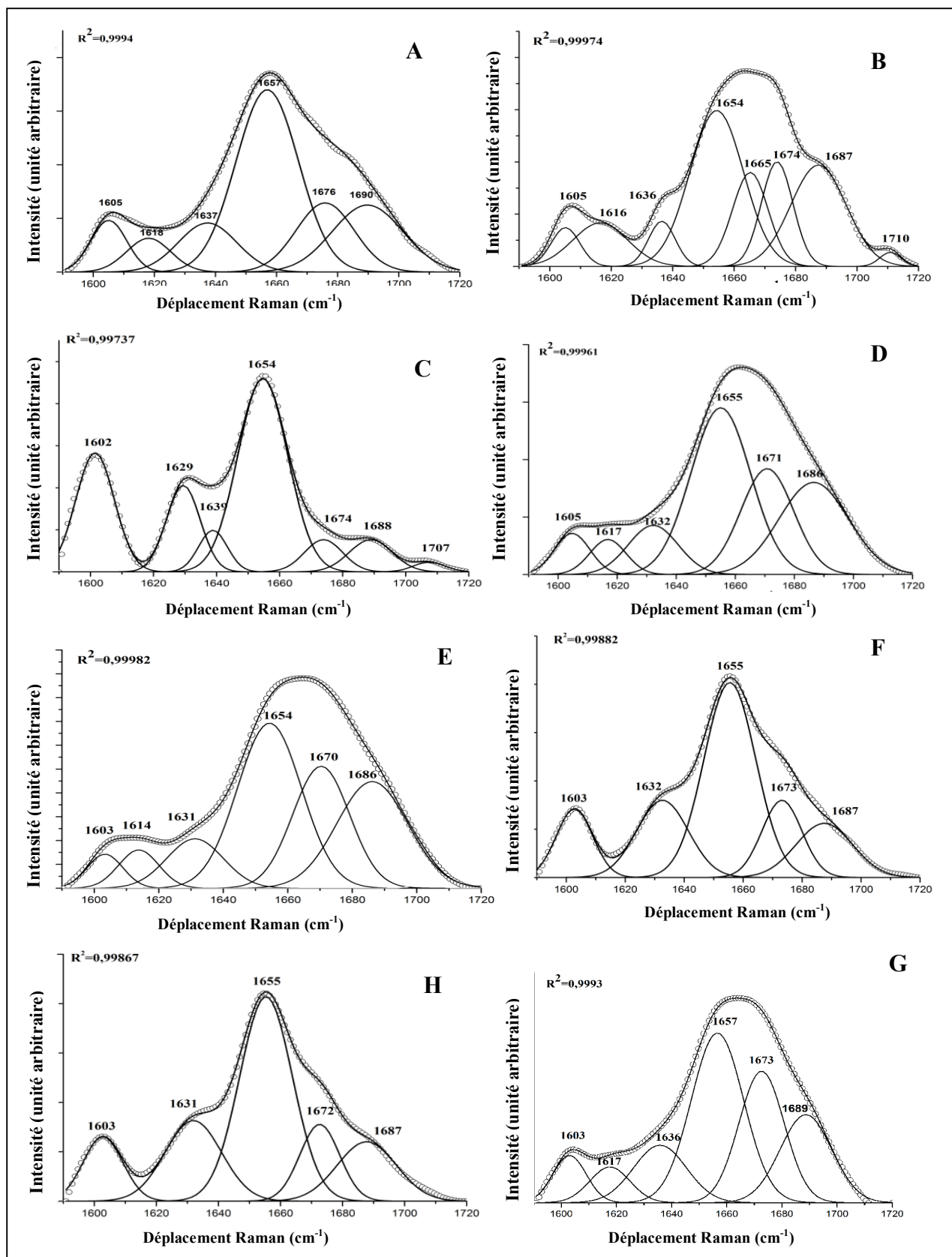
**Figure 30.** Spectres de différences des bandes Amide I (1590–1720) cm<sup>-1</sup> entre les pâtes sans gluten. PBT3 : Pâte de Blé tendre Type 3, PRF ; Pâte à base de la formule Riz-Fèverole et PMF ; Pâte à base de la formule Maïs-Fèverole.

La présence de deux pics positifs à 1630 et à 1648  $\text{cm}^{-1}$  indique des changements structuraux possibles concernant la structure feuillet- $\beta$  (1630  $\text{cm}^{-1}$ ) (Figure 30). Une augmentation possible de la fraction non ordonnée ou de la structure hélice- $\alpha$  (pic positif à 1648  $\text{cm}^{-1}$  accompagné d'une bande négative centré à 1662  $\text{cm}^{-1}$ ) au détriment des agrégats (bande négative à 1596  $\text{cm}^{-1}$ ) et de pseudo-feuillet- $\beta$  (bande négative à 1616  $\text{cm}^{-1}$ ) est également considérée (Figure 30 ; PRF améliorée-PRF).

Le traitement hydro-thermique de la farine de maïs montre un effet plus ou moins différent à l'échelle structural que dans le cas de la farine de riz. Le spectre de différence montre la présence de deux larges bandes caractéristiques, une négative à 1645  $\text{cm}^{-1}$  attribuée à la structure feuillet- $\beta$  (Figure 30), selon BOCK et DAMODARAN (2013). L'autre bande positive donne un maximum à 1672  $\text{cm}^{-1}$  est attribuée à la structure coude- $\beta$  (Figure 30 ; PMF, améliorée-PMF). Ce traitement conduit également à l'apparition de la structure antiparallèle feuillet- $\beta$  (pic positif à 1694  $\text{cm}^{-1}$ ) qui s'accompagne par une diminution de la contribution des agrégats (pic négatif à 1605  $\text{cm}^{-1}$ ) (Figure 30 ; PMF améliorée-PMF). Ces observations confirment les résultats de la déconvolution et permet d'estimer que le traitement hydro-thermique dans le cas de la farine de maïs entraîne un effet améliorant de la qualité de la pâte FMF sur le plan structurel.

### **1.2.1.2. Estimation par FT-Raman**

La Figure 31 montre les bandes d'Amide I déconvolutées (1590-1720)  $\text{cm}^{-1}$ . Le nombre et les positions des pics utilisés dans la déconvolution de chaque type de pâte ont été déterminés en fonction des résultats indiqués par le deuxième dérivé (Annexe 02). Les pourcentages de la participation des différents types de structures secondaires dans la formation des réseaux protéiques des pâtes examinées sont résumés dans le Tableau 20. Le contenu en structures secondaires pour toutes les pâtes a été validé par l'analyse des spectres différences de la région Amide I entre les pâtes sans gluten et celle de blé tendre (Annexe 03) et entre les pâtes sans gluten (Annexe 04).



**Figure 31.** Bandes Amide I déconvolutées (1590–1720)  $\text{cm}^{-1}$  issues des spectres FT-Raman des pâtes étudiées. **A** : PBT3, **B** : riz, **C** : maïs, **D** : fêverole, **E** : PRF, **F** : PMF, **G** : PRF améliorée, **H** : PMF améliorée. Ligne solide : courbe déconvolutive, cercle : ligne originale. PBT3 : Pâte de Blé tendre Type 3, PRF ; Pâte à base de la formule Riz-Fêverole et PMF ; Pâte à base de la formule Maïs-Fêverole.

Les bandes Amide I des pâtes de riz, de maïs ainsi que celles à base de ces deux céréales ont une forme différente de celles de la pâte du blé tendre et de fève. Cela pourrait indiquer les différences en type et en distribution des structures secondaires entrant dans l'établissement des réseaux protéiques de ces pâtes (Figure 31). Toutes les bandes Amide I ont montré une absorbance maximale autour de  $1655 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$  (Figure 31). Ceci indiquerait que la distribution de la structure secondaire impliquée dans la formation de nos pâtes est dominée par la conformation hélice- $\alpha$  (GOMEZ *et al.*, 2013). Ceci est confirmé par les résultats obtenus de la déconvolution de la région Amide I du spectre FT-IR

**Tableau 20.** Distribution des structures secondaires des protéines de pâtes étudiées calculées sur la base de la déconvolution des spectres FT-Raman dans la région Amide I

Pâtes	Agrégats (%)	Pseudo-feuillet- $\beta$ (%)	Feuillet- $\beta$ (%)	Hélice- $\alpha$ (%)	Coude- $\beta$ (%)	Antiparallèle-feuillet- $\beta$ (%)
<b>PBT3</b>	7	6	11	43	15	18
<b>Riz</b>	4	9	5	33	26	23
<b>Maïs</b>	21	0	19	46	6	8
<b>Fève</b>	5	4	9	37	21	24
<b>PRF</b>	4	5	9	34	23	25
<b>PMF</b>	11	0	17	45	14	13
<b>PRF améliorée</b>	6	6	12	35	23	18
<b>PMF améliorée</b>	10	0	19	44	12	15

PBT3 : Pâte de Blé Tendre type 3, PRF : Pâte à base de la formule Riz-Fève et PMF : Pâte à base de la formule Maïs-Fève.

La déconvolution de la bande Amide I de la pâte PBT3 (Figure 31A) a montré que sa distribution quantitative en structures secondaires est prédominée par la structure hélice- $\alpha$  ( $1657 \text{ cm}^{-1}$  - 43%) suivie par antiparallèle feuillet- $\beta$  ( $1690 \text{ cm}^{-1}$ -18 %), coude- $\beta$  ( $1676 \text{ cm}^{-1}$  - 15%), feuillet- $\beta$  ( $1637 \text{ cm}^{-1}$  - 11%), pseudo-feuillet- $\beta$  ( $1618 \text{ cm}^{-1}$  - 6%) et enfin les agrégats ( $1605 \text{ cm}^{-1}$  - 5%) (Tableau 20) (NAWROCKA *et al.*, 2016 a). Aucune structure désordonnée n'a été trouvée (PELTON et MCLEAN, 2000). Une recherche antérieure réalisée par NAWROCKA *et al.* (2015) sur l'effet de l'addition des fibres sur la qualité du gluten montre une différence de la structure secondaire des protéines du gluten natif par rapport à celle obtenue dans notre étude concernant la teneur en hélice- $\alpha$  (60%) et en antiparallèle feuillet- $\beta$  (8%). Aucune structure pseudo-feuillet- $\beta$  n'a été trouvée. L'absence des structures désordonnées a également été notée pour cette étude. Contrairement à nos résultats, GOMEZ *et al.* (2013) ont montré la participation des structures désordonnées dans la structuration du squelette natif du gluten avec une prédominance de la structure hélice- $\alpha$ .

En comparaison avec la structure secondaire de réseau protéique formant la pâte de blé tendre, la déconvolution de la bande Amide I de la pâte de maïs (Figure 31C) a montré que son squelette protéique est principalement formé par la structure hélice- $\alpha$  (46% à 1654  $\text{cm}^{-1}$ ) qui a été proche de celle trouvée pour la pâte de blé tendre (PELTON et MCLEAN, 2000). Les agrégats (21% à 1602  $\text{cm}^{-1}$ ) et les feuillets- $\beta$  (19% à 1629 et à 1639  $\text{cm}^{-1}$ ) participent en deuxième position après la structure hélice- $\alpha$  dans le maintien de réseau protéique de la pâte de maïs (Tableau 20). Ces deux structures étaient respectivement 3 et 1,72 fois plus abondantes que dans la pâte de blé tendre. Les fractions d'antiparallèle feuillet- $\beta$  (8% à 1688 et 1707  $\text{cm}^{-1}$ ) suivies par celles de coude- $\beta$  (6% à 1671  $\text{cm}^{-1}$ ) étaient inférieures à celles de la pâte témoin de blé tendre (GOMEZ *et al.*, 2013). Aucune structure pseudo-feuillet- $\beta$  n'a été trouvée (NAWROCKA *et al.*, 2016 a). Une étude antérieure réalisée par MEJIA *et al.* (2007) sur les similitudes et les différences dans la structure secondaire des polymères viscoélastiques de la protéine  $\alpha$ -zéine de maïs et de gluten de blé utilisant la spectroscopie FT-IR a montré que la structure native de la protéine  $\alpha$ -zéine de maïs était principalement composée d'hélices  $\alpha$  ( $\sim 68\%$ ). Les mêmes résultats ont été rapportés par ARGOS *et al.* (1982).

Contrairement au maïs, le réseau protéique de la pâte de riz (Figure 31 B) se caractérise essentiellement par une prédominance de la structure hélice- $\alpha$  (33% à 1655  $\text{cm}^{-1}$ ). Celle-ci est 1,3 fois plus inférieure à celle du témoin de blé tendre, suivi par la structure coude- $\beta$  (26% à 1665 et 1674  $\text{cm}^{-1}$ ) puis la structure antiparallèle feuillet- $\beta$  (23% à 1687 et 1710  $\text{cm}^{-1}$ ) (Tableau 20). Ces deux derniers types de structure secondaire sont, respectivement, 1,73 et 1,27 fois plus importants que dans le cas de la pâte du blé. Néanmoins, ce type de pâte montre une faible participation de la structure feuillet- $\beta$  dans le maintien de son réseau protéique où le pourcentage de cette structure est 2,2 fois plus faible que celui trouvé pour la pâte de blé tendre. Cette différence pourrait être due au type de l'excitation moléculaire utilisé dans le cas de l'analyse par FT-Raman.

La structure secondaire de la pâte de fève (Figure 31 D) contient 37% de la structure hélice- $\alpha$  (1655  $\text{cm}^{-1}$ ) qui est plus dominante que les autres structures. Elle est 1,16 fois plus inférieure que celle de la pâte de blé tendre. Le squelette protéique de la pâte de fève est formé également par 24% de la structure antiparallèle feuillet- $\beta$  (1685  $\text{cm}^{-1}$ ) et 21% de coude- $\beta$  (1671  $\text{cm}^{-1}$ ) qui sont, respectivement, 1,33 et 1,4 fois plus élevées que celles de la pâte PBT3. Les pourcentages des agrégats (5% à 1605  $\text{cm}^{-1}$ ), pseudo-feuillet- $\beta$  (4% à

1617  $\text{cm}^{-1}$ ) et feuillet- $\beta$  (9% à 1632  $\text{cm}^{-1}$ ) sont proches de celles de la pâte PBT3 (Tableau 20) (NAWROCKA *et al.*, 2016 a).

La déconvolution de la bande Amide I de pâte PMF (Figure 31 F) a montré que la substitution de 1/3 de la farine de maïs par celle de fève role conduit à une diminution de la fraction des agrégats (1603  $\text{cm}^{-1}$ ) de 21 à 11% (NAWROCKA *et al.*, 2016 a). Les quantités d'antiparallèle feuillet- $\beta$  (1687  $\text{cm}^{-1}$ ) et de coude- $\beta$  (1673  $\text{cm}^{-1}$ ) ont augmenté, respectivement, de 8 à 13% et de 6 à 14% en se rapprochant le plus à celles de la pâte de blé tendre (GOMEZ *et al.*, 2013; NAWROCKA *et al.*, 2016 a) (Tableau 20). Aucun changement n'a été observé pour les fractions d'hélice- $\alpha$  (45% à 1655  $\text{cm}^{-1}$ ) et de feuillet- $\beta$  (17% à 1632  $\text{cm}^{-1}$ ) (Tableau 20). La supplémentation Maïs-Fève role n'affecte pas la quantité de pseudo feuillet- $\beta$  (NAWROCKA *et al.*, 2016 a).

Contrairement à la supplémentation Maïs-Fève role, celle de Riz-Fève role n'entraîne aucun effet considérable sur la distribution des structures secondaires participant dans le maintien du réseau protéique de la pâte de riz. Uniquement une légère diminution de la quantité des pseudo-feuillets- $\beta$  (de 9 à 5% à 1614  $\text{cm}^{-1}$ ) accompagnée par une augmentation de la quantité de la structure feuillet- $\beta$  (de 5 à 9% à 1631  $\text{cm}^{-1}$ ) est noté, en se rapprochant à celle du témoin de blé tendre (PBT3) (Tableau 20).

En comparant les résultats de la déconvolution de la bande Amide I des pâtes PMF et PRF améliorées (Figure 31 H et G, respectivement) avec celles des pâtes PMF et PRF sans améliorant et celle du blé tendre (témoin), on note que l'incorporation de farine de maïs traitée hydro-thermiquement dans la formule FMF a provoqué une augmentation de la quantité de la structure antiparallèle feuillet- $\beta$  (1687  $\text{cm}^{-1}$ ) de 13 à 15% contre une diminution de la teneur en coude- $\beta$  (12% à 1672  $\text{cm}^{-1}$ ) en se rapprochant celle de la pâte de blé tendre (15%) (Tableau 20) (GOMEZ *et al.*, 2013; NAWROCKA *et al.*, 2016 a). Dans le cas de riz, l'effet du traitement hydro-thermique ne touche que deux types de structures où il entraîne une diminution de la teneur des antiparallèles feuillets- $\beta$  de 25 à 18% et une augmentation de la structure feuillet- $\beta$  de 9 à 12% tout en se rapprochant au témoin de blé tendre (PBT3). La composition en structure secondaire de la pâte PRF améliorée reste plus loin par rapport à celles de la pâte PBT3 et aussi de la pâte PMF améliorée.

Concernant la pâte PMF améliorée, aucun changement significatif n'a été noté pour les agrégats (10% à 1603  $\text{cm}^{-1}$ ), les feuillets- $\beta$  (19% à 1631  $\text{cm}^{-1}$ ) et les hélices- $\alpha$

(44% à  $1655\text{ cm}^{-1}$ ) (Tableau 20) (NAWROCKA *et al.*, 2016 a). La teneur en hélice- $\alpha$  (44%) est comparable à celle de la pâte de blé tendre. Le traitement hydro-thermique n'a eu aucun effet sur le type de structure secondaire, où l'absence de la structure pseudo-feuillet- $\beta$  (0%) dans la formation du réseau protéique de la pâte PMF améliorée est constatée.

### 1.2.2. Conformation des ponts S-S

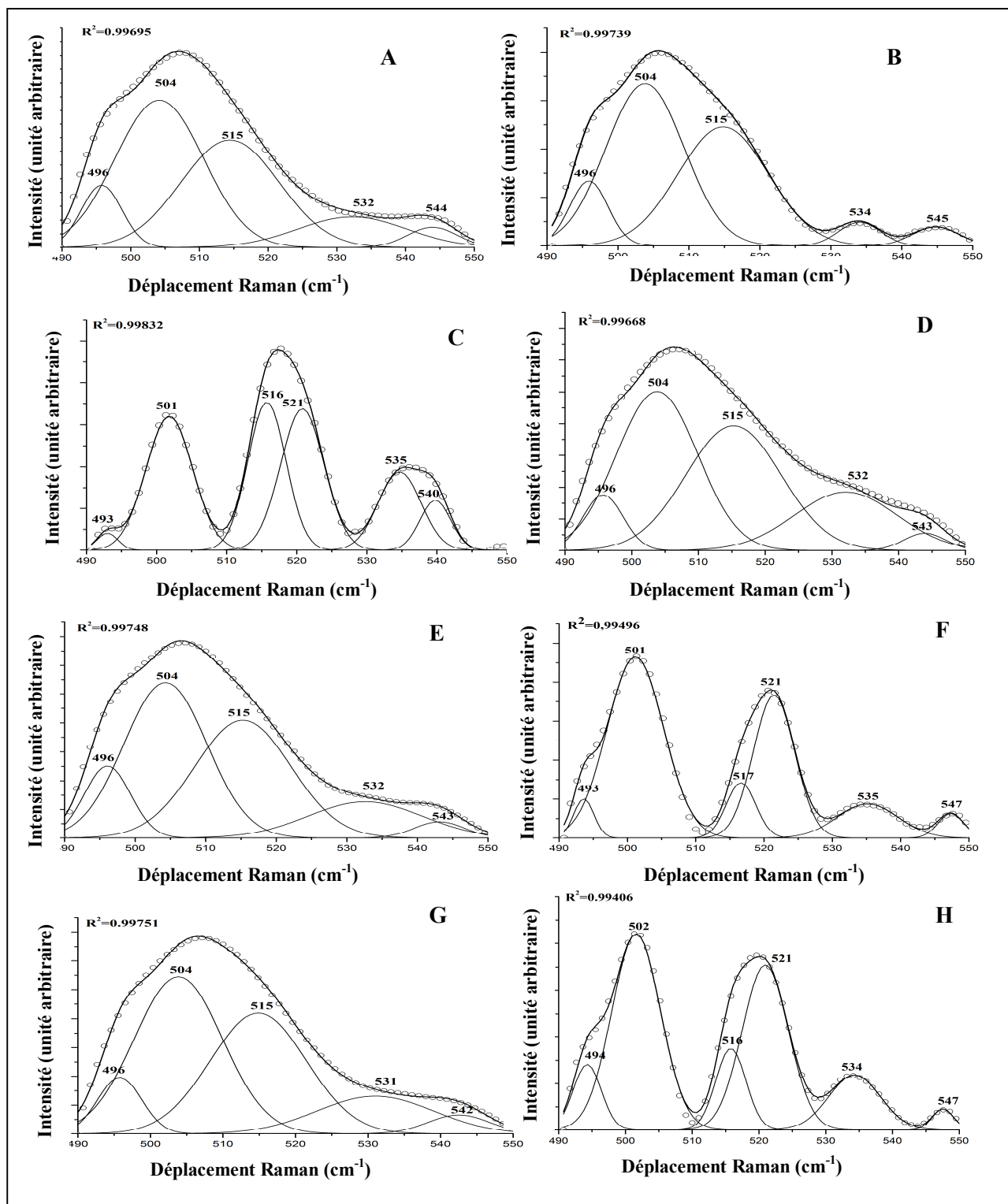
Lors de la préparation de la pâte à panifier, les liaisons disulfures, considérées comme des liens covalents forts, participent à la formation et au développement du réseau protéique, notamment dans la structure tertiaire (WIESER, 2007). Selon NAWROCKA *et al.* (2016a), GOMEZ *et al.* (2013) et FERRER *et al.* (2011), la conformation des liaisons S-S contribuent d'une manière primordiale aux propriétés fonctionnelles du gluten. Cependant, la participation de ce type de liaisons dans le maintien du réseau protéique sans gluten et leurs effets sur le comportement fonctionnel de ce genre de protéines reste mal étudiée. C'est pourquoi la région des ponts disulfures a été analysée et comparée avec celle de témoin de blé tendre. La distribution de la conformation des liaisons disulfures est présentée dans le Tableau 21. La région S-S déconvolutive des pâtes a été présentée dans la Figure 32.

**Tableau 21.** Distribution des conformations des ponts S-S des pâtes étudiées

Pâtes	GGG (%)	GGT (%)	TGT (%)
<b>PBT3</b>	51	35	14
<b>Riz</b>	55	39	6
<b>Maïs</b>	28	51	21
<b>Fèverole</b>	45	35	20
<b>PRF</b>	50	35	15
<b>PMF</b>	51	36	13
<b>PRF améliorée</b>	48	35	16
<b>PMF améliorée</b>	45	41	14

PBT3 : Pâte de Blé Tendre type 3, PRF : Pâte à base de la formule Riz-Fèverole et PMF : Pâte à base de la formule Maïs-Fèverole. GGG : Gauche-Gauche-Gauche, GGT : Gauche-Gauche-Trans, GTT : Gauche-Trans-Trans.





**Figure 32.** Région S-S (490-550) cm<sup>-1</sup> déconvoltée. **A** : PBT3, **B** : riz, **C** : maïs, **D** : fèverole, **E** : PRF, **F** : PMF, **G** : PRF améliorée, **H** : PMF améliorée. Ligne solide : courbe déconvoltée, cercle : ligne originale. PBT3 : Pâte de Blé tendre Type 3, PRF ; Pâte à base de la formule Riz-Fèverole et PMF ; Pâte à base de la formule Maïs-Fèverole.

Comme le montre le Tableau 21, l'analyse de la conformation des ponts S-S de la pâte PBT3 a montré une prédominance de la conformation Gauche-Gauche-Gauche (GGG) (53%) suivie par la conformation Gauche-Gauche-Trans (GGT) (32%) (Tableau 21). La même suggestion a été faite par NAWROCKA *et al.* (2015) qui a montré la prédominance de ces deux types de conformations dans la formation du réseau de gluten avec des différents pourcentages. Une étude similaire à celle de NAWROCKA *et al.* (2015) menée par GOMEZ *et al.* (2013), sur l'effet de l'ajout de fibres sur la qualité du gluten, montre que la structure des ponts S-S du réseau du gluten est prédominée par les structures GGG et TGT avec un manque de la conformation GGT. La prédominance de la conformation GGG indique une structure plus stable du réseau protéique de la pâte de blé tendre (NAWROCKA *et al.* 2016a).

En comparant les pâtes sans gluten avec le témoin de blé tendre (PBT3), on note que seule la pâte de maïs donne des différences considérables dans la distribution, en pourcentage, des conformations des ponts S-S. Elle se caractérise par une prédominance de la conformation GGT (1,6 fois plus élevé que celle de la pâte PBT3). Cependant, une petite fraction des conformations GGG (1,9 fois plus inférieure à celle de la pâte PBT3) et TGT (1,4 fois plus inférieure à celle de la pâte PBT3) est notée (Tableau 21). Selon la suggestion de NAWROCKA *et al.* (2016a), ces résultats soulignent que le réseau protéique de la pâte de maïs se caractérise par des ponts disulfures moins stables. Ceci pourrait expliquer la fragilité de réseau protéique de ce type de pâte par rapport à celle de blé tendre.

Les autres types de pâtes ont montré une distribution des conformations des liaisons disulfures proche de celle de la pâte témoin PBT3 (une prédominance de la conformation GGG suivie de GGT puis TGT) mais avec des teneurs différentes.

La pâte de fèveole a donné une distribution qualitative des trois types de conformations similaire à celle du témoin. En comparant les pourcentages de distribution des trois formes de ponts S-S, on observe que les fractions GGT (36%) et TGT (20%) sont supérieures à celles du témoin PBT3 (32 et 15%, respectivement) (Tableau 21). En revanche, la conformation GGG (44%) est inférieure à celle du témoin (51%) (Tableau 21). Ces résultats peuvent indiquer qu'au cours du développement du réseau protéique de la pâte de la fèveole, des conformations GGT et TGT se forment au détriment de la conformation GGG. Ceci pourrait expliquer la structure moins stable que montre ce genre de pâte (NAWROCKA *et al.* 2016a).

La conformation des ponts S-S des pâtes PMF et PRF est plus proche à celle obtenue pour le témoin de blé tendre (PBT3) [(GGG (51% près de 53%), TGG (36% près de 32%) et TGT (13% près de 15% ) pour la pâte PMF contre la pâte PBT3) et( GGG (50% près de 53%), TGG (35% près de 32%) et TGT (15% près de 15%) pour la pâte PRF contre le témoin de blé tendre (PBT3))] (Tableau 21). Par conséquent, on estime que la supplémentation céréales-légumes secs améliore considérablement la distribution des ponts S-S, favorisant alors la formation des structures protéiques plus stables.

Le traitement hydro-thermique a considérablement affecté la distribution de la conformation des ponts disulfures de la pâte PMF induisant une diminution de la conformation GGG de 51 à 45% accompagnée par une augmentation de la conformation GGT de 36 à 41% (Tableau 21). Aucun changement dans les fractions de la structure TGT (13% contre 14%) n'est observé. En revanche, ce traitement n'entraîne aucune modification de la distribution des ponts S-S de la pâte PRF.

### 1.2.3. Propriétés des acides aminés aromatiques

Le comportement des groupes latéraux est souvent utilisé dans les études conformationnelles des protéines (van DAD *et al.*, 1987). En plus de la cystéine, les résidus de tyrosine et de tryptophane ont également impliqués dans le maintien du squelette protéique de la pâte (WIESER, 2007).

SIAMWIZA (1975) a suggéré que le R (rapport des intensités  $I(850\text{ cm}^{-1})/I(830\text{ cm}^{-1})$ ) est sensible à l'état des liaisons hydrogènes du mélange phénoxytyrosine. Il est interprété comme suit: si le  $R = 0,30$  ; le proton OH fonctionne comme donneur d'une liaison hydrogène forte, si le  $R = 2,5$  ; l'oxygène du groupement OH fonctionne comme un accepteur d'une liaison hydrogène forte. Si le groupement OH fonctionne comme donneur et accepteur, comme pour une tyrosine exposée au solvant, le  $R = 1,25$ . HERRERO (2008) a indiqué que le groupe OH du résidu tyrosine se comporte comme accepteur dans une forte liaison H lorsque le R est plus grand ( $R \geq 2,5$ ) et comme donneur de liaison H lorsque le R est plus faible ( $R \leq 0,3$ ).

D'autre part, la valeur R est également un bon indicateur de la localisation du groupe tyrosyl ; exposé ou enfoui dans la structure protéique (FERRER *et al.*, 2011). Lorsque l'intensité I à  $850\text{ cm}^{-1}$  est supérieure à celle de  $830\text{ cm}^{-1}$ , les résidus tyrosyl sont exposés et agissent avec une charge positive favorisant une force locale de répulsion entre les molécules

protéiques. Ceci provoquerait un changement dans la structure protéique tertiaire. Si  $I$  à  $850\text{ cm}^{-1}$  est plus petit que celui à  $830\text{ cm}^{-1}$ , cela indiquerait que les résidus tyrosyl sont enfouis dans le squelette protéique et que ces groupes participent au repliement des protéines par des liaisons hydrogènes inter et intramoléculaires (HERRERO, 2008; NAWROCKA *et al.*, 2016a).

Les valeurs  $R$  de nos pâtes ont présentées dans le Tableau 22.

Les valeurs  $R$  ( $I(850\text{ cm}^{-1}) / I(830\text{ cm}^{-1})$ ) calculées pour nos pâtes (Tableau 22) sont supérieures à 2,5 pour la pâte de blé tendre (3,41), la pâte de riz (3,34), la pâte de maïs (2,79), la pâte PRF (2,83) et la pâte PRF améliorée (2,67) (Tableau 22). Les pâtes PMF et PMF améliorée ont montré des valeurs de  $R$  (2,46 et 2,52, respectivement) proche de 2,5 (Tableau 20). Seule la pâte de la fèveole présente un rapport  $I(850\text{ cm}^{-1}) / I(830\text{ cm}^{-1})$  (2,37) situé entre 2,5 et 0,3 (Tableau 22). Ces résultats indiquent que, pour tous les types de pâtes, les résidus tyrosyl sont exposés et agissaient comme une charge positive favorisant une force locale de répulsion entre les molécules de protéines provoquant alors un changement dans la structure protéique tertiaire.

**Tableau 22.** Résultat de l'analyse de l'environnement des acides aminés aromatiques (tyrosine et tryptophane) pour les pâtes étudiées

Pâtes	$R$ ( $I(850\text{cm}^{-1})/I(830\text{cm}^{-1})$ )	$I$ ( $760\text{ cm}^{-1}$ )
<b>PBT3</b>	3,41	0,37
<b>Riz</b>	3,34	0,38
<b>Maïs</b>	2,79	0,44
<b>Fèveole</b>	2,37	0,60
<b>PRF</b>	2,83	0,67
<b>PMF</b>	2,46	0,60
<b>PRF améliorée</b>	2,67	0,78
<b>PMF améliorée</b>	2,52	0,60

PBT3 : Pâte de Blé Tendre type 3, PRF : Pâte à base de la formule Riz-Fèveole et PMF : Pâte à base de la formule Maïs-Fèveole.

La pâte PBT3 (témoin) et celle de riz donnent des valeurs  $R$  les plus élevées par rapport aux autres types de pâtes ( $R \geq 2,5$ ). Ceci pourrait indiquer que les résidus de tyrosyl, dans les réseaux protéiques de ces deux types de pâtes, se comportent comme des accepteurs exposés dans une forte liaison H. La valeur  $R$  de blé tendre est supérieure à celle donnée par

NAWROCKA *et al.* (2016a) et par FERRER *et al.* (2011) pour les protéines de gluten qui sont de 0,88 et 1,29, respectivement. Cette différence pourrait être due à la présence, dans notre cas, d'autres composants de la pâte qui favoriseraient l'exposition des résidus de tyrosine à la surface de la structure protéique.

Toutes les autres pâtes sans gluten ont montré des valeurs R inférieures à celles de la pâte PBT3. La valeur la plus élevée est observée pour la pâte PMF (2,79). Tandis que, la plus petite valeur est donnée par la pâte de fève (R=2,37) (Tableau 22). Ces résultats pourraient indiquer que les groupes OH de tyrosine des pâtes sans gluten, à l'exception des pâtes de fève, se comportent comme un accepteur participant à la formation d'une forte liaison hydrogène. En même temps, les groupes OH des résidus de tyrosine dans la pâte de la fève se comportent comme des donneurs et des accepteurs de protons.

L'environnement hydrophobe au sein des protéines a également été étudié par la spectroscopie Raman. La bande de tryptophane avec un maximum à  $760\text{ cm}^{-1}$  est utilisée pour indiquer la force de la liaison hydrogène et l'hydrophobicité de l'environnement du cycle indole (LINLAUD *et al.*, 2011). L'augmentation de l'intensité de cette bande indiquerait l'enfouissement des résidus tryptophanes à l'intérieur de la molécule protéique. La diminution de son intensité montre la libération de ces résidus dans la zone hydrophobe et leur contribution à la production de structures protéiques désordonnées (NAWROCKA *et al.*, 2015).

Selon les résultats obtenus, l'intensité de la bande de tryptophane montrée par la pâte de blé tendre (0,37) (Tableau 22) est élevée par rapport à celle trouvée pour la protéine de gluten (0,087 ou 0,167) selon NAWROCKA *et al.* (2015) et (2016b), respectivement. La pâte de riz donne une intensité (0,38) analogue à celle du blé tendre (PBT3).

Les pâtes de fève, de PRF, de PMF et de PMF améliorée ont des intensités similaires (0,6) alors que la pâte PRF améliorée donne l'intensité la plus élevée (0,78) (Tableau 22). Toutes ces valeurs sont supérieures à celles des pâtes PBT3 et de maïs (0,44). D'après NAWROCKA *et al.* (2015), cette différence montrerait le fort enfouissement des résidus tryptophane à l'intérieur du squelette protéique formant ces pâtes. Ce résultat serait la conséquence de la supplémentation Céréales-Légumes secs et le traitement hydro-thermique appliqué.

#### 1.2.4. Caractéristiques de l'organisation d'amidon

Les spectres FT-IR dans la région comprise entre 945 et 1195  $\text{cm}^{-1}$  sont utilisés pour obtenir des informations sur la structure d'amidon (MEZIANI *et al.* 2011). Cette partie du spectre représente les modes de déformation COH et liés au  $\text{CH}_2$  (1077, 1047, 1022 et 994  $\text{cm}^{-1}$ ) ainsi que les modes d'étirement CO et C-C (1150  $\text{cm}^{-1}$ ). Le pic à 994  $\text{cm}^{-1}$  est sensible à la teneur en eau et à la conformation d'amidon (van SOEST *et al.* 1995).

Les bandes d'absorbance à 1047  $\text{cm}^{-1}$  et à 1022  $\text{cm}^{-1}$  sont caractéristiques des fractions cristallines et amorphes de l'amidon, respectivement. Le rapport d'intensité d'absorbance  $R'$  égal à  $I(1047 \text{ cm}^{-1}) / I(1022 \text{ cm}^{-1})$  est fréquemment utilisé comme un indicateur du mode de l'organisation de différents types de composants de l'amidon (SMITS *et al.*, 1998 ; HERNANDEZ-URIBE *et al.*, 2010; MEZIANI *et al.*, 2011). Une valeur élevée de ce rapport montre la domination de la conformation cristalline par rapport à la conformation amorphe (SMITS *et al.* 1998). Les valeurs de  $R'$  calculées pour nos pâtes sont récapitulées dans le Tableau 23.

**Tableau 23.** Valeurs de  $R'$  calculées pour les pâtes étudiées

Pâtes	$R'$
PBT3	0,67
Riz	0,6
Maïs	1,49
Fèverole	0,81
PRF	0,64
PMF	1,40
PRF améliorée	0,63
PMF améliorée	1,43

PBT3 : Pâte de Blé Tendre type 3, PRF : Pâte à base de la formule Riz-Fèverole et PMF : Pâte à base de la formule Maïs-Fèverole.

La pâte de maïs et celles à base de maïs donnent des valeurs de  $R'$  supérieures à 1 avec 1,49 pour la pâte de maïs, 1,40 pour la pâte PMF et 1,43 pour la pâte PMF améliorée. Elles sont presque 2 fois plus importantes que celle donnée par le témoin de blé tendre (PBT3) (Tableau 23). Ces valeurs indiquent que l'intensité à 1047  $\text{cm}^{-1}$  est supérieure à 1022  $\text{cm}^{-1}$ . D'après HERNANDEZ-URIBE *et al.* (2010), l'organisation des composants de l'amidon de

ce genre de pâtes est dominée par la conformation cristalline au dépend de la conformation amorphe.

Les autres types de pâtes donnent des valeurs  $R'$  inférieures à 1 où la valeur la plus élevée est notée pour la pâte de la fève (0,80) alors que la plus faible caractérise la pâte de riz (0,60) (Tableau 22). Elle est de 0,67 pour la pâte PBT3, de 0,63 pour la pâte PRF et de 0,64 pour la pâte PRF améliorée (Tableau 23). Selon ces résultats, ni la supplémentation Céréales-Légumes secs, ni le traitement hydro-thermique ne modifient la réorganisation des composants des grains d'amidon des ingrédients sans gluten.

### 1.3. Corrélation entre les propriétés rhéologiques et le comportement biophysique des pâtes sans gluten

Le mécanisme structural de développement des pâtes à panifier type sans gluten constitue un outil primordial permettant d'expliquer leur faible comportement rhéologique. Dans le but de situer à l'échelle structurale les réponses rhéologiques des pâtes sans gluten, une matrice de corrélation entre les paramètres rhéologiques (propriétés de pétrissage, paramètres viscoélastiques et propriétés de la viscosité) et les aspects biophysiques (types de structures secondaires, propriétés des acides aminés aromatiques, conformation des ponts disulfures et caractéristiques de la réorganisation de l'amidon) est construite (Tableau 24). Les corrélations significatives au seuil de 5% sont montrées en gras.

Le module solide  $G'$  montre une corrélation significative forte et négative avec la conformation GGG ( $r=-0,726$ ) contre une corrélation significative forte et positive avec la conformation GGT ( $r=0,757$ ) (Tableau 24). Ceci pourrait indiquer que la forte rigidité et la faible élasticité que montrent les pâtes sans gluten est le résultat de la faible aptitude de leurs protéines à mettre en place une structure stable riche en conformation GGG. Durant le développement de ce genre de pâtes, les conformations GGT est formée au détriment de la conformation GGG (corrélations fortes et négatives entre la teneur en GGG et celles de GGT ( $r=-0,853$ )). Un effet inverse est noté pour les protéines de gluten où elles montrent une structure stable riche en conformation GGG (NAWROCKA *et al.*, 2016a).

**Tableau 24.** Matrice de corrélation entre les propriétés de pétrissage, les propriétés de la viscosité, les caractéristiques viscoélastiques et les caractéristiques biophysiques de la structure des protéines et d'amidon des pâtes étudiées.

Variables	G'	G''	Tanδ	AE	TG	Vis I	Vis M	Vis F	Cr	rétrog	agr	P-F-β	F-β	Hél-α	Cou-β	A-F-β	GGG	GGT	TGT	R	I(760)	R'	
G'	1																						
G''	0,170	1																					
Tanδ	-0,520	0,734	1																				
AE	0,406	-0,748	<b>-0,918</b>	1																			
TG	0,104	-0,778	-0,788	<b>0,834</b>	1																		
Vis I	-0,269	<b>-0,837</b>	-0,580	0,723	<b>0,907</b>	1																	
Vis M	-0,200	-0,201	0,127	-0,143	-0,288	-0,203	1																
Vis F	0,102	-0,251	-0,121	0,053	-0,187	-0,217	<b>0,947</b>	1															
Cr	-0,673	-0,354	0,274	-0,157	-0,130	0,151	<b>0,828</b>	0,634	1														
rétrog	0,010	-0,360	-0,153	0,116	-0,108	-0,095	<b>0,957</b>	<b>0,990</b>	0,711	1													
agr	0,572	-0,003	-0,269	0,089	-0,274	-0,480	0,638	<b>0,830</b>	0,113	0,758	1												
P-F-β	-0,426	-0,320	-0,022	0,312	0,593	0,755	-0,310	-0,450	0,151	-0,350	-0,775	1											
F-β	0,336	0,101	-0,056	-0,201	-0,502	-0,626	0,595	0,721	0,138	0,646	<b>0,898</b>	<b>-0,940</b>	1										
Hél-α	0,054	0,099	0,161	-0,385	-0,545	-0,597	0,802	<b>0,828</b>	0,435	0,768	0,809	-0,785	<b>0,917</b>	1									
cou-β	-0,382	-0,761	-0,474	0,613	0,783	<b>0,946</b>	-0,346	-0,391	0,083	-0,265	-0,615	0,701	-0,640	-0,659	1								
A-F-β	-0,480	-0,681	-0,320	0,529	0,625	<b>0,874</b>	-0,278	-0,366	0,197	-0,231	-0,636	0,710	-0,641	-0,648	<b>0,964</b>	1							
GGG	-0,726	-0,331	0,091	-0,040	0,411	0,621	-0,402	-0,595	0,110	-0,503	<b>-0,863</b>	0,651	-0,686	-0,544	0,735	0,692	1						
GGT	0,757	-0,153	-0,525	0,466	0,088	-0,172	0,450	0,696	-0,030	0,646	<b>0,869</b>	-0,432	0,572	0,443	-0,383	-0,428	<b>-0,853</b>	1					
TGT	0,416	0,770	0,449	-0,472	<b>-0,837</b>	<b>-0,909</b>	0,196	0,252	-0,162	0,146	0,530	-0,660	0,560	0,456	<b>-0,867</b>	-0,738	-0,794	0,359	1				
R	-0,460	-0,670	-0,186	0,436	0,527	0,726	0,401	0,288	0,701	0,406	-0,211	0,701	-0,419	-0,199	0,580	0,619	0,318	0,019	-0,591	1			
I(760)	0,135	0,433	0,155	-0,262	-0,368	-0,362	-0,637	-0,599	-0,633	-0,644	-0,209	-0,374	0,076	-0,193	-0,078	-0,038	0,062	-0,380	0,332	-0,785	1		
R'	0,537	0,088	-0,235	-0,086	-0,320	-0,568	0,406	0,599	-0,114	0,506	<b>0,887</b>	<b>-0,929</b>	<b>0,942</b>	<b>0,813</b>	-0,618	-0,700	-0,670	0,630	0,464	-0,529	0,097	1	

AE : absorption d'eau, TG : température de gélatinisation, Vis I : viscosité initiale, Vis M : viscosité maximale, Vis F : viscosité finale, Cr : creux, rétrog : rétrogradation, agr : agrégats, P-F-β : pseudo-feuillet-β, F-β : feuillet-β, Hél-α : hélice-α, cou-β : coude-β, A-F-β : antiparallèle-feuillet-β



Les corrélations fortes et négatives observées entre la teneur en pseudo-feuillet- $\beta$  et celles du feuillet- $\beta$  ( $r=-0,940$ ) accompagnées de corrélations fortes et positives entre la teneur en antiparallèle-feuillet- $\beta$  et celle de coude- $\beta$  ( $r=0,964$ ) (Tableau 24) pourrait indiquer que durant le développement du réseau sans gluten, les structures pseudo-feuillet- $\beta$  et antiparallèle-feuillet- $\beta$  se seraient couplées avec la structure coude- $\beta$  et participeraient à la formation de la structure feuillet- $\beta$  par l'intermédiaire des liens hydrogènes intermoléculaires tout en favorisant l'agrégation protéique (MANGAVAL *et al.*, 2001). Contrairement au réseau protéique sans gluten, NAWROCKA *et al.* (2016a) suggèrent qu'au cours de la formation des complexes protéiques de gluten, les pseudo-feuillet- $\beta$  sont formés par les feuillet- $\beta$  et les coude- $\beta$ . Cela pourrait indiquer la grande différence entre les mécanismes structuraux de développement des réseaux protéiques avec et sans gluten.

La conformation des ponts disulfures a participé au comportement rhéologique du fait qu'elle affecte le type de structure secondaire formant la matrice protéique sans gluten. La teneur en agrégats (AGR) montre une corrélation significative forte et positive avec la teneur en conformation GGT ( $r=0,869$ ) contre une forte négative corrélation avec la conformation GGG ( $r=-0,863$ ) (Tableau 24). La teneur en TGT se corrèle négativement avec le contenu en coude- $\beta$  ( $r=-0,867$ ).

Toutes ces informations indiquent que la grande capacité que montrent les protéines des ingrédients sans gluten de se regrouper en agrégats (richesse des réseaux protéiques sans gluten en structure type- $\beta$ ) pourrait être favorisée par la plus grande participation des conformations GGT et TGT des liaisons disulfures dans la mise en place de ce genre de réseaux protéiques. En analysant les résultats apportés par NAWROCKA *et al.* (2016a), les mêmes suggestions que celles obtenues dans notre études ont été mis en évidence. En effet, l'augmentation du nombre de conformations TGG et TGT au détriment de la conformation GGG favoriserait l'agrégation et le repliement des protéines de gluten. Cette suggestion pourrait expliquer la participation indirecte de la conformation des ponts S-S dans le faible comportement viscoélastique des pâtes sans gluten. Ce faible comportement est le résultat de la forte absorption d'eau que montrent les pâtes sans gluten étudiées (forte significative et positive corrélation entre le  $\tan \delta$  et l'absorption d'eau ( $r=-0,918$ )) (Tableau 24).

Le mécanisme structural de développement du réseau protéique des pâtes sans gluten est aussi affecté par les caractéristiques de la réorganisation des composants de l'amidon. Des

Corrélations significatives, fortes et positives sont notées entre le R' et les teneurs en agrégats ( $r=0,887$ ), en feuillet- $\beta$  ( $r=0,942$ ), et en hélice- $\alpha$  ( $r=0,813$ ) contre des corrélations significatives, fortes et négatives avec les teneurs en pseudo-feuillet- $\beta$  ( $r=-0,929$ ) (Tableau 24). Ces résultats pourraient indiquer que la forte structuration et le fort repliement que caractérisent les réseaux protéiques des pâtes sans gluten, suite à sa forte tendance à former des agrégats et des feuillet- $\beta$  au détriment des pseudo-feuillet- $\beta$ , ont favorisé par la forte aptitude des composants de leurs amidons à s'organiser sous une conformation cristalline plus que sous une conformation amorphe. On peut estimer, donc, que plus les composants d'amidon sont regroupés sous une conformation cristalline, plus leur possibilité de former des interactions avec les protéines est minime. Ceci constitue une des causes de la forte structuration des réseaux protéiques sans gluten conditionnant alors son comportement rhéologique solide (HE et HOSENEY, 1992). Toutes ces suggestions pourraient être confirmées par les fortes et les positives corrélations notées entre le paramètre « rétrogradation » et les teneurs en agrégats ( $r=0,758$ ) et en hélice- $\alpha$  ( $r=0,768$ ) (Tableau 24).

En plus du comportement viscoélastique, les propriétés de la viscosité que montrent les pâtes sans gluten ont également été affectées par le comportement biophysique des polymères majeurs constituant ces pâtes. Des corrélations significatives, fortes et positives sont notées entre la viscosité initiale et les teneurs en coude- $\beta$  ( $r=0,940$ ) et en antiparallèle-feuillet- $\beta$  ( $r=0,874$ ). Alors que, la teneur en conformation TGT est fortement et négativement corrélée avec ce paramètre de la viscosité ( $r=-0,909$ ) (Tableau 24). De l'autre côté, la viscosité finale est fortement positivement corrélée avec les teneurs en agrégats ( $r=0,830$ ), et en hélice- $\alpha$  ( $r=0,828$ ) (Tableau 24).

Une matrice de corrélation est aussi construite entre les propriétés rhéologiques et les caractéristiques structurales déterminées par le FT-IR. La matrice est présentée dans l'Annexe 06. Globalement, les corrélations obtenues démontrent que le caractère solide des pâtes sans gluten est le résultat de la forte tendance de leurs protéines à former des structures secondaires de type feuillet- $\beta$  au détriment des coude- $\beta$  induisant une forte structuration des réseaux protéique sans gluten. Cette forte structuration pourrait être favorisée par la forte absorption de l'eau que montrent les pâtes sans gluten par rapport à celle témoin de blé tendre. Ces résultats sont analogues à ceux obtenus par les paramètres structuraux issus des spectres Raman. Ceci confirme la complémentarité de ces deux techniques spectrales ainsi leur efficacité dans l'étude des mécanismes structuraux de développement des matrices sans glute

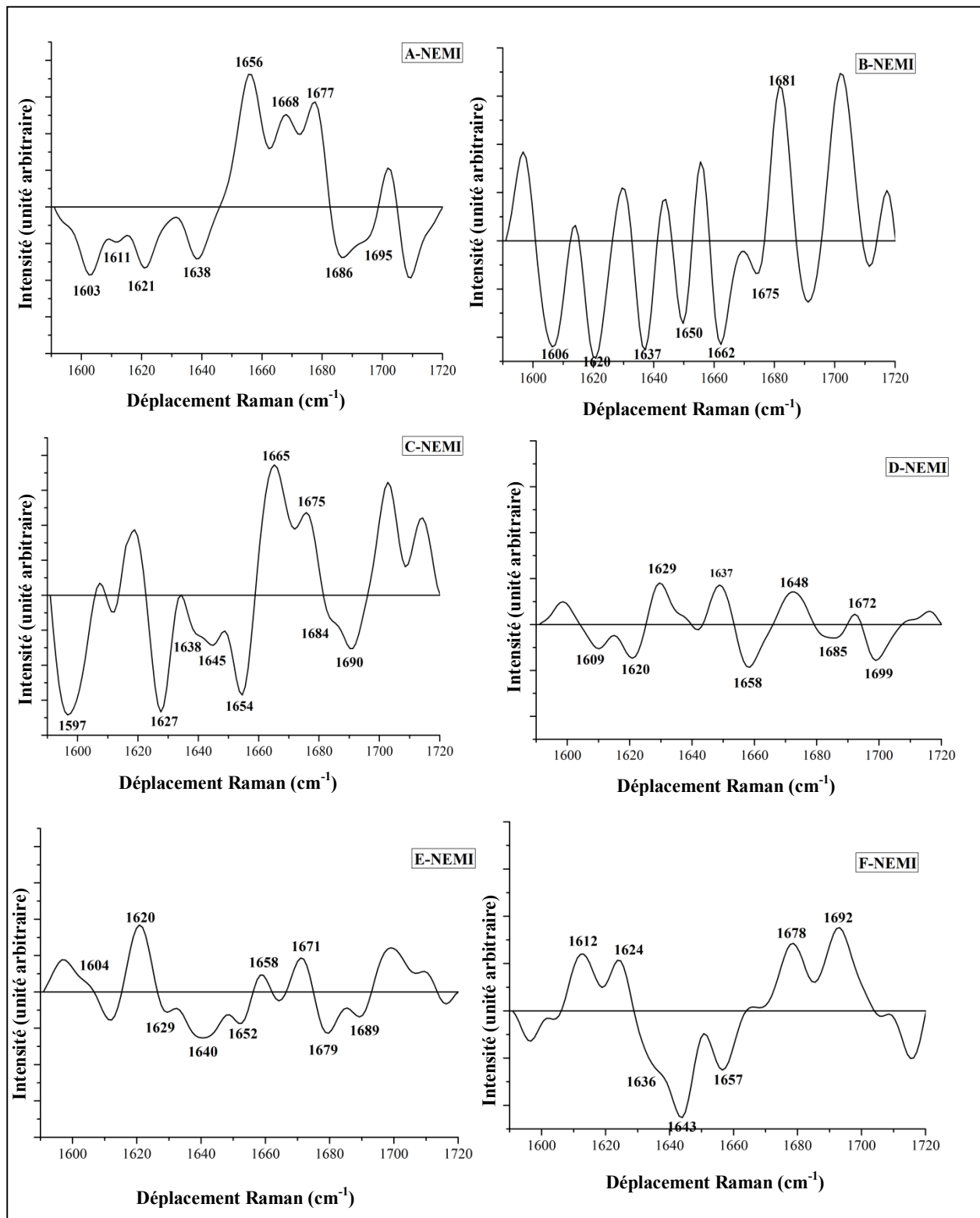
## 2. Impact des ponts S-S et des interactions hydrophobes sur la mise en place des pâtes sans gluten : Approche comparative avec le témoin de blé tendre

Dans le but de mettre en place le rôle des ponts S-S et des interactions hydrophobes dans la structuration des pâtes sans gluten, en comparaison avec le témoin de blé tendre, l'évolution structurale de la matrice protéique de ce genre de pâte en absence de ces deux types d'interactions est étudiée.

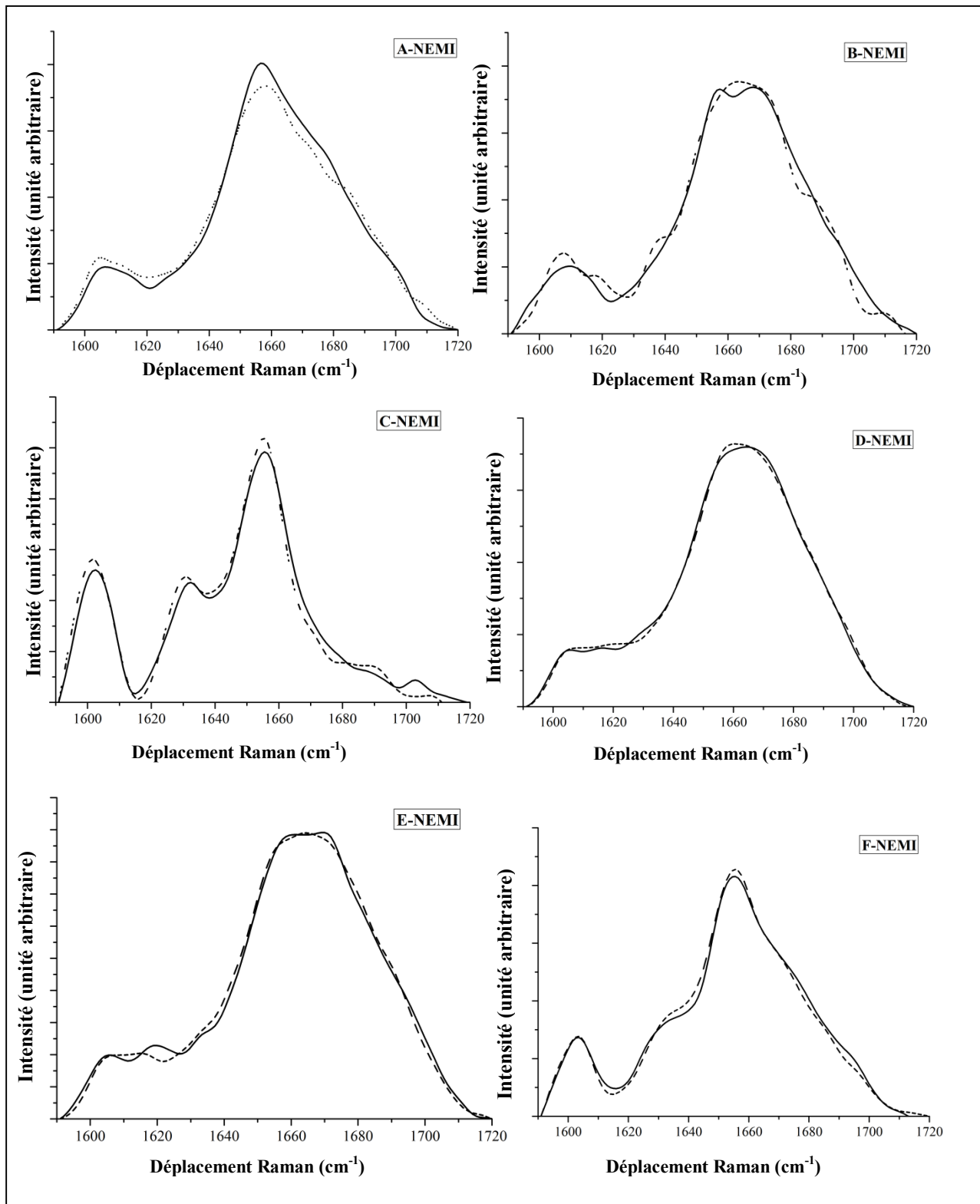
### 2.1. Liaisons disulfures

Les changements structuraux des réseaux protéiques des pâtes sans gluten en absence des ponts S-S, présentés par les spectres de différence, sont montrés dans la Figure 33. La Figure 34 représente les bandes Amide I superposées des pâtes traitées et non traitées.

Le blocage de la mise en place des ponts S-S au cours du développement de la pâte témoin de blé tendre (Figure 33 A-NEMI) entraîne des changements majeurs dans la conformation du réseau du gluten. Une diminution de la teneur en agrégats (bande négative à  $1603\text{ cm}^{-1}$ ), pseudo-feuillet- $\beta$  (bande négative à  $1611$  et à  $1620\text{ cm}^{-1}$ ), feuillet- $\beta$  (bande négative à  $1638\text{ cm}^{-1}$ ) et en antiparallel feuillet- $\beta$  (bande négative à  $1686$  et à  $1695\text{ cm}^{-1}$ ) est notée. Cette diminution est accompagnée par une augmentation des structures type hélice- $\alpha$  (pic positif à  $1656\text{ cm}^{-1}$ ) et coude- $\beta$  (pics positifs à  $1686$  et à  $1677\text{ cm}^{-1}$ ) (Figure 33 A-NEMI). Ces observations pourraient indiquer que le blocage de la formation des ponts S-S (liens covalents forts) obstrue l'établissement des liens hydrogènes ce qui gêne la formation des agrégats protéiques. Ceci pourrait être traduit par la diminution de la teneur des structures type feuillet- $\beta$  (SUBIRADE *et al.*, 1998). SECUNDO et GUERRIERI. (2005) apportent que les structures feuillet- $\beta$  peuvent se former à partir des coude- $\beta$  par l'intermédiaires des liens hydrogènes, ceci expliquerait probablement la présence accrue des coude- $\beta$  dans le squelette protéique de la pâte traitée. SUNDE *et al.* (1997) suggèrent que la formation des antiparallel feuillet- $\beta$  se fait par la connexion des hélices- $\alpha$  de deux complexes protéiques suite à l'établissement des pont S-S intermoléculaires. Cette suggestion pourrait expliquer l'augmentation de la teneur en hélice- $\alpha$  en détriment des antiparallel feuillets- $\beta$  au cours du traitement de la pâte par le NEMI. Ces informations pourraient indiquer que l'absence des ponts S-S entraîne certains réarrangements dans la disposition des liaisons hydrogènes influençant alors la distribution des structures secondaires des protéines.



**Figure 33.** Spectres de différence dans la zone Amide I (1590-1720) cm<sup>-1</sup> entre les pâtes traitées avec le NEMI et les pâtes témoins non traitées correspondantes. **A-NEMI** : FBT3, **B-NEMI** : riz, **C-NEMI** : maïs, **D-NEMI** : fève, **E-NEMI** : PRF, **F-NEMI** : PMF. PBT3 : Pâte de Blé tendre Type 3, PRF ; Pâte à base de la formule Riz-Fève et PMF ; Pâte à base de la formule Maïs-Fève.



**Figure 34.** Spectres Raman superposés dans la zone Amide I (1590-1720) cm<sup>-1</sup> des pâtes traitées avec le NEMI (—) et les pâtes témoins non traités correspondantes (.....). **A-NEMI** : FBT3, **B-NEMI** : riz, **C-NEMI** : maïs, **D-NEMI** : fèvevole, **E-NEMI** : PRF, **F-NEMI** : PMF. PBT3 : Pâte de Blé tendre Type 3, PRF ; Pâte à base de la formule Riz-Fèvevole et PMF ; Pâte à base de la formule Maïs-Fèvevole.

Dans le but d'estimer le rôle des ponts S-S dans le mécanisme structural de développement et de la structuration des réseaux protéiques sans gluten (Figure 33), une discussion comparative entre les spectres de différence des pâtes sans gluten et celui de la pâte témoin de blé est établie. Contrairement à la pâte témoin de blé tendre, toutes les pâtes sans gluten montrent des pics négatifs caractéristiques de la structure hélice- $\alpha$  (pic négatif à 1650  $\text{cm}^{-1}$  pour la pâte de riz, à 1654  $\text{cm}^{-1}$  pour la pâte de maïs, à 1658  $\text{cm}^{-1}$  pour la pâte de fève, à 1652  $\text{cm}^{-1}$  pour PRF et à 1657  $\text{cm}^{-1}$  pour PMF) indiquant une diminution de la teneur de ce type de structure. D'après LINLAUD *et al.* (2011), ceci est typiquement lié à une réduction du repliement des réseaux protéiques sans gluten suggérant des changements conformationnels menant à une structure moins ordonnée.

La pâte de riz traitée (Figure 33 B-NEMI) montre moins d'agrégats, de pseudo-feuillet- $\beta$  et de feuillet- $\beta$  (pics négatifs à 1606, à 1620 et à 1637  $\text{cm}^{-1}$ , respectivement) que la pâte non traitée. L'apparition d'une bande à 1681  $\text{cm}^{-1}$  montre la présence de la structure feuillet- $\beta$  riche en liaisons hydrogènes intermoléculaires (NOWROCKA *et al.*, 2016a). Ceci pourrait indiquer que l'inhibition de la formation des ponts S-S dans ce genre de pâte favorise la formation des structures feuillet- $\beta$  liées par des liens hydrogènes intermoléculaires d'une manière antiparallèle. L'apparition de pics négatifs à 1662 et à 1675  $\text{cm}^{-1}$ , attribués aux coudes- $\beta$ , pourrait montrer la participation de ce genre de structure dans la formation des structures feuillet- $\beta$  d'une orientation antiparallèle (NOWROCKA *et al.*, 2016b) ce qui n'est pas le cas pour la pâte de blé.

Le traitement de la pâte de maïs avec le NEMI montre une diminution des teneurs en agrégats (pic négatif à 1597  $\text{cm}^{-1}$ ), en feuillet- $\beta$  (pics négatifs à 1627, à 1638 et à 1645  $\text{cm}^{-1}$ ) et en antiparallèle feuillet- $\beta$  (pic négatif à 1690  $\text{cm}^{-1}$ ) contre une augmentation de la teneur en coude- $\beta$  (pics positif à 1665 et à 1675  $\text{cm}^{-1}$ ) (Figure 33 C-NEMI) (NOWROCKA *et al.*, 2015). Ceci pourrait indiquer que les ponts S-S affectent la mise en place et la réorientation de la disposition des liens hydrogènes (SUBIRADE *et al.*, 1998).

Le profil structural de la pâte de la fève s'affecte d'une manière différente par l'ajout de NEMI comparativement à la pâte témoin de blé tendre (Figure 33 D-NEMI). L'apparition d'une bande positive centrée à 1648  $\text{cm}^{-1}$  indique probablement la présence des structures désordonnées. Cette bande pourrait aussi assigner à l'étirement des groupes carbonyles dans les coudes- $\beta$  indiquant la formation des bandes hydrogènes spécialement intramoléculaires (WELLNER *et al.*, 1996). La présence des pics en position négative à 1609

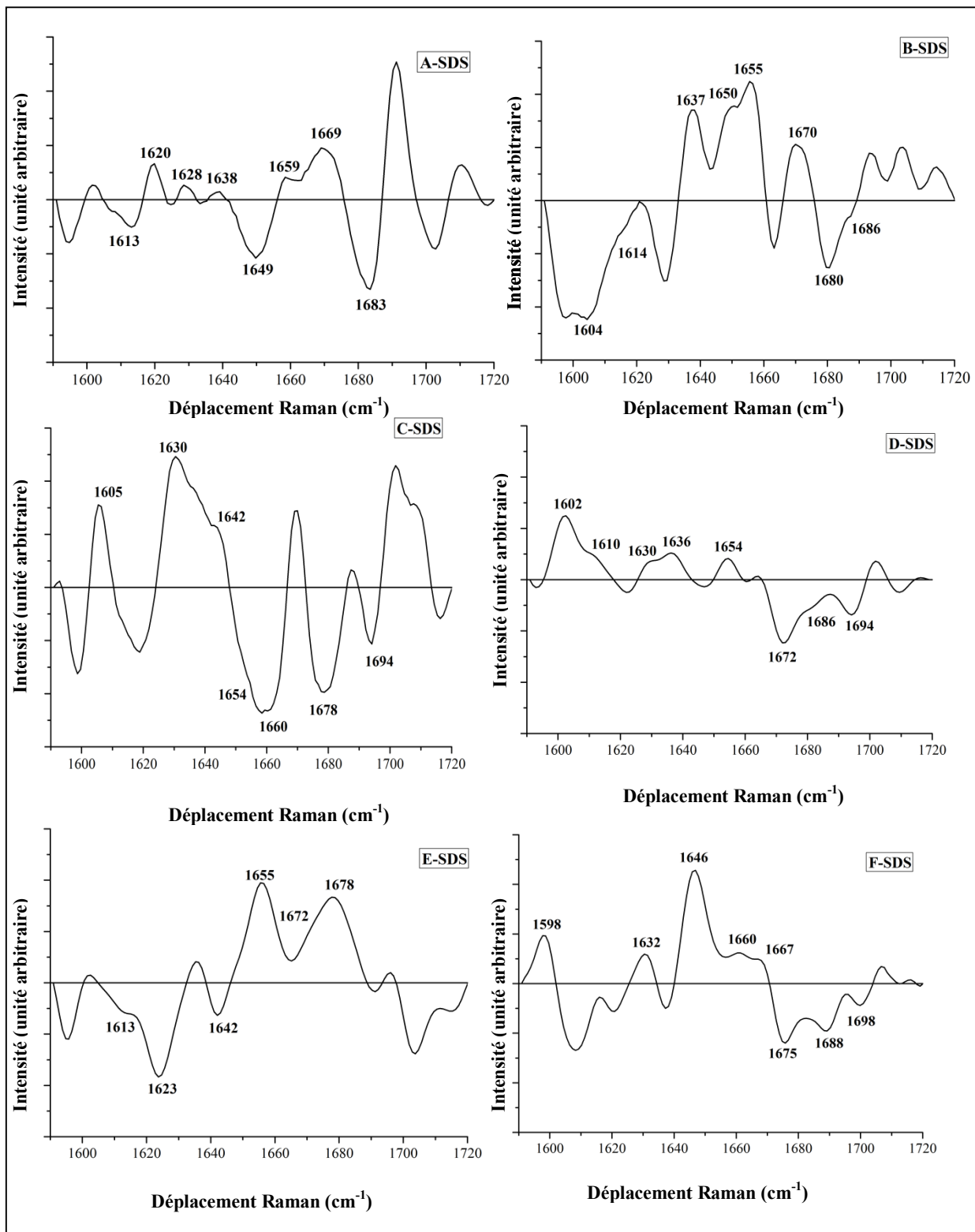
et à  $1620\text{ cm}^{-1}$  attribués aux pseudo-feuillets- $\beta$  et à  $1685$  et à  $1699\text{ cm}^{-1}$  caractéristiques aux antiparallel-feuillets- $\beta$  contre des pics positifs à  $1629$  et  $1637\text{ cm}^{-1}$  assignés aux feuillets- $\beta$  pourrait indiquer que l'absence des ponts disulfures entraîne une désagrégation du réseau protéique de la pâte de la fève de tout en gênant, probablement, la formation des liens non covalents faibles de type  $-H$  (NOWROCKA *et al.*, 2016a).

L'ajout de la farine de fève de riz ou de maïs affecte considérablement le comportement biophysique de leurs protéines. Le traitement des pâtes PRF (Figure 33 E-NEMI) et PMF (Figure 33 F-NEMI) avec le NEMI entraîne la formation des agrégats protéiques liés par des liens hydrogènes prouvés par la présence des pics positifs à  $1604$  et à  $1620\text{ cm}^{-1}$  pour la PRF et à  $1612$  et à  $1624\text{ cm}^{-1}$  pour la PMF mais avec des mécanismes différents selon le cas. Dans le cas de la pâte PRF, les agrégats protéiques sont le résultat, à la fois, de la formation des liens hydrogènes intermoléculaires entre les feuillets- $\beta$  (pics négatifs à  $1629$  et  $1640\text{ cm}^{-1}$ ) et de la réorientation de disposition de ces liens préalablement installés d'une manière antiparallèle (pics négatifs à  $1679$  et  $1689\text{ cm}^{-1}$ ). Par ailleurs dans le cas de la pâte PMF, la présence simultanée des bandes à  $1624$  et à  $1692\text{ cm}^{-1}$  montre la formation des feuillets- $\beta$  liées par des liaisons hydrogènes intermoléculaires d'une façon antiparallèles indiquant la présence des agrégats protéiques (SUBIRADE *et al.*, 1998) .

## 2.2. Interactions hydrophobes

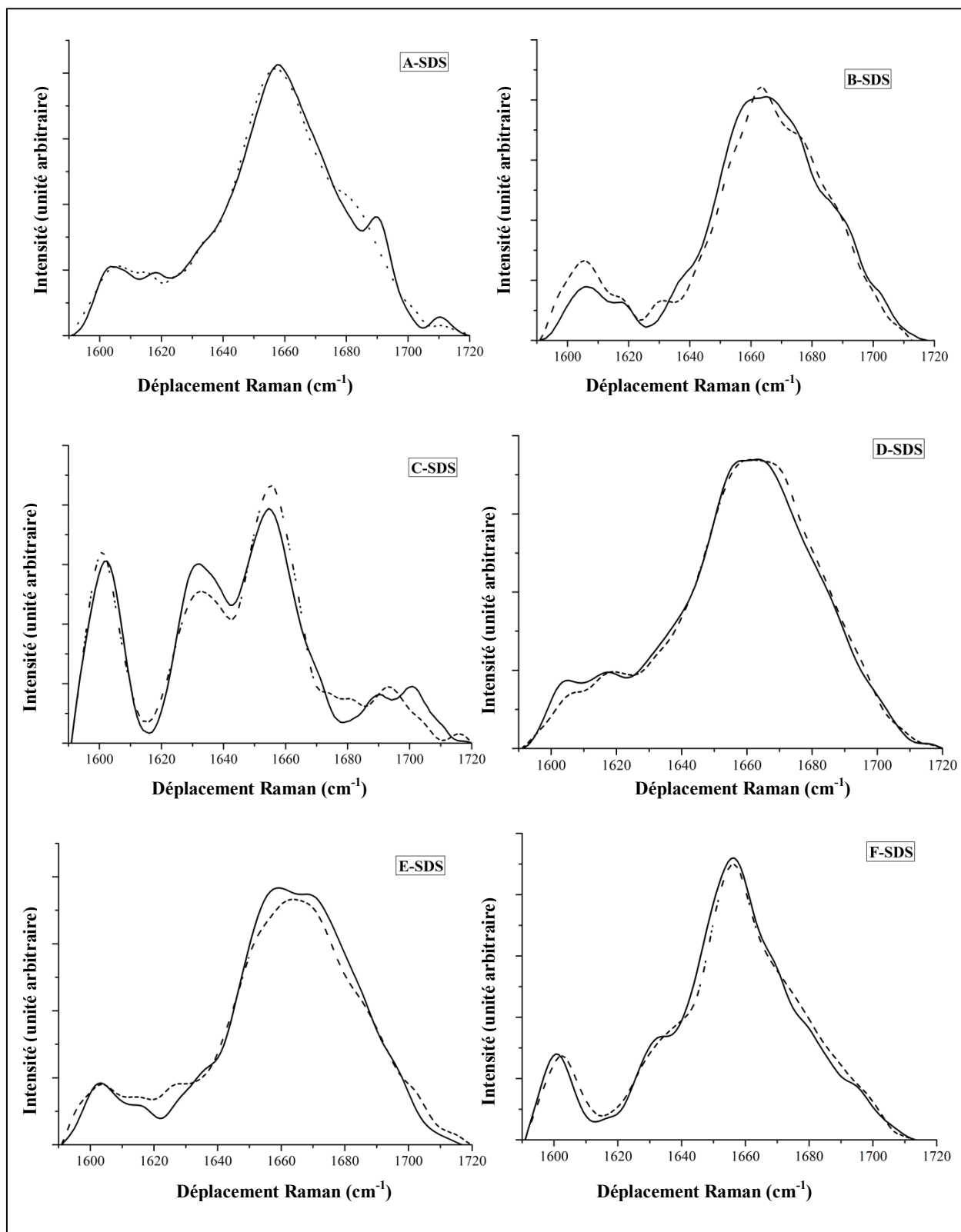
L'effet de la dissociation des interactions hydrophobes sur le mécanisme de développement des pâtes avec et sans gluten, présenté sous forme de spectres de différence entre les pâtes traitées avec le SDS et leurs témoins non traités, est montré dans la Figure 35. Les bandes Amide I superposées des pâtes traitées et non sont présentées dans la Figure 36.

L'ajout de SDS à la pâte de blé tendre a faiblement affecté la conformation du réseau du gluten (Figure 36). Il entraîne un déplacement du maximum d'absorbance vers une longueur d'onde plus élevée (de  $1554$  à  $1558\text{ cm}^{-1}$ ) (Figure 36) indiquant alors l'augmentation de la teneur en hélice- $\alpha$  après la dissociation des interactions hydrophobes (pic positif à  $1659\text{ cm}^{-1}$ ) (Figure 35 A-SDS). Ce qui augmente le repliement du réseau protéique du gluten (LINLAUD *et al.*, 2011). Ce déplacement est aussi le résultat de l'importante présence des coudes- $\beta$  après le traitement (pic positif à  $1669\text{ cm}^{-1}$  ; Figure 35 A-SDS).



**Figure 35.** Spectres de différence dans la zone Amide I (1590-1720) cm<sup>-1</sup> entre les pâtes traitées avec le SDS et les pâtes témoins non traités correspondantes. **A-SDS** : FBT3, **B-SDS** : riz, **C-SDS** : maïs, **D-SDS** : fèveole, **E-SDS** : PRF, **F-SDS** : PMF. PBT3 : Pâte de Blé tendre Type 3, PRF ; Pâte à base de la formule Riz-Fèveole et PMF ; Pâte à base de la formule Maïs-Fèveole.





**Figure 36.** Spectres Raman superposés dans la zone Amide I (1590-1720) cm<sup>-1</sup> des pâtes traitées avec le SDS (—) et les pâtes témoins non traités correspondantes (.....). **A-SDS** : FBT3, **B-SDS** : riz, **C-SDS** : maïs, **D-SDS** : fêverole, **E-SDS** : PRF, **F-SDS** : PMF. PBT3 : Pâte de Blé tendre Type 3, PRF ; Pâte à base de la formule Riz-Fêverole et PMF ; Pâte à base de la formule Maïs-Fêverole.

Une légère augmentation de la teneur en pseudo-feuillet- $\beta$  est notée (pic positif à 1620  $\text{cm}^{-1}$ ) accompagnant la présence d'une bande positive à 1691  $\text{cm}^{-1}$  attribuée aux antiparallèles feuillets- $\beta$ . Une large bande centrée à 1649  $\text{cm}^{-1}$  est notée. Cette bande est attribuée aux structures désordonnées.

La pâte de riz se comporte en présence de SDS d'une manière différente à celle de blé tendre (Figure 35 B-SDS). Elle montre la formation de feuillet- $\beta$  et coude- $\beta$  (pics positifs à 1637 et à 1670  $\text{cm}^{-1}$ , respectivement) au détriment des agrégats (pic négatif à 1604  $\text{cm}^{-1}$ ), de pseudo-feuillets- $\beta$  (pic négatif à 1614  $\text{cm}^{-1}$ ) et d'antiparallèle feuillets- $\beta$  (pic négatif à 1680  $\text{cm}^{-1}$ ). Ceci pourrait indiquer une désagrégation du complexe protéique de ce genre de pâte (NOWROCKA *et al.*, 2016a). En comparaison avec la pâte de blé, le contenu en hélice- $\alpha$  est considérablement augmenté (pics positifs à 1650 et 1655  $\text{cm}^{-1}$ ) au cours de la dissociation des interactions hydrophobes traduisant une augmentation de niveau de repliement protéique (LINLAUD *et al.*, 2011).

La dissociation des interactions hydrophobes au cours du développement du réseau protéique de la pâte de fêverole entraîne une augmentation du contenu en agrégats (pic positif à 1602  $\text{cm}^{-1}$ ), en pseudo feuillet- $\beta$  (pic positif à 1610  $\text{cm}^{-1}$ ) et en feuillet- $\beta$  (pics positifs à 1630 et à 1636  $\text{cm}^{-1}$ ). Cette augmentation est accompagnée par une diminution de la teneur en coude- $\beta$  (pic négatif à 1672  $\text{cm}^{-1}$ ) et antiparallèle feuillet- $\beta$  (pics négatifs à 1686 et à 1694  $\text{cm}^{-1}$ ) (Figure 35 C-SDS). Ceci pourrait indiquer que l'absence des interactions hydrophobes augmente la participation des coudes- $\beta$  dans la formation des feuillets- $\beta$  connectées par des liens hydrogènes intermoléculaires favorisant alors le regroupement des fractions protéiques de ce réseau en agrégats. Ces derniers sont aussi le résultat d'un réarrangement de la disposition des liens hydrogènes antiparallèle favorisant alors la formation des feuillets- $\beta$  riche en liens hydrogènes intermoléculaires (MANGAVEL *et al.*, 2001). Comme dans le cas de la pâte de blé, la structure hélice- $\alpha$  est faiblement affectée par l'absence des interactions hydrophobes (pic positif à 1654  $\text{cm}^{-1}$ ), ceci pourrait indiquer la faible participation de ce genre d'interaction dans le repliement protéique (LINLAUD *et al.*, 2011).

La pâte de maïs se comporte de la même manière que celle de fêverole en présence de SDS où l'absence des interactions hydrophobes entraîne la formation d'un réseau protéique riche en feuillets- $\beta$  (pic positif à 1630 et à 1642  $\text{cm}^{-1}$ ) établies au détriment des coudes- $\beta$  (pic négatif à 1660  $\text{cm}^{-1}$ ) et d'antiparallèle feuillets- $\beta$  (pics négatifs à 1678 et à 1694  $\text{cm}^{-1}$ ) augmentant alors la présences d'une agrégation protéique. Au contraire de la pâte de blé, de

riz et de fève, le contenu en hélice- $\alpha$  diminue considérablement lors du traitement avec le SDS (pic négatif à  $1654\text{ cm}^{-1}$ ; Figure 35 C-SDS). Ceci pourrait monter l'effet des interactions hydrophobes dans la mise en place du repliement protéique de ce genre de pâte (LINLAUD *et al.*, 2011).

L'absence des interactions hydrophobes diminue le regroupement en agrégats (désagrégation) des protéines de la pâte PRF (Figure 35 E-SDS) où une diminution du contenu en agrégats (pic négatif à  $1596\text{ cm}^{-1}$ ), en pseudo-feuillets- $\beta$  (pics négatifs à  $1613$  et à  $1623\text{ cm}^{-1}$ ) et en feuillets- $\beta$  (pic négatif à  $1642\text{ cm}^{-1}$ ) contre une augmentation de la teneur en coudes- $\beta$  (pic positif à  $1672\text{ cm}^{-1}$ ) et en antiparallèle feuillets- $\beta$  (pic positif à  $1678\text{ cm}^{-1}$ ) est notée. Ceci pourrait indiquer que l'ajout de la farine de fève à celle de riz favorise la formation des structures types feuillet- $\beta$  par l'intermédiaire des antiparallèles feuillet- $\beta$  et des coudes- $\beta$  et que cette organisation structurale est conditionnée, en plus des liens hydrogènes, par des interactions hydrophobes. Ces dernières affectent considérablement le niveau de repliement de ce genre de réseau protéique où leur absence augmente le repliement protéique qui se traduit par l'augmentation de la teneur en hélice- $\alpha$  (pic positif à  $1655\text{ cm}^{-1}$ ).

La pâte de la formule Maïs-Fève (Figure 35 F-SDS) se comporte, en absence des interactions hydrophobes, d'une manière différente à celle de maïs dans la région d'hélice- $\alpha$  et celle de coude- $\beta$  où le traitement avec le SDS augmente le contenu en ces deux structures (région spectrale positive entre  $1650$  et  $1657\text{ cm}^{-1}$  pour la structure hélice- $\alpha$  et pics positifs à  $1660$  et à  $1667\text{ cm}^{-1}$  pour les coudes- $\beta$ ). La présence simultanée des pics positifs à  $1630$  et à  $1646\text{ cm}^{-1}$  et des pics négatifs à  $1675$  et à  $1688\text{ cm}^{-1}$  montre que la dissociation des interactions hydrophobes entraîne une réorientation des liens hydrogènes antiparallèle conduisant à la formation de structures type feuillet- $\beta$  fortement liées via des liens hydrogènes (MANGAVEL *et al.*, 2001) et à la libération préalable des coudes- $\beta$  agissant comme des agents liant des structures antiparallèle feuillets- $\beta$  (NOWROCKA *et al.*, 2016a).

### 3. Conclusion de la partie 03

Le mécanisme structural de développement de la matrice des pâtes sans gluten repose sur la formation d'un réseau protéique hautement structuré résultant de la mise en place de structures secondaires de type feuillet- $\beta$  et hélice- $\alpha$  au détriment des coudes- $\beta$ . Les structures pseudo-feuillet- $\beta$  et antiparallèle-feuillet- $\beta$  couplées avec la structure coude- $\beta$ , participent à la formation de la structure feuillet- $\beta$  par l'intermédiaire de liens hydrogènes intermoléculaires.

La structure protéique de ce genre de pâtes se caractérise par la forte participation des ponts S-S de type Gauche-Gauche-Trans et Trans-Gauche-Trans dans la mise en place des structures protéiques. Ces deux types de conformations disulfures instables sont formés au détriment de la conformation stable type Gauche-Gauche-Gauche. Le faible comportement viscoélastique et le haut comportement solide que caractérise les pâtes sans gluten est le résultat de la formation en faveur des ponts S-S instables. Ces derniers favorisent la formation d'agrégats protéiques par l'assemblage des structures de type feuillet- $\beta$  et hélice- $\alpha$ . La formation de ces deux types de structures est favorisée par la forte absorption d'eau et le temps de pétrissage long. Le haut niveau de structuration des protéines sans gluten, causé par la présence des structures feuillet- $\beta$  et hélice- $\alpha$ , est conditionné par le mode de réorganisation des granules d'amidon. L'effet des ponts S-S dans la structuration des protéines de gluten est nettement différent que celles des protéines des ingrédients sans gluten.

Les ponts S-S dans la pâte de blé favorisent la formation d'agrégats protéiques qui sont renforcés par la mise en place de liens hydrogènes intra-et intermoléculaires. D'autre part, ces pont S-S conditionnent la formation des structures antiparallèle feuillet- $\beta$  par l'assemblage de deux hélice- $\alpha$  de deux complexes protéiques ce qui diminue le repliement protéique. En revanche, ce genre de liens moléculaires est responsable du fort repliement des réseaux protéiques sans gluten tout en favorisant l'établissement des structures de type hélice- $\alpha$ . Contrairement au réseau protéique du gluten, les ponts S-S conditionnent à la fois la mise en place et la réorientation des liaisons hydrogènes tout en affectant le mécanisme de formation des agrégats protéiques au sein des réseaux protéiques sans gluten. Comparativement aux ponts S-S, les interactions hydrophobes participent beaucoup plus dans la structuration des pâtes sans gluten que celle de témoin de blé tendre. Les interactions hydrophobes conditionnent la structuration des protéines sans gluten en favorisant la formation des agrégats protéiques qui empêchent le repliement protéique dans le cas de la pâte de riz, de la formule Riz-Fèverole et celle de la formule Maïs-Fèverole. Néanmoins elles renforcent le repliement protéique dans le cas de la pâte de maïs et celle de fèverole.

# ***Conclusion***

Notre travail a pour objectif de situer à l'échelle structurale et moléculaire les réponses rhéologiques et technologiques des pâtes à panifier sans gluten par rapport à celles témoins de blé tendre à fin de connaître les interactions moléculaires mises en œuvre et de savoir les exploiter.

Au terme de ce travail, on peut conclure ce qui suit :

### **1. Aptitude à la panification des pâtes avec et sans gluten étudiées**

- ❖ Nos pâtes sans gluten se caractérisent par un faible comportement viscoélastique par rapport au témoin de blé tendre. Ces pâtes présentent des forts modules élastiques indiquant leur caractère solide et leur faible élasticité ;
- ❖ Les propriétés de pétrissage montrent que les pâtes sans gluten absorbent plus d'eau et demandent un temps de développement plus important au cours de pétrissage par rapport au témoin de blé tendre attestant de leur plus faible aptitude à la panification.
- ❖ Les granules d'amidon des pâtes sans gluten ont une faible capacité de gonflement et une faible tendance à la rétrogradation ;
- ❖ La capacité de la rétention gazeuse des pâtes sans gluten, exprimée en fonction du volume spécifique de leur pain, est significativement plus faible par rapport à celle des pâtes à base de blé tendre ;
- ❖ La supplémentation Riz-Fèverole et Maïs-Fèverole améliore d'une manière significative le comportement rhéologique et les aptitudes technologiques des pâtes sans gluten.

### **2. Aptitudes technologiques des pâtes à panifier et les interactions moléculaires approchées**

#### ➤ Corrélations entre les aptitudes technologiques des pâtes et les interactions moléculaires approchées

- ❖ L'optimisation de la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires a prouvé l'efficacité de 60 min de contact au repos des pâtes avec la solution de dissociation avant la séparation de phases. Elle permet aussi l'obtention des intervalles de concentration en SDS ([0 - 3,5]%) et en  $\beta$ -mercaptoéthanol ([0 – 0,007]M) capables de distinguer significativement entre les pâtes testées.
- ❖ Au sein de chaque catégorie de type de pâtes avec ou sans gluten, la pâte qui se caractérise par les meilleures aptitudes technologiques donne plus de dissociation.

- ❖ La discrimination entre les matrices de pâtes sans gluten et celle témoin de blé tendre est acquise de manière à ce que les pâtes à base d'ingrédients sans gluten donnent plus de dissociation que le témoin de blé tendre, malgré leurs faibles aptitudes technologiques.
- ❖ Le faible comportement viscoélastique des pâtes sans gluten et la forte participation du caractère solide de ce genre de pâte dans ce comportement est le résultat de la faible capacité des ingrédients sans gluten à mettre en place des ponts S-S et des interactions hydrophobes comparativement au témoin de blé tendre.
- ❖ Les fortes corrélations obtenues entre les taux de dissociation et les paramètres conventionnelles de l'estimation de la qualité permettent la validation de cette méthodologie entant qu'une méthode *rapide, simple et pratique* de la prédiction et de l'explication de la qualité des pâtes à panifier en fonction de leur aptitude à mettre en place des interactions hydrophobes et des ponts S-S.

➤ Interactions moléculaires et comportement rhéologique des pâtes à panifier

- ❖ La méthodologie suivie pour l'approche des interactions moléculaires, basée sur l'inhibition de ponts S-S et la dissociation des interactions hydrophobes au cours de pétrissage de la pâte, a permis de situer les relations : Comportement rhéologique des pâtes avec et sans gluten - Interactions moléculaires installées.
- ❖ Le comportement solide est plus affecté par l'inhibition de la formation des ponts S-S que le comportement visqueux, alors que ce dernier est plus affecté par la dissociation des interactions hydrophobes. Les ponts S-S conditionnent le comportement élastique des pâtes alors que les interactions hydrophobes conditionnent leur comportement visqueux.
- ❖ Les pâtes sans gluten se caractérisent par une faible aptitude de former des ponts S-S et des interactions hydrophobes par rapport aux pâtes de blé tendre. Le réseau protéique sans gluten se développe par la mise en place des interactions hydrophobes plutôt que par la formation des ponts S-S.

### 3. Etude structurale et aspects biophysiques des pâtes à panifier sans gluten

➤ Mécanismes structuraux de développement des matrices de pâtes sans gluten

- ❖ Le mécanisme structural de développement de la matrice de pâtes sans gluten repose sur la formation d'un réseau protéique hautement structuré suite à la forte tendance que possèdent leurs protéines à mettre en place des structures secondaires de type feuillet- $\beta$  et hélice- $\alpha$  au détriment des coudes- $\beta$ .

- ❖ La structure protéique de ce genre de pâte se caractérise par la forte participation des ponts S-S instables de type Gauche-Gauche-Trans et Trans-Gauche-Trans dans la mise en place des structures protéiques.
  - ❖ Le faible comportement viscoélastique et le haut comportement solide des pâtes sans gluten est le résultat de la formation en faveur des structures de type feuillet- $\beta$  et hélice- $\alpha$ .
  - ❖ La forte tendance des granules d'amidon de pâtes sans gluten de se regrouper sous une forme cristalline constitue l'une des causes de l' haut niveau de structuration des protéines sans gluten.
- *Impact des liaisons disulfures et des interactions hydrophobes sur la mise en place des pâtes sans gluten*
- ❖ Dans la pâte à blé tendre, les ponts S-S favorisent la formation des agrégats protéiques renforcés par la mise en place de liens hydrogènes intra-et intermoléculaires. D'autre côté, Ils diminuent le repliement protéique de réseau de gluten tout en favorisant la formation de la structure antiparallèle feuillet- $\beta$  par l'assemblage de deux hélices- $\alpha$  de deux complexes protéiques.
  - ❖ Le fort repliement des réseaux protéiques sans gluten et le mécanisme de la formation d'agrégats protéiques au sein de ce genre de matrice protéique sont conditionnés par les ponts S-S, tout en affectant la mise en place et la réorientation des liens hydrogènes.
  - ❖ Les interactions hydrophobes entrent en faveur dans la structuration des pâtes sans gluten. Elles conditionnent la structuration des protéines sans gluten d'une manière différente. Elles favorisent la formation des agrégats protéiques contre le repliement protéique dans le cas de la pâte de riz, de la formule Riz-Fèverole et celle de la formule Maïs-Fèverole. Néanmoins elles renforcent le repliement protéique dans le cas de la pâte de maïs et celle de féverole.

Ces résultats mériteraient d'être approfondis par :

1. Une mise au point d'un mode opératoire convenable de dissociation chimique des interactions permettant leur approche en milieux pâteux,
2. L'étude de l'effet des autres types d'interactions moléculaires sur le comportement rhéologiques des pâtes avec et sans gluten ;



3. L'exploitation des spectres FT-IR et FT-Raman pour l'étude du comportement biophysique des autres composants de pâtes autre que l'amidon et les protéines ;
4. L'obtention des spectres FT-IR et FT-Raman références servant comme des empreintes digitales de qualité des pâtes à panifier ;
5. L'étude de la faible capacité d'expansion gazeuse des pâtes sans gluten par le FT-IR et le FT-Raman.

**Références**

**bibliographiques**

-A-

- AFNOR. (1991).** Contrôle de la qualité des produits alimentaires, céréales et produits céréaliers. AFNOR (3<sup>ème</sup> ed), 359 p.
- AÏT KADDOUR, A., BARRON, C., ROBERT, P., CUQ, B. (2008).** Physico-chemical description of bread dough mixing using two-dimensional near-infrared correlation spectroscopy and moving window two-dimensional correlation spectroscopy. *Journal of Cereal Science* 48, 10-19.
- ALIAS, C.H., LINDEN G., MICLO, L. (2008).** Biochimie alimentaire 6<sup>ème</sup> édition de l'abrégé. Snel grafic sa, Belgique. Pp35, 260 P.
- ALVAREZ-JUBETE, L., AUTY, M., ARENDT, E.K., GALLAGHER, E. (2010).** Baking properties and microstructure of pseudo-cereal flours in gluten-free bread formulations. *European Food Research and Technology*, 230 (3), 437-445.
- ARENDT, E.K., OBRIEN, C.M., SCHOBER, T., GORMLEY, T.R., GALLAGHER, E. (2002).** Development of gluten-free cereal products. *Farm Food*, 12, 21-27.
- ARIF, S., AHMED, M., CHAUDHRY, Q., HASNAIN, A. (2018).** Effects of water extractable and unextractable pentosans on dough and bread properties of hard wheat cultivars. *LWT Food Science and Technology*, 97, 736-742.
- ARGO, P., PEDERSEN, K., MARKS, M.D., LARKINS, B.A. (1982).** A structural model for maize zein proteins. *Journal of biological chemistry*, 257 (17), 9984–9990.
- ARRONDO, J.L.R., MUGA, A., CASTRESANA, J., GOÑI, F.M. (1993).** Quantitative studies of the structure of proteins in solution by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 59, 23–56.
- ATTENBURROW, G., BARNES, D.J., DAVIES, A.P., INGMAN, S.J. (1990).** Rheological properties of wheat gluten. *J Cereal Sci*, 12, 1–14.
- AUDIGIE, C., FIGARELLA, J., ZONZAIN, F. (1984).** Manipulation d'analyses biochimiques. Doin. 1ère édition Paris, 274 P.
- ATWELL, W.A. (2001).** Wheat flour. Eagan press Minnesota, USA. 123 P.

-B-

- BARAK, S., MUDGIL, D., KHATKAR, B. S. (2014).** Biochemical and Functional Properties of Wheat Gliadins: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, DOI: 10.1080/10408398.2012.654863.
- BARTH, A. (2006).** IR spectroscopy, in: Uversky, V.N., Permyakov, E.A (Eds.), Protein Structures: Methods in Protein Structure and Stability Analysis. *Nova Science Publishers*.

- BELTON P. S. (1999).** On the elasticity of wheat gluten. *Journal of Cereal Science*, 29,103-107.
- BELTON, P.S. (2005).** New approaches to study the molecular basis of the mechanical properties of gluten. *Journal of Cereal Science*, 41, 203–211.
- BELTON, P.S., COLQUHOUN, I.J., GRANT, A., WELLNER, N., FIELD, J. M., SHEWRY, P.R., TATHAM, A.S. (1995).** FTIR and NMR studies on the hydration of a high-Mr subunit of glutenin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 17, 74–80.
- BENATALLAH, L. (2009).** Couscous et pain sans gluten pour malades cœliaques: Aptitude technologique de formules à base de riz et de légumes secs. Thèse de Doctorat, Option Sciences Alimentaires, INATAA, Université Mentouri de Constantine. 173 P.
- BENATALLAH, L., ZIDOUNE, M.N., MICHON, C. (2012).** Optimization of HPMC and water addition for a gluten-free formula with rice and field bean based on rheological properties of doughs. *Int Rev Chem Eng (I.RE.CH.E.)*, 4, 1755–2035.
- BILIADERIS, C. G., IZYDORCZYK, M. S., RATTAN, O. (1995).** Effect of arabinoxylans on breadmaking quality of wheat flours. *Food Chemistry*, 53, 165-171.
- BLOKSMA, A.H. (1975).** Thiol and disulfide groups in dough rheology. *Cereal Chemistry* 52, 170-183.
- BLOKSMA, A.H. (1990a).** Rheology of the breadmaking process. *Cereal Foods World*, 35, 228-236.
- BLOKSMA, A. H. (1990).** Dough structure, dough rheology, and baking quality. *Cereal Foods World*, 35(2), 237–244.
- BLOKSMA, A.H., BUSHUK, W. (1998).** Wheat: chemistry and technology. Minnesota,U.S.A.: American Association of Cereal Chemists.
- BOCK, J.E., DAMODARAN, S. (2013).** Bran-induced changes in water structure and gluten conformation in model gluten dough studied by Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Hydrocolloids*, 31, 146–155.
- BOCK, J., SEETHARAMAN, K. (2012).** Unfolding gluten: an overview of research on gluten. *Cereal Foods World*, 57:209–214.
- BOUDREAU, A., MENARD, G. (1992).** Le blé éléments fondamentaux et transformation. Donini johnson, Canada. P443.
- BOUREKOUA, H., BENATALLAH, L., ZIDOUNE, M.N., ROSELL C.M. (2016).** Developing gluten free bakery improvers by hydrothermal treatment of rice and corn flours. *LWT Food Science and Technology*, 73, 342–350.

- BOYDELDIEU, J. (1991).** Production des grains oléagineux et protéagineux. Lavoisier tech et doc. Paris. 234P.
- BRITES, C., TRIGO, M.J., SANTOS, C., COLLAR, C., ROSELL, C.M. (2010).** Maize based gluten-free bread: influence of processing parameters on sensory and instrumental quality. *Food Bioprocess Technol*, 3(5), 707–715.
- BRUNEEL, C., LAGRAIN, B., BRIJS, K., DELCOUR, J. A. (2011).** Redox agents and N éthylmaleimide affect the extractability of gluten proteins during fresh pasta processing. *Food Chemistry*, 127(3), 905–911.
- BULÉON, A., COLONNA, P., PLANCHOT, V., BALL, S. (1998).** Starch granules: Structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 23, 85-112.
- BUSHUK, W. (1998).** Interactions: the keys to cereal quality. Minnesota, U.S.A.: American Association of Cereal Chemists, Inc.
- C-
- CABALLERO, P.A., GÓMEZ, M., ROSELL, C.M. (2016).** Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf-life by enzymes combination. *Journal of Food Engineering*, 81, 42–53.
- CAPRILES, V. D., ARÊAS, J. A. G. (2014).** Novel Approaches in Gluten-Free Breadmaking: Interface between Food Science, Nutrition, and Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 871-890.
- CAUVAIN, S.P. (1998).** Other cereals in bread making. In: Cauvain, S.P., Young, L.S. (eds) Technology of bread making. Blackie Academic & Professional, London, Pp 330–346.
- CAUVAIN, S., YOUNG, L. (1999).** Technology of breadmaking. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers, Inc. 295P.
- CHENE, A. (2001).** La farine. Journal de l'ADRIANOR 26, Pp3-8.
- CHEVREUX, G. (2005).** Etude des interactions moléculaires spécifiques par spectrométrie de masse : application à la chimie du vivant. Thèse de doctorat, Ecole doctorale des sciences chimiques moléculaires et supramoléculaires de Strasbourg, 204P.
- CHUNG, O.K., OHM, J., RAM, M., PARK, S., HOWITT, C. (2009).** Wheat Lipids. In: KHAN, K., SHEWRY, P.R. (Eds.), Wheat: Chemistry and Technology, fourthed. AACC Inter-national, St. Paul, MN, USA. Pp363-393.

- CODEX ALIMENTARUS (1995).** Céréales, légumineuses, produits dérivés et protéines végétales, programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires, 2<sup>ème</sup> édition, FAO/OMS, vol. 7, Rome.
- COLEMAN, C.E., LARKINS, B.A. (1999).** The prolamins of maize. In: **SHEWRY, P.R., CASEY, R. (EDS.),** Seed Proteins. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, Pp. 109–139.
- CORREA, M.J., FERRER, E., ANON, M.C., FERRERO, C. (2014).** Interaction of modified celluloses and pectins with gluten proteins. *Food Hydrocolloids*, 35, 91–99.
- COURTIN, C. M., DELCOUR, J. A. (2002).** Arabinoxylans and Endoxylanases in Wheat Flour Bread-making. *Journal of Cereal Science*, 35, 225–243.
- COURTIN, C.M., ROELANTS, A., DELCOUR, J.A. (1999).** Fractionation–reconstitution experiments provide insight into the role of endoxylanases in breadmaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1870-1877.
- CREIGHTON, T.E. (1993).** Physical interactions that determine the properties of proteins. In *Proteins – Structure and molecular properties*, Second edition; Creighton, T. E.; W. H. Freeman and Company: New York, USA. Pp 139-170.
- CUQ, J. L., LEYNAUD-ROUAUD, C., DUPIN, H. (1992).** Les graines de légumineuses In: *Alimentation et nutrition humaines*. ESF éditeurs, Paris. Pp 941-61.

-D-

- de la HERA, E., TALEGÓN, M., CABALLERO, P., GÓMEZ, M. (2012).** Influence of maize flour particle size on gluten-free breadmaking. *J Sci Food Agric*. DOI 10.1002/jsfa.5826.
- DELCOUR, J. A., JOYE, I. J., PAREYT, B., WILDERJANS, E., BRIJS, K., & LAGRAIN, B. (2012).** Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3, 469–492.
- DEMIRKESEN, I., SUMNU, G., SAHIN, S. (2013).** Image Analysis of Gluten-free Breads Prepared with Chestnut and Rice Flour and Baked in Different Ovens. *Food Bioprocess Technol*, 6, 1749–1758.
- DIB, A., WOJTOWICZ, A., BENATALLAH, L., BOUASLA, A., ZIDOUNE, M.N. (2018).** Effect of hydrothermal treated corn flour addition on the quality of corn-field bean

gluten-free pasta. *Contemporary Research Trends in Agricultural Engineering*  
<https://doi.org/10.1051/bioconf/20181002003>.

**DJEGHIM, F., BOUREKOUA, H., BENATALLAH, L., ZIDOUNE, M. N (2018).** Effect of pregelatinized corn and rice flour on specific volume of gluten-free traditional Algerian bread «KhobzEddar» using central composite design. *African Journal of Food Science*, 12(10), 272-282.

**DOBRSZCZYKA, B.J., MORGENSTERNB, M.P. (2003).** Rheology and the breadmaking process. *Journal of Cereal Science*, 38, 229-245.

**DOBRSZCZYK, B.J., SCHOFIELD, J.D. (2003).** Stress relaxation behaviour of wheat dough, gluten, and gluten protein fractions. *Am Assoc Cereal Chem*, 80,333–38.

**DONG, K., GE, P., MA, C., WANG, K., YAN, X., GAO, L., LI, X., LIU, J., MA, W., YAN, Y. (2012).** Albumin and globulin dynamics during grain development of elite Chinese wheat cultivar Xiaoyan 6. *Journal of Cereal Science*, 56, 615–622.

**D’OVIDIO, R., MASCI, S. (2004).** The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. *Journal of Cereal Science*, 39, 321–339.

**DUCAUZE, C. (2014).** Chimie analytique, analyse chimique et chimiométrie : Concepts, démarche et méthodes. Lavoisier: 366 P.

**DUS, S.J., KOKINI, J.L. (1990).** Prediction of the nonlinear viscoelastic properties of hard wheat flour dough using the Bird–Carreau constitutive model. *Journal of Rheology*, 34,1069–1084

-E-

**EDWARDS, N. M., PERESSINI, D., DEXTER, J. E., MULVANEY, S. J. (2001).** Viscoelastic properties of durum wheat and common wheat dough of different strengths. *Rheologica Acta*, 40, 142 153.

**EDWARDS, N. M., MULVANEY, S. J., SCANLON, M. G., DEXTER, J. E. (2003).** Role of gluten and its components in determining durum semolina dough viscoelastic properties. *Cereal Chemistry*, 80, 755–763.

**ELIASSON, A.C, GUDMUNDSSON, M. (1996).** Starch: Physicochemical and functional aspects. In Eliasson A.C. (Ed.), *Carbohydrates in food*. NewYork, NY: Marcel Dekker. Pp 431-503.

**ELIASSON, A, LARSSON, K. (1993).** Cereals in breadmaking. A molecular colloidal approach. New York, NY: Marcel Dekker.

**ELIASSON, A., LARSSON, K. (1993b).** Physicochemical behavior of the components of wheat flour. In **FENNEMA, O. R., KAREL, M., SANDERSON, G. W., TANNENBAUM, S. R., WALSTRA P., WHITAKER, J. R.** (Eds.). *Cereals in Breadmaking: a Molecular Colloidal-Approach*. New York, NY: Marcel Dekker, Inc. Pp. 129-159.

**ELLEPOLA, S.W., CHOI, S.M., MA, CH.Y. (2005).** Conformational study of globulin from rice (*Oryza sativa*) seeds by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Int J Biol Macromol*, 37, 12–20.

-F-

**FABIAN, H., MÄNTELE, W. (2002).** Infrared spectroscopy of proteins, in: Chalmers, J.M., Griffiths P.R., (Eds.), *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, John Wiley & Sons, Chichester. Pp 3399–3426.

**FAO. (1982).** Les grains de légumineuses dans l'alimentation humaine, 2<sup>ème</sup> édition, Rome. 152 P.

**FAVIER, J. C., IRELAND-RIPERT, J., TOQUE, C. (1995).** Répertoire Général des Aliments – Table de composition. CNEVA-CIQUAL-INRA. Lavoisier Tec et Doc. Paris. 897 P.

**FEILLET P. 2000.** Le grain de blé composition et utilisation. INRA, Paris. 308P.

**FERRER, E.G., GOMEZ, E.G., ANON, M.C., PUPPO, M.C (2011).** Structural changes in gluten protein structure after addition of emulsifier. A Raman spectroscopy study. *Spectrochimica Acta A*, 79(1), 278–281.

**FETOUHI, A. (2014).** Panification à base de blé tendre ou de riz-fèverole (ans gluten) : essai de prédiction de la qualité technologique par la dissociation des interactions impliquées. Mémoire en vue de l'obtention d'un diplôme de magister en sciences alimentaires. 102 P.

-G-

**GAN, Z., ANGOLD, R.E., WILLIAMS, M.R., ELLIST, P.R., VAUGHAN, J.G., GALLIARD T. (1990).** The microstructure and gas retention of bread dough. *Journal of Cereal Science*, 12, 15-24.

**GIANAZZA, E., VIGLIENGI, V., RIGHETTI, P.C., SALAMINI, F., SOAVE, C. (1977).** Amino acid composition of zein molecular components. *Phytochemistry*, 16, 315–317.

**GIANIBELLI, M., LARROQUE, O., MACRITCHIE, F., WRIGLEY, C. (2001).** Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat glutenin and its component subunits. *Cereal Chemistry*, 78(6), 635–646.



- GOESAERT, H., BRIJS, K., VERAVERBEKE, W.S. (2005).** Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 12-30.
- GÓMEZ, A.V., FERRER, E.G., AÑÓN, M.C., PUPPO, M.C. (2013).** Changes in secondary structure of gluten proteins due to emulsifiers. *Journal of Molecular Structure*, 1033, 51–58.
- GORINSTEIN, S., ZEMSER, M., FRIEDRMAN, M., RODRIGUES, W.A., MARTINS, P.S., VELLO, N.A., TOSELLO, G.A., PAREDES-LÓPEZ, O. (1996).** Physicochemical characterization of the structural stability of some plant globulins. *Food Chem*, 56, 131–138.
- GOUPY, J., GREIHGTON, L. (2006).** Introduction aux plans d'expériences 3<sup>ème</sup> édi. Dunod. 336P.
- GRANDVOINET, P., PRATX, B., GUINET, R., (1994).** Farines et mixes in: panification française. *Tec et doc, Paris*, Vol 528, Pp100-131.
- GREENWOOD, C.T., EWART, J.A.D. (1975).** Hypothesis for the structure of glutenin in relation to rheological properties of gluten and dough. *Cereal Chemistry*, 52, 146-153.
- GUIMARÃES, P.E. (2009).** Rice Breeding. In *Cereals – Handbook of Plants Breeding*. Vol. 3. Ed. Carena J.M. Springer Science and Business Media, Pp 99-126.
- GUINET, R., GODON, B. 1994.** La panification française. Eds., Lavoisier-Apria, Tec et Doc, Paris : 534 P.
- GUJRAL, H.S., GUARDIOLA, I., CARBONELL, J.V., ROSELL, C.M. (2003).** Effect of cyclodextrinase on dough rheology and bread quality from rice flour. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 51, 3814–3818.

**-H-**

- HAGER, A., WOLTER, A., CZERNY, M., BEZ, J., ZANNINI, E., ARENDT, E. (2012).** Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of commercial gluten-free flours compared to their wheat counterparts. *Eur Food Res Technol*, 235 (2), 333–44.
- HAYMAN, D., HOSENEY, R.C., FAUBION, J.M. (1998).** Bread crumb grain development during baking. *Cereal Chemistry*, 75 (5), 577–580.
- HE, H., HOSENEY, R.C. (1992).** Factor controlling gas retention in non heated doughs. *Cereal Chemistry*, 69, 1–6.

**HERRERO, A.M. (2008).** Raman Spectroscopy for Monitoring Protein Structure in Muscle Food Systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(6), 512-523.

**HERNÁNDEZ-URIBE, J.P., RAMOS-LÓPEZ, G., YEE-MADEIRA, H., BELLO-PÉRE, L.A. (2010).** Physicochemical, rheological and structural characteristics of starch in maize tortillas. *Plant Foods Hum Nutr*, 65, 152–157.

**HO T.F., YIP, W.C. (2001).** Oral hydration solution. Rice water is cheap and effective. *BMJ*, 3323 (7320) 1068 P.

**HOSENEY, R.C. (1994).** Principles of cereal science and technology (2nd ed.). St. Paul, MN: Association of Cereal Chemists. Pp 81-101, 229-273.

**HOSENEY, R. C, FINNEY, K. F, SHOGREN, M. D., POMERANZ, Y. (1969).** Functional (breadmaking) and biochemical properties of wheat flour components. II. Role of water-solubles. *Cereal Chemistry*, 46, 117–125.

**HOUBEN. A., HÖCHSTÖTTER, A., BECKER, T. (2012).** Possibilities to increase the quality in gluten-free bread production: an overview. *Eur Food Res Technol*, 235, 195–208.

**HUEBNER, F.R., BIETZ, J.A., WEBB, B. D., JULIANO, B.O. (1991).** Rice cultivar identification by high-performance liquid chromatography of endosperm protéines. *Cereal Chemistry*, 67, 129 -135.

**-J-**

**JEANTET, R., CROGUENNEC, T., SCHUCK, P, BRULE, G. (2007).** Science des aliments ; technologie des produits alimentaires. Édition TEC et DOC, Paris. Pp 143-456.

**JOYE, I.J., LAGRAIN, B., DELCOUR, J. A. (2009).** Endogenous redox agents and enzymes that affect protein network formation during breadmaking – A review. *Journal of Cereal Science*, 50, 1-10.

**-K-**

**KASARDA, D.D. (1989).** Glutenin structure in relation to wheat quality. In *Wheat Is Unique*, ed. Y Pomeranz, pp. 227–302. St. Paul, MN: AACC.

**KADDOUR, A. A. T., MONDET, M., CUQ, B. (2008).** Description of chemical changes implied during bread dough mixing by FT-ATR mid-infrared spectroscopy. *Cereal Chemistry*, 85, 673–678.

**KAWAMURA-KONISHI, Y., SHODA, K., KOGA, H., HONDA Y. (2013).** Improvement in gluten-free rice bread quality by protease treatment. *Journal of Cereal Science*, 58, 45-50.

- KHATKAR, B. S., FIDO, R. J., TATHAM, A. S. AND SCHOFIELD, J.D. (2002a).** Functional properties of wheat gliadins: 1. Effects on mixing characteristics and bread making quality. *Journal of Cereal Science*, 35, 299–306.
- KHATKAR, B.S., SCHOFIELD, J.D. (2002a).** Dynamic rheology of wheat flour dough. II. Assessment of dough strength and breadmaking quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 823-826.
- KHATKAR, B.S., SCHOFIELD, J.D. (2002).** Dynamic rheology of wheat flour dough I. Non-linear viscoelastic behaviour. *J Sci Food Agric*, 82, 827–829.
- KIM, Y.R., CORNILLON, P. (2001).** Effect of temperature and mixing time on molecular mobility in wheat dough. *Lebensm-Wissensch-Technol*, 34, 417–423.
- KOHLER, P., BELITZ, H. D., WIESER, H. (1993).** Disulphide bonds in wheat gluten: further cysteine peptides from high molecular weight (HMW) and low molecular weight (LMW) subunits of glutenin and from c-gliadins. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 196 (3), 239-247.
- KOHYAMA, K., MATSUKI, J., YASUI, T., SASAKI, T. (2004).** A differential thermal analysis of the gelatinization and retrogradation of wheat starches with different amylopectin chain lengths. *Carbohydrate Polymers*, 58, 71–77.
- KONG, J., YU, S. (2007).** Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochim Biophys Sin*, 39(8), 549–559.
- KTENIOUDAKI, A., BUTLER, F., GALLAGHER, E. (2010).** Rheological properties and baking quality of wheat varieties from various geographical regions. *Journal of Cereal Science*, 1-7.
- L-
- LAGRAIN, B., BRIJS, K., DELCOUR, J. A. (2008).** Reaction kinetics of gliadin-glutenin crosslinking in model systems and in bread making. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10660–10666.
- LARSSON, H., ELIASSON, A.C. (1997).** Influence of the starch granule surface on the rheological behaviour of wheat flour dough. *Journal of Texture Studies*, 28(5), 487–501.
- LAZARIDOU, A., DUTA, D., PAPAGEORGIOU, M., BELC, N., BILIADERIS, C.G. (2007).** Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering*, 79, 1033–1047.
- LECOQ, R. (1965).** Manuel d'analyses alimentaires et d'expertises usuelles. Tome 2 (F à Z). Editions DOIN. DEREN et Cie, Paris : 1246 p.

- LEFEBVRE-CASES, E., GASTALDI, E., VIDAL, V., MARCHESSEAU, S. (1998).** Identification of Interactions Among Casein Gels Using Dissociating Chemical Agents. *J Dairy Sci*, 81, 932-938.
- LEVAVASSEUR, L. (2007).** Suivi simultané de la consommation d'oxygène et de la consistance des pâtes de farine de blé à l'aide d'un pétrin instrumenté (le sitoxygraphe) : tentative d'explication biochimique et rhéologique. Application à l'ajout de laccases. Thèse de doctorat en sciences alimentaires. Ecole doctorale ABIES, université paris VII, 414P.
- LI, W., DOBRASZCZYK, B.J., DIAS, A., GIL, A.M. (2006).** Polymer conformation structure of wheat proteins and gluten subfractions revealed by ATR-FTIR. *Cereal Chemistry*, 83:407-410.
- LINDSAY, M.P., TAMAS, L., APPELS, R., SKERRITT, J.H. (2000).** Direct Evidence that the Number and Location of Cysteine Residues Affect Glutenin Polymer Structure. *Journal of Cereal Sciences*, 31 (3), 321-333.
- LINLAUD, N., FERRER, E., PUPPO, M.C, FERRERO, C. (2011).** Hydrocolloid Interaction with Water, Protein, and Starch in Wheat Dough. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 59, 713–719.
- M-**
- MAILHOT, W.C., PATTON, J.C. (1988).** Criteria of flour quality. In: Pomeranz, Y. (Ed.), *Wheat Chemistry and Technology*, third ed. American Association of Cereal Chemists, St.Paul, Minnesota, USA. Pp 69-88.
- MANGAVEL, C., BARBOT, J., POPINEAU, Y., GUÉGUEN, J. (2001).** Evolution of Wheat Gliadins Conformation during Film Formation: A Fourier Transform Infrared Study. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 867-872.
- MARCHETTI, L., CARDÓS, M., CAMPAÑ, A. L., FERRERO, C. (2012).** Effect of glutes of different quality on dough characteristics and breadmaking performance. *LWT – Food Science and Technology*, 46, 224-231.
- MARCO, C., ROSELL, C. M. (2008).** Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *European Food Research and Technology*, 227, 1205–1213.
- MARCONE, M.F., KAKUDA, Y., YADA, R.Y. (1998).** Salt-soluble seed globulins of dicotyledonous and monocotyledonous plants II. Structural characterization. *Food Chem*, 63(2), 265–274.

- MARES, D.J., STONE, B.A. (1973a).** Studies on wheat endosperm. In. Chemical composition and ultrastructure of the cell walls. *Australian Journal of Biological Sciences*, 26, 793-812.
- MARKUS, G., KARUSH, F. (1957).** Structural effects of the interaction of human serum albumin with sodium dodecyl sulfate. *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 3264-3269.
- McCann, T.H., SMALL, D.M., BATEY, I.L., WRIGLEY, C.W., DAY, L. (2009).** Protein-lipid interactions in gluten elucidated using acetic-acid fractionation. *Food Chemistry*, 115, 105-112.
- MEHROTRA, R. (2006).** Infrared Spectroscopy, Gas Chromatography/Infrared in Food Analysis. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1002/9780470027318.a1013.
- MERLINO, M., LEROY, P., CHAMBON, C., BRANLARD, G. (2009).** Mapping and proteomic analysis of albumin and globulin in hexaploid wheat kernels (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 118, 1321–1337.
- MEZIANI, S., JASNIEWSKI, J., GAIANI, C., IOANNOU, I., MULLER, J.M., GHOUL, M., DESOBRY, S. (2011).** Effects of freezing treatments on viscoelastic and structural behavior of frozen sweet dough. *Journal of Food Engineering*, 107, 358–365.
- MEJIA, C.D., MAUER, L.J.,HAMAKER, B.R. (2007).** Similarities and differences in secondary structure of viscoelastic polymers of maize  $\alpha$ -zein and wheat gluten proteins. *Journal of Cereal Science*, 45(3), 353–359.
- MEYER, E.E., ROSENBERG, K.J., ISRAELACHVILI, J. (2006).** Recent progress in understanding hydrophobic interactions. *PNAS* 103, Pp15739-15746.
- MICHNIEWICZ, J., BILIADERIS, C.G., BUSHUK, W. (1991).** Effect of added pentosanes on some physical and technological characteristics of dough and gluten. *Cereal Chemistry*, 68, 252-258.
- MILLER, K.A., HOSENEY, R.C. (1999).** Dynamic rheological properties of wheat starch-gluten doughs. *Cereal Chem* 76:105–09.
- MITO, K., JUNICHI, S., MIZUKI, T., MASATOSHI, Y., KAORI, F., & MARIO,S., TETSUYA, A., HIROSHI, N. (2012).** Development of a Quantitative Visualization Technique for Gluten in Dough Using Fluorescence Fingerprint Imaging. *Food Bioprocess Technology*. DOI 10.1007/s11947-012-0982-7.

- MOHAMMED, M. A. P., TARLETON, E., CHARALAMBIDES, M. N., WILLIAMS, J. G. (2012).** Mechanical characterization and micromechanical modeling of bread dough. *Journal of Rheology* **57**, 249. doi: 10.1122/1.4768463
- MONTEL, G., LATTES, A., HEUGHEBAERT, M. (1979).** Introduction à la chimie structurale. BORDAS, Paris.239P.
- MOORE, M., SCHOBER, T., DOCKERY, P., ARENDT, E. (2004).** Textural comparisons of gluten-free and wheat-based doughs, batters, and breads. *Cereal Chem.*, 81(5), 567–75.

-N-

- NAWROCKA, A., MIŚ, A., NIEWIADOMSKI, Z. (2017).** Dehydration of gluten matrix as a result of dietary fibre addition: a study on model flour with application of FT-IR spectroscopy. *Journal of Cereal Science*, 74, 86–94.
- NAWROCKA, A., MIŚ, A., SZYMAŃSKA-CHARGOT, M. (2016 a).** Characteristics of relationships between structure of gluten proteins and dough rheology: influence of dietary fibres studied by FT-Raman spectroscopy. *Food Biophysics*, 11, 81–90.
- NAWROCKA, A., SZYMAŃSKA-CHARGOT, M., MIŚ, A., PTASZYŃSKA, A. A., KOWALSKI, R., WAŚKO, P., GRUSZECKI, W. I. (2015).** Influence of dietary fibre on gluten proteins structure – a study on model flour with application of FT-Raman spectroscopy. *Journal Of Raman spectroscopy*. [https://doi.org/ 10.1002/jrs.4648](https://doi.org/10.1002/jrs.4648).
- NAWROCKA, A., SZYMAŃSKA-CHARGOT, M., MIŚ, A., WILCZEWSKA, A.Z., MARKIEWICZ, K.H. (2016b).** Dietary Fiber-Induced Changes in the Structure and Thermal Properties of Gluten Proteins Studied by Fourier Transform-Raman Spectroscopy and Thermogravimetry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 64(10), 2094–2104.
- NEUMANN, H., BRUEMMER, J. M. (1997).** Investigations with the production of gluten free bread and roll specialities. *Getreide Mehl Brot.*, 51, 50-55.
- NOZAKI ,Y, TANFORD, C. (1963).** The solubility of amino acids and related compounds in aqueous urea solutions. *J. Biol. Chem*, 238, 4074-4081.

-O-

- ONYANGO, C., MUTUNGI, C., UNBEHEND, G., LINDHAUER, M. (2009a).** Creep-recovery parameters of gluten-free batter and crumb properties of bread prepared from pregelatinised cassava starch, sorghum and selected proteins. *Intl J Food Sci Technol*, 44(12), 2493–9.

- ONYANGO, C., UNBEHEND, G., LINDHAUER, M. (2009b).** Effect of cellulose-derivatives and emulsifiers on creep-recovery and crumb properties of gluten-free bread prepared from sorghum and gelatinized cassava starch. *Food Res Intl*, 42(8), 949–55.
- ONYANGO, C., MUTUNGI, C., UNBEHEND, G., LINDHAUER, M. (2011a).** Modification of gluten-free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice starch. *Food Sci Technol – LWT*, 44(3), 681–6.
- OOMS, N., JANSENSB, K.J.A., PAREYTC, B., REYNIERSA, S., BRIJSA, K., DELCOUR, J. A. (2018).** The impact of disulfide bond dynamics in wheat gluten protein on the development of fermented pastry crumb. *Food Chemistry* 242, 68–74.
- OOMS, N., DELCOUR, J.A. (2019).** How to impact gluten protein network formation during wheat flour dough making. *Current Opinion in Food Science*, 25:88–97.
- P-**
- PAREYT, B., FINNIE, S. M., PUTSEYS, J. A., DELCOUR, J. A. (2011).** Lipids in breadmaking: sources, interactions and impact on bread quality, Review. *Journal of cereal sciences*, 54, 266-279.
- PEIGHAMBARDOUST, S.H., van der GOOT, A.J., HAMER, R.J., BOOM, R.M. (2005).** Effect of simple shear on the physical properties of glutenin macro polymer (GMP). *Journal of Cereal Science*, 42, 59–68.
- PEIGHAMBARDOUST, S.H., van der GOOT, A.J., van VLIET, T., HAMER, R.J., BOOM, R.M. (2006).** Microstructure formation and rheological behaviour of dough under simple shear flow. *Journal of Cereal Science*, 43, 183–197.
- PELTON, J.T., MCLEAN, L. R. (2000).** Spectroscopic Methods for Analysis of Protein Secondary Structure : a REVIEW. *Analytical Biochemistry*, 277, 167–176.
- PENA, E., BERNARDOA, A., SOLERB, C., JOUVEA, N. (2006).** Do tyrosine crosslinks contribute to the formation of the gluten network in common wheat (*Triticum aestivum* L.) dough?. *Journal of Cereal Science*, 44, 144-153.
- PERESSINI, D., PEIGHAMBARDOUST, S.H., HAMER, R.J., SENSIDOUNI, A., van der GOOT, A.J. (2008).** Effect of shear rate on microstructure and rheological properties of sheared wheat doughs. *Journal of Cereal Science*, 48, 426-438.
- POTUS, J., DRAPRON, R., RAKOTOZAFY, L. (1992).** Role of water on the molecular interactions leading to whey meal dough formation. *Industries des céréales*, 79, 13-21.
- POURFARZAD, A., HABIBINAJAFI, M. B., HADDAD KHODAPARAST, M.H., HASSANZADEH KHAYYAT, M. (2015).** Serish inulin and wheat biopolymers interactions in model systems as a basis for understanding the impact of inulin on bread

properties: a FTIR investigation. *Journal of Food Science and Technology*.  
<https://doi.org/10.1007/s13197-015-1939-4>.

**PSZCZOLA, D.E. (2012).** The rise of gluten-free. *Food Technol.*, 66(12), 55–66.

**-R-**

**RAGAEI, S., ABDEL-AAL, E.M. (2006).** Pasting properties of starch and protein in selected cereals and quality of their food products. *Food Chemistry*, 95(1), 9–18.

**RATTÉ G. (2013).** Interaction entre un peptide de  $\beta$ -lactoglobuline bovine ( $\beta$ -lg f1-8) et les protéines du lactosérum Le cas de l' $\alpha$ -lactalbumine. Mémoire Maîtrise en sciences et technologie des aliments. 77P.

**RONDA, F., PEREZ-QUIRCE, S., ANGIOLONI, A., COLLAR, C. (2013).** Impact of viscous dietary fibres on the viscoelastic behavior of gluten-free formulated rice doughs: a fundamental and empirical rheological approach. *Food Hydrocolloids*, 32, 252–262.

**ROSELL C. M., MARCO C. (2008).** Rice. In: Arendt EK, Dal Bello F (eds) *Gluten free cereal products and beverages*. Elsevier, Burlington. Pp: 81-100.

**ROUESSAC, F, ROUESSAC A., CRUCHE, D. (2004).** Analyse chimique ; Méthodes et techniques instrumentales modernes, 6<sup>ème</sup> édition. Dunod, Paris. Pp 175-193.

**SCANLON, M.G., ZGHAL, M.C. (2001).** Bread properties and crumb structure. *Food Research International*, 10, 841–864.

**RYGULA, A., MAJZNER, K., MARZEC, K. M., KACZOR, A., PILARCZYKA, M., BARANSKA, M. (2013).** Raman spectroscopy of proteins: a review. *Journal of Raman Spectroscopy*, 44, 1061–1076.

**-S-**

**SANNI, A.I., ONILUDE, A.A., FATUNGASE, M.O. (1998).** Production of sour maize bread using starter-cultures. *World J Microbiol Biot*, 14(1), 101–106.

**SARKER, D.K., WILDE, P.J. AND CLARK, D.C. (1998).** Enhancement of protein foam stability by formation of wheat arabinoxylan-protein crosslinks. *Cereal Chemistry*, 75, 493–499.

**SCANLON, M.G., ZGHAL, M.C. (2001).** Bread properties and crumb structure. *Food Research International*, 10, 841–864.

**SCHROEDER, L.F., HOSENEY, R.C. (1978).** Mixograph studies. II. Effect of activated double-bond compounds on dough-mixing properties. *Cereal Chemistry*, 55, 348-360.

**SCHOBBER, T.J., BEAN, S.R. (2008).** Sorghum and maize. In: Arendt EK, Dal Bello F (eds) *Gluten free cereal products and beverages*. Elsevier, Burlington. Pp: 101-118.



- SEABOURN, B.W., CHUNG, O.K., SEIB, P.A., MATHEWSON, P.R. (2008).** Determination of secondary structural changes in gluten proteins during mixing using Fourier transform horizontal attenuated total reflectance spectroscopy. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 56, 4236–4243.
- SECUNDO, F., GUERRIERI, N. (2005).** ATR-FT/IR study on the interactions between gliadins and dextrin and their effect on protein secondary structure. *J. Agric. Food Chem*, 53, 1757–1764.
- SHEVKANI, K., SINGH N., BAJAJ, R., KAUR, A. (2016).** Wheat starch production, structure, functionality and applications-a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(1), 38-58.
- SHEVKANI, K., SINGH, N., KAUR, A., CHAND RANA, J. (2015).** Structural and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 43, 679–689.
- SHEVKANI, K., SINGH, N., SINGH, S., AHLAWAT, A.K., SINGH, A.M. (2011).** Relationship between physicochemical and rheological properties of starches from Indian wheat lines. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 2584–2590.
- SHEVKANI, K., SINGH, N., SINGH, S., AHLAWAT, A.K., SINGH, A.M. (2015).** Relationship between physicochemical and rheological properties of starches from Indian wheat lines. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 2584–2590.
- SHEWRY, P.R., HALFORD, N.G. (2002).** Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*, 53, 947-958.
- SHEWRY, P.R., POPINEAU, Y., LAFIANDRA, D., BELTON, P. (2001).** Wheat glutenin subunits and dough elasticity: findings of the EUROWHEAT project. *Trends Food Sciences and Technology*, 11, 433–41.
- SIAMWIZA, M.N. (1975).** Interpretation of the Doublet at 850 and 830 cm<sup>-1</sup> in the Raman Spectra of Tyrosyl Residues in Proteins and Certain Model Compounds. *Biochemistry*, 14, 4870– 4876.
- SIEBERT ,F. (1995).** Infrared spectroscopy applied to biochemical and biological problems. *Methods Enzymol.*, 246, 501–526.
- SIVAM, A., SUN-WATERHOUSE, D., QUEK, S., PERERA, C. (2010).** Properties of bread dough with added fiber polysaccharides and phenolic antioxidants: a review. *J Food Sci.*, 75(8), 163–74.

- SIVAM, A.S., SUN-WATERHOUSE, D., PERERA C.O., WATERHOUSE, G.I.N. (2013).** Application of FT-IR and Raman spectroscopy for the study of biopolymers in breads fortified with fiber and polyphenols. *Food Research International*, 50,574–585.
- SIVARAMAKRISHNAN, H.P., SENGE, B., CHATTOPADHYAY, P.K . (2004).** Rheological properties of rice dough for making rice bread. *Journal of Food Engineering*, 62, 37–45.
- SLUIMER, P. (2005).** Principles of breadmaking. Functionality of raw materials and process steps. St. Paul: American Association of Cereal Chemists Inc. 224 P.
- SMITH, E., DENT, G. (2005).** Modern Raman Spectroscopy– A Practical Approach. John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England.
- SMITS, A.L.M., RUHNAU, F.C., Vliegenthart, J.F.G., VAN SOEST, U.F.G., VAN SOEST, J.J.G. (1998).** Ageing of starch based systems as observed with FTIR and solid state NMR spectroscopy. *Starch/Stärke*, 50, 478–483.
- SONG, Y., ZHENG, Q. (2007).** Dynamic rheological properties of wheat flour dough and proteins. *Trends in Food Science and Technology* 18, 132-138.
- SROAN, B., BEAN, S., MACRITCHIE, F. (2009).** Mechanism of gas cell stabilization in breadmaking I, II. The primary gluten starch matrix. *Journal of Cereal Science*, 49, 41-46.
- STEFFE, J.F. (1992).** Viscoelasticity. In: Rheological methods in food process engineering. 1st ed. Mich.: Freemans Press. Pp 168–93.
- STRYER, L., BERG, J.M., TYMOCZK, J.L. (2003).** Biochimie. Flammation medicine sciences (5eme ed.), 792P.
- SUBIRADE, M., KELLY, I., GUEGUEN, J., PEZOLET, M. (1998).** Molecular basis of film formation from a soybean protein: comparison between the conformation of glycinin in aqueous solution and in films. *Int. J. Biol. Macromol.*, 23, 241-249.
- SUNDE, M., SERPELL, L. C., BARTLAM, M., FRASER, P. E., PEPYS, M. B., BLAKE, C. C. F. (1997).** Common core structure of amyloid fibrils by synchrotron X-ray diffraction. *Journal of Molecular Biology*, 273, 729–739.
- SUSI, H., BYLER, D.M. (1983).** Protein structure by Fourier transform infrared spectroscopy: second derivative spectra. *Biochem Biophys Res Commun*, 115, 391–397.

-T-

- TATHAM, A. S., SHEWRY, P. R. (1995).** The S-poor prolamins of wheat, barley and rye. *Journal of Cereal Science*, 22,1–16.

**TILLEY, K.A., BENJAMIN, R.E., BAGOROGOZA, K.E., OKOT-KOTBER, B.M, PRAKASH, O., KWEN, H. (2001).** Tyrosine cross-links: Molecular basis of gluten structure and function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2627-2632.

**THOMPSON, G.A., LARKINS, B.A., (1989).** Structural elements regulating zein gene expression. *Bio Essays*, 10, 108–113.

**TOMIĆ, J., TORBICA, A., POPOVIĆ, L., HRISTOV, N., NIKOLOVSKI, B. (2016).** Wheat breadmaking properties in dependence on wheat enzymes status and climate conditions. *Food chemistry*, 199, 565-572.

-U-

**UPADHYAY, R., GHOSAL, D., MEHRA A. (2012).** Characterization of bread dough: Rheological properties and microstructure. *Journal of Food Engineering*, 109, 104–113

**UTHAYAKUMARAN, S., TÖMÖSKÖZI, S., TATHAM, A. S., SAVAGE, A.W.J., GIANIBELLI, M. C., STODDARD, F. L, BEKES, F., (2001).** Effects of Gliadin Fractions on Functional Properties of Wheat Dough Depending on Molecular Size and Hydrophobicity. *Cereal chemistry*, 78(2):138–141.

-V-

**van DAD, H., LAFAUT, J. P., VAN CAUWELAERT , F. (1987).** Tyrosine group behaviour in bovine  $\alpha$ - lactalbumin as revealed by its Raman effect. *European Biophysics Journal*, 14, 409–414.

**VAN SOEST, J. J. G., TOURNOIS, H., DE WIT, D., Vliegenthart, J. F. G. (1995).** Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 279, 201-214.

**van VELZEN, E.J.J., VAN DUYNHOVEN, J.P.M., PUDNEY, P., WEEGELS, P.L., VAN DER MAAS, J.H. (2003).** Factors associated with dough stickiness as sensed by attenuated total reflectance infrared spectroscopy. *Cereal Chemistry*, 80(4), 378–382.

**van VLIET, T., JANSSEN, A.M., BLOKSMA, A.H., WALSTRA, P. (1992).** Strain hardening of dough as a requirement for gas retention. *Journal of Texture Studies*, 23, 439-460.

**VERAVERBEKE, W.S., DELCOUR, J.A. (2002).** Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42, 179-208.

-W-

- WANG, A., GAO, L., LIA, X., ZHANG, Y., HE, Z., XI, X., , Y., YAN Y. (2008). Characterization of two 1D-encoded  $\omega$ -gliadin subunits closely related to dough strength and pan bread-making quality in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Cereal Science*, 47, 528–535
- WANG, M., OUDGENOEG, G., VLIET, T.V., HAMER, R. J., (2003). Interaction of water unextractable solids with gluten protein: effect on dough properties and gluten quality. *Journal of Cereal Science* 38, 95–104.
- WANG, Q., LI, Y., SUN, F., LI, X., WANG, P., SUN, J., ZENG, J., WANG, C., HU, W., CHANG, J., CHEN, M., WANG, Y., LI, K., YANG, G., HE, G. (2015). Tannins improve dough mixing properties through affecting physicochemical and structural properties of wheat gluten proteins. *Food Research International*, 69, 64–71.
- WATERSCHOOT, J., GOMAND, S.V., FIERENS, E., DELCOUR, J.A. (2015). Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. *Starch-Starke*, 67, 14–29.
- WEIPERT, D. (1990). The benefits of basic rheometry in studying dough rheology. *Cereal Chemistry*, 67, 311–317.
- WELLNER, N., BIANCHINI, D., MILLS, E.N.C., BELTON, P.S. (2003). Effect of selected hofmeister anions on the secondary structure and dynamics of wheat prolamins in gluten. *Cereal Chem*, 80, 596– 600.
- WELLNER, N., MILLS, E.N.C., BROWNSEY, G., WILSON, R.H., BROWN, N., FREEMAN, J., HALFORD, N.G., SHEWRY, P.R., BELTON, P.S. (2005). Changes in protein secondary structure during gluten deformation studied by dynamic Fourier transform infrared spectroscopy. *Biomacromolecules*, 6, 255– 61.
- WIESER, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiol.*, 24, 115-119.
- WELLNER, N., BELTON, P. S., TATHAM, A. S. (1996). Fourier transform IR spectroscopic study of hydration-induced structure changes in the solid state of x-gliadins. *Biochemical Journal*, 319, 741–747.
- WITCZAK, M., KORUS, J., ZIOBRO, R., JUSZCZAK L. (2010). The effects of maltodextrins on gluten-free dough and quality of bread. *Journal of Food Engineering*, 96(2), 258-265.
- Y-
- YANG, H., YANG, S., KONG, J., DONG, A., YU, S. (2015). Obtaining information about protein secondary structures in aqueous solution using Fourier transform IR spectroscopy. *Nat Protocol*, 10, 382–396.

**-Z-**

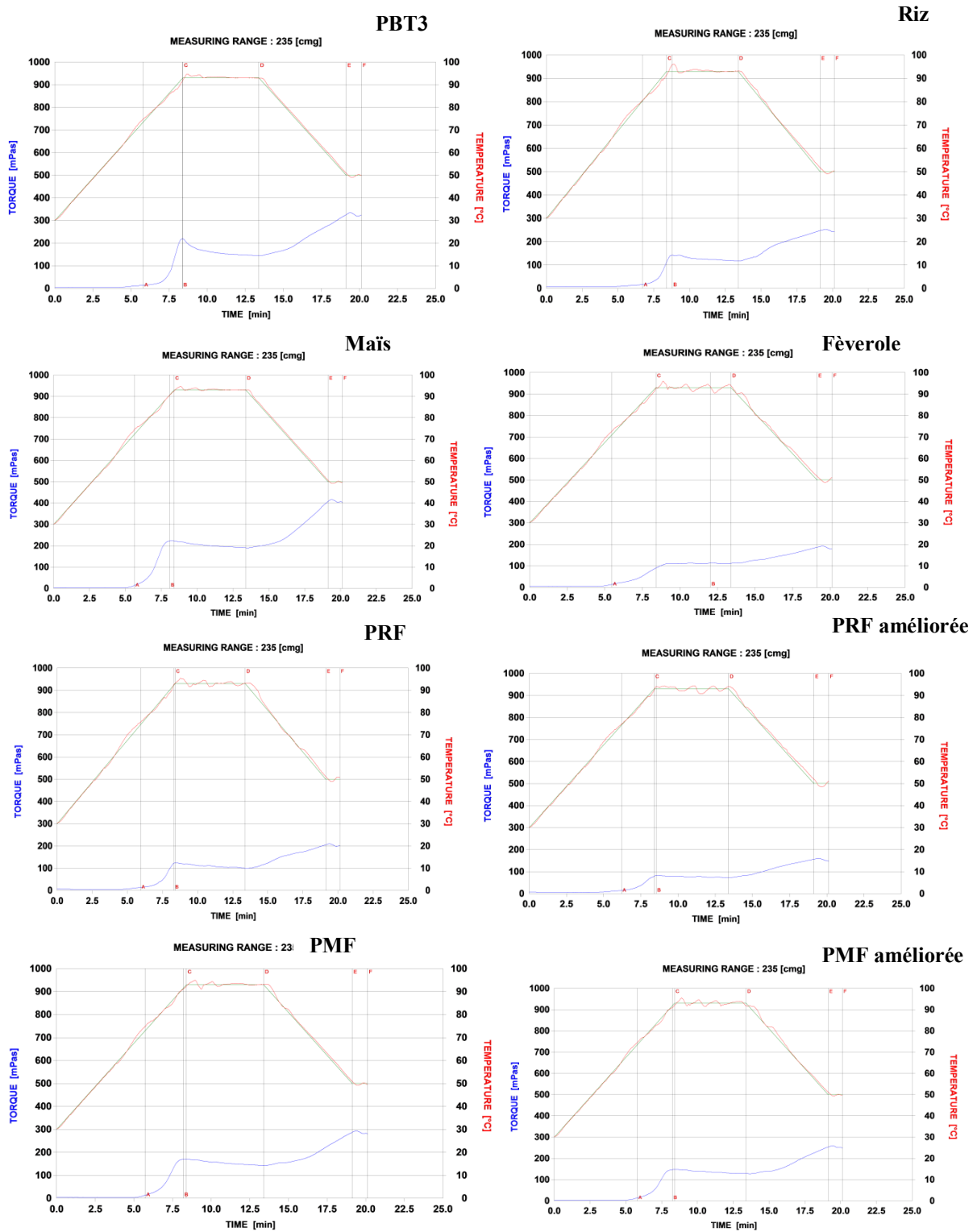
**ZAVAREZE, E.M., GUERRA DIAS, A.R. (2011).** Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 317–328.

**ZHOU, Y., ZHAO, D., FOSTER, T. J., LIU, Y., WANG, Y., NIRASAWA, S., TATSUMI, E., CHENG, Y. 2014.** Konjac glucomannan-induced changes in thiol/disulphide exchange and gluten conformation upon dough mixing. *Food Chemistry*, 143, 163–169.

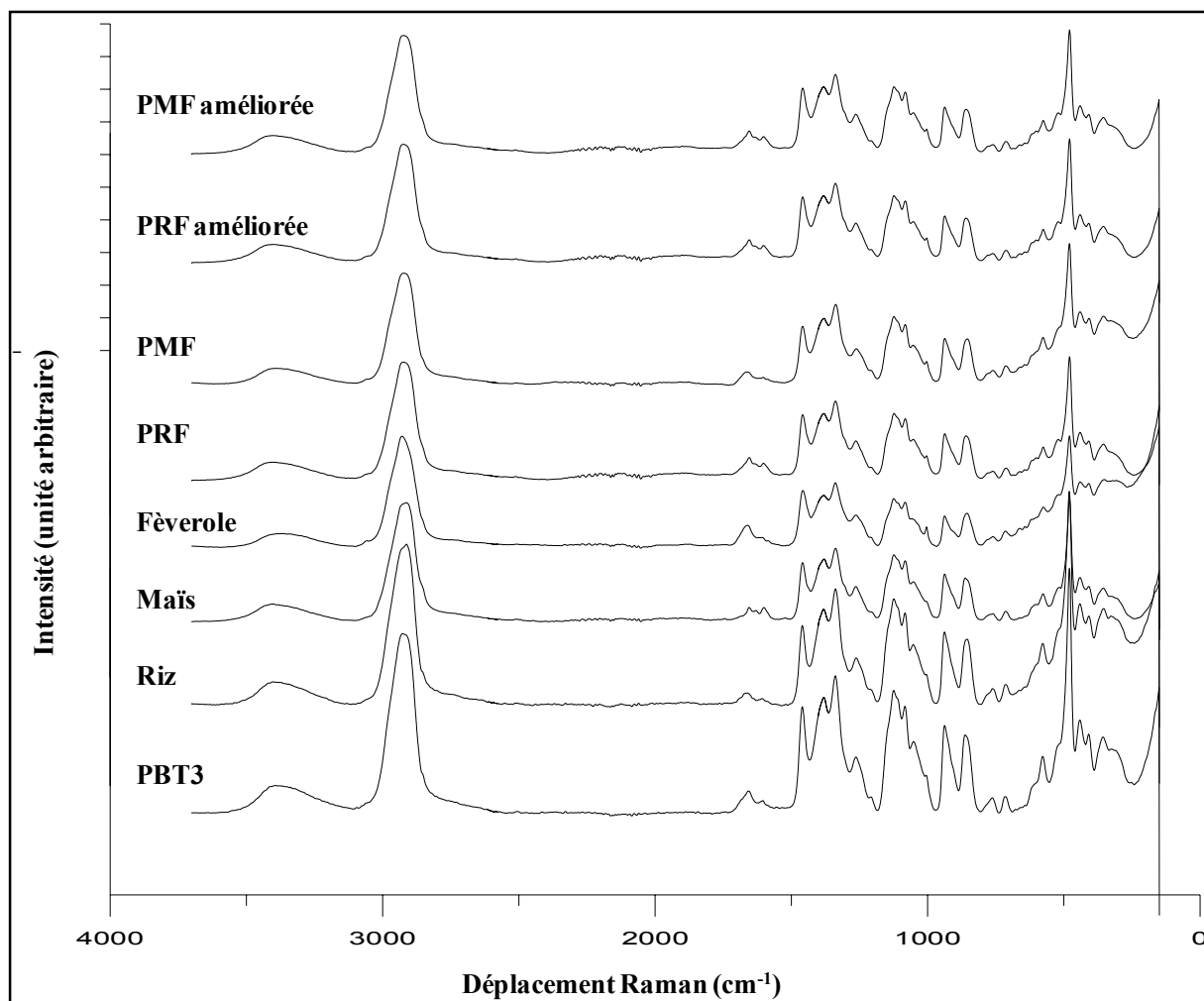
# ***Annexes***

## Annexe 01.

Courbes décrivant le profil de l'évolution de la viscosité (mPa) en fonction du temps (min).  
PBT3 : Pâte à base de FBT3, PRF : Pâte à base de la formule Riz-Fèverole, PMF : Pâte à base de la  
formule Maïs-Fèverole



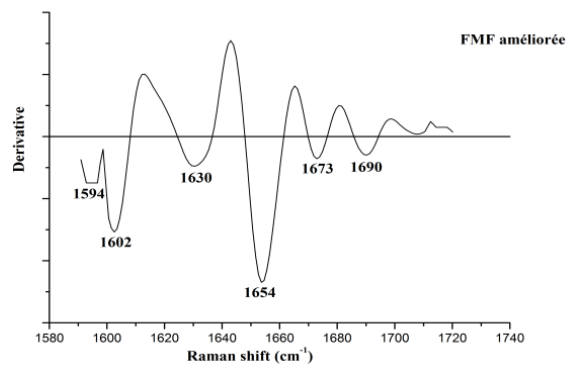
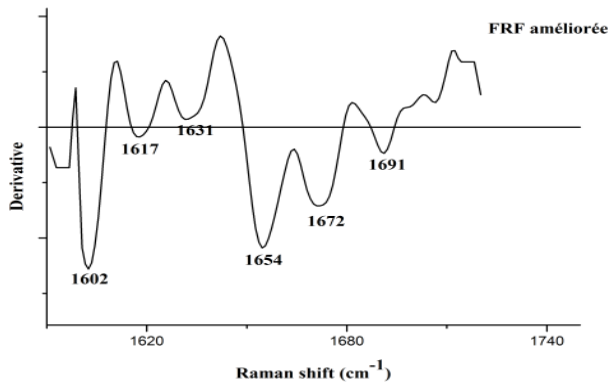
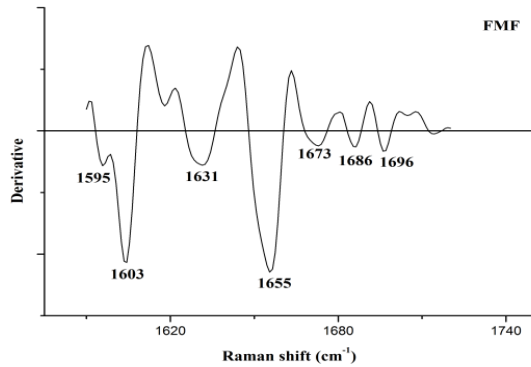
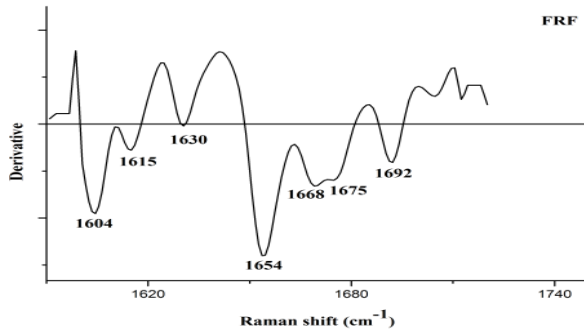
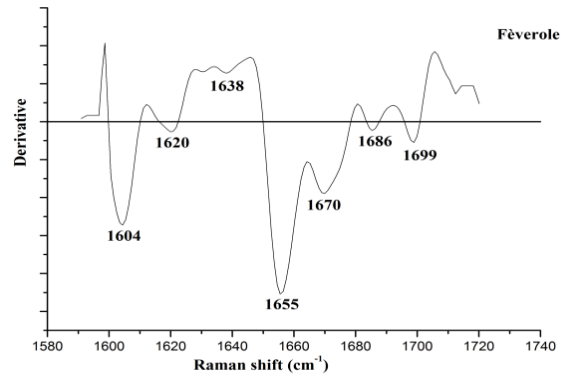
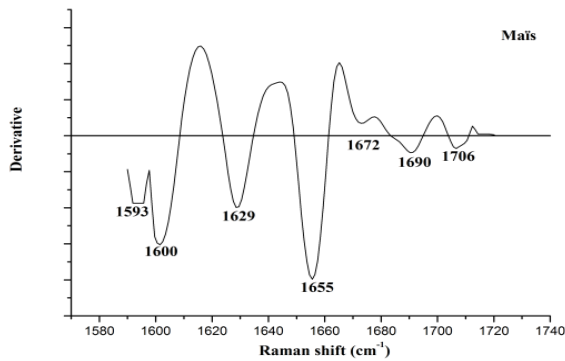
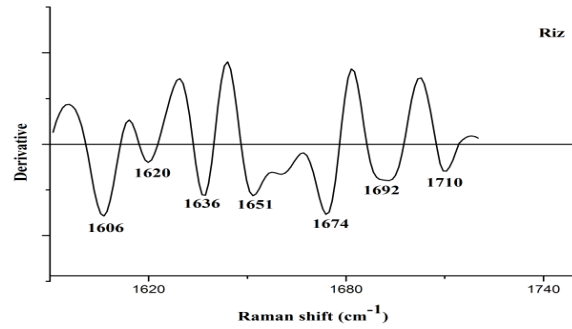
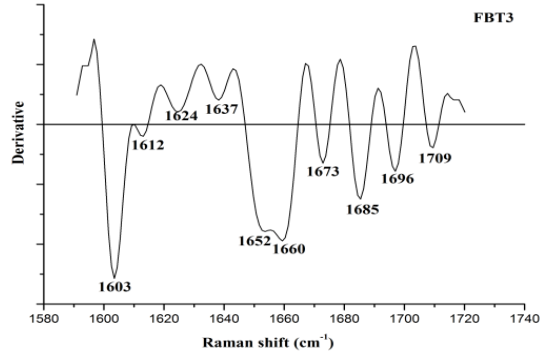
**Annexe 02.** Spectres FT-Raman corrigés à la ligne de base des pâtes étudiées. PRF ; pâte de la formule riz-fèveole et PMF ; pâte de la formule maïs-fèveole





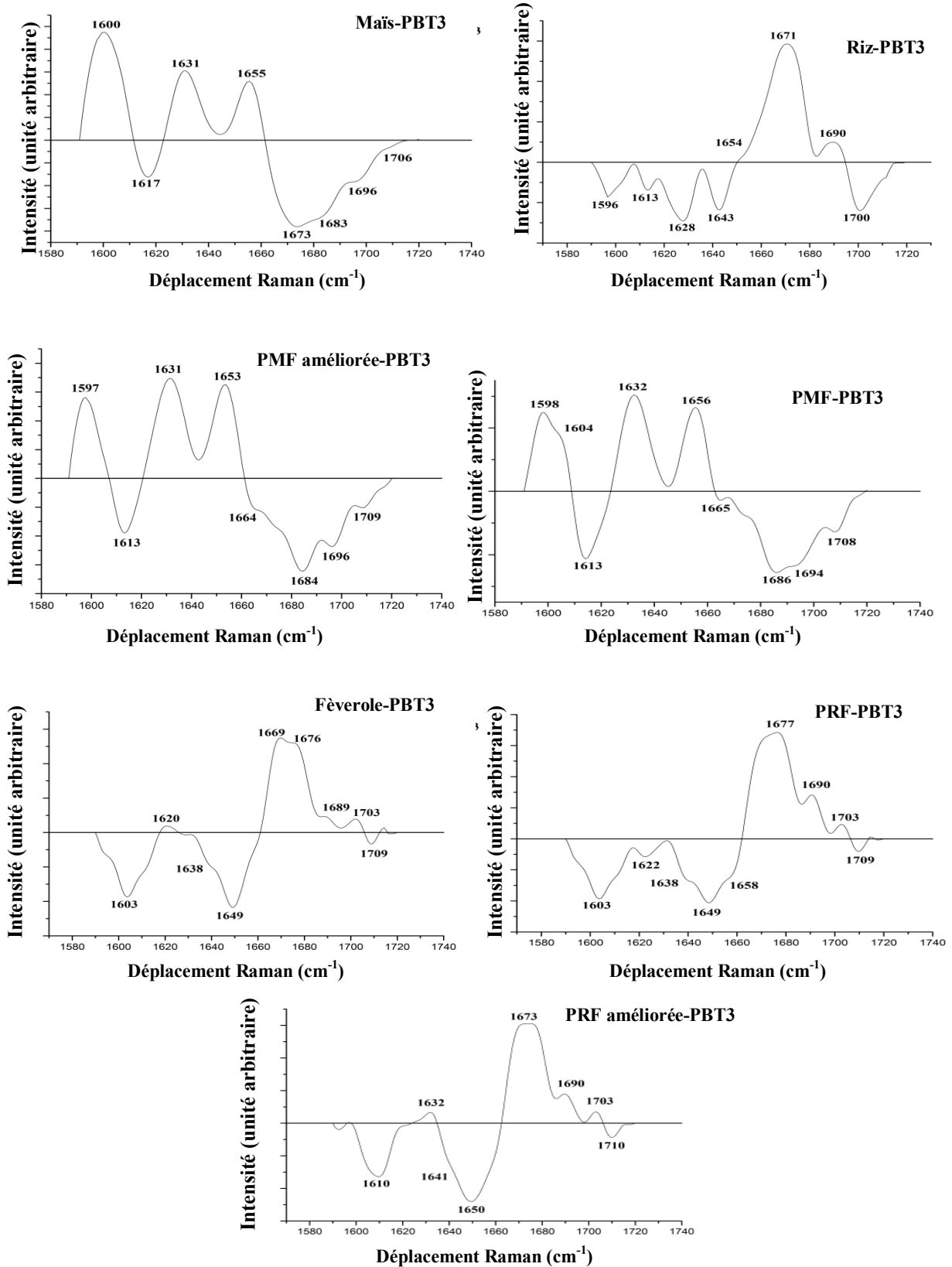
### Annexe 03.

Deuxième dérivé des spectres FT-Raman des pâtes dans la région amide I (1590–1720  $\text{cm}^{-1}$ ).  
PBT3 : Pâte à base de FBT3, PRF : Pâte à base de la formule Riz-Fèverole, PMF : Pâte à base de la formule Maïs-Fèverole



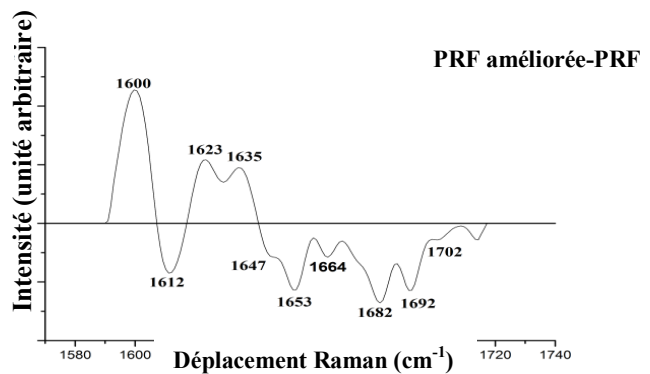
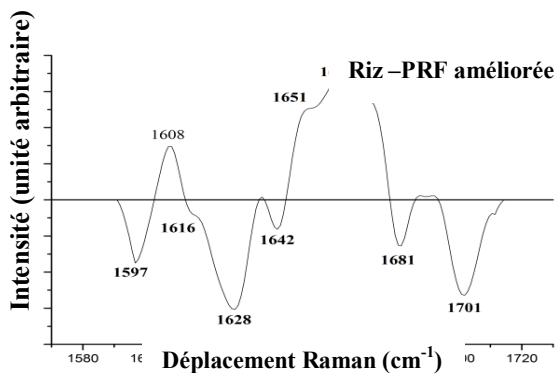
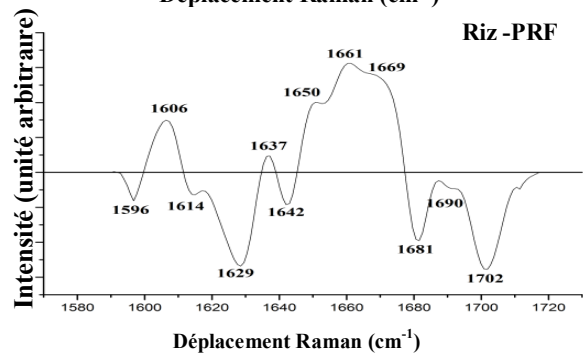
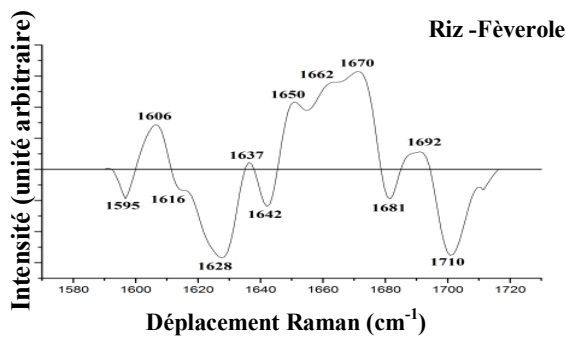
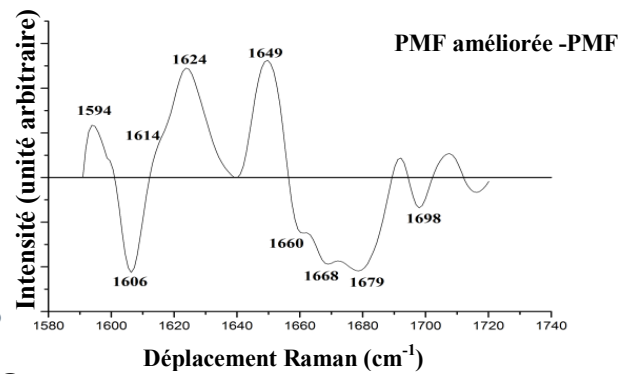
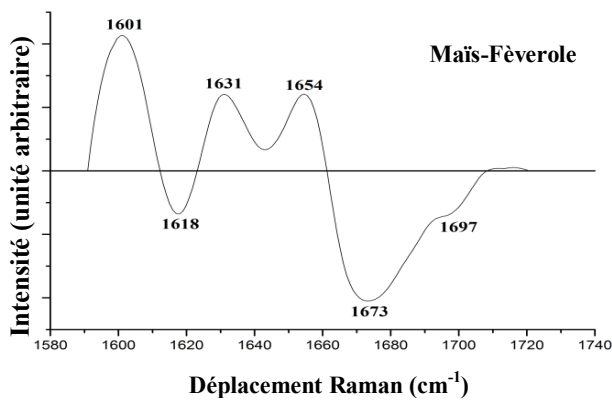
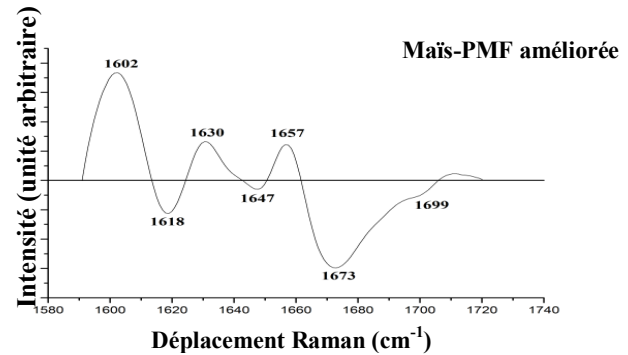
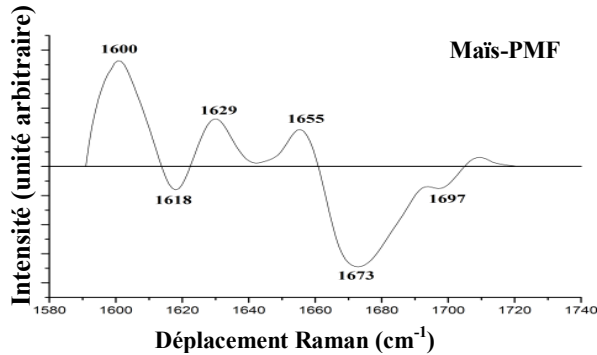
## ANNEXE 04.

Spectres de différences de la région Amide I (1590–1720  $\text{cm}^{-1}$ ) entre les pâtes sans gluten et le témoin de blé tendre. PBT3 : Pâte à base de FBT3, PRF : Pâte à base de la formule Riz-Fèverole, PMF : Pâte à base de la formule Maïs-Fèverole



## ANNEXE 05.

Spectres de différences de la région amide I ( $1590\text{--}1720\text{ cm}^{-1}$ ) entre les pâtes sans gluten. PBT3 : Pâte à base de FBT3, PRF : Pâte à base de la formule Riz-Fèveole, PMF : Pâte à base de la formule Maïs-Fèveole.



## Annexe 06.

Matrice de corrélation entre les propriétés de pétrissage (AE), les propriétés de la viscosité, les caractéristiques viscoélastiques et les caractéristiques biophysiques de la structure des protéines.

Variabes	G'	G''	Tanδ	AE	TG	Vis I	Vis M	Vis F	Cr	rétrog	F-β	Hél-α	cou-β	R'
G'	<b>1</b>													
G''	0,170	<b>1</b>												
Tanδ	-0,520	0,734	<b>1</b>											
AE	0,406	-0,748	<b>-0,918</b>	<b>1</b>										
TG	0,104	-0,778	-0,788	<b>0,834</b>	<b>1</b>									
Vis I	-0,269	<b>-0,837</b>	-0,580	0,723	<b>0,907</b>	<b>1</b>								
Vis M	-0,200	-0,201	0,127	-0,143	-0,288	-0,203	<b>1</b>							
Vis F	0,102	-0,251	-0,121	0,053	-0,187	-0,217	<b>0,947</b>	<b>1</b>						
Cr	-0,673	-0,354	0,274	-0,157	-0,130	0,151	<b>0,828</b>	0,634	<b>1</b>					
rétrog	0,010	-0,360	-0,153	0,116	-0,108	-0,095	<b>0,957</b>	<b>0,990</b>	0,711	<b>1</b>				
F-β	0,710	-0,239	-0,762	0,762	0,648	0,389	-0,640	-0,391	-0,753	-0,398	<b>1</b>			
Hél-α	0,460	-0,465	-0,588	0,500	0,322	0,110	0,623	0,805	0,260	0,794	0,164	<b>1</b>		
cou-β	-0,790	0,414	<b>0,893</b>	<b>-0,852</b>	-0,675	-0,365	0,219	-0,069	0,482	-0,057	<b>-0,883</b>	-0,608	<b>1</b>	
R'	0,537	0,088	-0,235	-0,086	-0,320	-0,568	0,406	0,599	-0,114	0,506	-0,032	0,547	-0,235	<b>1</b>

AE : absorption d'eau, TG : température de gélatinisation, Vis I : viscosité initiale, Vis M : viscosité maximale, Vis F : viscosité finale, Cr : creux, rétrogradat, F-β : feuillet-β, Hél-α : hélice-α, cou-β : coude-β.



# Investigation of viscoelastic behaviour of rice-field bean gluten-free dough using the biophysical characterization of proteins and starch: a FT-IR study

Awatif Fetouhi<sup>1</sup> · Leila Benatallah<sup>1</sup> · Agnieszka Nawrocka<sup>2</sup> · Monika Szymańska-Chargot<sup>2</sup> · Abdallah Bouasla<sup>1</sup> · Marta Tomczyńska-Mleko<sup>3</sup> · Mohammed Nasreddine Zidoune<sup>1</sup> · Agnieszka Sujak<sup>4</sup>

Revised: 18 January 2019 / Accepted: 22 January 2019  
© The Author(s) 2019

**Abstract** Gluten-free bread making success is closely linked to the biophysical behaviour of dough. Quality of these doughs is largely determined by the properties of their proteins and starch. This study aimed to explain, at the structural level the rheological behaviour of gluten-free rice-field bean dough compared to that of soft wheat. The conformational aspects of proteins and starch were studied using Fourier transformed infrared spectroscopy (FT-IR). Doughs of soft wheat, rice, field bean, mixture of rice-field bean flour and the same mixture where a portion of rice flour underwent hydrothermal treatment were studied. The results show that viscous and viscoelastic components of gluten-free doughs were changed by supplementation of rice with field bean flour. Most of gluten-free doughs possessed a higher storage modulus in comparison with soft wheat dough. Analysis of FT-IR spectra in the amide I region conveyed to find the differences relative to soft wheat flour dough showed that in non-gluten doughs the

increase in  $\beta$ -sheet content was observed at the expense of  $\beta$ -turns. These results were confirmed by amide I deconvolution. Gluten-free doughs contained more  $\beta$ -sheet structure as compared to soft wheat dough and less  $\beta$ -turns inducing high structuralization level that characterized this type of dough matrix. Concerning starch, the supplementation with rice-field bean generated the reorganization of field bean and rice doughs starches approaching that of wheat dough.

**Keywords** FT-IR · Gluten-free dough · Protein structure · Rheological behaviour · Starch reorganization

## Abbreviations

ATR	Attenuated total reflectance
FT-IR	Fourier transformed infrared spectroscopy
FU	Farinograph unit
I	Intensity
TDD	Time of dough development
WA	Water absorption

**Electronic supplementary material** The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s13197-019-03602-2>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Agnieszka Sujak  
agnieszka.sujak@up.lublin.pl

- <sup>1</sup> Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires I.N.A.T.A.A., Université des Frères Mentouri, Constantine 1, Route de Ain El\_Bey, Constantine, Algeria
- <sup>2</sup> Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Poland
- <sup>3</sup> Institute of Plant Genetics, Breeding and Biotechnology, Faculty of Agrobiotechnology, University of Life Sciences in Lublin, Akademicka 15, 20-950 Lublin, Poland
- <sup>4</sup> Department of Biophysics, University of Life Sciences in Lublin, Akademicka 13, 20-933 Lublin, Poland

## Introduction

Gluten-free baking is a big challenge for food technologists and cereal researchers. The secret of wheat bread dough quality lies within the unique properties of gluten proteins. Under the effect of hydration and the energy provided by kneading, gliadins and glutenins present in the dough form a continuous viscoelastic network. The presence of gluten is closely related to the dough and bread quality (Sivam et al. 2013). Gluten-free bread doughs showed various differences in rheological properties compared to those of soft wheat. They displayed much less cohesiveness and elasticity than wheat dough. They were smoother, stickier, weakly elastic

and pasty, with more similarity to cake dough (Cauvain 1998). Differences in the rheological properties were closely related to the absence of gluten, which might result from the inability of gluten-free ingredient proteins to form viscoelastic network similar to that of gluten (Houben et al. 2012). The improvement of gluten-free formulas was also an objective of the previous studies in order to mimic gluten network by several types of improvers (Benatallah et al. 2012; Bourekoua et al. 2016; Lazaridou et al. 2007; Matos and Rosell 2012). All of these studies were based on the rheological behaviour of dough and technological properties of bread (bread volume and alveolar structure of crumb) in order to estimate and explain the bread quality features. The structural aspect of this type of dough remains poorly known and poorly studied to understand its low quality compared to that of soft wheat, on one hand. On the other hand, several studies have been conducted on the structure of protein fractions of gluten-free ingredients such as rice, maize, kidney bean and field pea (Ellepola et al. 2005; Mejia et al. 2007; Shevkani et al. 2015). The above studies aimed to explain the functionality of the protein fractions of these grains in relation to the structural aspect. The structural explanation of the ability of these ingredients in the manufacture of complex foods (i.e. gluten free bread dough) remains poorly understood.

FT-IR is a spectroscopic technique that can be used to study the molecular structure of heterogeneous foods and biological systems. It is non-destructive and can be applied in studies on small amounts of dry and wet samples (Wang et al. 2015). This method has been already used to highlight the relationship between protein structure, rheological characteristics of doughs and technological properties of wheat bread (Sivam et al. 2013; Wang et al. 2015). It was also applied to study changes in the gluten structure as a result of supplementation of wheat dough with dietary fibre preparations (Nawrocka et al. 2017) and fibre polysaccharides (Nawrocka et al. 2018).

This study aimed to explain, at the structural level, the rheological behaviour of gluten-free rice-field bean dough compared to that of soft wheat. It includes a search for relations between rheological parameters, protein and starch structure assessed with means of FT-IR spectroscopic technique. This study also aimed to explain the effect of rice-field bean flour supplementation and hydrothermal treatment of rice on final dough structure.

## Materials and methods

### Materials

Wheat flour (*Triticum aestivum*) (MłynPiaski, Poland) was purchased from Lublin local market. Sodium chloride was

purchased from Sigma Aldrich (Poland). Rice (*Oryza sativa*) (Indian Basmati brand) and field bean (*Vicia faba L.*) (Albehera, Egypt) seeds were milled using a MG E3 grinder (UMA Rouiba, Algeria). The ground material was sieved manually using a 200 µm sieve. Gluten-free formula was obtained by mixing of a mass ratio of 2/3 rice flour and 1/3 field bean flour in order to obtain balanced amounts of amino-acids (Benatallah et al. 2012).

## Methodology

### Doughs preparation

Wheat and gluten-free doughs (rice, field bean, rice/field bean formula and rice/field bean improved formula) were prepared using Farinograph-E equipped with a 50 g mixer (model 81,101,142, Brabender, Germany). 50 g of each type of flour and aqueous solution of sodium chloride (2%, w/w) were kneaded for 20 min with an appropriate amount of distilled water according to the Farinograph optimal conditions [500 Farinograph unit (FU)]. The components were mixed as follows: wheat dough – 50 g of wheat flour + 25.9 mL of water, rice dough – 50 g of rice flour + 46.5 mL of water, field bean dough – 50 g of field bean flour + 22.8 mL of water, formula dough – 33.33 g of rice flour + 16.67 g of field bean flour + 39 mL of water, improved formula dough – 26.43 g of rice flour, 16.67 g of field bean flour + 6.9 g of rice flour that underwent hydrothermal treatment + 19 mL of water. Hydrothermal treatment was conducted as follows: 34.5 mL of distilled water was added to 6.9 g of rice flour and the mixture was heated until reaching the temperature of 65 °C according to Bourekoua et al. (2016).

In order to allow the relaxation process after mixing, doughs were subjected to a rest period of 20 min at room temperature (Benatallah et al. 2012). All samples were then lyophilized for 24 h (0.04 mbar [0.04 hPa], – 50 °C). After freeze-drying, doughs were milled to powder in laboratory grinder (Optimum RK-0150, Germany) and used in the FT-IR analysis. Before FT-IR measurement, the samples were moisturized with 10% aqueous solution of deuterium oxide (D<sub>2</sub>O) for 2 h. The purpose of using of D<sub>2</sub>O was to eliminate the overlap effect of the water bands on amide I band (Kong and Yu 2007).

### Rheological characterization of doughs

#### Farinograph parameters

Water absorption (WA) (%) and time of dough development (TDD) (min) at 500 FU dough consistency (standard procedure ICC 115/1) were obtained from farinograph.

### Small deformation mechanical test: oscillatory test

Small deformation mechanical test was conducted in order to estimate the differences in viscoelastic behaviour of gluten-free doughs in comparison with soft wheat (control). Oscillatory test was done using the Rheo-Stress 300 rheometer (Karlsruhe, Germany) equipped with parallel plates of 5 cm in diameter with 2 mm adjusted gap, according to the method described by Ronda et al. (2013). The rested dough (20 min) was placed between the plates and subjected to scanning with a frequency sweep ranging from 0.1 to 10 Hz and low strain value (0.1%) in order to keep examined doughs in linear viscoelastic region determined in strain sweep tests performed at 1 Hz frequency. Before the measurement, the excess dough was removed. The measurements were performed at  $20 \pm 0.01$  °C. The storage ( $G'$ ) modulus, loss ( $G''$ ) modulus and the loss tangent ( $\tan \delta$ ) were recorded. For each type of dough, the test was done in duplicate.

### Fourier transformed infrared (FT-IR) spectra collection and analysis

Nicolet 6700 FTIR spectrometer (Thermo Scientific, Madison, WI, USA) equipped with a diamond attenuated total reflectance attachment (ATR) was used to collect spectra between 4000 and 400  $\text{cm}^{-1}$  at a 4  $\text{cm}^{-1}$  resolution. To obtain an optimal signal-to-noise ratio, 128 scans were collected. Each spectrum was baseline-corrected using OMNIC software (version 8.2, Thermo Fischer Scientific Inc., Madison, WI, USA). The analysed spectra were averaged over five registered spectra series. In order to eliminate the effect of water bands from samples, the spectrum of 10%  $\text{D}_2\text{O}$  aqueous solution was subtracted from all spectra according to Nawrocka et al. (2017). In order to separate the overlapping bands in the amide I region and to allow an identification of the constituents of protein secondary structure, the second derivative of the amide I band was calculated using five points two-degree polynomial function. Following that the second derivative spectra were smoothed with 11-points, two-degree polynomial Savitsky–Golay function according to Seabourn et al. (2008) and Susi and Byler (1983). To estimate quantitatively the fraction of each type of secondary structure amide I band (1590–1720  $\text{cm}^{-1}$ ) was deconvoluted with Gaussian curves using Grams 32 AI (version 9) software (Galactic, USA) according to the second derivative peak identification. The quality of the band deconvolution was indicated by the following parameters:  $R^2 > 0.99$ , solution converged and  $\chi^2 < 0.001$ . The relative composition of secondary protein structures participating in the amide I band was expressed as percentage of the area of the fitted region expressed as a relative area of

components centred at specific wavenumbers (Bock and Damodaran 2013). The secondary structure assignment was based on absorption wavenumbers according to the studies of Bock and Damodaran (2013) and Yang et al. (2015).

To highlight the differences in secondary structures (amide I band) between protein backbone of gluten-free doughs and that of soft wheat dough (control), the subtraction of soft wheat dough spectrum from those of gluten free doughs was done. To estimate the changes in secondary structure of proteins induced by rice-field bean supplementation, the spectra of field bean and formula doughs were subtracted from that of rice dough. Finally, to analyse the effect of hydrothermal treatment of rice flour, the spectrum of formula dough was subtracted from that of the improved formula. The subtraction within amide I bands was performed using ORIGIN pro 8 SR0 (v.8.0724, origin lab corporation, USA). Before the subtraction, all amide I bands were baseline corrected and area normalized. Crystalline and amorphous fractions of starch were studied by estimation of intensity ratio I (1047  $\text{cm}^{-1}$ )/I (1022  $\text{cm}^{-1}$ ) (Smits et al. 1998).

### Statistical analysis

Variance analysis (ANOVA) and significant difference test (Tukey (HSD) test) were used for farinograph (WA, TDD) and rheological parameters ( $G'$ ,  $G''$  and  $\tan \delta$ ). Principal component analysis (PCA) was used to highlight the relationship between rheological properties and protein structure as well as starch reorganization characteristics in order to explain the rheological behaviour of gluten-free bread dough versus that of soft wheat. Both statistical tests were performed using the XLSTAT software (version 2009.1.01, Addinsoft) at a significance level of  $\alpha = 0.05$ . Results were expressed as mean  $\pm$  standard deviation.

## Results and discussion

### Rheological properties

Table 1 summarizes farinograph (WA, TDD) and rheological parameters ( $G'$ ,  $G''$  and  $\tan \delta$ ) in the linear viscoelastic domain (strain 0.1%) at 1 Hz frequency.

Rice dough had the highest water absorption and development time values which were respectively 1.79 and 6.15 times higher ( $P < 0.05$ ) than those of soft wheat dough. The high water absorption can be explained by the hydrophilic nature of rice flour. According to long time of dough development, rice dough was characterized by a poor quality for baking, a limited machinability and relaxing stretchable properties (Lazaridou et al. 2007;

**Table 1** Farinograph (WA, TDD) characteristics and rheological parameters ( $G'$ ,  $G''$  and  $\tan \delta$ ) in the linear viscoelastic domain (strain 0.1%) at 1 Hz frequency

Doughs	WA (%)	TDD (min)	$G'$ (Pa)	$G''$ (Pa)	$\tan \delta$
Wheat	52.5 ± 0.201 c	1.6 ± 0.1 c	32,940 ± 689 c	14,780 ± 309 b	0.449 ± 0.009 a
Rice	94 ± 0.203 a	9.85 ± 0.1 a	55,330 ± 1157 b	8523 ± 178 c	0.154 ± 0.003 d
Field bean	45.6 ± 0.201d	8.21 ± 0.1 b	58,010 ± 1213 b	26,350 ± 551 a	0.454 ± 0.009 a
Formula	79 ± 0.200 b	8.07 ± 0.1 b	51,075 ± 1068 a	14,165 ± 92 b	0.277 ± 0.004 c
Improved formula	38.5 ± 0.204 e	7.78 ± 0.1 b	11,920 ± 1202 d	2920 ± 87 d	0.254 ± 0.018 b

WA—water absorption and DDT—time of dough development were obtained from doughs farinogramm. Storage modulus ( $G'$ ), loss modulus ( $G''$ ) and loss tangent ( $\tan \delta$ ) were collected from rheometer experiment in viscoelastic linear region

Different letters following the values in the columns indicate a significant difference ( $P < 0.05$ )

Sivaramakrishnan et al. 2004). Rice-field bean supplementation and hydrothermal treatment of rice led to a significant ( $P < 0.05$ ) decrease in water absorption and development time of rice dough reaching the values characteristic of soft wheat. Substitution of 1/3 fraction of rice flour with field bean flour (formula) characterized by a low WA and TDD, led to the decrease of the hydrophilic character (decrease of rice amount) and increased machinability. In addition to the effect of the substitution, the hydrothermal treatment of 13.8% of rice fraction constituting the formula modified the hygroscopic properties of rice flour by altering the functional properties of its constituents. Results obtained from farinograph for all doughs indicated that soft wheat dough showed better quality compared to gluten-free dough because it had the lowest development time (Lazaridou et al. 2007). The low WA of improved formula dough was probably due to the additional amount of water provided by the hydrothermally treated rice flour fraction since it was added to the formula flour in the form of a gel at the beginning of mixing.

The storage modulus ( $G'$ ) represents the energy stored by the system after deformation which could be released (elastic deformation). The loss modulus ( $G''$ ) represents the dissipated energy, which is lost as inner friction (viscous deformation).  $\tan \delta$  indicates the relative contribution of the viscous and elastic components in material behaviour (Dus and Kokini 1990).  $\tan \delta$  is less than 1 if the sample is more like an elastic material. When  $\tan \delta$  is greater than 1, the loss modulus is predominant and the sample behaves like a viscous material (Khatkar and Schofield 2002). The values of  $\tan \delta$  lower than 1 for all investigated doughs indicate that all of them behave more like elastic, solid material. In our study,  $\tan \delta$  of all the examined doughs decreased with increased frequency up to the value of 0.07 Hz and then an increase in  $\tan \delta$  was noted. Increased frequency up to 0.07 Hz caused a shorter time for relaxation of the dough material and it behaved more elastically with decreased values of  $\tan \delta$ . At the higher frequency

more energy was introduced into the samples, which could break some of the weaker bonds in the dough structure. It was manifested by an increase in  $\tan \delta$ . The frequency sweep of the moduli showed that their values increased in the whole frequency range. It means that, generally, the samples were strong gels and no major breaking of the microstructure happened under sinusoidal dynamic deformations.

A similar behaviour of rice-based gluten-free doughs was observed by Lazaridou et al. (2007) and Weipert (1990). The curves representing rheological parameters as a function of frequency were present in supplementary material (Fig. 1S).

The obtained results show that at the frequency of 1 Hz, all doughs give the storage modulus higher than the loss modulus and  $\tan \delta$  values less than 1. Field bean dough showed the highest storage modulus ( $G' = 58,010$  Pa) while that of the improved formula was the lowest ( $G' = 11,920$  Pa). Rice and field bean doughs gave significantly much higher values of  $G'$  than that of the soft wheat dough. Only the improved formula dough showed a lower  $G'$  value than the wheat dough (32,940 Pa). According to Lazaridou et al. (2007), the highest values of  $G'$  that characterize rice, field bean and formula doughs demonstrate that these gluten-free doughs were more stiff and less extensible than soft wheat dough. The above-mentioned authors indicate that the stiffness of gluten-free doughs is affected by the level of the dough matrix structuralization and that the  $G'$  value increases with increasing of the structuralization level. He and Hosoney (1992) suggested that the low value of  $G'$  was due to the existence of probably significant interactions between the proteins and the other components of dough. This may indicate that gluten-free proteins show low ability to interact with other dough constituents in comparison with gluten proteins, which may explain the low elasticity of gluten-free matrices.

Field bean dough had higher loss modulus ( $G''$ ) than that of soft wheat. As stated by Caballero et al. (2016), increase



in storage ( $G'$ ) and loss ( $G''$ ) moduli can serve as the confirmation of strengthening action of additives due to crosslinking effect on different flour protein fraction. The above authors suggest that the structure of flour proteins could be changed due to the formation of large insoluble polymers. The lowest  $G''$  was that of improved formula dough and it was 5.06 times lower than that of soft wheat. Supplementation of rice flour with field bean significantly lowered the loss modulus of formula dough, which was similar to that of the wheat dough. The similar value of loss modulus to that of soft wheat dough presented by formula dough indicated that supplementation affects viscous behaviour rather than elastic behaviour.

Rice, formula and improved formula doughs gave  $\tan \delta$  values lower than those of field bean and soft wheat doughs. The lowest  $\tan \delta$  was recorded for the rice dough and was 2.91 times lower than that of the soft wheat dough, which shows that this type of dough behaves more like a solid material. According to Gujral et al. (2003), the increase in the  $\tan \delta$  value explains the decrease in the relative contribution of a solid character in dough formation. This could explain that the low  $\tan \delta$  value of gluten-free doughs is due to the strong participation of solid character in gluten-free dough formation than to the viscous one. Weipert (1990) has shown that dough with a low  $\tan \delta$  reflects a rigid and stiff material having less elastic texture and dry surface appearance. In the study presented here it was found that the supplementation of rice flour with field bean flour changes its viscoelastic behaviour, whereas the hydrothermal treatment of rice does not have any effect.

### FT-IR spectroscopy

Figure 1 shows FT-IR spectra of freeze-dried wheat and gluten-free doughs. The recorded spectra show strong bands between 3600 and 2600  $\text{cm}^{-1}$  comprising mainly amide A (3600–3450  $\text{cm}^{-1}$ ) and Amide B (3000–2600  $\text{cm}^{-1}$ ) resulting from NH stretching vibration. (van Velzen et al. 2003; Sivam et al. 2013). Typical protein bands of amide I and amide II have peaks centred at  $\sim 1640 \text{ cm}^{-1}$  and  $\sim 1540 \text{ cm}^{-1}$  respectively (due to CO carbonyl stretch with minor contribution from out of plane CN stretching vibration and NH bonding and CH stretching of proteins, respectively) (van Velzen et al. 2003). Amide III band between 1350  $\text{cm}^{-1}$  and 1200  $\text{cm}^{-1}$  represents NH in-plane bending coupled with C–N stretching and also includes CH and NH deformation modes (Meziani et al. 2011; Sivam et al. 2013). A maximum absorbance is noted at  $\sim 1334 \text{ cm}^{-1}$  for soft wheat, rice, formula and improved formula spectra and at  $\sim 1390 \text{ cm}^{-1}$  for field bean doughs.

Another spectral region (800–1200  $\text{cm}^{-1}$ ) is characteristic for backbone vibrations of CO, CN and CC bonds

frequently assigned to polysaccharides (Sivam et al. 2013). Starch and proteins are the major components of examined flours and have a fundamental role in dough production, which is why the amide I and starch bands are examined in detail in order to understand their role.

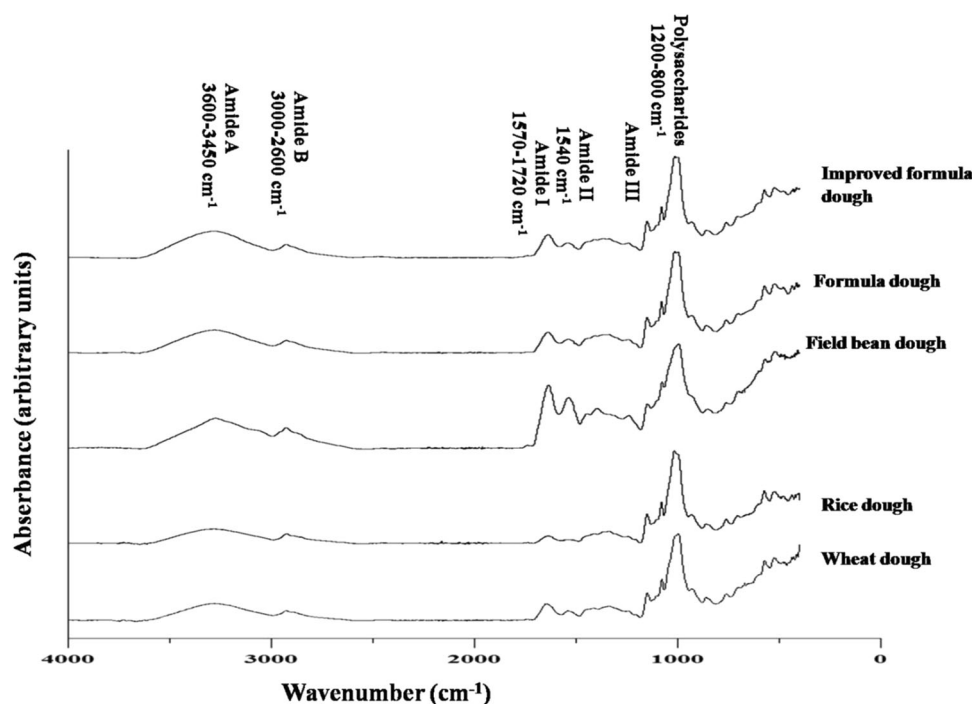
### Analysis of the secondary structure of proteins

The second derivative of FT-IR spectra of dough in amide I region (1590–1720  $\text{cm}^{-1}$ ) is shown on Fig. 2S (Supplementary materials).

The second derivatives of FT-IR spectra in amide I region show the presence of three characteristic areas for all examined doughs. The areas between 1620 and 1644  $\text{cm}^{-1}$  are assigned to  $\beta$ -sheet structure (Bock and Damodaran 2013; Kong and Yu 2007). The following bands are visible: bands centred at 1619, 1627  $\text{cm}^{-1}$  for wheat dough, at 1621 and 1631  $\text{cm}^{-1}$  for the rice dough, at 1631  $\text{cm}^{-1}$  for field bean dough, at 1623, 1631  $\text{cm}^{-1}$  for formula dough and at 1632  $\text{cm}^{-1}$  for improved formula dough. Another spectral region between 1649 and 1659  $\text{cm}^{-1}$  represents  $\alpha$ -helix structure (Van Velzen et al. 2003). In that case the following bands are observed: bands centered at 1651  $\text{cm}^{-1}$  for wheat dough, at 1653  $\text{cm}^{-1}$  for the rice dough, at 1655  $\text{cm}^{-1}$  for field bean dough, at 1654  $\text{cm}^{-1}$  for formula dough and at 1654  $\text{cm}^{-1}$  for improved formula dough.  $\beta$ -turn structure is represented in the spectral region between 1660 and 1688  $\text{cm}^{-1}$  (Kong and Yu 2007; Yang et al. 2015). Bands centred at 1674  $\text{cm}^{-1}$  for wheat dough, at 1674  $\text{cm}^{-1}$  for rice dough, at 1685  $\text{cm}^{-1}$  for field bean dough, at 1683  $\text{cm}^{-1}$  for formula dough and at 1686  $\text{cm}^{-1}$  for improved formula dough can be observed. No spectral features indicating the presence of random structures for all types of dough and no bands were found in the region between 1590 and 1619  $\text{cm}^{-1}$  (Kong and Yu 2007). On the other hand, the broad peak assigned to  $\beta$ -sheet structure shown by the second derivative of gluten-free doughs spectra, compared to that of soft wheat, indicates the high involvement of this type of secondary structure in the formation of gluten-free proteins network (Susi and Byler 1983).

To estimate the quantitative participation of each type of secondary structure in the doughs' protein network, curve fitting was proceeded. Figure 2 shows deconvoluted amide I bands (1590–1720)  $\text{cm}^{-1}$  where the protein backbone of all the examined doughs was fitted with three peaks according to second derivative peak identification which was similar to that given by Nawrocka et al. (2017).

Protein network forming soft wheat dough can be characterized with peaks centered at 1622, 1649 and 1673  $\text{cm}^{-1}$  (Fig. 2A) assigned to  $\beta$ -sheet,  $\alpha$ -helix and  $\beta$ -turn, respectively (Bock and Damodaran 2013; Kong and Yu 2007; van Velzen et al. 2003; Yang et al. 2015).



**Fig. 1** Baseline-corrected FTIR spectra of examined doughs (as indicated). Characteristic bands: NH stretching vibration of amide A ( $3600\text{--}3450\text{ cm}^{-1}$ ) and amide B ( $3000\text{--}2600\text{ cm}^{-1}$ ) bands. Peaks centred at  $1640\text{ cm}^{-1}$  (amide I) and  $1540\text{ cm}^{-1}$  (amide II) due to CO carbonyl stretch with minor contribution from out of plane CN stretching vibration and NH bonding and CH stretching of proteins,

respectively. Band between  $1350\text{ cm}^{-1}$  and  $1200\text{ cm}^{-1}$ , characteristic of amide III region, represents NH in-plane bending coupled with C–N-stretching and also includes CH and NH deformation modes. Spectral region of polysaccharides ( $800\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ ) is characteristic for backbone vibrations of CO, CN and CC bonds

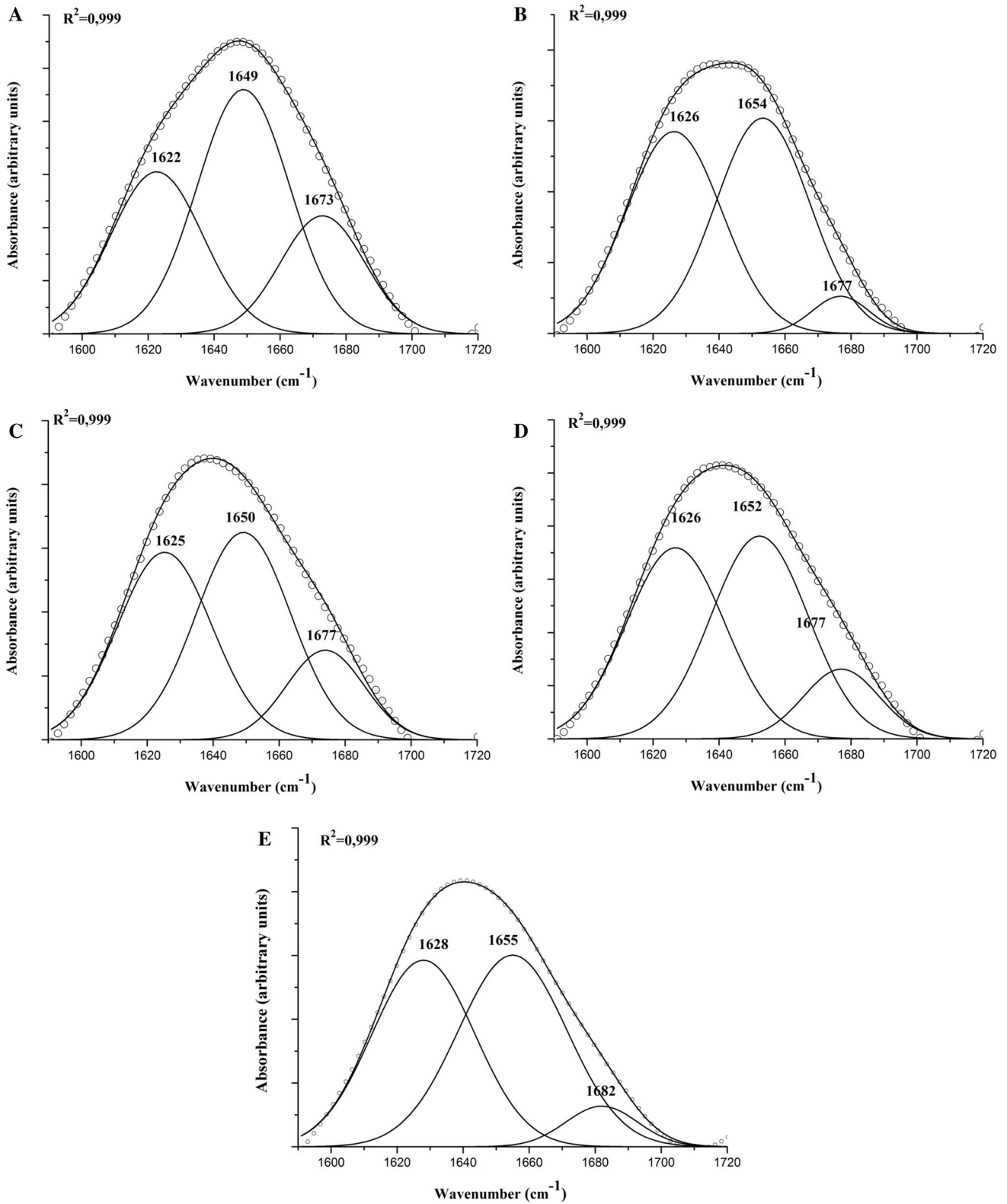
Quantitatively, amide I band shows dominance of  $\alpha$ -helix structure (48%) followed by  $\beta$ -sheet (31%), then  $\beta$ -turn (21%) (Table 2). Our results are different from those found by other authors (Bock and Damodaran 2013; van Velzen et al. 2003) who showed the dominance of  $\beta$ -sheet structure in pure gluten proteins. The same results as those presented by the above authors have been found by Sivam et al. (2013) who have investigated the effect of fibre and polyphenols-enriched flours on bread polymers conformation. In our case one has to be aware of the presence of C=O stretching at ca.  $1630\text{ cm}^{-1}$  which overlaps the  $\beta$ -sheet characteristic peak.

In the case of rice dough proteins (Fig. 2B) constituents, peaks are centred at  $1626\text{ cm}^{-1}$ ,  $1654\text{ cm}^{-1}$  and  $1677\text{ cm}^{-1}$ . Similarly to wheat, the protein network of rice dough is characterized by a dominance of  $\alpha$ -helix (50%). It contains 46% of  $\beta$ -sheet structure and a small fraction (4%) assigned to  $\beta$ -turn structure ( $1677\text{ cm}^{-1}$ ) (Table 2) (Kong and Yu 2007; Yang et al. 2015). The same results were obtained by Ellepola et al. (2005) and Gorinstein et al. (1996) who showed the predominance of  $\alpha$ -helix structure in rice globulin.

The amide I band of field bean dough (Fig. 2C) shows absorbance maxima at  $1625$ ,  $1650$  and  $1674\text{ cm}^{-1}$ . In that case a dominance of  $\alpha$ -helix structure (45%) followed by

$\beta$ -sheet (40%) and  $\beta$ -turn (15%), which is quantitatively more close to that of wheat proteins than that of rice (Table 2) was observed. Unlike rice dough, the protein backbone of field bean dough shows a higher fraction of  $\beta$ -turn structure ( $1674\text{ cm}^{-1}$ ) with a lower percentage than that of the soft wheat dough (van Velzen et al. 2003; Yang et al. 2015). Previous studies on structural and functional characterization of kidneys and field pea protein isolates showed the predominance of  $\beta$ -sheet structure in the protein backbone (Shevkani et al. 2015). Structural characterization of globulin fraction for different mono- and dicotyledonous seeds conducted by Marcone et al. (1998) revealed that globulin fractions generally had high concentrations of  $\beta$ -sheet and lower levels of  $\alpha$ -helix structures. All these studies showed a similar protein secondary structure to that obtained in our study for field bean dough.

The effect of supplementation of rice flour with field bean flour (formula) on proteins behaviour is shown on Fig. 2D. The supplementation of rice dough with field bean flour results in the slight increase in  $\beta$ -sheet structure ( $1626\text{ cm}^{-1}$ -43%) accompanied with the decrease in  $\beta$ -turn structure ( $1677\text{ cm}^{-1}$ -12%). In comparison with the control of soft wheat, the supplementation gives a protein network characterized by a higher fraction of  $\beta$ -sheet at the expense of  $\beta$ -turn structure (Fig. 2D and A, respectively).



**Fig. 2** Deconvoluted amide I band (1590–1720 cm<sup>-1</sup>) of doughs; **A** soft wheat dough, **B** rice dough, **C** field bean dough, **D** formula rice-filed bean dough and **E** improved formula dough. Solid line:

fitted curve, open circles: original data. Curve fitting was conducted using Gaussian-Lorentzian mix function

**Table 2** Relative composition of secondary dough protein structures participating in the amide I band calculated on the basis of deconvolution of FT-IR spectra in the amide I region

	$\beta$ -Sheet (%)	$\alpha$ -Helix (%)	$\beta$ -Turn (%)
Wheat	31	48	21
Rice	46	50	4
Field bean	40	45	15
Formula	43	45	12
Improved formula	44	48	8

It produces the decrease in  $\alpha$ -helix content of rice dough, approaching that of the wheat dough.

The amide I band of improved formula dough generally has a shape similar to that of formula dough (Fig. 2E). The deconvolution of this band shows similar fractions of  $\alpha$ -helix (48%) and  $\beta$ -sheet structure (44%). Small fraction of  $\beta$ -turn structure (8%) is present in the composition of this band (Table 2). Peaks which represent  $\beta$ -sheet and  $\beta$ -turn are shifted respectively to  $1628\text{ cm}^{-1}$  and  $1682\text{ cm}^{-1}$  compared to those of formula dough. Shift in the position of absorbance maxima in case of improved formula can be explained by the effect of the hydrothermal treatment. The shift to the higher frequencies shows that the secondary structures which constitute the protein backbone of formula improved dough are characterized by shorter bonds and higher vibrational energy.

In our study, difference spectra between wheat and non-gluten doughs were analysed to confirm the secondary structure obtained by the deconvolution of amide I bands. As seen from Fig. 3a similar structural effects are observed for all non-gluten doughs. Generally, the increase in  $\beta$ -sheet content is observed at the expense of  $\beta$ -turns (positive peak at  $1629\text{ cm}^{-1}$  versus negative band between  $1658$  and  $1690\text{ cm}^{-1}$ ) (Bock and Damodaran 2013; Kong and Yu 2007; Yang et al. 2015). In the case of rice protein, peak centred at  $1652\text{ cm}^{-1}$  shows the slight increase in  $\alpha$ -helix content which confirms the analysis obtained by the spectra deconvolution. Broad negative band with two maxima centred at  $1670$  and  $1681\text{ cm}^{-1}$  can be assigned to  $\beta$ -turns and anti-parallel  $\beta$ -sheet, respectively (Kong and Yu 2007; Yang et al. 2015). The last one ( $1681\text{ cm}^{-1}$ ) can be also assigned to  $\beta$ -turns (Bock and Damodaran 2013).

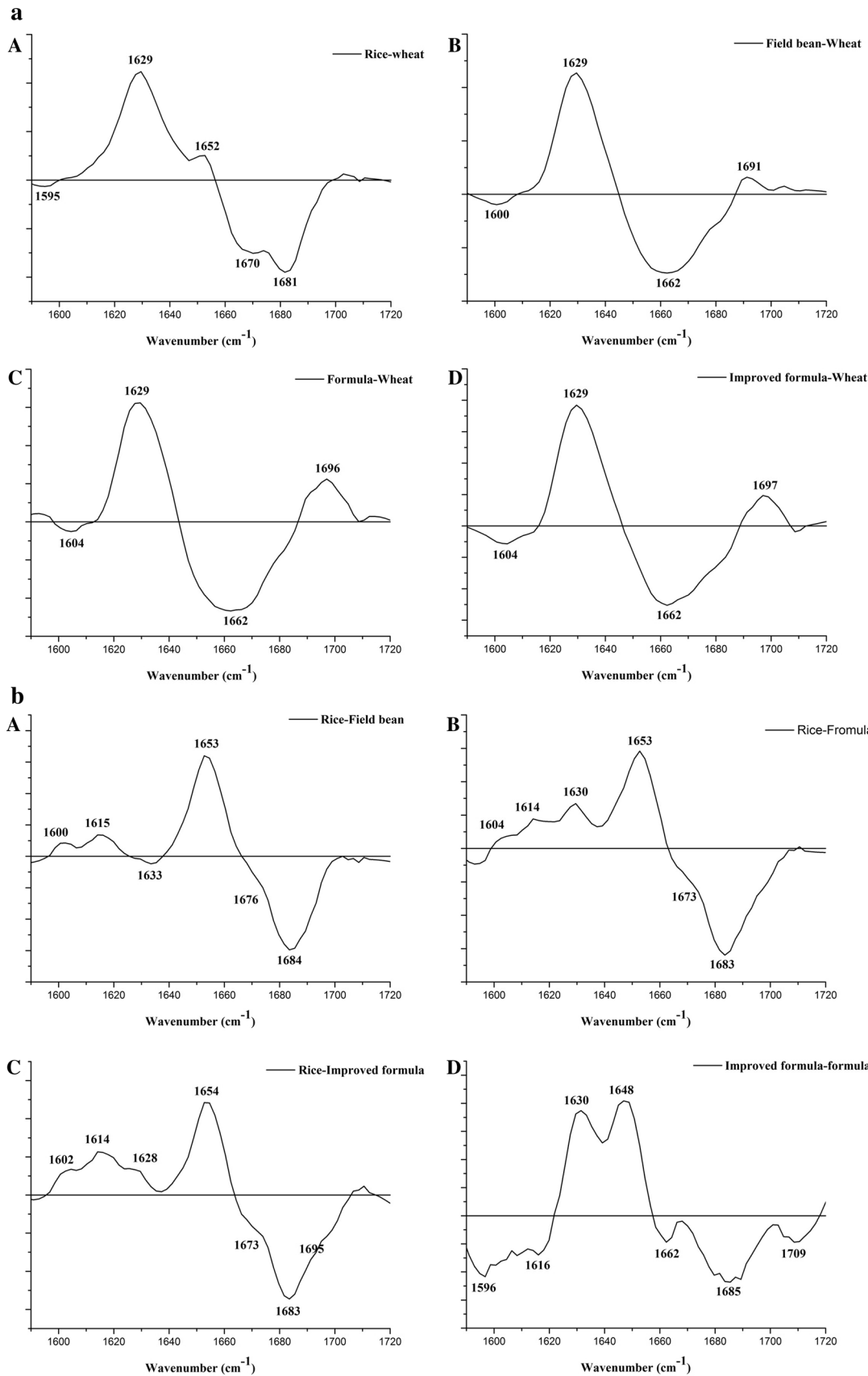
In the case of field bean, formula and improved formula a positive band with maximum between  $1691$  and  $1697\text{ cm}^{-1}$  characteristic to anti-parallel  $\beta$ -sheet (Kong and Yu 2007) appears accompanying the increase of band characterizing  $\beta$ -sheet. As the band with maximum at  $1629\text{ cm}^{-1}$  is relatively broad one can conclude that pseudo  $\beta$ -sheet can be formed at the expense of  $\beta$ -turns, which indicates production of more structuralized protein

**Fig. 3** Amide I region differential spectra: **a** between rice (A), field bean (B), formula (C) and improved formula (D) doughs and wheat dough; **b** between rice and field bean (A), formula (B) and improved formula (C) doughs. D shows the difference spectra between amide I region of improved formula and formula dough (**b**). Calculation of differences was performed after baseline correction and surface normalization of amide I bands

pattern at all non-gluten doughs. The hydration of proteins leads to the replacement of protein–protein interactions by protein–water interactions allowing the movement of the polypeptide chains to form  $\beta$ -sheet structure (Correa et al. 2014). This high ability of gluten-free doughs to form  $\beta$ -sheet structure could be explained by their high water absorption. Previous studies evaluating the effect of addition of dietary fibre on the rheological behaviour and structure of gluten proteins (Nawrocka et al. 2016, 2017) showed a strong structuralization of gluten network by forming of  $\beta$ -type structures especially  $\beta$ -sheets. This confirms our results, which implies that the high structuralization of gluten-free doughs by the formation of  $\beta$ -sheet structure may result in their solid behaviour and their low elasticity.

To estimate the effect of the supplementation of rice flour with that of field bean, and to determine the effect of hydrothermal treatment on non-gluten protein conformation, changes in the secondary structure of non-gluten proteins were studied. As rice spectrum in the amide I region varied from other spectra, differential curves were analysed against rice dough protein (Fig. 3b). Rice dough protein contains more aggregates and pseudo  $\beta$ -sheet (positive band at c.a.  $1600\text{ cm}^{-1}$  and at c.a.  $1615\text{ cm}^{-1}$ ), but less  $\beta$ -turn (negative band at c.a.  $1683\text{ cm}^{-1}$ ) than other doughs (Fig. 3b A–C). Therefore, one can conclude that rice dough proteins are more structuralized than that of field bean, formula and improved formula doughs.

When we examine the effect of hydrothermal treatment, the process of the change in protein structure seems to be more complex. Generally, the increase of  $\beta$ -sheet ( $1630\text{ cm}^{-1}$ ) is observed at the expense of  $\beta$ -turns ( $1662\text{ cm}^{-1}$ ) and aggregated structures ( $1596\text{ cm}^{-1}$ ). Interesting is the presence of a positive band with a maximum at  $1648\text{ cm}^{-1}$ . IR band between  $1640$  and  $1648\text{ cm}^{-1}$  is usually associated with the unordered conformation (random coil) (Kong and Yu 2007). As this band is relatively broad, it can also indicate a slight increase in the  $\alpha$ -helix fraction, thus confirming the deconvolution analysis. The presence of two positive peaks at  $1630$  and  $1648\text{ cm}^{-1}$  indicates possible structural changes in  $\beta$ -sheet ( $1630\text{ cm}^{-1}$ ), a possible increase in the unordered or  $\alpha$ -helix fraction (positive peak at  $1648\text{ cm}^{-1}$  accompanied with a negative band centred at  $1662\text{ cm}^{-1}$ ) at the expense of aggregates (negative band at  $1596\text{ cm}^{-1}$ ) and pseudo  $\beta$ -sheet (negative band at  $1616\text{ cm}^{-1}$ ).



## Analysis of starch conformation

FT-IR spectra in the region between 945 and 1195  $\text{cm}^{-1}$  (Fig. 3S, Supplementary materials) were used to obtain information about the starch structure (Meziani et al. 2011). This part of spectrum represents COH bending and  $\text{CH}_2$  related modes (1077, 1047, 1022 and 994  $\text{cm}^{-1}$ ) and CO and C–C stretching modes (1150  $\text{cm}^{-1}$ ). Peak at 994  $\text{cm}^{-1}$  is sensitive to water content and starch conformation (van Soest et al. 1995).

Absorbance bands at 1047  $\text{cm}^{-1}$  and 1022  $\text{cm}^{-1}$  are characteristic of crystalline and amorphous fractions of starch, respectively. The absorbance intensity ratio R equal to  $I(1047 \text{ cm}^{-1})/I(1022 \text{ cm}^{-1})$  is frequently used as an indicator of the organization of different types of starch components (Hernández-Urbe et al. 2010; Smits et al. 1998; Meziani et al. 2011). High value of this ratio shows domination of the crystalline conformation over the amorphous conformation which in turn indicates that starch has a strong tendency to retrogradation (Smits et al. 1998).

The highest value of R ratio was noted for field bean dough (0.80) and the lowest for rice dough (0.60). It amounted to 0.67 for wheat dough, to 0.63 for formula dough and to 0.64 for the improved formula dough (Table 1S, supplementary materials). Comparison between R ratios of doughs showed a significant difference between crystalline  $I(1047 \text{ cm}^{-1})$ /amorphous  $I(1022 \text{ cm}^{-1})$  ratios of doughs except between those of formula and improved formula dough. Field bean dough had a highest value of this ratio. Such finding indicates that field bean starch has a high ability to organize in a crystal form by retrogradation (high retrogradation tendency) (Hernández-Urbe et al. 2010).

In the case of field bean dough, starch spectrum shows a major difference in shape and is less intense in comparison with spectra registered for other doughs. Locations of the bands for field bean dough are shifted approximately by 4  $\text{cm}^{-1}$  as compared to other spectra. Bands characteristic for starch in doughs show a maximum absorbance

at  $\sim 995 \text{ cm}^{-1}$  for field bean,  $\sim 997 \text{ cm}^{-1}$  for soft wheat, and at  $\sim 1016 \text{ cm}^{-1}$  for rice. Formula and improved formula doughs spectra have maximum absorbance at the same position ( $\sim 1014 \text{ cm}^{-1}$ ). Shift of maximum absorbance of starch band for field bean dough to lower wavenumbers can suggest that the starch components of field bean dough are characterized by longer bonds, whereas those of the other doughs have shorter bonds resulting in higher wavenumbers. This phenomenon is probably connected to a botanical origin of flour components containing different types of starches (Cai et al. 2014).

## Relationship between structural and rheological parameters of doughs

Table 3 shows the correlation matrix between rheological and structural parameters of doughs obtained in this study. Strong and positive correlations were observed between  $\beta$ -sheet and  $\alpha$ -helix content with TDD. On the other hand, the latter parameter showed an inversely proportional relationship with  $\beta$ -turn content (negative correlation). These observations may indicate that a long TDD that characterized gluten-free dough promoted the formation of  $\beta$ -sheet and  $\alpha$ -helix structures in the detriment of  $\beta$ -turn structure. This finding confirmed the results obtained from the analysis of the differential spectra. Our results are in line with those obtained by Nawrocka et al. (2016) that showed a positive correlation between dough developing time and the content in  $\alpha$ -helix and  $\beta$ -type structures and negative with the  $\beta$ -turn content. In parallel,  $\tan \delta$  was strongly and positively correlated with the  $\beta$ -turn content, but negatively correlated with the  $\alpha$ -helix and  $\beta$ -sheet content. This could indicate that the high structuralization level is realized by the strong tendency of gluten-free doughs to form  $\alpha$ -helix and  $\beta$ -sheet structures. It explains their low  $\tan \delta$  values and, therefore, the strong participation of the solid character during dough formation. According to the results obtained in previous rheological

**Table 3** Correlation matrix between the rheological parameters [WA, TDD,  $G'$ ,  $G''$ ,  $\tan(\delta)$ ], doughs proteins and starch structural parameters

Variables	WA	TDD	$G'$	$G''$	Tan ( $\delta$ )	$\beta$ -Sheet	$\alpha$ -Helix	$\beta$ -Turn
TDD	0.409							
$G'$	0.608	0.376						
$G''$	-0.149	-0.117	0.669					
Tan ( $\delta$ )	-0.642	-0.664	0.035	0.742				
$\beta$ -Sheet	0.423	<b>0.956</b>	0.151	-0.395	-0.825			
$\alpha$ -Helix	0.423	<b>0.956</b>	0.151	-0.395	-0.825	<b>1.000</b>		
$\beta$ -Turn	-0.482	-0.855	-0.039	0.582	<b>0.926</b>	-0.944	-0.944	
R	-0.592	-0.108	0.279	0.850	0.803	-0.355	-0.355	0.527

R: The ratio  $I(1047 \text{ cm}^{-1})/I(1022 \text{ cm}^{-1})$

Values in bold are different from 0 to a significance level  $\alpha = 0.05$

studies on gluten matrix conducted by Nawrocka et al. (2017) and Nawrocka et al. (2016), the high structuralization level of gluten-free protein backbone was probably connected with the strong and stiff behaviour of gluten-free doughs compared to that of soft wheat.

The R ratio was positively correlated with loss modulus and loss tangent of doughs. These parameters were probably affected by the reorganization of doughs' starches. Initially, low values for rice dough increased upon the supplementation with field bean or with the application of hydrothermal treatment, indicating the tendency of starch to retrogradation. This result may explain the highest value of viscous modules of field bean dough.

## Conclusion

Food industry can benefit from good understanding of structure formation and its connection with rheological properties of non-gluten doughs. A link between structure and rheological properties was established. This study clearly demonstrated that gluten-free doughs, with the exception of field bean dough, behave like a rigid and stiff material with a low elasticity compared to soft wheat dough. Supplementation with rice-field bean significantly changed the rheological behaviour of doughs by increasing the loss modulus to be similar to that of wheat dough. At the structural scale, with respect to proteins forming soft wheat dough, all gluten-free doughs shown a tendency to form  $\beta$ -sheet structure in detriment of  $\beta$ -turn structure. These doughs show higher level of protein network structuralization as compared to soft wheat dough. This could be the reason for the low level of gluten-free dough elasticity. The improvement of rheological properties of the rice dough after supplementation was accompanied by a less structured protein network of formula dough (decrease of  $\beta$ -sheet and  $\alpha$ -helix contents). Hydrothermal treatment induced the formation of more ordered structures such as  $\beta$ -sheet and  $\alpha$ -helix. Rice-field bean supplementation and hydrothermal treatment induce positive changes in the starch conformation approaching that of wheat dough.

**Acknowledgements** This work was supported by statutory funds of the Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires I.N.A.T.A.A., Université des Frères Mentouri, Constantine 1, Algeria and Life Sciences University in Lublin. We would like to thank to Prof. W.I. Gruszecki from the Institute of Physics, Maria Curie-Skłodowska University in Lublin, Poland for a fruitful discussion.

## Compliance with ethical standards

**Conflict of interest** The authors declare that there are no conflicts of interest.

**Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

## References






- Benatallah L, Zidoune MN, Michon C (2012) Optimization of HPMC and water addition for a gluten-free formula with rice and field bean based on rheological properties of doughs. *Int Rev Chem Eng (I.R.E.C.H.E.)* 4:1755–2035
- Bock JE, Damodaran S (2013) Bran-induced changes in water structure and gluten conformation in model gluten dough studied by Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Hydrocolloids* 31:146–155
- Bourekoua H, Benatallah L, Zidoune MN, Rosell CM (2016) Developing gluten free bakery improvers by hydrothermal treatment of rice and corn flours. *LWT Food Sci Technol* 73:342–350
- Caballero PA, Gómez M, Rosell CM (2016) Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf-life by enzymes combination. *J Food Eng* 81:42–53
- Cai J, Cai C, Man J, Zhou W, Wei C (2014) Structural and functional properties of C-type starches. *Carbohydr Polym* 101:189–300
- Cauvain SP (1998) Other cereals in bread making. In: Cauvain SP, Young LS (eds) *Technology of bread making*. Blackie Academic & Professional, London, pp 330–346
- Correa MJ, Ferrer E, Anon MC, Ferrero C (2014) Interaction of modified celluloses and pectins with gluten proteins. *Food Hydrocolloids* 35:91–99
- Dus SJ, Kokini JL (1990) Prediction of the nonlinear viscoelastic properties of hard wheat flour dough using the Bird–Carreau constitutive model. *J Rheol* 34:1069–1084
- Ellepolá SW, Choi SM, Ma ChY (2005) Conformational study of globulin from rice (*Oryza sativa*) seeds by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Int J Biol Macromol* 37:12–20
- Gorinstein S, Zemser M, Friednman M, Rodrigues WA, Martins PS, Vello NA, Tosello GA, Paredes-López O (1996) Physicochemical characterization of the structural stability of some plant globulins. *Food Chem* 56:131–138
- Gujral HS, Guardiola I, Carbonell JV, Rosell CM (2003) Effect of cyclodextrinase on dough rheology and bread quality from rice flour. *J Agric Food Chem* 51:3814–3818
- He H, Hoseney RC (1992) Factor controlling gas retention in non-heated doughs. *Cereal Chem* 69:1–6
- Hernández-Urbe JP, Ramos-López G, Yee-Madeira H, Bello-Pérez LA (2010) Physicochemical, rheological and structural characteristics of starch in maize tortillas. *Plant Foods Hum Nutr* 65:152–157
- Houben A, Höchstötter A, Becker T (2012) Possibilities to increase the quality in gluten-free bread production: an overview. *Eur Food Res Technol* 235:195–208
- Khatkar BS, Schofield JD (2002) Dynamic rheology of wheat flour dough I. Non-linear viscoelastic behaviour. *J Sci Food Agric* 82:827–829
- Kong J, Yu S (2007) Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochim Biophys Sin* 39(8):549–559
- Lazaridou A, Duta D, Papageorgiou M, Belc N, Biliaderis CG (2007) Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality

- parameters in gluten-free formulations. *J Food Eng* 79:1033–1047
- Marccone MF, Kakuda Y, Yada RY (1998) Salt-soluble seed globulins of dicotyledonous and monocotyledonous plants II. Structural characterization. *Food Chem* 63(2):265–274
- Matos ME, Rosell CM (2012) Quality indicators of rice-based gluten-free bread-like products: relationships between dough rheology and quality characteristics. *Food Bioprocess Technol*. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0903-9>
- Mejia CD, Mauer LJ, Hamaker BR (2007) Similarities and differences in secondary structure of viscoelastic polymers of maize  $\alpha$ -zein and wheat gluten proteins. *J Cereal Sci* 45:353–359
- Meziani S, Jasniowski J, Gaiani C, Ioannou I, Muller JM, Ghoul M, Desobry S (2011) Effects of freezing treatments on viscoelastic and structural behavior of frozen sweet dough. *J Food Eng* 107:358–365
- Nawrocka A, Miś A, Szymańska-Chargot M (2016) Characteristics of relationships between structure of gluten proteins and dough rheology: influence of dietary fibres studied by FT-Raman spectroscopy. *Food Biophys* 11:81–90
- Nawrocka A, Miś A, Niewiadomski Z (2017) Dehydration of gluten matrix as a result of dietary fibre addition: a study on model flour with application of FT-IR spectroscopy. *J Cereal Sci* 74:86–94
- Nawrocka A, Krekora M, Niewiadomski Z, Miś A (2018) FT-IR studies of gluten matrix dehydration after fibre polysaccharide addition. *Food Chem* 252:198–206
- Ronda F, Pérez-Quirce S, Angioloni A, Collar C (2013) Impact of viscous dietary fibres on the viscoelastic behavior of gluten-free formulated rice doughs: a fundamental and empirical rheological approach. *Food Hydrocolloids* 32:252–262
- Seabourn BW, Chung OK, Seib PA, Mathewson PR (2008) Determination of secondary structural changes in gluten proteins during mixing using Fourier transform horizontal attenuated total reflectance spectroscopy. *J Agric Food Chem* 56:4236–4243
- Shevkani K, Singh N, Kaur A, Chand Rana J (2015) Structural and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: a comparative study. *Food Hydrocolloids* 43:679–689
- Sivam AS, Sun-Waterhouse D, Perera CO, Waterhouse GIN (2013) Application of FT-IR and Raman spectroscopy for the study of biopolymers in breads fortified with fiber and polyphenols. *Food Res Int* 50:574–585
- Sivaramakrishnan HP, Senge B, Chattopadhyay PK (2004) Rheological properties of rice dough for making rice bread. *J Food Eng* 62:37–45
- Smits ALM, Ruhnau FC, Vliegthart JFG, van Soest UFG, van Soest JGG (1998) Ageing of starch based systems as observed with FT-IR and solid state NMR spectroscopy. *Starch/Stärke* 50:478–483
- Susi H, Byler DM (1983) Protein structure by Fourier transform infrared spectroscopy: second derivative spectra. *Biochem Biophys Res Commun* 115:391–397
- van Soest JGG, Tourois H, de Wit D, Veliegenthart JFG (1995) Short-ranges structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydr Res* 279:201–214
- van Velzen EJJ, van Duynhoven JPM, Pudney P, Weegels PL, van der Maas JH (2003) Factors associated with dough stickiness as sensed by attenuated total reflectance infrared spectroscopy. *Cereal Chem* 80(4):378–382
- Wang Q, Li Y, Sun F, Li X, Wang P, Sun J, Zeng J, Wang C, Hu W, Chang J, Chen M, Wang Y, Li K, Yang G, He G (2015) Tannins improve dough mixing properties through affecting physicochemical and structural properties of wheat gluten proteins. *Food Res Int* 69:64–71
- Weipert D (1990) The benefits of basic rheometry in studying dough rheology. *Cereal Chem* 67:311–317
- Yang H, Yang S, Kong J, Dong A, Yu S (2015) Obtaining information about protein secondary structures in aqueous solution using Fourier transform IR spectroscopy. *Nat Protoc* 10:382–396

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



## Development of New Gluten-Free Maize-Field Bean Bread Dough: Relationships Between Rheological Properties and Structure of Non-Gluten Proteins

Awatif Fetouhi<sup>1</sup>, Agnieszka Sujak<sup>2\*</sup> , Leila Bentallah<sup>1</sup>, Agnieszka Nawrocka<sup>3</sup> ,  
Monika Szymańska-Chargot<sup>4</sup> , Marta Tomczyńska-Mleko<sup>5</sup> ,  
Agnieszka Wójtowicz<sup>6</sup> , Mohammed Nasreddine Zidoune<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires, Université des Frères Mentouri, Constantine 1, Route de Ain El\_Bey, Constantine, Algeria

<sup>2</sup>Department of Biosystems Engineering, Faculty of Environmental and Mechanical Engineering, Poznań University of Life Sciences, Wojska Polskiego 50, 60–637 Poznań, Poland

<sup>3</sup>Laboratory for Quality Assessment of Grain and Oilseed Raw Materials, Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4, 20–290 Lublin, Poland

<sup>4</sup>Department of Microstructure and Mechanics of Biomaterials, Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4, 20–290 Lublin, Poland

<sup>5</sup>Institute of Plant Genetics, Breeding and Biotechnology, University of Life Sciences in Lublin, Akademicka 15, 20–950 Lublin, Poland

<sup>6</sup>Department of Thermal Technology and Food Process Engineering, University of Life Sciences, Głęboka 31, 20–612 Lublin, Poland

**Key words:** gluten-free dough, maize, field bean, non-gluten proteins, pasting properties, protein secondary structure, FT-Raman spectroscopy

This work aimed to examine the rheological properties and structural features of newly developed gluten-free doughs with maize (M), field bean (FB), maize-field bean (MFB), and maize-field bean improved with hydrothermally-treated maize (IMFB), and compare them with soft wheat (SW) dough as a control. The relationships between viscoelastic characteristics, pasting properties of dough, and structure of non-gluten proteins analyzed using FT-Raman spectroscopy were investigated. All gluten-free doughs showed significantly higher values of the elastic modulus than SW dough. The low values of  $\tan \delta$  for doughs of M, MFB, and IMFB formulas indicated strong contribution of the solid character in their structural formation as compared to SW and FB doughs. Protein backbone of maize and maize-based doughs was characterized by the absence of pseudo- $\beta$ -sheet structure and a high content of  $\beta$ -sheet accompanied with a low content of antiparallel- $\beta$ -sheet. According to principal component analysis (PCA), a strong relationship was found between protein secondary structure,  $\tan \delta$ , gelatinization temperature, and between aromatic amino-acid chains, peak viscosity, and breakdown. The mechanism of non-gluten protein network establishment was based on the formation of  $\beta$ -sheet and  $\alpha$ -helix structure. The study results indicate the significant involvement of trans-gauche-gauche (TGG) and trans-gauche-trans (TGT) disulfide bridges in the formation of the non-gluten protein matrix rather than gauche-gauche-gauche (GGG) conformation. PCA analysis showed that the water absorption of the starch granules increased with the greater exposition of the tyrosyl residues.

### INTRODUCTION

Obtaining gluten-free bread (GFB) of superior quality is a technological challenge. Gluten is considered as a key component imparting wheat dough its unique properties in baked goods. It is composed of gliadins and glutenins – two proteins that contribute to the bread dough viscosity and elasticity [Barak *et al.*, 2014; Belton, 1999]. According to Singh & MacRitchie [2001], gluten structure develops and becomes apparent when the wheat flour is hydrated and subjected to the energy of mixing.

It is defined as a viscoelastic mass capable of forming structures that retain gases allowing dough to expand and become soft, light, and palatable after baking [Khatkar & Schofield, 2007].

The inability of gluten-free (GF) flour to form viscoelastic dough after kneading with water, makes production of GFB technologically difficult. The study of the mechanisms of development of the structure of gluten-free bread dough with or without improvement is thus the key to the understanding and controlling the functionality of components, and it brings up possible solutions to improve GF product quality.

\* Corresponding Author:

[agnieszka.sujak@up.poznan.pl](mailto:agnieszka.sujak@up.poznan.pl) (A. Sujak)

Submitted: 9 February 2021

Accepted: 14 April 2021

Published on-line: 5 May 2021

FT-IR and FT-Raman spectroscopy has been used in several studies to determine the dough structure development and to investigate the gluten-protein quality and structure relationships [Nawrocka *et al.*, 2016b; Pourfarzad *et al.*, 2015; Sivam *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2015]. Our recent study [Fetouhi *et al.*, 2019] on the viscoelastic behavior of rice-field bean gluten-free dough using FT-IR concluded that the low viscoelastic quality of this type of GF dough is due to the different secondary structures developed by non-gluten as compared to gluten proteins. Accordingly, in non-gluten proteins,  $\beta$ -sheet content increased, albeit with the absence of  $\beta$ -turn structures. The reorganization of starch molecules also had an effect on the quality of GFB doughs. Moreover, a relationship between the structure of proteins and starch and the viscoelastic behavior of rice-field bean dough was clearly indicated. As rice and rice-field bean preparations showed low kneading quality, we started to search for other formulas.

In this context, our work aimed to study the structural features of newly developed types of GF dough based on maize-field bean formulas through examining correlations between rheological properties and structure of non-gluten proteins. Maize (M) and field bean (FB) flours were chosen in order to obtain a balanced composition of blended amino acid in GF bread. As the conformation of the S-S bridges plays a major role in the functional properties of gluten dough, the disulfide bridge regions were analyzed in GF doughs and compared with soft wheat dough. FT-Raman spectroscopy has not yet been adapted in GF dough investigation to identify the relationship between structural mechanisms and quality of GF bread dough development.

## MATERIALS AND METHODS

### Raw materials

Soft wheat (SW) flour (*Triticum aestivum*) (Młyn Piaski, Piaski, Poland) was purchased locally. Maize (*Zea mays* L.) (Alicampo Company, Del Viso, Buenos Aires, Argentina) and field bean (*Vicia faba* L.) (Al-behera, Tanta, Egypt) seeds were purchased from the Algerian market. The seeds were ground using an MG E3 grinder (UMA Rouiba, Ar\_Ruwajba, Algeria) and sieved to obtain flours with a particle size less than 200  $\mu\text{m}$ . Sodium chloride was purchased from Sigma Aldrich (Poznań, Poland). Distilled water was used for dough preparation (Hydrolab, Straszyn, Poland). The chemical composition of raw materials was evaluated according to American Association of Cereal Chemists (AACC) [1995] methods: AACC 46–10 for protein, AACC 30–10 for fat, and AACC 08–01 for ash content. Total dietary fiber was determined based on the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 993.21 procedure [AOAC, 2000]. Proximate composition of raw materials was: SW – protein 12.25 g/100 g, fat 0.98 g/100 g, ash 0.55 g/100 g, dietary fiber 1.30 g/100 g; M – protein 5.13 g/100 g, fat 1.41 g/100 g, ash 0.45 g/100 g, dietary fiber 2.00 g/100 g; and FB – protein 23.91 g/100 g, fat 3.91 g/100 g, ash 7.82 g/100 g, dietary fiber 9.33 g/100 g.

### Dough preparation

All tested doughs were prepared using a Farinograph-E (model 81101142, Brabender, Germany) equipped with

a 50 g mixer. Here, 50 g of SW or gluten-free flours (M, FB, and maize-field bean (MFB) formula) and aqueous solution of sodium chloride (2%, w/w) were kneaded for 20 min with an appropriate amount of distilled water determined according to the Farinograph optimal conditions (500 FU). MFB formula was obtained by mixing 33.34% of FB flour with 66.66% of M flour in order to obtain a balanced composition of blended amino acids [Benatallah *et al.*, 2012]. An improved maize-field bean (IMFB) formula was prepared according to the procedure described by Bourekoua *et al.* [2016], where a portion of 6.9 g of maize flour was mixed with 34.5 mL of distilled water and heated to 65°C with continuous stirring. The obtained gel was stored at 4°C for 24 h and then added to a mixture of 16.67 g of field bean and 26.43 g of maize flours. Water amounts added to each sample, as well as dough water absorption (WA) are presented in Table 1. All doughs were allowed to rest for 20 min at room temperature before oscillatory tests. Samples for FT-Raman analysis and pasting properties determination were lyophilized for 24 h (0.04 mbar, -50°C). After freeze-drying, they were ground to powder in a laboratory grinder (MK100S, Katowice, Poland).

### Rheological proprieties

#### Small strain oscillatory test

The oscillatory test was done to estimate the differences in the viscoelastic behavior of non-gluten doughs in comparison with control SW dough. The measurements were conducted using a Rheo-Stress 300 rheometer (Karlsruhe, Germany) equipped with parallel plates of 5 cm in diameter with the adjusted gap of 2 mm. After the resting time (20 min), dough was placed between the plates, the excess of dough was removed, and it was then subjected to scanning at 20°C with a frequency sweep ranging between 0.1–10 Hz and low strain value (0.1%) in order to keep the examined dough in a linear viscoelastic region determined *via* strain sweep tests performed at 1 Hz frequency according to Lazaridou *et al.* [2007]. The storage ( $G'$ ) modulus, loss ( $G''$ ) modulus, and the loss tangent ( $\tan \delta$ ) were recorded. For each type of dough, the test was done in duplicate.

#### Pasting properties

Measurements were performed according to Dib *et al.* [2018], using a microvisco-amylograph (Brabender OHG, Duisburg, Germany) operated under constant conditions of speed (250 rpm) and sensitivity (235  $\text{cm} \times \text{g}$ ). Freeze-dried dough powders (10 g) and an appropriate amount of distilled water (corrected to compensate of 14% moisture) were mixed and continuously stirred for 5 min to obtain a homogeneous dispersion. The sample was heated from 30°C up to 93°C, held at 93°C for 5 min, cooled from 93°C to 50°C, and held at 50°C for 1 min. The heating/cooling rate was 7.5°C/min. The estimated proprieties were: gelatinization temperature (GT, °C), initial viscosity (IV, mPa·s), peak viscosity (PV, mPa·s), final viscosity (FV, mPa·s), breakdown (BD, mPa·s), and setback (SB, mPa·s). For each sample, the test was repeated twice.

### FT-Raman analysis and data manipulation

Raman spectra were acquired using the FT-Raman module (NXR FT Raman) of a Nicolet 6700 FT-IR bench with

TABLE 1. Water added, water absorption characteristics of doughs at 500 FU, and rheological parameters ( $G'$ ,  $G''$  and  $\tan \delta$ ) of doughs in the linear viscoelastic domain (strain 0.1%) at 1 Hz frequency.

Dough	Water* (mL/50 g)	WA (%)	$G'$ (Pa)	$G''$ (Pa)	$\tan \delta$ (-)
SW	25.9	52.5±0.2 <sup>c</sup>	32,490±689 <sup>d</sup>	14,780±309 <sup>b</sup>	0.449±0.009 <sup>a</sup>
M	40.5	79.6±0.2 <sup>a</sup>	71,720±6083 <sup>a</sup>	15,705±1562 <sup>b</sup>	0.218±0.003 <sup>d</sup>
FB	22.8	45.6±0.2 <sup>d</sup>	58,010±1213 <sup>b</sup>	26,350±551 <sup>a</sup>	0.454±0.009 <sup>a</sup>
MFB	29.5	58.0±0.2 <sup>b</sup>	50,320±3783 <sup>c</sup>	14,100±658 <sup>b</sup>	0.280±0.002 <sup>b</sup>
IMFB	19.5	38.2±0.2 <sup>c</sup>	96,420±20,195 <sup>a</sup>	24,802±5356 <sup>a</sup>	0.256±0.001 <sup>c</sup>

\*±0.1 mL/50 g; SW – soft wheat, M – maize, FB – field bean, MFB – maize-field bean formula, IMFB – improved maize-field bean formula, WA – water absorption,  $G'$  – storage modulus;  $G''$  – loss modulus;  $\tan \delta$  – loss tangent. <sup>a-c</sup> – different letters in columns indicate significant differences at  $\alpha=0.05$ .

an InGaAs detector and CaF<sub>2</sub> beam splitter (Thermo Scientific, Madison, WI, USA). Samples were placed in stainless cubes and illuminated by means of a Nd:YAG excitation laser operating at 1064 nm. The maximum laser power was 1 W. In a single measurement, the spectra were recorded over the range of 3500–150 cm<sup>-1</sup> and each resulting spectrum was given an average of 200 scans at 8 cm<sup>-1</sup> of resolution. The analyzed spectra were averaged over the five registered spectra. Spectral data from sample scans were baseline-corrected using OMNIC software (version 8.2, Thermo Fischer Scientific Inc., Madison, WI, USA). Amide I band (1590–1720 cm<sup>-1</sup>), the S-S region (490–540 cm<sup>-1</sup>), aromatic amino acids environment: ratio of tyrosine doublet (I(850 cm<sup>-1</sup>)/I(830 cm<sup>-1</sup>)) and tryptophan band (I(760 cm<sup>-1</sup>)) were analyzed. To eliminate the effect of starch absorbance from the S-S region, starch spectra corresponding to each type of dough were collected and subtracted from dough spectra in the region 450–550 cm<sup>-1</sup> as follows: first starch band and that of the dough sample were peak normalized at maximum starch absorbance (479 cm<sup>-1</sup>), then the normalized band of starch was subtracted from the dough sample. Here, the S-S region (490–540 cm<sup>-1</sup>) band was baseline-corrected, surface normalized, and analyzed in order to estimate the structural conformation of disulfide bridges participating in the gluten-free protein network. The second derivatives of the amide I band and the S-S region were calculated using a five-point two-degree polynomial function in order to separate the overlapping bands and to identify the constituents of protein secondary structure and disulfide bridges conformation. In undertaking this, baseline-corrected and surface-normalized amide I bands and the S-S region were deconvoluted with Gaussian curves using ORIGIN software (version 8.0724 PRO, Origin Lab Corporation, Northampton, MA, USA). Differences in spectra were also calculated in order to confirm deconvolution results. The quality of the band deconvolution was indicated by  $R^2 > 0.99$ , solution convergence, and  $\chi^2 < 0.001$ . The relative composition of amide I band secondary protein structures and types of structural conformation in the S-S region were expressed as percentage of the area of the fitted region manifested as a relative area of components centered at specific wavenumbers [Nawrocka *et al.*, 2016b]. Amide I secondary structures: aggregates (AGR), pseudo  $\beta$ -sheet (P $\beta$ -sh),  $\beta$ -sheet ( $\beta$ -sh),  $\alpha$ -helix ( $\alpha$ -hx),  $\beta$ -turn ( $\beta$ -trn), and antiparallel

$\beta$ -sheet ( $\beta$ -sh), as well as disulfide conformations: gauche-gauche-gauche (GGG), trans-gauche-gauche (TGG), and trans-gauche-trans (TGT) were assigned according to Nawrocka *et al.* [2016b] and Gómez *et al.* [2013]. To study the behavior of hydrophobic interactions inside the aromatic amino acids environment, the ratio R of the intensities of I(850 cm<sup>-1</sup>)/I(830 cm<sup>-1</sup>) characteristic of tyrosine doublet, and I – the intensity I(760 cm<sup>-1</sup>) characteristic of tryptophan band, were calculated.

### Statistical analysis

The analysis of variance ANOVA and significant differences test (Tukey HSD test) were done to find differences between the rheological behavior of tested doughs and to estimate the effect of maize-field bean dough improvement. Principal component analysis (PCA) was used to highlight the relationships between viscoelastic behavior, pasting properties, and protein structure to explain the rheological behavior of GF doughs *versus* SW dough. Both statistical tests were carried out using XLSTAT software (version 2009.1.01, Addinsoft, USA) at a confidence level of  $\alpha=0.05$ . Results were expressed as means ± standard deviations.

Correlations between rheological and structural parameters were checked by calculation of Pearson's coefficients ( $r$ ). The following interpretation was assumed:  $|r| \geq 0.8$  – very strong correlation,  $|r| \geq 0.7$  strong correlation.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Rheological proprieties

The rheological properties were determined in order to explain the structural features of the non-gluten doughs in comparison with dough made of soft wheat (control).

#### Viscoelastic behavior

Dough viscoelastic behavior was tested by ascertaining storage modulus ( $G'$ ), loss modulus ( $G''$ ), and loss tangent ( $\tan \delta$ ) as a function of frequency in the linear viscoelastic region (Figure 1). These three rheological properties show the nature of the food matrix.  $G'$  (elastic or storage modulus) relates to the material's ability to store energy elastically and  $G''$  (viscous or loss modulus) is related to the material's ability to dissipate stress through heat. Loss tangent ( $\tan \delta$ )

is the ratio of  $G''$  to  $G'$  which provides information on the relative contribution of viscous properties to elastic properties of the network [Tunick, 2011]. To compare the viscoelastic behavior of the different dough types, analysis of variance was conducted between  $G'$ ,  $G''$ , and  $\tan \delta$  at 1 Hz of frequency. The results are summarized in Table 1.

All GF doughs had higher storage modulus than SW dough ( $p < 0.05$ ). These results were similar to those of Sivaramakrishnan *et al.* [2004] who reported higher storage modulus of GF rice-based doughs when compared with standard SW dough. FB supplementation of maize flour, however, significantly reduced the storage modulus from 71,720 Pa for M dough, to 50,320 Pa for the MFB formula. Treating maize hydrothermally as in the IMFB formula resulted in a significant increase in the solid character of GF dough compared to MFB dough. As stated by Lazaridou *et al.* [2007], the strengthening of GF dough by partly gelatinized ingredients improved elasticity and decreased extensibility as compared to SW dough. Here, the elasticity of GF doughs is directly related to the level of structuralization of the dough matrix and the value of  $G'$  increases with increasing level of structuralization. Both Lazaridou *et al.* [2007], and He & Hosney [1992] showed that the presence of interactions between the proteins and other components of dough was manifested by low values of  $G'$ . This may indicate the low ability

of non-gluten proteins to interact with other dough constituents, in comparison with gluten proteins, and might explain the low elasticity characterizing GF doughs.

The results of variance analysis showed insignificant differences between the loss modulus  $G''$  of SW, M, and MFB doughs (Table 1). Field bean flour supplementation of maize did not affect the viscous behavior of maize dough. FB and IMFB formula doughs gave  $G''$  values significantly higher than that of control SW. Moreover, the hydrothermal treatment resulted in the significant increase of the viscous modulus of IMFB formula dough, and this dough behaved similarly to high-protein FB dough.

The FB dough alone had a similar value of  $\tan \delta$  to SW dough (Table 1) [Dus & Kokini, 1990]. The low value of  $\tan \delta$  registered for M dough indicates the strong contribution of the solid character in its structural formation. FB flour supplementation of M flour significantly increased the  $\tan \delta$  value, which indicates that the cereal–legume formulation is characterized by an improved GF dough viscous behavior induced by reducing the solid-state contribution during its formation. This could be explained by the decreased matrix structuralization and indicates that the FB proteins had developed weaker chemical bonds with other constituents than between themselves. The hydrothermal treatment of the part of maize flour resulted in a significant decrease of  $\tan \delta$  value of IMFB dough (1.09 times lower than that of MFB dough). Moreover, the addition of hydrothermally-treated maize flour to the GF bread recipe reduced the GF dough viscosity – as confirmed *via* the pasting characteristics of IMFB formula dough. The hydrothermally-treated maize flour may have acted as a binder of the dough matrix, improving its elastic component [Dib *et al.*, 2018].

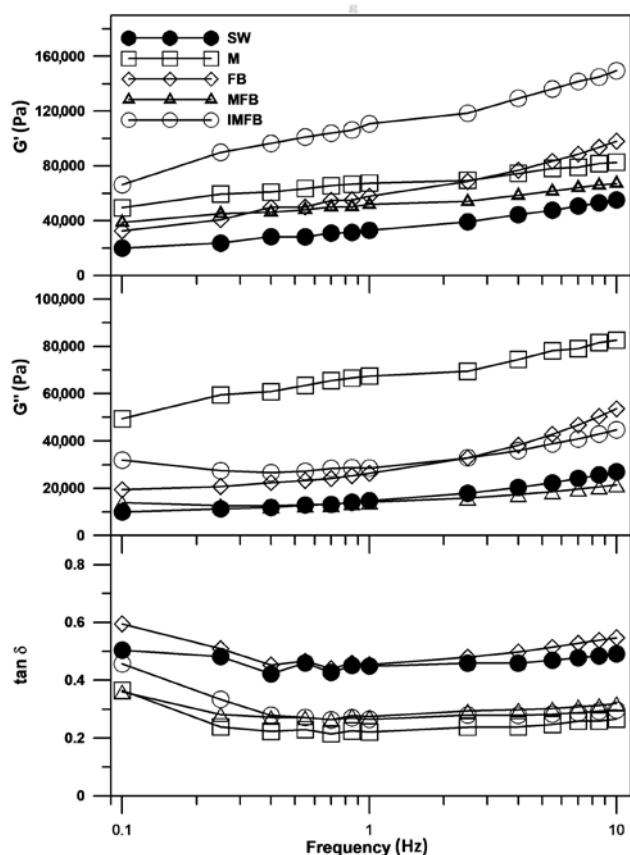


FIGURE 1. Rheological parameters ( $G'$  – storage modulus,  $G''$  – loss modulus,  $\tan \delta$  – loss tangent) of doughs of soft wheat (SW), maize (M), field bean (FB), maize-filed bean (MFB) formula and improved MFB formula (IMFB) as a function of frequency.

#### Pasting properties

During dough formation, starch acts as an inert filler in the dough's continuous protein matrix [Hrivna, 2018]. A dough rheological behavior is significantly affected by the specific properties of starch granules present on its surface [Larsson & Eliasson, 1997]. Pasting properties of the studied doughs are presented in Table 2. As indicated, GT and IV values of all the tested doughs were similar. Here, SW and M doughs had the highest values of PV and BD, followed by the MFB formula and the improved IMFB doughs. FB dough showed the lowest PV and BD, indicating the highest stability of its paste due to a high protein content and the ability to absorb and hold water during heating. Ragaee & Abdel-Aal [2006] suggested that high PV and BD values were related to the degree of starch granule swelling during heating. Here, the greater swelling capacity, the higher the PV values, hence, SW and M dough starch granules had a higher swelling capacity than the other doughs. These results are similar to the finding reported by Ragaee & Abdel-Aal [2006] who found that SW flour gave high PV and BD values as compared to whole grain meals of durum wheat, barley, and sorghum.

During cooling, the viscosities of all doughs increased to an FV (Table 2), indicating the formation of a gel structure due to re-association between starch molecules. The high SB value is an indicator of the retrogradation and reordering

TABLE 2. Pasting characteristics of wheat and gluten-free doughs.

Dough	GT (°C)	IV (mPa·s)	PV (mPa·s)	FV (mPa·s)	BD (mPa·s)	SB (mPa·s)
SW	73.5±2.2 <sup>a</sup>	14.5±0.7 <sup>a</sup>	223.5±13.4 <sup>a</sup>	333.0±12.7 <sup>b</sup>	80.0±6.1 <sup>a</sup>	186.5±6.4 <sup>a</sup>
M	74.5±0.1 <sup>a</sup>	13.5±2.1 <sup>a</sup>	213.5±14.8 <sup>a</sup>	385.5±24.7 <sup>a</sup>	31.0±2.8 <sup>b</sup>	206.5±14.8 <sup>a</sup>
FB	72.5±0.3 <sup>a</sup>	13.0±1.4 <sup>a</sup>	117.5±4.9 <sup>d</sup>	185.0±8.5 <sup>c</sup>	2.5±0.7 <sup>d</sup>	78.0±4.2 <sup>c</sup>
MFB	74.8±0.1 <sup>a</sup>	14.0±0.0 <sup>a</sup>	166.0±5.6 <sup>b</sup>	276.0±7.1 <sup>c</sup>	26.0±2.8 <sup>b</sup>	141.5±4.9 <sup>b</sup>
IMFB	74.4±0.1 <sup>a</sup>	14.0±0.1 <sup>a</sup>	146.0±2.8 <sup>c</sup>	245.0±5.6 <sup>d</sup>	18.0±0.1 <sup>c</sup>	122.0±83.0 <sup>b</sup>

SW – soft wheat, M – maize, FB – field bean, MFB – maize-field bean formula, IMFB – improved maize-field bean formula, GT – gelatinization temperature, IV – initial viscosity, PV – peak viscosity, FV – final viscosity, BD – breakdown, SB – setback. <sup>a-c</sup> – different letters in columns indicate significant differences at  $\alpha=0.05$ .

of starch molecules attributable to syneresis [Ragae & Abdel-Aal, 2006]. Accordingly, starch molecules of SW and M doughs with high SB values (186.5 and 206.5 mPa·s, respectively) induced high retrogradation rates. In contrast, FB dough with a low SB value (78.0 mPa·s) (Table 2) generated the lowest retrogradation rates due to having the lowest starch content.

Pasting properties of GF doughs were significantly affected by legume flour supplementation of maize. This brought about insignificant differences between MFB and IMFB doughs and significant differences to that of SW. Maize flour hydrothermal treatment in the IMFB dough resulted in a slight lowering of pasting parameter values compared to the MFB formula. This could be due to the alteration of the treated maize flour's pasting properties because of partial starch gelatinization resulting in bond formation between the chains of the amorphous region in starch molecules, as well as alteration of crystallinity induced by hydrothermal treatment, and thus by the starch retrogradation that occurred after cooling [Zavareze & Guerra Dias, 2011]. Similar results were found by Dib *et al.* [2018] who studied the effect of hydrothermally-treated corn flour addition on the quality of corn/field bean gluten-free pasta.

### Structure of dough proteins

#### *Secondary structure of proteins involved in dough matrix development*

Raman spectroscopic protein structure analysis was based on the following vibrational modes: amide A (NH stretching  $\sim 3500$  cm<sup>-1</sup>), amide B (NH stretching  $\sim 3100$  cm<sup>-1</sup>), and amide I to VII (I: 1600–1700 cm<sup>-1</sup>, II: 1480–1580 cm<sup>-1</sup>, III: 1230–1300 cm<sup>-1</sup>, IV: 625–770 cm<sup>-1</sup>, V: 640–800 cm<sup>-1</sup>, VI: 540–600 cm<sup>-1</sup>, VII:  $\sim 200$  cm<sup>-1</sup>) [Rygula *et al.*, 2013]. The amide I band is usually used to estimate the type and the percentage of protein secondary structure in gluten matrices [Sivam *et al.*, 2013].

Figure 2 shows the curve-fitted amide I bands (1590–1720 cm<sup>-1</sup>). Peak numbers and position used in the curve fitting of each type of dough were determined according to results indicated by the second derivative (Figure 3). Distribution of secondary structures of doughs protein, calculated by deconvolution of FT-Raman spectra of the examined

doughs is summarized in Table 3. The content of secondary structures of proteins for all doughs was evaluated by analysis of amide I differential spectra between GF and SW doughs (Figure 4) and between various gluten-free doughs (Figure 5). Here, amide I bands of maize and maize-based doughs showed a different shape in comparison with that of SW and FB doughs. This could indicate differences in the type and distribution of protein secondary structures (Figure 2). All amide I bands demonstrated a high absorbance around  $\sim 1655$  cm<sup>-1</sup>. This revealed that the secondary structure involved in the formation of the tested doughs was dominated by  $\alpha$ -helix conformation [Sivam *et al.*, 2013].

Deconvolution of the amide I band of SW dough (Figure 2A) showed that the distribution of its secondary structures quantitative was predominated by  $\alpha$ -helix (43%), followed by antiparallel  $\beta$ -sheet (18%),  $\beta$ -turn (15%),  $\beta$ -sheet (11%), pseudo  $\beta$ -sheet (6%), and finally the aggregates (7%) (Table 3). A previous study carried out by Nawrocka *et al.* [2015] uncovered differences in the secondary structure of native gluten proteins corresponding to  $\alpha$ -helices (60%) and antiparallel  $\beta$ -sheet (8%) content, as compared to the results obtained in our study where a relatively small fraction of pseudo  $\beta$ -sheet structure was found. The absence of random coil structure was also noted in this study. In contrast, Gómez *et al.* [2013] showed the participation of the random coil structure in the structuring of the native gluten backbone. The  $\alpha$ -helix structure was also predominant in this study.

The deconvolution of amide I band of maize dough (Figure 2B) revealed that its protein backbone was mainly formed by  $\alpha$ -helix (46%) at levels close to that of SW dough [Pelton, 2000]. Aggregates (21% found at 1602 cm<sup>-1</sup>) and  $\beta$ -sheets (19% at 1629 and 1639 cm<sup>-1</sup>) followed  $\alpha$ -helix in the maintaining of maize dough protein networks (Table 3). These two structures were, respectively, 3.0 and 1.7 times more abundant than in SW. Fractions of antiparallel  $\beta$ -sheet (8%), followed by  $\beta$ -turn structure (6%) were lower than in control SW dough, and pseudo  $\beta$ -sheet structures were not evident. The FT-IR spectroscopic work of Mejia *et al.* [2007] on the secondary structure of viscoelastic polymers of maize  $\alpha$ -zein and wheat gluten proteins showed that the native structure of maize  $\alpha$ -zein was mainly composed of  $\alpha$ -helices ( $\sim 68\%$ ). Similar results were reported by Matsushima *et al.* [1997].

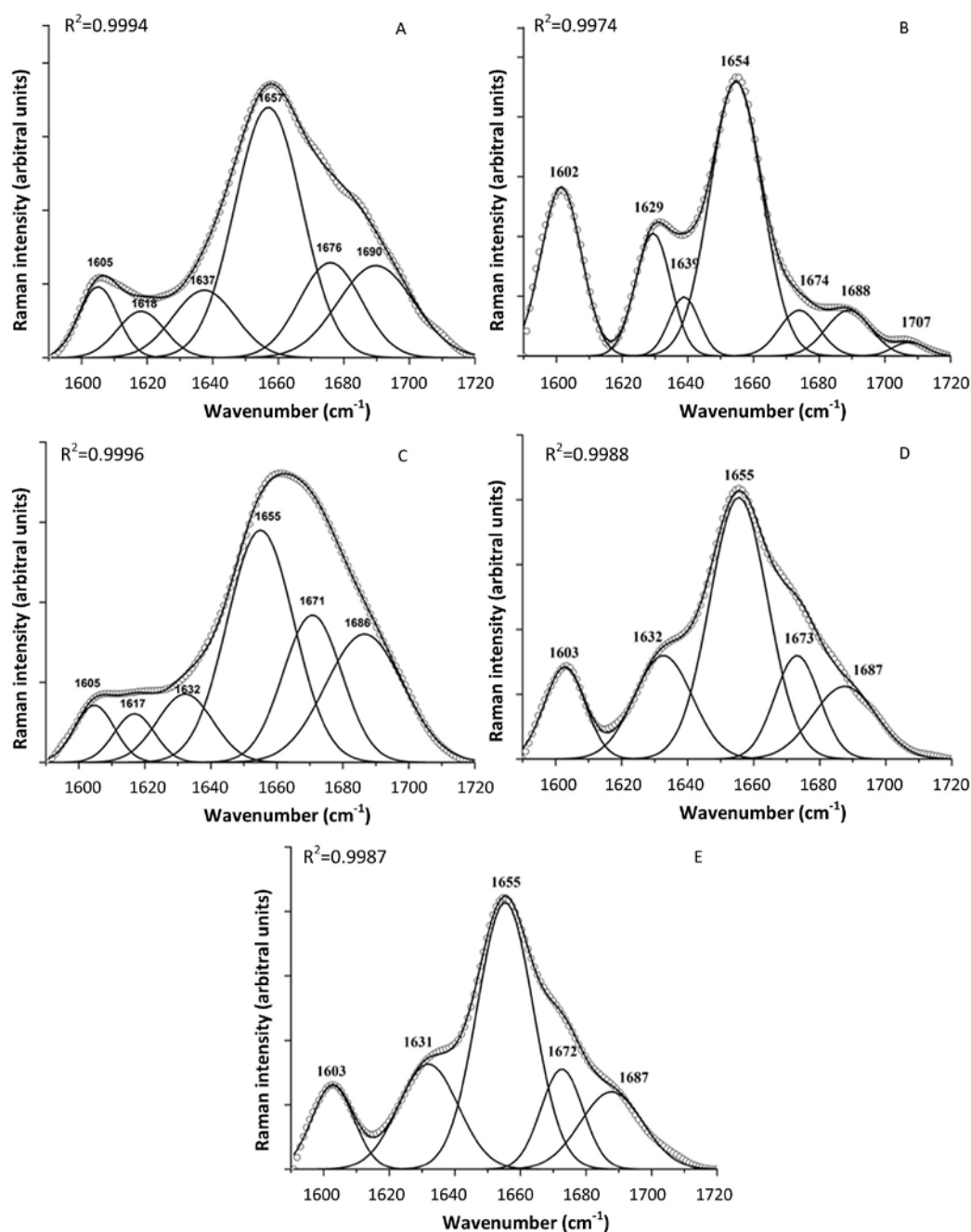


FIGURE 2. Deconvoluted Raman spectra in the area representing amide I band (1590- 1720  $\text{cm}^{-1}$ ) of doughs: (A) soft wheat, SW, (B) maize, M, (C) field bean, FB, (D) maize-filed bean, MFB, formula, (E) improved MFB formula, IMFB. Solid line – fitted curve, open circles – original data.

The secondary structure of FB dough (Figure 2C) consisted of the dominant  $\alpha$ -helix structure at 37% (1.16 times lower than that in SW dough), 24% of antiparallel  $\beta$ -sheet (at 1685  $\text{cm}^{-1}$ ), and 21% of  $\beta$ -turn (1671  $\text{cm}^{-1}$ ) (1.33 and 1.4 times higher than in SW control dough). Although an increase was observed in the case of FB antiparallel  $\beta$ -sheet, no statistical differences were found between FB and SW. Amounts of aggregates (5%), pseudo  $\beta$ -sheet (4%), and  $\beta$ -sheet (9%) were close to that of the control dough (Table 3). FT-IR spectroscopy of field bean dough showed the dominance of the  $\alpha$ -helix structure (45%) in the formation of its protein network [Fetouhi *et al.*, 2019].

The deconvolution of the amide I band of MFB dough (Figure 2D) indicated that the replacement of 1/3 of the M flour with FB led to a decrease in the aggregate fraction from 21 to 11%. Furthermore, antiparallel  $\beta$ -sheet (1687  $\text{cm}^{-1}$ ) and  $\beta$ -turn (1673  $\text{cm}^{-1}$ ) content increased, respectively, from 8 to 13% and from 6 to 14% as compared with M dough (Table 3). SW dough showed lower values of  $\beta$ -sheet than MBF and IMBF but comparable amounts of  $\beta$ -turn. Similar values of  $\alpha$ -helix and  $\beta$ -sheet and pseudo  $\beta$ -sheet fractions were found in M, MBF, and IMBF doughs which differed significantly from FB and SW dough. Thus, the effect of maize structural composition seems to be important in this analysis.

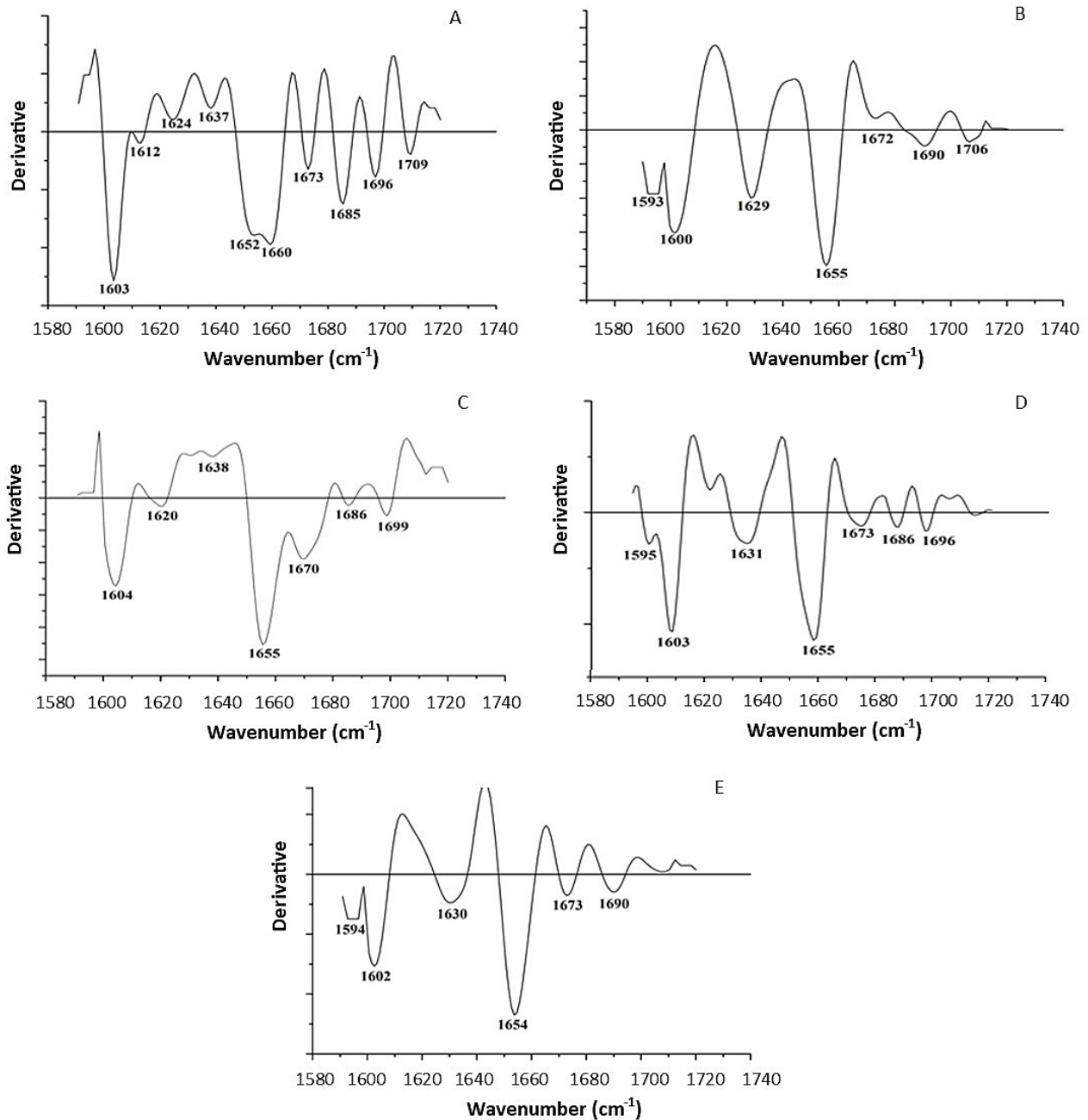


FIGURE 3. Second derivative of Raman spectra of doughs in amide I region: 1720–1590  $\text{cm}^{-1}$ : (A) soft wheat, SW, (B) maize, M, (C) field bean, FB, (D) maize-filed bean, MFB, formula, and (E) improved MFB formula, IMFB, dough.

By comparing the curve fitting results of the IMFB dough amide I band (Figure 2E) with the formula without improve and with SW, it is noticeable that the incorporation of hydrothermally-treated maize flour in the GF bread formula caused a slight increase in the amount of antiparallel  $\beta$ -sheet structure ( $1687 \text{ cm}^{-1}$ ) from 13 to 15% (no statistical differences) and a slight decrease in the content of  $\beta$ -turn ( $12\%$ – $1672 \text{ cm}^{-1}$ ) approaching SW dough. No significant changes were noted for aggregates,  $\beta$ -sheet, and  $\alpha$ -helix (Table 3). This effect was comparable to that of SW dough, but lower than that for M dough. The addition of hydrothermally-treated maize flour had no effect on the type of the secondary structure of dough.

#### Aromatic amino-acids chains

The behavior of the side groups is often used in conformational studies of proteins. In addition to cysteine, tyrosine and tryptophan residues were also involved in maintaining the dough protein backbone [Wieser, 2007].

The R ratio of the doublet intensity of tyrosine is a direct measure of the negative charge state of phenolic oxygen and that of the tyrosine environment. Overman *et al.* [1994] suggested that R was sensitive to the hydrogen bonding state of a phenoxyl tyrosine mixture. This can be interpreted as follows: if  $R=0.30$ , the OH proton functions as donor of a strong hydrogen bond; at  $R=2.5$ , the OH oxygen functions as an

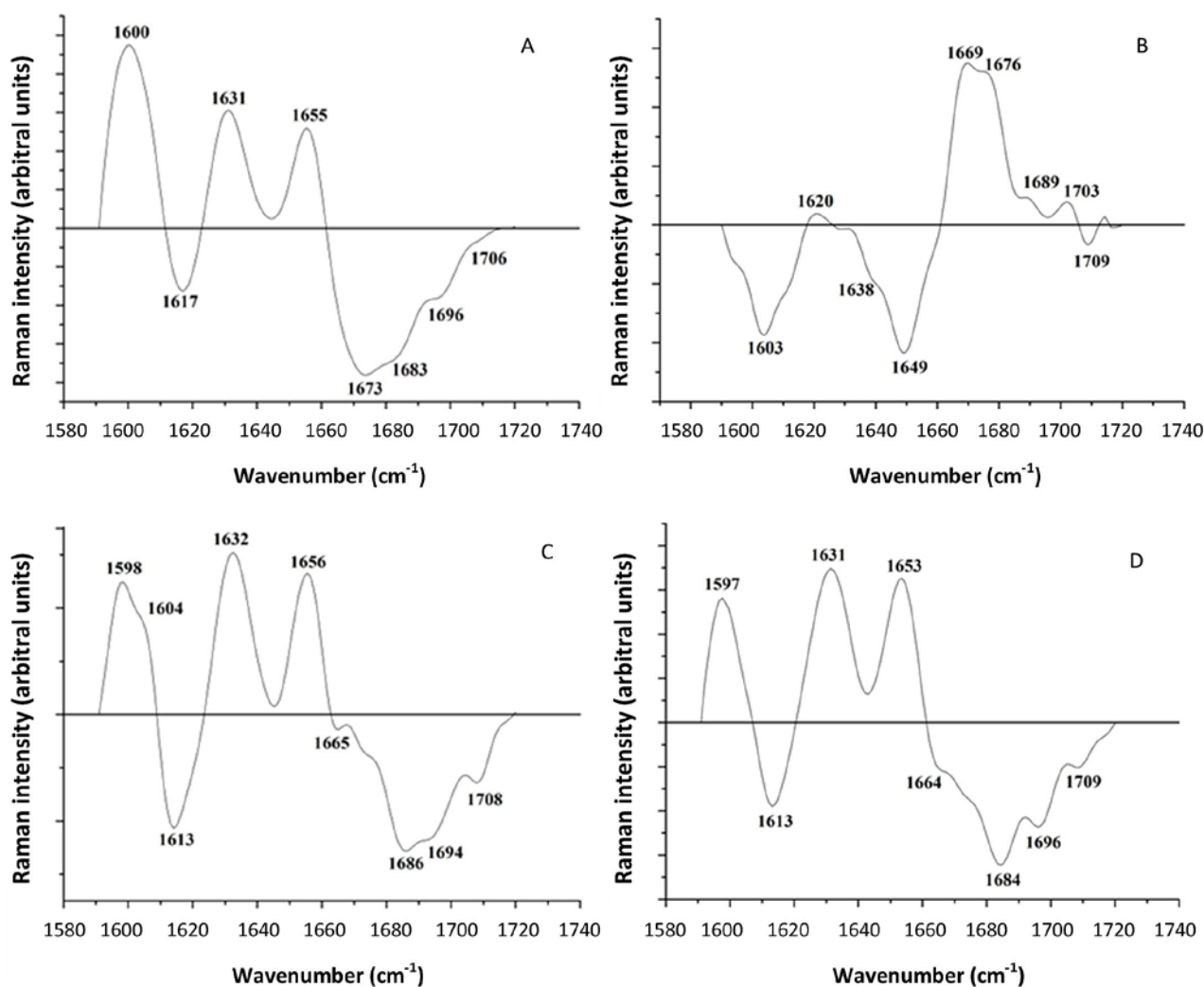


FIGURE 4. Raman differential spectra in amide I region between (A) maize, M; (B) field bean, FB; (C) maize-field bean, MFB, formula; and (D) improved MFB formula, IMFB, doughs and soft wheat, SW, dough.

acceptor of a strong hydrogen bond, while  $R=1.25$  if the OH group functions as a donor and an acceptor, as for solvent-exposed tyrosine. Herrero [2008] demonstrated that the tyrosine residue OH group behaved as an acceptor in a strong H-bond when  $R$  was higher than 2.5 and as H-bond donor when  $R$  was lower than 0.3. The  $R$  value is also a good indicator of the location of the tyrosyl group exposed or buried within the protein structure [Ferrer *et al.*, 2011]. When the intensity  $I$  at  $850\text{ cm}^{-1}$  is higher than that at  $830\text{ cm}^{-1}$ , tyrosyl residues are exposed and act as a positive charge, facilitating local repulsion between protein molecules and inducing a change in the tertiary protein structure. If  $I$  at  $850\text{ cm}^{-1}$  is smaller than that  $830\text{ cm}^{-1}$ , this indicates that the tyrosyl groups are buried in the protein backbone and that these groups participate in protein folding by inter- and intra-molecular hydrogen bonds [Wang *et al.*, 2017; Herrero, 2008].

The ratio of  $I(850\text{ cm}^{-1})/I(830\text{ cm}^{-1})$  values ( $R$ ) calculated for the tested doughs (Table 3) was  $\geq 2.5$  for SW (3.41), M (2.79), and IMFB formula (2.52) doughs. In the case of MFB dough, the ratio approximated 2.5. Only FB dough had an  $R$  ratio between 2.5 and 0.3 (2.37). These results

indicate that for all dough types, the tyrosyl residues were exposed and acted as a positive charge facilitating local repulsion between the protein molecules responsible for tertiary protein structure changes. The SW sample showed the highest  $R$  value in this study ( $R \geq 2.5$ ), indicating that tyrosyl residues in wheat dough behave as an exposed acceptor in a strong H-bond. This value was higher than those reported by Nawrocka *et al.* [2016b] and Ferrer *et al.* [2011] for gluten proteins (0.88 and 1.29, respectively). This difference could be due to the different character of molecular interactions triggered by the presence of various amounts of protein in raw materials applied in GF dough formulations that favor the exposition of tyrosine residues at protein structure surfaces.

All gluten-free doughs demonstrated lower  $R$  ratio values than the SW dough. The highest value was observed for maize dough, while the lowest one for field bean dough (Table 3). These results indicate that the tyrosine OH groups of gluten-free doughs, except for the protein-rich field bean doughs, behaved as acceptors in a strong H-bond. At the same time, the OH groups of tyrosine residues in field bean dough behaved as both proton donors and acceptors.



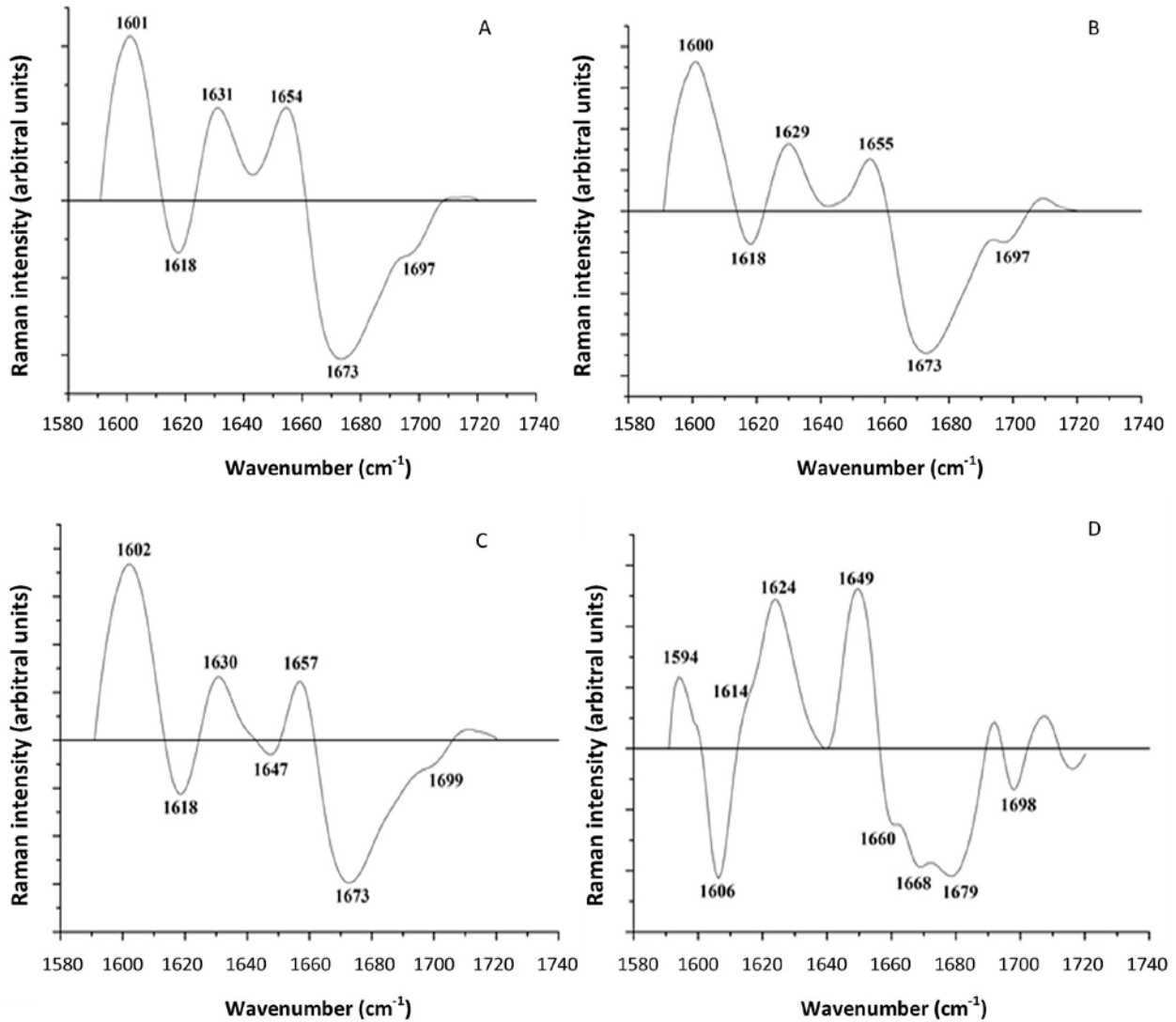


FIGURE 5. Raman differential spectra in amide I region between maize M and the following preparations: (A) field bean, FB; (B) maize-field bean, MFB; and (C) improved MFB formula, IMFB; (D) shows the differential spectrum between amide I region of IMFB and MFB doughs.

TABLE 3. Distribution of secondary structures of doughs protein calculated by deconvolution of FT-Raman spectra in the amide I region and aromatic amino acids (tyrosine and tryptophan) structure of doughs. Values calculated on the basis of 5 averaged spectra consisting of 200 scans. The quality of band deconvolution was indicated by  $R^2 > 0.99$ , solution convergence and  $\chi^2$  were  $< 0.001$ .

Sample	AGR (%)	P $\beta$ -sh (%)	$\beta$ -sh (%)	$\alpha$ -hx (%)	$\beta$ -trn (%)	A $\beta$ -sh (%)	R I(850)/I(830)	I (760)
SW	7 <sup>b</sup>	6 <sup>a</sup>	11 <sup>b</sup>	43 <sup>b</sup>	15 <sup>b</sup>	18 <sup>ab</sup>	3.41 <sup>a</sup>	0.37 <sup>b</sup>
M	21 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	19 <sup>a</sup>	46 <sup>a</sup>	6 <sup>c</sup>	8 <sup>c</sup>	2.79 <sup>b</sup>	0.44 <sup>ab</sup>
FB	5 <sup>c</sup>	4 <sup>a</sup>	9 <sup>c</sup>	37 <sup>c</sup>	21 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>	2.37 <sup>c</sup>	0.60 <sup>a</sup>
MFB	11 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	17 <sup>a</sup>	45 <sup>ab</sup>	14 <sup>b</sup>	13 <sup>bc</sup>	2.46 <sup>c</sup>	0.60 <sup>a</sup>
IMFB	10 <sup>bc</sup>	0 <sup>b</sup>	19 <sup>a</sup>	44 <sup>b</sup>	12 <sup>b</sup>	15 <sup>b</sup>	2.52 <sup>bc</sup>	0.60 <sup>a</sup>

SW – soft wheat, M – maize, FB – field bean, MFB – maize-field bean formula, IMFB – improved maize-field bean formula, AGR – aggregates, P $\beta$ -sh – pseudo  $\beta$ -sheet,  $\beta$ -sh –  $\beta$ -sheet,  $\alpha$ -hx –  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -trn –  $\beta$ -turn, A $\beta$ -sh – antiparallel  $\beta$ -sheet. Deconvolution granted accuracy higher than  $\pm 1\%$ , R – ratio of the doublet intensity of tyrosine, I – spectrum intensity characteristic of the tryptophan band. Ratios are taken from a spectrum resulting from an average of 5 spectra containing 200 scans at 8 cm<sup>-1</sup> of resolution. <sup>a-c</sup> – different letters in column indicate significant differences at  $\alpha = 0.05$ .

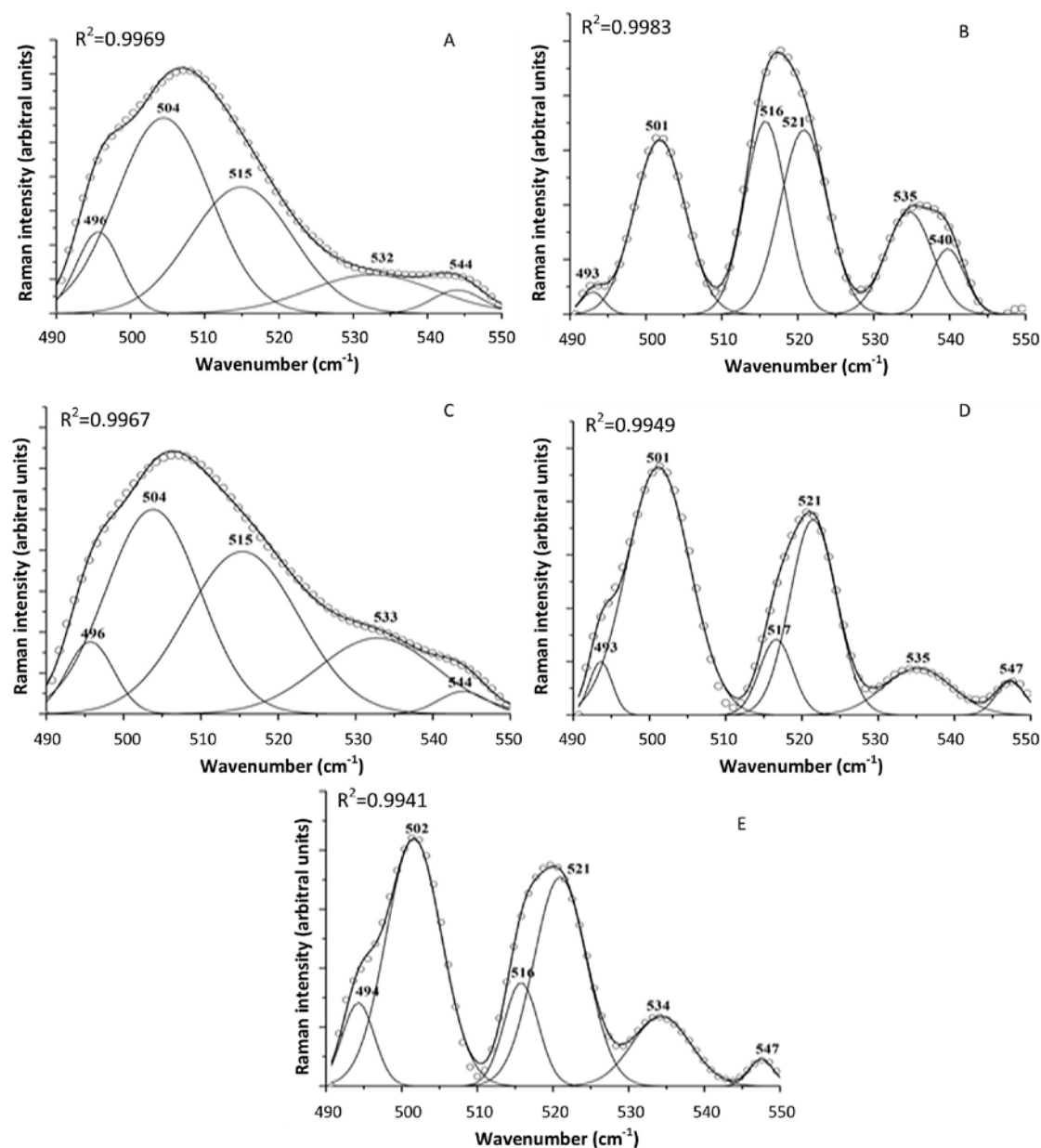


FIGURE 6. Deconvoluted Raman spectra in the area representing S-S region of doughs (490–550  $\text{cm}^{-1}$ ): (A) soft wheat, SW dough, (B) maize, M dough, (C) field bean, FB dough, (D) maize-filed bean formula, MFB dough, and (E) maize-filed bean improved formula, IMFB dough. Solid line – fitted curve, open circles – original data.

The tryptophan band with the maximum at  $760\text{ cm}^{-1}$  is used to indicate the strength of H-bonding and the hydrophobicity of indole ring environments [Linlaud *et al.*, 2011]. The increase in its intensity indicates the ‘buriedness’ of tryptophan residues inside protein molecules, whereas the decrease shows the release of these residues from the hydrophobic zone and their contribution in the formation of disordered protein structures [Nawrocka *et al.*, 2015].

We found that the tryptophan band I(760) intensity shown by the SW dough (0.37) was higher compared to the gluten protein (0.087 or 0.167) presented by Nawrocka *et al.* [2015, 2016a]. FB, MFB, and IMFB formula doughs had similar I(760) intensities (0.60) (Table 3), which were significantly higher ( $p < 0.05$ ) than that of SW by 1.62 times and insignificantly higher ( $p \geq 0.05$ ) than that of M dough (0.44)

by 1.36 times. This difference indicates that supplementing maize flour with field bean and the hydrothermal treatment of part of the maize flour in GF bread dough increased tryptophan residue buriedness inside the protein backbone.

#### Disulfide bridges conformation

In bread-dough-making, disulfide bridges participate in the formation and development of the protein network, especially the tertiary structure [Wieser, 2007]. Gómez *et al.* [2013] and Ferrer *et al.* [2011] stated that the S-S bridge conformation played a major role in the functional properties of gluten dough. Thus, we analyzed the disulfide bridge region in GF doughs and compared them with that of SW dough. Disulfide bridge conformation distribution is shown in Table 4, while Figure 6 reveals the deconvoluted S-S dough regions.

TABLE 4. Distribution of disulfide bridge conformations of the tested doughs with positions of band maxima (in  $\text{cm}^{-1}$ ) in brackets. Values calculated on the basis of 5 averaged spectra consisting of 200 scans. The quality of band deconvolution was indicated by  $R^2 > 0.99$ , solution convergence and  $\chi^2$  was  $< 0.001$ .

Dough	GGG(%)	TGG(%)	TGT(%)
SW	51 <sup>a</sup> (496-504)	35 <sup>b</sup> (515)	14 <sup>b</sup> (532-544)
M	28 <sup>c</sup> (493-501)	51 <sup>a</sup> (516-521)	21 <sup>a</sup> (535-540)
FB	41 <sup>b</sup> (496-504)	36 <sup>b</sup> (515)	20 <sup>a</sup> (532-543)
MFB	51 <sup>a</sup> (493-501)	36 <sup>b</sup> (517-521)	13 <sup>b</sup> (535-547)
IMFB	45 <sup>ab</sup> (494-502)	41 <sup>ab</sup> (516-521)	14 <sup>b</sup> (534-547)

SW – soft wheat, M – maize, FB – field bean, MFB – maize-field bean formula, IMFB – improved maize-field bean formula, GGG – gauche-gauche-gauche, TGG – trans-gauche-gauche, TGT – trans-gauche-trans. <sup>a-c</sup> – different letters in column indicate significant differences at  $\alpha=0.05$ .

The analysis of the S-S bond conformation of the control SW dough showed the predominance of the GGG conformation (51%), followed by TGG (35%) (Table 4). Nawrocka *et al.* [2015] made the same observation and demonstrated the predominance of these two types of conformations in the formation of a gluten network. Moreover, Gómez *et al.* [2013] analyzed the effect of fiber addition on gluten quality and demonstrated that the S-S bridge structure of the gluten network was predominated by GGG and TGT structures and lacked TGG conformation. The predominance of the GGG conformation indicates that the SW dough protein network is more structurally stable [Nawrocka *et al.*, 2016b].

When comparing the gluten-free doughs with the control, we noted that only the M dough differed significantly in the percentage distribution of the S-S bridge conformations and that it was characterized by a predominance of the TGG conformation (1.5 times higher than of SW). However, a small amount of GGG fraction (1.8 times lower than of SW) and TGT (1.5 times higher than of SW) conformations was observed as well. Nawrocka *et al.* [2016b] believed those results indicate that the maize dough protein network is characterized by less stable disulfide bridges. Moreover, the lower protein content in maize could explain the fragility of the M dough protein network when compared to SW dough.

The other types of doughs showed disulfide bridge conformation distribution close in type to SW dough, which was characterized by a predominance of the GGG conformation, followed by TGG, then TGT – but with different fraction ratios.

The quantitative distribution of the three types of conformations in FB dough was similar to SW control dough. When comparing distribution percentages of the three forms of S-S bridges, we observed that the fractions of TGG (36%) were similar while TGT (20%) conformations were higher than that of the control, but the GGG conformations (41%) were lower (Table 4). These results suggest that during FB dough protein network development, the formation of the GGT and TGT conformations was in detriment of GGG conformation, which, in turn, could explain the less stable structure of the field bean dough (beyond its greater protein content).

The conformation of MFB dough S-S bridges was closer to that obtained for the SW control: GGG (51 close to 53%), TGG (36 close to 35%), and TGT (13 close to 14%), respectively (Table 4). Therefore, the substitution of maize flour with field bean improved the S-S bridges distribution, and promoted the formation of more stable structures. The addition of hydrothermally-treated maize flour to the IMFB dough only slightly affected the distribution of disulfide bridge conformation.

### Relationship between structural properties and rheological behavior of gluten-free bread doughs

The poor quality of the GF dough and its low rheological behavior could be due to the structural mechanisms of non-gluten protein network dough development. Thus, using PCA, we studied the relationships between the rheological parameters, the types of secondary structures, aromatic amino-acid environment properties, and disulfide bridge conformations.

PCA clearly resolved data into four principal components, which explained 49.21 (PC1), 30.31 (PC2), 15.75 (PC3), and 4.72% (PC4) of the variation. The results obtained for components PC1 and PC2 were retained because they accounted for 79.52% of the total variance. PC scores and loadings of PC1 against PC2 are shown in Figure 7. The correlation matrix between rheological and structural parameters of the tested doughs is presented in Table 5.

The predominance of the first principal component (PC1) was defined by the  $\beta$ -turn content because this parameter showed a high correlation with this factor ( $r=0.970$ ) and divided the plane vertically (Figure 7). The second principal component (PC2) was defined by the BD parameter ( $r=0.923$ ) and divided the plane horizontally. As seen in the PCA scores (Figure 7A), PC1 shows a great variability. Being on the positive side of PC1, FB and IMFB doughs were seen to have similar properties to those of SW. This indicates that they had similar properties dependent on  $\beta$ -turn content. Moreover, the application of hydrothermally-treated maize flour in the IMFB formula affected  $\beta$ -turn structure content. Regarding the PC2 axis as defined by BD, all gluten-free doughs were located in the negative side, hence demonstrating that the differences in the rheological behavior between SW and GF doughs were highly related to the pasting properties (BD) rather than to the viscoelastic properties as indicated by  $G'$  and  $G''$ .

WA was considered as a mixing parameter and a factor that affected dough structure during its formation. It was strongly positively correlated with AGR ( $r=0.846$ ) and strongly negatively correlated with A $\beta$ -sheet content ( $r=-0.721$ ) (Table 5). This indicates that the high water absorption of GF dough promotes the formation of aggregates to the detriment of A $\beta$ -sheet fabrication. This suggestion is confirmed by the strong negative correlation between AGR and A $\beta$ -sheet content. Here, a strong negative correlation was found between WA and AGR amount, indicating that differences do exist between mechanisms of gluten and non-gluten protein network development.

The storage modulus  $G'$  was influenced only by P $\beta$ -sheet amount ( $r=-0.712$ ). This indicates that the stiff and rigid skeleton of non-gluten doughs is due to the low capacity of GF doughs to form this kind of the secondary structure during matrix development.

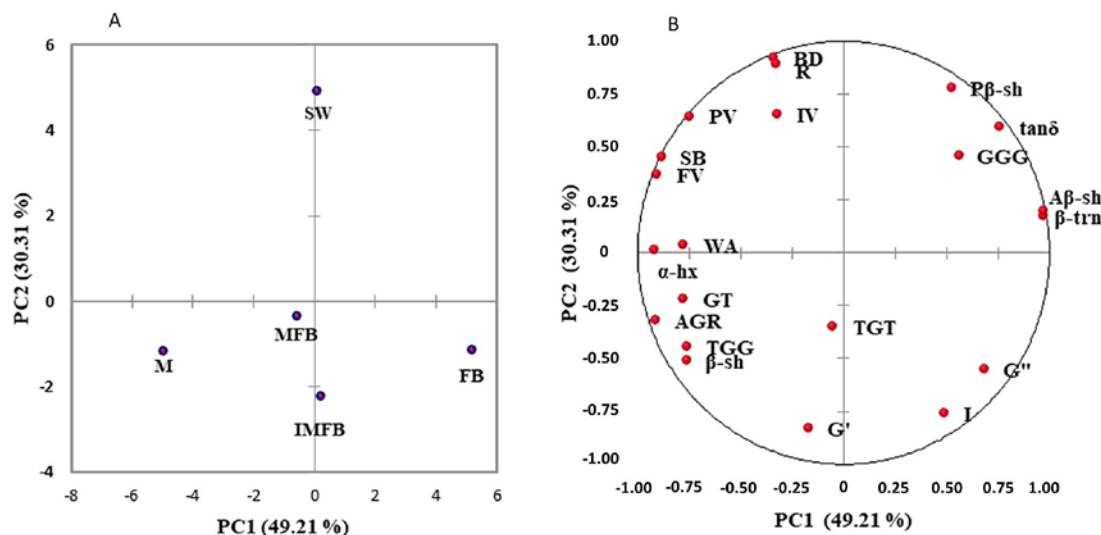


FIGURE 7. Principal component analysis (PCA) of rheological (A) and structural (B) characteristics of the tested doughs: soft wheat, SW; maize, M; field bean, FB; maize-filed bean formula, MFB; maize-filed bean improved formula, IMFB. WA – water absorption, G' – storage modulus; G'' – loss modulus; tan  $\delta$  – loss tangent, GT – gelatinization temperature, IV – initial viscosity, PV – peak viscosity, FV – final viscosity, BD – breakdown, SB – setback, AGR – aggregates, P $\beta$ -sh – pseudo  $\beta$ -sheet,  $\beta$ -sh –  $\beta$ -sheet,  $\alpha$ -hx –  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -trn –  $\beta$ -turn, A $\beta$ -sh – antiparallel  $\beta$ -sheet, GGG – gauche-gauche-gauche, TGG – trans-gauche-gauche, TGT – trans-gauche-trans, R – ratio of the doublet intensity of tyrosine, and I – spectrum intensity characteristic of the tryptophan band.

Tan  $\delta$  was strongly and positively correlated with the amounts of P $\beta$ -sheet ( $r=0.947$ ), A $\beta$ -sheet ( $r=0.885$ ), and  $\beta$ -turn ( $r=0.837$ ), while a strong negative correlation was observed between AGR ( $r=-0.817$ ),  $\beta$ -sheet ( $r=-0.983$ ), and  $\alpha$ -helix ( $r=-0.794$ ) content (Table 5). Fetouhi *et al.* [2019] observed similar correlations between tan  $\delta$  and the amounts of  $\beta$ -turn,  $\beta$ -sheet, and  $\alpha$ -helix for GF doughs based on a rice-field bean formula. They explained that these results were due to the great tendency of gluten-free ingredients to form  $\alpha$ -helix and  $\beta$ -sheet structures, hence strongly promoting protein structuralization. This is in direct relationship with low values of tan  $\delta$  and the high inflexibility and rigidness displayed during gluten-free dough formation. In our study, low tan  $\delta$  values of GF doughs could have occurred due to the low capacity of non-gluten proteins to form P $\beta$ -sheet structures (positive correlation) where these types of structures may participate in the formation of  $\beta$ -sheet structuring (negative correlation). The positive correlation between tan  $\delta$  and A $\beta$ -sheet ( $r=0.885$ ) and  $\beta$ -turn content ( $r=0.837$ ) and the strong negative correlation between A $\beta$ -sheet and  $\alpha$ -helix ( $r=-0.940$ ) content demonstrate that the mechanism of non-gluten protein network formation is based on the formation of  $\beta$ -sheet and  $\alpha$ -helix structures, hence, not only to the detriment of  $\beta$ -turn, but also at the expense of the A $\beta$ -sheet structure.

We noted the effect of the disulfide bridge conformational changes on the rheological behavior of gluten. According to the PCA score (Figure 7B) and correlation matrix (Table 5), the correlation between GGG and TGG ( $r=-0.946$ ) and TGT ( $r=-0.818$ ) content was strongly negative. This indicates the more intense participation of TGG and TGT disulfide bridges in the formation of the non-gluten protein matrix rather than the GGG conformation that was noted in the case of gluten proteins [Nawrocka *et al.*, 2015].

No direct relationship between the S-S bridges conformation and rheological behavior of GF doughs was observed based on the PCA plot (Figure 7B) or correlation matrix. We presume that disulfide bridge conformation indirectly participated in the rheological behavior because this affected the type of secondary structure forming the non-gluten protein matrix. The strong positive correlation observed between TGG content and AGR ( $r=0.924$ ) was accompanied by a negative correlation with A $\beta$ -sheet ( $r=-0.751$ ) and  $\beta$ -turn ( $r=-0.852$ ). GGG conformation was also negatively correlated with AGR structure content ( $r=-0.813$ ) (Table 5). All these results indicate the low tendency of non-gluten proteins to form  $\beta$ -turn and A $\beta$ -sheet structures, and the high capacity of these types of proteins to form the AGR structures that are promoted by the high participation of the TGG disulfide bridges conformation that is characteristic for non-gluten dough matrices. This effect could explain the indirect participation of the S-S bridges conformation in the low viscoelastic behavior of gluten-free doughs. By analyzing analogous relationships, Nawrocka *et al.* [2015] formulated similar suggestions as obtained in our work, where the increase in the number of TGG and TGT conformations and a decrease in GGG conformation promoted the aggregation and folding of gluten proteins.

The effects of the structural aspect of non-gluten proteins on the pasting properties of GF doughs are presented in Figure 7B and Table 5. PCA analysis showed a high positive correlation between GT and  $\beta$ -sheet ( $r=0.913$ ) and  $\alpha$ -helix ( $r=0.940$ ) values, and a negative relation with A $\beta$ -sheet ( $r=-0.882$ ) content. PV value was also negatively correlated with the tryptophan content as indicated by I(760  $\text{cm}^{-1}$ ) standards. This indicates that the PV value may be affected by the degree of buriedness of tryptophan residues. However, the BD parameter was positively correlated with

TABLE 5. Correlation matrix (Pearsons' coefficients  $r$ ) between mixing parameter, pasting properties, viscoelastic characteristics and structure fractions of proteins of the tested doughs.

Variables	WA	G'	G''	tan $\delta$	GT	IV	PV	FV	BD	SB	AGR	P $\beta$ -sh	$\beta$ -sh	$\alpha$ -hx	$\beta$ -trn	A $\beta$ -sh	GGG	TGG	TGT	R
G'	-0.173																			
G''	-0.676	0.559																		
tan $\delta$	-0.444	-0.658	0.228																	
GT	0.375	0.333	-0.545	<b>-0.875</b>																
IV	-0.122	-0.288	-0.568	-0.030	0.458															
PV	0.646	-0.403	<b>-0.828</b>	-0.151	0.367	0.594														
FV	<b>0.806</b>	-0.178	-0.795	-0.417	0.518	0.416	<b>0.947</b>													
BD	0.190	-0.618	-0.679	0.269	0.096	<b>0.804</b>	<b>0.848</b>	0.637												
SB	<i>0.749</i>	-0.227	<b>-0.816</b>	-0.364	0.510	0.504	<b>0.973</b>	<b>0.994</b>	0.711											
AGR	<b>0.846</b>	0.346	-0.451	<b>-0.817</b>	0.651	-0.085	0.508	<i>0.757</i>	-0.016	0.691										
P $\beta$ -sh	-0.283	<i>-0.712</i>	0.037	<b>0.947</b>	<i>-0.780</i>	0.155	0.154	-0.126	0.530	-0.066	-0.658									
$\beta$ -sh	0.351	0.662	-0.242	<b>-0.983</b>	<b>0.913</b>	0.187	0.203	0.434	-0.159	0.398	0.759	<b>-0.905</b>								
$\alpha$ -hx	0.536	0.194	-0.692	<i>-0.794</i>	<b>0.940</b>	0.558	0.652	<i>0.769</i>	0.359	<i>0.767</i>	<i>0.744</i>	-0.600	<b>0.844</b>							
$\beta$ -trn	-0.681	-0.394	0.487	<b>0.837</b>	<i>-0.772</i>	-0.235	-0.625	<b>-0.819</b>	-0.195	<i>-0.783</i>	<b>-0.930</b>	0.621	<b>-0.847</b>	<b>-0.888</b>						
A $\beta$ -sh	<i>-0.721</i>	-0.300	0.611	<b>0.885</b>	<b>-0.882</b>	-0.251	-0.580	<i>-0.782</i>	-0.146	<i>-0.745</i>	<b>-0.922</b>	<i>0.714</i>	<b>-0.879</b>	<b>-0.940</b>	<b>0.958</b>					
GGG	-0.687	-0.449	-0.021	0.516	-0.133	0.526	-0.219	-0.470	0.269	-0.383	<b>-0.813</b>	0.413	-0.419	-0.248	0.650	0.534				
TGG	0.693	0.545	-0.122	<i>-0.728</i>	0.423	-0.275	0.347	0.608	-0.158	0.532	<b>0.924</b>	-0.582	0.670	0.529	<b>-0.852</b>	<i>-0.751</i>	<b>-0.946</b>			
TGT	0.485	0.154	0.268	0.002	-0.416	<b>-0.823</b>	-0.068	0.097	-0.390	0.012	0.389	0.000	-0.141	-0.318	-0.112	-0.002	<b>-0.818</b>	0.587		
R	0.221	-0.554	-0.563	0.314	-0.039	0.676	<b>0.851</b>	0.653	<b>0.970</b>	<i>0.717</i>	0.022	0.596	-0.215	0.267	-0.213	-0.102	0.106	-0.040	-0.193	
I	-0.499	0.497	0.602	-0.186	0.028	-0.452	<b>-0.914</b>	<i>-0.798</i>	<b>-0.865</b>	<b>-0.829</b>	-0.280	-0.484	0.136	-0.310	0.377	0.255	0.211	-0.235	-0.111	<b>-0.940</b>

WA – water absorption, G' – storage modulus; G'' – loss modulus; tan  $\delta$  – loss tangent, GT – gelatinization temperature, IV – initial viscosity, PV – peak viscosity, FV – final viscosity, BD – breakdown, SB – setback, AGR – aggregates, P $\beta$ -sh – pseudo  $\beta$ -sheet,  $\beta$ -sh –  $\beta$ -sheet,  $\alpha$ -hx –  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -trn –  $\beta$ -turn, A $\beta$ -sh – antiparallel  $\beta$ -sheet, GGG – gauche-gauche-gauche, TGG – trans-gauche-gauche, TGT – trans-gauche-trans, R – ratio of the doublet intensity of tyrosine, I – spectrum intensity characteristic of the tryptophan band. In bold: very strong correlations  $r \geq 0.8$ ; in Italics: strong correlations  $r \geq 0.7$ .

the R ratio ( $r=0.970$ ), indicating the effect of tyrosyl residues on the swelling capacity of starch granules during heating and the distribution of starch granules in the protein matrix. This relationship suggests that if more tyrosyl residues are exposed, the swelling capacity of starch granules increases.

## CONCLUSIONS

This study contributed to understanding the development mechanism of gluten-free GF doughs by examining protein structural features. The solid behavior that characterized GF dough was due to the absence of P $\beta$ -sheet secondary structure. We demonstrated that the protein network of gluten-free MFB dough matrix was principally developed by the production of  $\beta$ -sheet and  $\alpha$ -helix structures. At the same time, a decrease of  $\beta$ -turn and A $\beta$ -sheet secondary structures was observed, greatly affecting the viscoelastic behaviour of the examined doughs. PCA also showed that the water absorption of the starch granules increased when more tyrosyl residues were exposed. Moreover, we noted that the TGG disulfide bridge conformation strongly participated

in GF protein network development and promoted the high structuralization that contributed to the low bread-making quality of GF components. In addition, strong correlations were observed between pasting properties and structural composition of the tested GF doughs as compared to gluten SW dough. Finally, an improved IMFB formula with the addition of a fraction of hydrothermally-treated maize flour showed relatively good structural properties as compared to other doughs tested.

## CONFLICT OF INTEREST

Authors declare no conflict of interest.

## ORCID IDs

A. Nawrocka <https://orcid.org/0000-0001-8618-2092>  
A. Sujak <https://orcid.org/0000-0001-5616-3827>  
M. Szymańska-Chargot <https://orcid.org/0000-0002-2251-4307>  
M. Tomczyńska-Mleko <https://orcid.org/0000-0002-6870-1060>  
A. Wójtowicz <https://orcid.org/0000-0001-5981-6109>

## REFERENCES

1. AACC. (1995). Approved Method of the AACC. 9th Edition, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, USA.
2. AOAC. (2000). Official Methods of Analysis. 17th Edition, The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, USA.
3. Barak, S., Deepak, M., Khatkar, B.S. (2014). Influence of gliadin and glutenin fractions on rheological, pasting, and textural properties of dough. *International Journal of Food Properties*, 17(7), 1428–1438.  
<https://doi.org/10.1080/10942912.2012.717154>
4. Belton, P.S. (1999). Mini review: On the elasticity of wheat gluten. *Journal of Cereal Science*, 29(2), 103–107.  
<https://doi.org/10.1006/jcfs.1998.0227>
5. Benatallah, L., Zidoune, M.N., Michon, C. (2012). Optimization of HPMC and water addition for a gluten-free formula with rice and field bean based on rheological properties of doughs. *International Review of Chemical Engineering*, 4(5), 1755–2035.  
<https://doi.org/10.3390/foods8050156>
6. Bourekoua, H., Benatallah, L., Zidoune, M.N., Rosell, C.M. (2016). Developing gluten free bakery improvers by hydrothermal treatment of rice and corn flours. *LWT – Food Science and Technology*, 73, 342–350.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.032>
7. Dib, A., Wójtowicz, A., Benatallah, L., Bouasla, A., Zidoune, M.N. (2018). Effect of hydrothermal treated corn flour addition on the quality of corn-field bean gluten-free pasta. *Contemporary Research Trends in Agricultural Engineering* 10, 1–9.  
<https://doi.org/10.1051/bioconf/20181002003>
8. Dus, S.J., Kokini, J.L. (1990). Prediction of the nonlinear viscoelastic properties of hard wheat flour dough using the Bird–Carreau constitutive model. *Journal of Rheology*, 34(7), 1069–1084.  
<http://dx.doi.org/10.1122/1.550110>
9. Ferrer, E.G., Gómez, E.G., Anon, M.C., Puppo, M.C. (2011). Structural changes in gluten protein structure after addition of emulsifier. A Raman spectroscopy study. *Spectrochimica Acta*, A79(1), 278–281.  
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.02.022>
10. Fetouhi, A., Benatallah, L., Nawrocka, A., Szymańska-Chargot, M., Bouasla, A., Tomczyńska-Mleko, M., Zidoune, M.N., Sujak, A. (2019). Investigation of viscoelastic behaviour of rice-field bean gluten free dough using the biophysical characterization of proteins and starch: a FT-IR study. *Journal of Food Science and Technology*, 56(3), 1316–1327.  
<https://doi.org/10.1007/s13197-019-03602-2>
11. Gómez, A.V., Ferrer, E.G., Añón, M.C., Puppo, M.C. (2013). Changes in secondary structure of gluten proteins due to emulsifiers. *Journal of Molecular Structure*, 1033, 51–58.  
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2012.08.031>
12. He, H., Hoseney, R.C. (1992). Factor controlling gas retention in non-heated doughs. *Cereal Chemistry*, 69(1), 1–6.
13. Herrero, A.M. (2008). Raman spectroscopy for monitoring protein structure in muscle food systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(6), 512–523.  
<https://doi.org/10.1080/10408390701537385>
14. Hřivna, L., Zigmundová, V., Burešová, I., Maco, R., Vyhnanek, T., Trojan, V. (2018). Rheological properties of dough and baking quality of products using coloured wheat. *Plant, Soil and Environment*, 64, 203–208.  
<https://doi.org/10.17221/62/2018-PSE>
15. Khatkar, B.S., Schofield, J.D. (2007). Dynamic rheology of wheat flour dough I. Non-linear viscoelastic behavior. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(8), 827–829.  
<https://doi.org/10.1002/jsfa.1109>
16. Larsson, H., Eliasson, A.C. (1997). Influence of the starch granule surface on the rheological behaviour of wheat flour dough. *Journal of Texture Studies*, 28(5), 487–501.  
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1997.tb00132.x>
17. Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., Biliaderis, C.G. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering*, 79(3), 1033–1047.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.03.032>
18. Linlaud, N., Ferrer, E., Puppo, M.C., Ferrero, C. (2011). Hydrocolloid interaction with water, protein, and starch in wheat dough. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(2), 713–719.  
<https://doi.org/10.1021/jf1026197>
19. Matsushima, N., Danno, G-I., Takazewa, I., Izumi, Y. (1997). Three-dimensional structure of maize  $\alpha$ -zein proteins studied by small-angle X-ray scattering. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1339(1), 14–22.  
[https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(96\)00212-9](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(96)00212-9)
20. Mejia, C.D., Mauer, L.J., Hamaker, B.R. (2007). Similarities and differences in secondary structure of viscoelastic polymers of maize  $\alpha$ -zein and wheat gluten proteins. *Journal of Cereal Science*, 45(3), 353–359.  
<https://doi.org/10.1021/jf203073a>
21. Nawrocka, A., Szymańska-Chargot, M., Miś, A., Ptaszyńska, A.A., Kowalski, R., Waško, P., Gruszecki, W.I. (2015). Influence of dietary fibre on gluten proteins structure – a study on model flour with application of FT-Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*, 46(3), 309–316.  
<https://doi.org/10.1002/jrs.4648>
22. Nawrocka, A., Szymańska-Chargot, M., Miś, A., Wilczewska, A.Z., Markiewicz, K.H. (2016a). Dietary fiber-induced changes in the structure and thermal properties of gluten proteins studied by Fourier Transform-Raman spectroscopy and thermogravimetry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 64(10), 2094–2104.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05712>
23. Nawrocka, A., Miś, A., Szymańska-Chargot, M. (2016b). Characteristics of relationships between structure of gluten proteins and dough rheology: influence of dietary fibres studied by FT Raman spectroscopy. *Food Biophysics*, 11(1), 81–90.  
<https://doi.org/10.1007/s11483-015-9419-y>
24. Overman, S.A., Aubrey, K., Vispo, N.S., Cesareni, G., Thomas Jr, G. (1994). Novel tyrosine markers in Raman spectra of wild-type and mutant (Y21M and Y24M) Ff virions indicate unusual environments for coat protein phenoxyls. *Biochemistry*, 33, 1037–1042.  
<https://doi.org/10.1021/bi00171a001>

25. Pelton, J.T., McLean, L.R. (2000). Spectroscopic methods for analysis of protein secondary structure. *Analytical Biochemistry*, 277(2), 167–176.  
<https://doi.org/10.1006/abio.1999.4320>
26. Pourfarzad, A., Habibi Najafi, M.B., Haddad Khodaparast, M.H., Hassanzadeh Khayat, M. (2015). Serish inulin and wheat biopolymers interactions in model systems as a basis for understanding the impact of inulin on bread properties: a FTIR investigation. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 7964–7973.  
<https://doi.org/10.1007/s13197-015-1939-4>
27. Ragaee, S., Abdel-Aal, E.M. (2006). Pasting properties of starch and protein in selected cereals and quality of their food products. *Food Chemistry*, 95(1), 9–18.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.012>
28. Rygula, A., Majzner, K., Marzec, K.M., Kaczor, A., Pilarczyk, M., Baranska, M. (2013). Raman spectroscopy of proteins: a review. *Journal of Raman Spectroscopy*, 44(8), 1061–1076.  
<https://doi.org/10.1002/jrs.4335>
29. Singh, H., MacRitchie, F. (2001). Application of polymer science to properties of gluten. *Journal of Cereal Science*, 33(3), 231–243.  
<https://doi.org/10.1006/jcres.2000.0360>
30. Sivam, A.S., Sun-Waterhouse, D., Perera, C.O., Waterhouse, G.I.N. (2013). Application of FT-IR and Raman spectroscopy for the study of biopolymers in breads fortified with fiber and polyphenols. *Food Research International*, 50(2), 574–585.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.039>
31. Sivaramakrishnan, H.P., Senge, B., Chattopadhyay, P.K. (2004). Rheological properties of rice dough for making rice bread. *Journal of Food Engineering*, 62(1), 37–45.  
[https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00169-9](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00169-9)
32. Tunick, M.H. (2011). Small-strain dynamic rheology of food protein networks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(5), 1481–1486.  
<https://doi.org/10.1021/jf1016237>
33. Wang, K., Sun, D-W., Pu, H., Wei, Q. (2017). Principles and applications of spectroscopic techniques for evaluating food protein conformational changes: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 207–219.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.015>
34. Wang, Q., Li, Y., Sun, F., Li, X., Wang, P., Sun, J., Zeng, J., Wang, C., Hu, W., Chang, J., Chen, M., Wang, Y., Li, K., Yang, G., He, G. (2015). Tannins improve dough mixing properties through affecting physicochemical and structural properties of wheat gluten proteins. *Food Research International*, 69, 64–71.  
<https://doi.org/10.3390/ijms161226132>
35. Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 24(2), 115–119.  
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.004>
36. Zavareze, E.M., Guerra Dias, A.R. (2011). Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 317–328.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.08.064>

## نبذة مختصرة

يهدف هذا العمل إلى تحديد الاستجابات الانسيابية والتكنولوجية لعجائن الخبز الخالية من الغلوتين على المستوى الهيكلي والجزئي مقارنة بعجائن القمح الطري من أجل معرفة التفاعلات الجزيئية المتضمنة ومعرفة كيفية استغلالها. تم تقدير الخصائص الانسيابية للعجين وكذلك الخصائص التكنولوجية للخبز. تم استخدام منهجية أسطح الاستجابة لتحسين منهجية التفكك الكيميائي للتفاعلات الجزيئية. تم التحقق من صحة هذا الأخير من خلال اختبار تصنيف عجين الخبز من صفات مختلفة متبوعاً باختبار إحصائي للارتباط بين معدلات تفكك العجين ومعايير جودتها الريولوجية والتكنولوجية. تم الاقتراب من تأثير التفاعلات الجزيئية على السلوك الريولوجي للعجائن من خلال تثبيط تكوين الجسور الكبريتية بواسطة NEMI و التفاعلات الكارهة للماء باستخدام SDS. تم اتباع المبدأ نفسه لدراسة تأثير التفاعلات الجزيئية على بناء العجائن الخالية من الغلوتين. تمت دراسة الآلية الهيكلية لتطور عجائن الخبز الخالية من الغلوتين بواسطة طرق التحليل الطيفي FT-IR و FT-Raman.

تُظهر العجائن الخالية من الغلوتين سلوكاً مرئياً أعلى من سلوك القمح الطري ، مما يؤدي إلى انخفاض سلوكها اللزج المرن. نطاقات تركيز ال SDS و ال  $\beta$ -mercaptoethanol المثلّي التي تسمح بأقصى تأثير للتفكيك هي على التوالي: [0-3.5 %] و [0-0.007 M] لمدة 60 دقيقة من التلامس بين العجينة و محلول التفكيك. لوحظت أعلى معدلات التفكك لدى عجينة الذرة – الفول، عجينة الأرز – الفول تليها عجينة القمح اللين من النوع الأول ثم النوع الثاني على التوالي. تنتج اللزوجة المنخفضة للعجائن الخالية من الغلوتين عن ضعف قدرتها على إنشاء الجسور الكبريتية (S-S) و الروابط الكارهة للماء. الروابط الكارهة للماء تشارك في تكوين العجائن الخالية من الغلوتين أكثر من الجسور الكبريتية (S-S). استندت آلية تكوين شبكة البروتينات الخالية من الغلوتين على تكوين هياكل  $\beta$ -feuillet و  $\alpha$ -helice على حساب  $\beta$ -coude. و هذا بسبب الامتصاص الكبير للماء و فترات العجن الطويلة. تتميز البروتينات الخالية من الغلوتين بميل قوي لإنشاء جسور S-S من التوافقات الغير مستقرة. هذه الأخيرة تتحكم في توزيع الهياكل الثانوية المكونة لشبكة البروتين الخالية من الغلوتين و بالتالي تتحكم في الطابع الصلب و انخفاض خاصية اللزوجة المرنة لهذا النوع من العجائن. تعمل قابلية التشويات المشكّلة للعجائن الخالية من الغلوتين الكبيرة في التجمع على شكل بلوري على ضبط الهيكل القوي و الطي القوي المميز لشبكات البروتينات الخالية من الغلوتين.

---

الكلمات المفتاحية: خالي من الغلوتين، العجائن القابلة للخبز، السلوك البيوفيزيائي، التفاعلات الجزيئية، الخصائص الانسيابية، القدرات التكنولوجية، FT-IR, FT-Raman.



## ***Abstract***

This work aims to locate at the structural and molecular scale the rheological and technological responses of gluten-free bread doughs compared to those control of soft wheat in order to know the molecular interactions involved and to know how to exploit them.

The rheological properties of the doughs as well as the technological properties of their breads were estimated. The response surfaces methodology was used for the optimization of the methodology of chemical dissociation of molecular interactions. The validation of the latter was carried out by a classification test of bread doughs of different qualities followed by a statistical test of correlation between the dissociation rates of doughs and their rheological and technological quality parameters. The effect of molecular interactions on the rheological behavior of doughs was approached by the inhibition of S-S bridges formation by NEMI and the dissociation of hydrophobic interactions by SDS. This same principle was followed for the study of the impact of molecular interactions on the establishment of gluten-free bread dough. The structural mechanism of gluten-free bread doughs development was studied by FT-IR and FT-Raman spectroscopic methods.

Gluten-free doughs show higher elastic behavior than that of soft wheat, thus inducing their low viscoelasticity. The optimum SDS and  $\beta$ -mercaptoethanol concentration ranges allowing a maximum dissociating effect are respectively [0-3.5]% and [0-0.007] M for 60 min of contact at rest between dough and dissociating solution. The highest dissociation rates are noted respectively for Maize- Field bean, Rice- Field Bean, Soft wheat dough type 1 and then type 2. The low viscoelasticity of gluten-free doughs is the result of their poor ability to develop S-S bridges and hydrophobic interactions. Hydrophobic interactions participate in the formation of gluten-free matrices more than S-S bridges. The mechanism for the formation of gluten-free protein network was based on the formation of  $\beta$ -sheet and  $\alpha$ -helix structures to the detriment of  $\beta$ -turns. This is favored by the strong absorption of water during the long kneading time. Gluten-free proteins are characterized by a strong tendency to form S-S bridges of unstable conformations. The latter condition the distribution of secondary structures involved in the maintenance of gluten-free protein networks and consequently the solid character and the low viscoelasticity of their doughs. The strong ability of starches in gluten-free ingredients to group in a crystalline form conditions the strong structuring and strong folding of their protein networks.

---

Keywords: Gluten free, gluten, bread doughs, biophysical behavior, molecular interactions, rheological properties, technological skills, FT-IR, FT-Raman.

## Résumé

Ce travail vise à situer à l'échelle structurale et moléculaire les réponses rhéologiques et technologiques des pâtes à panifier sans gluten par rapport à celles témoins de blé tendre à fin de connaître les interactions moléculaires mises en œuvre et de savoir les exploiter.

Les propriétés rhéologiques des pâtes ainsi que technologiques de leurs pains ont été estimées. La méthodologie de surfaces de réponses a été utilisée pour l'optimisation de la méthodologie de dissociation chimique des interactions moléculaires. La validation de cette dernière a été réalisée par un test de classification des pâtes panifiables de différentes qualités suivi par un test statistique de corrélation entre les taux de dissociation des pâtes et leurs paramètres de qualité rhéologiques et technologiques. L'effet des interactions moléculaires sur le comportement rhéologique des pâtes a été approché par l'inhibition de la formation des ponts S-S par le NEMI et la dissociation des interactions hydrophobes par le SDS. Ce même principe a été suivi pour l'étude de l'impact des interactions moléculaires sur la mise en place des pâtes sans gluten. Le mécanisme structural de développement des pâtes panifiables sans gluten a été étudié par des méthodes spectroscopiques FT-IR et FT-Raman.

Les pâtes sans gluten montrent un comportement élastique plus élevé que celui de témoin de blé tendre induisant alors leur faible viscoélasticité. Les intervalles de concentration optima en SDS et en  $\beta$ -mercaptoéthanol permettant l'obtention d'un effet dissociant maximal sont respectivement de [0-3,5]% et de [0-0,007] M pour 60 min de contact au repos entre la pâte à dissocier et la solution de dissociation. Les taux de dissociation les plus élevés sont notés respectivement pour les pâtes Maïs-Fèverole, Riz-Fèverole, Pâte de blé tendre type 1 puis celle de type 2. La faible viscoélasticité des pâtes sans gluten est le résultat de leur faible capacité à mettre en place des ponts S-S et des interactions hydrophobes. Les interactions hydrophobes participent à la formation des matrices sans gluten plus que les ponts S-S. Le mécanisme de formation d'un réseau protéique sans gluten s'est basé sur la formation des structures feuillet- $\beta$  et hélices- $\alpha$  au détriment des coudes- $\beta$ . Ceci est favorisé par la forte absorption d'eau le long temps de pétrissage. Les protéines sans gluten se caractérisent une forte tendance à former des ponts S-S de conformations instables. Ces dernières conditionnent la distribution en structures secondaires impliquées dans le maintien des réseaux protéiques sans gluten et par conséquent le caractère solide et la faible viscoélasticité de leurs pâtes. La forte aptitude des amidons des ingrédients sans gluten de se regrouper sous une forme cristalline conditionne la forte structuration et le fort repliement de leurs réseaux protéiques.

---

**Mots clé :** Sans gluten, gluten, pâtes à panifier, comportement biophysique, interactions moléculaires, propriétés rhéologiques, aptitudes technologiques, FT-IR, FT-Raman.