

Etat actuel de nos connaissances sur l'action des amylases en panification biscotterie et biscuiterie (*)

Par R. DRAPRON,

Ingénieur à l'I.N.R.A.

INTRODUCTION.

Depuis qu'en 1877 Boutroux a constaté l'attaque de l'amidon par les amylases au cours de la panification (1), un très grand nombre de travaux ont été effectués sur l'amylolyse dans les pâtes de farines de céréales. Bien que nos connaissances sur ce sujet se soient ainsi précisées, surtout depuis une vingtaine d'années, à la suite de l'évolution des idées sur la structure de l'amidon et le mécanisme d'action des amylases, les recherches sont encore loin d'être épuisées.

Du point de vue pratique, l'excès de cette action amylasique pose périodiquement de sérieux problèmes au boulanger, dans les années de récolte de céréales trop humides. On observe alors des accidents de germination qui aboutissent à l'obtention de pains à caractère caoutchouteux, dont la mie est grasse et collante. Le défaut inverse est beaucoup plus rare en France et il peut être plus facilement corrigé par addition d'amylases exogènes, dont il importe cependant de bien choisir les caractéristiques.

Actuellement, les travaux concernant l'amylolyse dans les pâtes ont surtout pour objectif d'obtenir, par son contrôle, des produits présentant des propriétés technologiques de plus en plus constantes, en raison de la place de plus en plus grande que prend progressivement la mécanisation et l'automatisation de la fabrication dans les Industries des produits à base de céréales.

Il n'est pas douteux qu'une meilleure compréhension théorique des mécanismes qui interviennent au cours de l'amylolyse doit permettre d'utiliser plus

rationnellement ces phénomènes et de guider le technicien dans le choix des compléments diastatiques utilisés pour améliorer les caractères technologiques, organoleptiques et la présentation des produits finis.

Au cours de cet exposé, nous allons préciser l'état actuel de nos connaissances, d'une part, sur les caractéristiques de l'amidon en tant que substrat des amylases, d'autre part, sur les conditions et les modalités des actions amylasiques.

Nous examinerons ensuite les répercussions de ces actions sur les caractéristiques technologiques des pâtes obtenues à partir de farines de céréales au cours de leur apprêt et de leur cuisson, ainsi que leur incidence sur les propriétés organoleptiques des produits finis.

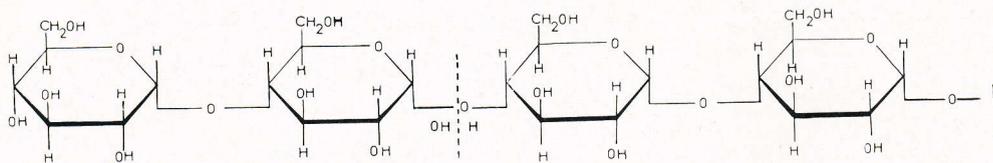
I. — CARACTERES CHIMIQUES, PHYSICO-CHIMIQUES ET STRUCTURAUX DE L'AMIDON.

Du point de vue purement chimique, on peut actuellement estimer, bien que le concept d'une molécule d'amidon homogène soit encore défendu par certains biochimistes (2), que le grain d'amidon est composé d'un mélange en proportions variables de deux polymères du glucose, l'un l'amylopectine, formé de chaînes ramifiées, l'autre l'amylose, constitué de chaînes linéaires.

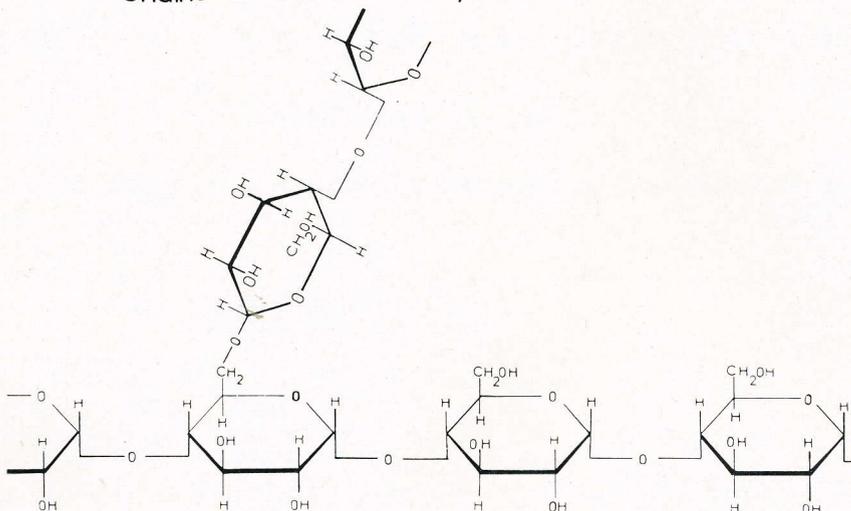
Dans les amidons de céréales, l'amylose entre pour 20 à 25 % et l'amylopectine pour 75 à 80 %.

Les liaisons qui existent entre les résidus glucopyranose seraient uniquement du type α 1-4 pour les chaînes linéaires d'amylose (fig. 1) ; la longueur de ces chaînes est très variable et peut atteindre plusieurs milliers d'unités glucose. L'amylopectine (fig. 1) est formée par des fragments de chaînes constitués d'unités glucopyranose reliées également par des liaisons α 1-4. Ces fragments sont greffés les uns sur les autres par l'intermédiaire de liaisons α 1-6. La proportion de ces dernières par rapport aux liaisons α 1-4 représente environ 5 %.

(*) Conférence prononcée au Centre de Perfectionnement Technique, le 30 novembre 1960.



Chaîne Linéaire d'Amylose

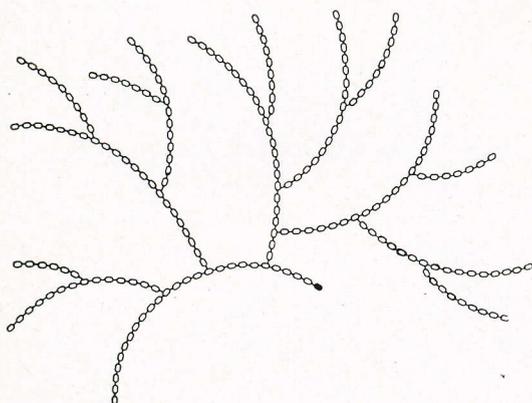


Chaîne Ramifiée d'Amylopectine

Fig. 1.

La structure de l'amylopectine (fig. 2) la plus généralement admise est celle proposée par Meyer et Bernfeld (3). Les ramifications ont une longueur moyenne de 20 à 30 unités glucose et la molécule présente un degré de polymérisation de plusieurs dizaines de mille, jusqu'à un million et demi d'unités glucose.

Dans le grain d'amidon à l'état natif, on pense qu'au moins une partie de ces chaînes d'amylose ou d'amylopectine seraient associées par des liaisons du type hydrogène, directement entre les groupements —OH ou par l'intermédiaire de molécules d'eau (fig. 3), pour donner une structure organisée comme l'a montré l'étude des spectres de diffraction aux rayons X (4).



AMYLOPECTINE
 ○ UNITE GLUCOSE ○ LIAISON GLUCOSIDIQUE α 1-4.
 ● EXTREMITÉ REDUCTRICE. ○ LIAISON GLUCOSIDIQUE α 1-6.

Fig. 2.

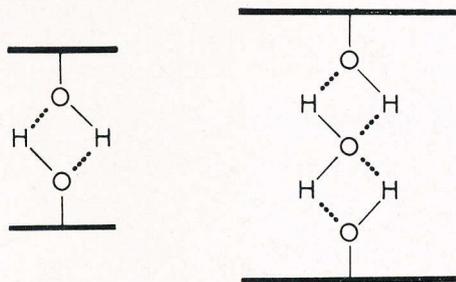


Fig. 3.

Types de liaisons hydrogène.

De nombreux auteurs nient encore l'existence de membranes externes ou pensent, comme Badenhuizen, que ce sont des artefacts créés au cours de sa dispersion aqueuse (5). Les récents travaux effec-

tués au microscope électronique par Guilbot et Levavasseur laissent penser qu'il existerait des membranes internes et externes (6), vraisemblablement formées d'amylopectine et peut-être aussi de nature protéique (7).

II. — CONDITIONS ET MODALITES D'ACTION DES AMYLASES.

1) Caractères généraux des amylases.

L'action des amylases consiste à hydrolyser, c'est-à-dire à rompre par l'intervention de molécules d'eau, l'ensemble ou une fraction des liaisons glucosidiques des constituants macromoléculaires de l'amidon que nous venons d'examiner. Les amylases se comportent *in vitro* uniquement comme enzymes de dégradation et il semble qu'il en soit de même *in vivo*. La réaction irréversible peut être schématisée ainsi :

$$R-O-R + H-OH \rightarrow R-OH + R-OH$$

dans laquelle R—O—R représente une macromolécule constitutive de l'amidon, R—OH les produits de la réaction où R peut prendre les valeurs de 1 à n résidus glucose.

En tant que catalyseurs, ces enzymes agissent en quantités infinitésimales. C'est ainsi qu'une molécule de bêta-amylase pure est capable d'hydrolyser 2.300.000 à 2.400.000 liaisons glucosidiques par minute, dans des conditions voisines de son « optimum » d'action (8).

L'activité des amylases, comme celle des autres enzymes, est fonction, entre certaines limites, de la teneur en eau du milieu, en particulier lorsque ce dernier est encore à l'état solide ou pâteux. L'influence de ce dernier facteur n'a pas fait jusqu'à présent l'objet d'études très poussées. Nous effectuons à l'heure actuelle des recherches pour préciser l'importance du degré de liberté de l'eau dans ces milieux sur l'intensité de l'amyolyse.

Dans des conditions strictement définies, on observe bien entendu un « optimum » apparent d'activité des amylases en fonction du pH et de la température ; à partir d'une certaine température, variable pour chacune d'elles, elles sont totalement inactivées en raison de la dénaturation de leur protéine constitutive (tableau I).

Elles peuvent être, par ailleurs, activées, freinées dans leur action ou totalement inactivées par des substances chimiques, spécifiques de chacune d'elles. C'est ainsi par exemple que les ions Ca^{++} exercent un effet stabilisant ou activateur sur l'alpha-amylase, et par contre une action inhibitrice sur la bêta-

amylase. Les ions Cu^{++} , l'acide ascorbique, sont des inhibiteurs des deux amylases à des pH relativement élevés.

TABLEAU I

Températures et pH « optima »,
température d'inactivation de diverses amylases

	pH « opti- mum »	Temp. « opti- mum »	Température d'inactivation
β-amylase de céréales	4 - 5	# 55° C	70 - 75° C
α-amylase de céréales	4 - 5	65-70° C	# 85° C
α-amylase fongique	5 - 7	# 65° C	# 75° C
α-amylase bactérienne	5 - 7	# 70° C	partiellement inactivée à 100° C

2) Action sur l'amylose et l'amylopectine.

a) Action de la bêta-amylase.

La bêta-amylase, appelée encore amylase saccharifiante, se trouve surtout chez les plantes supérieures. Dans les graines de céréales non germées ou germées, elle est répartie dans tout l'albumen amylicé.

Cette amylase saccharifiante agit de façon méthodique et on a montré qu'elle s'attaque aux extrémités non réductrices des chaînes de glucose, au niveau des liaisons α 1-4, en libérant du maltose bêta. Selon les conditions du milieu, elle serait susceptible, soit de dégrader complètement une chaîne linéaire (ou bien partiellement lorsqu'elle est arrêtée au voisinage d'une ramification) avant de passer à une autre chaîne, soit de sauter d'une chaîne à l'autre, en libérant une molécule de maltose.

La bêta-amylase peut donc hydrolyser complètement les chaînes d'amylose, mais, dans le cas de l'amylopectine, son action est bloquée aux niveaux des liaisons α 1-6 et, dans ces conditions, l'édifice moléculaire n'est pas complètement détruit. Seules, les branches externes sont dégradées et l'on aboutit à une limite de conversion en maltose de 60 % environ.

La partie non dégradée est constituée par des dextrines multiramifiées que l'on désigne habituellement sous le nom de bêta-dextrines limites. Elles ont un poids moléculaire relativement élevé et donnent encore une coloration pourpre avec l'iode.

En résumé, la bêta-amylase exerce une dégradation quasi totale des chaînes d'amylose en dispersion aqueuse. Son action est notablement moindre sur les gels d'amylopectine, pour lesquels elle n'entraîne qu'une diminution relativement faible de la viscosité.

b) Action de l'alpha-amylase.

Contrairement à la bêta-amylase, les alpha-amylases sont des enzymes, dont l'action prépondérante est de liquéfier les empois et de fournir des dextrans à chaînes relativement courtes.

Ces alpha-amylases sont capables d'attaquer toutes les liaisons α 1-4, à l'exclusion des liaisons terminales et des autres types de liaison. Selon leur origine, elles présentent quelques variantes dans leurs conditions d'action. Certaines amylases, comme les alpha-amylases du malt ou bactériennes ont tendance à éviter les liaisons près des points de ramification et selon Hopkins et Kulka, l'alpha-amylase bactérienne a également moins d'affinité pour les courtes chaînes que l'alpha-amylase du malt (9). Elles diffèrent entre elles en particulier par leur stabilité thermique et nous verrons que l'on peut jouer sur ce fait, dans le cas de la supplémentation des farines en amylases.

De toutes façons, le processus de dégradation par les alpha-amylases est plus anarchique que celui de la dégradation par la bêta-amylase.

Pour ces raisons, l'hydrolyse par l'alpha-amylase des molécules ramifiées a une influence beaucoup plus profonde sur leur structure que celle de la bêta-amylase, les chaînes externes et internes pouvant être attaquées simultanément.

Cette action se traduit macroscopiquement par une diminution de la viscosité et, en particulier pour les dispersions d'amylose, par la variation de coloration donnée avec l'iode qui passe du bleu violacé au violet rouge, puis au brun.

La chromatographie de partage sur papier permet d'isoler un assez grand nombre de produits de dégradation, de se rendre compte de la progression de la réaction amylolytique en fonction du temps et d'avoir une idée du mode de rupture des chaînes macromoléculaires de l'amidon (fig. 4). On peut ainsi identifier, en plus du glucose, toute une série de ses polymères dont le degré de polymérisation s'échelonne de 2 à 14.

On remarque que la production de glucose et de maltose, faible en début de réaction, augmente ensuite progressivement. Au bout de 10 minutes d'action, il ne reste plus au-dessus du maltoheptaose que de faibles traces de malto-octaose qui dispa-

Fig. 4.
Action de l' α -amylase sur l'amidon.
Temps d'action en minutes.

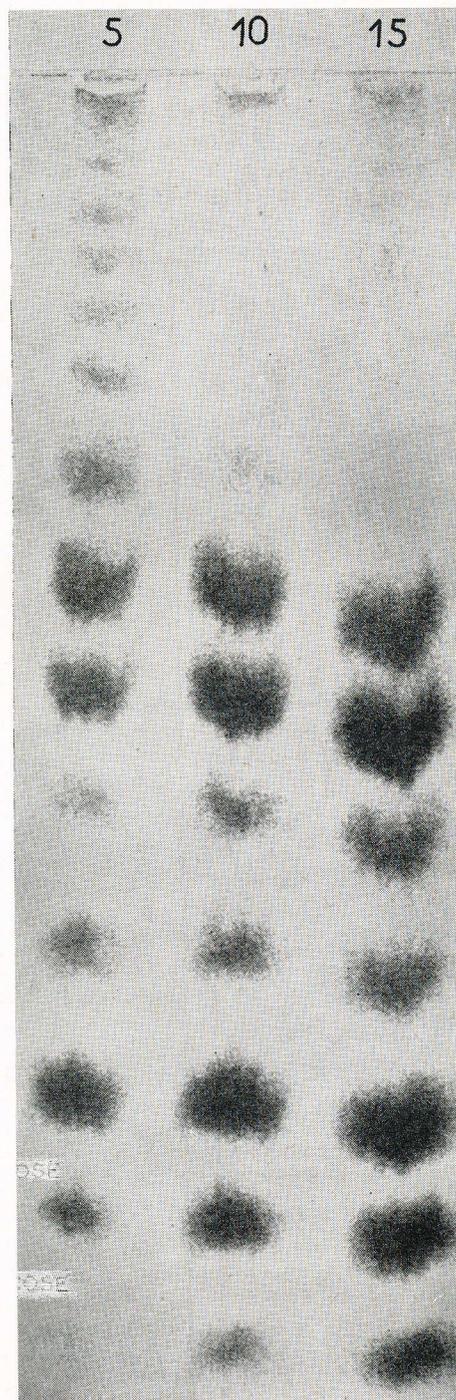


Fig. 4. — Chromatogrammes obtenus après action d'une alpha-amylase bactérienne en fonction du temps (duplicata sur papier héliographique « diazo » REGMA, n° 6 B, trait bleu). Solvant : Butanol — pyridine — eau (1 — 1 — 1), développement de 54 h. à 26° C avec gradient d'évaporation de la phase mobile (10). Révélation par le trichloracétate de benzidine à 95° C.

raissent totalement au bout de 15 minutes ; on observe, de plus, l'apparition rapide du maltotriose, du maltohexaose et du maltoheptaose.

3) Influence de la structure de l'amidon sur l'activité amylolytique.

L'action des amylases sur le grain d'amidon est sensiblement différente de celle que nous venons d'indiquer dans le cas des constituants amylose et amylopectine pris séparément.

La structure de l'amidon prend ici toute son importance. L'aptitude des amylases à attaquer le grain d'amidon sera fonction des possibilités de pénétration et de diffusion de l'enzyme à l'intérieur du granule, possibilités qui sont liées à l'état d'hydratation du grain d'amidon et plus encore peut-être, à l'état de la surface du grain et à l'existence de membranes internes et externes.

Les associations intermoléculaires, par l'intermédiaire des liaisons hydrogène entre groupements — OH, diminuent d'autre part la sensibilité de l'amidon.

Toute action ayant pour effet de rompre les membranes externes et internes du grain et de détruire ces associations : les traitements mécanique (broyage) ou hydrothermique (empesage) augmentent par conséquent la sensibilité aux amylases.

Si l'on suit, par exemple, ce qui se passe dans une suspension aqueuse d'amidon, on observe qu'en dessous de la température de 40° C, l'hydratation et le gonflement du grain d'amidon cru à l'état natif restent faibles, un nombre limité de molécules d'eau se fixant sur les chaînes macromoléculaires. Dans ces conditions, seule l'alpha-amylase est susceptible de provoquer une certaine désorganisation du grain, mais à une vitesse qui reste toutefois très limitée.

Par contre, la bêta-amylase est pratiquement inactive, paraissant incapable de réaliser par elle-même la rupture des constituants de l'enveloppe externe des grains d'amidon. Elle pourra cependant exercer son action, lorsqu'elle trouvera une voie d'accès pouvant être provoquée, soit par les actions mécaniques subies par le grain d'amidon au cours de la mouture, soit par l'action de l'alpha-amylase.

Au-dessus de la température de 40° C, par contre, les associations interchaînes se relâchent et une quantité d'eau importante pénètre à l'intérieur du réseau macromoléculaire. Le gonflement devient appréciable à la température de 55-60° C et atteint son maximum vers 80-85° C avec formation d'empois.

Au-dessus de cette température, le grain se disloque, on observe alors une dispersion. C'est

dans cet état de gonflement et de dispersion que la vitesse de diffusion des amylases atteint son maximum et que le substrat est le plus sensible à leur action.

L'hydrolyse par l'alpha-amylase diminue rapidement la viscosité des empois et on a montré que celle-ci atteint une valeur minimum pour un degré d'hydrolyse d'environ 0,5 % et que la coloration à l'iode disparaît totalement lorsque 10 à 13 % des liaisons sont hydrolysées.

Au cours du vieillissement des empois, on observe une réorganisation de la structure par formation de liaisons hydrogène entre les chaînes vraisemblablement par l'intermédiaire de molécules d'eau. Dans ces conditions, l'amidon « rétrogradé » devient plus résistant à l'action de la bêta-amylase et même de l'alpha-amylase.

Il a été signalé que la réactivité de l'amidon peut varier avec son origine, en particulier on a pu mettre en évidence des différences de sensibilité entre l'amidon de blé dur et celui de blé tendre (11). Ce fait est à relier probablement à des différences de structure.

4) Influence des conditions de milieu.

Indépendamment de la structure de l'amidon, les conditions du milieu complexe où se produit l'action amylolytique se répercutent sur celui-ci. C'est ainsi que le pH « optimum » des amylases dans les milieux naturels est différent de celui des amylases purifiées. En plus de la température et de la durée de la réaction, il dépend des constituants en présence.

Il convient de faire remarquer à ce sujet qu'il faut observer une grande prudence lorsque l'on cherche à extrapoler les résultats obtenus *in vitro* dans les mélanges synthétiques, relativement simples, aux milieux complexes qui existent *in vivo* aux différents stades des opérations technologiques.

En outre, la coexistence des deux amylases alpha et bêta dans un même milieu, comme celui constitué par les farines de céréales, aboutit au fait que l'action résultante est différente de celle des deux enzymes prises séparément.

A la suite de divers chercheurs, Walden (12) a récemment pu préciser l'action du complexe amylosique sur l'empois d'amidon. Les études ont porté en particulier, sur l'influence des proportions relatives et de la concentration des deux amylases sur la vitesse de transformation de l'amidon, sur la quantité de glucose et de maltose produite, ainsi que sur le degré moyen de polymérisation des dextrines formées.

Les résultats obtenus montrent qu'à faibles concentrations, l'effet des deux amylases est additif, mais qu'à concentrations plus élevées, surtout en bêta-amylase, le degré d'hydrolyse est supérieur à la somme de ceux fournis par les deux enzymes prises séparément et la vitesse de dégradation plus élevée.

La figure 5 montre comment les actions de ces deux amylases se complètent, la bêta-amylase trouvant dans les produits résultant de l'hydrolyse par l'alpha-amylase de nouveaux terrains d'action. On peut dire qu'elles effectuent ainsi un véritable travail « à la chaîne ».

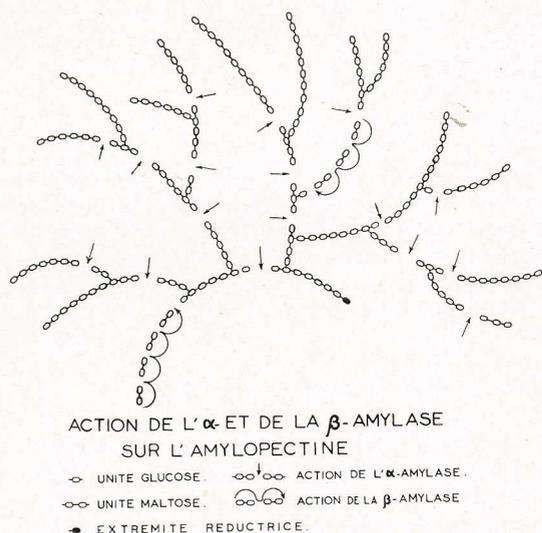


Fig. 5.

Ces faits ont une grande importance, en boulangerie particulièrement, l'action de la bêta-amylase étant considérablement accrue dans les farines contenant une proportion importante d'alpha-amylase.

III. — RÔLE DES AMYLASES AU COURS DES TRANSFORMATIONS TECHNOLOGIQUES DES PÂTES A BASE DE FARINES DE CÉRÉALES.

En technologie, l'intensité des actions amylasiques doit se situer à un certain niveau optimum, au-dessus et au-dessous duquel on observe des défauts de fabrication aussi bien au moment de la préparation des pâtes que pendant leur cuisson. Aussi, est-il essentiel pour le technicien d'en connaître l'importance.

A l'heure actuelle, dans le cadre de l'Association Internationale de Chimie des Céréales et du Centre National d'Études et de Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation, des commissions ont été créées

en vue d'étudier ces phénomènes et de définir les techniques les plus appropriées pour leur mesure et leur contrôle.

Jusqu'à présent, on utilise en pratique quatre méthodes principales pour évaluer l'activité amylasique :

— La première consiste à déterminer la « valeur maltose », qui représente la quantité de sucres réducteurs produite en trois heures dans une suspension aqueuse de 5 g de farine à la température de 27° C (13).

— Dans la seconde, on mesure le débit de gaz carbonique produit au cours de la fermentation, à l'aide du Zymotachigraphe Chopin (14) (15), par exemple, ce qui permet d'apprécier l'utilisation par la levure des glucides préexistants et du maltose formé au cours du pétrissage et de la fermentation. Les résultats qu'il fournit restent cependant d'interprétation délicate pour le contrôle de l'activité amylasique.

— La troisième méthode consiste à déterminer, soit au moyen de l'amylographe Brabender (16), soit au moyen du pénétromètre d'Hagberg (17), la consistance de l'empois qui se forme au cours du chauffage et se dégrade plus ou moins sous l'action de l'alpha-amylase présente.

— Enfin, diverses méthodes sont basées sur la mesure du temps nécessaire à l'alpha-amylase contenue dans un extrait aqueux de farine, pour amener un empois d'amidon standard à une coloration empiriquement fixée du complexe amidon-iodé (18), (19), (20), (21), (22), (23).

Les résultats fournis par les deux premières méthodes reflètent, soit l'action conjuguée de l'alpha et de la bêta-amylase, soit, si l'alpha-amylase est en faible quantité, la proportion d'amidon blessé attaquant par la bêta-amylase. Les deux autres méthodes permettent d'évaluer principalement l'activité de l'alpha-amylase.

En pratique, les renseignements que l'on recherche doivent permettre de juger de l'importance de l'amylolyse dans des conditions aussi proches que possible de celles qui existent au cours de la transformation des produits, et c'est dans ce sens qu'il conviendrait d'améliorer ces méthodes.

1) Rôle des amylases au cours du pétrissage et de la fermentation, en panification et en biscotterie.

Le débit du gaz carbonique formé par la levure au cours de la fermentation est, au début, fonction de l'importance du stock glucidique fermentescible préexistant dans la farine. Il est ensuite fonction de la quantité de sucres formée par l'action amylasique, quantité qui peut être déjà notable au

cours du pétrissage, et qui dépend, d'une part, des proportions relatives de bêta et d'alpha-amylases existant dans le milieu et, d'autre part, en particulier si la proportion d'alpha-amylase est faible, de la quantité d'amidon endommagé sensible à l'action de la bêta-amylase.

de gaz carbonique dégagé qui, avec le pouvoir de rétention gazeuse de la pâte, conditionne le développement optimum du volume du pain.

Dans les farines de blés sains, la bêta-amylase existe le plus souvent en quantités suffisantes alors que l'alpha n'existe qu'à l'état de traces.

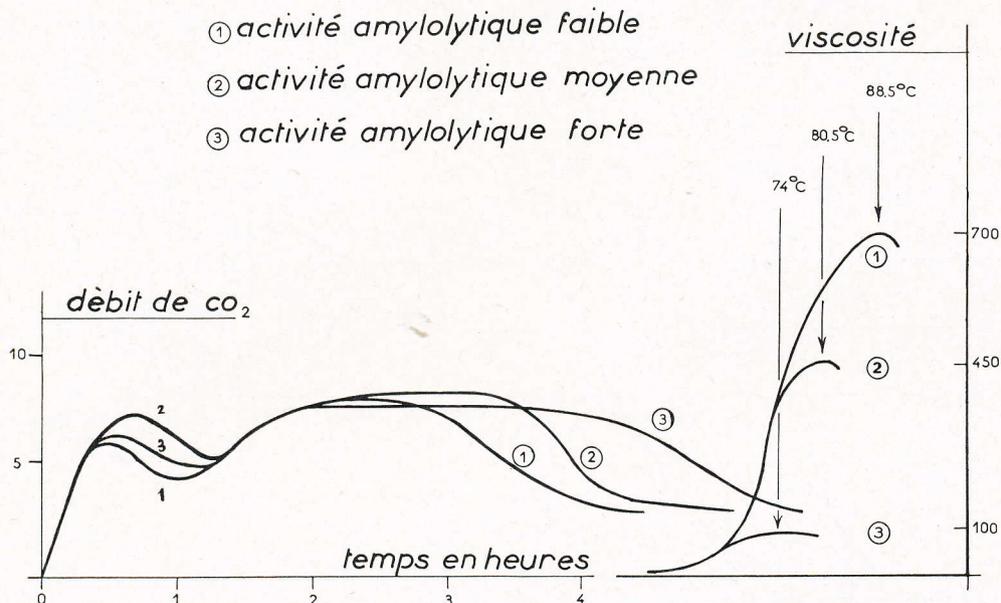


Fig. 6.

La figure 6 montre les zymotachygrammes obtenus à partir de farines présentant des pouvoirs amylolytiques variés. Le tracé des courbes correspond aux ordonnées maxima caractérisant l'évolution du débit de gaz carbonique en fonction du temps. Au début, la production rapide de CO_2 est due à la fermentation des glucides préexistants ou formés au cours du pétrissage, le dégagement du gaz est ensuite plus ou moins grand suivant l'importance de l'amylolyse, le maltose formé étant le facteur limitant, en raison de la quantité importante de levure qui se trouve dans le milieu.

— La courbe 1, correspondant à une farine de faible pouvoir amylolytique, montre que la production de gaz carbonique est limitée au bout de trois heures environ.

— La courbe 3, correspondant à une farine de blé partiellement germé, montre que la production gazeuse est active pendant cinq heures environ.

Les caractéristiques des viscosigrammes des mêmes farines, obtenus à l'aide de l'amylographe Brabender, montrent la corrélation existant avec les zymotachygrammes correspondants.

On voit donc l'importance de l'influence que peut avoir l'action amyolasique sur la vitesse et le volume

On a montré qu'une certaine augmentation de la proportion d'alpha-amylase dans ces farines accélère le débit de gaz carbonique, ce qui permet à la pâte d'atteindre plus rapidement son volume optimum, donc de raccourcir le temps de fermentation, tout en donnant, par suite de la formation progressive de maltose, une plus grande tolérance pendant l'apprêt et au moment de l'enfournement.

En dehors de ce fait, suivant l'intensité de leur action, les amylases et plus spécialement l'alpha, interviennent grâce aux dextrines formées sur la capacité de rétention de l'eau, sur la porosité de la pâte, sur son caractère collant et sa consistance.

2) Action des amylases au cours de la cuisson.

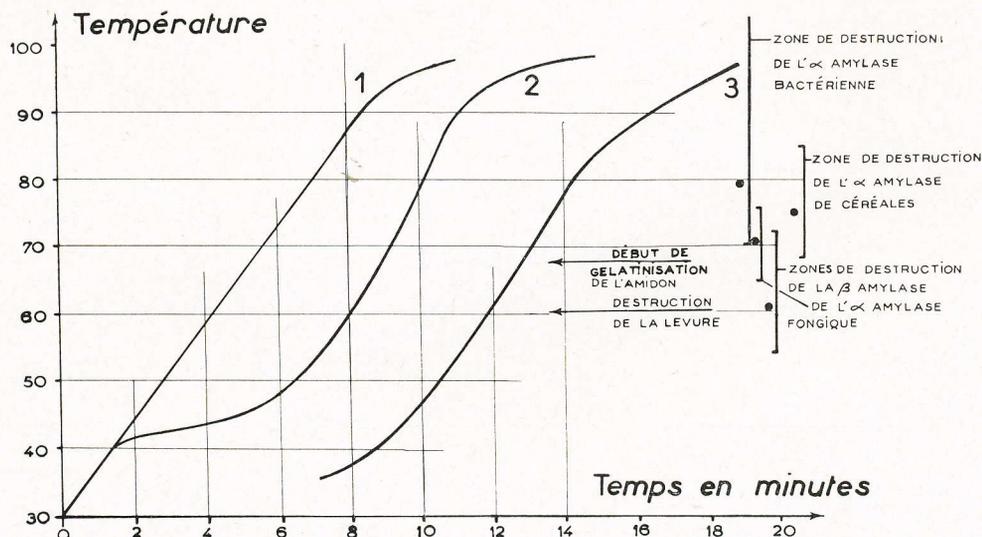
C'est au cours de la cuisson que l'action amyolasique est peut-être la plus importante ; la plus grande partie de l'amidon devient alors sensible à l'attaque par les amylases, en raison de son gonflement et de sa gélification. L'intervention des amylases est encore ici fonction de leur proportion, de leur nature, ainsi que de la vitesse à laquelle la mie atteint sa température d'équilibre.

Au cours de la cuisson, la température interne de la mie passe de 27 à 100° C en 20 à 40 minutes

suivant le volume du pain considéré. Au cours de cette période, on assiste à une suite de phénomènes qui vont conditionner les caractères du produit final.

La complexité du milieu rend difficile l'évaluation directe de l'action amylasique. Cependant, le travail de Walden, précédemment cité, permet dans une certaine mesure, en transposant aux pâtes les résultats obtenus avec des suspensions d'amidon en cours de chauffage, d'avoir une idée de ce qui se passe au cours de la cuisson du pain.

Dans le diagramme ci-contre (figure 7), on voit qu'au début l'augmentation de température est lente ; elle atteint, au centre du pain, 40-45° C au bout de 8 à 10 minutes, temps pendant lequel la quantité d'amidon dégradé reste relativement faible. A 65-70° C le gonflement des grains d'amidon atteint la valeur maximum compatible avec la teneur en eau du milieu qui ne permet qu'un empesage partiel. A ce stade, l'activité amylasique augmente considérablement mais l'inactivation thermique commence ; la température passe de 60 à



1_ pâte d'amidon

2_ températures atteintes par la mie à 2,5^{cm} de profondeur

3_ températures atteintes au centre du pain

• destruction de 50% de l'activité amylasique

Fig. 7.

TABLEAU II

Action des amylases sur un empois d'amidon
[suivant Walden (12)]

α-amylase par gr. d'amidon (Unités S. K. B.) (18)	β-amylase par gr. d'amidon (Unités S. K. B.) (24)	Amidon transformé	Glucose p. 100	Maltose p. 100	D. P. moyens des dextrines	Température d'inactivation
6,1 112,5	0 0	6,1 36,3	0,2 2,9	2,5 10,0	60,0 8,2	65-90° C en 4 minutes
5,6 5,6	11,2 22,5	16,2 26,7	0,9 0,5	14,4 19,3	très élevé 230	
0	23,6	9	0	6	β-dextrines limites	56-74° C en 3 minutes

80° C en deux à trois minutes environ et finalement c'est l'inactivation qui prédomine, la dégradation de l'amidon s'arrête, la bêta-amylase étant inactivée la première vers 70° C et l'alpha-amylase de céréales vers 80° C. C'est donc dans la partie de la courbe qui présente la pente la plus forte que se produisent les réactions les plus importantes.

Walden a montré que la bêta-amylase joue un rôle non négligeable (tableau II) par la libération de maltose aux dépens des dextrines, en même temps que se produit l'action dextrinisante de l'alpha qui intervient à ce stade. Si cette action est mal contrôlée, on aboutit à un effet très préjudiciable pour la qualité du pain. Les substances solubles produites au cours de ces transformations diminuent la viscosité du milieu, se répartissent plus aisément à la surface des alvéoles de la mie et jouent un rôle important sur la texture de celle-ci et la structure de la croûte.

Par ailleurs, la coloration de la croûte est également tributaire de ces modifications, elle est fonction en particulier de la quantité de sucres non fermentés ainsi que des acides aminés présents qui peuvent donner, par leur interaction, des produits colorés, communiquant au pain, en dehors de son aspect doré, un arôme et une saveur particulière. Ces différentes transformations constituent ce que l'on appelle habituellement la réaction de Maillard.

3) Remèdes possibles dans le cas de farines hyper ou hypo-diastasiques.

a) Cas des farines de blés « germés ».

Les farines obtenues à partir de blés partiellement germés sont hyperdiastasiques, le cas s'est produit assez fréquemment en France au cours de ces dernières années, et la présence en quantité importante des deux amylases provoque des effets néfastes, qui viennent s'ajouter à ceux des enzymes protéolytiques formés au cours de la germination, en conférant aux pâtes un caractère collant, conséquence du relâchement du gluten et de la formation exagérée de dextrines. A la cuisson, l'amylolyse trop accentuée aboutit à l'obtention d'une croûte rougeâtre, d'une mie grasse et collante qui rassit très rapidement.

C'est pourquoi divers moyens ont été envisagés pour limiter l'action de l'excès d'alpha-amylase des blés germés. En panification, aucun d'entre eux n'est réellement efficace et les seuls qu'il soit possible de retenir, en dehors du choix judicieux des blés avant mouture, sont :

— **La diminution du taux d'extraction** et la modification du diagramme de mouture, de façon à éliminer les parties du grain riches en amylases (germe et fraction voisine du scutellum) (25).

— **Le vieillissement des farines**, qui amène une diminution notable de l'activité alpha-amylasique, diminution d'autant plus importante que la teneur en eau des farines et leur température de stockage sont plus élevées (26).

— **Le mélange judicieux** des farines hyperdiastasiques avec des farines saines.

— **La panification** en milieu acide par addition d'acide lactique par exemple. Ceci n'étant toutefois possible que dans les pays habitués à consommer du pain ayant subi une fermentation acide (l'Allemagne, par exemple).

— **Le façonnage de la pâte** en vue d'obtenir des pains de petit volume, afin de bloquer très rapidement l'action de l'alpha-amylase lors de la cuisson.

En biscotterie, où le temps de fermentation est plus bref qu'en panification et où l'on recherche la présence d'une quantité relativement importante de sucres après cuisson pour contribuer au développement de la couleur en cours de grillage, on ajoute de l'extrait de malt au moment du pétrissage et une certaine quantité de saccharose. C'est pourquoi, on est en droit de se demander si l'emploi de farines de blés ayant subi un début de germination ne serait pas technologiquement mieux toléré qu'en panification, dans la mesure où l'activité protéolytique resterait assez faible.

b) Cas des farines peu amylasiques.

A l'opposé, certains blés, surtout ceux dont les conditions de maturation et de récolte sont comparables à celles des climats secs, présentent une déficience en amylases. La formation de maltose et de dextrines est alors insuffisante, le pain est peu développé et sa croûte est trop pâle. Dans ce cas, l'emploi rationnel de petites quantités de farines ou d'extraits de céréales germées permet de corriger les farines de faible pouvoir amylolytique.

Cependant, ces palliatifs présentent l'inconvénient d'enrichir en même temps la pâte en enzymes protéolytiques, dont on connaît l'action néfaste au cours de la panification de farines provenant de blés d'assez faible « force boulangère », comme ceux existant en France.

C'est pourquoi, depuis une dizaine d'années, en particulier aux Etats-Unis, et plus récemment en République Fédérale Allemande, en Grande-Bretagne et aux Pays-Bas, on utilise en panification des préparations concentrées d'amylases dextrinisantes d'origine fongique, suffisamment purifiées pour n'avoir, aux doses employées, qu'une activité protéolytique très faible.

C'est surtout à partir de cultures d'*Aspergillus Oryzae* que l'on prépare cette amylase. Aux États-Unis, des investigations poussées ont été effectuées dans ce domaine lors de la deuxième guerre mondiale et, actuellement, près de 70 % du pain sont préparés dans ce pays en faisant intervenir des amylases fongiques (27). Dans certains cas particuliers, on a même envisagé l'utilisation d'amylases bactériennes, de même type que celles qui sont à l'origine de l'accident du pain filant (28). Utilisées à des doses convenables, ces amylases, en raison de leur thermorésistance en particulier, diminueraient les inconvénients apportés par le rassissement du pain. Comme elles ne sont pas complètement détruites au cours de la cuisson, la production de dextrines continue après refroidissement et, par suite, conserve à la mie une certaine souplesse au cours du stockage.

En fait, les caractéristiques à retenir pour le choix des amylases que l'on peut ajouter en panification, de façon à obtenir une action optimum, sont leur thermolabilité et leur capacité à fournir des produits fermentescibles. On a montré que les amylases fongiques produisent davantage de sucres fermentescibles que les amylases du malt, ceci, peut-être en raison de l'existence concomitante d'un enzyme susceptible de libérer du glucose (29).

Par ailleurs, comme nous l'avons vu dans la figure 7, l'amylase fongique étant inactivée avant la gélification maximum de l'amidon, son action en cours de cuisson est rapidement limitée, la production de dextrines solubles reste faible et la répercussion sur les caractéristiques mécaniques de la mie est de ce fait limitée, ce qui contribue à une

plus grande sécurité d'emploi dans le cas d'addition de doses excessives.

Les courbes de la figure 8, obtenues à l'aide du zymotachygraphe Chopin, montrent l'évolution du débit de gaz carbonique dans les pâtes préparées avec des farines enrichies en alpha-amylase du malt ou fongique. On remarque, en particulier, dans le cas de l'amylase fongique, un débit de gaz carbonique très régulier, qui se poursuit encore après 5 h 30 à 6 heures.

Les amylogrammes correspondant montrent que les viscosités maxima atteintes par le témoin et par la farine additionnée d'alpha-amylase fongique sont pratiquement identiques, ce qui est dû à l'inactivation de cette amylase avant que l'amidon ait atteint son point de gélification maximum.

Jusqu'à présent, en France, l'utilisation de telles préparations enzymatiques ne sont pas légalement autorisées, mais, en fait, on ne voit pas les raisons que l'on pourrait invoquer pour l'interdire. Et à ce sujet, il est bon de rappeler que les cultures d'*Aspergillus oryzae* sont utilisées en Extrême-Orient par exemple, depuis des temps immémoriaux, pour la préparation d'aliments et de boissons.

EN CONCLUSION.

Par son action au cours des différentes opérations technologiques, l'amylolyse a des répercussions importantes sur la présentation, les caractères organoleptiques et, sans doute, la digestibilité des produits finis.

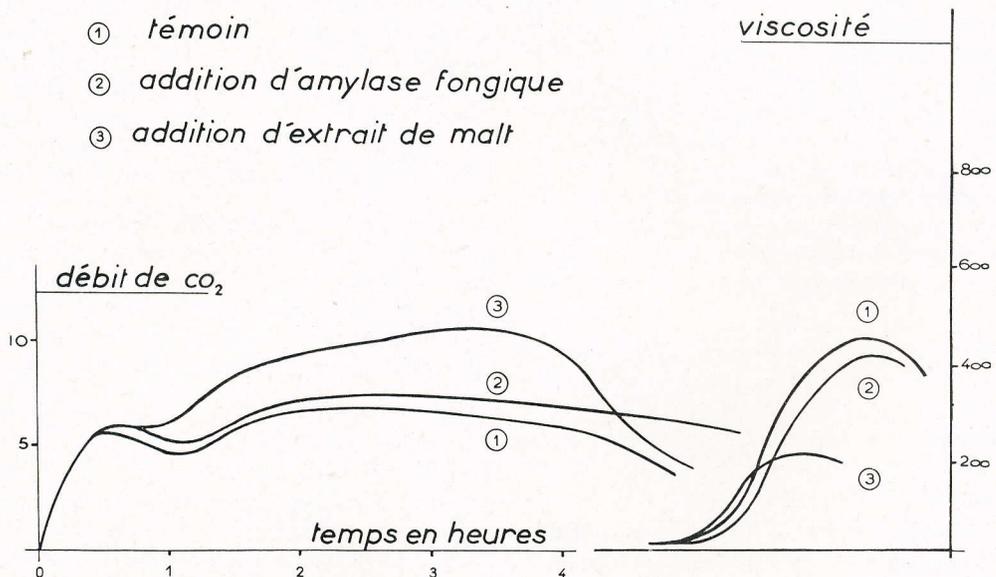


Fig. 8.

— **En panification**, une amyolyse optimale permet d'obtenir une croûte fine, une texture de la mie plus légère et plus souple qui rassit plus lentement. Le goût et l'arôme du pain sont affinés par la formation de sucres et de produits de la réaction de Maillard.

— **En biscotterie**, une supplémentation en amylases et en sucres permet l'accumulation du maltose et de dextrines en fin de fermentation. Ceci contribue, d'une part, au développement de la couleur au cours du grillage et, d'autre part, à un accroissement de la friabilité.

— **En biscuiterie**, on a aussi remarqué que la supplémentation en amylase peut intervenir favorablement sur les caractéristiques mécaniques des pâtes. Elle peut également influencer favorablement la structure, la friabilité, la présentation des articles secs, et aider au maintien de ces caractéristiques au cours de la conservation.

Nous venons de considérer les différents rôles que peut avoir l'amyolyse au cours de divers processus de transformations technologiques des céréales. Il convient de ne pas oublier pour autant les répercussions que cette action peut avoir sur les caractéristiques alimentaires des produits, l'appétence qu'elle peut provoquer et l'aide qu'elle peut apporter dans les processus de digestion.

Jusqu'à présent, on ne sait que relativement peu de choses dans ce domaine complexe et actuellement, des recherches sont envisagées qui font appel à des spécialistes des industries intéressées, aussi bien qu'à des biochimistes, des physico-chimistes et des physiologistes, dans le but de mieux comprendre la digestibilité des produits amyliés.

Du reste, il faut bien avouer que même du point de vue purement technologique, malgré tous les travaux effectués, bien des recherches restent encore à faire pour préciser le rôle de cette amyolyse dans les industries des céréales, plus spécialement peut-être en biscuiterie.

A l'heure actuelle, on est à peu près en mesure de déterminer l'étendue de la dégradation de l'amidon dans les différentes phases des transformations industrielles et de pallier une déficience en amylases. Nous avons vu, par contre, que dans le cas inverse, c'est-à-dire le cas d'un excès d'alpha-amylase, nos moyens d'action sont très limités. Et c'est là, peut-être, un des problèmes les plus importants à résoudre.

Ainsi, malgré les travaux accumulés depuis près d'un siècle, il reste encore dans ce domaine beaucoup de questions sans réponse et qui demandent à être envisagées avec des moyens modernes, et sans idées préconçues.

Laboratoire de Biochimie et Physicochimie des Céréales de l'Institut National de la Recherche Agronomique (A. Guilbot, directeur). Paris.

BIBLIOGRAPHIE

Principaux articles généraux consultés

- CALDWELL M. L. and ADAMS M. ; KNEEN E. and SANDSTEDT R. M. : « **Amylases. — Applications of the amylases in milling and baking technology** » ; in : **Enzymes and their role in wheat technology** ». Edited by J. A. Anderson. Intersciences Publishers, nlc., New-York (1946).
- GREENWOOD C. T. : « **Aspects of the physical chemistry of starch** ». *Advances in Carbohydrates Chemistry*, **11**, 335 (1956).
- BERNFELD P. : « **Enzymes of starch degradation and synthesis** ». *Advances in enzymology*, **12**, 379 (1951).
- JOHNSON J. A. and MILLER B. S. : « **Enzymes systems important in breadmaking** ». *Wallerstein Laboratories Communications*, **16**, 53, 105, 117 (1953).
- GREUP D. H. : « **Fungal enzymes and their use in bread making** ». *Wallerstein Laboratories Communications*, **17**, 57, 105-117 (1954).

Références particulières

- (1) BOUTROUX : « **Le pain et la panification** ». Bailière, éditeur, Paris, 1877 (épuisé).
- (2) GREENWOOD C. T. : « **Aspects of the physical chemistry of starch** ». *Adv. in Carbohydrates Chemistry*, **11**, 335 (1956).
- (3) MEYER K. H. and BERNFELD P. : « **Recherches sur l'amidon. V. L'amylopectine** ». *Helv. Chim. Acta*, **23**, 875-885 (1941).
- (4) GUILBOT A., CHARBONNIERE F. et DRAPRON R. : « **Diffraction X du système eau-amidon, aux faibles hydratations** ». Communication au Congrès de cristallographie de Strasbourg (août 1960).
- (5) BADENHUIZEN N. P. : « **Chemistry and biology of the starch granule** ». Springer-Verlag, Wien (1959).
- (6) GUILBOT A. et LEVAVASSEUR G. : « **Etude de l'amidon au microscope électronique** ». *Proceedings of International Conference on electron microscopy*, London (March 1954).
- (7) OBOLENSKY G. : « **Etude submicroscopique de l'amidon et des protéines dans l'endosperme de l'orge** ». *Annali di Bot.*, **26**, f. 1° (1958).
- (8) ENGLARD S. and SINGER T. P. : « **Physicochemical studies on β -amylase** ». *J. Biol. Chem.*, **187**, 213 (1950).
- (9) HOPKINS R. H. and KULKA D. : « **Glucamylase and debranching enzyme of *S. diastaticus*** ». *Arch. Biochem. Biophys.*, **69**, 45-55 (1957).
- (10) DRAPRON R. : « **Chromatographie sur papier avec gradient d'évaporation de la phase mobile** ». Communication à la Section de Chimie analytique de la Société chimique de France (janvier 1961).

- (11) STAMBERG O. E. and BAILEY C. H. : « Studies on wheat starch. II. The action of amylases on raw wheat starches ». *Cereal Chem.*, **16**, 319-330 (1939).
- (12) WALDEN C. C. : « The action of flour amylases during oven baking ». *The baker's digest*, **33**, 1, 24 (1959).
- (13) GUILLEMET R. and SCHELL C. : « Sur le « pouvoir diastasique » des farines ; sa mesure précise en meunerie ». 4^e Congrès de Chimie Biologique, 343-366 (1933).
- (14) CHOPIN M. : « Sur un analyseur de la fermentation panaire ». *C. R. Acad. Sciences, Paris*, **226**, 1368 (1948). *C. R. Acad. Sciences, Paris*, **230**, 1095 (1950).
- (15) BURE J. : « L'étude pratique de la fermentation panaire grâce au zymotachygraphe Chopin ». 2^e Congrès Internat. des Indus. de Ferm. et de la Meunerie de Knokke le Zoute (Gand, 1952).
- (16) BROWN R. O. and HARREL C. G. : « The use of the amylograph in the Cereal laboratory ». *Cereal Chem.*, **21**, 360-369 (1944).
- (17) HAGBERG S. : « Méthodes d'appréciation des effets diastasiques sur les farines de blé et de seigle ». *Bull. Anc. Elèves E. F. M.*, **172**, 185 (1959). *Bull. Anc. Elèves E. F. M.*, **175**, 23, (1959).
- (18) SANDSTEDT R. M., KNEEN E. and BLISH M. J. : « A standardized Wolgemuth procedure for alpha amylase activity ». *Cereal Chem.*, **16**, 712-723 (1939). *Cereal Laboratory Methods of A. A. C. C.*, 6th edition (1957).
- (19) STONE I. : « A sensitive method for the determination of α -amylase activity of flour ». *Cereal Chem.*, **29**, 3, 228-234 (1952).
- (20) HAGBERG S. : « Methods for the I. C. C. comparative amylase activity test for the starch-iodine « color determination ». *Stztens Hantverk Institut, Stockholm* (1960).
- (21) RITTER K. : « Uber ein einfaches Verfahren zur Feststellung der Auswuchsgrades ». *Z. Getreide*, n° 2 (1942).
- (22) LEMMERZAHL J. : « Bestimmung der Auswuchsschädigung nach der Dextrin-Methode ». *Deutsche Müller Zeit.*, **53**, 384 (1955).
- (23) GEOFFROY R. : « Etude de l'action des amylases de farines de froment ». *La Meunerie Française*, **141**, 17, (1958).
- (24) KNEEN E. and SANDSTEDT R. M. : « Bêta amylase activity and its determination in germinated and ungerminated cereals ». *Cereal Chem.*, **18**, 237 (1941).
- (25) DUBOIS M., WILLM Cl. : « Blés germés de la récolte 1956. Action de l'alpha amylase. Moyens d'apprécier son action, notamment à l'aide de l'amylographe Brabender. Tentatives pour en limiter les effets ». *Bull. Anc. Elèves E. F. M.*, **164**, 65 (1958).
- (26) POISSON J., BEGUE D. et BOURBON G. : « Conservation de la qualité des farines. — Evolution des caractères technologiques des farines conservées en cellules étanches, en fonction de la température et de la teneur en eau ». *La Meunerie Française*, **127**, 21 (1957).
- (27) MILLER B. S. and JOHNSON J. A. : « Fungal enzymes in baking ». *Baker's Digest*, **29**, 5, 95 (1955).
- (28) MILLER B. S., JOHNSON J. A. and PALMER D. L. : « A comparison of cereal, fungal, and bacterial α -amylases as supplements for beadmaking ». *Food Technology*, **31**, 188-206 (1954).
- (29) GRAY P. P. : « Fungal enzymes in the bakery, fact and fancy ». *Wallerstein Laboratories communications*, **16**, 54, 215-227 (1953).
-