

INTRODUCTION

www.ExoCo-LMD.com

Manger est une nécessité car notre organisme est formé d'un ensemble de 60 000 milliards de cellules dont les besoins en nourriture sont permanents ; mais l'acte de manger va bien au-delà de la simple couverture des besoins nutritionnels. Les aliments que nous ingérons fourniront donc les constituants nutritifs aux cellules (nutriments énergétiques, plastiques, indispensables) mais également des substances non nutritives bénéfiques (ex. : agents d'arômes) ou parfois indésirables (substances toxiques et/ou contaminants).

Les aliments sont des produits d'origine agricole et industrielle dont la consommation sert à couvrir les besoins nutritionnels.

L'examen de la composition atomique du corps humain montre qu'une douzaine d'éléments (H, O, C, N, Ca, P, K, S, Na, Cl, Mg, Fe), parmi la centaine des éléments naturels, représentent l'essentiel (99,9 %). Parmi ceux-ci, l'hydrogène, l'oxygène, le carbone et l'azote, éléments de masse atomique peu élevée, constituent 99 % des atomes de l'organisme et participent à l'édification des molécules d'eau et des constituants organiques : glucides, lipides, protides et acides nucléiques (tableau 1). En réalité, une trentaine d'éléments sont quand même indispensables pour maintenir la structure et permettre un bon fonctionnement de l'organisme ; mais un grand nombre ne sont nécessaires qu'à l'état de traces (notion d'oligoéléments).

Tableau 1 – Principaux groupes de composants chimiques du corps humain

Groupes de substances	% en masse
Eau	65
Sels minéraux	5
Glucides	1
Lipides	12
Protides	15
Acides nucléiques	2

Les nutriments sont des substances simples résultant pour la plupart de la dégradation (hydrolyse simplificatrice) des molécules alimentaires relativement complexes. Les nutriments seuls sont à même de subir l'absorption intestinale (véritable pénétration dans l'organisme) et seront véhiculés à travers le milieu intérieur jusqu'aux cellules de l'organisme pour y être utilisés. Au niveau cellulaire, les nutriments auront une fonction biochimique particulière pour renouveler et/ou faire fonctionner la matière vivante.

Les produits alimentaires sont en réalité des mélanges complexes de substances nombreuses et variées provenant du milieu extérieur dont certains composants sont intégrés à l'organisme pour l'édifier, l'entretenir et/ou le faire fonctionner. Leur analyse immédiate permettra de distinguer entre l'inorganique et l'organique. L'étude réalisée ici se limitera à l'approche biologique et physiologique des aliments en ne considérant que les substances nutritionnelles.

www.ExoCo-LMD.com

Chapitre I. L'eau

I.1. Généralités

L'eau est le constituant majeur de la plupart des aliments. Bien qu'elle n'apporte aucune valeur énergétique aux aliments, son existence joue un rôle très important. Elle influence la structure, l'apparence, le goût des aliments et leur susceptibilité à la dégradation.

La teneur en eau des aliments est très variable : 10 à 20% dans les céréales, 60 à 75% dans les viandes et chairs d'animaux, 80 à 90% dans les fruits et légumes frais.

Tableau 2: Teneur en eau de certains aliments

Aliments	Teneur en eau (%)
Viandes de bœuf	50 à 70
Viande de poulet	74
Poisson	65 à 81
Poires	80 à 85
Pommes, pêches, oranges	85 à 90
Tomates, fraises	90 à 95
Avocat, banane	74 à 80
Carotte, pomme de terre	80 à 90
Laitue, lentilles	90 à 95
Miel	20
Confiture	28
Farine, riz	12
Poudre de lait	4

La connaissance de la teneur en eau des produits alimentaires est souvent nécessaire et ce pour :

- **Nécessité technologique** : La connaissance de la teneur en eau de l'aliments est nécessaire pour la conduite rationnelle des opérations de récolte, de séchage, de stockage ou de transformation industriel. C'est un paramètre essentiel pour l'évaluation et la maîtrise des risques d'altération pendant l'entreposage des denrées alimentaires.

- **Nécessité réglementaire** : Dans le cas où des textes réglementaires fixent la teneur limite en eau de certains aliments pour des raisons d'hygiène ou pour garantir la loyauté des transactions commerciale.

- **Nécessité contractuelle** : Dans le cas où des contrats commercial exigent une teneur limite en eau dans un aliment.

- **Nécessité analytique** : Les résultats d'analyse des produits alimentaires sont souvent exprimés par rapport à une base fixe (matière sèche ou teneur en eau standard).

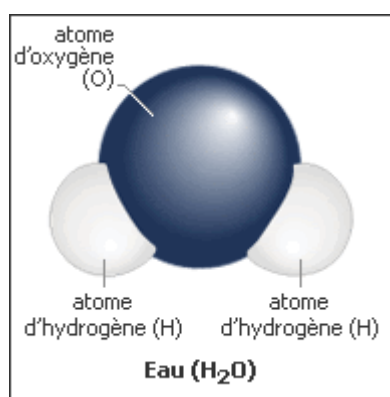
I.1. Structures de l'eau

L'eau (H_2O) formée de trois atomes n'est pas une molécule linéaire mais en forme de V (angle de 105° avec O à la pointe du V). Cette configuration angulaire ainsi que la forte électronégativité de l'O font que la molécule se présente sous la forme d'un **double dipôle électrique** ; ainsi s'expliquent les propriétés remarquables de l'eau. Dans l'eau liquide, les dipôles interagissent par l'intermédiaire de liaisons hydrogène : l'eau est un solvant polaire

dont l'importance est considérable pour la solubilisation et l'organisation des molécules au sein de la matière vivante.

Les substances ioniques et polaires sont très solubles dans l'eau. Elles sont dites **hydrophiles** ; c'est le cas par exemple pour le chlorure de sodium et les sucres (glucose, saccharose).

Les substances non polaires sont insolubles dans l'eau. Il se produit donc un phénomène d'exclusion, par rapport à l'environnement aqueux, de ces substances qui ont tendance à s'agréger entre elles. On qualifie d'effet **hydrophobe** ce phénomène dont l'importance biologique est considérable : le repliement des protéines ainsi que l'assemblage des phospholipides dans les membranes biologiques en sont la conséquence.



I.3. Propriétés fonctionnelles de l'eau dans les aliments

L'eau a trois fonctions principales dans les aliments. Ces fonctions sont :

- Fonction de solubilisation (ou dispersion) : L'eau dans les aliments est le solvant des constituants hydrophiles.
- Fonction de structuration : L'eau joue un rôle essentiel dans la configuration des macromolécules alimentaires, notamment les protéines et les glucides. L'eau détermine également la structuration de certains constituants en micelle. C'est le cas, par exemple, des caséines dans le lait.
- Fonction de mobilisation : L'eau, par rapport aux autres fluides, est le facteur de mobilité le plus répandu dans les produits alimentaires.

I.4. Propriétés physiques et physico-chimiques de l'eau

Parmi les propriétés physiques et physico-chimiques de l'eau, certaines concernent plus spécialement les changements d'état et les transferts de chaleur et de matière : telles sont, par exemple, la chaleur spécifique, la chaleur latente de fusion, la chaleur latente de vaporisation, la conductibilité thermique, la viscosité ; elles sont importantes pour des opérations telles que la cuisson, la stérilisation, la concentration, la déshydratation et la congélation.

D'autres propriétés ont trait à l'eau agissant surtout comme solvant : constante diélectrique, moment dipolaire (moment dipolaire élevé des molécules d'eau entraîne un abaissement de l'attraction entre des particules de solutés de charges électriques opposées et facilite ainsi la dissolution de ces particules), tension superficielle. L'eau est en effet tout d'abord un solvant pour de nombreux espèces chimiques, qui peuvent y diffuser et régir entre elles ; de son côté l'eau peut elle-même diffuser, et participer à des réactions variées,

hydrolyses notamment. L'introduction dans l'eau d'espèces chimiques diverses, en solution ou en suspension colloïdale, crée aussi des propriétés dites colligatives qui dépendent du nombre de molécules présentes ; il en est ainsi par exemple de l'abaissement du point de vue d'ébullition, de l'abaissement du point de congélation, de l'abaissement de la tension superficielle, de l'augmentation de la viscosité, de l'établissement de gradient de pression osmotique au travers des membranes semi-perméables.

I.5. Expression de la quantité de l'eau dans les aliments

I.5.1. Teneur en eau

La teneur en eau, ou l'humidité, d'un aliment est la quantité d'eau perdue par la substance lorsqu'on l'amène en équilibre vrai avec une pression de vapeur nulle (Humidité relative égale à 0%). La quantité d'eau perdue est constituée de l'eau fixée par des liaisons hydrogène (eau de sorption, eau retenue par effet capillaire ou osmotique, eau des solutions, eau occluse dans des mailles cristalline et eau de cristallisation (hydrate); l'eau chimiquement liée par des liaisons covalente est exclue.

La teneur en eau d'un échantillon d'aliment s'exprime en % de la masse d'eau rapportée, soit à la masse de matière sèche contenue dans l'échantillon soit à la masse totale de la matière humide de l'échantillon.

I.5.2. Activité de l'eau

L'activité de l'eau (a_w) indique la disponibilité de l'eau d'un milieu pour des réactions chimiques, biochimiques, un changement d'état ou un transfert au travers d'une membrane semi perméable.

L'activité de l'eau (a_w) correspond au rapport entre la pression de vapeur d'eau de l'aliment (pression de vapeur d'eau à la surface du produit) et la pression de vapeur de l'eau pure à la même température θ° .

$$a_w = \frac{\text{pression partielle de l'eau dans l'aliment à } \theta^\circ}{\text{pression partielle de l'eau pure à } \theta^\circ}$$

La valeur de l'activité varie entre 0 (produit sec au point que toute l'eau est liée à l'aliment, et donc sans qualité réactive) et 1 (eau pure et sans soluté, difficile à atteindre et surtout à maintenir).

L' a_w d'une solution peut être calculée par la formule de RAOULT :

$$a_w = n_1 / (n_1 + n_2)$$

n_1 = nombre de moles du solvant (eau).

n_2 = nombre de moles de la soluté.

Le tableau ci-dessous donne la valeur de l' a_w de solutions de différentes concentrations de NaCl et de saccharose mesurée à 25 °C.

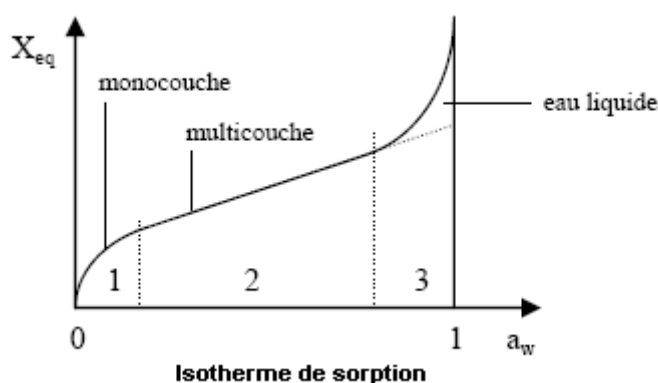
L'activité de l'eau d'un aliment dépend de la température. Un changement de 10°C peut causer un changement dans l' a_w de 0,03 à 0,2 dépendant du type du produit. Ainsi, la modification de la température peut avoir un effet sur la stabilité d'un produit et joue un rôle important dans la conservation d'un produit dans un emballage hermétique.

Tableau 3 : A_w de solution de NaCl et de saccharose (Concentration en g/100 g d'eau, a_w mesurée à 25°C)

A_w	NaCl	Saccharose
0,99	1,75	11
0,96	7,01	25
0,94	10,34	93
0,92	13,5	120
0,90	16,5	144
0,85	23,6	208

I.5.3. Relation entre la teneur en eau et l'activité de l'eau

A l'équilibre, la relation entre la teneur en eau et l'activité de l'eau (a_w) d'un produit alimentaire à une température constante peut être représentée par une courbe appelée **isotherme de sorption**. Pour chaque valeur de a_w , l'isotherme donne la teneur en eau (X_{eq}) du produit à une température donnée.



Les isothermes de sorption sont divisés en trois zones :

- Zone 1 ($a_w < 0,3$) : correspond à l'eau « fortement liée », dite aussi « de constitution ». L'eau est intimement liée aux composants biochimiques par des liaisons covalentes et ne peut être séparée que par des techniques très sévères. Cette eau n'est pratiquement pas disponible comme solvant ou réactif et correspond à la première couche (monocouche) qui entoure la matière sèche de l'aliments.

- Zone 2 ($0,3 < a_w < 0,7$) : correspond à l'eau « faiblement liée », sous forme de couches polymoléculaires (multicouche) recouvrant partiellement la surface du substrat sec. Bien qu'elle soit aussi disponible tant comme solvant que réactif, elle est moyennement réactive.

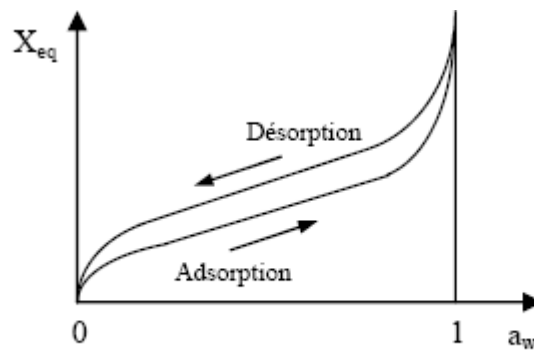
- Zone 3 ($a_w > 0,7$) : correspond à l'eau « libre » ou « eau liquide » qui n'est retenue à la surface du substrat sec que par des liaisons hydrogène. Cette eau est disponible tant comme solvant que réactif. C'est uniquement sous cette forme que l'eau est utilisée par les microorganismes et peut permettre les réactions enzymatiques.

On distingue deux types d'**isothermes de sorption** :

- **Isotherme d'adsorption** si elle a été déterminée expérimentalement en partant d'un produit sec.

- **Isotherme de désorption** si elle a été déterminée expérimentalement en partant d'un produit saturé en eau.

Les deux courbes sont en général différentes car le séchage d'un produit entraîne des modifications de structure et de porosité irréversibles.



Isothermes d'adsorption et de désorption

I.6. Influence de la composition et de l'état physique de l'aliment sur la fixation de l'eau.

La fixation de l'eau et l'allure des isothermes d'adsorption varient considérablement d'un aliment à l'autre. L'isotherme est d'ailleurs la résultante du comportement des divers constituants chimiques de l'aliment vis-à-vis de l'eau.

Ainsi protéines et amidons retiennent davantage d'eau dans la région inférieure des isothermes que les lipides et les substances cristallines, sucres par exemple. Les fruits déshydratés, riches en sucres, sont particulièrement hygroscopiques, mais seulement au dessus d'une certaine humidité relative.

L'état physique cristallin, amorphe ou intermédiaire lequel se trouvent les réseaux de molécules, influence notablement la rétention d'eau. Cet état physique dépend en grande partie des traitements technologiques, et la conduite des opérations de déshydratation, de congélation, etc., peut entraîner des variations des isothermes des produits déshydratés, lyophilisés, etc.

La granulométrie des matériaux influence aussi la rétention d'eau.

Un chauffage préalable modifie beaucoup l'adsorption de l'eau dans le cas des amidons, du fait de la gélatinisation, transformation d'un réseau cristallin, imperméable à l'eau, en état amorphe.

Des changements de pH et de force ionique influencent la rétention d'eau des aliments protéiques. En effet des interactions électrostatiques adéquates entre chaîne protéiques sont responsables de la formation de gels gonflés d'eau. Si les chaînes protéiques se rapprochent les unes des autres, de l'eau adsorbée et surtout « libre » sera expulsée, et pourra s'écouler ou s'évaporer (cas de la viande). Le minimum de rétention d'eau se situe au pH isoélectrique ; à des valeurs plus extrêmes de pH, les chaînes protéiques portent des charges électriques identiques et se repoussent. Le gonflement du tissu augmente, ainsi d'ailleurs que la tendreté, dans le cas de la viande.

Les sucres aussi peuvent être responsables de détérioration physique, ou rhéologique, des aliments ; ils posent en effet un problème difficile en raison du passage de la forme amorphe, hygroscopique, à la forme cristalline ; au-dessus d'une certaine teneur en eau, la forme amorphe, instable, cristallise et relâche de l'eau.

Cette transition peut se produire rapidement, aux températures habituelles, pendant l'entreposage, par suite de l'adsorption d'eau. Aussi cette transformation peut être influencée

par l'humidité relative. Elle est aussi plus rapide lorsque la température s'élève. Le passage de la forme amorphe à la forme cristalline est évalué d'après la durée de vie de la forme amorphe ; voici par exemple des mesures se rapportant à du saccharose amorphe sec à 25°C.

Tableau 4: Durée de vie de la forme amorphe du saccharose à diverses humidités relatives.

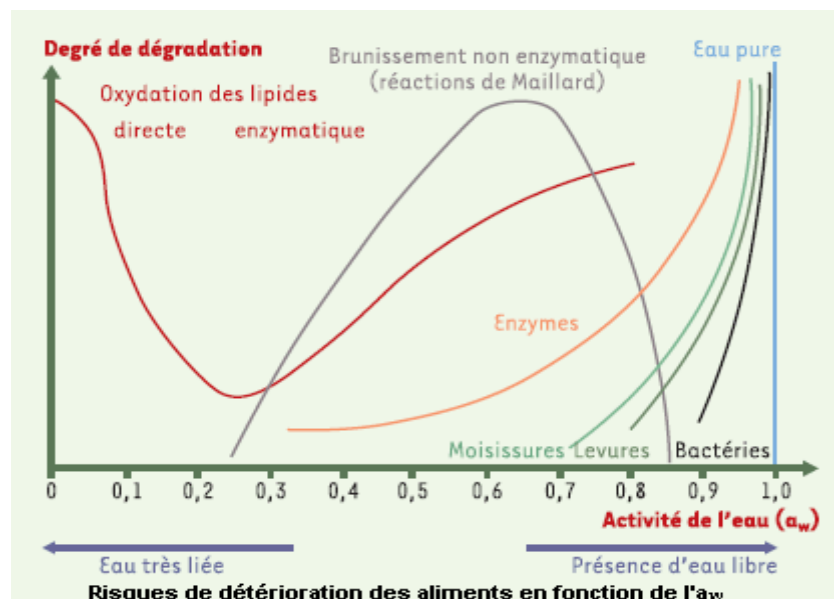
Humidité relative (%)	Teneur maximum en eau de la forme amorphe (%)	Durée de vie de la forme amorphe
16	2.8	380
24	4.1	58
28	5.1	17

L'eau libérée par cette transformation peut dissoudre les molécules externes de saccharose, et faire cristalliser les molécules plus internes.

Suite PAGE 22

I.7. Activité de l'eau et réactions de détérioration des aliments.

L'importance de l'activité de l'eau pour la stabilité des denrées alimentaires lors des traitements et de l'entreposage est illustrée de manière très évidente ci-après. D'une manière générale, une stabilité optimale est obtenue lorsque l' a_w est située entre 0,2 et 0,3.



I.7.1. Activité de l'eau et les réactions d'oxydation

Le rancissement est une des principales réactions de détérioration des aliments à faible ou moyenne teneur en eau ; elle s'observe même pour des activités d'eau comprises entre 0 et 0,2 environ (courbe en rouge).

L'oxydation des lipides constitue souvent le facteur limitant de la conservation de certains aliments déshydratés ou à teneur moyenne en eau, l'addition d'anti-oxydants ou une élévation de la teneur en eau peut modifier ces données et aboutir à faire dépendre la stabilité d'autres réactions d'altérations en particulier le brunissement non enzymatique.

I.7.2. Activité de l'eau et le brunissement non enzymatique

La vitesse de brunissement non enzymatique augmente rapidement avec l'activité de l'eau et atteint un maximum à des activités comprises entre 0,5 et 0,7 (courbe en gris). Au delà de ces valeurs, la vitesse de cette réaction diminue.

Tout comme l'oxydation des lipides, le BNE est souvent le facteur limitant de la conservation des aliments à teneur moyenne en eau. C'est aussi une réaction de détérioration gênante lors des opérations de déshydratation où il faut s'efforcer de traverser la zone critique le plus rapidement possible et à une température minimale.

I.7.3. Activité de l'eau et le brunissement enzymatique

L'activité enzymatique (courbe en orange) et le taux final d'hydrolyse s'élèvent considérablement lorsque l'activité de l'eau dépasse 0,7.

Du fait des activités enzymatiques indésirables qui peuvent avoir lieu lors de l'entreposage des aliments même à l'état déshydraté ou congelé, on pratique généralement un blanchiment avant la déshydratation ou la congélation qui a pour but principal la destruction des enzymes.

I.7.4. Activité de l'eau et les activités microbiennes

La croissance des bactéries (courbe en noir) est généralement impossible lorsque $a_w < 0,90$. Les moisissures et les levures (courbes en vert clair et vert foncé) sont inhibés respectivement vers une a_w de 0,7 et 0,8 sauf certaines moisissures et levures osmophiles qui peuvent se développer jusqu'à des a_w de 0,6. Dans la plupart des cas, l' a_w limite de croissance d'un microorganisme est différente de l' a_w limite nécessaire pour la production de sa toxine .

Dans un aliment, une activité d'eau de 0,7 est considérée comme une limite inférieure présentant toutes les garanties de stabilité microbienne, cependant 0,91 est une limite en dessous de laquelle le développement des microorganismes est très fortement freiné. C'est cette limite qui a été retenue par la directive communautaire de 1977 pour la conservation des aliments à température ambiante ; elle est même relevée à 0,95 à condition toutefois qu'elle s'accompagne d'un pH inférieur ou égal à 5,2.

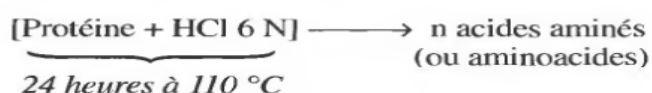
Chapitre II. Les systèmes protéiques

II.1. Propriétés physiques des protéines.

Les protéines sont des constituants particulièrement importants puisqu'ils forment entre 55 à 85% de la matière sèche, selon les tissus considérés. Certaines molécules protéiques ont le rôle structural (collagène, osséine, kératine des ongles et des poils etc.), d'autres un rôle fonctionnel (hémoglobine) ou régulateur (enzymes, hormones etc.) ; elles peuvent constituer des réserves (ovalbumine de l'œuf), intervenir dans la défense de l'organisme (anticorps) ou dans la motricité (actine et myosine). Ce sont donc, quantitativement et qualitativement, des constituants essentiels des êtres vivants, dont ils sont d'ailleurs caractéristiques.

L'analyse élémentaire montre que les protéines sont formées à partir de quatre éléments principaux, le carbone, l'hydrogène, l'oxygène et l'azote ; ce sont donc des composés quaternaires ; à ces quatre éléments s'ajoutent généralement du phosphore et du soufre.

Leur masse moléculaire est très élevée, comprise entre 6000 et 500000 daltons ; ce sont des macromolécules. Elles peuvent être hydrolysées totalement par l'acide chlorhydrique :



Les acides aminés sont les molécules de base qui, en s'associant, constituent la protéine : ce sont les monomères ; la protéine est donc un polymère.

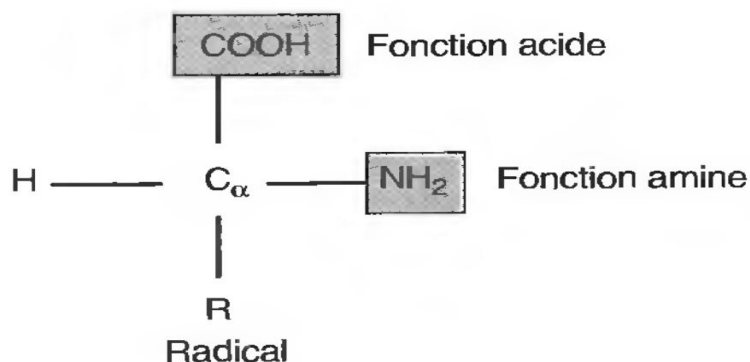
Lorsque l'hydrolyse libère uniquement des acides aminés, on parle d'holoprotéines ; lorsqu'il apparaît des substances de nature différente, on parle d'hétéroprotéines.

II.1.1. Les acides aminés.

Ce sont donc les unités structurales, ou monomères, des protéines. On en trouve 20 différents dans les protéines des cellules eucaryotes : ce sont les acides aminés courant et leur nom se termine très souvent par le suffixe « ine ». C'est avec ces vingt acides aminés que sont construites toutes les protéines. C'est la diversité des arrangements possibles, à partir de cet alphabet fondamental, qui permet des constructions moléculaires aussi différentes que la soie, l'albumine, l'hémoglobine, l'actine etc.

II.1.1.1. Formule générale.

Leur molécules contient toujours une fonction acide, COOH , et une fonction amine, NH_2 . Celle-ci est généralement située, dans les acides aminés naturels, en position α ; ce sont donc des acides α -aminés dont la formule générale est représenté sur la figure suivante.



II.1.1.2. Propriétés des acides aminés

On distingue celles communes à tous les acides aminés et celles propre à certains acides aminés.

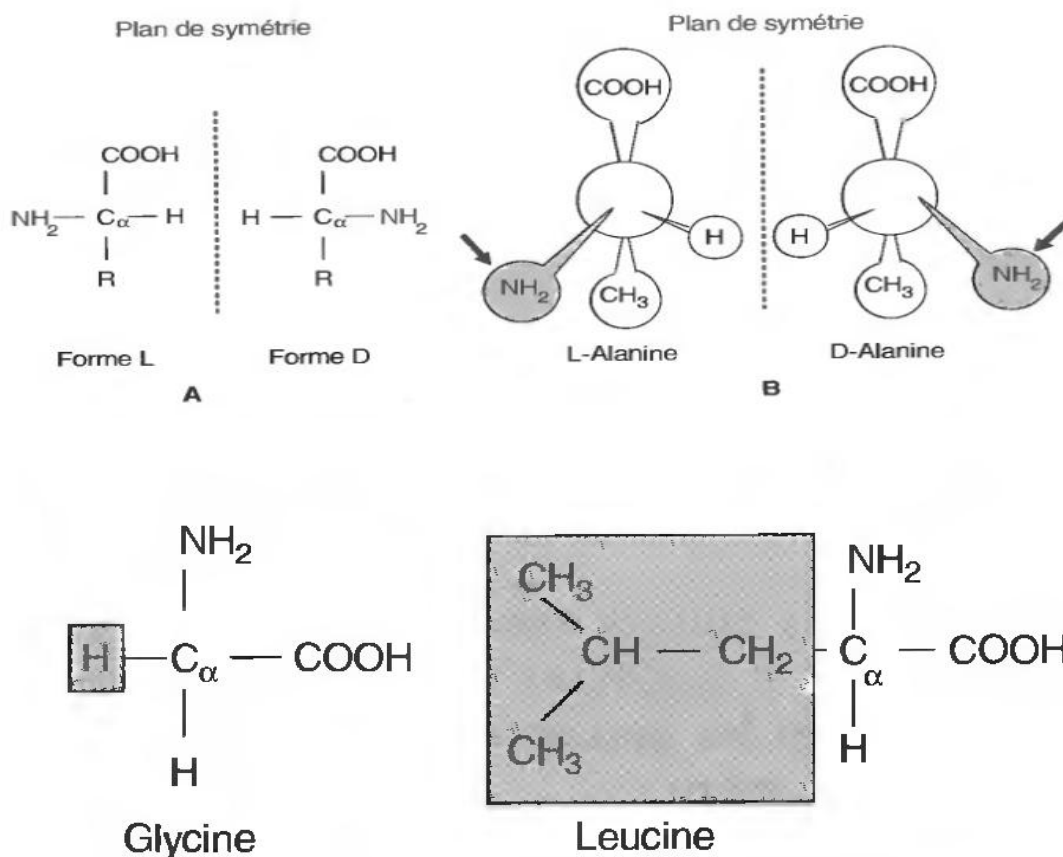
a) Propriétés communes à tous les acides aminés.

Elles sont liées à l'existence de fonctions identiques chez tous les acides aminés.

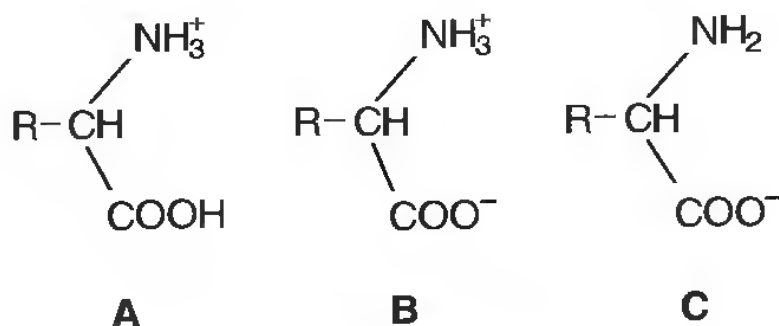
✓ L'asymétrie. Elle est due à l'existence d'un carbone asymétrique, c'est-à-dire portant 4 fonctions distinctes, nommé Carbone α , C_{α} . Ces fonctions peuvent se disposer de manière différente par rapport au C_{α} . Les molécules ainsi obtenues ne présentent pas le même arrangement spatial : ce sont des molécules chirales (du grec kheir, main) car, telles la main gauche et la main droite, elles ne peuvent pas être confondues avec leur images dans un miroir. Ce sont donc des stéréoisomères on distingue ainsi, pour un même acide aminé, deux formes possible qui n'ont pas les mêmes propriétés, notamment pas le même pouvoir rotatoire (déviations de la lumière polarisée), ce qui permet de les dénommer forme D (pour Dextrogyre) et forme L (pour Lévo-gyre). Un seul acide aminé ne présente pas de forme D et L, c'est la glycine chez qui le radical correspond à un seul atome d'hydrogène. Le carbone portant les fonctions amine et acide et deux atomes d'hydrogène n'est plus asymétrique ; il n'y a pas alors d'isomérie.

Seuls les acides aminés de la série L sont utilisés et synthétisés par les cellules eucaryotes.

Des acides aminés de la série D peuvent être synthétisés au laboratoire et mélangés dans un milieu de culture à des acides aminés de la série L ; les cellules eucaryotes placées dans le milieu n'utiliseront que les forme L : il y a sélectivité de l'absorption. Par contre des acides aminés de la série D se rencontrent chez certaines bactéries.

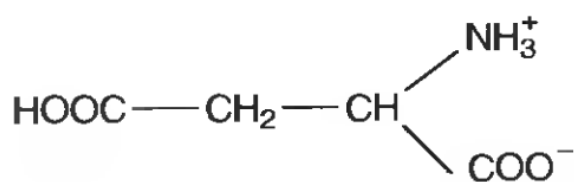


✓ L'ionisation. Deux des groupements portés par le carbone asymétrique sont ionisable ; ce sont les fonctions acides et amine ; elles peuvent, selon le pH du milieu, prélever ou céder des protons. Si l'on fait varier progressivement le pH, d'un milieu nettement acide vers un milieu fortement basique, l'acide aminé va passer de la forme cationique à la forme zwitterion puis à une forme anionique. Pendant une zone plus ou moins importante de pH, l'acide aminé est sous forme d'un ion double, c'est-à-dire qu'il est électriquement neutre ; cette zone de pH est dite isoélectrique ; le pH correspondant au milieu de cette zone isoélectrique est appelé pH isoélectrique ou pHi ; placé dans un champ électrique à ce pH la molécule ne se déplace pas.

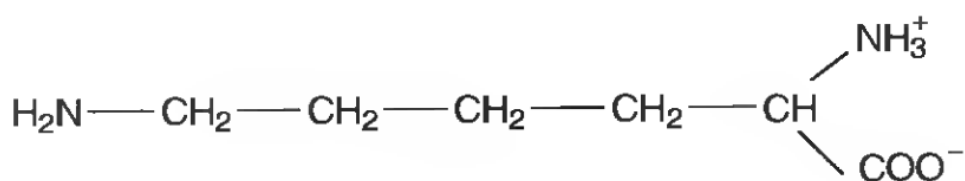


Pour le plus simple des acides aminés, la glycine, ce pHi est égale à pH 6 ; on dit que c'est un acide aminé neutre. Cependant, tous les aminoacides n'ont pas un pHi de cette valeur ; celle-ci dépend en effet largement des propriétés du radical. Si celui-ci est composé

de groupement apolaires ou de groupements polaires neutres, la valeur du pHi ne dépend que des fonctions amine et acide communes à tous les acides aminés ; si par contre R contient des fonctions ionisables, comme dans l'acide aspartique ou la lysine, le pHi sera différent de celui de la glycine. Les propriétés du radical doivent donc être prises en compte (d'autant plus que, les fonctions acide et amine disparaissent lorsque s'établit la liaison peptidique ; l'ionisation des acides aminés dépend alors uniquement de leurs radicaux ; ce sont ceux qui, en fonction des proportions relatives des groupement + et -, donneront une charge globale à la protéine). Pour les acides aminés acides, le pHi sera plus bas (le pHi de l'acide aspartique est de 2.9) ; pour les acides aminés basiques, le pHi sera plus élevé (le pHi de la lysine est de 9.75).



Acide aspartique au pHi



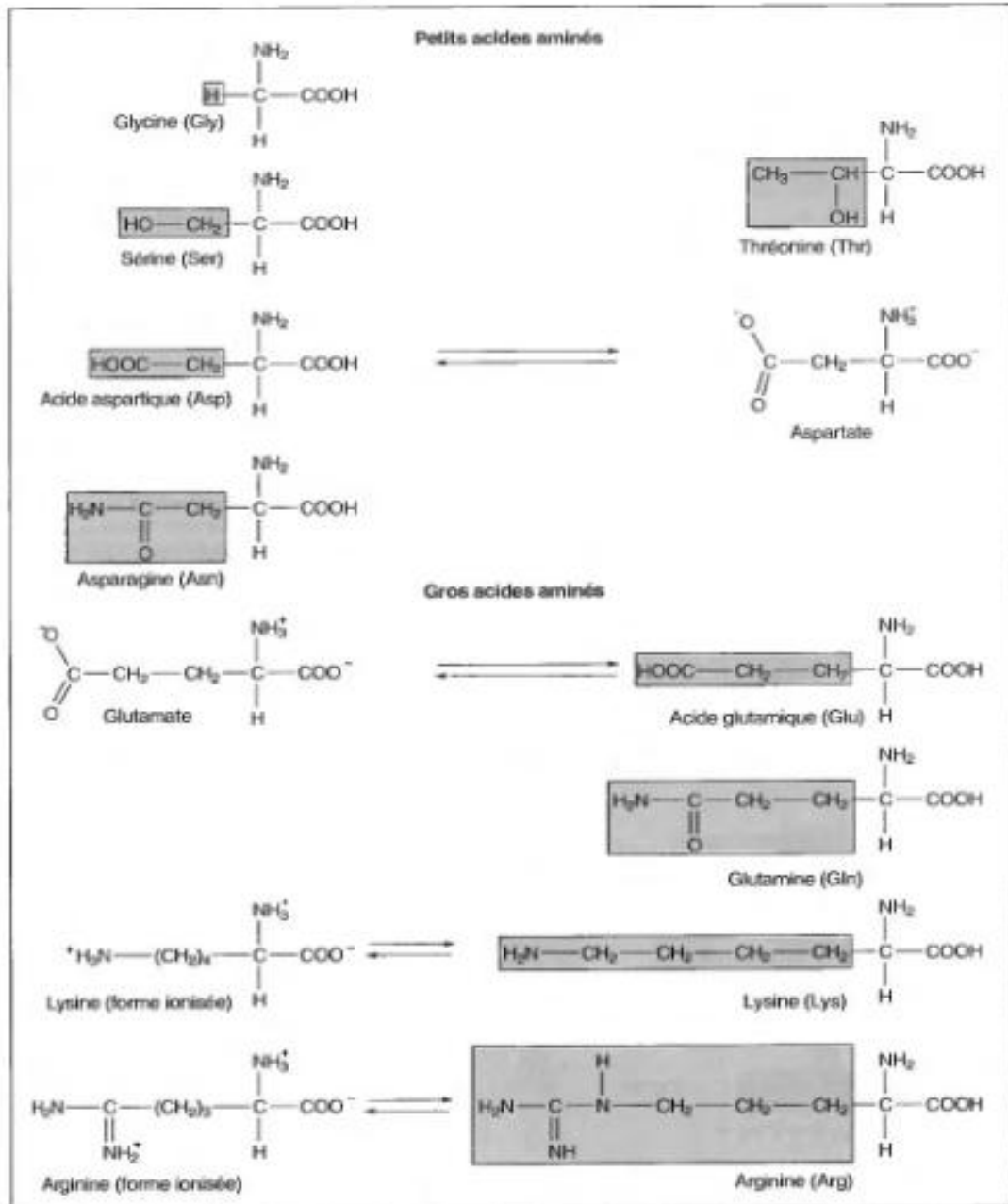
Lysine au pHi

b) Propriétés liées à la nature du radical : la classification des acides aminés.

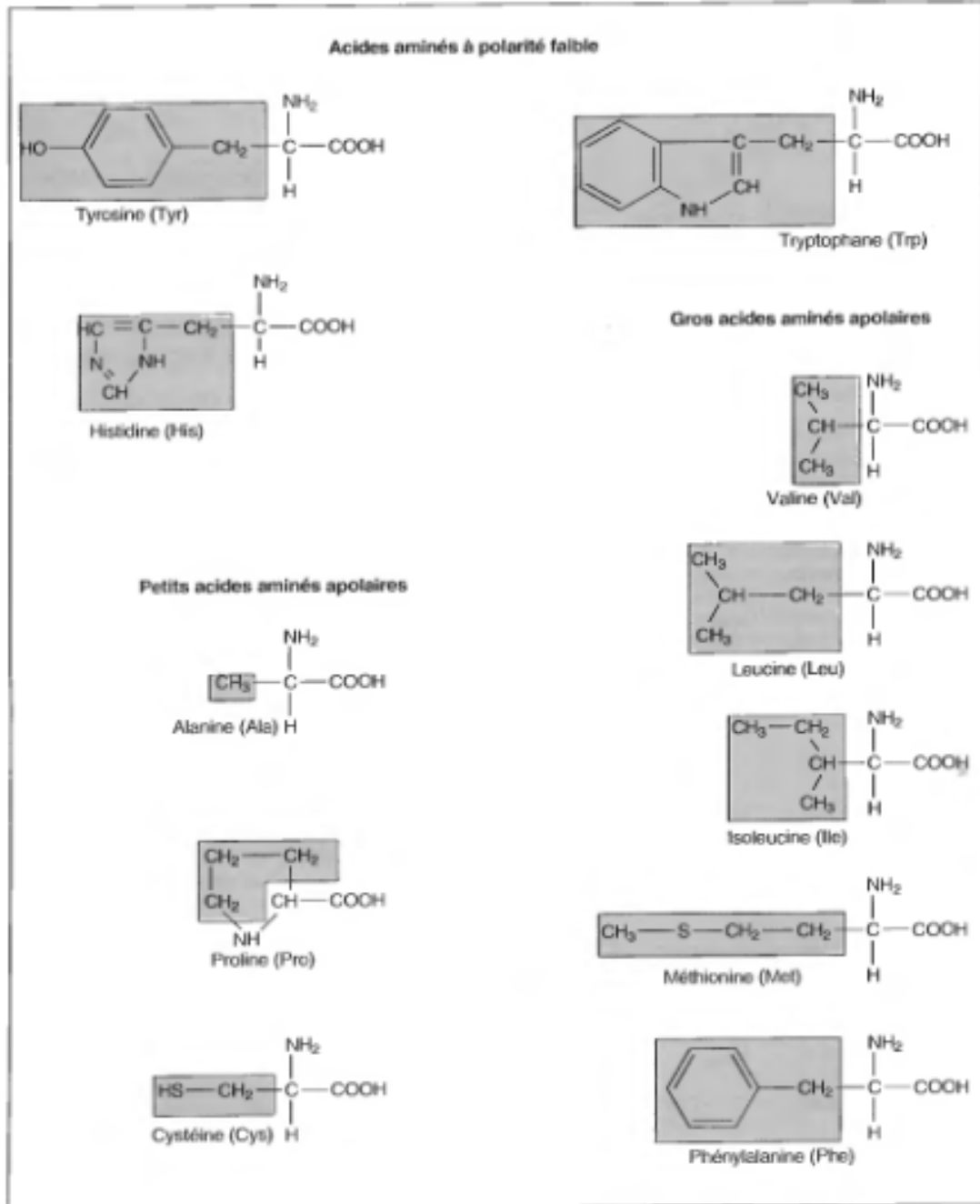
Les radicaux d'acides aminés sont très différents notamment en ce qui concerne leur dimension, c'est-à-dire leur encombrement, leur polarité, donc leur possibilité d'établir des liaisons H avec l'eau ou d'autres molécules, leur degré d'ionisation, leur nature cyclique, la présence de soufre.

Selon les caractères que l'on fait intervenir en priorité, il est possible d'établir plusieurs classifications. Celle qui est présentée dans le **tableau** et n'est pas exempte de critiques ; elle présente l'avantage de mettre en avant deux propriétés qui jouent un rôle particulièrement important dans l'établissement de la forme des protéines : la polarité et l'encombrement des radicaux.

Acides aminés neutres et polaires (les radicaux sont encadrés)



Acides aminés apolaires et acides aminés à faible polarité (les radicaux sont encadrés)



II.2. Extraction des protéines.

Chaque protéine peut être identifiée par l'enchaînement particulier des acides aminés la constituant. Les protéines ont donc des structures tertiaires spécifiques et chaque espèce moléculaire possède des caractéristiques physico-chimiques qui lui sont propres ; leurs formes, leurs masses moléculaires, les charges ioniques et leurs solubilités sont utilisées pour les séparer ou les purifier.

Déterminer la nature des acides aminés présents dans un mélange résultant d'une hydrolyse de protéine est la première étape indispensable pour l'étude de cette protéine.

La séparation de ces acides aminés ne peut se faire qu'en utilisant les propriétés physico-chimiques qui les différencient, c'est-à-dire celles de leur radical. Trois méthodes sont utilisées de manière courante.

II.2.1. Méthodes fondées sur les différences de solubilité

La solubilité d'une molécule protéique dépend des interactions qu'elle établit avec le solvant : lorsqu'elles sont fortes, la protéine se disperse dans le milieu ; lorsqu'elles sont faibles, les interactions protéine-protéine dominent, il y a formation d'agrégats et précipitation.

Les protéines globulaires sont généralement solubles dans les solutions salines diluées alors que la plupart des protéines fibreuses ne le sont pas. Le sel neutre le plus fréquemment employé est le sulfate d'ammonium qui, très soluble dans l'eau, a une force ionique élevée.

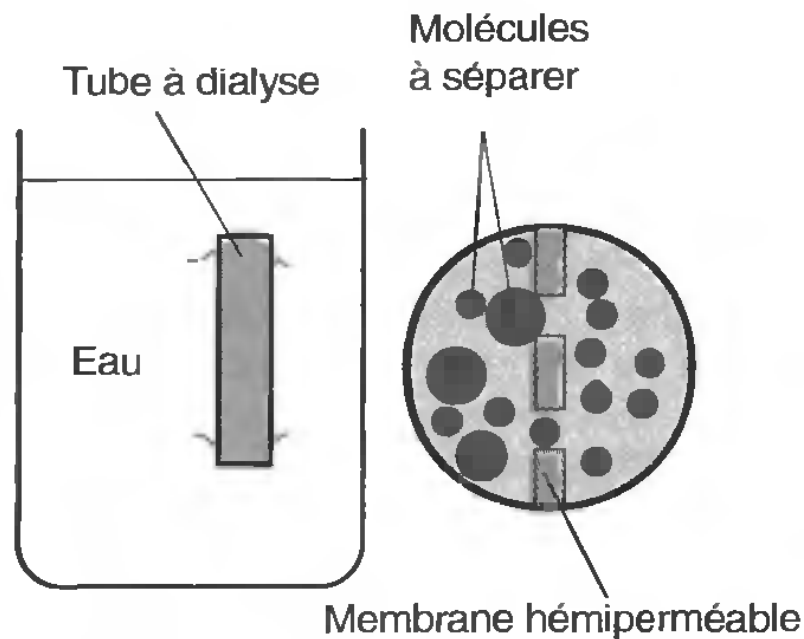
Les protéines globulaires solubilisées deviennent insolubles lorsque la concentration en sel augmente : c'est le relargage. Celui-ci ne se produit pas à la même concentration pour toutes les protéines : certaines précipitent après une très faible augmentation de la teneur en sel alors que pour d'autres il faut qu'elle soit très élevée. On peut ainsi, par une méthode de précipitation sélective, séparer les différentes protéines d'un mélange.

II.2.2. Méthodes fondées sur la taille des molécules protéiques

La dialyse est une méthode de séparation des constituants d'un mélange faisant appel à une membrane poreuse hémiperméable placée entre deux compartiments ; les molécules ne pourront traverser cette membrane et diffuser dans le milieu que si le diamètre des pores permet leur passage ; ce diamètre est calculé de telle sorte que seuls les ions et les molécules d'une masse moléculaire préalablement définie circulent librement, les grosses molécules protéiques demeurant dans le compartiment d'origine. Par cette méthode, on peut donc purifier ou concentrer des protéines.

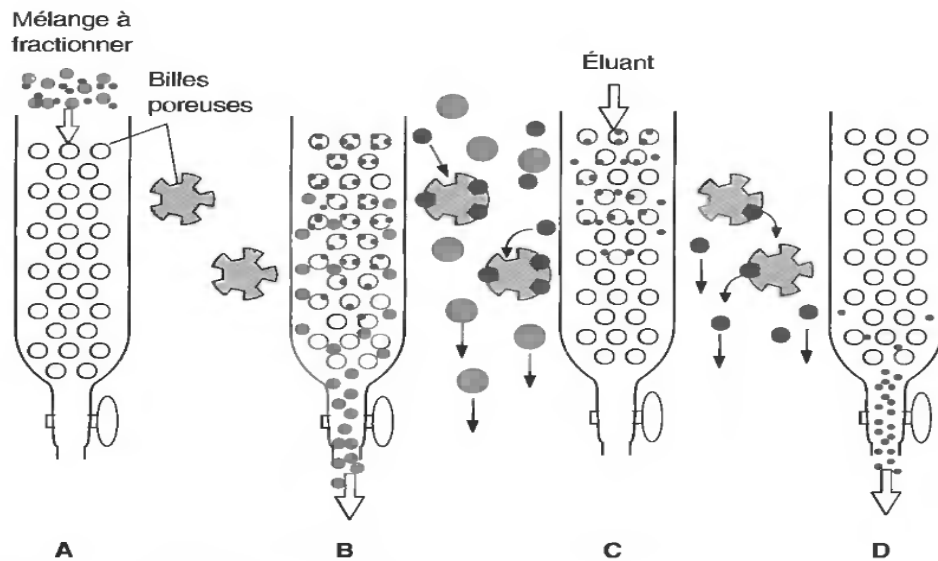
On place le mélange contenant la protéine à concentrer et les petites molécules contaminantes dans un tube, fermé aux extrémités, dont la paroi est constituée par la membrane elle-même (boudin de dialyse). L'ensemble est plongé dans un récipient contenant de l'eau ou une solution très diluée, souvent une solution tampon. Les petites molécules vont traverser aisément la membrane et, en vertu des lois de la diffusion, leur concentration sera rapidement égale dans les deux compartiments (le contenu du boudin et le milieu extérieur) ;

par contre les protéines resteront à l'intérieur, la teneur en petites molécules contaminantes diminue jusqu'à devenir négligeable alors que celle des protéines n'a pas changé.

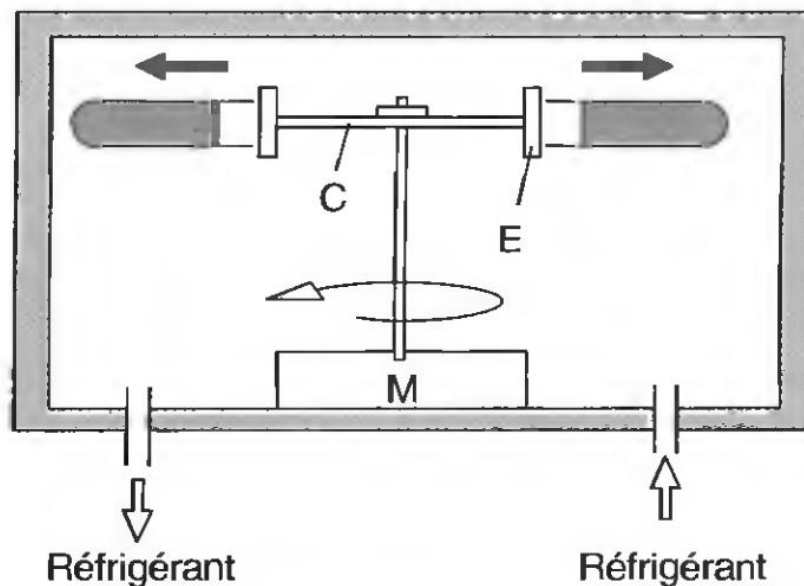


La **chromatographie de partage** réalisée sur papier ou sur couche mince est utilisée pour séparer les petites molécules (oses, acides aminés) ; pour les plus volumineuses, dont les protéines, on emploie un autre type de chromatographie, la chromatographie d'exclusion dans laquelle des colonnes sont remplies de très petites billes poreuses (pores de 100µm de diamètre par exemple) faites de polymères insolubles mais riches en eau (dextrane, agarose etc.).

Le mélange contenant les molécules à séparer, dont le solvant constitue la phase mobile, est versé au sommet de la colonne (A) ; les petites molécules pénètrent dans les pores des billes et sont retenues alors que les plus grosses, entraînées par le flux de solvant traversent rapidement et sont récupérées à la base (B). On verse ensuite (C) du solvant (élution), ce qui permet de récupérer les molécules plus petites dans l'ordre décroissant des masses moléculaires (D). Dans cette méthode, les billes jouent le rôle d'un tamis moléculaire.

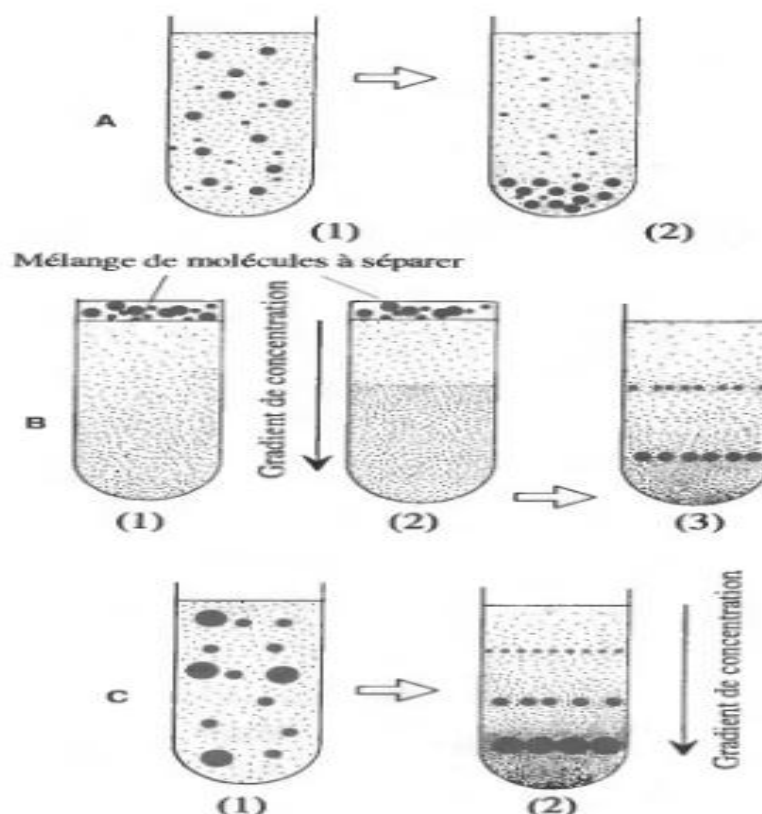


Les macromolécules, comme tout objet soumis à la force d'attraction terrestre, sont attirées vers le fond du récipient dans lequel elles sont en suspension ; c'est la sédimentation. Toutefois, la densité des molécules protéiques n'est que très légèrement supérieurs à la densité du solvant et, par conséquent, leur vitesse de sédimentation est très lente. Pour accélérer leur déplacement dans le milieu on place le tube qui les contient dans une centrifugeuse réfrigérée tournant sous vide à grande vitesse (80000 tours/minute), les soumettant ainsi à une force centrifuge développant plusieurs milliers de fois l'accélération de la pesanteur (100000, voir 500000g) : c'est l'**ultracentrifugation**.



Les particules (ou les molécules), réparties au départ de manière uniforme, vont se déplacer vers le fond du tube à des vitesses inégales dépendant de leur masse, de leur encombrement, c'est-à-dire de la résistance que les frottements opposent à leur mouvement et de la densité du milieu dans lequel elles se trouvent.

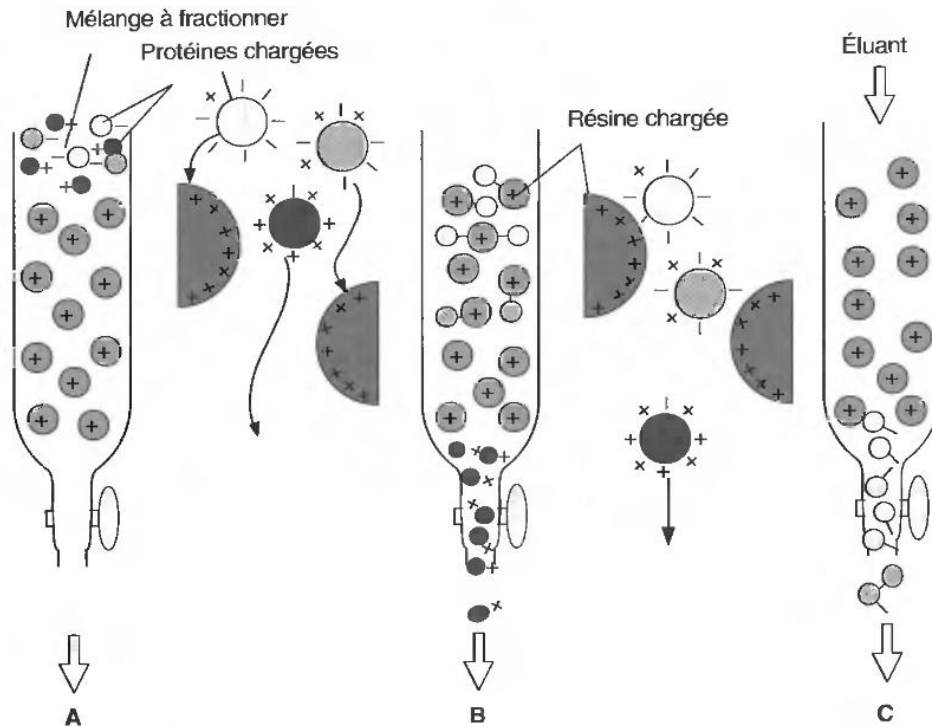
Dans un milieu de densité moyenne, à une faible vitesse de centrifugation, les particules les plus lourdes vont se déplacer relativement rapidement et s'accumuler au fond du tube pour former un culot qu'il est possible de récolter ; les particules sensiblement plus légères pourront être collectées en soumettant le milieu restant, le surnageant, à une force centrifuge plus importante en augmentant la vitesse de rotation. On peut ainsi, par une succession de centrifugations réalisées à des vitesses progressivement croissantes et arrêtées à un moment judicieusement choisi, recueillir des particules de taille de plus en plus réduite, c'est la centrifugation différentielle. Cette méthode ne permet pas toutefois d'obtenir des culots absolument purs ; des molécules plus légères, qui étaient au départ situées près du fond du tube, sont en effet souvent associées au culot, constituant le contaminant.



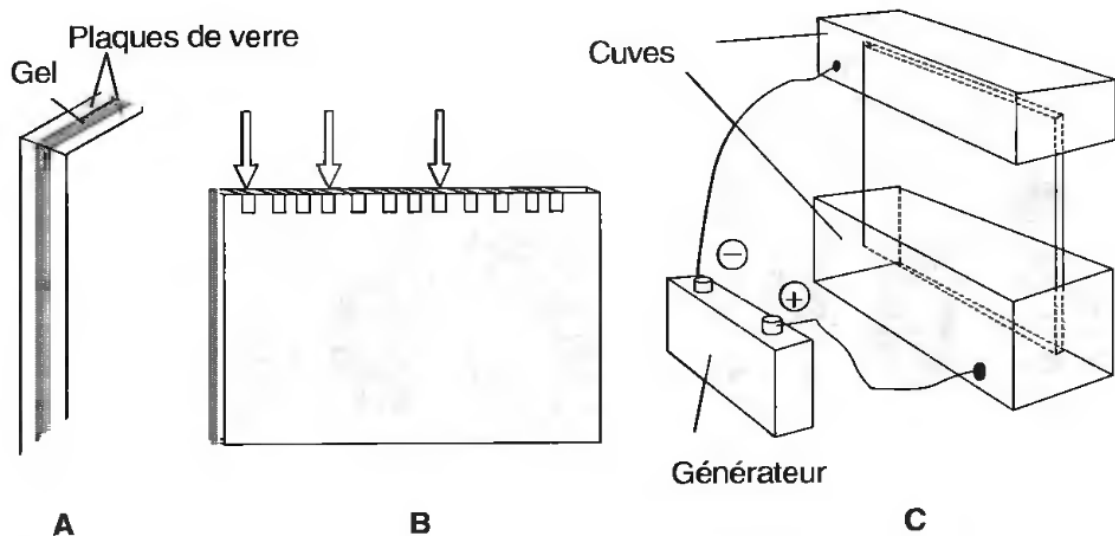
II.2.3. Méthode fondée sur l'ionisation des molécules protéiques

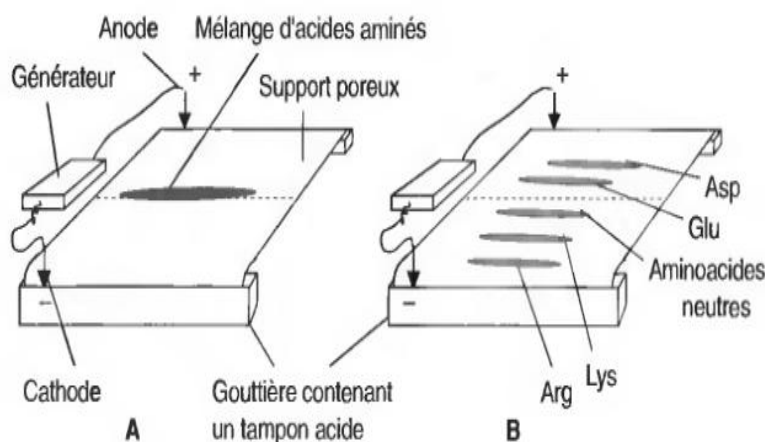
Les colonnes échangeuses d'ions : la solution contenant les protéines est versée au sommet d'une colonne remplie de billes chargées constituant la phase stationnaire. Elles peuvent être chargées positivement, par des groupements basiques, ce sont des échangeuses d'anions et les molécules protéiques s'y accrocheront alors d'autant plus rapidement que leur charge négative est importante ; celles globalement positives, ou neutres, traverseront et seront récupérées en premier à la base de la colonne. Pour récupérer les protéines liées aux billes, on va jouer sur le pH et/ou sur la force ionique du milieu ; on peut par exemple verser une solution à pH acide ; les protéines initialement chargées négativement (donc lorsque le pH est supérieur au pHi) vont devenir positive puisqu'elles sont alors situées dans un environnement dont le pH est inférieur au pHi et perdre leur affinité pour l'échangeur d'ions,

c'est l'élution. Des colonnes contenant des billes chargées négativement (porteuses de groupements acides), échangeuses de cations, existent également.



L'électrophorèse est fondée sur le déplacement des molécules chargées dans un champ électrique, elle permet, à l'aide d'un support poreux (papier, acétate de cellulose etc.), de séparer les acides aminés ionisés.

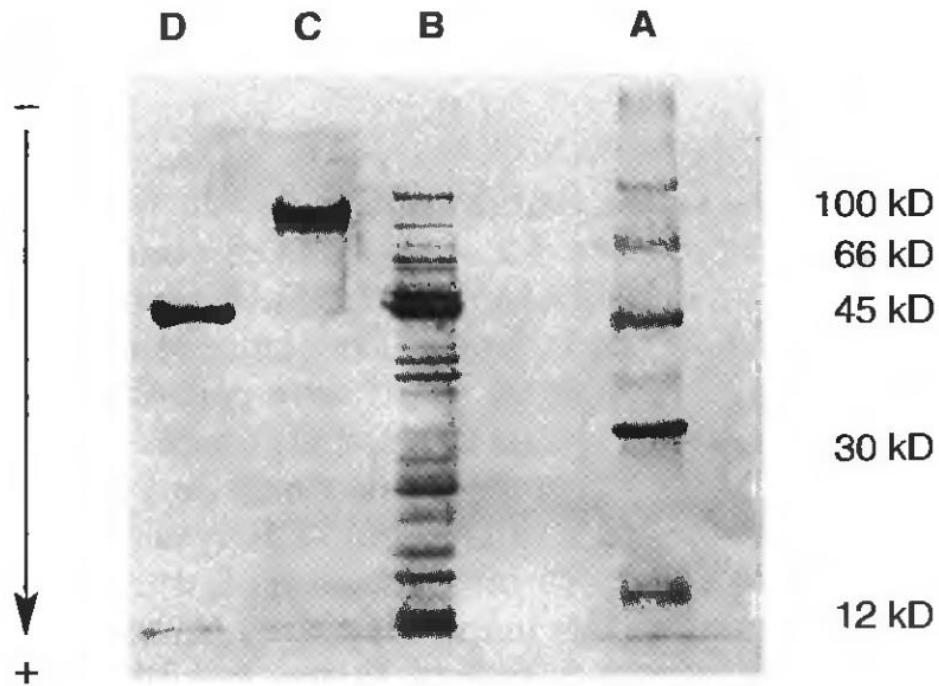




La vitesse du déplacement dépend de l'intensité du champ électrique, de la charge nette de la molécule et des frottements engendrés par leur encombrement, ce qui permet de l'associer à une filtration en utilisant comme support un gel. Les gels sont en effet de véritables tamis que les molécules de petite taille traversent aisément alors que les plus volumineuses y circulent difficilement.

On utilise le plus souvent des gels de polyacrylamide, substance chimiquement inerte, facilement fabriquée par polymérisation et où il est possible, en modifiant la composition du mélange initial, de contrôler le diamètre des pores.

L'électrophorèse unidimensionnelle est réalisée dans des gels coulés dans des tubes ou entre deux plaques de verre ; les protéines sont dissoutes et souvent dénaturées par un agent chimique comme l'urée (qui rompt les liaisons faibles) et le mercaptoéthanol, ou le dithiothréitol, qui coupe les ponts disulfure ; elles sont alors placées au sommet du gel et se déplacent dans le champ électrique, du pôle - vers le pôle + si leur charge est négative, du + vers le - si elles sont positives. La séparation des protéines est alors fonction de leur charge nette d'une part, de leur taille, c'est-à-dire de la facilité avec laquelle elles circulent entre les mailles du gel, d'autre part. beaucoup de protéines sont toutefois faiblement chargées, on utilise alors comme dénaturant, à la place de l'urée, du SDS (sodium dodécyl sulfate) qui se fixe sur les résidus d'acides aminés en introduisant uniformément un très grand nombre de charges négatives ; la vitesse de migration de toutes les protéines est identique puisqu'elles ont toutes la même charge nette, toutes les molécules ayant fixé du SDS dans le même rapport stoechiométrique que l'on estime à un SDS pour deux résidus d'acides aminés. La séparation des protéines sera donc seulement fonction de leur taille et d'autant plus rapide que la molécule est petite ; c'est l'effet de tamis du gel. Des colorants permettent ensuite de visualiser les protéines dans le gel.



L'électrophorèse par iso-électrofocalisation est fondée sur la charge globale propre d'une protéine qui dépend de la proportion relative des acides aminés acides et basiques la constituant. Cette charge varie suivant le pH ; pour une certaine valeur de celui-ci, elle est nulle et la molécule placée dans un champ électrique ne se déplace plus. La technique consiste à créer dans un gel, sur plaque ou dans un tube, un gradient stable de pH ; les protéines qui y sont placées et soumises à un champ électrique migreront jusqu'au point où leur pH leur confère une charge globale nulle ; c'est le pHi : il y a focalisation isoélectrique.

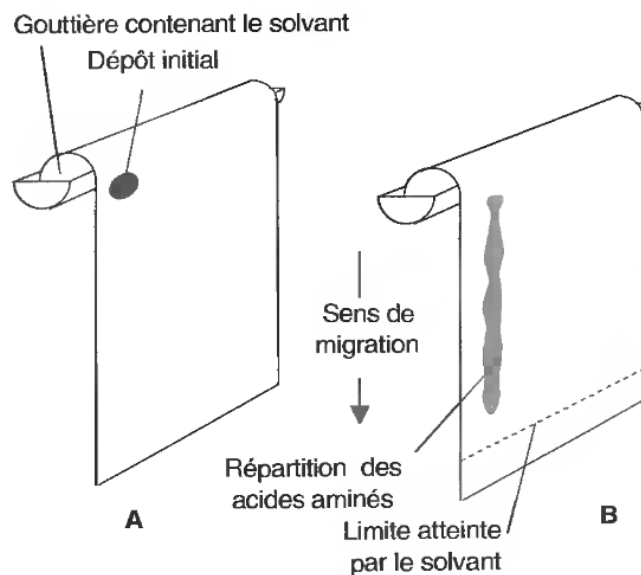


Fig. III-6 : Chromatographie monodimensionnelle ou première migration d'une chromatographie bidimensionnelle.

L'électrophorèse bidimensionnelle est obtenue par la combinaison des deux méthodes précédentes. Dans un premier temps, les protéines sont séparées par isoélectrofocalisation en tube, puis le gel contenu dans celui-ci est placé au sommet d'un autre gel en plaque, dans un milieu contenant du SDS ; la nouvelle électrophorèse est donc réalisée à 90° de la précédente. Les protéines forment alors des taches espacées sur toute la surface du gel et leur position dépend de leur pHi (première électrophorèse) et de leur encombrement (secondes électrophorèse). La définition est donc extrêmement précise.

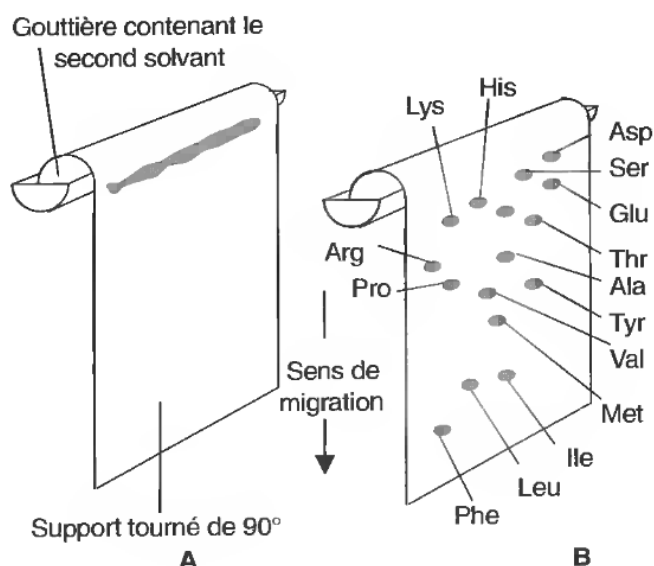


Fig. III-7 : Seconde migration d'une chromatographie bidimensionnelle.

II.3. Structure des protéines

La structure des protéines considère les différents niveaux d'organisation spatiale de ces macromolécules dont l'analyse permet de mieux comprendre leurs rôles et/ou activités biologiques. On décrit quatre niveaux de structure.

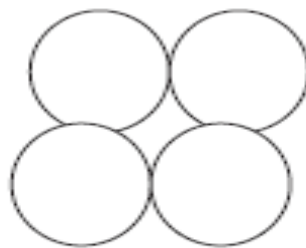
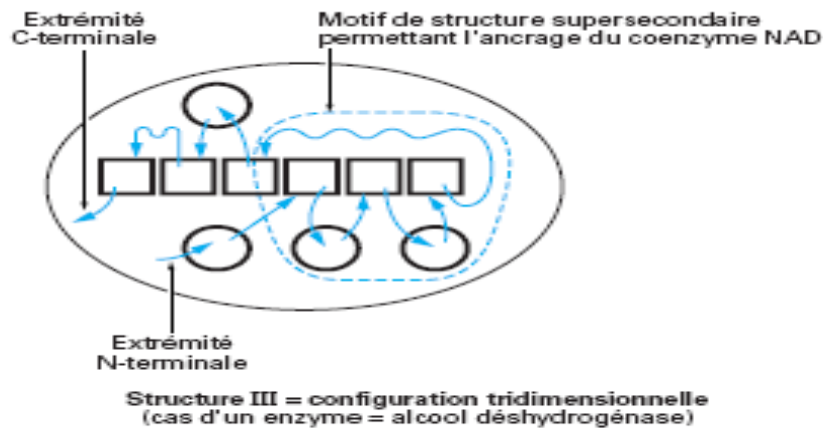
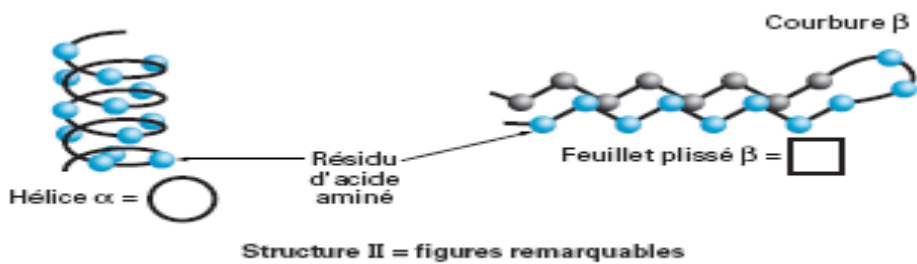
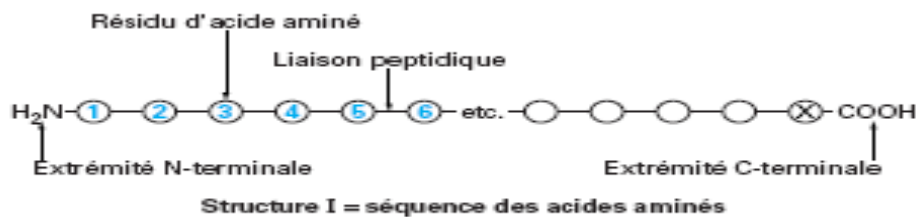
La structure I correspond à l'ordre séquentiel déterminé génétiquement des « X » acides aminés constituant la protéine. Il s'agit de la structure linéaire de la chaîne commençant par l'extrémité N-terminale (AA no 1 = AA avec $-NH_2$ libre) et se terminant par l'extrémité C-terminale (AA no X = AA avec $-COOH$ libre). Les liaisons covalentes peptidiques assurent la cohésion de l'ensemble.

La structure II décrit certaines parties de la chaîne dans l'espace dont l'organisation régulière selon un axe privilégié conduit à des figures particulières (hélice α , feuillets plissés β , courbures β , etc.).

Ces figures sont maintenues par des liaisons hydrogène établies au niveau des liaisons peptidiques. Plusieurs éléments de structure secondaire peuvent s'agencer en motifs ou structures supersecondaires dont la prise en compte a permis de beaucoup progresser dans la compréhension des activités biologiques des protéines.

La structure III correspond à la conformation tridimensionnelle de la chaîne polypeptidique qui résulte de son repliement conduisant à la forme générale définitive et biologiquement active. Pour beaucoup de protéines (ex. : protéines globulaires), la mise en place de cette forme est la résultante de l'effet hydrophobe global (rassemblement vers l'intérieur de tous les résidus apolaires d'acides aminés) ; elle est consolidée par des liaisons secondaires entre résidus d'acides aminés.

La structure IV n'est pas systématique. Elle existe lorsque la protéine est oligomérique, c'est-à-dire constituée de plusieurs chaînes polypeptidiques (ou monomères). Les liaisons entre monomères sont habituellement des liaisons non covalentes.



La dénaturation des protéines est la désorganisation des structures II, III et IV des protéines maintenues par des liaisons non covalentes de faible énergie, mais il ne s'agit en aucun cas d'une hydrolyse de la chaîne polypeptidique (structure I préservée). Cette désorganisation s'accompagne d'une perte des propriétés biologiques.

II.4. Sources des protéines alimentaires

Les protéines alimentaires peuvent être d'origine animale ou d'origine végétale. Les protéines animales sont surtout présentes dans les viandes et les poissons ; mais elles existent aussi dans les oeufs, le lait et produits dérivés (ainsi, les fromages sont des concentrés de protéines laitières). Les protéines végétales sont essentiellement contenues dans les graines alimentaires ; les céréales renferment moins de protéines (riz : 8 % en masse) que les graines de légumineuses (haricots, lentilles, etc. : 25 % en masse) avec le cas particulier du soja (40 % en masse) ; en Europe, les produits de base (farines, semoules) provenant du grain de blé conduisent à des denrées alimentaires (pain, pâtes, etc.) surtout amylacés mais contenant cependant des protéines végétales. Le tableau 5 précise les noms et les teneurs des principales protéines alimentaires rencontrées dans les différents aliments riches en protéines.

II.4.1. Principales protéines alimentaires

Protéines globulaires (holoprotéines)

Les albumines et les globulines sont le type même des protéines globulaires : les premières sont bien solubles dans l'eau alors que les secondes le sont peu. Elles sont très répandues dans les tissus animaux et végétaux. Les prolamines et les glutélines des grains de céréales sont des protéines de réserve localisées dans l'albumen (80 % des protéines totales) constituant une matrice englobant les grains d'amidon. Les gliadines (prolamines) et les gluténines (glutélines) du grain de blé constituent le gluten dont le malaxage et pétrissage permettent la formation d'un réseau protéique viscoélastique conduisant à la pâte boulangère (étape essentielle dans la panification).

Protéines fibreuses ou scléroprotéines (holoprotéines)

Le collagène et l'élastine sont les protéines fibreuses des tissus conjonctifs associés aux muscles que l'on retrouve dans les viandes et la chair des poissons. Le collagène nettement prédominant est caractérisé par sa structure en triple hélice et l'existence de liaisons interchaînes ; par ailleurs, il est essentiellement composé des acides aminés : glycine (30 % en masse), proline et hydroxyproline. Par traitement thermique prolongé, le collagène est transformé en gélatine avec désorganisation de la structure et hydrolyse partielle des chaînes. Mais, ni le collagène (non dégradé par les enzymes protéolytiques du TD), ni même la gélatine (dégradable, mais pauvre en acides aminés cycliques et indispensables) ne sont des protéines intéressantes sur le plan alimentaire.

Biochimie alimentaire

Tableau 05 : Principales protéines alimentaires et leurs sources

Source	Protéines (%)	Répartition	VB (%)
Viande	15 à 22	9% Protéines extracellulaires : collagène, élastine	80
		80% Protéines intracellulaires : actine, myosine, troponine, tropomyosine, myoglobine etc.	
		10% NNP (azote non protéique)	
Poisson	15 à 20	8% Protéines extracellulaire : collagène, élastine	80
		72% Protéines intracellulaires : actine, myosine, troponine, tropomyosine	
		15 à 25% NNP	
Œufs	12 à 14	52% Blanc : Ovalbumine, conalbumine, ovomucoïde, ovoglobines, lysosyme, avidine, etc.	95
		48% Jaune : lipovitelline, livétine, lipovitellines, phosvitine, etc.	
Lait de vache	3 à 3.5	78% protéines insolubles : caséines	85
		16% Protéines « solubles » : globulines, albumines, protéose-peptones, etc.	
		5% NNP	
Graines de céréales	8 à 14	75 à 95% Protéines de réserve : prolamines (blé : gliadines) et glutélines (blé : gluténines)	65
		5 à 25% protéines « solubles » : albumines, globulines.	
Graines de légumineuses	25 à 40	95% globulines (plus de 70%) et albumines (moins de 25%).	70
		5% Protéines de réserve : prolamines et glutélines + NNP	

Protéines fibrillaires (holoprotéines)

Ces protéines correspondent aux microfilaments d'actine (et protéines associées) qui, avec les microtubules et les filaments intermédiaires, forment le cytosquelette des cellules animales. L'actine G est une protéine globulaire de masse moléculaire 42 kD qui polymérise pour donner l'actine F ou filamenteuse dont deux exemplaires s'enroulent en hélice pour former l'actine fonctionnelle. Présente dans toutes les cellules animales, la proportion d'actine F (par rapport aux protéines totales) est importante dans les cellules musculaires (13 à 15 % en masse) où elle va s'associer avec d'autres protéines pour constituer les myofibrilles représentant l'appareil contractile de ces cellules. Les protéines fibrillaires des cellules musculaires (actine, myosine, troponine, tropomyosine, etc.) représente environ 60 % de leurs protéines totales. Ces protéines constituent la part majeure des viandes et de la chair des poissons ; elles sont d'excellente qualité nutritionnelle.

Phosphoprotéines (hétéroprotéines)

Les caséines du lait sont de petites protéines (environ 200 AA) phosphorylées et acides (pHi de l'ordre de 5). Elles contiennent en quantité importante les AA suivants : Asp, Glu (caractère acide), Val, Ile, Leu (caractère hydrophobe) et Pro (ce dernier AA rend difficile la formation des figures de structure II). Les caséines sont donc des protéines insolubles en milieu aqueux et peu organisées en structure II ou de degré supérieur (on les qualifie parfois de « naturellement dénaturées »). Elles ont tendance à s'associer entre elles pour former, avec les ions Ca^{2+} , des agrégats macromoléculaires constituant la phase micellaire du lait (phase peu stable se séparant du reste du lait au caillage).

Chromoprotéines (hétéroprotéines)

La myoglobine est la protéine pigmentée responsable de la couleur rouge des viandes. C'est une hétéroprotéine dont le groupement prosthétique est un hème c'est-à-dire un noyau tétrapyrrolique plan et « en croix » centré sur un atome de fer ferreux. Ce même hème se retrouve dans l'hémoglobine du sang et dans les cytochromes de la chaîne respiratoire intramitochondriale. La cuisson des viandes rouges dénature la myoglobine et oxyde l'hème restant (Fe^{2+}) en hématine (Fe^{3+}) de couleur brune. Par ailleurs, dans les produits de charcuteries, les différentes couleurs observées (de rose à rouge sombre) résultent des transformations de la myoglobine et des combinaisons avec les nitrites.

Nucléoprotéines (hétéroprotéines)

On qualifie ainsi les associations entre des protéines à caractère nettement basique appelées histones et l'acide nucléique ADN (acide désoxyribonucléique) porteur de l'information génétique. Ces nucléoprotéines existent dans les noyaux cellulaires et représentent la chromatine qui se réorganise en chromosomes lors de la division cellulaire.

Les constituants des acides nucléiques et en particulier les bases azotées cycliques (puriques et pyrimidiques) peuvent être synthétisés de novo dans les cellules eucaryotes. En conséquence, la synthèse parfois importante des acides nucléiques (ex. : lors de la replication de l'ADN) n'est pas tributaire de l'apport alimentaire en acides nucléiques. Cependant, les produits résultant de la digestion puis après absorption intestinale, du catabolisme des acides nucléiques peuvent en partie être recyclés à des fins de synthèse. Les aliments contenant beaucoup d'acides nucléiques sont essentiellement les tissus riches en noyaux et en particulier les abats.

II.4.2. Utilisation nutritionnelle des protéines

La dégradation des protéines alimentaires puis l'absorption intestinale des acides aminés en résultant, représente leur digestibilité qui peut être affectée par plusieurs facteurs :

— les enzymes protéolytiques (protéases) du TD sont très divers et variés (pepsine, trypsine, chymotrypsine, peptidases, etc.) et malgré leur spécificité d'action, ils peuvent hydrolyser toutes les liaisons peptidiques dans n'importe quelle chaîne d'acides aminés ;

— la dénaturation des protéines, due par exemple à la cuisson des aliments, rend plus accessible les liaisons peptidiques et facilite leur attaque par les protéases ;

— la présence de facteurs antiprotéases dans certains aliments (facteurs antitrypsiques dans les graines de soja et autres végétaux ainsi que dans le blanc d'oeuf) n'a que peu d'effets sur la digestibilité des protéines ; ces facteurs eux-mêmes de nature protéique sont détruits par traitement thermique.

La valeur biologique VB (en %) d'une protéine est une façon commode d'évaluer sa qualité nutritionnelle, c'est-à-dire sa capacité à fournir les AA indispensables dans des proportions adaptées aux besoins de l'organisme. La VB d'une protéine représente son utilisation métabolique par les cellules à des fins de synthèse pour renouveler les protéines corporelles :

— $VB = 100$ lorsque tous les AA indispensables de la protéine sont en proportions équilibrées correspondant à celles de l'organisme ;

— $VB < 100$ lorsqu'un AA indispensable s'y trouve en faible proportion (AA déficitaire = facteur limitant). La VB indique donc le pourcentage de la protéine (si elle est consommée seule) utilisé pour les synthèses protéiques alors que $(100 - VB)$ est le pourcentage restant catabolisé et utilisé à des fins énergétiques (17 kJ/g). La valeur biologique, évaluée par des mesures biologiques de rétention azotée suite à l'ingestion d'une protéine par des animaux de laboratoire (rats), est une valeur approximative, actuellement plus ou moins controversée. Elle permet cependant de classer les protéines et/ou les aliments en fonction de leur qualité nutritionnelle (tableau 5) :

— les protéines d'origine animale sont de bonne qualité et présentent une grande efficacité pour satisfaire les besoins protéiques chez l'homme ; cette caractéristique s'explique par leurs teneurs élevées en AA indispensables avec un profil voisin de celui de l'organisme humain ;

— les protéines d'origine végétale sont de moins bonne qualité car leurs teneurs en AA indispensables est moins élevée et leur profil s'éloigne davantage de celui de l'organisme humain. Les protéines de céréales sont connues pour leur déficit en lysine alors que celles de légumineuses sont plutôt déficitaires en AA soufrés.

II.5. Enzymes

Les enzymes sont des protéines globulaires dont l'activité catalytique est très étroitement dépendante de leur structure III.

En effet, pour jouer leur rôle, le contact entre l'enzyme et le(s) réactif(s) appelé(s) substrat(s) est indispensable au niveau d'une zone particulière de la protéine correspondant au centre actif de l'enzyme.

En fait au niveau de ce centre actif, un (des) site(s) de fixation du(des) substrat(s) permet(tent) de retenir brièvement celui-ci (ceux-ci) afin que le site catalytique de l'enzyme puisse transformer le(s) substrat(s) en produit(s).

La complémentarité de structure entre enzyme (E) et substrat (S), souvent illustrée par l'image de la serrure (= E) et la clé (= S), nécessite la mise en place d'une bonne conformation tridimensionnelle de la protéine dont la moindre perturbation altère l'efficacité catalytique.

Quant au site catalytique de l'enzyme, il s'agit généralement d'un groupement chimique à forte réactivité (souvent, il s'agit d'un noyau hétérocyclique) dont la bonne orientation par rapport au substrat est également tributaire de la structure III de la protéine.

Les enzymes sont parfois des holoprotéines mais le plus fréquemment ce sont des hétéroprotéines :

— chez les enzymes holoprotéiques, la macromolécule est uniquement constituée d'AA. C'est alors un groupement fonctionnel d'un résidu R d'acide aminé (par ex. noyau imidazole de His) qui joue le rôle de site catalytique ;

— dans les enzymes hétéroprotéiques, la partie protéique de la macromolécule est appelée apoenzyme alors que le groupement prosthétique organique est le coenzyme. Le coenzyme est souvent une vitamine ou un dérivé de vitamine et il intervient en tant que site catalytique ;

— enfin dans les métallo-enzymes (ce sont également des hétéroprotéines), la présence d'ions métalliques est indispensable pour le fonctionnement de l'enzyme.

Les enzymes sont regroupés en six classes correspondant aux six grands types de réactions (oxydoréductions, transferts de groupements, hydrolyses, additions ou scissions, isomérisations, ligations ou synthèses) catalysées dans la matière vivante. Par ailleurs, la plupart des enzymes restent au sein de la cellule pour catalyser l'ensemble des réactions constituant le métabolisme (endo-enzymes) mais certains enzymes sont sécrétés hors des cellules (exoenzymes).

Les enzymes digestifs évoqués dans cet article sont des exo-enzymes sécrétés dans le TD pour assurer la dégradation des macromolécules alimentaires par hydrolyse : ils appartiennent donc tous à la classe des hydrolases (classe 3). Mais, presque tous nos aliments sont d'origine biologique et possèdent donc une structure cellulaire ; leurs nombreux endo-enzymes (de toutes les classes) deviennent alors des protéines alimentaires banales dénaturées puis hydrolysées pour leur utilisation et dont la qualité nutritionnelle dépend de leur origine (animale ou végétale).

Chapitre III. Les lipides

III.1 Présentation

Partant de leur caractère hydrophobe, on distingue deux groupes de lipides aux fonctions biologiques distinctes.

Certains lipides sont constitués de molécules complètement apolaires : ce sont les lipides neutres. Au contraire, d'autres lipides ont une molécule bipolaire dont une extrémité reste attirée par l'eau : lipides amphiphiles.


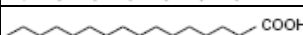

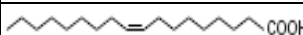
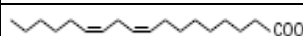
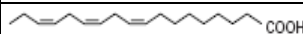
Sur le plan biologique, les lipides neutres sont des lipides de dépôt constituant des réserves énergétiques dans la matière vivante. Par contre, les lipides amphiphiles sont des lipides de constitution, permettant, par exemple, l'élaboration des membranes biologiques. La classification biochimique des lipides est la suivante :

— les lipides simples ou homolipides sont des lipides ternaires uniquement constitués de C, H, et O. Ce sont les lipides neutres. Les triacylglycérols (TAG) sont très majoritaires sur le plan alimentaire ;

— les lipides complexes ou hétérolipides sont constitués de C, H et O auxquels viennent s'adjoindre P et/ou N. Ces nouveaux atomes donnent des groupements polaires sur la molécule, conduisant ainsi aux lipides amphiphiles. Les phosphoglycérolipides (PGL) et les sphingolipides (SL) appartiennent à ce groupe ;

— les lipides isopréniques et isocanoïdes constituent un ensemble de molécules très diverses regroupées ici en raison de leur caractère hydrophobe : ce sont les substances lipoïdes.

Tableau : quelques acides gras naturels courants et leur structure chimique.

Nom commun	Dénomination symbolique	Nom officiel	Structure
Acide myristique	14 :0	n-tétradécanoïque	 COOH
Acide palmitique	16 :0	n-hexadécanoïque	 COOH
Acide stéarique	18 :0	n-octadécanoïque	 COOH
Acide oléique	18 :1(9)	cis-9 octadécanoïque	 COOH
Acide linoléique	18 :2(9,12)	cis-cis-9,12 octadécanoïque	 COOH
Acide α-linolénique	18 :3(9,12,15)	tout-cis-9,12,15 octadécanoïque	 COOH

3.2 Acides gras

Les acides gras sont des acides carboxyliques (R-COOH) dont le radical R est une chaîne hydrocarbonée plus ou moins longue qui confère à la molécule son caractère hydrophobe c'est-à-dire « gras ».

Les acides gras sont les molécules de base constitutives des principaux lipides alimentaires. Ils correspondent aussi aux nutriments lipidiques qui franchissent la barrière intestinale lors de l'absorption intestinale à l'issue de la digestion des lipides.

Les acides gras naturels peuvent être désignés par un nom systématique (nomenclature officielle de la chimie) ou par un nom courant indiquant l'origine biologique de l'acide gras. Une dénomination symbolique utilisée en biochimie permet de retrouver la structure chimique de l'acide gras.

Exemple : ainsi 18:1(9) correspond à l'acide oléique et indique le nombre de C (18) puis le nombre de doubles liaisons Δ (1) et enfin la position de Δ (9 c'est-à-dire entre C9 et C10) (tableau 2).

Acides gras saturés (AGS)

Les acides gras saturés naturels constituent une série continue d'acides gras à nombre pair de C allant de 4 à plus de 30 :

— les acides gras à chaînes courtes (de 4 à 10 C) sont surtout présents dans le beurre où l'acide butyrique est très majoritaire ;

— les acides gras à chaînes moyennes (de 12 à 18 C) et longues (20 C et plus) constituent les graisses et huiles d'origine animale et végétale. Les acides palmitique et stéarique sont très majoritaires et représentent les deux plus importants acides gras saturés alimentaires.

Les AGS naturels sont soit liquides, soit solides à la température ordinaire selon la longueur de leur chaîne hydrocarbonée. Tous les acides gras à chaînes courtes sont liquides à 37 °C alors que les autres acides gras sont solides (tableau 3).

Acides gras insaturés (AGI)

Les acides gras insaturés possèdent une double liaison (monoinsaturés AGMI) soit plusieurs (polyinsaturés AGPI). L'acide oléique est un AGMI très répandu ; il représente 70 à 80 % des acides gras contenus dans l'huile d'olive. Les acides linoléique et α -linolénique sont des AGPI importants surtout présents dans les graines oléagineuses à l'origine des huiles végétales.

Les AGI naturels courants sont liquides à la température ordinaire de 25 °C. On constate que la température de fusion d'un acide gras s'abaisse lorsque le nombre de doubles liaisons augmente (tableau 3).

Acides gras essentiels (AGE)

Les acides linoléique et α -linolénique sont des AGPI importants pour l'édification et le fonctionnement de l'organisme humain : ils sont dits essentiels. Ces deux AGPI ne peuvent être synthétisés par les cellules humaines et doivent être présents dans la ration alimentaire : ils sont donc indispensables. Cette incapacité de synthèse est liée à la mise en place des

doubles liaisons réalisée grâce à l'intervention d'enzymes appelés « désaturases » : il n'existe pas dans les cellules humaines de désaturases capables de positionner des doubles liaisons Δ au-delà du C9 alors qu'elles existent dans les cellules végétales et en particulier chez les plantes oléagineuses. En réalité, il existe douze AGE classés en deux séries de 6 (série n-6 et série n-3) dont les deux AGE ci-avant (seuls indispensables) sont les précurseurs : l'acide arachidonique est le principal représentant de la série n-6 ; les AGE de la série n-3 nommés EPA et DHA présents dans les poissons gras sont particulièrement connus (tableau 04).

Tableau 04 : Principaux acides gras naturels et leurs caractéristiques.

Nom commun	Symbole	T _f (°C)	Dig (%)	Nom commun	Symbole	T _f (°C)	Dig (%)
Butyrique	4 :0	-8	100	Palmitoléique	16:1(9)	1.5	
Caproïque	6 :0	-3.5	100	Oléique	18:1(9)	13.5	84
Caprylique	8 :0	16.5	100	Erucique	22:1(13)	34.5	53
Caprique	10 :0	31.5	100	Nervonique	24:1(13)	42.5	14
Laurique	12 :0	43.5	88	Linoléique	18:2(9,12)	-5	90
Myristique	14 :0	54	66	A-linolénique	18:3(9,12,15)	-11	96
Palmitique	16 :0	63	48	γ -linolénique	18:3(6,9,12)		
Stéarique	18 :0	70	25	Arachidonique	20:4(5,8,11,14)	-45.5	
Arachidique	20 :0	75		Eicosapentaénoïque ou EPA	20:5(5,8,11,14,17)		
Béhénique	22 :0	80	7	Docosahexaénoïque ou DHA	20:6(4,7,10,13,16,19)		
Lignocérique	24 :0	84					
Cérotique	26 :0	87					

T_f température de fusion.

Dig. Digestibilité.

3.3 Acylglycérols et autres lipides ternaires

Triacylglycérols (TAG)

Le glycérol est un trialcool dérivé du propane portant une fonction alcool sur chaque carbone (CH₂OH-CHOH-CH₂OH). À l'état pur, ce produit est un liquide plus dense que l'eau (densité de 1,26) sirupeux et très soluble dans l'eau.

Dans les triacylglycérols, trois molécules d'acides gras estérifient chaque fonction alcool du glycérol ; les molécules d'acides gras peuvent être identiques (TAG simple ou homogène) mais le plus fréquemment elles sont différentes (TAG mixte ou hétérogène). Ainsi la figure 1 montre la formule chimique d'un TAG hétérogène dont le nom officiel dépend de la composition en acides gras.

Les TAG constituent l'essentiel des lipides neutres formant des dépôts et inclusions dans le cytosol des cellules et représentant ainsi des réserves. On les rencontre en particulier dans les fruits et graines oléagineuses (olive, tournesol, colza, arachide). Les mammifères et l'homme réalisent leur stockage dans un tissu spécialisé, le tissu adipeux ; outre son rôle de

réserve énergétique, ce tissu joue un rôle de protection et d'isolant thermique dû à sa localisation privilégiée dans la couche sous-cutanée de la peau.

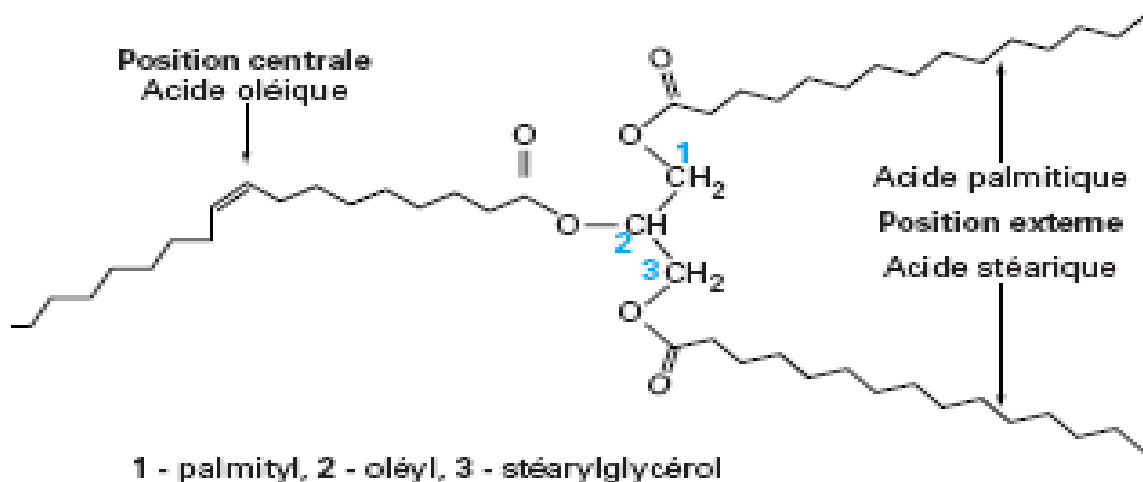


Figure : Structure d'un TAG hétérogène : formule chimique et nomenclature.

La dénomination des corps gras alimentaires ne dépend pas de leur origine (animale ou végétale) mais est établie sur la base de leur état (solide ou liquide) à la température ordinaire (25 °C) :

— les graisses sont les corps gras concrets (solides) à la température ordinaire (25 °C) : c'est le cas des graisses d'oie (Tf = 30 °C) et de porc (saindoux, Tf = 40 °C) mais également le cas de corps gras végétaux appelés à tort « huiles » telle que l'huile de coprah (végétaline) ;

— les huiles sont les corps gras fluides (liquides) à la température ordinaire (25 °C) : les huiles courantes sont d'origine végétale (olive, arachide, tournesol) mais il existe des huiles de poissons ;

— les beurres sont des corps gras dont la température de fusion est située aux environs de 25 °C ; le beurre est un concentré à 82 % de matière grasse laitière, et le beurre de cacao est également connu.

L'état concret ou fluide des corps gras dépend directement de la composition en acides gras de ces produits. Il existe au moins 50 % d'AGS dans les graisses alors que les huiles renferment plus de 80 % d'AGI.

Diacylglycérols (DAG) et monoacylglycérols (MAG)

Il s'agit des diesters ou monoesters d'acides gras et de glycérol. Ce sont des produits de dégradation des TAG en particulier lors de leur digestion : ainsi les 2-monoacylglycérols (2-MAG) sont produits lors de l'hydrolyse enzymatique des TAG par la lipase pancréatique. Les MAG et DAG sont aussi des additifs alimentaires, agents émulsifiants (E 471 et E 472)

utilisés dans de nombreux produits : margarines, crèmes glacées, matières grasses composées, etc.

Stérides et cérides

Ce sont des lipides ternaires, monoesters d'acides gras avec des alcools autres que le glycérol : cholestérol pour les stérides, alcools gras pour les cérides.

3.4 Phosphoglycérolipides et sphingolipides

Les phosphoglycérolipides sont des DAG dont la fonction alcool en C3 est estérifiée par de l'acide phosphorique pour obtenir l'acide phosphatidique ; un amino-alcool (ex. : choline) estérifie une seconde fonction acide de l'acide phosphorique pour obtenir la phosphatidylcholine). La lécithine, la plus connue des phosphatidylcholines, est en quantité importante dans le jaune d'œuf.

Les sphingolipides sont des lipides dans lesquels la sphingosine (molécule à 18 C possédant deux fonctions alcools en C1 et C3 et une fonction amine en C2) est reliée en C2 par une liaison amide à un acide gras et est complétée au niveau de C1 soit par de la phosphorylcholine (sphingomyélines), soit par des résidus glucidiques (glycosphingolipides).

3.5 Substances lipoides (insaponifiable)

Les lipides isopréniques, dont toutes les molécules sont dérivées de l'isoprène (2-méthyl 1,3 butadiène = C₅H₈), regroupent les stérols et les vitamines liposolubles. Parmi ces lipides, le cholestérol (figure 2) présent dans les corps gras d'origine animale (beurre, jaune d'oeuf, etc.) est très connu.

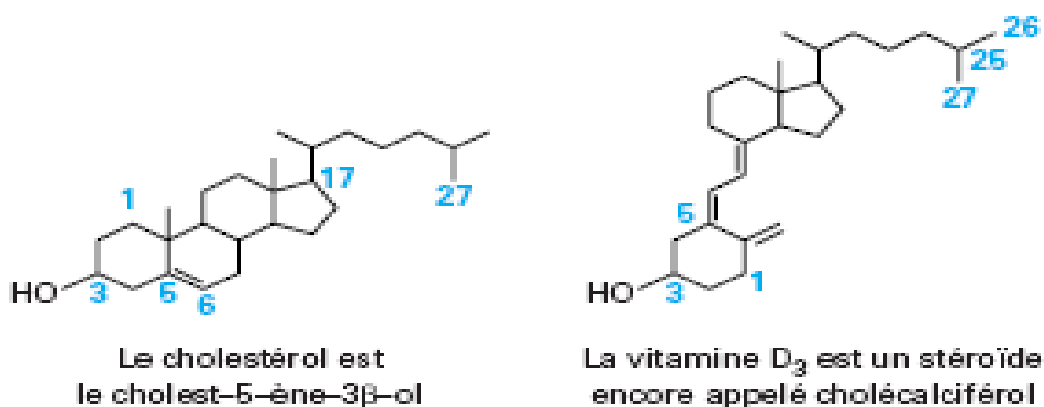


Figure : Formule chimique du cholestérol et d'un stéroïde dérivé : la vitamine D₃.

Les lipides icosanoïdes sont dérivés de l'acide arachidonique et constituent un groupe important de médiateurs chimiques oxygénés (prostaglandines, prostacyclines, thromboxanes, leucotriènes). Contrairement aux lipides des autres groupes, ces lipides, sans liaison ester, ont en commun la propriété de ne pas être altérés par un traitement alcalin de saponification d'où le terme d'insaponifiable également utilisé pour les qualifier.

3.6 Utilisation nutritionnelle des lipides

Les lipides présents dans les aliments existent sous deux formes dont il convient de prendre conscience sur le plan nutritionnel :

- d'une part, ils sont présents naturellement dans bon nombre d'aliments courants : ce sont les corps gras invisibles présents dans le lait, les viandes, l'oeuf, les olives, les noix, etc. ;
- d'autre part, ils sont introduits dans les aliments lors de leur préparation et/ou consommation : ce sont les corps gras ajoutés appelés communément corps gras alimentaires : graisses, beurres et huiles.

La digestibilité des lipides et en particulier l'absorption intestinale des acides gras dépend essentiellement de deux paramètres :

- seuls les acides gras libres liquides à la température corporelle sont bien absorbés au niveau intestinal (voir digestibilité Dig. Dans le tableau 3) ; par contre, tous les acides gras sous forme de 2-MAG sont complètement absorbés ;
- la lipase pancréatique ne peut hydrolyser que les liaisons esters en position externe sur un TAG : la digestion des TAG conduit donc à un mélange de 2-MAG et d'AGL dont l'absorption intestinale peut être très variable selon les critères indiqués précédemment.

Enfin, les acides gras sont des substances très concentrées en énergie et ce sont aussi, paradoxalement, des réserves d'eau endogène importantes. En effet, leur oxydation au cours de leur utilisation métabolique génère beaucoup d'énergie et d'eau :

- valeur énergétique : 38 kJ/g ;
- production d'eau endogène : 107 g eau /100 g.

L'apport lipidique

Les lipides sont les nutriments constitutifs des corps gras ; ce sont des molécules hétérogènes insolubles dans l'eau (triglycérides, phospholipides, cholestérol, vitamines liposolubles).

La grande majorité des lipides est constituée par des triglycérides vecteurs des acides gras qui eux sont composés de chaînes d'atome de carbone où se fixent des atomes d'hydrogène.

Il y a des acides gras saturés (toutes les liaisons hydrogène sont occupées) et les acides gras insaturés (il reste des liaisons hydrogène libres). Certains acides gras polyinsaturés ont été reconnus comme essentiels car l'organisme humain ne peut pas les synthétiser. Ils appartiennent à deux familles chimiques définies par la position de la première double liaison dans la molécule :

- la famille n6 (ou oméga 6) qui a pour chef de file l'acide linoléique ;

— la famille n3 (ou oméga 3) qui a pour chef de file l'acide linoléique.

Les acides gras essentiels ont des effets bénéfiques sur le développement du système nerveux, la fonction plaquettaire, la fonction reproductive, la fonction épidermique, le système immunitaire et la réponse inflammatoire.

L'acide oléique (acide gras monoinsaturé de l'huile d'olive) n'est pas un acide gras essentiel, mais son rôle préventif vis-à-vis des maladies cardio-vasculaires, fait que sa consommation a été fortement encouragée.

Les lipides ont un rôle essentiellement énergétique ; stockés sous forme de triglycérides dans la masse grasse, ils assurent les réserves énergétiques de l'organisme. Dans les pays industrialisés, ils sont souvent pris en excès (plus de 35 % de la ration calorique totale) principalement sous forme d'acides gras saturés. Il est conseillé de répartir l'apport lipidique en :

- lipides apportés par des acides gras saturés (1/4) ;
- lipides apportés par des acides gras monoinsaturés (1/2) ;
- lipides apportés par des acides gras polyinsaturés (1/4).

Il existe deux grandes sources de lipides alimentaires :

— les aliments et leurs dérivés contenant des lipides constitutionnels comme les aliments carnés, le jaune d'œuf et les produits laitiers, riches en acides gras saturés et en cholestérol ; ou comme les poissons gras, riches en acides gras polyinsaturés de la famille n3, et les oléagineux (noix, olives, amandes) riches en acides gras monoinsaturés et polyinsaturés;

— les huiles et matières grasses alimentaires extraites de produits bruts et utilisés couramment pour la cuisson et l'assaisonnement ou pour tartiner. Ce sont des sources concentrées de lipides.

Les huiles contiennent toutes 100 % de lipides, elles ont donc toutes la même valeur calorique.

On trouve majoritairement :

- les acides gras monoinsaturés dans les huiles de colza, d'arachide et d'olive ;
- les acides gras polyinsaturés dans les huiles de tournesol, de soja et de noix ;
- les acides gras saturés dans le beurre et le saindoux.

Rôle des huiles végétales

Les huiles végétales remplissent quatre rôles principaux :

- nutritionnel : apport d'énergie et de nutriments (acides gras, vitamines liposolubles, constituants mineurs d'intérêt tels que les phytostérols ou les composés phénoliques pour l'huile d'olive) ;
- organoleptique (flaveur et support d'arômes) ;
- rhéologique (texture) ;
- technologique (fluide de transfert de chaleur, par exemple dans les utilisations en friture).

Elles sont principalement composées de triglycérides (90 à 99 %) eux-mêmes essentiellement constitués d'acides gras (90 à 95 %) et de glycérol (3 à 5 %), et de constituants mineurs naturels (1 à 5 %) regroupant des composés de structure variées tels que les stérols, tocophérols, caroténoïdes ou phospholipides (0,1 à 0,2 %).

Composition en acides gras

Les huiles végétales peuvent ainsi être regroupées en fonction de la nature de leurs acides gras majoritaires (ou spécifique) : huiles oléiques, linoléiques ou α -linoléniques.

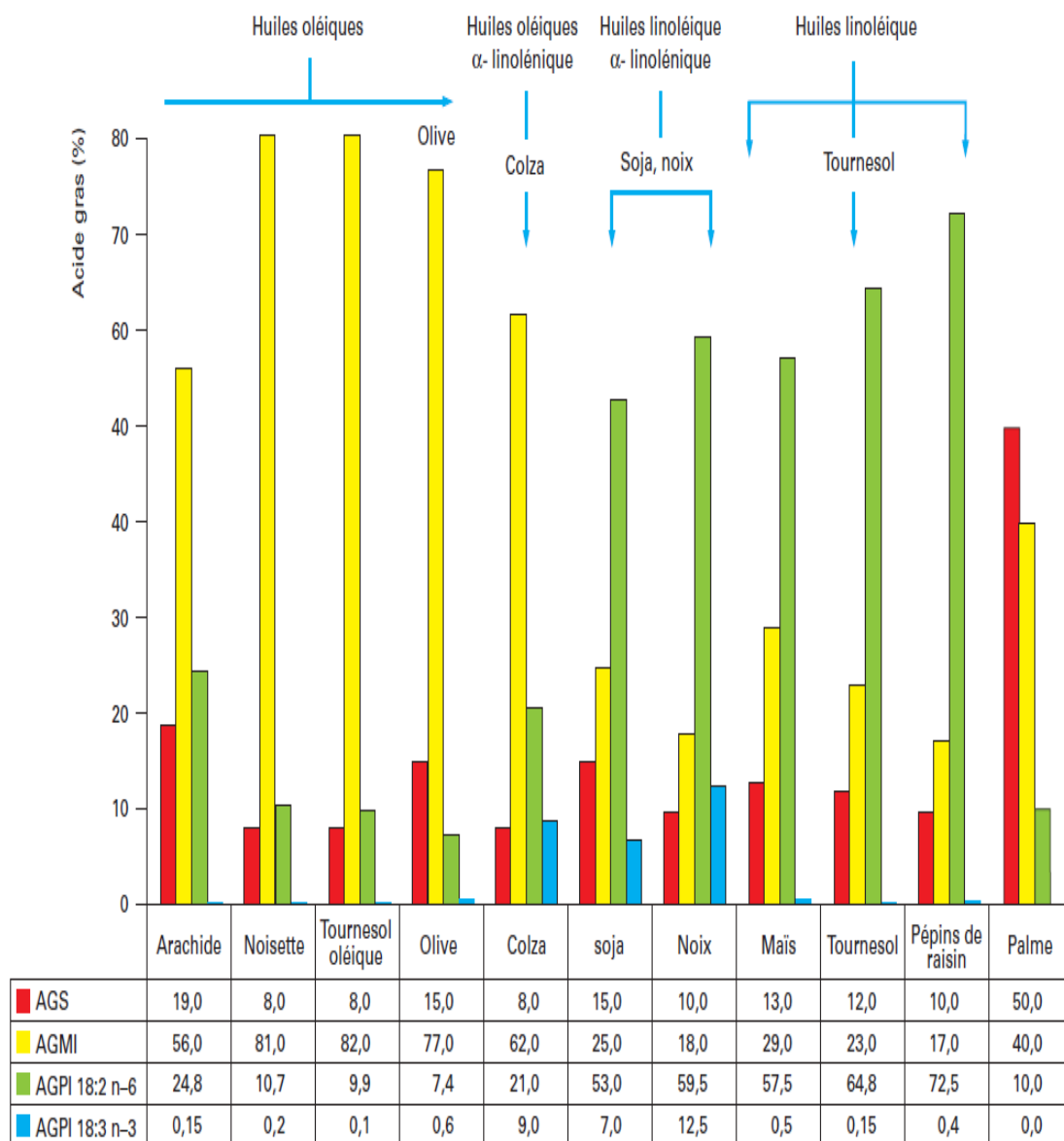
La figure suivante présente les principales huiles végétales selon cette classification :

- les huiles oléiques (AGMI) : olive, colza, tournesol oléique... avec des pourcentages relatifs en acide oléique compris entre 55 et 85 % ;
- les huiles linoléiques (AGPI, C18 :2) telles que le tournesol ; les huiles de ce groupe ont des pourcentages relatifs en acide linoléique compris entre 55 et 75 % ;
- les huiles α -linoléniques (AGPI, C18 :3) telles que le colza ; ces huiles ont des pourcentages relatifs en acide α -linoléique compris entre 7 et 13 % environ selon les huiles.

L'acide α -linoléique n'est pas le composant majoritaire mais l'acide gras caractéristique de ces huiles. Celles-ci se différencient entre elles selon leur acide gras majoritaire : l'acide oléique pour le colza par exemple, l'acide linoléique pour les autres.

En matière d'acides gras saturés, les huiles végétales citées ici en contiennent peu : en général de 8 à 15 %. Parmi les huiles végétales, les huiles à plus forte teneur en acides gras saturés (arachide ou palme) font exception.

Le rapport $\omega 6/\omega 3$ des huiles varie évidemment en fonction de leur composition en acides linoléique et α -linoléique. Sur la base des recommandations nutritionnelles actuelles plaçant l'optimum de ce ratio aux environs de 5, les huiles du groupe α -linoléique telle que l'huile de colza dont le ratio est de 2 à 3 par exemple sont particulièrement intéressantes pour leur contribution à équilibrer la ration lipidique.



Classement des principales huiles végétales par catégorie d'acides gras (saturés, mono-insaturés et polyinsaturés)

3.3. Modification des propriétés des lipides alimentaires

La législation autorise l'industrie des corps gras à pratiquer trois traitements : l'hydrogénation, la transestérification et le fractionnement. Ces traitements permettent d'apporter des propriétés spécifiques aux matières grasses et favorisent leur interchangeabilité dans les applications alimentaires et industrielles.

L'hydrogénation et la transestérification entraînent des modifications chimiques. Le fractionnement est un procédé physique ; il est utilisé pour séparer plus ou moins complètement les parties fluides des parties solides à une température donnée.

3.3.1. Hydrogénation

L'hydrogénation consiste à saturer au moyen d'hydrogène tout ou partie des doubles liaisons des acides gras insaturés.

Dans le cas d'une hydrogénation sélective, la teneur en acides gras polyinsaturés de certaines huiles végétales va être réduite et leur stabilité à l'oxydation en sera augmentée. Elle s'applique aux huiles particulièrement sensibles à l'oxydation et à la chaleur et contenant, comme l'huile de colza et de soja, un pourcentage relativement élevé d'acides linoléiques. Ce traitement provoque une certaine isomérisation des acides gras insaturés et favorise de ce fait la formation d'isomères trans. Le choix de bonnes conditions expérimentales (catalyseur, température, pression) permet de limiter la production des isomères (Figure 16).

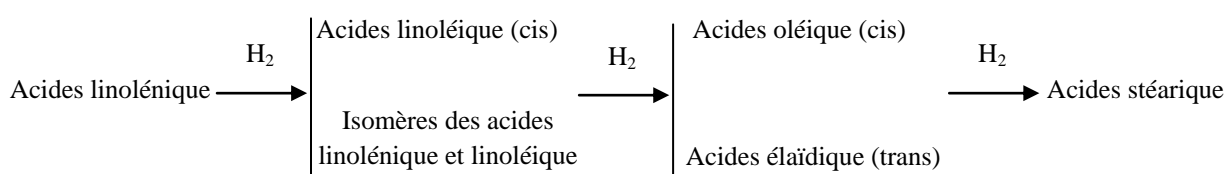


Figure 16 : étapes d'hydrogénation de l'acide linoléique

L'hydrogénation non sélective a pour but la préparation de matières grasses solides pour la fabrication par exemple de margarines. Ce type d'hydrogénation vise à saturer dans une forte proportion et parfois même totalement les doubles liaisons des acides gras insaturés. Ce type de réaction, lorsqu'elle n'est pas totale, favorise également la formation d'isomères, notamment trans, ce qui contribue à augmenter encore le point de fusion.

Du point de vue pratique, l'hydrogénation est effectuée, d'une façon générale en discontinu, en faisant passer de l'hydrogène très pur en présence d'un catalyseur (sel de cuivre ou de nickel) sur un corps gras porté entre 150 et 200°C. Les paramètres tels que la température, la pression, la vitesse d'injection de l'hydrogène, la nature et la concentration du catalyseur varient avec le type de l'hydrogénation.

Si l'hydrogénation stabilise le corps gras vis-à-vis de l'oxydation et modifie son comportement lors de cristallisation, elle entraîne toutefois une baisse de la valeur nutritionnelle par suite de la transformation d'une partie ou de la totalité des acides gras polyinsaturés et des pigments caroténoïdes éventuellement présents.

3.3.2. Transestérification

La transestérification vise à modifier la structure glycéridique des matières grasses par réarrangement intra-et intermoléculaire des acides gras sur le glycérol (Figure 17).

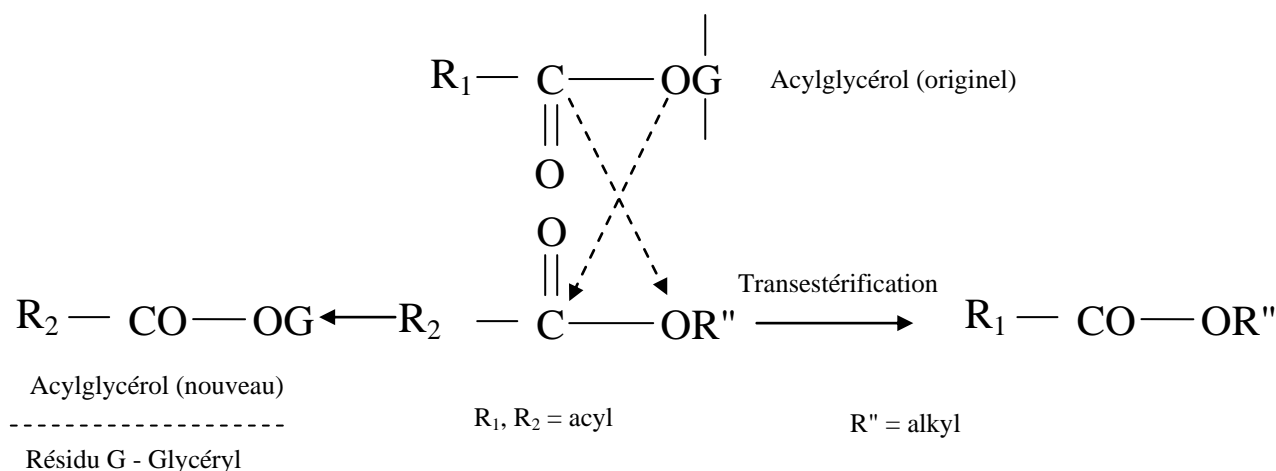


Figure 17 : Réactions de la liaison ester

Ce réarrangement moléculaire peut intervenir soit sur un seul corps gras, soit sur un mélange de deux ou plusieurs corps gras. De ce fait, on réalise que de très nombreuses combinaisons de transestérification sont possibles.

Comme la redirection des chaînes d'acides gras sur les trois fonctions hydroxyles des molécules de glycérol se fait selon une loi statistique, il est possible de prévoir la composition en divers triacylglycérols du mélange final à l'équilibre. C'est le résultat obtenu dans le cas d'une **transestérification au hasard**.

Ainsi, grâce à cette technique de transestérification non dirigée, on peut préparer une margarine, avec de l'huile de tournesol et de l'huile de palme, totalement hydrogénée qui a l'avantage de ne pas contenir d'acides gras trans.

Dans le cas d'une **transestérification dirigée** qui est moins répandue, on s'arrange, en baissant la température par exemple, pour favoriser le changement d'état liquide/solide, en faisant précipiter en continu les triacylglycérols à haut point de fusion ; ainsi, on déplace l'équilibre et de proche en proche, on arrive au mélange souhaité. Ce traitement permet d'obtenir à partir du saindoux, des graisses utilisables pour la préparation de crèmes glacées, de pâtisserie.

La transestérification qui s'effectue en présence de catalyseurs comme l'éthylate ou méthylate de sodium à une température comprise entre 100 et 160°C, peut –par suite du changement de position des acides gras sur le glycérol- modifier la biodisponibilité des acides gras essentiels qui est maximale.

3.3.3. Fractionnement

Le fractionnement a pour but de réaliser une séparation entre les constituants des huiles et des graisses qui ont un point de fusion élevé (acylglycérols riches en acides gras saturés) et ceux qui ont un point de fusion faible.

Cette opération permet donc :

➤ Soit d'obtenir de nouveaux produits (fraction liquide, fraction solide) possédant des propriétés techno-fonctionnelles différentes du produit d'origine.

➤ Soit d'éliminer des constituants à haut point de fusion qui, à l'état de traces ou de faibles pourcentages, peuvent altérer les propriétés organoleptiques. Par exemple, le fractionnement du saindoux ou du suif légèrement hydrogénés permet l'obtention d'une fraction fluide de qualité supérieure au produit d'origine et utilisable en quantités plus importantes dans les margarines ou encore, la même opération sur l'huile de tournesol permet l'élimination des cires à point de fusion très élevé, que les huiles naturelle contiennent, et ainsi d'obtenir des huiles pouvant rester limpides à la température du réfrigérateur. La cristallisation fractionnée de la matière grasse laitière anhydre permet d'obtenir des fractions aux propriétés adaptées à de multiples usages. C'est par ce biais que l'on produit du beurre tendre.

Au stade industriel, il existe essentiellement la cristallisation fractionnée, qui a trouvé un large champ d'application, consiste à cristalliser une partie de la fraction solide et à réaliser la séparation solide/liquide. On peut effectuer ainsi, plusieurs fractionnements successifs obtenant à chaque stade deux fractions différentes par leur point de fusion. Dans un second stade, la fraction fluide de la première cristallisation peut également être soumise à une nouvelle cristallisation suivie d'une nouvelle séparation et ainsi de suite. C'est par procédé –après trois fractionnement- que l'on fabrique le meilleur équivalent de graisse de cacao à partir de l'huile de palme.

3.3.4. Biofractionnement

La réaction d'hydrolyse par les lipases est réversible. Le facteur fondamental influant sur cette réversibilité est le pourcentage d'eau ou plus exactement l'activité thermodynamique de l'eau (a_w). En vertu de la loi d'action de masse, un pourcentage d'eau élevé (supérieur à quelques pourcent) provoque l'hydrolyse. Un pourcentage d'eau faible et, si possible, contrôlé favorisera la synthèse, la transestérification ou l'interestérification.

Ainsi, si l'on incube un ou plusieurs acylglycérols et un ou plusieurs acides gras en présence d'une lipase, il se produit un échange entre les acides gras libres jusqu'à l'obtention d'un équilibre, la répartition du ou des acides gras libres se faisant au hasard sur le glycérol. Toutefois, avec le choix d'une lipase spécifique –du type par exemple 1-3 seules les positions 1 et 3 sont modifiées- la transestérification est sélective.

De même, si l'on incube un mélange d'acylglycérols différents en présence d'une lipase, les acides gras s'échangent d'un acylglycérol à l'autre jusqu'à l'obtention de l'équilibre, c'est l'interestérification. Là encore une lipase spécifique permet de choisir les acylglycérols que l'on veut produire. De plus, les produits annexes de la réaction sont

beaucoup moins nombreux que dans l'interestérification chimique, ce qui facilitera la purification.

3.4. Les huiles

Les huiles d'animaux marins

Les graisses de baleines ont pratiquement disparu du fait de la protection de ces mammifères marins et de l'existence d'équivalents dans le règne végétal. On consomme encore les huiles de poissons, co-produits de la pêche. Ces huiles sont intéressantes sur le plan nutritionnel car elles contiennent de l'EPA (acide eicosapentaénoïque – C_{20:5}) et du DHA (acide docosahexaénoïque – C_{22:6}).

Les huiles végétales

Elles sont très employées dans l'alimentation, surtout dans les pays de faibles production laitières. Au point de vue de leur composition, on peut ainsi les classer :

1. Huiles saturées

Huile de coprah	90%
Huile de palme	50%
2. Huiles riches en acides saturés et en acides oléique

Huile d'arachide	19 et 50%
Huile d'olive	14 et 75%
3. Huiles riches en acides polyinsaturés

Huile de carthame	75% (saturés 10%),
Huile de noix	72% (saturés 10%),
Huile de pépins de raisin	69% (saturés 13%),
Huile de tournesol	66% (saturés 12%),
Huile de soja	63% (saturés 13%).
4. Huiles intermédiaires

Nouvelle huile de colza	(saturés 7%, oléique 60%, polyinsaturés 29%).
-------------------------	---

La composition a de l'importance en ce qui concerne la stabilité thermique de l'huile. Les huiles contenant plus de 2% d'acide linoléique ne peuvent être employées pour la friture, car ce composant s'oxyde facilement en donnant des produits irritants et suspectés d'être mutagène ; elles ne doivent servir qu'à l'assaisonnement (colza, soja, noix) ou aux cuissons légères à moins de 150°C (tournesol, maïs). L'huile de palme est l'huile de friture la plus employée en collectivité et en friture industrielle, c'est le tournesol dans les ménages ; en Espagne, c'est l'huile d'olive raffinée la plus utilisée. Ainsi les huiles de friture, qui sont destinées à permettre la cuisson jusqu'à 200°C, doivent résister à l'oxydation et à la

polymérisation ; à cette fin elles doivent être très pauvres en acides linoléiques. Les huiles à friture industrielle sont des huiles hydrogénées. Il faut également qu'elles ne contiennent ni acides gras libres, ni mono- ou diglycérides, substances qui se décomposent vers 200°C avec production de fumée et de composés à odeur âcre, comme par exemple l'acroléine. Le point de fumée est normalement supérieur à 200°C dans le cas d'une huile correctement raffinée.

Par ailleurs, les graisses et huiles dont la teneur en composés polaires est supérieure à 25% sont impropres à la consommation humaine. Ce texte s'applique dans de nombreux pays européens.

Margarine et graisses émulsifiées

La margarine est constituée principalement d'une émulsion entre une phase grasse (phase continue) et une phase aqueuse (phase dispersée).

Inventée en 1869 par Mège-Mouriès, la margarine était préparée à l'origine avec des graisses animales émulsionnées avec de l'eau et du lait ou de la crème. Par la suite, les graisses végétales, coprah, palme et palmiste ont pris une place de plus en plus grande dans la formulation de la phase lipidique des margarines. Actuellement, elles sont obtenues à partir de matières grasses variées allant des huiles hydrogénées de poisson aux huiles végétales plus ou moins hydrogénées.

La phase grasse représente la partie la plus importante de l'émulsion, soit 82 à 84 % dans les margarines traditionnelles d'aspect proche du beurre et 60 % seulement dans les margarines dites « allégées ».

Selon les usages, il existe différents types de margarines : margarine pour usage domestique, pour l'industrie alimentaire, margarines dites « basses calories » encore appelées pâtes à tartiner, graisses émulsifiables (ne contiennent pas d'eau mais peuvent contenir un émulsifiant). Les compositions changent également en fonction de la réglementation.

Encore suivant la composition de la matière grasse (choix du mélange de corps gras, caractère hydrogéné, fractionné, ou interestérifié de tout ou partie des matières premières), il est possible de formuler une large gamme de margarines à usages spécifiques (par exemple margarine frigo-tartinable, margarine pour pâtisserie...).

La fabrication de la margarine comprend la préparation des phases aqueuse et grasse, leur émulsification, la cristallisation de l'émulsion dans des tubes refroidisseurs à surface raclée et enfin le conditionnement en barquette, boîte ou en pain.

Autres nutriments : tocophérols, phytostérols, composés phénoliques, caroténoïdes

➤ Tocophérols

La vitamine E est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols (4 principaux : α , β , γ , et δ) :

L' α -tocophérol est le plus fréquent dans la nature et le plus actif biologiquement ; les β - et γ -tocophérols ont une activité vitaminique réduite (respectivement 30 et 15 % environ de l'activité de la forme α) ; le δ -tocophérol est pratiquement inactif. C'est pourquoi il est convenu d'exprimer la teneur en vitamine E en α -tocophérol équivalent (α -TE).

Au sein de l'organisme, l' α -tocophérol (vitamine E) est un puissant antioxydant capable de neutraliser les radicaux libres, jouant ainsi un rôle significatif de protection des membranes cellulaires (système nerveux, muscle, myocarde), des globules rouges (longévité), des revêtements des vaisseaux sanguins, de la peau et des acides gras essentiels ou indispensables précurseurs des prostaglandines.

Parmi les sources alimentaires de tocophérols, les huiles végétales ont la première place et la plupart sont dites « naturellement riches » en cette vitamine, puisque 100 kcal (soit 11 g) de ces huiles apportent plus de 1 mg de vitamine E : le tournesol figure parmi les plus riches (45 à 100 mg de vitamine E pour 100 g d'huile).

➤ Phytostérols

Toutes les huiles végétales contiennent des phytostérols (en moyenne de 0,1 à 0,5 %) qui présentent une analogie de structure avec le cholestérol. Cette propriété leur confère, quand ils sont apportés en quantité suffisante dans la ration alimentaire (2 à 3 g/j), un rôle hypocholestérolémiant car, vis-à-vis de l'absorption intestinale, ils entrent alors en compétition avec le cholestérol alimentaire, conduisant à une absorption moindre de ce dernier.

➤ Composés phénoliques

Ces constituants, encore appelés « biophénols », sont des substances naturelles aux importantes propriétés antioxydantes, présentes dans les huiles d'olive vierges.

➤ Caroténoïdes

Pigments lipophiles sensibles aux rayons ultraviolets et à la chaleur, les caroténoïdes et plus particulièrement le trans- β -carotène, sont des précurseurs de la vitamine A. Les huiles végétales non raffinées en contiennent en général de faibles quantités (≈ 10 mg/100 g). Les caroténoïdes sont en grande partie éliminés au cours du raffinage.

Chapitre 4 : ETUDE DES POLYSACCHARIDES

Introduction

Les glucides sont des composés organiques naturels ou artificiels constitués principalement de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Ils sont également appelés " Hydrate de carbone " à cause de leur formule brute : $C_n(H_2O)_n$. La littérature anglo-saxonne utilise le terme de " Carbohydrates ". Certains glucides, solubles dans l'eau possèdent un goût sucré et sont appelés : Sucres. Cependant, il faut noter qu'ils existent des substances qui ont un pouvoir sucrant plus élevé que les glucides sucrés mais ce ne sont pas des glucides. Ces substances sont appelées des édulcorants.

Les glucides constituent le groupe des composés organiques les plus abondants dans la nature. Synthétisés essentiellement par les végétaux, ils constituent pour les organismes hétérotrophes, une source énergétique de premier ordre.

Les glucides sont classés en deux grandes catégories : oses et osides. Les oses (ou monosaccharides) sont les composés les plus simples des glucides. La combinaison de plusieurs oses conduit à la formation d'un oside (ou saccharide). Ces derniers sont aussi divisés en deux groupes : les holosides et les hétérosides. Les diholosides (ou disaccharides) et les polyholosides (ou polysaccharides) qui sont les glucides les plus important en industries agroalimentaires appartiennent au premier groupe.

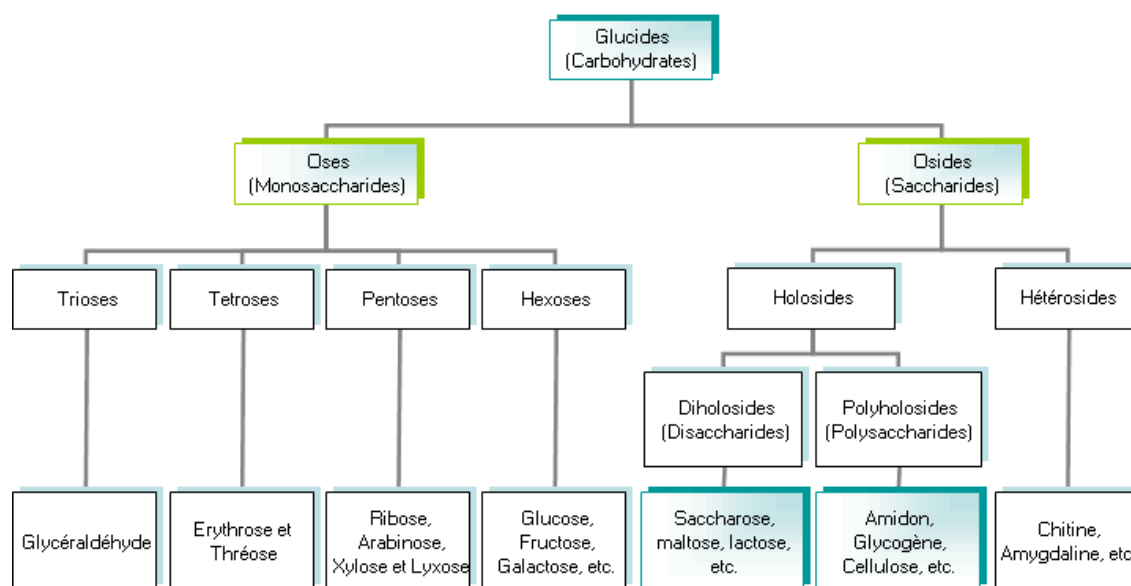


Figure 1 : Classification des glucides

Dans leurs réactions chimiques, les glucides font intervenir deux fonctions principales : le groupe carbonyle (aldéhyde ou cétone) et la fonction alcool. Les principaux glucides sont le saccharose (ou sucre), l'amidon, la dextrine, la cellulose et le glycogène, substances qui constituent une part importante de l'alimentation de l'homme et de nombreux animaux.

Cellulose

La cellulose est le polysaccharide le plus abondant dans le règne végétale. En effet, plus de 50% du carbone végétal est sous forme de cellulose. Si le bois ne contient que 40 à 50% (par rapport au poids sec) de cellulose, les fibres végétales en sont beaucoup plus riche ; c'est le cas par exemple du coton qui est constitué presque de 90% (de sa masse totale) de cellulose.

Comme tous les polysaccharides, la cellulose est un polymère de glucose. Elle est formée de longues chaînes linéaires de glucoses liés les uns aux autres. Par contre, les liaisons entre les glucoses sont différentes de celles de l'amidon ou du glycogène : ces liaisons bêta 1-4 ne peuvent pas être brisées par les sucs digestifs de la plupart des animaux. Résultat, on ne peut pas digérer la cellulose. Celle-ci parcourt tout le tractus digestif et ressort intacte à l'autre bout. Cependant, certains herbivores abritent aussi dans leur intestin des colonies de bactéries pouvant digérer pour eux une partie de la cellulose qu'ils consomment. Les enzymes responsable de cette hydrolyse est appelée cellulase.

La cellulose est douée d'une grande résistance mécanique et inertie chimique : insoluble dans l'eau et dans les solvants organiques. Les alcalis et acides dilués n'ont aucune action sur la cellulose même à chaud. Cette résistance à l'action des alcalis et des acides constitue la base de séparation de la cellulose dans un mélange de polysaccharides.

Cependant, la cellulose est soluble dans la liqueur de SCHWITZER (solution ammoniacale d'hydroxyde cuivrique). Cette propriété est à la base de la fabrication des fibres artificielles : la cellulose attaquée par la liqueur de SCHWITZER donne une solution colloïdale qui est précipitée sous l'action d'acides, bases ou sels et donne "la soie du cuivre".

La cellulose est hydrolysée par les acides concentrés à chaud. Suivant l'acide utilisé, cette hydrolyse peut être totale (H_2SO_4) ou partielle (HCl). Dans le premier cas on obtient du glucopyranose et dans le deuxième cas on obtient du cellubiose, cellotriose et des homologues supérieurs.

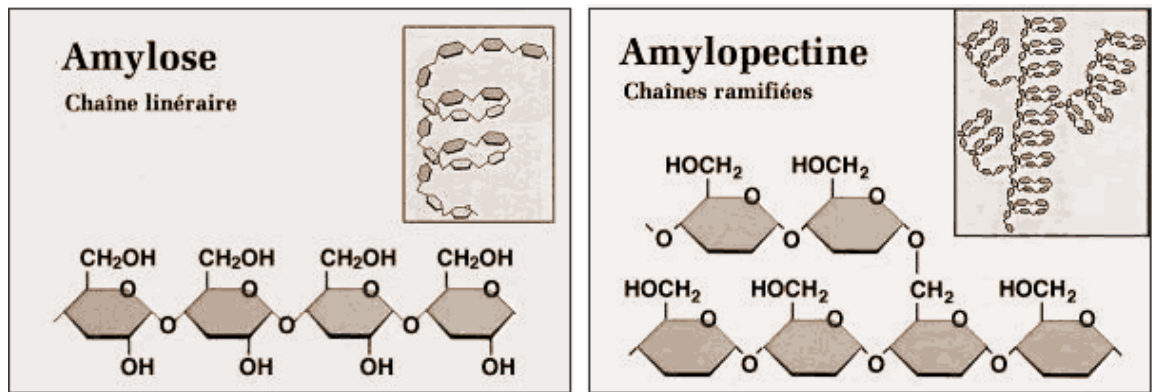
La cellulose est utilisée à divers fins : industrie du textile, papeterie, industrie des explosifs (nitro-cellulose), industrie des matières plastifiantes (acétate de cellulose), etc. Il constitue également une part importante de ce qu'on appelle les fibres alimentaires (parties non digestibles des aliments) et joue par conséquent un rôle important dans l'alimentation humaine.

Amidon

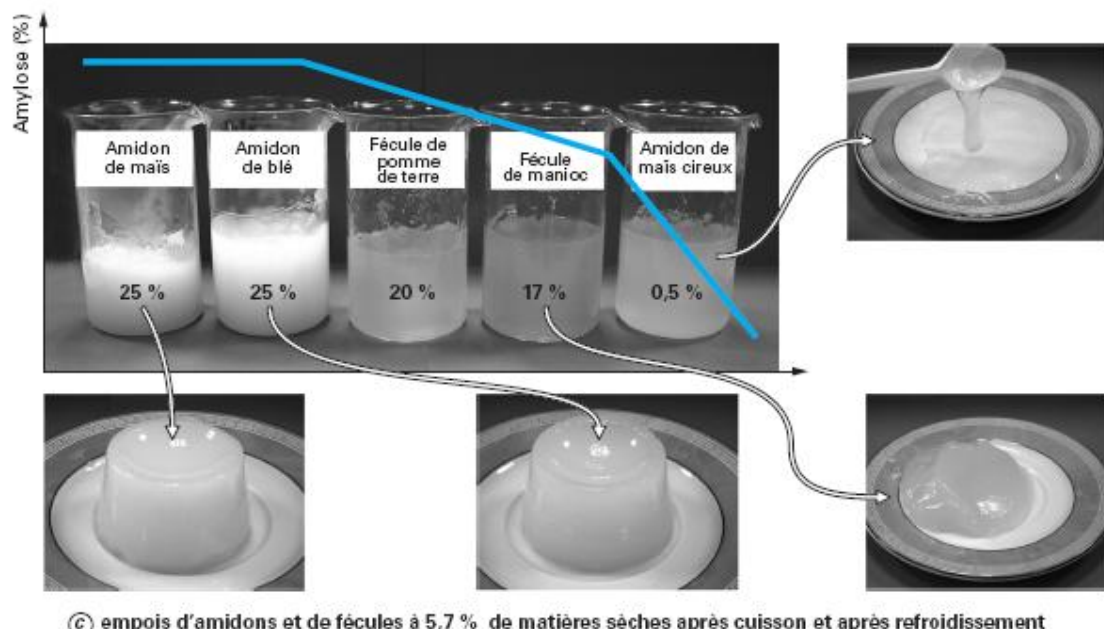
L'amidon est le sucre de réserve des plantes. C'est à dire que sous cette forme que les plantes mettent en réserve leurs surplus de glucose. On retrouve de l'amidon surtout dans les racines, les graines et les fruits. L'amidon est particulièrement abondant dans les céréales (riz, blé, maïs, etc.) et les tubercules (pommes de terre). C'est une matière première importante en industrie : industrie des céréales, amidonnerie-glucoserie, industrie de fermentation, industrie des colles et textiles, industrie pharmaceutique, etc.

Au microscope, l'amidon se présente sous forme de petits grains à l'intérieur d'une cellule. Leur forme et leur dimension varient d'une espèce à l'autre.

De point de vue chimique, l'amidon est formé de deux types de polymères de glucose : l'amylose et l'amylopectine. L'amylose est formée de chaînes linéaires de glucoses unis en alpha 1-4 alors que l'amylopectine est formée de chaînes ramifiées faites de glucoses unis en alpha 1-6. Chaque molécule peut contenir de 100 à 20 000 glucoses. La proportion amylose-amylopectine varie en général de 1/5 à 1/4 pour l'amylose. Toutefois, il existe certains amidons, dits cireux, très pauvre en amylose (0 à 6%). C'est le cas de certaines variétés de maïs, d'orge et de riz. Ces produits sont recherchés pour certains préparations culinaires. En présence de l'iode, l'amidon se colore en bleu.



D'une façon générale, l'amidon est insoluble dans l'eau froide. Mais après un broyage conséquent, ayant pour but d'écraser les grains, une bonne partie de l'amidon rentre en solution. Il est également insoluble dans les solvants organiques habituels mais soluble dans d'autres moins courants : l'ammoniac, les piperidines, ainsi que dans les solutions de certains sels tels que le chlorure de calcium ; de telles solutions sont utilisées pour le dosage de l'amidon.



© empois d'amidons et de fécules à 5,7 % de matières sèches après cuisson et après refroidissement

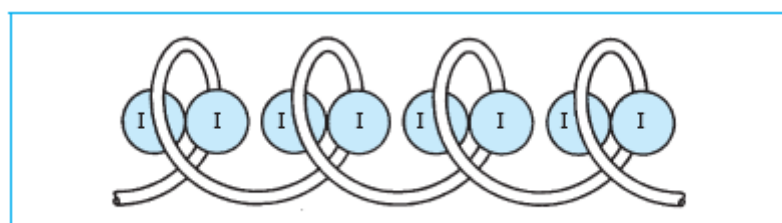


Figure 3 - Structure en hélice formée par le complexe amylose iode

Avec l'eau chaude on obtient une pâte. On dit que l'amidon se "gélatinise". Le produit obtenu est appelé empois d'amidon. Il s'agit d'un gonflement des grains d'amidon conduisant à une solution de type colloïdale, qui peut se transformer en gel par refroidissement. L'amidon peut également être solubilisé par un traitement à l'acide chlorhydrique à froid, ou au glycérol à chaud. Il s'agit, en fait, dans ces cas non pas de l'amidon soluble mais d'un produit de

dégradation plus ou moins poussée qui garde certains propriétés de l'amidon comme sa coloration en bleu sous l'action de l'iode, mais il perd d'autres telles que la possibilité de former de l'empois d'amidon par chauffage.

- **Amidon modifié**

L'amidon est souvent utilisé sans modification. Cependant, certaines utilisations exigent des propriétés particulières et par suite des modifications sont nécessaires. Le produit résultant de la modification de l'amidon est appelé amidon modifié.

Les sirops de glucose (mélange de glucose, maltose et dextrines) sont obtenus par hydrolyse acide ou enzymatique de l'amidon ; le degré d'hydrolyse est désigné par DE (Dextrose Equivalent). Ces sirops sont des amidons modifiés utilisés principalement en confiserie.

Le besoin des charcuteries, confiseries, etc. en amidon peu visqueux peut être satisfait par oxydation des groupements hydroxyles et aldéhydes libres de l'amidon.

La demande en “solution” d'amidon stable utilisable comme épaississant est satisfaite par estérification et éthérification de l'amidon.

Phénomène de gélification et rétrogradation

Les amidons présentent des différences de composition, de taille et de structure qui engendreront des comportements différents à la cuisson et la rétrogradation.

Les empois obtenus présentent des propriétés qui sont en relation avec les concentrations en amylose/amylopectine de l'empois (figure).

Deux groupes sont définis approximativement par une teneur en amylose supérieure ou inférieure à 20 % et peuvent être dessinés :

— amidons présentant un comportement de type amylose (amidon contenant plus de 20 % d'amylose) :

- à chaud : empois opaque de texture courte,
- à froid : gel ferme après 4 à 12 h, opaque, brillant à coupe franche ; apparition rapide de la synérèse.

— amidons présentant le comportement de l'amylopectine (amidon contenant moins de 20 % d'amylose) :

- à chaud : empois translucide présentant une texture longue « élastique »,
- à froid : pas de gel immédiatement, apparition très lente d'un gel ferme (10 à 30 jours) puis synérèse.

La fécule de pomme de terre est un produit intermédiaire qui présente à chaud le comportement amylopectine et à froid le comportement amylose.

Au niveau du goût, les amidons de tubercules ou féculs donnent un goût neutre alors que les amidons de céréales présentent une saveur caractéristique dite « goût de céréales ».

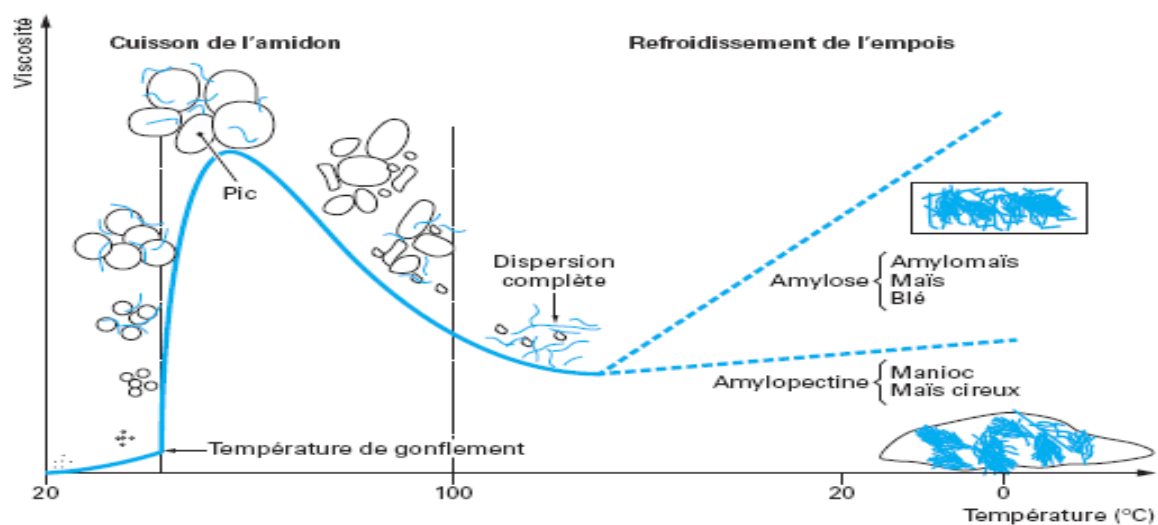
Le formulateur fera son choix parmi les amidons natifs en fonction des propriétés recherchées (tableau 4) : en fonction des conditions

de préparation (eau à 80 °C, eau bouillante, cuisson à ébullition), du niveau de viscosité, de la texture, de la transparence recherchée et du comportement à froid.

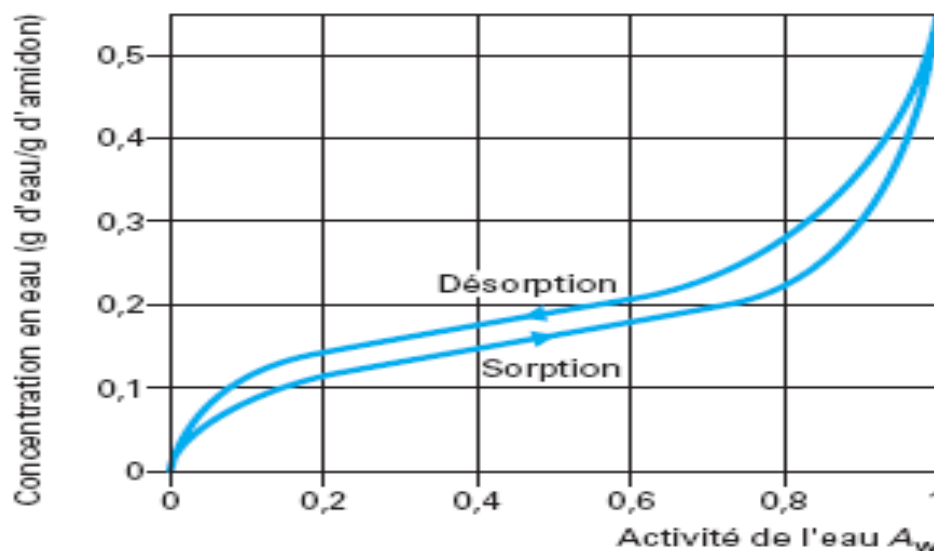
Exemple : les crèmes pâtisseries gélifiées utilisent l'amidon de maïs pour son caractère rétrogradant. La charcuterie utilise la fécule de pomme de terre pour son fort pouvoir de rétention en eau (forte viscosité). La fécule de manioc est employée dans les garnitures de fruits pour sa transparence et son goût neutre.

L'amidonnier contrôle au cours de la fabrication et avant commercialisation les amidons sur des caractères chimiques (humidité, cendres, protéines...) et des données de viscosité. Des appareils comme l'amylographe Brabender et le *Rapid Visco Analysis* ou RVA mesurent les viscosités apparentes de l'empois pendant les phases de chauffage et de refroidissement selon des procédures normalisées.

La cuisson obtenue sur ces appareils permet de caractériser ou de comparer les amidons entre eux mais ne reflète généralement pas ce que sera la cuisson de l'amidon dans une formule élaborée sur un cuiseur industriel.



Comportement général des amidons à la cuisson et au refroidissement



Isotherme de sorption d'eau à 25°C d'un amidon de la pomme de terre natif

Utilisation de l'amidon

Les glucides constituent la majorité des sources de calorie pour la consommation humaine. Ils sont également utilisés comme matière première ou additifs pour la fabrication de plusieurs produits alimentaires ou autres. Leur utilisation comme additifs dans les produits alimentaires est due essentiellement à la propriété stabilisante, épaississante et gélifiant de certains glucides.

L'amidon est utilisé dans la préparation de plusieurs aliments tels que les aliments le bétail, la pectine, agents gélifiants, la production de matériaux adhésifs et d'émulsions. Le sirop de maïs est obtenu par un traitement chimique de l'amidon de maïs au cours duquel les molécules d'amidon sont brisées en molécules de glucose. On peut également transformer une partie des glucoses en fructoses afin d'augmenter le goût sucré du sirop. Les sirops de glucose sont utilisés dans les boissons non-alcooliques et dans d'autres produits alimentaires.

Les enzymes amylolytiques et leur utilisation

Par action enzymatique, l'amidon s'hydrolyse en présence de l'amylase. On distingue deux principales amylases : l'alpha-amylase et la bêta-amylase. L'alpha-amylase est une enzyme d'origine animale (c'est le cas de l'amylase salivaire et de l'amylase pancréatique) qui attaque les liaisons osidiques alpha 1-4 de l'amidon sans ordre et libère du glucose et des fragments plus ou moins importants de chaîne d'amidon, dits dextrines. La bêta-amylase est une amylase d'origine végétale principalement (c'est le cas de la maltase extraite du malte de l'orge) qui attaque aussi les liaisons alpha 1-4 en partant de l'extrémité de la chaîne non réductrice et libère du maltose et dextrines. Notons aussi qu'il existe une autre amylase appelée gamma-amylase, trouvée chez les levures, les champignons et dans les lysosomes du foie des animaux, hydrolyse les liaisons osidiques alpha 1-4 et alpha 1-6 de l'amidon.

Aspect biochimique de la panification

Procédés de panification

Pour la préparation habituelle de la pâte boulangère, un mélange convenable de farines est additionné d'eau et de chlorure de sodium et pétri pendant 10 à 20 minutes. Ce pétrissage permet l'absorption d'eau (par les protéines et les granules endommagés d'amidon) et le développement de l'élasticité et de l'extensibilité du gluten, probablement par oxydation à l'air de groupements sulfhydryle, et réarrangement de ponts disulfures. La pâte est alors additionnée de levure. Une fermentation de 2 à 3 heures produit un dégagement d'anhydride carbonique, et la pâte gonfle par formation de poches de gaz retenues entre des membranes minces de gluten. La durée optimum de « maturation » de la pâte (pétrissage – fermentation) pour l'obtention de bonnes propriétés rhéologiques dépend de la force des farines. La tolérance au pétrissage est plus grande avec des farines fortes. La pâte est alors coupée, mise en forme et incisée, laissée gonfler à nouveau pendant environ une heure, et cuite (20 à 40 minutes) dans un four à 235 – 260°C. La cuisson coagule certaines protéines et fixe ainsi la structure spongieuse de la mie. La préparation du pain dure 4 à 8 heures.

Divers autres procédés peuvent être employés. La panification continue de certaines boulangeries industrielles consiste en une chaîne de panification où le temps de fabrication est réduit à 2-3 heures et la durée de fermentation très courte. Un liquide de fermentation (plus facile à pomper et à doser automatiquement que la levure pressée) est directement mélangé à la farine. La pâte est automatiquement pétrie, extrudée, coupée et cuite.

Le procédé dit « de chorleywood » permet de faire lever la pâte en seulement 3 à 5 minutes. Pour cela il est nécessaire de l'agiter très énergiquement ; l'énergie dissipée pendant ces 3 à 5 minutes doit être de l'ordre de 10 watt.heure par kg de pâte. Ce procédé demande une quantité importante de levure, ainsi que l'addition d'un agent oxydant (on emploie l'acide ascorbique, composé réducteur, mais qui serait tout d'abord oxydé en acide déhydroascorbique). Le pain est préparé en 80 à 100 minutes, mais sa texture régulière et peu résistante est assez différente de celle du pain traditionnel.

Composition de la pâte boulangère

La pâte boulangère ne contient généralement que de la farine, de l'eau, du chlorure de sodium et de la levure. L'addition d'amylases (malt), de protéases, d'acide ascorbique, de farine de fève, de lécithine, est autorisée. Le tableau 16 indique la composition d'un type de pâte boulangère aux USA.

Tableau 16 : Composants d'une pâte boulangère et leur rôle

Composants	Quantités (en poids)	Rôle
------------	-------------------------	------

Biochimie alimentaire

Farine	100	Source de gluten, d'amidon, de lipides, etc.
Eau	50 à 65	Agent plastifiant
Chlorure de sodium	2	Saveur, durcissement du gluten
Levure	2	Fermentation
Malt	0.5	Source d'amylases et de protéases
Sel d'ammonium	0.5	Substrat pour la levure
Sucre (saccharose ou glucose)	6	Saveur, couleur ; substrat pour la levure
Lait écrémé en poudre	6	Saveur, couleur ; effet tampon sur le pH
Lipides ou glycolipides (ester de saccharose, ou de lactose, et d'acide gras)	4	Amélioration de la texture, permettant éventuellement un enrichissement par addition de protéines de soja (>5%)
Propionate de calcium	0.2	Agent antimicrobien
Vitamines et sels minéraux	traces	Enrichissement nutritionnel

La farine de fève peut être incorporée à la farine au moulin (1%), en vue d'améliorer la qualité du pain. Il s'agit notamment d'accroître la quantité de lipoxygénase, qui joue un rôle d'agent oxydant par les hydroperoxydes qu'elle produit. C'est un moyen d'améliorer les farines « faibles », c'est-à-dire celles qui résistent mal au pétrissage, qui ne donnent pas une pâte assez ferme et un volume suffisant de pain. En outre, la farine de fève active le blanchiment de la pâte.

La fabrication traditionnelle du pain au levain comportait l'addition d'un fragment de pâte plus ou moins aigrie, produite les jours précédents. Ce n'est donc pas un ensemencement par une souche de levure seule, mais un mélange de micro-organismes, dont des ferments lactiques. La texture et le goût du pain (plus acide) en étaient quelque peu différents. Ce mode de fabrication est aujourd'hui rare mais une tendance à sa reprise se dessine.

Biochimie du pain

On sait que la farine de blé, et à moindre degré celle de seigle, sont les seules farines de céréales qui soient panifiables. Des différences notables existent aussi d'une farine de blé à l'autre, différence liées non seulement à la quantité mais aussi à la qualité du gluten. Des travaux ont permis de préciser en partie le rôle joué par les différents constituants de la farine au cours de la panification.

Le principe de ces travaux a été de séparer et de purifier ces divers composants par extraction, centrifugation, de reconstituer des farines plus ou moins complètes en omettant certains d'entre eux, et de déterminer la valeur de ces farines pour la préparation du pain. On sait que ce que l'on appelle le gluten peut être séparé des protéines solubles et de l'amidon par pétrissage de la farine dans un courant d'eau. Les deux fractions protéiques du gluten peuvent être séparées l'une de l'autre par diverses méthodes (extraction, centrifugation). Il est aussi possible d'obtenir séparément les lipides neutres de la farine (0.6% en poids), et les lipides polaires (0.8%) ; ces derniers consistent essentiellement en phospholipides et en glycolipides ; 75% de ces lipides polaires sont liés aux protéines.

Les résultats ont montré qu'il existe des interactions entre protéines et amidon, ainsi qu'entre protéines, amidon et lipides. L'addition d'une quantité supplémentaire de glycolipides naturels (mono et digalactosyl diglycérides) ou de synthèse d'ester de saccharose, ou de lactose, et d'acides gras) a des effets bénéfiques sur le volume et sur la texture du pain (rétention d'eau accrue) et peut à la limite permettre de faire du pain sans gluten, ou du pain très enrichi en protéines de soja (l'addition de protéines solubles –de soja par exemple- est défavorable à la panification. De telles protéines acquièrent cependant des propriétés fonctionnelles convenables en présence de glycolipides). On suppose qu'il se forme dans la pâte, au cours du pétrissage, un réseau de protéines et de glycolipides autour des granules d'amidon, ces derniers ayant d'ailleurs subi en surface un début de gélatinisation et de libération de l'amylose. Les interactions glycolipides-amidon (liaisons hydrogène) sont renforcées par la cuisson du pain, et pourraient jouer un rôle important pour la rétention d'eau.

Un tel réseau déformable serait responsable des principales propriétés de la pâte boulangère, à savoir :

- l'extensibilité, qui permet un changement de forme ;
- l'imperméabilité aux gaz, qui permet la rétention d'anhydride carbonique et le gonflement ;
- l'élasticité, également nécessaire pour la rétention d'anhydride carbonique et la formation d'une structure spongieuse ;
- la forte rétention d'eau (cause de la tendreté après cuisson).

Les mêmes travaux ont aussi montré que les gluténines sont responsables de l'élasticité de la pâte, alors que les gliadines sont plutôt responsables de son extensibilité.

Il convient cependant de faire quelques réserves : certaines gluténines seraient très semblables aux gliadines de masse moléculaire élevée. Les proportions relatives de gluténines et de gliadines, et la nature des liens entre glycolipides et protéines, dépendent partiellement de la nature du solvant d'extraction des protéines. Certaines variétés de blé contiennent plus de gluténines que de gliadines. Les blés durs contiennent une proportion plus élevée de protéines solubles –non gluten- (la présence de certaines enzymes permet de déterminer la proportion de blés durs et de blés tendre dans les pâtes alimentaires).

Les études ont aussi montré que lors du pétrissage de la pâte, tous les lipides polaires et une partie des triglycérides deviennent non extractibles par l'éther de pétrole, du fait de la formation de liaisons avec les gluténines et les gliadines.

Principe de la fermentation

Pendant la fermentation le glucose présent dans la pâte est transformé en éthanol (le pain frais contient environ 0.3% d'éthanol) et anhydride carbonique par la levure *Saccharomyces cerevisiae*. La production de CO₂ commence lentement puis s'accélère, en raison de la multiplication de la levure. Une telle formation graduelle de gaz est souhaitable car une augmentation plus rapide du volume de la pâte provoquerait la rupture. Une température de 23 à 28°C est généralement adoptée pour la fermentation. Le glucose, substrat de fermentation, est en majeure partie produit par attaque enzymatique des granules d'amidon

endommagés (qui représentent environ 10% des granules d'amidon totaux). La farine contient suffisamment de β amylase, dont l'action libère du maltose. On ajoute parfois du malt (orge germé, riche en α amylase) afin d'accélérer l'action de la β amylase. On ajoute parfois aussi du saccharose. Il est permis, dans quelques pays, d'ajouter des amylases microbiennes pour accélérer la phase d'amylolyse. La levure est relativement riche en maltase et en invertase. Une farine contenant trop d' α amylase (par exemple s'il y a eu début de germination des grains) ou trop de grains d'amidon endommagés est souvent impropre à la panification : une formation trop importante de dextrines rend en effet la pâte collante.

Même sans fermentation la pâte boulangère gonfle à la cuisson parce que l'air qui s'y trouve se dilate et une partie de l'eau présente est vaporisée. L'addition de bicarbonate permet d'avoir un dégagement d'anhydride carbonique. En pâtisserie, où l'on emploie souvent des mousses de mono ou diglycérides, la libération d'air suffit largement à faire gonfler la pâte

Modifications des constituants au cours de la cuisson

La cuisson du pain se fait à une température externe de 230°C environ, souvent avec injection de vapeur dans le four. La température de la pâte reste un peu inférieure à 100°C, sauf en surface où se produisent un durcissement par dessiccation (croûte) et un brunissement non enzymatique. Ce brunissement est accompagné de la formation de composés odorants (maltol en particulier). En biscuiterie, où des quantités élevées de saccharose et parfois d'autres sucres ont été ajoutés, on doit veiller à ce que le brunissement non enzymatique ne soit pas excessif : on sait en effet qu'il réduit la digestibilité des protéines et la disponibilité baisse de 10-15%). La cuisson du pain provoque d'autre part une gélatinisation partielle des granules d'amidon et par conséquent une certaine augmentation de leur digestibilité (biscottes, pain). La chaleur provoque aussi une perte de vitamine B₁ de l'ordre de 15% ; davantage si le pH de la pâte a été élevé par addition de bicarbonate. Pendant la cuisson, les levures sont tuées et les amylases inactivées. La chaleur a aussi pour effet de coaguler les protéines de la pâte en particulier les albumines et les globulines. La structure spongieuse du pain se trouve ainsi figée.

À la fin de la cuisson, la teneur en eau de la pâte est de 45% environ. Il faut éviter qu'une déshydratation ne se produise lors du refroidissement car elle provoquerait un durcissement de la pâte et un amollissement de la croûte. En panification industrielle, on utilise, pour le refroidissement, de l'air à humidité relative contrôlée. Lorsque le pain frais est emballé dans un sachet plastique non perforé, un transfert d'eau se produit de la mie à la croûte et entraîne un défaut de texture analogue à celui déjà mentionné.

Rassissement du pain

Pendant le pétrissage de la pâte et lors de la cuisson, une partie de l'amylose est extraite des granules d'amidon. Au cours du refroidissement qui suit immédiatement la cuisson, cette amylose cristallise cet état caractérise le pain frais. La cristallisation de l'amylose peut être inhibée par l'addition d'agents émulsifiants tels que des monoglycérides ou des glycolipides, qui complexent l'amylose, et donnent un pain de texture très molle. Ces agents n'ont cependant que peu d'effet contre le rassissement ultérieur du pain. On sait qu'en vieillissant le pain durcit, perd son élasticité. Ce durcissement ne provient pas d'une dessiccation ne

provient pas d'une dessiccation ou d'une réaction chimique car la vitesse de durcissement augmente lorsque la température décroît, avec un maximum vers 0°C.

Le durcissement peut être ralenti par congélation mais non par simple réfrigération. Les mesures de rayons X et d'analyse thermique différentielle ont montré qu'il y a cristallisation de l'amidon de la mie. Cette cristallisation pourrait être favorisée par un transfert d'eau du gluten à l'amidon. On a mis l'hypothèse que le durcissement correspond à la cristallisation de l'amylopectine. Si le pain rassis est réchauffé au four, il devient plus tendre : l'amylopectine passerait de l'état cristallin à l'état amorphe. L'attendrissement provoque en effet une déshydratation qui faciliterait la recristallisation de l'amylopectine.

Lorsqu'il est entreposé à une température ou à une humidité relative trop élevées, le pain risque de subir une prolifération bactérienne (due aux spores thermoresistantes de *Bacillus subtilis* et de *Bacillus mesentericus*). Une acidification de la pâte permet d'empêcher cette altération dite pain filant. Des moisissures peuvent aussi se développer sur le pain et pour cette raison la pâte est souvent additionnée de propionates.