ParisTech
INSTITUT DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES
PARIS INSTITUTE OF TECHNOLOGY

AgroParisTech
INSTITUT DES SCIENCES ET INDUSTRIES DU VIVANT ET DE L'ENVIRONNEMENT
PARIS INSTITUTE OF TECHNOLOGY FOR LIFE, FOOD AND ENVIRONMENTAL SCIENCES

Ecole Doctorale ABIES
Agriculture Agriculture Alimentation Food Biologie Biology Environnement Environment Santé Health

Doctorat ParisTech

T H È S E

pour obtenir le grade de docteur délivré par

L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement

(AgroParisTech)

Spécialité : Sciences des aliments

présentée et soutenue publiquement par

François BUCHE

Le 26 mai 2011

Influence de la formulation de pâtes de farine de blé sur leur consommation d'oxygène et leur production de dioxyde de carbone au cours du pétrissage et de la fermentation. Conséquences biochimiques et rhéologiques.

Directeur de thèse : **Jacques POTUS**
Co-encadrement de la thèse : **Marion POMMET**

Jury

Mme Camille MICHON, Pr, Ingénierie Procédés Aliments, GENIAL 1145, AgroParisTech	Président
Mme Marie-Hélène MOREL, Dr, IATE, SupAgro Montpellier	Rapporteur
M. Philippe CAYOT, Pr, EMMA EA 581, AgroSup Dijon	Rapporteur
M. Jocelyn ROUILLE, Dr, Moulins SOUFFLET	Examinateur
M. Jacques POTUS, Pr, Ingénierie Procédés Aliments, GENIAL 1145, Cnam	Directeur de thèse
Mme Fabienne VERTE, Dr, PURATOS	Invitée
M. Jacques NICOLAS, Pr, Ingénierie Procédés Aliments, GENIAL 1145, Cnam	Invité

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tous ceux qui ont cru en ce projet et qui m'ont donné la chance de mener à bien ce que je considère comme un challenge personnel.

Merci infiniment à ceux qui m'ont formé, guidé et corrigé dans ma démarche scientifique et sans lesquels l'écriture de ce mémoire n'aurait pas été possible.

Merci également à tous ceux avec qui j'ai eu le plaisir de travailler, de discuter et d'échanger, quel que soit le domaine, durant ces années de thèse qui n'ont pas été de tout repos.

Enfin, je remercie tous ceux qui m'ont aidé, soutenu, encouragé et motivé du 1er décembre 2007 jusqu'au point final de ce mémoire.

Vous qui vous reconnaitrez dans ces quelques lignes, vous avez toute ma reconnaissance et j'espère pouvoir vous rendre un jour ce que vous m'avez si généreusement donné.

Avec toute mon affection, votre dévoué thésard,

François BUCHE

SOMMAIRE

1 INTRODUCTION 15

1.1 Place du pain et de la boulangerie dans la société 17

1.2 Le pain dans l'alimentation des français 19

1.3 Présentation du travail de thèse 25

2 TRAVAUX ANTERIEURS 31

2.1 Généralités : place du pétrissage dans la panification 33

2.2 Les technologies du pétrissage 37

2.2.1 Rôle des transferts énergétiques 39

2.2.1.1 Apport d'énergie mécanique 39

2.2.1.2 Energie absorbée et dissipée par la pâte 41

2.2.2 Importance de l'aération de la pâte lors du pétrissage 43

2.3 Etapes générales de la panification 43

2.4 Méthodes classiques de détermination des caractéristiques de la farine de blé et des pâtes 53

2.4.1 Méthode directe d'appréciation 55

2.4.2 Méthodes indirectes de détermination des caractéristiques d'une farine 57

2.4.3 Caractéristiques rhéologiques des pâtes 63

2.4.4 Analyse d'une pâte en cours de fermentation 69

Autres méthodes 71

2.5 Les composants de la pâte lors du pétrissage 71

2.5.1 Levure et levain 71

2.5.2 Eau 75

2.5.3 Chlorure de sodium (NaCl) 77

2.5.4 Oxygène 77

2.5.5 Farine de blé tendre 79

2.5.5.1 Matières minérales 79
2.5.5.2 Glucides 79
2.5.5.3 Protéines 85
2.5.5.4 Lipides 89
2.5.5.5 Acides phénoliques 89
2.5.5.6 Les enzymes endogènes intervenant lors du pétrissage 91
2.5.5.6.1 Les hydrolases 91
2.5.5.6.2 Les oxydoréductases 95
2.5.5.6.2.1 Système LOX 95
2.5.5.6.2.2 Système peroxydasique 101
2.5.5.6.2.3 Système catalasique 107
2.5.5.6.2.4 Système acide ascorbique oxydase et glutathion déhydroascorbate oxydoréductase 109
2.5.5.6.2.5 Système polyphénoloxydase (PPO) et phénols 111
2.5.6 Ingrédients, auxiliaires technologiques et additifs couramment utilisés 111
2.5.6.1 Aspects législatifs 111
2.5.6.2 Intervention dans les réactions d'oxydoréduction 115
2.6 Interactions biochimiques au sein de la pâte. 125
2.6.1 Développement du réseau protéique de gluten 125
2.6.2 Interactions pentosanes-protéines 127
2.7 Travaux antérieurs ménés au Cnam sur le rôle de l'O_2 lors du pétrissage. 129
3 MATERIELS ET METHODES 135
3.1 Matériels 137
3.1.1 Farines et levure utilisées 137
3.1.2 Les oses oxydases 137
3.1.3 Produits utilisés 139
3.1.4 Description du sitoxygraphe 139
3.2 Méthodes 143

3.2.1 Préparation des pâtes 143

3.2.2 Modification de l'atmosphère dans l'enceinte du sitoxygraphe 145

3.2.3 Dosage des activités des LOX et des oses oxydases par polarographie 145

3.2.4 Dosage des activités lipolytiques 145

3.2.5 Cartographie des lipides 149

3.2.6 Dosage des pigments caroténoïdes 151

3.2.7 Cartographie protéique 153

3.2.8 Dosage des acides cinnamiques 157

3.2.9 Analyse de la fermeté des pâtes à l'aide du consistographe de Chopin 157

3.2.10 Test de compression-relaxation en conditions lubrifiées 159

3.2.11 Tests de panification 163

4 ANALYSES DES RESULTATS ET DISCUSSIONS.....165

4.1 Traitement des données issues des capteurs..... 167

4.1.1 Effet de la pression sur la réponse de l'analyseur de gaz (% O_2 et % CO_2) 171

4.1.2 Détermination des quantités d'O_2 consommé et de CO_2 apparu pendant le pétrissage et la fermentation 173

4.1.3 Détermination de la variation de volume de pâte pendant le pétrissage et la fermentation et de la rétention de CO_2 pendant la fermentation 181

4.1.4 Modélisation des courbes de consommation d'O_2 et d'apparition de CO_2 au cours du pétrissage et de la fermentation 189

4.1.5 Détermination du coefficient volumique de transfert d'O_2 191

4.2 Effet de la levure sur les caractéristiques bio-physicochimiques des pâtes au cours du pétrissage et de la fermentation 199

4.2.1 État d'oxydoréduction des pâtes 201

4.2.1.1 Consommations d'oxygène 201
4.2.1.2 Apparition et rétention du CO_2 205
4.2.1.3 Oxydation des lipides 215
4.2.1.4 Oxydation des pigments caroténoïdes 219
4.2.1.5 Agrégation des protéines 219

4.2.2 Rhéologie des pâtes (consistographe et texturomètre) 227

4.2.2.1 Mesure de la pression au consistographe 227
4.2.2.2 Test de compression-relaxation après pétrissage au sitoxygraphe : 231

4.3 Impact d'ingrédients et d'auxilières de fabrication sur les caractéristiques biophysicochimiques des pâtes non levurées et levurées 235

4.3.1 Effet des oses oxydases sur les caractéristiques des pâtes de farine de blé 235

4.3.1.1. Effet sur les consommations d'O_2 des pâtes 235
4.3.1.2. Effet sur l'oxydation des lipides (AGPI libres) et des pigments caroténoïdes 237
4.3.1.3. Effet du système GOX / glucose sur le profil protéique de pâtes levurées ou non 241
4.3.1.3.1. Pâtes non levurées 241
4.3.1.3.2. Pâtes levurées 243
4.3.1.4. Effet sur les dérivés cinnamiques contenus dans les fractions solubles et insolubles des pâtes 251
4.3.1.5 Effet rhéologique du système GOX / glucose au cours du pétrissage de pâtes levurées ou non 257
4.3.1.6 Exercices d'applications 259

4.3.2 Effet de l'ajout de farines de fève ou de soja sur les caractéristiques biophysico-chimiques des pâtes, levurées ou non, obtenues à partir de farines de blé à deux taux de maturation 267

4.3.2.1 Effet sur les consommations d'O_2 des pâtes au cours du pétrissage 269
4.3.2.2 Effet sur l'oxydation des lipides 275
4.3.2.3 Effet sur le profil protéique 279
4.3.2.4 Effet rhéologique (consistographe) 281

4.3.3 Effet de l'ajout de GOX à une pâte levurée ou non et contenant une farine de légumineuse selon l'état de maturation de la farine 285

4.3.3.1 Effet sur les consommations d'O_2 des pâtes 285

4.3.3.2 Effet sur l'oxydation des fractions lipidiques..... 287

4.3.3.3. Comparaison de l'oxygène consommé et des AGPI disparus pendant le pétrissage 289

4.3.3.4 Effet sur le profil protéique des pâtes..... 291

4.3.3.5 Effet rhéologique de la GOX en présence de farine de légumineuse..... 293

4.4 Effet des atmosphères enrichies ou appauvries en O_2 sur les caractéristiques des pâtes et des pains 297

4.4.1 Effet de la teneur en O_2 de l'atmosphère du pétrin sur des pâtes levurées ou non 299

4.4.2 Effet d'une atmosphère enrichie en O_2 sur des pâtes levurées contenant des oses oxydases 311

4.4.2.1 Atmosphère à 30 % d'oxygène et à pression atmosphérique..... 311

4.4.2.2 Atmosphère à 1,3 bar et 21 % d'oxygène 315

4.4.3 Effet d'une atmosphère enrichie en O_2 (30 % à pression atmosphérique) sur des pâtes levurées contenant de la GOX et/ou des farines de légumineuse et/ou une lipase-phospholipase. 321

4.4.3.1 Conséquences de l'ajout de LOX et/ou de GOX exogènes 321

4.4.3.2 Conséquence de l'ajout d'une lipase-phospholipase (Lipopan FBG) combinée ou non avec de la GOX 325

4.4.4 Exercice d'application : Utilisation d'une atmosphère enrichie en O_2 et de GOX pour l'améliorer la qualité des pains 331

4.4.4.1 Consommations d'oxygène des pâtes 333

4.4.4.2 Propriétés rhéologiques des pâtes 333

4.4.4.3 Caractéristiques des pains 337

5 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES 341

6 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 343

7 ANNEXES 383

LISTE DES ABREVIATIONS :

AA : acide ascorbique

AF : acide férulique

AGPI : acides gras polyinsaturés

AGSMI : acides gras saturés et monoinsaturés

ApC : acide *p*-courmarique

AS : acide sinapique

ASR : acide syringique

AV : acide vanillique

AXA : arabinoxylane

BHT : butyl hydroxytoluène

BPMF : blé panifiable pour la meunerie française

COX : carbohydrate oxydase

CPG : chromatographie en phase gazeuse

CR : coefficient de réponse

D_{250} et D_{450} : correspondent à la perte de pression en mbar entre Pr_{max} et la pression après 250 et 450 secondes de pétrissage au consistographe

DAG : diacylglycérol

DHA : acide déhydroascorbique

DRT : différence relative par rapport au témoin

ER : extémité réductrice

ENR : extrémité non réductrice

Fs : farine sèche

FBG : nom commercial de la Lipopan (activité lipasique et phospholipasique) fournie par Novozyme

GHPM : gluténine de haut poids moléculaire

GOX : glucose oxydase

GPBM : gluténine de bas poids moléculaire

GSH : glutathion

GSSG : deux glutathions pontés par une liaison disulfure

HPLC : *high performance liquid chromatography*

IR : indice de relaxation déterminé à l'aide du texturomètre

kat : katal, unité d'activité enzymatique qui correspond à un nombre de moles consommées ou produites par seconde. Cette unité est souvent exprimée à l'échelle micro- (µ) ou nanoscopique (n).

LOX : lipoxygénase

LSD : *least significant difference*, test statistique

MAG : monoacylglycérol

mh : matière humide

ms : matière sèche

PL : pâte levurée

PNL : pâte non levurée

POD : peroxydase

PPDS : plus petite différence significative, traduction française du test statistique LSD

PPO : polyphénoloxydase

Pr_{480} : correspond à la pression après 480 secondes de pétrissage au constitographe.

Pr_{max} (mbar) : pression maximale exercée sur le capteur au cours du pétrissage à l'aide du consistographe

PSH : protéine portant une fonction thiol

PSSG : protéine et glutathion reliés par une liaison disulfure

PSSP : liaison disulfure inter- ou intraprotéique

RPM : rotation par minute

SDS : sodium dodécyl sulfate

TYR : tyrosine

Vg : volume de la phase gazeuse environnant la pâte

ViO_2 : vitesse instantanée de consommation d'O_2

Vp : volume de pâte

Vspé : volume spécifique de la pâte

TAG : triacylglycérol

TMCA : acide 3,4,5-triméthoxycinnamique

TPr_{max} (s) : temps d'apparition de Pr_{max} lors d'un pétrissage à l'aide du consistographe

Tr_{CO2} : Taux de rétention de CO_2

WEAX : (pour *Water Extractable ArabinoXylan*) arabinoxylanes hydrosolubles

WUAX : (pour *Water Unextractable ArabinoXylan*) arabinoxylanes insolubles

1 INTRODUCTION

1.1 Place du pain et de la boulangerie dans la société

Kaplan (2008) considère que le pain est un des plus grands acteurs de l'histoire de France en jouant à la fois un rôle matériel et symbolique. Considéré comme une ration de survie pendant des siècles, cet aliment représente également une promesse de salut, d'agent de sociabilité et a longtemps donné au pouvoir sa légitimité. De par sa célèbre maxime, « du pain et des jeux » (*Panem et circenses)*, Juvénal y voyait l'un des deux éléments indispensables à la soumission du peuple romain à ses dirigeants qui assuraient régulièrement des distributions gratuites de pain dans la ville.
Subissant les aléas du développement économique, le pain fut également le symbole de la distinction sociale entre riches et pauvres, de la chute du système monarchique français mais aussi du développement industriel et social des nations.

La boulangerie artisanale assure le cycle complet de la fabrication du pain. Elle est composée de petites entreprises essentiellement familiales à effectif salarié réduit. L'un de ses atouts est sa proximité avec le consommateur qui est généralement fidélisé. En 2007, 33 000 points de vente en France étaient recensés et ils détenaient 65 % du marché du pain en générant un chiffre d'affaires annuel de plus de 7 milliards d'euros H.T. Ce secteur d'activité artisanal représentait à cette époque plus de 160 000 emplois.
La boulangerie industrielle est apparue avec la mécanisation de la fabrication, à partir des années 1950. Elle se caractérise par un volume de production important qui est lié à l'augmentation des rendements agricoles et donc de la production de farine. Il s'agit généralement d'anciennes entreprises artisanales ayant connu un fort développement.
Une part de l'activité boulangère est également assurée par des grandes et moyennes surfaces qui, depuis les années 1970, fabriquent et vendent du pain ou s'occupent uniquement de la distribution. Enfin, depuis vingt ans, des terminaux de cuissons, dont l'activité se limite à la cuisson de la pâte surgelée, se sont développés partout en France.

En parallèle au développement du secteur de la boulangerie, la production de blé connaît depuis l'après-guerre une amélioration constante de la qualité et du rendement de production à l'hectare permettant une forte augmentation de l'exportation de cette matière première.

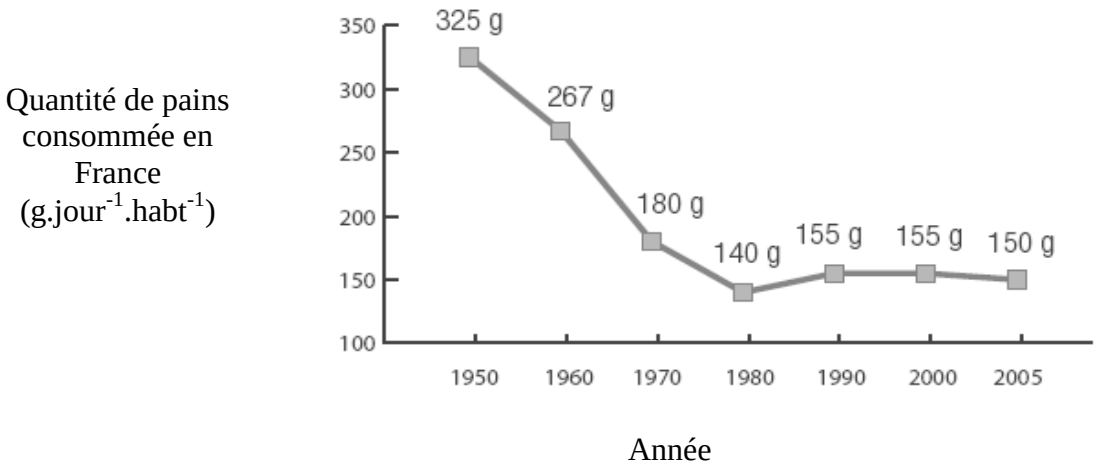


Figure 1.1 : Consommation journalière de pain par français depuis 1950 jusqu'à 2005 (Pain et nutrition 1re édition, Observatoire du pain, 2006)

Ainsi, en 2007, 27 millions de tonnes de blé tendre ont été produites en France. 43,7 % de la production ont été destinés à l'export, 21,6 % à la meunerie française, 19,8 % à l'alimentation animale, 10,4 % à l'amidonnerie et 4,5 % à des utilisations diverses (www.boulangerie.org). A cette époque, le secteur de la meunerie qui connaît depuis plusieurs années une diminution de production ainsi qu'une baisse des ventes des farines à l'export, comptait 471 moulins regroupés en 392 entreprises soit 16 940 salariés.
Il est important de souligner que la diversification des produits panifiés proposés aux consommateurs est due au développement et aux interactions des secteurs de la boulangerie et de la meunerie. Par exemple, le regroupement de meuniers indépendants a permis la création d'enseignes proposant aux boulangers des mélanges de farines spécifiques ainsi que la fabrication de spécialités panifiées (Banette, Gana, Retrodor, etc.)

1.2 Le pain dans l'alimentation des français

Malgré la diversification de la boulangerie française, la consommation de pain en France a connu une chute spectaculaire tout au long du 20e siècle : elle a été divisée par 2,2 entre 1950 et 2005, passant de 325 à 150 grammes de pain par jour et par personne selon l'Observatoire du pain (Figure 1.1). Cette chute de la consommation s'explique par :
- une plus grande disponibilité à la consommation, à partir des années 1950, de poisson et de viande ;
- une plus grande diversité des produits à base de farine de blé offerts à la consommation (viennoiseries, biscuits, etc.) ;
- la mise en cause, dans les années 1970, du pain dans la prise de poids. Certains régimes, bien qu'ils soient controversés dans la communauté médicale, continuent à supprimer le pain dans un programme de perte de poids ;
- la réduction progressive du besoin énergétique des français.

Cependant, depuis 20 ans, le pain revient au centre d'une alimentation équilibrée pour la population française. Les PNNS 1 et 2 (2005, 2010) le signalent clairement dans ces recommandations nutritionnelles et la filière céréalière française communique largement à ce sujet (Observatoire du pain, 2006).

Cet aliment se présente comme :

- une source de glucides complexes à faible index glycémique (par exemple 57 ± 9 pour une baguette de tradition, Rizkalla *et al.*, 2006). Les glucides complexes devraient représenter 50 à 55 % de l'apport énergétique journalier et non pas 44 % comme on peut le constater dans la population ;
- une source de fibres, dont la teneur augmente avec le taux d'extraction de la farine ;
- un faible apport en lipides (< 2 % de la matière sèche) ;
- une source de protéines de bonne qualité pour l'adulte mais souffrant d'un déficit en lysine pour l'enfant en croissance.

Ainsi, toujours selon l'Observatoire du pain (2006), il est recommandé pour une femme de consommer de 2/3 à 3/4 de baguette par jour et 3/4 à 1 baguette pour les hommes (une baguette pèse environ 250 g et apporte environ 255 kcal pour 100 g, Observatoire du pain cité dans industrie des céréales, 2008).

Cependant, pour redonner au pain sa place dans l'alimentation française, Adrian (préface de Potus et Drapron, 1991) insistait sur l'obligation de développer le caractère hédonique des produits céréaliers. Le consommateur doit pouvoir disposer d'un produit « appétissant, qui soit une incitation à modifier ses habitudes actuelles et lui fasse retrouver l'usage de cet aliment traditionnel ». Cet objectif ne doit pas être uniquement celui des boulangers, qui représentent le dernier maillon d'une longue chaîne d'opérateurs, mais celui de l'ensemble de la filière céréalière qui déterminera la qualité de la matière qui sera travaillée, qu'il s'agisse du blé, de la farine ou de la pâte.

Une des difficultés principales de l'appréciation de la qualité du pain vient du fait que les goûts des consommateurs évoluent dans le temps. Au sortir de la Seconde Guerre mondiale, les consommateurs ont plébiscité des pains développés, à la mie fine et blanche. Depuis quelques années de nombreuses méthodes de panification, dites anciennes, ont été remises au goût du jour. Elles aboutissent toutes à l'obtention d'un pain moins développé, à la mie moins blanche et plus alvéolée et ayant surtout plus de flaveur. Ces pains répondent à une demande des consommateurs pour des produits plus rustiques, plus naturels et ayant un caractère gustatif supérieur (Langraf, 2002).

Plus de 250 composés volatils ont été identifiés dans l'arôme du pain (Schieberle et Grosch, 1991). Toutefois, seuls quelques composés d'arômes ont été considérés comme typiques, même à de très faibles concentrations. Trois processus interviennent dans l'élaboration de l'arôme caractéristique du pain :

- l'oxydation des lipides au cours du pétrissage ;
- les métabolismes de la levure ou du levain au cours de la fermentation;
- les réactions de Maillard et de caramélisation intervenant au cours de la cuisson.

Cependant, l'analyse par le consommateur des perceptions sensorielles est souvent subjective. On dispose en effet de peu de mesures systématiques de la perception des qualités organoleptiques des différents pains, qui peuvent varier d'une fabrication à une autre. Par exemple, les effets sur la flaveur liés à la variation d'un certain nombre de paramètres, comme l'intensité et la durée de pétrissage, sont assez bien contrôlés. En revanche, d'autres influences, comme la réduction ou la suppression des temps de pointage, sont beaucoup moins connues, voire pas du tout dans le cadre de l'emploi de levain naturel.

En l'absence d'étude exhaustive, on remarque tout de même que plusieurs facteurs ont une influence relative sur la flaveur du pain:

- la farine est un facteur de goût dépendant entre autres du taux de cendres et de la teneur en lipides ;
- la fermentation de la pâte par un levain apporte une saveur acide au pain du fait de la production d'acide lactique ainsi que de nombreux composés d'arômes ;
- la note aromatique apportée par la levure n'est généralement détectée qu'entre 3 et 6 g de levure pressée pour 100 g de farine humide tout en sachant que le temps et la température jouent un rôle important dans le métabolisme de la levure et donc dans la production de composés d'arômes (Langraf, 2002) ;
- la qualité de l'eau utilisée peut avoir un impact puisque le chlore freine l'action de la levure, tandis que le calcium accroit la tenue de la pâte tout en favorisant la formation du gluten (Langraf, 2002) ;
- la dose de chlorure de sodium ainsi que le moment de son incorporation sont importants puisque ce composé apporte une saveur mais freine aussi l'action des lipoxygénases et par conséquent diminue l'apparition d'arômes issus de l'oxydation des lipides ;

- l’absence de pointage, qui réduit la durée de fermentation. Cette étape est souvent négligé dans les diagrammes récents de fabrication ;
- la mécanisation du travail des pâtes qui a accompagné le pétrissage intensif et qui a pour conséquence un endommagement du réseau glutineux et un dégazage parfois excessif des pâtons, d’où une suroxydation des lipides et une structure de mie régulière ayant une incidence sur la texture et la mâche finale du pain. Or dans les qualités organoleptiques d’un pain, celles de la mie sont souvent mises en avant (Langraf, 2002).

Actuellement, les industriels de la panification agissent à tous les niveaux du procédé pour atteindre un produit final de qualité, pour une durée plus courte et un coût de production plus faible. Pour ce faire, les formulations élaborées par les meuniers et boulangers contiennent de plus en plus d’améliorants ayant, le plus souvent, un impact sur les propriétés technologiques, nutritionnelles et organoleptiques des pâtes et des pains qui en résultent après cuisson.

1.3 Présentation du travail de thèse

Ce travail de thèse, débuté en décembre 2007, consiste à suivre la consommation d’oxygène et la production de dioxyde de carbone par les pâtes de farine de blé à l’aide d’un pétrin-fermenteur étanche et instrumenté (le sitoxygraphe). Ces données sont utilisées comme outil de caractérisation (parmis d’autres) de la qualité boulangère des pâtes. En effet, lors du pétrissage, les réactions d’oxydation, pour la plupart enzymatiques, participent à l’acquisition des propriétés viscoélastiques de la pâte et contribuent à la qualité du produit final.

Le sitoxygraphe a été développé par le laboratoire BIAA du Cnam (UMR 1145, Ingénierie - Procédés - Aliments, AgroParisTech / Cnam / Inra) avec l’aide des groupes industriels Soufflet et Puracor. Cet appareil permet de mesurer tout au long du pétrissage la pression, la température et la composition de la phase gazeuse environnant la pâte ainsi que la température de la pâte. A l’aide de ces données, il est possible de calculer les quantités, en moles, d’O_2 consommé, de CO_2 apparu dans la phase gazeuse et de CO_2 retenu par la pâte, ainsi que le volume de cette dernière.

Corrélées à des analyses biochimiques telles que l'état d'oxydation des lipides et des pigments caroténoïdes et l'état d'agrégation des protéines, ainsi qu'à des analyses rhéologiques (consistographe de Chopin et texturomètre), les mesures d'oxygène ont mis en évidence la contribution des réactions d'oxydation dans l'évolution des propriétés rhéologiques de la pâte, notamment dans le cas d'ajout d'améliorants à action oxydante couramment utilisés en panification.

Les travaux entrepris au cours de cette thèse ont essentiellement traité des interactions entre la farine de blé et les ingrédients exogènes (levure, farine de fève et de soja, oses oxydase…) et ont permis de :

- utiliser le sitoxygraphe comme un appareil permettant d'évaluer précisément l'efficacité d'oxydoréductases *in situ* au cours du pétrissage ;
- mettre en évidence que la levure respire et fermente au cours du pétrissage et qu'elle entre en compétition avec les autres systèmes consommant de l'oxygène (en particulier l'oxydation des lipides) ;
- développer un protocole expérimental permettant de mesurer l'élasticité et l'indice de comportement visqueux de pâtes levurées ;
- mettre en évidence que l'oxydabilité des pâtes augmente avec l'état de maturation de la farine ;
- étendre le champ d'application du sitoxygraphe en l'utilisant non seulement comme un pétrin mais aussi comme un fermenteur. Grâce à cela il est possible de suivre l'évolution de la masse volumique et de la porosité d'une pâte de qualité boulangère à l'instar d'un rhéofermenteur ;
- analyser l'impact de la teneur en O_2 de l'atmosphère environnant la pâte sur certaines de ses propriétés biophysico-chimiques et rhéologiques.

L'ensemble de ces résultats est traité en quatre parties, la première est consacrée au traitement des données issues des capteurs du sitoxygraphe et permet de calculer, entre autres, les quantités de matière consommées et produites au cours du pétrissage et de la fermentation ainsi que l'évolution du volume de pâte. Une seconde partie vise à étudier l'impact biochimique et rhéologique de l'ajout de levure sèche dans une pâte, afin de travailler sur des produits proches de ceux rencontrés en boulangerie industrielle ou artisanale.

Une troisième partie traite des conséquences biochimiques et rhéologiques de l'ajout d'oxydoréductases (glucose oxydase et lipoxygénase de farines de fève et de soja) utilisées, seules ou combinées, dans des pâtes levurées ou non, dans le but d'analyser les interactions entre les consommateurs d'oxygène présents dans la pâte. Enfin, une quatrième partie est consacrée à l'utilisation d'atmosphères enrichies ou appauvries en O_2 afin d'une part de renforcer ou de limiter les réactions d'oxydation, et donc leurs conséquences sur la biochimie et la rhéologie des pâtes, et d'autre part de proposer des innovations potentiellement intéressantes dans la conduite industrielle du pétrissage.

2 TRAVAUX ANTERIEURS

2.1 Généralités : place du pétrissage dans la panification

Bien que la qualité de la farine ait un impact considérable sur celle du pain, elle ne garantit pas son excellence. En revanche, savoir apprécier et optimiser la qualité de la pâte en sortie de pétrissage est probablement l'élément le plus déterminant de la qualité du produit fini. Par l'analyse de la pâte au cours du pétrissage et en sortie de pétrin, le boulanger est capable d'adapter ses formulations et son procédé à chaque étape de la fabrication et de prédire les caractéristiques de ses pains.

Du point de vue biochimique, le pétrissage est une opération de mélange de farine de blé et d'eau pendant laquelle un ensemble de réactions bio-physicochimiques ont lieu. Elles permettent de passer d'un milieu discontinu, constitué de particules de farines solides et indépendantes, à un milieu continu macroscopiquement homogène, lisse, où les particules sont liées entre elles suite à leur hydratation, et doté de propriétés viscoélastiques déterminantes dans l'élaboration du pain. A l'échelle microscopique, le pétrissage permet l'obtention d'un réseau de gluten cohésif et viscoélastique qui assurera la rétention du CO_2, de l'éthanol et des arômes pendant la fermentation.

Le pétrissage comporte deux phases successives effectuées dans le pétrin. La première étape nommée frasage, s'effectue à vitesse lente. Elle correspond au mélange des ingrédients. Le frasage est marqué par l'absorption de l'eau par le gluten et l'amidon de la farine qui commencent à former un semblant de réseau. L'eau assure la plastification du système (Potus *et al.*, 1992) qui favorise la mobilité moléculaire, qui permet notamment aux enzymes d'agir, mais aussi la migration des lipides aux interfaces gaz-pâte. Cette étape est marquée par une augmentation rapide de la température du milieu ; la chaleur dégagée est appelée chaleur d'imbibition (Levavasseur, 2007).

La seconde phase du pétrissage s'effectue à vitesse rapide (environ le double de la vitesse de frasage). Le bras du pétrin réalise simultanément le mélange, l'étirement, la compression et le cisaillement de la pâte. Ceci participe à l'acquisition des propriétés viscoélastiques de la pâte et à la formation d'un réseau glutineux. Le bras de pétrin assure également l'aération de la pâte conduisant à la formation de *nuclei* gazeux enchâssés dans le gluten.

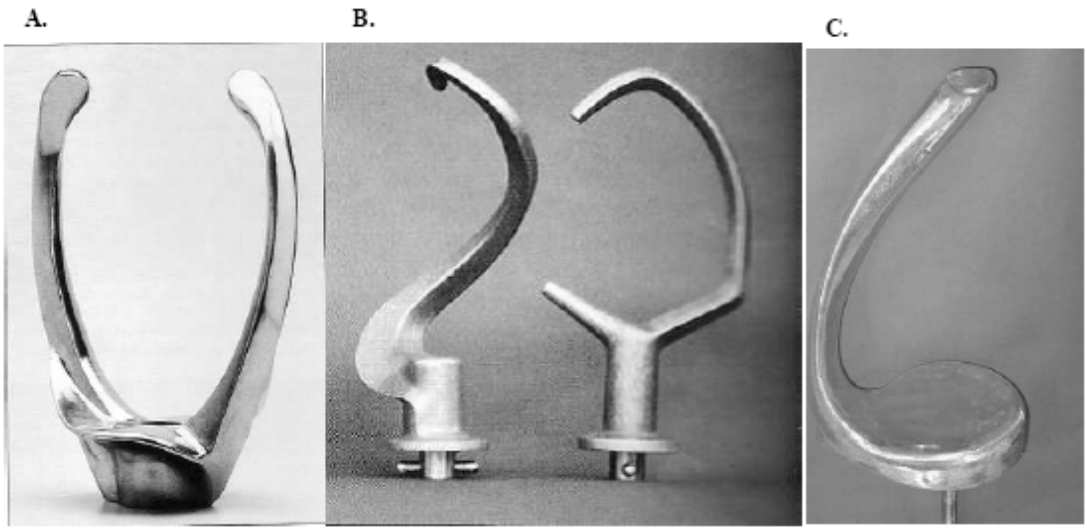


Figure 2.1. Bras tournants de pétrins oblique (A), spirale (B) et horizontal (sitoxygraphe, C). Echelle relative non respectée pour les dimensions des bras.

Le réseau doit être suffisamment extensible pour permettre aux *nuclei* gazeux de se développer sous la pression du CO_2 produit lors de la fermentation et suffisamment résistant pour que ces alvéoles ne se rompent pas sous la pression du CO_2 produit. L'ensemble des contraintes mécaniques imposées à la pâte dépend essentiellement :

- des caractéristiques du système de mélange utilisé (géométrie et taille de la cuve du pétrin, types de bras utilisés (Figure 2.1), choix de l'axe de rotation des bras) ;
- de la vitesse de rotation du ou des bras ;
- de la durée de pétrissage.

Au cours du pétrissage, la consistance de la pâte passe par un maximum. La durée de pétrissage pour laquelle cette consistance est atteinte, est appelée optimum de pétrissage et ne correspond pas nécessairement à la durée de pétrissage pour laquelle la pâte possède les meilleures propriétés rhéologiques d'après les critères de qualité du boulanger (Levavasseur, 2007). Au-delà de cet optimum de pétrissage, la pâte s'affaiblit et devient moins tenace. Si le pétrissage continue, alors la pâte s'effondre et devient collante, la pâte est qualifiée de surpétrie (*dough breakdown*). La notion de surpétrissage est subjective et pas obligatoirement associée à un effet pénalisant. Tout dépend des propriétés désirées des pâtes.

A l'échelle moléculaire, le pétrissage est marqué par plusieurs phénomènes bio-physicochimiques, tels que :

- la dispersion et la répartition homogène des ingrédients constituant la pâte favorisant les interactions enzymes-substrats, protéines-protéines, protéines-lipides, protéines-pentosanes, protéines-amidon, etc. Les interactions moléculaires au sein de la pâte peuvent être de faible énergie (interactions hydrophobes ou par liaisons hydrogène) ou engendrer des formations ou des coupures de liaisons covalentes (notamment échanges thiols-disulfures et ponts phénoliques), ces dernières étant le plus souvent catalysées par des enzymes ;
- le soufflage de la pâte correspondant à l'incorporation d'air et donc d'oxygène utilisable pour oxyder les composés réducteurs de la pâte ;
- une élévation de la température.

Tableau 2.1 : Comparaison des caractéristiques de fonctionnement des pétrins français les plus répandus avec les caractéristiques du sitoxygraphe (d'après Levavasseur, 2007).

Type de pétrin	Capacités (kg_{farine})	Vitesse (rpm)	Energie fournie ($kJ.kg^{-1}$ pâte)	Echauffement des pâtes ($°C.min^{-1}$)	Cuve
Axe oblique	30 à 200	V1 (4 min) : 35-50 V2 (12 min) : 70-80	V1 : 3,75 à 5,25 V2 : 15,75 à 24,75	V1 : 0,6 à 0,9 V2 : 0,3 à 0,5	libre
Spirale	16 à 200	V1 (2 min) : 100-110 V2 (8 min) : 200-220	V1 : 1,5 à 3 V2 : 24 à 30	< 1	libre
Cycloïdal Bras plongeants	?	V1 (2-4 min) : 40-50 V2 (17-18 min) : 70	7,2 à 10,8	V2 : 0,2 à 0,3	libre
Horizontal (sitoxygraphe)	1,5 – 5	V1 (1-2 min) : 30 V2 (13 min) : 30-75	V1 : 5 à 10 V2 : 42,5 à 90	V2 : 0,1 à 0,3	fixe

Tableau 2.2 : Comparaison des effets de différents pétrissages sur les pâtes avec ceux du Sitoxygraphe (d'après Levavasseur, 2007).

Type de pétrin	Type de travail de la pâte	Incorporation d'air	Formation de la pâte	Caractéristiques des pâtes
Axe oblique	extension	?	lente	Couleur blanche, pâte lisse (relâchement de la pâte pendant la rotation de la cuve)
Spirale	compression	faible	rapide	Couleur crème
Bras plongeants (cycloïdal)	extension intense	soufflage	rapide	Alvéolage irrégulier (grosses inclusions d'air)
Horizontal (sitoxygraphe)	compression extension	forte	Très rapide	Couleur crème, allure déchirée de la pâte au pétrissage, totalité de la pâte pétrie à chaque tour de bras

Parmi les réactions enzymatiques intervenant au cours du pétrissage, les réactions d'oxydoréduction et les réactions d'hydrolyse sont les plus importantes (Grosch, 1986 ; Grosch et Wieser, 1999). Ces types de réactions chimiques sont favorisés par la forte Aw de la pâte (entre 0,96 et 0,97 selon Muchová et Žitný, 2010). De plus, l'incorporation de microbulles d'air par le brassage de la pâte, en plus d'apporter de l'oxygène, permet de former des *nuclei* gazeux qui participent à l'alvéolage de la mie de pain (Baker et Mize, 1946).

2.2 Les technologies du pétrissage

En France, l'utilisation de pétrins discontinus est généralisée dans l'artisanat. La plupart des pétrins ont été mis au point dans les années 1950. Depuis, ils ont été constamment améliorés. Les pétrins actuels présentent une diversité importante de formes, de cuves (libres ou fixes et si libres, motorisées ou non), de bras (simples ou doubles, mobiles ou non), de vitesses de rotation des bras et de quantités d'énergie apportées à la pâte (Tableau 2.1). Les améliorations apportées sont difficilement dissociables des applications désirées (Tableau 2.2). Dans la boulangerie artisanale, trois grandes catégories de pétrins sont utilisées (Tableau 2.1). La première, la plus répandue en France, est le pétrin à axe oblique. L'axe comporte généralement deux branches, la pâte est ainsi pincée et étirée. Le second type de pétrin est appelé pétrin spirale. La cuve est en constante rotation, ce qui permet au pétrin de travailler une quantité importante de pâte. Enfin, il existe également et de manière moins répandue, des pétrins à bras plongeant qui tendent à reproduire la technique de pétrissage manuel des boulangers.

Dans l'industrie, on rencontre un quatrième type de pétrin, le pétrin horizontal. Cette machine, beaucoup plus volumineuse que les pétrins classiques comporte principalement un ou deux arbres de mélange (appelés également bras de pétrin) rotatifs horizontaux. Ces pétrins sont utilisés pour mélanger, pétrir ou homogénéiser des produits alimentaires, par exemple des pâtes à biscuits, des pains spéciaux et d'autres produits à base de céréales. La cuve de ce type de pétrin présente la particularité d'être chauffée ou refroidie. Certaines de ces machines sont même conçues pour un pétrissage en continu. Dans ce cas, les matières premières arrivent dosées à une extrémité de la machine et la pâte, formée par brassage et poussée vers l'autre extrémité, ressort par exemple sur des convoyeurs.

Tableau 2.3. Durée des pétrissages à petites (40 RPM) et grandes (80 RPM) vitesses selon le type de pétrissage (d'après Feillet, 2000).

Type de pétrissage	Durée de la petite vitesse (min)	Durée de la grande vitesse (min)
Conventionnel	15	-
Intensifié	3 à 5	18-20
Amélioré	3 à 5	12

Bien qu'il existe une réelle diversité des pétrins, à l'échelle de la boulangerie artisanale, on distingue trois types de pétrissage (Tableau 2.3) :

- le pétrissage (lent ou conventionnel) réalisé entièrement à petite vitesse du pétrin (autour de 40 RPM pour un pétrin à axe oblique) et dure en moyenne de 10 à 14 min. Le pétrissage lent permet d'obtenir des pâtes souples, qui nécessitent des temps de pointage longs. Ce procédé favorise la qualité organoleptique et la bonne conservation des pains. Cependant, au cours de ce pétrissage lent, l'apport d'énergie mécanique est insuffisant quand le gluten des farines est tenace ; les pâtes ainsi élaborées se travaillent donc plus facilement à la main qu'en machine ;

- le pétrissage intensifié s'effectue avec un frasage de 3 à 5 min en petite vitesse et un pétrissage en grande vitesse (autour de 80 RPM pour un axe oblique) d'une durée de 18 à 22 min en moyenne. Le pétrissage intensifié permet d'obtenir des pâtes plus fermes permettant ensuite un travail plus facile en machine. Par contre, l'oxydation de la pâte rend la mie blanche et diminue la qualité organoleptique (Drapron *et al.*, 1974). La conservation des pains ainsi obtenus est moins bonne ;

- le pétrissage amélioré comprend une période de frasage à petite vitesse d'environ 3 à 5 min environ puis un pétrissage en grande vitesse de 10 à 12 min généralement. Le pétrissage amélioré est un compromis entre les deux autres techniques assurant un bon équilibre entre le développement de la pâte, la conservation de sa texture et de sa qualité organoleptique mais au détriment du volume final du pain.

2.2.1 Rôle des transferts énergétiques

Le pétrissage entraîne un apport de travail mécanique intense et déterminant pour la qualité de la pâte (Tanaka et Bushuk, 1973). L'énergie mécanique fournie par le bras en mouvement est partiellement convertie en énergie thermique à cause des caractéristiques viscoélastiques de la pâte.

2.2.1.1 Apport d'énergie mécanique

Pour un type de pétrin donné (géométrie de la cuve et des bras), la quantité d'énergie mécanique fournie à la pâte (E) dépend de la vitesse du bras, de la durée de pétrissage, et du couple (moment des forces de résistance de la pâte à l'entraînement).

Elle correspond à la somme des énergies spécifiques instantanées :

$$E = \int_{t0}^{tfinal} C(t)\omega(t)\delta t$$

avec :

C(t) : couple instantané (N.m)

ω(t): vitesse angulaire instantanée (rad.s^{-1})

Expérimentalement, cette relation s'exprime :

$$E = \sum C(t)\omega(t)\Delta t$$

Dans cette dernière relation, l'intervalle de temps (Δt) doit être suffisamment petit, pour que le calcul soit précis. Contamine *et al.* (1995) ont montré que la quantité d'énergie (E) est reliée linéairement au produit du carré de la vitesse par le temps ($V^2 \times t$). Cette relation est vérifiée dans les conditions de travail des auteurs en considérant la pâte comme un fluide visqueux (Newtonien). Cependant, la qualité d'un pétrissage ne semble pas être uniquement définie par la quantité d'énergie fournie. En effet, Kilborn et Tipples (1972) ont observé l'existence d'un seuil minimal de vitesse de rotation des bras de pétrin en dessous duquel le volume du pain diminuerait fortement. Ces auteurs ont obtenu un développement optimum de la pâte pour un apport d'énergie minimum de 9 kJ.kg^{-1} de pâte (Tableau 2.1) et ont également montré qu'un apport d'énergie constant, impliquant une évolution constante de la vitesse de rotation des bras de pétrin, permettrait de réduire considérablement le temps de développement de la pâte.

2.2.1.2 Energie absorbée et dissipée par la pâte

L'énergie apportée par la rotation du bras de pétrin est absorbée par la pâte et par le milieu qui l'entoure. En pratique, cette énergie transmise est estimée à partir de la variation de température de la pâte et du milieu extérieur (Contamine *et al.*, 1995 ; Charun *et al.*, 2000). La mise au point de pétrin permettant la régulation de la température de la cuve de mélange (système de liquide circulant dans une double enveloppe), a permis de mesurer l'énergie transmise au milieu extérieur et d'en déduire l'énergie absorbée par la pâte (Contamine *et al.*, 1995). Ainsi, le bilan des échanges montre que seule l'énergie absorbée par la pâte est à prendre en considération. L'apport d'énergie mécanique détermine l'énergie absorbée par la pâte et la valeur de l'énergie spécifique instantanée influence les variations de la température.

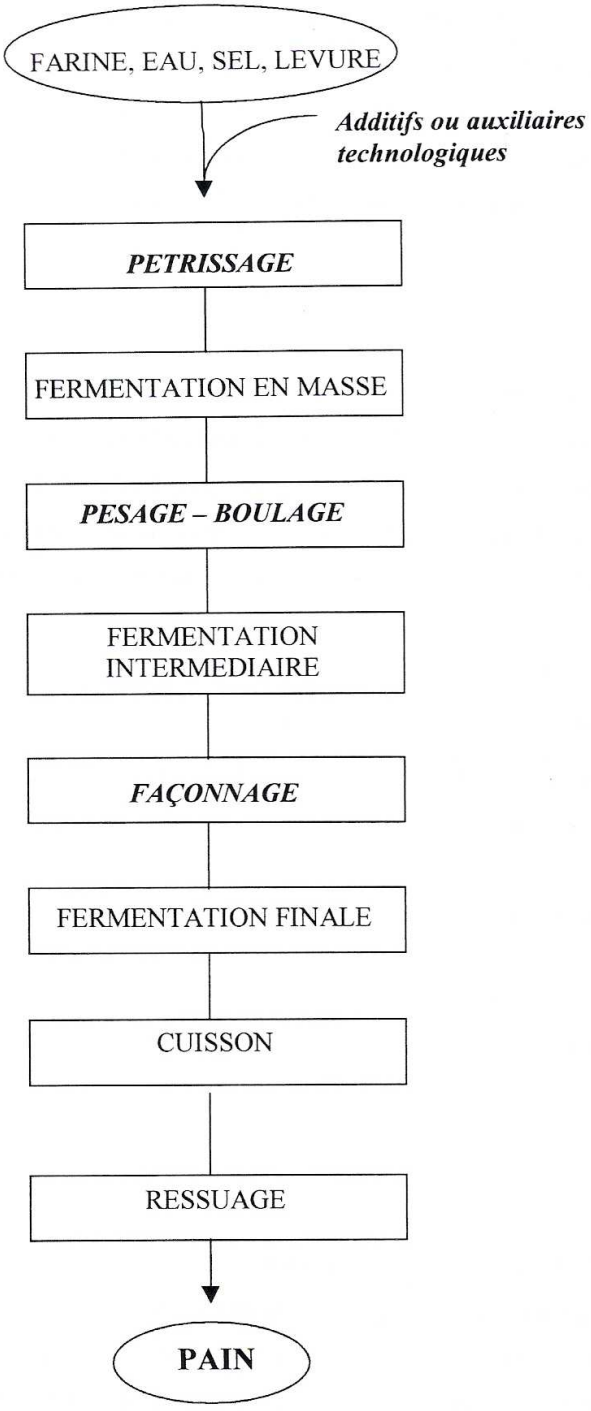


Figure 2.2 : Etapes de la fabrication du pain (Garcia, 2000).

2.2.2 Importance de l'aération de la pâte lors du pétrissage

Les premiers travaux réalisés sur l'aération des pâtes datent des années 1940. Baker et Mize (1946) montrent que les gaz sont progressivement inclus dans la pâte pendant le pétrissage. Selon eux, l'incorporation des gaz au sein de la pâte est maximale lorsque le gluten est à son optimum de développement. Junge *et al.* (1981) décrivent les mêmes phénomènes pour des pâtes supplémentées avec des surfactants. Campbell *et al.* (1998) ont étudié l'impact du processus d'aération des pâtes au cours du pétrissage sur l'incorporation de *nuclei* gazeux à l'origine des alvéoles dans le produit final. Ils concluent que la forme des bras, la géométrie de la cuve du pétrin et la vitesse de pétrissage doivent jouer un rôle important dans l'incorporation d'air, notamment lors de l'étirement et de la compression de la pâte exercés par les bras du pétrin. L'étirement permet d'augmenter la surface d'échange entre l'air et la pâte et la compression peut engendrer une inclusion de bulles de gaz (augmentant la surface d'échanges) ainsi qu'une réduction de leur taille. Enfin, Campbell *et al.* (2001) ont étudié l'effet de la pression (surpression ou dépression) et ont montré qu'une surpression a un effet bénéfique sur l'incorporation de *nuclei* gazeux (pâte plus aérée, densité plus faible).

2.3 Etapes générales de la panification (Figure 2.2)

Les définitions des étapes de la panification sont présentées ci-dessous dans l'ordre chronologique du procédé de production de pain.

1) Pétrissage

a) définition

Cette opération de mélange, à l'origine de nombreuses réactions d'hydrolyse et d'oxydoréduction, a pour but de former un milieu macroscopiquement homogène, structuré, stable et capable de se déformer. Le critère de stabilité du réseau formé représente un paramètre important à évaluer pour la qualité des futurs produits finis.

b) Autolyse

Ce procédé est parfois employé par les boulangers. Il permet d'assouplir le gluten. Il consiste à laisser reposer entre 20 et 40 min la pâte, composée uniquement de farine, d'eau et de sel, juste après le frasage. Pendant l'autolyse, les composants du réseau de gluten s'hydratent, se lient entre eux et s'assouplissent. On obtient alors des fibrilles de gluten bien soudées qui se travaillent plus facilement au pétrin et au moment du façonnage. L'autolyse améliore le lissage de la pâte et la scarification.

2) Fermentation

a) Définition

Le métabolisme fermentaire de la levure apporte à la pâte du dioxyde de carbone, de l'éthanol et des arômes. Le CO_2 retenu par le réseau glutineux permet à la pâte de prendre du volume, ce phénomène est appelé la pousse. La plus grande partie de la fermentation se déroule au cœur de la pâte, en l'absence d'air. En anaérobiose, 95 % du glucose est métabolisé par la fermentation alcoolique de la levure (Drapron *et al.*, 1999) suivant la réaction :

$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2\ CO_2 + 2\ C_2H_5OH$ + Energie

b) Pointage

C'est la première période de la fermentation qui s'effectue en masse et se déroule dans la cuve du pétrin ou en bacs. La production de gaz provoque une augmentation de volume des *nuclei* gazeux formés lors du pétrissage de la pâte. Le pointage permet également de donner de la force à la pâte. La prise de force correspond à une modification du réseau de gluten qui deviendrait plus tenace, plus élastique et moins extensible. Le boulanger doit veiller à ce que la pâte ne prenne pas trop de force. Si c'était le cas, la division et le façonnage effectués en machine seraient plus difficiles. Le deuxième rôle du pointage est de favoriser le développement des arômes du pain.

c) Division

Suite au pointage, la pâte est retirée de la cuve du pétrin et est divisée en pâtons de masse déterminée en fonction du produit fini désiré (baguette, bâtard, pain...). Le boulanger peut effectuer cette opération manuellement ou mécaniquement à l'aide d'une diviseuse. Ces appareils sont de deux types : les diviseuses hydrauliques à couteaux et les diviseuses volumétriques à piston. Le second type est utilisé dès que le boulanger veut automatiser une partie de sa fabrication.

Après la division, les pâtons obtenus sont mis en forme de boules ; cette opération est appelée boulage. Elle peut être réalisée à la main ou à l'aide de machines (des bouleuses).

d) Détente

Les pâtons sont ensuite mis au repos pendant la phase de détente. Celle-ci s'effectue en général dans une chambre de repos.

e) Façonnage

Le boulanger donne sa forme définitive au pâton et peut encore corriger d'éventuels défauts. Cette étape se pratique manuellement ou mécaniquement. Il existe des façonneuses horizontales ou obliques. À l'intérieur, la pâte est laminée, enroulée puis allongée. Selon le degré de fermentation et la consistance de la pâte, le serrage (ou compression) des pâtons est plus ou moins fort. Si une pâte manque de force, le serrage sera plus important. Dans le cas d'un façonnage manuel, chaque pâton est repris par le boulanger. Le façonnage manuel exige une certaine technicité de la part du boulanger.

f) Apprêt

C'est la dernière étape de fermentation avant la mise au four. Elle donne le volume au pain. Il correspond à la poussée gazeuse. Pour la réussite de l'apprêt, il est important que la pâte soit bien structurée. Pour cela, un bon équilibre entre les différentes catégories de protéines présentes dans la farine, gluténines et gliadines entre autres, est nécessaire afin d'apporter une ténacité et une extensibilité suffisante à la pousse et à la capacité de rétention de CO_2 de la pâte. Pour autant, le réseau glutineux ne doit pas être trop sollicité par un apprêt trop long. Les pâtons risqueraient de retomber à la cuisson. L'apprêt doit se dérouler dans de bonnes conditions de température (entre 25 et 28 °C) et d'hygrométrie (entre 75 et 80 %). Il est plus facile de maîtriser ces deux facteurs en réalisant l'apprêt dans des enceintes climatisées, appelées chambres à pousse contrôlée.

g) Scarification

Cette étape, pendant laquelle le boulanger pratique à la surface des pâtons des coups de lame, a lieu entre la fin de l'apprêt et la cuisson. Donner des coups de lame au pâton (on dit aussi grigner, lamer ou scarifier) présente un double intérêt. D'une part, il permet au dioxyde de carbone de s'échapper là où le boulanger le souhaite. Si ces incisions n'étaient pas pratiquées, le pain éclaterait à la cuisson de façon anarchique.

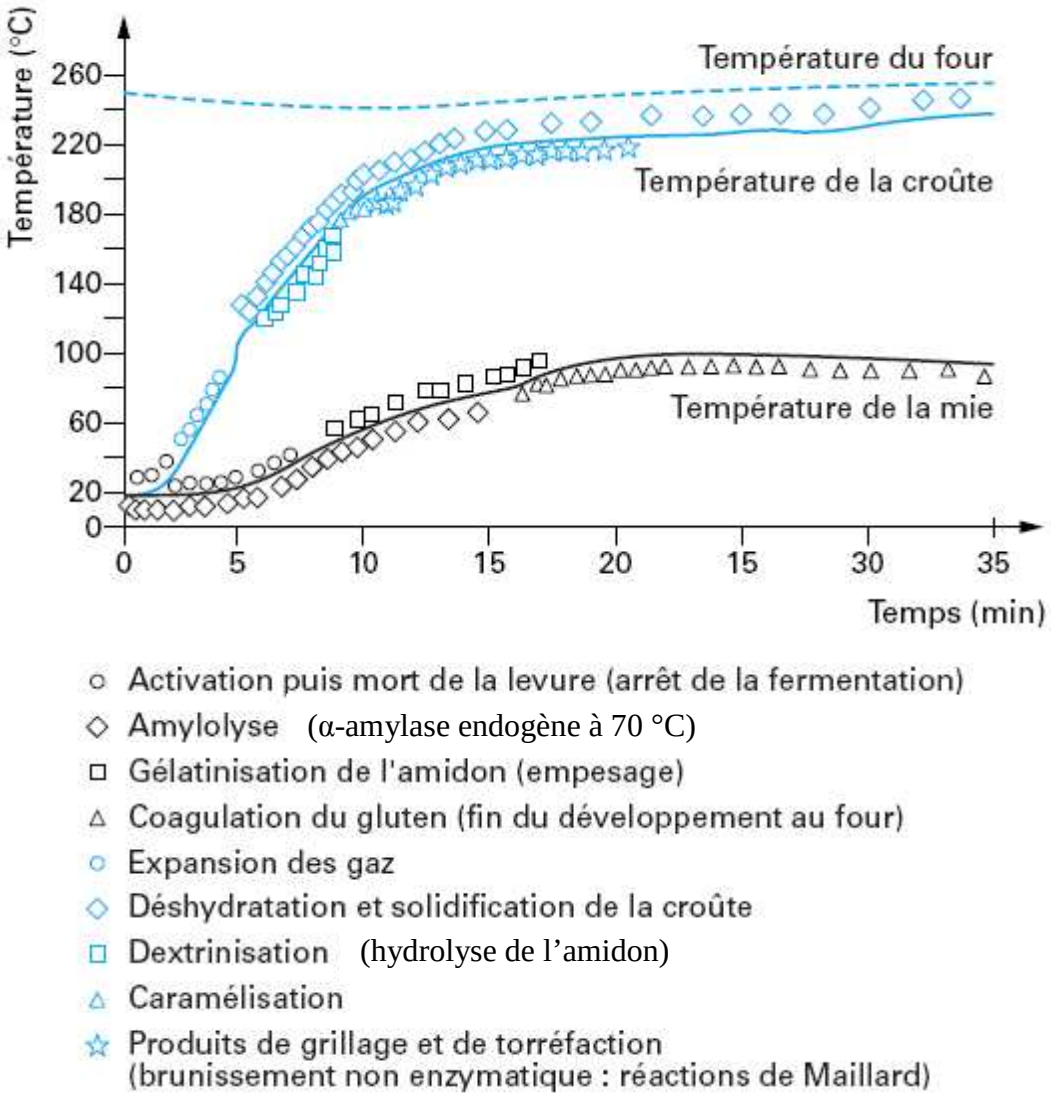


Figure 2.3 : Impact bio-physicochimique de la cuisson sur les pâtons (d'après Langraf, 2002).

D’autre part, dans l’esprit français, un bon pain est aussi un beau pain. La scarification a donc une valeur esthétique non négligeable et l’on parle d’ailleurs de la signature du boulanger.

3) Cuisson (Figure 2.3)

a) Définition

La température idéale de cuisson du pain français est de 250 °C. Avant d’enfourner, le boulanger introduit de la buée dans son four. Cette opération a plusieurs objectifs :

- entourer le pâton d’une mince pellicule d’eau qui assouplit la pâte et permet son dernier développement ;
- limiter l’évaporation de l’eau contenue à l’intérieur du pâton ;
- accentuer la finesse de la croûte et lui donner une couleur dorée.

L’élévation de la température du pâton au cours de la cuisson peut être décomposée en trois phases :

- jusqu’à 50 °C, la fermentation est accélérée puis stoppée par thermodestruction de la levure ;
- à partir de 60 °C, il y a une gélatinisation de l’amidon, une dénaturation thermique des enzymes et une coagulation du gluten. Le développement du pain est terminé ;
- de 80 à plus de 100 °C, il y a caramélisation et réaction de Maillard.

b) Ressuage

Le ressuage correspond au refroidissement du pain et commence dès la sortie du four. A ce moment, la température de la mie est proche de 100 °C. Le ressuage se caractérise par un dégagement de vapeur d’eau et de dioxyde de carbone. Le pain perd alors environ 1 à 2 % de sa masse et son volume diminue également. Des fêlures au niveau de la croûte peuvent être constatées. Au bout d’une heure, la température des pains obtenus ainsi que la composition de la phase gazeuse retenue dans la mie sont en équilibre avec le milieu extérieur.

c) Rassissement

Cette évolution des caractéristiques du pain au cours de sa conservation correspond à trois types d’altération :

- atténuation des qualités olfactives et gustatives due à la diffusion des constituants volatils de la croûte vers l’extérieur mais aussi vers la mie et inversement, et au fait que l’amidon forme des complexes avec ces constituants et les amène à un état non volatil et insoluble ;

- altération des qualités visuelles : la mie passe de translucide à terne et opaque ;
- dégradation des sensations buccales reposant sur des modifications de la structure et des caractéristiques de la mie qui passe de l'état tenace et souple à dure et friable.

Le rassissement ne doit pas être assimilé à une déshydratation du pain. Il résulte d'un changement de la répartition de l'eau de sorption entre le gluten et l'amidon ; simultanément intervient une réorganisation moléculaire de l'amidon (amylose + amylopectine) qui retrouve un état partiellement recristallisé (rétrogradation) entraînant ainsi une rigidification de la mie. On peut limiter la rétrogradation de l'amidon en utilisant des farines bises qui renferment des polyosides dont la structure est défavorable à ce mécanisme. Par exemple, les hémicelluloses possèdent une très forte affinité pour l'eau s'opposant à la rétrogradation de l'amylose. La cristallisation de l'amylose peut également être ralentie par l'addition d'agents émulsifiants tels que les monoglycérides ou les glycolipides qui complexent l'amylose et donne un pain de texture plus souple. Cependant, ces produits ont peu d'effet sur la rétrogradation de l'amylopectine (Langraf, 2002). Enfin, le procédé le plus largement répandu pour empêcher le rassissement est de surgeler le pain. Dans ces conditions, les constituants de la mie sont figés et peu sensibles à l'agitation moléculaire résiduelle.

4) Variantes

a) Pousse contrôlée

La fermentation contrôlée, ou pousse contrôlée, est une technique qui permet de différer dans le temps la phase de fermentation. Cette technique est rendue possible par les chambres de fermentation contrôlée. On distingue la pousse contrôlée lente et la pousse contrôlée bloquée.

Dans le cas de la pousse contrôlée lente, la fermentation du pâton façonné s'opère entre 10 et 12 °C. La durée de la pousse peut être diminuée ou augmentée par variation de la dose de levure et de la température de la chambre.

Dans le cas de la pousse contrôlée bloquée, la fermentation du pâton façonné est stoppée pendant 24 à 48 h. L'arrêt du métabolisme de la levure s'effectue à une température comprise entre 2 et 4 °C. La pousse ne reprend que lorsque la température de la chambre augmente.

Ces techniques nécessitent l'utilisation d'une farine de blé additionnée d'acide ascorbique et de gluten pour maintenir la structure du pâton.

c) Surgélation

- Surgélation d'une pâte crue :

Une surgélation de la pâte peut être réalisée avant ou après l'apprêt. Ce procédé permet de différer la fermentation. On distingue trois méthodes de surgélation :

- le cru boulé surgelé : le pâton est surgelé après avoir été boulé. Il est façonné après décongélation ;
- le cru façonné surgelé : il consiste à surgeler le pâton une fois façonné ;
- le prépoussé surgelé : le pâton est surgelé aux 3/4 de l'apprêt en vue de son stockage. Pour sa cuisson, il est introduit directement dans le four, sans décongélation préalable.

- Précuisson-surgélation :

Précuire le pain permet de réaliser une cuisson en deux temps. Le pain est cuit pendant environ 12 minutes, ce qui lui permet d'être suffisamment stabilisé pour pouvoir être surgelé. Puis, selon les besoins, la cuisson définitive est effectuée. La technique du précuit surgelé permet au boulanger de réagir rapidement à une demande imprévue.

2.4 Méthodes classiques de détermination des caractéristiques de la farine de blé et des pâtes

La farine est la matière première de nombreux produits alimentaires et doit s'adapter à des techniques de transformation aussi diverses que la fabrication du pain, des biscuits, de biscottes et de pâtisseries.

Les critères de la qualité d'un blé diffèrent selon son utilisateur. Du point de vue du producteur agricole, la qualité d'un blé se mesure essentiellement par son rendement à l'hectare. Le meunier, quant à lui, recherche principalement la plus forte valeur meunière qui représente l'aptitude du blé à produire un rendement élevé de farine de pureté déterminée et au meilleur coût suite aux opérations de fractionnement. Enfin, le boulanger qui utilise systématiquement des mélanges de farines de blé préparés par le meunier, juge de la valeur d'utilisation de la farine en fonction du type de produits qui sera conçu.

Le meunier, afin de proposer des produits de valeurs d'utilisation constantes, doit obtenir des farines issues de la mouture de différentes variétés de blés.

Tableau 2.4 : Grille de présentation des résultats de la méthode de panification NF V03-716.

Interprétations	insuffisance				excès			principe de calcul		
observations et notes	1	4	7	10	7	4	1	des notes		
Lissage								× 0,5	/ 5	
Collant de la pâte								× 0,5	/ 5	
Consistance										
Extensibilité								× 0,5	/ 5	
Elasticité								× 0,5	/ 5	
Relâchement								× 0,5	/ 5	
PETRISSAGE								total=	/ 25 × coef =	/ 25
Pousse en cuve										
Détente : relâchement								× 1		
POINTAGE								total=	/ 10	/ 10
Allongement								× 0,5	/ 5	
Déchirement								× 0,5	/ 5	
Elasticité								× 0,5	/ 5	
Collant de la pâte								× 1	/ 10	
FACONNAGE								total=	/ 25 × coef =	/ 25
Activité fermentative								× 0,5	/ 5	
Déchirement								× 0,5	/ 5	
APPRET								total=	/ 10	/ 10
Collant de la pâte								× 1	/ 10	
Tenue								× 2	/ 20	
MISE AU FOUR								total=	/ 30 × coef =	/ 30
									total pâte	/ 100
Volume des pains								total=	/ 30	/ 30
Section								× 1	/ 10	
Couleur								× 2	/ 20	
Epaisseur								× 0,5	/ 5	
Croustillant								× 0,5	/ 5	
Coup : **Développement**								× 1	/ 10	
de : Régularité								× 1	/ 10	
lame : Déchirement								× 1	/ 10	
ASPECT DU PAIN								total =	/ 70 × coef =	/ 70
									total pain	/ 100
Couleur								× 1	/ 10	
Texture : souplesse								× 1	/ 10	
Elasticité								× 1	/ 10	
Collant								× 1	/ 10	
Alvéolage : régularité								× 1	/ 10	
Epaisseur								× 1	/ 10	
Flaveur								× 4	/ 40	
ASPECT MIE									total mie	/ 100
								Valeur boulangère		/ 300

Les caractéristiques biochimiques de chaque farine produite sont : le taux de cendres, la quantité et la qualité des protéines, l'état d'endommagement de l'amidon, les activités enzymatiques, etc. Ces caractéristiques dépendent principalement :

- des spécificités intrinsèques du blé (génotype et phénotype) ou des blés utilisés ;
- des conditions culturales des blés ;
- du taux d'extraction de la farine à l'issue de la mouture ;
- des conditions de conservation de la farine.

La seule connaissance des variétés de blé utilisées par les meuniers pour ses mélanges n'est donc pas suffisante pour la détermination de la valeur boulangère de la farine vendue aux boulangers. Il est alors nécessaire de pratiquer parallèlement des essais visant à apprécier la valeur d'utilisation de la farine pour la fabrication de produits panifiés.

2.4.1 Méthode directe d'appréciation

La détermination de la valeur technologique d'une farine suppose la mise en oeuvre d'un test de fabrication normalisé. En France, le pain courant français est apprécié par la méthode normalisée AFNOR NFV03-716 (décembre 2008, Tableau 2.4 et figure 2.4).

La valeur boulangère fait apparaître des notions distinctes :

- le rendement en pâte, c'est-à-dire la quantité d'eau que peut absorber la farine pour une consistance donnée ;
- sa tolérance au pétrissage (en particulier au pétrissage intensifié) tout en conservant une bonne ténacité : pâte extensible et élastique sans être trop collante ;
- la machinabilité de la pâte, c'est-à-dire son aptitude à être travaillée aux différentes étapes de la panification jusqu'au stade de la cuisson. Cette caractéristique qualitative prend en compte des notions de collant, d'élasticité, de stabilité, d'aptitude à la déformation de la pâte ;
- une activité de fermentation suffisante et régulière ;
- le développement de la pâte et du pain. Il fait intervenir des caractéristiques de rétention gazeuse et d'aptitudes à la déformation ;
- la qualité organoleptique de la mie du pain (couleur, odeur, texture). Ces appréciations ont pour objet de différencier des caractéristiques de mie et de déceler des anomalies mais en aucun cas d'émettre un jugement par rapport aux attentes de consommateurs.

Critère	Caractère apprécié de la pâte
Consistance (1)	Caractéristiques viscoélastiques
Collant (2)	Adhérence de la pâte au dos de la main
Extensibilité (3)	Capacité d'allongement jusqu'à rupture
Elasticité (4)	Capacité à reprendre et vitesse de retour à la forme initiale
Relâchement	Tenue de la pâte

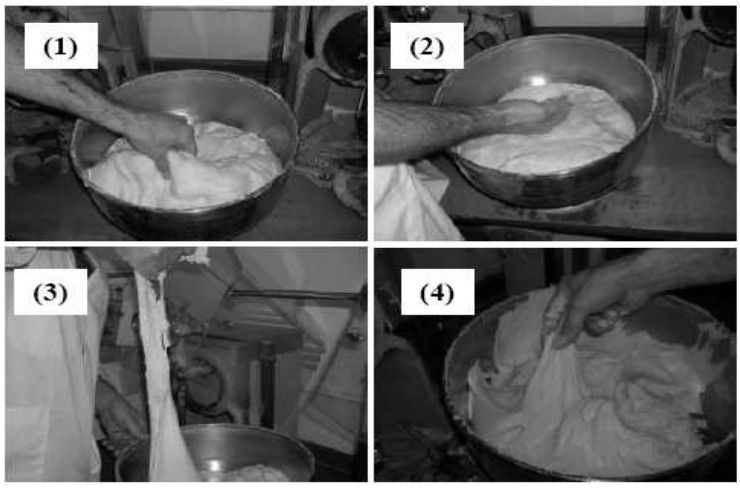


Figure 2.4 Appréciation manuelle de la qualité d'une pâte lors du pétrissage (Levavasseur, 2007).

La somme des observations appréciées, excepté le rendement en pâte indiqué séparément, constitue la note de valeur boulangère exprimée sur 300 points, celle-ci est divisée en :

- note de pâte sur 100 points ;
- note de pain sur 100 points ;
- note de mie sur 100 points.

L'essai de panification de type français permet donc de déterminer l'aptitude des farines de blé tendre à la fabrication du pain courant français, de rechercher une formulation optimisée pour les farines et de contrôler l'aptitude des farines commerciales. Cet essai permet aussi de prévoir les qualités des pains obtenus au niveau artisanal ou industriel, et de relever les caractéristiques expérimentales permettant d'adapter le ou les diagrammes de fabrication appropriés à ces farines.

Le boulanger fait donc appel à son savoir faire pour apprécier les caractéristiques des pâtes et des pains. Sur les pâtes, le boulanger perçoit, grâce au toucher et à la vue, des différences de comportement physique qu'il est difficile de sentir ou d'apprécier pour un non professionnel (Figure 2.4). Ces comportements sont associés à des caractéristiques physiques des pâtes qu'il est important de définir. La notation suppose donc une grande rigueur pour limiter la subjectivité du jugement.

2.4.2 Méthodes indirectes de détermination des caractéristiques d'une farine

La valeur d'utilisation d'une farine en boulangerie est liée à sa composition chimique. Pour cette raison la mise en œuvre d'analyses indirectes peut présenter un intérêt par rapport à l'analyse directe représentée par l'essai de panification (Tableau 2.5). On peut citer par exemple la rapidité, le coût, la répétabilité et la reproductibilité. Cependant, la caractérisation biochimique de la farine, bien qu'apportant des informations permettant de comprendre le comportement d'une pâte au cours de sa transformation, ne permet pas de prédire avec certitude sa valeur boulangère.

Tableau 2.5 : Principales méthodes normalisées de l'analyse des farines et des pâtes.

Caractéristiques évaluées	Méthode	Norme
Taux de cendres	Incinération à 900 °C.	AFNOR V03-720
Teneur en eau	Pesée après séchage à 130 °C pendant 1h45.	AFNOR NF V03-707
Taux de protéines	Méthode Kjeldahl par minéralisation de l'azote contenu dans les protéines.	NF EN ISO, 20483 janvier 2007
	Méthode de Dumas mesure le volume d'azote dégagé après avoir transformé l'azote contenu dans l'échantillon en gaz.	NF EN ISO 16634-1, décembre 2008
	Spectroscopie infrarouge	
Amidon endommagé	Méthode ampérométrique mesurant l'absorption d'iode par une solution d'amidon. Cette mesure peut être réalisée à l'aide d'appareils spécifiques tel que le SDmatic de Chopin.	NF V03-731
Acidité grasse	Extraction des lipides et détermination du pH	NF ISO 7305 Novembre 1998
Indice de Zélény	Mesure du volume d'un dépôt issu d'un mélange farine/acide acétique dilué. Le volume dépend de la capacité d'absorption d'eau par le gluten et de son gonflement.	NF EN ISO 5529
Activités amylasiques	Temps de chute de Hagberg.	NF EN ISO 3093, mars 2010
	Amylographe de Brabender : évaluation de la variation de la viscosité (unité Bradender) d'un mélange farine-eau en fonction de la température et de la durée de mesure.	ISO 7973:1992
Capacité d'hydratation de la pâte, temps de développement de la pâte, tolérance au pétrissage	Farinographe	AACC 54-21.01
Analyser la fermeté de la pâte	Consistographe	AACC 54-50
Force boulangère (W, bien corrélée avec la quantité de gluten), ténacité maximum à la déformation (P), capacités d'extension biaxiale (G), l'équilibre physique des différentes caractéristiques d'une pâte (P/L), indice d'élasticité (Ie)	Alvéographe Chopin	NF EN ISO 27971, juillet 2008
Résistance opposée par la pâte à une déformation exercée par un crochet placé en son milieu et qui descend à vitesse constante	Extensographe	ISO 5530-2
Capacité de production de CO_2 et de gonflement de la pâte	Rhéofermentomètre	AACC 89-01

Ainsi, des analyses rhéologiques de mélanges farine-eau peuvent être réalisées afin d'obtenir des résultats complémentaires, qui malgré tout ne permettent pas d'anticiper complètement le comportement d'une farine lors de la panification.

Taux de cendres (Tableau 2.6, AFNOR V03-720)
Le taux de cendres correspond à la quantité de matière minérale provenant principalement du son et présente dans la farine. Plus le taux d'extraction diminue, plus la quantité de son résiduelle dans la farine diminue, plus le taux de cendres dans cette dernière est faible. La classification des farines est déterminée en fonction de ce taux et permet à l'utilisateur de connaître les possibles applications boulangères de sa matière première.

Teneur en eau (AFNOR NF V03-707)
La teneur en eau des farines est un paramètre important dont dépend le taux d'hydratation des pâtes, elle doit se situer entre 10 et 16 % de la farine humide et est généralement comprise entre 13 à 15 % de la farine humide pour que la farine se conserve convenablement.

Taux de protéines (Tableau 2.7, NF EN ISO 20483 janvier 2007 et 16634-1 décembre 2008)
Il est établi que des quantités trop faibles de protéines ne permettent pas d'obtenir de bons résultats dans la fabrication du pain. D'après Levavaseur (2007), 9 à 10 % de protéines représente la teneur minimale pour une farine de type T 55 destinée à la panification.
En revanche, s'il est possible de fixer un seuil minimum au-dessous duquel on a la certitude d'obtenir des résultats insuffisants, il n'a pas été défini de valeur cible de teneur en protéines car il n'a pas été possible de déterminer de seuil maximal de protéines pouvant engendrer des défauts de fabrication du pain français (machinabilité difficile, expansion moindre de la pâte, section ronde des pains, diminution du croustillant…).

Acidité grasse (NF ISO 7305 Novembre 1998)
Acidité générée par les acides gras libres contenus dans la farine. Ces molécules proviennent de l'hydrolyse des TAG, DAG et MAG par les lipases. Une valeur trop élevée de cet indice témoigne d'une mauvaise conservation de la farine ainsi que d'une mauvaise valeur d'utilisation.

Tableau 2.6 : Classification des farines selon leur taux de cendres.

Type de farine	Taux Cendres (% ms)	Humidité (% mh)	Taux moyen d'extraction (à titre indicatif)	Utilisation
45	0,50	15,5	67	Pâtisserie
55	de 0,50 à 0,60	15,5	75	Pain ordinaire
65	de 0,62 à 0,75	15,5	78	Pains spéciaux
80	de 0,75 à 0,90	15,5	80-85	Pains spéciaux
110	de 1,00 à 1,20	15,5	85-90	Pain bis
150	plus de 1,40	15,5	90-98	Pain complet

Tableau 2.7 : Valeurs indicatives des teneurs en protéines nécessaires en panification selon les procédés de fabrication du pain français (PA : Pétrissage Amélioré, PI : Pétrissage Intensifié, Roussel, 2005).

Type de produit fini	Taux de protéines de la farine utilisée (% ms)
Pain au levain	8 - 10
Pain de tradition (PA, pousse normale)	9 - 10
Pain de tradition (PA, pousse lente)	10,5 - 11,5
Pain courant français (PI, pousse normale)	10 - 11
Pain courant français (PI, pousse contrôlée)	10,5 - 11,5
Pain courant français (PI, pâte crue surgelée)	11 - 13
Pain courant français (PI, prépoussé surgelé)	> 15

Tableau 2.8 : Classification des activités amylasiques de la farine (Roussel, 2005).

Activités	Temps de chute de Hagberg (secondes)	Amylographe de Brabender (unités Brabender)
Faibles	> 300	> 400
Normales	250 – 300	300 - 400
Fortes	< 250	< 300

Amidon endommagé (NF V03-731)

L'amidon natif est capable d'absorber environ 0,33 g d'eau.g^{-1} d'amidon, alors que les amidons endommagés absorbent environ 1 g d'eau.g^{-1} d'amidon (Champ, 1993). Ainsi, pour une même consistance de pâte, l'augmentation de la teneur en amidon endommagé implique une augmentation de l'apport en eau. A l'inverse, pour un taux d'hydratation de pâte constante, on obtient une pâte plus ferme et moins extensible lorsque la teneur en amidon endommagé augmente.

Cependant, l'eau supplémentaire apportée à la pâte, suite à la présence d'amidon endommagé, est peu liée et est susceptible d'être évacuée du pâton au cours de la fermentation et/ou de la cuisson. En outre, un excès d'amidon endommagé augmente le collant des pâtes et amplifie l'impact de la fermentation sur la pâte, car plus l'amidon est endommagé, plus il est hydrolysé et produit des oses fermentescibles par la levure. Or un excédent de fermentation peut déstructurer la pâte aboutissant à un relargage d'eau et une perte de volume à cause d'une diminution de la capacité de rétention du CO_2 produit. Après la cuisson, le produit contenant une trop forte quantité d'amidon endommagé peut manquer de volume, présenter une couleur rouge excessive (réaction de Maillard trop importante) et une croûte trop lisse.

Indice de Zélény (NF EN ISO 5529, juin 2010)

Permet de déterminer la capacité d'absorption d'eau par le gluten ainsi que son gonflement.

Activité α-amylasique (Tableau 2.8, NF EN ISO 3093, mars 2010, ISO 7973:1992)

Cette activité correspond celle des α-amylases endogènes à la farine de blé qui sont capables d'hydrolyser l'amidon et de former des α-dextrines, du maltose et du glucose. L'activité amylasique de la farine est en grande partie dépendante des conditions climatiques avant et pendant la récolte ainsi que des conditions de conservation après la récolte.

Un blé humide atteint rapidement le stade de prégermination et de germination, développant ainsi les activités enzymatiques et en particulier celles d'hydrolyse permettant l'apport de molécules simples, utilisables pour le développement de la nouvelle plante. L'activité amylasique doit être déterminée car, si elle est excessive, certains défauts peuvent apparaître en boulangerie comme le collant des pâtes, l'excès de fermentation, une diminution du volume des pains et un rougissement excessif de la croûte.

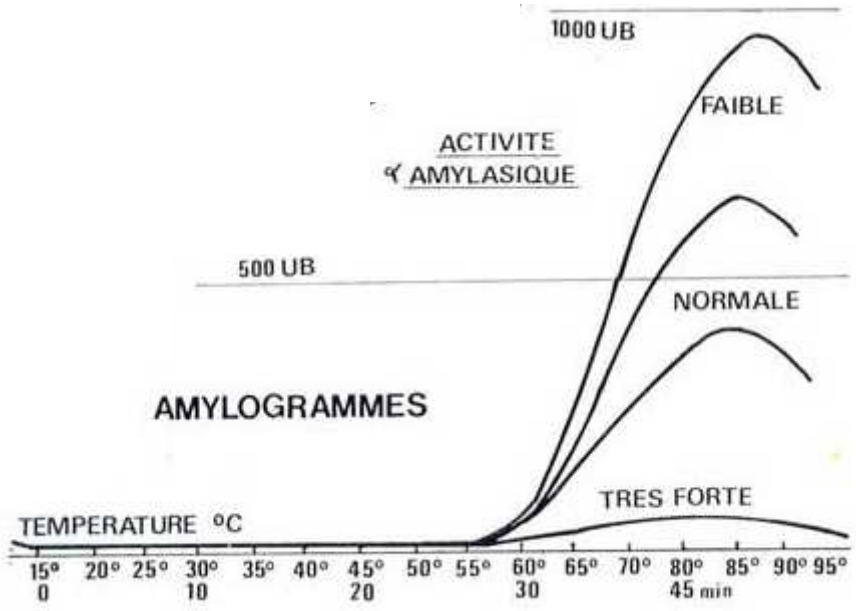


Figure 2.5 : Exemples d'amylogrammes exprimés en unités Bradenber (UB) (www.boulangerie.net).

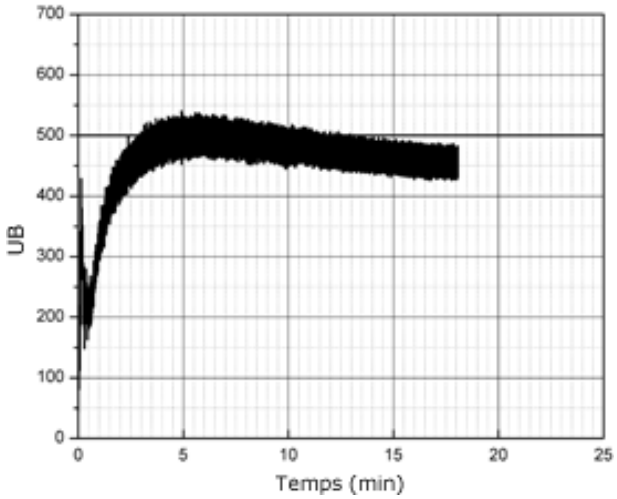


Figure 2.6 : Exemple de farinogramme.

Tableau 2.9 : Indices mesurés à l'aide du farinographe dans le cadre d'une utilisation en panification française (Roussel, 2005).

Appréciation	Hydratation (%)	Stabilité (min)	Affaiblissement (UB)
insuffisant	< 50	< 2	> 100
moyen	50 - 55	2 - 4	50 - 100
bon	55 - 60	4 - 10	20 - 50
très bon	> 60	> 10	< 20

A l'inverse un défaut d'activité amylasique entraîne un manque d'activité fermentaire et donc des pains moins développés ayant une couleur de croûte pâle. Deux méthodes permettent de déterminer l'activité amylasique : le temps de chute de Hagberg et l'amylographe de Brabender (Figure 2.5)

2.4.3 Caractéristiques rhéologiques des pâtes

La rhéologie est l'étude des phénomènes qui induisent le comportement physique de la matière, entre autres son écoulement et sa déformation sous l'effet d'une contrainte. Ceci permet de déterminer les caractéristiques physico-chimiques d'une matrice influençant directement les propriétés fonctionnelles des aliments. Dans le cas d'une pâte de farine de blé tendre, une grande partie des caractéristiques viscoélastiques se développe lors du pétrissage et se révèle dès la sortie de la cuve de pétrin jusqu'à la cuisson. L'analyse rhéologique de la pâte permet donc d'évaluer d'éventuels défauts de formulation avant la cuisson ou l'impact d'ingrédients sur la structuration de la pâte (Tableau 2.5).

a) Mesure rhéologique à l'aide de pétrins instrumentés

Farinographe de Brabender (AACC 54-21.01)

Le farinographe est un pétrin enregistreur équipé d'un moteur dynamométrique qui mesure en continu le couple résistant opposé par la pâte au mouvement des bras de pétrin (Figure 2.6). Ce couple est exprimé en Unités Brabender (UB) ou Unités Farinographe (UF). La méthode 54-21.01 de l'AACC permet d'identifier les critères suivants (Tableau 2.9) :

- le taux d'absorption d'eau de la farine ;
- le temps de développement de la pâte ;
- l'affaiblissement de la pâte (tolérance au surpétrissage) ;
- la stabilité (durée pendant laquelle la consistance de la farine est égale à 500 UB).

Ces valeurs peuvent être corrélées avec le comportement de la pâte au pétrissage en boulangerie. Le farinographe apporte donc des informations intéressantes dans le jugement de la qualité des farines.

Le mixographe

Inventé en 1930, ce pétrin à aiguilles permet de mesurer la consistance de la pâte, ainsi que le couple moteur pendant la formation de la pâte. Les paramètres étudiés sont :

- le pic de consistance ;
- la durée d'apparition du pic de consistance ;
- la valeur du couple en fin de pétrissage.

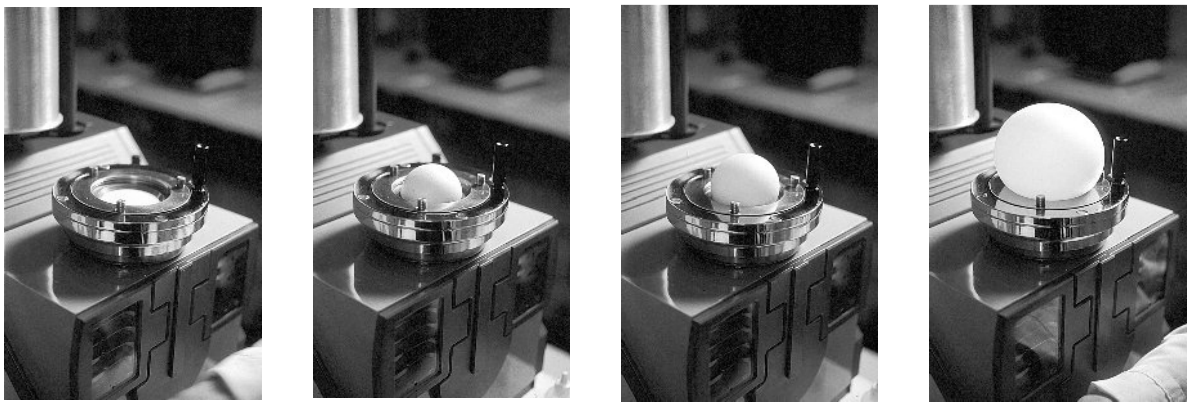


Figure 2.7 : Evolution du gonflement du film de pâte à l'aide de l'alvéographe (Roussel, 2005).

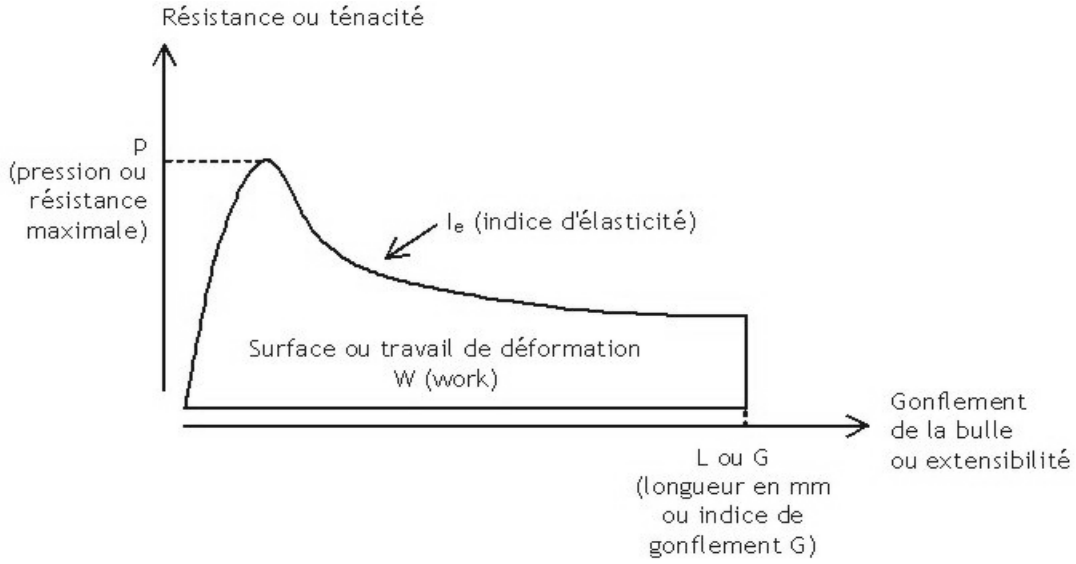


Figure 2.8 : Exemple d'alvéogramme et représentation graphique des indicateurs du gonflement du film de pâte. L'axe des abscisses représente également une durée (Roussel, 2005).

Tableau 2.10 : Analyse des paramètres alvéographiques en fonction d'une utilisation en panification française (Roussel, 2005).

Appréciations	P	G	Ie	W
Insuffisant	< 40	< 20	< 35	< 150
Moyen	40 - 60	20 - 22	35 - 45	150 - 180
Bon	60 - 80	22 - 24	45 - 55	180 - 220
Elevé	> 80	> 24	> 55	> 220

Le consistographe (AACC 54-50)

Le consistographe de Chopin est un pétrin enregistreur muni d'un capteur de pression dans le corps de la cuve régulée en température. Le capteur enregistre la pression exercée par la pâte lorsque celle-ci est comprimée lors du passage du fraseur. La pression enregistrée dépend essentiellement de la viscosité de la pâte au cours du pétrissage. Cet appareil peut être utilisé à consistance de pâte constante (adaptation de l'hydratation de la farine) ou à hydratation constante (définition d'une zone de consistance adaptée).

b) Analyse rhéologique sur pâte pétrie

Alvéographe Chopin (NF EN ISO 27971, juillet 2008, Figure 2.7)

Cet appareil enregistre les caractéristiques de la déformation d'une lame de pâte soumise à un gonflement. Cette déformation est comparable à celle qui intervient au cours de la formation d'une alvéole de pâte sous la pression du gaz carbonique produit lors de la fermentation. L'appareil permet la compression d'air sous la lame de pâte et un enregistreur trace la courbe des variations de pression au fur et à mesure que la bulle de pâte se développe en même temps que ses parois s'amincissent jusqu'à son éclatement (Figure 2.8). Les indices déterminés par cet appareil sont : la pression maximale enregistrée qui représente la ténacité de la pâte, la longueur du diagramme du début de la formation de la bulle jusqu'à son éclatement qui est en rapport avec son extensibilité et la surface de la courbe qui représente le travail nécessaire pour déformer le pâton jusqu'à sa rupture (Tableau 2.10).

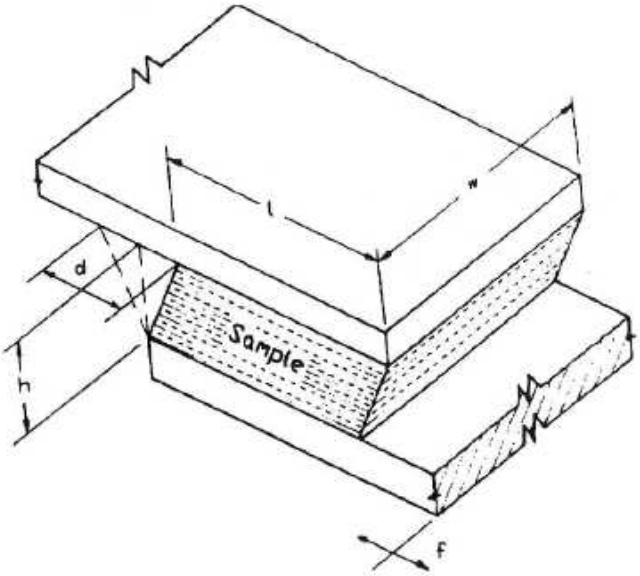
L'extensographe (ISO 5530-2:1997)

Après un boulage, un façonnage et une phase de repos, la pâte est fixée à un support par ses extrémités et est soumise à une déformation exercée par un crochet placé en son milieu et qui descend à vitesse constante. On enregistre en fonction du temps la résistance opposée par la pâte à cette déformation jusqu'à sa rupture.

c) Analyses rhéologiques complémentaires

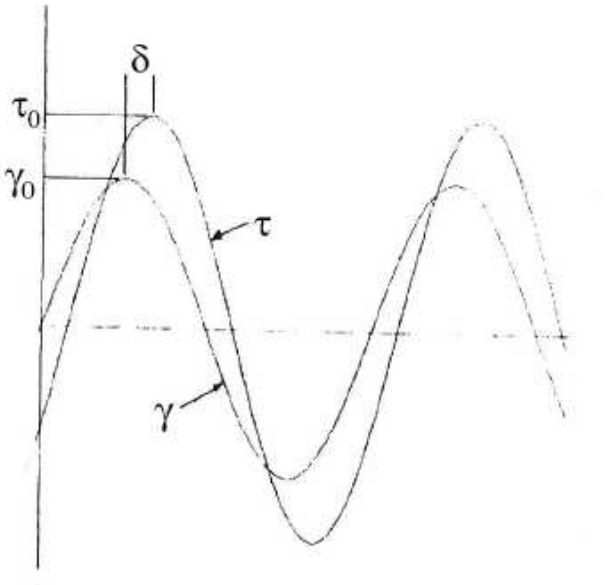
Rhéologie dynamique à faibles déformations

Cette analyse consiste à mesurer la contrainte "τ", lorsqu'une faible déformation est imposée à un échantillon de pâte (Figure 2.9). L'échantillon de pâte à analyser est placé entre deux plaques. Lorsque la plaque supérieure oscille, une déformation est appliquée à la pâte qui transmet à la plaque inférieure une partie de la force "γ" qui lui a été imposée.



Montage des plaques parallèles pour test dynamique.
d = déformation, f = force transmise à travers l'échantillon,
h = hauteur de l'échantillon, l = longueur de l'échantillon,
w = largeur de l'échantillon.

Figure 2.9 : Représentation schématique d'un appareil de mesure rhéologique dynamique (Levavasseur, 2007).



τ : Amplitude du mouvement sinusoïdal de la plaque supérieure
γ : Mouvement transmis à la plaque inférieure par l'échantillon
δ : Décalage de phase

Figure 2.10 : Courbes obtenues pas un rhéomètre dynamique (Levavasseur, 2007).

Grâce aux courbes de contrainte et de réponse, on détermine l'amplitude des mouvements sinusoïdaux des deux plaques (supérieure et inférieure) ainsi que le décalage de phase "δ" (Figure 2.10). Pour information, $\delta = 2\pi \times \frac{t}{T}$ avec t = temps de décalage entre τ_0 et γ_0 et T = période du signal sinusoïdal de la plaque supérieure.

Trois paramètres sont extraits des courbes de la Figure 2.10 :

- G' ou module conservatif, fait référence à la composante élastique des propriétés viscoélastiques de la pâte ;

$$G' = \left(\frac{\tau_0}{\gamma_0}\right) \times \cos(\delta)$$

- G''ou module dissipatif, représente l'énergie perdue par le système et fait référence à la composante visqueuse de la pâte ;

$$G'' = \left(\frac{\tau_0}{\gamma_0}\right) \times \sin(\delta)$$

- tan δ ou rapport viscoélastique, reflète l'importance relative des caractères élastiques et visqueux de la pâte.

$$\tan\delta = \frac{G''}{G'}$$

Un échantillon totalement élastique provoque un déphasage nul (δ=0) tandis qu'un échantillon visqueux donne une valeur de δ égale à 90 ° ($\frac{\pi}{2}$ rad) (Hoseney, 1994 ; Berland et Launay, 1995).

Rhéologie aux grandes déformations

Les tests de compression-relaxation permettent d'étudier le comportement rhéologique des pâtes aux grandes déformations. Ils consistent à compresser un échantillon cylindrique de pâte entre deux plaques, dont une mobile et l'autre fixe, puis à imposer une phase de relaxation en maintenant constant le taux d'écrasement de l'échantillon.

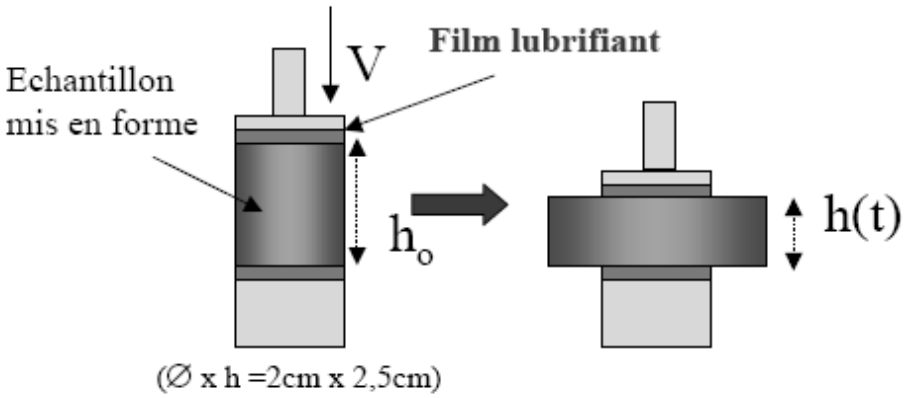


Figure 2.11 : Compression uniaxiale en condition lubrifiée.

- Compression uniaxiale lubrifiée (Figure 2.11) :

Lors de la compression, la force exercée impose une extension biaxiale, entraînant une augmentation de surface de l'échantillon de pâte. Pour limiter le cisaillement au niveau des extrémités fixes et les frictions, la compression se fait en conditions lubrifiées (Macosko, 1994).

Cette analyse permet de calculer :

- la contrainte $\delta_{(t)} = \frac{F_{(t)}}{\pi \times R^2}$ $F_{(t)}$: force exercée ; R : rayon de la surface compressée

- la déformation ε_b et la vitesse de déformation $\dot{\varepsilon}_b$

$\varepsilon_b = \frac{1}{2} \times \ln\left(\frac{h_0}{h_{(t)}}\right)$ h_0 : hauteur initiale de l'échantillon

$h_{(t)}$: hauteur à l'instant t

$\dot{\varepsilon}_b = -\frac{1}{2 \times h} \times \frac{dh}{dt}$ $-\frac{dh}{dt}$: vitesse du plateau supérieur

- Relaxation et propriétés viscoélastiques (Davidou *et al.*, 2008)

Suite à la compression d'un échantillon de pâte lubrifié à une vitesse et un taux d'écrasement donnés, il se produit une relaxation des contraintes dans le temps. Si la déformation est maintenue, un solide élastique ne présente aucune relaxation de contrainte, alors qu'un fluide visqueux parfait présente une relaxation immédiate. L'indice de relaxation (IR) représentatif de l'élasticité de la pâte est calculé à partir des courbes de compression relaxation. La valeur de l'IR d'un produit visqueux tend vers 1, elle tend vers 0 pour un produit élastique.

2.4.4 Analyse d'une pâte en cours de fermentation

Rhéofermentomètre (ou zymotachygraphe, AACC 89-01, Tableau 2.5)

Le rhéofermentomètre est un appareil mesurant la quantité de gaz carbonique produit en cours de la fermentation. Tout d'abord, on place un échantillon de pâte d'environ 300 g dans une cuve cylindrique thermostatée, puis deux configurations de l'appareil alternent.

1°) Configuration étanche

Une masse métallique tarée et reliée à un piston est déposée sur l'échantillon. La mesure du déplacement de ce piston permet de déterminer la courbe de développement correspondant à l'augmentation du volume de la pâte.

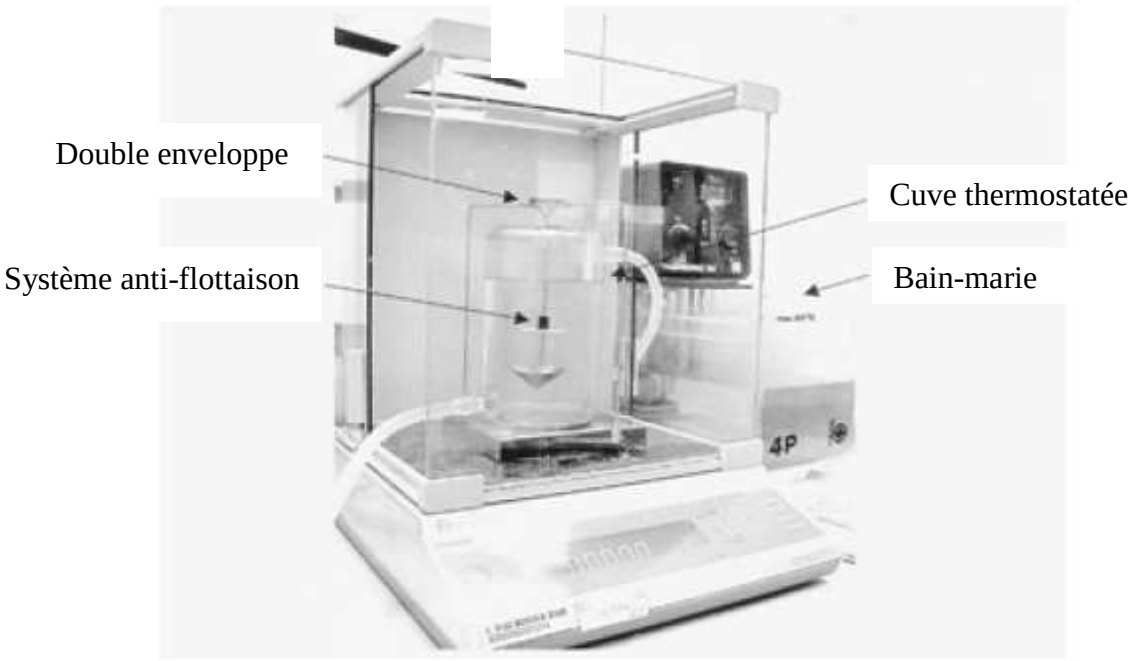


Figure 2.12 : Système de détermination de la masse volumique d'un échantillon de pâte au cours de la fermentation par immersion dans du xylène (d'après Campbell *et al*., 2001).

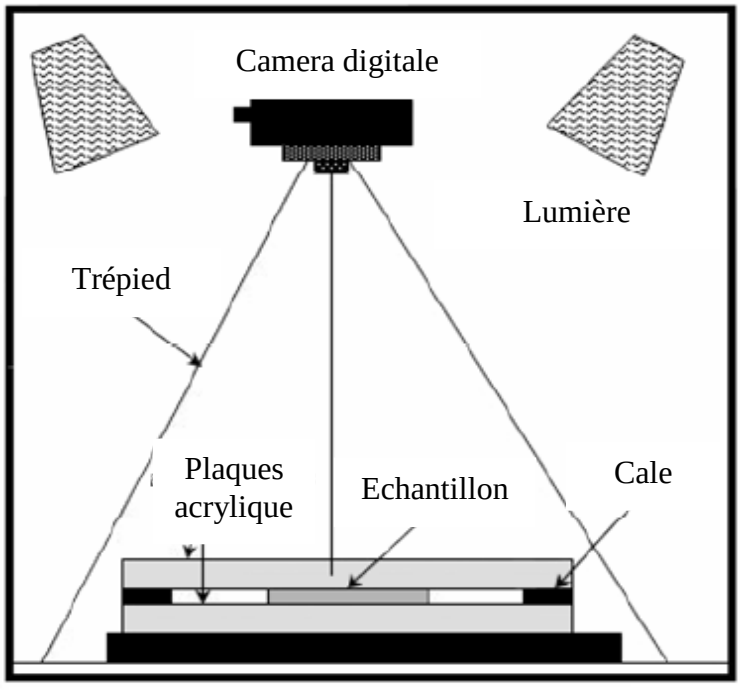


Figure 2.13 : Détermination de la densité d'un échantillon de pâte à l'aide d'une caméra digitale par la détermination de l'évolution de la surface occupée par l'échantillon (Elmehdi *et al.*, 2007).

Par ailleurs, un capteur de pression permet de déterminer le volume d'air déplacé par la levée de la pâte et la diffusion de CO_2 dans l'atmosphère au cours de la fermentation.

2°) Configuration ouverte

La cuve thermostatée est reliée à un réservoir de chaux piégeant le CO_2 présent dans le volume d'air déplacé par la levée de la pâte. Dans ce cas, le capteur de pression permet de mesurer strictement la pression de l'air déplacé par la levée de la pâte donc par le CO_2 produit et retenu dans la pâte. La superposition des courbes de pression issues des configurations 1 et 2 permet de déterminer un ΔP et *in fine* un volume correspondant au CO_2 qui a diffusé hors de la pâte au cours de la fermentation.

Ce système permet donc de déterminer la quantité de CO_2 retenue dans la pâte mais aussi la quantité de CO_2 produite et donc la porosité de la pâte.

Autres méthodes

Plusieurs équipes de recherche ont mis au point des techniques permettant de mesurer en temps réel la densité de la pâte au cours de la fermentation. Campbell *et al.* (2001) a proposé une méthode pycnométrique pour suivre l'évolution de la densité de la pâte pendant la fermentation en immergeant un échantillon de 10 g de pâte dans du xylène qui a la particularité de ne pas mouiller ni de dissoudre la pâte (Figure 2.12). L'évolution du poids de la pâte dans le xylène est mesurée en continu par une balance. Lorsque la balance indique un poids nul, l'échantillon flotte, sa masse volumique est égale à celle du xylène. Une seconde méthode de mesure de densité de la pâte a été développée par Elmehdi *et al.* (2003) en analysant par imagerie l'évolution de la surface d'un échantillon de masse connue et placé entre deux plaques acryliques (Figure 2.13).

2.5 Les composants de la pâte lors du pétrissage

2.5.1 Levure et levain

a) Levure

Pour une quantité de levure pressée (*S. cerevisiae*) de 2,5 g pour 100 g de farine humide, environ 2.10^{11} cellules sont inoculées par kg de farine humide (Guinet, 1978).

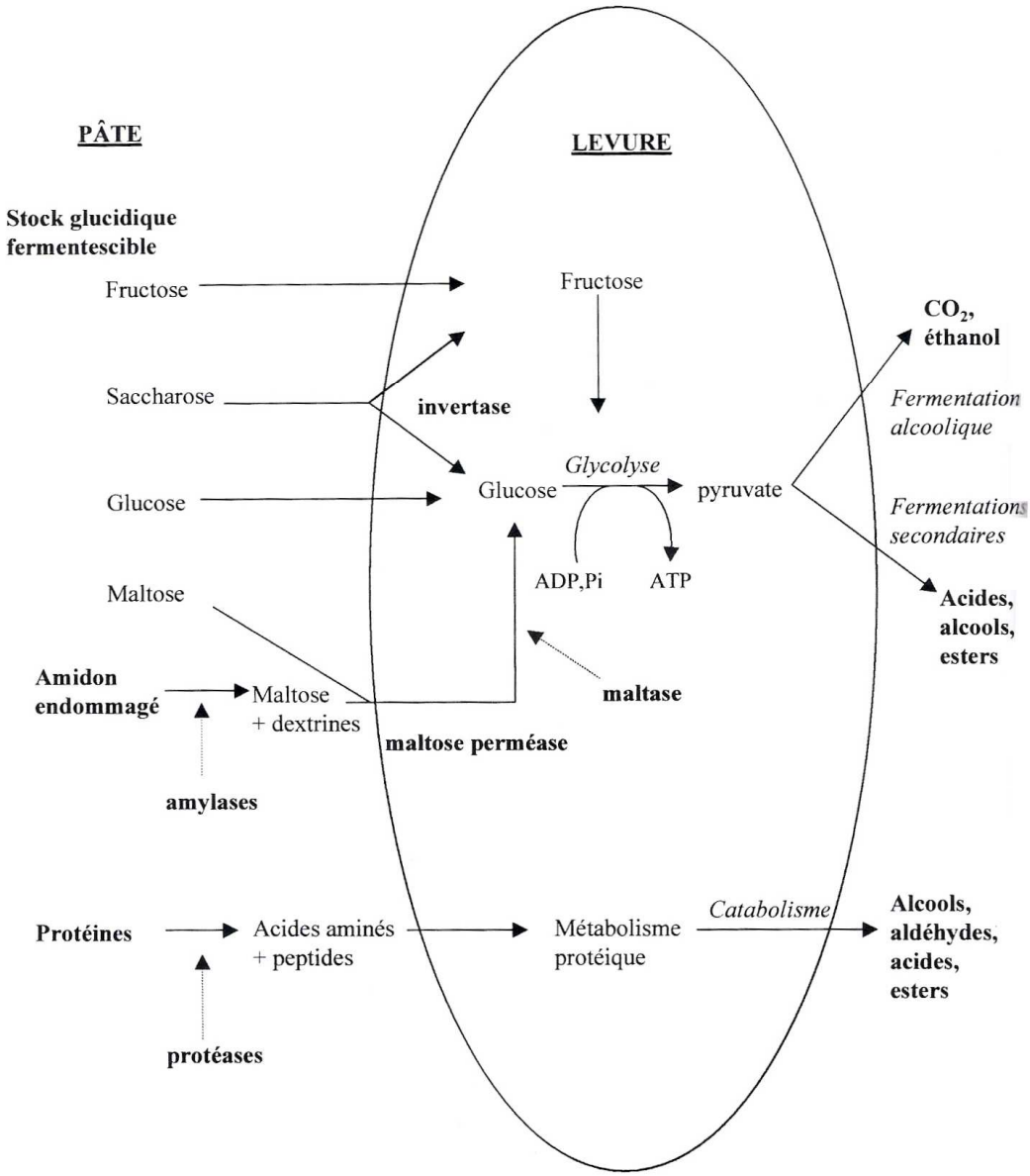


Figure 2.14 : Rôle des hydrolases dans la fermentation (Potus *et al.*, 1996).

A partir des glucides fermentescibles de la farine et de ceux libérés par les amylases du blé, les levures produisent par fermentation du CO_2 et de l'éthanol ainsi que des acides organiques (Roussel et Chiron, 2002 et Figure 2.14). Le CO_2 produit est responsable de l'expansion des bulles de gaz pendant la fermentation et le début de la cuisson.

Les boulangers utilisent essentiellement deux types de levures (Langraf, 2002) :

- le premier type est la levure fraîche pressée qui est le plus utilisé en France. De consistance pâteuse et très friable, son activité fermentaire peut être lente ou rapide. La levure rapide est moins répandue que la lente, elle contient plus de protéines et occasionne dès le début de la fermentation une production importante de CO_2 qui ralentit ensuite rapidement ;
- le deuxième type est la levure sèche conditionnée sous vide. Ce produit est essentiellement utilisé dans les pays chauds pour sa longue conservation et sa facilité de stockage. Cette levure est obtenue par déshydratation de levure fraîche et permet de diviser sa masse par trois. Elle peut être directement mélangée à la farine sans réhydratation préalable.

b) Levain

La fonction du levain est d'assurer la levée de la pâte. Ce produit se présente traditionnellement comme une pâte à base de farine de blé et de seigle qui ne comprend pas de levure boulangère ajoutée volontairement. La fermentation se fait à partir des levures sauvages et des bactéries présentes dans les matières premières utilisées ou dans l'air ambiant du fournil et qui favorisent une fermentation acide.

L'addition de levure de panification est toutefois admise dans la pâte lors de la pétrissée finale (0,2 % maximum par rapport à la masse de farine mise en œuvre à ce stade). Le levain peut faire l'objet d'une déshydratation sous réserve que, sous sa forme déshydratée, il contienne une flore vivante de bactéries de l'ordre d'un milliard de bactéries alimentaires et d'un à dix millions de levures par gramme.

Après réhydratation, et éventuellement ajout de levure de panification dans les conditions citées ci-dessus, le levain est apte à faire lever correctement les pâtons. Le levain peut également faire l'objet d'un ensemencement de micro-organismes autorisés.

c) Levure désactivée

Cette levure a perdu sa capacité fermentaire suite à un traitement thermique conduisant à la lyse de sa membrane cellulaire. Son contenu cellulaire, dont le glutathion, passe dans la pâte. Il en résulte une diminution de la réticulation des protéines du gluten ayant pour conséquences :

- d'améliorer la rapidité du lissage de la pâte au cours du pétrissage ;
- d'augmenter l'extensibilité des pâtons ;
- de diminuer la ténacité et l'élasticité des pâtes.

Les doses d'utilisation varient de 0,3 à 1 g pour 100 g de farine, selon la nature de cette dernière et les effets recherchés.

2.5.2 Eau

La teneur en eau d'une farine se situe en moyenne autour de 15 g pour 100 g de farine humide en fin de mouture. Plus la teneur en eau de la farine est importante, plus sa qualité risque de se détériorer rapidement pendant son stockage du fait des activités des hydrolases, des oxydases et du développement possible de moisissures, de levures et de bactéries.

Le taux d'hydratation d'une pâte est généralement compris entre 45 et 50 g pour 100 g de pâte humide. Pour le calculer, il est nécessaire de prendre en considération l'eau apportée par la farine mais aussi par les autres ingrédients, afin d'ajuster la quantité d'eau à ajouter dans la cuve du pétrin.

$$\text{Taux d'hydratation}\,(\%) = \frac{m_{\text{eau ajouté}} + m_{\text{eau de la farine}} + m_{\text{eau des ingrédients}}}{m_{\text{pâte humide}}} \times 100$$

L'eau permet l'hydratation des ingrédients et la formation de la pâte lors du frasage. Elle favorise les réactions biochimiques et sert également d'agent plastifiant en permettant aux protéines et à l'amidon de passer d'un état solide et rigide à un état plus malléable.

2.5.3 Chlorure de sodium (NaCl)

En panification, le chlorure de sodium est avant tout un agent sapide. Il a également un impact bio-physicochimique fort sur la pâte, on peut citer :

- une limitation de l'activité fermentaire de la levure ; plus la quantité de sel est grande, plus la durée de fermentation s'allonge (Langraf, 2002) ;
- un brunissement plus rapide de la croûte (Langraf, 2002) ;
- un impact sur la couleur de la pâte. La présence de NaCl inhibe partiellement l'activité lipoxygénasique du blé (Nicolas, 1978), or cette enzyme permet l'oxydation des pigments caroténoïdes et donc le blanchiment de la pâte et de la mie. Donc, plus le sel est incorporé tôt dans le processus de pétrissage, plus la pâte et la mie seront de couleur crème ;
- une augmentation brusque de la consistance de la pâte par une modification des interactions ioniques (Feillet, 2000). Cette augmentation de la consistance de la pâte peut être attribuée à l'hydratation des cristaux de sel qui diminue l'Aw de la pâte et à la modification de la force ionique du milieu qui pourrait modifier la répartition des interactions de faibles énergies entre les protéines du gluten (Preston, 1981), en diminuant leur solubilité et en favorisant leur agrégation. Les essais de Malet (2005) au consistographe ne vérifient pas l'augmentation de la consistance de la pâte, mais plutôt un gain de stabilité ainsi qu'une diminution de l'extractibilité des protéines, confirmant ainsi une augmentation des réticulations protéiques.

2.5.4 Oxygène

Selon Potus et Nicolas (2010), « pétrir c'est oxyder ». Le pétrissage d'une pâte a pour objectif d'incorporer de l'air à la pâte pour que l'oxygène puisse jouer son rôle d'oxydant. L'oxygène est considéré par ces auteurs comme le cinquième ingrédient de la pâte compte-tenu des quantités consommées, mises en évidence par Ameille *et al.* (2000), Celhay (2000), Eyoum *et al.* (2003) et Levavasseur (2007) à l'aide d'un pétrin bio-réacteur et du sitoxygraphe. Cet oxygène sert à oxyder les acides gras polyinsaturés par la lipoxygénase, l'acide ascorbique et les oses en cas d'ajout d'oses oxydase dans la pâte. Nous aurons l'occasion de revenir sur ce sujet. Cet oxygène consommé a également un rôle dans la structuration de la pâte puisqu'il a été montré que des pâtes pétries sous atmosphère pauvre en oxygène se développent peu (Graveland *et al.*, 1985).

2.5.5 Farine de blé tendre

2.5.5.1 Matières minérales

D'après le décret n° 63-720 du 13 juillet 1963, le taux de cendres définit les types commerciaux des farines. La teneur en matières minérales dépend du taux d'extraction de la farine car les matières minérales se situent essentiellement dans les zones anatomiques situées en périphérie du grain de blé. Les farines ayant un taux de cendres élevé sont donc plus riches en sons (enveloppe du grain de blé).

La qualité de farine de blé la plus commercialisée est de type 55 et correspond à un taux de cendres compris entre 0,5 et 0,6 % (soit un résidu minéral compris entre 0,5 et 0,6 g après incinération de 100 g de farine humide).

La quantité de matière minérale sert également de repère nutritionnel, pour cette raison le PNNS (2002 et 2005) a établi les recommandations suivantes (Observatoire du pain, 2006) :

- développer la consommation des pains fabriqués avec de la farine plus complète, par exemple de type 80 ;
- inclure le pain fabriqué à base de farine T80 dans le cahier des charges des restaurations collectives et commerciales, les municipalités et autres collectivités territoriales, associations. Cependant, les produit panifiés utilisant ce type de farine 80 sont organoleptiquement mal perçus par les consommateurs ;
- étudier la faisabilité d'une évolution de la réglementation sur le pain courant afin que l'indice minimal de la farine utilisée pour le pain courant soit d'au moins 65.

2.5.5.2 Glucides

Les glucides représentent 80 % des constituants de la farine ; peu sont sous forme d'oligosides (1 %), les autres sont des polyosides dont l'amidon (95 % des glucides totaux) et les arabinoxylanes et arabinogalactanes (2,5 % des glucides totaux).

a) l'amidon

L'amidon est un composé présent dans la farine sous forme de granules contenant deux types de polyosides qui se distinguent essentiellement par leur degré de branchement:

- l'amylose (26-28 %) composée de chaînes linéaires de D-glucose reliés en α-(1,4) ;
- l'amylopectine (72-74 %) composée de chaînes principales de D-glucose reliés en α-(1,4) et ramifiées en α-(1,6). Les chaînes linéaires apportent une plus grande viscosité que les chaînes ramifiées.

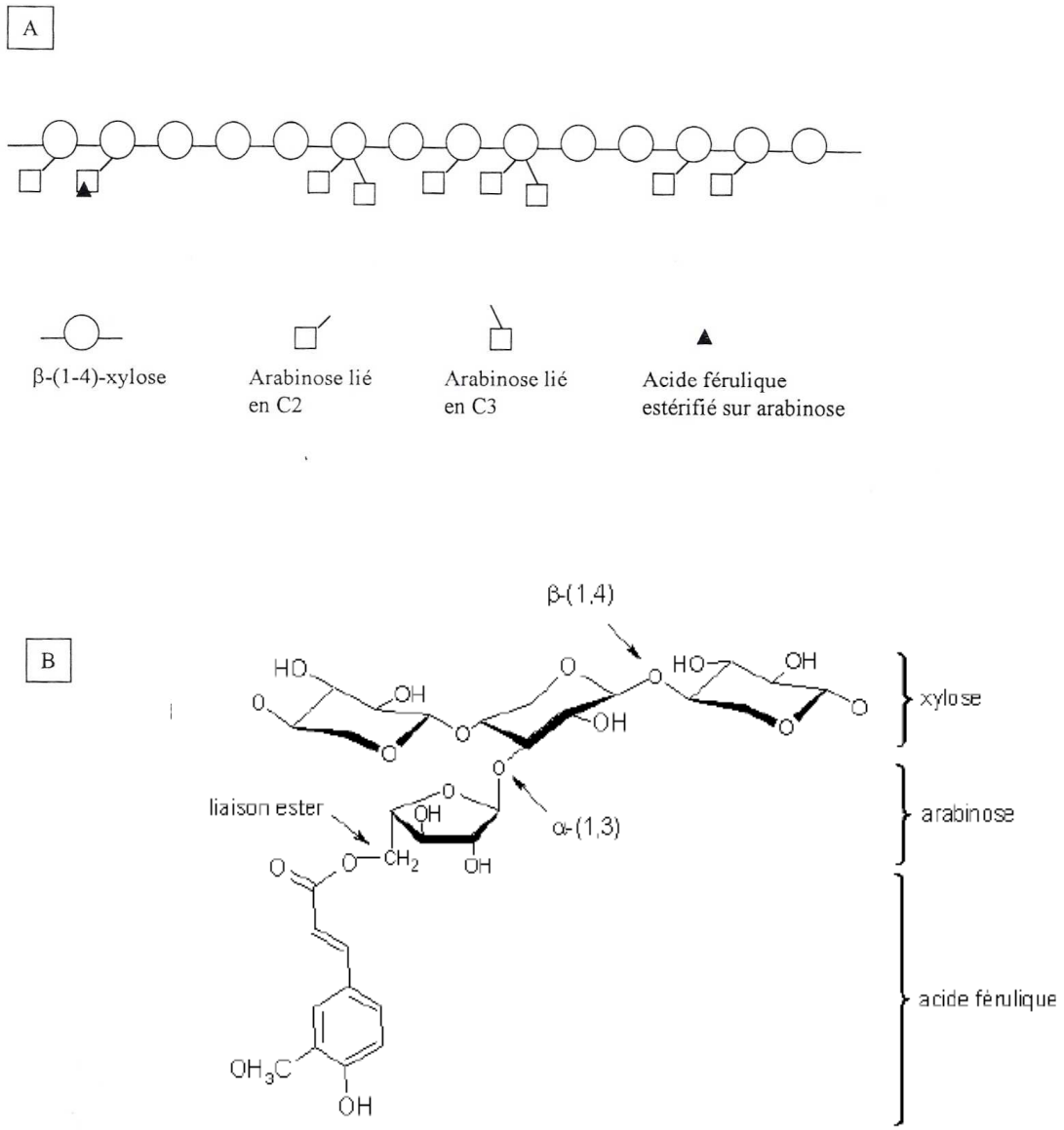


Figure 2.15 : Représentation d'un arabinoxylane (A). Détail du branchement d'un acide férulique au niveau de l'arabinose par une liaison ester (B) (Rouau, 1996).

L'amidon de la farine de blé se présente sous forme de granules plus ou moins endommagés. L'endommagement est dû principalement à des altérations mécaniques apparaissant lors de la mouture et qui permettent aux amylases une hydrolyse rapide de cette fraction de l'amidon lors du pétrissage. Il y a donc une plus grande libération de substrat métabolisable par la levure.

L'altération de la structure du granule d'amidon a pour autre conséquence l'augmentation de sa capacité d'adsorption de l'eau par la farine. Cependant, si l'hydratation de la pâte est trop faible, il peut exister une compétition pour l'eau entre l'amidon et le gluten, entravant ainsi le développement optimum du réseau protéique (Levavasseur 2007). Par ailleurs, le gain d'hydratation provenant de la présence de granules d'amidon endommagés diminue la température de transition vitreuse de l'amidon (Feillet, 2000).

L'endommagement des granules d'amidon présente un intérêt grandissant pour le secteur de la boulangerie et de la meunerie. Pour cette raison, des procédés de broyage par attrition ont été développés dans le but d'augmenter la quantité d'amidon endommagé (Lange et Garnier 2007).

b) les pentosanes

Les pentosanes sont des polyosides présents dans les parois cellulaires des différents tissus du grain de blé. Après la mouture, seuls les arabinoxylanes des parois des cellules de l'albumen se retrouvent dans la farine. L'importance des pentosanes au niveau de la formation des alvéoles gazeuses de la pâte a été reconnue par Feillet *et al.* (1994). Les arabinoxylanes ont des propriétés tensioactives qui réduisent la tension superficielle des bulles de gaz, améliorant leur rétention dans la pâte et donc le volume du pain. Les pentosanes représentent 1 à 3 % de l'extrait sec de la farine.

Les arabinoxylanes sont constitués d'une chaîne linéaire d'unités de β-D-xylopyranose ramifiés en β-(1,4) comptant 100 à 500 unités sur lesquelles sont greffés de manière aléatoire des résidus d'α-L-arabinofuranose reliés en α-(1,3) et/ou α-(1,4) (Figure 2.15 A). Le rapport arabinose/xylose varie de 0,5 à 1. Certains des arabinoses sont estérifiés par une molécule d'acide férulique (AF) sur leur carbone 5 (Figure 2.15B).

La quantité d'acide férulique estérifié dans la farine est comprise entre 300 et 400 nmol.g^{-1} de farine humide (Izydorczyk *et al.*, 1991). Bien qu'il n'existe pas de différence structurale majeure entre les arabinoxylanes (Rouau, 1996), la taille de ces macromolécules influence leur solubilité dans l'eau. On peut donc distinguer deux fractions, celle qui est soluble dans l'eau (20 à 40 %) nommée WEAX et celle qui est insoluble (60 à 80 %) appelée WUAX.

Rouau *et al.* (1994) ont montré que les pentosanes insolubles ont une forte capacité d'adsorption de l'eau (10 fois leur poids), alors que les solubles augmentent fortement la viscosité d'une solution lorsque leur concentration est supérieure à 0,2 % (p/v). Ces polyosides jouent donc un rôle important dans l'établissement des propriétés rhéologiques en participant à la compétition pour l'eau entre les protéines du gluten et l'amidon endommagé modifiant le développement du gluten (Wang *et al.*, 2003). Pour remédier à cela, ces auteurs proposent d'allonger le temps de pétrissage et/ou d'ajouter du NaCl. L'utilisation d'endoxylanases spécifiques permet également de limiter l'effet néfaste de la fraction insoluble des pentosanes en les rendant partiellement solubles car, à faible dose, les AX solubles favorisent la répartition homogène de l'eau et l'établissement de liaisons hydrogène avec l'amidon et les protéines.

Les arabinoxylanes hydrosolubles peuvent gélifier lors de réactions d'oxydation par des agents générateurs de radicaux libres (agents chimiques, POD/H_2O_2, LOX/acide linoléique, laccase/O_2). Carvajal-Millan *et al.* (2005c), en faisant varier le degré de féruloylation des arabinoxylanes hydrosolubles, ont montré le rôle central de l'acide férulique dans la gélification des pentosanes et les propriétés rhéologiques et structurales du réseau obtenu. Lors de la formation des gels, des di et trimères d'acide férulique sont formés, reliant de façon covalente les chaînes d'arabinoxylanes. Des enchevêtrements physiques pourraient également compléter l'effet des interactions biochimiques pour contribuer à la structure finale du gel d'arabinoxylanes solubles. Le rôle des arabinoxylanes dans la structuration de la pâte est encore mal connu et relativement controversé. Rouau (1996) montre que l'hydrolyse des arabinoxylanes solubles aboutit à la formation de pâtes très peu consistantes et collantes pénalisant le développement des pains. Cependant, Migliori et Gabriele (2010) ont montré que l'ajout d'arabinoxylanes hydrosolubles diminue la force du réseau de gluten de pâtes de blé non levurées alors que Wang (2004a) met en avant l'impact positif des pentosanes dans la formation des macropolymères de gluténines de blé.

Tableau 2.11 : Classification des protéines selon leur solubilité et leur poids moléculaire (classification d'Osborne reprise par Levavasseur, 2007)

	Classification	Solubilité	Mr (kDa)
Protéines solubles	***Albumines***	- Dans les solutions salines - Lors de dialyse contre de l'eau.	16
	Globulines	- Dans les solutions salines - Précipitées par dialyse contre de l'eau.	16-20
Protéines insolubles	***Gliadines***	- Dans les solutions aqueuses à teneur élevée en éthanol 70 %.	25-75
	Gluténines (BPM)	- Dans les solutions aqueuses d'acide acétique ou alcalines diluées ou par des solutions d'agents dissociants (SDS, savon, urée…).	> 100
	Gluténines (HPM)	- Insolubles dans les solutions précédentes.	> 1000

Un mécanisme similaire a été proposé par Labat *et al.* (2000a) pour expliquer l'effet de l'ajout d'AF dans la pâte lors du pétrissage en présence de laccase. Les observations de Wang (2004b) complètent ces observations en montrant que l'ajout de pentosanes et d'AF libre augmente la résistance à la déformation d'un gel de gluténines de blé. D'après Levavasseur (2007), la présence d'AF estérifié pourrait avoir des conséquences rhéologiques importantes sur la pâte car il permet une oxydation préférentielle des AF libres par la peroxydase. Les radicaux féruloyl libres formés peuvent co-oxyder les résidus d'AF estérifiés pour être régénérés en AF libre.

2.5.5.3 Protéines

Depuis 1907, la classification d'Osborne sépare les protéines en quatre grands groupes suivant leur solubilité (Tableau 2.11). De manière générale, on considère que les protéines insolubles dans l'eau présentent certaines caractéristiques technologiques essentiellement liées à leur hydrophobicité (Feillet, 2000). Ces protéines insolubles ont une faible teneur en acides aminés ionisables et sont riches en acides aminés hydroxylés et en glutamine, facilitant la formation de liaisons hydrogène à l'origine des propriétés d'adhésion et de cohésion du gluten (Levavasseur, 2007). Elles sont également riches en acides aminés apolaires permettant l'agrégation des protéines, la fixation des lipides et des glycolipides par l'intermédiaire d'interactions hydrophobes.

Enfin, elles sont capables de former des ponts disulfures intermoléculaires entraînant l'association de gluténines de haut poids moléculaire pour former un macropolymère de gluténine (Don *et al.*, 2003a ; Don *et al.*, 2003b ; Don *et al.*, 2005).

La solubilité des protéines permet donc d'établir la classification suivante :

- les albumines qui sont solubles dans l'eau et les globulines solubles dans les solutions salines, elles représentent 15 à 20 % des protéines de la farine parmi lesquelles se trouvent la plupart des enzymes telles que les α et β-amylases, les protéases et les oxydoréductases;

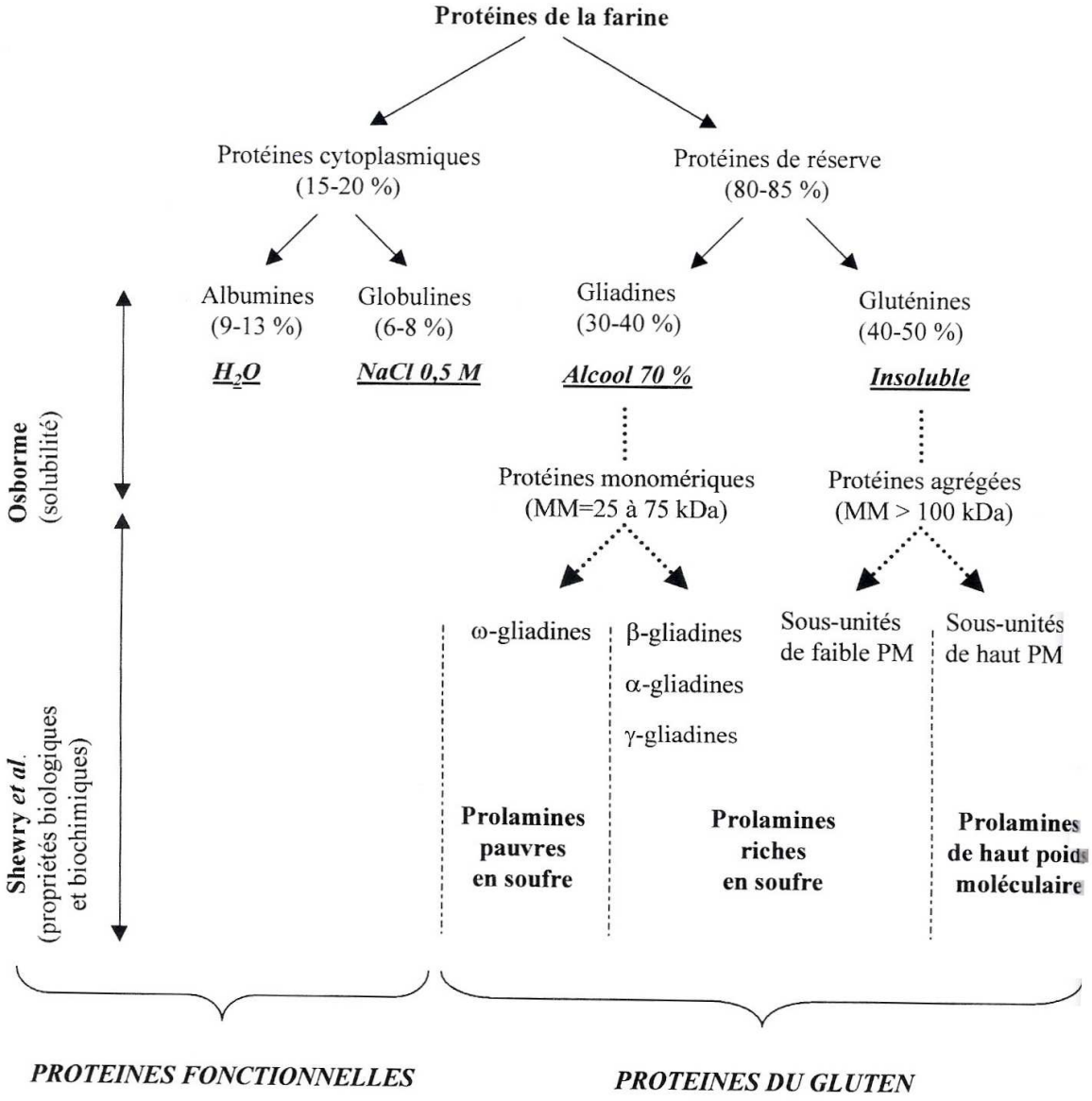


Figure 2.16 : Comparaison des classifications des protéines de blé proposées par Osborne (1907) et par Shewry *et al.* (1986).

- les gliadines qui sont solubles dans les solutions alcooliques. Ce sont des protéines monomériques, riches en glutamine et en proline, elles représentent environ 45 % des protéines de la farine. Lors de la formation du réseau de gluten, les gliadines s'associent entre elles par liaisons faibles. Des ponts disulfures peuvent être créés mais ils sont exclusivement intra-moléculaires et ne permettent pas la formation d'un réseau protéique. Les gliadines sont principalement impliquées dans l'extensibilité du réseau de gluten ;
- les gluténines qui représentent environ 40 % des protéines de la farine et ne sont solubles dans aucune des solutions citées précédemment mais partiellement solubles dans les solutions acides ou basiques diluées. Elles sont résistantes à l'extension et sont principalement responsables de la ténacité du réseau de gluten.

Une classification plus récente a été proposée par Shewry *et al.* (1986) en se basant sur les propriétés biologiques, biochimiques et les origines végétales (Figure 2.16)

- les albumines qui sont des monomères de faible poids moléculaire (PM = 16 kDa, Garcia, 2000) ;
- les globulines (PM = 100 kDa) ;
- les prolamines sont les protéines de réserve (gliadines et gluténines) solubles dans les solvants alcooliques (n-propanol à 50-60 % ou éthanol à 65-75 %) après un ajout d'acide acétique et éventuel d'un réducteur pour rompre les ponts disulfures (Godon, 1997). On distingue trois types de prolamines, celles de hauts poids moléculaire, les riches et les pauvres en soufre. Les gliadines constituent un groupe hétérogène des prolamines qui comporte quatre classes. On distingue les gliadines pauvres en soufre (ω-gliadines) et les gliadines riches en soufre (β, α et γ-gliadines) (Shewry *et al.*, 1986). Darde (2001) distingue ces 4 classes grâce à leur mobilité électrophorétique en milieu acide. Les gluténines correspondent aux prolamines de haut poids moléculaire ($>10^3$ kDa). Ces protéines sont des agrégats de monomères liés par des ponts disulfures intermoléculaires dont la réduction libère deux types de molécules, les hauts et les bas poids moléculaires. Les gluténines de haut et de bas poids moléculaire (GHPM et GBPM) sont partiellement solubles dans les acides et les bases dilués ainsi que dans les solutions d'urée ou les détergents (Darde, 2001). Les GHPM contiennent approximativement 1 à 2 % d'acides aminés soufrés et présentent un caractère hydrophobe voisin de celui des ω-gliadines.

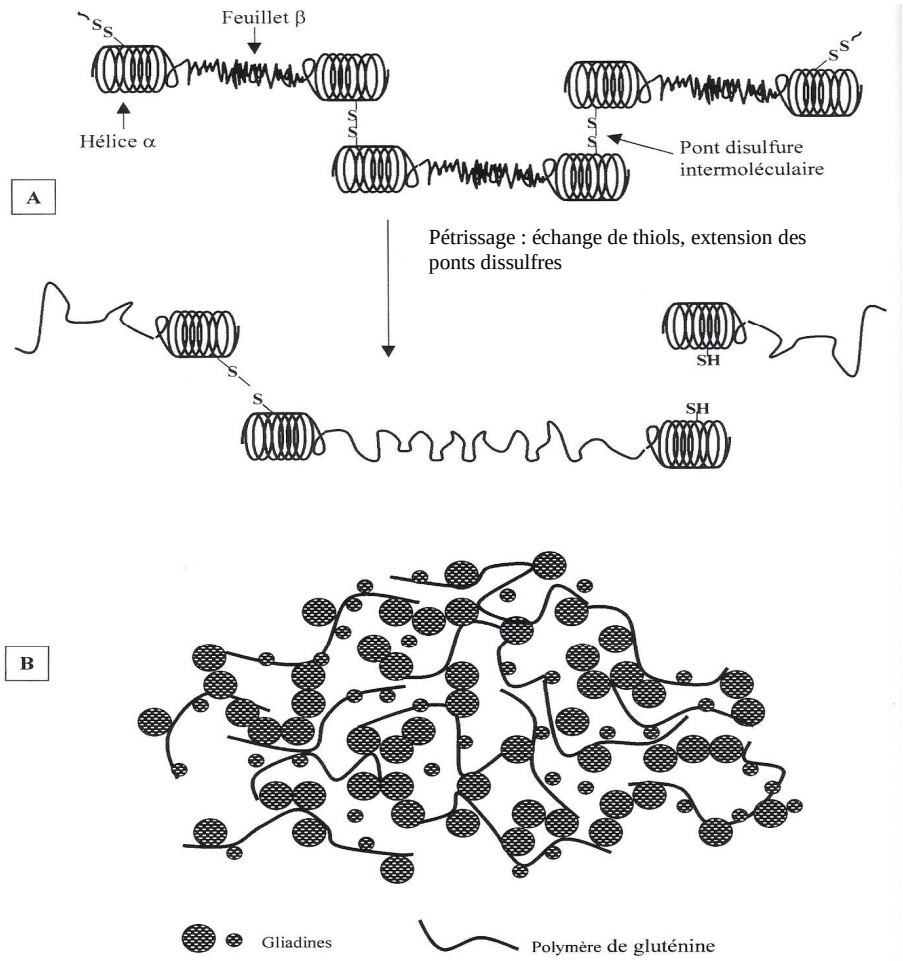


Figure 2.17 : Représentation schématique du polymère de gluténine (A) et des interactions gluténines-gliadines (B) (d'après Weegels *et al.*, 1996).

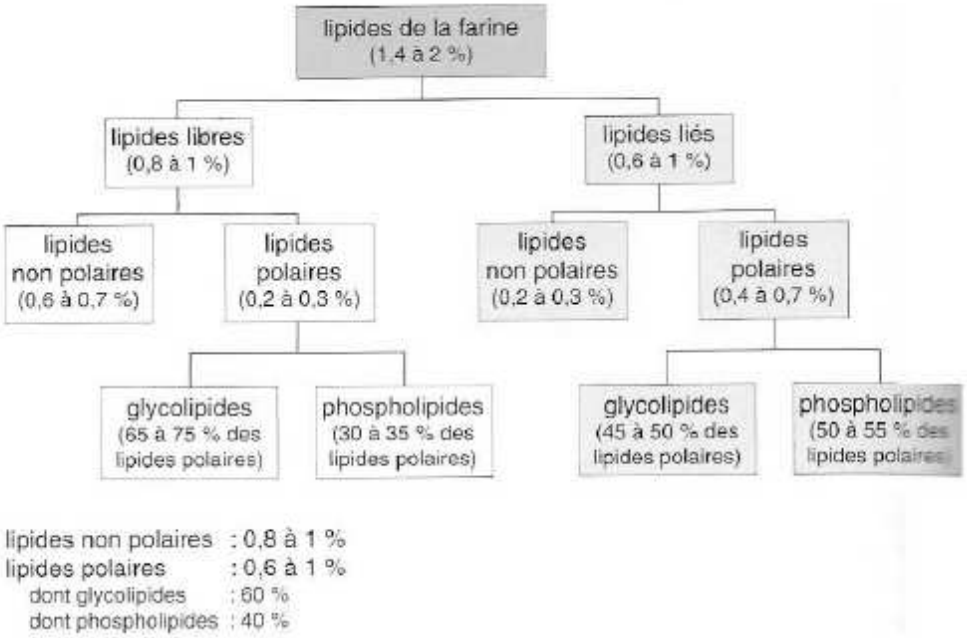


Figure 2.18 : Composition en lipides de la farine (Feillet, 2000).

Les GBPM représentent 60 à 80 % des gluténines totales. Enfin, Lindsay et Skerrit (1998) ont montré par microscopie que les GHPM forment des chaînes et des réseaux alors que les GBPM sont à l'origine de petits agrégats protéiques (Figures 2.17 A et 2.17 B).

2.5.5.4 Lipides

Les lipides sont importants aussi bien dans la conservation de la farine que lors de la structuration de la pâte (Pomeranz, 1967 ; Nicolas *et al.*, 1983, Panozzo *et al.*, 1993). Les lipides sont des composés minoritaires de la farine (de 1,5 à 2 % par rapport à la masse de matière sèche) répartis en deux catégories, ceux extractibles à l'éther de pétrole, et ceux qui ne le sont pas. Les lipides extractibles sont majoritairement non polaires (notamment les triglycérides) alors que ceux non extractibles sont constitués principalement de molécules plus polaires (phospholipides et glycolipides) (Figure 2.18).

Dès la mouture et tout au long de la maturation de la farine, la composition lipidique de cette dernière évolue. En effet, la lipase du blé libère des acides gras par l'hydrolyse des TAG, DAG et MAG (tri-, di- et monoacylglycérols).

Parallèlement aux réactions d'hydrolyse, interviennent des réactions d'oxydation des acides gras libres polyinsaturés (AGPI non estérifiés) améliorant les qualités d'utilisation des farines destinées à la panification dans un premier temps puis la diminuant dans un second (Nicolas, 1979 ; Castello *et al.*, 1998 ; Maraschin *et al.*, 2008). Cette oxydation peut se produire soit par oxydation chimique (Liavonchanka et Feussner, 2006) soit par l'action des lipoxygénases du blé (Brash, 1999).

2.5.5.5 Acides phénoliques

Les acides phénoliques de la farine sont principalement les acides hydroxycinnamiques (acides férulique (AF), sinapique (AS), *p*-coumarique (ApC) et caféique), et les acides hydroxybenzoïques (acides vanillique (AV) et syringique (ASR)) (Figure 2.19). Ces molécules sont situées dans les couches périphériques du grain de blé et leur teneur est de l'ordre de 110 $\mu g.g^{-1}$ fs (Louarme *et al.*, 2004). En conditions oxydantes, la plupart des acides phénoliques peuvent se dimériser, en particulier l'acide férulique, qui dans certains cas, peut même former des trimères (Carvajal-Millan *et al.*, 2005a, Figure 2.20).

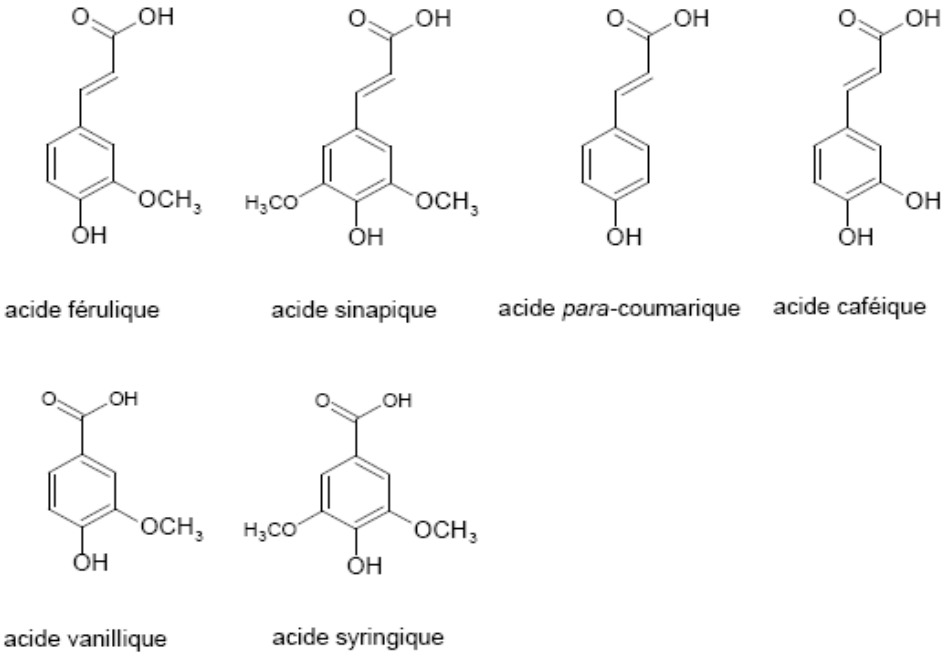


Figure 2.19 : Principaux acides phénoliques contenus dans la farine de blé (Levavasseur, 2007).

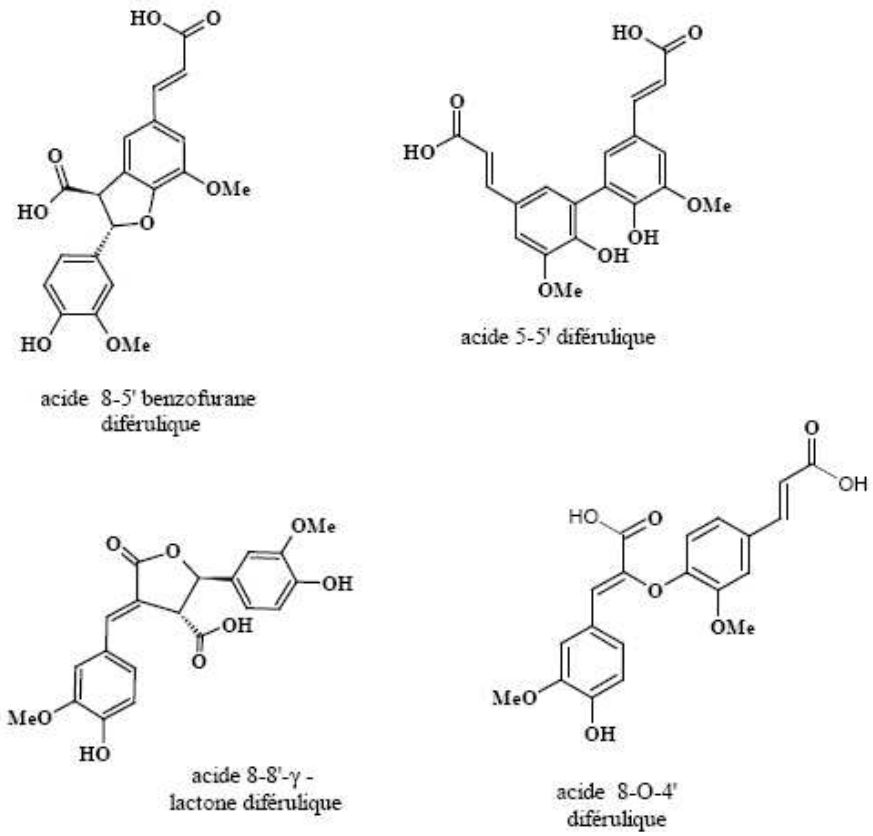


Figure 2.20 : Principaux dimères d'acides féruliques présents dans la farine et les pâtes (Levavasseur, 2007).

L'AF et l'AS sont les deux acides phénoliques majoritaires. L'AS est essentiellement présent sous forme soluble libre (Labat *et al.*, 2000b). Louarme *et al.* (2004) ont également dosé les teneurs en acides phénoliques des farines T55 de variétés pures de l'année 2003 par CLHP-UV. Des quantités comprises entre 77 et 115 $\mu g.g^{-1}$ de fs (400 et 600 $nmol.g^{-1}ms$) pour l'AF et entre 6 et 13 $\mu g.g^{-1}$ ms (entre 30 et 60 $nmol.g^{-1}$ ms) pour l'AS ont été mesurées.
Extraits à partir de gluten commerciaux, les quantités totales d'AF et d'AS, libres et liés, sont respectivement comprises entre 4,9 et 17,7 $\mu g.100\ g^{-1}$ ms (entre 25 et 90 $nmol.100\ g^{-1}$ ms) et 1,4 et 3,5 $\mu g.100\ g^{-1}$ ms (entre 6 et 16 $\mu mol.100\ g^{-1}$ ms, Labat *et al.*, 2000b). Les autres acides phénoliques sont à l'état de traces dans la farine et le gluten.

2.5.5.6 Les enzymes endogènes intervenant lors du pétrissage

2.5.5.6.1 Les hydrolases

De nombreuses réactions d'hydrolyse ont lieu tout au long du procédé de panification. Le contenu enzymatique d'une farine varie en fonction de la variété de blé utilisée et de son taux d'extraction. Afin de standardiser les farines d'un point de vue enzymatique, les meuniers ajoutent diverses enzymes exogènes et notamment des hydrolases (Tableau 2.12).

- Les α-amylases et les β-amylases (endogènes) agissent en synergie tout au long de la panification pour fournir les oses nécessaires à la fermentation ainsi qu'aux réactions de brunissement non enzymatiques se produisant lors de la cuisson (Potus *et al.*, 1996).

Les α-amylases ou 1-4 α-glucane glucanohydrolases sont des endoenzymes (EC 3.2.1.1). Elles catalysent la réaction suivante (Figure 2.21) :

$$\text{Amidon} + H_2O \Leftrightarrow \alpha\text{-dextrines limites} + \text{maltose} + \text{glucose}$$

Ces enzymes sont spécifiques des liaisons α-1-4 des constituants de l'amylose et de l'amylopectine. L'amylose est hydrolysée principalement en maltose, maltotriose et glucose. Dans le cas de l'hydrolyse de l'amylopectine, des dextrines sont également produites en plus des oligosides cités précédemment. Les α-dextrines limites de 6 à 7 résidus plus ou moins branchés contiennent des liaisons α-1-6 d'origine et des liaisons α-1-4 résistantes à l'hydrolyse.

Tableau 2.12 : Effet des hydrolases en panification (Potus *et al.*, 1996).

Enzymes	**Répercussions organoleptiques**	**Répercussions technologiques**
Invertase		Permet l'utilisation du saccharose par la levure
Maltase		Permet l'utilisation du maltose par la levure
Amylases	Modification de l'arôme du pain par formation de composés volatils issus des fermentations secondaires et des réactions de Maillard et de caramélisation Favorise la coloration de la croûte	Favorise le dégagement gazeux au cours de la fermentation Susceptible de diminuer la rétention gazeuse au cours de la cuisson Effet antirassissant des amylases bactériennes
Xylanases	Favorise la coloration de la croûte	Diminution de la ténacité de la pâte Augmentation de la capacité d'adsorption d'eau
Protéases	Modification de l'arôme du pain par formation de composés volatils issus du catabolisme protéique et de la réaction de Maillard Favorise la coloration de la croûte	Diminution de la viscoélasticité de la pâte Augmentation de la vitesse d'adsorption d'eau
Lipase	Modification de l'arôme du pain par formation de composés volatils issus de l'oxydation des acides gras non estérifiés	Amélioration des propriétés rhéologiques des pâtes Effet antirassissant

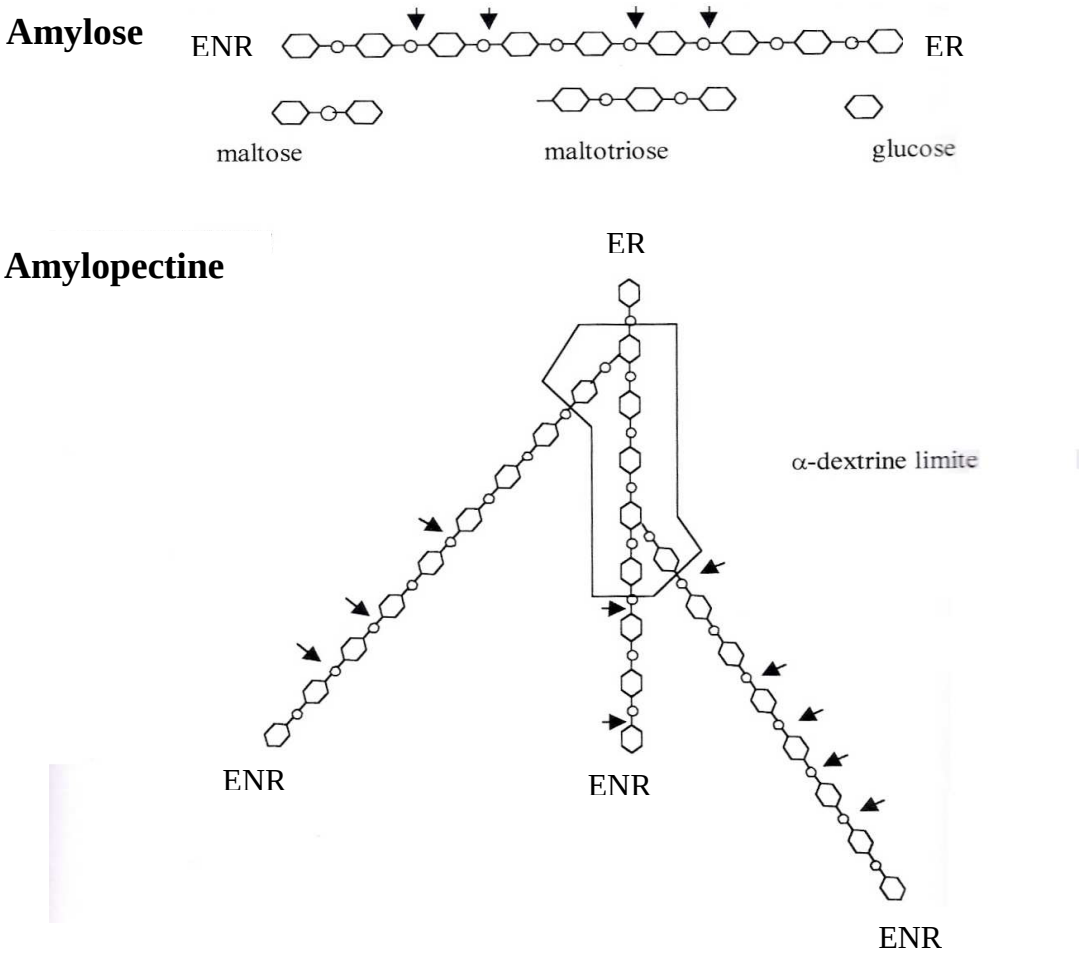


Figure 2.21 : Mode d'action des α-amylases sur l'amylose et l'amylopectine (Levavasseur, 2007).

- Les β-amylases ou 1-4 α-glucane maltohydrolases (EC 3.2.1.2) sont des exoenzymes. Elles catalysent les réactions suivantes (Figure 2.22) :

Amidon + H_2O ⇔ β-dextrines limites + maltose

Ces enzymes hydrolysent les liaisons α-1-4 D-glucosidiques de l'amidon à partir des extrémités non réductrices des chaînes en libérant du β-maltose. Leur action est bloquée au niveau des ramifications en α-1-6. L'hydrolyse de l'amylose produit uniquement du β-maltose si la chaîne compte un nombre pair de sous unités de glucose ; dans le cas contraire une unité de glucose est également produite. Les résidus d'hydrolyse de l'amylopectine sont des β-dextrines limites de haut poids moléculaire qui contiennent les liaisons α-1-6 de la chaîne initiale (environ 50 % de l'amylopectine est transformé en β-dextrines limites).

La farine de malt de blé à 0,3 g pour 100 g de farine humide est un ingrédient riche en amylases qui est utilisé pour augmenter l'activité d'une farine hypoamylasique.

- Les protéases intervenant au cours de la panification sont nombreuses et d'origines variées (farine, levure). Cette diversité ne permet pas d'attribuer spécifiquement les effets observés à chaque protéase (Garcia, 2000). Cependant leur action sur les protéines de blé est faible car elles hydrolysent préférentiellement des liaisons impliquant des acides aminés basiques qui sont peu présents dans les protéines du gluten. En panification, l'utilisation de protéases diminue la consistance de la pâte par déstabilisation du réseau de gluten (Potus et *al.*, 1994). Il y a libération d'acides aminés qui peuvent être assimilés par la levure pour former des précurseurs d'arômes, ou être impliqués dans la réaction de Maillard. Le produit final est donc amélioré sur le plan visuel et organoleptique.

- Les lipases ou glycérol ester hydrolases produisent des acides gras, du glycérol et des glycérides intermédiaires à partir des fractions TAG, DAG et MAG de la farine. La nature lipophile de leur substrat fait que les lipases agissent aux interfaces huile/eau présentes dans la pâte. La réaction d'hydrolyse correspond à la rupture de la liaison ester. La présence d'eau est nécessaire à cette réaction

R-COO-R' + H_2O ⇔ R-COOH + R'-OH

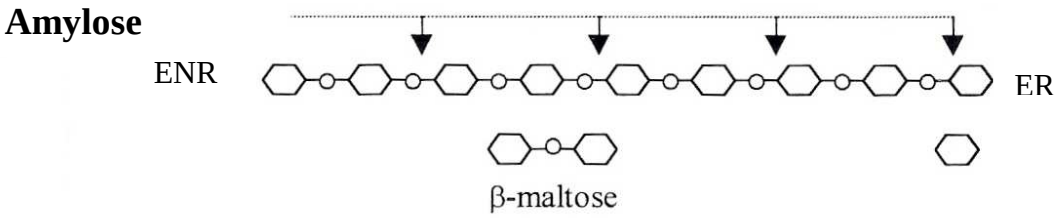


Figure 2.22 : Mode d'action de la β-amylase sur l'amylose (Levavasseur, 2007).

Les lipases ont des spécificités variables vis-à-vis de leurs substrats. Il peut exister une spécificité de position de l'acide gras qui est hydrolysé sur le glycéride estérifié. La lipase de blé libère préférentiellement les acides gras en position 1 et 3 (Garcia, 2000). Les lipases sélectionnent également le type d'acides gras hydrolysés en fonction de la longueur de leur chaîne carbonée ou du nombre d'insaturations.

Enfin, il peut exister une spécificité pour un énantiomère (stéréospécificité) qui n'a jamais été observée chez la lipase de blé (Garcia, 2000).

Les lipases modifient le profil lipidique de la farine au cours de son stockage car cette enzyme peut agir à faible Aw. La teneur en eau des farines commerciales est suffiante pour que la lipase soit effective pendant le stockage de la farine. On constate donc une augmentation de la teneur en acides gras libres dépendante de la température, de la teneur en eau de la farine et de la durée de sa conservation (Maraschin *et al.*, 2008).

2.5.5.6.2 Les oxydoréductases

Les réactions d'oxydoréduction qui se produisent au cours de la panification sont multiples et font intervenir un certain nombre d'oxydoréductases et de substrats redox (Nicolas *et al.*, 2009). Ces enzymes sont largement étudiées du fait de leur impact sur la rhéologie et sur les propriétés organoleptiques du pain.

2.5.5.6.2.1 Système LOX

La lipoxygénase (linoléate : oxygène oxydoréductase, EC 1.13.11.12) est une enzyme à fer qui catalyse l'oxydation des acides gras polyinsaturés (PUFA) contenant le motif cis-cis-1,4 – pentadiène : les acides linoléique ($C_{18:2}$) et linolénique ($C_{18:3}$) dans la farine de blé.

Activité LOX des farines :

Dans la farine de blé, l'activité LOX est comprise entre 20 et 100 nkat.g^{-1} ms (Eyoum *et al.*, 2003 ; Leenhardt *et al.*, 2006a ; Levavasseur *et al.*, 2006) pour des farines de diverses origines. Every *et al.* (2006) ont étudié la distribution de l'activité LOX dans les fractions meunières et observé que 50 à 65 % de l'activité provient du germe. Ces données ne peuvent être que relatives puisque la teneur en LOX du blé est dépendante de la variété, ainsi que du taux d'extraction de la farine.

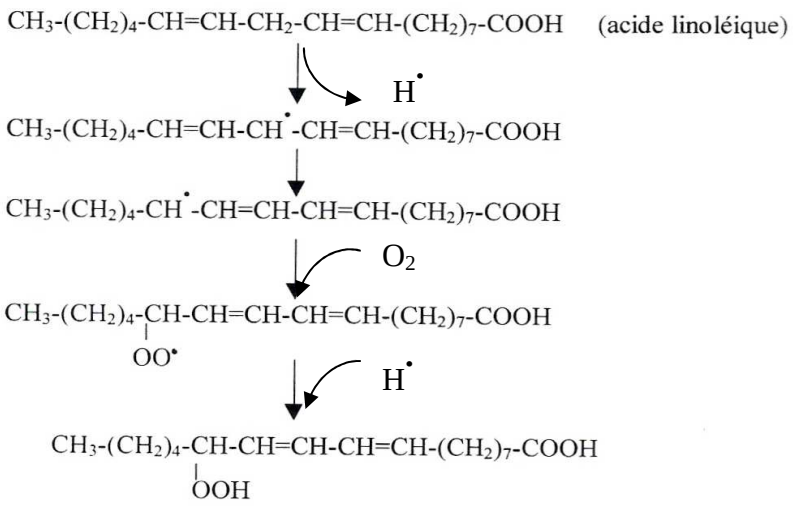


Figure 2.23 : Etapes de l'oxydation de l'acide linoléique (Garcia, 2000).

Bien que les diagrammes de moutures ne soient pas comparables, les résultats de Every *et al.* (2006) sont en accord avec ceux de Rani *et al.* (2001) à savoir que la fraction contenant les sons est plus riche en activité LOX que les autres fractions meunières**.**

La LOX de blé possède plusieurs isoformes (Graveland, 1970 ; Nicolas *et al.*, 1983 ; Shiiba *et al.*, 1991). Le nombre de fractions actives varie de deux à trois selon les auteurs. D'après Nicolas (1983), les formes L1, L2, L3 ont des masses moléculaires comprises entre 90 et 95 kDa et leur pH optimum d'activité est compris entre 6 et 6,5. Pour un pH inférieur à 4 ou supérieur à 9,5, la LOX n'a plus d'activité. Lorsque cette enzyme provient du blé, elle utilise préférentiellement comme substrat le $C_{18:2}$ et le $C_{18:3}$ à l'état libre ou estérifiés sous forme de monoacylglycérol.

Les farines de fève et de soja sont riches en lipoxygénase et ont des activités largement supérieures celles du blé ainsi que des spécificités différentes et une gamme plus large de substrats oxydables ($C_{18:2}$ et $C_{18:3}$ des fractions TAG, DAG, MAG et AGL). Ces farines sont donc parfois ajoutées à la farine de blé à la dose maximale de 2 g de farine de fève et de 0,5 g de farine de soja pour 100 g de farine de blé pour :

- améliorer la tolérance de la pâte au pétrissage ;
- blanchir la mie par oxydation des pigments caroténoïdes contenus dans la farine de blé ;
- augmenter le volume des pains.

En surdosage, ces farines peuvent modifier la flaveur et la saveur du pain et provoquer un blanchiment excessif de la pâte et de la mie.

Réactions catalysées :

Le mécanisme d'oxydation débute par la transformation d'une mole de AGPI en intermédiaires radicalaires impliquant des réarrangements intra-moléculaires, puis une mole d'O_2 est insérée pour former un radical peroxyde conduisant à un hydroperoxyde après addition d'un radical hydrogène (produit primaire de la réaction, Figure 2.23, Liavonchanka et Feussner, 2006). Au sein de la pâte, Dolev *et al.* (1967) ont montré que l'oxygène incorporé dans la molécule d'hydroperoxyde formée provenait exclusivement des molécules d'oxygène dissoutes dans la phase aqueuse en utilisant de l'O_2 marqué (O^{18}). La plupart de l'O_2 consommé par la pâte lors du pétrissage peut être attribué à l'oxydation des AGPI par la LOX (Smith et Andrews, 1957 ; Eyoum, 2002 ; Levavasseur *et al.*, 2006).

Tableau 2.13 : Effets des lipoxygénases en panification (Nicolas et Potus, 1994).

Réaction catalysée	Répercussions nutritionnelles	Répercussions organoleptiques	Répercussions technologiques
Oxydation des acides gras polyinsaturés	Pertes en acides gras polyinsaturés Toxicité des lipides oxydés	Modification de l'arôme du pain par formation de composés volatils issus de la scission des hydroperoxydes	
Oxydation couplée des pigments caroténoïdes	Pertes en provitamines A	Décoloration de la mie	
Libération de lipides (oxydation des groupements thiols des protéines du gluten)		Augmentation du volume du pain Alvéolage plus serré et plus régulier de la mie	Amélioration des propriétés rhéologiques des pâtes Augmentation de leur tolérance au surpétrissage
Oxydation couplée d'autres composés	Pertes en tocophérols		

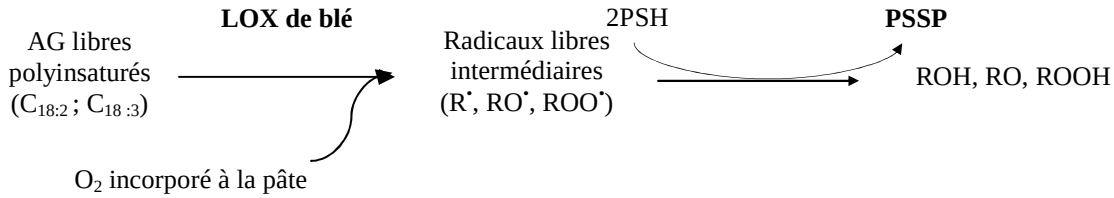


Figure 2.24 : Impact de la LOX sur la réticulation des protéines par oxydation des fonctions thiol (PSH).

Inhibiteurs de la LOX :

Le peroxyde d'hydrogène est un inhibiteur puissant et irréversible de la lipoxygènase (Nicolas et Drapron, 1981 ; Valtorta, 2000). Cette molécule est un analogue des hydroperoxydes, elle oxyde le fer de l'enzyme et modifie ses liaisons de coordinance.

Les fonctions thiols (cystéine, mercapto-éthanol et glutathion) exercent également un effet inhibiteur sur l'enzyme (Nicolas et Potus, 1994). Cet effet est levé en présence de catalase, ce qui amène les auteurs à penser que l'inhibition est liée à la production de peroxyde d'hydrogène lors de l'autoxydation des thiols en présence d'ions métalliques toujours présents dans les préparations enzymatiques (Veldink *et al.*, 1977). Certains phénols sont inhibiteurs de la LOX. Le plus puissant est l'acide nordhydroguaïarétique (Nicolas et Drapron, 1981). Selon Tappel (1961), ces composés sont capables de capter les radicaux libres formés pendant la réaction enzymatique. Enfin, le NaCl est lui aussi est un inhibiteur de la LOX (Nicolas, 1978).

Effet de l'activité lipoxygénasique des pâtes à base de farine de blé (Tableau 2.13) :

a) Oxydation des acides gras :

L'oxydation des AGPI par la LOX conduit à la formation d'aldéhydes volatils intervenant dans la flaveur de la mie du pain. Drapron *et al.* (1974) ont montré qu'un pétrissage intensifié en présence de 2 % de farine de fève produisait dix fois plus d'hexanal qu'un pétrissage classique utilisant uniquement de la farine de blé. La formation d'hexanal a été attribuée à l'activité LOX de la farine de fève car cet aldéhyde provient de la scission des hydroperoxydes lipidiques surtout lors de la cuisson.

b) Oxydation des groupements thiols (Figure 2.24) :

L'oxydation d'un AGPI par la LOX produit un radical intermédiaire $ROO^{\cdot}$ dont la réduction en ROH peut s'accompagner de l'oxydation des fonctions thiols des protéines (PSH) en ponts disulfure (PSSP) avec formation d'eau (Grosch, 1986). Les qualités plastiques du gluten sont alors renforcées et la pâte est plus tolérante au surpétrissage (Hoseney *et al.*, 1980). On pourrait donc supposer que plus la quantité d'O_2 et d'AGPI dans la pâte est importante, plus l'activité LOX est élevée, plus le réseau de gluten est renforcé. Cependant, les études ne sont pas toutes concordantes quant à ce mécanisme.

D'après Doxastakis *et al.* (2001), la substitution de 5 ou 10 % de farine de blé par de la farine de soja n'a pas d'impact sur le comportement de la pâte lors d'un pétrissage au farinographe, ni sur le volume des pains par rapport à un témoin.Toyosaki (2006) montre que l'ajout de LOX de soja dès le début du pétrissage n'a pas d'impact sur l'évolution de la masse moléculaire de la fraction protéique d'une pâte en sortie de cuve. En revanche, plus la durée de fermentation d'une pâte contenant de la LOX de soja est prolongée, plus on constate l'apparition de macropolymères de poids moléculaires supérieurs à ceux d'une pâte en sortie de pétrissage. Cette structure permet une meilleure rétention du CO_2 et donc une augmentation du volume du pain.

c) Oxydation des pigments caroténoïdes : la LOX par oxydation couplée transforme les pigments en leucodérivés provoquant une décoloration des pâtes et de la mie qui en est issue (Nicolas et Potus, 1994). L'ajout de farine de fève ou de soja ayant un potentiel lipoxygénasique plus élevé que la farine de blé, il est courant de les utiliser pour obtenir des pains à la mie plus blanche (Nicolas, 1979).
D'un point de vue nutritionnel, l'oxydation des PUFA et la co-oxydation des pigments caroténoïdes et des tocophérols conduisent à une diminution des quantités d'acides gras essentiels, de provitamines A et de vitamines E. Leenhardt *et al.* (2006b) suggèrent de choisir les variétés de blé utilisés pour les mélanges meuniers en tenant compte du rapport pigments/activité LOX de façon à limiter la perte nutritionnelle (forte concentration en pigments pour une faible activité LOX). Ces auteurs proposent également la réduction du temps de pétrissage et des périodes de fermentation plus longues pour limiter l'incorporation d'O_2 dans les pâtes et préserver les capacités antioxydantes des pigments caroténoïdes et des tocophérols. Bien que ces recommandations présentent un intérêt nutritionnel, elles semblent technologiquement difficiles à appliquer puisque c'est l'oxydation de la pâte, par l'incorporation d'O_2, qui permet de structurer la pâte au cours du pétrissage.

2.5.5.6.2.2 Système peroxydasique

Les peroxydases ou réducteur : hydrogène peroxyde oxydoréductase (POD, EC 1.11.1.7) sont des hémoprotéines dont le groupement prosthétique est une ferriprotoporphyrine IX. Ces enzymes sont des glycoprotéines de masse moléculaire moyenne comprise entre 40 et 50 kDa. La peroxydase existe sous de multiples isoformes avec des séquences d'acides aminés très différentes qui leur confèrent des points isoélectriques variables.

On distingue les isoperoxydases cationiques (pI compris entre 8 et 10) et anioniques (pI compris entre 3,5 et 6).

Les POD du blé ont été purifiées et étudiées par différents auteurs. Billaud *et al*.(1999) ont analysé aussi bien les fractions cationiques que les fractions neutres et anioniques. Ces auteurs précisent que les formes cationiques représentent plus de 95 % de l'activité des peroxydases du germe de blé.

La POD catalyse quatre types de réactions, peroxydasique, oxydative, catalasique et hydroxylante.

- La réaction peroxydasique s'écrit :

$$ROOH + AH_2 \longrightarrow H_2O + ROH + A$$

ou $$ROOH + 2AH \longrightarrow H_2O + ROH + A\text{-}A$$

L'enzyme a une spécificité étroite pour le peroxyde ROOH alors que le composé réducteur AH_2 peut être de nature diverse. Cette enzyme a un comportement Michaëlien avec un mécanisme ping-pong.

- La réaction oxydative : elle a lieu en absence d'H_2O_2 et nécessite la présence d'oxygène moléculaire et de cofacteurs (Mn^{2+} par exemple). Elle se produit en présence de certains donneurs d'hydrogène (acides dihydrofumarique, indole-3-acétique, ascorbique et phénols).

- La réaction catalasique : elle a lieu en absence de donneurs d'hydrogène. Dans ce cas, le peroxyde d'hydrogène joue le rôle de donneur et d'accepteur d'électrons.

$$2\ H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$$

L'intensité de cette réaction est très faible comparée à celle des réactions peroxydatives et oxydatives.

- La réaction hydroxylante : elle nécessite la présence d'oxygène et conduit à l'hydroxylation de composés aromatiques tels que la tyrosine ou la phénylalanine, en présence d'un donneur d'hydrogène similaire à ceux impliqués dans la réaction oxydative. Le produit obtenu est un *o*-diphénol. La réaction hydroxylante n'est pas directement catalysée par la POD, elle résulte de réactions secondaires dues aux radicaux libres $OH^{\cdot}$ formés lors de la réaction peroxydative.

En présence de donneurs d'hydrogène de faible masse moléculaire (phénol ou diamine), de H_2O_2 et de protéines, la POD catalyse la formation de semi-quinones ou de quinones qui peuvent réagir avec les fonctions amines, thiols, phénols, indoles ou imidazoles des protéines et former des dimères, des trimères ou des oligomères qui ont été mis en évidence par Matheis et Whitaker (1985). La formation de cystine et de glutathion oxydé a également été observée en présence de POD, de H_2O_2 et de catéchol.

En l'absence de donneurs d'hydrogène, les protéines riches en tyrosine peuvent servir de substrat pour le système POD/H_2O_2 conduisant à la formation de macromolécules protéiques *via* des ponts dityrosine intermoléculaires (Michon et *al.*, 1999). Le couple POD/H_2O_2 peut aussi agir sur les pentosanes solubles présents dans les pâtes (Neukom et Markwalder, 1978). Ces composés sont capables de former des gels viscoélastiques sous l'effet d'agents oxydants en deux étapes. Il y a tout d'abord la formation rapide d'un réseau tridimensionnel grâce à la réticulation intermoléculaire par dimérisation des AF estérifiant les pentosanes. La seconde étape est plus lente et correspond à un rapprochement des chaînes qui ont été constituées (Garcia, 2000).
Enfin, le couple POD/H_2O_2 pourrait également former des pontages mixtes arabinoxylanes-protéines par deux mécanismes qui sont : la fixation de l'acide férulique d'un pentosane sur le noyau phénolique d'une tyrosine composant une protéine, ou la fixation d'un groupement thiol d'une cystéine sur la double liaison de l'acide férulique d'un pentosane (Hoseney et Faubion, 1981).

Rôle de la POD en panification

En panification, les POD sont capables de catalyser l'oxydation des acides gras insaturés par l'intermédiaire de leur groupement hématinique. Leur effet peut donc être similaire à celui de la LOX mais de façon moins marquée (Tappel, 1961). Il a également été montré que l'addition de peroxydase de raifort augmente la vitesse de destruction des pigments caroténoïdes. De plus, les multiples pontages macromoléculaires issus de l'activité POD, qui permettent soit de renforcer le réseau protéique, soit de créer de nouveau réseaux par les pontages mixtes arabinoxylanes-protéines ou d'arabinoxylanes uniquement, améliorent les propriétés rhéologiques de la pâte (Kieffer *et al.*, 1981) (Figure 2.25). Enfin, la consommation d'H_2O_2 par la POD diminue l'inhibition de la LOX de blé.

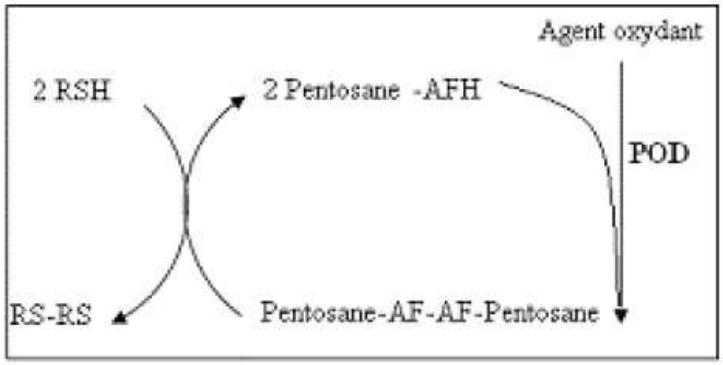


Figure 2.25 : Hypothèse sur les échanges thiols/disulfures engendrés par l'action de la peroxydase sur les pentosanes (Garcia, 2000).

2.5.5.6.2.3 Système catalasique

Les catalases sont présentes dans toutes les cellules aérobies. Ces enzymes sont des hémoprotéines très souvent composées de quatre sous unités identiques contenant chacune une ferriprotoporphyrine dont le noyau héminique est relié au polypeptide par liaison faible. Leur masse moléculaire est en moyenne de 240 kDa. Le groupement hème donne une capacité d'absorption à 406 nm en plus de celle à 280 nm due aux acides aminés aromatiques. Le rapport $\frac{Abs_{280}}{Abs_{406}}$ est généralement proche de 1 ce qui permet de déterminer la pureté de l'enzyme. La catalase a un pH optimum d'activité proche de 7 (Garcia, 2000).

Réactions catalysées :

Le rôle majeur de la catalase est de dismuter le peroxyde d'hydrogène pour produire de l'eau et de l'oxygène selon la réaction suivante :

$$2\ H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$$

La catalase possède aussi une activité de type peroxydasique qui n'apparaît que pour de faibles concentrations en peroxyde d'hydrogène ($<10^{-6}$ M). L'enzyme oxyde alors différents réducteurs selon le mécanisme suivant :

$$RH_2 + H_2O_2 \rightarrow R + 2\ H_2O$$

Le réducteur peut être un phénol, un alcool, l'acide formique ou l'acide acétique.

Selon Deisseroth et Dounce (1970), les thiols et plus particulièrement la cystéine exercent un effet inhibiteur important sur les catalases tout comme le cyanure, le fluor, l'acétate et les nitrures. Meyer *et al*. (1997) ont étudié l'impact de constituants alimentaires sur l'activité catalasique. Il apparaît que l'éthanol ainsi que l'augmentation de la force ionique et l'acidification du milieu ont également un effet inhibiteur. Enfin, la présence d'acide ascorbique diminue l'activité globale de l'enzyme mais cette inhibition peut être levée en présence d'éthanol qui joue alors un rôle protecteur.

Peu d'études ont été consacrées aux effets de la catalase (EC 1.11.1.6) en panification. Bien que l'activité catalasique dans la farine et dans la pâte soit de plusieurs μkat.g^{-1} ms (Eyoum *et al.*, 2003), les constantes cinétiques des isoformes de l'enzyme (Garcia *et al.*, 2000) suggèrent que, lors du pétrissage, cette enzyme se trouve dans des conditions peu favorables à la manifestation de son activité par rapport à l'activité peroxydasique. Quelques auteurs lui attribuent un effet améliorant sur les propriétés rhéologiques (Irvine *et al.*, 1954), ainsi qu'un accroissement du blanchiment des pâtes par oxydation des pigments caroténoïdes (Hawthorn et Todd, 1955). De plus, en consommant l'H_2O_2, la catalase réduit l'effet inhibiteur de cette molécule sur la LOX. Enfin la catalase est capable de fournir aux systèmes consommateurs d'oxygène (LOX, GOX, levure) de l'oxygène par dismutation de l'H_2O_2.

2.5.5.6.2.4 Système acide ascorbique oxydase et glutathion déhydroascorbate oxydoréductase

L'acide ascorbique oxydase (EC 1.10.3.3) catalyse l'oxydation de l'acide L-*thréo*-ascorbique (AA) en acide L-*thréo*-déhydroascorbique (DHA) selon la réaction :

$$AA + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow DHA + H_2O$$

Cette enzyme est capable d'affecter le fonctionnement de la LOX selon deux mécanismes. Le premier est défavorable en étant en compétition pour l'utilisation de l'oxygène incorporé à la pâte. La compétition doit être cependant limitée car la concentration en acide ascorbique est très faible par rapport à celle des AGPI oxydables dans la pâte. Le second mécanisme est favorable à l'activité LOX en consommant l'acide ascorbique qui est un inhibiteur de la LOX.

La gluthation déhydroascorbate oxydoréductase (EC 1.8.5.1) permet de réduire le DHA en AA en présence de glutathion par la réaction suivante :

$$DHA + 2\ GSH \longrightarrow AA + GSSG$$

Ce système réactionnel a pour conséquence de rendre le GSH indisponible pour participer aux échanges thiols/disulfure avec les protéines du gluten d'autant que les autres thiols de bas poids moléculaires (cystéine, γ-glutamyl-cystéine et cystéinyl-glycine) sont également oxydés en disulfures par cooxydation non enzymatique lors de l'oxydation du GSH par cette enzyme (Kaid *et al.*, 1997).

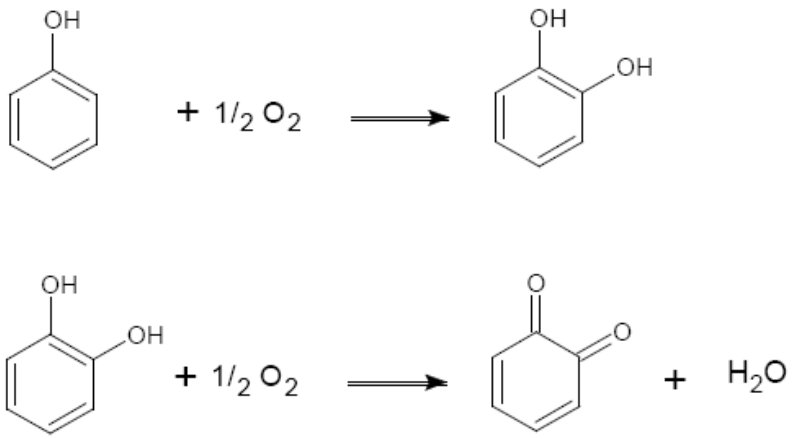


Figure 2.26 : Réactions catalysées par les catéchol oxydases. Oxydation des monophénols et des *o*-diphénols.

Ainsi, l'oxydation rapide du GSH en GSSG augmente la force de la pâte. Ce mécanisme montre également que le DHA est régénéré en AA, ce qui explique l'efficacité de ce couplage enzymatique même avec de faibles doses d'AA. Par ailleurs, il semble que cet effet améliorant soit dû également à l'oxydation du L-*thréo*-AA par d'autres sytèmes (Grant, 1974).

2.5.5.6.2.5 Système polyphénoloxydase (PPO) et phénols

Les polyphénols oxydases (PPO) sont des oxydoréductases capables de provoquer la polymérisation oxydative des phénols en présence d'oxygène (brunissement enzymatique des fruits et légumes, Nicolas *et al.*, 2003). Le terme PPO est générique et regroupe les activités phénolases, crésolases, tyrosinases, catécholases, diphénolases, laccases (Nicolas *et al.*, 2009). Les catéchols oxydases (EC 1.10.3.1) forment un premier sous-groupe d'enzymes qui catalysent, en présence d'O_2, deux types de réactions : l'hydroxylation des monophénols en *o*-diphénols, et l'oxydation des *o*-diphénols en *o*-quinones. Le mécanisme réactionnel est séquentiel et ordonné, il implique le transfert de deux électrons à chaque étape (Figure 2.26). Les tyrosinases appartiennent à cette classe d'enzymes.

Dans la farine, l'activité PPO endogène est de type catéchol oxydase. Elle est faible comparée à celles des autres oxydoréductases présentes dans la farine de blé (Zawistowski *et al.*, 1991). De plus, une part de ces enzymes n'est pas soluble, rendant difficile l'extraction de l'activité (Fuerst *et al.*, 2006). L'activité PPO est principalement concentrée dans les sons (Rani *et al.*, 2001 ; Every *et al.*, 2006). Du point de vue technologique, un effet est constaté sur la couleur des produits final qui sont plus brunes (Feillet, 2000).

2.5.6 Ingrédients, auxiliaires technologiques et additifs couramment utilisés

2.5.6.1 Aspects législatifs

La réglementation française des produits panifiés est l'une des plus restrictives au monde. Le décret du 13 septembre 1993 a créé l'appellation pain de tradition française dans le but de préserver une recette authentique et de qualité. Dans ce pain, seulement cinq adjuvants sont autorisés dans des quantités restreintes :

- 2 % de farine de fève ;
- 0,5 % de farine de soja ;
- 0,3 % de farine de malt de blé ;
- des amylases fongiques ;
- du gluten qui est un composant naturel de la farine.

Tableau 2.14 : Liste des améliorants autorisés par le décret pain en panification française (Langraf, 2002).

Type de produit	Nom du produit	Effet sur la pâte	Quantité maximale autorisée	Effet indésirable sur la pâte
ING	Farine de fèves	Favorise le blanchiment de la pâte et de la mie. Active la fermentation. Augmente la force ce qui peut entraîner une augmentation du volume des pains.	2 %	En pétrissage intensifié, entraîne une dégradation du goût du pain et un blanchiment de la mie.
ING	Farine de soja	Favorise le blanchiment de la pâte et de la mie. Active la fermentation. Augmente la force ce qui peut entraîner une augmentation du volume des pains.	0,50 %	En pétrissage intensifié, entraîne une dégradation du goût du pain et un blanchiment de la mie.
ING	Farine de malt de blé	Active la fermentation. Favorise la coloration. Augmente légèrement le volume des pains.	0,30 %	Donne des pâtes collantes. Provoque un excès de coloration de la croûte.
ING	Gluten de blé	Améliore la force de la farine. Améliore l'hydratation. Augmente la tolérance des pâtes. Augmente le volume des pains.	QNS	Provoque une mauvaise extensibilité du pâton. Diminue le volume des pains.
ING	Vinaigre alimentaire	Lutte contre l'altération du pain filant.	1 à 2 L pour 100 kg de farine	Dénature les caractéristiques organoleptiques du pain.
ING	Levure désactivée	Est un agent réducteur qui diminue la force des farines et assouplit les pâtes.	QNS	Rend la pâte collante au laminage.
AT	Alpha-amylase fongique Origine : *Aspergillus niger* ou *oryzae*	Active la fermentation. Favorise la coloration. Augmente légèrement le volume des pains.	QNS	Rend les pâtes collantes. Provoque parfois un excès de coloration de la croûte.
AT	Amyloglucosidase Origine : *Aspergillus niger* ou *oryzae*	Active la fermentation. Favorise la coloration. Augmente légèrement le volume des pains.	QNS	Rend les pâtes collantes Provoque parfois un excès de coloration de la croûte
AT	Alpha-amylase bactérienne Origine *: Bacillus subtilis* ou *licheniformis*	Active la fermentation. Favorise la coloration. Augmente légèrement le volume des pains. Est plus stable à la chaleur que l'amylase fongique.	QNS	Rend les pâtes collantes. Provoque parfois un excès de coloration de la croûte.

La définition d'adjuvant dans ce texte correspond à des substances d'origine naturelle permettant de corriger, d'améliorer ou de faciliter la fabrication d'un produit donné (Tableau 2.14).

Depuis le 26 septembre 1996, la directive européenne 95/2/CE s'applique en droit français. Ce texte a profondément modifié la réglementation concernant la composition des produits de boulangerie. Cette directive européenne permet de distinguer trois catégories de pains selon leur composition à savoir :

- Le pain courant français :

Il s'agit du pain fait avec de la farine de blé, de la levure et les adjuvants autorisés dans le pain de tradition française. Il peut comporter en plus 14 additifs qui sont :

- l'acide ascorbique sous ses quatre différentes formes chimiques E 300-E301-E302-E304 (dans la pratique, seul l'E 300 est utilisé) ;
- la lécithine E 322 ;
- les mono et diglycérides d'acides gras E 471 ;
- l'acide lactique et ses dérivés : E 270-E325-E326-E327 ;
- l'acide acétique et ses dérivés : E 260-E261-E262-E263.

Tous ces additifs sont autorisés sur la base du *quantum satis* (en quantité suffisante pour obtenir l'effet voulu).

- Les pains fabriqués exclusivement à partir de farine de froment, d'eau, de levure ou de levain et de sel :

L'énoncé même de cette catégorie de pain précise sa composition en termes d'ingrédients. Les farines de fève et de soja ne sont pas autorisées, en revanche 18 additifs sont admis dont les 14 du pain courant français auxquels ont été ajoutés quatre différents esters chimiques des mono et diglycérides d'acides gras alimentaires qui sont des émulsifiants (E 472a, E 472d, E 472e, E 472f). Les E 472e et E 472f sont plus connus sous le nom de data esters ou encore datem (*diacetyl tartaric ester of monoglycerids*). Comme pour le pain courant français, tous ces additifs sont ajoutés sur la base du *quantum satis*.

AT	Exoalpha-amylase maltogène Origine : *Bacillus subtilis*	Active la fermentation. Favorise la coloration. Augmente le volume des pains. Est plus stable à la chaleur que l'amylase fongique. A une action antirassissement.	QNS	Rend les pâtes collantes. Provoque parfois un excès de coloration de la croûte.
AT	Pullulanase Origine : *Bacillus acidopulluliticus*	Active la fermentation Augmente le volume des pains. A une action antirassissement.	QNS	Donne un mauvais aspect au pain. Atténue les coups de lame. Fait rougir la croûte.
AT	Hémicellulase Origine : *Aspergillus niger*	Assouplit les pâtes Donne une meilleure tolérance aux pâtes.	QNS	Rend les pâtes collantes. Rend les pains plats.
AT	Endoglucanase Origine : *Humicola Insolens*	Assouplit les pâtes Donne une meilleure tolérance aux pâtes.	QNS	Rend les pâtes collantes. Rend les pains plats.
AT	Pentosanase Origine : *Humicola Insolens*	Assouplit les pâtes Donne une meilleure tolérance aux pâtes.	QNS	Rend les pâtes collantes. Rend les pains plats.
AT	Protéase Origine : *Aspergillus orizae, Aspergillus wentii, Bacillus subtilis*	Assouplit les pâtes Casse la force des pâtes en biscuiterie.	QNS	Rend les pâtes collantes. Rend les pains plats.
AT	Glucose oxydase Origine : *Aspergillus niger*	Remplace l'acide ascorbique.	QNS	Provoque un excès de force des pâtons.

ING ingrédient
AT auxiliaire technologique
QNS quantité non spécifiée Il s'agit des doses maximales d'utilisation par rapport à la farine. Ces valeurs maximales indiquées s'appliquent à la denrée telle que mise sur le marché.

- Les pains spéciaux :

Cette catégorie n'est pas définie en tant que telle dans la directive. Elle correspond à l'ensemble des produit panifiés qui ne sont ni des pains de tradition française, ni des pains courants français, ni des pains fabriqués exclusivement à partir de farine de froment, eau, levure ou levain et sel. Pour cette quatrième catégorie, la directive européenne limite, d'une part, les conditions d'emploi d'un certain nombre d'additifs à des catégories de pain bien précises (par exemple, les pains tranchés, les pains pré-emballés, la boulangerie fine, etc.) et autorise, d'autre part, l'utilisation, sur la base du *quantum satis*, d'une liste de 106 additifs pour l'ensemble des produits alimentaires transformés dont le pain. Dans la pratique, peu d'additifs sont employés, car ces 106 additifs ne présentent pas d'intérêt technologique en panification.

2.5.6.2 Intervention dans les réactions d'oxydoréduction

a) Les additifs

- L'acide ascorbique :

L'acide ascorbique est probablement l'additif le plus couramment utilisé en panification pour son rôle structurant. C'est un composé réducteur qui est immédiatement oxydé en acide déhydroascorbique par l'oxygène moléculaire au cours des premières minutes de pétrissage. Cette molécule oxyde le glutathion (GSH) qui n'est plus disponible pour former des ponts disulfures avec des protéines du gluten, permettant ainsi une meilleure structuration du réseau de gluten, une meilleure ténacité de la pâte ainsi qu'une augmentation du volume des pains.Il existe plusieurs stéréo-isomères de l'AA qui n'ont pas tous le même effet, le D-thréo AA est inactif, les D et L-erythro AA sont peu actifs alors que le L-thréo AA est très actif. L'effet améliorant est donc stéréospécifique.

- Le bromate de potassium :

Cette molécule ne fait pas partie des produits utilisables dans l'alimentation française. En revanche, elle est encore utilisée aux USA et dans certains pays d'Afrique et d'Amérique du sud. Plusieurs cas accidentels d'intoxication par le bromate de potassium ont été rapportés (Dupuis, 1997). La DL 50 du bromate de potassium pur est fixée à 320 $mg.kg^{-1}$ (Dupuis, 1997). Depuis 1987, l'agence internationale de recherche sur le cancer a classé le bromate de potassium comme un composé potentiellement cancérigène.

Le bromate de potassium est un oxydant introduit en tant qu'améliorant en panification dès 1916 (Dupuis, 1997).

En 1942 sont apparues aux Etats-Unis des farines enrichies en bromate destinées à la panification. Le taux de bromate habituellement utilisé est compris entre 20 et 50 ppm. Les effets du bromate sur la pâte et le pain sont nombreux :

- meilleure rétention gazeuse de la pâte ;
- meilleure machinabilité et tolérance de la pâte ;
- augmentation des volumes des pains.

De nombreuses études ont porté sur l'effet du bromate sur les fonctions thiols des protéines. En 1961, Hird et Yates (1961 a et b) montrent que le bromate de potassium est capable de former des ponts disulfures à partir des fonctions thiols présentes dans les protéines du gluten. Cependant, la vitesse d'oxydation est lente par rapport à celle de l'oxydation des thiols par l'iodate de potassium.

Les auteurs ont établi deux équations bilans représentant la possible oxydation d'un thiol :

$$6\ RSH + BrO_3^- \rightarrow RSSR + 3\ H_2O + Br^-$$

$$RSH + BrO_3^- \rightarrow RSO_3H + Br^-$$

L'addition de bromate de potassium à la pâte provoque une diminution rapide et importante de la quantité de cystéine et de glutathion qui persiste au cours du pétrissage et de la fermentation avec une augmentation concomitante de cystine et de glutathion oxydé (Dupuis, 1997 ; Louarme, 2001). La cystéine et le GSH initialement présents deviennent indisponibles pour les échanges thiols/disulfures avec les protéines de gluten, il en résulte un raffermissement de la pâte. Le bromate semble donc agir de la même façon que l'acide ascorbique mais avec un effet prolongé dans le temps. L'acide ascorbique est un oxydant rapide qui agit au cours du pétrissage dès son oxydation en DHA par l'O_2, alors que le bromate est un oxydant lent dont le potentiel oxydatif est indépendant de l'O_2. Il agit pendant le pétrissage et la phase de fermentation jusqu'à la cuisson (Allen, 1999). Cette action ne se limite pas à la cystéine et au GSH, elle se produit sur l'ensemble des thiols hydrosolubles de bas poids moléculaire.

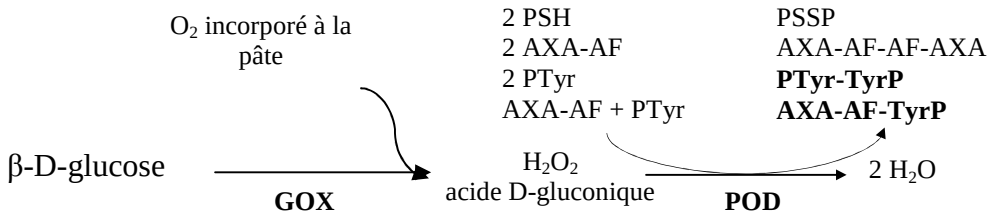


Figure 2.27 : Effet de la GOX sur les pontages intermoléculaires au cours du pétrissage.

b) Les enzymes (auxiliaires technologiques)

- Les hémicellulases recouvrent une grande variété d'enzymes hydrolysant les polyosides pariétaux (Rouau, 1996). Les hémicellulases utilisées en panification sont également appelées pentosanases en référence au substrat utilisable dans la farine. On distingue les xylanases et les enzymes dites "accessoires".

Les xylanases ciblent la chaîne principale des arabinoxylanes en hydrolysant les liasons β-(1-4) reliant les xyloses. Les xylanases endogènes du blé hydrolysent préférentiellement les arabinoxylanes solubles en les découpant en petit fragments (Dubois *et al.*, 1994 et cités par Garcia, 2000). Ces xylanases sont responsables de la diminution de la viscosité des solutions d'arabinoxylanes contrairement aux exo-xylanases et β-xylosidases qui libèrent du xylose à partir de la chaîne principale sans modifier la viscosité.

Les enzymes dites "accessoires" comprennent des arabinosidases, les glucuronidases et des estérases (Rouau, 1996). Elles hydrolysent les liaisons reliant la chaîne principale des arabinoxylanes à d'autres constituants, facilitant ainsi l'accès des xylanases à leur substrat. Plus spécifiquement, les arabinosidases hydrolysent une partie des liaisons entre arabinose et xylose et les féruloyl-esterases libèrent les acides féruliques estérifiés des arabinoses. Ces enzymes, par leur action déstructurante, peuvent jouer un rôle important dans la gélification oxydative des pentosanes impliquant un pontage entre deux AF (Garcia, 2000).

Rouau *et al.* (1994) ont montré qu'une dose optimale de pentosanases en panification (comprise entre 50 et 100 ppm) permet d'améliorer l'ensemble des critères de qualité évalués en boulangerie (caractéristiques rhéologiques de la pâte, volumes des pains, aspect de la mie, etc). Ceci est en grande partie expliqué par la solubilisation des arabinoxylanes insolubles qui ont un effet défavorable sur la structuration de la pâte.

- La glucose oxydase (Figure 2.27) :

La glucose oxydase (GOX, EC 1.1.3.4) catalyse l'oxydation du β-D glucose en δ-D gluconolactone et forme du peroxyde d'hydrogène (Whitaker, 1985).

Cette enzyme est de type Michaëlien avec un mécanisme ping-pong catalysant la réaction suivante :

$$\text{Glucose} + O_2 \rightarrow \text{Gluconolactone} + H_2O_2$$

Le peroxyde d'hydrogène produit sert de substrat à la POD du blé permettant ainsi de polymériser les macros molécules suivant les mécanismes présentés précédemment. L'emploi de la GOX en panification permet un raffermissement de la pâte, un assèchement de sa surface et une augmentation du volume du pain.

La GOX la plus étudiée est celle d'*Aspergillus niger*, les Km vis-à-vis du glucose vont de 20 à 110 mM selon les auteurs et de 0,6 à 0,8 mM pour l'oxygène (Garcia, 2000 ; Whitaker, 1985). Compte tenu de la teneur en glucose non négligeable dans la pâte (1,4 $\mu mol.g^{-1}$ de fs), cette enzyme a été proposée comme substitut aux produits chimiques utilisés pour oxyder les pâtes. Faisy et Neyreneuf (1996) ont proposé de combiner l'emploi de la GOX et d'une hémicellulase pour solubiliser les pentosanes insolubles et les réticuler dans le but de remplacer l'acide ascorbique. Ces auteurs ont montré que la combinaison de ces enzymes aboutissait à un résultat moins performant que l'utilisation de l'acide ascorbique mais représentait une bonne alternative. Une autre combinaison d'enzymes consiste à utiliser des amylases et de la glucose oxydase dans le but de fournir du substrat osidique à cette dernière et d'augmenter ainsi son activité pendant le pétrissage.

La présence de GOX dans la pâte modifie probablement les réactions d'oxydations car elle fournit du substrat à la catalase et à la peroxydase et consomme de l'oxygène qui est substrat de la LOX (Ameille *et al.*, 2000). Rakotozafy *et al.* (1999) ont observé que l'ajout de GOX augmente la consommation d'oxygène pendant le pétrissage, alors que l'activité LOX diminue réduisant ainsi la quantité de lipides oxydés.

D'autres oses oxydases peuvent être utilisées dans la formulation des pâtes dans le but de produire de l'H_2O_2 et de ponter à la fois les arabinoxylanes et les protéines de la farine grâce à l'activité POD. Ces enzymes sont l'hexose oxydase (HOX) et la carbohydrate oxydase (COX) qui ne sont pas spécifiques d'un seul type d'ose (Poulsen et Hostrup, 1998). Ces enzymes sont donc susceptibles de produire une plus grande quantité d'H_2O_2 que la GOX au cours du pétrissage et donc d'avoir un effet plus important sur la rhéologie de la pâte et le volume du pain. Poulsen et Hostrup (1998) et Garcia (2000) ont montré que le Km de la HOX pour le glucose (2,7 mM) est plus faible que celui de la GOX. Selon Poulsen et Hostrup (1998), à même activité par rapport au glucose, la HOX augmente davantage le volume des pains que la GOX.

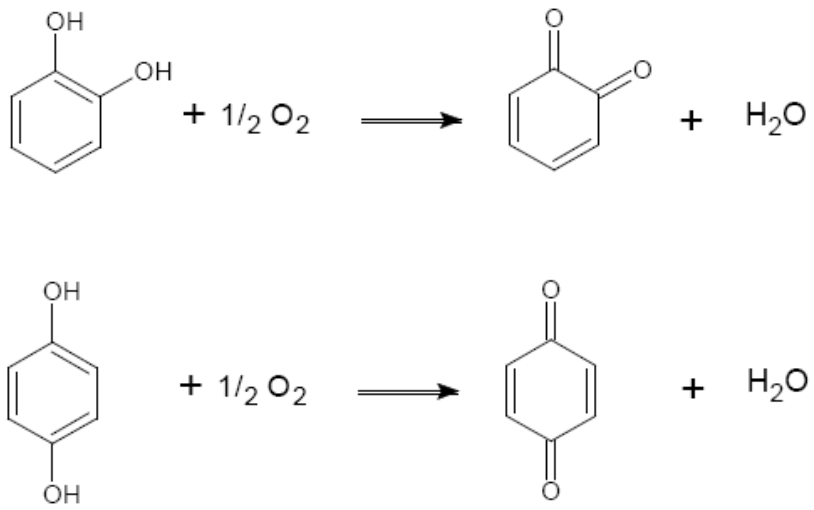


Figure 2.28 : Réactions catalysées par les laccases. Oxydations des *o*-diphénols et des *p*-diphénols.

- La sulfhydryle oxydase :

La sulfhydryle oxydase (SOX, EC 1.8.3.2) est une métalloprotéine qui a d'abord été purifiée à partir du lait. Selon Potus (1997), cette activité enzymatique existerait au sein de la pâte bien qu'aucune purification de cette enzyme n'ait été réalisée jusqu'à présent.

Elle catalyse l'oxydation de thiols de faible masse moléculaire (RSH) avec une production de peroxyde d'hydrogène :

$$2\ RSH + O_2 \rightarrow RS\text{-}SR + H_2O_2$$

La SOX peut présenter un intérêt en panification car elle consomme le glutathion présent dans la pâte, le rendant indisponible pour d'éventuelles réticulations avec les polymères protéiques tout en produisant du H_2O_2 qui active la POD du blé. Les travaux de Louarme (2001) ont mis en évidence un effet rhéologique de la SOX sur des caractéristiques rhéologique de la pâte une fois la phase de l'apprêt réalisée.

- Les PPO :

L'ajout d'activité PPO exogène dans la pâte, en particulier de laccase, peut provoquer l'oxydation des acides féruliques et donc la réticulation des arabinoxylanes entraînant des modifications sur des propriétés rhéologiques. Par ailleurs, les PPO de champignon seraient capables d'oxyder les fonctions phénols des tyrosines et thiols des cystéines provoquant la polymérisation des protéines (Takasaki et Kawakishi, 1997 ; Kuninori *et al.*, 1976). Les *o*-quinones produites par la tyrosinase réagissent directement avec les groupements SH des protéines. L'addition de cette enzyme permet de former dans le gluten des liaisons covalentes de type 5-S-cystéinyl-3,4-dihydroxyphénylalanine entre chaines polypeptidiques (Takasaki et Kawakishi, 1997). Selinheimo *et al*. (2006) ont également observé la formation de pontages mixtes entre arabinoxylanes et protéines. Ces pontages permettent d'accentuer la ténacité de la pâte et diminuent son extensibilité.

En présence d'oxygène, les laccases (EC 1.10.3.2) oxydent les *o*-diphénols, les *p*-diphénols et certains monophénols en quinones en passant par la formation de semiquinones radicalaires intermédiaires (Figure 2.28). Le mécanisme réactionnel est de type ping-pong, impliquant le transfert d'un seul électron à chaque étape.

2.6 Interactions biochimiques au sein de la pâte.

Lors de la formation de la pâte, l'hydratation des molécules qui composent la farine permet l'établissement d'un milieu favorable aux réactions biochimiques. Ces dernières sont la source de nombreuses interactions donnant ses caractéristiques viscoélastiques à la pâte**.**

2.6.1 Développement du réseau protéique de gluten

Le gluten est composé de 75 à 80 % de protéines, 5 à 10 % de lipides, 8 à 10 % d'amidon résiduel, 1 à 2 % de sucres réducteurs, 2 % de cellulose et 1 % de matières minérales (Godon, 1991). A l'état humide, le gluten contient deux tiers d'eau pour un tiers de matière sèche et ses différents constituants sont liés entre eux pour donner un réseau dense et tenace.

Différents modèles expliquant la structuration du réseau de gluten au cours du pétrissage ont été proposés (Khan et Bushuk, 1979 ; Graveland *et al.*, 1985 ; Kasarda, 1989 ; Gao et Bushuk, 1992 ; Hamer et Van Vliet, 2000 ; Belton, 2005). Cependant, tous les auteurs s'accordent sur l'importance de l'association des gluténines entre elles ou avec des gliadines par liaisons faibles ou covalentes.

De plus, d'après des expériences réalisées sur des pâtes pétries avec des farines reconstituées ayant des rapports $\frac{gliadine}{gluténine}$ variables, on peut considérer que les gluténines sont principalement responsables de l'élasticité, de la cohésion et de la tolérance au pétrissage alors que les gliadines facilitent la fluidité, l'extensibilité et l'expansion de la pâte contribuant ainsi à l'augmentation du volume du pain.

Un bon équilibre entre les deux types de protéines (gliadine et gluténine) est essentiel en panification. Dans le cas d'une trop forte teneur en gluténines, l'expansion des alvéoles de gaz est difficile et le volume du pain est pénalisé.

De même, dans le cas d'une trop forte quantité de gliadines, le film de pâte entourant les alvéoles est trop fin, il retient moins le CO_2 formé et pénalise le volume du pain. Les liaisons hydrogène formées au cours du pétrissage contribuent également aux propriétés viscoélastiques du réseau de gluten. Ceci a été montré par le remplacement de l'eau de la pâte par de l'eau lourde. Le gain de résistance à la déformation des échantillons a été attribué aux liaisons deutérium qui sont plus fortes que les liaisons hydrogène (Tkachuket Hlynka, 1968).

Enfin, Tilley *et al.* (2001) ont proposé un rôle essentiel des dimères de tyrosine dans la formation du réseau de gluten. Cependant, d'après les teneurs en dityrosine de la farine dosées par Hanft et Koehler (2005), il est peu probable qu'ils jouent un rôle important dans la formation du réseau de gluten.

2.6.2 Interactions pentosanes-protéines

Labat *et al.* (2001) ont suggéré que les pentosanes solubles, en formant un réseau, limiteraient la mobilité des gluténines et donc la formation de plus gros polymères. Les travaux de Carvajal-Millan *et al.* (2005b) confirment que le coefficient de diffusion apparent des protéines absorbées sur des gels d'arabinoxylanes solubles décroît avec l'augmentation de la concentration en arabinoxylanes et le degré de réticulation du gel.

D'après Wang *et al.* (2002), les acides féruliques présents sur les pentosanes solubles ont un impact sur la formation du gluten. Les interactions entre protéines et arabinoxylanes sont de deux types :

- la réticulation des pentosanes solubles conduit à l'augmentation de la viscosité de la phase liquide qui limite le taux d'agrégation des protéines et donc la formation du réseau de gluten (Wang *et al.*, 2004b) ;
- la formation de liaisons phénol-phénol ou phénol-thiol entre arabinoxylanes et protéines grâce à l'activité peroxydasique (voir 2.5.5.6.2.2).

Enfin, Labat *et al.* (2000a) ont montré que l'ajout d'acide férulique libre à une pâte accentue son affaiblissement pendant le pétrissage. Cet affaiblissement est attribué à une dépolymérisation des protéines du réseau de gluten. L'acide férulique, par son rôle d'intermédiaire réactionnel est donc à l'origine d'interactions entre les arabinoxylanes et le gluten par des échanges de liaisons covalentes. Ceci peut conduire à une amélioration des réticulations au sein de la pâte, ou quand l'AF est en trop forte quantité, à une dépolymérisation.

2.7 Travaux antérieurs ménés au Cnam sur le rôle de l'O_2 lors du pétrissage.

La première mesure de la consommation d'O_2 par une pâte composée de farine, d'eau, de chlorure de sodium est rapportée par Smith et Andrews (1957). L'oxygène est aussi nécessaire au développement du réseau protéique, puisque lorsque le pétrissage est réalisé dans une atmosphère pauvre en O_2, le réseau de gluten se développe peu (Graveland *et al.*, 1985). Depuis, peu d'articles sont consacrés à sa mesure lors du pétrissage, exceptés les travaux réalisés au laboratoire de biochimie industrielle et agroalimentaire du Cnam (Ameille *et al.*, 2000 a et b ; Celhay, 2000 ; Eyoum *et al.*, 2003 ; Levavasseur, 2007). L'oxygène incorporé à la pâte a un rôle central dans les réactions d'oxydation enzymatiques intervenant au cours du pétrissage, notamment l'oxydation des lipides. Ainsi, on remarque que lorsque la teneur en acide gras polyinsaturés libres est très faible, la consommation d'O_2 l'est aussi (Eyoum *et al.*, 2003). De même, quand les systèmes enzymatiques sont dénaturés par étuvage, très peu d'O_2 est consommé (Ameille *et al.*, 2000). L'oxygène est le co-substrat de nombreuses réactions, ce qui peut induire de fortes compétitions pour son utilisation (Levavasseur, 2007). De plus, l'efficacité de l'ajout de nombreux ingrédients, additifs (acide ascorbique) ou auxiliaires technologiques (glucose oxydase) est liée à sa consommation pendant le pétrissage. Celhay (2000) observe que la consommation d'oxygène d'une pâte augmente lorsque celle-ci contient de la levure (*S. cerevisiae*).

Ces remarques illustrent le fait qu'en absence d'additifs ou d'auxiliaires technologiques, la consommation d'O_2 d'une pâte est réalisée principalement par les systèmes enzymatiques endogènes. Eyoum *et al.* (2003) attribuent jusqu'à 70 % de la consommation d'O_2 d'une pâte non levurée à l'oxydation des acides gras polyinsaturés, catalysée par la LOX. Le reste de la consommation peut être d'origine chimique, ou provenir d'autres systèmes redox endogènes, ces derniers étant nombreux dans la farine.

Une fois l'oxygène incorporé à la pâte, les réactions d'oxydation enzymatiques ne sont possibles que si l'O_2 est dissous dans la phase aqueuse de la pâte. A noter que la solubilité limitée de l'O_2 dans l'eau (220 $mmol.L^{-1}$ à 30 °C, soit environ 1,3 µmol d'O_2.g^{-1} farine humide) pourrait être un facteur limitant car la quantité d'O_2 initialement dissoute dans l'eau de coulage est probablement rapidement consommée lors de la formation de la pâte.

Dès lors, les cinétiques des réactions consommant l'oxygène incorporé dans les pâtes pendant le pétrissage dépendent d'une part des effecteurs de ces réactions (quantités d'enzymes, de substrats, d'activateurs et d'inhibiteurs) et des caratéristiques physicochimiques de l'environement (température, pH et force ionique notamment) et d'autres part de la vitesse d'incorporation de l'oxygène gazeux et de sa dissolution dans la phase aqueuse de la pâte (sous la dépendance des conditions de pétrissage).

Appareils développé par le Cnam déterminant la consommation d'O_2 d'une pâte :

a) Le bioréacteur :

Ameille *et al.* (2000) a instrumenté un pétrin bioréacteur (pouvant pétrir jusqu'à 600 g de pâte) en vue d'étudier les réactions d'oxydoréduction intervenant au cours du pétrissage de pâtes de farine de blé tendre. Ce travail a permis de quantifier la consommation d'O_2 des systèmes oxydatifs de la pâte au cours du pétrissage en mesurant en continu la teneur en oxygène de l'atmosphère gazeuse environnant une pâte isolée de l'atmosphère extérieure. Cet appareillage a également pu mettre en évidence l'impact des conditions de pétrissage et de la formulation des pâtes (composition biochimique, ajout d'oxydoréductases, de substrats redox ou d'hydrolases) sur la consommation d'oxygène. Le fraseur du bioréacteur était également muni d'un mesureur de couple utilisé par Cehlay (2000) et Levavasseur *et al.* (2006) pour caractériser les pâtes selon certains paramètres rhéologiques (indice d'élasticité et indice d'extensibilité). Les contraintes mécaniques du système (géométrie du bras et de la cuve, puissance du moteur) nécessitaient de pétrir des pâtes surhydratées (70 g d'eau pour 100 g de farine contre 60 g pour une farine boulangère). Ces formulations permettent de ralentir les phénomènes d'oxydation mais ne donnent pas la possibilité (ou difficilement) de comparer les données issues de l'analyse du couple moteur avec celles pouvant être déterminées avec des pâtes boulangères.

b) Le sitoxygraphe :

En 2003, avec l'aide des groupes Soufflet et Puratos, le laboratoire du Cnam a conçu un pétrin-pilote appelé sitoxygraphe. Cet appareil s'inscrit dans la continuité des travaux réalisés sur la consommation d'oxygène par des pâtes au cours du pétrissage au moyen du pétrin-bioréacteur. Le sitoxygraphe est un pétrin horizontal étanche muni d'un bras fixe et d'un bras mobile. Il est instrumenté de façon à mesurer la teneur en oxygène de l'atmosphère gazeuse environnant une pâte de qualité boulangère d'environ 4,5 kg.

Les travaux de Levavasseur (2007) ont permis d'établir un parallèle entre les pétrissages au bioréacteur et le sitoxygraphe.

Ainsi il apparaît que 15 min de pétrissage au sitoxygraphe équivalent à 45 minutes de mélange au bioréacteur en termes de consommation d'oxygène par la pâte. Ce même auteur a également confirmé que les consommations d'oxygène dépendent de la variété des blés dont sont issues les farines, de l'état de maturation des farines, ainsi que de leur teneur en acides gras libres oxydables.

3 MATERIELS ET METHODES

Tableau 3.1 : Composition moyenne des farines de blé, fève et soja.

Composition en g pour 100 g de farine humide	Eau	Protéines	Glucides	Glucose	Lipides
Fève	12	31,8	54,7	0,34	1,54
Soja	13	40	26	0,01	21
Blé	13	11	74	0,03	2

3.1 Matériels

3.1.1 Farines et levure utilisées

a) Farines de blé (Tableau 3.1)

Durant cette thèse, plusieurs lots de farine de blé de type T55 issus de moutures industrielles de blé BPMF (Blés Pour la Meunerie Française) ont été utilisés. Ils ont été fournis par les Moulins Soufflet (Corbeil-Essonnes, France). Après réception, les farines sont stockées en chambre froide à 4 °C. A cette température, le phénomène de maturation de la farine (hydrolyse des fractions lipidiques produisant des acides gras libres) est ralenti sans être stoppé (Castello, 1999).

En fonction de l'année de production, les teneurs en eau des farines de blé utilisées sont comprises entre 13,65 et 14,55 % (g pour 100 g de matière humide) et les teneurs en protéines entre 10,45 et 11,3 % (g pour 100 g de matière sèche).

b) Farines de légumineuses (Tableau 3.1)

Les farines de fève et de soja ont été fournies par AIT (Groupe Soufflet, Corbeil-Essonnes, France) et ont été conservées à 4 °C.

c) Levure

La levure a été fournie par le groupe PURATOS (Groot-Bijgaarden, Belgique) est sous forme sèche et conditionnées sous vide. Une fois ouvert, le contenu des sachets est déposé dans des récipients étanches et est conservé à 4 °C pendant 3 semaines au maximum.

3.1.2 Les oses oxydases

Les échantillons de glucose oxydase (GOX) sont fournis par le groupe PURATOS (Groot-Bijgaarden, Belgique) et la carbohydrate oxydase (COX) par la société NOVOZYMES (Danemark). Les enzymes se présentent sous la forme de poudres conservées à 4 °C. Les caractéristiques de ces enzymes (substrats utilisables, Vm et Km) sont déterminées suivant le protocole établi par Garcia (2000). Les doses de GOX et de COX ajoutées aux pâtes suivent les recommandations du fournisseur PURATOS.

Tableau 3.2 : Liste des produits utilisés.

REACTIFS	FORMULE	PURETE	FOURNISSEUR
Oses			
β-D-Glucose	$C_6H_{12}O_6$	Rectapur	VWR International
fructose	$C_6H_{12}O_6$	Rectapur	VWR International
maltose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	Rectapur	VWR International
maltotriose	$C_{18}H_{32}O_{16}$	Rectapur	VWR International
maltotétraose	$C_{24}H_{42}O_{21}$	Rectapur	VWR International
saccharose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	Rectapur	VWR International
Sels			
Chlorure de sodium	NaCl	Rectapur	VWR International
Di-sodium hydrogène phosphate	Na_2HPO_4, 12 H_2O	Normapur	VWR International
Acétate de sodium tri hydraté	$C_2H_3O_2Na$, 3 H_2O	Normapur	VWR International
Sodium dihydrogène phosphate	NaH_2 PO_4, $2H_2O$	Rectapur	VWR
Etalons internes			
Acide 3,4,5-triméthoxycinnamique (TMCA)		≥ 98 %	Sigma-Aldrich
Acide margarique (C_{17})	$C_{17}H_{34}O_2$	≥ 98 %	Sigma-Aldrich
Trimargarine	$C_{54}H_{104}O_6$	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
Solvants – acides – antioxydants pour l'analyse des lipides			
Acétone	C_3H_6O	≥ 99,8 %	Sigma-Aldrich
Acide acétique	$C_2H_4O_2$	Normapur	Sigma-Aldrich
Acide formique	CH_2O_2	Normapur	Sigma-Aldrich
Butyl hydroxytoluène (BHT)	$C_{15}H_{24}O$	Normapur	Sigma-Aldrich
Chloroforme	$CHCl_3$	Normapur	VWR International
Ether de pétrole	CH_3-(CH_2)n-CH_3	Normapur	VWR International
Ether diéthylique	$C_4H_{10}O$	Normapur	VWR International
Heptane	C_7H_{16}	Normapur	VWR International
Méthanol	CH_3OH	Normapur	VWR International
Pentane	C_5H_{12}	Normapur	VWR International
Primuline	$C_{21}H_{11}O_3N_9S_3$	Normapur	Sigma-Aldrich
Trifluorure de Bore	BF_3	14 % dans CH_3OH	Sigma-Aldrich
Autres Solvants, acides et bases			
Acétate d'éthyle	$C_4H_8O_2$	Normapur	VWR International
Acétonitrile pour HPLC	C_2H_3N	Normapur	VWR International
Acide Chlorhydrique	HCl	Normapur	VWR International
Ethanol	C_2H_6O	95%	VWR International
Soude	NaOH	Normapur	VWR International
Tensio-actif - détergent			
Sodium Dodécyl Sulfate (SDS)	$C_{12}H_{25}O_4S$	Rectapur	VWR International
Tween 20 (Polyoxyéthylène-monolaurate de sorbitane)	$C_{58}H_{114}O_{26}$	Rectapur	Sigma-Aldrich
Enzymes			
COX en poudre			Novozymes, Danemark
GOX en poudre			Puratos, Belgique
Lipopan FBG en poudre			Novozymes, Danemark

3.1.3 Produits utilisés

L'ensemble des produits et réactifs utilisés lors des différentes expériences est regroupé dans le Tableau 3.2. Les sels utilisés pour la préparation des solutions tampon ont été fournis par la société VWR International (Fontenay-sous-Bois, France). Les gaz utilisés, azote pur, oxygène pur et dioxyde de carbone à 50 % (50 % CO_2, 50 % N_2) pour l'étalonnage de l'analyseur de gaz COSMA et la création d'atmosphères de pétrissage modifiées sont fournis par la société Air liquide.

3.1.4 Description du sitoxygraphe

Fabriqué par la société LAMBERT, le sitoxygraphe (Figures 3.1 A, B et 3.2) est un pétrin horizontal dont la cuve, de volume à vide de 9,38 L, est séparée de façon étanche de l'atmosphère extérieure. Il permet de pétrir des quantités de pâte comprises entre 1,5 et 5 kg. Une des caractéristiques de ce pétrin tient au fait que l'ensemble de la masse de pâte est pétrie à chaque tour de bras ce qui lui confère une grande efficacité. Selon Levavasseur (2007), une vitesse de rotation de 52 RPM du bras mobile au sitoxygraphe équivaut à une vitesse de 200 RPM sur un pétrin spiral et 80 RPM sur un pétrin à axe oblique. D'après le constructeur, un pétrissage d'une dizaine de min à 52 RPM augmente en moyenne la température de la pâte de + 6 °C (Levavasseur, 2007).

a) La cuve

La cuve est composée d'un cylindre ($Ø_{\text{intérieur}}$ = 210 mm, $L_{\text{intérieure}}$ = 210 mm) fermé par une porte latérale coulissant sur un rail de guidage. La cuve est surmontée d'une cheminée fermée par un hublot articulé. La paroi de la partie circulaire du cylindre est équipée d'un échangeur thermique étanche (usiné dans la masse) dans lequel circule de l'eau habituellement à 20 °C provenant d'un cryostat (JULABO modèle F26), à un débit de 300 $mL.min^{-1}$.

La porte latérale est utilisée pour la sortie de la pâte de la cuve et l'entretien du pétrin. Le couvercle supérieur sert à introduire les ingrédients. Au niveau de ces ouvertures, l'étanchéité est assurée par des joints toriques. Les deux portes sont également munies de hublots pour observer visuellement le pétrissage. La cheminée supportant le couvercle supérieur et la porte latérale sont munies d'orifices permettant la mise en place de capteurs. Sur le couvercle latéral se trouve un système de prélèvement de 20 mL qui permet l'échantillonnage de pâte pendant le pétrissage sans rompre l'atmosphère confinée du pétrin. Toutes les pièces du système de prélèvement sont polies et maintenues en pression par des vis de serrage munies de ressort.

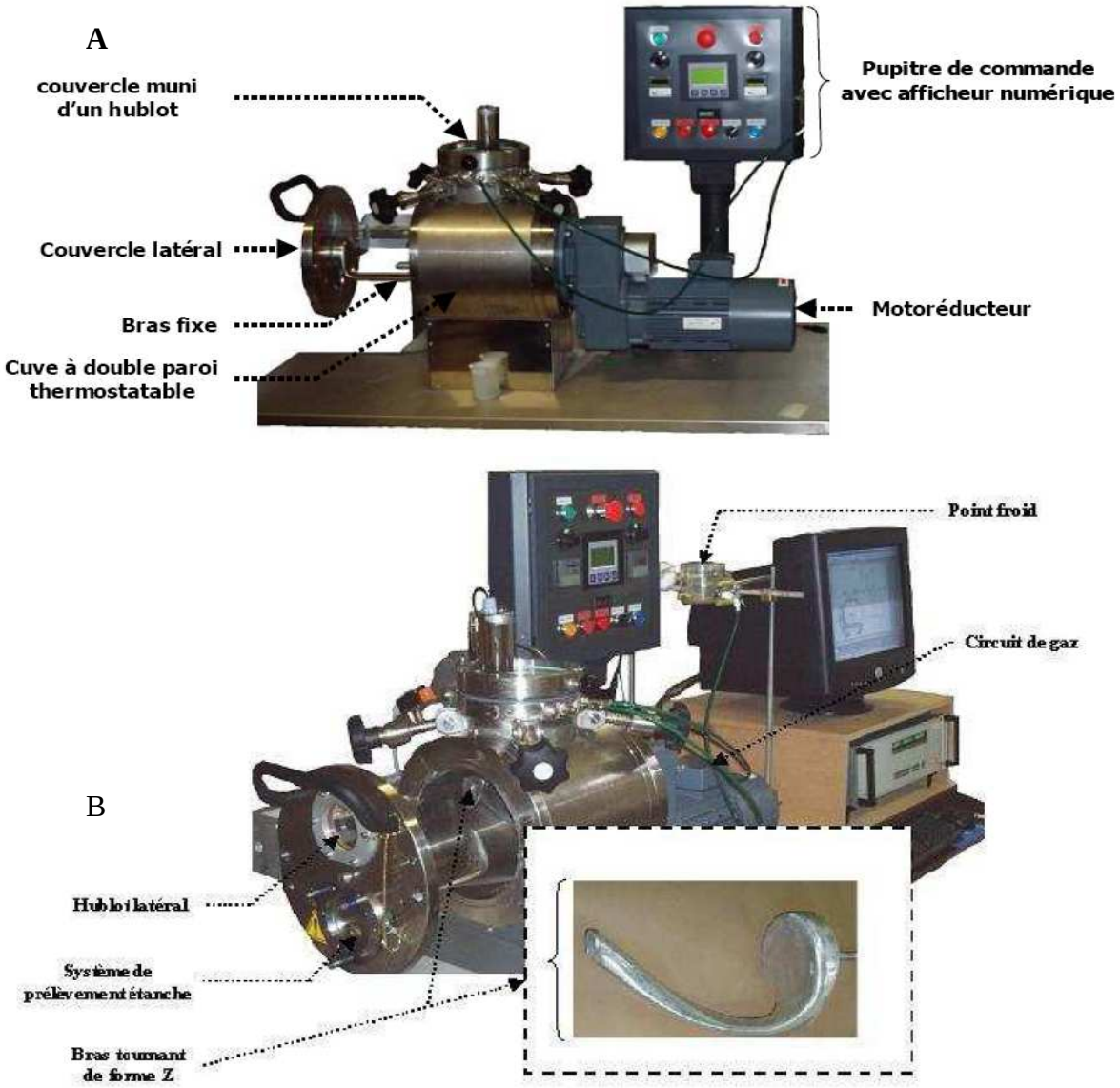


Figure 3.1 A et B : Vue extérieure du sitoxygraphe.

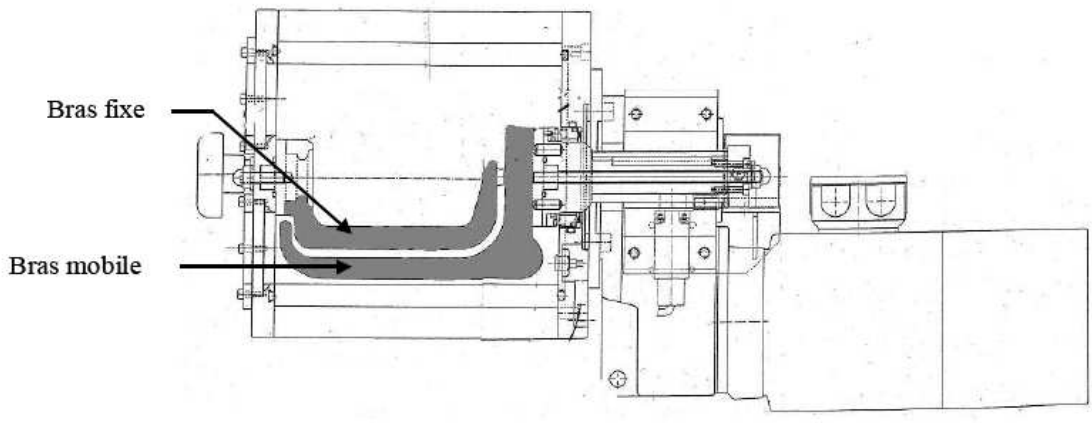


Figure 3.2 : Coupe transversale du sitoxygraphe.

L’étanchéité est aussi réalisée par l’ajout de graisse de silicone entre les différentes pièces du système, facilitant le mouvement de rotation.

b) Les bras

Les mouvements de rotation ainsi que la forme des bras de pétrin tentent de reproduire les mouvements de bras des boulangers lorsqu’ils pétrissent la pâte manuellement. Les deux bras du sitoxygraphe sont en fonderie inox (aluminium F76) et amovibles. Le bras tournant poli (en forme de Z) étire et comprime la pâte contre le bras fixe téflonné (en forme de U). D’après les travaux de Levavasseur (2007), le sitoxygraphe homogénéise la pâte très rapidement, puisque 0,5 à 1 minute suffit pour répartir uniformément un indicateur coloré dans la pâte contre 2 minutes pour un pétrin oblique. L’entraînement du bras est réalisé par un motoréducteur (KEB) d’une puissance de 1,5 kW piloté par un variateur de vitesse permettant une utilisation entre 15 et 30 RPM à petite vitesse et entre 30 et 75 RPM à grande vitesse.

c) L’instrumentation du sitoxygraphe (Figure 3.3)

Le sitoxygraphe est équipé de plusieurs capteurs dont les données permettent entre autres de réaliser le bilan de matière de la phase gazeuse à tout instant du pétrissage. Les capteurs connectés à la cuve du pétrin sont les suivants :

- un capteur de pression (ORPHY – GTS, MECACEL Electronique, France) fonctionnant dans une gamme de pression allant de 0 à 1,5 bar (pression absolue) ;
- un analyseur de gaz CRISTAL 300 (COSMA, France) pour la mesure électrochimique de la teneur en O_2 (0-22 %), la mesure par infrarouge de la teneur en CO_2 (0-1 % et 0-50 %). Cet appareil est utilisable entre 5 et 45 °C et compense l’effet de variation de température de l’air analysé sur la mesure affichée. Une pompe permet de faire circuler à l’intérieur de l’appareil de l’air à un débit de 1,2 L par minute ;
- une sonde Pt_{100} (SIKA France) de type WS spé 1 (-15 à 100 °C) placée au niveau du hublot supérieur du pétrin pour la mesure de la température de l’atmosphère. Diamètre 3 mm, longueur 5 mm ;
- une sonde Pt_{100} (SIKA France) de type WI spé 1 (-15 à 100 °C) située sous la base du bras mobile pour la mesure de la température de pâte. Diamètre 15 mm, épaisseur 3 mm ;
- deux sondes Pt_{100} (SIKA France) de type WS spé 1 (-15 à 100 °C) placées au centre du liquide circulant dans les tuyaux du système de régulation respectivement en entrée et sortie de la cuve. Diamètre 3 mm, longueur 5 mm.

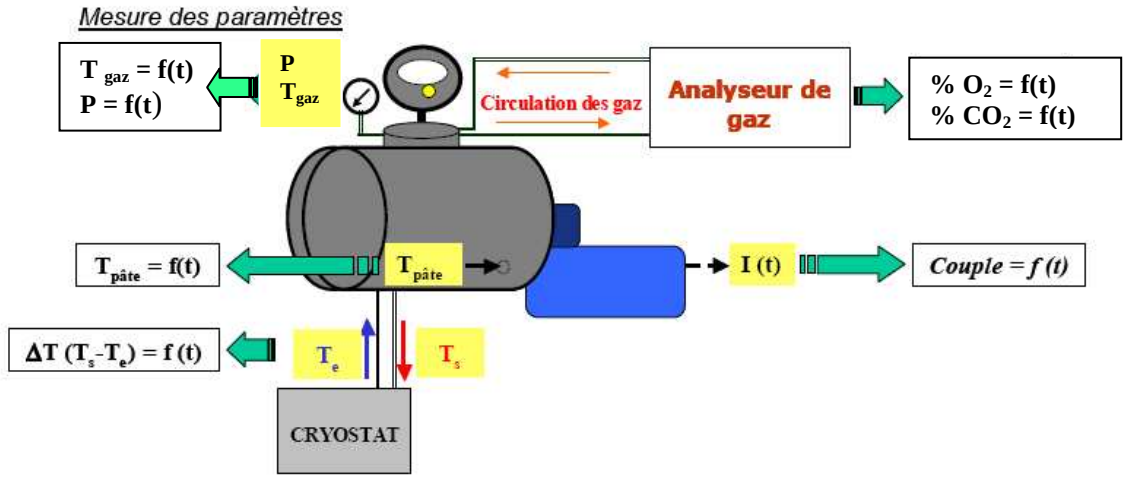


Figure 3.3 : Ensemble des capteurs équipant le sitoxygraphe et des données enregistrées au cours du pétrissage et de la fermentation.

Transférées par des cartes d'acquisition séries (carte analogique numérique PCI NI 4351 et carte d'acquisition pour les températures NI PCI-6023 E, National Instrument) au système informatique, les données mesurées sont visualisées et enregistrées par un programme spécialement développé pour le sitoxygraphe sous Labview®. L'acquisition est séquentielle et scindée en deux. Les données de la composition, de la température et de la pression de l'atmosphère environnant sont saisies en basse fréquence (intervalle d'acquisition de 1 à plusieurs secondes). Un fichier de données est donc généré au format .txt.

3.2 Méthodes

3.2.1 Préparation des pâtes

Conservées à 4 °C dans une chambre froide, les farines sont sorties la veille des expérimentations afin d'être ramenées à la température du laboratoire au moment du pétrissage. Le NaCl est dissous dans l'eau distillée ajoutée à la farine pour former la pâte. La levure sèche, la farine de fève ou de soja, ainsi que les enzymes sous forme de poudre sont ajoutées à la farine et mélangées avec une spatule. Enfin, l'eau salée est déposée au fond de la cuve du sitoxygraphe et est recouverte par la farine. Le hublot supérieur du pétrin est alors refermé hermétiquement et la rotation du bras de pétrin est enclenchée.

La recette des pâtes témoins levurées ou non et pétries avec le sitoxygraphe est la suivante :
- 2584 g de farine (100 % blé ou 99 % blé + 1 % farine de fève ou 99,5 % blé + 0,5 % farine de soja) ;
- 1550 g d'eau distillée (60 g pour 100 g de farine humide, hydratation classique des pâtes boulangères) ;
- 45 g de NaCl (1,8 g pour 100 g de farine humide) ;
- 25,84 g de levure sèche (1 g pour 100 g de farine humide).

Le pétrissage s'effectue en deux temps, un frasage à 30 RPM pendant 2 min est suivi d'un pétrissage à 60 RPM pendant 13 min. La température de consigne de l'eau circulant dans la double paroi de la cuve de pétrissage est fixée à 20 °C. Dans le cas de pâtes pétries à l'aide du consistographe de Chopin, les quantités d'ingrédients composant la pâte représentent $1/10^{e}$ de celles utilisées avec le sitoxygraphe.

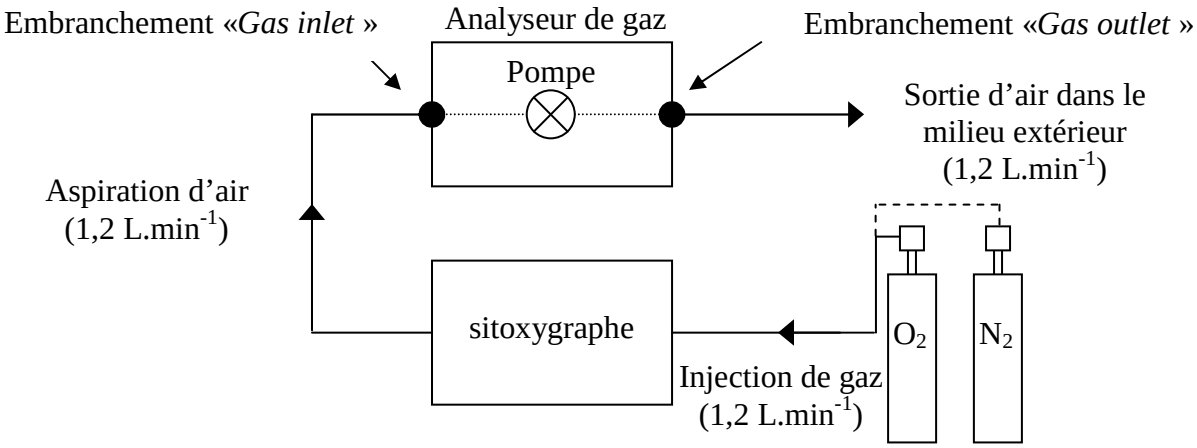


Figure 3.4 : Modification de la quantité initiale en oxygène par un système d'injection d'O_2 ou de N_2 pur avant le pétrissage sans variation de pression.

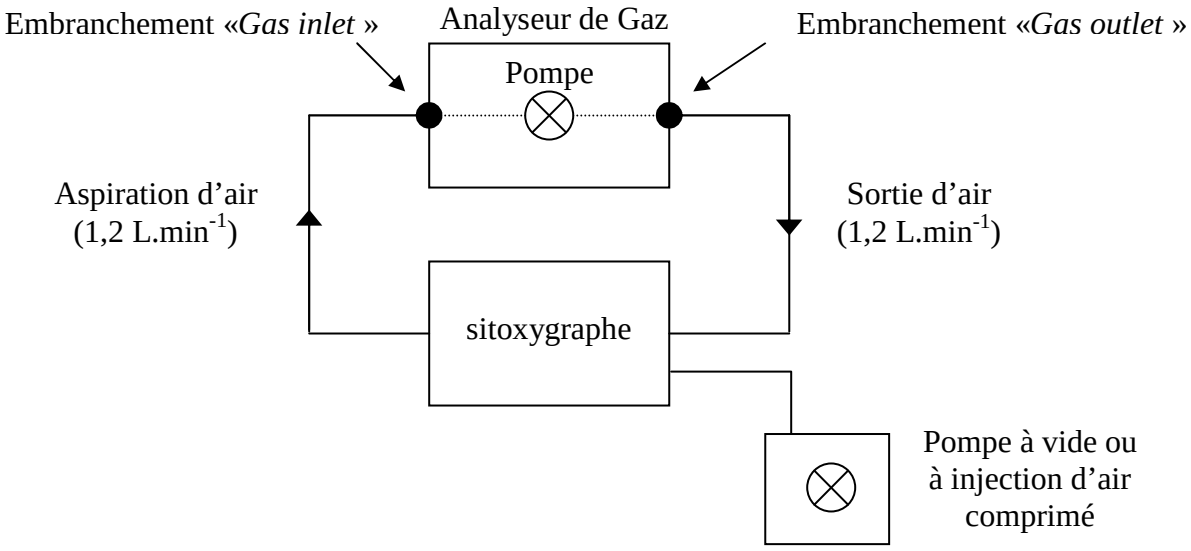


Figure 3.5 : Modification de la quantité initiale en oxygène par un système d'injection ou d'aspiration d'air avec variation de pression.

3.2.2 Modification de l'atmosphère dans l'enceinte du sitoxygraphe

Afin de réaliser des atmosphères à quantités variables en O_2, deux méthodes ont été utilisées :

- injection d'O_2 ou de N_2 purs avant le pétrissage et sans modification de la pression à l'intérieur de la cuve du sitoxygraphe (Figure 3.4) ;
- aspiration ou injection d'air pour modifier la pression et la quantité d'O_2 disponible à l'intérieur de la cuve du sitoxygraphe (Figure 3.5).

3.2.3 Dosage des activités des LOX et des oses oxydases par polarographie

a) Activités des LOX

L'activité LOX est déterminée par polarographie selon la méthode décrite par Boussard *et al.* (2004). Un volume de 1,5 mL de substrat (mélange d'acide linoléique - Tween 20 dans un rapport molaire de 4 pour 1) est dispersé dans un tampon phosphate (0,1 mol.L^{-1} à pH = 6,5), puis est saturé par de l'air à 30 °C. L'enregistrement de la consommation d'O_2 débute immédiatement après l'ajout de 50 à 100 µL d'extrait de farine (4 g dissous dans 10 mL de tampon phosphate). L'activité de la LOX est exprimée en nanokatals (nkat ou nmoles d'oxygène consommées par seconde) par gramme de farine sèche.

b) Activités des oses oxydases

Le dosage est réalisé par polarographie à 30 °C dans un milieu réactionnel de volume final égal à 1,5 mL qui est constitué de tampon acétate 0,1 mol.L^{-1} à pH = 5,6 contenant soit un ose à 0,22 mol.L^{-1}, soit un extrait de farine (4 g homogénéisés deux fois pendant 15 s avec un ultraturrax dans 10 ml de tampon puis centrifugé à 28000 g pendant 20 mn à 4 °C). L'enregistrement de la consommation d'O_2 débute immédiatement après l'ajout de 50 à 200 µL d'extrait enzymatique (après une solubilisation de poudre enzymatique dans du tampon acétate). L'activité ose oxydase est exprimée en nkat par gramme de poudre.

3.2.4 Dosage des activités lipolytiques

L'activité lipolytique est mesurée par titrimétrie à partir d'une émulsion de tributyrine ($C_{15}H_{26}O_6$) dans le cas de la lipase (glycérol ester hydrolase) ou de la lécithine de jaune d'œuf dans le cas d'une phospholipase (phosphoacylglycérol ester hydrolase). Les produits de la lipolyse étant acides, le pH du milieu réactionnel diminue au fur et à mesure de l'avancement de la réaction. L'activité lipolytique se dose à l'aide d'un pH-stat qui affiche la quantité de soude injectée pour maintenir le pH à sa valeur initiale.

Avant chaque série de dosage, le substrat est préparé, en homogénéisant pendant 2,5 min le milieu réactionnel qui contient 5 g de tributyrine ou de lécithine de jaune d'œuf, 16 g d'un émulsifiant (0,6 g pour 100 g de gomme arabique, 0,54 mol.L^{-1} de glycérol, 3 mmol.L^{-1} de KH_2PO_4 et 0,3 mol.L^{-1} de NaCl) et 79 g d'eau distillée (Castello, 1999). Le dosage débute en incorporant entre 25 et 250 µl d'une dilution d'enzyme dans 15 ml de milieu réactionnel maintenu sous agitation à une température de 30 °C.

L'analyse dure entre 400 et 500 s pendant lesquelles le pH est maintenu à 7, par l'ajout d'une solution de NaOH à 0,01 mol.L^{-1}. L'activité lipolytique est déterminée en mesurant la pente de la courbe représentant l'évolution de la quantité de soude incorporée en fonction du temps, à partir du moment où le débit d'injection de NaOH devient constant. Dans certaines conditions de dosage (pH alcalin, substrat lipidiques d'autres provenances), il peut exister une hydrolyse non enzymatique des lipides qui provoque une dérive de la ligne de base. Celle-ci est estimée avant l'addition de l'enzyme et est déduite de l'activité lipolytique en présence d'enzyme. L'activité enzymatique s'exprime en unité lipasique (LU) ou phospholipasique (PLU) qui correspond à la quantité de lipase ou de phospholipase libérant 1 µmole d'AG par minute.

$$Activité\ lipasique\ (LU.g^{-1})\ ou\ phospholip\ asique\ (PLU.g^{-1}) =$$

$$\frac{\Delta\, Volume\ NaOH}{\Delta\, t} \times 60 \times C_{NaOH} \times 10^3 \times \frac{1}{C_{enz}} \times \frac{D}{Vi}$$

Avec :

t : temps (s)

C_{NaOH} : concentration de la soude (mol.mL^{-1})

C_{enz} : concentration de la solution enzymatique (g.mL^{-1})

Vi : volume de solution enzymatique incorporée (mL)

D : facteur de dilution de la solution enzymatique

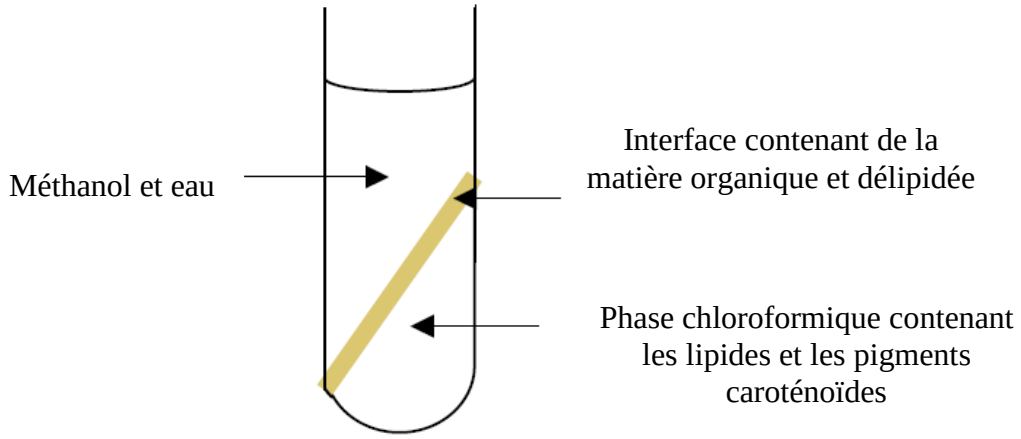


Figure 3.6 : Extraction des lipides.

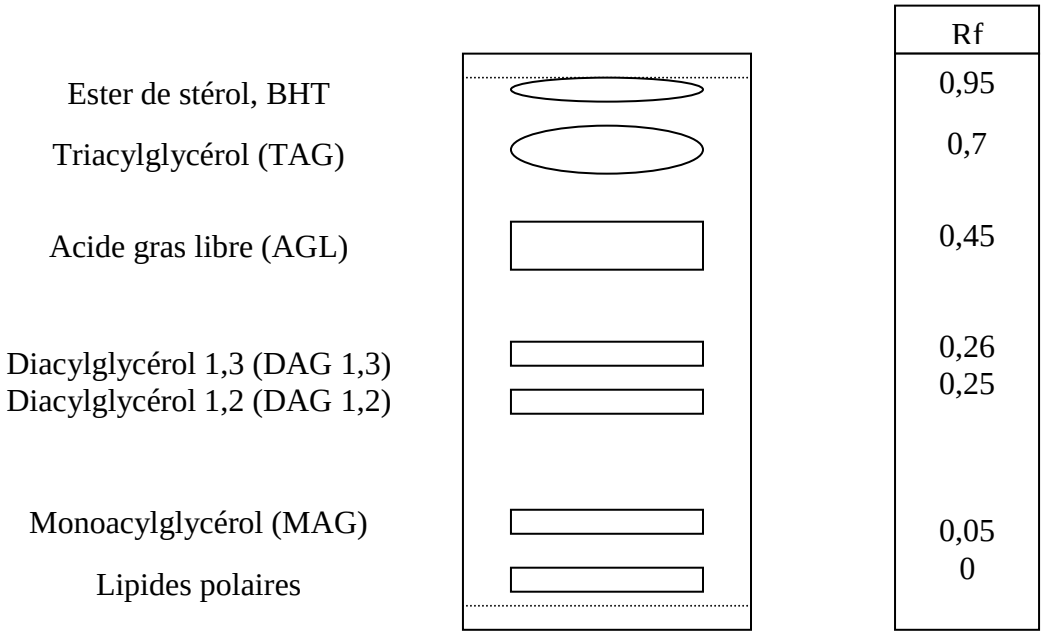


Figure 3.7 : Fronts de migration des fractions lipidiques de la farine de blé et des pâtes en fin de CCM.

3.2.5 Cartographie des lipides

a) Extraction et analyse des lipides

Environ 16 g de pâte crue ou 10 g de farine sont nécessaires à cette analyse. Les échantillons sont directement déposés dans des tubes à centrifuger.

Les activités enzymatiques présentes dans les échantillons sont stoppées par l'ajout de 200 µL d'acide acétique et 20 mL de méthanol.

La suspension ainsi obtenue est homogénéisée à l'aide d'un Ultra-Turrax (IKA, Staufen, Allemagne) à 3000 RPM pendant 20 secondes. Les tubes sont entourés de glace pendant l'homogénéisation afin de limiter l'échauffement du produit.

Par la suite, 1 mL de chloroforme contenant 0,01 % de butyl-hydrotoluène (BHT) puis 9 mL de chloroforme sont ajoutés. La suspension est homogénéisée une seconde fois à l'Ultra-Turrax. 9 mL de chloroforme sont à nouveau ajoutés avant une troisième homogénéisation.

Après cela, de l'eau contenant du NaCl est ajoutée de manière à obtenir 1 % de NaCl pour une phase aqueuse totale de 20 mL quel que soit le type d'échantillon utilisé.

1 mL de chloroforme est déposé sur la tige de l'Ultra-Turrax afin de récupérer les lipides résiduels. Après centrifugation pendant 10 min à 4 °C et à 10000 g, une fraction aliquote des lipides est récupérée par le prélèvement de la phase chloroformique (Figure 3.6).

b) Fractionnement des lipides par chromatographie sur couche mince (Figure 3.7)

250 µL de la phase chloroformique contenant les lipides de la farine ou de la pâte sont prélevés. 10 µL d'acide heptadécanoïque (acide margarique, $C_{17:0}$) et 40 µL de trimargarine, servant d'étalons internes, sont ajoutés à la phase chloroformique contenant les lipides de l'échantillon.

La phase chloroformique est ensuite concentrée et la fraction résiduelle est à nouveau dissoute dans 200 µL de chloroforme. L'ensemble est déposé sur une plaque chromatographique recouverte de silica-gel (Macherey-Nagel, Hoerdt, France)

La migration des fractions TAG, $DAG_{1,2,}$ $DAG_{1,3,}$ MAG, acides gras libres et lipides polaires s'effectue dans une cuve close contenant 69,3 mL d'éther de pétrole, 29,7 mL d'éther, et 1 mL d'acide formique. Suite à la migration, un mélange acétone-eau (80/20) contenant 0,01 % de primuline est vaporisé sur la plaque afin de pouvoir identifier les fractions lipidiques sous une lampe UV.

Une fois les fractions lipidiques identifiées, ces dernières sont grattées, collectées séparément puis hydrolysées et méthylées grâce à une incubation de 15 min à 65 °C en présence de méthanol BF_3 (1:5). Les esters méthyliques d'acides gras sont extraits de la fraction méthanolique par l'ajout de 2 mL d'eau et de 4 mL de pentane. Une fois la fraction pentanique récupérée, le solvant est évaporé sous azote et les esters d'acides gras méthylés sont redissous dans 100 µL d'heptane.

c) Dosage des AG méthylés par CPG

Les esters méthyliques d'acide gras ($C_{16:0}$, $C_{17:0,}$ $C_{18:0}$, $C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{18:3}$) sont analysés par chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'un détecteur FID et d'une colonne de type DB-WAX (30 m x 0,5 mm).

Les températures de l'injecteur, du four et du détecteur sont respectivement les suivantes : 250, 195 et 250 °C. Le débit de gaz vecteur (hydrogène) est de 30 $mL.min^{-1}$ sous une pression de 13,5 psi.

Les teneurs en AG dans les différentes fractions de lipides sont exprimées en $\mu mol.g^{-1}$ de fs. Sachant que seuls les AGPI ($C_{18:2}$ et $C_{18:3}$) sont susceptibles d'être oxydés par les LOX, la pluspart des résultats sont exprimés pour chacune des fractions de lipides (AGL et TAG notamment) soit en µmol d'AGPI.g^{-1} de fs, soit en µmol d'AGPI oxydés.g^{-1} de fs après le pétrissage. Dans ce dernier cas, cette quantité correspond à la différence entre AGPI oxydables dans la farine et AGPI oxydables résiduels dans la pâte après pétrissage.

3.2.6 Dosage des pigments caroténoïdes

Les pigments caroténoïdes peuvent être dosés dans la farine de blé, les pâtes issues des pétrissages, ou encore la mie de pain. Le dosage est réalisé par une analyse spectrophotométrique des extraits chloroformiques obtenus lors de l'extraction des lipides des échantillons (Nicolas, 1978). Il est nécessaire de laisser l'extrait se stabiliser pendant 1 minute après l'avoir déposé dans la cuve avant la mesure.L'absorbance de l'extrait chloroformique est directement mesurée à 455 nm. Lorsque l'absorbance à 455 nm est supérieure à 1,5, il convient de diluer l'extrait chloroformique.

L'absorbance expérimentale à 455 nm est corrigée de la part d'absorbance due à la turbidité à cette même longueur d'onde (extrapolée à partir des mesures d'absorbance effectuées entre 550 et 800 nm) afin de déterminer la quantité de pigments caroténoïdes présents dans l'extrait lipidique.

Méthodologie de calcul pour interprétation des résultats :

$$Abs_{caroténoïdes} = Abs_{455nm} - Turbidité_{455nm}$$

Calcul de la turbidité à 455 nm:

$$Turbidité_{455nm} = e^{a \log \lambda_{455nm} + b}$$

Avec a et b les coefficients de régression linéaire de la droite : $\log(Abs) = f \log(\lambda)$ entre 550 et 800 nm.

Les teneurs en caroténoïdes dans les échantillons de farine ou de pâte sont calculées à partir de la relation suivante :

$$Q = \frac{Abs_{caroténoïdes}}{fs} \times 1000$$

Q : quantité de caroténoïdes exprimés en $mAU.g^{-1}$ de farine sèche

$Abs_{caroténoïdes}$: absorbance à 455 nm corrigée de la turbidité

fs : quantité farine sèche de l'échantillon (g)

3.2.7 Cartographie protéique

La procédure expérimentale est adaptée du protocole mis au point par Morel *et al.* (2000b) sur la farine et par Malet (2005) sur la pâte.

a) Extraction des protéines solubles dans le dodécyl sulfate de sodium

L'extraction des protéines est réalisée à partir d'un échantillon de 160 mg de farine ou de pâte lyophilisée additionnée de 20 mL de tampon phosphate 0,1 $mol.L^{-1}$ à pH 6,9 contenant 1 % de SDS (rapport poids/volume). Après avoir été homogénéisés quelques secondes, les contenus des tubes sont maintenus pendant 80 min sous agitation douce, dans un carrousel, à l'intérieur d'une étuve à 60 °C pour stabiliser l'extrait (inactivation des protéases) (Morel *et al.*, 2000b). Les tubes sont ensuite centrifugés à 42 700 g pendant 30 minutes à 18 °C. Le surnageant, dans lequel sont solubilisées les protéines, est récupéré puis filtré (filtre Milex-GV, PVDF 0,22 µm, Millipore®) pour être analysé par HPLC-SE.

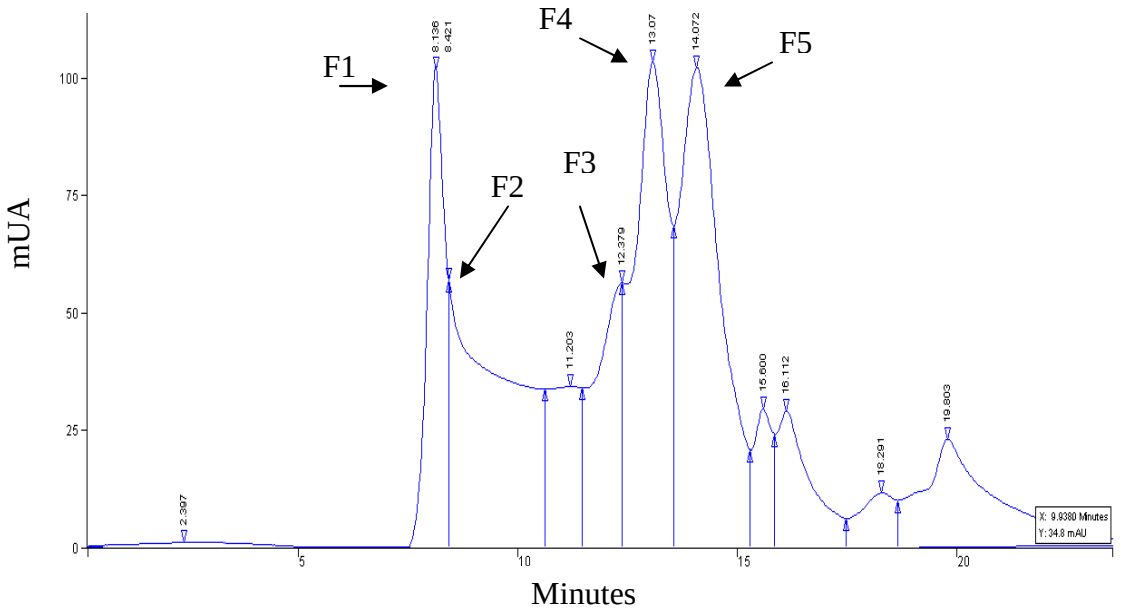


Figure 3.8 : Chromatogramme à 214 nm d'un extrait de protéines solubles dans le tampon SDS de pâte.

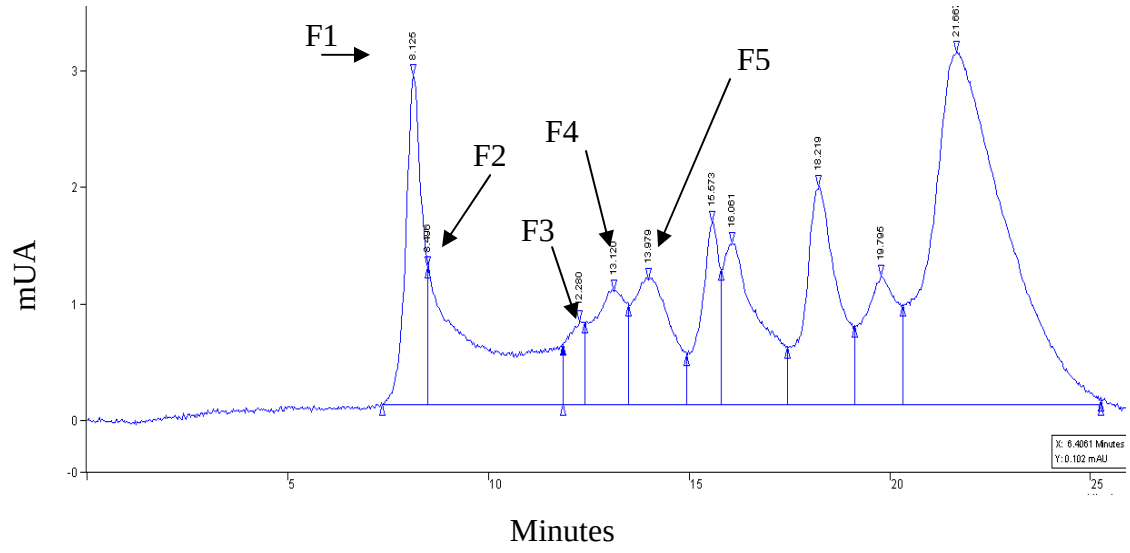


Figure 3.9 : Chromatogramme à 214 nm d'un extrait de protéines insolubles dans le tampon SDS de pâte.

b) Extraction des protéines insolubles dans le tampon SDS

Afin de solubiliser les macropolymères gluténiques, les culots issus de l'extraction des protéines solubles dans le tampon SDS, sont soumis à une seconde extraction avec 20 mL de tampon phosphate SDS à 0,1 mol.L^{-1} à pH 6,9 pendant 30 minutes à 60 °C. Pour solubiliser les protéines dites insolubles dans le SDS, les échantillons sont traités aux ultrasons à une puissance de 7 W pendant 90 s. Les échantillons sont centrifugés durant 20 min à 42 700 g, à 18 °C, afin de séparer du culot, les protéines extraites dans le surnageant. Le surnageant est filtré (filtre Milex-GV, PVDF 0,22 µm, Millipore®), puis les protéines sont analysées par HPLC-SE.

La somme des teneurs en protéines solubles et insolubles dans le tampon SDS est égale à la teneur totale en protéines de l'échantillon analysé.

c) Séparation et caractérisation des protéines par SE-HPLC

La séparation est réalisée d'après les conditions utilisées par Malet (2005) adaptées de celles de Darde (2001) et Morel *et al.* (2000b). 30 µL d'extrait de protéines de farine ou de pâtes sont injectés sur une colonne (300 x 7,5 mm) d'exclusion stérique analytique composée d'un gel de silice rigide hydrophobe (SEC 4000, Phenomenex, USA). L'élution réalisée avec une solution de tampon phosphate de sodium 0,1 mol.L^{-1} (pH = 6,9) contenant 0,1 % de SDS, à un débit de 0,7 mL.min^{-1} à 30 °C.

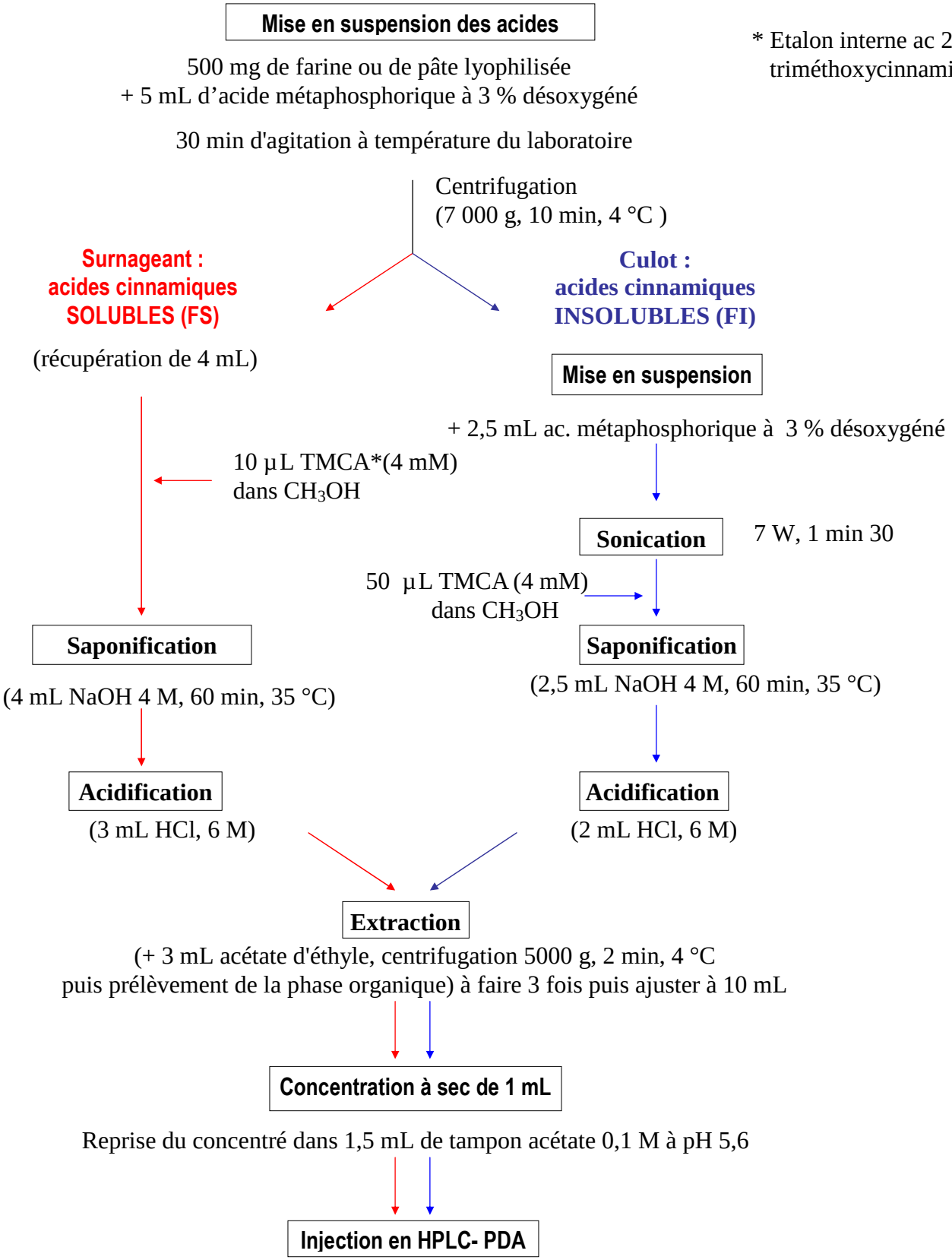
En sortie de colonne, les protéines sont analysées par un détecteur à barrette de diodes permettant de travailler dans une gamme de longueurs d'onde comprise entre 200 et 900 nm. Les liaisons peptidiques sont détectées à 214 nm et le chromatogramme obtenu peut être découpé en cinq fractions (Figures 3.8 et 3.9). Les temps de rétention des pics F2 et F3 ($t_{R\,F2}$ et $t_{R\,F3}$) qui sont partiellement confondus avec les pics F1 et F4 sont données par les formules ci-dessous :

$$t_{R\,F2} = (t_{R\,F4} - t_{R\,F1}) \times 0{,}09 + t_{R\,F1}$$

$$t_{R\,F3} = (t_{R\,F4} - t_{R\,F1}) \times 0{,}79 + t_{R\,F1}$$

avec $t_{R\,x}$: temps de rétention en min

La somme des cinq fractions correspond à la quantité totale (F_T) de protéines de la fraction analysée (soluble ou insoluble).



* Etalon interne ac 2,3,4,5 triméthoxycinnamique

Elution : sur YMC ODS AQ (150 x 4,6 mm) 3 µm de granulométrie, en mode isocratique avec HCOOH (0,1 %) et CH_3CN (75 / 25), débit de 0,7 $mL.min^{-1}$ à température de laboratoire et pendant 30 min. Injection 30 µL. Détection à 320 nm.

Figure 3.10 : Protocole d'extraction et de dosage des acides cinnamiques.

3.2.8 Dosage des acides cinnamiques

L'extraction et le dosage des dérivés cinnamiques sont adaptés de Rakotozafy *et al.* (2009). L'acide 3,4,5-triméthoxycinnamique (TMCA) est utilisé comme étalon interne. La séparation et le dosage s'effectuent par chromatographie liquide haute performance couplée à un spectrophotomètre à barrette de diodes (HPLV-PDA) à 320 nm. La mise en solution des échantillons de la farine et des pâtes lyophilisées est réalisée dans de l'acide métaphosphorique à 3 % et désoxygéné. Après une première centrifugation, les dérivés cinnamiques solubles sont recueillis dans le surnageant et les insolubles dans le culot. Après un ajout de TMCA (étalon interne), les dérivés cinnamiques contenus dans la fraction soluble sont soumis à saponification, acidification, extraction et concentration avant d'être séparés et quantifiés par HPLC. Le culot contenant les dérivés cinnamiques contenus dans la fraction insoluble est de nouveau mis en suspension dans l'acide métaphosphorique désoxygéné, soumis à une sonication, additionné de TMCA puis saponifié, acidifié, extrait et concentré pour l'analyse par HPLC. Les conditions chromatographiques sont explicitées dans la Figure 3.10. Les dérivés cinnamiques (monomères et dimères) sont identifiés par leur spectre d'absorbance et leur quantification est effectuée par rapport au TMCA et en fonction d'un coefficient de réponse déterminé préalablement par une gamme d'étalonnage pour chaque dérivé à 320 nm (Tableau 3.3).

3.2.9 Analyse de la fermeté des pâtes à l'aide du consistographe de Chopin

Le consistographe de Chopin est un appareil qui permet de mesurer l'évolution de la fermeté d'une pâte pendant son pétrissage. Cette mesure est réalisée à l'aide d'un capteur de pression situé dans la cuve et relié à un automate d'acquisition et de traitement des données (alveolink). Dans nos expérimentations, la cuve du consistographe est thermostatée à 25 °C et est équipée d'un fraseur double bras.

Les formulations des pâtes correspondent au 1/10e des quantités utilisées pour le sitoxygraphe (voir 3.2.1). La farine, la levure ainsi que les éventuels autres composants des pâtes sont versés dans la cuve puis homogénéisés pendant 30 s à 60 RPM en l'absence d'eau. Le sel est dissous dans l'eau servant à préparer la pâte. L'eau salée est intégralement versée en 15 s, puis la pâte est homogénéisée pendant 30 s. Le pétrissage est alors stoppé pendant 30 s afin de dégager à l'aide d'une spatule, les amalgames farineux accumulés sur la cellule de mesure de pression. Puis le pétrissage reprend à 60 RPM pour une durée totale de pétrissage de 8 min des 420 g de pâte contenus dans la cuve du pétrin

Tableau 3.3 : Temps de rétention et coefficient de réponses (CR) à 320 nm des acides cinnamiques extraits des pâtes et de la farine de blé.

Dérivés	**Temps de rétention (min)**	**CR (par rapport au TMCA)**
AS	7,76	1,71
A*p*C	7,54	1,31
AF-*trans*	8,28	1,39
AF-*cis*	8,96	1,39
TMCA-*trans*	21,70	1
TMCA-*cis*	16,98	1
8-O-4'diAF	23,11	1,39
8-5'BzdiAF	24,56	0,78
5-5'diAF	16,21	0,63

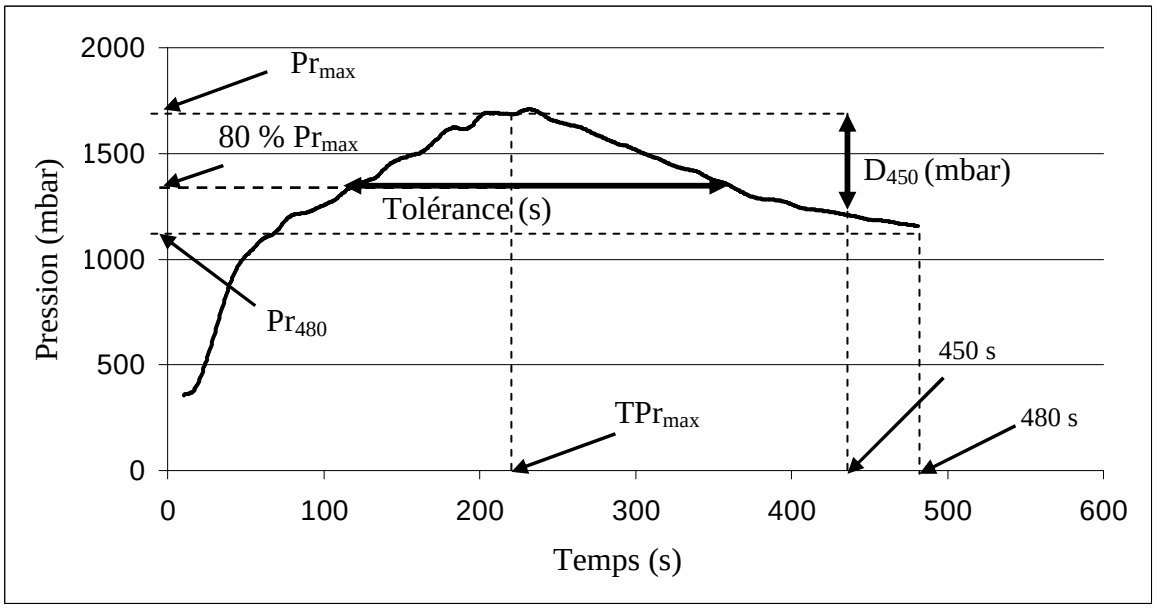


Figure 3.11 : Evolution de la pression exercée par une pâte, au cours du pétrissage, mesurée à l'aide du consistographe.

Plusieurs indices caractérisant les pâtes, sont déterminés à partir des données stockées dans l'alveolink du consistographe (Figure 3.11), tels que :

- Pr_{max} (mbar) qui correspond à la pression maximale exercée par la pâte sur le capteur au cours du pétrissage ;
- TPr_{max} (s) qui correspond au temps d'apparition de Pr_{max} ;
- la tolérance (s) qui correspond à la période pendant laquelle la pression exercée sur le capteur est supérieure ou égale à 80 % de Pr_{max} ;
- D_{250} et D_{450} qui correspondent à la variation de pression (mbar) entre Pr_{max} et la pression après 250 et 450 s de pétrissage respectivement ;
- Pr_{480} (mbar) qui correspond à la pression en fin de pétrissage (480 s).

Afin de mieux visualiser l'impact d'un ingrédient sur la fermeté d'une pâte, la Différence Relative de pression par rapport à la pâte de blé Témoin (DRT, Figure 3.12) peut être calculée de la manière suivante :

$$DRT = \frac{(P\ \text{pâte avec ingrédient}_{\ \text{instant t}} - P\ \text{pâte témoin}_{\ \text{instant t}})}{P\ \text{pâte témoin}_{\ \text{instant t}}}$$

3.2.10 Test de compression-relaxation en conditions lubrifiées

Les échantillons de pâtes ont été préparés selon le protocole de Davidou *et al.* (2008). 600 g de pâte pétrie à l'aide du sitoxygraphe sont déposés dans la cuve du consistographe de Chopin équipé d'un fraser simple bras. La rotation du fraser permet d'extruder la pâte au travers d'une filière rectangulaire. Tout au long de l'extrusion, la pâte en sortie de la filière est lubrifiée avec de l'huile de paraffine. La bande de pâte ainsi obtenue est laminée avec un rouleau de sorte à obtenir une épaisseur de 7 mm.

Des cylindres de pâtes de 46 mm de diamètre sont ensuite découpés dans la bande de pâte à l'aide d'un emporte pièces. Pour chaque pâte pétrie, on obtient 6 cylindres qui sont placés dans un récipient clos qui a été préalablement refroidi dans un réfrigérateur et qui contient de l'eau et de la glace fondante (Figure 3.13). L'eau contenue dans le récipient permet de maintenir une atmosphère saturée en vapeur d'eau et limite le séchage de la surface des échantillons. Le stockage des échantillons dans une atmosphère proche de 0 °C pendant 20 min réduit le métabolisme de la levure.

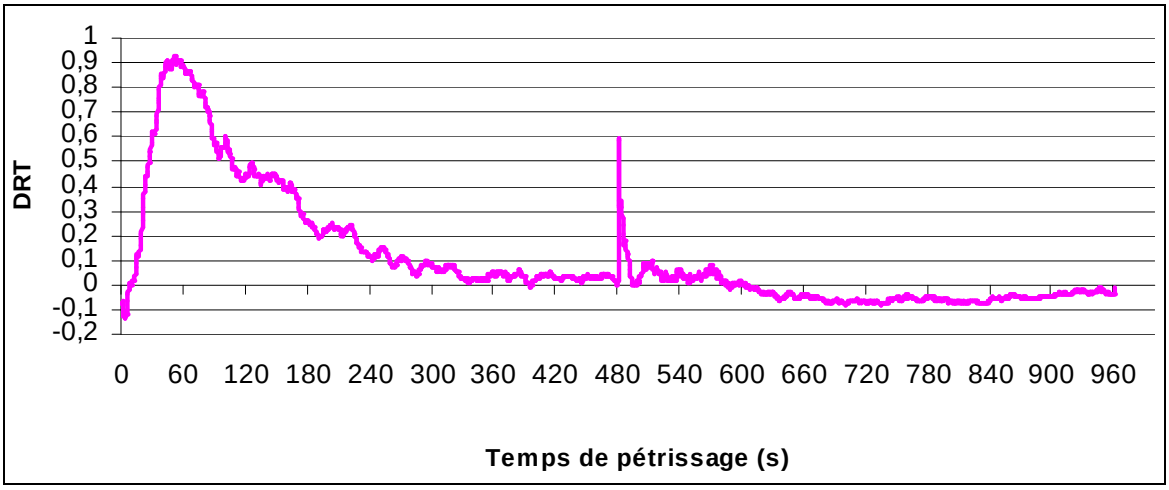


Figure 3.12 : Exemple de DRT sur un pétrissage de 2×480 secondes (Pâte levurée par rapport à une pâte non levurée).

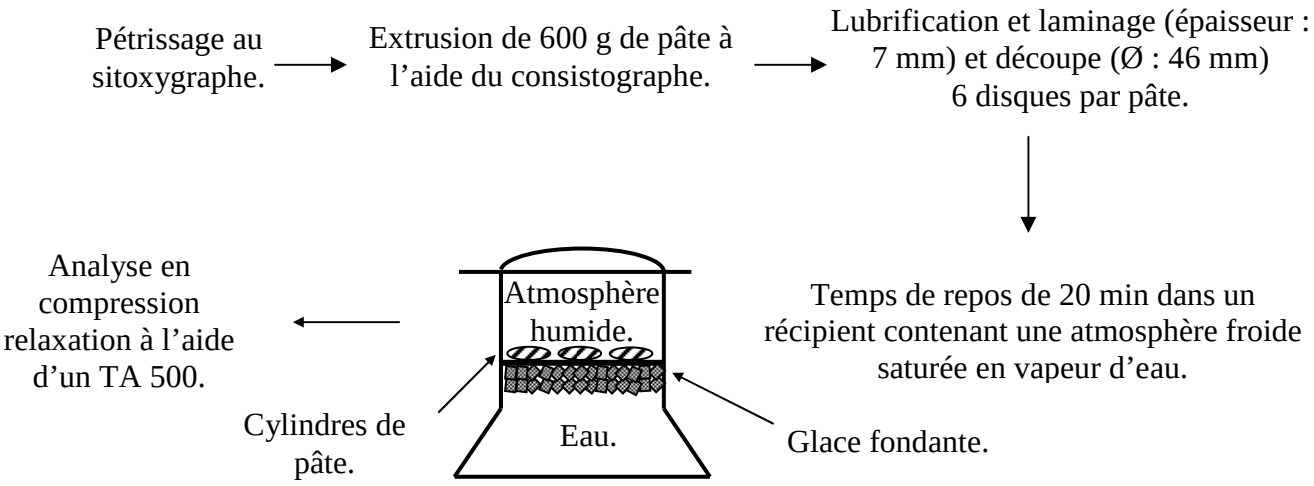


Figure 3.13 : Récapitulatif de la préparation des échantillons de pâte.

Le test de compression-relaxation en conditions lubrifiées a été réalisé à l'aide d'un texturomètre TA 500 (Lloyd instrument, Elancourt, France) enregistrant la force exercée sur la sonde toutes les 2,4 s. La sonde, équipée d'un plateau circulaire de 120 mm de diamètre, comprime l'échantillon à une vitesse de 0,2 $mm.s^{-1}$. Durant la phase de compression (25 s) la hauteur de l'échantillon passe de 7 à 2 mm, ce qui correspond à une extension biaxiale de 71 %. Elle est immédiatement suivie de la phase de relaxation de 150 s pendant laquelle la sonde du texturomètre reste immobile et enregistre la force de réponse du cylindre de pâte suite à la compression (Figure 3.14).

L'indice de relaxation est calculé de la manière suivante :

$$IR = \frac{100 \times (F_0 - F_{150})}{F_0}$$

F_0 et F_{150} correspondent aux forces (exprimées en N) enregistrées au début et à la fin de la phase de relaxation.

L'indice de comportement visqueux ($1/\alpha$) ainsi que la constante de vitesse de relaxation (k exprimé en s^{-1}) ont été obtenus après modélisation des données expérimentales grâce à l'équation de Launay (Davidou *et al*, 2008) :

$$F(t) = F_0 \left[1 - k\,(1-\alpha)(t)\right]^{[1/(1-\alpha)]}$$

Validation de la modification du protocole adapté de Davidou et al. (2008) :

La conservation des échantillons dans une atmosphère froide a pour but de ralentir le métabolisme de la levure qui crée des alvéoles de gaz dans les cylindres de pâte, les rendant inutilisables pour des tests de compression-relaxation. Afin de vérifier si la conservation au froid permet de stabiliser le métabolisme de la levure, des échantillons ont subi des temps de repos compris entre 10 et 30 min.

Le calcul de la force normalisée enregistrée par le capteur, à tout instant de la phase de relaxation, permet de comparer les phases de relaxation de l'ensemble des échantillons indépendamment de la valeur de F_0 qui peut varier de plus de 20 % pour des échantillons ayant subi le même temps de repos.

$$F_{\text{normalisé t}}\,(\%\text{ de } F_0) = \frac{F_t \times 100}{F_0}$$

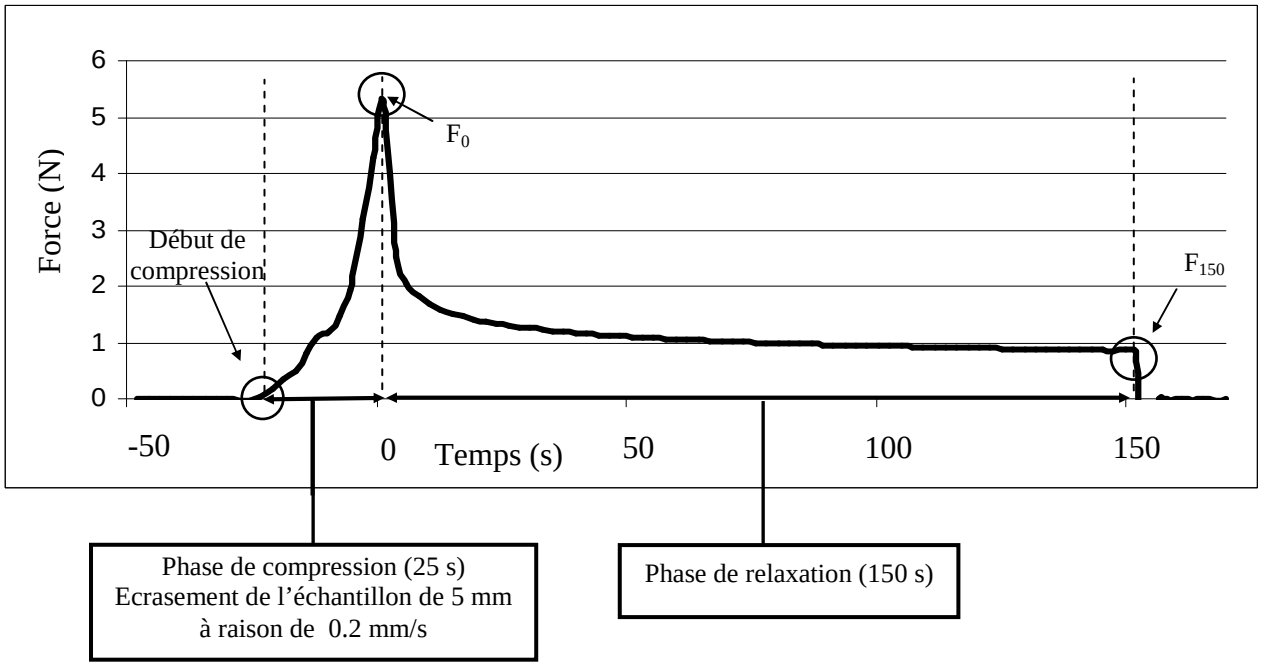


Figure 3.14 : Evolution de la force mesurée par le texturomètre au cours du test de compression-relaxation.

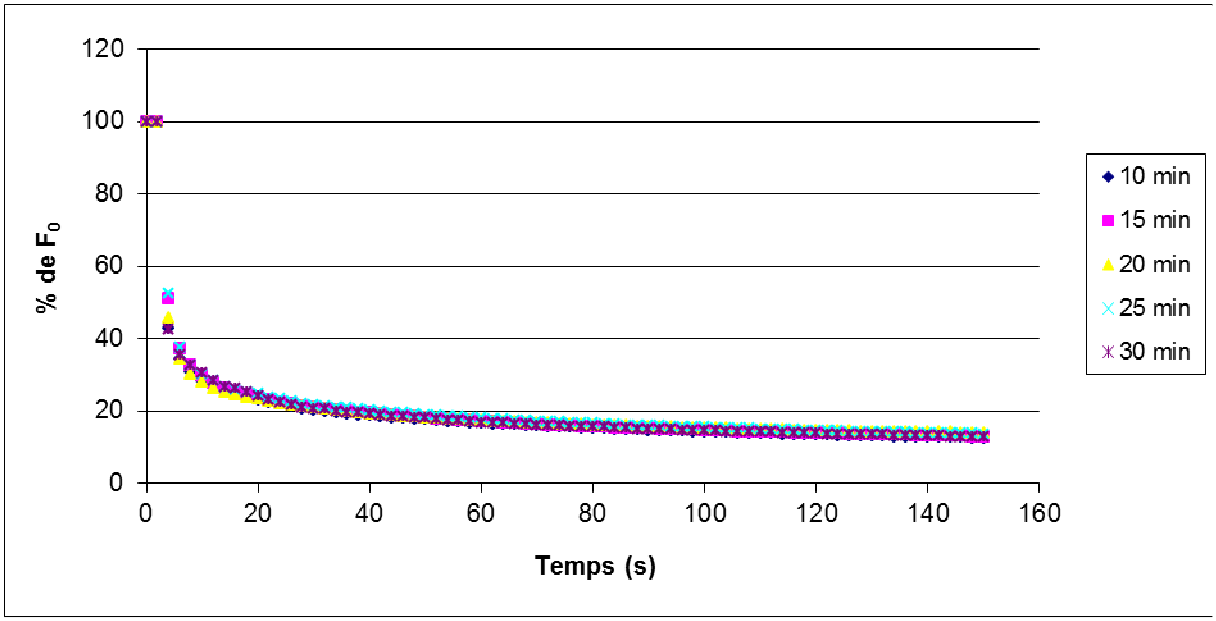


Figure 3.15: Evolution de $F_{normalisé}$ au cours de la phase de relaxation pour différents temps de repos des échantillons.

L'analyse de l'évolution des $F_{normalisé}$ pendant la phase de relaxation (Figure 3.15) met en évidence l'absence d'effet de la variation du temps de repos (entre 10 et 30 min) sur le comportement viscoélastique des échantillons de pâtes ainsi que le montrent les valeurs de $1/\alpha$ et k déterminées sur les différents échantillons (Tableau 3.4).

De plus, les valeurs des F_0 et des IR représentant la fermeté et l'élasticité des pâtes (Tableau 3.5) confirment que le temps de repos n'a pas d'influence significative sur les caractéristiques viscoélastiques des échantillons analysées.
On peut donc conclure que la modification du protocole expérimental développé par Davidou *et al.* (2008) permet de limiter le métabolisme de la levure au cours de la phase de repos des échantillons et donc d'utiliser des échantillons provenant de pâtes levurées pour des tests rhéologiques à grandes déformations.

3.2.11 Tests de panification

Des pains ont été cuits à l'aide de machines à pain (Moulinex Home Bread Baguette) en utilisant des pâtes pétries à l'aide du sitoxygraphe dans le but d'analyser les effets d'une dose croissante de GOX ainsi que de l'utilisation d'une atmosphère enrichie en oxygène sur certaines caractéristiques des produits obtenus.
Suite à un pétrissage de 15 min au sitoxygraphe (2 min à 30 RPM puis 13 min à 60 RPM), la pâte subit un pointage de 30 min en cuve sans que le pétrin ait été ouvert. 4×90 g (±1 g) de pâte sont prélevés de sorte que chaque pâton soit constitué d'un unique morceau de pâte.

Un boulage manuel est suivi d'un façonnage mécanique réalisé à l'aide d'une façonneuse fournie et conçue à façon par Chopin. La façonneuse est constituée de trois cylindres co-rotatifs dont deux sont motorisés, placés sur un axe horizontal et inamovibles. Le troisième cylindre n'est pas motorisé et peut être abaissé à hauteur variable en fonction du diamètre de pâton désiré (Figure 3.16).
Les quatre pâtons façonnés sont déposés dans un moule en métal fourni avec les machines à pain et se développent à l'intérieur de ces dernières pendant 1,5 h.
Le mode de cuisson correspond à celui du programme : baguette avec une couleur de croûte foncée. Une fois cuits, les pains sont déposés sur une grille pour un ressuage d'une heure.
Enfin, les pains sont pesés ; les longueurs et hauteurs maximales sont mesurées et le volume de chaque pain est déterminé par volumétrie à graines à l'aide d'une éprouvette de 2 L et de semoule de blé.

Tableau 3.4 : Analyse statistique de 1/α et k pour des temps de repos des échantillons après laminage compris entre 10 et 30 min.

Temps de repos des échantillons (min)	Indice de comportement visqueux (1/α)	Coefficient de variation (%)	Différence significative	Constante de vitesse de relaxation (s^{-1})	Coefficient de variation (%)	Différence significative
10 min	0,32 ± 0,02	3,78	-	0,39 ± 0,08	10,86	-
15 min	0,32 ± 0,02	4,38	-	0,34 ± 0,08	12,31	-
20 min	0,30 ± 0,06	11,78	-	0,37 ± 0,16	21,58	-
25 min	0,31 ± 0,02	3,04	-	0,35 ± 0,10	14,79	-
30 min	0,31 ± 0,02	2,49	-	0,37 ± 0,07	9,83	-

Tableau 3.5 : Analyse statistique des IR, F_0 pour différents temps de repos des échantillons après laminage.

Temps de relaxation (min)	Indice de relaxation (%)	Coefficient de variation (%)	Différence significative	F_0 (N)	Coefficient de variation (%)	Différence significative
10 min	87 ± 1	0,99	-	9,19 ± 2,14	23,25	-
15 min	87 ± 1	0,78	-	8,33 ± 1,73	20,72	-
20 min	86 ± 1	1,45	-	8,32 ± 1,06	17,52	-
25 min	86 ± 1	0,59	-	8,48 ± 1,81	21,31	-
30 min	87 ± 1	0,53	-	9,21 ± 1,28	13,90	-

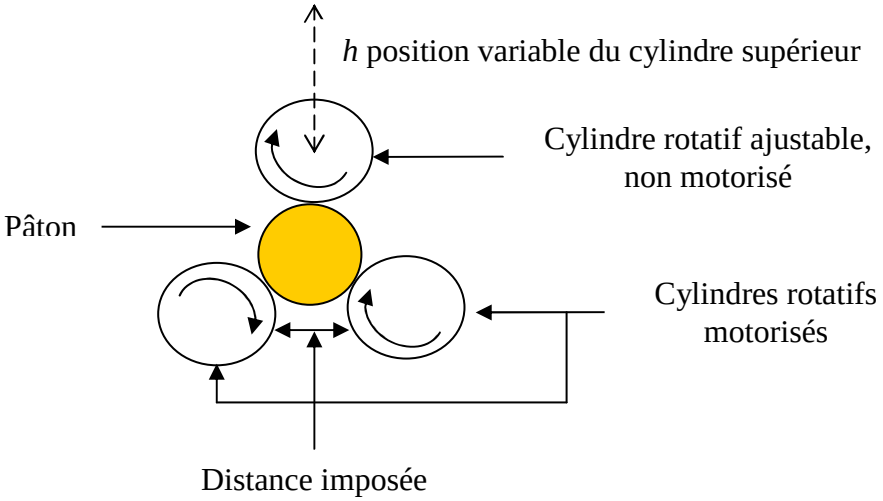


Figure 3.16 : Façonneuse conçue par Chopin

4 ANALYSES DES RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.1 Traitement des données issues des capteurs

Introduction

Depuis 1990, le laboratoire de biochimie industrielle et agro-alimentaire du Cnam poursuit l'étude des réactions d'oxydoréduction intervenant dans la pâte lors du pétrissage par une voie originale : la mesure directe des échanges gazeux d'une pâte avec son atmosphère environnante. Ces travaux, poursuivant ceux réalisés par Smith et Andrews (1957), ont permis la quantification de l'oxygène consommé par la pâte au cours du pétrissage au moyen d'un pétrin-bioréacteur. Ce pétrin expérimental, étanche, mettant en œuvre jusqu'à 600 g de pâte, permettait de mesurer les variations des pourcentages d'oxygène et de dioxyde de carbone dans la phase gazeuse environnant la pâte au moyen d'un analyseur de gaz (Ameille *et al.*, 2000). Cependant, la faible puissance du moteur du bras de pétrin imposait une forte teneur en eau des pâtes (≈ 70 g d'eau ajoutée à 100 g de farine humide). Un autre pétrin étanche, le sitoxygraphe, a donc été développé dans le but d'analyser plus finement les échanges gazeux lors du pétrissage et de la fermentation d'une véritable pâte boulangère (≈ 60 g d'eau ajoutée à 100 g de farine humide).

Les résultats acquis depuis 2005 à l'aide du bioréacteur et du sitoxygraphe ont permis de :

- maîtriser l'étanchéité de l'ensemble du système avec le milieu extérieur (le système étant défini comme l'ensemble des compartiments contenant la phase gazeuse en contact avec les capteurs, c'est-à-dire le volume de la cuve du pétrin plus le volume interne de la tuyauterie assurant la circulation des gaz et moins le volume de la pâte) ;
- déterminer l'influence de la pression sur les pourcentages d'O_2 et de CO_2 lus au cours du pétrissage et de la fermentation ;
- connaître à tout instant le volume de la phase gazeuse contenue dans le système et donc le volume de la pâte.

Ce savoir-faire permet d'étendre le champ d'application du sitoxygraphe du pétrissage à la fermentation et de déterminer, entre autres, le volume spécifique de la pâte à tout instant. Il permet également de déterminer le coefficient volumique de transfert d'O_2 (k_La) au cours du pétrissage.

Les pétrissages réalisés avec le sitoxygraphe nécessitent une étanchéité suffisante du système afin de pouvoir calculer la consommation d'O_2 et la production de CO_2 par la pâte au cours du pétrissage, ainsi que la rétention de CO_2 au cours de la fermentation, à partir des mesures des pourcentages d'O_2 et de CO_2 et de celles de la pression et de la température de la phase gazeuse.
L'étanchéité est donc vérifiée régulièrement et certains points critiques pouvant être des zones de fuites ont été identifiées, tels que :

- les points de piquage faisant la jonction entre la tuyauterie de l'analyseur de gaz et la cuve du pétrin ;
- les joints toriques assurant l'étanchéité de la porte latérale et du hublot supérieur du pétrin ;
- les joints de téflon souples assurant l'étanchéité des orifices nécessaires au passage des capteurs de température et de pression dans la cuve du pétrin ;
- les pièces métalliques sur lesquelles sont fixés les bras du pétrin (fixe et mobile).

Pour vérifier l'étanchéité du système, de l'air sous pression est injecté dans la cuve de façon à obtenir une pression absolue d'environ 1,30 bar. La cuve est alors rendue étanche pendant une durée égale à celle d'un pétrissage standard (15 min). La pression de la phase gazeuse est mesurée à l'aide du manomètre intégré au sitoxygraphe, le bras mobile du moteur étant mis en rotation à la vitesse de 60 RPM. La diminution de pression au cours de ce test doit être inférieure à 0,05 bar. Ce contrôle est effectué au début de chaque nouvelle série d'expérimentations et est renouvelé chaque semaine.

Pour confirmer l'étanchéité du système, un fort gradient d'O_2 peut être imposé entre le système à vide (sans pâte) et le milieu extérieur, tout en maintenant la pression de l'atmosphère contenue dans le pétrin à 1 atm. Pour ce faire, de l'azote pur est injecté dans la cuve, chassant ainsi l'oxygène de l'atmosphère jusqu'à l'obtention d'une teneur en O_2 de 10 %. Le système est ensuite isolé et le bras mobile mis en rotation à la vitesse de 60 RPM. Après 15 min (durée correspondant à celle d'un pétrissage standard), le pourcentage d'O_2 dans la cuve ne doit pas avoir augmenté de plus de 0,1 %.

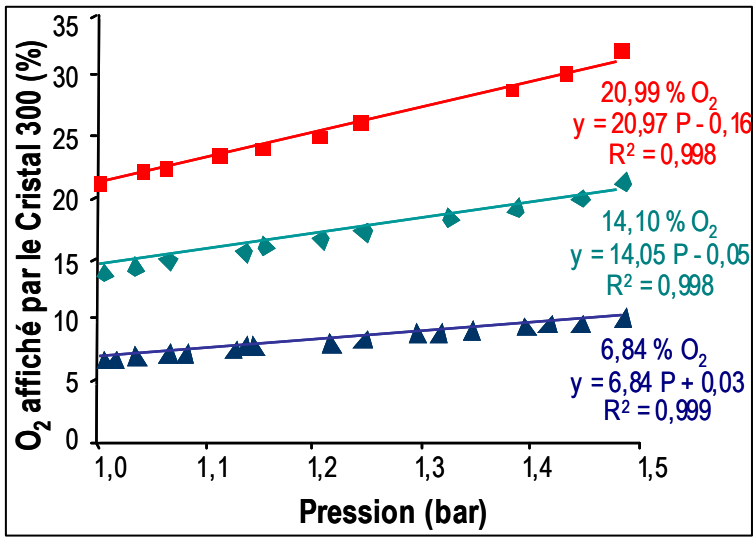


Figure 4.1.1 : Effet de la pression sur la réponse du capteur O_2 de l'analyseur COSMA Crystal 300 (Dehkharghanian *et al.*, 2009).

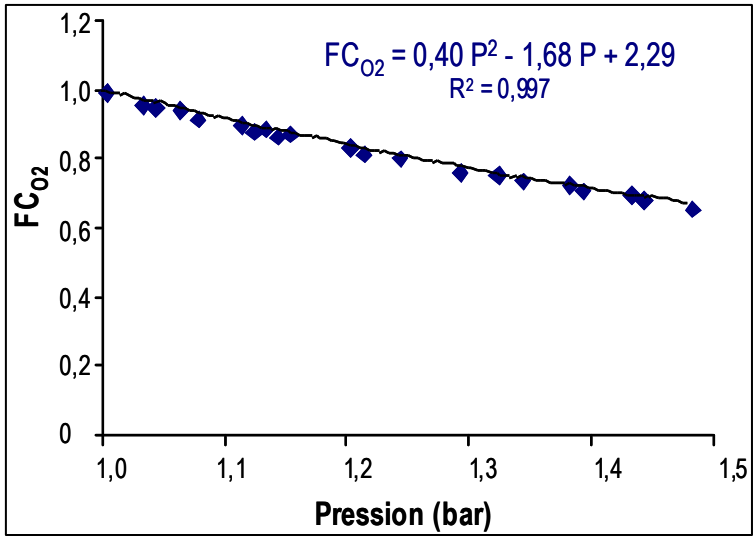


Figure 4.1.2 : Régression polynomiale permettant d'obtenir le facteur de correction de l'O_2 (FC_{O2}) en fonction de la pression (Dehkharghanian *et al.*, 2009).

4.1.1 Effet de la pression sur la réponse de l'analyseur de gaz (% O_2 et % CO_2)

L'analyseur de gaz COSMA Crystal 300 est équipé de sondes dont les réponses dépendent de la pression de la phase gazeuse. De ce fait, une correction mathématique, en fonction de la valeur de la pression lue, doit être appliquée sur les pourcentages d'O_2 et de CO_2 mesurés au cours du pétrissage et de la fermentation.

Pour étudier l'influence de la pression sur la réponse des capteurs d'O_2 et de CO_2, des expérimentations simulant une hausse de pression par une diminution du volume de phase gazeuse dans la cuve du pétrin ont été réalisées pour des atmosphères contenant initialement 20,99, 14,10 et 6,84 % d'O_2 et une pression absolue de 1 atm. Pour ce faire, de l'azote pur est injecté en continu. Lorsque le pourcentage d'O_2 visé est atteint pour une pression absolue atmosphérique de 1 atm, le système est rendu étanche. De l'air comprimé est ensuite injecté dans un ballon gonflable et étanche aux gaz, préalablement déposé à l'intérieur de la cuve, afin de le faire gonfler et d'augmenter la pression de la phase gazeuse sans modifier sa composition.

Les pourcentages d'O_2 lus sur l'analyseur de gaz augmentent linéairement avec la pression lorsqu'elle est comprise entre 1 et 1,5 bar (Figure 4.1.1).

Les facteurs de correction FC_{O2} ($FC_{O2} = \frac{Valeur\ O_{2\ réelle}}{Valeur\ O_{2\ lue}}$) ont été portés en fonction de la pression (Figure 4.1.2). Une régression polynomiale du second degré permet d'obtenir une bonne représentation de l'effet de la pression sur le facteur de correction à appliquer à la valeur lue pour l'O_2 :

$FC_{O2} = 0{,}4 \times P^2 - 1{,}68 \times P + 2{,}29$ $\qquad R^2 = 0{,}997$

P représente la pression absolue dans l'enceinte

Une analyse identique, réalisée sur les pourcentages de CO_2 lus sur l'analyseur de gaz en fonction de la pression entre 1 et 1,5 bar, a permis d'obtenir également un polynôme du second degré liant le facteur de correction à la pression (Figure 4.1.3) :

$FC_{CO2} = 0{,}99 \times P^2 - 3{,}45 \times P + 3{,}45$ $\qquad R^2 = 0{,}946$

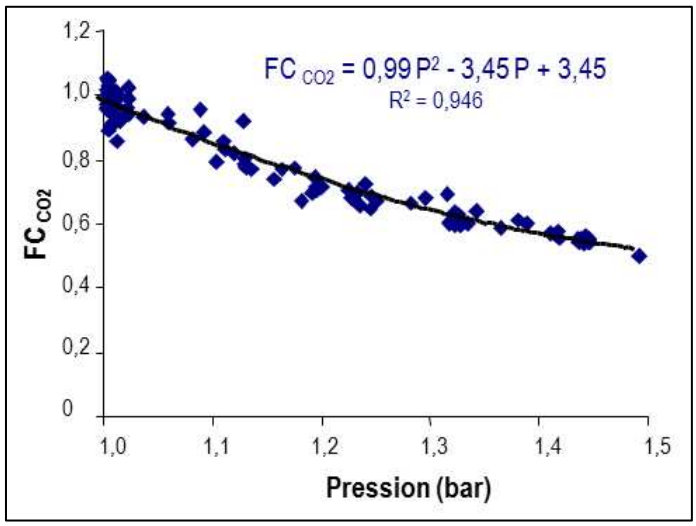


Figure 4.1.3 : Régression polynomiale permettant d'obtenir le facteur de correction du CO_2 (FC_{CO2}) en fonction de la pression (Dehkharghanian *et al.*, 2009).

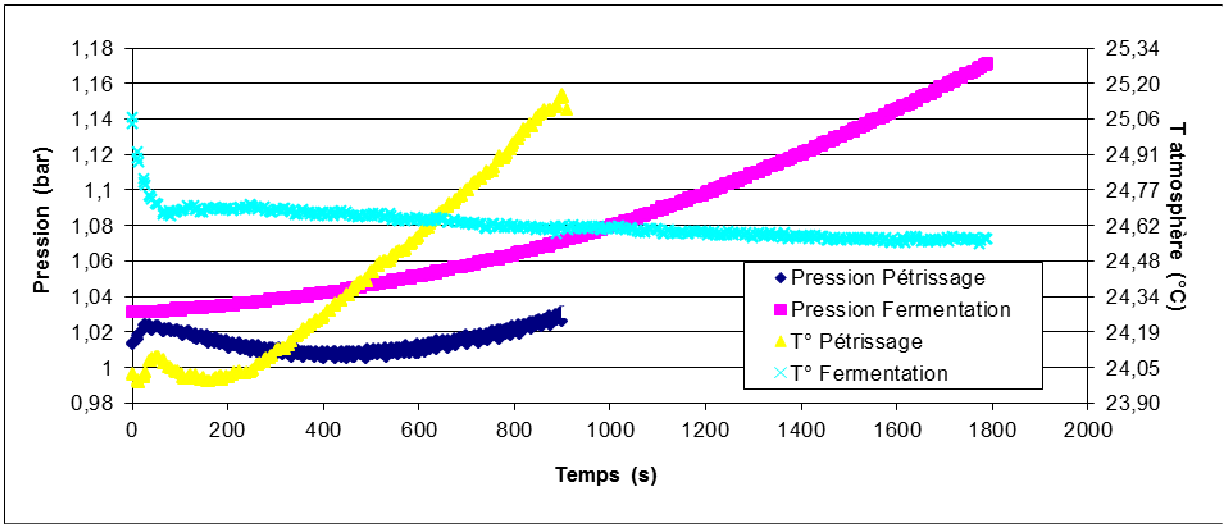


Figure 4.1.4 : Evolution de la pression et de la température au cours du pétrissage et de la fermentation d'une pâte levurée (1 % de levure sèche).

4.1.2 Détermination des quantités d'O_2 consommé et de CO_2 apparu pendant le pétrissage et la fermentation

Afin de calculer les quantités d'oxygène disparues et de gaz carbonique apparues dans la phase gazeuse au contact des capteurs d'O_2 et de CO_2 de l'analyseur de gaz, plusieurs hypothèses ont été émises :

a) la phase gazeuse suit la loi des gaz parfaits ;
b) les seuls gaz pris en compte dans les calculs sont : l'azote, l'oxygène et de dioxyde de carbone ;
c) au cours du pétrissage et de la fermentation, les variations de la pression de l'atmosphère environnant la pâte ont deux origines (hormis celles dues aux variations de température de la phase gazeuse et qui sont mesurées, Figure 4.1.4) :
   - la variation du nombre total de moles dans la phase gazeuse ;
   - la variation du volume de la pâte ;
d) au cours de la fermentation, la variation du volume de la pâte n'est due qu'à la seule production de gaz carbonique et à sa rétention ;
e) bien qu'une faible quantité d'azote soit probablement incorporée dans la pâte grâce aux mouvements du bras mobile du pétrin, le nombre de moles de N_2 présentes dans la phase gazeuse au moment de la fermeture de l'enceinte est considéré comme invariable tout au long du pétrissage et de la fermentation.

L'hypothèse a est justifiée par le fait que, dans l'ensemble de nos expérimentations, la pression de l'atmosphère dans l'enceinte du sitoxygraphe ne dépasse jamais 1,5 bar, ce qui permet d'assimiler les gaz réels composant la phase gazeuse à des gaz parfaits.

Il est évident qu'en plus de l'azote, de l'oxygène et du gaz carbonique, de la vapeur d'eau est présente dans la phase gazeuse. Si l'on admet que l'activité de l'eau dans la pâte est proche de 1, alors la teneur en eau d'une atmosphère identique à l'air à 30 °C (sachant que la température de la phase gazeuse dans le sitoxygraphe est systématiquement comprise entre 21 et 28 °C) et en équilibre avec cette pâte serait voisine de 28 grammes par kilogramme d'air sec (soit moins de 3 % de la masse et une fraction molaire proche de 0,04).
Bien que quantitativement non négligeable, cette vapeur d'eau est considérée comme constante dans la phase gazeuse et n'intervient pas dans les échanges de matière entre la pâte et l'atmosphère.

Par ailleurs, hormis l'eau, d'autres composés volatils peuvent être produits, notamment ceux issus du métabolisme de la levure lors de la fermentation. Toutefois, les quantités produites sont considérées comme négligeables par rapport aux quantités d'oxygène consommées et aux quantités de gaz carboniques apparues. L'hypothèse b nous semble donc justifiée.

Une fois les hypothèses ci-dessus admises, les calculs des quantités d'oxygène consommées, de gaz carbonique produites et du volume des pâtes au cours du pétrissage et de la fermentation comprennent six étapes utilisant les valeurs fournies par l'analyseur de gaz (% $O_{2\ lu}$ et % $CO_{2\ lu}$), ainsi que par les capteurs de pression (P = pression totale dans l'enceinte) et de température (T = température de la phase gazeuse).

Etape 1 : les valeurs % $O_{2\ lu}$ et % $CO_{2\ lu}$ sont systématiquement corrigées à l'aide des facteurs de correction dépendant de la pression (FC_{O2} et FC_{CO2} donnés dans le paragraphe 4.1.1) pour calculer les valeurs % $O_{2\ réel}$ et % $CO_{2\ réel}$.

Etape 2 : le volume initial de la phase gazeuse (Vg_i) emprisonnée dans l'enceinte, au moment de la fermeture, est déterminé à partir des données expérimentales (masses des ingrédients ajoutés pris séparément), des masses volumiques réelles des ingrédients et du volume à vide du système :

$$Vgi = V_{sys\ vide} - \sum \frac{m_i}{\mu_i}$$

V_{gi} : volume initial de la phase gazeuse en L

$V_{sys\ vide}$: volume à vide du système en L

m_i : masse des ingrédients en kg

μ_i : masse volumique des ingrédients en $kg.L^{-1}$

Les masses volumiques réelles utilisées pour ce calcul sont de 1,35 $g.cm^{-3}$ pour la farine, 2,16 $g.cm^{-3}$ pour le NaCl et 0,60 $g.cm^{-3}$ pour la levure sèche (Dehkharghanian *et al.*, 2009). Le volume à vide du système est égal à 9,83 L. Il a été déterminé par Levavasseur (2007) en mesurant la libération de CO_2 à partir d'une quantité connue de $CaCO_3$ et d'HCl concentré.

Dans nos conditions usuelles (2584 g de farine dont la teneur en eau est en moyenne égale à 14,5 % de la matière humide, 1550 g d'eau, 47 g de NaCl et 25,84 g de levure sèche dans le cas de pétrissage de pâtes levurées), Vgi est environ égal à 6,35 L. Le Vgi est systématiquement recalculé lorsque l'on s'écarte des conditions usuelles.

A partir de ce volume, le nombre initial et total de moles de gaz ($n_{tot\ i}$) contenues dans l'enceinte est calculé en appliquant la loi des gaz parfaits.

$$n_{tot\,i} = \frac{P_i \times Vg_i}{R \times T_i}$$

P_i : pression initiale de l'atmosphère (Pa)

Vg_i : volume de la phase gazeuse (converti m^3)

$n_{tot\ i}$: nombre total initial de moles de gaz

R : constante des gaz parfaits (= 8,314 $J.K^{-1}.mol^{-1}$)

T_i : température initiale de l'atmosphère (K)

Les valeurs P et T sont fournies par les capteurs de pression et de température du sitoxygraphe au tout début du pétrissage.

Etape 3 : le nombre de moles d'azote présentes dans le système lors de sa fermeture est calculé de la manière suivante :

$$nN_{2\,i} = n_{tot\,i} \times \%\ N_{2\,i}$$

avec :

$$\%\ N_{2\,i} = 1 - \%\ O_{2\ réel\ i} - \%\ CO_{2\ réel\ i}$$

Etape 4 : Au cours du pétrissage, de l'air (et donc de l'azote) est incorporé à la pâte. Cependant la quantité de N_2 contenue dans la pâte est considérée comme négligeable par rapport à celle présente dans la phase gazeuse environnant la pâte. On considère donc que la quantité $n\ N_{2\,i}$ dans la phase gazeuse est invariable (hypothèse e).

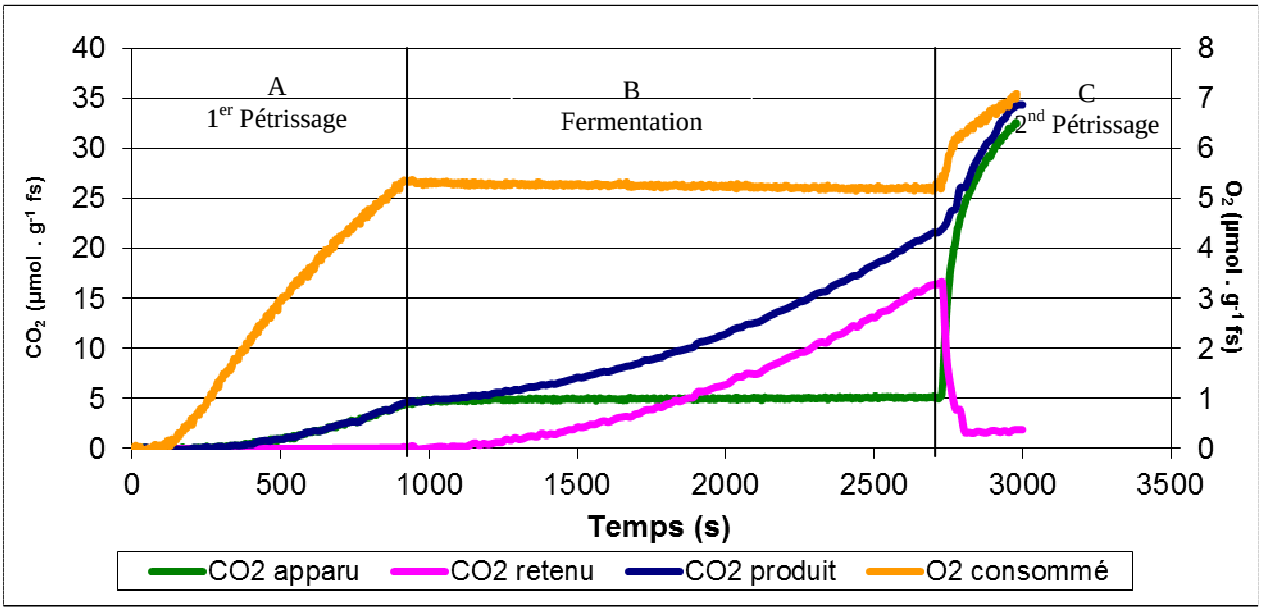


Figure 4.1.5 : Consommation d'O_2 et production de CO_2 (CO_2 apparu + CO_2 retenu) au cours du pétrissage, de la fermentation et d'un second pétrissage d'une pâte levurée (1 % de levure sèche).

Cette quantité sert de base pour le calcul du nombre de moles d'oxygène ($nO_{2\ t}$) et de gaz carbonique ($nCO_{2\ t}$) présentes dans la phase gazeuse au cours du pétrissage et de la fermentation, puisque à tout instant :

$\%\ N_{2\ t} = 1 - \%\ O_{2\ réel\ t} - \%\ CO_{2\ réel\ t}$

et

$$nO_{2\ t} = n_{tot\ t} \times \%\ O_{2\ réel\ t}$$

$$nCO_{2\ t} = n_{tot\ t} \times \%\ CO_{2\ réel\ t}$$

$$nN_{2\ t} = nN_{2\ i} = n_{tot\ t} \times \%\ N_{2\ t}$$

On en déduit que :

$$nO_{2\ t} = \frac{\%\ O_{2\ réel\ t} \times nN_{2\ i}}{1 - \%\ O_{2\ réel\ t} - \%\ CO_{2\ réel\ t}}$$

$$nCO_{2\ t} = \frac{\%\ CO_{2\ réel\ t} \times nN_{2\ i}}{1 - \%\ O_{2\ réel\ t} - \%\ CO_{2\ réel\ t}}$$

Ces deux dernières équations permettent de calculer à l'instant t les quantités d'oxygène et de gaz carbonique présentes dans les phases gazeuses et donc par différence avec les quantités initiales, de déterminer les quantités d'O_2 consommées et de CO_2 apparues. En divisant ces différences par la masse de farine sèche de la pâte, on obtient :

$$O_{2\ consommé\ t} = \frac{nO_{2initial} - nO_{2\ t}}{masse\ \ farine\ sèche}$$ (g^{-1} fs, Figure 4.1.5, section A)

$$CO_{2\ apparu\ t} = \frac{nCO_{2\ t} - nCO_{2initial}}{masse\ \ farine\ sèche}$$ (g^{-1} fs, Figure 4.1.5, section A)

Il est ensuite possible, en deux étapes supplémentaires, de déterminer le volume de la phase gazeuse à tout instant et donc celui de la pâte, permettant d'en déduire les quantités de CO_2 retenues dans cette dernière pendant le pétrissage et la fermentation.

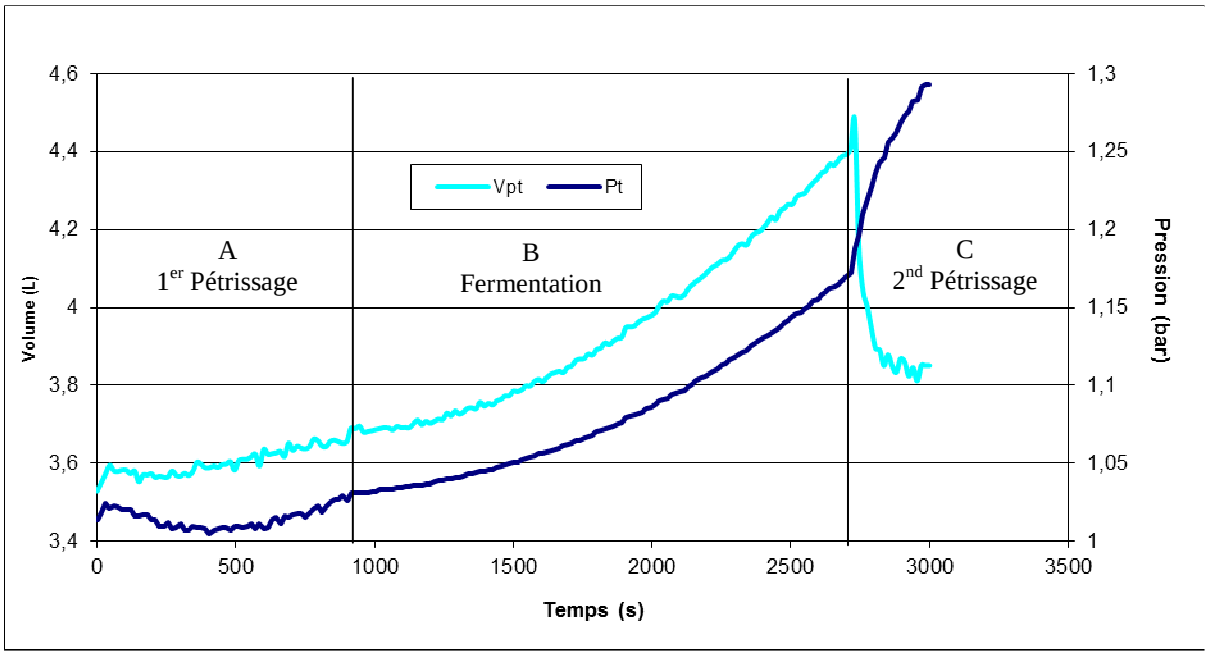


Figure 4.1.6 : Variation du volume d'une pâte (Vpt) levurée (1 % de levure sèche) et de la pression (Pt) dans l'enceinte au cours du pétrissage, de la fermentation et d'un second pétrissage.

4.1.3 Détermination de la variation de volume de pâte pendant le pétrissage et la fermentation et de la rétention de CO_2 pendant la fermentation

Etape 5 : Grâce à l'étape précédente (calcul de n O_2 et n CO_2 à tout instant dans la phase gazeuse), il est possible de calculer à tout instant le nombre total de moles de gaz présentes dans le système.

$n_{tot\ t} = nN_{2\ i} + nO_{2\ t} + nCO_{2\ t}$

Connaissant la pression et la température de la phase gazeuse à tout instant, il est possible de déterminer le volume de cette dernière au temps t (Vg_t) :

$$Vg_t = \frac{P_t}{n_{tot\ t} \times R \times T_t}$$

Par différence avec le volume à vide du système ($V_{sys\ vide}$), le volume de la pâte à tout instant (Vp_t) peut être calculé (Figure 4.1.6) :

$Vp_t = V_{sys\ vide} - Vg_t$

Etape 6 : détermination de la quantité de CO_2 retenue dans la pâte.

a) Détermination de la quantité de CO_2 retenue dans une pâte en mouvement :

Pour déterminer la quantité de CO_2 retenue dans la pâte au cours du pétrissage, trois hypothèses sont faites :

- si l'on excepte le début du frasage au cours duquel on observe une augmentation passagère de la pression, sans doute liée à un gonflement de la pâte suite à l'hydratation de ses constituants (Figure 4.1.4), l'augmentation de volume des pâtes, levurées ou non, au cours du pétrissage est exclusivement attribuée à l'accroissement du nombre et/ou de la taille des *nuclei* gazeux emprisonnés dans la pâte ;
- bien que les *nuclei* gazeux présents dans la pâte tendent à être enrichis en CO_2 du fait de sa production par la levure et les microorganismes présents dans la farine et appauvris en O_2 du fait de sa consommation, on considère que leur composition est identique à celle de la phase gazeuse en contact avec les capteurs si l'on suppose qu'ils se forment et se déchirent continuellement au cours du pétrissage ;
- bien que la pression de la phase gazeuse contenue dans la pâte soit légérement supérieure à celle du système, on considère que la pression des gaz retenus est égale à la pression de la phase gazeuse environnant la pâte. Cette hypothèse tend à sous-estimer la valeur de la pression de la phase gazeuse contenue dans la pâte.

Le nombre total de moles de gaz $n_{\text{tot pâte t}}$ présentes dans les *nucléi* gazeux de la pâte au temps t peut alors être calculé en utilisant la loi des gaz parfaits.

$$n_{tot\ pâte\ t} = \frac{P_t \times \Delta Vp_t}{R \times T_t}$$

Dans cette équation, ΔVp_t représente la différence entre le volume de la pâte calculé à l'instant t (étape 5) et le volume des ingrédients présents initialement dans l'enceinte du pétrin (étape 2).

A partir de $n_{\text{tot pâte t}}$, la quantité de CO_2 présente dans la pâte en mouvement peut être calculée à tout instant :

$$nCO_{2\ \text{retenu t}} = \%\,CO_{2\ \text{réel}} \times n_{\text{tot pâte t}}$$ (Figure 4.1.5 section A)

Il en est de même de la quantité d'O_2 présente dans la pâte :

$$nO_{2\ \text{retenu t}} = \%\,O_{2\ \text{réel}} \times n_{\text{tot pâte t}}$$

La somme $nCO_{2\ \text{apparu t}} + nCO_{2\ \text{retenu t}}$ permet de déterminer la quantité de CO_2 produite (Figure 4.1.5, section A).

Notons qu'à la fin des 15 min de pétrissage (figure 4.1.6), la variation du volume de pâte est inférieure à 0,12 L ce qui représente moins de 2 % du volume de la phase gazeuse totale de l'enceinte. Ceci justifie du même coup l'hypothèse de l'étape 4 dans laquelle la quantité d'azote contenue dans la pâte est négligeable par rapport à celle présente dans la phase gazeuse environnant la pâte.

b) Détermination de la quantité de CO_2 retenue dans une pâte au repos

Au cours de la fermentation, l'augmentation du volume de la pâte au repos peut être attribuée en totalité à la rétention du gaz carbonique produit par la levure, en considérant que les autres molécules volatiles générées par la levure sont présentes en quantités négligeables. Dès lors, l'accroissement du volume de la pâte ($\Delta V_{\text{pâte t}}$), de la fin du pétrissage à l'instant t, permet de calculer le nombre de moles de gaz carbonique retenues dans la pâte à cet instant t (en faisant encore une fois l'hypothèse que la pression de la phase gazeuse retenue par la pâte est égale à celle du système).

$$n\,CO_{2\ retenu\ t} = \frac{P_t \times \Delta Vp_t}{R \times T_t}$$

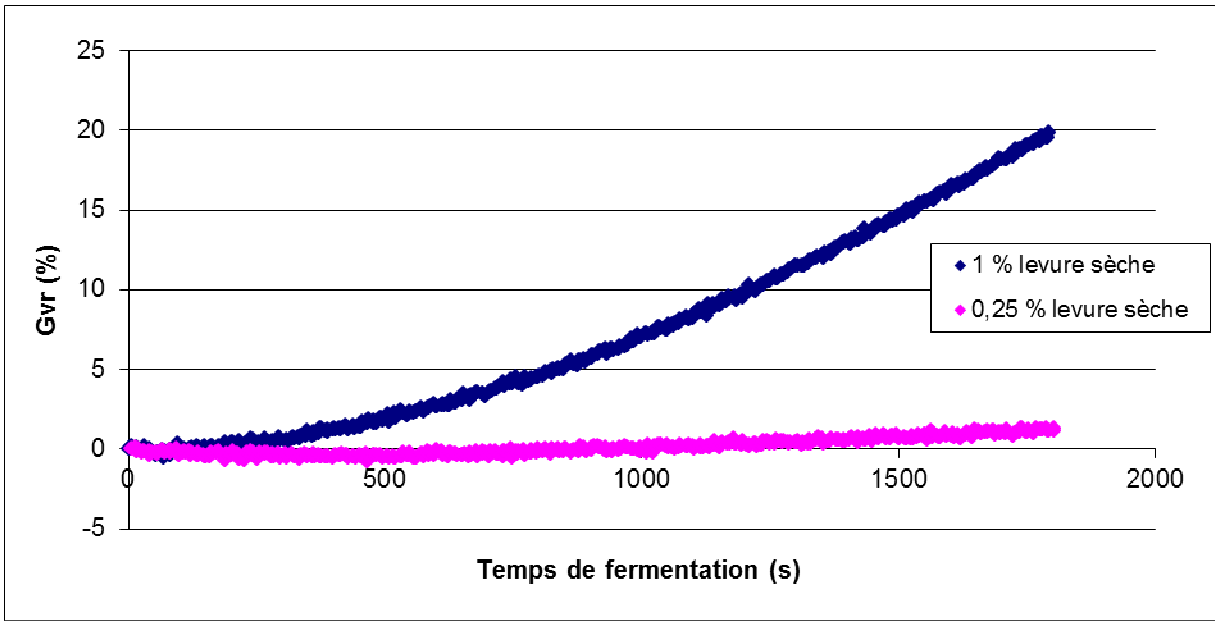


Figure 4.1.7 : Evolution du gain de volume relatif (Gvr) d'une pâte levurée (avec 1 et 0,25 % de levure sèche) au cours de la fermentation.

Dans cette équation, ΔVp_t représente la différence entre le volume de la pâte calculé à l'instant t et le volume de la pâte en début de fermentation (ou à la fin du pétrissage, voir étape 5).
La quantité de CO_2 apparue à tout instant dans la phase gazeuse ($nCO_{2\ apparu\ t}$, voir étape 4) est additionnée à la quantité de CO_2 retenue dans la pâte ($nCO_{2\ retenu\ t}$) pour obtenir la quantité totale de CO_2 produite pendant la fermentation (Figure 4.1.5, section B). Des informations liées à la capacité de rétention de CO_2 peuvent être déduites de l'analyse de la répartition entre $nCO_{2\ retenu\ t}$ et $nCO_{2\ apparu\ t}$ pendant la fermentation en fonction de la formulation.

Si, à la suite de la fermentation, le bras de pétrin est remis en mouvement, alors les calculs du nombre de moles de gaz carbonique produites et emprisonnées dans la pâte sont effectués selon l'étape 6 a. Il y a à nouveau, lors de ce second pétrissage, une homogénéisation mécanique de la composition de la phase gazeuse retenue dans la pâte avec celle de la phase gazeuse du système. De plus, l'incorporation d'air et donc d'O_2 par la rotation des bras de pétrin permet également de réactiver les systèmes oxydatifs de la pâte ainsi que le métabolisme aérobie de la levure (Figure 4.1.5, section C).

c) Indices issus des données O_2 et CO_2 calculés au cours du pétrissage et de la fermentation
Le traitement des données issues des capteurs qui vient d'être rapporté permet de définir plusieurs familles d'indices afin d'apprécier et de comparer les qualités technologiques des pâtes. Ces indices sont calculés *in situ* et sont donc susceptibles de donner des informations comparables à celles de méthodes d'analyses spécifiques.

- Le gain de volume relatif (Gvr, Figure 4.1.7) :

$$Gvr\ (\%) = \frac{(V_{pâte\ t} - V_{pâte\ t=0})}{V_{pâte\ t=0}} \times 100$$

Cet indice peut se calculer au cours du pétrissage ou de la fermentation selon que le Vp_t représente la valeur initiale des ingrédients ou le volume de la pâte en fin de pétrissage. Dans le premier cas, le temps t est celui du temps de pétrissage et le Gvr exprime le volume de gaz retenu dans les *nuclei* de la pâte. C'est un marqueur de l'aptitude de la pâte à créer des *nuclei* qu'il semble intéressant de relier au volume du pain. Dans le deuxième cas, le temps t est celui du temps de la fermentation et le Gvr a un intérêt comparable à celui des mesureurs de pousse que l'on retrouve dans un grand nombre de fournils.

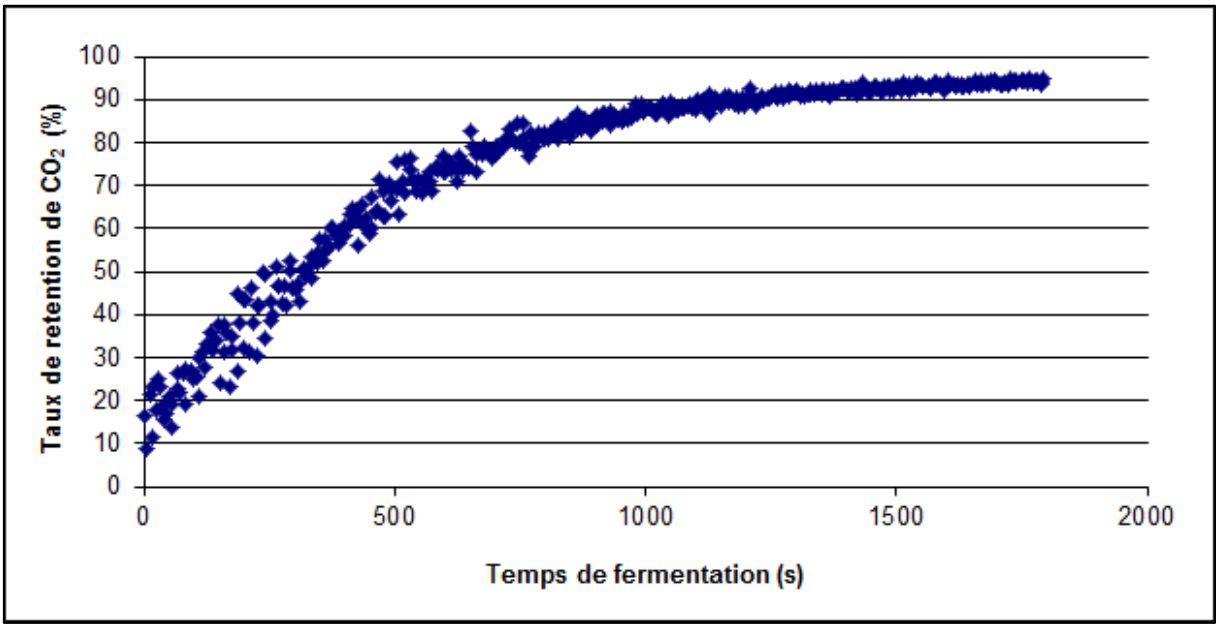


Figure 4.1.8 : Evolution du taux de rétention du CO_2 (Tr_{CO2}) lors de la fermentation d'une pâte contenant 1 % de levure sèche.

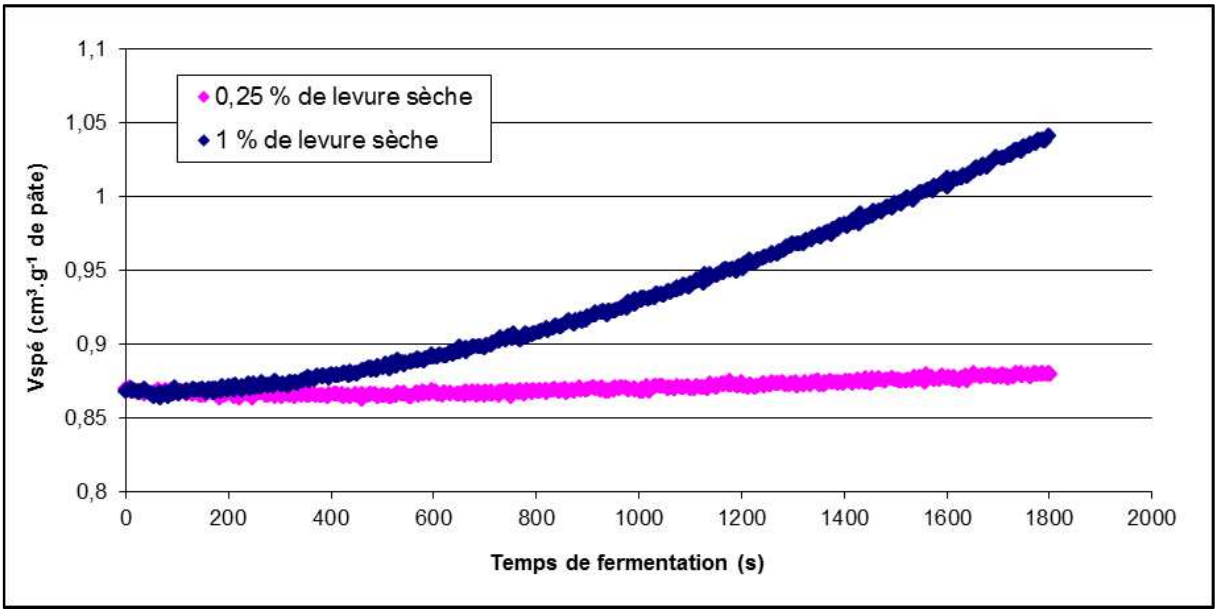


Figure 4.1.9 : Evolution du volume spécifique (Vspé) de la pâte au cours de la fermentation (avec 1 et 0,25 % de levure sèche).

Il existe également des méthodes utilisant l'imagerie numérique (Elmehdi *et al.*, 2003) mais elles nécessitent la manipulation d'échantillons de pâtes de faibles masses (< 30 g) dans des conditions éloignées de la fermentation en masse dans la cuve d'un pétrin.

- Taux de rétention de CO_2 ($Tr_{CO2\,t}$) / Taux de porosité (Tp) :

$$Tr_{CO2\,t}(\%) = \frac{CO_{2\,retenu\,t}\ (\mu mol.g^{-1}fs)}{CO_{2\,produit\,t}\ (\mu mol.g^{-1}fs)} \times 100 = \frac{CO_{2\,retenu\,t}\ (\mu mol.g^{-1}fs)}{CO_{2\,retenu\,t}\ (\mu mol.g^{-1}fs) + CO_{2\,apparu\,t}\ (\mu mol.g^{-1}fs)} \times 100$$

$$Tp_{\,t} = 100 - Tr_{CO2t}\ (\%)$$

Le taux de rétention du CO_2 (% de CO_2 retenu par la pâte par rapport à la quantité totale de CO_2 produite) est évidemment très faible pendant le pétrissage. Il augmente progressivement au cours de la fermentation (Figure 4.1.8) pour atteindre, dans nos conditions expérimentales, près de 95 % après 30 min de fermentation.

La capacité de rétention d'une pâte pour une production de CO_2 donnée dépend des propriétés viscoélastiques de cette dernière. Afin de mesurer l'évolution de la rétention et de la porosité au cours de la fermentation, des appareils tels que le zymotachygraphe ou le rhéofermentomètre de Chopin sont souvent utilisés par les fabricants de levures ainsi que les meuniers.

- Volume spécifique de la pâte (Figure 4.1.9) :

$$Vspé_t(cm^3.g^{-1}) = \frac{Vp_t(cm^3)}{\sum m_{ingrédients}\ (g) = m_{farine} + m_{eau} + m_{NaCl} + m_{levure}}$$

La taille et le nombre de *nuclei* gazeux dépendent de la fomulation des pâtes et des conditions de pétrissage alors que pendant la fermentation, le nombre de *nucléi* diminue et leur taille augmente (Shimiya and Nakamura, 1997).

En considérant que la masse de pâte calculée à partir de celles des ingrédients utilisés ne varie pas pendant le pétrissage et la fermentation, l'évolution de la masse spécifique de la pâte peut être déterminée à partir de celle de son volume (Figure 4.1.9). Dans l'example présenté, le volume spécifique de la pâte après 15 min de pétrissage est égale à 0,865 $cm^3.g^{-1}$ soit une masse volumique proche de 1,16 $g.cm^{-3}$. Cette valeur est voisine de 1,17 $g.cm^{-3}$, valeur obtenue par Campbell *et al.*, (2001) lors de la mesure de densité par pycnométrie dans des solutions de xylène.

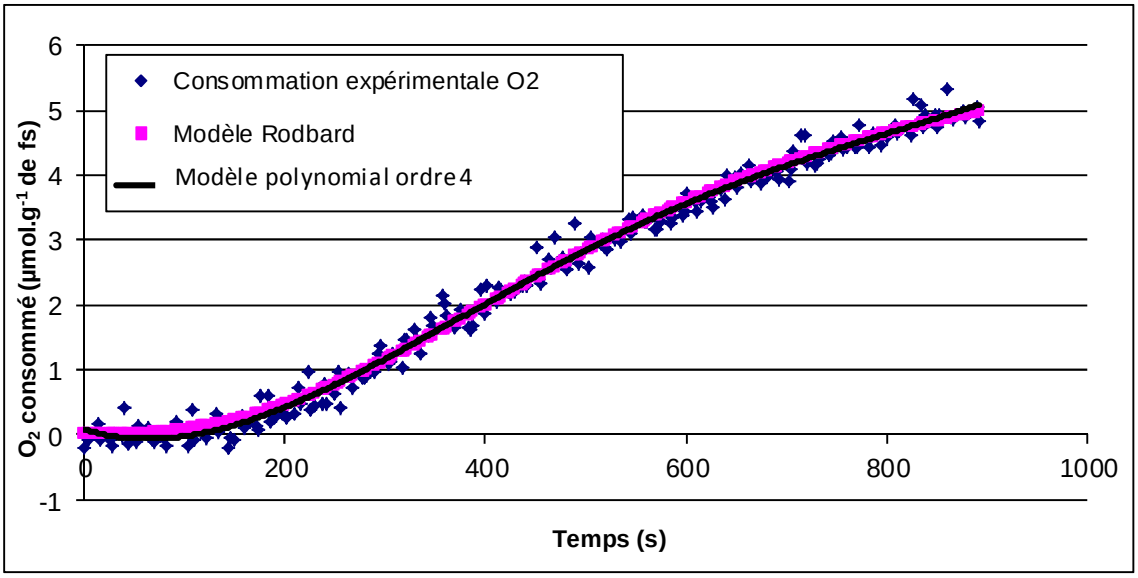


Figure 4.1.10 : Modélisation de la consommation d'O_2 par la pâte au cours du pétrissage (1 % de levure sèche).

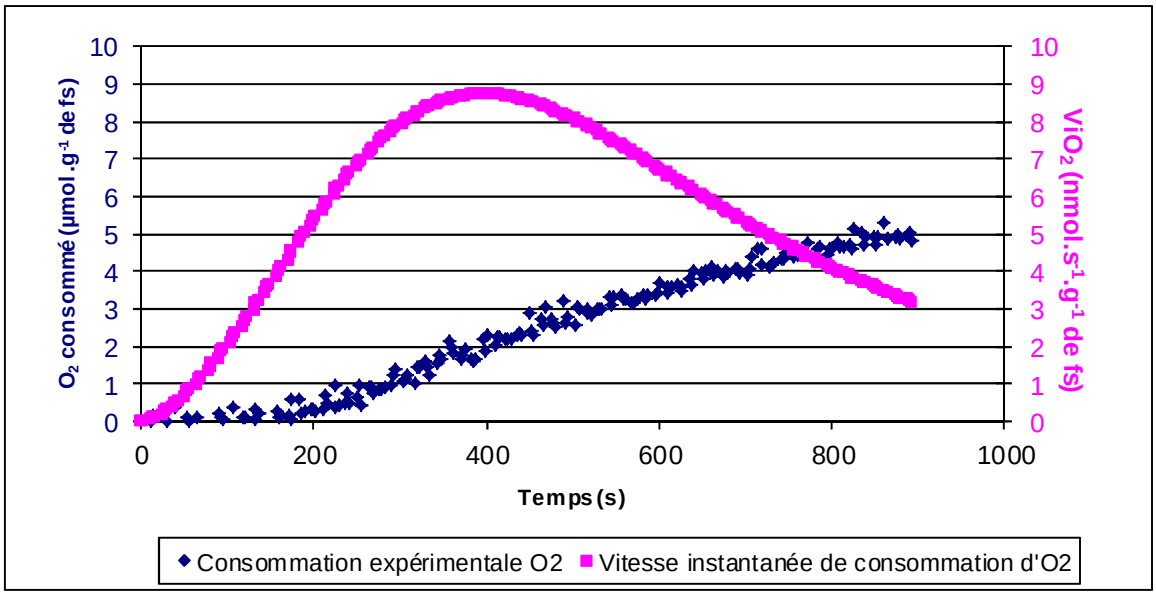


Figure 4.1.11 : Consommation et vitesse instantanée de consommation d'O_2 (ViO_2) par la pâte au cours du pétrissage (1 % de levure sèche).

4.1.4 Modélisation des courbes de consommation d'O_2 et d'apparition de CO_2 au cours du pétrissage et de la fermentation

Cette modélisation a pour but d'obtenir les vitesses instantanées de consommation d'O_2 ($ViO_{2\,t}$) et d'apparition de CO_2 ($ViCO_{2\,t}$).

a) Modélisation de la consommation d'O_2 (Figure 4.1.10)

Lors des premiers travaux avec le sitoxygraphe (Levavasseur, 2007), les consommations d'oxygène des pâtes pétries entre 0 et 23 minutes étaient modélisées à l'aide d'un polynôme du 4e degré dont les coefficients étaient déterminés par la méthode des moindres carrés (R^2 = 0,998). Cependant, ce polynôme ne permettait pas de modéliser correctement les courbures les plus accentuées des consommations d'O_2 au début et à la fin du pétrissage. Dans ces zones, les valeurs des dérivées pouvaient être négatives et donc aberrantes.

Pour pallier cet inconvénient, Levavasseur (2007) a proposé l'utilisation d'une équation de type « logistique » : le modèle de Rodbard (DeLean *et al.*, 1978) développé pour modéliser des courbes de type effet dose-réponse dans le domaine de la physiologie.

$$O_{2(t)} = \frac{a}{1+\left(\frac{t}{c}\right)^{b}}$$

a : valeur de la consommation d'O_2 à un temps t infini

b : valeur liée à l'inflexion de la courbe quand la vitesse de consommation d'O_2 est proche de V_{max}

c : temps de ½ consommation de l'O_2 durant le pétrissage

L'ajustement de ce modèle avec les points expérimentaux est meilleur que celui obtenu par la régression polynomiale de degré 4 (R^2 = 0,999). L'équation de Rodbard a donc été retenue (Figure 4.1.10).

La dérivation de l'équation de Rodbard permet d'obtenir les vitesses instantanées de consommation d'O_2, notées $ViO_{2\,t}$.

$$ViO_{2\,t} = \frac{a \times \frac{b}{c^{b}} \times t^{(b-1)}}{1+\left(\frac{t}{c}\right)^{2\times b}+2\times\left(\frac{t}{c}\right)^{b}}$$ (Figure 4.1.11)

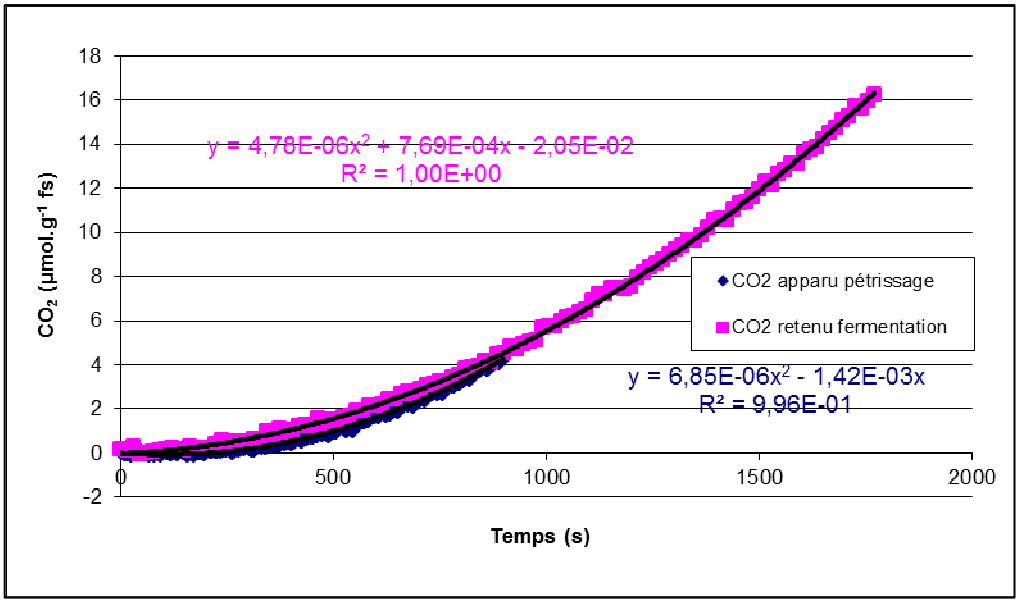


Figure 4.1.12 : CO_2 apparu pendant le pétrissage et retenu dans la pâte pendant la fermentation (1 % de levure sèche).

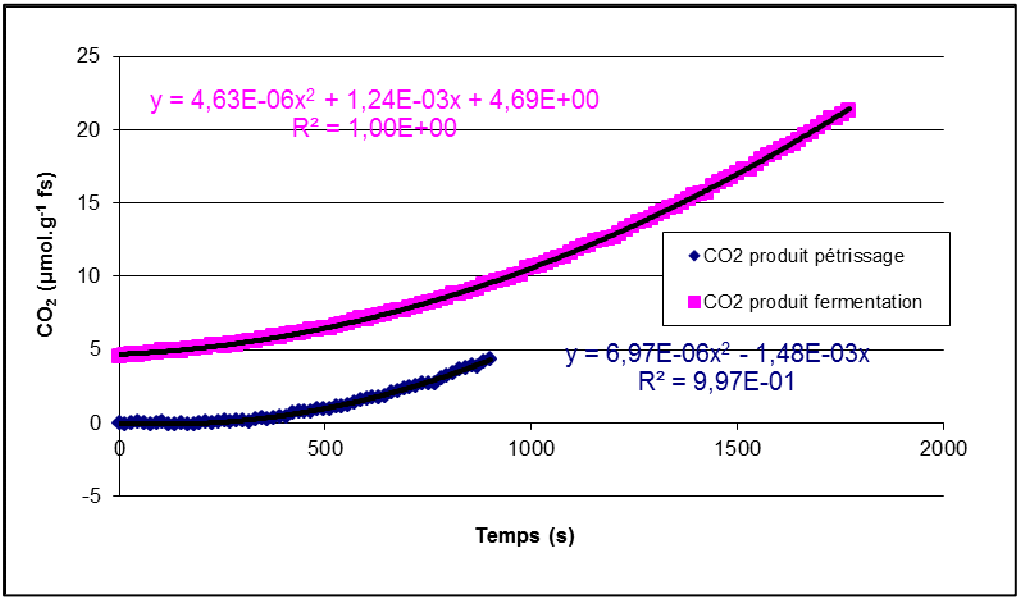


Figure 4.1.13 : CO_2 produit pendant le pétrissage et la fermentation (1 % de levure sèche).

b) Modélisation de l'apparition de CO_2 et de sa rétension

Lors du pétrissage, dans nos conditions expérimentales, l'apparition de CO_2 dans la phase gazeuse est trop faible pour être mesurée pendant les trois premières minutes de pétrissage pendant lesquelles la levure s'adapte au milieu pâteux. Au-delà de cette période, l'accumulation de CO_2 dans la phase gazeuse est suffisante pour être détectée par notre appareillage.

L'utilisation de l'outil Statgraphics Centurion XV, pour la modélisation de la courbe obtenue, a permis de déterminer qu'un polynôme du second degré constitue un bon modèle pour représenter les résultats expérimentaux obtenus entre 0 et 900 s de pétrissage.

$CO_{2\ apparu\ t} = a \times t^2 + b \times t$ (Figure 4.1.12, $R^2 = 0{,}996$).

Lors de la fermentation (pâte au repos), il n'y a pas de phase d'adaptation de la levure à son milieu et les quantités de CO_2 retenues dans les pâtes au repos peuvent également être modélisées par un polynôme du second degré (Figure 4.1.12, R=1).

Si l'on ne prend pas en compte la phase d'adaptation de la levure au début du pétrissage, la vitesse instantanée de production (apparition + rétention) de CO_2 (donnée par la dérivée des équations des courbes de régression) est plus importante dans une pâte en mouvement que dans une pâte au repos. Il est probable que l'agitation mécanique de la pâte renouvelle les contacts entre l'amidon endommagé et les amylases générant des sucres fermentescibles alimentant le métabolisme de la levure (Figure 4.1.13).

4.1.5 Détermination du coefficient volumique de transfert d'O_2

a) Définition du coefficient de transfert (k_L)

L'apport d'O_2 à la pâte pendant le pétrissage favorise les réactions d'oxydoréduction qui contribuent à la structuration du réseau macromoléculaire. Il est donc important d'analyser les conditions dans lesquelles s'effectue le transfert d'oxygène de la phase gazeuse vers la pâte qui est considérée comme un liquide viscoélastique.

Comme dans tout transfert de matière entre deux phases qui ne sont pas à l'équilibre thermodynamique, la vitesse de transfert est régie par l'équation suivante :

$$\frac{dO_2}{dt} = k_L \times a \times (O_2^* - O_2)$$

Dans cette équation :

- k_L représente le coefficient linéaire de transfert de masse dépendant de la nature de l'interface ($m.h^{-1}$) ;
- a représente la surface spécifique d'échange par unité de volume entre les deux phases ($m^2.m^{-3}$) ;
- O_2 ($mmol.L^{-1}$) représente la concentration en O_2 dans le milieu analysé (la phase gazeuse dans notre cas) à un instant t ;
- O_2^* ($mmol.L^{-1}$) représente l'écart entre la concentration initiale en O_2 dans la phase gazeuse et celle de la phase liquide si ces deux dernières étaient à l'état d'équilibre.

Détermination de O_2^* dans le cas de pétrissages à l'aide du sitoxygraphe :

Dans les formulations des pâtes pétries dans le cadre de cette thèse (2584 g de farine humide, 47 g de sel, 1,55 L d'eau et éventuellement 25,84 g de levure), le volume de la phase gazeuse est de 6,35 L et celui du volume d'eau contenue dans la pâte est de 1,92 L. Le gaz présent dans l'enceinte du sitoxygraphe contient une quantité d'O_2 de 10,2 mmol par litre de gaz dans le cas d'une atmosphère contenant 21 % d'O_2. Par ailleurs, la solubilité de l'O_2 de l'air dans l'eau à 30 °C est égale à 0,225 $mmol.L^{-1}$.

Ainsi le transfert d'O_2 de la phase gazeuse vers la phase liquide va permettre d'atteindre un équilibre de concentration entre les deux phases qui s'établit à :

$$O_2^* = 10{,}2 - 0{,}225 \times \frac{V_{pâte}}{V_{gaz}} = 10{,}1\ mmol.L^{-1}$$

On notera qu'après 900 s de pétrissage, la concentration d'O_2 résiduelle dans la phase gazeuse environnant la pâte est environ 40 fois supérieure à celle de la solubilité de l'O_2 dans la phase liquide (0,225 $mmol.L^{-1}$) quel que soit le pétrissage réalisé.

b) Définition du coefficient volumique de transfert (k_La)

Dans nos conditions expérimentales, la surface d'échange entre la phase gazeuse et la phase liquide viscoélastique (pâte) n'est pas aisément mesurable. Par analogie avec les équations de transferts appliquées à la solubilisation de l'oxygène dans un milieu liquide, la surface d'échange peut être groupée avec le coefficient de transfert de matière k pour définir le coefficient volumique de transfert d'O_2 k_La (h^{-1}) ($= a \times k_L$).

Dès lors l'équation régissant le transfert de la phase gazeuse vers la phase liquide devient :

$$\frac{dO_2}{dt} = k_L a \times (O_2^* - O_2)$$

Le coefficient volumique de transfert dépend de trois caractéristiques du système de mélange, à savoir :

- de sa géométrie
- du système d'agitation
- du système d'aération.

Le k_La dépend également des caractéristiques du milieu aqueux, telles que :

- la concentration saturante du gaz dans le milieu liquide
- la température
- la viscosité du liquide selon l'équation de Stokes-Einstein :

$$D = \frac{k \times T}{6 \times \pi \times r \times \eta}$$

Avec :

D : diffusivité ($cm^2.h^{-1}$) telle que $k_L a = k_L \times a = \frac{D}{h} \times a$

h : épaisseur de l'interface d'échange (cm)

k : constante de Boltzmann ($1{,}38 \times 10^{-23}$ $J.K^{-1}$ ou $N.m.K^{-1}$)

T : température absolue (K)

r : rayon de la particule (m)

η : viscosité du milieu (Pa.s ou $N.m^{-2}.s$). On peut donc supposer que le suivi du coefficient volumique de transfert d'O_2 permettrait, grâce à l'équation de Stokes-Einstein, d'obtenir des données rhéologiques des pâtes au cours du pétrissage.

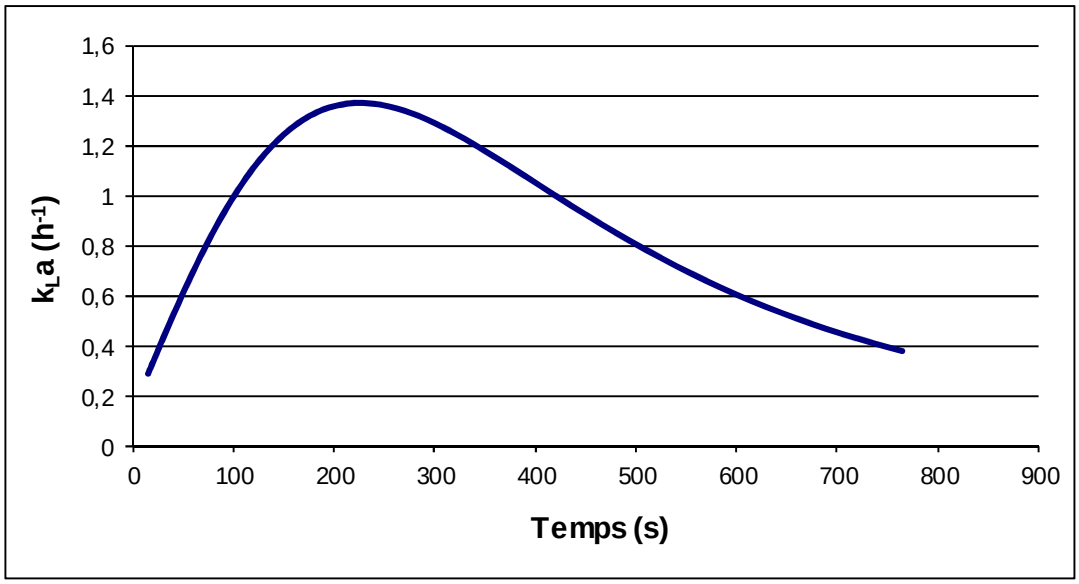


Figure 4.1.14 : Evolution du coefficient volumique de transfert d'O_2 au cours du pétrissage d'une pâte levurée (1 % de levure sèche).

c) Détermination du k_La au cours d'un pétrissage à l'aide du sitoxygraphe

Si l'on considère qu'un pétrissage avec le sitoxygraphe est une réaction en batch fermé et que l'oxygène contenu dans la phase gazeuse ne réagit avec aucune autre molécule présente dans ce milieu, on en déduit que la vitesse de consommation d'O_2 au cours du pétrissage ($ViO_{2\ t}$) correspond à la vitesse de transfert d'oxygène de la phase gazeuse vers la pâte. L'équation suivante permet ainsi d'obtenir la valeur du k_La à tout instant du pétrissage (Figure 4.1.14):

$$k_L a_{\ t} = \frac{ViO_{2\,t}\,(mmol.h^{-1}.L^{-1})}{(O_2^{\ *} - O_{2\,consommé\,t})\,(mmol.L^{-1})}$$

4.2 Effet de la levure sur les caractéristiques bio-physicochimiques des pâtes au cours du pétrissage et de la fermentation

Introduction

Pour simplifier l'explication de la consommation d'oxygène des pâtes au cours du pétrissage, les études expérimentales menées au laboratoire avaient été menées en absence de levure, si l'on excepte les travaux exploratoires de Celhay (2000). La levure est un ingrédient systématiquement présent dans la formulation des pâtes boulangères. Cet organisme vivant, sensible aux caractéristiques de son environnement (type de substrat assimilable, température, pH, etc.), utilise des constituants de la pâte pour son métabolisme. Parmi les nombreuses conséquences de l'ajout de levure à la pâte, on peut citer :

- la production de CO_2, par la fermentation alcoolique des oses en anaérobie, qui permet à la pâte de lever ;
- la production d'arômes et de précurseurs d'arômes par des fermentations secondaires ;
- la production de glutathion et d'autres thiols de bas poids moléculaires (Louarme, 2001) qui, s'ils diffusent dans le milieu extracellulaire, seraient capables de réduire les ponts disulfures des protéines du gluten.

La consommation d'oxygène des pâtes non levurées s'expliquant de façon robuste et répétable par l'oxydation des composés réducteurs présents dans la farine (acides gras polyinsaturés, thiols, acides féruliques, pigments caroténoïdes, etc), nous avons pensé être en mesure de complexifier le système en mettant en œuvre des pâtes levurées. Ce chapitre a ainsi pour objet d'étudier l'effet de la levure au cours du pétrissage et de la fermentation sur l'état d'oxydoréduction de certains constituants biochimiques de la pâte, ainsi que sur leurs caractéristiques rhéologiques en comparant des pâtes levurées et non levurées. Toutes les expérimentations ont été réalisées avec la même farine de blé dépourvue d'améliorant, de l'eau distillée et du chlorure de sodium. La quantité de levure sèche utilisée est de 1 g pour 100 g de farine humide.

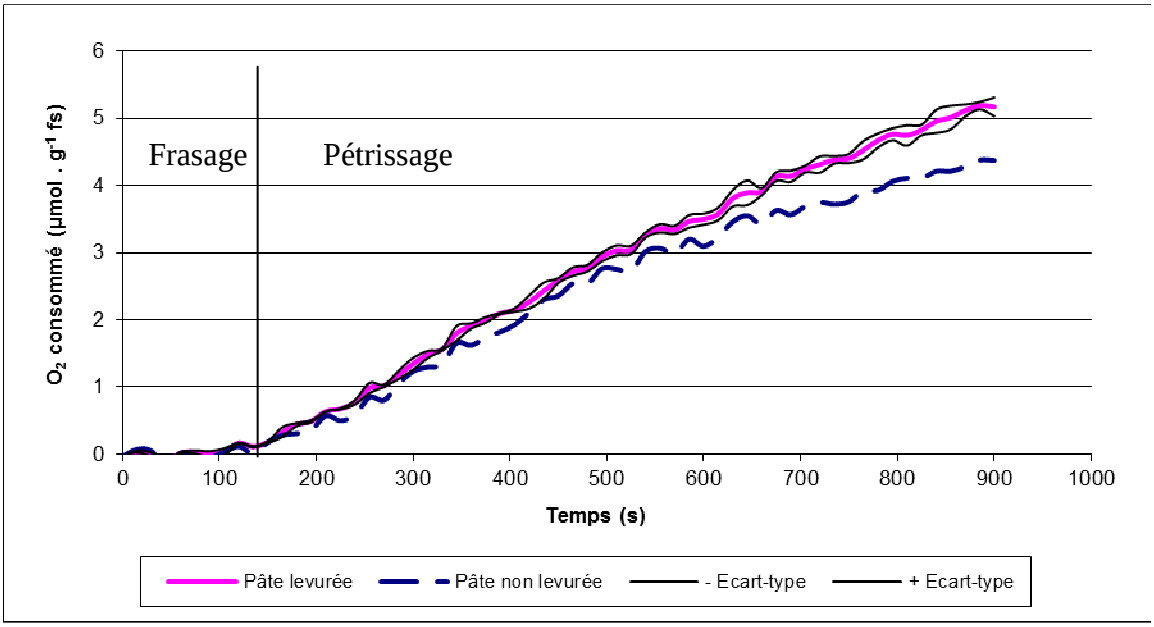


Figure 4.2.1 : Consommations d'oxygène au cours du pétrissage de pâtes levurées ou non (3 essais ont été réalisés pour chaque courbe).

Tableau 4.2.1 : Consommations d'oxygène en fin de pétrissage de pâtes levurées ou non.

Type de pâte	Consommation totale d'O_2 en fin de pétrissage ($\mu mol.g^{-1}$ fs)
PNL	4,37 ± 0,10
PL	5,33 ± 0,23

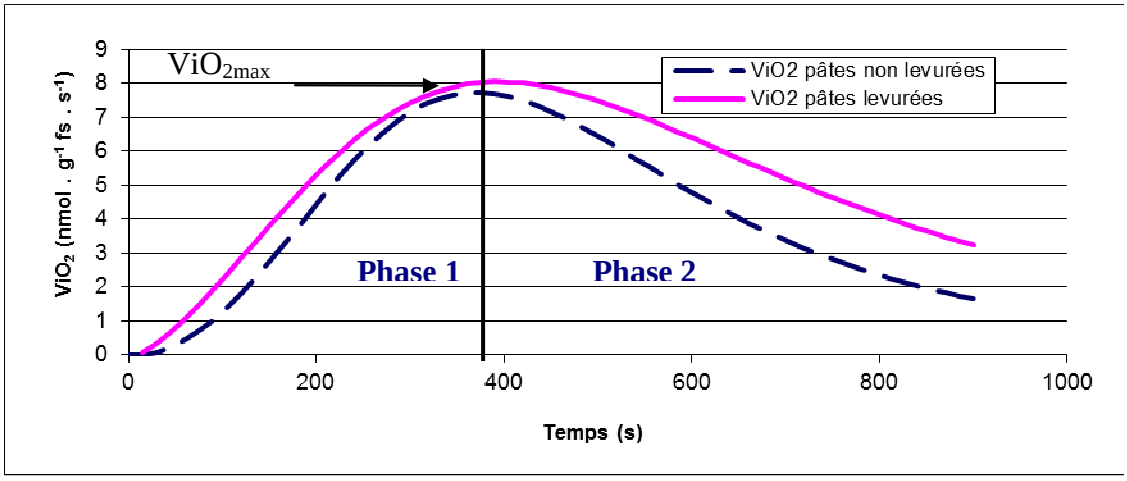


Figure 4.2.2 : Evolution de la vitesse instantanée de consommation d'oxygène de pâtes levurées ou non au cours du pétrissage.

4.2.1 État d'oxydoréduction des pâtes

Les travaux exploratoires de Celhay (2000) ayant montré que la consommation d'oxygène de la pâte au cours du pétrissage était augmentée en présence de levure, la première question qui se posait était d'expliquer cette surconsommation qui peut être due à une augmentation de la quantité de substrats oxydables ou au passage de la fermentation alcoolique à la respiration aérobie d'une fraction de la levure ajoutée. La deuxième question était de savoir si la surconsommation d'oxygène correspondait à l'impact réel de la levure ou si elle était sous-estimée du fait d'une compétition pour l'O_2 exercée par la levure sur les réactions d'oxydation générées par les composants endogènes de la farine.

4.2.1.1 Consommations d'oxygène

Chaque pétrissage a été réalisé dans la cuve du sitoxygraphe à la vitesse de 30 RPM pendant 2 min pour le frasage et 60 RPM pendant 13 min pour le pétrissage avec 2,584 kg de farine.

- Consommation d'O_2 par les pâtes

L'ajout de levure augmente à tout instant la consommation d'oxygène de la pâte par rapport aux pâtes non levurées (Figure 4.2.1). L'analyse des consommations moyennes d'O_2 en fin de pétrissage pour des pâtes levurées ou non (Tableau 4.2.1) montre que l'ajout de levure dans la pâte accroît significativement la quantité totale d'O_2 consommée de 0,96 µmol d'O_2.g^{-1} de fs de la pâte après 15 min de pétrissage (soit + 24,5 %). On confirme que la levure consomme de l'oxygène au cours du pétrissage. L'importance de la surconsommation étant difficilement explicable par la seule présence de composés réducteurs apportés par 1 % de levure, il faut considérer que pendant le pétrissage, une fraction de la levure respire.

L'évolution des vitesses instantanées de consommation d'O_2 (Figure 4.2.2), calculées à partir des modélisations des courbes moyennes de consommation d'O_2 des pâtes levurées et non levurées, permet de distinguer deux phases : la première entre 0 et 380 s (instant pour lequel $ViO_2 = ViO_{2\,max}$) et la seconde entre 380 et 900 s.

Au cours de la première phase dans des pâtes non levurées, le système lipoxygénasique est pleinement fonctionnel.

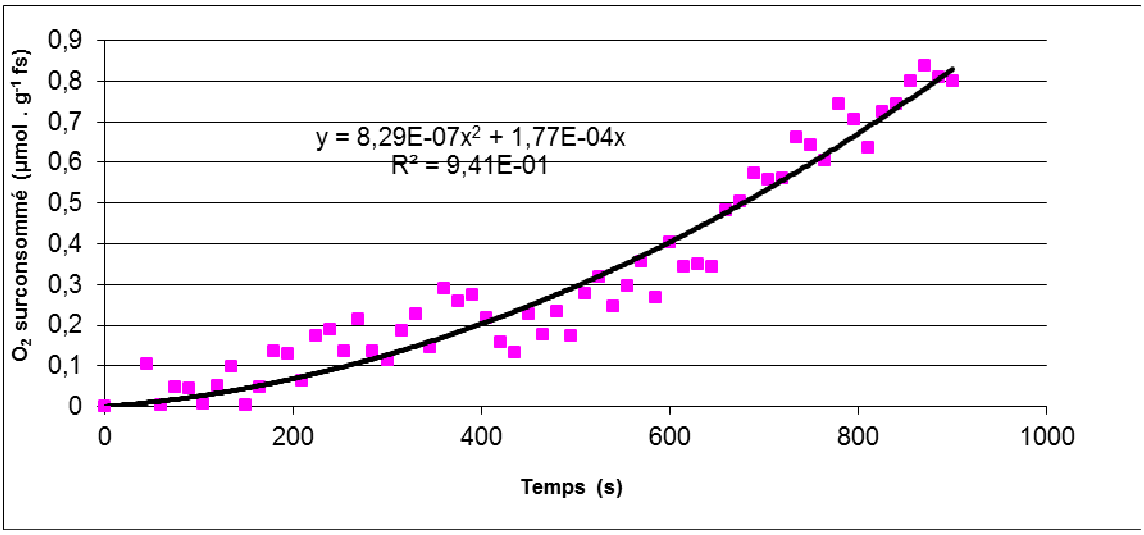


Figure 4.2.3 : Surconsommation d'oxygène de la pâte due à la levure au cours du pétrissage.

Dans la seconde phase, deux phénomènes contribuent à la diminution de la vitesse instantanée de consommation d'oxygène *via* le système lipoxygénasique : la baisse de la quantité de substrat (AG libres oxydables) disponible (Levavasseur, 2007) et la dénaturation progressive de l'enzyme (Delcros *et al.*, 1998).

Dans les pâtes levurées, le système lipoxygénasique est toujours pleinement fonctionnel jusqu'à 400 s. Dès lors, il est probable que, par rapport aux pâtes non levurées, le système lipoxygénasique soit ralenti en raison d'une compétition pour l'oxygène entre la LOX et la levure, ce qui décale dans le temps le moment où la diminution de la quantité d'AG libres oxydables et la dénaturation progressive de l'activité lipoxygénasique sont suffisamment marquées pour provoquer une diminution de la vitesse instantanée de la consommation d'oxygène.

- Consommation d'O_2 par la levure

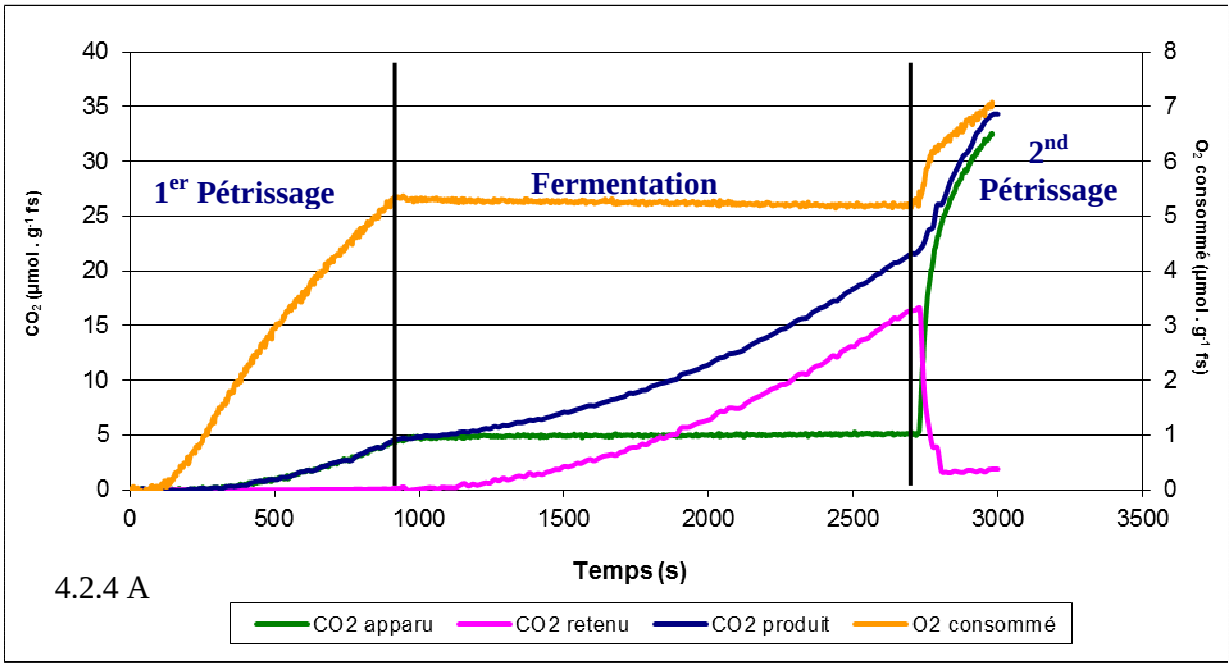
En soustrayant la consommation d'O_2 des pâtes non levurées à la consommation d'O_2 des pâtes levurées, on obtient l'évolution de l'O_2 surconsommé par l'ajout de levure dans la pâte à tout moment du pétrissage (Figure 4.2.3). Il est important de préciser que cette quantité ne représente que la part minimale et visible d'O_2 consommé par la levure. Puisqu'une compétition pour l'O_2 semble exister, la levure doit pénaliser les systèmes consommateurs d'O_2 endogènes de la farine. Cependant, ne connaissant pas les quantités de substrats réducteurs consommés, il n'est pas pour l'instant possible d'estimer la part d'oxygène qui est prélevée par la levure aux dépens des systèmes oxydatifs endogènes.

La présence de levure dans la pâte permet de surconsommer de l'oxygène dès le début du pétrissage (Figure 4.2.3). La représentation graphique de cette consommation minimale d'O_2 attribuée à la levure peut être modélisée par une équation du deuxième degré :

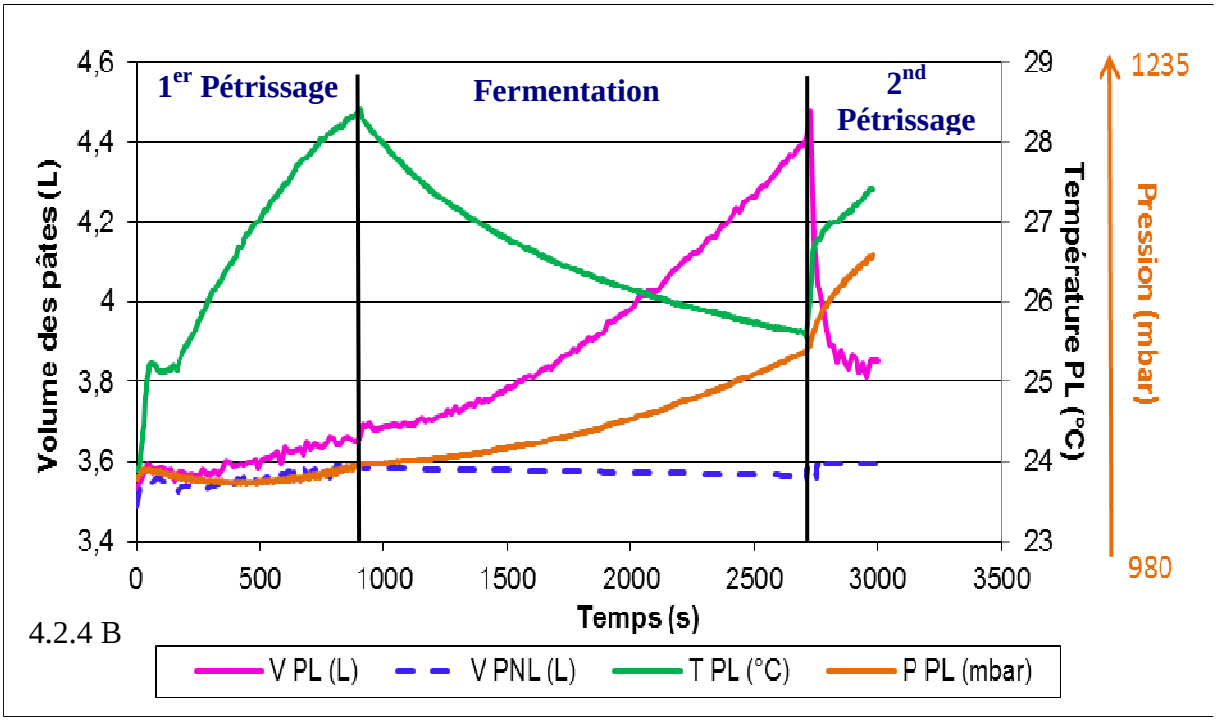
$$y_{O2} = a_1 \times t^2 + b_1 \times t$$

avec $a_1 = 0{,}83 \times 10^{-6}$, $b_1 = 0{,}177 \times 10^{-3}$, y_{O2} exprimé en µmol d'O_2.g^{-1} de fs et t exprimé en s

La dérivée de cette équation ($y'_{O2} = 1{,}6 \times 10^{-3} \times t + 0{,}177$ avec y'_{O2} exprimé en nmol d'O_2.s^{-1}.g^{-1} fs) montre que la vitesse instantanée minimale de consommation d'oxygène par la levure (ou vitesse instantanée de surconsommation d'O_2 de la pâte) augmente linéairement avec le temps. Après 15 min de pétrissage, la vitesse est égale à 1,67 nmol d'O_2.s^{-1}.g^{-1} de fs.



4.2.4 A



4.2.4 B

Figure 4.2.4 A : CO_2 apparu, retenu et produit et O_2 consommé par les pâtes contenant 1 % de levure sèche ; B : Evolution du volume d'une pâte levurée (V PL) et de la température (T PL) et de la pression (P PL) de la phase gazeuse. L'évolution du volume d'une pâte non levurée (PNL) est ajouté à titre indicatif.

Outre la décroissance de l'activité lipoxygénasique, cette augmentation de la vitesse de surconsommation d'O_2 de la pâte pourrait être attribuée à une adaptation progressive de la levure au milieu pâteux avec une part croissante adoptant un métabolisme aérobie et l'autre, décroissante, conservant un métabolisme anaérobie. Ceci sera discuté dans un paragraphe ultérieur.

4.2.1.2 Apparition et rétention du CO_2

La levure, au cours du pétrissage et de la fermentation, produit du CO_2 à partir des substrats glucidiques présents dans la pâte. Nous nous attacherons dans cette partie à analyser l'effet de la levure, au cours du pétrissage et de la fermentation, sur la production de CO_2, en distinguant la part qui apparaît dans l'atmosphère environnant la pâte de celle qui est retenue par la pâte et qui correspond à la fraction de CO_2 responsable de l'augmentation du volume de la pâte.

Les données exploitées sont issues d'expérimentations comprenant 3 phases successives, à savoir : un pétrissage de 15 min, une fermentation de 30 min et un second pétrissage de 5 min. Les évolutions, tout au long de ces trois phases, de la consommation d'O_2, de l'apparition et de la rétention de CO_2 ainsi que celle de la production (apparition + rétention) de CO_2 sont représentées Figure 4.2.4 A. Les évolutions du volume de la pâte et de la pression et de la température de la phase gazeuse, sont représentées sur la Figure 4.2.4 B.

Phase 1, le pétrissage

Il a été montré précédemment que le métabolisme aérobie de la levure dans une pâte occasionnait une surconsommation d'oxygène par la pâte au cours du pétrissage par rapport à une pâte non levurée. Cette surconsommation d'oxygène attribuée au métabolisme aérobie de la levure participe à la production de CO_2 globale à raison de 6 moles de CO_2 produites pour 6 moles d'O_2 et une mole de glucose consommées.

a) CO_2 apparu

L'action mécanique du pétrissage déstabilise les *nuclei* gazeux contenus dans la pâte et augmente la concentration en CO_2 dans la phase gazeuse (Figures 4.2.5 et 4.2.4 A). Pendant les 15 min de pétrissage, cette apparition de CO_2 est très faible en absence de levure (0,12 µmol de $CO_2.g^{-1}$ de fs) et est notable dans le cas d'une pâte levurée (4,30 µmol de $CO_2.g^{-1}$ de fs). En absence de levure, la faible apparition de CO_2 dans l'atmosphère est due à l'activité de la microflore associée à la farine.

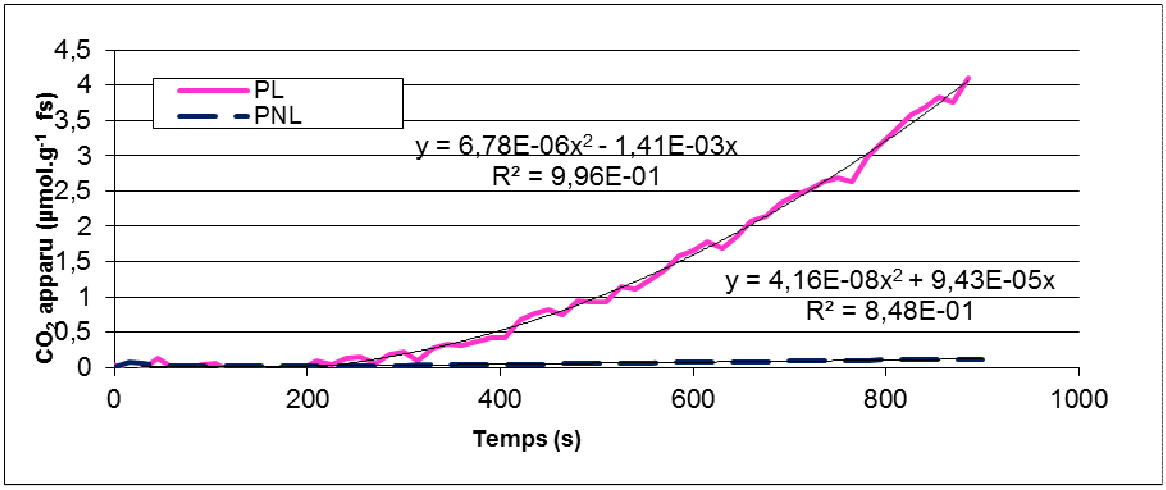


Figure 4.2.5 : Apparition de CO_2 dans l'atmosphère entourant la pâte, levurée ou non, au cours du pétrissage.

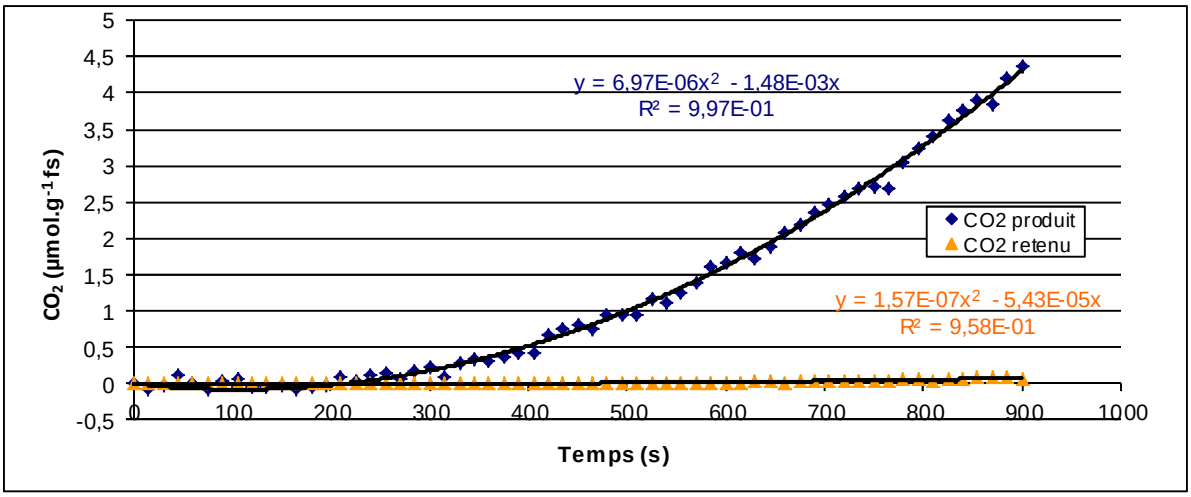


Figure 4.2.6 : Rétention et production de CO_2 au cours du pétrissage d'une pâte levurée.

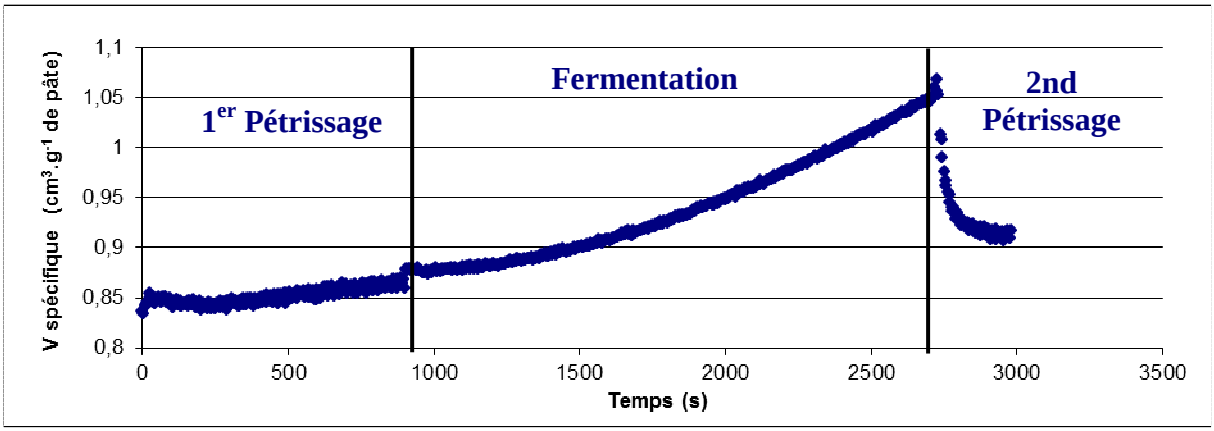


Figure 4.2.7 : Evolution du volume spécifique d'une pâte levurée au cours du pétrissage, de la fermentation et d'un second pétrissage.

Au cours du pétrissage, la quantité de CO_2 apparue en fonction du temps peut être représentée par une équation du second degré de type $y_{CO2\,apparu} = a_2 \times t^2 + b_2 \times t$ (y_{CO2} est exprimé en $\mu mol.g^{-1}$ de fs, t en s, $a_2 = 0{,}68 \times 10^{-5}$ et $b_2 = -0{,}141 \times 10^{-2}$, Figure 4.2.5), comme il a été suggéré dans le chapitre 4.1.4b (Figure 4.1.12). Les valeurs de a_2 et b_2 sont évidemment dépendantes de multiples paramètres tels que la dose et le type de levure utilisée (liquide, pressées ou sèche), les caractéristiques physicochimiques de la farine, la formulation de la pâte et les conditions du pétrissage, notamment la température du milieu pâteux (Dehkharghanian *et al.*, 2009). Dans cette série d'expérimentations, la température de la pâte en fin de pétrissage est égale à 28,15 ± 0,5 °C. Il faut, par ailleurs, noter que cette équation du second degré ne reflète correctement les données expérimentales que pour des durées de pétrissage supérieures à 250 s.

b) CO_2 retenu

On considère que la variation de volume de la pâte levurée au cours du pétrissage (Figure 4.2.4 B) est due à une augmentation du nombre et du volume des *nuclei* gazeux de la pâte grâce à l'incorporation d'air à la pâte ainsi qu'à la production de CO_2 par la levure. En utilisant la loi des gaz parfaits, il est possible d'estimer la quantité de CO_2 retenue par la pâte (Figure 4.2.6). Son évolution peut également être représentée par une équation du second degré :

$y_{CO2\ retenu} = a_3 \times t^2 + b_3 \times t$ avec : $a_3 = 0{,}16 \times 10^{-6}$ et $b_3 = -0{,}54 \times 10^{-4}$

Y_{CO2} exprimé en $\mu mol.g^{-1}$ de fs et t en s

Là encore, cette équation du second degré ne reflète correctement les données expérimentales que pour des données supérieures à 300 s de pétrissage. En fin de pétrissage, la pâte a retenu 0,09 µmol de CO_2 par gramme de farine sèche. Cette accumulation de gaz dans la pâte participe à l'augmentation de son volume spécifique (Figure 4.2.7).

Le calcul tend à sous-estimer la rétention de CO_2 dans la pâte car il ne prend pas en compte la quantité de CO_2 dissous sous forme de HCO_3^- dans la phase aqueuse de la pâte.

c) CO_2 produit

La somme des quantités de CO_2 apparu et de CO_2 retenu est égale à la quantité de CO_2 produit au cours du pétrissage. Cette dernière est de 4,39 $\mu mol.g^{-1}$ de fs en fin de pétrissage (Figures 4.2.4 A et 4.2.6) :

$y_{CO2\ produit} = y_{CO2\ apparu} + y_{CO2\ retenu} = a_4 \times t^2 + b_4 \times t$ avec $a_4 \approx a_2 + a_3$ et $b_4 \approx b_2 + b_3$

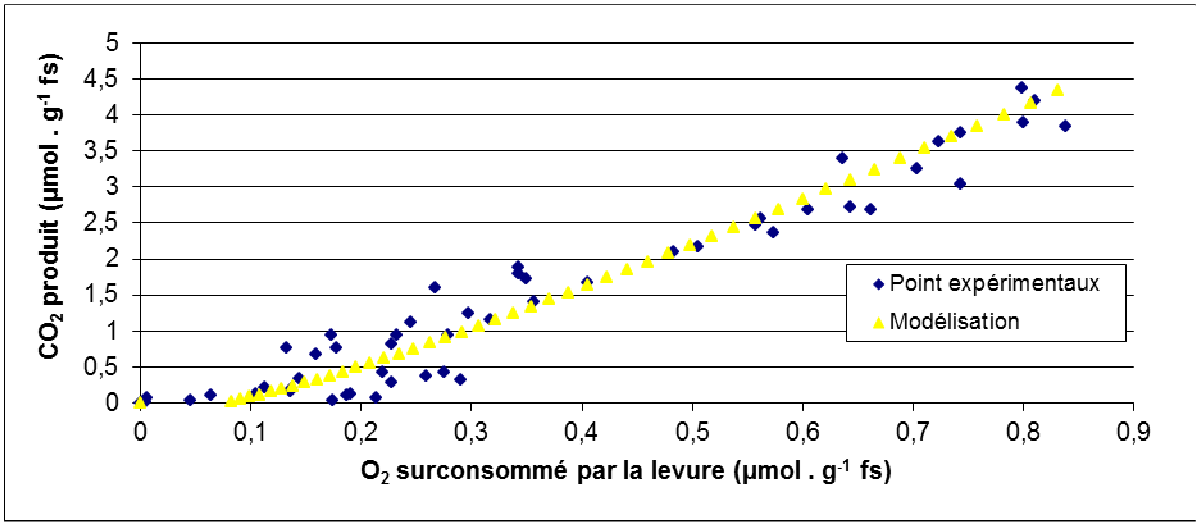


Figure 4.2.8 : Production de CO_2 par la levure en fonction de sa surconsommation d'O_2 au cours du pétrissage ($r^2 = 0,95$).

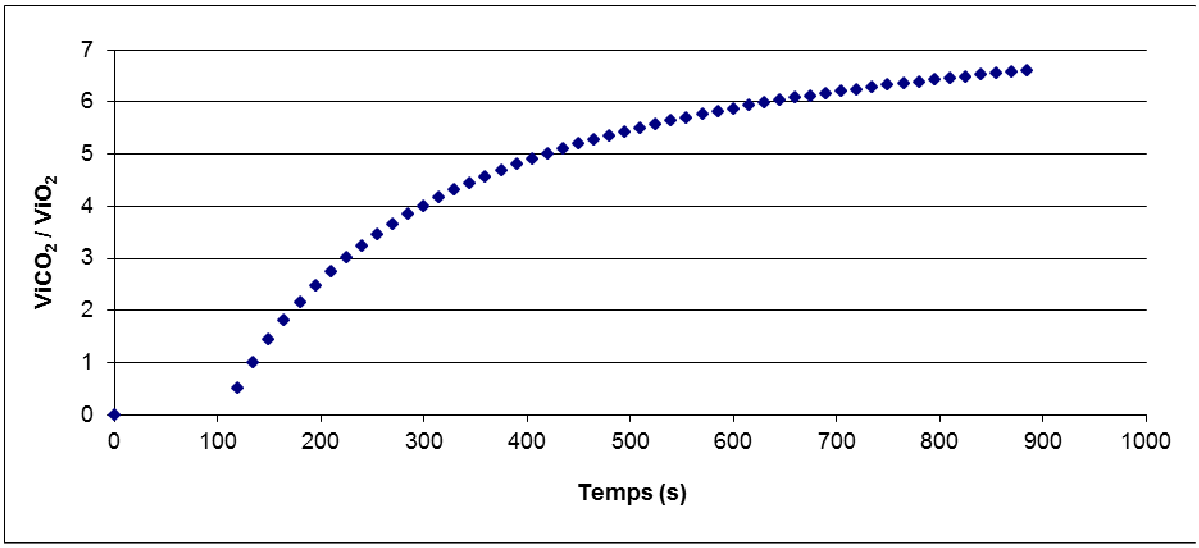


Figure 4.2.9 : Evolution du rapport des vitesses instantanées de production de CO_2 et de surconsommation d'O_2 par la levure ($\frac{ViCO_2}{ViO_2}$) au cours du pétrissage.

En combinant les deux équations de production de CO_2 et de consommation minimale d'O_2 dues au métabolisme de la levure (O_2 surconsommé par la pâte, Figure 4.2.3) pendant le pétrissage, il est possible d'établir une équation reliant ces deux données indépendamment du temps de pétrissage (Figure 4.2.8) :

$$CO_{2produit} = -K \times b_1 + \frac{a_4}{a_1} \times O_{2\ surconsommé} + K\sqrt{b_1^{\ 2} + 4 \times a_1 \times O_{2\ surconsommé}}$$

avec : $K = \frac{a_1 b_4 - a_4 b_1}{2a_1^{\ 2}}$

Les résultats expérimentaux obtenus permettent d'écrire :

$$CO_{2\ produit}\ (\mu mol.g^{-1}\ fs) = 8{,}43 \times O_{2\ surconsommé} + 0{,}317 - 1790 \times \sqrt{0{,}332 \times 10^{-5} \times O_{2\ surconsommé} + 0{,}313 \times 10^{-7}}$$

($r^2 = 0{,}95$).

La pente moyenne de la courbe après 0,3 µmol.g^{-1} de fs d'O_2 surconsommé est proche de 6.

De la même façon, en utilisant les dérivées des deux équations de production de CO_2 et de surconsommation d'O_2 par la pâte, il est possible d'établir le rapport des vitesses instantanées de production de CO_2 et de surconsommation d'O_2 en fonction du temps de pétrissage (Figure 4.2.9) :

$$\frac{ViCO_{2\ \ produit}}{ViO_{2\ surconsommé}} = \frac{0{,}0132 \times t - 1{,}44}{0{,}0017 \times t + 0{,}18}$$ vitesses exprimées en nmol.s^{-1}.g^{-1}

On constate qu'entre 400 et 900 s de pétrissage (période au cours de laquelle les systèmes endogène consommateurs d'O_2 sont fortement ralentis), la levure produit environ 6 nmoles de CO_2.s^{-1} et utilise 1 nmole d'O_2.s^{-1} (soit 36 nmoles de CO_2.s^{-1} pour 6 nmole d'O_2.s^{-1})

En théorie, à partir de 6 nmoles d'O_2 et d'une nmole de glucose, le métabolisme respiratoire produit 6 nmoles de CO_2. Dans nos conditions expérimentales et en fin de pétrissage, on en déduit que sur les 36 nmoles de CO_2 produites par la levure, 36 – 6 = 30 nmoles de CO_2. s^{-1} sont produites par voie fermentaire. Or, pour une mole de glucose fermenté, deux moles de CO_2 sont produites. Il faut donc fermenter 15 nmoles de glucose.s^{-1} pour produire cette quantité de 30 nmoles de CO_2.s^{-1} par voie fermentaire.

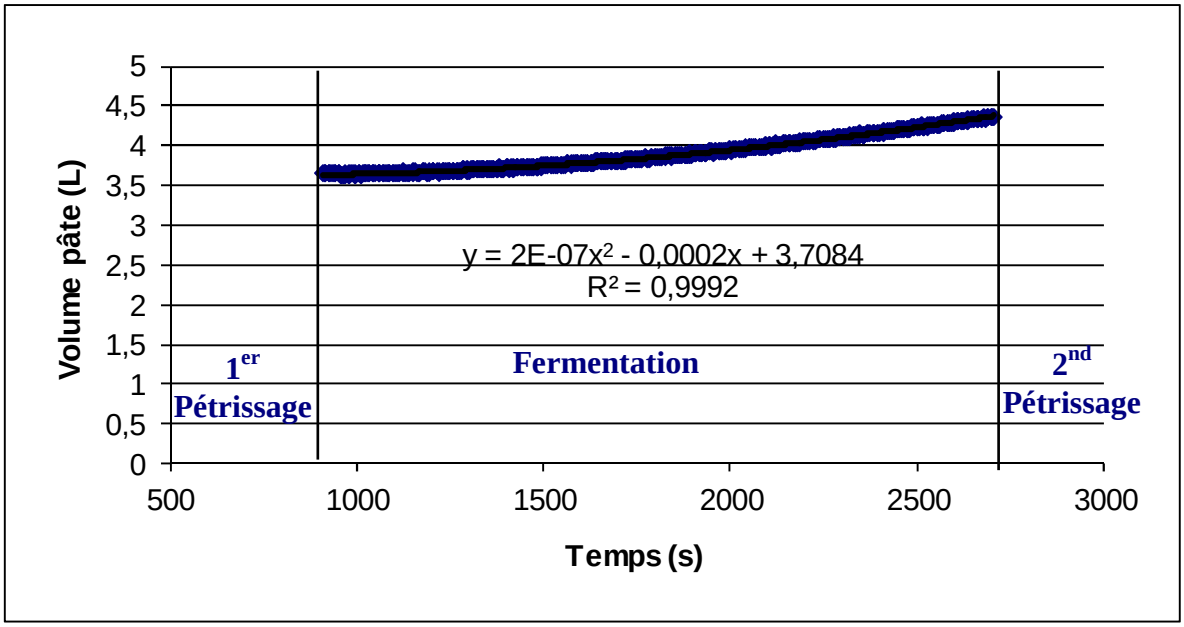


Figure 4.2.10 : Evolution du volume d'une pâte levurée (1 %) au cours de la fermentation.

Tableau 4.2.2 : Consommation d'O_2 et diffusion de CO_2 d'une pâte levurée après le premier pétrissage, en fin de fermentation et après le second pétrissage.

	Fin du 1er Pétrissage	Fin de fermentation		Fin du second pétrissage	
	Valeurs absolues	Valeurs absolues	Variation par rapport à la fin du 1er pétrissage	Valeurs absolues	Variation par rapport à la fin de la fermentation
O_2 consommé ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	5,33 ± 0,23	5,22 ± 0,24	-0,11	7,09 ± 0,30	+1,87
CO_2 apparu ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	4,30 ± 0,82	5,06 ± 0,98	+0,67	32,4 ± 4,84	+27,4
CO_2 retenu ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	0,09 ± 0,06	16,2 ± 2,54	+16,1	1,89 ± 0,41	-14,3
CO_2 produit ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	4,39 ± 0,88	21,3 ± 3,52	+16,7	34,3 ± 5,25	+13,0

Tableau 4.2.3 : Volume (V) de la pâte avant et après le premier pétrissage, en fin de fermentation et après le second pétrissage.

	$V_{début\ de\ pétrissage}$ (L)	$V_{fin\ de\ pétrissage}$ (L)	$V_{fin\ de\ fermentation}$ (L)	$V_{fin\ 2nd\ pétrissage}$ (L)	$V_{fin\ de\ fermentation}$ - $V_{fin\ de\ pétrissage}$ (%)	$V_{fin\ de\ fermentation}$ - $V_{fin\ 2nd\ pétrissage}$ (%)
Moyenne	3,49 ± 0,05	3,66 ± 0,08	4,39 ± 0,24	3,85 ± 0,12	20,0 ± 4,2	12,3 ± 1,9

En définitive, sur 16 nmoles de glucose métabolisées en une seconde, une seule sera utilisée par voie respiratoire et 15 par fermentation. Du point de vue énergétique, l'utilisation d'une mole de glucose par voie respiratoire produit 38 moles d'ATP alors que la fermentation de 15 moles de glucose aboutit à la formation de 30 moles d'ATP. On en déduit que 56 % [=38/(30+38)*100] de l'ATP produit par seconde provient du métabolisme respiratoire et 44 % du métabolisme fermentaire. En considérant que la levure doit maintenir constante sa vitesse de production d'ATP quelle que soit la voie catabolique utilisée (aérobie ou anaérobie), on peut donc estimer qu'entre 400 et 900 s de pétrissage, 56 % des levures ont adopté un métabolisme respiratoire et 44 % continuent à métaboliser le glucose par voie fermentaire.

Phase 2, la fermentation

a) O_2 consommé

Au cours de la fermentation, la consommation globale d'O_2 n'a pas évolué (Tableau 4.2.2 et Figure 4.2.4 A). Ce résultat s'explique aisément par l'absence d'incorporation d'air dans la pâte avec l'arrêt de l'action mécanique des bras de pétrin.

b) CO_2 apparu

On constate (Tableau 4.2.2) une faible apparition de CO_2 (0,67 µmol.g^{-1} de fs) dans la phase gazeuse du fait de sa rétention partielle dans les alvéoles gazeux au sein du pâton. Bien que faible, la diffusion de CO_2 n'est pas nulle et résulte sans doute de la dissolution du CO_2 dans la phase liquide de la pâte (sous forme de HCO_3^- notamment) puis de sa migration vers la périphérie du pâton et de son passage vers la phase gazeuse.

c) CO_2 retenu

Suite aux 30 min de fermentation, la quantité de CO_2 retenue dans la pâte augmente fortement (+ 16,1 µmol). Le volume de la pâte a augmenté de 0,7 L (+ 20 % par rapport au volume de pâte en fin de pétrissage) pour atteindre le volume final de 4,4 L (Tableau 4.2.3). Il est possible de représenter l'évolution du volume de la pâte en fonction du temps de fermentation par une équation du second degré (Figure 4.2.10) :

$$V\text{pâte (L)} = 1{,}83\times10^{-7}\times t^2 - 2{,}49\times10^{-4}\times t + 3{,}7$$ avec t : temps total exprimé en s

Cette équation n'est representative des données expérimentales que dans le domaine 900 – 2700 s (fermentation de la pâte au repos). Cette augmentation du volume de la pâte s'accompagne d'un accroissement du volume spécifique (Figure 4.2.7).

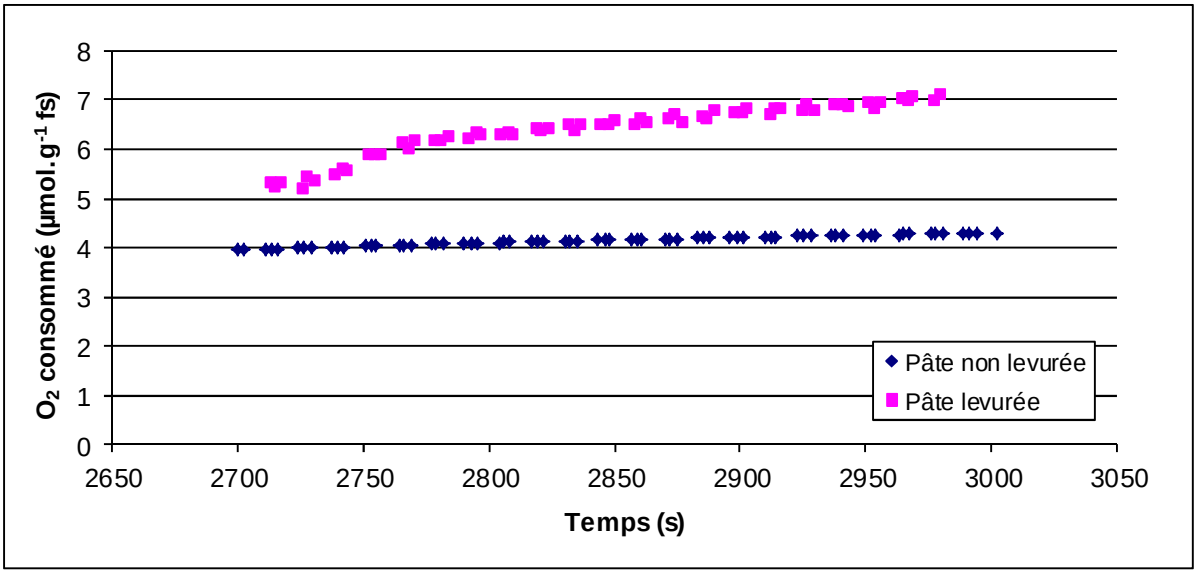


Figure 4.2.11 : Consommation d'O_2 de pâtes levurées ou non au cours du second pétrissage.

d) CO_2 produit

En début de fermentation, la vitesse instantanée de la production de CO_2 est inférieure à ce qu'elle était à la fin du pétrissage (Figure 4.2.4 A).

Il est probable que l'arrêt de l'agitation mécanique du bras de pétrin ne permet plus d'incorporer de l'oxygène à la pâte, la levure n'est plus en mesure de maintenir son métabolisme aérobie et doit adopter un métabolisme fermentaire. Cette modification du métabolisme n'étant pas instantanée, la vitesse de production de CO_2 diminue.

Remarquons également que le calcul du CO_2 apparu et du CO_2 produit permet d'accéder à la porosité de la pâte. Ainsi, en fin de fermentation, on constate 96 % de la quantité de CO_2 produite pendant la fermentation (depuis la fin du premier pétrissage) est retenue dans la pâte. On en déduit que le taux de porosité de la pâte en fin de fermentation est égal à 4 %.

Phase 3, le second pétrissage

La pâte consomme à nouveau de l'O_2 dès la remise en route du bras de pétrin (+ 1,87 µmol.g^{-1} de fs après 5 min de rotation (Tableau 4.2.2 et Figure 4.2.11). Ceci est essentiellement attribué à trois phénomènes :

- le métabolisme de la levure qui peut de nouveau être de type respiratoire en raison de l'incorporation d'O_2 à la pâte. Ce phénomène est réel puisqu'une pâte levurée consomme plus d'oxygène qu'une pâte non levurée (Figure 4.2.11)
- la re-saturation en air de la phase aqueuse (estimée à 0,15 µmol.g^{-1} fs)
- l'oxydation de molécules autres que les AG libres oxydables qui ont été presque totalement consommés à la fin du premier pétrissage (par exemple, des composés réducteurs formés par la levure).

Le second pétrissage modifie également la teneur en CO_2 de la phase gazeuse. L'alvéolage de la pâte, formé grâce à la production de CO_2 par la levure, est très largement détruit, relarguant ainsi du CO_2 dans l'atmosphère et provoquant une nette diminution du volume de la pâte (Figures 4.2.12 et 4.2.4 B). Ce dernier, qui avait été estimé à 4,4 L en fin de fermentation, semble se stabiliser à 3,8 L après 5 min de pétrissage, ce qui représente une diminution de 0,6 litres soit 12 % du volume calculé en fin de fermentation.

Cette apparition importante de CO_2 dans l'atmosphère environnant la pâte se produit simultanément avec une augmentation de la production de CO_2 dont la vitesse instantanée est supérieure à ce qu'elle était en fin de pétrissage (Figure 4.2.4 A).

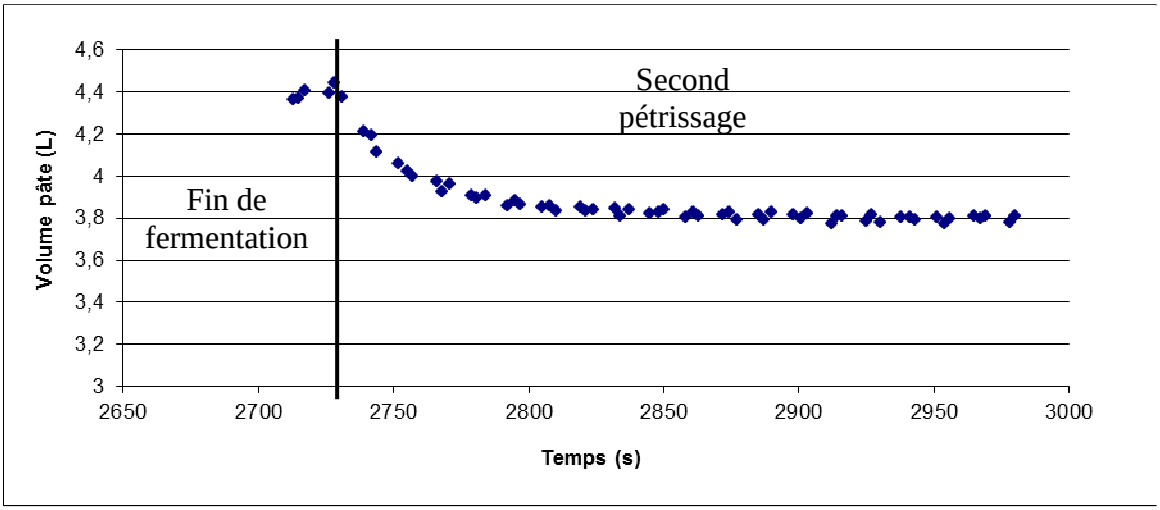


Figure 4.2.12 : Evolution du volume de la pâte au cours du second pétrissage.

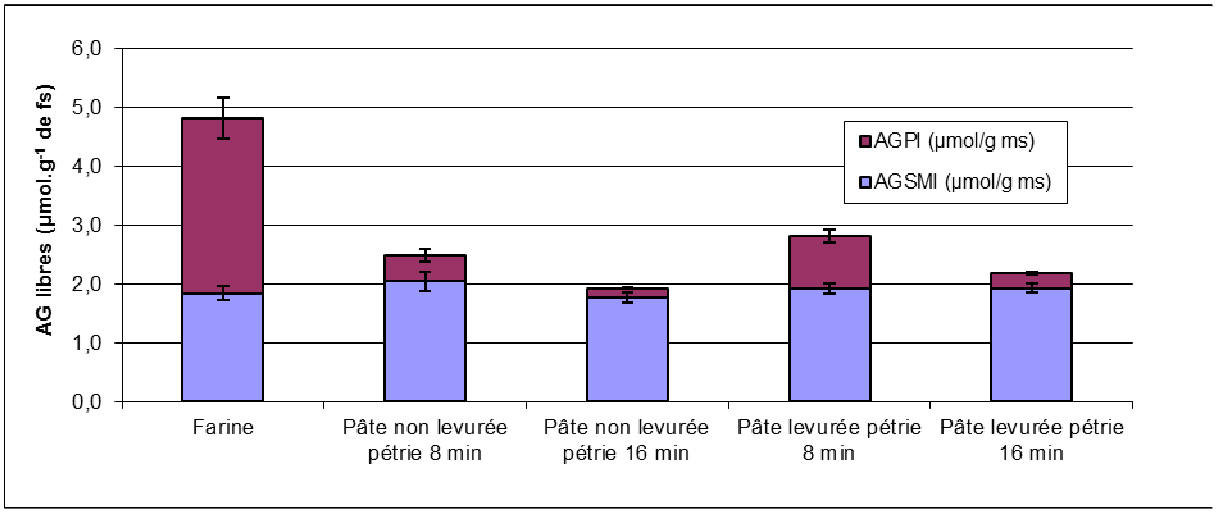


Figure 4.2.13 : Teneurs en AG libres contenus dans la farine et les échantillons de pâtes, en distinguant les AGSMI des AGPI.

Ceci est attribué à une adaptation rapide de la levure à un milieu à nouveau aérobie, grâce à l'incorporation d'O_2 dans la pâte (le passage de l'anaérobie à l'aérobie semblant plus rapide que celui de l'aérobie à l'anaérobie), ainsi qu'à une ré-homogénisation du milieu permettant à la fois une reprise des activités amylolytiques alimentant les levures en substrats et la désinhibition des levures par dissipation du CO_2 qui peut jouer un rôle fongistatique.
Enfin, on constate que le volume de la pâte en fin de second pétrissage est supérieur de 0,19 L au volume de la pâte à la fin du premier pétrissage. Cette différence de volume est due à une augmentation de la quantité de gaz retenu par la pâte (Tableau 4.2.3 et Figure 4.2.4B).

4.2.1.3 Oxydation des lipides

L'oxygène consommé par la pâte sert en grande partie à oxyder les acides gras libres polyinsaturés (AGPI) de la farine. La levure consommant également de l'oxygène au cours du pétrissage, il est probable que cette dernière diminue le niveau et la vitesse d'oxydation des acides gras libres oxydables catalysée par la LOX de blé.
Afin de vérifier cette hypothèse, des pâtes levurées et non levurées ont été pétries à l'aide du consistographe de Chopin équipé d'un bras double tournant à 60 RPM à une température de 25 °C pendant 8 et 16 min. Une fois le pétrissage terminé, un échantillon de chaque pâte est immédiatement prélevé afin d'en extraire les lipides et de déterminer les teneurs en AGSMI et AGPI libres.

Les teneurs en AG libres (Figure 4.2.13) contenues dans les pâtes (somme des AGSMI et des AGPI) sont toujours inférieures à celles de la farine. Ceci est dû à l'oxydation des AGPI libres dont les pertes moyennes sont, par rapport à la farine, d'environ 80 % après 8 min de pétrissage et de 90 % après 16 min.
La teneur en AGSMI libres des pâtes est égale à celle de la farine. Ce résultat déjà observé pour des pâtes non levurées par Castello (1999) et Levavasseur (2007), permet de conclure que la levure n'a pas d'effet sur ces derniers dans les pâtes levurées.
Les quantités d'AGPI libres oxydés après 8 et 16 min de pétrissage (Figure 4.2.14) augmentent évidemment avec la durée de pétrissage que la pâte soit levurée ou non. Cependant, pour une durée de pétrissage donnée, les quantités d'AGPI libres oxydés sont toujours significativement plus faibles dans les pâtes levurées que dans les pâtes non levurées.

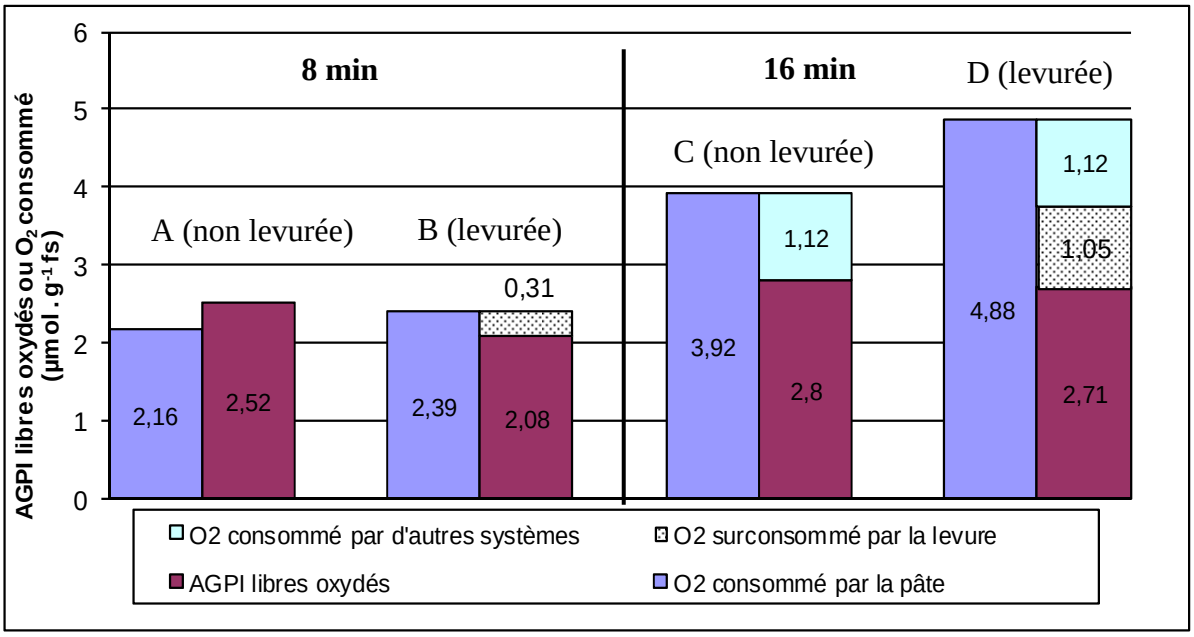


Figure 4.2.14 : Bilan des consommations d'oxygène et de l'oxydation des AGPI libres de pâtes levurées (colonnes B et D) ou non (colonnes A et C) après 8 et 16 min de pétrissage au consistographe.

Ainsi, après 8 min de pétrissage la quantité d'AGPI libres oxydés dans une pâte levurée est inférieure de 0,44 µmol.g^{-1} de fs (soit 17,5 %) par rapport à une pâte non levurée. Après 16 min de pétrissage, la différence d'oxydation des AGPI libres n'est plus que de 0,09 µmol.g^{-1} de fs (soit 3,2 %).
Ce résultat permet de confirmer l'existence d'une compétition entre la levure et la LOX de blé pour l'oxygène incorporé à la pâte pendant la première partie du pétrissage (8 min). Le métabolisme aérobie de la levure prive partiellement la LOX d'O_2, limitant ainsi l'oxydation des AGPI libres.

Si on estime que les quantités d'oxygène incorporé aux pâtes sont équivalentes avec le consistographe et le sitoxygraphe et si on considère que la stœchiométrie de l'oxydation des lipides est de 1 mole d'O_2 par mole d'AGPI oxydée, alors on constate qu'après 8 min de pétrissage d'une pâte non levurée, la totalité de l'oxygène consommé par la pâte est utilisée pour l'oxydation des AGPI libres (Figure 4.2.14).
Après 8 min de pétrissage, l'ajout de levure à la pâte diminue l'oxydation des acides gras libres de 2,52 à 2,08 µmol.g^{-1} de fs, la consommation minimale d'O_2 par la levure est alors estimée à 2,39-2,08 = 0,31 µmol d'O_2.g^{-1} de fs. Ce résultat est supérieur à la différence de consommation entre les pâtes levurées et les pâtes non levurées, qui est égale à 2,39-2,16 = 0,23 µmol.g^{-1} fs. Ainsi, l'oxydation des AGPI libres n'explique que 87 % de la consommation d'O_2 de la pâte levurée, les 13 % manquants pouvant être en grande partie attribués au métabolisme aérobie de la levure.

Après 16 minutes de pétrissage, l'oxydation des AGPI libres explique seulement 71 % de la consommation d'oxygène des pâtes non levurées. On en déduit que d'autres réducteurs que les AGPI libres ont été oxydés. Pour les pâtes contenant de la levure, l'oxydation des AGPI libres (et peut-être d'une fraction des AG oxydables contenus dans les fractions TAG) n'explique que 55 % de l'oxygène consommé. Le reste de l'oxygène incorporé aux pâtes a été utilisé par la levure et d'autres systèmes d'oxydoréduction de la farine. On peut attribuer à la levure une consommation d'O2 de 1,05 + 2,8 – 2,71 = 1,14 µmol.g^{-1} de fs.

Conclusion

Ces résultats indiquent qu'il existe une forte compétition, en particulier au cours des 8 premières minutes de pétrissage, entre la levure et la LOX pour l'O_2 incorporé à la pâte réduisant l'oxydation des acides gras libres oxydables de la pâte.

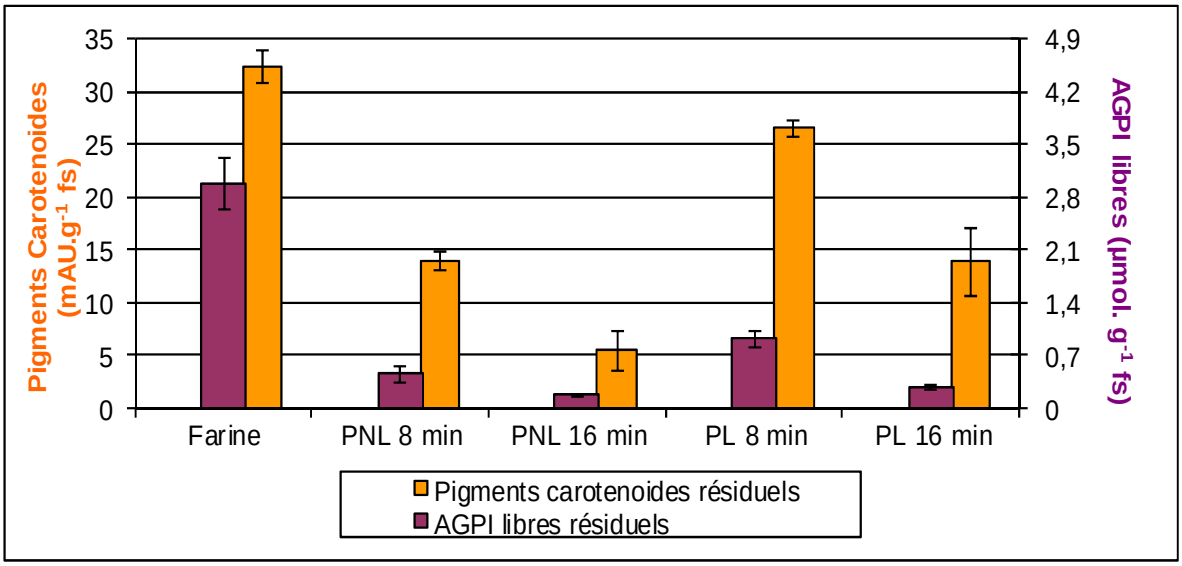


Figure 4.2.15 : Teneurs résiduelles en AGPI libres et en pigments caroténoïdes de la farine et des pâtes levurées ou non, après 8 ou 16 min de pétrissage au consistographe.

Tableau 4.2.4 : Teneurs en pigments caroténoïdes suite au pétrissage de pâtes levurées ou non pendant 8 et 16 min.

Type de pâte	Farine	PNL	PNL	PL	PL
Temps de pétrissage (min)	0	8	16	8	16
Teneur en pigments caroténoïde ($mUA.g^{-1}$ fs)	32,3	14,0	5,42	26,5	13,8
Teneur en pigments caroténoïde ($nmol.g^{-1}$ fs)	10,0	4,32	1,68	8,21	4,29
O_2 utilisé pour oxyder les pigments caroténoïdes ($nmol.g^{-1}$ fs)	-	5,68	8,32	1,79	5,71

Il est probable que cette compétition s'étende à d'autres réactions d'oxydoréduction consommant de l'oxygène ayant lieu au cours du pétrissage (oxydation des pigments caroténoïdes, des composés thiols, des composés phénoliques…).

4.2.1.4 Oxydation des pigments caroténoïdes

D'après Nicolas (1978), la LOX de blé, par une oxydation couplée, produit des leucodérivés à partir des pigments caroténoïdes provoquant un blanchiment des pâtes. Si la présence de levure réduit l'oxydation des lipides par compétition pour l'oxygène, alors un phénomène similaire devrait être observé pour l'oxydation des pigments.

Les teneurs en pigments caroténoïdes des pâtes (Figure 4.2.15) montrent que l'oxydation de ces molécules augmente avec la durée de pétrissage et diminue en présence de levure pour une durée équivalente. On confirme que l'augmentation de la durée de pétrissage blanchit les pâtes, alors que l'ajout de levure limite leur blanchiment.

La teneur en caroténoïdes de la farine sèche étant en moyenne de 10 $nmol.g^{-1}$ de fs (Eyoum, 2002), il est possible d'estimer la quantité d'O_2 incorporé à la pâte ayant servi à oxyder les caroténoïdes en considérant une stœchiométrie d'une mole d'oxygène pour une mole de pigments (Tableau 4.2.4). L'oxydation complète des caroténoïdes nécessite donc au maximum 10 $nmol.g^{-1}$ fs d'oxygène. Cette quantité est infime comparée aux consommations d'oxygène des pâtes en fin de pétrissage qu'elles soient levurées ou non. Nous confirmons donc l'existence d'une compétition pour l'O_2 entre la levure et la LOX responsable de l'oxydation des caroténoïdes. D'ailleurs, le technologue de la panification ajoute de la levure en fin de pétrissage s'il souhaite favoriser le blanchiment des pâtes et de la mie de pain.

4.2.1.5 Agrégation des protéines

Le pétrissage permet de former des ponts disulfures inter et intra-protéiques (PSSP) par oxydation des groupements thiols (PSH). Les thiols peuvent notamment être oxydés par les hydroperoxydes provenant de l'oxydation des acides gras oxydables qui sont eux-mêmes réduits en hydroxy-acides et en d'autres composés. Cette réaction peut contribuer à la formation du réseau de gluten responsable des propriétés technologiques de la pâte.

D'un côté, la levure contenue dans la pâte représente une source potentielle de glutathion (GSH) qui a la capacité de s'oxyder plus facilement que les groupements thiols des protéines contenues dans la farine. La présence de PSH et de GSH dans la pâte au cours du pétrissage permettra de former des ponts PSSG au détriment des ponts protéiques PSSP.

Tableau 4.2.5: Teneur en protéines de la farine et des pâtes levurées ou non (mUA.g^{-1} fs).

	Protéines solubles dans le SDS			Protéines insolubles dans le SDS			Total
Echantillon	F1 + F2 ($\times 10^{11}$)	F3 + F4 + F5 ($\times 10^{11}$)	Σ_1 ($\times 10^{11}$)	F1 + F2 ($\times 10^{11}$)	F3 + F4 + F5 ($\times 10^{11}$)	Σ_2 ($\times 10^{11}$)	$\Sigma_1 + \Sigma_2$ ($\times 10^{11}$)
Farine	1,31	4,65	5,96	0,99	0,19	1,08	7,04
PNL 8 min	2,32	3,91	6,24	0,38	0,36	0,75	6,98
PNL 16 min	2,20	3,89	6,09	0,52	0,39	0,91	7,00
PL 8 min	2,29	4,04	6,33	0,26	0,16	0,42	6,75
PL 16 min	2,48	4,00	6,48	0,28	0,19	0,47	6,95
Figure correspondante	4.2.19	4.2.20	4.2.17	4.2.19	4.2.20	4.2.18	4.2.16

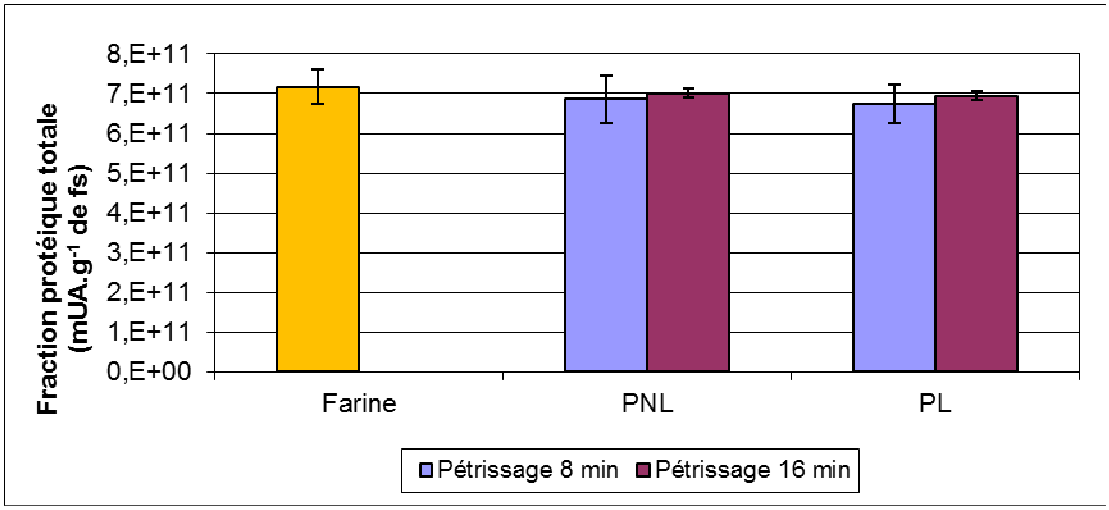


Figure 4.2.16 : Fraction protéique totale de la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 min de pétrissage.

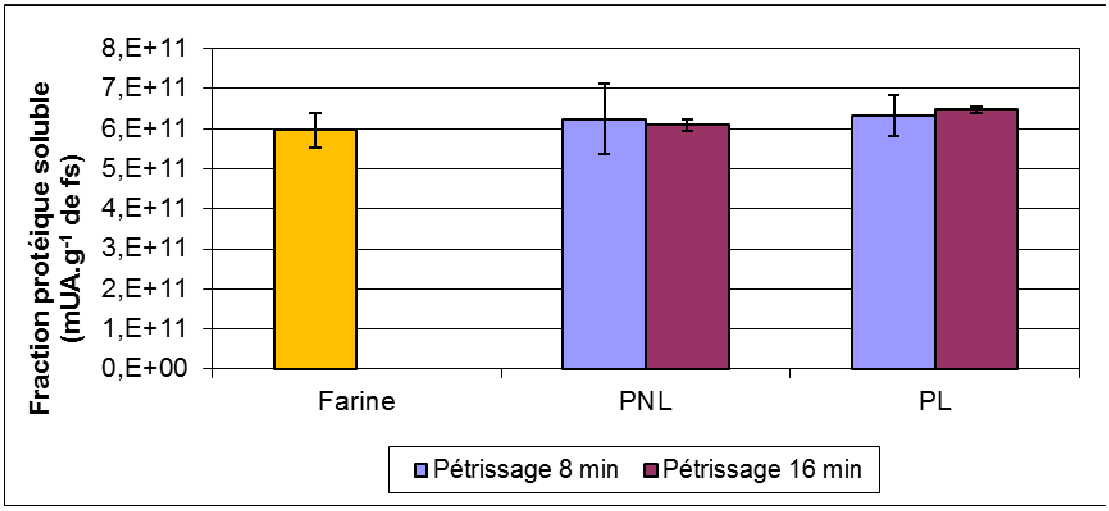


Figure 4.2.17 : Fractions protéiques solubles dans le tampon SDS de la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 min de pétrissage.

On peut donc supposer que l'ajout de levure est susceptible de diminuer le taux d'agrégation du réseau de gluten si le glutathion est libéré dans le milieu extracellulaire.
D'un autre côté, la levure entre en compétition pour l'oxygène avec l'oxydation des acides gras et des phénols, il devrait aussi en résulter une diminution de la formation de ponts disulfures et phénoliques et donc de l'état d'agrégation des protéines et des arabinoxylanes.
L'analyse de l'évolution des fractions protéiques des pâtes permettra d'identifier l'effet de la présence de levure. L'ensemble des données (Tableau 4.2.5) est présenté en $mUA.g^{-1}$ fs, elles sont convertibles en $mg.g^{-1}$ fs en considérant que la teneur en protéines de la farine utilisée est de 11,35 g pour 100 g de ms.

- Protéines totales

L'analyse de la teneur totale en protéines de la farine de blé et des pâtes, levurées ou non, montre qu'il n'y a pas de différence significative entre la teneur en protéines de la farine et celles des pâtes pétries pendant 8 et 16 min (Figure 4.2.16). On peut donc conclure qu'il n'y a pas d'effet du pétrissage et de la levure sur l'extraction des protéines totales.

- Protéines solubles et insolubles

Les teneurs en protéines solubles dans le tampon SDS des pâtes ne sont pas significativement influencées par la présence de la levure, ni par la durée du pétrissage (Figure 4.2.17). Cependant, la proportion des protéines solubles est toujours supérieure à 87 % dans la pâte (entre 87 et 94 %) alors qu'elle est inférieure à 85 % dans la farine (Tableau 4.2.5).
En revanche, quelle que soit la pâte considérée, la quantité de protéines insolubles dans le SDS diminue significativement par rapport à celle de la farine (Figure 4.2.18). Il est sensible à la durée du pétrissage dans le cas d'une pâte non levurée puisqu'il existe entre 8 et 16 minutes une augmentation de la teneur en protéines insolubles dans le SDS. Il est encore plus marqué pour les pâtes levurées que pour celles non levurées : le pourcentage moyen des protéines insolubles dans le SDS est de 6,5 % pour les pâtes levurées, 11,8 % pour les pâtes non levurées et de plus de 15 % pour la farine.

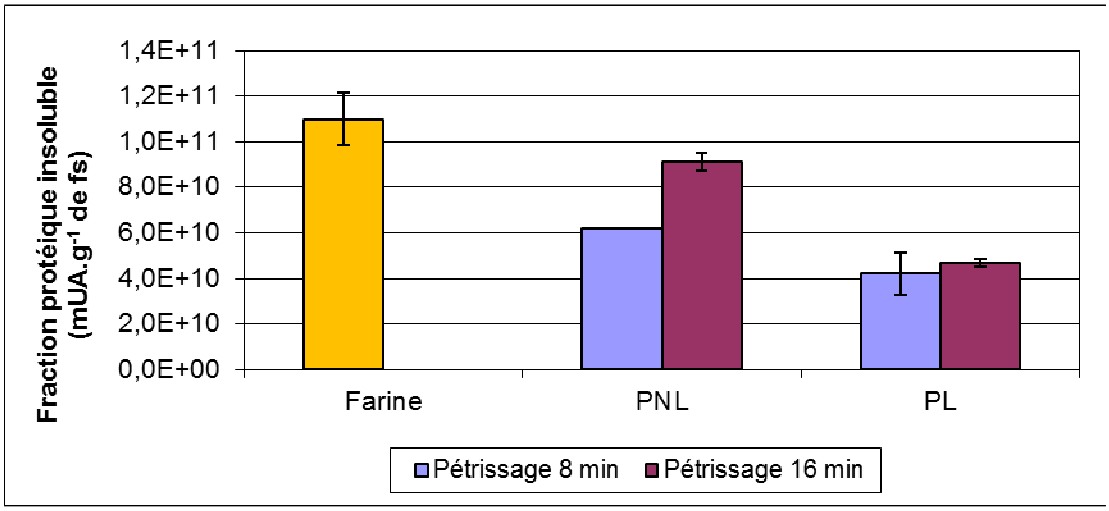


Figure 4.2.18 : Fractions protéiques insolubles dans le SDS de la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 min de pétrissage.

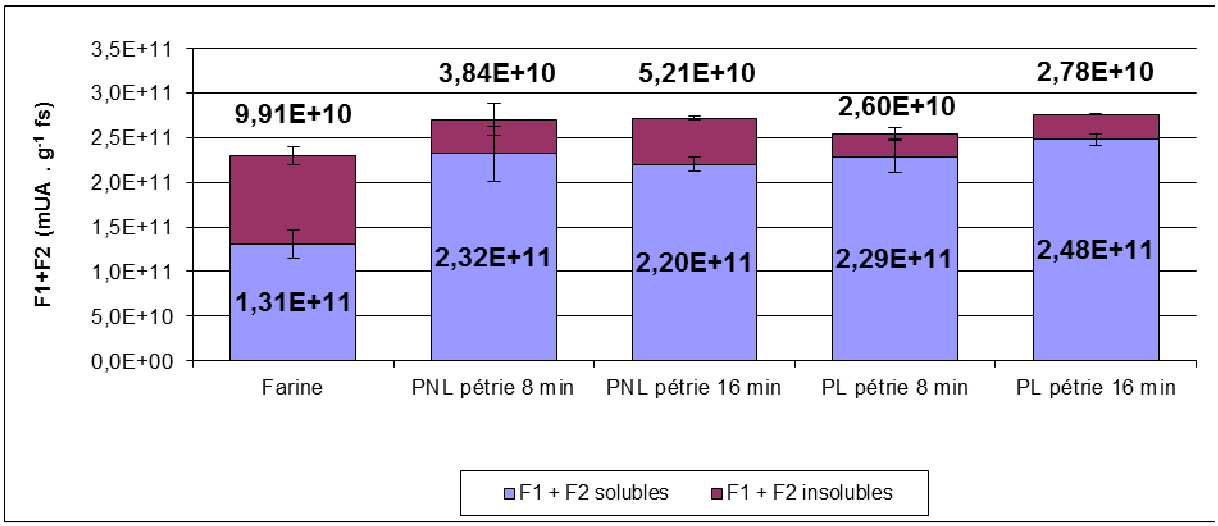


Figure 4.2.19 : Fractions F1 + F2 solubles et insolubles distinguées contenues dans la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 minutes de pétrissage.

Tableau 4.2.6 : Analyse statistique de la fraction F1 + F2 (solubles et insolubles confondues) contenue dans la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 minutes de pétrissage.

	Teneur en protéines F1 + F2 (mUA.g $^{-1}$ de fs) × 10^{11}	Groupes significativement différents (LSD 90 %)
Farine	2,30 ± 0,26	A
PL 8	2,55 ± 0,25	B
PNL 8	2,71 ± 0,49	C
PNL 16	2,72 ± 0,09	C
PL 16	2,76 ± 0,07	C

Concernant le pétrisage, deux explications non exclusives peuvent être proposées :

- le pétrissage permet de solubiliser une partie des protéines insolubles dans le SDS mais cette quantité de protéines est trop faible pour influencer significativement la fraction protéique soluble ;
- le pétrissage occasionne des pontages inter-protéiques de telle sorte que certaines protéines insolubles dans le SDS issues de ces pontages ne peuvent plus être extraites par notre méthode. Cependant, cette quantité de protéines non extraites est, là encore, trop faible pour influencer significativement la quantité totale de protéines dosées.

Concernant la levure, la teneur inférieure en protéines insolubles dans le SDS dans les pâtes levurées à celle des pâtes non levurées peut s'expliquer de deux façons non exclusives :

- la levure accroît la solubilisation des protéines insolubles au cours du pétrissage en libérant du GSH ;
- la levure limite la formation de ponts disulfures inter- et/ou intra-protéiques dans la fraction insoluble en réduisant la quantité d'O_2 utilisée par la LOX et donc limiterait l'apparition de protéines insolubles non extractibles.

En résumé et afin d'expliquer la différence de teneur en protéines insolubles entre la farine et les pâtes et entre les pâtes non levurées et levurées, on peut supposer que le pétrissage permet à la fois de solubiliser les protéines mais peut aussi ponter les protéines insolubles diminuant ainsi leur extractibilité. Lorsque l'on ajoute de la levure, il est probable que la compétition pour l'O_2 qui diminue l'activité de la LOX et que l'intervention du GSH apporté par la levure augmentent la solubilisation des protéines insolubles non extractibles.

- Fraction protéique F1+F2 (solubles et insolubles, Figure 4.2.19)

L'analyse de la composition des fractions solubles et insolubles extraites de la farine et des pâtes permet d'aller plus loin dans les interprétations. Le pétrissage, quelle que soit sa durée et la présence ou non de levure, provoque une augmentation, par rapport à la farine, de la teneur en protéines de masse moléculaire équivalente aux gluténines de haut et de bas poids moléculaire impliquées dans la formation du réseau de gluten (F1 + F2, Figure 4.2.19). L'analyse statistique (Tableau 4.2.6) montre qu'il existe une teneur significativement plus faible en protéines de types F1 + F2 dans les pâtes levurées pétries pendant 8 min que dans les autres pâtes.

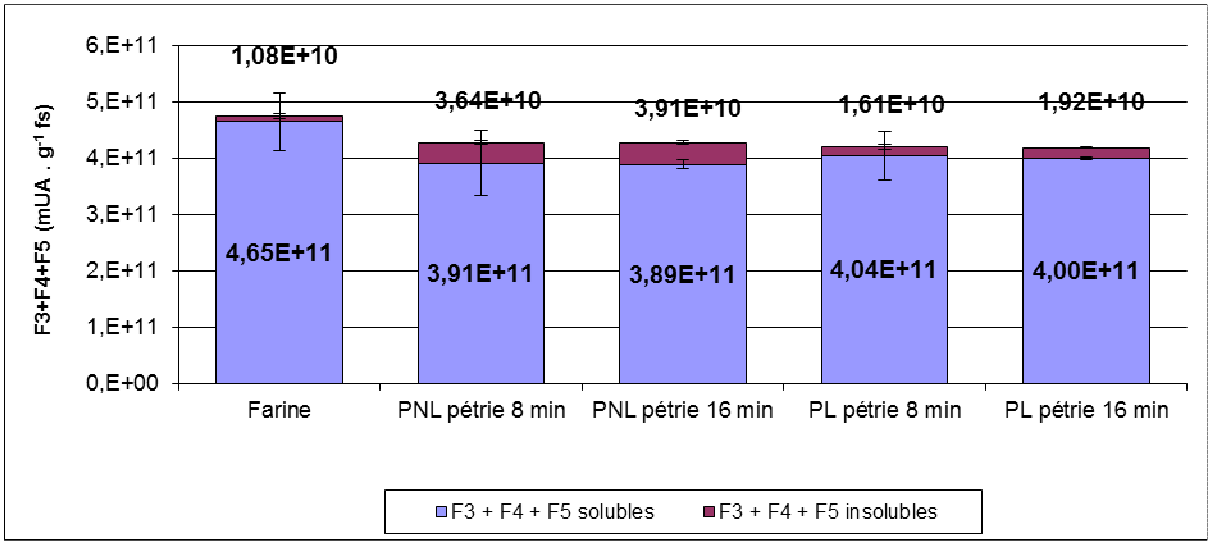


Figure 4.2.20 : Fraction F3 + F4 + F5 solubles et insolubles distinguées contenues dans la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 minutes de pétrissage au consistographe.

On peut donc penser qu'au cours des 8 premières minutes de pétrissage, la présence de levure a limité la formation de protéines de types F1 + F2, comparé à une pâte non levurée. Ceci peut être attribué à la compétition pour l'oxygène entre la LOX et la levure qui limite l'action de la LOX et donc les cooxydations permettant l'agrégation des protéines de gluten. Après 16 minutes de pétrissage, la différence de teneurs en protéines de types F1+ F2, entre les pâtes levurées et non levurées, n'est plus significative.

L'analyse de la répartition entre protéines solubles et insolubles dans la fraction cumulée F1 + F2 (Figure 4.2.19) montre que :

- quelle que soit la durée de pétrissage, les teneurs en fractions F1 + F2 solubles dans le SDS ont en moyenne presque doublé dans les pâtes par rapport à la farine alors que celles des fractions insolubles ont été divisées par deux pour les pâtes non levurées et par quatre pour les pâtes levurées ;
- lorsque la durée de pétrissage augmente, les teneurs en fractions F1 + F2 insolubles augmentent dans les pâtes non levurées sans modification significative des teneurs en F1 + F2 solubles alors que l'inverse est observé pour les pâtes levurées (augmentation de F1 + F2 solubles sans modification de F1 + F2 insolubles) ;
- les teneurs en fractions F1 + F2 insolubles sont toujours plus élevées dans les pâtes non levurées que dans les pâtes levurées.

On déduit de ces observations que le pétrissage permet de solubiliser une grande partie des protéines insolubles appartenant aux fractions F1 et F2 mais que ce phénomène est moins marqué pour les pâtes non levurées que pour les pâtes levurées, notamment lorsque le pétrissage se prolonge.

- Fraction protéique F3+F4+F5 (solubles et insolubles)

L'analyse des teneurs en protéines contenues dans les fractions cumulées F3 + F4 + F5 (Figure 4.2.20) montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les pâtes, quelle que soit la durée de pétrissage et la présence ou non de levure. La conclusion est identique en ce qui concerne les teneurs en F3 + F4 + F5 solubles qui sont très majoritaires (entre 98 et 90 % de l'ensemble des protéines de type F3 + F4 + F5 solubles et insolubles). Cependant, par rapport à la farine, une diminution des teneurs en F3 + F4 + F5 solubles et une augmentation des teneurs en F3 + F4 + F5 insolubles sont observées dans les pâtes. Elles sont plus marquées pour les pâtes non levurées que pour les pâtes levurées.

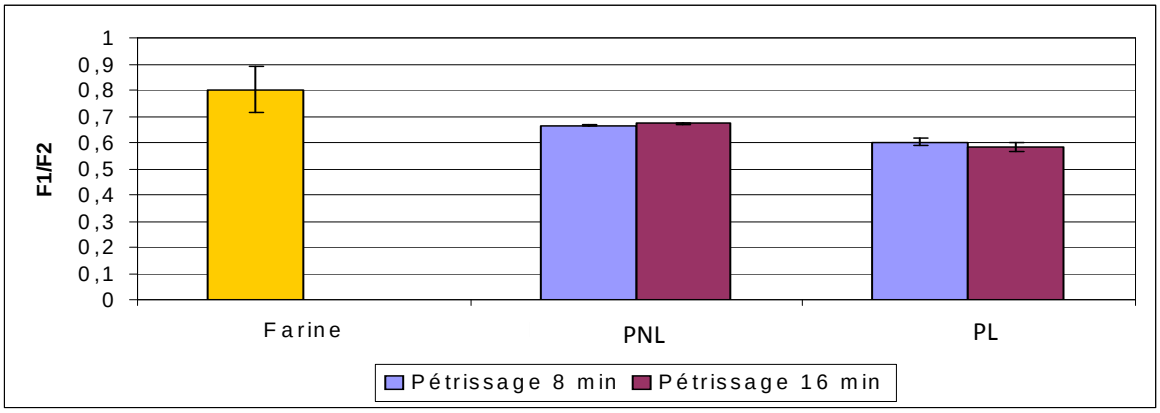


Figure 4.2.21 : Rapport des fractions F1 / F2 solubles et insolubles confondues de la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 minutes de pétrissage.

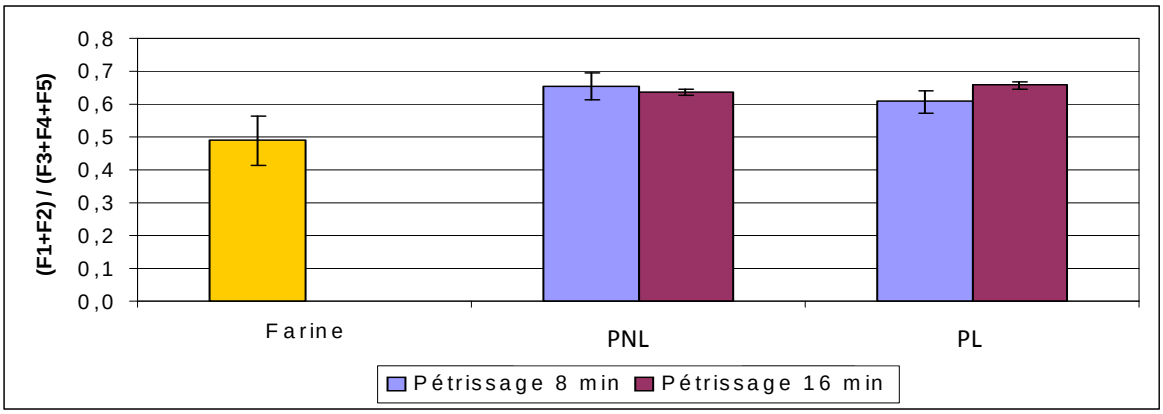


Figure 4.2.22 : Rapport des fractions (F1 + F2) / (F3 + F4 + F5) solubles et insolubles confondues de la farine et des pâtes levurées ou non, après 8 et 16 minutes de pétrissage.

- Analyse du rapport F1/F2 (solubles et insolubles, Figure 4.2.21)

Par rapport à la farine, le rapport des quantités de F1 (solubles + insolubles) sur les quantités de F2 (solubles + insolubles) passe de 0,8 pour la farine à 0,6 en moyenne pour les pâtes levurées et 0,68 pour les pâtes non levurées. Ces rapports n'évoluent pas avec la durée de pétrissage. Ces données montrent que, parmi les gluténines, le pétrissage favorise la formation de protéines de poids moléculaires équivalent à F2. Par ailleurs, la levure limite cette formation par un possible apport en GSH et par la compétition avec la LOX vis-à-vis de l'oxygène.

- Analyse du rapport (F1+F2)/(F3+F4+F5) (solubles et insolubles, Figure 4.2.22)

La représentation du rapport des teneurs en protéines de type F1 + F2 (solubles et insolubles) sur les teneurs en F3 + F4 + F5 (solubles et insolubles) illustre le fait que, lors du pétrissage, la taille des protéines augmente. Ni la durée de pétrissage, ni la présence de levure n'ont d'effet sur la valeur de ce rapport.

En conclusion, cette partie traitant de l'état d'agrégation des protéines met en évidence l'impact du pétrissage sur la solubilisation des protéines insolubles dans le SDS ainsi que des réticulations des protéines de plus bas poids moléculaire conduisant à une augmentation des teneurs en F1+F2. L'ajout de levure limite cet effet probablement par compétition pour l'oxygène avec la LOX de blé et/ou par un apport en GSH.

4.2.2 Rhéologie des pâtes (consistographe et texturomètre)

La levure ayant un impact sur le pontage des protéines et notamment sur celles qui composent le réseau de gluten, on peut supposer qu'elle a un impact sur la rhéologie des pâtes. Afin de le vérifier, l'évolution des caractéristiques rhéologiques des pâtes levurées et non levurées ont été évaluées d'une part au cours de pétrissage à l'aide du consistographe de Chopin, et d'autre part après le pétrissage suite à un temps de repos, au moyen d'un test de compression-relaxation à l'aide d'un texturomètre.

4.2.2.1 Mesure de la pression au consistographe

Les pâtes ont été pétries pendant 8 et 16 minutes. Le consistographe de Chopin est programmé pour effectuer 480 mesures de pression par pétrissage quelle que soit la vitesse de rotation du fraser.

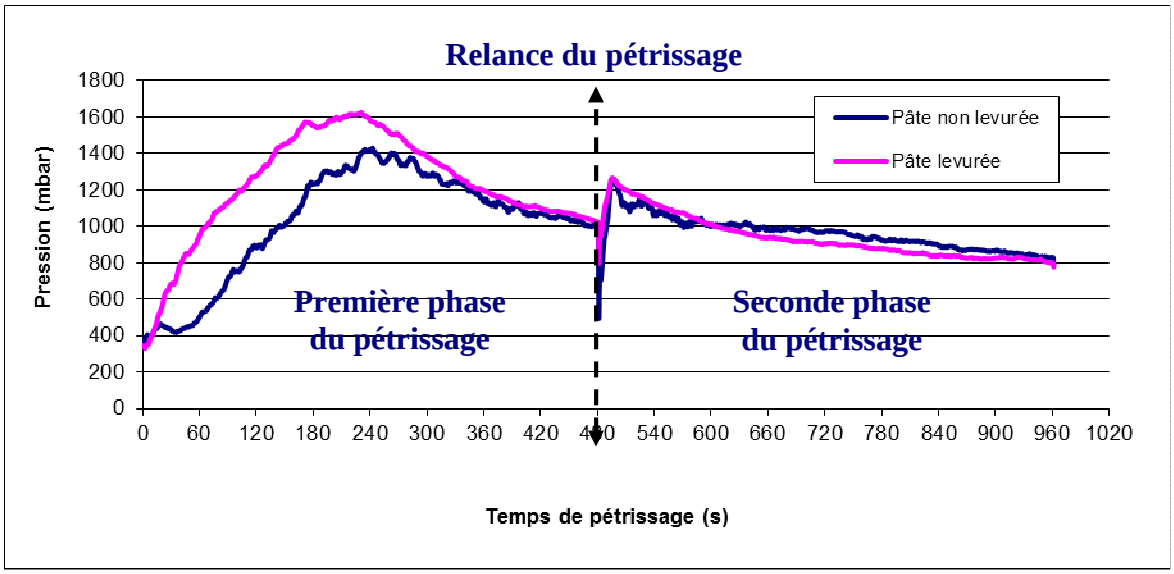


Figure 4.2.23 : Evolution moyenne de la pression de pâtes, levurées ou non, au cours du pétrissage avec le consistographe.

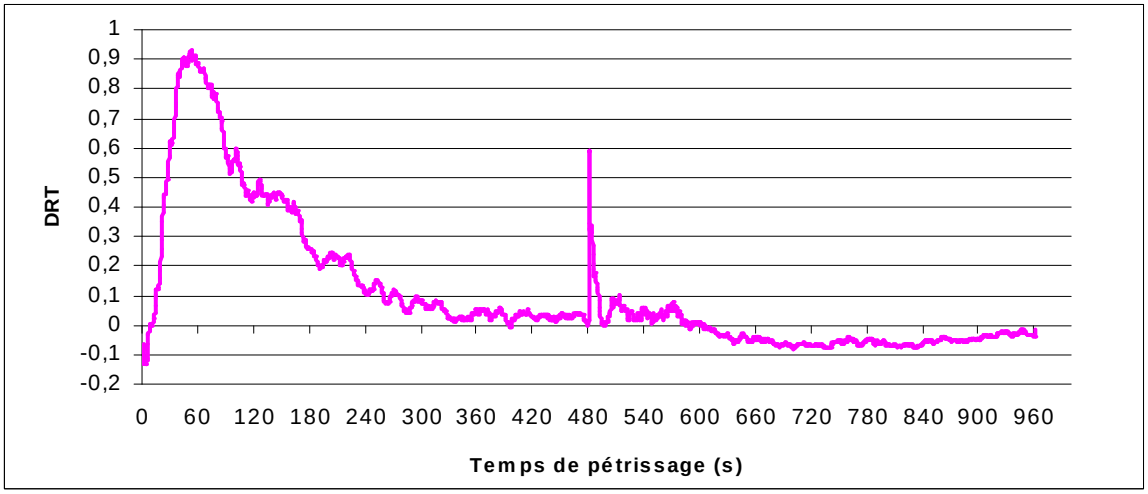


Figure 4.2.24 : Différence Relative des pressions par apport au Témoin (DRT) des pâtes levurées.

Tableau 4.2.7 : Indices mesurés avec le consistographe.

	Pâte non levurée	Pâte levurée	Différence significative
Prmax (mbar)	1456 ± 153	1652 ± 151	Oui
TPrmax (s)	242 ± 10	211 ± 59	-
D_{250} (mbar)	89 ± 89	94 ± 175	-
D_{450} (mbar)	422 ± 156	580 ± 219	-
Tolérance (s)	153 ± 89	177 ± 62	-
Pr_{480} (mbar)	984 ± 55	980 ± 62	-
Pr_{960} (mbar)	830 ± 49	801 ± 21	-

Si le pétrin est réglé à la vitesse de 60 RPM, le pétrissage dure alors 8 minutes. Réaliser un pétrissage de 16 minutes implique un arrêt de la machine après 8 minutes de mélange, puis son redémarrage pour un nouveau cycle de 8 minutes. L'arrêt de la rotation du bras de pétrin conduit à une chute brutale de la pression qui est visible sur les courbes de pression à 480 secondes (Figure 4.2.23). La reprise du pétrissage correspond à l'augmentation brusque de la pression immédiatement après 480 secondes.

L'évolution de la pression exercée par la pâte sur le capteur du consistographe au cours du pétrissage, indique, qu'entre 0 à 360 secondes, la pression exercée par une pâte levurée est plus élevée que celle exercée par une pâte non levurée (Figure 4.2.23). La DRT de la pâte levurée (Figure 4.2.24) montre que le plus fort effet de la levure sèche sur la pression, par rapport à la pâte non levurée, se situe à environ 60 secondes de pétrissage. Au-delà de ce temps, l'effet de la levure sur la pression diminue de manière continue jusqu'à ne plus être significatif à partir de 330 secondes et ce, jusqu'à la fin du pétrissage quelle que soit sa durée (DRT < 0,05).

Les indices classiques mesurés au moyen du consistographe (Tableau 4.2.7) montrent que la présence de levure sèche dans la pâte :

- augmente la pression maximale exercée par la pâte sur le capteur (Pr_{max}) sans modifier le moment auquel apparaît ce maximum (TPr_{max}) ;
- n'a pas d'impact sur la diminution de pression par rapport à Pr_{max} après 250 secondes et 450 secondes de pétrissage (D_{250} et D_{450}) ;
- ne modifie pas la tolérance au surpétrissage de la pâte ;
- ne modifie pas la pression en fin de pétrissage après 8 ou 16 minutes de pétrissage (Pr_{480} et Pr_{960}).

La différence de pression en début de pétrissage entre les pâtes levurées et non levurées pourrait être due au fait que l'ajout de levure sèche augmente la teneur en matière sèche de la pâte par rapport aux pâtes levurées. Cependant, la comparaison des taux d'hydratation des pâtes indique qu'ils peuvent être considérés comme identiques pour les deux types de pâtes (Tableau 4.2.8).
On peut également supposer que l'augmentation du Pr_{max} est due à la cinétique d'hydratation des composants de la pâte et notamment de la levure.

Tableau 4.2.8 : Formulation et hydratation des pâtes, levurées ou non, pétries au consistographe.

	Quantité (g)	Quantité d'eau contenue (g)	Quantité de matière sèche contenue (g)	Hydratation eau / masse totale (%)
Farine	258,4	37,3	221,1	14,5
Eau	155	155	0	100
Levure	2,6	0,1	2,5	5,0
Sel	4,7	0,0	4,7	0,0
Total (pâte non levurée)	418,0	192,3	225,7	46,0
Total (pâte levurée)	420,6	192,4	228,3	45,7

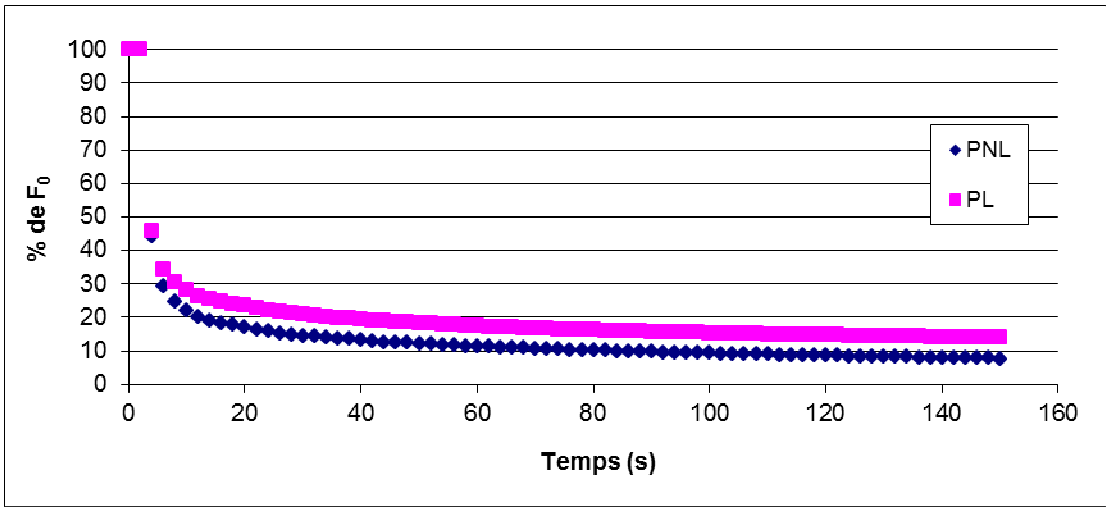


Figure 4.2.25 : Evolution de $F_{normalisé}$ au cours de la phase de relaxation d'échantillons de pâtes levurées ou non.

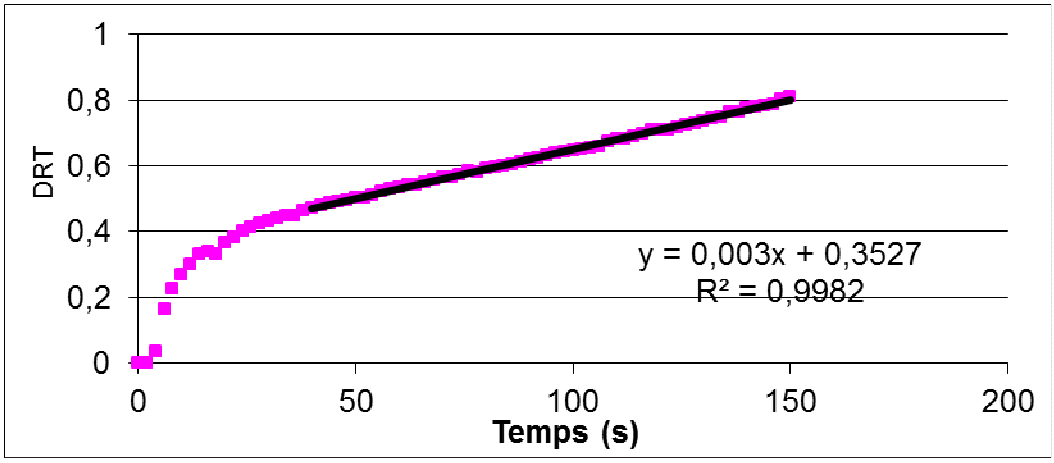


Figure 4.2.26 : DRT de $F_{normalisé}$ au cours de la phase de relaxation d'échantillons de pâtes levurées.

L'hydratation de la levure devant être prioritaire, il y aurait donc moins d'eau pour hydrater les pentosanes, l'amidon endommagé et les protéines provoquant une augmentation temporaire de la pression par rapport à une pâte non levurée. Il y aurait donc un retard de l'effet plastifiant de l'eau en début de pétrissage. Une fois que la levure et la farine ont été convenablement hydratées, la différence de pression entre les deux formulations s'amenuise.
Ces résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par Dubat *et al.* (1997) qui montrent que l'ajout de levure pressée (donc plus hydratée que la farine) n'a pas impact sur la tolérance et les D_{250} et D_{450}. Le seul effet significatif de la levure concernait le Pr_{max} qui diminuait car la levure pressée apporte de l'eau et accélère l'hydratation de la farine, donnant une pâte moins ferme qu'une pâte non levurée.

4.2.2.2 Test de compression-relaxation après pétrissage au sitoxygraphe :

La comparaison des phases de relaxation normalisées (Figure 4.2.25) permet de constater que la force de réponse à la déformation des échantillons est systématiquement plus élevée pour les pâtes levurées que pour les pâtes non levurées. Le calcul de la Différence Relative par rapport au Témoin (Figure 4.2.26) permet de suivre l'évolution de la différence de réponse entre les pâtes levurées et les pâtes non levurées. La DRT des pâtes levurées est supérieure à celles des pâtes non levurées, dès les premières secondes de la phase de relaxation et augmente linéairement entre 40 et 150 s de relaxation jusqu'à atteindre la valeur de 0,8 en fin de mesure, soit une augmentation de 80 % de la fermeté des pâtes suite à une déformation biaxiale due à la présence de levure.

Les pâtes levurées ont un indice de relaxation significativement plus élevé que les pâtes non levurées (Tableau 4.2.9), les pâtes levurées sont donc plus élastiques. En revanche, aucun effet de la levure n'est observé sur la force maximale de compression (F_0).
L'analyse de l'indice de comportement visqueux ainsi que celui de la constante de vitesse de relaxation (Tableau 4.2.10) issus de la modélisation des phases de relaxation donnée par l'équation de Launay (*Davidou et al.*, 2008) montre que $1/\alpha$ diminue significativement en présence de levure, les pâtes levurées sont donc moins visqueuses que les pâtes non levurées. En revanche, aucun effet significatif n'est observé sur l'indice k.

Tableau 4.2.9 : Analyse statistique des IR et F_0 d'échantillons de pâtes levurées ou non.

	IR (%)	Groupes significatifs	F_0 (N)	Groupes significatifs
PNL	92 ± 2	A	5,95 ± 1	A
PL	87 ± 4	B	6,04 ± 1	A

Tableau 4.2.10 : Analyse statistique de 1/α et k d'échantillons de pâtes levurées ou non.

	Indice de comportement visqueux (1/α)	Groupes significatifs	Constante de vitesse de relaxation (s^{-1})	Groupes significatifs
PNL	0,39 ± 0,05	A	0,34 ± 0,08	A
PL	0,30 ± 0,07	B	0,37 ± 0,16	A

On déduit de ces études rhéologiques que l'ajout de levure sèche dans la pâte augmente la consistance maximale de la pâte en début de pétrissage au consistographe, mais n'a pas d'effet au-delà de 360 s de pétrissage.

L'analyse au texturomètre confirme ce résultat en montrant que les forces maximales de compression sont identiques pour des pâtes levurées et non levurées. En revanche, la présence de levure augmente l'élasticité et diminue la viscosité de la pâte une fois les pâtons laminés et reposés.

Conclusion

L'ajout de levure sèche (1 %) a des conséquences biochimiques et rhéologiques sur la pâte. D'après l'analyse des consommations d'oxygène au cours du pétrissage, on constate que la présence de levure augmente la consommation d'oxygène de la pâte pour alimenter son métabolisme aérobie. Au cours du pétrissage, la levure respire et fermente et au début du pétrissage, le métabolisme respiratoire est supérieur au métabolisme fermentaire. En fin de pétrissage, la respiratin diminue et la production de CO_2 par le métabolisme respiratoire de la levure ne représente plus que 1/6 de la production totale de gaz carbonique au cours du premier pétrissage, le reste est issu du métabolisme fermentaire.

Cette utilisation de l'oxygène, au cours du pétrissage, par la levure ralentit l'oxydation des acides gras polyinsaturés libres et la cooxydation des pigments caroténoïdes par la LOX de blé. Cependant, l'effet de la levure sur ces réactions d'oxydoréduction s'estompe lorsque le pétrissage se prolonge.

Cette compétition, au cours des 8 premières minutes du pétrissage, entre la levure et la LOX de blé, ainsi que la libération potentielle de GSH par la levure, ont un effet sur les pontages protéiques puisque moins de protéines de haut poids moléculaire (F1 et F2), responsables de la formation du réseau de gluten, sont formées. Mais, comme pour l'oxydation des AG libres oxydables, lorsque le pétrissage se prolonge, l'effet de la levure s'estompe.

Cependant, l'impact biochimique de la levure sur la pâte ne reflète pas les conséquences rhéologiques puisque, hormis un gain de fermeté au début du pétrissage, les indices mesurés avec le consistographe ne montrent pas d'effet de la levure. On remarque même, grâce au test de compression-relaxation, un gain de fermeté et d'élasticité après le pétrissage qui pourrait être dû à l'hydratation des paillettes de levure qui se ferait aux dépens de l'hydratation de la farine.

Tableau 4.3.1.1 : Consommation d'O_2 des pâtes au cours de pétrissages réalisés à l'aide du sitoxygraphe.

Formulation des pâtes	O_2 consommé par la pâte (µmol.g^{-1} de farine sèche)			
Temps de pétrissage (s)	240	480	720	900
PNL	$0,51_{\pm 0,18}$	$2,35_{\pm 0,14}$	$3,39_{\pm 0,08}$	$3,95_{\pm 0,08}$
PNL + GOX	$0,65_{\pm 0,24}$	$2,66_{\pm 0,04}$	$3,89_{\pm 0,06}$	$4,47_{\pm 0,02}$
PNL + Gluc + GOX	$0,78_{\pm 0,12}$	$2,95_{\pm 0,22}$	$4,70_{\pm 0,06}$	$5,58_{\pm 0,26}$
PL	$0,73_{\pm 0,08}$	$2,63_{\pm 0,16}$	$4,07_{\pm 0,34}$	$4,89_{\pm 0,32}$
PL + GOX	$0,84_{\pm 0,02}$	$2,97_{\pm 0,18}$	$4,63_{\pm 0,10}$	$5,59_{\pm 0,32}$
PL + Gluc + GOX	$0,99_{\pm 0,02}$	$3,31_{\pm 0,18}$	$5,04_{\pm 0,28}$	$6,01_{\pm 0,14}$

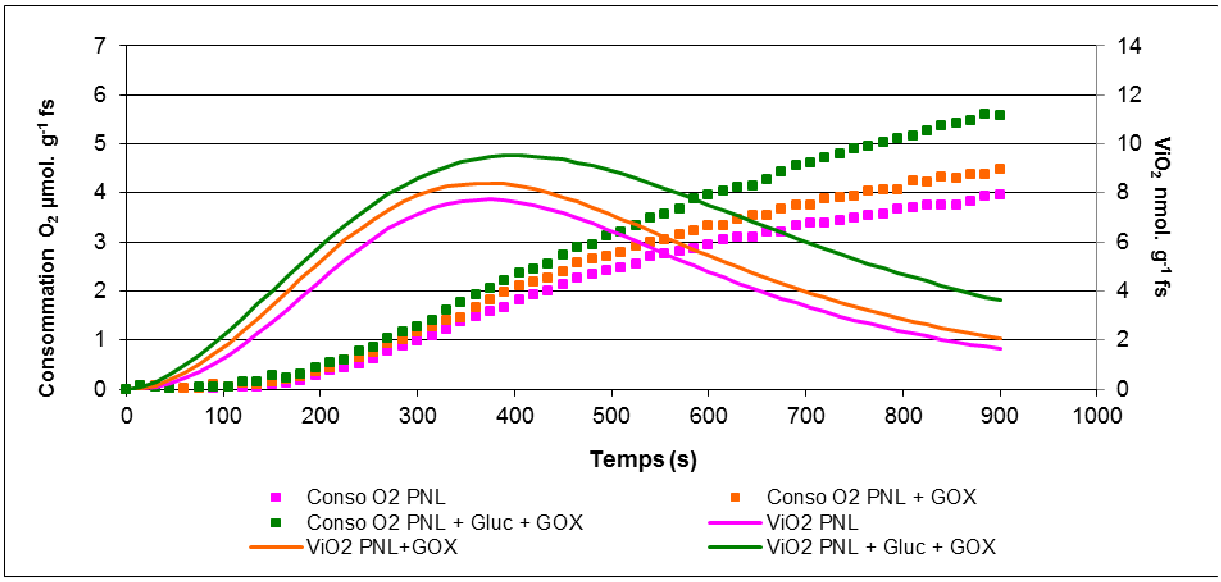


Figure 4.3.1.1 : Effet de l'ajout de GOX avec ou sans glucose sur les consommations et les vitesses instantanées de consommation d'O_2 de pâtes non levurées.

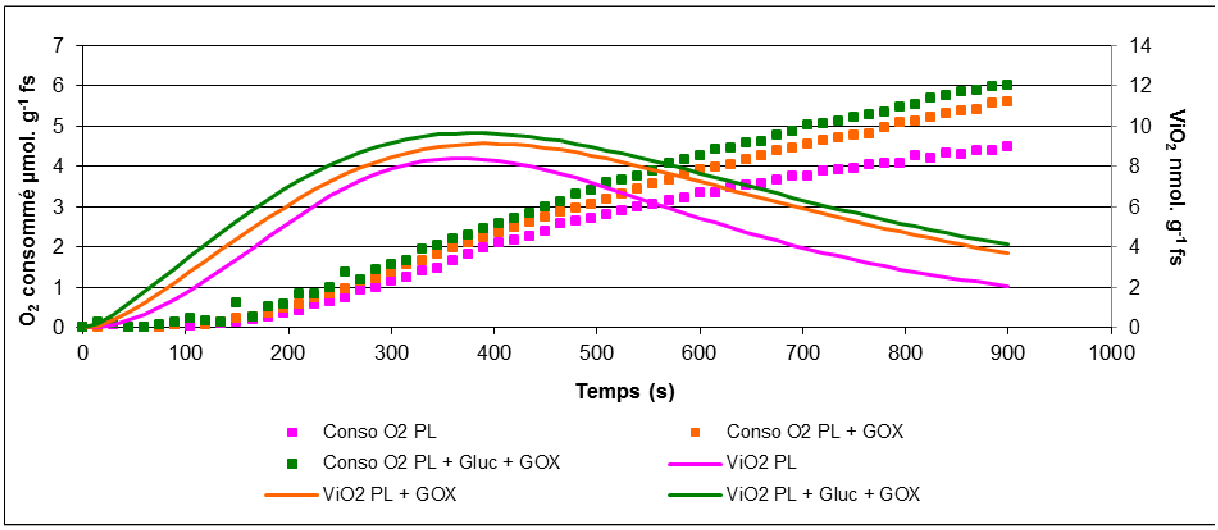


Figure 4.3.1.2 : Effet de l'ajout de GOX avec ou sans glucose sur les consommations et les vitesses instantanées de consommation d'O_2 de pâtes levurées.

4.3 Impact d'ingrédients et d'auxilières de fabrication sur les caractéristiques biophysicochimiques des pâtes non levurées et levurées

4.3.1 Effet des oses oxydases sur les caractéristiques des pâtes de farine de blé

Introduction

Outre le système lipoxygénasique endogène de la farine et la levure, un autre système consommateur d'oxygène est étudié, la glucose oxydase exogène. Nous avons conçu une série d'expérimentations basée sur l'utilisation d'une farine témoin, levurée ou non, à laquelle a été ajoutée une dose unique de 15,6 µkat de GOX d'*Aspergillus Niger* conformément aux recommandations des fournisseurs. De plus, et afin de mieux exprimer son activité, chaque fois que la GOX a été utilisée, nous l'avons ajoutée seule ou en présence de son substrat, le glucose (1,8 g pour 100 g de farine humide soit 11,7 µmol.g^{-1} de fs). L'objectif de ce chapitre est d'étudier les compétitions entre les systèmes endogènes, la levure et la GOX (additionnée ou non de glucose) sur l'utilisation de l'O_2 et leurs conséquences sur les caractéristiques des pâtes.

4.3.1.1. Effet sur les consommations d'O_2 des pâtes

a) Pâtes non levurées

L'ajout de GOX à une pâte non levurée accroît significativement la consommation d'O_2 à partir de 240 s de pétrissage (Tableau 4.3.1.1). En fin de pétrissage, la surconsommation est de 0,52 µmol.g^{-1} de fs par rapport à la pâte témoin non levurée (Figure 4.3.1.1, Tableau 4.3.1.1). Lorsque du glucose est ajouté à la pâte (1,8 g pour 100 g de farine humide) l'effet de la GOX sur la consommation globale d'O_2 est amplifié puisque la pâte consomme 1,63 µmol.g^{-1} de fs d'O_2 de plus par rapport à la pâte témoin. On en déduit que la conentration de glucose dans la phase aqueuse de la pâte est un facteur limitant de l'activité de la GOX.

L'addition de GOX accroît évidemment la vitesse instantanée de consommation d'O_2 qui est supérieure à celle de la pâte témoin à tout instant (Figure 4.3.1.2). L'effet de la GOX sur les ViO_2 est renforcé par l'ajout de glucose à la pâte. Les ViO_{2max} apparaissent entre 375 et 405 s de pétrissage et augmentent en raison de la présence de GOX dans la pâte. Nous avons par ailleurs observé qu'à la fin du pétrissage, la pâte avec glucose et GOX et sans levure avait perdu toute cohésion et était devenue collante. Il est probable que la production importante d'H_2O_2 associée à la présence de glucose (moins de 2 % du glucose ajouté a été oxydé à l'issue du pétrissage) soit responsable de la déstructuration de la pâte en suroxydant les protéines du gluten mais également les arabinoxylanes.

Tableau 4.3.1.2 : Temps d'apparition et valeur des vitesses maximales de consommation d'O_2.

	PNL	PNL + GOX	PNL + Gluc + GOX	PL	PL + GOX	PL + Gluc + GOX
$ViO_{2\,max}$ ($nmol.s^{-1}.g^{-1}$ fs)	7,73	8,41	9,52	8,05	9,14	9,66
$t_{ViO2\,max}$ (s)	375	405	375	390	375	390

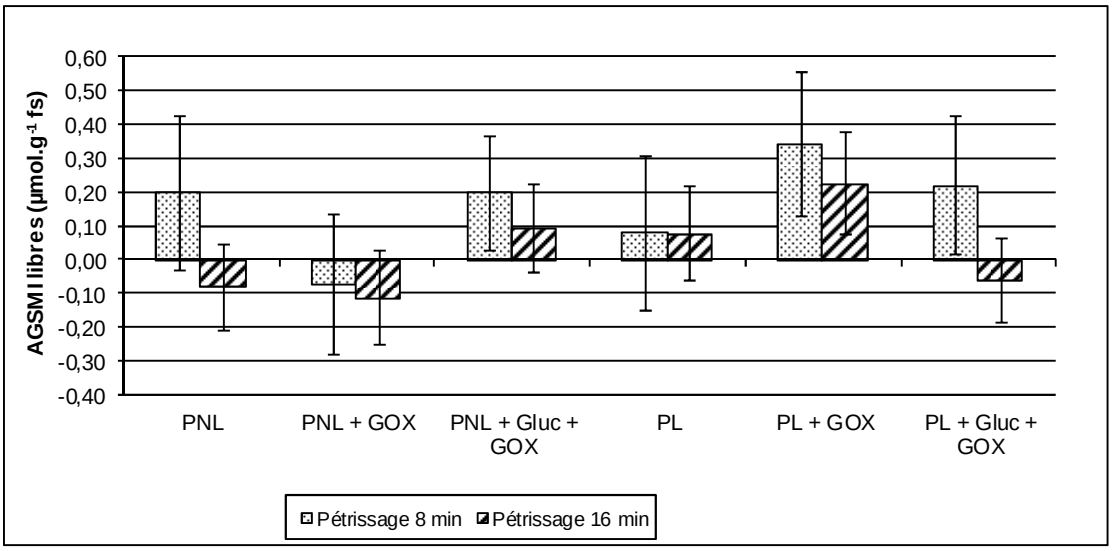


Figure 4.3.1.3 : Différence entre la teneur en AGSMI libres des pâtes pétries 8 ou 16 min et celle de la farine (1,84 µmol.g^{-1} fs).

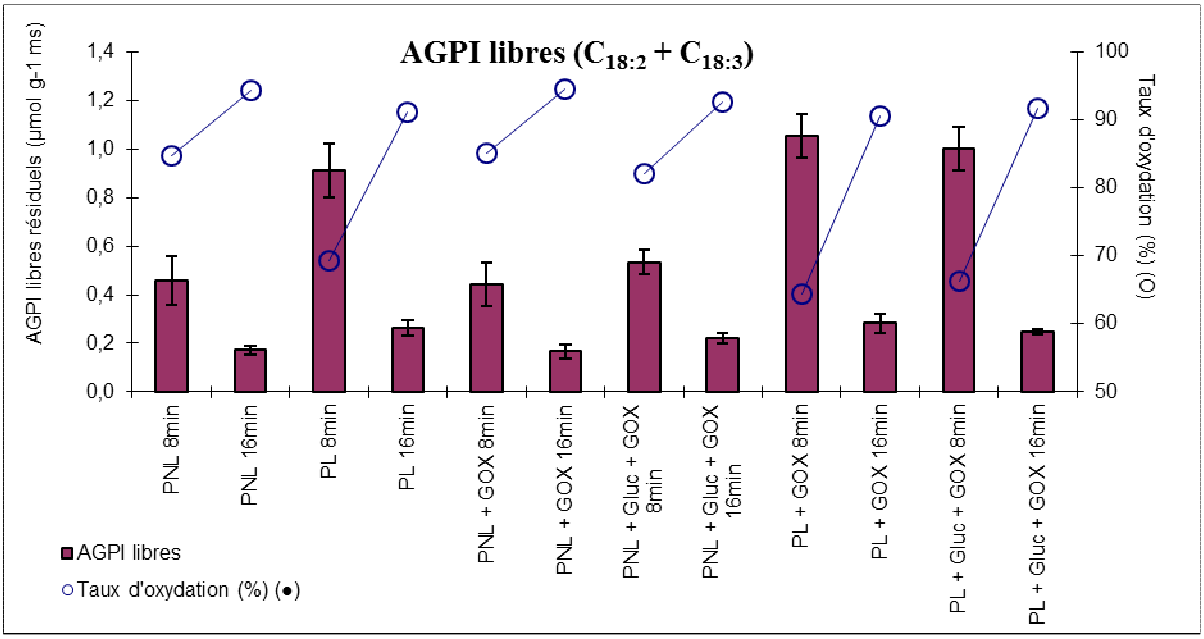


Figure 4.3.1.4 : Teneurs et taux d'oxydation des AGPI libres ($C_{18:2}$, $C_{18:3}$) de pâtes, levurées ou non, et additionnées ou non de glucose et de GOX. La teneur en AGPI libres de la farine est égale à 2,97 ± 0,3 µmol.g^{-1} de fs).

b) Pâtes levurées

La présence de levure dans la pâte se traduit par une augmentation de la consommation totale d'O_2 de 0,94 µmol.g^{-1} ms (Figure 4.3.1.2, Tableau 4.3.1.1) ainsi que de celle de la ViO_{2max} de 0,32 nmol.s^{-1}.g^{-1} ms par rapport à la pâte témoin non levurée, ce qui confirme les résultats du chapitre précédent. L'effet de la levure sur les pâtes est significatif dès 240 s de pétrissage (Tableau 4.3.1.1). En fin de pétrissage, l'ajout de GOX à une pâte levurée accroît la consommation d'oxygène de 0,70 µmol.g^{-1} de fs et la ViO_{2max} augmente de 1,09 nmol.s^{-1}.g^{-1} par rapport à la pâte témoin levurée (Tableau 4.3.1.2). La quantité d'O_2 consommée est significativement plus élevée dans une pâte levurée (0,70 µmol.g^{-1} de fs) que dans une pâte non levurée (0,52 µmol.g^{-1} de fs). Malgré la compétition pour l'oxygène entre la levure et la GOX, il apparait que la levure favorise la consommation d'O_2 par la GOX. Il est possible que la levure, par son activité invertasique, alimente la GOX en glucose, augmentant ainsi la consommation d'oxygène due à la GOX. Cet effet de la levure sur l'activité de la GOX a également été observé expérimentalement dans un milieu simplifié comportant un extrait aqueux de farine de la levure et la GOX (Bertrand, communication personnelle). Mesurée par polarographie, la consommation d'O_2 dans un extrait aqueux de farine contenant de la GOX est plus importante lorsque ce dernier est supplémenté par de la levure.

L'ajout de GOX et de glucose à une pâte levurée augmente la consommation d'O_2 de 1,12 µmol.g^{-1} de fs en fin de pétrissage (Tableau 4.3.1.1). La combinaison glucose-GOX surconsomme donc globalement moins d'O_2 dans une pâte levurée (1,12 µmol.g^{-1} de fs) que dans une pâte non levurée (1,63 µmol.g^{-1} de fs). Dans ce cas, il est probable que l'ajout de glucose accroisse le métabolisme de la levure ce qui diminue d'autant la part d'oxygène utilisée par la GOX pour produire H_2O_2. Cette hypothèse est confortée par l'observation de la pâte en fin de pétrissage. En effet, la perte de cohésion et le collant des pâtes contenant de la GOX et du glucose ne sont plus observés lorsqu'elles sont pétries en présence de levure.

4.3.1.2. Effet sur l'oxydation des lipides (AGPI libres) et des pigments caroténoïdes

a) AGPI libres

L'ajout de levure, de GOX ou de glucose avec de la GOX ne modifie pas les quantités d'AGSMI ($C_{16:0}$, $C_{18:0}$ et $C_{18:1}$) libres extraits des échantillons de pâtes (Figure 4.3.1.3). Quelles que soient les formulations, l'oxydation des AGPI libres ($C_{18:2}$ et $C_{18:3}$) par la LOX de blé augmente avec la durée de pétrissage des pâtes (Figure 4.3.1.4).

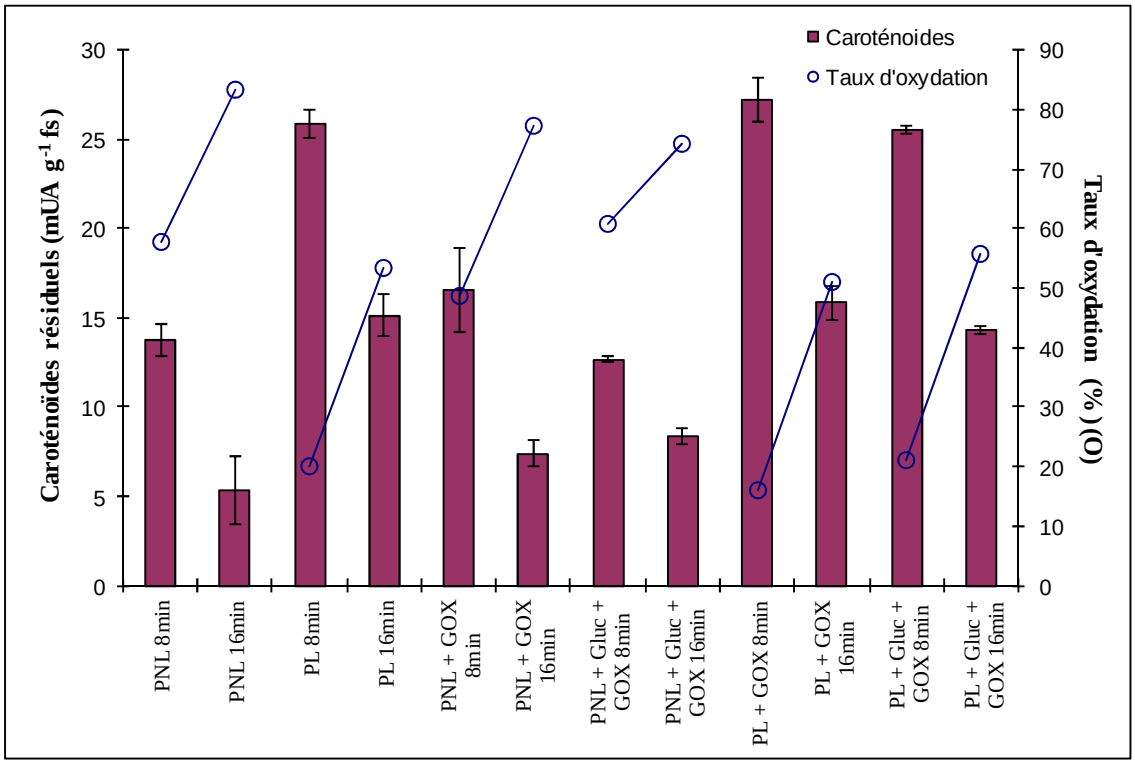


Figure 4.3.1.5 : Teneurs et taux d'oxydation des pigments caroténoïdes ($C_{18:2}$, $C_{18:3}$) de pâtes, levurées ou non, et additionnées ou non de glucose et de GOX. La teneur en pigments caroténoïdes de la farine est égale à 32,3 ± 1,3 mUA.g^{-1} de fs.

En effet, le taux d'oxydation des AGPI libres varie de 65 à 85 % après 8 min de pétrissage et de 90 à 94 % après 16 min de pétrissage.

Après 8 min de pétrissage, la présence de levure dans la pâte diminue l'oxydation des AGPI libres des pâtes puisque suite à l'ajout de cette dernière, leurs taux d'oxydation diminuent de 15, 20 et 16 % dans les pâtes témoins, additionnées de GOX et additionnées de GOX et de glucose, respectivement. Cet effet attribué à des compétitions pour l'oxygène entre LOX et levure s'estompe évidemment avec la durée de pétrissage puisque les taux d'oxydation sont tous supérieurs à 90 %.

La présence de GOX n'a pas d'effet significatif sur l'oxydation des lipides substrat de la LOX de blé quelle que soit la durée de pétrissage et la présence ou non de levure. Seule une diminution du taux d'oxydation est observée après 16 min de pétrissage sur la pâte additionnée de GOX et glucose par rapport à la pâte témoin. Il est probable que, dans nos conditions expérimentales, l'H_2O_2 produit par la GOX soit sans effet sur l'activité LOX. Dès lors, le surplus d'oxygène consommé après addition de GOX peut être considéré comme représentatif de la part d'oxygène utilisée par cette enzyme pour oxyder le glucose et peut servir de base pour calculer la quantité d'H_2O_2 produite pendant le pétrissage.

Malgré la compétition pour l'oxygène entre la levure et la GOX, il apparaît que la levure favorise la consommation d'O_2 par la GOX. Il est possible que la levure par son activité invertasique, alimentant la GOX en glucose, augmente ainsi la consommation d'oxygène due à la GOX.

b) Pigments caroténoïdes

Comme pour l'oxydation des AGPI libres, le taux d'oxydation des pigments caroténoïdes augmente avec la durée de pétrissage puisque ce dernier varie de 16 à 61 % (valeur moyenne = 37 %) après 8 min de pétrissage et de 51 à 83 % (valeur moyenne = 66 %) après 16 min de pétrissage (Figure 4.3.1.5). La levure a un net effet protecteur sur l'oxydation des pigments caroténoïdes. Après 8 min de pétrissage, les taux moyens d'oxydation sont de 56 % en absence de levure et de 17 % en sa présence. Après 16 min de pétrissage, ces taux moyens passent respectivement à 77 et 53 %. En revanche, l'ajout de GOX, seule ou avec du glucose n'a pas d'effet significatif sur l'oxydation des pigments caroténoïdes.

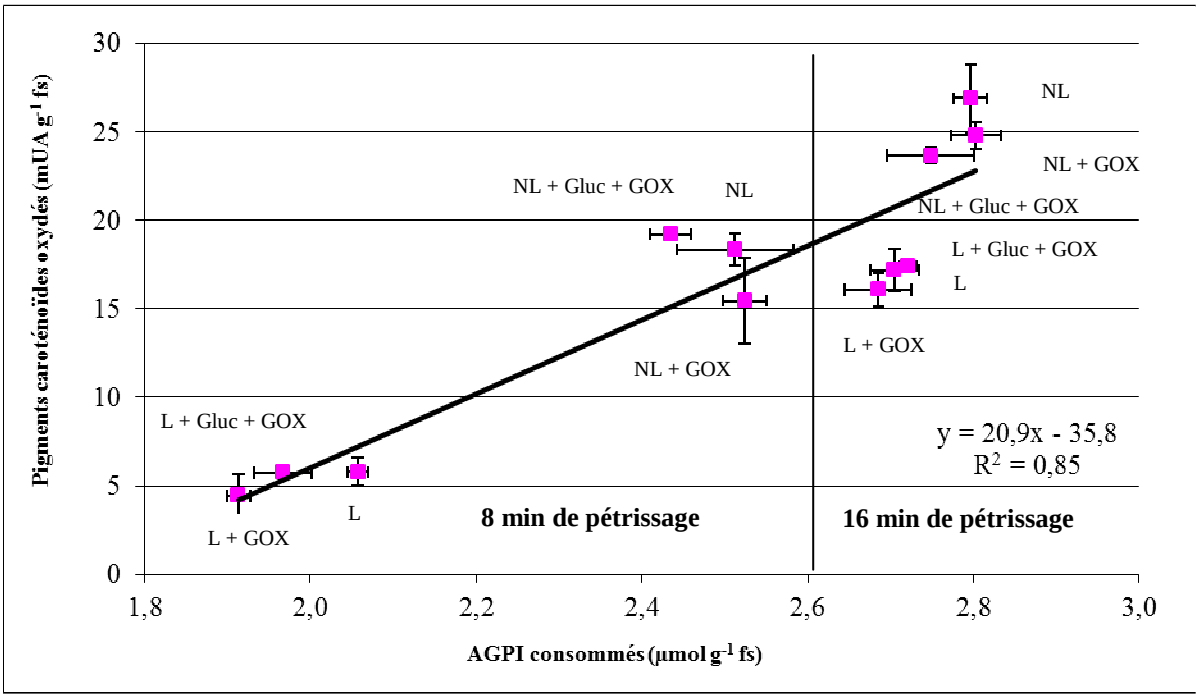


Figure 4.3.1.6 : Corrélation entre la quantité d'AGPI et de pigments carroténoïdes oxydés suite à 8 ou 16 min de pétrissage réalisé au consistographe.

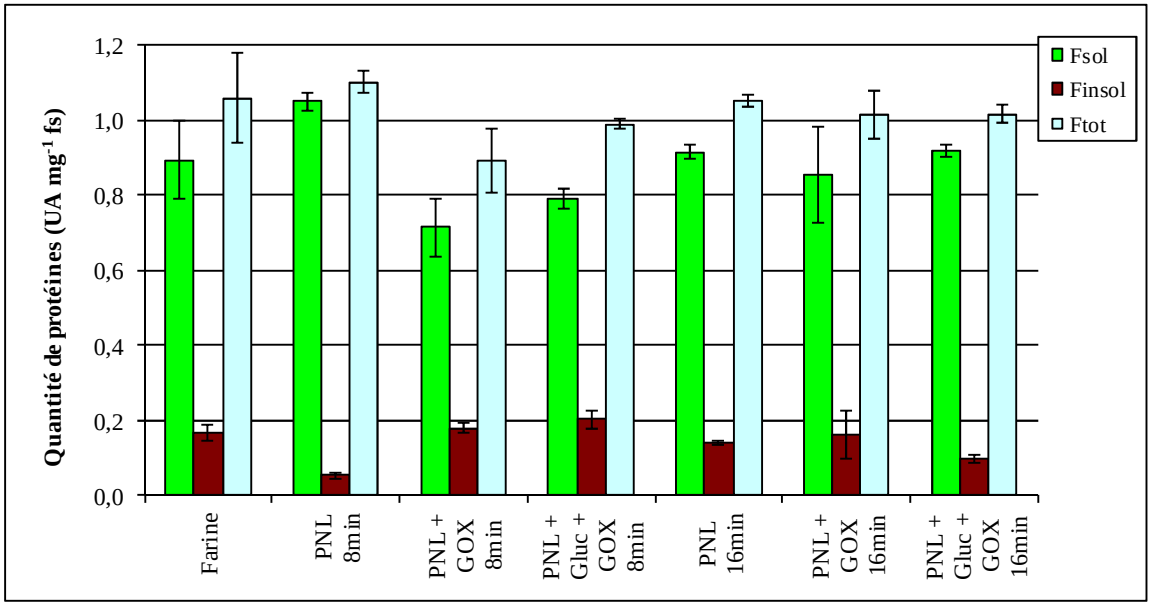


Figure 4.3.1.7 : Teneurs en protéines des pâtes non levurées additionnées ou non de GOX et de glucose.

Une excellente corrélation est observée entre les quantités disparues d'AGPI libres et de pigments caroténoïdes (Figure 4.3.1.6). Il faut cependant noter que dans la 2e partie du pétrissage entre 8 et 16 min, les pertes supplémentaires sont proportionnellement plus importantes pour les pigments caroténoïdes que pour les AGPI libres.

4.3.1.3. Effet du système GOX / glucose sur le profil protéique de pâtes levurées ou non

4.3.1.3.1. Pâtes non levurées

a) Protéines totales et répartition protéines solubles / protéines insolubles

Comparée à la farine, la quantité totale de protéines extraites n'est pas influencée par la durée de pétrissage qu'il soit réalisé avec ou sans glucose à l'exception de 8 min de pétrissage en présence de GOX seule (Figure 4.3.1.7). Dans ce dernier cas, une diminution de 16 % de la quantité extraite est observée. Comparée à la pâte témoin et après 8 min de pétrissage, la présence de GOX avec ou sans glucose se traduit par une diminution de près de 20 % pour celle en présence de GOX seule et de 10 % pour celle avec GOX et glucose. Après 16 min de pétrissage, ces différences ont disparu.

Comparées à la farine et après 8 min de pétrissage, en ce qui concerne la fraction des protéines solubles, la pâte témoin est plus riche et les pâtes avec GOX (avec ou sans glucose) sont nettement moins riches. Aucune différence significative n'est observée après 16 min de pétrissage. En ce qui concerne la fraction des protéines insolubles et après 8 min de pétrissage, la pâte témoin est moins riche alors que les pâtes avec GOX sont plus riches et là encore, les différences s'estompent après 16 min de pétrissage.

Les différences sont plus importantes lorsque les pâtes témoins sont utilisées comme base de comparaison. Dans ce cas, toutes les pâtes sont moins riches en protéines solubles, en particulier après 8 min de pétrissage en présence de GOX. Une différence en sens inverse est observée pour les protéines insolubles.

De ces dernières observations, il résulte que par rapport à la pâte témoin après 8 min de pétrissage, le ratio protéines insolubles / protéines solubles est fortement augmenté pour les pâtes contenant de la GOX (avec ou sans glucose) et que cette différence disparaît après 16 min de pétrissage (Figure 4.3.1.8).

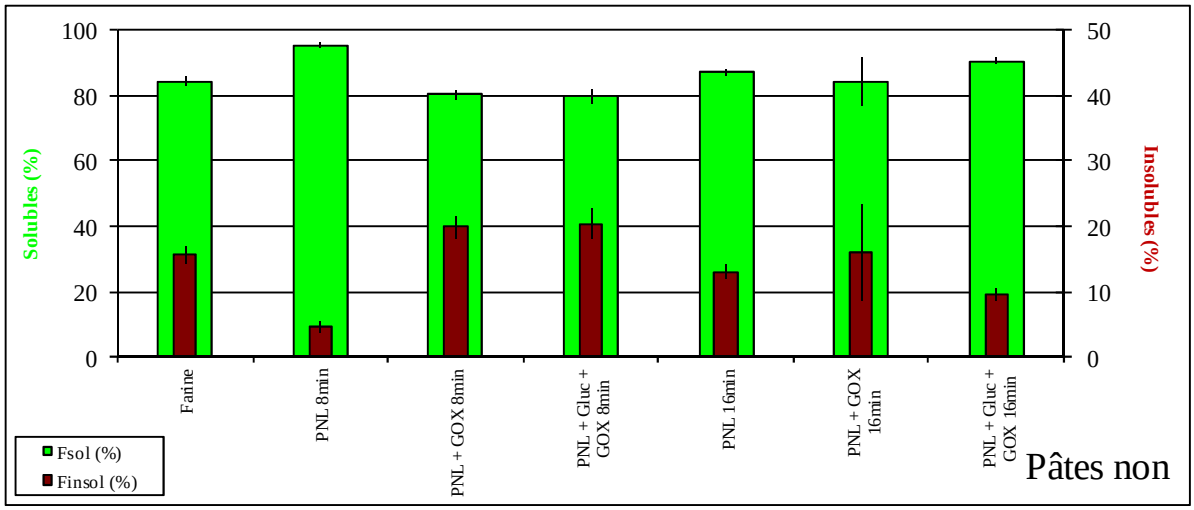


Figure 4.3.1.8 : Répartition entre protéines solubles et insolubles extraites des pâtes non levurées additionnées ou non de GOX et de glucose.

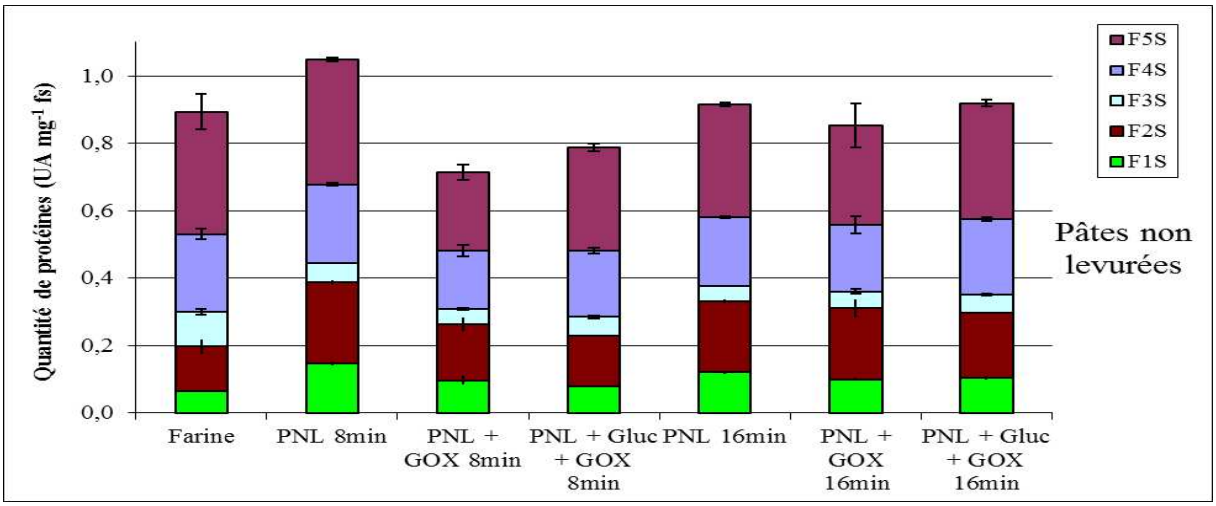


Figure 4.3.1.9 : Répartition des protéines solubles extraites des pâtes non levurées, additionnées ou non de GOX et de glucose, en fonction de leur encombrement stérique.

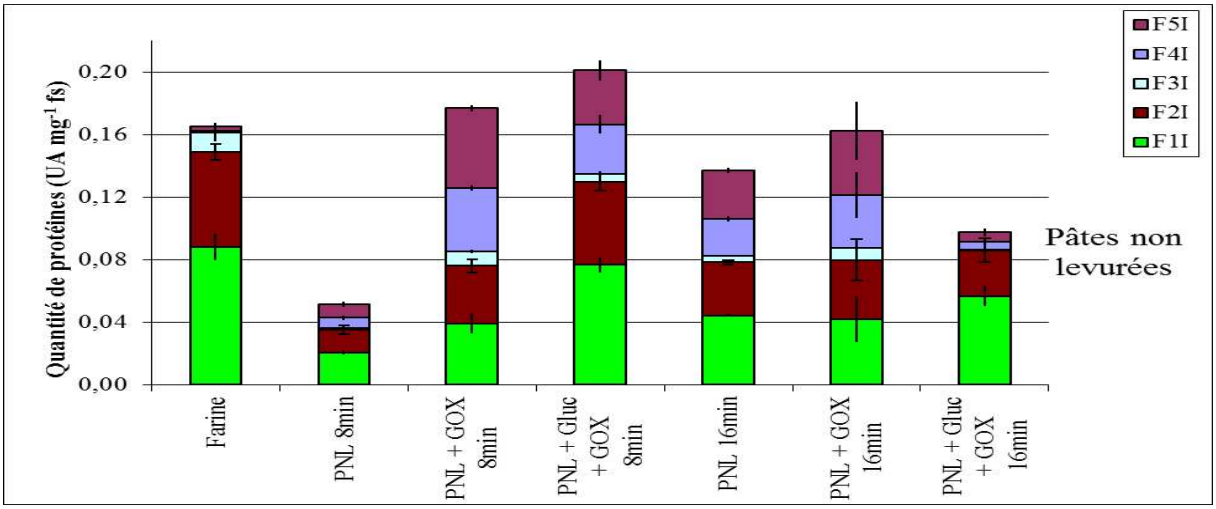


Figure 4.3.1.10 : Répartition des protéines insolubles extraites des pâtes non levurées, additionnées ou non de GOX et de glucose, en fonction de leur encombrement stérique.

b) Fractions protéiques solubles (de F1S à F5S) et fractions protéiques insolubles (de F1I à F5I)

Par rapport à la farine, les fractions F1S et F2S augmentent fortement dans les pâtes témoins (quasi doublement) après 8 min de pétrissage et moins fortement après 16 min de pétrissage (Figure 4.3.1.9). La fraction F3S diminue de près de 50 % dans cette pâte alors que les fractions F4S et F5S ne sont pas significativement affectées par le pétrissage.

Par rapport à la pâte témoin et après 8 min de pétrissage, l'ajout de GOX (avec ou sans glucose) provoque une diminution de près de 35 % de la fraction F1S et de 30 % de la fraction F2S, est sans effet sur la fraction F3S et diminue F4S et F5S.

En présence de glucose, F1S et F2S diminuent encore plus (- 43 et - 37 % respectivement) alors que les autres fractions augmentent légèrement. Après 16 min de pétrissage, il n'y a plus de différences significatives dues à l'ajout de GOX avec ou sans glucose.

Par rapport à la farine, l'ensemble des fractions insolubles de la pâte témoin diminuent fortement après 8 min de pétrissage à l'exception de F5I qui augmente (Figure 4.3.1.10). Après 16 min de pétrissage, les diminutions pour F1I, F2I et F3I sont moins importantes alors que les fractions F4I et F5I augmentent.

Par rapport à la pâte témoin et après 8 min de pétrissage, l'ajout de GOX provoque une forte augmentation de l'ensemble des fractions insolubles. L'ajout simultané de glucose augmente ces effets sur F1I et F2I mais les diminue sur les 3 autres fractions. Après 16 min de pétrissage, les écarts avec la pâte témoin sont moins importants avec la GOX seule (sauf une augmentation de F3I). L'ajout simultané de glucose provoque une augmentation de F1I et une diminution des fractions F3I, F4I et F5I.

4.3.1.3.2. Pâtes levurées

a) Protéines totales et répartition protéines solubles / protéines insolubles :

Dans les pâtes témoins, l'ajout de levure est sans effet sur le taux d'extraction des protéines totales après 8 et 16 min de pétrissage. Dans les pâtes contenant de la GOX avec ou sans glucose, l'ajout de levure provoque une nette augmentation (+ 6 et + 23 % respectivement, Figures 4.3.1.11 et 4.3.1.7) de la quantité de protéines extraites par rapport aux pâtes non levurées additionnées de GOX après 8 min de pétrissage, mais cet effet disparaît après 16 min de pétrissage.

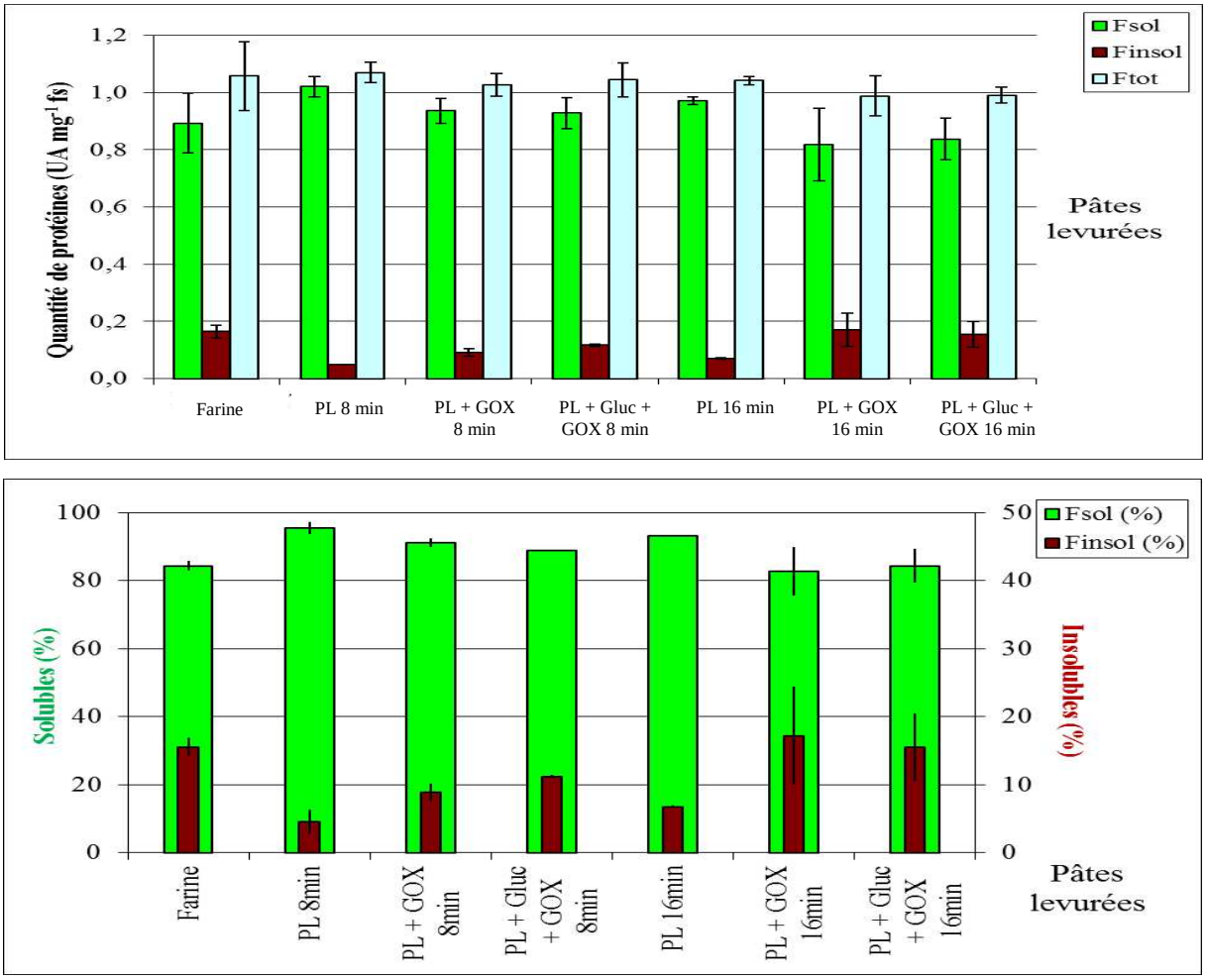


Figure 4.3.1.12 : Répartition entre protéines solubles et insolubles extraites des pâtes levurées additionnées ou non de GOX et de glucose.

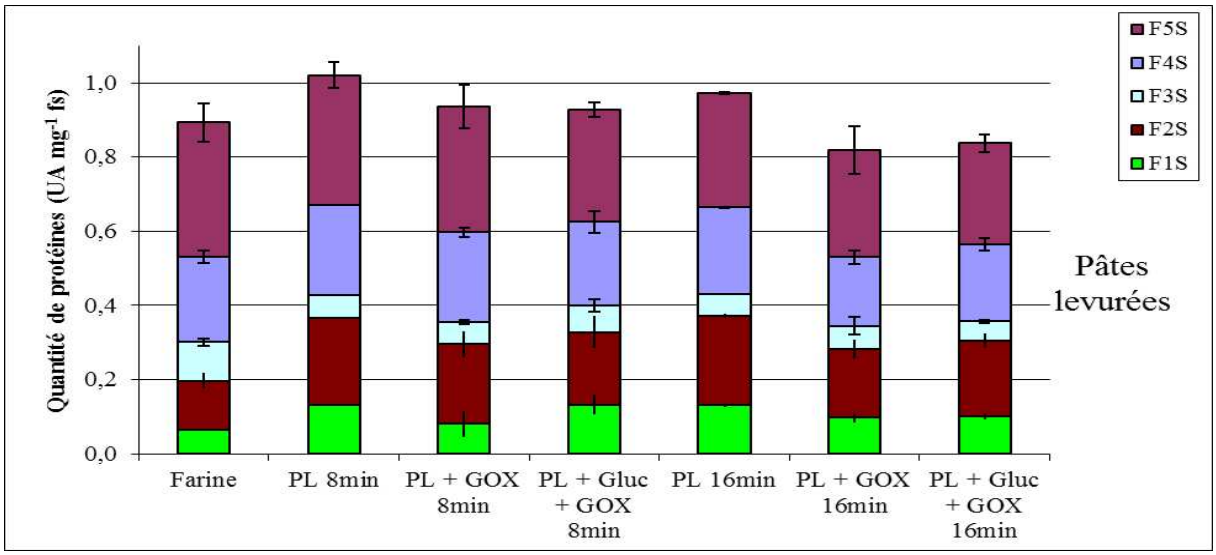


Figure 4.3.1.13 : Répartition des protéines solubles extraites des pâtes levurées, additionnées ou non de GOX et de glucose, en fonction de leur encombrement stérique.

En ce qui concerne les ratios protéines insolubles / protéines solubles dans les pâtes témoins, aucune différence due à l'ajout de levure n'est observée après 8 min de pétrissage alors qu'une augmentation apparaît après 16 min de pétrissage (Figures 4.3.1.8 et 4.3.1.12). Dans les pâtes avec GOX, l'ajout de levure diminue le ratio protéines insolubles / protéines solubles après 8 min de pétrissage avec ou sans glucose. Après 16 min de pétrissage, il est sans effet sur ce ratio avec la GOX seule et l'augmente avec la GOX en présence de glucose.

Comparée à la farine, la quantité totale de protéines extraites n'est pas modifiée par la durée de pétrissage qu'il soit réalisé avec ou sans GOX et avec ou sans glucose (Figure 4.3.1.11). Il en est évidemment de même si la base de comparaison choisie est la pâte témoin pour une durée équivalente de pétrissage. Par rapport à la farine et après 8 min de pétrissage, la quantité de protéines solubles augmente dans la pâte témoin et celle de protéines insolubles diminue. L'ajout de GOX avec ou sans glucose rapproche les quantités de protéines solubles et insolubles extraites de celles de la farine. Après 16 min de pétrissage, les différences en teneurs en protéines solubles et insolubles de la farine et des pâtes avec GOX ne sont plus significatives.

De ces observations, il résulte que par rapport à la pâte témoin levurée après 8 min de pétrissage, le ratio protéines insolubles / protéines solubles augmente dans les pâtes avec GOX (avec ou sans glucose) et que l'écart s'accroît après 16 min de pétrissage (Figure 4.3.1.12). Ce résultat est qualitativement équivalent avec les observations faites pour les pâtes non levurées. Cependant, quantitativement, les écarts sont moins importants et décalés dans le temps. En d'autres termes, l'ajout de levure dès le début de pétrissage semble ralentir l'effet de la GOX sur le ratio protéines insolubles / protéines solubles.

b) Fractions protéiques solubles (de F1S à F5S) et fractions protéiques insolubles (de F1I à F5I)

Dans les pâtes témoins, l'ajout de levure est sans effet notable sur les teneurs en fractions solubles (de F1S à F5S, Figures 4.3.1.9 et 4.3.1.13) et insolubles (de F1I à F5I, Figure 4.3.1.10 et 4.3.1.14) après 8 min de pétrissage. Après 16 min de pétrissage, une légère augmentation (de 10 à 15 %) est observée pour les fractions solubles ainsi qu'une augmentation proche de 50 % pour les fractions insolubles.

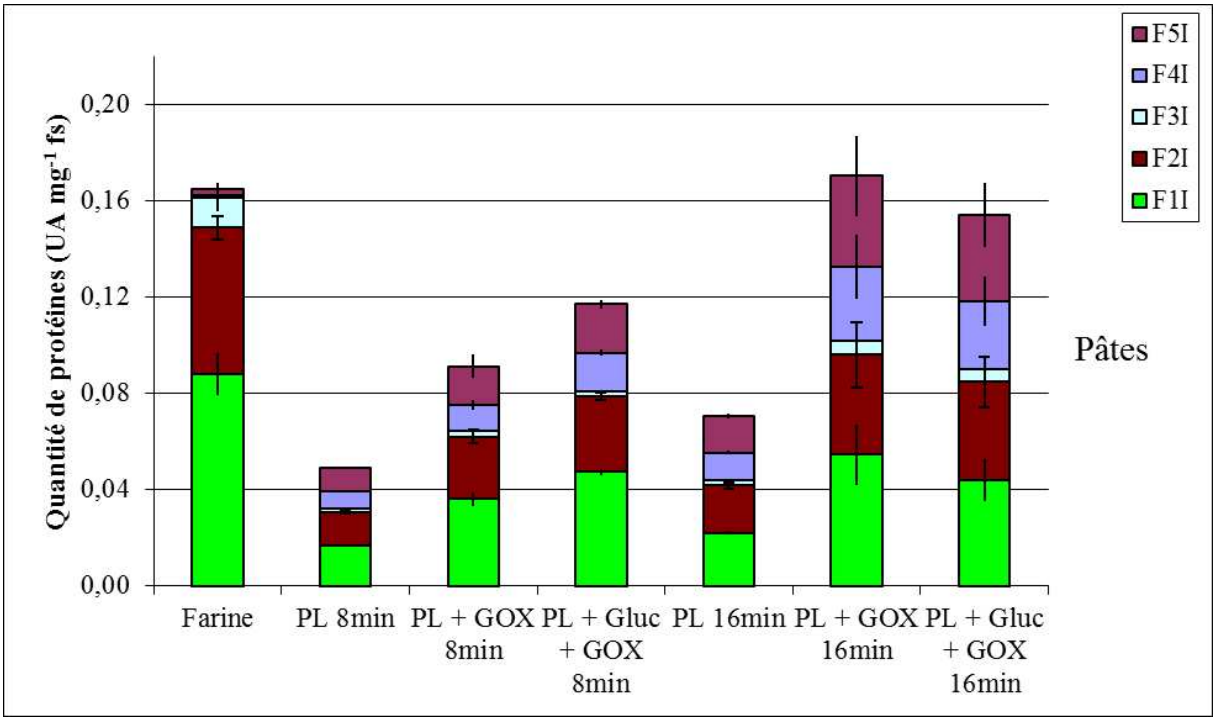


Figure 4.3.1.14 : Répartition des protéines insolubles extraites des pâtes levurées, additionnées ou non de GOX et de glucose, en fonction de leur encombrement stérique.

En présence de GOX, l'ajout de levure augmente les teneurs en fractions solubles de F2S à F5S (Figures 4.3.1.9 et 4.3.1.13) et insolubles pour F4I et F5I (Figures 4.3.1.10 et 4.3.1.14), après 8 min de pétrissage. Lorsque la durée de pétrissage augmente, les écarts en plus ou en moins ne dépassent pas 15 % pour l'ensemble des fractions solubles et insolubles.
En présence de GOX et de glucose, l'ajout de levure augmente de 40 % en moyenne les fractions F1S à F3S et diminue de 30 à 50 % l'ensemble des fractions insolubles après 8 min de pétrissage. Après 16 min de pétrissage, seules les fractions F5S et F1I diminuent (- 20 et - 30 % respectivement) alors que les autres fractions insolubles augmentent.
Par rapport à la farine et après 8 min de pétrissage, les fractions F1S et F2S sont quasiment doublées, la fraction F3S diminue de 40 % alors que les fractions F4S et F5S sont inchangées (Figure 4.3.1.13) Après 16 min de pétrissage, les résultats sont identiques.
Par rapport à la pâte témoin, les seules variations constatées après ajout de GOX concernent F1S qui diminue de 40 % après 8 min de pétrissage et F1S et F2S qui diminuent de 25 à 30 % après 16 min de pétrissage. Les autres fractions solubles sont inchangées.

Après ajout simultané de GOX et de glucose, seules les fractions F1S et F2S diminuent de plus de 20 % après 16 min de pétrissage.
Par rapport à la farine, les fractions insolubles de la pâte témoin diminuent fortement pour les fractions F1I, F2I et F3I et augmentent pour les autres fractions, après 8 et 16 min de pétrissage (Figure 4.3.1.14).
Par rapport à la pâte témoin, l'ajout de GOX avec ou sans glucose, provoque une augmentation de l'ensemble des fractions de protéines insolubles quelle que soit la durée de pétrissage à l'exception de F3I qui est inchangée après 8 min de pétrissage en présence de GOX seule.
Les quelques observations qui peuvent être tirées, sous forme de bilan, de cet ensemble de résultats concernant les changements de solubilité des protéines des pâtes induits par nos différentes conditions de pétrissage sont les suivantes :

- par rapport à la farine, le pétrissage d'une pâte témoin (avec ou sans levure) ne modifie pas la quantité totale de protéines extraites mais provoque une nette diminution du ratio protéines insolubles / protéines solubles. Cet effet diminue avec le temps de pétrissage (Voir chapitre 4.2) ;

- par rapport à la pâte témoin, l'ajout de GOX diminue l'extractibilité des protéines totales tout en augmentant fortement le ratio protéines insolubles / protéines solubles. Cet effet est moins net en présence de levure et s'estompe lorsque la durée du pétrissage augmente ;
- l'analyse des fractions de protéines solubles et insolubles montre que l'effet précédent, dû à l'addition de GOX, s'accompagne d'une diminution marquée des fractions solubles F1S et F2S (les protéines de taille élevée) et d'une augmentation de ces mêmes fractions (F1I et F2I) dans les protéines insolubles. Là encore, la durée de pétrissage et / ou la présence de levure réduisent voire annulent ces évolutions. Il est probable que ces changements de solubilité, dus à l'addition de GOX, soient liés à la production d'H_2O_2 qui active le système peroxydasique présent dans la farine. Divers mécanismes impliquant ce dernier peuvent ensuite mis en avant pour expliquer les changements observés (Figueroa-Espinoza et Rouau, 1998 ; Figueroa-Espinoza *et al.* , 1999 ; Vemulapalli et Hoseney, 1998 ; Oudgenoeg *et al.*, 2001 ; Tilley *et al.*, 2001 ; Rasiah *et al.*, 2005) tel que :
    - la création de nouvelles liaisons covalentes intermoléculaires via l'oxydation de la tyrosine (pont dityrosine) et / ou de la cystéine (pont disulfure),
    - la consommation de thiols de bas poids moléculaire qui du même coup empêcherait la déréticulation des protéines du gluten,
    - la formation de liaisons covalentes entre les protéines et les arabinoxylanes via des liaisons entre les résidus tyrosyles et / ou cystéinyles dans les protéines et les résidus féruloyles dans les arabinoxylanes,
    - l'apparition d'un gel d'arabinoxylanes (gélification oxydative) insolubles qui emprisonnerait une partie des protéines.

Il ne s'agit que d'hypothèses qui demandent à être vérifiées notamment par le dosage des résidus tyrosyles, cystéinyles et féruloyles ainsi que de leurs produits d'oxydation dans les extraits de protéines solubles et insolubles obtenus dans les différentes conditions de pétrissage.

Tableau 4.3.1.3 : Acides cinnamiques (nmol.g^{-1} fs) extraits de pâtes non levurées additionnées ou non de GOX et de glucose.

Pâtes non levurées						
BILAN AS	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	15,8	2,4	13,3	2,2	29,1	4,6
PNL 8	3,2	0,4	57,6	4,6	60,9	5,0
PNL + Gox 8	41,2	2,7	9,4	0,5	50,6	3,2
PNL + Gluc + Gox 8	1,4	0,5	3,5	2,1	4,9	2,6
PNL 16	2,6	0,1	55,1	3,3	57,6	3,4
PNL + Gox 16	33,4	2,1	2,7	3,2	36,0	5,3
PNL + Gluc + Gox 16	0,7	0,3	4,1	2,8	4,8	3,0
Bilan ApC	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	0,9	0,3	13,2	1,5	14,1	1,7
PNL 8	1,9	0,1	8,0	1,8	9,9	1,9
PNL + Gox 8	5,7	0,1	9,3	1,1	15,1	1,2
PNL + Gluc + Gox 8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PNL 16	1,9	0,0	1,5	0,7	3,4	0,7
PNL + Gox 16	1,2	0,3	2,7	0,4	3,9	0,7
PNL + Gluc + Gox 16	0	0,0	0	0,0	0,0	0,0
BILAN diFAS						
5-5'diFA	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	0,00	0,00	13,13	2,91	13,1	2,9
PNL 8	2,63	1,99	10,40	1,90	13,0	3,9
PNL + Gox 8	0,33	0,38	8,66	2,02	9,0	2,4
PNL + Gluc + Gox 8	0,35	0,19	27,76	1,32	28,1	1,5
PNL 16	4,00	0,07	12,70	1,60	16,7	1,7
PNL + Gox 16	0,25	0,14	9,53	2,23	9,8	2,4
PNL + Gluc + Gox 16	0,39	0,22	25,97	3,35	26,4	3,6
8-o-4'diFA	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	0,45	0,03	15,8	0,92	16,2	1,0
Farine	2,91	0,32	6,1	1,91	9,0	2,2
PNL 8	0,47	0,15	16,8	0,56	17,2	0,7
PNL + Gox 8	0,48	0,25	18,3	0,47	18,7	0,7
PNL + Gluc + Gox 8	2,63	0,69	8,4	2,00	11,1	2,7
PNL 16	0,80	0,51	17,7	1,84	18,5	2,3
PNL + Gox 16	0,28	0,10	21,8	0,13	22,0	0,2
8-5' BzdiFA	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	1,89	1,10	29,10	2,38	31,0	3,5
PNL 8	5,84	0,45	14,36	2,27	20,2	2,7
PNL + Gox 8	1,49	0,05	28,44	0,95	29,9	1,0
PNL + Gluc + Gox 8	1,44	0,28	29,98	1,00	31,4	1,3
PNL 16	5,13	1,23	18,85	2,40	24,0	3,6
PNL + Gox 16	1,90	1,04	29,01	2,23	30,9	3,3
PNL + Gluc + Gox 16	0,75	0,22	33,83	0,88	34,6	1,1
somme diFAs	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	2,3	1,1	58,0	6,2	60,3	7,3
PNL 8	11,4	2,8	30,8	6,1	42,2	8,8
PNL + Gox 8	2,3	0,6	53,9	3,5	56,2	4,1
PNL + Gluc + Gox 8	2,3	0,7	76,0	2,8	78,3	3,5
PNL 16	11,8	2,0	40,0	6,0	51,7	8,0
PNL + Gox 16	2,9	1,7	56,3	6,3	59,2	8,0
PNL + Gluc + Gox 16	1,4	0,5	81,6	4,4	83,0	4,9
BILAN Acide férulique	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	69,2	22,3	552	19	622	41
PNL 8	115	7,2	460	63	575	70
PNL + Gox 8	41,2	2,7	513	11	554	13
PNL + Gluc + Gox 8	23,5	4,0	410	16	433	20
PNL 16	114	1,3	475	70	589	72
PNL + Gox 16	33,4	16,1	478	20	511	36
PNL + Gluc + Gox 16	16,1	6,2	321	8	337	14
BILAN AcTotaux	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	88,2	22,3	636,9	18,9	725,1	41,2
PNL 8	131,3	7,2	556,7	9,6	688,0	16,7
PNL + Gox 8	90,5	2,7	585,8	26,3	676,2	29,0
PNL + Gluc + Gox 8	27,2	4,0	489,0	26,0	516,2	30,0
PNL 16	130,5	1,3	571,4	67,0	702,0	68,3
PNL + Gox 16	70,9	16,1	539,3	54,3	610,2	70,3
PNL + Gluc + Gox 16	18,2	6,2	406,3	10,9	424,5	17,1

4.3.1.4. Effet sur les dérivés cinnamiques contenus dans les fractions solubles et insolubles des pâtes

Dans la farine, les dérivés cinnamiques se retrouvent essentiellement dans la fraction insoluble qui contient 88 % des acides cinnamiques totaux(Tableaux 4.3.1.3 et 4.3.1.4). L'AF est majoritaire (86 % des AcT) et la somme des diAFs compte pour 8,3 % des AcT. L'ApC est très minoritaire (moins de 2 %) tandis que l'AS représente 4 % des AcT de la farine. Il en résulte que l'évolution de l'AF reflète en grande partie celle des AcT.

a) Evolution des AcT et de l'acide férulique (Tableaux 4.3.1.3 et 4.3.1.4)

Après 8 min de pétrissage, la quasi-totalité des AcT dosés dans les fractions solubles et insolubles de la farine (725 $nmol.g^{-1}$ ms) est extraite des pâtes témoins levurées ou non. Cependant, dans les pâtes témoins non levurées, la répartition est différente puisqu'une augmentation des AcT dans la fraction soluble est compensée par une diminution dans la fraction insoluble. Aucune évolution n'est observée lorsque la durée du pétrissage est portée à 16 min.

Dans les pâtes non levurées avec GOX, la teneur en AcT (et en AF) diminue simultanément dans les fractions solubles et insolubles. Cette diminution s'accroît avec la durée de pétrissage et avec la présence de glucose. Ainsi, après 16 min de pétrissage en présence de GOX et de glucose, la teneur en AF de la pâte représente moins de 55 % de celle de la farine initiale (23 % pour la fraction soluble et 58 % pour la fraction insoluble). Dans le cas des pâtes levurées en présence de GOX (avec ou sans glucose), les diminutions sont beaucoup moins marquées voire non significatives.

b) Evolution des dimères de l'acide férulique (Tableaux 4.3.1.3 et 4.3.1.4)

Dans les pâtes témoins non levurées, la teneur globale en diFA diminue par rapport à celle déterminée dans la farine avec une diminution dans la fraction insoluble non compensée par une augmentation dans la fraction soluble.

Dans les pâtes non levurées avec GOX, aucune différence n'est observée avec la GOX seule alors qu'avec la présence simultanée de glucose, un accroissement de près de 40 % apparaît. Celui-ci est dû uniquement à un accroissement dans la fraction insoluble.

Tableau 4.3.1.4 : Acides cinnamiques (nmol.g^{-1} fs) extraits de pâtes levurées additionnées ou non de GOX et de glucose.

Pâtes levurées						
BILAN AS	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	15,8	2,4	13,3	2,2	29,1	4,6
PL 8	9,5	3,0	16,3	1,6	25,8	4,6
PL + Gox 8	7,6	3,2	0,0	0,0	7,6	3,2
PL + Gluc + Gox 8	0,0	0,0	3,6	1,2	3,6	1,2
PL 16	6,5	1,6	15,7	0,6	22,3	2,1
PL + Gox 16	0,6	0,4	3,7	1,5	4,4	1,9
PL + Gluc + Gox 16	0,6	0,2	1,7	0,4	2,3	0,6
Bilan ApC	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	0,9	0,3	13,2	1,5	14,1	1,7
PL 8	1,1	0,4	10,3	1,1	11,4	1,5
PL + Gox 8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PL + Gluc + Gox 8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PL 16	0,8	0,6	10,9	1,6	11,8	2,2
PL + Gox 16	0	0,0	0	0,0	0,0	0,0
PL + Gluc + Gox 16	0	0,0	0	0,0	0,0	0,0
BILAN diFAS						
5-5'diFA	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	0,00	0,00	13,1	2,91	13,13	2,9
PL 8	1,06	0,56	17,2	1,60	18,3	2,2
PL + Gox 8	0,93	0,50	11,6	2,20	12,5	2,7
PL + Gluc + Gox 8	0,00	0,00	18,5	0,91	18,5	0,9
PL 16	1,49	0,87	15,3	0,90	16,8	1,8
PL + Gox 16	0,00	0,00	12,5	2,36	12,5	2,4
PL + Gluc + Gox 16	0,18	0,36	18,6	2,51	18,7	2,9
8-o-4'diFA	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	0,45	0,03	15,8	0,92	16,2	1,0
PL 8	2,27	1,49	14,7	1,25	17,0	2,7
PL + Gox 8	0,61	0,42	16,1	1,92	16,7	2,3
PL + Gluc + Gox 8	0,00	0,00	14,5	0,83	14,5	0,8
PL 16	0,69	0,45	17,2	2,07	17,9	2,5
PL + Gox 16	0,12	0,03	15,3	0,85	15,4	0,9
PL + Gluc + Gox 16	0,00	0,00	14,9	0,80	14,9	0,8
8-5' BzdiFA	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	1,89	1,10	29,1	2,38	31,0	3,5
PL 8	3,93	1,99	20,9	2,56	24,8	4,5
PL + Gox 8	3,16	0,75	20,2	2,10	23,4	2,9
PL + Gluc + Gox 8	0,59	0,72	26,2	0,80	26,8	1,5
PL 16	1,90	0,64	25,3	3,08	27,2	3,7
PL + Gox 16	0,83	0,15	21,4	1,39	22,2	1,5
PL + Gluc + Gox 16	1,13	0,75	25,9	0,65	27,1	1,4
somme diFAs	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	2,3	1,1	58,0	6,2	60,3	7,3
PL 8	7,3	4,0	52,8	5,4	60,1	9,4
PL + Gox 8	4,7	1,7	47,9	6,2	52,6	7,9
PL + Gluc + Gox 8	0,6	0,7	59,2	2,5	59,8	3,3
PL 16	4,1	2,0	57,8	6,1	61,9	8,0
PL + Gox 16	0,9	0,2	49,2	4,6	50,2	4,8
PL + Gluc + Gox 16	1,3	1,1	59,4	4,0	60,7	5,1
BILAN Acide férulique	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	69,2	22,3	552	19	622	41
PL 8	74,2	36,5	529	10	603	46
PL + Gox 8	62,8	25,1	490	26	553	51
PL + Gluc + Gox 8	15,6	0,5	456	26	472	27
PL 16	77,2	9,2	572	50	649	59
PL + Gox 16	7,7	1,7	474	54	482	56
PL + Gluc + Gox 16	19,9	1,2	472	11	492	12
BILAN AcTotaux	soluble	ET	insoluble	ET	Total	ET
Farine	88,2	22,3	636,9	18,9	725,1	41,2
PL 8	92,1	36,5	608,4	9,6	700,5	46,1
PL + Gox 8	75,1	25,1	538,0	26,3	613,1	51,4
PL + Gluc + Gox 8	16,2	0,5	519,2	26,0	535,4	26,5
PL 16	88,6	9,2	656,7	47,0	745,3	56,2
PL + Gox 16	9,3	1,7	526,9	54,3	536,2	56,0
PL + Gluc + Gox 16	21,8	1,2	533,6	10,9	555,4	12,1

Dans ce dernier cas, cet accroissement proche de 20 nmol.g^{-1} de fs (soit le double en équivalent AF) représente moins de 15 % des pertes en AF signalées dans le paragraphe précédent. Il est donc probable qu'une part importante de l'AF disparu se retrouve dans des arabinoxylanes insolubilisés, sous forme de monomère ou de dimères. Il est possible également qu'une partie importante des molécules issues de l'oxydation de l'AF ne soit pas dosée dans nos conitions expérimentales. En présence de levure, aucune variation significative des teneurs globales en diFA n'est observée.

Parmi les 3 dimères analysés dans la farine (et présents à 96 % dans la fraction insoluble), les 8-5'BzdiFA, 8-O-4'diFA et 5-5'diFA représentent respectivement 51, 27 et 22 % du total.

8-5'BzdiFA (Tableaux 4.3.1.3 et 4.3.1.4) :
Dans les pâtes témoins non levurées, la teneur globale en 8-5'BzdiFA diminue par rapport à celle déterminée dans la farine avec une diminution dans la fraction insoluble non compensée par une augmentation dans la fraction soluble.
Dans les pâtes avec GOX, seule une faible augmentation est observée (+ 5 nmol.g^{-1} fs) dans la pâte avec GOX et glucose après 16 min de pétrissage.
Dans les pâtes levurées, les différences sont fortement atténuées.

8-O-4'diFA (Tableaux 4.3.1.3 et 4.3.1.4) :
Les évolutions du 8-O-4'diFA sont identiques à celle du 8-5'BzdiFA.

5-5'diFA (Tableaux 4.3.1.3 et 4.3.1.4) :
Absent dans la fraction soluble de la farine, le 5-5'diFA apparaît dans cette fraction des pâtes témoins non levurées tout en diminuant dans la fraction insoluble.
La quantité de 5-5'diFA est doublée dans les fractions insolubles des pâtes avec GOX et avec glucose quelle que soit la durée de pétrissage. Cet accroissement explique l'observation faite sur l'évolution des diFA totaux.
Là encore, la présence de levure dans les pâtes annule quasiment toutes les évolutions de diFA.

En conclusion, l'ajout simultané de GOX et de glucose accroît la présence de diFA dans la fraction insoluble des pâtes non levurées et cet accroissement est essentiellement dû à celui du 5-5'diFA.

Ce résultat diffère de celui obtenu par Figueroa-Espinoza et Rouau (1998) qui ont observé une augmentation de la teneur en 8-5'BzdiFA et 8-O-4'diFA dans un milieu modèle contenant des arabinoxylanes solubles dans l'eau en présence de peroxydase de raifort et d'H_2O_2.

c) Evolution des acides *p*-coumarique et sinapique

En ce qui concerne l'acide *p*-coumarique et par rapport à la farine, une perte importante est observée dans la fraction insoluble qui s'accroît avec le temps de pétrissage dans le cas de la pâte témoin. En présence de levure, les pertes sont nettement diminuées. Les pertes sont totales dans les pâtes additionnées de GOX avec ou sans glucose et / ou levure à l'exception de la pâte avec GOX seule après 8 min de pétrissage.

Dans ce cas, la perte dans la fraction insoluble est accompagnée d'un gain équivalent dans la fraction des protéines solubles.

En ce qui concerne l'acide sinapique et par rapport à la farine, un fort accroissement est observé dans la fraction insoluble pour les pétrissages témoins sans levure. La présence de levure diminue voire annule cet accroissement. En présence de GOX, il y a accroissement de la teneur en acide sinapique dans la fraction des soluble, mais la présence simultanée de levure ou de glucose conduit à une disparition quasi-totale de l'acide sinapique dans les extraits de pâtes.

Deux propositions non exclusives peuvent être avancées pour expliquer l'ensemble de ces résultats. La GOX en produisant H_2O_2 active le système peroxydasique. Cette activation est évidemment accrue par l'ajout simultané de glucose avec comme conséquences, d'une part la formation de polymères d'AF (diminution de la teneur en monomère et augmentation de la teneur en dimères) et d'autre part la polymérisation des arabinoxylanes. Cette dernière réaction peut modifier leur solubilité dans les fractions solubles et insolubles en les faisant passer d'une fraction à l'autre (de soluble vers insoluble) ou en les rendant totalement insolubles. Dès lors, la diminution en monomère d'AF peut être due à la formation de dimère mais aussi à une perte de solubilité des arabinoxylanes alors que l'évolution de la teneur en dimères résulte de l'oxydation du monomère AF et / ou de la modification de solubilité des arabinoxylanes. Enfin, la levure en consommant une partie de l'oxygène disponible diminue probablement la formation d'H_2O_2 et donc réduit l'effet de la peroxydase sur l'AF.

Tableau 4.3.1.5 : Effet de la GOX, avec ou sans glucose, sur les caractéristiques rhéologiques de pâtes levurées ou non et pétries au consistographe pendant 8 min (480 s).

	PNL	PL	PNL + GOX	PNL + Gluc + GOX	PL + GOX	PL + Gluc + GOX
Pr_{max} (mbar)	1430±76	1626±75	1395±100	1601±45	1704±31	16 42±44
TPr_{max} (s)	243±5	231±29	281±129	367±14	249±20	274±33
Pr_{250} (mbar)	1367±57	1558±39	1352±70	1364±73	1699±36	1571 ±64
Pr_{450} (mbar)	1034±58	1072±41	1142±33	1448±64	1174±17	1336 ±30
D_{250} (mbar)	63±44	68±88	44±50	238±44	5±12	71±22
D_{450} (mbar)	396±78	554±110	254±74	153±56	530±25	306±49
Tolérance (s)	192±45	202±31	264±53	252±10	225±27	28 1±28
Pr_{480} (mbar)	968±27	982±31	1027±34	1365±59	1072±13	1223±2 5

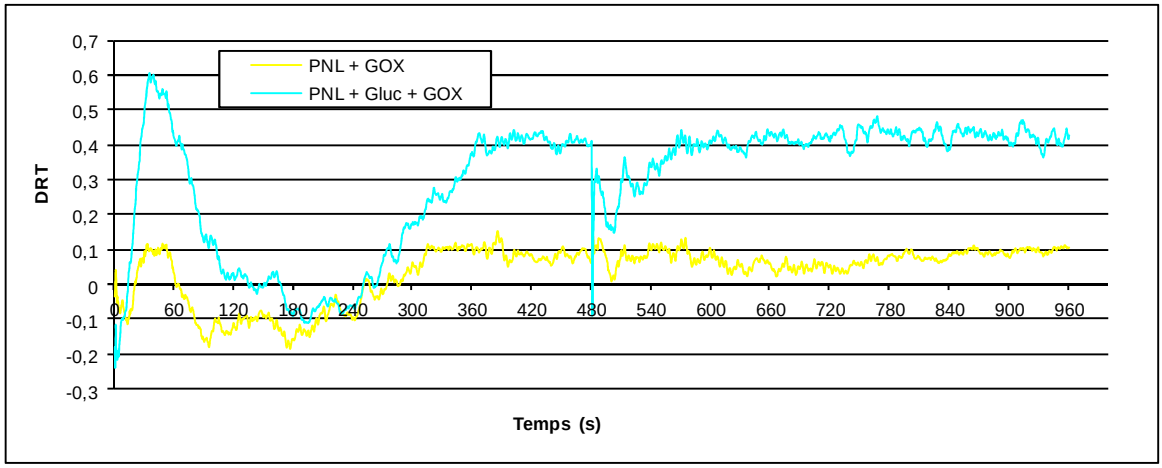


Figure 4.3.1.15 : Effet de la GOX avec ou sans glucose sur la DRT de pâtes non levurées pétries au consistographe.

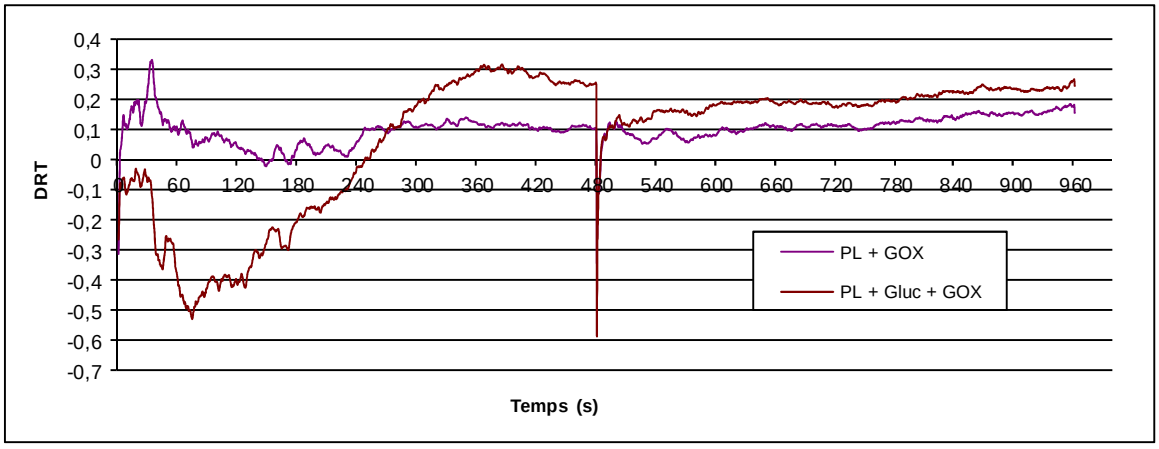


Figure 4.3.1.16 : Effet de la GOX avec ou sans glucose sur la DRT de pâtes levurées pétries au consistographe.

4.3.1.5 Effet rhéologique du système GOX / glucose au cours du pétrissage de pâtes levurées ou non

L'ajout de GOX seule dans les pâtes non levurées ne modifie pas significativement le Pr_{max} tout en augmentant le TPr_{max}. La valeur de ce dernier étant supérieure à 250 s, le D_{250} qui correspond à la perte de pression entre Pr_{max} et Pr_{250} n'est plus un indicateur pertinent (Tableau 4.3.1.5). De plus, la GOX diminue la valeur du D_{450} illustrant du même coup une augmentation de la tolérance de la pâte au surpétrissage. La DRT de la pâte non levurée avec GOX atteint près de 0,1 dès 330 s de pétrissage et reste à cette valeur tout au long du pétrissage jusqu'à 16 min ce qui traduit un raffermissement de la pâte lors de l'ajout de GOX (Figure 4.3.1.15).

L'ajout de glucose à une pâte non levurée contenant de la GOX provoque une augmentation du Pr_{max} et de la tolérance et une diminution du D_{450}. La DRT atteint une valeur de 0,45 à partir de 400 s et reste stable jusqu'à la fin du pétrissage de 16 min montrant ainsi que l'effet de la GOX est renforcé si la pâte est simultanément supplémentée en glucose dans les pâtes non levurées.

Dans le cas de pâte levurée, la GOX augmente faiblement le Pr_{max} et n'a pas d'effet sur le D_{450} ni sur la tolérance. La valeur de la DRT est de 0,1 après 8 min de pétrissage et de 0,2 après 16 min, ce qui est supérieur à l'effet de la GOX sans glucose sur une pâte non levurée (Figure 4.3.1.16). Il est possible que la levure augmente l'effet de la GOX sur la fermeté de la pâte dans la deuxième partie du pétrissage par l'intermédiaire de son activité invertasique qui libère du glucose pendant le pétrissage (Potus *et al.*, 1994).

L'ajout de glucose à une pâte levurée contenant de la GOX n'augmente pas significativement le Pr_{max} mais diminue le D_{450} et augmente la tolérance. En fin de pétrissage, la DRT est proche de 0,25, ce qui est inférieur à la valeur de 0,45 obtenue pour la pâte équivalente non levurée (Figure 4.3.1.16). Il est probable que l'activité invertasique de la levure n'a plus l'effet positif sur l'action de la GOX constatée précédemment puisque la pâte est largement supplémentée en glucose. Dans ce cas, l'effet négatif de l'ajout de levure sur l'action de raffermissement de la GOX peut être dû à la compétition pour l'oxygène incorporé au cours du pétrissage.

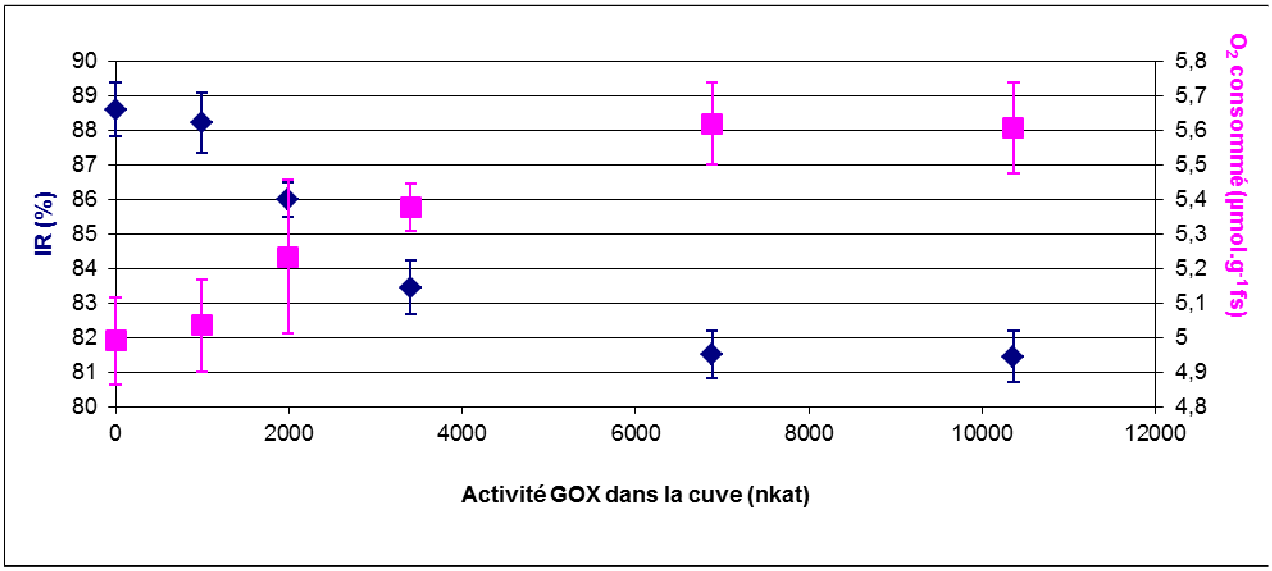


Figure 4.3.1.17 : Effet d'ajouts de GOX compris entre 0 et 10360 nkat sur les consommations d'O_2 en fin de pétrissage et sur l'indice de relaxation des pâtes.

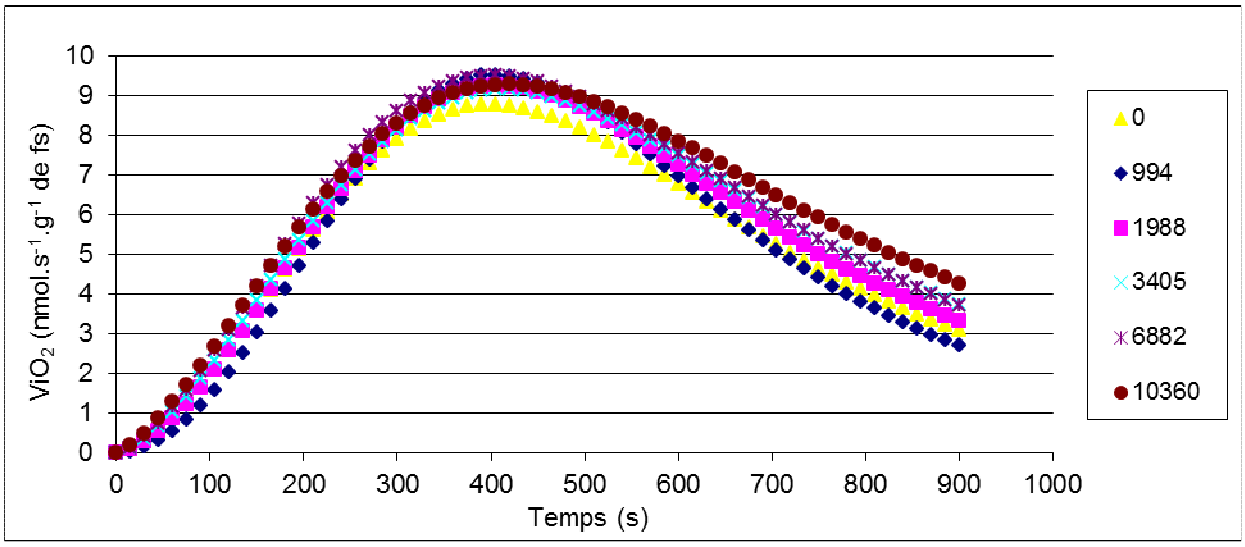


Figure 4.3.1.18 : Effet d'ajouts de GOX compris entre 0 et 10360 nkat sur les vitesses instantanées de consommation d'O_2 (ViO_2)

4.3.1.6 Exercices d'applications

1) Influence de la dose de GOX sur la rhéologie de la pâte, et les caractéristiques de pains produits par test de micro panification

Ces expérimentations se basent sur l'utilisation d'une dose croissante de glucose oxydase dont les activités sont comprise entre 0 et 2/3 de celle recommandée par le fournisseur d'enzyme (15600 nkat soit 33,6 ppm) afin d'en observer l'effet sur :

- les consommations d'O_2 lors du pétrissage,
- la rhéologie des pâtes après pétrissage,
- certaines caractéristiques des produits cuits issus des pâtes.

Les activités de GOX ajoutées à la farine sont égales à 0, 994, 1988, 3405, 6882, 10360 nkat.

- Sur les consommations d'O_2

L'ajout d'une activité croissante de GOX dans la cuve de pétrissage augmente la consommation globale d'oxygène des pâtes qui passe de de 5 à 5,6 $\mu mol.g^{-1}$ de fs au maximum (Figure 4.3.1.17). Au-delà de 6882 nkat de GOX ajoutés à la farine, la consommation d'O_2 n'augmente plus probablement par manque de substrat osidique. L'analyse des vitesses instantanées de consommation d'O_2 (Figure 4.3.1.18) montre que l'activité GOX croissante ajoutée à la farine tend à augmenter la valeur de ViO_2 entre 0 et 250 s de pétrissage (120 s de frasage + 130 s de pétrissage à 60 RPM) et au-delà du ViO_{2max}, à partir 600 s jusqu'à la fin du pétrissage.

- Sur l'élasticité des pâtes

L'augmentation de la consommation d'O_2 due à l'activité GOX croissante ajoutée à la farine diminue l'indice de relaxation (IR) des pâtes qui passe de 89 à 81 % au maximum. Au-delà de 6882 nkat de GOX ajoutés, l'IR n'évolue plus tout comme la consommation d'O_2 des pâtes (Figure 4.3.1.17). Il existe une forte corrélation entre l'augmentation de la consommation d'O_2 des pâtes suite à l'ajout de GOX et la diminution de l'indice de relaxation des pâtes (r = 0,995).

- Sur le volume spécifique et le rapport L_{max}/H_{max} des pains

L'ajout d'une activité GOX croissante n'influence pas le volume spécifique des pains. En revanche, plus l'activité GOX est importante plus le rapport Lmax/Hmax diminue (Figure 4.3.1.19).

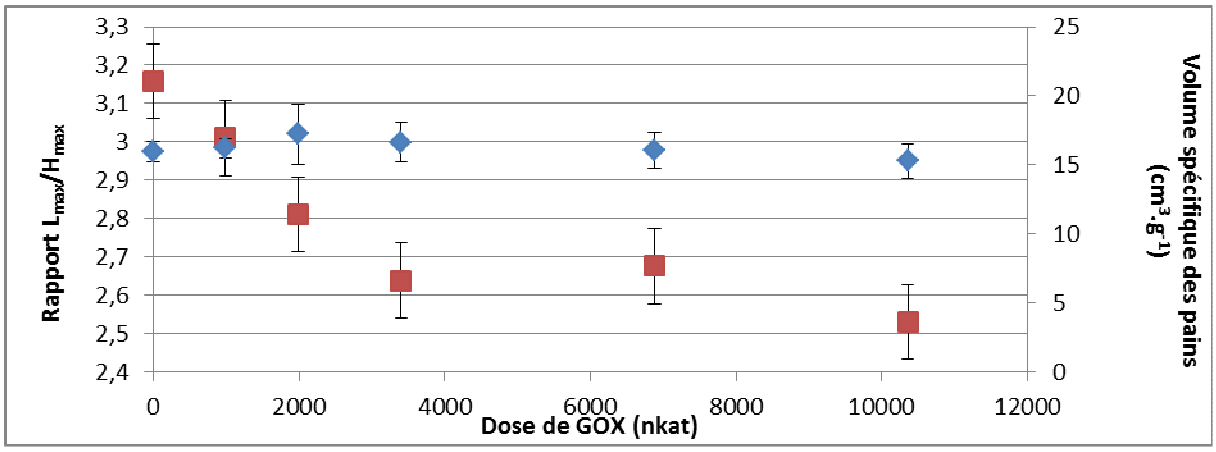


Figure 4.3.1.19 : Effet d'ajouts de GOX compris entre 0 et 10360 nkat sur volume spécifique et le rapport L_{max}/H_{max} des pains

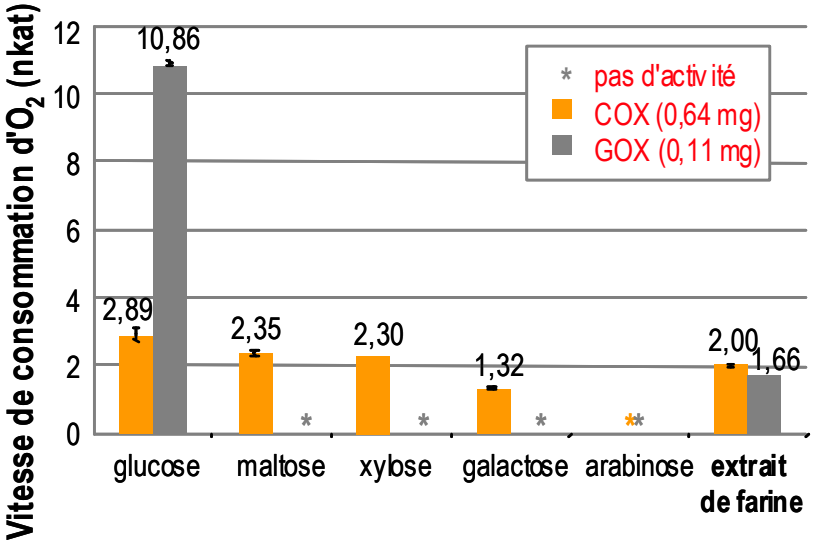


Figure 4.3.1.20: Activité de 0,64 mg de COX et 0,11 mg de GOX pour différents oses en solution à 0,22 $mol.L^{-1}$, pH 5,6, 30 °C

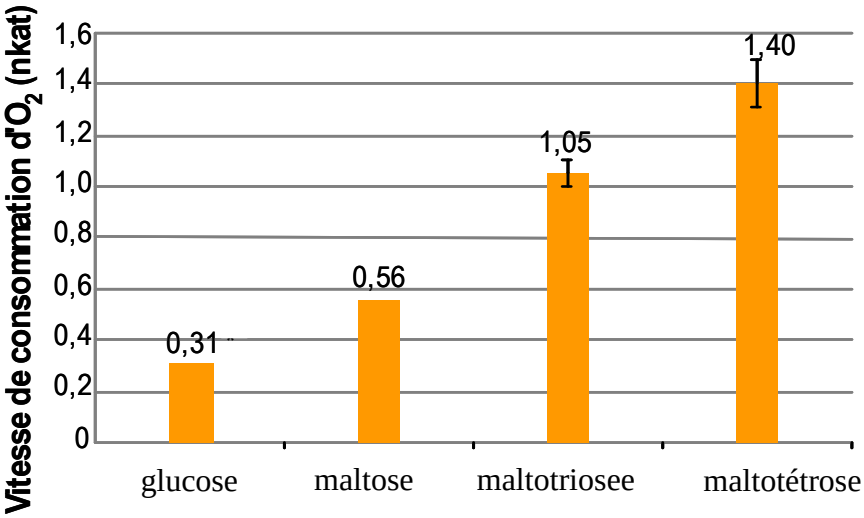


Figure 4.3.1.21 : Activité de 0,64 mg de COX vis-à-vis d'oligomères de glucose oses en solution à 0,004 $mol.L^{-1}$, pH 5,6, 30 °C

L'augmentation de l'activité GOX modifie donc la géométrie des pains en diminuant leur longueur et en augmentant leur hauteur.

2) Comparaison de deux oses oxydases : la glucose oxydase (GOX) et la carbohydrate oxydase (COX)

Deux oses oxydases ont été comparées : la GOX qui est spécifique du glucose et la carbohydrate oxydase qui est capable d'agir sur le glucose mais également d'autres oses et oligosides. Les activités de ces deux enzymes en présence de différentes solutions aqueuses d'oses et d'une solution d'un extrait de farine contenant ces glucides hydrosolubles ont été mesurées par polarographie. Les données obtenues ont été comparées avec les consommations d'oxygène des pâtes, pétries en présence de COX et de GOX mais aussi en présence de COX + levure et GOX + levure, et également avec les indices rhéologiques obtenus avec le consistographe et le texturomètre.

- En milieu modèle :

Les résultats obtenus par polarographie confirment que la GOX est spécifique du glucose contrairement à la COX qui est capable d'oxyder d'autres oses présents dans la farine (Figure 4.3.1.20). En outre, la COX est active vis-à-vis d'oligomères du glucose : maltose, maltotriose et maltotétraose (Figure 4.3.1.21). À 4 mmol.L^{-1}, la vitesse de consommation d'O_2 est proportionnelle au degré de polymérisation (Figure 4.3.1.21). *A contrario*, la COX a une très faible activité vis-à-vis du fructose (0,22 mol.L^{-1}) et pas d'activité vis-à-vis du saccharose (0,22 mol.L^{-1}) (résultats non montrés).

Pour une même quantité d'enzyme en cuve et dans des conditions saturantes en glucose, la GOX est environ 20 fois plus active vis-à-vis du glucose que la COX (Tableau 4.3.1.6). Ce résultat reflète probablement un degré de pureté plus élevé de la préparation de GOX.

Cependant, lorsque le substrat utilisé est l'extrait de farine, le rapport d'activité pour une même quantité d'enzyme n'est plus que de 5. Outre le fait que l'extrait de farine contienne du glucose à une concentration inférieure au Km de ces enzymes, ce résultat est probablement lié à la présence d'autres oses que le glucose qui sont oxydés par la COX mais pas par la GOX. La COX se présente donc comme un auxiliaire technologique potentiel puisqu'elle a l'avantage de posséder un spectre plus large de substrats présents dans la farine de blé (en plus du glucose : maltose, xylose, etc.).

Tableau 4.3.1.6 : Vitesse de consommation d'O_2 de la COX et de la GOX dans une solution de glucose (0,22 mol.L^{-1}, pH 5,6, 30 °C) et d'un extrait de farine (0,4 g.mL^{-1}, pH 5,6, 30 °C)

	Activité en nkat.mg^{-1}	
	Glucose	Extrait de farine
COX	4,52	3,13
GOX	103,43	15,81
GOX / COX	22,90	5,06

Tableau 4.3.1.7 : Consommation d'O_2, surconsommation d'O_2 et vitesse maximale de consommation d'O_2 de pâtes levurées ou non additionnées ou non de GOX ou de COX et pétries à l'aide du sitoxygraphe

Formulation des pâtes	PNL	PNL + COX	PNL + GOX	PL	PL + COX	PL + GOX
Consommation d'O_2 en fin de pétrissage (µmol. g^{-1} fs)	$3,09_{\pm 0,20}$	$3,60_{\pm 0,09}$	$3,91_{\pm 0,16}$	$4,71_{\pm 0,10}$	$5,05_{\pm 0,17}$	$5,82_{\pm 0,26}$
O_2 surconsommé par les oxydases (µmol.g^{-1} fs)	-	0,51	0,82	-	0,34	1,11
ViO_{2max} (nmol.s^{-1}.g^{-1}fs)	$6,20_{\pm 0,31}$	$6,87_{\pm 0,28}$	$7,54_{\pm 0,30}$	$7,69_{\pm 0,17}$	$7,74_{\pm 0,19}$	$9,05_{\pm 0,27}$

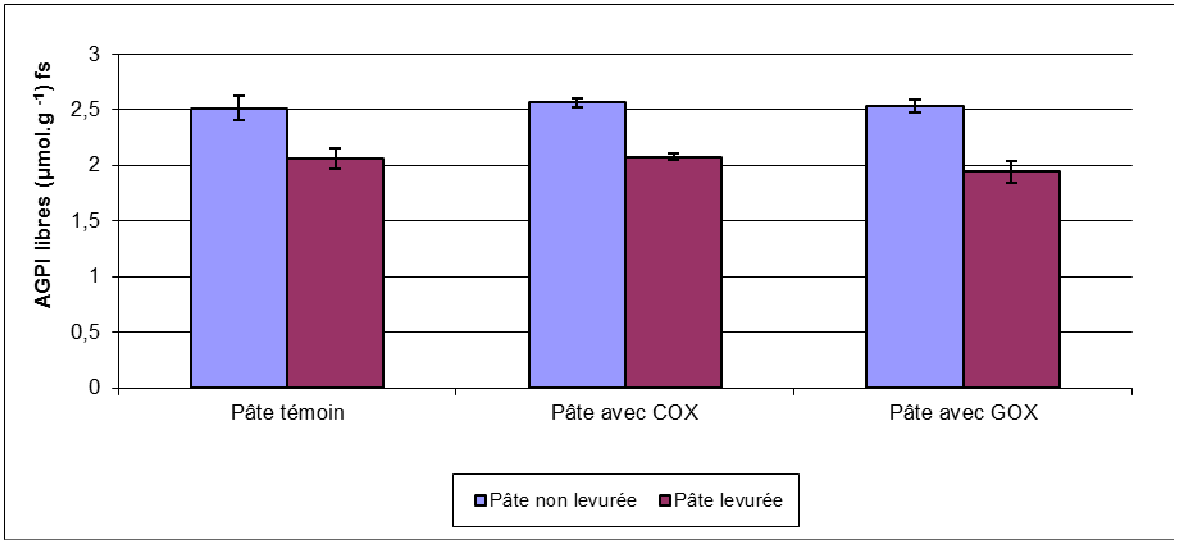


Figure 4.3.1.22 : Impact de la GOX et de la COX sur les quantités d'AGPI libres oxydés de pâte levurées ou non après 8 min de pétrissage.

- Au cours du pétrissage

a) sur la consommation d'O_2

Au sitoxygraphe, les pâtes ont été préparées avec 200 ppm de COX ou 33 ppm de GOX. La consommation totale d'O_2 en fin de pétrissage ainsi que les vitesses maximales de consommation augmentent en présence de COX et de GOX que les pâtes soient levurées ou non (Tableau 4.3.1.7). La surconsommation d'O_2 attribuée à la COX est inférieure à celle de la GOX.

L'ajout de levure ne modifie pas la surconsommation d'oxygène due à l'ajout de GOX mais réduit celle liée à l'ajout de COX pouvant traduire une compétition vis-à-vis de l'oxygène plus marquée entre la levure et la COX qu'entre la levure et la GOX.

b) sur l'oxydation des AGPI libres

Ni les 33 ppm de GOX, ni les 200 ppm de COX ne modifient l'oxydation des AGPI libres des pâtes pétries à l'aide du consistographe (Figure 4.3.1.22). Seule, la présence de levure diminue l'oxydation des AGPI libres.

c) sur les propriétés rhéologiques

Au consistographe, la présence de COX n'a pas d'effet significatif sur la valeur du Pr_{max} des pâtes levurées contrairement à la GOX (Tableau 4.3.1.8). La COX augmente la valeur de la pression à 450 secondes de pétrissage et plus particulièrement dans le cas de pâtes levurées. L'effet de la GOX est plus important que celui de la COX dans le cas de pâtes non levurées. En revanche, il n'y a pas de différence sur les pâtes levurées.

La diminution de pression par rapport au Pr_{max} à 450 secondes (D_{450}) est inférieure en présence de GOX et de COX dans le cas de pâtes non levurées. Là encore, l'effet de la GOX et plus important que celui de la COX. Lorsque les pâtes sont levurées, seule la GOX diminue significativement la valeur du D_{450}.

La tolérance des pâtes au surpétrissage augmente en présence de COX. Cependant, l'effet de la GOX est plus significatif que celui de la COX et particulièrement sur les pâtes levurées. Enfin, la fermeté des pâtes en fin de pétrissage augmente grâce à l'activité des oxydases par rapport aux pâtes témoins levurées et non levurées avec encore une fois un plus grand impact de la GOX par rapport à la COX.

Tableau 4.3.1.8 : Effet de la COX et de la GOX sur les caractéristiques rhéologiques des pâtes pétries à l'aide du consistographe.

	PNL	PL	PNL+COX (%)	PL+COX (%)	PNL+GOX (%)	PL+GOX (%)
Pr_{max} (mbar)	1708 mbar	1720 mbar	-1	3	-2	5
Pr 450 (mbar)	1267 mbar	1140 mbar	4	9	10	9
D450 (mbar)	440 mbar	580 mbar	-18	-8	-36	-4
Tolérance (s)	312 s	203 s	12	11	16	33
Pr 480 (mbar)	1226 mbar	1118 mbar	4	2	6	9

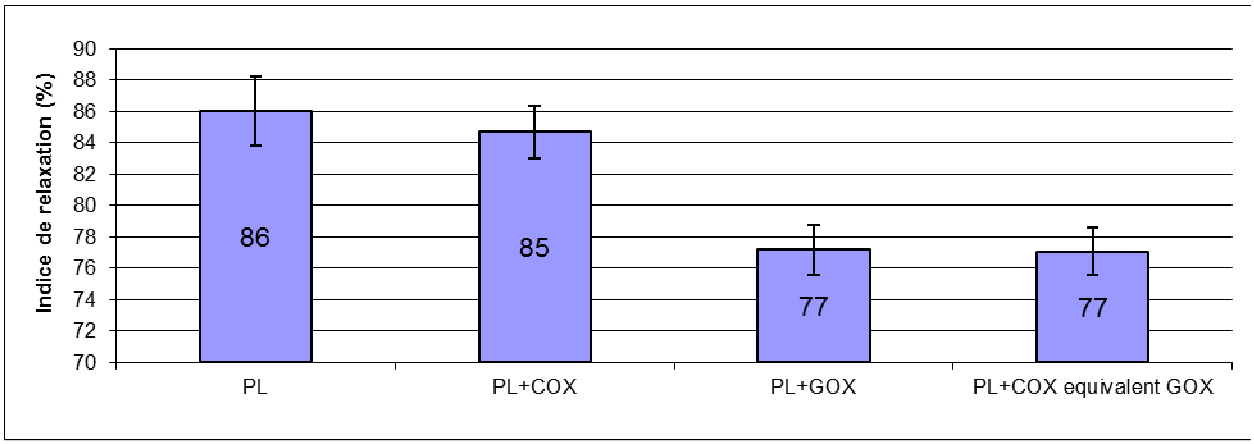


Figure 4.3.1.23 : Effet de la GOX et de la COX sur l'IR de pâtes levurées.

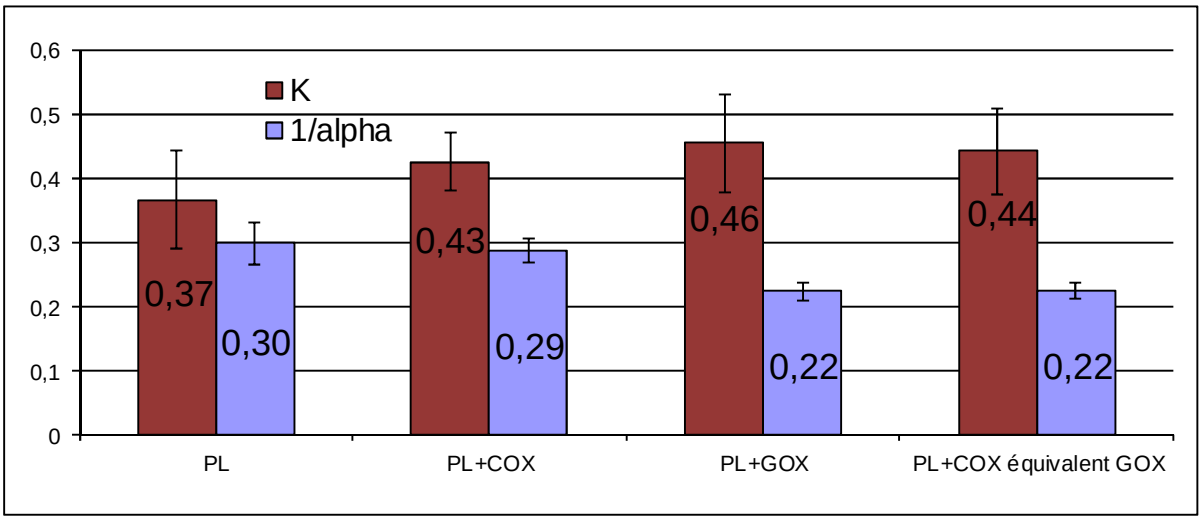


Figure 4.3.1.24 : Effet de la GOX et de la COX sur la constante de vitesse de relaxation (s^{-1}) et sur l'indice de comportement visqueux de pâtes levurées.

Au texturomètre, l'analyse des indices de relaxation des échantillons de pâtes pétries à l'aide du sitoxygraphe montre que la dose de COX recommandée par le fournisseur et qui est ajoutée à une pâte levurée ne modifie pas significativement l'élasticité des pâtes (Figure 4.3.1.23). L'impact de cette enzyme sur l'IR est plus faible que celui de la GOX. Lorsque l'on ajoute une quantité de COX dont l'activité est équivalente à celle de la GOX par rapport au glucose, on constate que l'IR est équivalent à celui des pâtes qui contiennent de la GOX.
L'analyse des indices de comportement visqueux (1/α) et des constantes des vitesses de relaxation des pâtes (Figure 4.3.1.24) confirme les observations faites sur les indices de relaxation en montrant que l'effet de la dose préconisée de COX a un impact plus faible que celui de la dose préconisée de GOX alors qu'à même activité par rapport au glucose, la COX a le même effet que la GOX.

Conclusion

Cette étude confirme l'intérêt des oses oxydases pour les modifications biochimique et rhéologique des pâtes. Cependant l'impact de ces enzymes sur les propriétés technologiques des pâtes dépend à la fois de l'incorporation d'oxygène à la pâte qui est à l'origine des compétitions entre consommateurs d'O_2 pour ce substrat mais aussi des caractéristiques biochimiques des farines apportant les substrats osidiques oxydables.

Tableau 4.3.2.1 : Caractéristiques des farines utilisées pour la préparation des pâtes. Les données entre parenthèses correspondent aux teneurs en acides gras oxydables des fractions lipidiques.

	Activité LOX ($nkat.g^{-1}$ de fs)	Fraction TAG ($\mu mol.g^{-1}$ de fs)	Fraction AG libres ($\mu mol.g^{-1}$ de fs)
Farine A	73 ± 4	21,2 ± 1,5 (14,3)	3,24 ± 0,13 (2,13)
Farine B	80,5 ± 2	15,6 ± 0,6 (10,6)	7,75 ± 0,33 (5,14)
Farine de fève (F)	2600 ± 85	34,4 ± 2 (21,9)	2,13 ± 0,3 (1,05)
Farine de soja (S)	3400 ± 95 (pH 9,5) 2520 ± 75 (pH 6,5)	793 ± 20 (307,06)	45,6 ± 1,5 (25,6)

4.3.2 Effet de l'ajout de farines de fève ou de soja sur les caractéristiques biophysico-chimiques des pâtes, levurées ou non, obtenues à partir de farines de blé à deux taux de maturation

D'après la littérature (Nicolas et Drapron, 1983), l'activité lipoxygénasique au cours du pétrissage est à l'origine de réactions de cooxydations permettant le pontage des protéines participant ainsi à la formation du réseau de gluten. Nous avons donc supplémenté les pâtes en farines de fève et de soja riches en LOX capables d'oxyder les AGPI libres mais aussi les AGPI de la fraction TAG, contrairement à la LOX de blé. Le travail présenté devrait permettre d'analyser l'effet de l'oxydation des lipides sur certaines propriétés des pâtes pendant et après le pétrissage.

De la farine de fève (1 %) ou de soja (0,5 %) ont été mélangées à deux farines de blé, la première farine est "peu maturée" (farine A) puisqu'elle a été conservée pendant moins d'un mois à 4 °C. L'autre farine de blé est "fortement maturée" (farine B) suite à un stockage de 6 mois à 4 °C (équivalent à 5 semaines à 25 °C). Ainsi que l'ont montré Maraschin *et al.* (2008), la maturation de la farine de blé permet à la lipase du blé d'hydrolyser partiellement les fractions TAG, DAG et MAG afin de produire des acides gras libres (dont les AGPI oxydables par la LOX de blé). Ceci conduit à une augmentation de la capacité de la farine à consommer de l'oxygène pendant le pétrissage. Notre objectif est d'étudier l'effet du taux de maturation de la farine de blé sur leurs propriétés d'oxydabilité pendant le pétrissage seule ou en mélange avec des LOX de fève ou de soja en présence ou non de levure.
L'effet du renforcement du potentiel oxydatif des pâtes, levurées ou non, par l'ajout de farine de fève ou de soja ou par la maturation de la farine, a été évalué par :
- le suivi des consommations d'O_2 au cours du pétrissage ;
- le dosage des lipides préférentiellement oxydés par les LOX de blé et de légumineuses (TAG et AG libres) ;
- le profil protéique des pâtes ;
- le suivi de l'évolution de la fermeté des pâtes au cours du pétrissage à l'aide du consistographe.

Les farines de fève et de soja utilisées représentent une source de LOX mais aussi de lipides non négligeable (pour la farine de soja en particulier, Tableau 4.3.2.1).

Tableau 4.3.2.2 : Formulation des pâtes.

Composition de 100 g de farine humide			Ingrédients ajoutés à 100 g de farine humide		
Farine de blé	Farine de fève	Farine de soja	Levure sèche (g)	Eau dé ionisée (g)	Sel (g)
100	0	0	1,0	60	1,8
99,5	0	0,5			
99	1	0			

Tableau 4.3.2.3 : Teneur en AGPI des farines A et B supplémentées ou non en farine de soja (0,5 %) ou en farine de fève (1 %). Toutes les valeurs sont exprimées en µmol AGPI.g^{-1} de fs.

	AGPI TAG	Ecart type AGPI TAG	AGPI libres	Ecart type AGPI libres
Farine A	14,3	0,9	2,13	0,1
Farine B	10,6	0,5	5,14	0,2
Soja (S)	486	15	25,6	0,6
Fève (F)	21,9	1,1	1,05	0,1
Farine A+S	16,7	1,0	2,25	0,1
Farine A+F	14,4	0,9	2,12	0,1
Farine B+S	13,0	0,6	5,24	0,2
Farine B+F	10,7	0,5	5,10	0,2

Tableau 4.3.2.4 : Effet de l'addition de 1 % de farine de fève ou 0,5 % de farine de soja sur la consommation d'oxygène après 15 min de pétrissage.

Farine A	Pâte non levurée	Pâte levurée
Formulation des pâtes	Consommation d'O_2 (µmol.g^{-1} de fs)	
Témoin	3,42 ± 0,15	4,72 ± 0,17
1 % de farine de F	5,04 ± 0,13	5,82 ± 0,24
0,5 % de farine de S	5,52 ± 0,23	5,85 ± 0,28

Farine B	Pâte non levurée	Pâte levurée
Formulation des pâtes	Consommation d'O_2 (µmol.g^{-1} de fs)	
Témoin	4,96 ± 0,07	5,25 ± 0,17
1 % de farine F	5,46 ± 0,06	6,23 ± 0,04
0,5 % de farine S	5,54 ± 0,17	6,30 ± 0,03

Après 6 mois de maturation à 4 °C la teneur en TAG a nettement diminué (Tableau 4.3.2.1) et sa teneur en AGPI libres a augmenté (près de 2,5 fois plus pour la farine B que pour la farine A), ce qui devrait favoriser l'action de la LOX de blé au cours du pétrissage.

Les farines de légumineuses sont intégrées aux pâtes par substitution à la farine de blé selon les protocoles couramment utilisés dans les fournils d'essai des Moulins Soufflet. Les formulations choisies (Tableau 4.3.2.2) se basent sur l'utilisation de quantités de farine humide, d'eau, de sel et de levure constantes permettant ainsi le pétrissage d'une masse constante de pâte. Les teneurs en AGPI dans les fractions TAG et AG libres, calculées à partir des formulations sont données dans le Tableau 4.3.2.3.

4.3.2.1 Effet sur les consommations d'O_2 des pâtes au cours du pétrissage

a) Cas de la farine de blé peu maturée (farine A)

- Pâte sans levure :

La quantité d'O_2 consommée par la pâte témoin est de 3,42 µmol.g^{-1} de farine sèche (Tableau 4.3.2.4). La présence de farine de fève ou de soja augmente respectivement de 47 et 61 % la consommation totale d'O_2 après 15 min de pétrissage (soit une surconsommation de 1,6 et 2,1 µmol.g^{-1} de fs, respectivement). La surconsommation d'O_2 est attribuable à l'oxydation des AGPI libres ainsi que celle des AG oxydables estérifiés contenus dans la fraction TAG des lipides de la farine. La présence de farine de fève et de soja augmente évidemment aussi la vitesse de consommation d'O_2. Celle-ci reste constamment supérieure à celle de la pâte témoin tout au long du pétrissage (Figure 4.3.2.1 A et B). Enfin, on remarque que la quantité d'O_2 consommée et sa vitesse instantanée de consommation augmente davantage avec la présence de 0,5 % de farine de soja qu'avec 1 % de farine de fève.

- Pâte levurée :

La pâte témoin levurée a consommé 4,72 µmol.g^{-1} de fs après 15 min de pétrissage soit une surconsommation d'O_2 de 1,3 µmol.g^{-1} de fs par rapport à la pâte non levurée. En présence de levure, les surconsommations d'O_2 provoquées par les farines de légumineuses sont nettement inférieures à celles des pâtes non levurées. La présence de farine de fève et de soja dans une pâte levurée permet d'augmenter la consommation globale d'O_2 de près de 25 % par rapport à la pâte témoin levurée (soit une surconsommation de 1,1 et 1,2 µmol.g^{-1} de fs). La présence conjointe de levure et de farine de légumineuses accroît la consommation d'O_2 de plus de 70 % avec les farines de légumineuses par rapport à la pâte témoin non levurée.

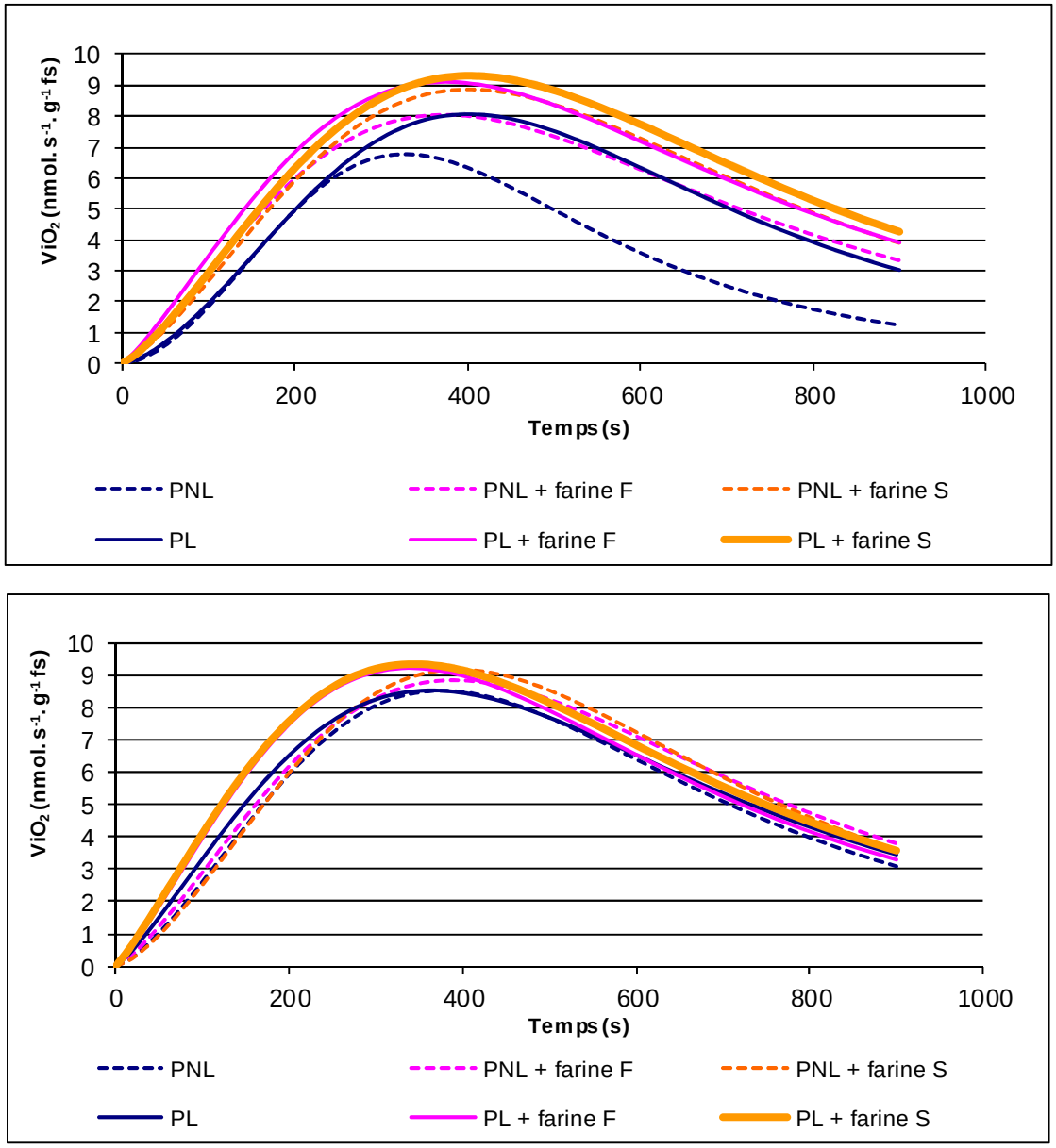


Figure 4.3.2.1 A et B : Vitesses instantanées de consommation d'O_2 au cours du pétrissage de pâtes contenant ou non de la farine de fève ou de soja. A : farine peu maturée, B : farine très maturée.

Les vitesses de consommation d'O_2 sont également accrues par la présence de farine de fève et de soja par rapport à celle observée avec la pâte témoin levurée (Figure 4.3.2.1 A). Il apparaît ainsi que l'ajout de levure diminue les écarts de consommation d'oxygène provoqués par l'ajout des farines de légumineuses. Ceci est probablement lié à une compétition pour l'oxygène incorporé à la pâte entre la levure et les farines de légumineuses. De plus, contrairement à ce qui a été obtenu pour les pâtes non levurées, les consommations et les vitesses de consommation d'O_2 des pâtes contenant de la farine de fève et de soja ne sont pas statistiquement différentes.

b) Cas d'une farine de blé maturée (farine B)

- Pâte sans levure :

Dans le cas du pétrissage d'une pâte non levurée et issue d'une farine maturée (consommation globale d'O_2 égale à 4,96 µmol.g^{-1} de fs), la présence de farine de fève ou de soja augmente la consommation globale d'O_2 en moyenne de 10 % (soit une surconsommation d'O_2 de 0,5 µmol.g^{-1} de fs) par rapport à la pâte témoin non levurée.

En l'absence de levure, la farine de fève et de soja permet d'augmenter significativement les valeurs des ViO_2 à partir de 300 s de pétrissage jusqu'à la fin du mélange (Figure 4.3.2.1 B).

Enfin, aucune différence entre l'effet de la farine de fève et de soja sur les consommations d'O_2 et ViO_2 n'est observée.

- Pâte levurée :

La pâte levurée témoin consomme 5,25 µmol.g^{-1} de fs après 15 min de pétrissage (soit une surconsommation de 0,29 µmol.g^{-1} de fs par rapport à la pâte témoin non levurée). La présence de farine de fève ou de soja augmente la consommation globale d'O_2 en moyenne de 11 % (soit une surconsommation de 0,58 µmol.g^{-1} de fs par rapport à la pâte témoin levurée). Enfin, la présence conjointe de farine de légumineuse et de levure permet d'augmenter de plus de 25 % la consommation d'O_2 par rapport à la pâte témoin non levurée.

L'ajout conjoint de levure et de farine de légumineuse a un effet dès le début du pétrissage jusqu'à l'apparition du ViO_{2max}, période pendant laquelle les vitesses de consommation d'O_2 sont supérieures à celles de la pâte témoin levurée. Au-delà de la vitesse de consommation maximale d'O_2, les ViO_2 des pâtes contenant de la farine de fève et de soja sont semblables et se rapprochent des vitesses mesurées avec la pâte témoin. Enfin, aucune différence entre l'effet de la farine de fève et de soja sur les consommations d'O_2 et ViO_2 n'est observée.

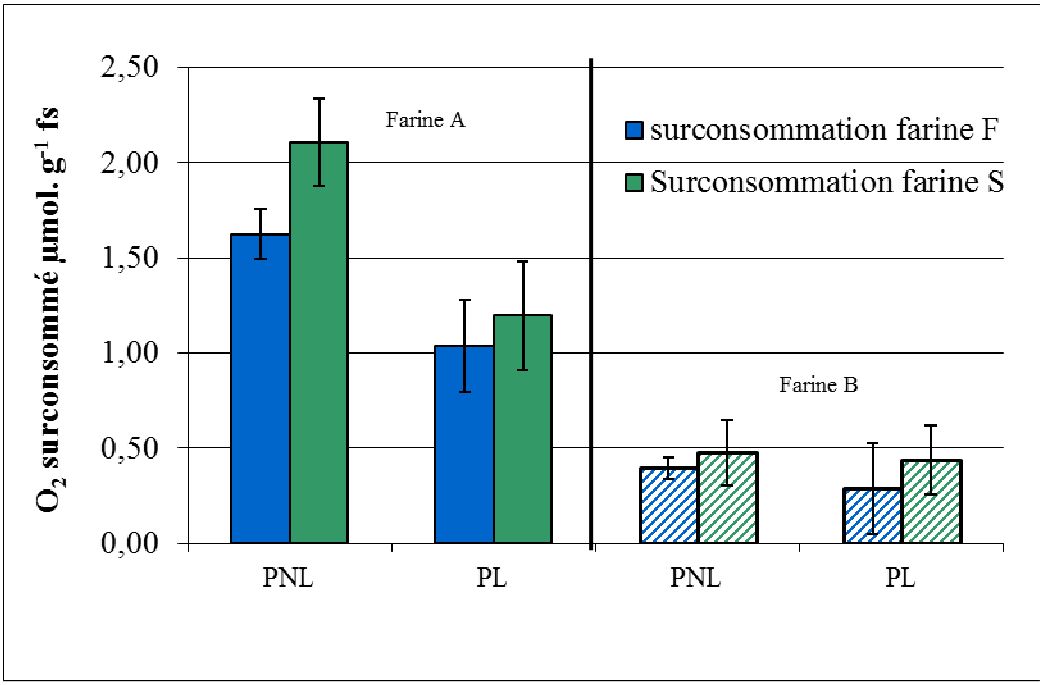


Figure 4.3.2.2 : Surconsommations d'O_2 des pâtes par l'ajout de farine de fève et de soja selon l'état de maturation de la farine de blé.

c) Comparaison des effets des farines de fève et de soja selon l'état de maturation de la farine de blé

La surconsommation d'O_2 provoquée par les farines de fève et de soja en fin de pétrissage est dépendante de l'état de maturation de la farine de blé (Figure 4.3.2.2). Pour des formulations identiques, la présence de 0,5 % de farine de soja dans la pâte est potentiellement plus efficace que celle de 1 % de farine de fève en terme de consommation d'oxygène et donc probablement d'oxydation des lipides contenus dans les pâtes. C'est en utilisant une farine à faible teneur en AGPI libres que les farines de légumineuses expriment le plus fortement leur potentiel oxydatif.

Dans une farine peu maturée dans laquelle la teneur en AGPI libres est faible, la vitesse de fixation covalente de l'oxygène est lente par rapport à la vitesse d'incorporation de ce dernier dans la pâte. Dès lors l'ajout de LOX exogène qui accroît la vitesse de fixation covalente provoquera une augmentation significative de la consommation d'O_2. A l'opposé, avec une farine maturée (riche en AGPI libres), la vitesse de fixation est plus rapide et se rapproche de celle de l'incorporation d'oxygène ce qui diminuera la part d'oxygène incorporé disponible pour une fixation covalente catalysée par les LOX exogènes. C'est ce qu'illustre la Figure 4.3.2.2 lorsque les surconsommations d'oxygène dues à l'ajout de farines de légumineuses dans les farines A et B sont comparées. L'effet est plus net avec la farine A (peu maturée) qu'avec la farine B (maturée).

De même, la levure en consommant de l'oxygène (métabolisme aérobie) incorporé à la pâte, diminue l'effet des farines de légumineuses sur la surconsommation d'oxygène ainsi que le montre la Figure 4.3.2.2 en comparant, à formulation identique, les différences de surconsommation dues à l'ajout de farines de légumineuses entre les pâtes non levurées et les pâtes levurées. L'effet est plus net sur la farine A que sur la farine B.

Cet ensemble de résultats met en évidence la compétition entre les différents facteurs de consommation d'oxygène au cours du pétrissage des pâtes de farine. Pour des conditions de pétrissage données (vitesse d'apport d'oxygène dans la pâte constante), cette compétition sera d'autant marquée que la farine de blé initiale sera maturée (riche en AGPI libres) et riche en activité lipoxygénasique.

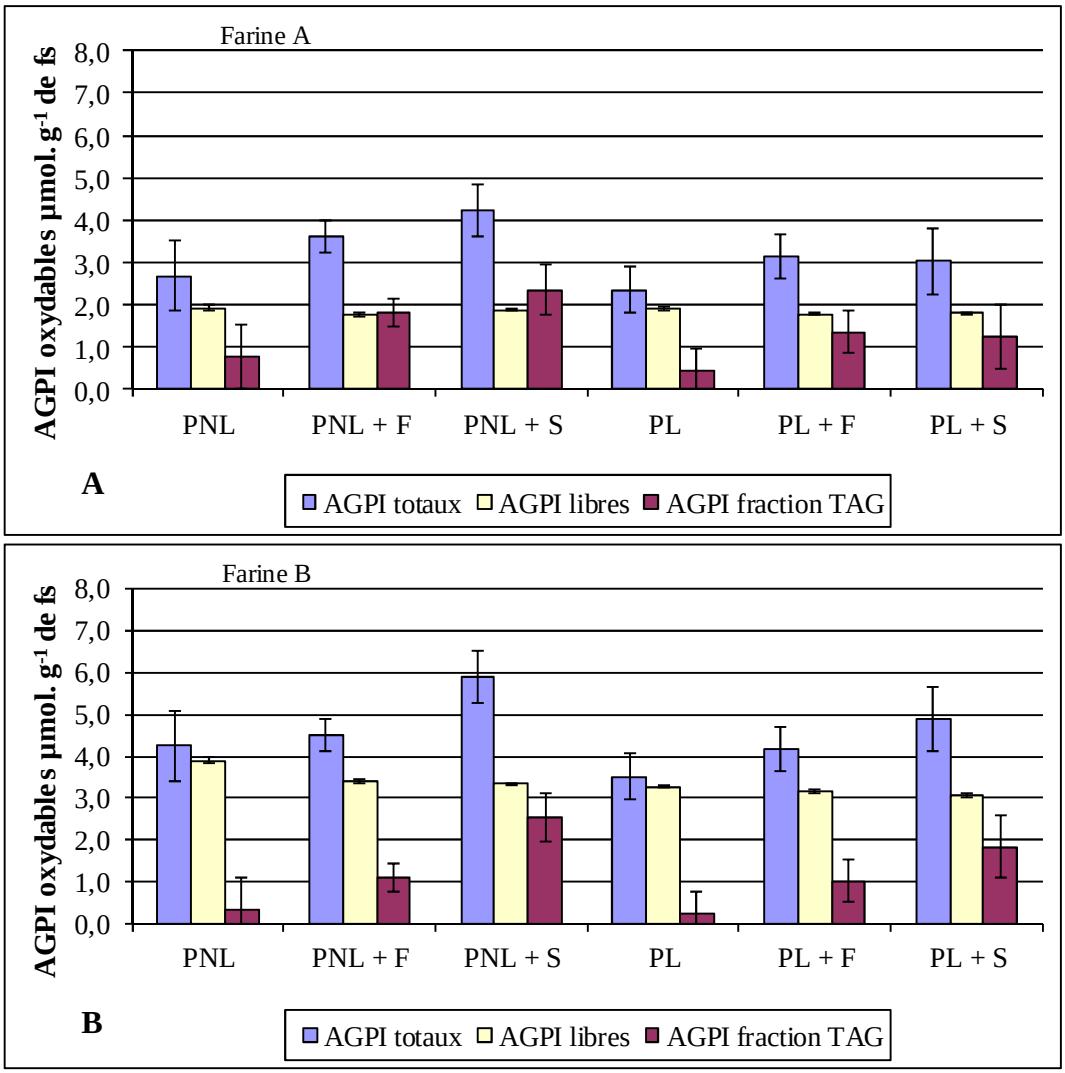


Figure 4.3.2.3 A et B : Effet de l'ajout de farine de fève et de soja sur la quantité d'AGPI oxydés provenant des fraction AGL libres et TAG de pâtes préparées avec une farine peu (A) ou très maturée (B).

4.3.2.2 Effet sur l'oxydation des lipides

a) Vue générale

La quantité totale d'AGPI oxydés (AGPI des fractions AG libres et TAG) est systématiquement plus élevée dans les pâtes préparées avec une farine maturée que dans celles obtenues avec une farine peu maturée, à formulation identique (Figures 4.3.2.3 A et B). Cela confirme donc que, dans nos conditions de pétrissage, l'activité LOX endogène du blé est limitée par le substrat lipidique oxydable lorsqu'une farine de blé ayant été stockée pendant une courte durée est utilisée.

Dans tous les cas, la présence de farine de légumineuses (ajout de LOX exogène) permet d'augmenter la quantité d'AGPI oxydés (dans les fractions AG libres et TAG) confirmant ainsi les observations et hypothèses établies lors de l'analyse des consommations d'oxygène (Figure 4.3.2.4). Plus précisément, l'augmentation globale est la résultante d'une nette augmentation de l'oxydation des AGPI dans les TAG et d'une faible diminution de celle des AGPI dans les AG libres. Enfin, à formulation identique, l'ajout de levure diminue systématiquement l'oxydation des AGPI probablement par compétition pour l'oxygène.

b) Vue détaillée (Figures 4.3.2.3 A et B)

- Analyse de la fraction TAG

Dans les pâtes témoins, la quantité d'AGPI oxydés dans la fraction TAG est comprise entre 3 % (avec levure) et 5 % (sans levure) de la quantité initialement présente dans les farines donnée dans le Tableau 4.3.2.3.

L'ajout de farine de légumineuses provoque toujours une augmentation de la quantité d'AGPI oxydés dans la fraction TAG quel que soit l'état de maturation de la farine de blé et que le pétrissage ait lieu en présence de levure ou non puisque les taux d'oxydation sont compris entre 8 et 20 %. Dans la plupart des cas, l'ajout de farine de soja provoque un accroissement plus important des AGPI oxydés que celui de la farine de fève. Enfin, lorsque la levure est présente pendant le pétrissage, l'augmentation de la quantité d'AGPI oxydés est systématiquement moins importante en particulier dans le cas de la farine de soja. La baisse est de 3 % pour les pâtes avec farine de fève et voisine de 7 % pour les pâtes avec farine de soja.

Ce dernier résultat est probablement une conséquence de la compétition entre les LOX endogène et exogène d'une part, et la levure d'autre part, pour l'utilisation de l'oxygène incorporé dans la pâte pendant le pétrissage, compétition déjà évoquée dans les paragraphes précédents.

- Analyse de la fraction AG libres

Dans les pâtes témoins, la quantité d'AGPI oxydés dans la fraction AG libres varie de 90 % (farine peu maturée) à 76 % (farine maturée) de la quantité initialement présente dans les farines donnée dans le Tableau 4.3.2.3. L'ajout de farine de légumineuse entraîne systématiquement une diminution du taux d'oxydation des AGPI libres. Ce taux est, en effet, compris entre 82 % en moyenne (farine peu maturée) après ajout de farine de fève et 63 % en moyenne (farine maturée) après ajout de farine de soja. Il est probable que lors de l'ajout de farine de légumineuse, une part de l'oxygène disponible soit utilisée par la LOX de légumineuse qui oxyde les AGPI dans les fractions AG libres et TAG au dépens de la LOX de blé qui oxyde préférentiellement les AGPI libres. Ceci explique que l'ajout de farine de légumineuses accroît le taux d'oxydation des AGPI dans la fraction TAG et simultanément le diminue légèrement dans la fraction AG libres.

L'ajout de levure n'a pas d'effet significatif sur l'oxydation des AGPI libres lorsque les pâtes sont préparées avec une farine de blé peu maturée contenant ou non une farine de légumineuses. Dans le cas du pétrissage d'une farine maturée, la présence de levure diminue l'oxydation des AGPI libres de la pâte témoin. Cette diminution est renforcée par l'ajout de farine de fève et de soja, phénomène déjà observé pour les AGPI de la fraction TAG.

En conclusion, que la farine de blé soit maturée ou non, la présence de farine de légumineuses permet d'augmenter le taux d'oxydation des lipides en utilisant une part de l'oxygène disponible pour oxyder les AGPI de la fraction TAG au détriment partiel de ceux présents dans la fraction AG libres. Dans les pâtes non levurées, 0,5 % de farine de soja semble avoir plus d'effet que 1 % de farine de fève. Cet écart diminue voire s'annule dans les pâtes levurées. Enfin, de la même façon, la levure en consommant pour son propre métabolisme une part de l'oxygène disponible, diminue l'effet de l'action des LOX exogène et endogène sur l'oxydation des AGPI dans les fractions AG libres et TAG.

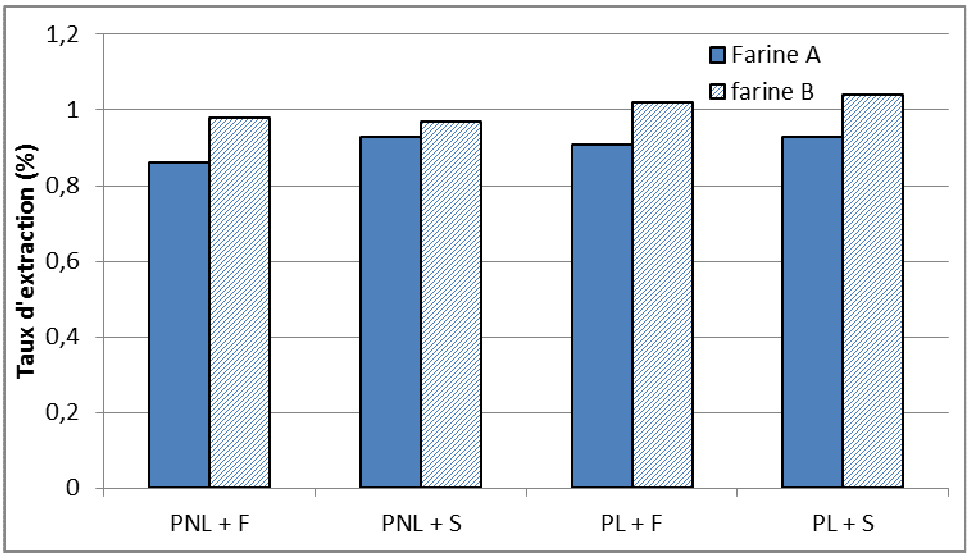


Figure 4.3.2.4 : Taux d'extraction des protéines des pâtes, levurées ou non, contenant ou non de la farine de fève ou de soja et préparée avec une farine de blé peu ou très maturée en pourcentage des pâtes témoins non levurées et levurées.

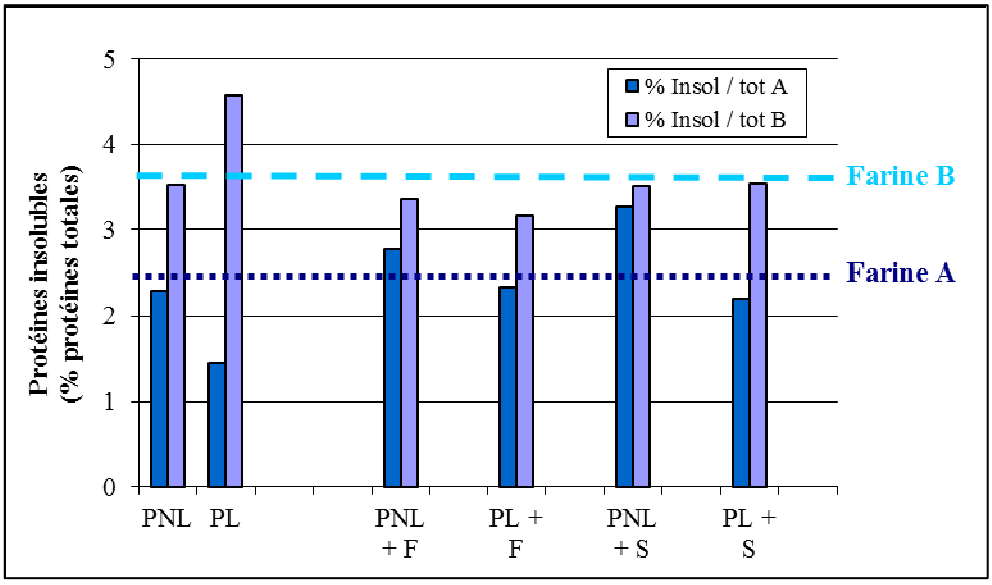


Figure 4.3.2.5 : Teneur relatives en protéines solubles et insoluble des pâtes non levurées et levurées contenant ou non de la farine de fève ou de soja et préparée avec une farine de blé peu ou très maturée.

4.3.2.3 Effet sur le profil protéique

a) Extraction des protéines (Figure 4.3.2.4)

Les taux d'extraction des protéines totales (solubles et insolubles dans le SDS) contenues dans les pâtes préparées avec une farine de blé peu maturée (farine A) sont compris entre 0,86 et 0,93 par rapport à la pâte témoin non levurée et entre 0,91 et 0,93 par rapport à la pâte témoin levurée. Dans le cas de pâtes pétries avec une farine maturée (farine B), les taux d'extraction sont compris entre 0,97 et 1,04. Ainsi, dans nos conditions expérimentales, c'est seulement avec une farine peu maturée que l'ajout de farine de fève et de soja diminue le taux d'extraction des protéines.

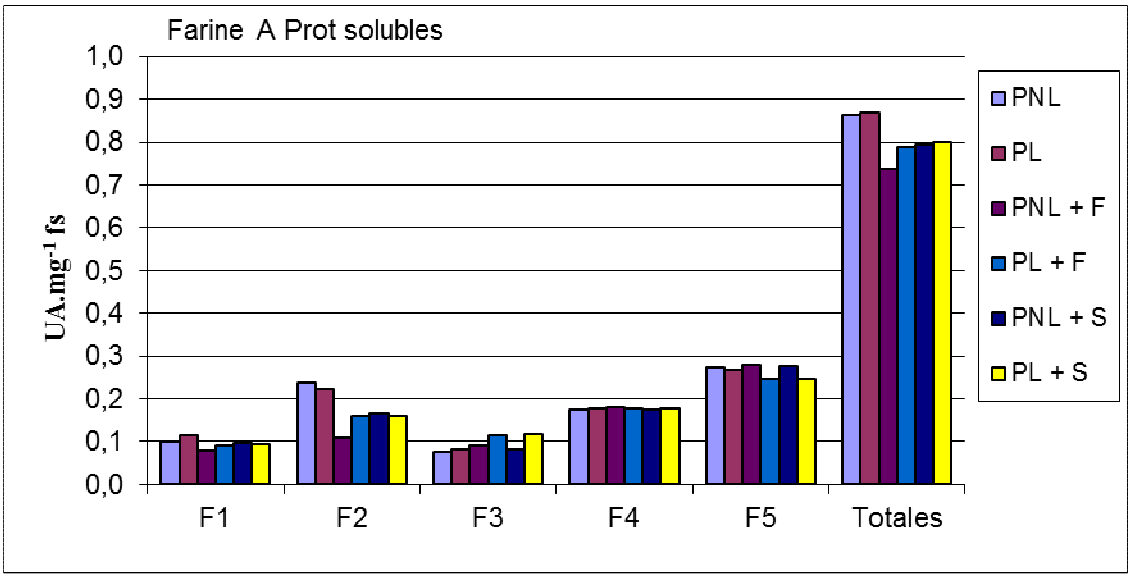
b) Analyse de la répartition protéines solubles / protéines insolubles

Pour l'ensemble des formulations de pâte, les pourcentages de protéines solubles sont toujours largement supérieurs à ceux des protéines insolubles puisque ces derniers restent toujours inférieurs à 5 % des protéines totales (Figure 4.3.2.5). Cependant, des différences apparaissent entre les deux farines de maturation différente. En effet, pour la farine A (fraîche), les pourcentages de protéines insolubles sont compris entre 1,4 et 3,2 % alors que pour la farine B (maturée), ils sont compris entre 3,2 et 4,6 % (Figure 4.3.2.5). Enfin, l'ajout de farine de fève ou de farine de soja provoque une augmentation de la proportion de protéines insolubles avec la farine A mais seulement dans les pâtes non levurées alors qu'il est sans effet avec la farine B.

Par ailleurs, les teneurs moyennes en protéines solubles sont inférieures de 20 % dans la farine A par rapport à la farine B (Figure 4.3.2.6) alors que celles des protéines insolubles sont deux fois plus faibles (Figure 4.3.2.7).

De façon plus détaillée pour les fractions solubles, une seule diminution significative (due pour l'essentiel aux fractions F1S et F2S) est observée pour la farine A (Figure 4.3.2.6 Farine A) alors qu'aucune variation importante n'est observée avec les pâtes issues de la farine B (Figure 4.3.2.6 Farine B).

En ce qui concerne les fractions de protéines insolubles, la présence de levure seule provoque une diminution significative de la teneur totale (due aux fractions F1I et F2I) pour la farine A (Figure 4.3.2.7 Farine A) alors que l'inverse est constaté avec la farine B (Figure 4.3.2.7 Farine B). En outre, pour la farine A, la présence de farine de soja seul provoque une augmentation nette de toutes les fractions de protéines insolubles à l'exception de F2I (Figure 4.3.2.8 Farine A).



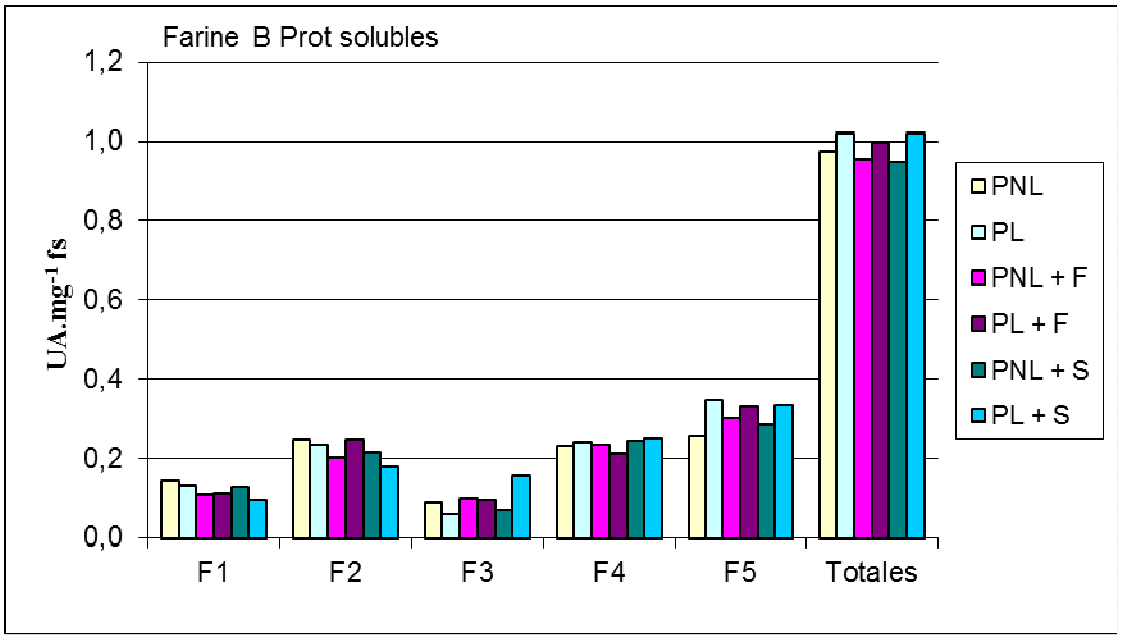


Figure 4.3.2.6 : Cartographie des protéines solubles de pâtes, levurées ou non et additionnées ou non de farine de fève ou de soja et préparées avec une farine peu (Farine A) ou très maturée (Farine B).

De plus, les pourcentages de F1 et F3 dans les protéines insolubles varient de 27 à 35 % et de 4 à 9 % dans les pâtes issues de la farine B (maturée) alors qu'ils varient de 21 à 24 % et de 9 à 16 % respectivement pour celles issues de la farine A (fraîche).

Il a été montré que la maturation des farines provoque une diminution de la teneur en thiols associée à une augmentation du ratio gluténines / gliadines (Bellenger et Godon, 1972). Ce phénomène serait lié à la cooxydation des thiols en ponts disulfures suite à la libération d'acides gras polyinsaturés (action lipolytique) puis à leur oxydation par la lipoxygénase présente dans la farine de blé (Nicolas et Drapron, 1983). Ceci expliquerait d'une part, le pourcentage plus important de protéines insolubles dans la farine B (maturée) par rapport à la farine A (fraîche) et d'autre part, la différence d'effet de l'ajout de farine de fève ou de soja riche en lipoxygénase entre les farines à taux de maturation différents. Il convient toutefois de rester prudent car nos résultats concernent deux farines issues de lots de blé différents qui peuvent engendrer des proportions de protéines solubles / protéines insolubles différentes dès la mouture indépendamment de la maturation. Il conviendrait de répéter notre expérimentation avec le même lot de farine à deux taux de maturation différents.

4.3.2.4 Effet rhéologique (consistographe)

a) Cas d'une farine de blé non maturée (Tableau 4.3.2.5)

L'ajout de farine de légumineuses diminue significativement la valeur de la pression après 250 s de pétrissage ainsi que la valeur du Pr_{max} par rapport aux pâtes témoin. A 450 s de mélange et jusqu'à la fin du pétrissage, seule la présence de farine de fève diminue significativement la fermeté des pâtes qu'elles soient levurées ou non.

La perte de fermeté entre l'instant où Pr_{max} est atteint et Pr_{450} (D_{450}) est significativement plus faible que celle des pâtes témoins en présence de farine de fève et de soja, sauf dans le cas de farine de fève ajoutée à une pâte levurée. Ceci peut être expliqué par la diminution du Pr_{max} par rapport à la pâte témoin. On constate également que la présence de farine de soja en l'absence de levure augmente la tolérance de la pâte au surpétrissage. Enfin, il semble que les effets rhéologiques des ajouts de farine de fève et de soja soient globalement moins marqués en présence de levure.

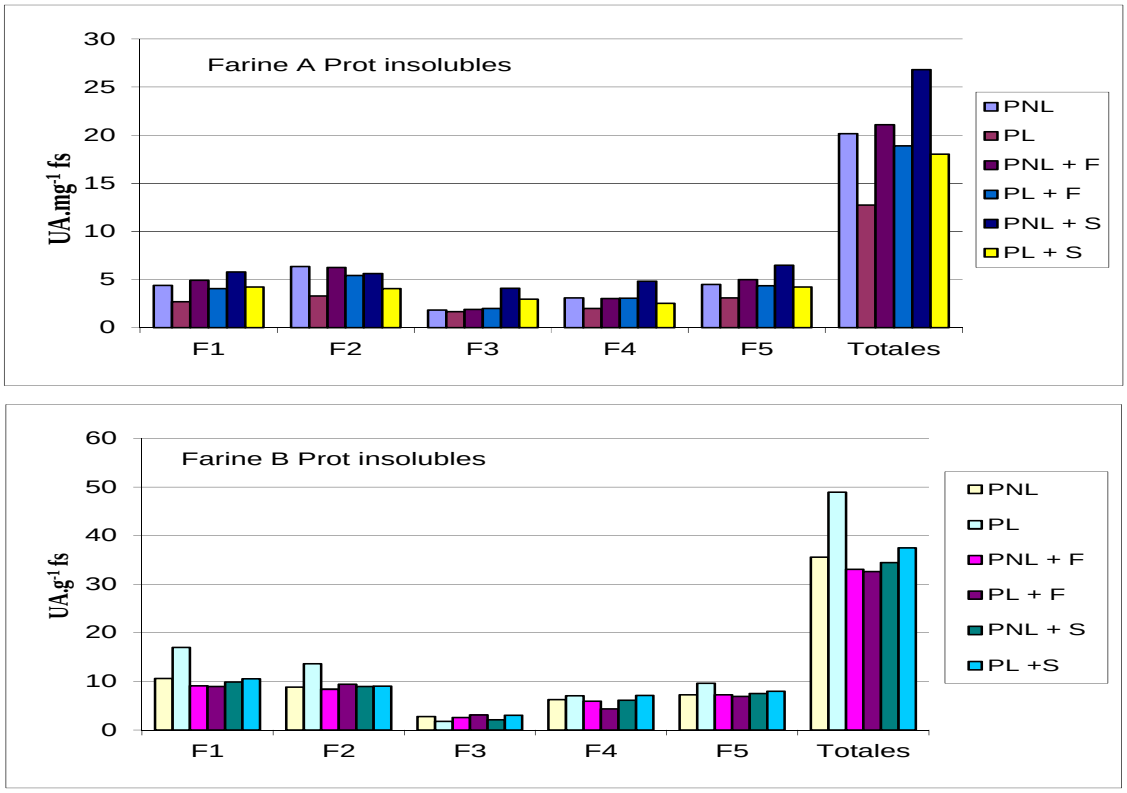


Figure 4.3.2.7 : Cartographie des protéines insolubles de pâtes, levurées ou non, additionnées ou non de farine de fève ou de soja et préparées avec une farine peu ou très maturée.

Tableau 4.3.2.5 A et B : Effet de l'ajout de farine de fève ou de soja par rapport aux pâtes témoins ([1] pâtes non levurées, [2] pâtes levurées) sur les caractéristiques rhéologiques. * signifie l'existence d'une différence significative avec le témoin.

5 A Farine A	PNL	Effet farine F sans levure [1](%)	Effet farine S sans levure [1](%)	PL	Effet farine F avec levure [2](%)	Effet farine S avec levure [2](%)
Pr_{max} (mbar)	1687 mbars	-11*	-7*	1723 mbars	-4*	-3*
TPr_{max} (s)	264 s	1	13	208 s	0	4
Pr_{250} (mbar)	1600 mbars	-11*	-8*	1633 mbars	-4*	-4*
Pr_{450} (mbar)	1255 mbars	-6*	-1	1179 mbars	-5*	1
D_{450} (mbar)	431 mbars	-24*	-26*	544 mbars	-1	-12*
Tolérance (s)	247 s	4	8*	215 s	0	3
Pr_{480} (mbar)	1209 mbars	-4*	0	1156 mbars	-5*	1

5 B Farine B	PNL	Effet farine F sans levure [1](%)	Effet farine S sans levure [1](%)	PL	Effet farine F avec levure [2](%)	Effet farine S avec levure [2](%)
Pr_{max} (mbar)	1404 mbars	-4*	-5*	1651 mbars	-11*	-6*
TPr_{max} (s)	281 s	-5	3	222 s	73	26
Pr_{250} (mbar)	1337 mbars	-9*	-14*	1583 mbars	-11*	-6*
Pr_{450} (mbar)	1065 mbars	-4	-1	1112 mbars	-3	3
D_{450} (mbar)	382 mbars	-16	-28*	469 mbars	-18	-12
Tolérance (s)	208 s	1	9*	250 s	-1	-11
Pr_{480} (mbar)	1003 mbars	-3	0	998 mbars	-1	4

b) Cas d’une farine de blé maturée (Tableau 4.3.2.5)

Comme pour les pâtes préparées avec une farine peu maturée, l’ajout de farine de fève ou de soja diminue les valeurs de Pr_{250} et de Pr_{max} indiquant une réduction de prise de force de la pâte. Seule la présence de farine de soja en absence de levure diminue significativement la valeur de D_{450}. Enfin, aucune farine de légumineuses n’a d’effet sur la tolérance des pâtes préparées avec une farine maturée en présence de levure ou non.

En conclusion, la présence de 1 % de farine de fève ou de 0,5 % de farine de soja diminue globalement les caractéristiques de fermeté des pâtes. Pour la farine de blé fraîche, les effets sont plus marqués avec la farine de fève qu’avec la farine de soja. Ils sont plus contrastés pour une farine de blé maturée. Enfin, l’ajout de levure réduit les effets des farines de légumineuses qu’elles soient ajoutées à une farine de blé fraîche ou maturée.

Tableau 4.3.3.1 A et B : Effet de l'ajout de GOX et de farine de fève ou de soja sur la consommation d'O_2 en fin de pétrissage d'une farine peu (Farine A) ou très maturée (Farine B) en présence de levure (B) ou non (A).

A)

Pâtes non levurées (PNL)	Farine A	Farine B
Ingrédients ajoutés à la pâte	O_2 consommé ($\mu mol.g^{-1}$ de farine sèche)	O_2 consommé ($\mu mol.g^{-1}$ de farine sèche)
Témoin	$3,42 \pm 0,15^{a}$	$4,96 \pm 0,07^{a}$
GOX	$3,91 \pm 0,16^{b}$	$5,47 \pm 0,15^{b}$
1 % farine F	$5,04 \pm 0,13^{c}$	$5,46 \pm 0,06^{b}$
0,5 % farine S	$5,52 \pm 0,23^{d}$	$5,54 \pm 0,17^{b}$
GOX + 1 % farine F	$5,39 \pm 0,15^{d}$	$5,84 \pm 0,06^{c}$
GOX + 0,5 % farine S	$5,76 \pm 0,18^{e}$	$5,98 \pm 0,04^{d}$

B)

Pâtes levurées (PL)	Farine A	Farine B
Ingrédients ajoutés à la pâte	O_2 consommé ($\mu mol.g^{-1}$ de fs)	O_2 consommé ($\mu mol.g^{-1}$ de fs)
Témoin	$4,72 \pm 0,10^{a}$	$5,25 \pm 0,14^{a}$
GOX	$5,82 \pm 0,21^{b}$	$5,45 \pm 0,13^{b}$
1 % farine F	$5,82 \pm 0,24^{b;c}$	$6,23 \pm 0,04^{c}$
0,5 % farine S	$5,85 \pm 0,28^{c;d}$	$6,30 \pm 0,11^{c}$
GOX + 1 % farine F	$6,15 \pm 0,12^{d;e}$	$6,30 \pm 0,03^{d}$
GOX + 0,5 % farine S	$6,26 \pm 0,18^{e}$	$6,31 \pm 0,08^{d}$

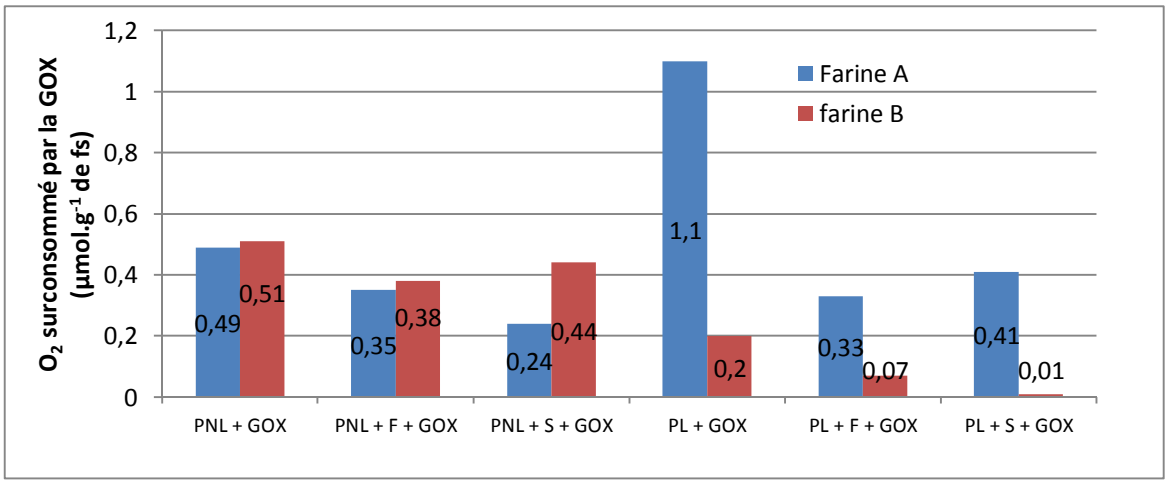


Figure 4.3.3.1 : Effet de l'ajout de GOX sur la surconsommation d'O_2 en fin de pétrissage, par rapport aux pâtes de formulation identique sans GOX.

4.3.3 Effet de l'ajout de GOX à une pâte levurée ou non et contenant une farine de légumineuse selon l'état de maturation de la farine

Les travaux précédents ont mis en évidence l'existence d'une compétition entre la LOX exogène, la levure et la GOX ainsi qu'entre la LOX endogène la levure et les LOX exogènes pour l'utilisation de l'oxygène incorporé à la pâte au cours du pétrissage. La question qui se pose alors porte sur les caractéristiques bio-physicochimiques des pâtes lorsque sont associées à la LOX endogène à la fois la levure, la LOX exogène et la GOX.

4.3.3.1 Effet sur les consommations d'O_2 des pâtes

a) Ajout de GOX et de farine de fève ou de soja dans des pâtes non levurées (Tableau 4.3.3.1 et Figure 4.3.3.1 A et B)

Une augmentation de la consommation globale d'O_2 en fin de pétrissage est constatée par rapport à la pâte témoin lors de l'ajout de GOX dans les pâtes non levurées (en moyenne une surconsommation de 0,50 µmol.g^{-1} de fs).

Avec les pâtes préparées avec la farine A (peu maturée) en présence de farine de légumineuse, l'ajout de GOX provoque une surconsommation d'O_2 égale à 0,35 (= 5,39 - 5,04) µmol.g^{-1} de fs pour le mélange avec farine de fève et à 0,24 (= 5,76 – 5,52) µmol.g^{-1} de fs pour le mélange avec farine de soja.

Dans le cas de l'utilisation de la farine B (maturée) avec farine de légumineuses, l'ajout de GOX entraîne une surconsommation d'O_2 de 0,38 (= 5,84 – 5,46) µmol.g^{-1} de fs pour les mélanges avec farine de fève et de 0,44 (= 5,98 – 5,54) µmol.g^{-1} de fs pour ceux avec farine de soja.

b) Ajout de GOX et de farine de fève ou de soja dans des pâtes levurées levurées (Tableau 4.3.3.1 et Figure 4.3.3.1 A et B)

Dans le cas d'une pâte levurée, l'ajout de GOX provoque une surconsommation de + 1,10 µmol.g^{-1} de ms (Farine A) et de + 0,20 µmol.g^{-1} de ms (Farine B) µmol.g^{-1} de fs, par rapport aux pâtes témoins. Dans les mélanges avec farine de légumineuse, l'ajout de GOX entraîne une surconsommation égale à 0,33 (= 6,15 – 5,82) et 0,41 (= 6,26 – 5,85) µmol.g^{-1} de fs avec la farine A supplémentée par la farine de fève et par celle de soja respectivement. Elle est encore plus faible voire quasi nulle avec la farine maturée, soit + 0,07 et + 0,01 µmol.g^{-1} de fs avec la farine B supplémentée par la farine de fève et par celle de soja respectivement.

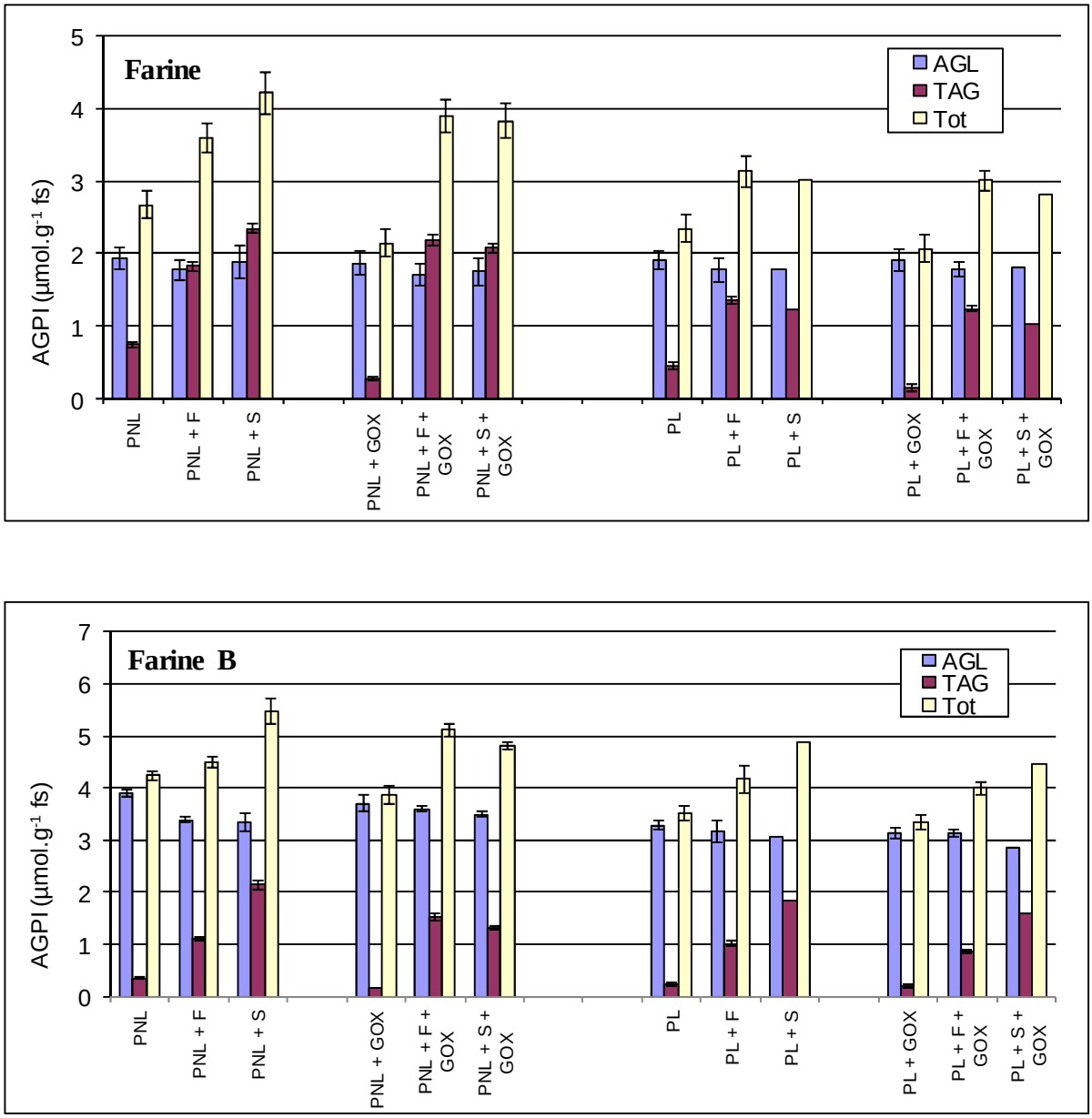


Figure 4.3.3.2 : Effet de l'ajout de GOX et/ou de farine de fève ou de soja sur l'oxydation des AGPI (AGPI libres, AGPI de la fraction TAG et AGPI totaux).

Lorsque l'effet de l'ajout de GOX sur les pâtes réalisées avec les farines A et B additionnées de farine de légumineuses est comparé, il apparaît que la surconsommation d'O_2 provoquée par cet ajout est plus importante avec la farine A lorsque les pâtes sont levurées. Ceci peut s'expliquer par la présence d'une plus grande quantité d'AGPI libres dans la farine B (maturée) qui favorise la consommation d'oxygène par les LOX (endogène et exogène). Dès lors, la compétition pour l'utilisation de l'oxygène incorporé dans la pâte entre les LOX, la GOX et la levure est plus forte avec la farine B qu'avec la farine A. Du même coup, la part d'oxygène utilisée par la GOX étant plus faible avec la farine B, la surconsommation due à l'ajout de GOX est moins importante avec cette farine. Il est possible également que dans le cas de la farine A (dont la teneur en AGPI libres est limitante pour la LOX), la levure favorise l'action de la GOX au cours du pétrissage en lui fournissant du glucose par l'intermédiaire de son activité invertasique (Potus *et al.,* 1994).

4.3.3.2 Effet sur l'oxydation des fractions lipidiques

Dans le cas de la farine A, l'ajout de GOX provoque une diminution significative des pertes totales en AGPI dans les fractions d'AG libres et dans les fractions TAG dans les pâtes non levurées témoin et supplémentées en farine de soja (Figure 4.3.3.2 Farine A). Cette diminution affecte également les mêmes pâtes levurées mais de façon moins nette. Dans le cas de la farine B, l'ajout de GOX provoque toujours une diminution pour les mêmes pâtes non levurées, mais plus faiblement que celles observées pour la farine A (Figure 4.3.3.2 Farine B). Dans le cas des pâtes levurées issues de la farine B, les pertes ne sont plus significatives.

Lorsque la répartition des pertes en AGPI entre les AGPI libres et ceux estérifiés de la fraction TAG est examinée, il apparaît que l'ajout de GOX n'a pas d'effet significatif sur les pertes en AGPI libres quelles que soient le type de farine et la formulation mise en œuvre. A l'opposé, l'ajout de GOX provoque une nette diminution des pertes en AGPI dans la fraction TAG, en particulier dans les pâtes témoins de la farine A (- 0,47 et - 0,28 µmol d'AGPI g^{-1} fs, pour les pâtes non levurées et levurées respectivement). Cette diminution est aussi observée dans les pâtes supplémentées en farine de soja.Elle est toujours plus importante pour les pâtes non levurées que pour les pâtes levurées. Dans le cas de la farine B, les résultats sur les AGPI présents dans la fraction TAG conduisent aux mêmes observations mais, là encore, avec des écarts moins importants que ceux observés avec la farine A.

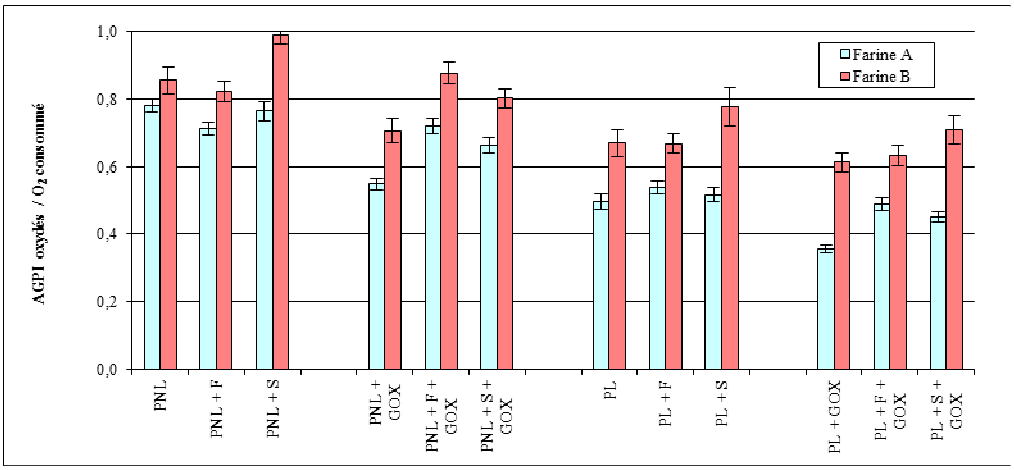


Figure 4.3.3.3 : Valeurs du rapport AGPI totaux oxydés / O_2 consommé en fonction de la formulation des pâtes.

Tableau 4.3.3.2 : Effet de la levure et/ou de la GOX sur les valeurs du rapport AGPI totaux oxydés / O_2 consommé.

	Pâte	AGPI / O_2	ET	Moy globale	Moy±L	Moy±GOX	Moy±GOX±L
Farine A	PNL	0,78	0,02				
	PNL + F	0,71	0,02				0,75
	PNL + S	0,76	0,03			0,64	
	PNL + GOX	0,55	0,02				
	PNL + F + GOX	0,72	0,02				0,64
	PNL + S + GOX	0,66	0,02		0,70		
	PL	0,50	0,02				
	PL + F	0,54	0,02				0,52
	PL + S	0,52	0,02			0,54	
	PL + GOX	0,36	0,01				
	PL + F + GOX	0,49	0,02				0,43
	PL + S + GOX	0,45	0,01	0,59	0,47		
Farine B	PNL	0,86	0,04				
	PNL + F	0,82	0,03				0,89
	PNL + S	0,99	0,03			0,80	
	PNL + GOX	0,71	0,04				
	PNL + F + GOX	0,88	0,03				0,80
	PNL + S + GOX	0,80	0,03		0,84		
	PL	0,67	0,04				
	PL + F	0,67	0,03				0,70
	PL + S	0,78	0,06			0,72	
	PL + GOX	0,61	0,03				
	PL + F + GOX	0,63	0,03				0,65
	PL + S + GOX	0,71	0,04	0,76	0,68		

Les explications avancées pour justifier des effets différents de l'ajout de GOX sur la consommation d'oxygène pendant le pétrissage peuvent être aussi utilisées pour la justification des différences observées sur les niveaux d'oxydation des AGPI. En effet, l'ajout de GOX introduit un compétiteur supplémentaire pour l'utilisation de l'oxygène incorporé dans les pâtes. Lors de cet ajout, la part d'oxygène prélevée sur ce qui était utilisé par la LOX de blé en absence de GOX est probablement plus élevée dans le cas de la farine A (peu maturée) que dans celui de la farine B (maturée) plus favorable à l'action de la LOX car plus riche en AGPI libres. De même, l'ajout de LOX exogène (farine de fève ou farine de soja) réduit la part d'oxygène dévolue à l'action de la GOX et du même coup diminue son effet sur la réduction des pertes en AGPI. Enfin, de la même façon, l'ajout de levure, compétiteur pour l'utilisation de l'oxygène incorporé dans les pâtes, conduit à une diminution de l'effet de la GOX sur les AGPI en particulier dans le cas de la farine B (maturée), favorable à l'action de la LOX, dans laquelle la compétition pour l'oxygène est plus forte.

4.3.3.3. Comparaison de l'oxygène consommé et des AGPI disparus pendant le pétrissage

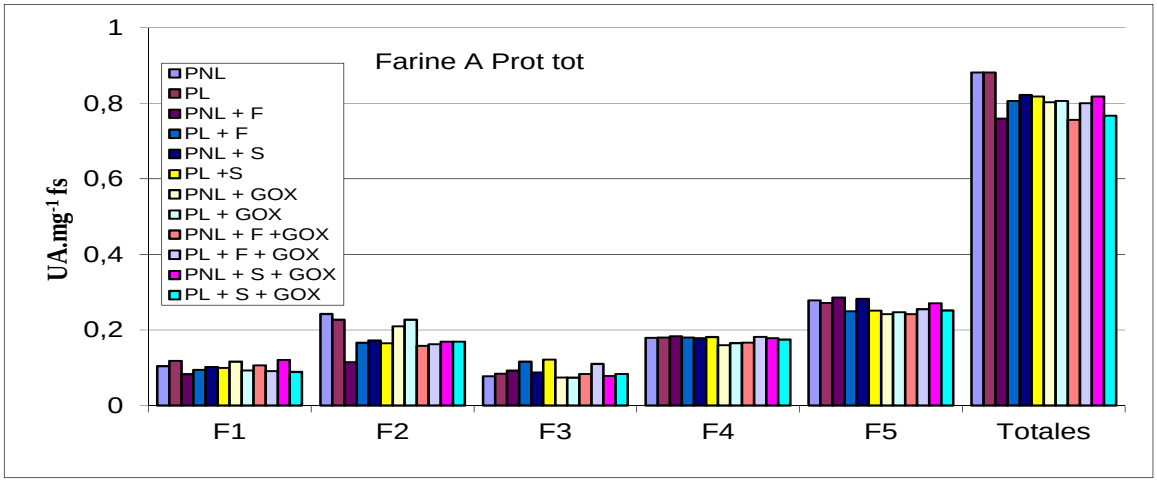
Nous avons observé que chaque addition d'un compétiteur pour l'utilisation de l'oxygène (farine de fève ou de soja, GOX et levure) conduisait à une augmentation de la consommation d'oxygène mais avec des effets variables sur l'oxydation des AGPI. De plus, ces effets sont différents suivant l'état de maturation de la farine.

La Figure 4.3.3.3 associée au Tableau 4.3.3.2 montre les valeurs du rapport AGPI oxydés / oxygène consommé dans les différentes modalités étudiées pour les deux farines A et B.

Pour des modalités identiques, le rapport AGPI / O_2 est toujours plus élevé pour la farine B que pour la farine A. Ce résultat pouvait être anticipé puisque la farine B (maturée) contient une quantité plus importante d'AGPI libres facilement oxydables par la LOX.

Dans la farine A, le rapport AGPI / O_2 est plus élevé dans les pâtes non levurées (Moyenne = 0,70) que dans les pâtes levurées (Moyenne = 0,47). Le résultat est identique dans le cas de la farine B mais avec des écarts moins importants (Moyenne = 0,80 pour les pâtes non levurées et Moyenne = 0,68 pour les pâtes levurées). L'ajout d'un compétiteur qui consomme de l'oxygène sans oxyder les AGPI (la levure) explique facilement ce résultat. Là encore, la compétition est plus favorable au système oxydant les AGPI dans le cas de la farine B.

Dans le cas de la farine A, le rapport AGPI / O_2 est plus élevé dans les pâtes sans GOX (moyenne = 0,64) que dans les pâtes qui en contiennent (moyenne = 0,54).



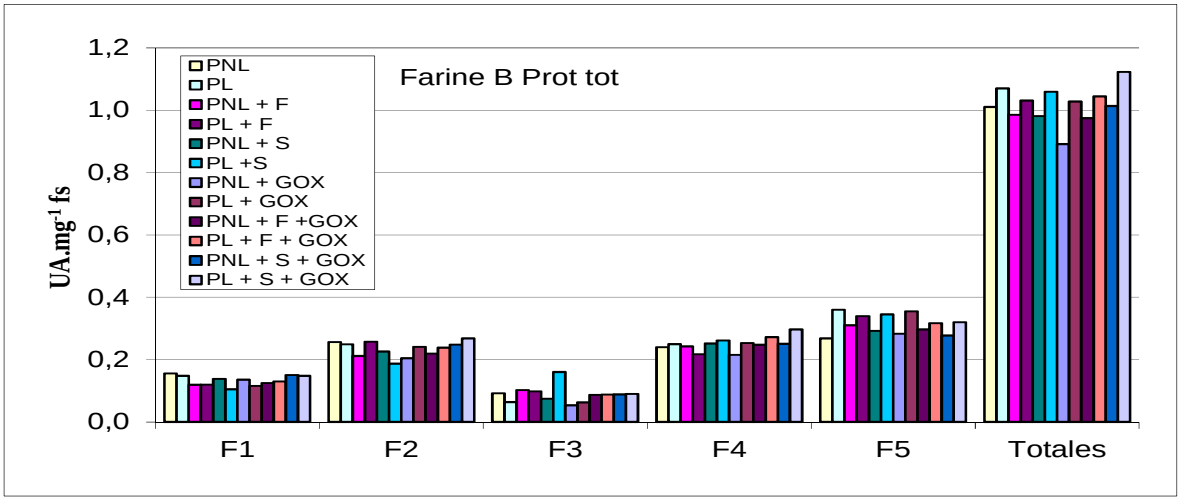


Figure 4.3.3.4 : Effet de l'ajout de GOX et de farine de fève ou de soja sur le la cartographie des protéines totales contenues dans les pâtes préparées avec une farine peu maturée (Farine A) ou très maturée (Farine B) en présence de levure ou non.

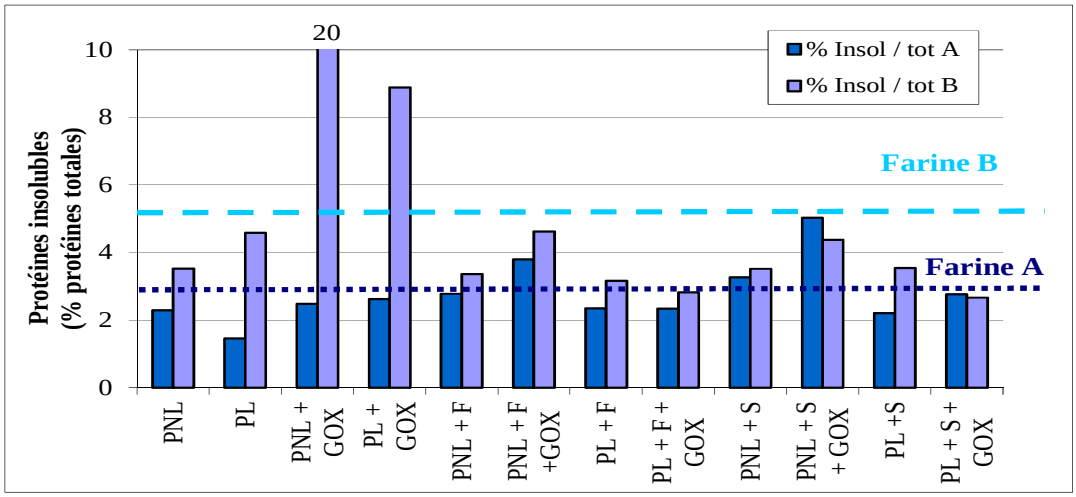


Figure 4.3.3.5 : Teneur en protéines insolubles de pâtes levurées ou non et additionnées de GOX et de LOX de farine de fève et de soja par rapport à la teneur totale en protéines.

Le résultat est identique dans le cas de la farine B mais avec des écarts moins importants (Moyenne = 0,84 pour les pâtes avec GOX et moyenne = 0,72 pour les pâtes sans GOX). De la même façon qu'avec la levure, l'ajout d'un compétiteur qui consomme de l'oxygène sans oxyder les AGPI (la GOX) explique ce résultat. Dans nos conditions expérimentales, il apparaît que l'effet de l'ajout de 1 % de levure provoque un effet plus marqué sur la diminution du rapport AGPI oxydés / oxygène consommé que l'ajout de GOX (690 $nkat.g^{-1}$ de fs).

4.3.3.4 Effet sur le profil protéique des pâtes

a) Extraction des protéines (Figure 4.3.3.4)

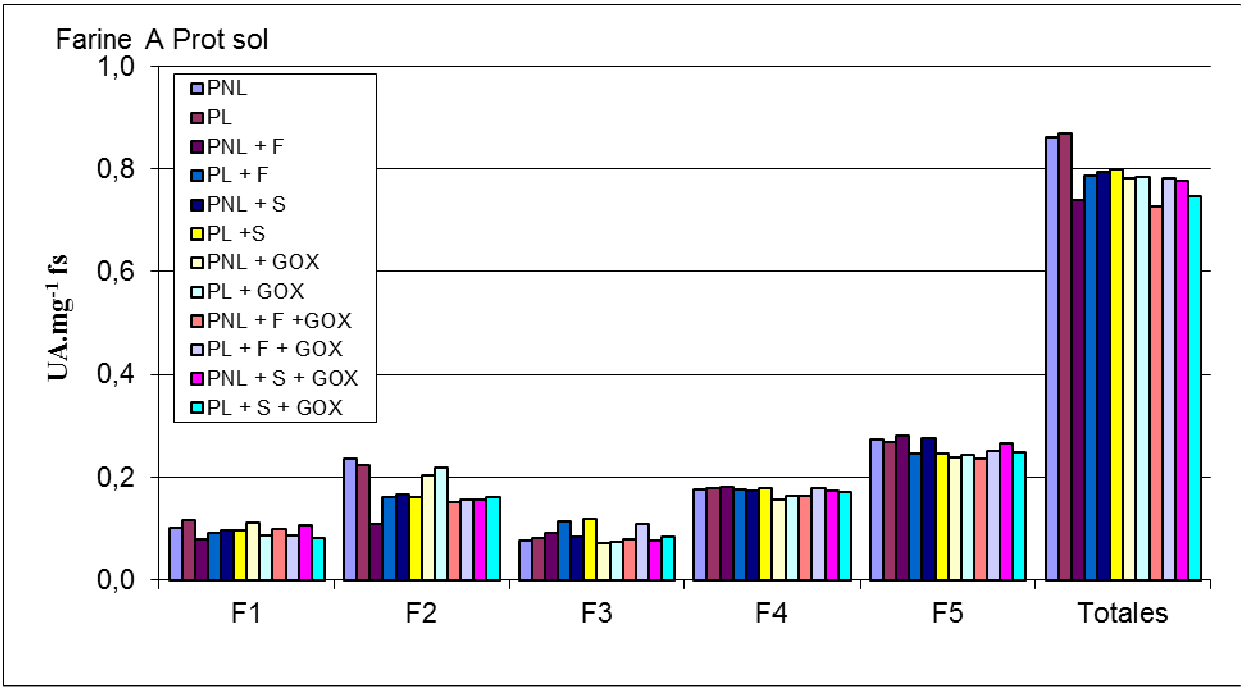
L'ajout de GOX diminue de 10 % la quantité totale de protéines extraites à partir des pâtes témoins avec la farine A et la farine B. Le même niveau de diminution est également observé avec la pâte levurée obtenue à partir de la farine A. Pour toutes les autres pâtes, l'ajout de GOX provoque des variations inférieures à 8 % par rapport aux pâtes à formulation identique mais sans GOX.

b) Analyse de la répartition protéines solubles / protéines insolubles (Figure 4.3.3.5)

Pour l'ensemble des formulations de pâte contenant de la GOX, les pourcentages de protéines solubles sont toujours nettement supérieurs à ceux des protéines insolubles puisque ces derniers sont en moyenne de 5,2 % des protéines totales. Le pourcentage de protéines insolubles augment puisqu'en moyenne, il est de 3,2 % dans les pâtes sans GOX. Par ailleurs, de nettes différences apparaissent entre les deux farines de maturation différente. En effet, pour les pâtes contenant de la GOX et issues de la farine A (fraîche), les pourcentages de protéines insolubles sont compris entre 2,3 et 5 % alors que pour la farine B (maturée), ils varient entre 2,8 et 20 % (Figure 4.3.3.5).

Comme dans le cas des pâtes sans GOX, les teneurs moyennes en protéines solubles des pâtes avec GOX sont inférieures de 20 % dans la farine A par rapport à la farine B (Figure 4.3.3.6) alors que celles des protéines insolubles sont deux fois plus faibles (Figure 4.3.3.7).

De façon plus détaillée pour les fractions solubles, une seule diminution significative (10 %) est observée après ajout de GOX seule ou avec levure pour la farine A (Figure 4.3.3.6 Farine A). Une diminution plus importante (25 %) est observée après ajout de la GOX seule avec la farine B (Figure 4.3.3.6 Farine B).



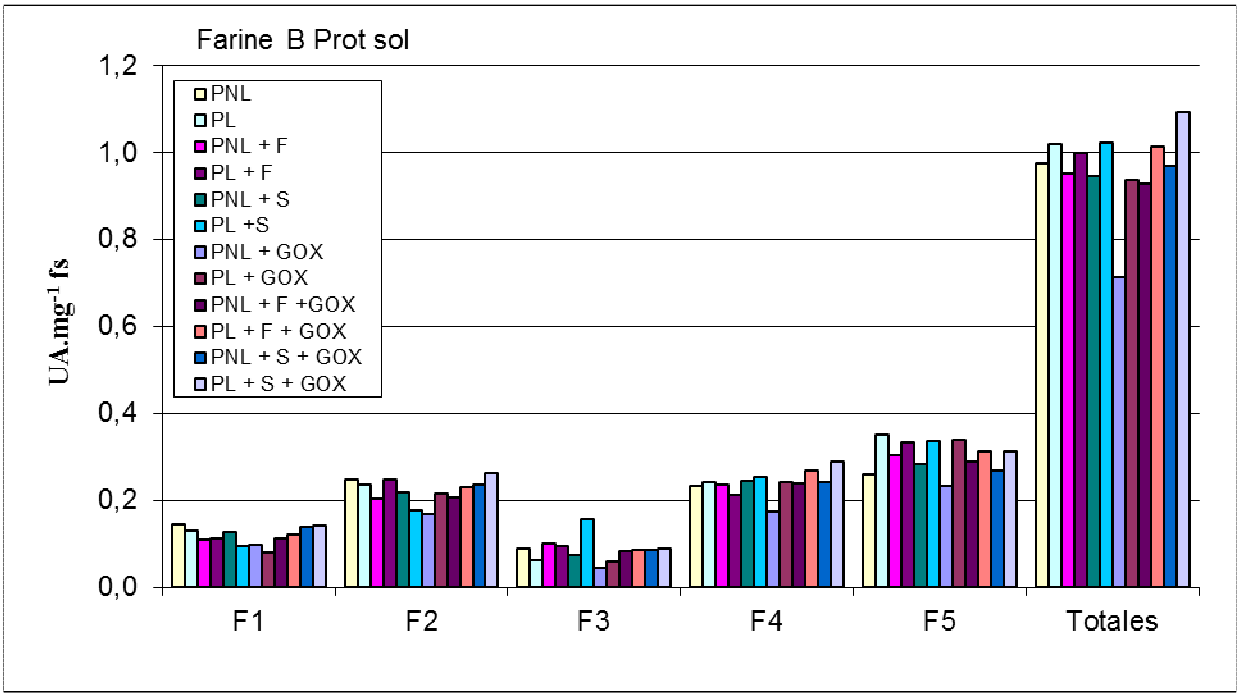


Figure 4.3.3.6 : Effet de l'ajout de GOX et de farine de fève ou de soja sur le la cartographie des protéines solubles contenues dans les pâtes préparées avec une farine peu maturée (Farine A) ou très maturée (Farine B) en présence de levure ou non.

Pour la farine A, la diminution concerne la fraction F2S lorsque la GOX est seule et l'ensemble des fractions solubles lorsque la GOX est associée à la levure. Pour la farine B, la diminution concerne l'ensemble des fractions lors de l'ajout de la GOX seule.

En ce qui concerne les fractions de protéines insolubles, les effets sont plus variés (Figure 4.3.7). Pour la farine A, si l'ajout de GOX est sans effet sur la pâte témoin, il provoque une augmentation significative pour les pâtes avec levure, avec farine de fève et avec farine de soja. Cette augmentation concerne surtout les fractions F1I et F2I (Figure 4.3.3.7 Farine A). Pour la farine B, l'ajout de GOX provoque toujours une augmentation sauf lorsqu'il y a simultanément présence de levure et de farine de légumineuses (Figure 4.3.3.7 Farine B). L'augmentation est particulièrement importante dans les pâtes avec GOX seule ou avec levure. Dans ces cas, elle concerne l'ensemble des fractions de protéines insolubles.

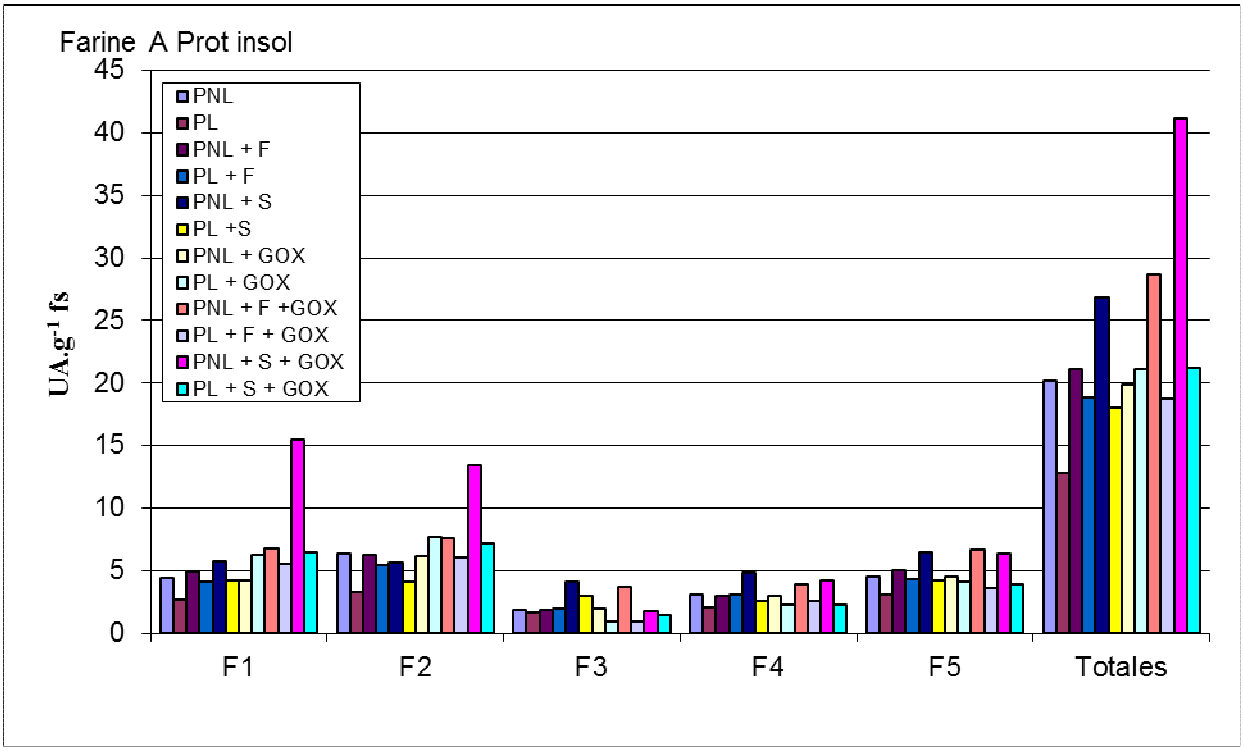
4.3.3.5 Effet rhéologique de la GOX en présence de farine de légumineuse

a) Farine A (Tableau 4.3.3.3)

L'ajout de farine de légumineuses et de GOX diminue l'effet de la GOX sur le Pr_{450}, le D_{450}, la tolérance et le Pr_{480} par rapport à la pâte contenant uniquement de la GOX. Un constat similaire peut être fait sur les pâtes levurées. On constate donc une perte de l'effet de la GOX sur la fermeté des pâtes ainsi qu'une diminution de la tolérance au surpétrissage. Ceci montre que l'ajout de LOX exogènes *via* les farines de fève et de soja limite l'effet de la GOX sur les propriétés rhéologiques de la pâte probablement à cause d'une compétition pour l'oxygène.

b) Farine B (Tableau 4.3.3.4)

Dans le cas de l'utilisation d'une farine très maturée pour des pâtes levurées ou non, la combinaison farine de légumineuses et GOX diminue l'effet de la GOX sur le Pr_{250}, Pr_{450}, le D_{450}, la tolérance et le Pr_{480} par rapport à la pâte contenant uniquement de la GOX. On constate donc une perte de l'effet de la GOX sur la fermeté des pâtes en fin de pétrissage, une diminution de la tolérance au surpétrissage mais aussi un retard de prise de consistance (diminution du Pr_{250} sans que le Pr_{max} ne soit modifié). L'utilisation d'une farine de légumineuse en présence de GOX diminue également dans cette série d'expérimentations l'effet de la GOX sur les propriétés rhéologiques de la pâte. Néanmoins, il semble que l'utilisation d'une farine maturée soit plus pénalisante dans le cas d'un mélange GOX et farine de légumineuse puisque qu'un retard de prise de consistance de la pâte est constaté.



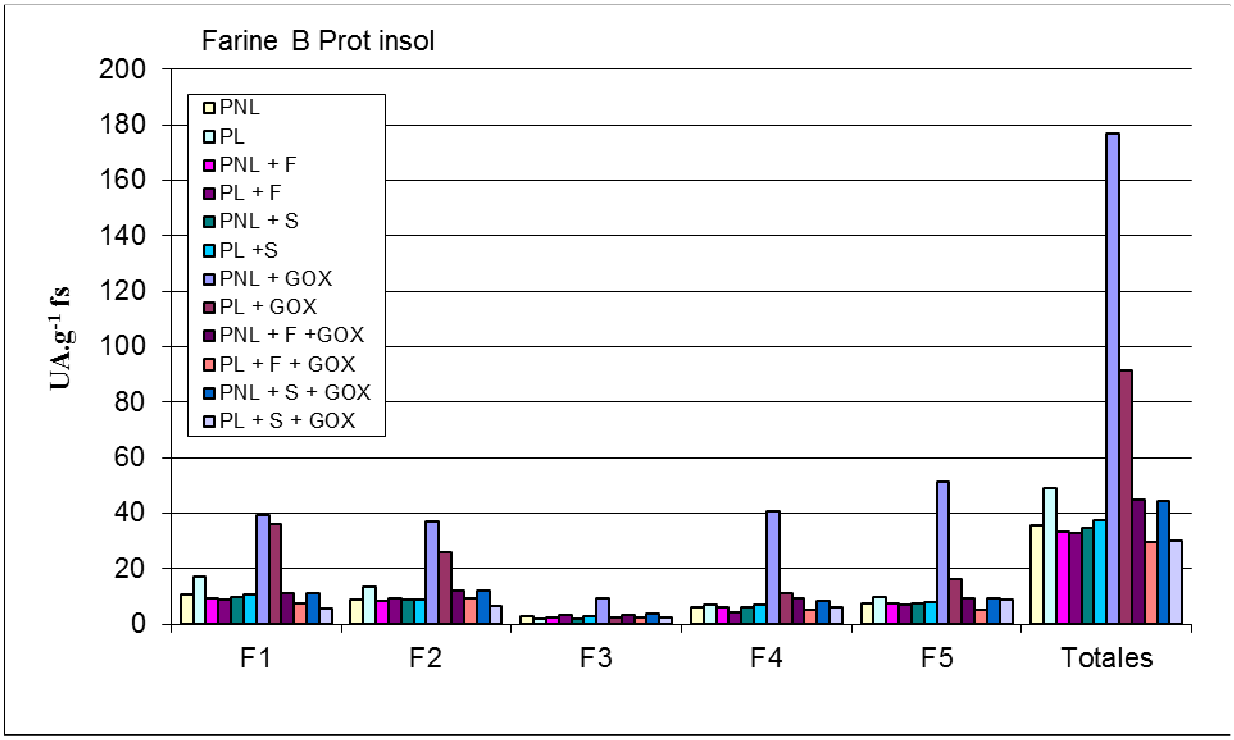


Figure 4.3.3.7 : Effet de l'ajout de GOX et de farine de fève ou de soja sur le la cartographie des protéines insolubles contenues dans les pâtes préparées avec une farine peu maturée (Farine A) ou très maturée (Farine B) en présence de levure ou non.

Tableau 4.3.3.3 : Effet de l'ajout de farine de légumineuses et de GOX sur les indices déterminés à l'aide du consistographe pour des pâtes levurées ou non et pétries avec une farine peu maturée (Farine A). Les résultats sont exprimés en % par rapport à la pâte témoin et * signifie qu'il y a une différence significative avec la pâte témoin.

Pâtes non levurées (farine A)	Témoin	GOX	Farine F + GOX	Farine FS+ GOX
Pr_{max} (mbar)	1687 mbar	-7*	-7*	-8*
Pr_{250}(mbar)	264 mbar	-8*	-7*	-9*
Pr_{450} (mbar)	1600 mbar	4	-2	1
D_{450} (mbar)	1255 mbar	-40*	-24*	-32*
Tolérance (s)	247 s	15*	7	15*
Pr_{480} (mbar)	1209 mbar	5*	-2	0
Pâtes levurées (farine A)	Témoin	GOX	Farine F + GOX	Farine FS+ GOX
Pr_{max} (mbar)	1723 mbar	-2	-3	-6*
Pr_{250} (mbar)	208 mbar	2	1	-4*
Pr_{450} (mbar)	1633 mbar	15*	8*	6*
D_{450} (mbar)	1179 mbar	-40*	-27*	-32*
Tolérance(s)	215 s	53*	24*	28*
Pr_{480} (mbar)	1156 mbar	15*	8*	6*

Tableau 4.3.3.4 : Effet de l'ajout de farine de légumineuses et de GOX sur les indices déterminés à l'aide du consistographe pour des pâtes levurées ou non et pétries avec une farine très maturée (Farine B). Les résultats sont exprimés en % par rapport à la pâte témoin et * signifie qu'il y a une différence significative avec la pâte témoin.

Pâtes non levurées (farine B)	Témoin	GOX	Farine F + GOX	Farine FS+ GOX
Pr_{max} (mbar)	1404 mbar	-2	-4	-2
Pr_{250} (mbar)	281 mbar	3	-6	-9
Pr_{450} (mbar)	1337 mbar	11*	0	6
D_{450} (mbar)	1065 mbar	-43*	-27*	-36*
Tolérance (s)	208 s	43*	21*	15*
Pr_{480} (mbar)	1003 mbar	6	-1	1
Pâtes levurées (farine B)	Témoin	GOX	Farine F + GOX	Farine FS+ GOX
Pr_{Max} (mbar)	1651 mbar	1	0	-9*
Pr_{250} (mbar)	222mbar	9*	1	-9*
Pr_{450} (mbar)	1583 mbar	9*	2	1
D_{450} (mbar)	1112 mbar	-3	-6	-31
Tolérance (s)	250 s	1	-2	-2
Pr_{480} (mbar)	998 mbar	11*	4	3

4.4 Effet des atmosphères enrichies ou appauvries en O_2 sur les caractéristiques des pâtes et des pains

Il a été montré dans les chapitres précédents que les systèmes oxydoréducteurs endo- et exogènes de la farine de blé consomment une quantité non négligeable d'O_2 au cours du pétrissage. Cependant, l'utilisation de l'oxygène par ces systèmes est apparemment limitée par l'incorporation de l'O_2 au moins pendant la première moitié du temps de pétrissage dans nos conditions expérimentales standard. Des compétitions, entre les systèmes consommateurs d'oxygène, sont visibles tant au niveau biochimique (diminution de l'oxydation des AGPI libres, des pigments caroténoïdes) que rhéologique (diminution de l'effet de la GOX sur l'élasticité de la pâte). Il a donc été proposé d'utiliser des atmosphères modifiées dont les concentrations en oxygène sont variables afin de constater l'effet de la concentration initiale en O_2 sur :

- la consommation d'O_2 et l'apparition de CO_2 au cours du pétrissage ;
- la viscoélasticité de la pâte après pétrissage ;

ainsi que, pour une part des expérimentations, sur :

- le volume spécifique des pâtes contenant 1 % de levure sèche au cours de la fermentation ;
- les caractéristiques des produits finis.

L'analyse des données $O_{2consommé}$, $CO_{2\ apparu}$ et $CO_{2retenu}$ nécessitant un bilan des composants de la phase gazeuse au début du pétrissage ainsi qu'un confinement total du pétrin, il n'est pas envisageable de modifier l'atmosphère au cours du pétrissage. Pour cette raison, une atmosphère modifiée est créée dans l'enceinte du pétrin avant le début du pétrissage, une fois la cuve remplie de l'ensemble des ingrédients.

Pour réaliser des atmosphères à teneurs variables en O_2, deux méthodes sont utilisées :

- injection soit d'O_2 pour augmenter le % d'O_2, soit de N_2 pour diminuer le % de O_2, tout en restant à une pression de la phase gazeuse du système égale à la pression atmosphérique ;
- injection d'air pour augmenter, ou aspiration d'air pour diminuer, le nombre de moles d'O_2 disponibles dans la phase gazeuse environnant la pâte qui est placée en surpression dans le premier cas et en dépression dans le second.

Tableau 4.4.1 : Teneur en O_2 et pression des atmosphères environnant les pâtes avant le début du pétrissage. Les données concernant l'utilisation de la farine maturée sont en caratères gras.

% O_2	10	**21**	15	**21**	21	**21**	30
Pression (bar)	1,0	**0,7**	1,0	**1,0**	1,0	**1,3**	1,0
O_2 disponible ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	11,99	**16,36**	16,62	**24,84**	24,98	**32,20**	33,44

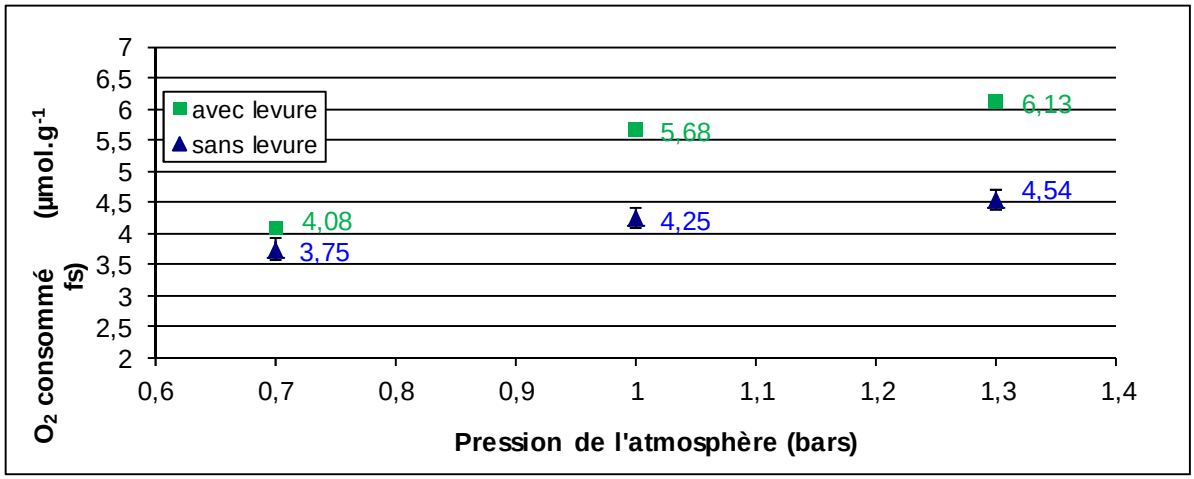


Figure 4.4.1 : Effet de la pression sur la consommation d'O_2 en fin de pétrissage de pâtes levurées ou non (farine maturée).

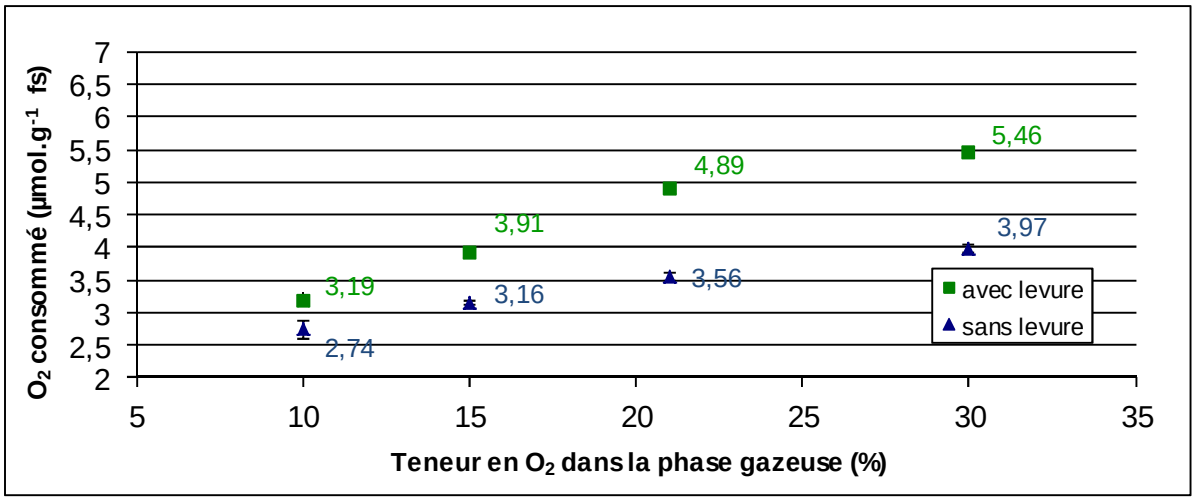


Figure 4.4.2 : Effet de la teneur en O_2 de l'atmosphère environnant la pâte sur la consommation d'O_2 en fin de pétrissage de pâtes levurées ou non (farine peu maturée).

4.4.1 Effet de la teneur en O_2 de l'atmosphère du pétrin sur des pâtes levurées ou non

L'ajout de levure à la pâte diminue l'oxydation des AG libres oxydables par la LOX de blé à cause d'une compétition pour l'O_2 incorporé (voir chapitre 4.2.1). Or, une oxydation moindre des AG libres oxydables pourrait diminuer la cooxydation des thiols en pont disulfures et donc modifier le taux de réticulation des protéines du gluten. On peut donc penser que l'augmentation ou la diminution de la teneur en O_2 de la phase gazeuse permettrait respectivement d'accentuer ou de réduire les consommations d'O_2 et donc l'oxydation des AG libres oxydables par la LOX de blé, modifiant ainsi les propriétés rhéologiques des pâtes.

a) Consommation d'oxygène au cours du pétrissage

La variation de pression de l'atmosphère de la cuve du pétrin ainsi que l'injection d'O_2 ou de N_2 purs font varier la quantité initiale d'O_2 disponible dans la phase gazeuse (Tableau 4.4.1).

La teneur en O_2 initialement disponible a un effet significatif sur la consommation d'O_2 par les pâtes (Figures 4.4.1 et 4.4.2). Plus la pression ou le pourcentage d'O_2 augmente, plus les consommations d'O_2 des pâtes sont élevées, qu'elles soient levurées ou non. On confirme donc que l'augmentation de la quantité d'O_2 disponible par gramme de farine sèche permet d'accroître l'oxydation des composants de la pâte et notamment des lipides. On confirme également que, conformément aux résultats précédents, la présence de levure augmente significativement la consommation d'O_2 des pâtes, quelles que soient les conditions de pétrissage (Figures 4.4.1 et 4.4.2).

Lors des expérimentations avec variation de pression (Figure 4.4.1), la farine utilisée était plus maturée (riche en AG libres oxydables) que celle utilisée lors des expérimentations avec variation des teneurs en oxygène de l'atmosphère à pression atmosphérique (Figure 4.4.2). Ceci explique que pour des conditions expérimentales identiques (21 % d'O_2 pour une pression absolue de l'atmosphère de 1 bar correspondant à 25 µmol d'O_2.g^{-1} de fs disponibles, Tableau 4.4.2), les consommations d'oxygène sont plus élevées dans le premier cas (Figure 4.4.1) que dans le second (Figure 4.4.2).

La surconsommation d'oxygène due à la présence de levure est portée en fonction de la quantité d'oxygène initialement disponible (Tableau 4.4.2) pour toutes les modalités étudiées (variation du pourcentage d'oxygène à pression atmosphérique et variation de la pression totale de la phase gazeuse à 21 % d'O_2).

Tableau 4.4.2 : Consommation d'oxygène et surconsommation d'O_2 due à la levure en fin de pétrissage et en fonction de l'oxygène initialement disponible. Les données concernant l'utilisation de la farine maturée sont en caratères gras.

Pression (bar)	1	**0,7**	1	**1**	1	**1,3**	1
O_2 disponible (%)	10	**21**	15	**21**	21	**21**	30
O_2 disponible ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	12,0	**16,4**	16,6	**24,8**	25,0	**32,2**	33,4
PNL consommation d'O_2 ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	2,74	**3,75**	3,16	**4,25**	3,56	**4,54**	3,97
PL consommation d'O_2 ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	3,19	**4,08**	3,91	**5,68**	4,89	**6,13**	5,46
PL – PNL = Surconsommation due à la levure ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	0,45	**0,33**	0,75	**1,43**	1,33	**1,59**	1,49

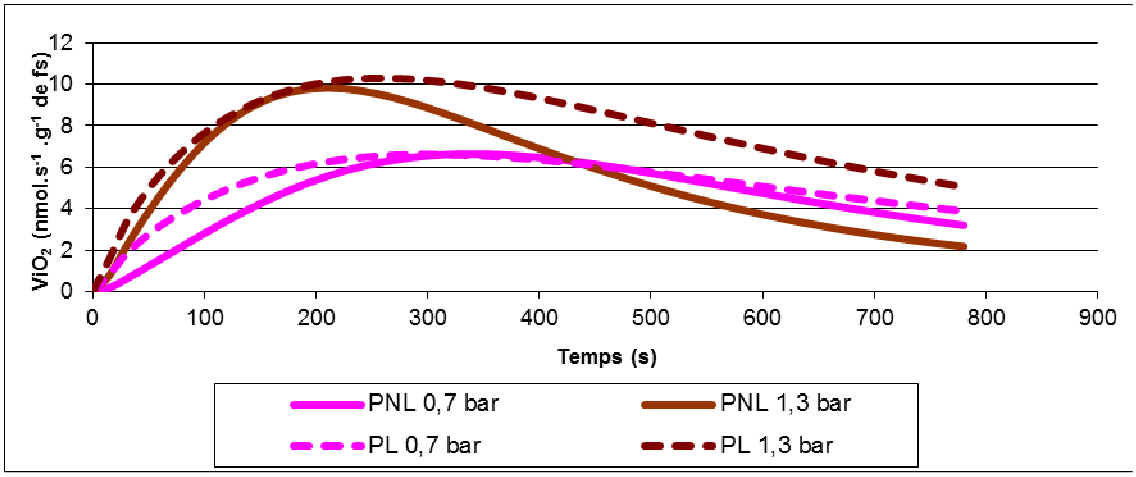


Figure 4.4.3 : Vitesses instantanées de consommation d'O_2 de pâtes levurées et non levurées au cours du pétrissage pour des pressions de l'atmosphère égales à 0,7 et 1,3 bar.

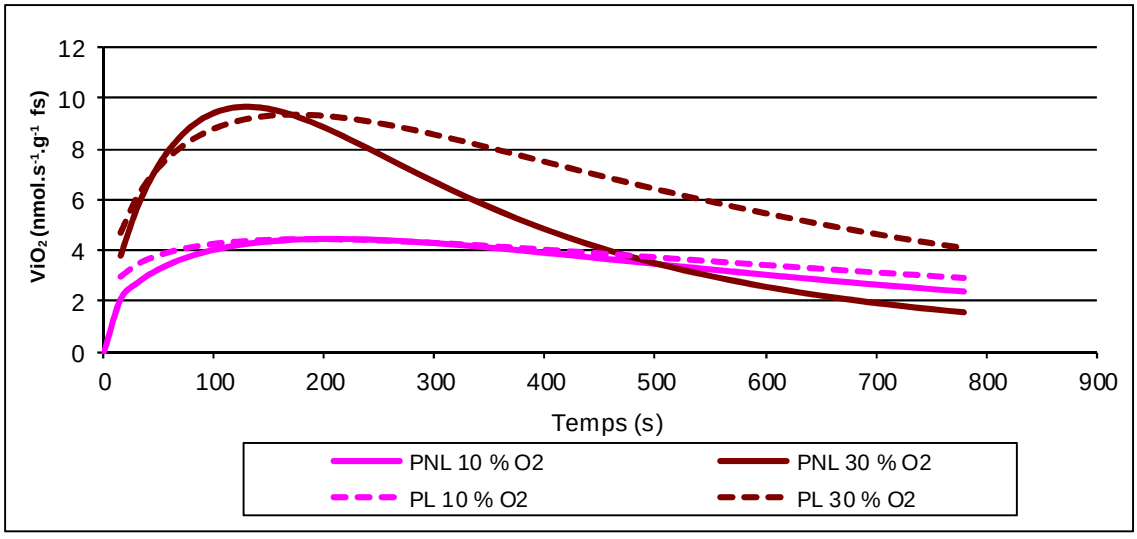


Figure 4.4.4 : Vitesses instantanées de consommation d'O_2 par des pâtes levurées ou non au cours du pétrissage pour des pourcentages d'O_2 dans l'atmosphère égaux à 10 et 30 %.

La surconsommation d'oxygène augmente nettement entre 12 et 25 µmol d'oxygène disponible initialement par gramme de farine sèche, puis faiblement au-delà de 25 µmol.g^{-1} de fs. Il est possible que la levure soit sensible à des pressions partielles en oxygène trop élevées générant éventuellement des stress oxydatifs.

Naturellement, les atmosphères modifiées influencent les vitesses instantanées de consommation d'O_2 (ViO_2, Figures 4.4.3 et 4.4.4). Dans tous les cas, ces ViO_2 passent par une valeur maximale ViO_{2max}. Les valeurs de ViO_{2max} varient linéairement avec les quantités d'oxygène disponibles indépendamment des modalités utilisées pour faire varier ces dernières (Figure 4.4.5). De plus, les valeurs de ViO_{2max} pour une quantité d'oxygène disponible donnée n'apparaissent pas être modifiées par la présence de levure.
La lecture du Tableau 4.4.3, donnant la durée de pétrissage et la quantité d'oxygène consommée au moment où ViO_{2max} est atteint, ne permet pas de dégager une relation claire entre ces paramètres et les quantités d'O_2 initialement disponibles.

Une fois la ViO_{2max} atteinte, dans la deuxième partie du pétrissage, la vitesse instantanée de consommation d'oxygène diminue d'autant plus rapidement que la quantité d'oxygène initialement disponible augmente (Figures 4.4.3 et 4.4.4). La Figure 4.4.6 porte l'écart entre les ViO_{2max} et la vitesse de consommation d'oxygène observée à la fin des 13 min de pétrissage, en fonction de l'O_2 disponible. Il apparaît que, pour des quantités d'oxygène initialement disponibles équivalentes, les diminutions de vitesse sont généralement moins marquées dans le cas des pâtes levurées que dans celui des pâtes non levurées. Pour les faibles quantités d'oxygène initialement disponibles, il est probable que les quantités d'AG libres oxydables encore présentes à l'issue des 13 min de pétrissage permettent de maintenir des vitesses résiduelles de consommation d'oxygène. On note par ailleurs que les pâtes levurées présentent toujours des vitesses de consommation d'O_2 en fin de pétrissage plus élevées que celles observées pour les pâtes non levurées. Pour les mêmes raisons que celles évoquées précédemment, l'écart est d'autant plus important que les quantités d'O_2 initialement disponibles sont élevées. Dit autrement, en fin de pétrissage des pâtes levurées, la respiration de la levure prend le pas sur l'oxydation des lipides pour la consommation d'oxygène.

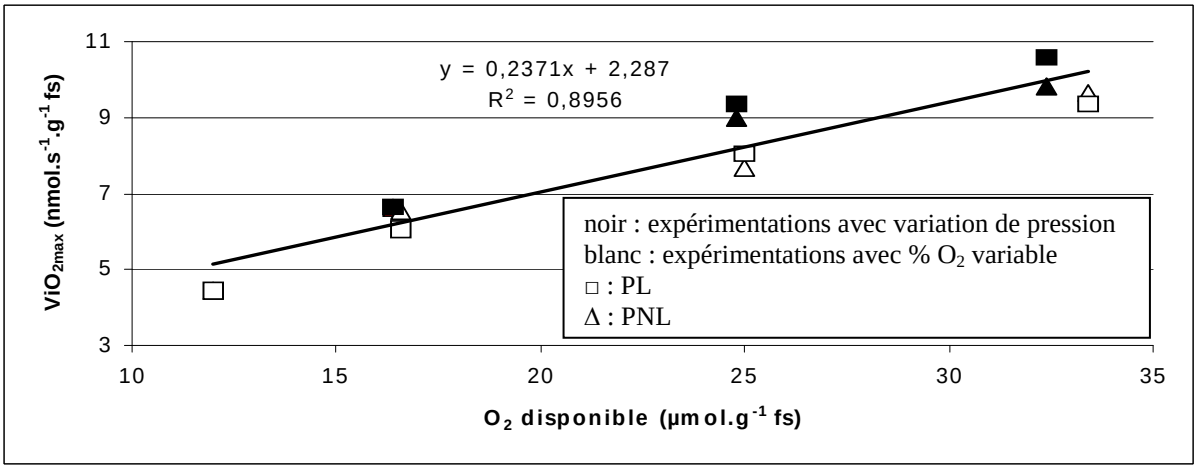


Figure 4.4.5 : Effet de l'O_2 disponible scur les ViO_{2max} de pâtes levurées ou non.

Tableau 4.4.3: Effet de l'oxygène disponible sur le temps et la quantité d'O_2 consommée nécessaires pour atteindre ViO_{2max}. Les données concernant l'utilisation de la farine maturée sont en caratères gras.

O_2 disponible (µmol.g^{-1} fs)	% O_2	Pression (bar)	PNL		PL	
			Temps (s)	O_2 consommé (µmol.g^{-1} fs)	Temps (s)	O_2 consommé (µmol.g^{-1} fs)
12,0	10	1,0	$210_{\pm 11}$	$0,78_{\pm 0,04}$	$195_{\pm 10}$	$0,78_{\pm 0,04}$
16,4	**21**	**0,7**	**$345_{\pm 17}$**	**$1,5_{\pm 0,08}$**	**$300_{\pm 15}$**	**$1,50_{\pm 0,08}$**
16,6	15	1,0	$240_{\pm 12}$	$1,07_{\pm 0,05}$	$225_{\pm 11}$	$1,16_{\pm 0,06}$
24,8	**21**	**1,0**	**$195_{\pm 10}$**	**$1,04_{\pm 0,05}$**	**$225_{\pm 11}$**	**$1,46_{\pm 0,08}$**
25	21	1,0	$240_{\pm 12}$	$1,47_{\pm 0,07}$	$195_{\pm 10}$	$1,50_{\pm 0,08}$
32,2	**21**	**1,3**	**$210_{\pm 11}$**	**$1,43_{\pm 0,07}$**	**$255_{\pm 13}$**	**$2,06_{\pm 0,10}$**
33,4	30	1,0	$135_{\pm 7}$	$1,01_{\pm 0,05}$	$180_{\pm 9}$	$1,41_{\pm 0,08}$

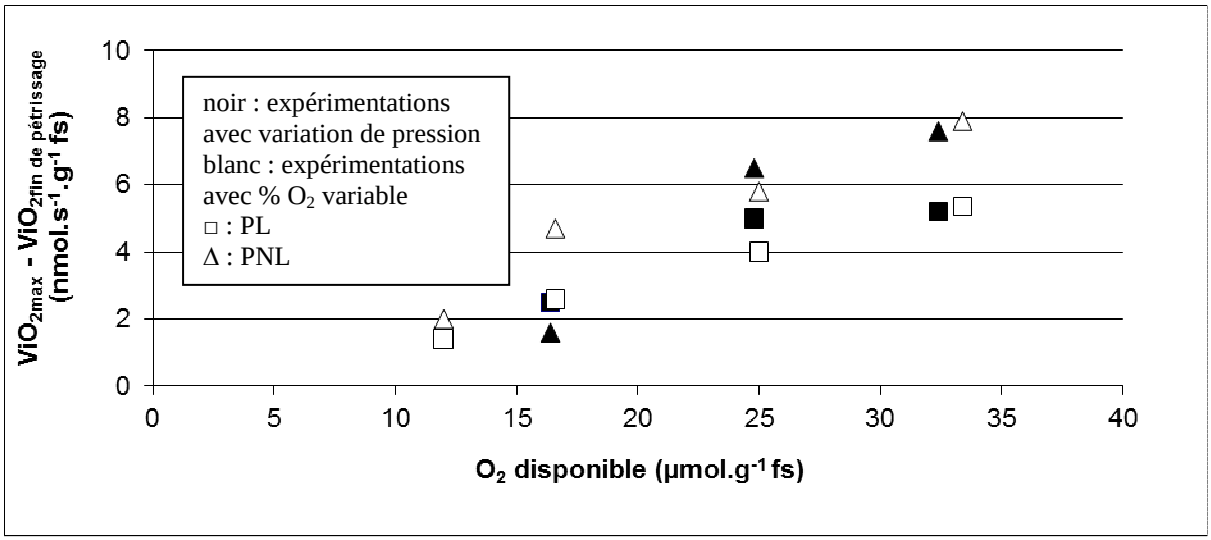


Figure 4.4.6 : Effet de l'O_2 disponible sur la diminution de la vitesse instantanée de consommation d'O_2 entre l'instant où ViO_{2max} est atteint et la fin du pétrissage pour des pâtes levurées ou non.

Une analyse similaire des résultats peut être conduite à partir des évolutions des coefficients volumiques de transfert d'O_2 (k_La) au cours du pétrissage. Un exemple de ces évolutions est donné dans la Figure 4.4.7 avec l'effet de la variation de pression totale sur des pâtes levurées ou non. Des allures de courbes similaires sont observées lorsque le pourcentage d'oxygène initial varie de 10 à 30 % (résultats non montrés). Ainsi, dans tous les cas, la valeur calculée du k_La augmente rapidement en début de pétrissage, passe par une valeur maximale entre 3 et 6 min de pétrissage à 60 RPM, puis diminue lentement jusqu'à 13 min de pétrissage. Pour cette analyse, les évolutions du k_La_{max} ainsi que du k_La après 105, 300 et 750 s seront examinées en fonction des quantités d'oxygène initialement disponibles (Tableau 4.4.4).

Toutes modalités confondues, la valeur du k_La_{max} diminue lorsque la quantité d'O_2 initialement disponible augmente (Figure 4.4.8 A). Toutefois, pour des quantités d'O_2 initialement disponibles équivalentes, les valeurs de k_La_{max} sont en moyenne plus élevées pour les essais avec variation de pression que pour les essais avec variation du pourcentage d'O_2 à pression atmosphérique. Cette différence est probablement liée à la farine utilisée pour ces essais qui était plus riche en acides gras libres oxydables que celle utilisée pour les essais à pourcentage d'O_2 variable. Logiquement, les valeurs du k_La à 300 s présentent une évolution similaire en fonction de l'O_2 initialement disponible avec une remarque identique sur l'effet de la maturation de la farine (Figure 4.4.8 B). Les valeurs du k_La en début de pétrissage (105 s) ont toujours tendance à diminuer lorsque la quantité d'O_2 initialement disponible augmente (Figure 4.4.8 C). Cependant, cette tendance est beaucoup moins nette et aucune influence de l'état de maturation de la farine ou de la présence de levure ne peut être dégagée. En ce qui concerne les valeurs de k_La en fin de pétrissage (750 s), leur diminution en fonction de la quantité d'O_2 initialement disponible est toujours visible (Figure 4.4.8 D). Cependant, un effet de la levure apparaît puisque, pour des quantités d'O_2 initialement disponibles équivalentes, les k_La des pâtes levurées sont toujours supérieurs à ceux observés pour les pâtes sans levure. Ceci semble logique puisque, en fin de pétrissage, c'est la levure qui entretient le maintien le transfert d'oxygène grâce à son métabolisme aérobie. Il est aussi possible que les modifications des caractéristiques rhéologiques dues à la présence de levure sèche dans les pâtes (chapitre 4.2) soient également responsables des modifications des valeurs du k_La. Cependant, il faut noter aussi que les vitesses de consommation d'oxygène sont systématiquement plus élevées en présence de levure qu'en son absence en fin de pétrissage (Figures 4.4.3, 4.4.4) ainsi que nous l'avons évoqué dans le paragraphe précédent.

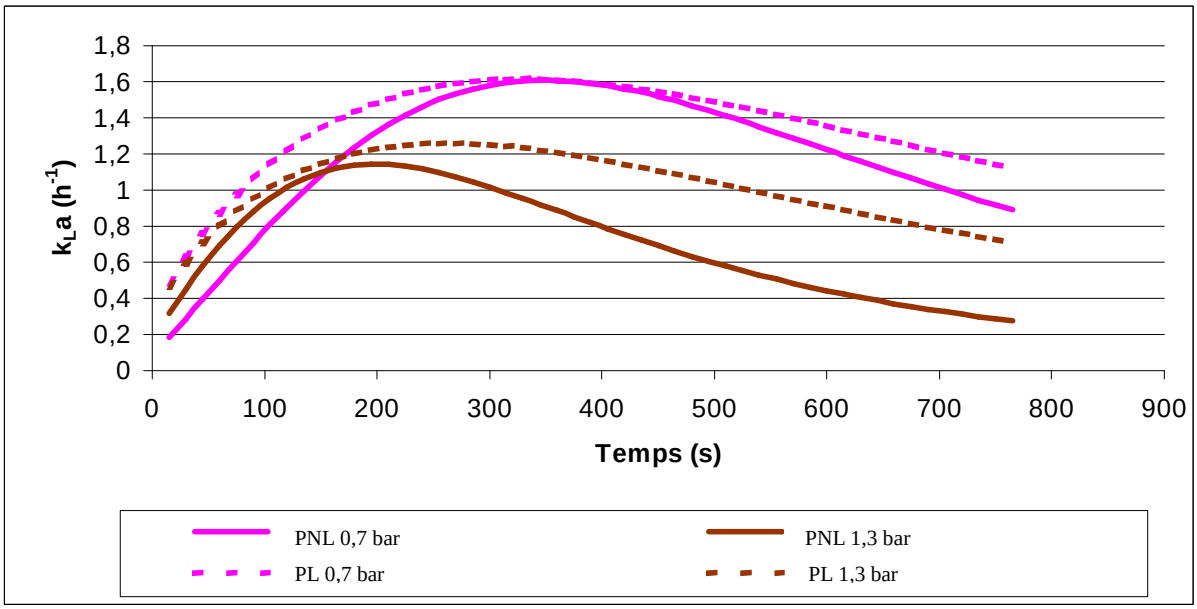


Figure 4.4.7 : Exemples de variations de k_La de pâtes levurées ou non, au cours du pétrissage (après frasage) sous atmosphère à 0,7 et 1,3 bar.

Tableau 4.4.4 : Effet de la teneur en O_2 de l'atmosphère environnant la pâte sur les valeurs du k_La_{max}, à 105, 300 et 750 s de pétrissage pour des pâtes levurées ou non. Les données concernant l'utilisation de la farine maturée sont en caractères gras.

O_2 disponible (µmol.g^{-1} de fs)	% O_2	Pression (bar)	Levure	k_La_{max} (h^{-1})	k_La_{105} (h^{-1})	k_La_{300} (h^{-1})	k_La_{750} (h^{-1})
12,0	10	1,0	non	$1,58_{\pm0,10}$	$1,37_{\pm0,11}$	$1,57_{\pm0,07}$	$1,07_{\pm0,07}$
			oui	$1,58_{\pm0,07}$	$1,45_{\pm0,13}$	$1,58_{\pm0,10}$	$1,32_{\pm0,08}$
16,4	**21**	**0,7**	**non**	$\mathbf{1,61_{\pm0,07}}$	$\mathbf{0,71_{\pm0,07}}$	$\mathbf{1,56_{\pm0,09}}$	$\mathbf{0,95_{\pm0,05}}$
			oui	$\mathbf{1,61_{\pm0,09}}$	$\mathbf{1,06_{\pm0,9}}$	$\mathbf{1,60_{\pm0,11}}$	$\mathbf{1,16_{\pm0,06}}$
16,6	15	1,0	non	$1,50_{\pm0,08}$	$1,01_{\pm0,9}$	$1,46_{\pm0,05}$	$0,48_{\pm0,05}$
			oui	$1,40_{\pm0,07}$	$1,23_{\pm0,11}$	$1,39_{\pm0,08}$	$1,00_{\pm0,04}$
24,8	**21**	**1,0**	**non**	$\mathbf{1,37_{\pm0,07}}$	$\mathbf{0,93_{\pm0,09}}$	$\mathbf{1,31_{\pm0,10}}$	$\mathbf{0,41_{\pm0,05}}$
			oui	$\mathbf{1,43_{\pm0,02}}$	$\mathbf{1,27_{\pm0,10}}$	$\mathbf{1,40_{\pm0,06}}$	$\mathbf{0,84_{\pm0,03}}$
25,0	21	1,0	non	$1,14_{\pm0,06}$	$0,92_{\pm0,08}$	$1,01_{\pm0,05}$	$0,28_{\pm0,05}$
			oui	$1,22_{\pm0,06}$	$1,02_{\pm0,10}$	$1,21_{\pm0,09}$	$0,75_{\pm0,04}$
32,2	**21**	**1,3**	**non**	$\mathbf{1,14_{\pm0,06}}$	$\mathbf{0,88_{\pm0,08}}$	$\mathbf{1,05_{\pm0,11}}$	$\mathbf{0,30_{\pm0,01}}$
			oui	$\mathbf{1,26_{\pm0,12}}$	$\mathbf{0,95_{\pm0,07}}$	$\mathbf{1,26_{\pm0,05}}$	$\mathbf{0,74_{\pm0,03}}$
33,4	30	1,0	non	$1,06_{\pm0,05}$	$1,04_{\pm0,06}$	$0,77_{\pm0,07}$	$0,20_{\pm0,01}$
			oui	$1,04_{\pm0,10}$	$0,92_{\pm0,09}$	$0,99_{\pm0,10}$	$0,54_{\pm0,02}$

Conclusions

L'augmentation de la concentration en O_2 de l'atmosphère, par ajout d'O_2 pur ou par modification de la pression par injection d'air comprimé, permet d'accroître la consommation globale d'oxygène des pâtes levurées ou non. Ces résultats montrent que la vitesse de transfert d'oxygène est un élément limitant lorsque le pétrissage est réalisé à pression atmosphérique en présence d'air et pour une vitesse de rotation du bras mobile du sitoxygraphe de 60 rpm. L'ajout d'O_2 dans la phase gazeuse ou l'augmentation de la pression totale représente un moyen d'oxyder plus rapidement les molécules facilement oxydables telles que les lipides de la farine et les pigments caroténoïdes mais également les composés réducteurs plus difficilement oxydables.

b) Rhéologie des pâtes

Afin de vérifier l'hypothèse selon laquelle un surplus d'oxydation a des conséquences sur la structuration du réseau de gluten et donc sur la rhéologie de la pâte, des échantillons de pâtes ont été analysés à l'aide d'un texturomètre par des tests de compression-relaxation.

Les résultats obtenus permettent de faire les constatations suivantes :

- les valeurs des indices de relaxation représentés (Figures 4.4.9 et 4.4.10) montrent que l'enrichissement en O_2 de l'atmosphère par l'augmentation de la pression ou l'injection d'O_2 pur n'a pas d'impact significatif. La présence de levure sèche dans la formulation diminue significativement l'IR quelle que soit l'atmosphère de pétrissage ;

- les forces maximales de compression des échantillons de pâtes (F_0) ne sont pas significativement modifiées par l'enrichissement de l'atmosphère en O_2 (Figures 4.4.11 et 4.4.12) ;

- l'indice de comportement visqueux ($1/\alpha$) est plus faible pour les pâtes levurées que pour les pâtes non levurées et ceci quelles que soient les quantités d'oxygène initialement disponibles (Figures 4.4.13 et 4.4.14) ;

- de la même manière, les constantes des vitesses de relaxation (k) sont significativement plus fortes pour les pâtes levurées que pour les pâtes non levurées. On ne constate pas d'effet des quantités d'oxygène initialement disponibles (Figures 4.4.15 et 4.4.16).

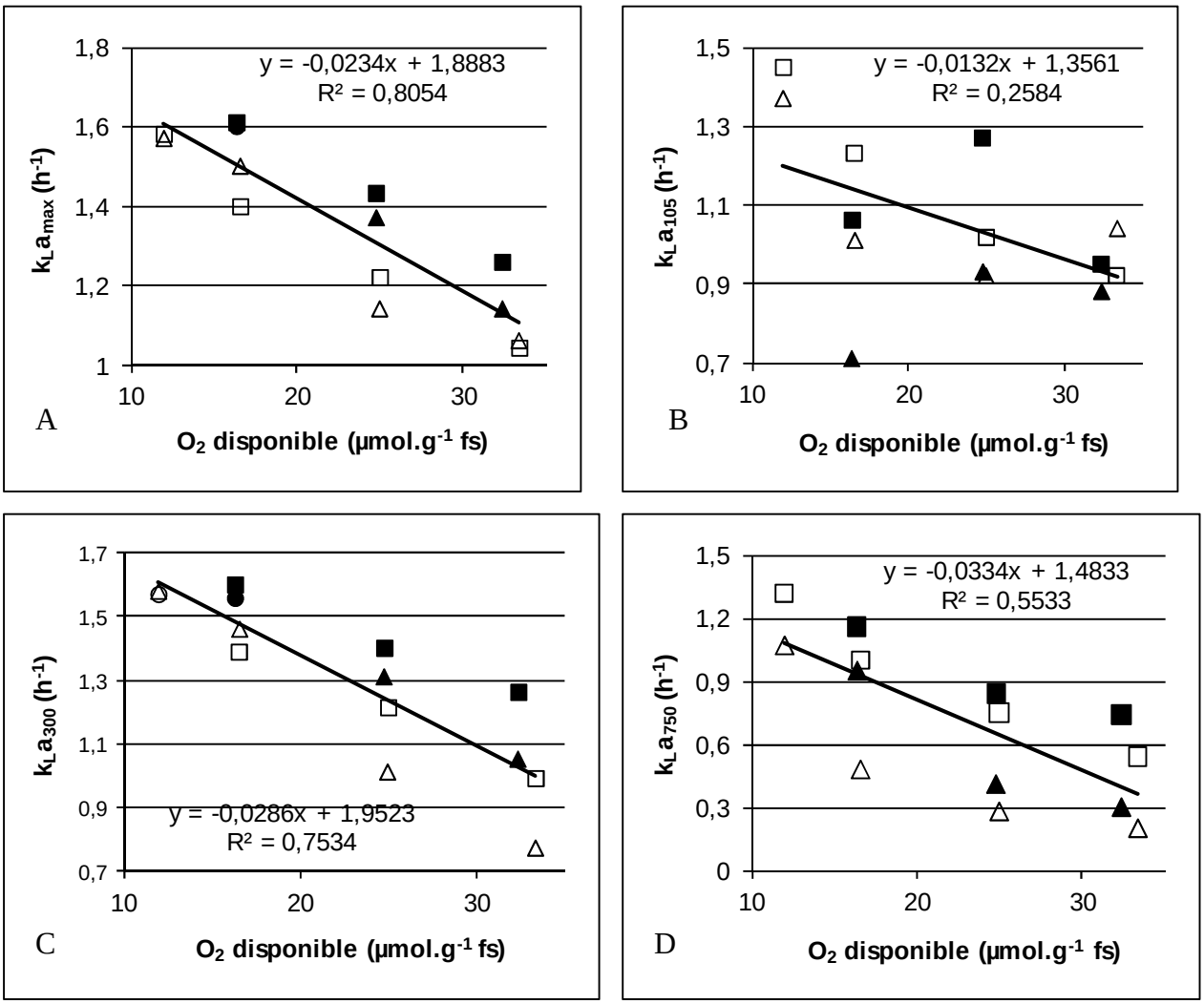


Figure 4.4.8 : Effet de l'O_2 disponible sur les valeurs des k_La_{max} et des k_La à 105, 300 et 750 s de pétrissage (noir : expérimentations avec variation de pression, blanc : expérimentations avec % O_2 variable et pression de 1 bar, □: pâtes levurées, ∆ : pâtes non levurées).

Conclusion

Pour une formulation identique (soit avec levure, soit sans levure), l'augmentation de la consommation d'O_2 des pâtes par l'accroissement de la teneur en oxygène disponible de la phase gazeuse environnant la pâte, ne change pas les propriétés viscoélastiques des pâtes après pétrissage bien que les k_La soient modifiés. Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce résultat. Il est possible que, pour une même formulation, les surconsommations d'oxygène induites par l'accroissement de la pression partielle en oxygène n'affectent pas les mêmes substrats réducteurs de la pâte. Dès lors, l'effet rhéologique attribué à la cooxydation des lipides oxydables serait rapidement atteint même à faible teneur en oxygène. Il est également possible que l'extrusion des pâtes ainsi que le temps de repos imposé aux échantillons avant l'analyse au texturomètre les ramènent tous à un état rhéologique identique.

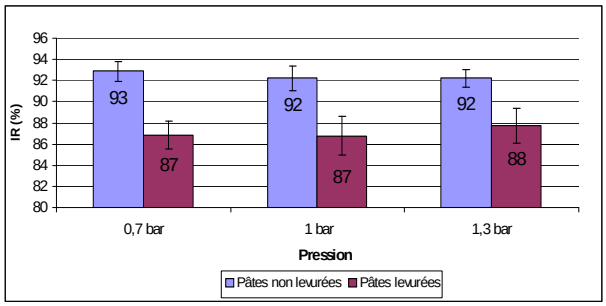


Figure 4.4.9 : Indice de relaxation des pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à pression variable et 21 % d'O_2.

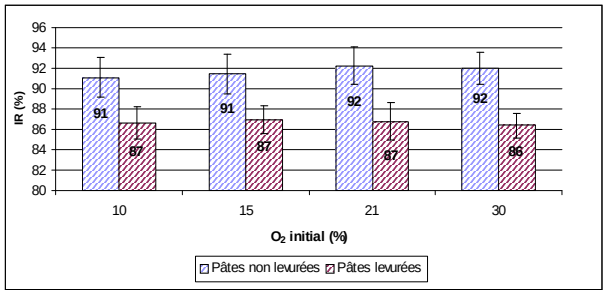


Figure 4.4.10 : Indice de relaxation de pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à teneur variable en O_2 à 1 bar.

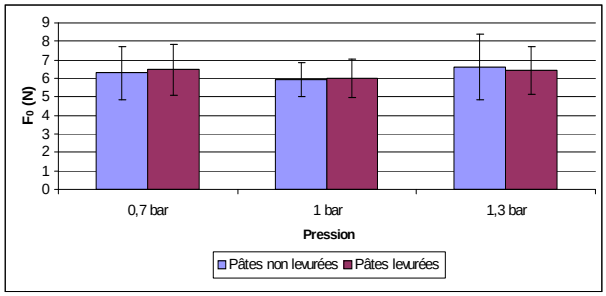


Figure 4.4.11 : Forces maximales de compression de pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à pression variable et 21 % d'O_2.

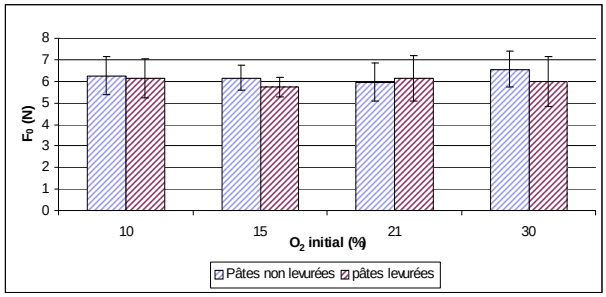


Figure 4.4.12 : Forces maximales de compression de pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à teneur variable en O_2 à 1 bar.

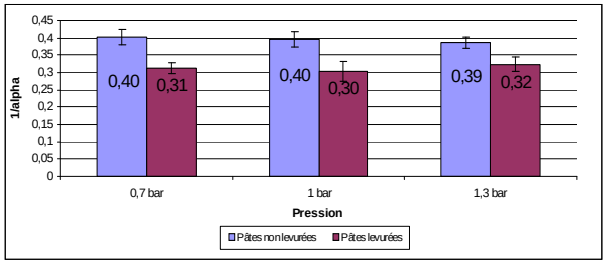


Figure 4.4.13 : Indices de comportement visqueux (1/α) de pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à pression variable et 21 % d'O_2.

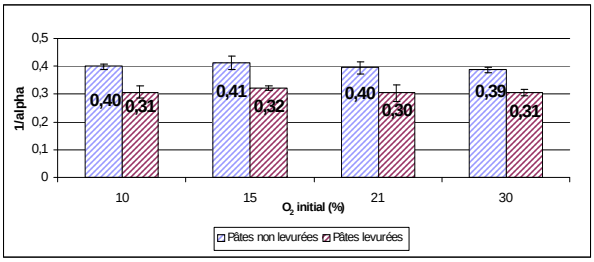


Figure 4.4.14 : Indices de comportement visqueux de pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à teneur variable en O_2 à 1 bar.

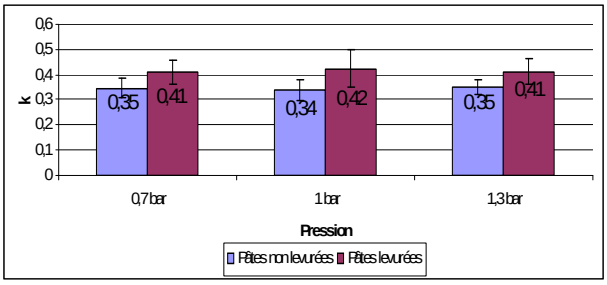


Figure 4.4.15 : Constantes des vitesses de relaxation (k en s^{-1}) de pâtes levurées ou non et pétries sous atmosphères à pression variable et 21 % d'O_2.

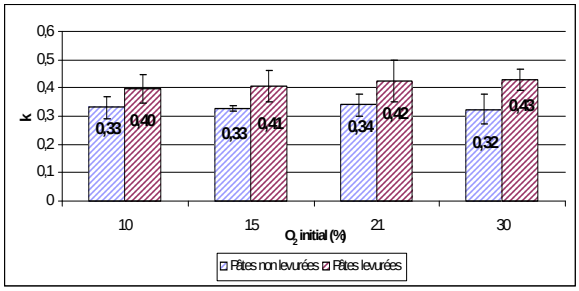


Figure 4.4.16 : Constantes des vitesses de relaxation (k en s^{-1}) de pâtes levurées ou non pétries sous atmosphères à teneur variable en O_2 à 1 bar.

Tableau 4.4.5 : Effet de l'ajout de GOX ou de COX sur la consommation, la surconsommation et la vitesse instantanée maximale de consommation d'O_2 de pâtes levurées, pétries sous atmosphères contenant initialement 21 ou 30 % d'O_2 à 1 bar.

Pâte	% O_2	O_2 consomméen fin de pétrissage ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	Groupe (Test LSD)	O_2 surconsommé ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	ViO_{2max} ($nmol.s^{-1}.g^{-1}$ de fs)
PL	21	5,25 $\pm$ 0,28	A	-	8,43 $\pm$ 0,54
PL + COX (2,32 µkat)	21	5,42 $\pm$ 0,32	B	0,17	8,83 $\pm$ 0,60
PL + GOX (15,6 µkat)	21	5,43 $\pm$ 0,24	B	0,18	8,68 $\pm$ 0,52
PL	30	5,51 $\pm$ 0,12	B	-	9,35 $\pm$ 0,56
PL + COX (2,32 µkat)	30	6,10 $\pm$ 0,12	C	0,59	10,84 $\pm$ 0,60
PL + GOX (15,6 µkat)	30	6,25 $\pm$ 0,36	D	0,74	10,29 $\pm$ 0,49

4.4.2 Effet d'une atmosphère enrichie en O_2 sur des pâtes levurées contenant des oses oxydases

L'utilisation d'une atmosphère enrichie en O_2 augmente la consommation globale d'oxygène de la pâte. Ce procédé serait donc susceptible d'améliorer l'efficacité des oxydases exogènes ajoutées à la farine, renforçant ainsi leur effet sur les caractéristiques de la pâte. La série d'expérimentations présentées ci-dessous consiste à analyser l'impact de la GOX et de la COX sur les consommations d'O_2 et sur les propriétés rhéologiques de pâtes levurées. La GOX et la COX ont été ajoutées de façon à obtenir une activité totale dans la pâte de 15,6 et 2,32 µkat pour la GOX et la COX respectivement. Ces activités correspondent aux quantités en ppm (32 pour la GOX et 200 pour la COX) préconisées en panification par les fournisseurs d'enzymes. Les pâtes levurées ont été pétries sous une atmosphère enrichie en O_2 par injection d'oxygène pur ou par pressurisation avec de l'air.

4.4.2.1 Atmosphère à 30 % d'oxygène et à pression atmosphérique

a) Consommation d'O_2

Les légères différences observées, entre les valeurs de consommation d'O_2 et de ViO_{2max} données dans le Tableau 4.4.5 et celles présentées dans le Tableau 4.4.2 et la Figure 4.4.2 des pâtes levurées pétries dans des conditions identiques, sont dues à l'utilisation de lots de farine qui différent par leur état de maturation.

A 21 % d'O_2, l'addition de COX ou de GOX augmente significativement la consommation d'oxygène de la pâte par rapport aux témoins et non significativement les ViO_{2max} (Tableau 4.4.5).

A 30 % d'O_2, les consommations totales d'oxygène ainsi que les ViO_{2max} sont augmentées significativement par rapport aux pétrissages réalisés sous atmosphère normale (Tableau 4.4.5). L'ajout de COX ou de GOX entraîne une augmentation significative des consommations d'oxygène et des valeurs des ViO_{2max} par rapport à la pâte témoin. Il en résulte que les surconsommations minimales attribuables aux activités des oses oxydases sont multipliées par 3,5 pour la COX et 4,1 pour la GOX lorsque la teneur en O_2 de l'atmosphère passe de 21 à 30 % (Tableau 4.4.5).

Tableau 4.4.6 : Effet de l'ajout de GOX ou de COX sur les valeurs de k_La (k_La_{max}, à 105, 300 et 750 s de pétrissage) et les caractéristiques rhéologiques de pâtes levurées pétries sous atmosphères normales ou enrichies en O_2 (variation de % O_2 à pression de 1 bar).

		k_La (h^{-1})				Propriétés rhéologiques		
Pâtes	% O_2 de l'atmosphère	k_La_{max}	105 s	300 s	750 s	IR (%)	1/α	k (s^{-1})
PL	21	$1,30_{\pm0,07}$	$1,11_{\pm0,12}$	$1,29_{\pm0,10}$	$0,84_{\pm0,04}$	$86_{\pm2}$	$0,3_{\pm0,03}$	$0,37_{\pm0,08}$
PL + COX		$1,36_{\pm0,05}$	$1,16_{\pm0,12}$	$1,36_{\pm0,09}$	$0,88_{\pm0,05}$	$85_{\pm2}$	$0,29_{\pm0,02}$	$0,43_{\pm0,05}$
PL + GOX		$1,35_{\pm0,10}$	$1,14_{\pm0,09}$	$1,35_{\pm0,08}$	$0,93_{\pm0,04}$	$77_{\pm2}$	$0,22_{\pm0,01}$	$0,46_{\pm0,08}$
PL	30	$1,02_{\pm0,07}$	$0,95_{\pm0,11}$	$0,97_{\pm0,08}$	$0,53_{\pm0,02}$	$86_{\pm1}$	$0,31_{\pm0,01}$	$0,36_{\pm0,03}$
PL + COX		$1,15_{\pm0,05}$	$0,91_{\pm0,08}$	$1,14_{\pm0,07}$	$0,60_{\pm0,02}$	$78_{\pm2}$	$0,23_{\pm0,02}$	$0,40_{\pm0,11}$
PL + GOX		$1,11_{\pm0,09}$	$0,94_{\pm0,09}$	$1,10_{\pm0,06}$	$0,68_{\pm0,03}$	$73_{\pm1}$	$0,19_{\pm0,01}$	$0,54_{\pm0,08}$

Cette surconsommation implique une quantité plus importante d'H_2O_2 produite et donc une activation plus forte du système peroxydasique. Il devrait ainsi y avoir un impact oxydant plus marqué sur les composés phénoliques présents dans les pâtes, notamment l'acide férulique et la tyrosine. Les cibles sont différentes des AG libres oxydables et induisent ainsi des effets différents sur la structuration de la pâte.

L'analyse des coefficients volumiques de transferts d'O_2 confirme que l'enrichissement en O_2 de l'atmosphère entourant la pâte diminue la valeur du k_La sur l'ensemble du pétrissage (k_La_{max} ainsi que les k_La après 105, 300 et 750 s, Tableau 4.4.6). Là encore, les légères différences observées par rapport aux valeurs données dans le Tableau 4.4.4 pour des conditions identiques de pétrissage, sont dues à la maturation du lot de farine utilisé.

A 21 % d'O_2, l'ajout de COX ou de GOX provoque une augmentation proche de 5 % des valeurs de k_La_{max} et de celles des k_La après 105 et 300 s (Tableau 4.4.6). En fin de pétrissage (750 s), l'augmentation reste proche de 5 % pour l'ajout de COX et atteint 10 % pour l'ajout de GOX.

A 30 % en O_2, les valeurs de k_La, ne sont pas modifiées au début du pétrissage et augmentent de 10 à 18 % pour les k_La_{max} et les k_La après 300 s de pétrissage. En fin de pétrissage, l'augmentation du k_La reste à 13 % pour l'ajout de COX et approche les 30 % pour l'ajout de GOX.

Dans les milieux liquides, les évolutions de k_La peuvent être reliées à celles de la viscosité des solutions et, toutes conditions égales par ailleurs, une diminution de viscosité se traduit par une augmentation du k_La selon l'équation de Stoke-Einstein. Par analogie, il est donc possible que l'ajout d'oses oxydases provoque une diminution des propriétés visqueuses de la pâte en plus de l'entretien de la consommation d'O_2. Dans nos expérimentations, cet effet est plus marqué avec la GOX qu'avec la COX, en particulier en fin de pétrissage et dans une atmosphère à 30 % d'O_2.

b) Rhéologie des pâtes

Les pâtes pétries sous atmosphère normale ou enrichie en O_2, en présence ou non d'oses oxydases, ont été soumises à un test de compression-relaxation conformément au protocole modifié de Davidou *et al.* (2008). Les résultats issus de ce test sont reportés dans le Tableau 4.4.6.

Il se confirme que les propriétés rhéologiques déterminées par cette méthodologie, IR (indice de relaxation), 1/α (indice de comportement visqueux), et k (constante de vitesse de relaxation) ne sont pas modifiées par les teneurs initiales en O_2 présentes dans l'atmosphère du pétrin pour les échantillons témoins. Par ailleurs, l'ajout de COX à 21 % d'O_2 est sans effet significatif sur ces mêmes paramètres. Pour cette teneur initiale en O_2, seul l'ajout de GOX donne un effet significatif avec une baisse de 10 % de l'indice de relaxation, une baisse de 27 % de l'indice de comportement visqueux et une augmentation de 24 % de la constante de vitesse de relaxation (Tableau 4.4.6).

Lorsque l'atmosphère est enrichie à 30 % d'O_2, les effets de l'ajout de GOX sont significativement amplifiés par rapport à la pâte témoin. La baisse de l'indice de relaxation passe à 15 %, celle de l'indice de comportement visqueux passe à 40 % et la hausse de la constante de vitesse de relaxation est de 50 %. De plus, dans cette atmosphère enrichie, les effets de l'ajout de COX (2,3 µkat) deviennent significatifs au moins pour l'indice de relaxation (- 9 %) et l'indice de comportement visqueux (- 26 %). Toutefois, ces effets restent toujours nettement inférieurs à ceux observés lors de l'ajout de GOX (15,5 µkat).

Dans nos conditions expérimentales, il apparaît que l'enrichissement en O_2 de l'atmosphère du pétrin accroît les surconsommations d'O_2 liées à l'ajout d'oses oxydases et que ces dernières s'accompagnent d'une augmentation du k_La (en particulier en fin de pétrissage) et de modifications des propriétés rhéologiques de la pâte (diminution de l'indice de relaxation et de l'indice de comportement visqueux d'une part et augmentation de la constante de vitesse de relaxation d'autre part).

Il semble utile de souligner qu'en sortie de pétrin, les pâtes pétries en présence de GOX avec 30 % d'oxygène dans la phase gazeuse présentent une grande ténacité et un manque certain d'extensibilité rendant la pâte déchirable. Il semble donc que, dans ces conditions expérimentales et compte tenu de l'enrichissement de l'atmosphère en oxygène, l'activité de la GOX soit trop élevée et ne permette pas d'obtenir des pâtons dont les propriétés rhéologiques soient satisfaisantes.

4.4.2.2 Atmosphère à 1,3 bar et 21 % d'oxygène

a) Consommations d'O_2

Une série similaire d'expérimentations a également été réalisée sur des pâtes levurées contenant, ou non, de la GOX ou de la COX et pétries en présence d'atmosphères enrichies en oxygène *via* une pressurisation de l'atmosphère du pétrin à 1,3 bar.

Tableau 4.4.7 : Effet de l'ajout de GOX ou de COX sur la consommation, la surconsommation d'O_2 et le ViO_{2max} de pâtes levurées et pétries sous atmosphères à 1 ou 1,3 bar.

Type de pâte levurée	Pression (bar)	O_2 consommé en fin de pétrissage ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	Groupe (Test LSD)	O_2 surconsommation ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	ViO_{2max} ($nmol.s^{-1}.g^{-1}$ de fs)
PL	1,0	$5,20_{\pm 0,28}$	A	-	$7,92_{\pm 0,54}$
PL + COX (2,32 µkat)	1,0	$5,35_{\pm 0,32}$	B	0,15	$8,81_{\pm 0,60}$
PL + GOX (15,6 µkat)	1,0	$5,38_{\pm 0,24}$	B	0,17	$8,64_{\pm 0,52}$
PL	1,3	$5,70_{\pm 0,44}$	C	-	$9,59_{\pm 0,57}$
PL + COX (2,32 µkat)	1,3	$6,14_{\pm 0,28}$	D	0,44	$9,82_{\pm 0,55}$
PL + GOX (15,6 µkat)	1,3	$6,18_{\pm 0,20}$	D	0,48	$9,77_{\pm 0,50}$

Tableau 4.4.8 : Effets de l'ajout de GOX ou de COX sur les valeurs de k_La (k_La_{max}, à 105, 300 et 750 s de pétrissage) et les caractéristiques rhéologiques de pâtes levurées et pétries sous atmosphères normales ou enrichies en O_2 (variation de pression).

		k_La (h^{-1})				Propriétés rhéologiques		
Pâtes	Pression	k_La_{max}	105 s	300 s	750 s	IR (%)	1/α	k (s^{-1})
PL	1 bar	$1,33_{\pm 0,10}$	$1,14_{\pm 0,11}$	$1,26_{\pm 0,06}$	$0,82_{\pm 0,03}$	$86_{\pm 2}$	$0,30_{\pm 0,03}$	$0,37_{\pm 0,08}$
PL + COX		$1,35_{\pm 0,07}$	$1,20_{\pm 0,11}$	$1,33_{\pm 0,10}$	$0,86_{\pm 0,04}$	$85_{\pm 2}$	$0,29_{\pm 0,02}$	$0,43_{\pm 0,05}$
PL + GOX		$1,34_{\pm 0,05}$	$1,18_{\pm 0,12}$	$1,33_{\pm 0,07}$	$0,91_{\pm 0,05}$	$77_{\pm 2}$	$0,22_{\pm 0,01}$	$0,46_{\pm 0,08}$
PL	1,3 bar	$1,13_{\pm 0,08}$	$0,96_{\pm 0,10}$	$1,12_{\pm 0,05}$	$0,63_{\pm 0,02}$	$88_{\pm 2}$	$0,33_{\pm 0,02}$	$0,40_{\pm 0,04}$
PL + COX		$1,26_{\pm 0,08}$	$0,90_{\pm 0,09}$	$1,26_{\pm 0,09}$	$0,71_{\pm 0,03}$	$80_{\pm 1}$	$0,25_{\pm 0,01}$	$0,41_{\pm 0,05}$
PL + GOX		$1,17_{\pm 0,10}$	$0,96_{\pm 0,08}$	$1,16_{\pm 0,10}$	$0,78_{\pm 0,04}$	$73_{\pm 2}$	$0,20_{\pm 0,01}$	$0,49_{\pm 0,08}$

Les consommations d'oxygène sont regroupées dans le Tableau 4.4.7. Il faut rappeler que les différences observées entre les valeurs de consommation d'O_2 en fin de pétrissage et de ViO_{2max} des pâtes levurées témoins présentées dans le Tableau 4.4.7 et celles présentées dans le Tableau 4.4.2 pour des conditions de pétrissage identiques, sont dues à la maturation du lot de farine utilisé.
Comme pour les atmosphères à 30 % d'oxygène, l'augmentation de pression à 1,3 bar accroît de façon significative la consommation totale d'oxygène et les ViO_{2max} par rapport aux pétrissages réalisés à pression atmosphérique. De façon similaire, les surconsommations d'O_2 provoquées par l'ajout de GOX ou de COX sont presque multipliées par trois (Tableau 4.4.7).

Une analyse similaire des coefficients volumiques de transfert d'O_2 (valeurs maximales et valeurs après 105, 300 et 750 s de pétrissage) confirme les résultats précédemment obtenus lors de l'utilisation d'atmosphères enrichies à 30 % en O_2 (Tableau 4.4.8).
De façon équivalente, on observe que :
- l'augmentation de la pression de 1 à 1,3 bar (et donc de l'O_2 initialement disponible) provoque une diminution des valeurs de k_La pour une formulation identique et quelle que soit la durée de pétrissage ;
- à pression égale, l'ajout de GOX (15,5 µkat) ou de COX (2,3 µkat) provoque l'augmentation des valeurs du k_La, en particulier après 750 s de pétrissage, par rapport aux pâtes témoins. Là encore, l'augmentation est plus marquée pour l'ajout de GOX que pour celui de COX et est plus nette pour la pression de 1,3 bar que pour la pression atmosphérique. Ainsi, l'ajout de COX augmente les valeurs du k_La à 750 s de 5 à 13 % lorsque l'atmosphère passe de 1 et 1,3 bar respectivement, alors qu'il augmente de 11 à 24 % lors de l'ajout de GOX dans les mêmes conditions.

b) Rhéologie des pâtes
Les pâtes issues des pétrissages réalisés à pression atmosphérique et à 1,3 bar ont également été soumises au test de compression-relaxation. Les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau 4.4.8. Ils confirment que l'augmentation de la quantité d'oxygène initialement disponible (par augmentation de la pression) ne modifie pas les caractéristiques rhéologiques des pâtes témoins. De même, l'ajout de COX est sans effet significatif sur les pâtes pétries sous pression atmosphérique.

L'ajout de GOX diminue significativement les valeurs de l'indice de relaxation (- 11 %) et de l'indice de comportement visqueux (- 27 %) et augmente la constante de vitesse de relaxation (+ 10 %). Pour les pétrissages à 1,3 bar, les effets de l'ajout de COX deviennent significatifs au moins pour les indices de relaxation (- 9 %) et de comportement visqueux (- 22 %) et ceux de l'ajout de GOX sont accrus avec - 17, - 37 et + 20 % respectivement pour les indices de relaxation et de comportement visqueux et la constante de vitesse de relaxation.

Conclusions

Ces expérimentations, réalisées en présence d'oses oxydases et d'atmosphères enrichies en oxygène, mettent en évidence l'importance de la teneur en oxygène de l'air environnant la pâte dans son aptitude à être oxydée. Dans nos conditions expérimentales, l'augmentation de la quantité d'O_2 disponible accroît fortement l'impact rhéologique de la GOX et de la COX en rendant les pâtes encore moins visqueuses et plus élastiques qu'après un pétrissage classique.

Ces résultats doivent être rapprochés de ceux obtenus par Vemulapalli *et al.* (1998) et Vemulapalli et Hoseney (1998), concernant les effets de l'ajout de GOX sur les propriétés rhéologiques des pâtes et de la fraction soluble de la farine. Vemulapalli *et al.* (1998) ont observé, par des mesures à faible déformation, que l'augmentation de l'activité de la GOX, par un effet dose, provoquait une augmentation des modules élastiques (G') et visqueux (G'') des pâtes avec un effet plus marqué sur G' que sur G''. Ces résultats ont été confirmés par Davidou *et al.* (2008) mais pour des pâtes formulées avec 5 µkat de GOX.kg^{-1} de farine et supplémentées en glucose (16 g.kg^{-1} de farine). Vemulapalli et Hosemey (1998) indiquent que la GOX provoque la gélification oxydative de la fraction hydrosoluble de la farine en augmentant sa viscosité jusqu'à la dose de 1 µkat.kg^{-1} de farine. Ils précisent que, pour des ajouts plus importants, la viscosité de la fraction hydrosoluble diminue. Pour notre part, le manque de temps ne nous a permis de faire varier la dose de GOX.

Le pétrissage sous atmosphères enrichies en O_2 pourrait également être considéré comme un moyen de faire varier les formulations des pâtes, en diminuant par exemple l'ajout d'oxydases, tout en conservant un niveau d'oxydation suffisant et des propriétés rhéologiques satisfaisantes.

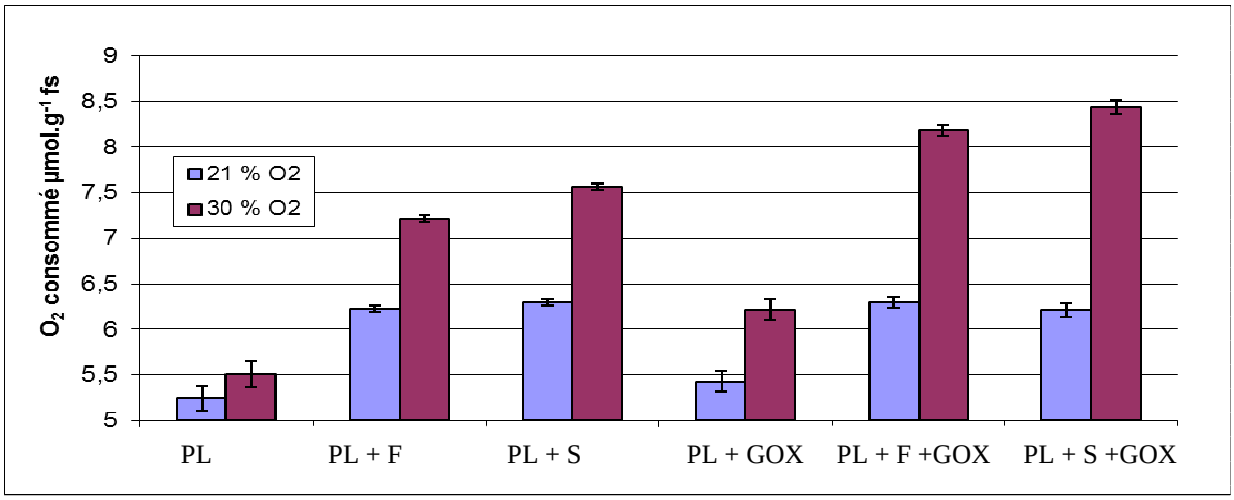


Figure 4.4.17 : Consommations d'O_2 en fin de pétrissage de pâtes levurées contenant ou non de la farine de fève ou de soja et/ou de la GOX.

Tableau 4.4.9 : Effet de l'ajout de GOX et de farine de légumineuses sur la consommation, la surconsommation et la vitesse maximale de consommation d'O_2 de pâtes levurées pétries sous atmosphères contenant initialement 21 ou 30 % d'O_2.

Pâtes	% O_2	O_2 consommé (µmol.g^{-1} de fs)	Groupe homogène de consommation d'O_2	O_2 surconsommé (µmol.g^{-1} de fs)	Gain de surconsommation d'O_2 par modification de l'atmosphère (%)	ViO_{2max} (nmol.s^{-1}.g^{-1} de fs)
PL	21	5,25 ± 0,28	A	-	-	8,41 ± 0,54
PL + F		6,23 ± 0,16	C	0,98	-	9,16 ± 0,67
PL + S		6,30 ± 0,16	C	1,05	-	9,45 ± 0,58
PL + GOX		5,43 ± 0,10	B	0,18	-	8,66 ± 0,60
PL + F + GOX		6,30 ± 0,12	C	1,05	-	9,35 ± 0,52
PL + S + GOX		6,21 ± 0,24	C	0,97	-	11,35 ± 0,45
PL	30	5,51 ± 0,12	B	-	-	9,35 ± 0,52
PL + F		7,21 ± 0,20	D	1,70	73	11,35 ± 0,60
PL + S		7,57 ± 0,36	E	2,06	96	11,82 ± 0,55
PL + GOX		6,22 ± 0,14	C	0,71	294	10,22 ± 0,57
PL + F + GOX		8,19 ± 0,32	F	2,68	155	13,32 ± 0,59
PL + S + GOX		8,44 ± 0,16	G	2,92	178	12,72 ± 0,49

4.4.3 Effet d'une atmosphère enrichie en O_2 (30 % à pression atmosphérique) sur des pâtes levurées contenant de la GOX et/ou des farines de légumineuse et/ou une lipase-phospholipase.

A 21 % d'O_2, il existe une compétition pour l'O_2 incorporé à la pâte entre la levure, la LOX de blé et les autres systèmes consommateurs d'oxygènes tels que les oses oxydases et les LOX des farines de fève ou de soja (Chapitre 4.3). On peut donc penser que l'utilisation d'atmosphères enrichies en O_2 représente un moyen de réduire ces compétitions.

4.4.3.1 Conséquences de l'ajout de LOX et/ou de GOX exogènes

a) Consommation d'O_2 des pâtes

- Impact des LOX de fève et de soja sans GOX :

La Figure 4.4.17 ainsi que le Tableau 4.4.9 permettent de constater que les consommations d'O_2 des pâtes contenant de la farine de fève ou de soja sans GOX augmentent avec la quantité d'O_2 disponible. Les surconsommations d'O_2 attribuées aux LOX de fève et de soja augmentent respectivement de 73 et 96 % lors du passage de 21 à 30 % d'O_2. L'ajout de farine de fève ou de soja a également un impact sur les ViO_{2max} qui augmentent de près de 25 % lorsque la teneur en O_2 passe à 30 % et seulement de 11 % pour les pétrissages réalisés avec un pourcentage d'O_2 égal à 21 %.

L'enrichissement de l'atmosphère en oxygène permet donc de mieux exploiter le potentiel oxydatif des farines de fève et de soja en apportant davantage de substrat oxydant.

- Impact des LOX de fève et de soja avec GOX :

Lorsque les farines de fève ou de soja sont combinées à de la GOX au cours d'un pétrissage sous atmosphère enrichie en oxygène, les consommations d'O_2 augmentent significativement par rapport aux même pâtes pétries avec 21 % d'O_2 à pression atmosphérique (Figure 4.4.17 et Tableau 4.4.9). Ainsi, les surconsommations attribuées aux LOX de fève et LOX de soja augmentent respectivement de 155 et 201 % lors de l'enrichissement de l'atmosphère en O_2. Parallèlement, les ViO_{2max} augmentent de 42 et 12 % pour les pâtes contenant de la farine de fève et de soja respectivement.

Tableau 4.4.10 : Effet de l'ajout de farine de fève ou de soja et/ou de GOX sur les valeurs de k_La (k_La_{max}, à 105, 300 et 750 s de pétrissage) et les caractéristiques rhéologiques de pâtes levurées, pétries sous atmosphères normales (21 % d'O_2 à 1 bar) ou enrichies en O_2 (30 % d'O_2 à 1 bar).

		k_La (h^{-1})				Propriétés rhéologiques		
Pâtes	% O_2 initial	k_La max	105 s	300 s	750 s	IR (%)	1/α	k (s^{-1})
PL	21	$1,30_{\pm0,07}$	$1,11_{\pm0,12}$	$1,29_{\pm0,10}$	$0,84_{\pm0,04}$	$86_{\pm2}$	$0,3_{\pm0,03}$	$0,37_{\pm0,08}$
PL + F		$1,42_{\pm0,11}$	$1,34_{\pm0,10}$	$1,42_{\pm0,08}$	$1,23_{\pm0,06}$	$85_{\pm1}$	$0,28_{\pm0,01}$	$0,4_{\pm0,03}$
PL + S		$1,48_{\pm0,05}$	$1,36_{\pm0,12}$	$1,48_{\pm0,11}$	$1,19_{\pm0,05}$	$85_{\pm1}$	$0,29_{\pm0,01}$	$0,4_{\pm0,10}$
PL + GOX		$1,35_{\pm0,10}$	$1,14_{\pm0,09}$	$1,35_{\pm0,08}$	$0,93_{\pm0,04}$	$77_{\pm1}$	$0,22_{\pm0,01}$	$0,46_{\pm0,08}$
PL + F + GOX		$1,54_{\pm0,10}$	$1,22_{\pm0,11}$	$1,53_{\pm0,08}$	$1,13_{\pm0,04}$	$81_{\pm1}$	$0,25_{\pm0,01}$	$0,37_{\pm0,04}$
PL + S + GOX		$1,50_{\pm0,06}$	$1,23_{\pm0,07}$	$1,50_{\pm0,10}$	$1,17_{\pm0,03}$	$80_{\pm1}$	$0,24_{\pm0,01}$	$0,41_{\pm0,06}$
PL	30	$1,02_{\pm0,07}$	$0,95_{\pm0,11}$	$0,97_{\pm0,08}$	$0,53_{\pm0,02}$	$86_{\pm1}$	$0,31_{\pm0,01}$	$0,36_{\pm0,03}$
PL + F		$1,27_{\pm0,10}$	$1,11_{\pm0,09}$	$1,26_{\pm0,05}$	$0,89_{\pm0,03}$	$85_{\pm1}$	$0,29_{\pm0,01}$	$0,39_{\pm0,01}$
PL + S		$1,30_{\pm0,12}$	$1,15_{\pm0,08}$	$1,29_{\pm0,07}$	$0,91_{\pm0,04}$	$85_{\pm1}$	$0,29_{\pm0,01}$	$0,42_{\pm0,01}$
PL + GOX		$1,11_{\pm0,09}$	$0,94_{\pm0,09}$	$1,10_{\pm0,06}$	$0,68_{\pm0,03}$	$73_{\pm1}$	$0,19_{\pm0,01}$	$0,54_{\pm0,08}$
PL + F + GOX		$1,41_{\pm0,15}$	$1,03_{\pm0,10}$	$1,41_{\pm0,07}$	$1,10_{\pm0,04}$	$76_{\pm2}$	$0,22_{\pm0,01}$	$0,38_{\pm0,06}$
PL + S + GOX		$1,44_{\pm0,08}$	$1,24_{\pm0,10}$	$1,44_{\pm0,08}$	$1,14_{\pm0,06}$	$77_{\pm1}$	$0,22_{\pm0,01}$	$0,48_{\pm0,03}$

De plus, l'addition des surconsommations d'O_2 dues à la GOX et aux LOX de fève ou de soja à 30 % d'O_2 prises séparément est proche des surconsommations des mélanges de GOX avec les LOX de fève ou de soja. Ainsi, la compétition pour l'utilisation de l'oxygène est logiquement moins marquée en présence de 30 % d'O_2 qu'à 21 % dans l'atmosphère.

L'ensemble des valeurs des coefficients volumiques de transfert (maximale et après 105, 300 et 750 s de pétrissage) est reporté dans le Tableau 4.4.10 pour les pétrissages sous atmosphères normales et enrichies à 30 % en O_2. L'effet de l'ajout de GOX est confirmé : augmentation des valeurs de k_La plus marquée en présence de 30 % d'O_2 que sous atmosphère normale, notamment après 750 s de pétrissage.
A 21 % d'O_2, l'ajout de LOX exogènes provoque également une augmentation de l'ensemble des valeurs de k_La, les augmentations les plus fortes étant observées en fin de pétrissage. Cet effet, identique pour les deux types de farines de légumineuses, est plus prononcé lorsque le pétrissage a lieu en présence de 30 % d'oxygène dans la phase gazeuse.
L'ajout simultané de GOX et de LOX exogènes accroît l'ensemble des valeurs de k_La et de façon plus marquée lorsque l'atmosphère est enrichie à 30 % en O_2. Les écarts les plus élevés par rapport à la pâte témoin sont observés en fin de pétrissage.

b) Rhéologie des pâtes

Toutes les pâtes levurées, avec ou sans GOX et/ou LOX exogènes et pétries sous atmosphère normale ou enrichie à 30 % d'oxygène, ont été soumises au test de compression-relaxation (Tableau 4.4.10). Il se confirme qu'à 21 % d'O_2 dans l'atmosphère, l'ajout de GOX provoque une nette diminution des indices de relaxation et du comportement visqueux ainsi qu'une augmentation significative de la constante de vitesse de relaxation et que ces effets sont plus marqués lorsque les pâtes sont pétries sous une atmosphère à 30 % d'oxygène. Cependant, alors que les pâtes contenant une LOX exogène présentent un k_La nettement plus élevé que celui des pâtes pétries en présence de GOX en fin de pétrissage, aucun effet significatif n'est observé sur l'indice de relaxation aussi bien à 21 qu'à 30 % d'oxygène.
Seules de faibles variations de l'indice de comportement visqueux (diminution) et de la constante de vitesse de relaxation (augmentation) sont observées sans que l'augmentation de la quantité d'oxygène disponible accentue ces effets.

Par ailleurs, l'ajout simultané de LOX exogènes et de GOX diminue les effets rhéologiques observés en présence de GOX seule : diminutions moins marquées des indices de relaxation et de comportement visqueux d'une part et augmentation moins nette de la constante de vitesse de relaxation d'autre part, en particulier lors des pétrissages réalisés à 21 % d'oxygène. Ainsi, il apparaît que l'amélioration de l'efficacité du transfert d'oxygène dans la pâte ne se traduit pas automatiquement par un effet rhéologique mesurable, tel qu'une diminution du comportement visqueux, lors du test de compression-relaxation. Il est donc possible que le surcroît d'oxydation des lipides engendré par l'ajout de LOX exogène, même en présence d'atmosphères enrichies en O_2, n'affecte pas suffisamment les autres composants de la pâte (les thiols par exemple), pour mettre en évidence un effet rhéologique lors du test de compression-relaxation.

Il faut également observer que l'effet amoindri de la GOX, lorsqu'elle est ajoutée en même temps que les LOX exogènes, même en présence d'atmosphères enrichies en O_2, est probablement dû à une production moins importante de peroxyde d'hydrogène en raison de l'augmentation de la part d'oxygène consommée par le système lipoxygénasique au détriment de celle consommée par la GOX. Ceci entraîne une plus faible activité du système peroxydasique responsable des effets rhéologiques observés lors des tests de compression-relaxation.

4.4.3.2 Conséquence de l'ajout d'une lipase-phospholipase (Lipopan FBG) combinée ou non avec de la GOX

L'action du système lipoxygénasique du blé pendant le pétrissage peut également être accrue par un ajout de lipase dans la formulation des pâtes (Castello, 1999). Cette enzyme hydrolyse les liaisons esters entre le glycérol et les acides gras dont les AG oxydables par la LOX de blé. C'est la raison pour laquelle nous avons déterminé les effets de l'ajout de 100 ppm d'une lipase-phospholipase (activité de la poudre contenant l'enzyme : 21000 $LU.g^{-1}$ sur tributyrine et 12000 $LU.g^{-1}$ sur lécithine de jaune d'œuf) à des pâtes levurées pétries avec ou sans GOX et sous une atmosphère normale (21 % d'O_2) ou enrichie en oxygène (30 % d'O_2) sur la consommation d'oxygène, le coefficient de transfert d'oxygène et les propriétés rhéologiques.

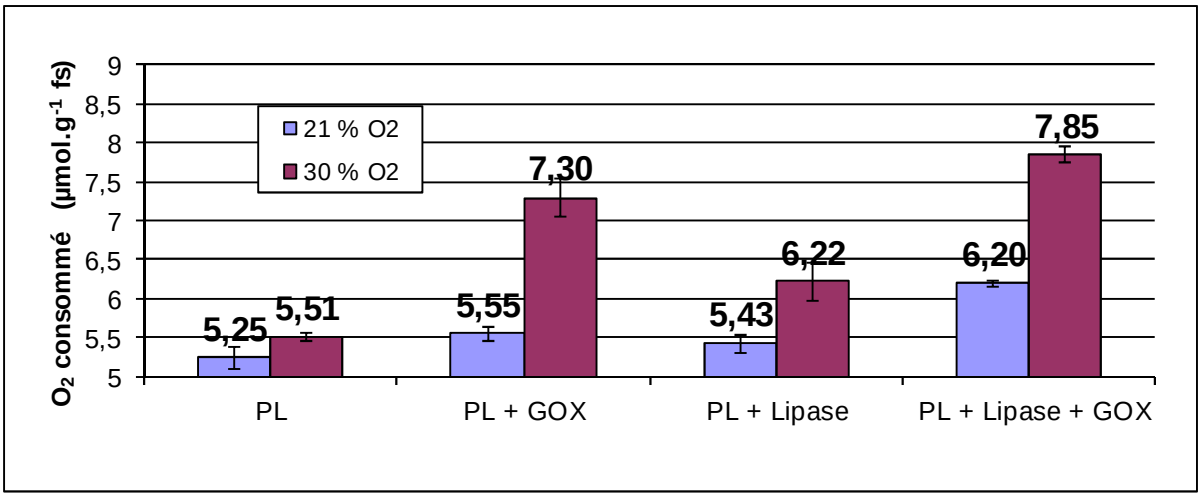


Figure 4.4.18 : Consommation d'O_2 en fin de pétrissage de pâtes levurées contenant ou non de la GOX et/ou de la Lipopan en présence de 21 et 30 % d'O_2.

Tableau 4.4.11 : Effets de l'ajout de GOX et de Lipopan FBG sur les valeurs de k_La (k_La_{max}, à 105, 300 et 750 s de pétrissage) et les caractéristiques rhéologiques de pâtes levurées et pétries sous atmosphères normales ou enrichies en O_2 (21 ou 30 % à 1 bar).

		k_La (h^{-1})				Propriétés rhéologiques		
% O_2 initial	Pâtes	k_La max	105 s	300 s	750 s	IR (%)	1/α	k (s^{-1})
21	PL	$1,3_{\pm0,07}$	$1,11_{\pm0,12}$	$1,29_{\pm0,10}$	$0,84_{\pm0,04}$	$86_{\pm2}$	$0,3_{\pm0,03}$	$0,37_{\pm0,08}$
	PL + Lipase	$1,25_{\pm0,09}$	$1,06_{\pm,10}$	$1,25_{\pm0,10}$	$1,04_{\pm0,05}$	$86_{\pm1}$	$0,3_{\pm0,01}$	$0,43_{\pm0,04}$
	PL + GOX	$1,35_{\pm0,10}$	$1,14_{\pm0,09}$	$1,35_{\pm0,08}$	$0,93_{\pm0,04}$	$77_{\pm2}$	$0,22_{\pm0,01}$	$0,46_{\pm0,08}$
	PL + Lipase + GOX	$1,46_{\pm0,11}$	$1,22_{\pm0,13}$	$1,46_{\pm0,12}$	$1,18_{\pm0,05}$	$79_{\pm1}$	$0,23_{\pm0,01}$	$0,41_{\pm0,04}$
30	PL	$1,02_{\pm0,07}$	$0,95_{\pm0,11}$	$0,97_{\pm0,08}$	$0,53_{\pm0,02}$	$86_{\pm1}$	$0,31_{\pm0,01}$	$0,36_{\pm0,03}$
	PL + Lipase	$1,14_{\pm0,08}$	$0,99_{\pm0,11}$	$1,14_{\pm0,08}$	$0,89_{\pm0,03}$	$85_{\pm1}$	$0,3_{\pm0,01}$	$0,41_{\pm0,05}$
	PL + GOX	$1,11_{\pm0,09}$	$0,94_{\pm0,09}$	$1,1_{\pm0,06}$	$0,68_{\pm0,03}$	$73_{\pm1}$	$0,19_{\pm0,01}$	$0,54_{\pm0,08}$
	PL + Lipase + GOX	$1,36_{\pm0,11}$	$1,1_{\pm0,09}$	$1,36_{\pm0,09}$	$1,05_{\pm0,04}$	$78_{\pm1}$	$0,24_{\pm0,01}$	$0,4_{\pm0,06}$

a) Consommation d'O_2 des pâtes

En accord avec les résultats d'Ameille *et al.* (2000), nous confirmons que l'ajout de la lipase provoque une surconsommation significative d'oxygène au cours du pétrissage (Figure 4.4.18). Sous atmosphère normale (21 % d'O_2), celle-ci est de 5 %, elle passe à 33 % lorsque l'atmosphère est enrichie à 30 % d'O_2, par rapport aux pâtes témoins pétries dans les mêmes conditions.

La comparaison des quantités d'O_2 consommées par les pâtes témoins avec celles contenant de la Lipopan montre que la teneur en AG libres oxydables naturellement présents dans la farine peut limiter la consommation d'oxygène globale de la pâte témoin. L'activité lipolytique de la Lipopan permet, dans nos conditions expérimentales, de produire des substrats lipidiques oxydables par la LOX de blé, entraînant une augmentation de la consommation globale d'O_2 par la pâte.

A 21 % d'O_2, l'ajout de GOX ou de Lipopan augmente la consommation d'O_2 de la pâte de (+ 0,24 µmol.g^{-1} fs en moyenne). On remarque que la surconsommation d'O_2 du mélange GOX + Lipopan (+ 0,95 µmol.g^{-1} de fs) est supérieure aux surconsommations cumulées dues à la GOX et à la Lipopan (0,30 + 0,18 = 0,48 µmol.g^{-1} de fs).

A 30 % d'O_2, la surconsommation du mélange GOX + Lipopan atteint 2,34 µmol.g^{-1} de fs et est légèrement inférieure aux surconsommations cumulées dues à la GOX et à la Lipopan (1,79 + 0,71 = 2,50 µmol.g^{-1} de fs). Il apparaît ainsi que, dans nos conditions expérimentales et en présence de lipases, la compétition entre la GOX et la LOX pour l'utilisation de l'oxygène incorporé à la pâte est peu marquée.

L'ensemble des valeurs des coefficients volumiques de transfert d'oxygène (maximales et après 105, 300 et 750 s de pétrissage) est fourni dans le Tableau 4.4.11. Dans une atmosphère normale, les effets de l'ajout de Lipopan sur les valeurs du k_La n'apparaissent que dans la seconde partie du pétrissage (au-delà de 300 s). Ce résultat est logique puisqu'au début du pétrissage, la LOX de blé dispose des AG libres oxydables initialement présents dans la farine. Ce n'est qu'après un certain temps que la lipase a libéré suffisamment d'AG libres oxydables pour entretenir la consommation d'oxygène due à l'activité lipoxygénasique. En revanche, en absence de lipases (et donc de libération d'AG libres oxydables), l'activité lipoxygénasique décline rapidement dans la seconde partie du pétrissage.

L'ajout simultané de GOX et de Lipopan ne provoque qu'une légère augmentation des valeurs de k_La par rapport à celles observées avec la GOX seule. L'effet le plus important est là encore observé en fin de pétrissage.
Lorsque l'atmosphère est enrichie à 30 % d'O_2, les mêmes effets sont visibles mais nettement plus marqués. Ainsi après 750 s de pétrissage, les augmentations de k_La dues à la présence de Lipopan seule passent de 24 (21 % d'O_2) à 68 % (30 % d'O_2) et, en présence de GOX et de Lipopan, elles passent de 40 (21 % d'O_2) à 98 % (30 % en O_2).

b) Rhéologie des pâtes

Toutes les pâtes issues des pétrissages précédents ont été soumises au test de compression-relaxation et les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau 4.4.11. A 21 % d'O_2, comme pour l'ajout de farine de fève ou de soja, la présence de Lipopan dans la pâte n'a pas d'effet significatif sur les indices de relaxation et de comportement visqueux par rapport au témoin. De même, aucun effet n'apparaît lorsque la Lipopan est ajoutée à une pâte contenant de la GOX. Des résultats identiques sont observés quand l'atmosphère est enrichie à 30 % d'O_2. C'est seulement sur la constante de vitesse de relaxation que l'ajout de Lipopan a un effet en augmentant faiblement la valeur de k par rapport à la pâte témoin et en diminuant la valeur de ce même indice par rapport à la pâte ne contenant que de la GOX et ceci, quelle que soit la quantité d'oxygène initialement disponible dans l'atmosphère environnant la pâte.

De ces dernières observations, on peut conclure que, dans nos conditions expérimentales, l'accroissement de l'oxydation obtenu, soit par l'ajout de farine de fève ou de soja, soit par l'ajout de lipase-phospholipase, en présence d'une atmosphère normale ou enrichie en O_2, est sans effet sur les paramètres rhéologiques mesurées lors du test de compression-relaxation. De plus, ces ajouts peuvent diminuer l'impact de l'ajout de GOX sur les propriétés rhéologiques des pâtes, notamment lors de pétrissages à pression atmosphérique.

Conclusions

Les expérimentations présentées ci-dessus ont permis de mettre en évidence que l'effet des oxydases sur certaines caractéristiques bio-physicochimiques de la pâte à pain peut être limité par la capacité de l'oxygène à être transféré dans la pâte au cours du pétrissage.

Tableau 4.4.12 : Formulations et conditions de pétrissage des pâtes.

Pâte	PL	PL + GOX	PL	PL + GOX	PL + GOX	PL + GOX	PL + GOX	PL + GOX
O_2 disponible (µmol.g^{-1} farine sèche)	24,5	24,5	34,5	34,5	34,5	34,5	34,5	34,5
Teneur totale en H_2O de la pâte (%)	46,2	46,2	46,2	46,2	46,9	47,6	48,3	49,0
H_2O ajouté à 100 g de farine humide	58,0	58,0	58,0	58,0	60,1	62,3	64,5	66,8
Farine (g)	2584	2584	2584	2584	2545	2505	2466	2426
Sel (g)	47	47	47	47	46,29	45,57	44,85	44,14
Eau (g)	1500	1500	1500	1500	1530	1560	1590,6	1620,6
Levure (g)	25,84	25,84	25,84	25,84	25,45	25,05	24,66	24,27
Glucose oxydase (mg)	0	83,6	0	83,6	82,3	81,1	79,8	78,5
Activité GOX ajoutée (µkat)	0	15,6	0	15,6	15,4	15,1	14,9	14,6

Le pétrissage sous atmosphère enrichie en oxygène par injection d'O_2 pur ou par pressurisation de la cuve de pétrissage ouvre des perspectives dans l'optimisation de l'utilisation des agents oxydants au cours du pétrissage en permettant d'accroître l'activité des oxydases. Ce procédé peut soit accentuer l'impact d'un seul agent oxydant consommateur d'O_2 sans en augmenter la dose, soit diminuer, sans pour autant les éliminer, les phénomènes de compétition pour l'O_2 entre plusieurs consommateurs d'oxygène. Il est ainsi possible de tirer meilleur parti de la combinaison de plusieurs agents oxydants ce qui peut être difficile à réaliser dans des conditions classiques de pétrissage.

Par ailleurs, les variations de k_La suite à l'ajout de systèmes consommateurs d'oxygène dans la pâte ne se traduisent pas systématiquement par des effets rhéologiques lorsqu'ils sont mesurés par le test de compression-relaxation que nous avons utilisé.

4.4.4 Exercice d'application : Utilisation d'une atmosphère enrichie en O_2 et de GOX pour l'améliorer la qualité des pains

Le pétrissage de pâtes levurées contenant de la GOX réalisé sous atmosphères enrichies en O_2 conduit à des pâtes qui présentent un excès d'élasticité et un manque d'extensibilité les rendant impropres à la panification. Ces défauts rhéologiques sont attribués à un excès de réticulations des protéines et/ou des arabinoxylanes provoqués par une forte activité peroxydasique alimentée par une importante production de peroxyde d'hydrogène provenant de l'accroissement de l'activité GOX.

Il a donc été tenté de modifier la formulation des pâtes contenant de la GOX et pétrie sous atmosphère enrichie en O_2 en augmentant leur teneur en eau, tout en pétrissant un volume constant de pâte (3479 cm^3). L'objectif était de déterminer la teneur en eau permettant de retrouver les caractéristiques rhéologiques d'une pâte contenant de la GOX et pétrie dans des conditions classiques.

Dans ces expérimentations, les teneurs en eau des pâtes sont comprises entre 46,2 et 49 g pour 100 g de pâte et correspondent à l'ajout de 58 à 66,8 g d'eau pour 100 g de farine humide (Tableau 4.4.12). La dose de GOX ajoutée est constante : 7,2 nkat par gramme de farine sèche. Le volume de la somme des ingrédients est constant (3479 cm^3), quelle que soit l'hydratation de la pâte, de façon à avoir un volume de phase gazeuse constant.

Tableau 4.4.13 : Consommations d'O_2 en fin de pétrissage et surconsommation d'O_2 par la GOX selon la teneur en eau des pâtes et la quantité initiale d'O_2 de la phase gazeuse.

	O_2 disponible ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	O_2 consommé ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	O_2 surconsommé par la GOX ($\mu mol.g^{-1}$ fs)	Groupe homogène (test LSD risque alpha 5 %)
PL 46,2 % H_2O	24,5	5,20 ± 0,28	-	1
PL + GOX 46,2 % H_2O	24,5	5,38 ± 0,22	0,18	2
PL 46,2 % H_2O	34,5	5,45 ± 0,12	-	2
PL + GOX 46,2 % H_2O	34,5	6,14 ± 0,48	0,69	3
PL + GOX 46,9 % H_2O	34,5	6,67 ± 0,26	1,22	4
PL + GOX 47,6 % H_2O	34,5	6,78 ± 0,12	1,33	4
PL + GOX 48,3 % H_2O	34,5	6,84 ± 0,26	1,39	4
PL + GOX 49 % H_2O	34,5	6,67 ± 0,18	1,22	4

Tableau 4.4.14 : Effet de l'hydratation des pâtes pétries en présence de GOX et d'une atmosphère enrichie en oxygène sur les valeurs de k_La_{max} et de k_La après 105, 300 et 750 s de pétrissage (exprimées en h^{-1}).

Teneur en eau	46,2 %	46,9 %	47,6 %	48,3 %	49 %
k_La_{105}	$0,91_{\pm 0,08}$	$1,07_{\pm 0,09}$	$1,03_{\pm 0,08}$	$1,14_{\pm 0,10}$	$0,96_{\pm 0,07}$
k_La_{300}	$1,11_{\pm 0,09}$	$1,18_{\pm 0,08}$	$1,22_{\pm 0,01}$	$1,20_{\pm 0,09}$	$1,16_{\pm 0,10}$
k_La_{750}	$0,68_{\pm 0,03}$	$0,74_{\pm 0,04}$	$0,76_{\pm 0,03}$	$0,77_{\pm 0,03}$	$0,82_{\pm 0,04}$
k_La_{max}	$1,12_{\pm 0,08}$	$1,20_{\pm 0,07}$	$1,23_{\pm 0,09}$	$1,23_{\pm 0,10}$	$1,16_{\pm 0,07}$

4.4.4.1 Consommations d'oxygène des pâtes

L'analyse des consommations d'oxygène enregistrées (Tableau 4.4.13) met en évidence :

- une augmentation de la consommation d'oxygène des pâtes contenant ou non de la GOX (+ 0,25 µmol.g^{-1} de fs sans GOX et + 0,76 µmol.g^{-1} de fs avec GOX pour une teneur en eau de 46,2 %) lorsque la teneur en O_2 de la phase gazeuse passe de 24,5 à 34,5 µmol.g^{-1} de fs ;
- une augmentation de la consommation d'O_2 due à la GOX quand la teneur en O_2 disponible augmente (+ 0,18 µmol.g^{-1} de fs pour une atmosphère normale et + 0,69 µmol.g^{-1} de fs avec GOX pour une atmosphère enrichie en O_2);
- une augmentation significative de la surconsommation d'O_2 des pâtes due à l'activité de la GOX avec l'augmentation de l'hydratation de la pâte entre 46,2 % à 46,9 %. Au-delà de 46,9 %, la consommation d'O_2 des pâtes et la surconsommation d'O_2 de la GOX n'évoluent plus, quelle que soit la teneur en eau de la pâte.

L'analyse des coefficients de transfert d'O_2 au cours du pétrissage des pâtes contenant de la GOX, pétrie sous atmosphère enrichie en O_2 et à hydratation variable (Tableau 4.4.14), montre que les valeurs du k_La augmentent en fin de pétrissage de 5, 11, 13 et 22 % lorsque les hydratations des pâtes sont égales à 46,9, 47,6, 48,3 et 49 % respectivement. D'après l'équation Stokes-Einstein cette augmentation du k_La serait liée à une diminution de la viscosité du milieu liquide. Par ailleurs, Davidou *et al.* (2008) et Miller et Hoseney (1999) ont montré qu'une augmentation de la teneur en eau d'une pâte diminue son module visqueux (G'').

4.4.4.2 Propriétés rhéologiques des pâtes

- Indice de relaxation (IR) (Tableau 4.4.15)

Les analyses réalisées à l'aide du texturomètre par des tests de compression – relaxation ont permis de faire les constatations suivantes :

- diminution de l'IR en présence de GOX mettant en évidence un gain d'élasticité de la pâte. Cet impact est plus prononcé lorsque le pétrissage est réalisé sous atmosphère enrichie en O_2 (- 9 % par rapport à la pâte témoin sous atmosphère normale et – 13 % par rapport à la pâte témoin sous atmosphère enrichie en O_2) ;
- pas d'impact de l'enrichissement de l'atmosphère en O_2 sur l'IR des pâtes témoins ;
- augmentation significative de l'IR quand la teneur en eau des pâtes augmente.

Tableau 4.4.15 : Indices de relaxation selon la teneur en eau des pâtes et la quantité initiale d'O_2 de la phase gazeuse.

	IR (%)	Groupe homogène (test LSD risque alpha 5 %)
PL 46,2% H_2O	$86_{\pm 2}$	E
PL + GOX 46,2% H_2O	$77_{\pm 1}$	C
PL 46,2% H_2O	$86_{\pm 1}$	E
PL + GOX 46,2% H_2O	$73_{\pm 1}$	A
PL + GOX 46,9% H_2O	$75_{\pm 2}$	B
PL + GOX 47,6% H_2O	$76_{\pm 1}$	B ; C
PL + GOX 48,3% H_2O	$77_{\pm 1}$	C
PL + GOX 49% H_2O	$83_{\pm 1}$	D

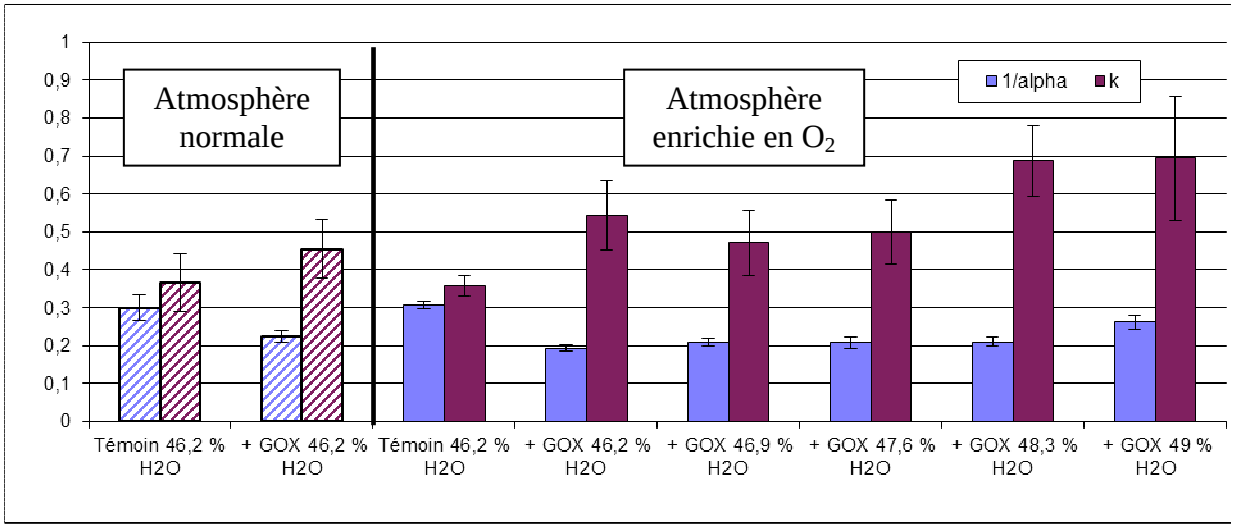


Figure 4.4.19 : Effet du taux d'hydratation de la pâte et de l'ajout de GOX sur l'indice de comportement visqueux (1/α) et la constante de vitesse de relaxation (k) de pâtes pétries sous atmosphères normales enrichies ou non en O_2.

De plus, on constate que l'IR d'une pâte hydratée à 46,2 %, pétrie dans des conditions classiques et contenant de la GOX, est égal à celui de la pâte hydraté à 48,3 %, pétrie à 30 % d'O_2 et contenant de la GOX. L'hydratation de cette dernière pâte est de 64,5 g d'eau pour 100 g de farine humide (Tableau 4.4.12), soit 6,5 g d'eau de plus que la pâte préparée avec de la GOX et pétrie avec 21 % d'O_2 dans l'atmosphère.

- Indice de comportement visqueux (1/α)

L'analyse des indices de comportement visqueux des pâtes (Figure 4.4.19) permet de faire les observations suivantes :

- diminution de 1/α suite à l'ajout GOX dans la pâte. L'effet est renforcé lorsque la teneur en O_2 initiale de l'atmosphère passe à 30 % ;
- pas d'effet de l'augmentation de l'hydratation d'une pâte entre 46,2 et 48,3 % et contenant de la GOX. On constate une augmentation de 1/α lorsque l'hydratation est égale à 49 % ;
- la valeur de 1/α d'une pâte contenant de la GOX, hydratée à 46,2 % et pétrie sous atmosphère normale, est égale à celle d'une pâte à 48,3 % pétrie sous atmosphère enrichie en O_2.

- Constante de vitesse de relaxation (k) :

L'analyse des constantes de vitesse de relaxation (Figure 4.4.19) montre qu'elles augmentent en présence de GOX, ainsi qu'avec l'hydratation de la pâte quand elle est supérieure à 47,6 %. Ainsi, les valeurs de k des pâtes additionnées de GOX, pétries à 30 % d'O_2 et dont l'hydratation est supérieure à 47,6 % sont significativement plus élevées que celle de la pâte additionnée de GOX et pétrie sous atmosphère normale.

On notera que les pâtes dont les teneurs en eau sont supérieures à 47,6 g d'eau pour 100 g de farine humide présentent un manque de cohésion, un caractère collant et une mauvaise aptitude à l'extrusion et au laminage nécessaires au test de compression-relaxation.

Tableau 4.4.16 : Caractéristiques des pains issus de pâtes levurées, surhydratées ou non, préparées avec ou sans GOX et pétries sous atmosphère normale ou enrichie en O_2.

	Témoin	+ GOX	Témoin	+ GOX	+ GOX
O_2 initial (%)	21	21	30	30	30
H_2O (%)	46,2	46,2	46,2	46,2	47,6
Volume (cm^3)	$246_{\pm 14}$	$190_{\pm 7}$	$250_{\pm 7}$	$185_{\pm 5}$	$188_{\pm 8}$
Volume spécifique ($cm^3.g^{-1}$)	$3,64_{\pm 0,44}$	$2,62_{\pm 0,10}$	$3,47_{\pm 0,12}$	$2,51_{\pm 0,07}$	$2,57_{\pm 0,13}$
Perte de masse à la cuisson (%)	$19,89_{\pm 0,85}$	$19,05_{\pm 0,64}$	$20,01_{\pm 0,76}$	$18,48_{\pm 0,45}$	$19,39_{\pm 0,41}$
Rapport L_{max}/H_{max} des pains	$0,36_{\pm 0,03}$	$0,35_{\pm 0,03}$	$0,37_{\pm 0,05}$	$0,33_{\pm 0,02}$	$0,34_{\pm 0,02}$

4.4.4.3 Caractéristiques des pains

Afin de confirmer qu'il est possible d'augmenter l'hydratation des pâtes pétries en présence d'une atmosphère enrichie en O_2 et de GOX, des micros tests de panification ont été réalisés. Les formulations retenues pour la panification correspondent à celles des pâtes témoins et avec GOX à 21 et 30 % d'O_2 ainsi que les pâtes additionnées de GOX, hydratées à 47,6 % à 30 % d'O_2 (Tableau 4.4.16).

Le volume des pains obtenus après pétrissage de pâtes levurées sans GOX avec 21 % d'O_2 n'est pas modifié par l'enrichissement en oxygène de l'air. En revanche, la présence de GOX diminue le volume, le volume spécifique, la perte de masse suite à la cuisson ainsi que le rapport L_{max}/H_{max} (respectivement de -23, -28, -4 et –3 % dans le cas de pétrissage sous atmosphère normale pour une hydratation de 46,2 %), probablement en raison d'une trop forte réticulation des protéines et des arabinoxylanes attribuée à une activité GOX trop élevée au cours du pétrissage. Ces réticulations ont pour conséquence de limiter l'expansion des pâtons pendant la cuisson et de retenir l'eau à l'intérieur des pains puisque la perte de masse suite à la cuisson diminue.

Pour une même hydratation de 46,2 %, l'enrichissement de l'atmosphère en O_2 renforce l'effet de la GOX sur la diminution du volume, du volume spécifique, de la perte de masse suite à la cuisson et du rapport L_{max}/H_{max} (respectivement de -26, -28, -8 et –11 % pour une hydratation de 46,2 %).

On constate également que le passage d'une hydratation 46,2 à 47,6 %, d'une pâte contenant de la GOX et pétrie à 30 % d'O_2, diminue l'effet de la GOX sur les pains (-25, -26, -3 et –8 % respectivement pour le volume, le volume spécifique, la perte de masse suite à la cuisson et le rapport L_{max}/H_{max}). Enfin, les caractéristiques des pains issus de pâtes additionnées de GOX, hydratées à 47,6 % et pétries à 30 % d'O_2 correspondent à celles des pains provenant de pâtes additionnées de GOX, hydratées à 46,2 % et pétries à 21 % d'O_2

Conclusion

Ces résultats préliminaires méritent d'être confirmés avec des doses inférieures de GOX. Cependant, ils semblent indiquer que des pétrissages en présence d'une atmosphère enrichie en O_2 et en présence de GOX devraient permettre d'augmenter l'hydratation des pâtes contenant 7,2 nkat de GOX par gramme de farine sèche à raison de 1,4 g pour 100 g de pâte, soit 4,3 g d'eau ajoutée pour 100 g de farine humide. Une étude complémentaire en boulangerie d'essai est nécessaire pour confirmer l'intérêt de cette technique qui permettrait, aux industriels équipés de pétrin de type batch ou d'un système de d'injection d'O_2 dans la cuve de pétrins conventionnels, de diminuer la quantité de farine ou d'enzymes d'oxydoréduction utilisées.

5 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

5.1 Éléments de conclusions

Initié en décembre 2007, mon programme de thèse avait pour objectif de poursuivre et d'approfondir les travaux entrepris par Levasseur (2007) en utilisant le sitoxygraphe comme moyen de caractériser les pâtes boulangères par une méthode originale, la mesure en continu de la composition de l'atmosphère au cours du pétrissage et de la fermentation.

Le sitoxygraphe est un pétrin-fermenteur instrumenté étanche capable de pétrir des pâtes boulangères et de fournir un ensemble de données (composition, pression et température de la phase gazeuse environnant la pâte) permettant de calculer à tout moment du pétrissage et de la fermentation :

- la quantité d'oxygène utilisée pour l'oxydation de composés réducteurs de la pâte (lipides, pigments caroténoïdes, tocophérol, etc.) et la respiration de la levure ;
- la quantité de CO_2 produite par la levure en distinguant celle qui apparaît dans la phase gazeuse environnant la pâte de celle qui est retenue dans les alvéoles de la pâte ;
- le volume et le volume spécifique de la pâte.

L'utilisation de ce pétrin-fermenteur nécessite une étanchéité suffisante pour établir les bilans de matière à tout instant du pétrissage et de la fermentation, ainsi que la détermination de l'influence de la pression sur la réponse des capteurs à oxygène et à dioxyde de carbone. Une correction mathématique pour chaque capteur a donc été développée pour calculer les pourcentages réels en O_2 et en CO_2 de la phase gazeuse. À partir des pourcentages d'O_2 et de CO_2 réels ainsi que de la température, de la pression de l'atmosphère et du volume réel des ingrédients déposés dans la cuve du pétrin, il est possible de calculer à tout instant, en utilisant la loi des gaz parfaits, les quantités d'O_2 consommées et de CO_2 produites par gramme de farine sèche. Ces données ont été représentées à l'aide d'équations mathématiques. Ainsi, la modélisation des courbes des consommations d'oxygène des pâtes au cours du pétrissage a été réalisée à l'aide du modèle de Rodbard. La dérivée de cette équation a permis de déterminer les vitesses instantanées de consommation d'oxygène ainsi que les coefficients volumiques de transfert d'O_2 à tout moment du pétrissage, dont une analyse complémentaire et plus approfondie pourrait apporter des informations sur la viscosité des pâtes. L'apparition de CO_2 dans la phase gazeuse au cours du pétrissage et de la fermentation ainsi que la rétention de CO_2 dans la pâte au cours de la fermentation ont été modélisées par des équations du second degré.

Par la détermination de la composition de la phase gazeuse environnant la pâte et l'utilisation de la loi des gaz parfaits, il a été possible de calculer, à tout instant du pétrissage et de la fermentation, le volume de la phase gazeuse et donc celui de la pâte. Cette méthode ouvre un nouveau champ d'applications au sitoxygraphe en l'utilisant comme un fermentomètre capable d'analyser les capacités fermentaires de la levure et celles de rétention de la pâte.

Lors de ces travaux de thèse, des analyses biochimiques (teneur en acides gras oxydables, état d'agrégation des protéines, etc.) et rhéologiques ont permis d'évaluer la contribution de certains ingrédients et améliorants couramment utilisés en boulangerie dans l'acquisition des propriétés rhéologiques des pâtes et, dans certain cas, des pains. Quatre produits ont été ajoutés à la farine de blé à des doses recommandées par les fournisseurs :

- la levure sous forme sèche ;
- les oses oxydases ;
- la lipoxygénase par l'ajout de farine de fève et de soja ;
- la lipase-phospholipase.

5.1.1 La levure

Les consommations d'O_2 des pâtes mesurées à l'aide du sitoxygraphe ont montré que la levure, au cours du pétrissage, utilise une fraction de l'oxygène incorporé à la pâte pour son métabolisme aérobie. Cette consommation d'O_2 par la levure génère des compétitions avec les systèmes de consommation d'O_2 présents dans la farine de blé, notamment le système lipoxygénasique (LOX), conduisant à une oxydation moins rapide des acides gras polyinsaturés libres et des pigments caroténoïdes. L'ajout de levure a également un effet sur le profil protéique des pâtes en favorisant la solubilisation des protéines insolubles dans le SDS et en limitant l'augmentation des teneurs en gluténines de haut et de bas poids moléculaire responsables de la structuration du réseau de gluten. Ceci est dû à une compétition pour l'oxygène incorporé à la pâte entre la levure et la LOX de blé dont l'activité permet de réticuler les protéines par cooxydation, mais aussi à un possible apport en GSH qui diminue la formation de liaisons disulfures interprotéiques. Cependant, l'absence d'effet de la levure sur la rhéologie des pâtes estimée avec le consistographe ne reflète pas l'évolution du profil protéique. On observe même, par le test de compression-relaxation, un gain de fermeté et d'élasticité après le pétrissage.

5.1.2 Les oses oxydases

La présence de GOX dans la farine augmente la consommation d'O_2. La surconsommation mesurée permet de déterminer la quantité minimale de glucose oxydé par la GOX pour produire de l'H_2O_2 utilisable par la POD.

La consommation d'O_2 par la GOX n'a pas d'effet sur l'oxydation des AGPI libres et des pigments caroténoïdes mais doit diminuer l'oxydation des AGPI de la fraction TAG.

La présence de GOX modifie le profil protéique de la pâte en augmentant la quantité de protéines insolubles dans le SDS et en favorisant la formation de macroprotéines insolubles de type F1et F2 qui composent le réseau de gluten. L'ajout de GOX a également un effet sur le réseau d'arabinoxylanes puisqu'on observe une diminution des monomères d'AF qui peut être due à la formation de dimères mais aussi à une perte de solubilité des arabinoxylanes. On suppose donc que la présence de GOX dans la pâte permettrait :

- l'oxydation des thiols hydrosolubles de bas poids moléculaire qui du même coup empêcherait la déréticulation des protéines du gluten ;
- la formation de liaisons covalentes entre les protéines et les arabinoxylanes *via* des liaisons entre les résidus tyrosyles et/ou cystéinyles dans les protéines et les résidus féruloyles dans les arabinoxylanes ;
- l'apparition d'un gel (gélification oxydative) d'arabinoxylanes insolubles qui emprisonnerait une partie des protéines.

Ces effets biochimiques ont un effet sur la rhéologie des pâtes qui sont plus fermes et plus élastiques en fin de pétrissage.

5.1.3 La lipoxygénase par l'ajout de farine de fève et de soja

L'ajout de farine de fève ou de soja à la farine de blé apporte une lipoxygénase capable d'oxyder non seulement les AGPI libres mais aussi les AGPI de la fraction TAG. Cet ajout se manifeste par une augmentation de la consommation d'O_2 de la pâte ainsi que de la quantité de lipides et de pigments caroténoïdes oxydés suite au pétrissage.

On observe un effet des farines de fève ou de soja sur le profil protéique des pâtes : augmentation de la proportion des protéines insolubles favorable à la réticulation des protéines du gluten, uniquement pour des pâtes préparées sans levure et avec une farine peu maturée.

L'ajout de farine de fève ou de soja est sans effet sur la fermeté des pâtes ni sur leur élasticité en sortie de pétrin. En revanche, la farine de soja augmente la tolérance des pâtes au surpétrissage, uniquement en l'absence de levure.

5.1.4 La lipase-phospholipase

L'ajout d'une enzyme lipolytique permet de produire des AGPI libres facilement oxydables par la LOX de blé. Il conduit à une augmentation de la consommation d'O_2 de la pâte mais n'a pas d'effet sur l'élasticité des pâtes en fin de pétrissage.

5.1.5 Combinaison GOX / activité LOX amplifiée

Pour accroître l'activité LOX au cours du pétrissage, trois méthodes ont été mises en œuvre : l'utilisation d'une farine maturée, l'ajout de farine de fève et de soja, l'ajout d'une enzyme lipolytique. Dans chaque cas, l'addition de GOX tend à augmenter la consommation d'oxygène des pâtes mais moins que lorsqu'elle est utilisée seule avec une farine de blé peu maturée. Ceci confirme l'existence d'une compétition pour l'oxygène : les effets des oxydases sur les consommations d'O_2 ne sont pas additifs.

En présence de farine de fève ou de soja, l'ajout de GOX provoque une nette diminution des pertes en AGPI de la fraction TAG, en particulier, dans les pâtes supplémentées en farine de soja, elle est plus importante pour les pâtes non levurées que pour les pâtes levurées.

L'effet rhéologique de la GOX en présence d'une activité LOX amplifiée est inférieur à celui de la GOX utilisée seule avec une farine peu maturée (pâte moins ferme et moins élastique), probablement à cause de la compétition pour l'oxygène incorporé à la pâte qui pénalise la production d'H_2O_2 utilisable par la POD pour réticuler les protéines et les arabinoxylanes.

5.1.6 Atmosphères enrichies en O_2

Dans le but de limiter les phénomènes de compétition pour l'oxygène et d'amplifier l'activité des oxydases, nous avons augmenté la concentration en O_2 de l'atmosphère, par ajout d'O_2 pur ou par modification de la pression par injection d'air comprimé. Il en résulte une consommation d'oxygène accrue. Cependant, l'augmentation de la consommation d'O_2 des pâtes ne modifie pas les propriétés viscoélastiques des pâtes bien que les k_{La} soient modifiés. Une hypothèse peut être avancée pour expliquer ce résultat : les surconsommations d'oxygène induites par l'accroissement de l'O_2 disponible n'affectent pas les mêmes substrats réducteurs de la pâte. Dès lors, l'effet rhéologique attribué à la cooxydation des lipides oxydables serait rapidement atteint même à faible teneur en oxygène.

En présence d'oses oxydases (GOX et COX) et d'atmosphères enrichies en oxygène, la consommation d'O_2 est fortement accrue, de même que les effets rhéologiques de la GOX et de la COX : les pâtes sont encore moins visqueuses et plus élastiques qu'après un pétrissage classique.
En présence de farine de fève et de soja, la consommation d'O_2 des pâtes augmente avec la teneur initiale en O_2 de l'atmosphère, probablement grâce à une plus forte oxydation des acides gras oxydables de la farine. Cependant, ce gain d'oxydation est sans effet sur la rhéologie des pâtes en sortie de pétrin.
Lorsque de la GOX et une farine de légumineuse sont ajoutées à la farine, la diminution de l'effet rhéologique de la GOX due à une compétition pour l'oxygène incorporé à la pâte est atténuée en utilisant une atmosphère enrichie en O_2.
En définitive, le pétrissage sous atmosphère enrichie en oxygène, par injection d'O_2 pur ou par pressurisation de la cuve de pétrissage, peut soit accentuer l'effet d'un seul agent oxydant consommateur d'O_2 sans en augmenter la dose, soit diminuer, sans pour autant les éliminer, les phénomènes de compétition pour l'O_2 entre plusieurs consommateurs d'oxygène. Il est ainsi possible de tirer un meilleur parti de la combinaison de plusieurs agents oxydants.

Le renforcement de l'effet de la GOX sur la rhéologie de la pâte, grâce à l'utilisation d'une atmosphère enrichie en O_2, a ouvert de nouvelles perspectives de formulation des pâtes en remplaçant par de l'eau jusqu'à 4,3 g de farine pour 100 grammes. Ces résultats préliminaires méritent d'être confirmés avec des doses inférieures de GOX et une étude complémentaire en boulangerie d'essai est nécessaire pour confirmer l'intérêt de cette technique qui permettrait, aux industriels équipés de pétrin de type batch ou d'un système de d'injection d'O_2 dans la cuve de pétrins conventionnels, de diminuer la quantité de farine ou d'enzymes d'oxydoréduction utilisées.

5.2 Éléments de perspectives

À l'issue de cette thèse Cifre, il ressort de l'analyse des farines et des pâtes que l'oxygène est majoritairement consommé pour oxyder les acides gras polyinsaturés. La levure contribue aussi à sa consommation par son aptitude à adapter son métabolisme fermentaire ou respiratoire en fonction de l'oxygène disponible.

Les enzymes exogènes, qu'il s'agisse d'oxydoréductases comme les oses oxydases ou d'hydrolases alimentant en substrat la lipoxygénase comme les lipases, influencent également la consommation d'oxygène. Il en est de même des farines de légumineuses riches en lipoxygénase catalysant non seulement l'oxydation des AGPI libres mais aussi celle des AGPI TAG. Il en résulte donc des compétitions difficilement prévisibles entre les systèmes consommant l'oxygène.

Les perspectives les plus prometteuses pour prolonger ce travail, tant pour approfondir les connaissances que pour développer de nouvelles technologies, sont nombreuses. Nous en citerons quatre.

5.2.1 Améliorer les bilans en oxygène

Pour déterminer la part relative de chaque système consommant de l'oxygène, il est nécessaire de doser la quantité de substrat réducteur disparu ou celle de produit oxydé apparu. Les méthodes sont au point pour les AGPI oxydables, les acides cinnamiques, les thiols, les pigments caroténoïdes, l'acide ascorbique, etc. ; elles tiennent compte de la stœchiométrie des réactions en milieu aqueux. En revanche, pour les oses et oligosides, si les méthodes existent, leur mise en œuvre et l'interprétation des résultats sont plus ardues parce qu'ils sont en même temps générés (par les amylases endogènes et l'invertase de la levure notamment) et consommés (par la fermentation de la levure ainsi que par l'oxydation due à la respiration de la levure et à la présence éventuelle d'oses oxydases). Il est nécessaire de mesurer l'évolution de la quantité des oses et oligosides, en choisissant des conditions témoins pertinentes, afin d'estimer non les quantités minimales d'oxygène surconsommées mais les quantités réelles utilisées par la levure et les oses oxydases.

5.2.2 Aider à la formulation raisonnée des pâtes

Le sitoxygraphe permet de discriminer les farines issues de variétés différentes de blé selon leur oxydabilité. Il permet aussi de discriminer la farine issue d'un même mélange variétal selon son état de maturation. Il est donc un outil d'aide à la formulation en permettant de sélectionner les ingrédients, additifs ou auxiliaires technologiques réellement efficaces *in situ,* en optimisant l'utilisation des fractions de mouture... Il permet en outre de prévoir les répercussions sur la pâte d'un enrichissement ou d'un appauvrissement de la phase gazeuse en oxygène.

5.2.3 Piloter le pétrissage

En disposant d'un indicateur prédictif – équation combinant plusieurs données : oxygène consommé, élévation de la température de la pâte et de son volume spécifique... – pour fixer la durée de pétrissage en fonction de la farine mise en œuvre. Surpétrir c'est suroxyder.

5.2.4 Repenser l'alternance pétrissage / fermentation

Pourquoi distinguer pétrissage et pointage puisqu'ils visent tous les deux à une prise de force des pâtes les préparant à retenir le CO_2 libéré au cours de l'apprêt ?

D'un côté, des périodes de repos entre le frasage et le pétrissage ont été préconisées afin de limiter l'oxydation des pâtes ; d'un autre côté, nous avons constaté qu'en repétrissant une pâte levurée après une période de pointage, on observe de nouveau une consommation d'oxygène.

Actuellement, l'oxydation des farines se fait dans la seule étape de pétrissage et, une fois les acides gras oxydables oxydés, il n'y a plus guère de possibilités de créer des radicaux libres susceptibles d'augmenter l'élasticité des pâtes.

En revanche, si on limite l'oxydation des substrats oxydables au cours du pétrissage par des périodes de repos, il en restera une partie disponible au cours du pointage qui devrait être oxydée par un lent repétrissage assurant d'une part un regain d'élasticité des pâtes et d'autre part une remise en contact des enzymes avec leurs substrats (en particulier les amylases conduisant à une augmentation de la quantité de maltose disponible pour la levure).

Dit autrement, l'objectif est d'utiliser l'oxygène environnant la pâte comme un oxydant lent à effet différé (on pourrait aussi utiliser une atmosphère enrichie progressivement en oxygène). De cette manière, les effets « oxydants » des glucides oxydases et des lipases devraient être fortement augmentés.

6 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AACC International methods. Farinograph method for Flour. Method 54-21.01.

AACC International methods. Determination of the water absorption capacity of flours and of physical properties of wheat flour doughs, using the consistograph. Method. 54-50.01.

AACC International methods Yeast cctivity, gas production. Method 89-01.01

Allen, W.G. 1999. Alternative oxidants as dough conditioners. *Cereal Foods Worlds*, 44, 642-649.

Ameille, V., Davidou, S., Drapron, R., Potus, J. et Nicolas, J.. 2000. Mesure en continu de la consommation d'oxygène de la pâte de farine de blé tendre au cours du pétrissage. *Sciences des Aliments*. 20: 221-236.

Baker, J.C. et Mize, M.D. 1946. Gas occlusion during dough mixing. *Cereal Chem.* 23: 39-51.

Berland, S. et Launay, B. 1995. Rheological properties of wheat doughs in steady and dynamic shear : effect of water content and some additives. *Cereal Chem.* 72: 48-52.

Bellenger, P., and Godon, B. 1972. Preliminary study on the maturation of wheat flours: Influence of aeration upon the evolution of various biochemical and physicochemical characteristics. *Ann. Technol. Agric*. 21:145-161.

Belton, P.S. 2005. New approaches to study the molecular basis of the mechanical properties of gluten. *J. Cereal Sci.* 41 (2): 203-211.

Billaud C., Louarme L., Nicolas J. 1999. Comparison of peroxidases from barley kernel (*Hordeum vulgare L.*) and wheat germ (*Tritium aestivum L.*) : isolation and preliminary characterization. *J. Food Biochem* : 23, 145 – 172.

Boussard, A., Avram-Vladislav, E., Potus, J. et Nicolas, J. 2004. Oxydation du glutathion et de l'alcool déshydrogénase en présence d'acide linolénique par la lipoxygénase de soja à différents pH. *Industries des Céréales*. 138: 12-16.

Campbell, G.M., Rielly, C.D., Fryer, P.J. et Sadd, P.A. 1998. Aeration of bread dough during dough mixing : effect of mixing dough at reduced pressure. *Cereal Foods World*. 43 (3): 163-167.

Campbell, G.M., Herrero-Sanchez, R., Payo-Rodriguez, R. et Merchan, M.L. 2001. Measurement of dynamic dough density and effect of surfactants and flour type on aeration during mixing and gas retention during proofing. *Cereal Chem.* 78 (3): 272-277.

Carvajal-Millan, E., Guigliarelli, B., Belle, V., Rouau, X. et Micard, V. 2005a. Storage stability of laccase induced arabinoxylan gels. *Carbohydrate Polymers*. 59 (2): 181-188.

Carvajal-Millan, E., Guilbert, S., Morel, M.-H. et Micard, V. 2005b. Impact of the structure of arabinoxylan gels on their rheological and protein transport properties. *Carbohydrate Polymers*. 60 (4): 431-438.

Carvajal-Millan, E., Landillon, V., Morel, M.H., Rouau, X., Doublier, J.L. et Micard, V. 2005c. Arabinoxylan gels: Impact of the feruloylation degree on their structure and properties. *Biomacromolecules*. 6 (1): 309-317.

Castello, P., Potus, J., Baret, J.-L. et Nicolas, J. 1998. La maturation des farines : aspects biochimiques et technologiques. *Industries des Céréales*. 108: 5-13.

Castello, P. 1999. Utilisation des lipases en panification française (effets technologiques, modifications biochimiques et modalités d'emploi). *Thèse de Biochimie*, Option Sciences alimentaires, ENSIA.

Celhay, F. 2000. Mesure en continu de paramètres rhéologiques, de la consommation d'oxygène et de la production de dioxyde de carbone au cours du pétrissage de pâtes boulangères. Influence de l'addition de substrats rédox et d'oxydoréductases exogènes. *Mémoire d'ingénieur*, Conservatoire National des Arts et Métiers, Paris. Pp 138.

Charun, E., Abecassis, J., Contamine, A.-S., Roulland, T.-M., Vergnes, B. et Morel, M.H. 2000. Effects of Temperature and Mechanical Input on Semisweet Biscuit (Cookie) Quality and Dough Characteristics. *Cereal Chem.* 77 (3): 265-271.

Contamine, A.-S., Abecassis, J., Morel, M.H., Vergnes, B. et Verel, A. 1995. Effect of Mixing Conditions on the Quality of Dough and Biscuits. *Cereal Chem.* 72 (6): 516- 522.

Darde, O. 2001. Influences de la quantité, de la masse moléculaire et de la conformation des macropolymères gluténiques sur la qualité technologique des farines panifiables de blé tendre (*triticum aestivum*). *Thèse de doctorat*, Institut national polytechnique de Toulouse, Toulouse, France. pp 172

Davidou, S., Michon, C., Ben Thabet, I., and Launay, B. 2008. Influence of shaping and orientation of structures on rheological properties of wheat flour dough measured in dynamic shear and in biaxial extension. *Cereal Chem*. 85:403-408.

Décret n° 63-720 du 13 juillet 1963 relatif à la composition des farines de blé, de seigle et de méteil.

Dehkharghanian, M., Rakotozafy, L., Néron, S., Potus, J., Nicolas, J. 2009. Mesure, au moyen du Sitoxygraphe, de la consommation d'oxygène et de la production de dioxyde de carbone au cours du pétrissage et de la fermentation de pâtes de farine de blé levurées. *Industrie des céréales*. 162. 15-20.

Deisseroth, A., Dounce, A. 1970. Catalase: physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role. *Physiol. Rev.*, 50, 319-375.

Delcros J.F., Rakotozafy L., Boussard A., Davidou S., Porte C., Potus J., Nicolas J. 1998. Effect of mixing conditions on the behaviour of lipoxygenase, peroxidase and catalase in wheat flour doughs. *Cereal Chem.* 75: 85-93.

DeLean, A., Munson, P. et Rodbard, D. 1978. Simultaneous analysis of families of sigmoidal curves: application to bioassay, radioligand assay, and physiological dose-response curves. *Am. J. Physiol.* 235 (2): E97–102.

Directive 95/2/CE du parlement européen et du conseil du 20 février 1995 concernant les additifs alimentaires autres que les colorants et les édulcorants (JO n° L 61 du 18. 3. 1995)

Dolev, A., Rohwedder, W. K., Dutton, H. J. 1967. Mechanism of lipoxidase reaction. *Lipids*, 2, 28.

Don, C., Lichtendonk, W.J., Plijter, J.J. 2003a. Glutenin macropolymer: a gel formed by particles. *Journal of Cereal Science.* 37, pp. 1–7.

Don, C., Lichtendonk, W.J., Plijter, J.J. 2003b. Understanding the link between GMP and dough: from glutenin particles in flour towards developed dough. *Journal of Cereal Science.* 38, pp. 157–165.

Don, C., Lichtendonk, W.J., Plijter, J.J., Vliet, T.V. and Hamer, R.J. 2005. The effect of mixing on glutenin particle properties: aggregation factors that affect gluten function in dough. *Journal of Cereal Science.* 41 (2005) 69–83

Doxastakis, G., Zafiriadis, I., Irakli, M., Marlani, H., Tananaki, C. 2002. Lupin, soya and triticale addition to wheat flour doughs and their effect on rheological properties. *Food Chemistry*. 77, 219–227.

Drapron R., Beaux Y., Cormier R., Geffroy J., Adrian J. 1974. Répercussions de l'action de la lipoxygénase en panification. Destruction des acides gras essentiels à l'état libre, des pigments et des tocophérols, altération du goût du pain. *Ann. Technol. Agric.*, 23, 353-365.

Drapron R., Potus J., Laplume F., Potus, P. 1999. *Notre pain quotidien*. Edition AGP, Paris.

Dubat, D., Geoffroy, T., Genais, T. 1999. Comparaison des aptitudes a la panification de pates obtenues sur un petrin axe oblique et sur un consistographe Chopin. Journees Techniques des Industries Cerealieres, Paris (France).

Dubois, S., Surget, A., Rouau, X. 1994. Les pentosanases des farines de blé. Poster 45èmes journées Ensmic, Paris 25-27 nov.

Dupuis, B. 1997. The chemistry and toxicology of potassium bromate. *Cereal Foods World*. 42: 171-183.

Elmehdi, H.M, Page, J.H. and Scanlon, M.G. 2003. Monitoring dough fermentation using acoustic waves. *Trans. IchemE.*, Vol 81, Part C, September 2003.

Every, D., Simmons, L.D. et Ross, M.P. 2006. Distribution of redox enzymes in millstreams and relationships to chemical and baking properties of flour. *Cereal Chem.* 83 (1): 62-68.

Eyoum, A. 2002. Etude de quelques facteurs influençant la consommation d'oxygène de la pâte de farine de blé au cours du pétrissage : origine variétale de la farine, vitesse de pétrissage, ajout d'acide linoléique et / ou lipoxygénase. *Mémoire d'ingénieur*, Conservatoire National des Arts et Métiers, Paris. pp 86

Eyoum, A., Celhay, F., Neron, S., El Amrani, F., Poiffait, A., Potus, J., Baret, J.-L. et Nicolas, J. 2003. Biochemical factors of importance in the oxygen consumption of unyeasted wheat flours during dough mixing. *In Recent AdVances in Enzymes in Grain Processing.* Courtin, M., Veraverbeke, W. S. et Delcour, J., eds., Faculty of agricultural and applied biological sciences. Leuven, Belgium, pp 303-309.

Faisy F., Neyreneuf O. 1996. Performance d'une association enzymatique « glucose oxydase-hémicellulases » pour remplacer l'acide ascorbique en panification. *Industries des Céréales*, 97, 3-12.

Feillet, P., Guinet, R., Morel, M-H., Rouau, X. 1994. La pâte : formation et développement. *In : La panification française*. Guinet, R., Godon, B.. Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 226-276.

Feillet, P. 2000. Le grain de blé, composition et utilisation. INRA. Paris.

Figueroa-Espinoza, M.-C, and Rouau, X. 1998. Oxidative cross-linking of pentosans by a fungal laccase and horseradish peroxidase. Mechanism of linkage between feruloylated arabinoxylans. *Cereal Chem*. 75:259-265.

Figueroa-Espinoza, M. C., Morel, M. H., Surget, A., and Rouau, X. 1999. Oxidative cross linking of wheat arabinoxylans by manganese peroxidase. Comparison with laccase and horseradish peroxidase. Effect of cysteine and tyrosine on gelation. *J. Sci. Food Agric.* 79:460-463.

Fuerst, E.P., Anderson, J.V. et Morris, C.F. 2006. Polyphenol oxidase in wheat grains : whole kernel and bran assays for total and soluble activity. *Cereal Chem.* 83: 10-16.

Gao, L. et Bushuk, W. 1992. Structure of glutenin based on farinograph and electrophoretic results. *Cereal Chem.* 69: 452-455.

Garcia, R. 2000. Etude de trois systèmes enzymatiques d'oxydoréduction - catalase, peroxydase et glucose oxydase - pris isolément et en mélange, susceptibles d'intervenir en technologie de la panification. *Thèse de Biochimie*, Option Sciences alimentaires, Université Paris 7.

Garcia, R., Kaid, N., Vignaud, C. et Nicolas, J. 2000. Purification and some properties of catalase from wheat germ (*Triticum aestivum*). *J. Agric. Food Chem.* 48 (4): 1050-1057.

Godon B. 1991. Les constituants descéréales : nature, propriétés et teneurs. *In : Biotransformation des produits céréaliers*. ED Tec. Et Doc. Lavoisier, Paris, 1-22.

Godon, B. et Loisel, W. 1997. *Guide pratique d'analyses dans les industries des céréales*. Paris, Lavoisier, Technique et documentation.pp 820.

Grant, D.R. 1974. Studies of the role of ascorbic acid in chemical dough development. I. Reaction of ascorbic acid with flour water suspension. *Cereal Chem.* 51: 684 - 692.

Graveland, A. 1970. Modification of the course of reaction between wheat flour lipoxygenase and linoleic acid due to adsorption of lipoxygenase on glutenin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 41, 427-434.

Graveland, A., Bosfeld, P., Lichtendonk, W.J., Marseille, J.P. et Moonen, J.H.E. 1985. A model for the molecular structure of the glutenin from wheat flour. *J. Cereal Sci.* 3: 1-16.

Grosch, W. 1986. Redox systems in dough. *In The chemistry and physics of baking : Materials, processes and products.* Blanchard, J. M., Frazier, P. J. et Galliard, T., eds., Royal society of chemists. London, pp 155-159.

Grosch, W. et Wieser, H. 1999. Redox reactions in wheat dough as affected by ascorbic acid. *J. Cereal Sci.* 29 (1): 1-16.

Guinet, R.. 1978. Technologies de panification. *Bulletin de l'école française de meunerie*. 287: 227-238.

Hamer, R.J. et Van Vliet, T. 2000. Understanding the structure and properties of gluten: an overview *In Wheat Gluten - Proceedings of the 7th International Workshop Gluten.* Shewry, P. R. et Tatham, A. S., eds., Royal Society of Chemistry. Cambridge, pp 125-131.

Hanft, F. et Koehler, P. 2005. Quantitation of dityrosine in wheat flour and dough by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 53 (7): 2418-2423.

Hawthorn, J. et Todd, J.P. 1955. Catalase in relation to the unsaturated-fat oxidase activity in wheat flour. *Chem. Ind*., 446-447.

Hird, F.J.R., Yates, J.R.. 1961 a. The oxidation of protein thiol groups by iodate, bromate and persulphate. *Chem. Ind.*, 446-447.

Hird, F.J.R., Yates, J.R. 1961 b. The oxidation of cysteine, glutathione and thioglycollate by iodate, bromate, persulphate and air. *J. Sci. Food Agric*., 12, 89.

Hoseney, R.C., Rao, P.H., Faubion, J.M. et Sidhu, J.S. 1980. Mixograph studies. 4. The mechanism by which lipoxygenae increase mixing tolerance. *Cereal Chem.* 74: 781-785.

Hoseney, R.C. et Faubion, J.M. 1981. A mechanism of oxidative gelation of wheat flour water-solubles penosans. *Cereal Chem.* 58: 412-424.

Hoseney, R.C. 1994. Principles of cereal science and technology. Saint Paul, Minnesota, American Association of cereal chemists.

Irvine, G.N., Bushuk, W. et Anderson, J.A. 1954. Kinetic studies of the catalase system of wheat. *Cereal Chem.* 31: 256-266.

Izydorczyk, M.S., Biliaderis, C.G. et Bushuk, W. 1991. Physical properties of water soluble pentosans from different wheat varieties. *Cereal Chem.* 68: 145-150.

Junge, R.C., Hoseney, R.C. et Varriano-Marston, E. 1981. Effect of surfactants on air incorporation in dough and the crumb deformation and rupture properties in simple tension. *Cereal Chem.* 58: 338-342.

Kaid N., Rakotozafy L., Potus J., et Nicolas J. 1997. Studies on the glutathione-dehydroascorbate oxidoreductase (EC 1.8.5.1) from wheat flour. Cereal Chem 74 (5), 605-611.

Kaplan, S. L. 2008. *Le pain maudit*. Eds. Fayard.

Kasarda, D.D. 1989. Glutenin structure in relation to wheat quality. *In Wheat is unique: structure, composition, processing, end-use properties and products.* Pomeranz, Y., eds., AACC. St Paul, Minnesota, USA.

Khan, K. et Bushuk, W. 1979. Studies of glutenin XII. Comparison by SDS-PAGE of unreduced and reduced glutenin from various isolation and purification procedures. *Cereal Chem.* 56: 36-38.

Kieffer, R.; Matheis, G.; Hofmann, H. W.; Belitz, H. D. 1981. Improvement of the baking properties of wheat flour by the addition of horseradish peroxidase. Z. Lebensm. *Unters. Forsch*. 173, 376-379.

Kilborn, R.H. et Tipples, K.H. 1972. Factors affecting mechanical dough development. Effect of mixing intensity and work input. *Cereal Chem.* 49: 34-47.

Kuninori, T., Nishiyama, J. et Matsumoto, H. 1976. Effect of mushroom extract on the physical properties of dough. *Cereal Chem.* 77: 823-828.

Labat, E., Morel, M. et Rouau, X. 2000a. Effects of laccase and ferulic acid on wheat flour doughs. *Cereal Chem.* 77 (6): 823-828.

Labat, E., Morel, M.H. et Rouau, X. 2000b. Wheat gluten phenolic acids: Occurrence and fate upon mixing. *J. Agric. Food Chem.* 48 (12): 6280-6283.

Labat, E., Morel, M.H. et Rouau, X. 2001. Effect of laccase and manganese peroxidase on wheat gluten and pentosans during mixing. *Food Hydrocol.* 15 (1): 47-52.

Langraf, F. 2002. Produits et procédés de panification. *Techniques de l'ingénieur*. 6-180

Leenhardt, F., Lyan, B., Rock, E., Boussard, A., Potus, J., Chanliaud, E. et Remesy, C. 2006a. Genetic variability of carotenoid concentration, and lipoxygenase and peroxidase activities among cultivated wheat species and bread wheat varieties. *Eur. J. Agron.* 25 (2) : 170-176.

Leenhardt, F., Lyan, B., Rock, E., Boussard, A., Potus, J., Chanliaud, E. et Remesy, C. 2006b. Wheat Lipoxygenase Activity Induces Greater Loss of Carotenoids than Vitamin E during Breadmaking. *J. Agric. Food Chem.* 54 (5): 1710-1715.

Levavasseur, L., Rakotozafy, L., Manceau, E., Louarme, L., Robert, H., Baret, J.-L., Potus, J. et Nicolas, J. 2006. Discrimination of wheat varieties by simultaneous measurements of oxygen consumption and consistency of flour dough during mixing. *J. Sci. Food Agric.* 86 (11): 1688-1698.

Levavasseur, L. 2007. Suivi simultané de la consommation d'oxygène et de la consistance des pâtes de farine de blé tendre à l'aide d'un pétrin instrumenté (le Sitoxygraphe) : Tentative

d’explications biochimiques et rhéologiques. Application à l’ajout de laccase. *Thèse de doctorat*. Paris VII and Paris XI Universities, AgroParisTech, France.

Liavonchanka, A. et Feussner, I. 2006. Lipoxygenases: Occurrence, functions and catalysis. *J. Plant Physiol.* 163 (3): 348-357.

Lindsay, M.P. et Skerritt, J.H. 1998. Examination of the structure of the glutenin macropolymer in wheat flour and doughs by stepwise reduction. *J. Agric. Food Chem.* 46 (9) : 3447-3457.

Louarme, L. 2001. Etude du mécanisme d’action du bromate de potassium en panification en vue de le remplacer par une oxydoreductase. *Thèse de doctorat*. Université Paris XI, Orsay.

Louarme, L., Rakotozafy, L., Potus, J. et Nicolas, J. 2004. Dosage des acides cinnamiques présents dans différentes farines de blé tendre. *Industries des Céréales*. 142 : 25.

Macosko, C.W. 1994. Rheology. Principles, measurements and applications. New York, USA, VCH Publishers.550.

Malet, S. 2005. Effet d'un auxiliaire technologique sur les propriétés des pâtes de farine de blé : analyse de la structuration des macromolécules et comportement rhéologique. *Mémoire d'ingénieur*, Conservatoire National des Arts et Métiers, Paris. pp 103

Maraschin, C., Robert, H., Boussard, A., Potus, J., Baret, J-L., Nicolas, J. 2008. Effect of storage temperature and flour water content on lipids, lipoxygenase activity, and oxygen uptake during dough mixing. *Cereal Chem., 85, 372-378.*

Matheis G., Whitaker J.R. 1984. Peroxidase-catalyzed cross-linking of proteins. *J. Protein Chem*. 3, 35 - 48

Meyer, A.S., Pedersen, L.H., Isaken, A. 1997. The effect of various food parameters on the activity and stability of catalase from *Aspergillus niger* and catalase from bovine liver. *Food Chem.*, 60, 137-142.

Michon, T., Wang, W., Ferrasson, E., Gueguen, J. 1999. Wheat prolamine crosslinking through dityrosine formation catalysed by peroxidases : improvement in the modification of a poorly accessible substrate by “indirect” catalysis. *Biotechnology and bioengineering*, 63, 449-458.

Migliori, M., et Gabriele, D. 2010. Effect of pentosan addition on dough rheological properties. *Food Research International* (sous presse).

Miller, K. A., and Hoseney, R. C.. 1999. Dynamic rheological properties of wheat starch-gluten doughs. *Cereal Chem*. 76:105-109.

Morel, M.-H., Dehlon, P., Autran, J.C., Leygue, J.P. et Bar-L'Helgouac'h, C. 2000. Effects of temperature, sonication time, and power settings on size distribution and extractability of total wheat flour proteins as determined by size-exclusion highperformance liquid chromatography. *Cereal Chem.* 77 (5): 685-691.

Muchová, Z. and Žitný, B. 2010. New Approach to the Study of Dough Mixing Processes. *Czech J. Food Sci*. Vol. 28, No. 2: 94–107

Neukom, H. et Markwalder, H.U. 1978. Oxidative gelation of wheat flour pentosans : a new way for cross-linking polymers. *Cereal Foods World*. 23: 374-376.

Nicolas, J. 1978. Effets de différents paramètres sur la destruction des pigments caroténoïdes de la farine de blé tendre au cours du pétrissage. *Ann. Technol. Agric.* 27 (3): 695-713.

Nicolas, J. 1979. Mise au point sur l'action d'enzymes d'oxydoréduction en technologie boulangère. La maturation des farines de blé tendre et le pétrissage des pâtes. *Ann. Technol. Agric.* 28: 445-468.

Nicolas, J. et Drapron, R. 1981. Les lipoxygénases végétales, état actuel de nos connaissances. Aspects biochimiques. *Sciences des Aliments*, 1 (1): 91-168.

Nicolas, J. et Drapron, R. 1983. Lipoxygenase and some related enzymes in breadmaking. *In Lipids in cereal technology.* Barnes, P. J., eds., Academic Press. London, pp 213-235

Nicolas, J. et Potus, J. 1994. Phénomènes d'oxydation enzymatique et cooxydations. Exemples du rôle de la lipoxygénase en panification et de la polyphénoloxydase en technologie des fruits. *Sciences des Aliments*. 14: 627-642.

Nicolas, J., Billaud, C., Rouet Mayer, M.A. et Philipon, J.. 2003. Enzymatic browning. 1. Biochemical aspects. *In Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition.* Caballero, B., Trugo, L. et Finglas, P. M., eds., Academic Press. London, 1: pp 678-686.

Nicolas, J., Potus, J., Garcia, R., Davidou, S. 2009. Enzymes and enzyme inhibitors endogenous to wheat. In: Khan K., Shewry P. (Eds.), *Wheat Chemistry and Technology*, Chapt. 11 (pp. 401-435). Minneapolis, USA : AACC International Press.

Norme AFNOR NF V03-731. Farines de blé tendre - Méthode de mesure de l'endommagement de l'amidon au moyen du SDmatic.

Norme AFNOR NF EN ISO 712. V03-707. Céréales et produits céréaliers - Détermination de la teneur en eau - Méthode de référence.

Norme AFNOR NF EN ISO 2171. V03-720. Céréales, légumineuses et produits dérivés - Dosage du taux de cendres par incinération.

Norme AFNOR NF EN ISO 3093. V03-703. Blés tendres, seigles et leurs farines, blés durs et leurs semoules - Détermination de l'indice de chute selon Hagberg-Perten.

Norme AFNOR NF EN ISO 5529. V03-704. Blé tendre - Détermination de l'indice de sédimentation - Test de Zélény

Norme AFNOR NF ISO 5530-2. V03-717-2. Farines de blé tendre - Caractéristiques physiques des pâtes : détermination des caractéristiques rhéologiques au moyen de l'extensographe.

Norme AFNOR NF ISO 7305. V03-712. Produits de mouture des céréales - Détermination de l'acidité grasse.

Norme AFNOR NF EN ISO 20483. V03-750. Céréales et légumineuses - Détermination de la teneur en azote et calcul de la teneur en protéines brutes - Méthode de Kjeldahl.

Norme AFNOR NF EN ISO 16634-1. V03-767-1. Produits alimentaires - Détermination de la teneur en azote total par combustion selon le principe Dumas et calcul de la teneur en protéines brutes.

Norme AFNOR NF EN ISO 27971. V03-170. Céréales et produits céréaliers - Blé tendre (Triticum aestivum L) - Détermination des propriétés alvéographiques d'une pâte à hydratation constante de farine industrielle ou d'essai et méthodologie pour la mouture d'essai.

Norme ISO 7973:1992. Céréales et produits de mouture des céréales. Détermination de la viscosité de la farine. Méthode utilisant un amylographe.

Observatoire du pain. 2006. *Pain et Nutrition*. 1ère édition.

Osborne T. B. 1907. In The proteins of the wheat kernel. Carnegie institution of Washington (Washington, D.C). Volume 84.

Oudgenoeg G., Holhorst R., Piersma S.R., Boeriu C., Gruppen H., Hessing M., Voragen A.G.L. and Laane C. 2001. Peroxidase-mediated cross-linking of a tyrosinecontaining peptide withferulic acid. *J Agric Food Chem*, 49:2503-2510.

Panozzo, J.F., Hannah, M.C., O'Brien, L., Bekes, B. 1993. The relationship of free lipids and flour proteins in bread making quality. *Journal of Cereal Science*, 17, 47-62.

Pomeranz, Y. 1967. Wheat flour lipids. A minor component of major importance in breadmaking. Baker's digest, 41, 48-50, 170.

Potus, J. et Drapron, R. 1991. De la qualité dans la filière blé, farine, pain. *Supplément de la revue Industries des Céréales*: 5-23.

Potus, J., Drapron, R. et Rakotozafy, L. 1992. Rôle de l'eau sur les interactions moléculaires conduisant à la formation des pâtes de farine de blé. *Industries des Céréales*. 79: 13- 21.

Potus, J., Poiffait, A. et Drapron, R. 1994. Influence of dough-making conditions on the concentration of individual sugars and their utilization during fermentation. *Cereal Chem.* 71: 505-508.

Potus, J., El Amrani, F., Ameille, V. et Kaid, N. 1996. Les hydrolases en panification. *Industries des Céréales*. 96: 7-12.

Potus, J. 1997. Etude de réactions enzymatiques d'hydrolyse et d'oxydation intervenant au cours du pétrissage des pâtes de farine de blé tendre. *Habilitation à diriger les recherches*, Université de Bourgogne, Paris. pp 156

Potus, J., Nicolas, J. 2010. L'oxygène, un ingrédient oublié de la pâte à pain. *Industries des céréales*.166, 03-10.

Preston, K.R. 1981. Effect of neutral salts upon wheat gluten proteins properties. I. Relationship between hydrophobic properties of gluten and their extractability and turbidity in neutral salts. *Cereal Chem.* 58: 317-324.

Rakotozafy, L., Mackova, B., Delcros, J.F., Boussard, A., Davidou, S., Potus, J. et Nicolas, J. 1999. Effect of adding exogenous oxidative enzymes on the activity of three endogenous oxidoreductases during mixing of wheat flour dough. *Cereal Chem.,* 76 (2): 213-218.

Rakotozafy, L., Buche, F., Potus, J., Nicolas, J. 2009. Effet de l'addition de levure et de glucose oxydase sur les dérivés cinnamiques contenus dans les fractions solubles et insolubles de pâtes de farine de blé. *Industries des céréales*. 164, 17-22.

Rani, K.U., Prasada Rao, U.J.S., Leelavathi, K. et Haridas Rao, P. 2001. Distribution of enzymes in wheat flour mill streams. *J. Cereal Sci.* 34 (3): 233-242.

Rasiah J.A., Sutton K.M., Low F.L., Lin H.M. and Gerrard J.A. 2005. Crosslinking of wheat dough proteins by glucose oxidase and the resulting effects on bread and croissants. *Food Chem* 89:325-332

Rizkalla S.W., Laromiguiere M., Champ M., Bruzzo F., Boillot J., Slama G. 2006. Effect of baking process on postprandial metabolic consequences : randomized trials in normal and type 2 diabetic subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 61, 175-183.

Rouau, X., El-Hayek, M.L. et Moreau, D. 1994. Effect of an enzyme preparation containing pentosanases on the bread making quality of flours in relation to changes in pentosane properties. *J. Cereal Sci.* 19: 259-272.

Rouau, X. 1996. Les hémicellulases en panification. *Industrie des céréales*. 96: 13-19.

Roussel, P. et Chiron, H. 2002. *Les pains français - Evolution, qualité, production*. MAEERTI. Vesoul, Science et Technologie des métiers de bouche. P 433.

Roussel, P. 2005. Qualités technologiques. Dossier ENSMIC.

Schieberle, P., and Grosch, W. 1991. Potent odorants of the wheat bread crumb. Differences to the crust and effect of a longer dough fermentation. Z. Lebensm. *Unters. Forsch*. 192:130-135.

Selinheimo, E., Kruus, K., Buchert, J., Hopia, A. et Autio, K. 2006. Effects of laccase, xylanase and their combination on the rheological properties of wheat doughs. *J. Cereal Sci.* 43 (2): 152-159.

Shewry, P.R., Tatham, A.S., Forde, J., Kreis, M. et Miflin, B.J. 1986. The classification and nomenclature of wheat gluten proteins : a reassessment. *J. Cereal Sci.* 4: 97-106.

Shiiba K, Negishi Y, Okada K and Nagao S. 1991. Purification and characterization of lipoxygenase isozymes from wheat germ. *Cereal Chem* 68(2):115-122

Shimiya Y. and Nakamura K. 1997 Changes in size of gas cells in dough and bread during breadmaking and calculation of critical size of gas cells that expand, *Journal of Texture Studies* 28 (1997), pp. 273–288

Smith, D.E. et Andrews, J.S. 1957. The uptake of oxygen by flour dough. *Cereal Chem.* 34: 323-336.

Takasaki, S. et Kawakishi, S. 1997. Formation of protein-bound 3,4-dihydroxyphenylalanine and 5-*S*-cysteinyl-3,4-dihydroxyphenylalanine as new cross-linkers in gluten. *J. Agric. Food Chem.* 45 (9): 3472-3475.

Tanaka, K., and Bushuk, W. 1973. Changes in flour proteins during dough mixing. I. Solubility results. *Cereal Chem*. 50: 590-596.

Tappel, A.L. 1961. Biocatalysts : lipoxydase and hematin compounds. *In Autoxidation and antioxidants*. Lundberg W.O. Eds. Interscience Publish., New York, chap. 9, 325-366.

Tilley, K.A., Benjamin, R.E., Bagorogoza, K.E., Okot-Kotber, B.M., Prakash, O. et Kwen, H. 2001. Tyrosine cross-links: molecular basis of gluten structure and function. *J. Agric. Food Chem.* 49 (5): 2627-2632.

Tkachuk, R., Hlynka, I. 1968. Some properties of dough and gluten in D_2O. Cereal Chem, 45, 80-87.

Toyosaki, T. 2006. Effects of hydroperoxide in lipid peroxidation on dough fermentation. *Food Chemistry,* 104, 680–685

Valtorta, N. 2000. Les lipoxygénases de l'orge germée et leur intervention dans l'oxydation des acides gras polyinsaturés. Effet du peroxyde d'hydrogène et de traitements thermiques, interférence des peroxydases. *Mémoire d'ingénieur*, Conservatoire National des Arts et Métiers, Paris. pp 96

Veldink, G.A., Vliegenthart, J.F.G., Boldingh, J. 1977. Plant lipoxygenasee. *In Progress in the chemistry of fats and other lipids*, Holman R.T., Lundberg W.O., Malbin T.. Eds. Pergamon Press, London, 15, 131-166.

Vemulapalli, V., and Hoseney R. C. 1998. Glucose oxidase effects on gluten and water solubles. *Cereal Chem*. 75:859-862.

Vemulapalli, V., Miller, K. A., and Hoseney, R. C. 1998. Glucose oxidase in breadmaking systems. *Cereal Chem*. 75:439-442.

Wang, M., Hamer, R.J., Van Vliet, T. et Oudgenoeg, G. 2002. Interaction of water extractable pentosans with gluten protein : effect on dough properties and gluten quality. *J. Cereal Sci.* 36: 25-37.

Wang, M., Hamer, R.J., van Vliet, T., Gruppen, H., Marseille, H. et Weegels, P.L. 2003. Effect of Water Unextractable Solids on Gluten Formation and Properties: Mechanistic Considerations. *J. Cereal Sci.* 37 (1): 55-64.

Wang, M.-W., van Vliet, T., Hamer, R.J. 2004a. How gluten properties are affected by pentosans. *J. Cereal Sci*. 39, 395–402

Wang, M.-W., van Vliet, T. and Hamer, R.J. 2004b. Evidence that pentosans and xylanase affect the re-agglomeration of the gluten network. *J. Cereal Sci.* 39 (3): 341-349.

Weegels, P.L., Van de Pijpekamp, A.M., Graveland, A., Hamer, R.J. et Schofield, J.D. 1996. Depolymerisation and Re-polymerisation of Wheat Glutenin During Dough Processing. I. Relationships between Glutenin Macropolymer Content and Quality Parameters. *Journal of Cereal Science*. **23** (2): 103-111.

Whitaker, J.R. 1972. Catalase ans peroxidase. *In : Principles of enzymologyfor the food science*. Dekher, New York, 591 – 605.

Zawistowski, J., Biliaderis, C.G. et Eskin, N.A.M. 1991. Polyphenol oxidase. *In Oxidative enzymes in foods*. Robinson, D. S. et Eskin, N. A. M., eds., Elsevier Applied Science Chemistry. London, pp 217-273.

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION

Figure 1.1 : Consommation journalière de pain par français depuis 1950 jusqu'à 2005 (Pain et nutrition 1re édition, Observatoire du pain, 2006).

TRAVAUX ANTERIEURS

Figure 2.1 : Bras tournants de pétrins oblique (A.), spirale (B.) et horizontal (sitoxygraphe, C.). Echelle relative non respectée pour les dimensions des bras (d'après Levavasseur, 2007).

Figure 2.2 : Etapes de la fabrication du pain (Garcia, 2000).

Figure 2.3 : Impact bio-physicochimique de la cuisson sur les pâtons (d'après Langraf, 2002).

Figure 2.4 : Appréciation manuelle de la qualité d'une pâte lors du pétrissage (Levasseur 2007)

Figure 2.5 : Exemples d'amylogrammes exprimés en unités Bradenber (UB) (www.boulangerie.net).

Figure 2.6 : Exemple de farinogramme.

Figure 2.7 : Evolution du gonflement du film de pâte à l'aide de l'alvéographe (Roussel, 2005).

Figure 2.8 : Exemple d'alvéogramme et représentation graphique des indicateurs du gonflement du film de pâte. L'axe des abscisses représente également une durée (Roussel, 2005).

Figure 2.9 : Représentation schématique d'un appareil de mesure rhéologique dynamique (Levavasseur, 2007).

Figure 2.10 : Courbes obtenues pas un rhéomètre dynamique (Levavasseur, 2007).

Figure 2.11 : Compression uniaxiale en condition lubrifiée.

Figure 2.12 : Système de détermination de la masse volumique d'un échantillon de pâte au cours de la fermentation par immersion dans du xylène (Campbell, 2001).

Figure 2.13 : Détermination de la densité d'un échantillon de pâte à l'aide d'une caméra digitale par la détermination de l'évolution de la surface occupée par l'échantillon (Elmehdi, 2007).

Figure 2.14 : Rôle des hydrolases dans la fermentation (Potus *et al*. 1996).

Figure 2.15 : Représentation d'un arabinoxylane (A) (Garcia, 2000). Détail du branchement d'un acide férulique au niveau de l'arabinose par une liaison ester (B) (Rouau, 1996).

Figure 2.16 : Comparaison des classifications des protéines de blé proposées par Osborne (1907) et par Shewry *et al.* (1986).

Figure 2.17 : Représentation schématique du polymère de gluténine (A) et des interactions gluténines-gliadines (B) (d'après Weegels, 1993).

Figure 2.18 : Composition en lipides de la farine (Feillet, 2000).

Figure 2.19 : Principaux acides phénoliques contenus dans la farine de blé (Levavasseur, 2007).

Figure 2.20 : Principaux dimères d'acides féruliques présents dans la farine et les pâtes (Levavasseur, 2007).

Figure 2.21 : Mode d'action des α-amylases sur l'amylose et l'amylopectine (Levavasseur, 2007).

Figure 2.22 : Mode d'action de la β-amylase sur l'amylose (Levavasseur, 2007).

Figure 2.23 : Etapes de l'oxydation de l'acide linoléique (Garcia, 2000).

Figure 2.24 : Effet de la LOX sur la réticulation des protéines par oxydation des fonctions thiol (PSH).

Figure 2.25 : Hypothèse sur les échanges thiols/disulfures engendrés par l'action de la peroxydase sur les pentosanes (Garcia, 2000).

Figure 2.26 : Réactions catalysées par les catéchol oxydases. Oxydation des monophénols et des *o*-diphénols.

Figure 2.27 : Effet de la GOX sur les pontages intermoléculaires au cours du pétrissage

Figure 2.28 : Réactions catalysées par les laccases. Oxydation des *o*-diphénols et des *p*-diphénols.

MATERIELS ET METHODES

Figure 3.1 A et B : Vue extérieure du sitoxygraphe.

Figure 3.2 : Coupe transversale du sitoxygraphe.

Figure 3.3 : Ensemble des capteurs équipant le sitoxygraphe et des données enregistrées au cours du pétrissage et de la fermentation.

Figure 3.4 : Modification de la quantité initiale en oxygène par un système d'injection d'O_2 ou de N_2 pur avant le pétrissage sans variation de pression.

Figure 3.5 : Modification de la quantité initiale en oxygène par un système d'injection ou d'aspiration d'air avec variation de pression.

Figure 3.6 : Extraction des lipides

Figure 3.7 : Fronts de migration des fractions lipidiques de la farine de blé et des pâtes en fin de CCM.

Figure 3.8 : Chromatogramme à 214 nm d'un extrait de protéines solubles dans le tampon SDS de pâte.

Figure 3.9 : Chromatogramme à 214 nm d'un extrait de protéines insolubles dans le tampon SDS de pâte.

Figure 3.10 : Protocole d'extraction et de dosage des acides cinnamiques.

Figure 3.11 : Evolution de la pression exercée par une pâte au cours du pétrissage mesurée à l'aide du consistographe.

Figure 3.12 : Exemple de DRT sur un pétrissage de 2×480 secondes (Pâte levurée par rapport à une pâte non levurée).

Figure 3.13 : Récapitulatif de la préparation des échantillons de pâte.

Figure 3.14 : Evolution de la force mesurée par le texturomètre au cours du test de compression-relaxation.

Figure 3.15: Evolution de $F_{normalisé}$ au cours de la phase de relaxation pour différents temps de repos des échantillons.

Figure 3.16 : Façonneuse conçue par Chopin

ANALYSE DES RESULTATS ET DISCUSSIONS

Figure 4.1.1 : Effet de la pression sur la réponse du capteur O_2 de l'analyseur COSMA Crystal 300 (Dehkharghanian 2009)

Figure 4.1.2 : Régression polynomiale permettant d'obtenir le facteur de correction de l'O_2 (FC_{O2}) en fonction de la pression (Dehkharghanian 2009).

Figure 4.1.3 : Régression polynomiale permettant d'obtenir le facteur de correction du CO_2 (FC_{CO2}) en fonction de la pression (Dehkharghanian 2009).

Figure 4.1.4 : Evolution de la pression et de la température au cours du pétrissage et de la fermentation d'une pâte levurée (1 % de levure sèche).

Figure 4.1.5 : Consommation d'O_2 et production de CO_2 (CO_2 apparu + CO_2 retenu) au cours du pétrissage, de la fermentation et d'un second pétrissage d'une pâte levurée (1 % de levure sèche).

Figure 4.1.6 : Variation du volume d'une pâte (Vp) levurée (1 % de levure sèche) et de la pression (Pt) dans l'enceinte au cours du pétrissage, de la fermentation et d'un second pétrissage.

Figure 4.1.7 : Evolution du gain de volume relatif (Gvr) d'une pâte levurée (avec 1 et 0,25 % de levure sèche) au cours de la fermentation.

Figure 4.1.8 : Evolution du taux de rétention du CO_2 (Tr_{CO2}) lors de la fermentation d'une pâte contenant 1 % de levure sèche.

Figure 4.1.9 : Evolution du volume spécifique (Vspé) de la pâte au cours de la fermentation (avec 1 et 0,25 % de levure sèche).

Figure 4.1.10 : Modélisation de la consommation d'O_2 par la pâte au cours du pétrissage (1 % de levure sèche).

Figure 4.1.11 : Consommation et vitesse instantanée de consommation d'O_2 (ViO_2) par la pâte au cours du pétrissage (1 % de levure sèche).

Figure 4.1.12 : CO_2 apparu pendant le pétrissage et retenu dans la pâte pendant la fermentation (1 % de levure sèche).

Figure 4.1.13 : CO_2 produit pendant le pétrissage et la fermentation (1 % de levure sèche).

Figure 4.1.14 : Evolution du coefficient volumique de transfert d'O_2 au cours du pétrissage d'une pâte levurée (1 % de levure sèche).

Figure 4.2.1 : Consommations d'oxygène au cours du pétrissage de pâtes levurées ou non (3 essais ont été réalisés pour chaque courbe).

Figure 4.2.2 : Evolution de la vitesse instantanée de consommation d'oxygène de pâtes levurées ou non au cours du pétrissage.

Figure 4.2.3 : Surconsommation d'oxygène de la pâte due à la levure au cours du pétrissage.

Figure 4.2.4 A : CO_2 apparu, retenu et produit et O_2 consommé par les pâtes contenant 1 % de levure sèche ; B : Evolution du volume de pâte levurée (V PL) et de la température (T PL) et de la pression (P PL) de la phase gazeuse. L'évolution du volume de la pâte non levurée est ajoutée à titre indicatif.

Figure 4.2.5 : Apparition de CO_2 dans l'atmosphère entourant la pâte levurée ou non au cours du pétrissage.

Figure 4.2.6 : Rétention et production de CO_2 au cours du pétrissage d'une pâte levurée.

Figure 4.2.7 : Evolution du volume spécifique d'une pâte levurée au cours du pétrissage, de la fermentation et d'un second pétrissage.

Figure 4.2.8 : Production de CO_2 par la levure en fonction de sa surconsommation d'O_2 au cours du pétrissage ($r^2 = 0,95$).

Figure 4.2.9 : Evolution du rapport des vitesses instantanées de production de CO_2 et de surconsommation d'O_2 par la levure ($\frac{ViCO_2}{ViO_2}$) au cours du pétrissage.

Figure 4.2.10 : Evolution du volume d'une pâte levurée (1%) au cours de la fermentation,.

Figure 4.2.11 : Consommation d'O_2 de pâtes levurées ou non au cours du second pétrissage.

Figure 4.2.12 : Evolution du volume de la pâte au cours du second pétrissage.

Figure 4.2.13 : Teneurs en AG libres contenus dans la farine et les échantillons de pâtes, en distinguant les AGSMI des AGPI.

Figure 4.2.14 : Bilan des consommations d'oxygène et de l'oxydation des AG libres oxydables de pâtes levurées (colonnes B et D) ou non (colonnes A et C) après 8 et 16 min de pétrissage au consistographe.

Figure 4.2.15 : Teneurs résiduelles en AGPI libres et en pigments caroténoïdes de la farine et des pâtes levurées ou non, après 8 ou 16 min de pétrissage au consistographe.

Figure 4.2.16 : Fraction protéique totale de la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 min de pétrissage.

Figure 4.2.17 : Fractions protéiques solubles dans le tampon SDS de la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 min de pétrissage.

Figure 4.2.18 : Fractions protéiques insolubles dans le SDS de la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 min de pétrissage.

Figure 4.2.19 : Fractions F1 + F2 solubles et insolubles distinguées contenues dans la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 minutes de pétrissage.

Figure 4.2.20 : Fractions F3 + F4 + F5 solubles et insolubles distinguées contenues dans la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 minutes de pétrissage au consistographe.

Figure 4.2.21 : Rapport des fractions F1 / F2 solubles et insolubles confondues de la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 minutes de pétrissage.

Figure 4.2.22 : Rapport des fractions (F1 + F2) / (F3 + F4 + F5) solubles et insolubles confondues de la farine et des pâtes levurées ou non, après 8 et 16 minutes de pétrissage.

Figure 4.2.23 : Evolution moyenne de la pression de pâtes, levurées ou non, au cours du pétrissage avec le consistographe.

Figure 4.2.24 : Différence relative des pressions par apport au Témoin (DRT) des pâtes levurées.

Figure 4.2.25 : Evolution de $F_{normalisé}$ au cours de la phase de relaxation d'échantillons de pâtes levurées ou non

Figure 4.2.26 : DRT de $F_{normalisé}$ au cours de la phase de relaxation d'échantillons de pâtes levurées.

Figure 4.3.1.1 : Effet de l'ajout de GOX avec ou sans glucose sur les consommations et les vitesses instantanées de consommation d'O_2 de pâtes non levurées.

Figure 4.3.1.2 : Effet de l'ajout de GOX avec ou sans glucose sur les consommations et les vitesses instantanées de consommation d'O_2 de pâtes levurées.

Figure 4.3.1.3 : Différence entre la teneur en AGSMI libres des pâtes pétries 8 ou 16 min et celle de la farine (1,84 µmol.g^{-1} fs).

Figure 4.3.1.4 : Teneurs et taux d'oxydation des AGPI libres ($C_{18:2}$, $C_{18:3}$) de pâtes, levurées ou non, et additionnées ou non de glucose et de GOX. La teneur en AGPI libres de la farine est égale à 2,97 ± 0,3 µmol.g^{-1} de fs).

Figure 4.3.1.5 : Teneurs et taux d'oxydation des pigments caroténoïdes ($C_{18:2}$, $C_{18:3}$) de pâtes, levurées ou non, et additionnées ou non de glucose et de GOX. La teneur en pigments caroténoïdes de la farine est égale à 32,3 ± 1,3 mUA.g^{-1} de fs.

Figure 4.3.1.6 : Corrélation entre la quantité d'AGPI et de caroténoïdes oxydés suite à 8 ou 16 min de pétrissage réalisé au consistographe.

Figure 4.3.1.7 : Teneurs en protéines des pâtes non levurées additionnées ou non de GOX et de glucose.

Figure 4.3.1.8 : Répartition entre protéines solubles et insolubles extraites des pâtes non levurées additionnées ou non de GOX et de glucose.

Figure 4.3.1.9 : Répartition des protéines solubles extraites des pâtes non levurées, additionnées ou non de GOX et de glucose, en fonction de leur encombrement stérique.

Figure 4.3.1.10 : Répartition des protéines insolubles extraites des pâtes non levurées, additionnées ou non de GOX et de glucose, en fonction de leur encombrement stérique.

Figure 4.3.1.11 : Teneurs en protéines des pâtes levurées additionnées ou non de GOX et de glucose.

Figure 4.3.1.12 : Répartition entre protéines solubles et insolubles extraites des pâtes levurées additionnées ou non de GOX et de glucose.

Figure 4.3.1.13 : Répartition des protéines solubles extraites des pâtes levurées, additionnées ou non de GOX et de glucose, en fonction de leur encombrement stérique.

Figure 4.3.1.14 : Répartition des protéines insolubles extraites des pâtes levurées, additionnées ou non de GOX et de glucose, en fonction de leur encombrement stérique.

Figure 4.3.1.15 : Effet de la GOX avec ou sans glucose sur la DRT de pâtes non levurées pétries au consistographe.

Figure 4.3.1.16 : Effet de la GOX avec ou sans glucose sur la DRT de pâtes levurées pétries au consistographe.

Figure 4.3.1.17 : Effet d'ajouts de GOX compris entre 0 et 10360 nkat sur les consommations d'O_2 en fin de pétrissage et sur l'indice de relaxation des pâtes.

Figure 4.3.1.18 : Effet d'ajouts de GOX compris entre 0 et 10360 nkat sur les vitesses instantanées de consommation d'O_2 (ViO_2).

Figure 4.3.1.19 : Effet d'ajouts de GOX compris entre 0 et 10360 nkat sur volume spécifique et le rapport L_{max}/H_{max} des pains

Figure 4.3.1.20: Activité de 0,64 mg de COX et 0,11 mg de GOX pour différents oses en solution concentrés à 0,22 mol.L^{-1}, pH 5,6, 30 °C

Figure 4.3.1.21 : Activité de 0,64 mg de COX vis-à-vis de polymères de glucose oses concentrés à 0,004 mol.L^{-1}, pH 5,6, 30 °C.

Figure 4.3.1.22 : Effet de la GOX et de la COX sur les quantités d'AGPI libres oxydés de pâte levurées ou non après 8 min de pétrissage.

Figure 4.3.1.23 : Effet de la GOX et de la COX sur l'IR de pâtes levurées.

Figure 4.3.1.24 : Effet de la GOX et de la COX sur la constante de vitesse de relaxation (s^{-1}) et sur l'indice de comportement visqueux de pâtes levurées.

Figure 4.3.2.1 A et B : Vitesses instantanées de consommation d'O_2 au cours du pétrissage de pâtes contenant ou non de la farine de fève ou de soja. A : farine peu, B : farine très maturée.

Figure 4.3.2.2 : Surconsommations d'O_2 des pâtes par l'ajout de farine de fève et de soja selon l'état de maturation de la farine de blé.

Figure 4.3.2.3 A et B : Effet de l'ajout de farine de fève et de soja sur la quantité d'AGPI oxydés provenant des fraction AGL libres et TAG de pâtes préparées avec une farine peu (A) ou très maturée (B).

Figure 4.3.2.4 : Taux d'extraction des protéines des pâtes, levurées ou non, contenant ou non de la farine de fève ou de soja et préparée avec une farine de blé peu ou très maturée en pourcentage des pâtes témoins non levurées et levurées.

Figure 4.3.2.5 : Teneur relatives en protéines solubles et insoluble des pâtes non levurées et levurées contenant ou non de la farine de fève ou de soja et préparée avec une farine de blé peu ou très maturée.

Figure 4.3.2.6 : Cartographie des protéines solubles de pâtes, levurées ou non et additionnées ou non de farine de fève ou de soja et préparées avec une farine peu (Farine A) ou très maturée (Farine B).

Figure 4.3.2.7 : Cartographie des protéines insolubles de pâtes, levurées ou non, additionnées ou non de farine de fève ou de soja et préparées avec une farine peu ou très maturée.

Figure 4.3.3.1 : Effet de l'ajout de GOX sur la surconsommation d'O_2 en fin de pétrissage, par rapport aux pâtes de formulation identique sans GOX.

Figure 4.3.3.2 : Effet de l'ajout de GOX et/ou de farine de fève ou de soja sur l'oxydation des AGPI (AGPI libres, AGPI de la fraction TAG et AGPI totaux).

Figure 4.3.3.3 : Valeurs du rapport AGPI totaux oxydés / O_2 consommé en fonction de la formulation des pâtes.

Figure 4.3.3.4 : Effet de l'ajout de GOX et de farine de fève ou de soja sur le la cartographie des protéines totales contenues dans les pâtes préparées avec une farine peu maturée (Farine A) ou très maturée (Farine B) en présence de levure ou non.

Figure 4.3.3.5 : Teneur en protéines insolubles de pâtes levurées ou non et additionnées de GOX et de LOX de farine de fève et de soja par rapport à la teneur totale en protéines.

Figure 4.3.3.6 : Effet de l'ajout de GOX et de farine de fève ou de soja sur le la cartographie des protéines solubles contenues dans les pâtes préparées avec une farine peu maturée (Farine A) ou très maturée (Farine B) en présence de levure ou non.

Figure 4.3.3.7 : Effet de l'ajout de GOX et de farine de fève ou de soja sur le la cartographie des protéines insolubles contenues dans les pâtes préparées avec une farine peu maturée (Farine A) ou très maturée (Farine B) en présence de levure ou non.

Figure 4.4.1 : Effet de la pression de l'atmosphère environnant la pâte sur la consommation d'O_2 en fin de pétrissage de pâtes levurées ou non (farine maturée).

Figure 4.4.2 : Effet de la teneur en O_2 de l'atmosphère environnant la pâte sur la consommation d'O_2 en fin de pétrissage de pâtes levurées ou non (farine peu maturée).

Figure 4.4.3 : Vitesses instantanées de consommation d'O_2 de pâtes levurées et non levurées au cours du pétrissage pour des pressions de l'atmosphère égales à 0,7 et 1,3 bar.

Figure 4.4.4 : Vitesses instantanées de consommation d'O_2 par des pâtes levurées ou non au cours du pétrissage pour des pourcentages d'O_2 dans l'atmosphère égaux à 10 et 30 %.

Figure 4.4.5 : Effet de l'O_2 disponible sur les ViO_{2max} de pâtes levurées ou non.

Figure 4.4.6 : Effet de l'O_2 disponible sur la diminution de la vitesse instantanée de consommation d'O_2 entre l'instant où ViO_{2max} est atteint et la fin du pétrissage pour des pâtes levurées ou non.

Figure 4.4.7 : Exemples de variations de k_La de pâtes levurées ou non, au cours du pétrissage (après frasage) sous atmosphère à 0,7 et 1,3 bar.

Figure 4.4.8 : Effet de l'O_2 disponible sur les valeurs des k_La_{max} et des k_La à 105, 300 et 750 s de pétrissage (noir : expérimentations avec variation de pression, blanc : expérimentations avec % O_2 variable et pression de 1 bar, □: pâtes levurées, Δ : pâtes non levurées).

Figure 4.4.9 : Indice de relaxation des pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à pression variable et 21 % d'O_2.

Figure 4.4.10 : Indice de relaxation de pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à teneur variable en O_2 à 1 bar.

Figure 4.4.11 : Forces maximales de compression de pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à pression variable et 21 % d'O_2.

Figure 4.4.12 : Forces maximales de compression de pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à teneur variable en O_2 à 1 bar.

Figure 4.4.13 : Indices de comportement visqueux (1/α) de pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à pression variable et 21 % d'O_2.

Figure 4.4.14 : Indices de comportement visqueux de pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à teneur variable en O_2 à 1 bar.

Figure 4.4.15 : Constantes des vitesses de relaxation (k) de pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à pression variable et 21 % d'O_2.

Figure 4.4.16 : Constantes des vitesses de relaxation (k) de pâtes, levurées ou non, pétries sous atmosphères à teneur variable en O_2 à 1 bar.

Figure 4.4.17 : Consommations d'O_2 en fin de pétrissage de pâtes levurées contenant ou non de la farine de fève ou de soja et/ou de la GOX.

Figure 4.4.18 : Consommation d'O_2 en fin de pétrissage de pâtes levurées contenant ou non de la GOX et/ou de la Lipopan en présence de 21 et 30 % d'O_2.

Figure 4.4.19 : Effet du taux d'hydratation de la pâte et de l'ajout de GOX sur l'indice de comportement visqueux (1/α) et la constante de vitesse de relaxation (k) de pâtes pétries sous atmosphères normales enrichies ou non en O_2.

LISTE DES TABLEAUX

TRAVAUX ANTERIEURS

Tableau 2.1 : Comparaison des caractéristiques de fonctionnement des pétrins français les plus répandus avec les caractéristiques du sitoxygraphe (Levavasseur, 2007).

Tableau 2.2 : Comparaison des effets de différents pétrissages sur les pâtes avec ceux du Sitoxygraphe (Levavasseur, 2007).

Tableau 2.3. Durée des pétrissages à petites (40 RPM) et grandes (80 RPM) vitesses selon le type de pétrissage (d'après Feillet, 2000).

Tableau 2.4 : Grille de présentation des résultats de la méthode de panification NF V03-716.

Tableau 2.5 : Principales méthodes normalisées de l'analyse des farines et des pâtes.

Tableau 2.6 : Classification des farines selon leur taux de cendres

Tableau 2.7 : Valeurs indicatives des teneurs en protéines nécessaires en panification selon les procédés de fabrication du pain français (PA : Pétrissage Amélioré, PI : Pétrissage Intensifié, Roussel, 2005).

Tableau 2.8 : Classification des activités amylasiques de la farine (Roussel, 2005).

Tableau 2.9 : Indices mesurés à l'aide du farinographe dans le cadre d'une utilisation en panification française (Roussel, 2005).

Tableau 2.10 : Analyse des paramètres alvéographiques en fonction d'une utilisation en panification française (Roussel, 2005).

Tableau 2.11 : Classification des protéines selon leur solubilité et leur poids moléculaire (classification d'Osborne).

Tableau 2.12 : Effet des hydrolases en panification (Potus *et al.*, 1996).

Tableau 2.13 : Effets des lipoxygénases en panification (Nicolas et Potus, 1994).

Tableau 2.14 : Liste des améliorants autorisés par le décret pain en panification française (Langraf, 2002).

MATERIELS ET METHODES

Tableau 3.1 : Composition moyenne des farines de blé, fève et soja.

Tableau 3.2 : Liste des produits utilisés.

Tableau 3.3 : Temps de rétention et coefficient de réponses (CR) à 320 nm des acides cinnamiques extraits des pâtes et de la farine de blé.

Tableau 3.4 : Analyse statistique de 1/α et k pour des temps de repos des échantillons après laminage compris entre 10 et 30 min.

Tableau 3.5 : Analyse statistique des IR, F_0 pour différents temps de repos des échantillons après laminage.

ANALYSES DES RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 4.2.1 : Consommations d'oxygène en fin de pétrissage de pâtes levurées ou non.

Tableau 4.2.2 : Consommation d'O_2 et diffusion de CO_2 d'une pâte levurée après le premier pétrissage, en fin de fermentation et après le second pétrissage.

Tableau 4.2.3 : Volume (V) de la pâte avant et après le premier pétrissage, en fin de fermentation et après le second pétrissage.

Tableau 4.2.4 : Teneurs en pigments caroténoïdes suite au pétrissage de pâtes levurées ou non pendant 8 et 16 min.

Tableau 4.2.5: Teneur en protéines de la farine et des pâtes levurées ou non ($mUA.g^{-1}$ fs).

Tableau 4.2.6 : Analyse statistique de la fraction F1 + F2 (solubles et insolubles confondues) contenue dans la farine et des pâtes, levurées ou non, après 8 et 16 minutes de pétrissage.

Tableau 4.2.7 : Indices mesurés avec le consistographe.

Tableau 4.2.8 : Formulation et hydratation des pâtes, levurées ou non, pétries au consistographe.

Tableau 4.2.9 : Analyse statistique des IR et F_0 d'échantillons de pâtes levurées ou non.

Tableau 4.2.10 : Analyse statistique de 1/α et k d'échantillons de pâtes levurées ou non.

Tableau 4.3.1.1 : Consommation d'O_2 des pâtes au cours de pétrissages réalisés à l'aide du sitoxygraphe.

Tableau 4.3.1.2 : Temps d'apparition et valeur des vitesses maximales de consommation d'O_2.

Tableau 4.3.1.3 : Acides cinnamiques extraits de pâtes non levurées additionnées ou non de GOX et de glucose.

Tableau 4.3.1.4 : Acides cinnamiques extraits de pâtes levurées additionnées ou non de GOX et de glucose.

Tableau 4.3.1.5 : Effet de la GOX, avec ou sans glucose, sur les caractéristiques rhéologiques de pâtes levurées ou non et pétries au consistographe pendant 8 ou 16 min (480 ou 900 s).

Tableau 4.3.1.6 : vitesse de consommation d'O_2 de la COX et de la GOX dans une solution de glucose (0,22 mol.L^{-1}, pH 5,6, 30 °C) et d'un extrait de farine (0,4 g.mL^{-1}, pH 5,6, 30 °C)

Tableau 4.3.1.7 : Consommation d'O_2, surconsommation d'O_2 et vitesse maximale de consommation d'O_2 de pâtes levurées ou non additionnées ou non de GOX ou de COX et pétries à l'aide du sitoxygraphe

Tableau 4.3.1.8 : Effet de la COX et de la GOX sur les caractéristiques rhéologiques des pâtes pétries à l'aide du consistographe.

Tableau 4.3.2.1 : Caractéristiques des farines utilisées pour la préparation des pâtes. Les données entre parenthèses correspondent aux teneurs en acides gras oxydables des fractions lipidiques.

Tableau 4.3.2.2 : Formulation des pâtes.

Tableau 4.3.2.3 : Teneur en AGPI des farines A et B supplémentées ou non en farine de soja (0,5 %) ou en farine de fève (1 %). Toutes les valeurs sont exprimées en µmol AGPI.g^{-1} de fs.

Tableau 4.3.2.4 : Effet de l'addition de 1 % de farine de fève ou 0,5 % de farine de soja sur la consommation d'oxygène après 15 min de pétrissage.

Tableau 4.3.2.5 A et B : Effet de l'ajout de farine de fève ou de soja par rapport aux pâtes témoins (^{1} pâtes non levurées, ^{2} pâtes levurées) sur les caractéristiques rhéologiques. * signifie l'existence d'une différence significative avec le témoin.

Tableau 4.3.3.1 A et B : Effet de l'ajout de GOX et de farine de fève ou de soja sur la consommation d'O_2 en fin de pétrissage d'une farine peu (Farine A) ou très maturée (Farine B) en présence de levure (B) ou non (A).

Tableau 4.3.3.2 : Effet de la levure et/ou de la GOX sur les valeurs du rapport AGPI totaux oxydés / O_2 consommé.

Tableau 4.3.3.3 : Effet de l'ajout de farine de légumineuses et de GOX sur les indices déterminés à l'aide du consistographe pour des pâtes levurées ou non et pétries avec une farine peu maturée (Farine A).

Tableau 4.3.3.4 : Effet de l'ajout de farine de légumineuses et de GOX sur les indices déterminés à l'aide du consistographe pour des pâtes levurées ou non et pétries avec une farine très maturée (Farine B).

Tableau 4.4.1 : Teneur en O_2 et pression des atmosphères environnant les pâtes avant le début du pétrissage.

Tableau 4.4.2 : Consommation d'oxygène et surconsommation d'O_2 due à la levure en fin de pétrissage et en fonction de l'oxygène initialement disponible

Tableau 4.4.3: Effet de l'oxygène disponible sur le temps et la quantité d'O_2 consommée nécessaires pour atteindre ViO_{2max}.

Tableau 4.4.4 : Effet de la teneur en O_2 de l'atmosphère environnant la pâte sur les valeurs du k_La_{max}, à 105, 300 et 750 s de pétrissage pour des pâtes levurées ou non.

Tableau 4.4.5 : Effets de l'ajout de GOX ou de COX sur la consommation, la surconsommation et la vitesse instantanée maximale de consommation d'O_2 de pâtes levurées, pétries sous atmosphères contenant initialement 21 ou 30 % d'O_2 à 1 bar.

Tableau 4.4.6 : Effets de l'ajout de GOX ou de COX sur les valeurs de k_La (k_La_{max}, à 105, 300 et 750 s de pétrissage) et les caractéristiques rhéologiques de pâtes levurées, pétries sous atmosphères normales ou enrichies en O_2 (variation de % O_2 à pression de 1 bar).

Tableau 4.4.7 : Effets de l'ajout de GOX ou de COX sur la consommation, la surconsommation d'O_2 et le ViO_{2max} de pâtes levurées pétries sous atmosphères à 1 ou 1,3 bar.

Tableau 4.4.8 : Effets de l'ajout de GOX ou de COX sur les valeurs de k_La (k_La_{max}, à 105, 300 et 750 s de pétrissage) et les caractéristiques rhéologiques de pâtes levurées et pétries sous atmosphères normales ou enrichies en O_2 (variation de pression).

Tableau 4.4.9 : Effets de l'ajout de GOX et de farines de légumineuses sur la consommation, la surconsommation et la vitesse maximale de consommation d'O_2 de pâtes levurées pétries sous atmosphères contenant initialement 21 ou 30 % d'O_2.

Tableau 4.4.10 : Effets de l'ajout de farine de fève ou de soja et/ou de GOX sur les valeurs de k_La (k_La_{max}, à 105, 300 et 750 s de pétrissage) et les caractéristiques rhéologiques de pâtes levurées, pétries sous atmosphères normales (21 % d'O_2 à 1 bar) ou enrichies en O_2 (30 % d'O_2 à 1 bar).

Tableau 4.4.11 : Effets de l'ajout de GOX et de Lipopan FBG sur les valeurs de k_La (k_La_{max}, à 105, 300 et 750 s de pétrissage) et les caractéristiques rhéologiques de pâtes levurées, pétries sous atmosphères normales ou enrichies en O_2 (21 ou 30 % à 1 bar).

Tableau 4.4.12 : Formulations et conditions de pétrissage des pâtes.

Tableau 4.4.13 : Consommations d'O_2 en fin de pétrissage et surconsommation d'O_2 par la GOX selon la teneur en eau des pâtes et la quantité initiale d'O_2 de la phase gazeuse.

Tableau 4.4.14 : Effet de l'hydratation des pâtes pétries en présence de GOX et d'une atmosphère enrichie en oxygène sur les valeurs de k_La_{max} après 105 et 300 et 750 s de pétrissage.

Tableau 4.4.15 : Indices de relaxation selon la teneur en eau des pâtes et la quantité initiale d'O_2 de la phase gazeuse.

Tableau 4.4.16 : Caractéristiques des pains issus de pâtes levurées, surhydratées ou non, préparées avec ou sans GOX et pétries sous atmosphère normale ou enrichie en O_2.

7 ANNEXES

Competition for oxygen among oxidative systems during bread dough mixing. Consequences of addition of glucose oxidase and lipoxygenase on yeasted dough rheology.

F. Buche[1,2,4], S. Davidou[1], M. Pommet[1], J. Potus[1], J. Rouillé[2], F. Verté[3], J. Nicolas[1]
[1]Chaire de Biochimie Industrielle et Agro-Alimentaire, UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments, Conservatoire National des Arts et Métiers, 292 Rue Saint-Martin, Case 306, 75141 Paris Cedex 03, France.
[2]Moulins Soufflet, 7 quai de l'apport Paris, 91100 Corbeil-Essonnes, France.
[3]Puratos Group, Industrialaan 25, 1702 Groot-Bijgaarden, Belgium.
[4]Corresponding author: Phone: 33 (0)1 40 27 24 95. Fax: 33 (0)1 40 27 20 66. E-mail: francois.buche@cnam.fr

Abstract : The effect on O_2 uptake during mixing of yeasted dough, either unsupplemented or supplemented with glucose oxidase (GOX), horse bean flour (HB) or soybean flour (SB) or combinations thereof, was studied using an air-tight mixer. Two wheat flours with a low (flour A) and a high (flour B) content of free polyunsaturated fatty acids (PUFA) were used. Addition of HB or SB provokes a similar increase of O_2 uptake for both wheat flours whereas addition of GOX causes a larger increase for flour A than for flour B. When the wheat flours were supplemented with HB or SB, addition of GOX causes a small (but significant) increase of O_2 uptake for flour A. This was not observed for flour B. The mixing tolerance of dough A determined with the Chopin Consistograph is increased by GOX addition. However this effect is less pronounced when flour A is supplemented by HB or SB. Similarly, the relaxation index of dough B is decreased by GOX addition but the decrease is less distinct in the presence of HB or SB. These results can be explained by a competition among yeast, GOX and lipoxygenases (present in wheat, HB and SB flours) for the O_2 uptake by dough which very likely decreases the amount of hydrogen peroxide produced by GOX during dough mixing. This consequently also modifies the rheological properties of dough.

Key words : Yeasted dough, oxygen consumption, dough rheology, wheat flour, glucose oxidase, horse bean flour, soybean flour

Introduction

Bread dough is mainly composed of wheat flour, water, salt and yeast. In order to improve the flour baking quality, both chemical additives and enzymes (e.g. amylases, hemicellulases, lipases, and oxidoreductases) can be used. Some of the latter [such as lipoxygenase (LOX) and glucose oxidase (GOX)] use molecular O_2 incorporated into dough during kneading (Fig. 1). LOX is already natively present in wheat flour but in much lower concentrations than can be found in soybean (SB) and horse bean (HB) flours, which are commonly used as flour improvers in breadmaking (Kieffer and Grosch 1980, Nicolas et al 1982, Nicolas and Drapron 1983, Cumbee et al 1997, Nicolas et al 2009). LOX uses O_2 for the oxidation of polyunsaturated fatty acids (PUFA) into hydroperoxides with the formation of transitory free radicals (Whitaker, 1991). Wheat LOX acts on linoleic and linolenic acids either in the free or the monoglyceride forms whereas other fatty acids are not affected (Drapron and Beaux 1969, Graveland, 1970, Mann and Morrison 1974, Tait and Galliard 1988, Castello et al 1998, Ameille et al 2000). According to Morrison and Panpaprai (1975), soybean LOX is also able to act on PUFA present in triglycerides. The dough bleaching effect of SB or HB flours added to wheat flour is known for a long time (Nicolas 1978, Nicolas et al 1982, Gelinas et al 1998). The SB or HB flours are used up to 0.5 % or 2 % respectively in wheat-flour-based breads (Hoover 1979, Nicolas et al 1982). According to work carried out by Frazier et al (1973 and 1977), addition of lipoxygenase to dough also causes an increase in the free fraction of lipids (this effect does not appear under nitrogen). This phenomenon is concomitant with an increase of dough relaxation time. This is the well known effect of lipoxygenase on dough rheological properties corresponding to an increase of dough relaxation time and an improved mixing tolerance leading to an increased bread volume (Frazier et al 1973, Hoseney et al 1980, Faubion and Hoseney 1981). However, as emphasized by Frazier et al (1977), this latter effect is only visible after high energy input mixing which allows the incorporation of high levels of O_2 in dough and frequent contacts among reactants. Modifications of the bread aroma are also caused by HB or SB LOX since the lipids peroxidized during mixing are partly degraded during baking, with the concomitant formation of volatiles compounds (Drapron and Beaux 1969, Luning and Roozen 1991, Van Ruth et al 1992, Addo et al 1993).

Using air-tight mixer devices, several workers (Eyoum et al 2003, Levavasseur et al 2006, Maraschin et al 2008) have shown that O_2 uptake during mixing is mainly related to the LOX system, for unyeasted and additive free dough.

The first studies dealing with GOX were carried out in order to replace potassium bromate in the dough recipes (Vemulapalli et al 1998, Wikström and Eliasson 1998). This oxidase from *Aspergillus niger*, allowed in the bakery industry since 1997, uses molecular oxygen for the oxidation of glucose into δ-D-gluconolactone with the concomitant formation of hydrogen peroxide (Whitaker 1985). Hydrogen peroxide activates wheat peroxidase (Vemulapalli et al 1998) which could lead to the formation of disulfide bonds (Rasiah et al 2005) and dityrosine crosslinks (Tilley et al 2001) between gluten proteins. Peroxidase is able to catalyze the formation of diferulate bridges in the arabinoxylan fraction (Figueroa-Espinoza and Rouau 1998, Figueroa-Espinoza et al 1999, Garcia et al 2002) and possibly of crosslinks between arabinoxylans and proteins (Oudgenoeg et al 2001 and 2002, Boeriu et al 2004, Piber and Koehler 2005). Addition of GOX has been claimed to lead to a slightly more elastic and less viscous system (Joye et al 2009). In breadmaking, GOX addition to dough modifies its rheological properties, affecting its consistency and enhancing its tolerance and the bread volume (Martinez-Anaya and Jimenez 1998, Poulsen and Hostrup 1998, Vemulapalli et al 1998, Wikström and Eliasson 1998, Ameille et al 2000, Dunnewind et al 2002, Rosell et al 2003, Qi Si and Drost-Lustenberger 2002, Bonet et al 2006). However, the effect on bread volume seems to depend on the GOX dosage in the recipe, the breadmaking process, and the

type of flour used (Vemulapalli and Hoseney 1998, Vemulapalli et al 1998, Rasiah et al 2005, Bonet et al 2006).
The figure 1 summarizes the reactions catalyzed by LOX and GOX during mixing with their potential effects on dough and bread properties.
When added to unyeasted dough, yeast enhances O_2 uptake (Eyoum et al 2003). Therefore during mixing, yeast is able to compete for the O_2 consumption with the oxidoreductases present in the dough recipe.
O_2 consumption by dough follows a two-steps mechanism which both limits the extent of dough oxidation. The first step, where O_2 is physically incorporated in dough, depends mainly on the type of mixing device and on dough rheological properties. The second step, where O_2 is covalently bound in dough, depends mainly on the flour characteristics and on dough formulation. Dough rheological properties are partly dependent on redox reactions which in turn depend on the O_2 consumption during mixing. However, following the type of redox reactions involving O_2 consumption, their impact on dough rheological properties is different. One can assume that the addition of enzyme for which O_2 is a substrate can modify the dough rheological properties for two (non exclusive) reasons. Firstly, the reaction catalyzed by the added enzyme has a direct impact on dough rheological properties. Secondly, the other O_2 consuming reactions already present in dough are limited leading to a decrease of their impact on dough rheological properties. It is the purpose of this work to verify these assumptions with two different wheat flours either supplemented or not by HB or SB flours and / or GOX in the presence of yeast. The variations in O_2 uptake during mixing of yeasted dough in an air-tight mixer (Levavasseur 2007) will be compared to the variations of dough rheological properties determined during mixing using a Chopin Consistograph on the one hand and by a compression-relaxation test after mixing (Davidou et al 2008) on the other hand. The latter test has been adapted for yeasted dough.

Materials and Methods

Two commercial wheat flours (flour A and flour B) were provided by Les Moulins Soufflet (Corbeil-Essonnes, France). Flour A was used just after milling (no maturation) whereas flour B was stored for 5 weeks at room temperature before use. HB and SB flours were given by Agro Ingredients Technology d'Aizenay (Corbeil-Essonnes, France). The moisture content, the protein content, the ash content, the fatty acid content in the different lipid fractions (Triacylglycerols = TAG, 1,2 and 1,3-diacylglycerols = $DAG_{1,2}$ and $DAG_{1,3}$, monoacylglycerols = MAG and free fatty acids = FFA) and the LOX activity of these four flours are given in Table I. Dry yeast and GOX (182 µkat g^{-1} of powder) were obtained from Puratos Group (Groot-Bijgaarden, Belgium).
The different dough formulations are given in Table II.

Oxygen uptake during dough mixing (wheat flours A and B)

All ingredients (flours, water, yeast and salt with or without GOX for a total of 4.2 kg) were mixed in a mixer derived from the bioreactor described by Levavasseur (2007). This air-tight mixer, called Sitoxygraph, is equipped with a gas analyzer Cristal 300 (Cosma, Igny, France) for O_2 and CO_2 detection in the gaseous atmosphere (close to 6.4 L) surrounding dough during mixing. Mixing at 25 °C was performed for 2 min at 30 rpm followed by 13 min at 60 rpm. The recorded decrease in O_2 in the gaseous atmosphere during mixing is expressed in µmol of O_2 incorporated per g of dry flour. Mixing was conducted at least in duplicate for each dough recipe.

Rheological measurement during mixing – Chopin Consistograph studies (wheat flour A)

These experiments were performed with wheat flour A. All ingredients (a total of 420 g) were mixed in a Chopin Consistograph^{TM} (Chopin, Villeneuve-la-Garenne, France) for 8 min. During mixing, the evolution of pressure considered as an indicator of dough consistency was followed (Fig. 2). Different parameters can be obtained from this evolution (Dubois et al 2008), namely :
Pr_{max} (mbar) which corresponds to the maximum pressure,
TPr_{max} (s) which corresponds to the time to obtain Pr_{max},
Tolerance (s) which corresponds to the time during which the pressure exceeds Pr_{max} – 20 %,
D_{450} (mbar) which corresponds to the pressure drop Pr_{max} – Pr_{450}, where Pr_{450} (mbar) is the pressure measured after 450 s of mixing and
Pr_{480} (mbar) which corresponds to the pressure at the end of mixing (480 s).
Rheological measurement with Consistograph was conducted in triplicate for each dough recipe.

Rheological measurement after mixing – Lubricated squeezing flow followed by stress relaxation (wheat flour B)
These experiments were performed with wheat flour B. Samples were prepared according to Davidou et al (2008) with some modifications due to the presence of yeast. 600 g of yeasted dough prepared with the Sitoxygraph were immediately extruded with the Consistograph and laminated. Six disks of laminated dough (height = 7 mm, diameter = 46 mm) were rested for 20 min before measurement in a cold container at 0°C in the presence of water and ice. This protocol reduces the yeast activity due to the cold atmosphere and maintains the dough strips humidity during the resting period.
Preliminary tests carried out on yeasted dough have shown that the variation of the resting time (10-30 min) does not change the values obtained in the relaxation test (data not shown), therefore the resting time was set at 20 min. The relaxation test was conducted at least on 6 disks from each dough recipe.
The lubricated relaxation test was performed using a TA 500 Texture analyzer (Lloyd instrument, Elancourt, France) at 0.2 mm s^{-1}. During the compression period (25 s) the sample height is reduced from 7 to 2 mm corresponding to a biaxial extension of 71 % followed immediately by a relaxation test during 150 s (Fig. 3). The relaxation index (RI) was calculated as :
$RI = 100*(F_0-F_{150}) / F_0$
where F_0 and F_{150} are the forces (N) measured at the beginning and after 150 s of the relaxation test, respectively. Stress relaxation rate (k) and flow behavior index ($1/\alpha$) were obtained after modelling of experimental data using the equation (Launay 1990) :
$F(t) = F_0 [1 – k (1-\alpha)(t)]^{[1/(1-\alpha)]}$

Enzyme assays
LOX activity: Wheat flour (4 g) or HB flour (1 g) or SB flour (1 g) was homogenized with 10 mL of phosphate buffer (100 mM, pH 7.5) in an ice bath using an Ultra Turrax homogenizer for 15 s, followed by a 30 s rest period and an another 15 s treatment. Homogenates were immediately centrifuged at 38,000 x g for 20 min at 4 °C. Wheat and HB LOX activities were determined polarographically using linoleic acid (5 mM) dispersed in a phosphate buffer solution (100 mM, pH 6.5) containing Tween 20 (0.125 %), and saturated with air at 30 °C (Nicolas et al 1982). SB LOX activity was determined using the same conditions, except that a borate buffer (100 mM, pH 9) was used instead of the phosphate buffer.
GOX activity. The GOX activity was determined polarographically using the conditions described by Rakotozafy et al (1999).
All activities are expressed in nkat (nmol of O_2 consumed per second in the assay conditions).

Lipid analysis
Lipids were extracted, fractionated, and quantified as described by Maraschin et al (2008).

Statistics
Statistical analyses were made using Statgraphics Centurion XV for Windows (Sigma plus, Toulouse, France). Fisher's least significant differences test was used to describe means with 95 % confidence.

Results and discussion

Oxygen uptake during dough mixing (wheat flours A and B)
The O_2 uptake after 15 min of mixing for the different experiments is given in Table III. In the mixing conditions used (close to 6.4 L of air and 4.2 kg of dough), the O_2 level available at the beginning of mixing was close to 25 µmol O_2 per g of dry flour. Thus, a maximum of 25 % of this quantity was consumed at the end of mixing. Therefore, we can consider that O_2 was still present in excess and that the decrease in O_2 concentration in the gaseous atmosphere did not significantly affect its incorporation in dough even at the end of mixing.
As shown in Table III, O_2 uptake in the control dough is higher with flour B than with flour A (+ 0.53 µmol O_2 per g of dry flour). This can be easily explained by the higher amounts of free PUFA in flour B compared to flour A (Table I). Earlier, Maraschin et al (2008) concluded that the main factor responsible for O_2 uptake during mixing is the initial free PUFA content of the flour, provided the LOX activity is higher than 10 nkat g^{-1} of dry flour.
When GOX was added to flour A, a significant increase of O_2 uptake was observed (+ 1.1 µmol O_2 per g of dry flour) whereas, with flour B, the increase was also significant but much lower (+ 0.2 µmol O_2 per g of dry flour). This effect of increasing O_2 uptake following a GOX addition was already observed by Ameille et al (2002) on unyeasted dough.
Addition of HB flour or SB flour leads to a significant and similar increase for both wheat flours (between + 1 and + 1.05 µmol O_2 per g of dry flour). Lastly when GOX and exogenous LOX (from HB or SB flours) were simultaneously added, a significant increase was observed with flour A in comparison with GOX added alone or with either HB or SB flour alone. Conversely, with flour B, the increase in O_2 uptake was significant when HB or SB flour was added to flour supplemented by GOX in comparison with GOX added alone but was not significant when GOX was added to flour supplemented by HB or SB flour in comparison with exogenous LOX added alone.
These differences in behavior between wheat flours A and B are very likely due to their differences in LOX system efficiency (LOX activity and free PUFA content) during mixing. The two flours have a similar level of endogenous LOX (close to 70 nkat g^{-1} dry flour) which is in the range found by Eyoum et al (2003) and Levavasseur et al (2006) i.e. 25 to 100 nkat g^{-1} dry flour. However, flour B has a higher level of free PUFA than flour A (Table I). Thus the rate of O_2 consumption by dough A is lower than the one by dough B (the LOX system is less efficient in flour A than in flour B). This is illustrated by the difference in O_2 uptake by unyeasted dough from flour A and flour B, namely 3.42 and 4.96 µmol O_2 per g of dry flour, respectively. These data show that the addition of yeast results in an increase of + 1.3 µmol O_2 per g of dry flour for flour A and + 0.29 µmol O_2 per g of dry flour for flour B. These results are equivalent to those observed when GOX was added to flour A and to flour B. Therefore, the part taken by GOX in O_2 uptake during mixing is less important with flour B than with flour A, particularly when exogenous LOX (from HB or SB flours) is added in the dough recipes.

Rheological measurement during mixing – Chopin Consistograph studies (wheat flour A)

The addition of HB or SB flours to wheat flour A does not change the dough tolerance during mixing. Conversely, the addition of GOX leads to a significant increase in the tolerance (Fig. 4A). However, the increase is higher when GOX is added alone (+ 114 s compared to the control) than when GOX and exogenous LOX (from HB or SB flours) are added simultaneously (between + 52 and + 61 s). A similar effect of GOX on the dough tolerance was observed by Bonet et al (2006) when 2500 nkat of GOX was added to 100 g of flour.

TPr_{max} (time to reach the maximum pressure) remains almost constant after addition of HB or SB flours and increases significantly upon GOX addition (Fig. 4B). The increase is more outspoken with GOX added alone than when GOX and exogenous LOX are both present in the dough recipe.

D_{450} (drop pressure) is not affected by the addition of HB flour and decreases significantly when GOX is added to the dough (Fig. 4C). Again the GOX effect is less outspoken in the presence of exogenous LOX. A decrease of D_{450} (and an increase of tolerance) following an addition of GOX to dough was also described by Dubois et al (2008).

Lastly, Pr_{480} is not affected by the addition of exogenous LOX (from HB or SB flours) but increases significantly after the addition of GOX and again, the simultaneous addition of exogenous LOX decreases the GOX effect on Pr_{480} (Fig. 4D).

Therefore, when the control dough is supplemented by exogenous LOX, the pressure curve during dough mixing is not significantly affected whereas the addition of GOX significantly increases the tolerance, the time to reach Pr_{max} and the final pressure (P_{480}) and significantly decreases the drop pressure (D_{450}). When control dough is supplemented simultaneously by GOX and exogenous LOX, a same qualitative effect is observed on these parameters but the quantitative effect is less distinct than in the presence of GOX alone.

Rheological measurement after mixing – Lubricated squeezing flow followed by stress relaxation (wheat flour B)

The F_0 value is slightly but significantly increased for dough supplemented by GOX either alone or in combination with exogenous LOX (Fig. 5A). This slight effect of GOX supplementation on F_0 was also observed by Davidou et al (2008) in similar conditions of (unyeasted) dough water content.

Addition of HB or SB flours causes a slight decrease (not significant) of RI whereas the addition of GOX decreases significantly its value (Fig. 5B). This last result is in agreement with those obtained by Davidou et al (2008) and can be related to the other rheological effects of GOX observed by several authors (Martinez-Anaya and Jimenez 1998, Dunnewind et al 2002, Vemulapalli et al 1998). Again, the simultaneous addition of exogenous LOX (from HB or SB flours) to dough already supplemented by GOX lowers the GOX effect. Thus, compared to control dough, the decrease of RI is close to 11 % with GOX alone and close to 7 % with GOX and exogenous LOX.

A similar effect was found on the flow behavior index (Fig. 5C) since the $1 / \alpha$ values are in the following decreasing order : control dough > dough supplemented with HB or SB flours > dough supplemented with GOX and HB or SB flours > dough supplemented with GOX alone. All these results indicate the more elastic and less viscous behavior of dough supplemented with GOX.

According to several authors (Vemulapalli and Hoseney 1998, Vemulapalli et al 1998, Rosell et al 2003, Primo-Martin et al 2003, Poulsen and Hostrup 1998), the rheological effects of GOX are linked to the formation of hydrogen peroxide following the glucose oxidation in the presence of O_2 during mixing. In control dough which contains wheat flour, water, salt and

yeast, the oxidoreductases present in wheat flour (mainly LOX) and yeast are able to catalyze the oxidation by O_2 of reducing substrates present in dough during mixing. When GOX is added in the dough recipe, it increases the O_2 consumption during mixing and produces hydrogen peroxide. Hydrogen peroxide is a well known inhibitor of the lipoxygenase activity (Mitsuda et al, 1967, Egmond et al 1975) on the one hand. Due to its capacity to generate reactive oxygen species such as hydroxyl radicals, hydrogen peroxide is also detrimental to the growth of *Saccharomyces cerevisiae* (Dani et al 2008, Kim et al 2010) on the other hand. Therefore, it is highly probable that the increase in O_2 consumption due to the addition of GOX represents at least the level of hydrogen peroxide produced by this enzyme during mixing. Obviously in constant mixing conditions, this level which causes the rheological effects of GOX is dependent on the type of flour and particularly on the efficiency of its LOX system on the one hand and on the presence of reducing substrates (glucose) available for GOX on the other hand. The glucose content in mature wheat grain is in the range 0.03-0.09 % (db) (Lineback and Rasper, 1988). Potus et al (1994) found a value of 0.026 % (db) in a patent wheat flour and observed that in unyeasted dough, this level increases to 1.7 % after 15 min of mixing. According to these authors, this increase is due to the amylolytic activities present in wheat flour. The glucose content given by Belitz et al (2004) is 0.34 and 0.01 % (db) for HB and SB flours respectively. Therefore, the addition of 1 % of HB flour or 0.5 % of SB flour does not change significantly the glucose level available for GOX and probably has no impact on the GOX activity during mixing. A glucose content of 0.026 % corresponds to a concentration lower than 2 mM in the aqueous phase of dough. Since the Km value of GOX towards glucose in water solutions saturated by air at 30 °C is close to 20 mM (Poulsen et al 1998), an increase of the dough glucose content would result in an increase of the O_2 consumption in the presence of GOX. Actually, after the addition of 1.5 % glucose in the recipe of unyeasted dough containing GOX, an increase of O_2 consumption (+ 1.4 µmol g^{-1} dry flour) was observed by Levavasseur (2007) after 15 min of mixing in Sitoxygraph.
The addition of other competitors for O_2 such as exogenous LOX (present in HB or SB flours) increases the total O_2 consumption during mixing but obviously decreases the portion of O_2 consumption by GOX and therefore decreases the level of hydrogen peroxide produced. This explains that the rheological effects induced by GOX addition in the dough recipe are less pronounced when exogenous LOX are also added in the dough recipe. It is highly probable that the addition of other enzymes which use O_2 as oxidizing substrate or of chemicals such as ascorbic acid which are oxidized by O_2 during mixing (Every et al 1996, Grosch and Wieser 1999) could also reduce the rheological effects of GOX.

Conclusion

Our results show that, in similar mixing conditions, the rheological impact of an ingredient linked to O_2 consumption, can be modified by the addition of other ingredients which are involved in O_2 consuming reactions (redox enzymes, reductant substrates, yeast,…). However, a better comprehension of this phenomenon needs to follow simultaneously the decrease in reductant substrates in dough (PUFA, phenolic compounds, thiol compounds, reducing sugars,…). This would help to quantify the importance of the different O_2 consuming reactions. Our results confirm also that for a same mixing device, O_2 consumption during dough mixing is dependent on the wheat flour biochemical characteristics. In further experiments, we plan to modify the O_2 availability during mixing. This will be done by mixing either under air at different pressures (lower or higher than normal pressure) or under atmospheres different from air (enriched in O_2 or in N_2) at normal pressure. The impact of these modifications will be followed on the O_2 consumption, on the dough rheological properties as well as on the consumption of different reductant substrates.

Acknowledgements

This work was financially support by Moulins Soufflet (France) and Puratos Group (Belgium) and the grant N° 134/2007 from ANRT (Association Nationale de la Recherche et de la Technologie - France). We appreciate the assistance of Aline BOUSSARD and Gabrielle MOULIN for the lipid and LOX analysis of the different flours.

Literature Cited

Addo, K., Burton, D., Stuart, M. R., Burton, H. R., and Hildebrand, D. F. 1993. Soybean flour lipoxygenase isozymes mutant effects on bread aroma volatiles. *J. Food Sci.* 58:583-585, 608.

Ameille, V., Castello, P., Garcia, R., Rakotozafy, L., Potus, J., and Nicolas, J. 2000. Influence des conditions physico-chimiques du pétrissage et de l'ajout de glucose oxydase et lipase sur l'évolution de la consistance et de la consommation d'oxygène de la pâte de farine de blé tendre au cours du pétrissage. *Sci. Aliments*. 20:441-445.

Belitz, H. D., Grosch, W., and Schieberle, P. 2004. Legumes. Pages 747-771 in: Food Chemistry 3rd ed., Springer, Berlin.

Boeriu, C. G., Oudgenoeg, G., Spekking, W. T. J., Berendsen, L. B. J. M., Vancon, L., Boumans, H., Gruppen, H., Van Berkel, W. J. H., Laane, C., and Voragen, A. G. J. 2004. Horseradish peroxidase-catalyzed cross-linking of a feruloylated arabinoxylans with β-casein. *J. Agric. Food Chem*. 52:6633-6639.

Bonet, A., Rosell, C. M., Caballero, P. A., Gomez, M., Perez-Munuera, I., and Lluch, M. A. 2006. Glucose oxidase effect on dough rheology and bread quality: A study from macroscopic to molecular level. *Food Chem.* 99:408–415.

Castello, P., Jollet, S., Potus, J., Baret, J. L., and Nicolas, J. 1998. Effect of exogenous lipase on dough lipids during mixing of wheat flours. *Cereal Chem.* 75:595-601.

Cumbee, B., Hildebrand, D. F., and Addo, K. 1997. Soybean flour lipoxygenase isozyme effects on wheat flour dough rheological and breadmaking properties. *J. Food Sci.* 62:281-283,294.

Dani C., Bonatto, D., Salvador, M., Pereira, M. D., Henriques, J. A. P., and Eleutherio, E. 2008. Antioxidant protection of resveratrol and catechin in Saccharomyces cerevisiae. *J. Agric. Food. Chem.* 56:4268-4272.

Davidou, S., Michon, C., Ben Thabet, I., and Launay, B. 2008. Influence of shaping and orientation of structures on rheological properties of wheat flour dough measured in dynamic shear and in biaxial extension. *Cereal Chem.* 85:403-408.

Drapron, R., and Beaux, Y. 1969. Sur l'oxydation des acides gras essentiels par la lipoxygénase (EC 1.13.1.13) en panification et la formation de composés volatils intervenant dans l'arôme du pain. *C.R Acad. Sci. Paris* 268:2598-2601.

Dubois, M., Dubat, A., and Launay, B. 2008. The Chopin Consistograph. Pages 57-64 in: The Alveoconsistograph handbook 2nd ed., Am. Assoc. Cereal Chem., St Paul, MN.

Dunnewind, B., Van Vliet, T., and Orsel, R. 2002. Effect of oxidative enzymes on bulk rheological properties of wheat flour doughs. *J. Cereal Sci.* 36:357-366.

Egmond, M. R., Finazzi-Agro, A., Fasella, P., Veldink, G. A., and Vliegenthart, J. F. G. 1975. Changes in the fluorescence and absorbance of lipoxygenase-1 induced by 13-L_S-hydroperoxylinoleic acid and linoleic acid. *Biochim. Biophys. Acta* 397:43-49.

Every, D., Gilpin, M. J., and Larsen, N. G. 1996. Ascorbate oxidase levels in wheat and their relationship to baking quality. *J. Cereal Sci.* 23:145-151.

Eyoum, A., Celhay, F., Néron, S., El Amrani, F., Boussard, A., Poiffait, A., Potus, J., Baret, J. L., and Nicolas, J. 2003. Biochemical factors of importance in the oxygen consumption of unyeasted and yeasted wheat flours during mixing. Pages 303-309 in: Recent advances in

Enzymes in Grain Processing. C. C. Courtin, W. S. Veraverbeke, and J. Delcour, eds. Katholieke Universiteit Leuven: Belgium.
Faubion, J. M., and Hoseney, R. C. 1981. Lipoxygenase: its biochemistry and role in breadmaking. *Cereal Chem.* 58:175-180.
Figueroa-Espinoza, M. C., and Rouau, X. 1998. Oxidative crosslinking of pentosans by a fungal laccase and horseradish peroxidase: Mechanism of linkage between feruloylated arabinoxylans. *Cereal Chem.* 75:259-265.
Figueroa-Espinoza, M. C., Morel, M. H., Surget, A., and Rouau, X. 1999. Oxidative cross-linking of wheat arabinoxylans by manganese peroxidase. Comparison with laccase and horseradish peroxidase. Effect of cysteine and tyrosine on gelation. *J. Sci. Food Agric.* 79:460-463.
Frazier, P. J., Leigh Dugmore, F. A., Daniels, N. W. R., Russell Eggitt, P. W., and Coppock, J. B. M. 1973. The effect of lipoxygenase action on the mechanical development of wheat flour doughs. *J. Sci. Food Agric*. 24:421-436.
Frazier, P. J., Brimblecombe, F. A., Daniels, N. W. R., and Russell Eggitt, P. W. 1977. The effect of lipoxygenase action on the mechanical development of doughs from fat-extracted and reconstituted wheat flour. *J. Sci. Food Agric*. 28:247-254.
Garcia, R., Rakotozafy, L., Telef, N., Potus J., and Nicolas, J. 2002. Oxidation of ferulic acid or arabino-esterified ferulic acid by wheat germ peroxidase. *J. Agric. Food Chem*. 50:3290-3298.
Gelinas, P., Poitras, E., McKinnon, C. M., and Morin, A. 1998. Oxidoreductases and lipases as dough-bleaching agents. *Cereal Chem.* 75:810-814.
Graveland, A. 1970. Enzymatic oxidations of linoleic acid and glycerol-1-monolinoleate in doughs and flour-water suspensions. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 47:352-361.
Grosch, W., and Wieser, H. 1999. Redox reactions in wheat dough as affected by ascorbic acid. *J. Cereal Sci.* 29:1-16.
Hoover, W. 1979. Use of soy proteins in baked goods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56:301-303.
Hoseney, R. C., Rao, H., Faubion, J. M., and Sidhu, J. S. 1980. Mixograph studies. IV. The mechanism by which lipoxygenase increases mixing tolerance. *Cereal Chem.* 57:163-166.
Joye, I. J., Lagrain, B., and Delcour, J. A. 2009. Use of chemical redox agents and exogenous enzymes to modify the protein network during breadmaking. *J. Cereal Sci.* 50:11-21.
Kieffer, R., and Grosch, W. 1980. Verbesserung der Backereigenschaften von weizenmehlen durch typ II-lipoxygenase aus sojabohnen. . *Z. Lebensm. Unters. Forsch*. 170:258-261.
Kim, J. H., Sedlak, M., Gao, Q., Riley, C. P., Regnier, F. E., and Adamec, J. 2010. Oxidative stress studies in yeast with a frataxin mutant: A proteomics perspective. *J. Proteome Res.* 9:730-736.
Launay, B. 1990. A simplified nonlinear model for describing the viscoelastic properties of wheat flour doughs at high shear strain. *Cereal Chem*. 67:25-31.
Levavasseur, L., Rakotozafy, L., Manceau, E., Louarme, L., Robert, H., Baret, J. L., Potus, J., and Nicolas, J. 2006. Discrimination of wheat varieties by simultaneous measurements of oxygen consumption and consistency of flour during mixing. *J. Sci. Food Agric.* 86:1688-1698.
Levavasseur, L. 2007. Suivi simultané de la consommation d'oxygène et de la consistance des pâtes de farine de blé tendre à l'aide d'un pétrin instrumenté (le Sitoxygraphe) : Tentative d'explications biochimiques et rhéologiques. Application à l'ajout de laccase. PhD in Food Science. Paris VII and Paris XI Universities, AgroParisTech, France.
Lineback, D. R., and Rasper, V. F. 1988.Wheat carbohydrates. Pages 277-372 in: Wheat Chemistry and Technology, 3rd ed., Vol. 1 Y. Pomeranz, ED. Am. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, MN.

Luning, P. A., and Roozen, J. P. 1991. Volatile composition of white bread using enzyme active soya flour as improver. *Food Chem.* 41:81-91.
Mann, D. L., and Morrison, W. R. 1974. Changes in wheat lipids during mixing and resting of flour water doughs. *J. Sci. Food Agric.* 25:1109-1119.
Maraschin, C., Robert, H., Boussard, A., Potus, J., Baret, J. L., and Nicolas, J. 2008. Effect of storage temperature and flour water content on lipids, lipoxygenase activity, and oxygen uptake during dough mixing. *Cereal Chem.* 85:372-378.
Martinez-Anaya, M. A., and Jimenez, T. 1998. Physical properties of enzyme supplemented doughs and relationship with bread quality parameters. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 206:134-142.
Mitsuda, H., Yasumoto, K, and Yamamoto, A. 1967. Inactivation of lipoxygenase by hydrogen peroxide, cysteine and other reagents. *Agric. Biol. Chem.* 31:853-860.
Morrison, W. R., and Panpaprai, R. 1975. Oxidation of free and esterified linoleic and linolenic acids in bread doughs by wheat and soybean lipoxygenases. *J. Sci. Food Agric.* 26:1225-1236.
Nicolas, J. 1978. Effets de différents paramètres sur la destruction des pigments caroténoïdes de la farine de blé tendre au cours du pétrissage. *Ann. Technol. Agric.* 27:695-713.
Nicolas, J., Autran, M., and Drapron, R. 1982. Purification and some properties of wheat germ lipoxygenase. *J. Sci. Food Agric.* 33:365-372.
Nicolas, J., and Drapron, R., 1983. Lipoxygenase and some related enzymes in breadmaking. Pages 213-235 in: Lipids in cereal technology. P. J. Barnes, P. J., Ed. Academic Press London, UK.
Nicolas, J., Potus, J., Garcia, R., and Davidou, S. 2009. Enzymes and enzyme inhibitors endogenous to wheat - Oxidoreductases Pages 414-435 in: Wheat Chemistry and Technology. K. Khan and P. R. Shewry, Eds, 4th ed., AACC: St. Paul, MN.
Oudgenoeg, G., Hilhorst, R., Piersma, S. R., Boeriu, C., Gruppen, H., Hessing, M., Voragen, A. G. J., and Laane, C. 2001. Peroxidase mediated cross-linking of a tyrosine containing-peptide with ferulic acid. *J. Agric. Food Chem.* 49:2503-2510.
Oudgenoeg, G., Dirksen, E., Ingenman, S., Hilhorst, R., Gruppen, H., Boeriu, C., Piersma, S. R., Van Berkel, W. J. H. M., Laane, C., and Voragen, A. G. J. 2002. Horseradish peroxidase-catalyzed oligomerization of ferulic acid on a template of a tyrosine-containing tripeptide. *J. Biol. Chem.* 277:21332-21340.
Piber, M., and Koehler, P. 2005. Identification of dehydro-ferulic acid-tyrosine in rye and wheat: Evidence of a covalent cross-link between arabinoxylans and proteins. *J. Agric Food Chem.* 53:5276-5284.
Potus, J., Poiffait, A., and Drapron, R. 1994. Influence of dough-making conditions on the concentration of individual sugars and their utilization during fermentation. *Cereal Chem.* 71:505-508.
Poulsen, C., and Hostrup, P. B. 1998. Purification and characterization of a hexose oxidase with excellent strengthening effects in bread. *Cereal Chem.* 75:51-57.
Primo-Martin, C., Valera, R., and Martinez-Anaya, M. A. 2003. Effect of pentosanase and oxidases on the characteristics of doughs and the glutenin macropolymer (GMP). *J. Agric. Food Chem.* 51:4673-4679.
Qi Si, J., and Drost-Lustenberger, C. 2002. Enzymes for bread, pasta and noodle products. Pages 19-54 in: Enzymes in Food Technology. R. J. Withehurst and B. A. Law, eds. Sheffied Academic Press, Sheffied, UK.
Rakotozafy, L., Mackova, B., Delcros, J. F., Boussard, A., Davidou, S., Potus, J., and Nicolas, J. 1999. Effect of adding exogenous oxidative enzymes on the activity of three endogenous oxidoreductases during mixing of wheat flour dough. *Cereal Chem.* 76:213-218.

Rasiah, I. A., Sutton, K. H., Low, F. L., Lin, H. M., and Gerrard, J. A. 2005. Crosslinking of wheat dough proteins by glucose oxidase and the resulting effects on bread and croissants. *Food Chem.* 89:325-332.
Rosell, C. M., Wang, J., Aja, S., Bean, S., and Lookhart, G. 2003. Wheat flour proteins as affected by transglutaminase and glucose oxidase. *Cereal Chem.* 80:52-55.
Tait, S. P. C., and Galliard, T. 1988. Oxidation of linoleic acid in doughs and aqueous suspensions of wholemeal flours: Effect of storage. *J. Cereal Sci.* 8:55-67.
Tilley, K. A., Benjamin, R. E., Bagorogoza, K. E., Okot-Kotber, B. M., Prakash, O., and Kwen, H. 2001. Tyrosine cross-links: molecular basis of gluten structure and function. *J. Agric. Food Chem.* 49:2627-2632.
Van Ruth, S. M., Roozen, J. P., and Moest, R. A. F. J. 1992. Effect of storage of a soya-containing bread-improver on lipoxygenase activity, bleaching action and composition of volatiles in bread. *Lebensm. Wiss. u. Technol.* 25:1-5.
Vemulapalli, V., and Hoseney, R. C. 1998. Glucose oxidase effects on gluten and water solubles. *Cereal Chem.* 75:859-862.
Vemulapalli, V., Miller, K. A., and Hoseney, R. C. 1998. Glucose oxidase in breadmaking systems. *Cereal Chem.* 75:439-442.
Whitaker, J. R. 1985. Mechanisms of oxidoreductases important in food modification. Pages 121-176 in: Chemical Changes in Food during processing. T. Richardson and J. W. Finley, Eds. Avi Publishing Co., Westport, CO.
Whitaker, J. R. 1991. Lipoxygenases. Pages 175-215 in: Oxidative enzymes in foods. D. S. Robinson and N. A. M. Eskin, Eds. Elsevier Appl. Sci. Chem., London, UK.
Wikström, K., and Eliassson, A. C. 1998. Effects of enzymes and oxidizing agents on shear stress relaxation of wheat flour dough: Additions of protease, glucose oxidase, ascorbic acid and potassium bromate. *Cereal Chem.* 75:331-337.

Fig. 1. Enzymatic reactions involved in the consumption of oxygen during dough mixing. PSH = thiol in protein, PSSP = disulfide bridge in protein, P-Tyr = tyrosine in protein, P-Tyr-Tyr-P = Dityrosine bridge in protein, AXA-FA = ferulic acid in arabinoxylan, AXA-FA-FA-AXA = diferulate bridge in arabinoxylan, P-Tyr-FA-AXA = crosslink between P-Tyr and AXA-FA.

Fig. 2. Evolution of pressure during mixing of wheat flour dough in the Consistograph. The important parameters obtained from this curve are indicated on the figure.

Fig. 3. Compression-relaxation curve of wheat flour dough obtained with the Texture analyzer. The important parameters obtained from this curve are indicated on the figure.

Fig. 4. Changes in rheological properties of wheat flour A determined with the Consistograph following the addition of GOX, horse bean flour (HB) and soybean flour (SB) (Tolerance [A], TPr_{max} [B], D_{450} [C], and Pr_{480} [D]). Error bars show standard deviation and different letters indicate significant different values ($P < 0.05$).

Fig. 5. Changes in rheological properties of wheat flour B determined with the Texture analyzer following the addition of GOX, horse bean flour (HB) and soybean flour (SB) (F_0 [A], RI [B], and $1/\alpha$ [C]). Error bars show standard deviation and different letters indicate significant different values ($P < 0.05$).

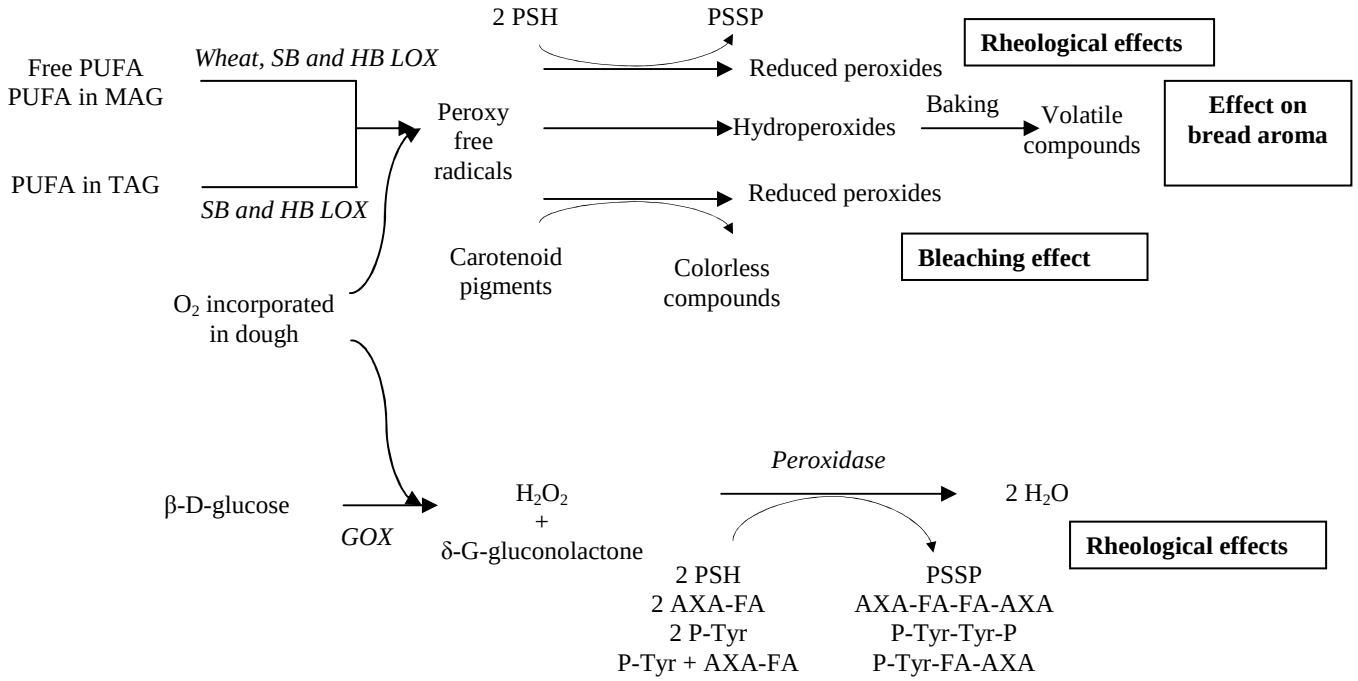

2 PSH
PSSP
Rheological effects
Free PUFA
PUFA in MAG
Wheat, SB and HB LOX
Reduced peroxides
Peroxy free radicals
Hydroperoxides
Baking
Volatile compounds
Effect on bread aroma
PUFA in TAG
SB and HB LOX
Reduced peroxides
Carotenoid pigments
Colorless compounds
Bleaching effect
O2 incorporated in dough
Peroxidase
β-D-glucose
GOX
H2O2 + δ-G-gluconolactone
2 H2O
Rheological effects
2 PSH
2 AXA-FA
2 P-Tyr
P-Tyr + AXA-FA
PSSP
AXA-FA-FA-AXA
P-Tyr-Tyr-P
P-Tyr-FA-AXA

Fig. 1

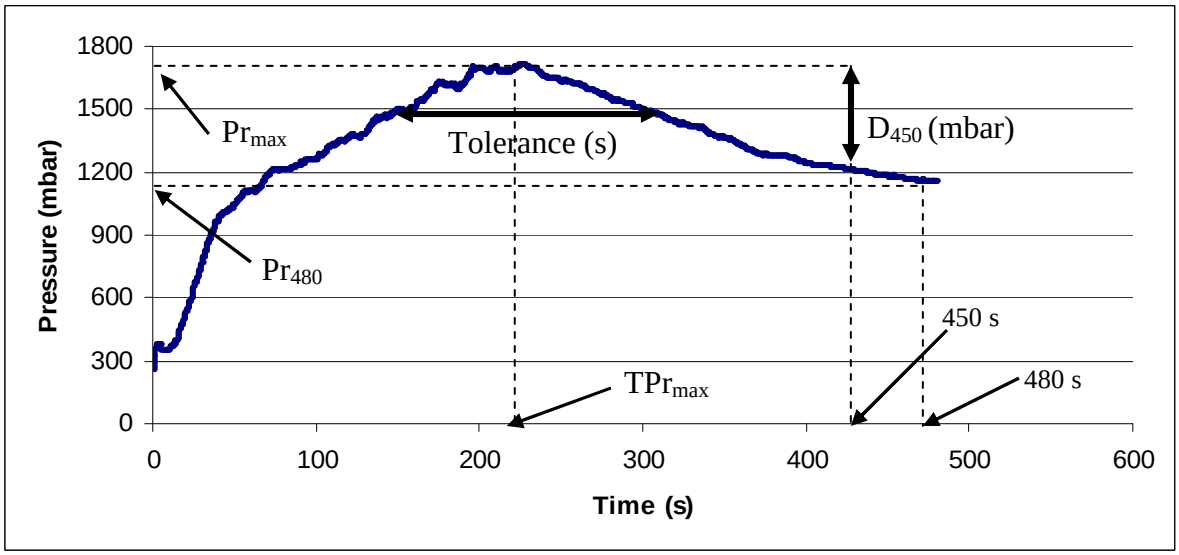

1800
1500
1200
900
600
300
0
Pressure (mbar)
Prmax
Tolerance (s)
D450 (mbar)
Pr480
450 s
480 s
TPrmax
0
100
200
300
400
500
600
Time (s)

Fig. 2

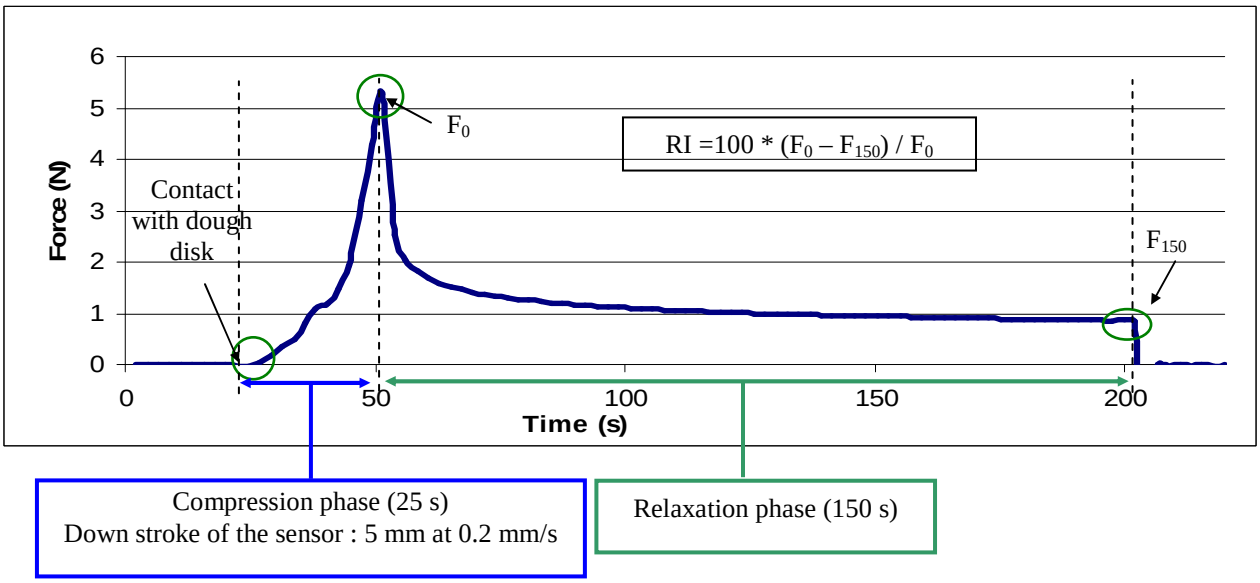

6
5
4
3
2
1
0
Force (N)
F0
RI =100 * (F0 – F150) / F0
Contact with dough disk
F150
0
50
100
150
200
Time (s)
Compression phase (25 s)
Down stroke of the sensor : 5 mm at 0.2 mm/s
Relaxation phase (150 s)

Fig. 3

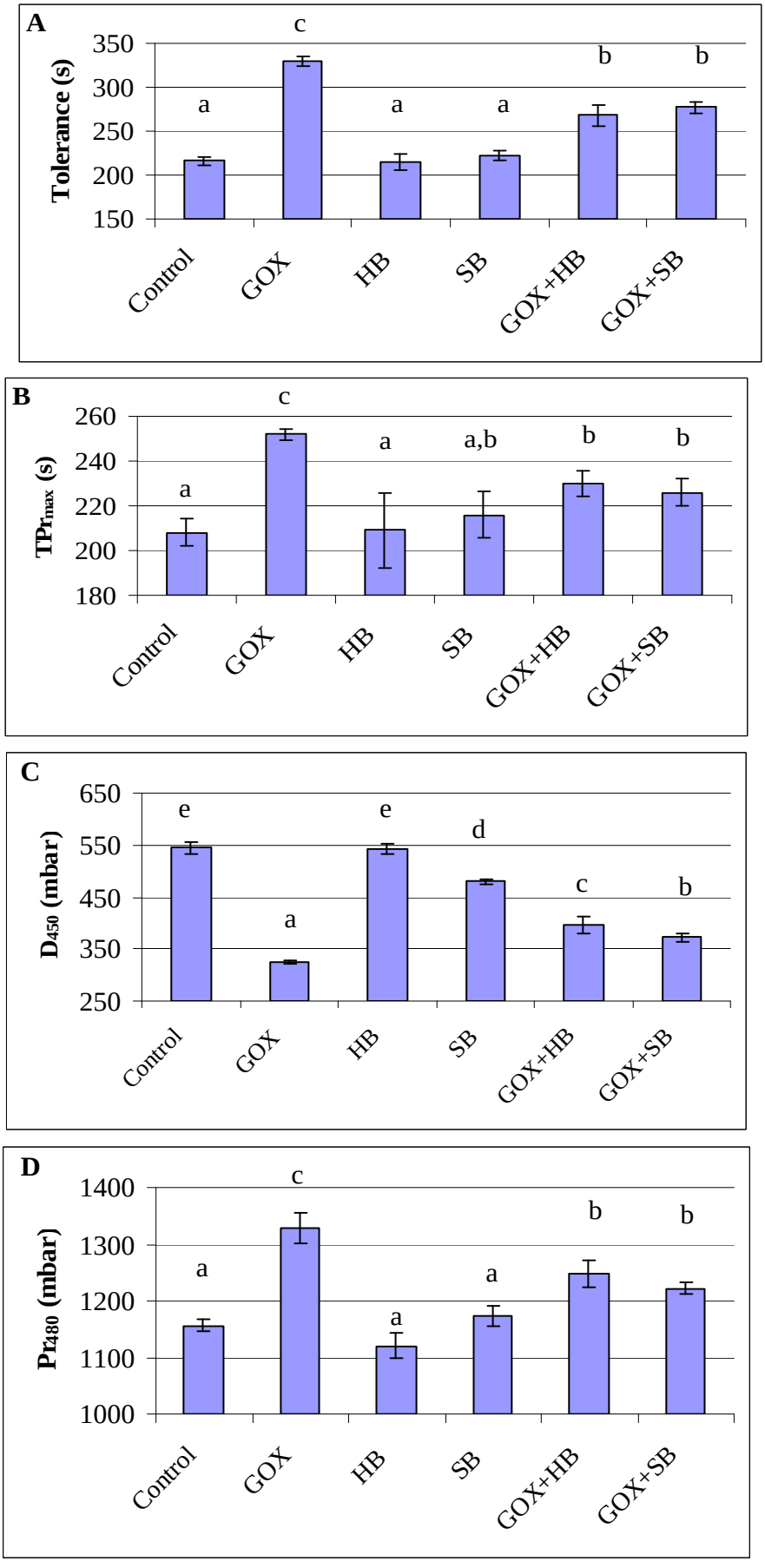

A
Tolerance (s)
350
300
250
200
150
a
c
a
a
b
b
Control
GOX
HB
SB
GOX+HB
GOX+SB
B
TPrmax (s)
260
240
220
200
180
a
c
a
a,b
b
b
Control
GOX
HB
SB
GOX+HB
GOX+SB
C
D450 (mbar)
650
550
450
350
250
e
a
e
d
c
b
Control
GOX
HB
SB
GOX+HB
GOX+SB
D
Pr480 (mbar)
1400
1300
1200
1100
1000
a
c
a
a
b
b
Control
GOX
HB
SB
GOX+HB
GOX+SB

Fig. 4

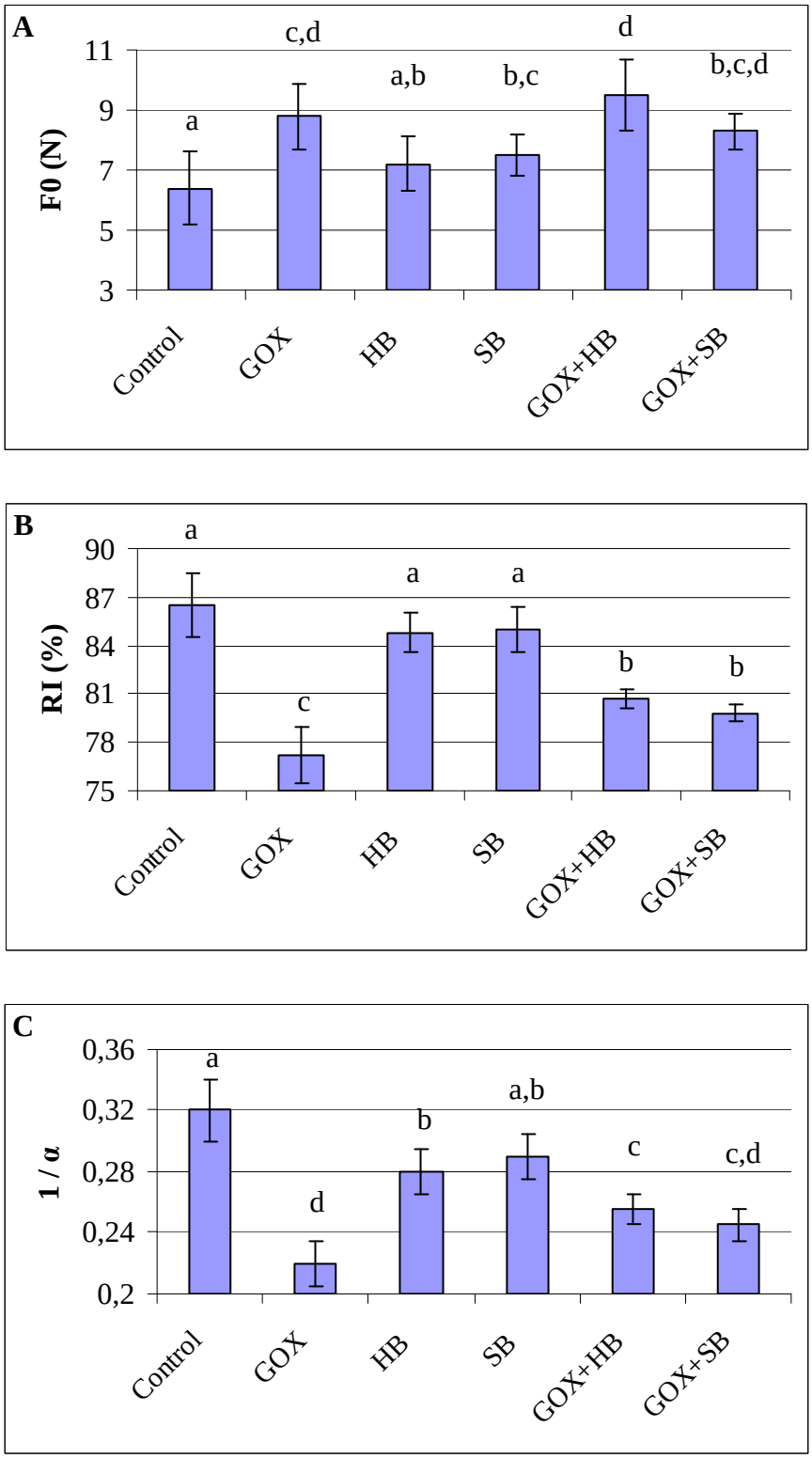

A
F0 (N)
11
9
7
5
3
a
c,d
a,b
b,c
d
b,c,d
Control
GOX
HB
SB
GOX+HB
GOX+SB
B
RI (%)
90
87
84
81
78
75
a
c
a
a
b
b
Control
GOX
HB
SB
GOX+HB
GOX+SB
C
1 / α
0,36
0,32
0,28
0,24
0,2
a
d
b
a,b
c
c,d
Control
GOX
HB
SB
GOX+HB
GOX+SB

Fig. 5

Table I

Moisture content (% of wet flour), protein content (% of dry flour), ash content (% of dry flour), lipoxygenase (LOX) activity (nkat.g^{-1} of dry flour) and lipid content (µmoles of fatty acids per g of dry flour) of the flours used in this study[a]

	Wheat flour A	Wheat flour B	Horse bean flour	Soybean flour
H_2O	14	14	11.2	8.5
Protein	10.5	10.3	31.8	40
Ash	0.59	0.58	3.6	5.5
LOX activity	73 ± 4	65 ± 2	2600 ± 85	3400 ± 95 (pH 9) 2520 ± 75 (pH 6.5)
TAG	21.2 ± 1.5 (14.3)[b]	16.8 ± 1.4 (11.2)	34.4 ± 2 (21.9)	793 ± 20 (11.2)
DAG1,2	1.11 ± 0.2 (0.67)	1.13 ± 0.2 (0.67)	-	-
DAG1,3	0.69 ± 0.08 (0.43)	0.88 ± 0.1 (0.52)	-	-
MAG	0.44 ± 0.07 (0.26)	0.54 ± 0.1 (0.28)	-	-
FFA	3.24 ± 0.13 (2.13)	6.10 ± 0.33 (3.91)	2.13 ± 0.3 (1.05)	45.6 ± 1.5 (25.6)

[a]LOX activity and lipid content were determined using methods described by Maraschin et al (2008).

[b]Figures between brackets give the PUFA levels (µmol.g^{-1} of dry flour) in the different lipid fractions.

Table II

Formulation of dough

Composition of 100 g of wet flour			Ingredients added to 100 g of wet flour			
Wheat flour	Horse bean flour	Soy bean flour	Dry yeast (g)	Distillated water (g)	Salt (g)	GOX activity (nkat)
100	0	0	1.0	60	1.8	0 or 590[a]
99.5	0	0.5				
99	1	0				

[a]590 nkat corresponds to 3.2 mg.

Table III

Effect of the presence of GOX, HB flour and SB flour on the oxygen uptake of yeasted dough after 15 min of mixing (2 min at 30 rpm followed by 13 min at 60 rpm)[a]

	Flour A	Flour B
Yeasted dough characteristics	O_2 uptake ($\mu mol.g^{-1}$ dry flour)	O_2 uptake ($\mu mol.g^{-1}$ dry flour)
Control[b]	4.72 ± 0.17a	5.25 ± 0.14a
GOX	5.82 ± 0.24b	5.45 ± 0.13b
HB flour	5.82 ± 0.23b	6.23 ± 0.04c
SB flour	5.85 ± 0.28b	6.30 ± 0.03c
GOX + HB flour	6.15 ± 0.12c	6.30 ± 0.06c
GOX + SB flour	6.26 ± 0.17c	6.21 ± 0.08c

[a]Values followed by different letters within a column are statistically significantly different ($P < 0.05$).

[b]O_2 uptake by unyeasted control dough were 3.42 ± 0.11 and 4.96 ± 0.15 µmol O_2 per g of dry flour for flour A and flour B respectively.

LISTE DES PUBLICATIONS

- Revue internationale à comité de lecture :

F. Buche, S. Davidou, M. Pommet, J. Potus, J. Rouillé, F. Verté, J. Nicolas. 2011. Competition for oxygen among oxidative systems during bread dough mixing. Consequences of addition of glucose oxidase and lipoxygenase on yeasted dough rheology. *Cereal chem*. 88, Sous presse.

- Revue nationale à comité de lecture :

Bertand L., Rakotozafy L., Buche F., Piedeloup A.L., Verté F., Potus J., Nicolas J. 2010. Étude de l'activité de carbohydrates oxydases en milieux modèles et dans la pâte pétrie avec le sitoxygraphe. *Industrie des Céréales* n°168, p 15-17

Boussard A., Buche F., Moulin G., Néron S., Potus J., Nicolas J. 2010. Impact de la teneur en lipides d'une farine de blé sur leur oxydation au cours du pétrissage. Influence de la lipoxygénase de fève ou de soja. *Industrie des Céréales* n°169, p 5-8

Boussard A., Moulin G., Buche F., Néron S., Potus J. et Nicolas J. Effet comparé des lipoxygénases de blé fève ou soja sur l'oxydation des pigments caroténoïdes et la production des oxylipides. *Industrie des Céréales* n°167, p 09-11

Moulin G., Buche F., Potus J., Nicolas J. 2009. Influence de la formulation des pâtes (levure, glucose oxydase) sur la consommation d'oxygène et sur l'oxydation des acides gras oxydables. *Industrie des Céréales* n°164, p 10-14

Rakotozafy L., Buche F., Potus J., Nicolas J.. 2009. Effet de l'addition de levure et de glucose oxydase sur les dérivés cinnamiques contenus dans les fractions solubles et insolubles de pâtes de farine de blé. *Industrie des Céréales* n°164, p 17-22

Posters : :

Boussard A., Buche F., Moulin G., Néron S., Potus J. et Nicolas J. Impact de la teneur en lipides d'une farine sur leur oxydation au cours du pétrissage de pâtes de farine de blé en présence de lipoxygénase de fève ou de soja. Journées techniques des industries céréalières 2009, Reims.

Bertrand L., Rakotozafy L., Buche F., Piedeloup A. L., Verté F., Potus J., Nicolas J.. Etude de l'activité de carbohydrates oxydases en milieux modèles et dans la pâte au cours du pétrissage (sitoxygraphe) . Journées techniques des industries céréalières 2009, Reims.

Buche F., Davidou S., Pommet M., Potus J. et Jacques Nicolas J.. Compétitions pour l'utilisation de l'oxygène pendant le pétrissage illustrées par des formulations de pâtes boulangères et leurs conséquences rhéologiques. Journées de la formulation 2009, Paris.

Buche F., Neron S., Moulin G., Pommet M., Potus J., Nicolas J.. Prévision de l'efficacité de la farine de fève ou de soja par la mesure de l'oxygène à l'aide du sitoxygraphe. Journées techniques des industries céréalières 2008, Paris.

Rakotozafy L., Buche F., Boussard A., Moulin G., Potus J. and Nicolas J. .Influence of the yeast and / or of the glucose oxidase on the properties of the wheat flour dough : a principal component analysis. Chimiométrie 2009, Paris.

Résumé

Le pétrissage et la fermentation des pâtes constituent deux étapes clé de la panification. Lors du pétrissage, l'oxygène incorporé à la pâte alimente en substrat oxydant les réactions d'oxydation, pour la plupart enzymatiques, conduisant au développement des réseaux de gluten et d'arabinoxylanes donnant à la pâte ses propriétés viscoélastiques et son aptitude à la rétention gazeuse. Lors de la fermentation, la production de dioxyde de carbone par la levure conditionne la levée du pâton. Un pétrin-fermenteur étanche, le sitoxygraphe, a été utilisé pour quantifier, à tout instant au cours du pétrissage et de la fermentation, la consommation d'oxygène et la production de dioxyde de carbone en distinguant la part de CO_2 qui est retenue par la pâte de celle qui apparaît dans la phase gazeuse.
Une modification de la formulation de la pâte de farine de blé – par l'ajout, seul ou en mélange, de levure, d'oses oxydases, de farine de fève ou de soja, de lipases – augmente sa consommation d'oxygène, et affecte sa teneur en acides gras polyinsaturés, son état d'agrégation des protéines et ses propriétés rhéologiques. Il existe, par exemple, une compétition pour l'utilisation de l'oxygène entre la levure, qui respire durant le pétrissage, et les oxydoréductases endogènes ou exogènes. Elle se traduit par une diminution des effets biochimiques et rhéologiques des oxydoréductases exogènes. L'utilisation d'atmosphères enrichies en oxygène en début de pétrissage devrait permettre de limiter ces compétitions et donc d'amplifier l'activité des oxydoréductases exogènes.

Mots-clés : acide gras polyinsaturé ; atmosphère modifiée ; blé ; enzyme ; farine ; fermentation ; fève ; glucose oxydase ; levure ; lipoxygénase ; oxydoréductase ; oxydoréduction ; oxygène ; pâte ; pétrissage ; rhéologie ; soja.

Abstract

Kneading and fermentation of dough are two key steps in bread making. During kneading, incorporated oxygen into dough supplies in oxidizing substrate oxidation reactions, most of them are enzymatic, leading to the development of gluten and arabinoxylans networks giving dough viscoelastic properties and its ability to gas retention. During fermentation, the production of carbon dioxide by yeast determines the volume increase of the dough. An airtight knerder-fermenter, the sitoxygraphe, has been used to quantify, at any moment during of kneading and fermentation, oxygen consumption and carbon dioxide production by distinguishing the part of CO_2 that is retained by dough from that which appears in the gas phase.
A modification of dough formulation prepared with wheat flour - by adding one or a mix of, yeast, oses oxidases, horse bean or soybean flour, lipases - increases oxygen consumption and affects its content of polyunsaturated fatty acids, its protein aggregation and its rheological properties. For example, there is a competition for the use of oxygen between the yeast, which breathes during kneading and endogenous or exogenous oxidoreductases. It results in a decrease of rheological and biochemical effects of exogenous oxidoreductases. The use of atmospheres enriched with oxygen at the beginning of kneading should allow limiting these competitions and amplifying exogenous oxidoreductases activity.

Key words: polyunsaturated fatty acids; bread improvers; modified atmosphere ; fermentation; flour; horsebean; glucose oxidase; yeast; lipoxygenase; oxygen consumption ; dough ; kneading; rheological properties; soybean.