



Contribution à l'utilisation du lactulose comme additif fonctionnel dans la fabrication de pain riche en son de blé

Mémoire

Tat Toai Nguyen

Maîtrise en génie agroalimentaire
Maître ès sciences (M.Sc.)

Québec, Canada

© Tat Toai Nguyen, 2015

Résumé

Ce projet a démontré la faisabilité de fabrication de pain à base de farine riche en son de blé additionnée de lactulose jusqu'à 5%. La pâte enrichie de lactulose est caractérisée par une acidité titrable légèrement inférieure au témoin. Ceci est attribuable à l'incapacité des levures à fermenter le lactulose. La cuisson a montré que l'ajout de lactulose à la formule de pain à un niveau allant jusqu'à 5% n'a pas d'incidence négative sur la qualité du pain. L'évaluation visuelle et sensorielle a montré que l'ajout de 5% de lactulose à la formulation de pain de blé ne modifie pas le profil de texture du produit. La structure de la mie du pain témoin est légèrement plus poreuse que celle du pain additionné de lactulose à 5%. Le volume massique du pain est également plus faible, ce qui indique que des changements de texture se sont produits, mais restent acceptables.

Tables des matières

Résumé.....	iii
Tables des matières	v
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures.....	xi
Liste des annexes	xiii
Dédicaces	xv
Remerciements	xvii
Introduction	1
CHAPITRE 1 : REVUE DE LITTÉRATURE	3
1.1. Son de blé	3
1.1.1. Généralités.....	3
1.1.2. Fibres alimentaires.....	6
1.1.3. Fibres solubles	6
1.1.4. Fibres insolubles	7
1.1.5. Cellulose.....	8
1.1.6. Lignine.....	8
1.1.7. Amidon résistant.....	9
1.2. Farine de blé	9
1.3. Rôle des ingrédients et composants de la farine dans la panification	10
1.3.1. Rôle de l'eau	10
1.3.2. Protéines.....	10
1.3.3. Les gliadines	11
1.3.4. Les gluténines	11
1.3.5. Amidons	11
1.3.6. Lipides	12
1.3.7. Polysaccharides non amylacés.....	13
1.3.8. Rôle de la farine	13
1.3.9. La levure.....	14
1.3.10. Le sucre	14
1.3.11. L'huile.....	15

1.3.12. Le sel.....	15
1.3.13. Autres produits d'additions.....	15
1.4. Processus de panification	17
1.4.1. Pétrissage de la pâte	17
1.4.2. Fermentation de la pâte	18
1.5. Cuisson de la pâte	19
1.5.1. Expansion du produit lors de la cuisson.....	19
1.5.2. Gélatinisation de l'amidon pendant la cuisson.....	20
1.5.3. Transformation des protéines.....	21
1.5.4. Effet des constituants du son sur la panification	22
1.5.5. Effet de la taille des particules de son	23
1.5.6. Effet des constituants du son sur la rhéologie de la pâte.....	24
1.6. Volume massique du pain.....	26
1.7. Lactulose	29
1.7.1. Abstract.....	29
1.7.2. Résumé.....	30
1.7.3. Introduction of lactulose and context.....	31
1.7.3. Methods of lactulose production	31
1.7.3.1. Chemical isomerization method	31
1.7.3.2. Enzymatic isomerization method.....	33
1.7.3.3. Electro-activation isomerization method.....	34
1.7.3.4. Lactulose in the isomerization reaction of lactose.....	34
1.7.3.5. The Lobry de Bruyn and Alberda van Ekenstein transformation	35
1.7.3.6. The Maillard reaction and Amadori rearrangement	36
1.7.4. Use of lactulose in medical and pharmaceutical applications	36
1.7.4.1. Application against constipation	36
1.7.4.2. Application as a therapy of portal systemic encephalopathy (PSE).....	37
1.7.4.3. Application as against <i>Salmonella</i> carriers.....	37
1.7.4.4. Application against inflammatory bowel disease	37
1.7.4.5. Role of lactulose against the endotoxins	38
1.7.4.6. Role of lactulose in reducing blood ammonia levels.....	39
1.7.4.7. Role of lactulose as an osmotic active laxative	39

1.7.4.8. Application of lactulose in colon carcinogenesis	40
1.7.4.9. Use of lactulose as tumour prevention and immune modulator	40
1.7.4.10. Use of lactulose to enhance mineral absorption	40
1.7.4.11. Role of lactulose in the inhibition of secondary bile acid formation	41
1.7.5. Food and feed Application of lactulose	42
1.7.5.1. Use as health promoting food	42
1.7.5.2. Prebiotic effect of lactulose	43
1.7.5.3. Lactulose and fructo-oligosaccharides (FOS) for healthy animal feed	43
1.7.6. Some advantages and disadvantages of lactulose applications	44
1.7.7. Concluding remarks	45
CHAPITRE 2 : HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS	47
2.1. Hypothèse de recherche	47
2.2. Objectif principal	47
2.2.1. Objectifs spécifiques	47
CHAPITRE 3 : RÉSULTATS ET DISCUSSION	49
3.1. Abstract	51
3.2. Résumé	51
3.3. Introduction	52
3.4. Materials and methods	54
3.4.1. Raw Materials and chemicals	54
3.4.2. Dough preparation	54
3.4.3 Analysis	55
3.4.3.1. Total titratable acidity	55
3.4.3.2. Dough leavening performance	55
3.4.4. Bread making and analyses	55
3.4.4.1. Bread baking	55
3.4.4.2 Bread volumetric mass	56
3.4.4.3. Visual evaluation and Sensory analysis	56
3.4.4.4. Dimensional stability and crumb porosity	56
3.4.4.5. Bread's crumb texture profile analysis (TPA)	57
3.4.5. Statistical analysis	57
3.5. Results and discussion	57

3.5.1. Dough properties	57
3.5.1.1. Total titratable acidity (TTA).....	57
3.5.1.2. Dough volume increasing/ CO ₂ formation	58
3.5.2. Bread properties.....	59
3.5.2.1. Bread mass volume	59
3.5.2.2. Bread visual evaluation	60
3.5.2.3. Bread crumb texture profile analysis	61
3.5.3. Concluding remarks.....	62
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	71
RÉFÉRENCES	73
ANNEXES.....	91
Annexe 1 : Interprétation mathématique du processus de cuisson du pain	91
<i>A1.1. Mise en contexte</i>	91
<i>A1.2. Modélisation mathématique</i>	92
Annexe 2: Différents paramètres technologiques de la pâte	96
Annexe 3: Différentes illustrations du pain lors de la cuisson	97
Annexe 4: Courbes de températures à l'intérieur du pain lors de la cuisson	98
Annexe 5: Différences de températures dans le pain en fonction de la disposition des boutons enregistreurs de température.....	99
Annexe 6: Évolution de la température de la croûte et variation du volume du pain pendant la cuisson.....	100

Liste des tableaux

Tableau 1: Teneur en monosaccharide dans le son de blé.	4
Tableau 2: Teneur en fibres alimentaires dans la farine et le son de blé (Nandini & Salimath, 2001).	6
Tableau 3: Composition des parois cellulaires de différentes parties d'un grain de blé (Rodionova et al., 1992).	7
Tableau 4: Composition de la farine de blé (Atwell, 2001).	9
Tableau 5: Additifs utilisés dans des produits panifiés (Roussel & Chiron, 2002).	16
Tableau 6: Comparaison de deux méthodes d'absorption d'eau sur des sons de grosseur différente (Mongeau & Brassard, 1989).	23
Table 7: Formula for bread making using lactulose as sugar substitute.	63
Table 8: Visual observation of the bread.	64

Liste des figures

Figure 1: Section longitudinale d'un grain de blé (Boudreau & Ménard, 1992).....	3
Figure 2: Schematic representation the chemistry mechanism of lactulose production in electro-activation reactor. (a) lactose molecule; (b), (c), (d) formation of the enediol intermediate; (e), (d) lactulose molecule (Aït Aissa & Aïder, 2013b).	32
Figure 3: Dough final total titratable acidity as a function of the lactulose content.	65
Figure 4: Dough final volume (a) and dough mass volume (b) as a function of the lactulose content.....	66
Figure 5: Bread mass volume (mL/g) as a function of the lactulose content.	67
Figure 6: Digital scans of the control and 5% lactulose supplemented bread.....	68
Figure 7: Hardness of the bread's crumb after first (Force 1) and second (Force 2) compression.	69
Figure 8: Textural profile parameters of the lactulose supplemented bread.....	70

Liste des annexes

Annexe 1 : Interprétation mathématique du processus de cuisson du pain	91
Annexe 2: Différents paramètres technologiques de la pâte	96
Annexe 3: Différentes illustrations du pain lors de la cuisson	97
Annexe 4: Courbes de températures à l'intérieur du pain lors de la cuisson.....	98
Annexe 5: Différences de températures dans le pain en fonction de la disposition des boutons enregistreurs de température	99
Annexe 6: Évolution de la température de la croûte et variation du volume du pain pendant la cuisson	100

Dédicaces

À ma très chère épouse, Le Na, qui m'a toujours encouragé pour mes études et qui a beaucoup sacrifié pour moi et mes enfants!

Remerciements

Je tiens à remercier mon directeur de recherche, M. Mohammed Aider, pour m'avoir donné cette opportunité de réaliser ce beau travail scientifique. Son dévouement et son désir d'aller toujours plus loin dans le savoir m'ont guidé tout au long de cette maîtrise. Je le remercie également pour sa grande disponibilité, à tout moment, tout au long de cette maîtrise.

Je tiens à remercier toute l'équipe, surtout Dr Amara Aït Aïssa et Viacheslav Liato, pour leurs généreux conseils et les agréables moments partagés au laboratoire.

Je remercie mesdames Diane Gagnon, Jocelyne Giasson et Mélanie Martineau pour leur précieux support à travers les différentes étapes de la maîtrise. Je n'oublie pas aussi d'exprimer mes sincères remerciements pour monsieur Pascal Lavoie.

Je veux sincèrement souligner la qualité des études et de recherche à l'Université Laval, tant au niveau des professeurs que du personnel de soutien, administratif et technique.

Un grand Merci à tous!

Introduction

Dans l'espoir de compenser les fibres alimentaires et certains micronutriments qui sont rejetés durant la transformation de la farine blanche utilisée dans la fabrication du pain, l'industrie procède via la réintroduction du son de blé traité dans cette farine afin d'obtenir un produit (farine) plus équilibrée et de façon naturelle. Le son de blé est la couche extérieure du grain de blé. Il est une des sources les plus riches en fibres insolubles. On appelle ainsi, car au contact de l'eau elles ne forment pas de gels visqueux. Le son de blé est traité avant d'être incorporé dans la farine. Celui-ci est tout d'abord sélectionné en fonction de la granulométrie et de ses caractéristiques analytiques définies, puis ensuite peut être blanchi pour obtenir une couleur proche de celle de la farine de boulangerie. La réintroduction de son de blé induit probablement des variations aux différentes fonctionnalités : rétention d'eau, pouvoir moussant, pouvoir émulsifiant.

La production de pain avec des effets bénéfiques accrus peut aussi se faire par incorporation de prébiotique dans la formulation de base. Le lactulose a été sélectionné comme un additif de choix dans une formulation de pain à base de farine riche en son de blé en raison de l'absence d'effet négatif sur la rhéologie de la pâte. En effet, à la différence de polysaccharides dits prébiotiques, le lactulose ne fait pas augmenter la viscosité du mélange et n'a aucun impact sur le pouvoir global de rétention d'eau par la pâte durant le pétrissage ou la cuisson.

Dans ce projet, nous avons introduit du lactulose dans une formulation de pain et avons réalisé des comparaisons des produits finis (après cuisson) entre un pain témoin (pain à base de la farine blanche riche en son de blé) et un pain fait sur la même base que le témoin mais dans lequel du lactulose a été ajouté sous forme de poudre à une concentration allant jusqu'à 5% sur une base de 100% de farine. Les produits ont été évalués sur le plan technologique et sur le plan de la qualité organoleptique (volume massique, consistance de mie, gout, couleur...) ainsi que la densité de la mie.

CHAPITRE 1 : REVUE DE LITTÉRATURE

1.1. Son de blé

1.1.1. Généralités

Le son de blé provient des fragments de l'enveloppe du grain de blé. Il contient notamment des constituants cellulosesiques (fibres alimentaires), des protéines, des sels minéraux et des vitamines. Le grain de blé possède trois parties principales : le son, le germe et l'endosperme. Il sert de barrière protectrice physique ou chimique pour l'endosperme et le germe (Hoseney, 1986; Peterson & Fulcher, 2002). Le son de blé peut être séparé en trois couches selon leur composition et leur position à l'intérieur du grain : la couche à aleurone, la couche intermédiaire et le péricarpe. La couche à aleurone est collée à l'endosperme du grain tandis que le péricarpe est la couche externe du grain (**Figure 1**).

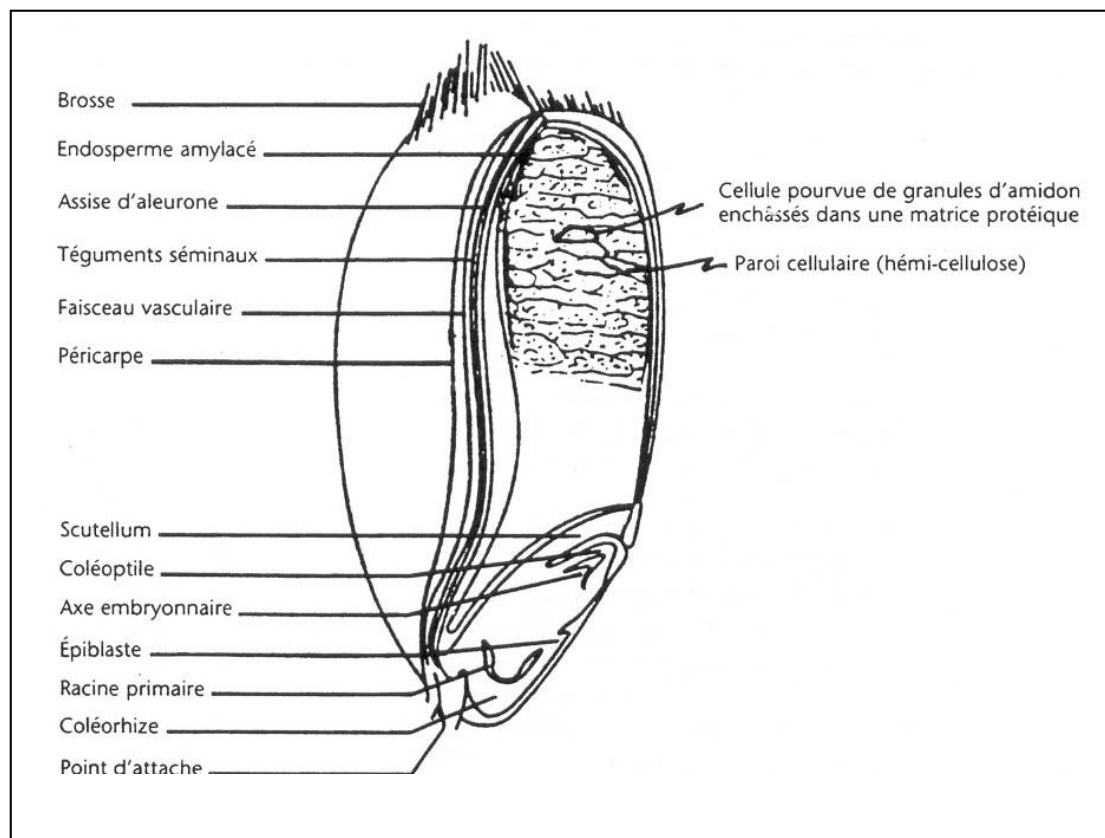


Figure 1: Section longitudinale d'un grain de blé (Boudreau & Ménard, 1992)

Chaque couche principale du son de blé est constituée de matériel complexe et hétérogène, possédant une composition distincte qui affecte la fonctionnalité et la composition des produits. La couche externe du son, le péricarpe, compose la moitié du son; soit 4-6 % du poids total du grain. Le blé est en fait un fruit plutôt qu'une graine puisque le péricarpe constitue la paroi ovarienne sans la fleur du blé (Pylar, 1988). Le péricarpe est transparent et facile à séparer. La composition et la structure du péricarpe est très complexe (Peyron et al., 2002a,2002b). La couche intermédiaire est brune et possède davantage de lignine, ce qui lui confère une propriété plastique supérieure aux autres couches (Antoine et al., 2003). Le son de blé est un sous-produit des meuneries (après la mouture) et est considéré comme une source riche de fibres alimentaires. Dans le son de blé, l'arabinoxylane est le polysaccharide majeur suivi de l'amidon et de la cellulose. Les arabinoxylanes du blé sont reconnus pour leur influence sur l'équilibre de l'eau, les propriétés rhéologiques de la pâte et la rétrogradation de l'amidon (Nandini & Salimath, 2001). Les arabinoxylanes du son de blé amélioreraient la qualité boulangère des pains (Nandini & Salimath, 2001). Dans le son de blé, les polysaccharides non amidonnés ne sont pas hydrosolubles. Il contient également de l'arabinose, du xylose et de l'acide glucuronique méthylé (Bonnin et al., 1998). La répartition des monosaccharides du son de blé est présentée au **Tableau 1** ci-dessous :

Tableau 1: Teneur en monosaccharide dans le son du blé.

Monosaccharide	% total de glucides
Xylose	43,7
Arabinose	23,7
Glucose	29,1
Galactose	2,1
Ratio xylose	1,8

Le son de blé contient beaucoup plus de fibres alimentaires que la farine de blé. En effet, la farine de blé entière contient environ 11 % de fibres alimentaires comparativement à environ 40 % de fibres contenues dans le son. Les produits de boulangerie, pâtisserie et les autres produits céréaliers contiennent normalement plus de fibres que ce dont on peut attribuer à la farine ainsi qu'aux autres

constituants de la formulation (Ranhotra et al., 1990). Ceci serait principalement causé par la formation d'amidon résistant et des produits de la réaction de Maillard au cours du procédé de transformation de la farine (Ranhotra et al., 1990; Rabe, 1999). Le son de blé est, non seulement une source de protéines, de vitamines (de vitamines du complexe B, de vitamine E) et de minéraux, mais c'est surtout une source de fibres alimentaires. Le son de blé contient beaucoup plus de fibres alimentaires que la farine de blé. La farine de blé entière contient environ 11 % de fibres alimentaires comparativement à environ 40 % dans le son (Nandini & Salimath, 2001). Les fibres insolubles seraient difficiles à digérer puisqu'une réaction à deux phases intervient, mais des particules insolubles peuvent fournir une surface favorisant la croissance des micro-colonies bactériennes (Chaplin, 2004). Les fibres insolubles augmentent et ramollissent les selles en absorbant de l'eau et en augmentant le volume des selles (Rosado, 2000). Le résultat est une diminution du temps de transit intestinal et une augmentation de la fréquence des mouvements gastriques (Rosado, 2000). Les fibres solubles serviraient à la fermentation parce qu'elles sont une source d'énergie (source de carbone) pour les bactéries intestinales. Les fibres solubles seraient disponibles rapidement et seraient donc fermentées plus tôt dans le côlon et augmenteraient la prolifération bactérienne et la masse des fèces (Rosado, 2000; Chaplin, 2004). Les fibres solubles exerceraient aussi un effet hypocholestérolémiant par un mécanisme d'augmentation de la viscosité de l'estomac et du contenu du petit intestin (Caballero et al., 2004). Une seule allégation concernant le son de blé est permise par Santé Canada (ACIA, 2004). Lorsqu'un apport quotidien raisonnable fournit, à une ration quotidienne normale, 7 g de fibres provenant du son de blé grossier (> 0,75 mm), il est permis d'ajouter une allégation concernant la prévention de la constipation ou de mettre en valeur l'action régulatrice des fibres sur les fonctions intestinales. L'effet clinique positif du son de blé augmente donc avec la taille des particules. L'Institute of Medicine (2002) recommande de consommer 25 et 38 g/jour de fibres alimentaires pour les femmes et les hommes, respectivement, afin de se protéger des maladies coronariennes. Le son de blé est également riche en antioxydants, incluant des composés phénoliques, qui auraient un impact positif

sur la santé (Slavin, 2003b). Il contient aussi d'autres composés qui pourraient protéger l'organisme contre des maladies chroniques (constipation, diverticulose, appendicite, cancer du gros intestin, maladies cardiovasculaires, diabète...). Ces composés sont les phytates, les phyto-oestrogènes (lignane), les stérols, les vitamines et les minéraux (Slavin, 2003b).

1.1.2. Fibres alimentaires

Les fibres alimentaires représentent près de 50 % de la composition du son de blé (Mongeau & Brassard, 1993). Les fibres seraient des composés importants pouvant jouer un rôle dans la fabrication boulangère. Les fibres alimentaires sont complexes et comportent les fibres solubles et insolubles (la cellulose, l'hémicellulose, la lignine) et parfois l'amidon résistant (**Tableau 2**).

Tableau 2: Teneur en fibres alimentaires dans la farine et le son de blé (Nandini & Salimath, 2001).

Type de fibres	Farine de blé, (%)	Son de blé, (%)
Fibres insolubles	10,0	35,8
Fibres solubles	1,0	4,0

1.1.3. Fibres solubles

Les fibres solubles font partie de composés solubles dans l'eau, plus précisément dans un tampon. De 20 à 25 % des arabinoxylanes de la farine sont solubles dans l'eau et formeraient un gel en contact avec des agents oxydants (Lineback & Rasper, 1988). Les arabinoxylanes solubles forment des solutions extrêmement visqueuses (Rouau, 1996; Rouau & Thibault, 1987). Rouau (1996) a observé des effets globalement positifs des arabinoxylanes solubles sur les qualités de la pâte et du pain, alors que l'effet est clairement négatif pour les arabinoxylanes insolubles. L'enlèvement de composés solubles du son de blé pourrait être une

raison des faibles qualités boulangères puisque la destruction *in situ* des arabinoxylanes solubles donne des pâtes molles et collantes et des pains non développés (Rouau, 1996). Lorsque des arabinoxylanes solubles dans l'eau sont ajoutés aux pâtes, les propriétés de la mie s'amélioreraient mais, lorsque des pentosanases étaient ajoutées, la mie se détériorait (Rodionova et al., 1992). C'est donc pour ces raisons que les composés solubles des fibres alimentaires sont utilisés comme améliorants des pâtes à pain (Lineback & Rasper, 1988). La quantité totale d'arabinoxylanes dans le blé peut varier entre 2,8 et 7,1 %, dont 0,2-1,2 % est soluble dans l'eau (Debyser et al., 1999). La plupart de ces arabinoxylanes est associée aux parois cellulaires de la couche à aleurone. La fraction appelée «arabinoxylanes» dans la farine de blé correspond essentiellement aux arabinoxylanes de la paroi des cellules de l'albumen (Rouau & Thibault, 1987). Le **Tableau 3** présente la composition des parois cellulaires des différentes parties du blé. L'endosperme et la couche à aleurone sont similaires du point de vue de la composition et de la structure des parois cellulaires. L'arabinoxylane du grain de blé est composé de résidus de β -Dxylopyranose (Rodionova et al., 1992).

Tableau 3: Composition des parois cellulaires de différentes parties d'un grain de blé (Rodionova et al., 1992).

Partie du grain - Polymère(%)	Arabinoxylane	Cellulose	Lignine
Endosperme	70	4	0
Couche à aleurone	65	2	0
Son (avec résidus de la couche à aleurone)	64	29	8-12

1.1.4. Fibres insolubles

Les fibres insolubles sont constituées d'hémicelluloses insolubles, de cellulose, de lignine et d'amidon résistant. Il existe un gradient de concentration des arabinoxylanes insolubles, du centre vers la périphérie du grain de blé (Rouau, 1996) où 93 % des fibres du son de blé se retrouvent sous forme insoluble (Asp,

1996). La teneur en cendres serait, par conséquent, corrélée avec la concentration d'arabinoxylanes insolubles (Rouau, 1996).

1.1.5. Cellulose

La cellulose est le matériel structural de base des parois cellulaires des végétaux supérieurs. C'est un homopolymère linéaire d'unités de D-glucopyranose liées par des liaisons β -1,4 dont le degré de polymérisation peut atteindre 14000 unités/molécule. La cellulose native est insoluble dans l'eau (chaude ou froide) et très résistante aux dégradations chimiques (Rouau & Thibault, 1987). La cellulose est donc seulement partiellement dégradée par les enzymes digestives. La cellulose possède plusieurs fonctionnalités telles que (Chaplin, 2004) :

- agent anti-agglomérant,
- émulsifiant,
- stabilisant,
- agent de dispersion,
- épaississant,
- agent gélifiant et, surtout,
- agent absorbant l'eau.

1.1.6. Lignine

La lignine est un hétéropolymère tridimensionnel formé d'unités monomériques de typephényl-propane. C'est un polymère plastique qui imprègne les parois secondaires des cellules mortes et confère aux végétaux des propriétés d'imperméabilité et de résistance aux attaques microbiennes (Rouau & Thibault, 1987). Le son de blé contient en général 3-7 % de lignine. Très peu de céréales possèdent autant de lignine que le son de blé (Rouau & Thibault, 1987; Schwarz et al., 1988). La lignine est d'intérêt spécial à cause de son rôle dans le ralentissement de la fermentation des fibres alimentaires (Caballero et al., 2004).

1.1.7. Amidon résistant

L'amidon est le glucide principal de l'endosperme des grains. Dans le blé, l'amidon se présente sous deux types de molécules, l'amylose (~20-30 %) et l'amylopectine (~70-80 %) (Chaplin, 2004). L'amidon se divise en trois groupes: amidon rapidement digéré (RDS), amidon lentement digéré (SDS) et amidon résistant (RS) (Amruthmahal et al., 2003). Une partie de l'amidon consommé échappe à la dégradation dans l'estomac et le petit intestin. C'est que l'on appelle «amidon résistant». L'amidon résistant a d'abord été reconnu comme étant un facteur compliquant la notion de fibres alimentaires puisque les amidons résistants sont mal absorbés dans l'intestin grêle (comme les fibres insolubles) mais fermentés dans le gros intestin tout comme les fibres solubles (Haralampu, 2000; Rouau & Thibault, 1987). L'amidon résistant forme la majeure partie du substrat disponible pour la fermentation colique. Il est complètement dégradé dans le gros intestin et serait ainsi le principal substrat pour la microflore du côlon (Chaplin, 2004). L'amidon résistant aurait aussi un pouvoir laxatif en augmentant la production d'acides gras à courte chaîne, avec une augmentation du butyrate, de l'acétate et une diminution du pH (Institute of Medicine, 2002).

1.2. Farine de blé

La farine de blé est l'ingrédient de base des produits de panification. Outre l'abondance de cette céréale, son utilisation très répandue est liée à la capacité de la pâte à retenir le gaz permettant, ainsi, son expansion lors de la cuisson (Gan et al., 1995). La farine est un composé complexe comportant différents constituants (protéines, lipides, sucres...) qui jouent un rôle direct ou indirect dans la structuration et l'aération de la pâte (**Tableau 4**).

Tableau 4: Composition de la farine de blé (Atwell, 2001).

Constituants	% matière sèche de la farine
Eau	14
Protéines	7 - 15
Amidon	63 - 72
Polysaccharides non amylacés	4,5 - 5
Lipides	1 - 2

1.3. Rôle des ingrédients et composants de la farine dans la panification

1.3.1. Rôle de l'eau

L'eau représente 14% la masse de la matière sèche de la farine. Dans une pâte panifiable, la concentration d'eau est de l'ordre de 0,6 à 0,8 g d'eau (par g de farine sèche). La moitié de cette eau approximativement est de l'eau liée utilisée par le réseau protéique dont «non congelable» (Ablett et al., 1986). L'eau intervient dans les trois niveaux d'action du pétrissage. L'eau assure la dissolution des composés solubles et est donc essentielle pour l'homogénéité et la cohésion de la pâte. Elle intervient dans la plupart des réactions physico-chimiques ayant lieu dans la pâte (Eliasson & Larsson, 1993). L'eau détermine en grande partie les propriétés rhéologiques de la pâte (cohésion, consistance, viscoélasticité). L'énergie nécessaire à la déformation de la pâte diminue d'une manière exponentielle avec l'augmentation de l'eau ajoutée (Webb et al., 1970). Indirectement, l'eau influence aussi la rétention gazeuse : une pâte à 35 % de teneur en eau totale n'est plus capable de retenir les bulles gazeuses introduites en cours de pétrissage (Mac Ritchie, 1976). Cette capacité de rétention gazeuse augmente ensuite linéairement avec la teneur en eau de la pâte jusqu'à 44%, teneur en eau classique d'une pâte à pain (Gan et al., 1995).

1.3.2. Protéines

La teneur en protéines des farines de blé est exprimée par le % rapport la matière sèche de la farine. Elle est fonction de la teneur en protéines des blés mis en mouture, de la répartition de celles-ci dans le grain et du taux d'extraction de la farine par rapport au grain (Grandvoininet & Pratx, 1994). On distingue deux types de protéines : les protéines de structure (albumines et globulines) et les protéines de réserve (gliadines et gluténines réunies sous l'appellation prolamines). La classification d'Osborne basée sur leur solubilité relative a été adoptée pour différencier ces protéines.

1.3.3. Les gliadines

Les gliadines sont des protéines monomériques associées par des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes. Elles se répartissent en 2 groupes (Shewry et al. 1986) :

- Les gliadines ω (40 à 80 kDa) caractérisées par la présence d'une grande proportion de glutamine, de proline et des résidus de phénylalanine mais peu ou pas d'acides aminés soufrés : ce sont les prolamines pauvres en soufre.
- Les gliadines α , β et γ (30 à 40 kDa), qui, au contraire, comportent beaucoup de composés soufrés : cystéine et méthionine (2 à 3 % mol). Elles appartiennent ainsi au groupe des prolamines riches en soufre.

1.3.4. Les gluténines

Les gluténines sont des agrégats de monomères de haut poids moléculaire liés par des liaisons hydrogène, des interactions hydrophobes et des ponts disulfures intermoléculaires. On distingue deux types de monomères de Gluténines (Shewry et al., 1986). Les gluténines de faible poids moléculaire qui ont des compositions en acides aminés similaires au groupe des α , β et γ gliadines, ce qui justifie leur appartenance au groupe des prolamines riches en soufre, mais avec un poids moléculaire plus important (> 40 kDa). Les gluténines de haut poids moléculaire qui se distinguent par une concentration importante en glycine et faible en proline. Elles atteignent des poids moléculaires supérieurs à 100 kDa et forment le groupe des prolamines de haut poids moléculaire.

1.3.5. Amidons

Les grains d'amidon de blé sont constitués à 98 % de la fraction glucidique (amidon), les 2% restants comportent un certain nombre de constituants mineurs (protéines, lipides, minéraux). La fraction glucidique est constituée de 2 types de chaînes polysaccharidiques formées d'unités α -D-glucose (Banks & Greenwood, 1975). L'amylose (26 % de la fraction glucidique) est un polymère essentiellement linéaire pour lequel les unités D-glucose sont liées par des liaisons α (1 \rightarrow 4). Une faible

quantité de liaisons de type α (1 \rightarrow 6) est présente d'autant plus que la masse moléculaire est élevée. L'amylose natif contient en moyenne 500 à 6000 unités glucosyl, réparties en plusieurs chaînes (1 à 20) avec un degré de polymérisation (DP) moyen de 500. Le poids moléculaire est de l'ordre de 106 Da. L'amylopectine est le principal constituant glucidique de l'amidon de blé normal avec une fraction de 74 %. Il s'agit d'une molécule ramifiée pour laquelle des liaisons α (1 \rightarrow 4) relient les unités D-glucose formant la chaîne principale et des liaisons α (1 \rightarrow 6) assurent les liaisons avec les ramifications. L'amylopectine est représentée par un ensemble de grappes de chaînes courtes de DP 15 à 20, reliées entre elles par des chaînes plus longues de DP entre 40 et 45. C'est un des polysides les plus volumineux avec une masse moléculaire moyenne de 108 Da.

1.3.6. Lipides

Les lipides représentent environ 2% de la matière sèche de la farine de blé. Conventionnellement, ils sont classés selon leur extractibilité dans différents solvants. On distingue (Mac Ritchie & Gras, 1973 ; Chung et al., 1978). Les lipides libres (70%) est la fraction lipidique qui peut être extraite directement par les solvants apolaires (éther de pétrole, hexane). Elle correspond aux lipides n'ayant que des interactions de faible énergie avec les autres constituants de la farine (liaisons hydrogène et/ou ionique). Cette fraction est constituée majoritairement de lipides apolaires qui sont les lipides de réserve du grain de blé. Ils sont constitués de triacylglycérol, de faibles quantités de diacylglycérol et de monoacylglycérol et d'acides gras libres issus des réactions de biosynthèse des triacylglycérol ou des réactions de dégradation des lipases. Les lipides liés (30%) sont nommés ainsi par opposition aux lipides libres et correspondant à la fraction non extractible par les solvants apolaires ou encore extractibles avec les solvants polaires tel que l'alcool. Cette fraction interagit avec les autres constituants de la farine par des liaisons hydrophobes. Cette fraction est constituée majoritairement de lipides polaires qui sont les lipides de structure du grain de blé. Ils comprennent essentiellement des glycolipides et des phospholipides.

1.3.7. Polysaccharides non amylacés

Les pentosanes (ou hémicelluloses) représentent la majeure partie des polysaccharides non amylacés (67%). Les 33% restants sont constitués de β -glucanes. Selon leurs solubilités dans l'eau, les pentosanes sont partagés en deux catégories: les pentosanes solubles et les pentosanes insolubles. Ils sont constitués de polysaccharides non amylacés, formés d'unités d'anhydropentoses, dont 70% sont des arabinoxylanes (1/3 insolubles et 2/3 solubles) et les 30% restants par des arabinogalactanes (solubles). Une attention particulière est portée aux pentosanes en raison de la forte capacité d'absorption en eau des arabinoxylanes : 10 à 11 fois. Même si la capacité d'absorption d'eau des pentosanes est probablement diminuée dans le cas d'une pâte à pain, vue la compétition pour l'eau entre les arabinoxylanes et les autres constituants de la pâte (Rouau, 1993), leur présence influence fortement les caractéristiques rhéologiques des pâtes (Rouau et al., 1994).

1.3.8. Rôle de la farine

La panification est l'ensemble des opérations qui permettent d'obtenir du pain à partir d'un mélange hétérogène composé principalement de farine, d'eau, de sel et de levure (ou de levain). Les différentes variétés de farines sont labélisées en fonction de la masse sèche (teneur minérale) restante obtenue par incinération d'un échantillon dans un four de laboratoire (généralement à 550 °C ou 900 °C). Par exemple, l'incinération de 100 g de farine de type 55 produira moins de 0,55 g de cendres minérales. Plus le taux de cendres est faible plus la farine est pure et blanche, car les matières minérales sont surtout contenues dans le son. Il existe plusieurs types (symbolisés par la lettre T) suivant leur contenance en son et en minéraux :

- T45 : farine blanche utilisée pour la pâtisserie, les gâteaux, ...
- T55 : farine blanche utilisée pour le pain "blanc" ou "pain courant".
- T65 : farine blanche qui sert à faire le pain de campagne, ou tout autre pain dit tradition.

- T80 : farine bise ou semi-complète utilisée couramment dans les boulangeries biologiques. Sert à faire le pain semi-complet.
- T110 : farine semi-complète.
- T130 : farine complète.
- T150 : farine intégrale. Sert à faire le pain complet "intégral".

Sur le marché du Québec, on trouve des farines avec des appellations courantes comme :

- farine blanche enrichie tout usage;
- farine à gâteaux et pâtisserie (également enrichie et qui produit une texture; plus légère (idéale pour les gâteaux);
- farine de blé entier (qui est une bonne source de fibres);
- farine de blé à grains entiers (qui contient les trois parties du grain de blé);
- farine blanche non blanchie (qui n'a pas été blanchie artificiellement);
- farine de boulangerie (qui a une plus forte teneur en gluten pour la panification);
- farine auto-levante (à laquelle on a ajouté une substance levante et du sel);

1.3.9. La levure

La levure de boulangerie (*Saccharomyces cerevisiae*) est un ingrédient naturel qui ne doit pas être confondu avec la poudre levante improprement appelée «levure chimique». Elle est essentiellement utilisée en panification à une quantité de 1 à 2,5% du poids de la farine. Toutefois, pour les petits articles de fantaisie, cette dose peut croître jusqu'à 5% (pistolets et biscottes) et 10% (brioches, pain à la Grecque) (Kiger & Kiger, 1968).

1.3.10. Le sucre

Les matières sucrantes sont peu ou pas utilisées en panification, contrairement à la pâtisserie où elles atteignent jusqu'à 20% du poids total. En panification, leur utilisation est limitée aux produits de viennoiserie et aux pains de mie. La plupart des matières sucrantes sont des substances hydrocarbonées à faible poids moléculaire, appartenant à la grande famille des sucres. Mais, c'est le saccharose

qui est la matière première sucrante la plus utilisée, en raison de sa pureté et de son faible coût (Kiger & Kiger, 1968; Chaboissier, 1981). Il est recommandé d'utiliser des produits de fine granulation (diamètre de cristaux de l'ordre de 165 μ m), voire même du sucre glace notamment lors de processus de pétrissage courts (Kissell et al., 1973). Les sucres participent à la saveur des produits finis et assurent en grande partie la coloration de la croûte lors de la cuisson grâce aux réactions de Maillard (Chaboissier, 1981).

1.3.11. L'huile

Les matières grasses sont utilisées en faible quantité en panification (moins de 5% du poids de la farine pour les biscottes). Sur le plan organoleptique, les corps gras confèrent au produit une saveur et un arôme particuliers. On distingue dans les produits utilisés les huiles qui sont liquides à la température ordinaire (huile de colza, tournesol...) et les graisses dont les points de fusion sont supérieurs à la température ordinaire (beurre, huile de palme,...) (Kiger & Kiger, 1968).

1.3.12. Le sel

Le sel alimentaire (NaCl) est présent dans la plupart des produits de panification à raison de 2% du poids de la farine en moyenne. Il est commercialisé sous forme de petits cristaux (dimension moyenne $\leq 800 \mu$ m) d'un blanc pur, obtenus par recristallisation après évaporation sous vide à haute température. Cet ingrédient est un exhausteur de goût et, parallèlement, on considère qu'il diminue les arrière-goûts (Roussel et Chiron, 2002).

1.3.13. Autres produits d'additions

Contrairement au secteur artisanal, la majorité des farines pour les boulangeries industrielles contiennent plusieurs des additifs suivants, surtout destinés à accélérer la production du pain ou uniformiser sa qualité (**Tableau 5**).

Tableau 5: Additifs utilisés dans des produits panifiés (Roussel & Chiron, 2002).

Groupe	Nom additifs	Actions
Agents de blanchiment	Peroxyde de benzoyle	Blanchiment les pigments de la farine
Agents de maturation	Acide ascorbique	↑de l'élasticité et ↓de l'extensibilité de la pâte
	Glucose oxydase	↑de la consistance de la pâte et ↓du collant
	Levure désactivée (glutathion)	↑du développement du gluten et l'extensibilité
	Farines de fève et de soja	Action sur les réactions de coloration croûte et mie
Agents émulsifiants	Lécithines E322	↑de la porosité des pâtes
	Monoglycéride saturé E471	↑de la régularité alvéolaire
	Esters diacétyl-tartriques de monoglycérides E 472 e	↑du volume des pains
Produits enzymatiques d'hydrolyse	Farine de malt	↑ de l'activité fermentaire et des réactions de coloration
	Hémicellulases	↑ du volume des pains et coloration de la croûte
	Lipases	↑ du volume des pains et de la régularité alvéolaire
Conservateurs	Acide sorbique et sorbates	↑ de la durée de conservation
	Acide acétique et acétates	Effet antimicrobien et propriétés organoleptiques
Autres	Gluten vital de blé	↑ de la rétention des gaz, ↑ de la fixation de l'eau, ↓du rassissement du pain

***(↑) : Augmentation. (↓) : Diminution.

1.4. Processus de panification

Le processus de fabrication des produits de panification comprend trois étapes essentielles : le pétrissage, la fermentation et la cuisson. La première étape assure l'hydratation des ingrédients, le développement de la structure de la pâte ainsi que l'introduction de la phase gazeuse. La fermentation permet l'augmentation de la fraction volumique gazeuse. Au cours de la cuisson, il y a passage de la pâte de l'état liquide à l'état solide caoutchoutique (Davies, 1986). A chaque étape de ce processus, l'évolution des propriétés rhéologiques du produit est la conséquence directe des changements de structure aux différentes échelles (moléculaire et microscopique) (Bloksma, 1990a).

1.4.1. Pétrissage de la pâte

Le pétrissage assure trois fonctions principales qui sont essentielles pour l'obtention d'une pâte bien aérée : *L'homogénéisation* : le pétrissage permet de répartir d'une manière homogène les constituants (les uns par rapport aux autres), favorisant ainsi leur contact – notamment celui de la farine - avec l'eau et donc leur hydratation. Le diagramme de pétrissage conventionnel en panification française avec une vitesse lente de 40 tr/min sur une durée de 12 à 15 min permet d'obtenir une masse macroscopiquement homogène à une échelle d'environ 1mm (Roussel et Chiron, 2002 ; Bloksma, 1990b). *L'aération de la pâte* : le mouvement des bras du pétrin entraîne, simultanément à l'homogénéisation, l'incorporation d'air dans la pâte sous forme de nucléo sphériques de petite taille (10 à 100 μ m) (Junge et Hosney, 1981). Le pétrissage d'une pâte à pain sous vide (densité = 1,25) ou non (densité = 1,15) montre que la fraction gazeuse introduite occupe 8% du volume total d'une pâte en fin de pétrissage à pression atmosphérique (Baker & Mize, 1941). Le volume relatif, défini comme le rapport du volume de pâte total par le volume de pâte sans gaz, est un indicateur du taux d'aération de la pâte. En fin de pétrissage, il serait de l'ordre de 1,1 (Bloksma, 1990b ; Van Vliet et al., 1992).

Structuration du réseau protéique : au cours du pétrissage, l'oxydation des acides aminés soufrés des protéines entraîne la création des ponts disulfures (liaisons covalentes) intra et inter moléculaires. Pendant longtemps, le modèle

d'organisation adopté considérait essentiellement des liaisons intermoléculaires qui entraînent la formation d'un réseau allant d'un bout à l'autre de la pâte, lui valant le nom de «molécule protéique géante» (Meredith, 1964). Un second modèle, plus vraisemblable, considère que les ponts disulfures sont intramoléculaires et les chaînes de protéines dépliées (gonflées par absorption d'eau) s'alignent plus ou moins pour former des faisceaux. Ces trois actions simultanées aboutissent en fin de pétrissage à un mélange cohésif aux propriétés viscoélastiques c'est-à-dire possédant des propriétés visqueuses aux temps longs (écoulement) et élastiques aux temps courts (Bloksma, 1990a).

1.4.2. Fermentation de la pâte

La fermentation a pour rôle d'enrichir la pâte en dioxyde de carbone. Elle provoque une perte en matière totale (de l'ordre de 2 à 3%) par transformation des sucres en alcool et acide carbonique (Chargelegue et al., 1994). L'action de la levure dépend des conditions environnantes (température, pH, teneur en eau...). Dans une plage de température entre 20 et 40°C, une élévation de la température de la pâte de 1°C entraîne une augmentation de la vitesse de fermentation de 8 à 12% selon le type de levure (Chargelegue et al., 1994). En panification française, une température de 22 à 24°C est maintenue pour la fabrication des baguettes contre des températures de 30 à 35°C pour la fabrication du pain de mie en moule. La pression osmotique, qui dépend essentiellement des concentrations en sucre et sel, a aussi une grande incidence sur la fermentation. Elle peut atteindre en panification 3,5 à 10 MPa, expliquant ainsi le ralentissement de l'activité de la levure dont le métabolisme ne peut alors s'effectuer normalement. Ce dysfonctionnement est dû à une différence de concentration entre le milieu intra et extra-cellulaire qui entraîne une diffusion de l'eau à l'extérieur de la cellule de levure et donc la limitation de l'entrée des sucres fermentescibles (Chargelegue et al., 1994).

1.5. Cuisson de la pâte

La cuisson est une étape complexe au cours de laquelle a lieu une série de transformations physiques, chimiques et biochimiques concomitantes telles que l'expansion du produit, la perte d'eau par évaporation, la formation d'une structure alvéolaire plus ou moins développée, la dénaturation des protéines, la gélatinisation de l'amidon, la formation d'une croûte et les réactions de coloration (Sablani et al., 1998).

1.5.1. Expansion du produit lors de la cuisson

Au début de la cuisson, la levure continue à produire du CO₂ jusqu'à sa température de désactivation aux alentours de 50 °C. Le CO₂ et l'éthanol produits et dissous dans la pâte s'évaporent et enrichissent la phase gazeuse. Les conditions hydriques du milieu environnant (air plus ou moins sec) peuvent impliquer un gradient de concentration en eau qui serait à l'origine de la diffusion d'eau dans la pâte sous forme liquide. A partir de 60 °C, l'eau diffuse vers les cellules gazeuses et s'évapore. Cette vapeur d'eau diffuse sous l'effet d'un gradient de pression partielle de vapeur d'eau. D'un côté, l'augmentation continue de la température de la pâte entraîne un accroissement de la pression de vapeur saturante dans la pâte même. De plus, la différence de température entre la surface et le cœur du produit est à l'origine d'une pression partielle de vapeur d'eau plus importante en surface. La vapeur d'eau diffuse alors au travers du CO₂ contenu dans la bulle, rencontre un film de pâte à une température plus faible, se condense et diffuse sous forme liquide au travers du même film. Ce film de pâte séparant deux bulles proches, l'eau peut s'évaporer à nouveau dans la bulle à plus faible température. Simultanément, sous l'effet de l'augmentation de la température, les gaz inclus dans les cellules prennent de l'expansion. Aux basses températures, c'est l'évaporation du dioxyde de carbone qui apporte la plus large contribution, et aux températures plus élevées (> 60 °C), c'est plutôt l'évaporation de l'eau (Bloksma, 1986). L'arrêt de cette expansion se situerait vers 70 °C (Bloksma, 1990a). Moore et Hosney (1985) la situaient à une température plus élevée vers 80°C mais en négligeant la participation de la vapeur d'eau. Suite au

grossissement des bulles gazeuses et à l'extension biaxiale induisant le passage des cellules de la forme sphérique à la forme polyédriques, deux cas se présentent (Hayman et al., 1998a) : (a) absence de rupture des parois des cellules gazeuses avec l'obtention d'un produit fini qui présente des mies avec des alvéoles indépendantes. La structure alvéolaire est alors dite «fermée». (b) dans le cas où il y a rupture des cellules et coalescence, le produit final présente alors des mies avec des alvéoles connectées et des cheminées. Ils sont alors dits qu'ils sont d'une structure alvéolaire «ouverte».

1.5.2. Gélatinisation de l'amidon pendant la cuisson

A température ambiante, les grains d'amidon natifs sont insolubles dans l'eau ($3 < \text{pH} < 10$). En présence d'un excès d'eau ($> 60\%$ masse totale) et à une température supérieure à 60°C , la structure physique de l'amidon est modifiée : c'est le processus de gélatinisation conduisant à la solubilisation partielle de l'amidon. Ce processus comprend un gonflement irréversible suivi d'une perte de la structure granulaire. Cette perte est due (Buléon et al., 1990) : aux changements structuraux concernant d'abord les zones amorphes, car elles sont plus accessibles à l'eau, ensuite les zones cristallines (fusion). Ce décalage entre les deux phénomènes est d'autant plus grand que la teneur en eau est faible à la solubilisation rapide de l'amylose qui diffuse hors du grain. L'empois obtenu est formé de fantômes de grains et de macromolécules en solution et ses propriétés dépendent du degré de gélatinisation ainsi que du rapport amylose/amylopectine.

Ce phénomène de gélatinisation, correspondant à une disparition des zones ordonnées, implique la perte de la biréfringence des grains d'amidon (disparition de la « croix de Malte » observée en lumière polarisée). Le gonflement des grains suivi de la solubilisation de l'amylose modifie aussi la consistance du milieu provoquant une augmentation rapide de la viscosité de la phase continue pour atteindre un pic (Morris, 1990). La présence de gluten dans le milieu semble influencer la température de fusion de l'amidon. C'est aussi le cas de plusieurs autres composés utilisés dans la fabrication des produits de panification, notamment les sucres qui provoquent le retardement du phénomène de

gélatinisation. Plusieurs études par calorimétrie rapportent une augmentation des températures du début du phénomène de gélatinisation, du pic de gélatinisation et du pic de fusion (Ghiasi et al., 1983 ; Buck & Walker, 1988).

1.5.3. Transformation des protéines

Les protéines de structure (albumines et globulines) et de réserve (gluten), ne subissent pas les mêmes modifications lors des traitements thermiques. Les protéines de structure subissent deux modifications successives. Une transconformation réversible des molécules puis une association irréversible de celles-ci par des interactions de type hydrophobe ou à travers l'oxydation de groupements thiol, c'est la thermo coagulation (Mulvihill & Donovan, 1987). La première étape de cette dénaturation fait évoluer la structure native des protéines vers un état désordonné généré par la rupture des liaisons de faible énergie (liaisons hydrogènes). Elle implique aussi une exposition différente des zones hydrophobes de la protéine dépliée et donc de nouvelles interactions, en particulier avec les molécules d'eau. Ce phénomène de transformation intervient dans un intervalle de température assez étroit (60 à 70 °C) pour des teneurs en eau supérieures à 25% (masse totale). Pour des teneurs en eau plus faibles, plus on diminue l'eau, plus la température de dénaturation est élevée (Mitchell et al., 1994). La seconde étape, est favorisée par l'augmentation de la mobilité moléculaire au cours de la transformation. La mise en place de nouvelles liaisons conduit à la création d'agrégats, solubles au début seulement. L'agrégation induit d'importantes modifications des propriétés comportementales avec l'insolubilité des agrégats en particulier. Contrairement à la première étape, phénomène endothermique rapide, l'agrégation est un processus cinétique exothermique : plus la vitesse de chauffage est lente, plus le processus d'agrégation est important (Myers, 1990). Les protéines du réseau de gluten réagissent différemment aux traitements thermiques puisqu'elles ne subissent pas la première étape de transformation réversible : il y a polymérisation directe et irréversible (pontage disulfure). Le gluten peut être assimilé à une macromolécule amorphe caractérisée par une température de transition vitreuse qui est fonction de la teneur en eau. Elle

est de l'ordre de 110 °C pour une teneur de 2% en eau (masse totale) et chute à 25 °C pour une teneur de 15% (Toufeili et al., 2002).

1.5.4. Effet des constituants du son sur la panification

La capacité d'absorption d'eau du son de blé est plus élevée que celle de l'endosperme. Dans un pain riche en fibres, le gluten ne serait pas suffisamment hydraté pour se développer de façon optimale à un niveau « normal » d'absorption d'eau parce qu'il entrerait en compétition avec le son, un important buvard, ce qui diminuerait le volume du pain (Lai et al., 1989a). Les arabinoxylanes ont un effet notable sur le pouvoir d'hydratation de la farine à cause de leur nature extrêmement hydrophile (Boudreau & Ménard, 1992; Lineback & Rasper, 1988). Ils ne sont pas dénaturés à la chaleur (Okot-Kotber et al., 2003). Les arabinoxylanes ont une forte capacité d'absorption et de rétention d'eau, environ 10 fois leur poids (Boudreau & Ménard, 1992; Lineback & Rasper, 1988; Rodionova et al., 1992; Rouau, 1996). Dans une pâte, environ 20 % de l'eau est associée aux arabinoxylanes (Rouau, 1996). Une teneur élevée en arabinoxylanes favoriserait donc une forte absorption d'eau par les farines. La proportion de fibres solubles et insolubles influencerait aussi le taux d'absorption d'eau par le mélange (Autio & Laurikainen, 1997). L'ajout d'une plus grande proportion de fibres solubles augmenterait la vitesse d'absorption d'eau et le contraire surviendrait lorsque plus de fibres insolubles seraient ajoutées (Haseborg & Himmelstein, 1988). La composition chimique des fibres alimentaires influencerait leur capacité d'absorption d'eau en corrélation directe avec la quantité de polysaccharides insolubles et non cellulosique, mais inversement proportionnelle avec le contenu en lignine et en cellulose (Dural & Hines, 1993). Selon Mongeau & Brassard (1982a), tous les produits du blé contiennent la même proportion d'hémicelluloses insolubles (~67 % de fibres de détergent neutre totale) et de cellulose (~24 % de fibre de détergent neutre totale). Les variations de capacité d'absorption d'eau ne semblent pas dues à des variations de composition, mais plutôt à des changements de la structure des fibres alimentaires causés par la mouture (Mongeau & Brassard, 1982b). L'absorption d'eau durant le pétrissage de la pâte à

Le pain augmente aussi en fonction de la teneur en amidon modifié et en protéines (Lineback & Rasper, 1988). Cependant, la présence d'arabinoxylanes solubles et insolubles dans la farine augmente son absorption d'eau (Lineback & Rasper, 1988). Les arabinoxylanes affectent aussi les propriétés rhéologiques de la pâte, soit sa résistance à l'étirement et sa viscosité (Rodionova et al., 1992). La cellulose peut retenir de 3,5 à 10 fois son poids en eau, dépendamment de sa longueur (Cho et al., 1997). La température serait un autre facteur affectant l'absorption d'eau des fibres (Dural & Hines, 1993), mais une autre étude de Cho et al. (1997) vient contredire cette affirmation en disant que la température n'a que peu d'effet sur l'absorption d'eau. Les fibres insolubles, telle que la cellulose, retiennent l'eau dans leurs pores et de l'énergie est nécessaire pour la retirer. La capacité d'absorption d'eau augmente avec la taille des particules à cause de leur plus grand nombre de pores et d'ouvertures dans la matrice spongieuse (Chaplin, 2004).

1.5.5. Effet de la taille des particules de son

L'absorption d'eau du son de blé dépendrait aussi de la taille des particules. Le **Tableau 6** présente les résultats de deux études différentes sur l'effet de la grosseur des particules sur l'absorption d'eau du son. Les résultats de l'absorption d'eau varient selon l'étude, mais présentent les mêmes tendances où l'absorption d'eau augmenterait proportionnellement avec la grosseur des particules de son.

Tableau 6: Comparaison de deux méthodes d'absorption d'eau sur des sons de grosseur différente (Mongeau & Brassard, 1989).

Type de son de blé	Mongeau & Brassard (1982a) (g eau/g son)	Heller et al. (1980) (g eau/g son)
Grossier (0,72mm)	3,99	5,25
Fin (0,18–0,27mm)	2,92	3,60

La structure des fibres alimentaires semble plus importante que la présence de l'amidon dans la détermination de la capacité d'absorption d'eau (Cho et al., 1997). Ces auteurs ont calculé la capacité d'absorption d'eau sur les fibres de détergent neutre plutôt que sur le son brut, ce qui s'approchait davantage des conditions du côlon. Plus des particules de son sont grossières, plus elles absorbent d'eau. Des particules plus grosses retiendraient plus d'eau et préviendraient la formation de fèces sèches et dures (Mongeau & Brassard, 1982a). Les cellules de la couche à aleurone du son de blé sont comme les ouvertures d'une éponge très hygroscopique (Mongeau & Brassard, 1982b). Lorsque la grosseur des particules est réduite, il y a moins de pores pour retenir l'eau et la capacité d'absorption d'eau diminue, ainsi que l'utilité physiologique (Shaller, 1978). Nelles et al. (1998) ont effectué plusieurs traitements d'hydratation, de chaleur, de chaleur humide et d'eau oxygénée sur le son de différentes variétés de blé et tous les traitements ont mené à une augmentation du volume du pain comparativement au témoin sans traitement. Peu importe le cultivar, les traitements les plus efficaces seraient l'hydratation et l'eau oxygénée. Le prétrempage des particules de son permettrait d'optimiser l'absorption d'eau de tous les constituants de la farine. De plus, le prétrempage du blé changerait l'effet produit par la grosseur des particules de son (Zhang & Moore, 1999). Sans trempage, les petites particules de son donnent un volume de pain plus élevé que les grosses particules; quand les sons sont prétrempés, c'est le contraire (Zhang & Moore, 1999). D'un autre côté, les gros flocons de son pourraient encapsuler de l'air au cours du pétrissage et donner un pain plus volumineux avec une mie ouverte (De Kock et al., 1999). La perte de certains composés hydrosolubles du son lors de l'extraction aqueuse pourrait donc affecter la qualité boulangère du pain et de la pâte.

1.5.6. Effet des constituants du son sur la rhéologie de la pâte

L'effet des constituants du son dans le cas de notre étude est comparable par rapport aux cas pains de blé entier (farine qui comprend 95% du grain de blé à l'exclusion du germe). Par rapport au pain blanc, le pain de blé entier est généralement moins volumineux, sa mie est moins homogène, plus grossière

(Seyer, 2005). La pâte des pains de blé entiers est moins forte que celle du pain de farine blanche (Özboy & Köksel, 1997). L'acide férulique provoquerait une diminution de la tolérance de la pâte au pétrissage, une réduction du temps optimal de pétrissage ainsi qu'un affaiblissement accru de la pâte après le temps optimum de pétrissage (la consistance et l'élasticité diminuent rapidement). Donc, la présence importante d'acide férulique lié aux fibres alimentaires aurait un impact négatif sur la qualité des pains de blé entier. Les arabinoxylanes du blé sont des ingrédients fonctionnels importants en boulangerie, car ils affecteraient la rétention d'eau, la rhéologie et la rétrogradation de l'amidon. Ils amélioreraient aussi la rétention des gaz dans la pâte, par l'effet positif de leur viscosité sur les films de gluten-amidon (Chaplin, 2004). La rétention d'eau des arabinoxylanes dépendrait de la fraction d'arabinose car, lorsque celle-ci est absente, la molécule lierait moins d'eau et deviendrait moins soluble (Chaplin, 2004). Boskov Hansen et al. (2002) ont dosé les fibres alimentaires totales au cours de la fabrication de pain de seigle. Après le mélange de la pâte à pain, la teneur en fibres alimentaires totales diminue de 21 % à cause de la baisse de la teneur en fibres insolubles (Boskov Hansen et al., 2002). Le contenu en fibres solubles était inchangé tout au long du processus de panification, mais sa teneur relative augmentait. Une telle augmentation relative des fibres solubles serait causée par la solubilisation d'une partie des fibres insolubles. La diminution des fibres alimentaires totales peut être expliquée par la transformation des fibres insolubles en composés plus petits et non précipités par l'éthanol à 80 %. Ces composés ne seraient donc pas inclus dans les fibres alimentaires. Avec la méthode d'analyse utilisée par ces auteurs, les fibres solubles sont le résultat de la différence entre les fibres totales et les fibres insolubles (Boskov Hansen et al., 2002). Les changements produits sur les fibres alimentaires au cours du chauffage ou de la cuisson sont complexes (Kutos et al., 2003). Des essais sur les fèves ont démontré que la cuisson ferait diminuer le contenu en fibres insolubles et conséquemment la teneur en fibres totales (Kutos et al., 2003). La cuisson des légumes ferait diminuer le contenu en hémicellulose davantage que le contenu en cellulose. Le trempage des fèves augmenterait la teneur en fibres solubles (Kutos et al., 2003). Özboy & Köksel (1997) ont étudié

l'effet du son de différentes variétés de blé sur les propriétés rhéologiques de la pâte et la qualité du pain. Ils ont interverti les sons de quelques variétés de blé. Les résultats ont démontré que le son de certaines variétés (Gerek) avait moins d'effets négatifs sur le volume du pain que d'autres variétés.

1.6. Volume massique du pain

La taille des particules de son ainsi que la forme des fibres alimentaires influenceraient la fonctionnalité, les propriétés physiologiques et les caractéristiques sensorielles du pain. Les particules plus grosses ralentiraient l'absorption d'eau de la pâte (Haseborg & Himmelstein, 1988). Cependant, l'effet de la grosseur des particules du son sur l'absorption d'eau ne peut pas être généralisé et devrait être déterminé pour chaque type de fibre ou de son (Strange & Onwulata, 2002). L'effet de la grosseur des particules de son sur le volume du pain a été étudié par plusieurs chercheurs (De Kock et al., 1999) et chacun arrive à des conclusions différentes selon les traitements appliqués. Plus le son moulu de différentes fractions est fin, moins il affecterait le volume du pain si on laisse la pâte se reposer (180 min) avant la fabrication des pains (Zang & Moore, 1997). Les petites particules briseraient davantage le réseau de gluten lors du mélange, mais le temps de repos (180 min) permettrait à la pâte de refaire plus facilement le réseau contenant de fines particules de son. D'après De Kock et al. (1999), le traitement thermique du son améliorerait les propriétés rhéologiques de la pâte à pain en inactivant les lipases et en oxydant les substances réductrices totales présentes dans le son de blé. Le chauffage brise les parois cellulaires, ce qui libère de l'amidon gélatinisé et soluble dans l'eau (Cho et al., 1997). Selon les conditions de chauffage, d'autres réactions chimiques peuvent survenir telles que la formation de liens protéiques ou l'estérification des acides gras, augmentant ainsi la taille effective et modifiant les propriétés des fibres alimentaires. Avec le cisaillement mécanique, la chaleur et la pression peuvent provoquer des changements de la composition et de la taille des fibres (Cho et al., 1997). Les propriétés rhéologiques de la pâte sont grandement améliorées si le son est préalablement trempé dans l'eau, mais l'effet contraire est observé si l'extrait aqueux de son est ajouté à la

pâte (Shams-Ud-Din et al., 1998). Il semble donc que des composés hydrosolubles présents dans le son de blé soient en grande partie responsables de l'effet négatif du son.

Le pain est un milieu complexe et poreux, dans lequel de nombreux phénomènes physiques et chimiques se produisent au cours de la cuisson. Après la fermentation, la pâte est remplie de bulles de CO₂ qui sont responsable de l'expansion du volume durant la cuisson. Initialement, les bulles sont isolées l'une de l'autre et il n'y a pratiquement pas de transfert de gaz dans la matrice. Avec l'augmentation de la température, les bulles de CO₂ grossissent et un transfert de gaz a alors lieu. Le gonflement du produit durant la cuisson provoque une augmentation de la porosité de la matrice. Ce phénomène crée une augmentation de pression au début de la cuisson. À part le CO₂, la matrice pâteuse libère aussi un volume important de vapeur d'eau. Dépendamment de la forme de la matrice (présence ou absence de gluten, forme géométrique), le volume du pain peut prendre des dimensions pouvant dépasser le triple du volume de la pâte. Ces phénomènes se produisent en simultanément et s'influencent mutuellement. Au cours de la cuisson, l'amidon se gélatinise, une croûte solide se forme à la surface du pain et les propriétés thermo-physiques de la matrice changent. Ces phénomènes sont souvent décrits par une modélisation du processus de cuisson du pain en supposant que le transfert de chaleur vers la pâte se fait par convection et rayonnement puis la chaleur est transférée vers le centre de la matrice par conduction. De cette manière, on élimine l'interférence des différents modes de transfert de chaleur à l'intérieur du pain durant la cuisson. Les modèles développés sont appliqués, de façon globale, au processus de cuisson et de façon particulière aux changements qui peuvent survenir avec les protéines et la gélatinisation de l'amidon. Toutefois, l'explication complète du phénomène de cuisson du pain reste un domaine qui n'est pas complètement exploré, car la cuisson du pain est plus qu'une science. C'est un art! Voir les **Annexes 1-6** pour plus de détails.

1.7. Lactulose

Lactulose: Production and use in pharmaceutical applications and functional foods

``Cette section a été réalisée sous forme d'une synthèse bibliographique et est destinée à être publiée comme un article-review. Elle a été écrite dans une collaboration étroite entre Dr Amara Aït Aissa (chercheur postdoctoral en génie alimentaire) et Dr Mohammed Aider (responsable du projet)``.

1.7.1. Abstract

Lactulose is a synthetic disaccharide. It can be obtained from lactose by chemical, enzymatic or by electro-activation synthesis. This review provides the comprehensive of lactulose production and its application in medical, pharmaceutical and functional food applications. Lactulose can be used in medical and pharmaceutical applications for the treatment of diseases such as chronic constipation, therapy of portal systemic encephalopathy, inflammatory bowel disease, reducing blood ammonia levels, colon carcinogenesis, tumour prevention and immunology, mineral absorption and for the inhibition of the secondary bile acid formation. However, with the growing interest in functional foods, the use of non-digestible oligosaccharides such as prebiotic ingredients has increased considerably during the recent years. In this context, lactulose as a well-recognized prebiotic offers excellent possibilities to develop new functional foods. It can be added to several foods.

Keywords: Lactulose; Prebiotic; Nutrition; Functional Foods.

1.7.2. Résumé

Le lactulose est un disaccharide synthétique. Il peut être obtenu à partir de lactose par voie chimique, enzymatique ou par synthèse par électro-activation. Cette revue de littérature a pour objectif de donner une vision plus complète des techniques de production de lactulose et de son application alimentaire, médicale, et pharmaceutique. Le lactulose peut être utilisé dans des applications médicales et pharmaceutiques pour le traitement de maladies telles que la constipation chronique, le traitement de l'encéphalopathie systémique, les maladies inflammatoires de l'intestin. Le lactulose permet de réduire le taux d'ammoniaque dans le sang, le risque de cancer du côlon. Il permet également la prévention de tumeurs, renforce le système immunitaire, aide à l'absorption des minéraux et à l'inhibition de la formation d'acide biliaire secondaire. Cependant, avec l'intérêt croissant pour les aliments fonctionnels, l'utilisation d'oligosaccharides non digestibles tels que les ingrédients prébiotiques a considérablement augmenté au cours des dernières années. Dans ce contexte, le lactulose en tant que prébiotique reconnu offre d'excellentes possibilités de développer de nouveaux aliments fonctionnels.

Mots-clés: Lactulose; Prébiotique; Nutrition; Aliments fonctionnels.

1.7.3. Introduction of lactulose and context

Lactulose (4-O- β -D-galactopyranosyl-D-fructose) is a non-digestible sugar with a molecular mass of 342.30 g/mole and a melting point of 169 °C. It is a white, odourless powder with a light sweet taste. The disaccharide is composed of a galactose moiety linked to a fructose molecule by a 1-4 β -glycosidic link. By using the current methods of lactulose production, three isomers predominate in the end product: β -furanose, β -pyranose and α -furanose at a ratio of 0.745, 0.155, and 0.100, respectively. There was no evidence of the presence of the α -pyranose. Over the last 10 years, the global demand for lactulose has grown appreciably. Lactulose has up to now been mainly used as a medicinal drug (Panesar & Kumari, 2011).

Lactulose as a medicinal drug is registered in over 100 countries. Indications are hepatic encephalopathy and constipation and in some countries the treatment of salmonella carrier (Schumann, 2002). Moreover, it is used as a prebiotic in food applications. It has been found that the composition of colonic microflora of bottle-fed babies is very much like that of adults. If lactulose is added to the formula milk, such babies have same composition of the colonic microflora as the breast-fed babies. The increased demand for functional foods in recent years is closely related to the growing concern of society with health and quality of life. Moreover, consumers are more informed and aware about the foods that can benefit health (Caselato de Sousa et al., 2011). This present review deals with the importance of lactulose production and summarizes the different applications of this prebiotic, especially, in medical, pharmaceutical and functional food fields.

1.7.3. Methods of lactulose production

1.7.3.1. Chemical isomerization method

The isomerization of lactose into lactulose causes the transformation of the glucose moiety in lactose to a fructose one to yield lactulose via the Lobry de Bruyn–Alberda van Ekenstein transformation (**Figure 2**). Calcium hydroxide, tertiary amines, sodium aluminate, borates, sodium hydroxide, magnesium oxide,

potassium hydroxide and potassium carbonate have been employed as homogeneous catalysts for lactulose synthesis (Zokaee et al., 2002a, 2002b). Zeolites and sepiolites have been proposed as heterogeneous catalysts (Villamiel et al., 2002). Most of these processes cause a high level of undesirable side products formation, which are difficult to remove from lactulose syrup.

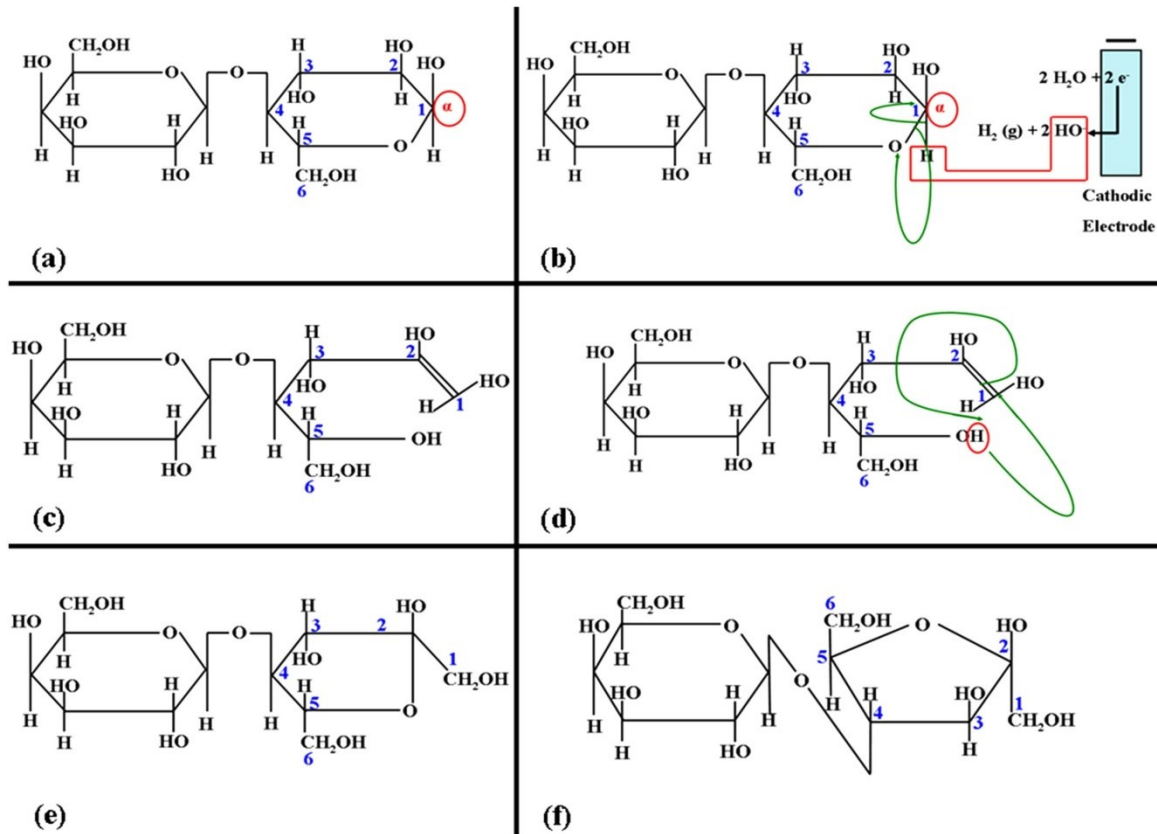


Figure 2: Schematic representation the chemistry mechanism of lactulose production in electro-activation reactor. (a) lactose molecule; (b), (c), (d) formation of the enediol intermediate; (e), (d) lactulose molecule (Aït Aïssa & Aïder, 2013b).

For industrial production, degradation products should be avoided or at least kept to a minimum. Furthermore, the presence of monosaccharide and lactose is especially undesirable for medical purposes and requires additional separation steps (Aider & de Halleux, 2007). Nowadays for commercial utilization, lactulose is exclusively produced by alkaline isomerization of lactose (Zokaee et al., 2002b). The waste management and product purification of the chemical processes are cost intensive.

1.7.3.2. Enzymatic isomerization method

The production of lactulose by enzymatic method would be beneficial in respect of product purification and classification as natural product in the food and pharmaceutical industry. The enzymatic synthesis of lactulose is commonly carried out with classes of enzyme of β -galactosidase and glycosidase. β -galactosidase is a well-known biocatalyst for trans-galactosylation reaction and for the synthesis of lactose based derivatives including galacto-oligosaccharides (Panesar et al., 2011). β -galactosidases are found in microorganisms, plants (almonds, peaches, apricots, apples) and animal organs (Nagy et al., 2001; Flood & Kondo, 2004; Haider & Husain, 2007). Industrially, the major enzymes are obtained from *Aspergillus* and *Kluyveromyces*. However, the enzyme β -galactosidase produced from *Kluyveromyces lactis* is the most widely used (Lee et al., 2003; Zhou & Chen, 2001; Jurado et al., 2002; Klewicki, 2007). The formation of β -D-galactopyranosyl-D-fructoses by reverse hydrolysis of D-galactose and D-fructose with β -galactosidases from *Aspergillus oryzae* results in a mixture of four differently linked disaccharides. The overall product yield in a batch process was about 55%, with the (1 \rightarrow 1) linked disaccharide as a major product. The synthesis of lactulose by transgalactosylation using *Saccharomyces fragilis* β -galactosidase with product yields of about 8% of initial lactose concentration. Using whole cells from *Kluyveromyces lactis*, the product yields related to the initial lactose concentration of about 4% were reached (Lee et al., 2004). According to Mayer et al. (2004), the product yield of about 45% was reached by optimizing the ratio of fructose to lactose (Mayer et al., 2004). Moreover, by using the enzyme obtained from *Aspergillus oryzae*, new prebiotic oligosaccharides are synthesized by a direct reaction of transgalactosylation of lactulose. As a result, they can be denominated as galacto-oligosaccharide derived from lactulose (GOS-Lactulose). These galacto-oligosaccharides can be obtained with an alternative synthesis method which is the trans-galactosylation of lactose using the same enzyme and the subsequent chemical isomerization of the galacto-oligosaccharides with sodium acuminate (Torres et al., 2010; Hernandez-Hernandez et al., 2011). Both products of synthesis are purified with activated charcoal to remove the monosaccharides

and disaccharides, enriching the mixture in oligosaccharides with polymerisation degree > 2. The resulted product is a mixture of di- and trisaccharides with a lower proportion of tetra- and pentasaccharides.

1.7.3.3. Electro-activation isomerization method

The electro-activation synthesis of lactulose is based on the electro-catalytic method. The electro-activation occurs in an electrolysis reactor which is composed of a pair of electrodes submerged into an electrolyte solution to ensure the conduction of ions when the system is subjected to an external electric field (Aïder & Gimenez-Videl, 2012). The electro-activation reactor used to produce lactulose can be composed of three compartments: anodic, central and cathodic. The cathodic compartment is filled with lactose solution, and the anodic and central compartments can be filled with an electrolyte. The central compartment is connected with the other compartments via anion and/or cation exchange membranes. The electro-isomerization reaction takes place in the cathodic compartment. The isomerization reaction requires proton acceptors and this can be achieved by having an alkaline medium which is generated following water electrolysis at the cathode interface. The isomerization mechanism of lactose into lactulose in an electro-activation reactor is given by Aït Aïssa & Aïder (2013b).

1.7.3.4. Lactulose in the isomerization reaction of lactose

Lactulose occurs as an intermediate in the isomerization of lactose. However, this isomerization may cause other undesirable products which can be explained by:

1. Lobry de Bruyn and Alberda van Ekenstein transformation (LA);
2. The interaction of amino acids with lactose in the Maillard reaction and subsequent Amadori rearrangement, especially in milk and whey heated for 20 min at a temperature of 110-150°C. In these conditions, 80 % of the degraded lactose followed the LA transformation and 20% followed the Maillard reaction.

1.7.3.5. The Lobry de Bruyn and Alberda van Ekenstein transformation

The dominant reaction in lactose isomerization into lactulose which takes place under alkaline conditions is the Lobry-de-Bruyn and Alberda-van-Ekenstein (LA) transformation. This reaction is not specific to lactose but describes more than 50 similar reactions, the common feature being an enediol intermediate. Most of them occur in the presence of a base catalyst. Under the influence of a base catalyst, the glucose moiety of lactose is isomerized to fructose via an intermediate enolization. Beyond these initial reactions, studies have not always agreed upon pathways or reaction products (Hashemi & Ashtiani, 2010). The essential reaction products assigned to the LA transformation of milk were lactulose, galactose, formic acid, and various C5 and C6 compounds. The pH decreasing promotes the production of formic acid. The C5 compounds were admitted to be formed along with the formic acid. The compound C5 can include 2-deoxyribose, 3-deoxypentulose and/or furfural. Small amounts of furfural and hydroxymethyl furfural were also measured. Reaction intermediate C6 compounds such as deoxyosones were thought to be formed but were not identified. It was suggested that the main route for lactose degradation during LA transformation was through the 4-deoxyosone which was not considered an intermediate during Maillard/Amadori reactions. These were not simple reaction routes since they were occurring simultaneously and products could form through different routes. Epilactose, tagatose, and isosaccharinic acids were not systematically detected. D-Tagatose is a product of D-galactose degradation along with formic acid, whether the lactose reaction follows the LA transformation. Isosaccharinic acids can be considered both as major organic acids and lactose degradation products. Moreover, isosaccharinic acids have been described as lactose isomerization products and often as the major organic acids produced. Beta-isosaccharinic acid and tagatose as degraded products of alkali treated lactose were reported. Isosaccharinic acids are thought to occur through the beta-elimination degradation of lactulose. Finally, other acids (lactic and acetic acids) have also been included as reaction products (Schuster-Wolff-Bühning, et al., 2010).

1.7.3.6. The Maillard reaction and Amadori rearrangement

The Maillard reaction occurs in milk by the elimination of a water molecule, joining the carbonyl group of lactose to an amino acid (Jalbout, et al., 2007). The amino acid is often protein-bound and is usually lysine. This pairing forms an amino glycoside named lactosyl-lysine. Amadori rearrangement transforms lactosyl-lysine to its isomer lactulosyl-lysine. The tulosyl-lysine, galactose, formic acid, hydroxymethyl furfural, and other Maillard products are the main reaction products of heated milk. The formation of galactose, formic acid, and C5 and C6 compounds from lactulose degradation occurred whether initiated by the LA transformation or the Maillard reaction (Cerny et al., 2011).

1.7.4. Use of lactulose in medical and pharmaceutical applications

1.7.4.1. Application against constipation

The treatment of constipation should be graded, starting with changes of the lifestyle and diet. It is recommended to change the diet to increase fiber intake. In the next step, if constipation persists, laxatives will be recommended. There is a huge variety of laxatives available in the market. The modes of action consist of increasing faecal mass (bulk-forming), stimulating colonic nerves, or lubricating to osmotically active substances like lactulose. Since the 1960s, lactulose has been administered to treat constipation in patients of all ages, including babies. Lactulose is an osmotic laxative. It is used for relief of constipation, including chronic constipation. It works in about 24 to 48 h. Lactulose is unchanged when it reaches the intestines. Once in the intestines, bacteria therein split lactulose into its active components. This increases the action of the intestines and keeps the liquid so that stools are propelled and become easier to pass. Lactulose is not digested in the small intestine since the specific disaccharidase is lacking. It transits unchanged to the colon where it serves as an energy source for the carbohydrate-splitting bacteria, predominantly *lactobacillus acidophilus* and *L-bifidus* (Hernandez-Hernandez et al., 2012; Saarela et al., 2003; Cardelle-Cobas et al., 2011). During this fermentation process, low molecular organic acids such as lactic and formic acids are formed.

1.7.4.2. Application as a therapy of portal systemic encephalopathy (PSE)

Prasad et al. (2007) studied the influence of lactulose on the hepatic encephalopathy (HE) involving 61 patients. They were divided into two groups: 31 patients received lactulose treatment for 3 months, while 30 patients received no treatment. The results showed that the number of abnormal neuropsychological tests decreased among patients who took the lactulose compared to the others. Moreover, a significant improvement in cognitive function were observed in the lactulose group. Moreover, the lactulose group showed improvement in their quality of life, with significant improvement in emotional behavior. Different studies compared the effect of lactulose with different products which are used in the treatment of hepatic encephalopathy in order to know which one is better (**Table 1**). The reported results showed that lactulose could be potentially used in the treatment of this disease.

1.7.4.3. Application as against *Salmonella* carriers

Schumann (2002) has shown the potential of lactulose for a medically meaningful use as a powerful prebiotic in non-typhoid salmonella carrier. In this indication, lactulose is used in dosages of up to 60 g per day. It is believed that this leads to a sharp drop of the colonic pH, which makes the survival of salmonella difficult. The excretion of salmonella in two groups of outpatients who were treated with lactulose showed that after a period of four weeks, the organisms were removed in 68.6%. In contrast, among the 23 adults who did not receive treatment, 56.5% were still excreting in the organism after this period. In addition, the duration of treatment with lactulose was performed. Among 64 patients, 37 patients received different antibiotics, 14 received lactulose and in 13 patients, symptoms have been treated previously. The length of the shedding period was longer for the group receiving antibiotics (4 weeks). The same study showed that treatment with lactulose resulted in a shorter period of excretion in these patients.

1.7.4.4. Application against inflammatory bowel disease

The inflammatory bowel disease (IBD) is a group of inflammatory conditions of the colon and small intestine. Ulcerative colitis and Crohn's disease are two

major chronic diseases of the inflammatory bowel disease (Talley et al., 2011). The effects of lactulose on both bacteria and bacterial endotoxin in the intestine provide a theoretical basis for its use in the treatment of inflammatory bowel disease. Oral therapy of such patients with lactulose causes an increased production of low molecular weight organic acids in the colon with a significant decrease in faecal pH, thus creating favourable conditions for *Lactobacillus acidophilus* growing which inhibit the *coliforms*, *bacteroides*, *Salmonella* and *Shigella*. Lactulose might have the following effects: change of the colonic flora with a reduction of potential pathogens (Jaishree et al., 2007); infection limiting role by reducing the urinary and respiratory tract infections; a reduction in the production of gut endotoxins and a decrease in the absorbance of gut endotoxin; regulation of bowel habit, especially suitable for the patients with constipation. Therefore, lactulose may provide an alternative form of therapy for the treatment of inflammatory bowel disease (Chen et al., 2011; Panesar & Kumari, 2011). It also might reduce the frequency of relapse during long-term maintenance therapy. Moreover, it has been shown that therapeutic use of lactulose is safe, with adverse drug reactions generally being few and mild.

1.7.4.5. Role of lactulose against the endotoxins

Lactulose has anti-endotoxin properties. The role of lactulose in preventing endotoxaemia in obstructive jaundice has been investigated on patients with obstructive jaundice undergoing surgery. Twelve patients received lactulose orally before surgery. These patients were compared with other patients who have not received lactulose. Indeed, endotoxemia was reduced in systemic blood samples of group which treated by lactulose. Similarly, after 24 hours, a significant decrease in creatinine was noted in group of patients treated with lactulose. Also, the results given by animal experiments have shown that oral lactulose administration reduced the mortality associated with endotoxin in obstructive jaundice. Lactulose treatment before operation can prevent endotoxin dependent complications such as renal dysfunction (Koutelidakis et al., 2003).

1.7.4.6. Role of lactulose in reducing blood ammonia levels

Lactulose is a laxative that reduces bacterial production of ammonia in the intestines, draws ammonia from the blood to the colon, then drain it through the waste. Lactulose is hydrolyzed by colonic bacteria and acts as promoting agent for their growth and increasing biomass formation. However, for the synthesis of bacterial protein, ammonia and nitrogen are used, but the production of ammonia is inhibited by acidifying the intestinal content (Wright et al., 2011). The effects of lactulose on blood ammonia and fecal pH in beagles with an end-to-side portacaval shunt have been studied by Wright et al., (2011). Concentrations of blood ammonia before and two weeks after the operation were 4.65 +/- 0.34 µg/mL and 8.66 +/- 0.60 µg/mL, respectively. However, the concentration of ammonia in the blood in the control and lactulose treated groups after administration of meat is 12.65 +/- 1.64 µg/mL and 8.45 +/- 0.90 µg/mL, respectively. Independently of pH, lactulose acts by increasing the incorporation of ammonia in the bacterial proteins. In addition, it has been shown in vitro that the lactulose inhibits the synthesis and the activity of bacterial enzymes that generate ammonia.

1.7.4.7. Role of lactulose as an osmotic active laxative

In the colon, lactulose is degraded into short chain fatty acids (SCFA) during bacterial fermentation. Thus, the intestinal content acidifies, the osmotic pressure rises, and stool volume increases which are the cause of the pH decreasing. This decrease of pH increases the formation of ammonium ions, which unlike ammonia, cannot diffuse through the intestinal mucosa. This leads to characterize the laxative effect of the lactulose by a shorter colon transit time and bowel movement accelerated. All these factors are favourable for a healthy bowel. However, as for other commonly used osmotic laxatives, lactulose can cause electrolytic imbalances in sensitive individuals (Williams et al., 2010). However, the action of lactulose more safe because it due to its laxative action, and to a proper action on the motility and colonic transit. It stimulates peristalsis by increasing acidification, gas formation and increased sense of urgency through the volume of intestinal contents.

1.7.4.8. Application of lactulose in colon carcinogenesis

Colon cancer develops from the lining of the large intestine or colon. In 70% of cases, the tumour grows in the sigmoid (loop located in the left iliac fossa). In the context of colon carcinoma, the lowered fecal concentrations of secondary bile salts are noticed when the lactulose was administered to healthy volunteers. In contrast to this given observation of lactulose on the secondary bile salts, such observations were not systematically confirmed. It was reported that the recurrence rate of colon adenomas in the large bowel was reduced after lactulose administration. Moreover, lactulose suppressed DNA damage in the colon mucosa of rats treated with 1, 2-dimethylhydrazine (Verma & Shukla 2013).

1.7.4.9. Use of lactulose as tumour prevention and immune modulator

Different works on tumour prevention has been done worldwide. However, most of them were showed the efficacy of bifidobacteria in the prevention of mammary and liver carcinogenesis. For instance, the DNA-protective effect of lactulose in human flora-associated rats exposed to dimethylhydrazine has been demonstrated. Many studies were oriented on the effects of bifidobacteria in carcinoma prevention and they described numerous specific and non-specific anti-tumour and immunologic effects exerted by bifidobacteria. Since most bifidobacteria metabolise lactulose, this immunologic and anti-tumour effects of bifidobacteria can most likely be triggered by feeding with lactulose (Schumann, 2002).

1.7.4.10. Use of lactulose to enhance mineral absorption

Lactulose can significantly augment the absorption of calcium, if the alimentation contains at least 0.3% of calcium. Magnesium is poorly absorbed: intestinal absorption is about 30%. By performing tests on the rats, it has been shown that lactulose promote the absorption and retention in the body of several minerals such as Ca, Mg, Zn, Cu, Fe. The effect of lactulose on the rat's bone strength was studied. The results showed that lactulose increases the absorption of calcium in both osteoporosis and bone strength (Shetty et al, 2006). It has been reported that lactulose increases the absorptions of Ca and Mg in dogs (Beynen et

al., 2001) and rats (Heijnen et al., 1993); and increases the rupture strength of the femur in an ovariectomized rat model of osteoporosis. The study of Nobuo et al. (2007) had evaluated the effect of lactulose on the calcium (Ca) and magnesium (Mg) absorption. This study, performed on adult men. It showed that the absorption of calcium and magnesium increases with increasing amounts of lactulose administration. The 24 volunteers adults are fed with food containing lactulose, calcium and magnesium. A quantity of 300 mg containing 20 mg of Ca containing ^{44}Ca and a quantity of 150 mg of Mg containing 28 mg of ^{25}Mg , orally administered. Together with calcium and magnesium, a dose of 0 g (placebo), 2 g and 4 g of lactulose are also administered. To measure the ratios of stable isotopes, the urine samples were picked-up after ingestion of the administered calcium, magnesium and lactulose. The results shown that the urinary stable-isotopes ratios increased with increasing of lactulose quantities. Significant differences were observed in the calcium ratio between 0 g and 4 g of lactulose; and in the magnesium ratios between 0 g and 2 g of lactulose and between 0g and 4 g of lactulose. However, the authors did not observe any change in the rate of bone-resorption after lactulose ingestion. In summary, this clinical trial has confirmed that lactulose enhances the absorptions of Ca and Mg.

1.7.4.11. Role of lactulose in the inhibition of secondary bile acid formation

The effect of lactulose, which is capable of acidifying colonic contents by stimulating the growth of bifidobacteria, on secondary bile acid metabolism was extensively studied (van Berge Henegouwen et al., 1987). Because this metabolism depends on the age of the person, in the study of Nagengast et al. (1988) the lactulose was used in amount of 0.3 g kg⁻¹ twice daily for 12 weeks to nine middle-aged individuals between 31 and 54 years and to ten elderly individuals between 56 and 81 years. Twice before and after 6 and 12 weeks after administration of lactulose, several measurements have been recorded on the biliary and faecal bile acids, whole gut transit time, faecal weight and dry weight, and faecal pH values (van Berge Henegouwen et al, 1987). The analysis of faeces shown that the concentrations of lithocholic and deoxycholic acid are higher in elderly individuals but the excretion was comparable between them and middle-

aged individuals. After lactulose administration, the concentration and excretion of the secondary bile acids are decreased. Some other findings have been reported, the fecal weight were increased and dry weight of faeces was decreased. In contrast to the fecal weight, the intestinal transit time has not changed but the fecal pH is reduced after using lactulose between 6 to 12 weeks. Finally, in the case of elderly individuals, deoxycholic acid levels in bile was higher, but cholic acid was lower (van Berge Henegouwen et al., 1987).

1.7.5. Food and feed Application of lactulose

1.7.5.1. Use as health promoting food

Lactulose stimulates the proliferation of desired colonic bacteria such as lactobacilli and bifidobacteria in adults and infants. Due to this health-promoting effect, the prebiotic lactulose is an ideal ingredient for the development of functional foods designed to support or maintain the overall well-being. Some dishes and food destined for a special group of people with specific nutritional needs can be contained lactulose. For example, the incorporation of 0.5 % lactulose in the infant formula is considered adequate to stimulate bifidobacteria flora, while the presence of lactulose at 1% level in the formula may also provide a partial laxative effect (Olano & Corzo, 2009). Storage studies to assess the stability of lactulose-containing infant food formula showed that the addition of lactulose did not influence the acceptability of the product and did not alter any storage characteristic of the product, which was acceptable up to 16 weeks storage at 38 °C. Several functional properties have been improved with the use of lactulose in the manufacture of yogurt. A study on the effects of lactulose-sweetened yogurt on gastric emptying and intestinal transit was performed on healthy volunteers. This study showed that yogurt containing lactulose seems to act as a mild laxative, increasing the number of faecal productions. It was reported that intestinal transit time was lower after glucose solution than lactulose yogurt consumption. Yogurt containing lactulose was also effective in treating childhood constipation, comparable to yogurt containing a dietary fibre mixture constituted by transgalactooligosaccharides, inulin, fibre soy and resistant starch (Kokke et al.,

2008). Özen et al. (2005) showed that the addition of lactulose to bio-yogurt involved the reduction in the incubation period with increasing in the cell counts of B-bifidus bacteria. Moreover, Pham & Shah (2008) observed that addition of 0.5% of lactulose to soymilk involved the growth of *B-longum* and *B-animalis bacteria* which are able to transform the isoflavone glycosides, which are inactive phytochemical compounds, to isoflavone aglycones, which are biologically active. Isoflavone aglycones are claimed to have oestrogenic properties. The biotransformation increased up to 17% by the probiotic organisms in the presence of lactulose after 12 h of incubation. It was also shown that supplementation with lactulose resulted in a significant increase in the concentration of aglycones during fermentation of soymilk with *lactobacilli*. Thus, the dairy industry has responded to consumers' awareness of an interest in functional foods by enhancing the already healthful attributes of milk, yogurt, and cheese with specific physiologically active components (Al-Sheraji et al.,2013; Pinheiro De Souza Oliveira et al., 2011).

1.7.5.2. Prebiotic effect of lactulose

Thanks to its prebiotic power, lactulose enhances the natural balance of the intestinal flora and thus exerts a beneficial effect on the immune system. Acting with kindness and efficiency of the intestine, it is suitable for all age groups and can be used in long-term treatment. Prebiotics such as lactulose are nutrient substrates for the development of beneficial bacteria in the gut such as *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* which are favorable for intestinal flora (Shortt & O'Brien, 2003). The substrates are fermented by those bacteria, resulting in formation of short chain fatty acids. Apart from a lower intestinal pH, there is an inhibition of the growth of potentially harmful bacteria (*Bacteroides*, *E. coli* and *Clostridia*). Because of its prebiotic effect, lactulose enhances the growth and metabolic activity of beneficial bacteria in the intestine and inhibits the growth of pathogens.

1.7.5.3. Lactulose and fructo-oligosaccharides (FOS) for healthy animal feed

Especially in livestock breeding, the reduction of the use of antibiotics is a major issue. For example, the breeding cattle sometimes require the use of antibiotics to treat bacterial diseases. Their use to increase the body mass of

animals is not allowed. Then the contaminated products are rejected by consumers. This allows people to be more aware of the importance to maintain the healthy ingredients in the development of animal feed. As prebiotics present various physiological effects through their fermentation in the colon by intestinal bacteria, the official recognition of lactulose in animal diet is more observed (McSweeney & Fox, 2009). Bovee-Oudenhoven et al. (2003) studied the effect of several non-digestible carbohydrates on the resistance of rats to *Salmonella enteritidis* infection. In their methods, they used rats (n=8 per group) which were fed “humanised” purified diets containing 4% lactulose, fructo-oligosaccharides (FOS), resistant starch, wheat fibre, or cellulose. After an adaptation period of 2 weeks the animals were orally infected with *S enteritidis*. Supplement induced changes in faecal biochemical and microbiological parameters were studied before infection. Colonisation of *salmonella* was determined by studying the faecal excretion of this pathogen and translocation by analysis of urinary nitric oxide metabolites over time and classical organ cultures. Intestinal mucosal myeloperoxidase activity was determined to quantify intestinal inflammation after infection. Despite stimulation of intestinal lactobacilli and *bifidobacteria* and inhibition of salmonella colonization, FOS and lactulose significantly enhanced translocation of this pathogen. These supplements also increased cytotoxicity of faecal water and faecal mucin excretion, which may reflect mucosal irritation. In addition, caecal and colonic, but not ileal, mucosal myeloperoxidase activity was increased in infected rats fed FOS and lactulose. In contrast, cellulose, wheat fibre, and resistant starch did not affect the resistance to salmonella. In contrast to most expectations, FOS and lactulose impair the resistance of rats to intestinal *salmonella* infection. Obviously, stimulation of the endogenous *lactobacilli* and *bifidobacteria* is no guarantee of improved host defence against intestinal infections.

1.7.6. Some advantages and disadvantages of lactulose applications

Lactulose has several advantages in the development of functional foods which provide health-benefits beyond traditional nutritional values. Lactulose may be added to foods to increase the functionality, to selectively stimulate the growth

and/or the activity of one or more of a limited number of bacteria in the colon, and thus improve the host health (Schrezenmeir & Vrese, 2001; Gibson et al., 2004). Lactulose as none digestible sugar in the small intestine may be used to stimulate the growth and/or activity of endogenous probiotics (Den Hond et al., 2000). In contrast to these advantages, the use of lactulose has some drawbacks such as gas or intestinal cramps. Thus, further studies are required to understand the ways of including lactulose in food formulations so as to avoid this inconvenient.

1.7.7. Concluding remarks

Lactulose, a disaccharide formed from lactose by isomerization in basic media, could find use in the medical, pharmaceutical and food industries. Lactulose is a completely harmless substance and in recommended doses, it does not affect the blood sugar levels in diabetic patients. Moreover, with the growing interest in functional foods, the use of no digestible oligosaccharides such lactulose as prebiotic ingredients has increased considerably during recent years and lactulose offers excellent and scientifically tested functional properties and applications for the development of new functional foods. Several studies in healthy adults proved that lactulose is an effective food-grade prebiotic, showing that consumption of 10 g per day of lactulose resulted in a statistically significant increase in the number of bifidobacteria, whereas the clostridia population decreased. Yogurt containing lactulose was also effective in treating childhood constipation, comparable to yogurt containing a dietary fibre mixture constituted by inulin, fibre soy, resistant starch and transgalactooligosaccharides,. The addition of 0.5% (w/v) of lactulose to soymilk appeared to favour the growth of *B. longum* and *B. animalis* able to transform the isoflavone glycosides, which are inactive phytochemical compounds, to isoflavone aglycones, which are biologically active forms.

CHAPITRE 2 : HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS

2.1. Hypothèse de recherche

Étant donné que l'analyse de la littérature scientifique démontre le rôle positif du son de blé dans le maintien d'une bonne santé et étant donné que le lactulose est reconnu pour son effet prébiotique et positif pour le maintien d'une bonne santé intestinale, alors l'introduction du prébiotique lactulose dans une formulation de pain riche en son de blé permettrait de produire un aliment fonctionnel tout en assurant la faisabilité technologique de la formulation.

2.2. Objectif principal

L'objectif principal de ce projet est d'apporter une contribution au développement d'un procédé de fabrication de pain à base de farine riche en son de blé et additionnée de lactulose pour produire un pain qui répond aux critères d'un aliment fonctionnel.

2.2.1. Objectifs spécifiques

De façon spécifique, ce projet vise à :

- (1) Étudier l'impact de l'ajout du lactulose en poudre dans une formulation de pain sur les propriétés technologiques de la pâte.
- (2) Étudier l'impact de l'ajout du lactulose en poudre dans une formulation de pain sur la qualité du produit final.

CHAPITRE 3 : RÉSULTATS ET DISCUSSION

Cette section a été réalisée sous forme d'un article scientifique et rédigée en anglais pour faciliter la publication de ce travail dans une revue scientifique internationale avec comité de lecture.

Les participants à la réalisation de cet article sont :

- M. Tat Toai Nguyen, candidat à la maîtrise avec mémoire en génie agroalimentaire, Université Laval
- Mohammed Aider, professeur et responsable du projet, Université Laval

Study of the Technological Impact of Using a Prebiotic Lactulose for Wheat Bread Making

3.1. Abstract

The present work aimed to study the technological feasibility of incorporating a prebiotic lactulose into wheat bread formulations. Lactulose was added as a sucrose substitute at concentrations of up to 5% (w/w) of the initial formulation. The analysis of the obtained results showed that the addition of lactulose did not significantly affect the dough and bread quality. A slight decrease in the total titratable acidity was observed for dough substituted with 5% lactulose, and the chewiness of the bread increased by 4% for the same bread. As a preliminary study, this work demonstrated the technological feasibility of incorporating lactulose into bread formula in order to make a prebiotic and functional bread.

Keywords: Bread, Active, Lactulose, Prebiotic, Functional.

3.2. Résumé

Le présent travail vise à étudier la faisabilité technologique d'intégrer du lactulose qui est un prébiotique dans des formulations de pain à base de farine de blé riche en son. Le lactulose a été ajouté en tant que substitut du saccharose à des concentrations allant jusqu'à 5% de la formulation initiale. L'analyse des résultats obtenus a montré que l'ajout de lactulose n'a pas affecté de manière significative la qualité de la pâte et du pain. Une légère diminution de l'acidité titrable totale a été observée pour la pâte substituée avec 5% de lactulose et l'élasticité du pain a augmenté d'environ 4%. En tant qu'étude préliminaire, ce travail a démontré la faisabilité technologique d'intégrer du lactulose dans la formule de pain pour faire un pain prébiotique et fonctionnel.

Mots-clés: Pain, Lactulose, Prébiotique, Fonctionnel.

3.3. Introduction

Diet is an important factor that determines the wellness of a population. A non-adequate consumption of fresh vegetables and the presence of synthetic food additives in processed foods negatively impacts health (Ferreira et al., 2000). This non-appropriate diet, along with everyday emotional stress, affects the functions of the gastrointestinal tract and promotes the development of several diseases, including dysbacteriosis, cancers, allergies, non-specific resistance to the effect of antibiotics and diabetes (Margen 1992 ; Mohamed et al., 2012).

A promising avenue to overcome the development and negative effects of dysbacteriosis consists of the supplementation of conventional foods with prebiotics, such as inulin, lactulose and other fructooligosaccharides (Walker & Duffy 1998). These prebiotics, especially lactulose, strongly stimulate the growth of bifidobacteria and probiotic lactic acid bacteria. They can contribute to maintaining a good balance of microbiota. The inclusion of prebiotics in processed foods will result in functional foods that stimulate the growth and activity of beneficial microflora in the colon, and bifidobacteria and lactobacillus will be dominant in the host microbiota (Zubillaga et al., 2001). The list of potential prebiotics includes a wide range of oligosaccharides, such as inulin (López-Molina et al., 2005), oligofructose, raffinose, xylobiose, lactulose, sorbitol, xylitol and others (Klewicki, 2007). Lactulose is the most studied of the existing potential prebiotics, and its bifidogenic effect is well recognized by the scientific community (Logan et al., 2003). Lactulose is also the most promising prebiotic for industrial applications in different food matrices. The source of lactulose is lactose, an abundant resource obtained from the cheese-making industry. Lactulose, 4- β -D-galactopyranosyl-D-fructose, is a disaccharide that consists of galactose and fructose residues linked by a β -glycosidic bond. Lactulose is derived from lactose via chemical, enzymatic or electro-activated isomerization. It is white, crystalline, odorless, sweet tasting and readily soluble in water. For practical purposes, lactulose is more soluble than lactose (Panesar and Kumari 2011), with a solubility of 76.4% at 30 °C. The sweetness coefficient of lactulose

relative to sucrose is 0.48-0.62, and the energetic value of lactulose is 3.4 kcal/g. In contrast to lactose, lactulose is a reducing sugar. From a nutritional point of view, the human gastro-intestinal tract cannot hydrolyze lactulose in the upper gastrointestinal tract. Thus, intact lactulose moves to the colon, where it is used as a carbon source by the colon microflora. This factor contributes to increasing the population of bifidobacteria and lactobacilli in the colon (Salvatore & Vandenplas, 2010). The metabolism of lactulose in the colon yields a significant accumulation of lactic, butyric, acetic acid and other fatty acids. It also decreases the pH, which results in a significant decrease in putrefactive and pathogenic microflora. Moreover, lactulose is well known to stimulate liver function and has been proven to have immunomodulatory effects. In addition, the prebiotic lactulose does not raise the blood glucose level, a factor that allows its use in products for diabetics. The recommended consumption level of lactulose as a preventive measure is 3-10 g per day (De Preter et al., 2006; Venema et al., 2003). However, the prebiotic content in the supplemented (enriched) product should be sufficient to cover at least 20-50% of the recommended average daily consumption level when consuming a normal amount of supplemented product. Products with prebiotic ingredients are particularly important for patients with diabetes and dysbacteriosis (Morris & Morris, 2012). The prebiotic ingredients that are currently used as sweetener replacement are mostly limited to sorbitol and xylitol (Manisha et al., 2012). The sweetness of lactulose is similar to that of sorbitol, but it is more effective as a prebiotic. Thus, lactulose could potentially be used as a sugar substitute in a large range of functional foods with an already proven prebiotic effect (Cardelle-Cobas et al., 2011).

Thus, the aim of this work was to study the effect of adding lactulose to a bread formulation in order to develop a functional product with prebiotic effect.

3.4. Materials and methods

3.4.1. Raw Materials and chemicals

In this study, all bread samples were prepared with bleached wheat flour (Five Roses, Montreal, Qc, Canada), which was purchased from the local supermarket. Prior to use, the main constituents of the flour were analyzed to identify the following characteristics: 90.81 ± 0.15 (%) total dry matter and 14.26 ± 0.38 (%) total protein content, which was calculated based on the total nitrogen content determined by the LECO methods with a conversion coefficient of 5.7 (Wang et al. 2007). Lactulose and fructose (crystalline form) were purchased from Sigma-Aldrich, Inc., (St. Louis, MO). All other materials, such as sugar, shortening, salt and instant baker's yeast used in the bread making experiments were purchased from the local supermarket. The NaOH (0.1 N) used for titration was of analytical grade and was purchased from Laboratoire MAT, Inc (Montreal, Qc, Canada).

3.4.2. Dough preparation

All slices of bread were made from dough prepared according to the AACC Method 10-10B. The basic dough recipe follows: 100 g of white wheat flour, 4.5 g of sugar (sucrose), 1.5 g of salt (NaCl), 1.5 g of vegetable shortening and 1.2% of instant yeast. For each batch, 62.5 ppm of ascorbic acid was added as an antioxidant. The yeast suspension that was added to the dough formulation was prepared according to the manufacturer's recommendations by adding 1.5 g of yeast to 9.4 ml warm water at a temperature of 38 °C. The total was added to the dry ingredients, including the water used for yeast and ascorbic acid preparation. The formulas used for each preparation are summarized in **Table 7**. According to the obtained farinograph measurements for the control flour, a total of 70.4 g water was added to the dry ingredients to obtain the control dough. The dough formulation was mixed in a Swanson mixer (National Mfg. Co., Lincoln, NE, USA). The total mixing time was maintained constant for all experiments and was set at 25 min. The bulk fermentation time was set at 120 min and 30 °C in an oven that was maintained at 85% relative humidity (RH). The first flap of the

fermented dough was made after 50 min of fermentation, while the second one was prepared 30 min after the first flap. The dough was then shaped into a sheet and placed in a mold. The final fermentation step was conducted at 30 °C for 40 min in the same oven that was maintained at 85% RH.

3.4.3 Analysis

3.4.3.1. Total titratable acidity

The total titratable acidity at the end of the fermentation time of the dough was determined using the method adapted from (Minervini et al., 2011; Luangsakul et al., 2009). Briefly, the total titratable acidity (TTA) was determined at the end of the fermentation using 10 g of dough that was carefully homogenized by adding a volume of 90 mL of warm saline solution. The obtained suspension was titrated with a 0.1 M NaOH solution to obtain a pH of 8.3. The TTA value was expressed as the amount (mL) of 0.1 M NaOH required to reach this pH value.

3.4.3.2. Dough leavening performance

The dough leavening performance as a function of the used formula was expressed as the dough final volume (mL) and mass volume (mL/g). To this end, the volume increase during the fermentation time was measured. For each measurement, 50 g of dough were placed in a graduated cylinder and maintained at conditions similar to the fermentation conditions of the dough to be used for bread making. The dough mass volume was calculated by dividing the recorded final volume by the sample's weight.

3.4.4. Bread making and analyses

3.4.4.1. Bread baking

After fermentation, the bread was baked at 215 °C for 24 min in a rotary oven. Upon exiting the oven, the bread was placed on a rack to cool, and the specific volume was measured after 1 h. Subsequently, the baked bread was stored at ambient temperature (23 °C) for further analyses during the next 24 h.

3.4.4.2 Bread volumetric mass

The final bread volume was measured using the rapeseed displacement method, and the bread volumetric mass was calculated according to the AACC 10-05 method (AACC, 2001). The method consisted of placing the analyzed product in the center of the lower housing of the volumeter. After raising the volumeter to the upright position and latching the lower housing, the gate slide is opened and the rapeseed is allowed to fill the latched lower housing. The volume of the product is read directly from the calibrated column, as indicated by the level of the rapeseeds in the column. The bread volumetric mass is thus calculated by dividing the bread volume (mL) by its mass (g), and the result is expressed as mL/g.

3.4.4.3. Visual evaluation and Sensory analysis

At the end of each baking procedure, all bread samples were visually evaluated with a panel of five non-trained judges using a scale from 1-10, and the following parameters were considered: bread form (regular or deformed), cell (uniformity, size), presence or absence of cracks on the bread surface, color (typical of the bread type, abnormal). The sensory analysis of the fresh breads as a function of the used formula was performed with the same panel of five non-trained judges using a scale from 1-10. The evaluated attributes were grouped into textural (tactile moistness, elasticity and smoothness), biting (coarseness, chewiness, crumbliness and dryness), organoleptic (taste intensity, quality, saltiness, sourness and aftertaste) and aroma intensity, quality and sourness) characteristics (Bollain et al., 2005; Bollain et al., 2006).

3.4.4.4. Dimensional stability and crumb porosity

The dimensional stability of the bread, which is a parameter that characterizes the ratio of the bread height to its mean diameter, was measured using an IFX-250 instrument for bread analysis (Analyt-Pribor, Odessa, Ukraine). The observed porosity of the bread's crumb was analyzed using the SigmaScan Pro software (Systat Software Inc, San Jose, CA, USA) according to a method

adapted from (Collar et al., 2005). A digital image analysis system F-4280 (Hewlett-Packard, USA) was used to perform the scans on 50 mm 50 mm samples of the crumb taken from the center of the image. The obtained data were analyzed by applying a threshold method to convert the data into a binary image. The crumb features studied were the mean cell area.

3.4.4.5. Bread's crumb texture profile analysis (TPA)

The textural properties of the bread were evaluated using the TA.XT2i texture profile analyses (TPA) instrument (Texture Technologies Co. Scarsdale, NY, USA). The hardness of the bread was measured as follows: the bread samples were subjected to double compression (50% compression) using a 5 kg probe in strain target mode and a trigger force of 10 g. The maximum force for each of the two compression phases was considered to be the hardness (Force 1 and Force 2). Samples with dimensions of 30x30x30 mm were used. The TPA settings were defined as follows: cylinder probe of 30 mm \varnothing , pre-test speed of 2 mm/s, test speed of 2 mm/s, post speed of 2 mm/s and compression distance of 50% (Flander et al., 2011).

3.4.5. Statistical analysis

All experiments were carried out in triplicate, and mean values were used for comparisons. The obtained data from three entirely randomized tests were statistically analyzed via one-way ANOVA using the SAS software (SAS Institute, 1985). A pair-comparison of the treatments was carried out using the Tukey's procedure at a 95% confidence level ($p < 0.05$) via the Systat-11 software (Systat Software, Inc. Chicago, IL, USA).

3.5. Results and discussion

3.5.1. Dough properties

3.5.1.1. Total titratable acidity (TTA)

The total titratable acidity of the dough at the end of the established fermentation time is shown in **Figure 3**. An analysis of the obtained data showed

that the addition of lactulose to the dough formulation significantly decreased the final TTA of the dough. The final TTA of the lactulose-supplemented dough was 5.56 ± 0.16 , 5.17 ± 0.17 and $4.85 \pm 0.11\%$ at a supplementation level of 1.5, 3 and 5%, respectively. These values were all lower than the TTA of the control dough. From a practical point of view, this difference is not very significant because the compensation can be obtained by slightly increasing the proofing time of the dough (Riedl et al., 2005).

The observed differences between the final TTA of the lactulose-supplemented dough and the control sample is because bread yeast, which is mainly consists of *Saccharomyces cerevisiae*, cannot hydrolyze lactulose. *Saccharomyces cerevisiae* and the majority of other yeast species have been previously reported to be lactose/lactulose-negative, and maximum sugar hydrolysis is essential for acidity accumulation via the action of baker's yeast in a dough formulation (Gänzle et al., 2008). This information agrees with the results obtained in the present study. In fact, the amount of fermentable hydrocarbons available to the baker's yeast was decreased by substituting sugar (sucrose) with lactulose in the dough formulation. This phenomenon decreased the total accumulated lactic acid among the other organic acids that result from the fermentation activity of the yeast. For practical purposes, fructose can be added to the dough supplemented with lactulose. This addition will help compensate for the slight lack of final acidity.

3.5.1.2. Dough volume increasing/ CO₂ formation

The dough final volume is shown in **Figure 4a**, and the obtained data indicated that the addition of lactulose to the dough formulation did not significantly affect the dough final volume. A similar observation was made for the dough mass volume (**Figure 4b**). Even if the baker's yeast cannot ferment the lactulose, this fact did not affect the dough mass volume in comparison with the control sample at any supplementation level, which varied from 1.5 to 5% (w/w). This behavior was unexpected because the lactulose-supplemented dough was

characterized by a slightly lower final acidity than the control dough. This behavior can be partially explained by the improved gas retention capacity of the dough supplemented with lactulose, which improved the elasticity of the dough (gluten). Shimizu et al. (2003) reported that the addition of a disaccharide lactose, which is an isomer of lactulose, to a dough formulation yielded a high mass volume of the final product (Shimizu et al., 2003). More recently, Hamam bread, a Jordanian French-like bread that is a non-pocket forming type of bread, was prepared by the addition of lactulose at different levels to the dough formulation. The results obtained by the authors indicated that the addition of lactulose at levels (g/100 g flour) of 1.36, 2.27 and 4.54% significantly improved the bread specific volume, and the specific volume was maximized at a lactulose level of 4.54% (Ajo et al., 2009).

3.5.2. Bread properties

3.5.2.1. Bread mass volume

The effect of lactulose addition to the bread formulation on the mass volume of the baked product is shown in **Figure 5**. An analysis of the data showed that all bread samples were characterized by a good mass volume, which ranged from 4.85 ± 0.35 mL/g to 4.65 ± 0.18 mL/g. The bread mass volume slightly decreased as the amount of lactulose was increased up to 5%.

The observed decrease of the 5% lactulose supplemented bread compared with the control sample can be explained by two factors: (a) the inability of the baker's yeast to hydrolyze lactulose, which reduced the amount of gas formed during fermentation in this sample compared to the control sample. The volume expansion of the bread was also slightly lower during baking. (b) the increased osmotic pressure in the aqueous phase of the dough, which was caused by the high hygroscopicity of lactulose (Seki & Saito, 2012). This high osmotic pressure will negatively affect the fermentation ability of the yeast (Simonson et al., 2003). As consequence, less gas will be produced.

3.5.2.2. Bread visual evaluation

All bread samples (control and lactulose supplemented) were visually evaluated, and the results are summarized in **Table 8** and (**Figure 6**). This evaluation was carried out 1 hour after the end of the baking procedure. This observation indicated that the form of the bread supplemented with lactulose was regular, irrespective of the lactulose substitution level. All functional breads were comparable to the corresponding controls. The cells of the breads (control and lactulose supplemented) were regular and uniformly distributed on the crumb, indicating that the lactulose was compatible with the targeted bread structure. The visual observation did not reveal the presence of cracks on the bread surface, which was smooth at all substitution levels. A visual observation of the breads indicated that the addition of lactulose to the bread formulation significantly affected the crust color. Indeed, the control and the bread supplemented with 1.5% lactulose were gold-brown, which is typical of white flour bread. As the lactulose supplementation level was increased, a slight brown and a net brown color were observed at the 3 and 5% supplementation levels, respectively. This change in the color can be attributed to the Maillard reaction between the lactulose as a reducing sugar and the amino groups of the flour proteins (Chawla et al., 2011). The highly pronounced brown color of the lactulose-supplemented bread agrees with the literature information, which supports the fact that lactulose can cause a Maillard-type reaction with substances containing primary or secondary amino groups. Of course, such groups are present in the matrix because flour is a protein-rich ingredient (Brands et al., 2000). The control bread and the samples supplemented with lactulose did not differ in terms of the dimensional stability. Regarding the taste, the breads supplemented with 3 or 5% lactulose were slightly sweeter than the other samples. Nevertheless, this sweetness was not pronounced. The sweet taste of the 3 and 5% supplemented breads can be attributed to the sweet taste of lactulose, which is approximately half as sweet as sucrose (Mizota et al., 1987). At these levels, the effect of lactulose on the product sweetness could be detected. The evaluation showed that the control and the bread supplemented

with 1.5, 3 and 5% lactulose were similar in terms of the tactile moistness, elasticity and smoothness as well as the coarseness, chewiness, crumbliness and dryness. The compared breads did not differ in terms of the taste intensity, saltiness, sourness and aftertaste. These results suggest that lactulose and white flour are compatible for bread making.

3.5.2.3. Bread crumb texture profile analysis

The hardness of the bread crumb was analyzed as a function of the lactulose content in the initial formulation, and the obtained results are shown in **Figure 7**. An analysis of the data showed that the hardness of the 1.5% lactulose supplemented bread (1069 ± 21 g) did not significantly differ ($p > 0.05$) from the control sample. As the supplementation level was increased up to 3 and 5%, the values of Force 1 for the bread supplemented with lactulose slightly increased, with mean values of 1369 ± 57 and 1493 ± 34 g for 3 and 5% lactulose-supplemented bread, respectively. A similar tendency but higher corresponding values were observed after the second compression of the bread crumb. However, the percentage increase of Force 2 compared to the Force 1 was similar for the samples supplemented with up to 3% lactulose, with a mean value of 29.23%. The percentage increase of Force 2 of the 5% supplemented bread was less than that of Force 1 with a value of 24.51%. The analysis of the textural profile data did not show significant differences in the springiness and cohesiveness between the control bread and the samples supplemented with up to 5% lactulose, but the chewiness slightly increased for the bread supplemented with 5% lactulose (**Figure 8**). The gumminess of the lactulose-supplemented bread positively correlated with the supplementation level. However, the increase in the textural parameter did not exceed 5% compared to the control bread. These results indicated that the addition of lactulose to wheat bread formulations at levels up to 5% (w/w) did not alter the textural profile of the bread. Therefore, the addition of lactulose to bread is technologically and perceptually feasible.

3.5.3. Concluding remarks

This study showed that lactulose can be added to bread formulations as a sugar (sucrose) substitute at concentrations of up to 5% (w/w) calculated on a 100 g of flour basis. The dough supplemented with lactulose was characterized by a slightly lower total titratable acidity compared with the control sample. This difference was mainly attributed to the inability of baker's yeast to ferment lactulose. This slight inconvenience can be easily avoided by adding fructose in conjunction with lactulose. The baking experiments showed that the addition of lactulose to the bread formula at a level of up to 5% did not negatively affect the bread quality. The visual and sensory evaluation showed that the addition of up to 5% (w/w) lactulose to wheat bread formulations did not alter the textural profile of the final product. However, the instrumental analysis of the texture profile (TPA analysis) showed an increase in the bread chewiness, which indicates that textural changes imperceptible to the consumer occurred. Moreover, the crumb structure of the control is more open than that of the 5% lactulose bread; the bread volume is also smaller, which indicates that acceptable textural changes occurred. In general, this study demonstrated that the addition of lactulose to bread is feasible from a technological point of view and based on the perception of the final product, and this addition generates new opportunities to develop functional bread with a prebiotic effect.

Table 7: Formula for bread making using lactulose as sugar substitute.

		Bread with substituted sugar by lactulose		
Ingredients, g	Control	1.5	3	5
Wheat flour	100	100	100	100
Sugar (sucrose)	4.5	3	1.5	0
Lactulose	0	1.5	3	5
NaCl	1.5	1.5	1.5	1.5
Shortening	1.5	1.5	1.5	1.5
Instant yeast	1.2	1.2	1.2	1.2
Ascorbic acid (AA) as 0.1% solution	5.4	5.4	5.4	5.4
Water (including AA)	65	65	65	65

Table 8: Visual observation of the bread.

Parameter	Control	Lactulose content, %		
		1.50%	3	5
Dimensional stability* (DS)	2.63 ± 0.21 ^a	2.59 ± 0.11 ^a	2.57 ± 0.21 ^a	2.54 ± 0.19 ^{ab}
Porosity, %	71 ± 2.18 ^a	73 ± 1.17 ^a	72 ± 2.64 ^a	71 ± 1.95 ^a
Structure of the porosity	Uniform			
Crust structure	White, uniform, typical to white bread, soft			
Crust color	Gold-brown	Gold-brown	Slightly brown	Brown
Crumb structure	Elastic			
Aroma and taste	Typical for wheat bread		Slightly sweet	

**DS is the ratio of the height to the mean diameter*

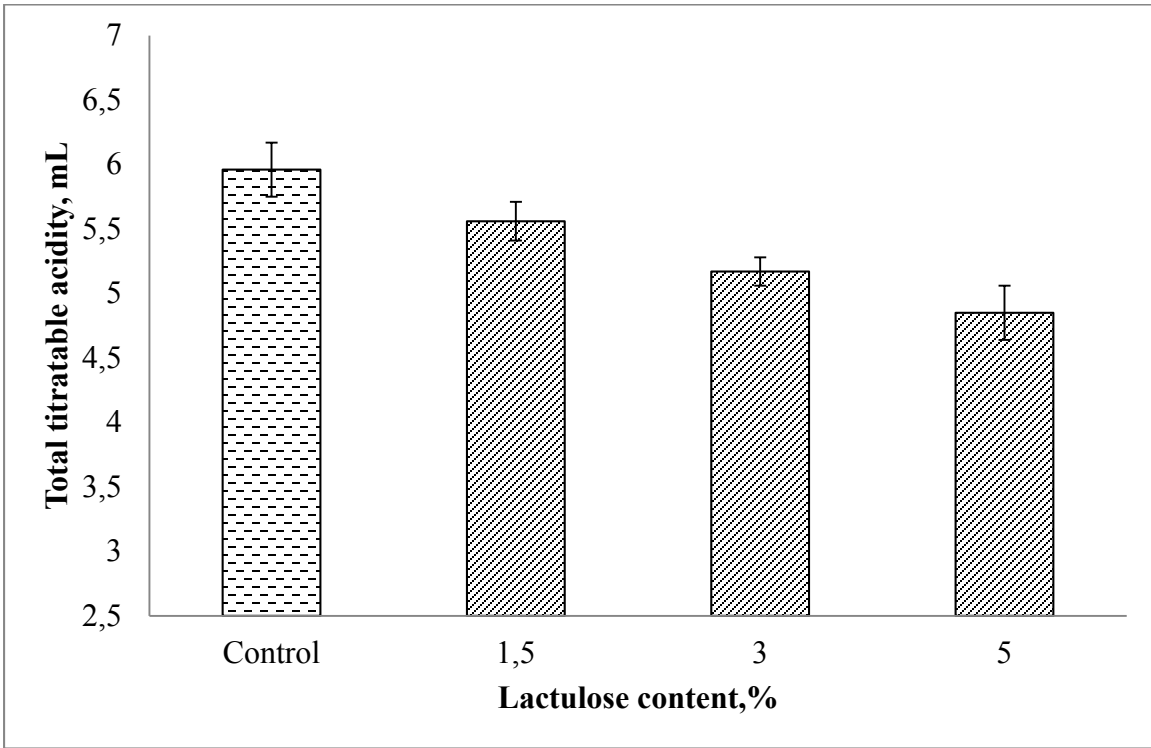


Figure 3: Dough final total titratable acidity as a function of the lactulose content.

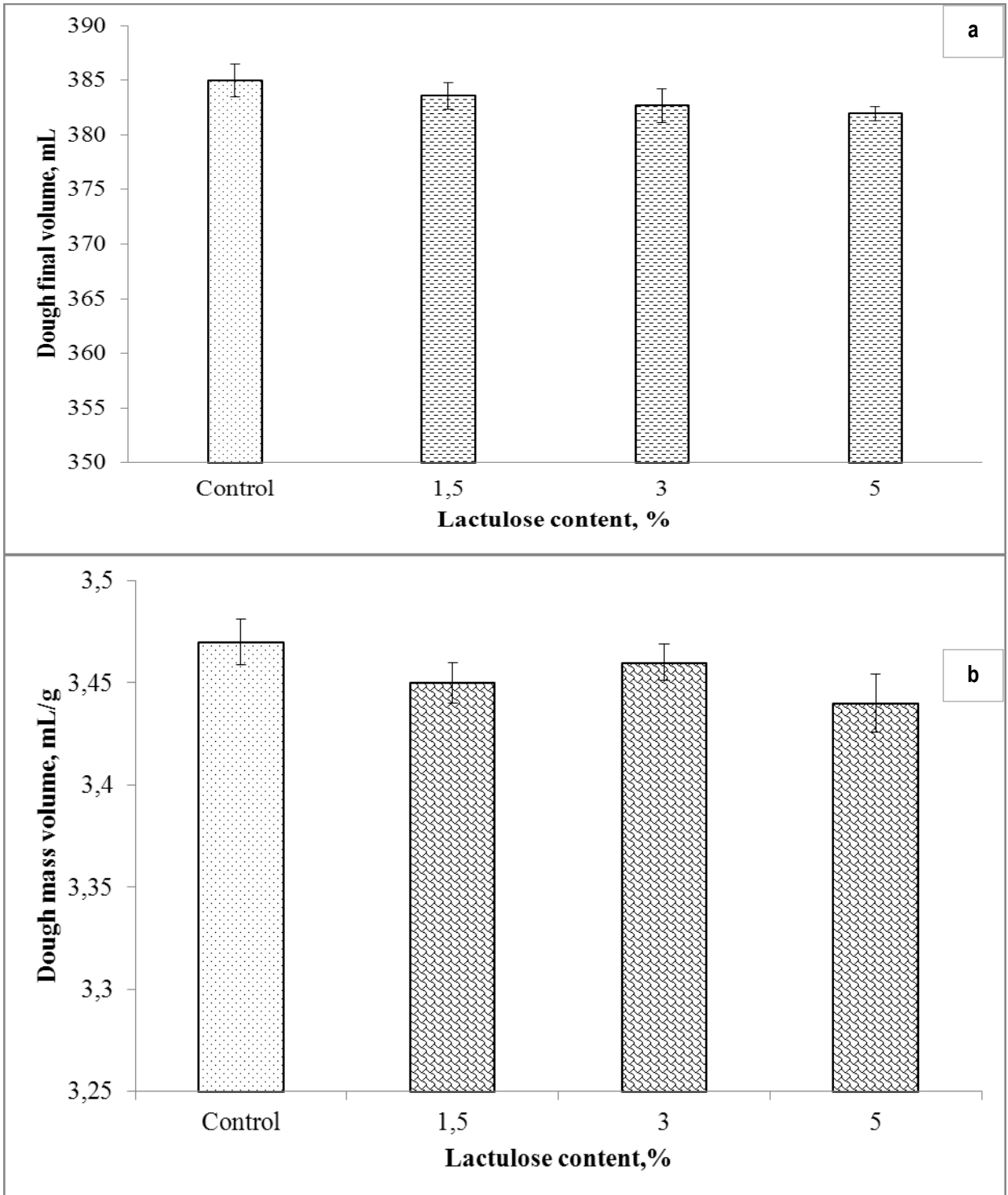


Figure 4: Dough final volume (a) and dough mass volume (b) as a function of the lactulose content.

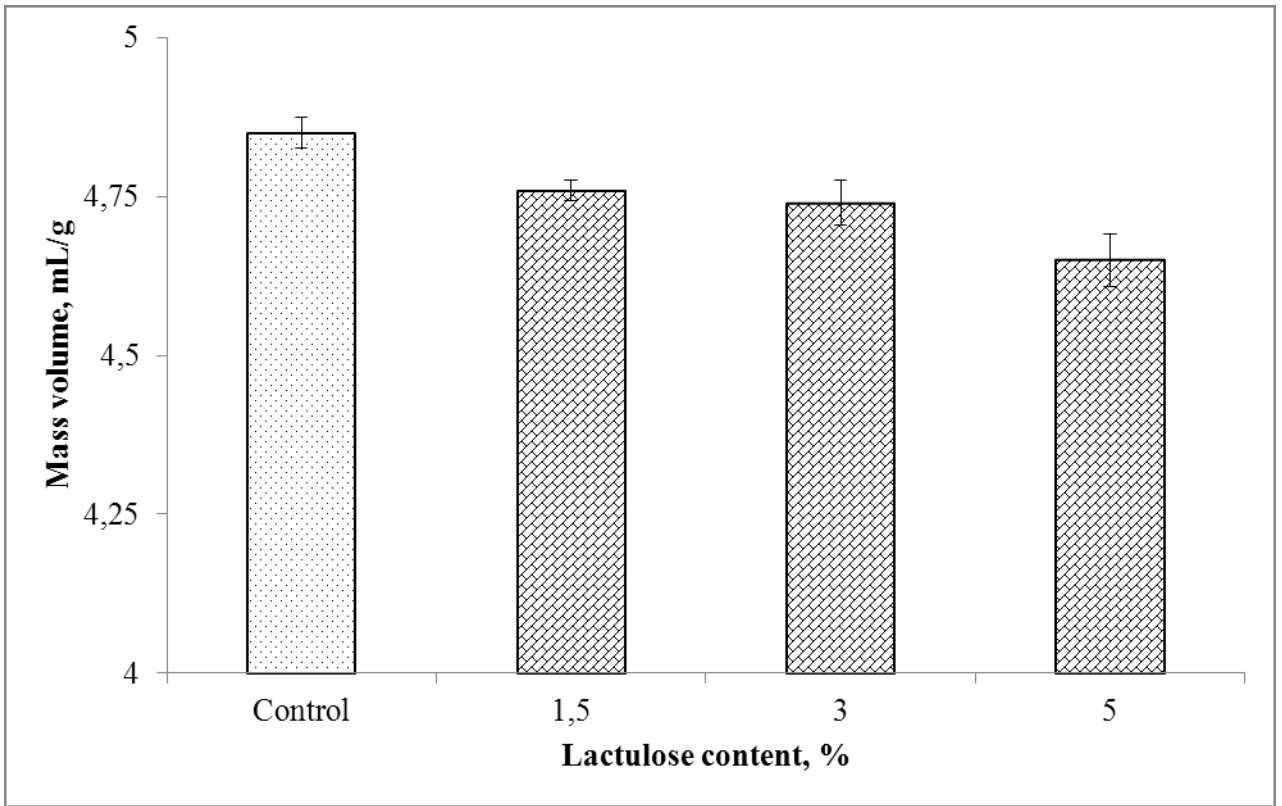


Figure 5: Bread mass volume (mL/g) as a function of the lactulose content.

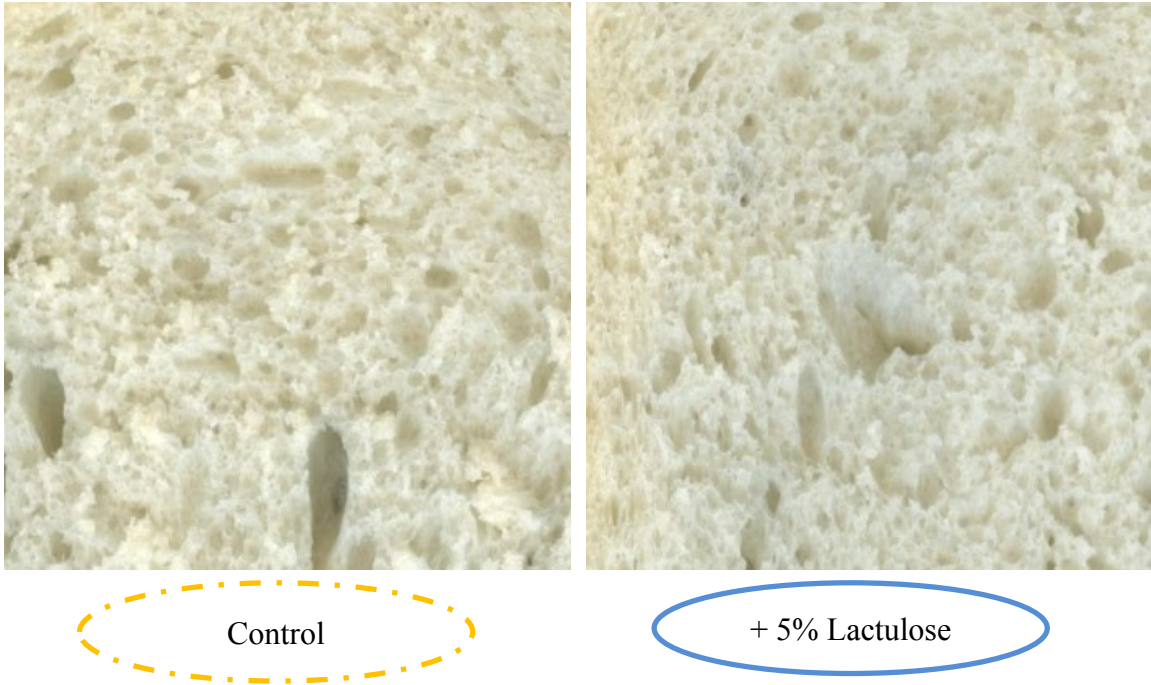


Figure 6: Digital scans of the control and 5% lactulose supplemented bread.

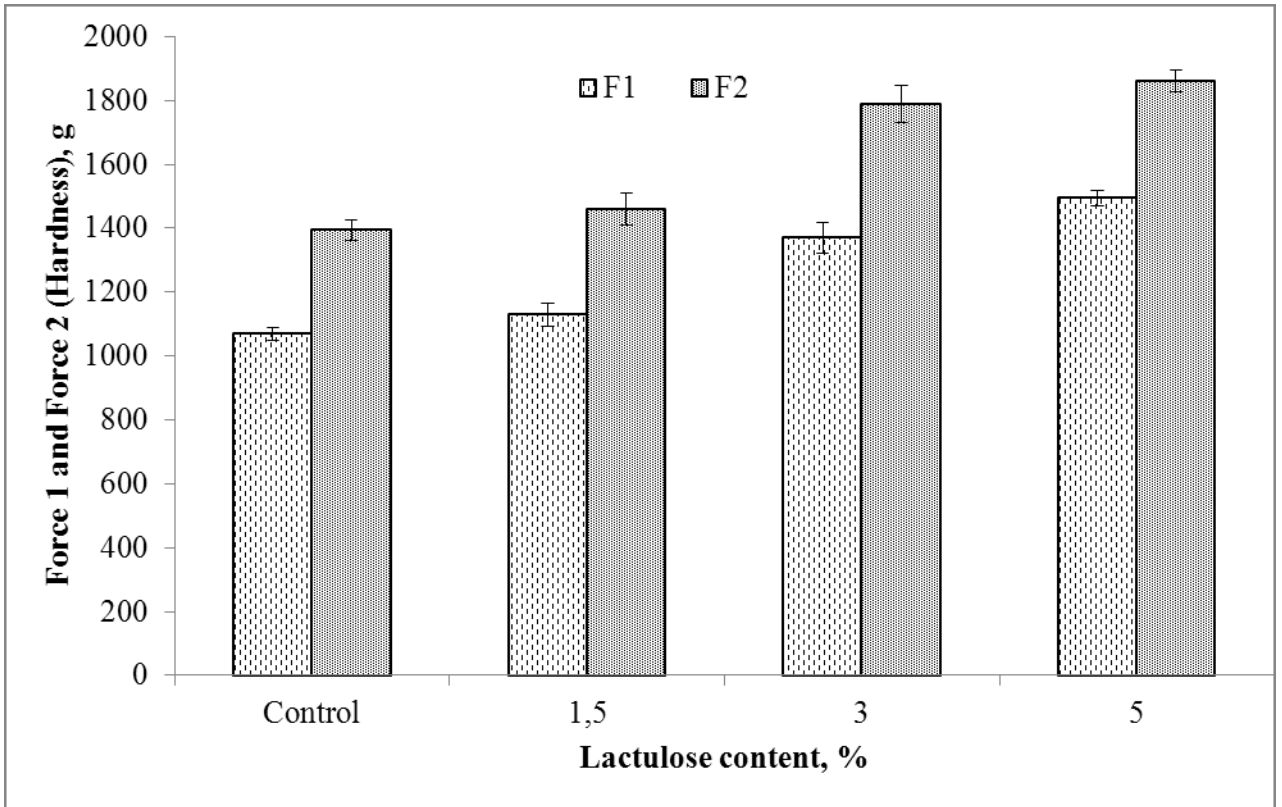


Figure 7: Hardness of the bread's crumb after first (Force 1) and second (Force 2) compression.

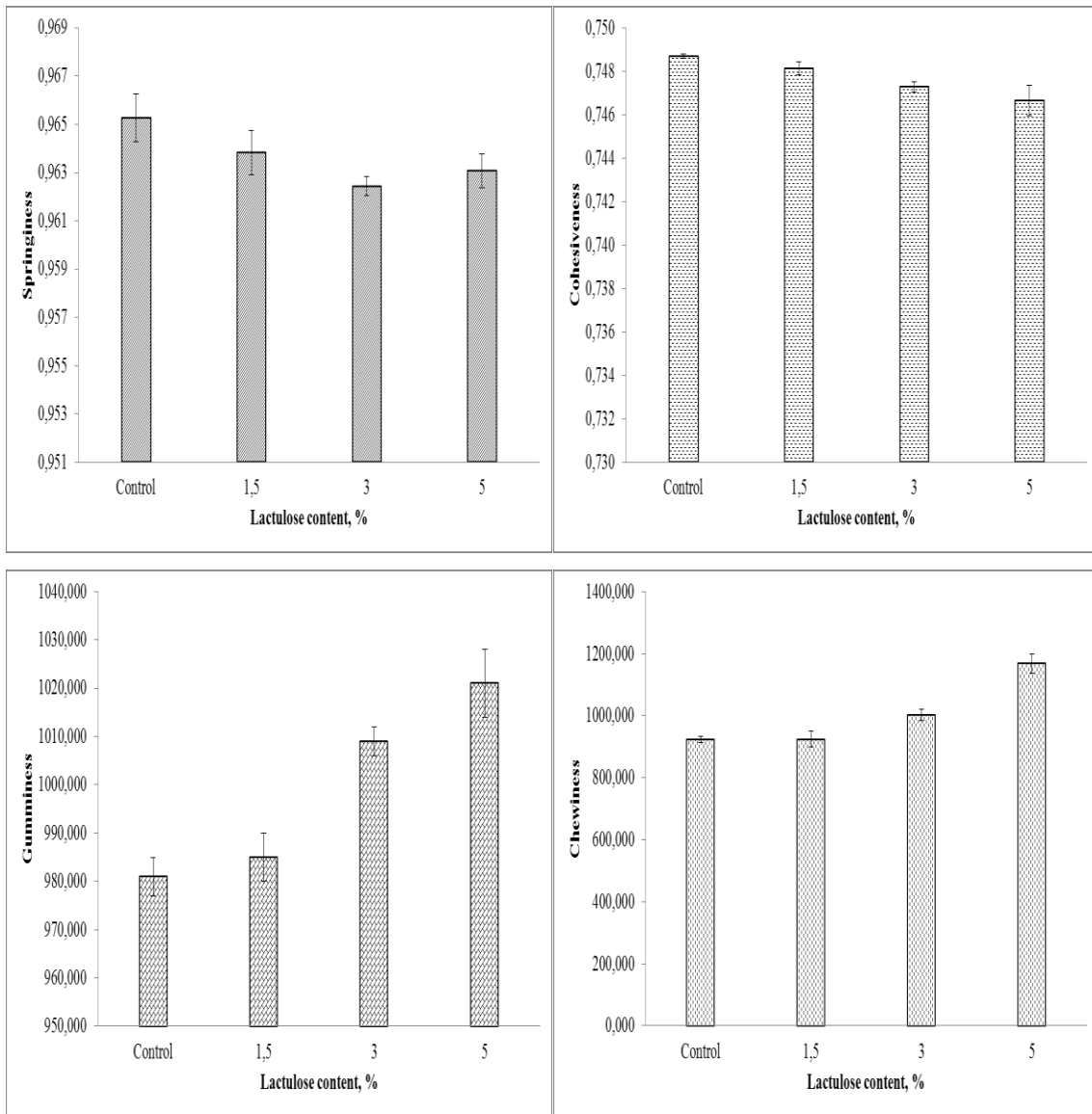


Figure 8: Textural profile parameters of the lactulose supplemented bread.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Dans ce projet, nous avons réussi à démontrer la faisabilité technologique de fabrication de pain à base de farine riche en son de blé et enrichie par un prébiotique; le lactulose.

Cette étude a montré que le lactulose peut être ajouté à des formulations de pain comme un sucre (saccharose) de substitution à des concentrations allant jusqu'à 5% (p/p), calculée sur une base de 100 g de farine. La pâte a été additionnée de lactulose caractérisée par une acidité totale titrable légèrement inférieure par rapport à l'échantillon témoin. Cette différence est principalement attribuable à l'incapacité de la levure de boulanger à fermenter le lactulose. Ce léger inconvénient peut être facilement évité en ajoutant du fructose à la formulation. Les expériences de cuisson ont montré que l'ajout de lactulose à la formule de pain à un niveau allant jusqu'à 5% n'a pas d'incidence négative sur la qualité du pain. L'évaluation visuelle et sensorielle a montré que l'addition de jusqu'à 5% de lactulose à la formulation de pain de blé ne modifie pas, de façon significative, le profil de texture du produit final. Cependant, l'analyse instrumentale du profil de texture (TPA d'analyse) a montré une légère augmentation de la masticabilité de pain, ce qui indique qu'un changement de texture, imperceptibles pour le consommateur, s'est produit. En outre, la structure de la mie du pain témoin est plus poreuse que celle du pain additionné de lactulose à 5% et le volume massique du pain est également plus faible; ce qui indique que les changements de texture, mais acceptables, se sont produits dans la matrice pendant la cuisson. En général, cette étude a démontré que l'ajout de lactulose à une formulation de pain riche en son de blé est réalisable d'un point de vue technologique, et cet ajout crée de nouvelles possibilités pour développer du pain fonctionnel avec un effet prébiotique.

RÉFÉRENCES

- AACC. (2001). Approved methods of the AACC. Method 10-10B. American Association of Cereal Chemists The Association St Paul, MN
- AACC. (2000). Approved Methods: 08-12; 10-10B; 32-40; 44-15A; 54-21; 55-30; 56-81B et 66-20. St-Paul, MN: American Association of Cereal Chemists.
- Ablett, S., Attenburrow, G. E., & Lillford, P. J. (1986). The significance of water in the baking process. In: Chemistry and Physics of Baking. Materials, processes and products. Blanshard, J. M. V., Frazier, P. J., & Galliard, T. (eds). Royal Society of Chemistry, Londres,30-41.
- Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA). (2004). Guide d'étiquetage et de publicité sur les aliments. Ottawa.
- Aider, M., & de Halleux, D. (2007). Isomerization of lactose and lactulose production: review. Trends in Food Science & Technology, 18, 356-364.
- Aïder, M., & Gimenez-Vidal, M. (2012). Lactulose synthesis by electro-isomerization of lactose : Effect of lactose concentration and electric current density. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 16, 163-170.
- Aït Aissa, A., & Aïder, M. (2013a). Lactose Isomerization into Lactulose in an Electro-Activation Reactor and High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Monitoring of the Process. Journal of Food Engineering, 119, 115-124.
- Aït Aissa, A., & Aïder, M. (2013b). Ion Exchange Membranes Controlled Electro-Catalytic Synthesis of Lactulose From Lactose Under Refrigerated Conditions. Innovative Food Science and Emerging Technologies. Accepted
- Ajo, R. Y., Amr, A. S., & Haddadin, M. S. (2009). Effect of lactulose on the quality of Hamam bread and its stability during baking. 5th International Congress Flour Bread, 09, 425-433
- Al-Sheraji, S. A., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M., & Hassan, F. A. (2013). Prebiotics as functional foods: A review. Journal of functional Food, 5 (4), 1542-1553.

- Amruthmahal, A., Asna, U., & Shashikala, P. (2003). In vitro starch digestibility and nutritionally important starch fractions in cereals and their mixtures. *Starch/Staerke*, 55 (2), 94-99.
- Andrew, G. R. (1986). Formation and occurrence of lactulose in heated milk. *Journal of Dairy research*, 4, 665-680.
- Antoine, C., Peyron, S., Mabile, F., Lapierre, C., Bouchet, B., Abecassis, J., & Rouau, X. (2003). Individual contribution of grain outer layers and their cell wall structure to the mechanical properties of wheat bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (7), 2026-2033.
- Asp, N. G. (1996). Dietary carbohydrates: classification by chemistry and physiology. *Food Chemistry*, 57 (1), 9-14.
- Atwell, W. A. (2001). *Wheat flour*. Eagan press, Minnesota, USA.
- Auerman, L. Y. (2005). *Technology of bread baking*. 9th Edition. Moscow. 416 p.
- Autio, K., & Laurikainen, T. (1997). Relationships between flour/dough microstructure and dough handling and baking properties. *Trends in Food Science and Technology*, 8(6), 181-185.
- Baker, J. C., & Mize, M. D. (1941). The origin of the gas cell in bread dough. *Cereal Chemistry*, 18, 19-34.
- Banks, W., & Greenwood, C. T. (1975). *Starch and its components*. Aberdeen University Press, Grande Bretagne.
- Beynen, A., C., Kappert, H. J., & Yu, S. (2001). Dietary lactulose decreases apparent nitrogen absorption and increases apparent calcium and magnesium absorption in healthy dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 85, 67-72.
- Bloksma, A. H. (1986). Rheological Aspects of Structural Changes during Baking. In: *Chemistry and Physics of Baking. Materials, processes and products*. Blanshard, J. M. V., Frazier, P. J., & Galliard, T. (Eds). Royal Society of Chemistry, Londres, 170-178.
- Bloksma, A. H. (1990a). Rheology of the bread making process. *Cereal Foods World*, 35, 228-236

- Bloksma, A. H. (1990b). Dough structure, dough rheology, and baking quality. *Cereal Foods World*, 35, 237-244.
- Bollaín, C., Angioloni, A., & Collar, C. (2005). Bread staling assessment of enzyme-supplemented pan breads by dynamic and static deformation measurements. *European Food Research Technology*, 220 (1), 83-89.
- Bollaín, C., Angioloni, A., & Collar, C. (2006). Relationships between dough and bread viscoelastic properties in enzyme supplemented wheat samples. *Journal of Food Engineering*, 77 (3), 665-671.
- Bologa, M. K., Stepurina, T. G., Bologa, & Polikarpov, A. A., & Sprinchan, E. G. (2009). Optimization of lactose isomerisation into lactulose by the electrophysical method. *Surface Engineering and Applied Electrochemistry*, 45, 415-419.
- Bonnin, E., Le Goff, A., Saulnier, L., Chaurand, M., & Thibault, J. F. (1998). Preliminary characterisation of endogenous wheat arabinoxylan-degrading enzymic extracts. *Journal of Cereal Science*, 28 (1), 53-62.
- Boskov Hansen, H., Andreasen, M. F., Nielsen, M. M., Larsen, L. M., Bach Knudsen, K. E., Boudreau, A., & Menard, G. (1992). *Le Blé, Éléments Fondamentaux et Transformation Sainte-Foy*: Les Presses de l'Université Laval.
- Bovee-Oudenhoven, M. J., Bruggencate, S. J. M., Lettink Wissink, M. L. G., & van der Meer, R., (2003). Dietary fructo-oligosaccharides and lactulose inhibit intestinal colonisation but stimulate translocation of salmonella in rats. *Gut*, 52, 1572-1578.
- Brands, C. M. J., Alink, G. M., van Boekel, M. A. J. S., & Jongen, W. M. F. (2000). Mutagenicity of Heated Sugar–Casein Systems: Effect of the Maillard Reaction†. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (6), 2271-2275.
- Buck, J. S., & Walker, C. E. (1988). Sugar and sucrose ester effects on maize and wheat starch gelatinization patterns by differential scanning calorimeter. *Starch*, 40, 353-356.
- Buléon, A., Colonna, P., & Leloup, V. (1990). Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. *Industries Alimentaires et Agricoles*, 515-532.

- Caballero, B., Trugo, L. C., & Finglas, P. M. (2004). Encyclopedia of food sciences and nutrition. New York: Academic Press. pp. 1813-1858.
- Cardelle-Cobas, A., Corzo, N., Olano, A., Pelaez, C., Requena, T., & Avila, M. (2011). Galactooligosaccharides derived from lactose and lactulose: Influence of structure on *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Bifidobacterium* growth. *International Journal of Food Microbiology*, 149, 81-87.
- Caselato de Sousa, V. M., Freitas dos Santos, E., & Carlos Sgarbieri, V. (2011). The importance of prebiotics in functional foods and clinical practice. *Food and Nutrition Sciences*, 2, 133-144.
- Cerny, C., Fitzpatrick, F., & Ferreira, J. (2011). Effect of salt and sucrose addition on the formation of the Amadori compound from methionine and glucose at 40°C. *Food Chemistry*, 125, 973-977.
- Chaboissier, D. (1981). Les pâtes à génoises. *Le compagnon pâtissier*, V. J, ed., France, 344-349.
- Chaplin, M. (2004). *Water Structure and Behavior*. London South Bank University. London, Angleterre. <http://www.lsbu.ac.uk/water/>.
- Chargelegue, A., Guinet, R., Neyreneuf, O., Onno, B., & Poitrenaud, B. (1994). La fermentation, *La panification française*, Vol. 528. Guinet, R. and Godon, B. eds., Lavoisier-Apria, Tec et Doc, Paris, 283-325.
- Chawla, R, Patil, G, & Singh, A. (2011). High hydrostatic pressure technology in dairy processing: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 48 (3), 260-268.
- Chen, X., Zuo, Q, Hai, Y., & Sun, X. J. (2011). Lactulose: an indirect antioxidant ameliorating inflammatory bowel disease by increasing hydrogen production. *Medical Hypotheses*, 76, 325-327.
- Cho, S., Devries, J. W., & Prosky, L. (1997). *Dietary Fiber Analysis and Applications*. Gaithersburg, MD: AOAC International.
- Chung, O. K., Pomeranz, Y. & Finney, K. F. (1978). Wheat flour lipids in bread baking. *Cereal Chemistry*, 55, 598-618.
- Collar, C., Bollaín, C., & Angioloni, A. (2005). Significance of microbial transglutaminase on the sensory, mechanical and crumb grain pattern of

- enzyme supplemented fresh pan breads. *Journal of Food Engineering*, 70 (4), 479-488.
- Conn, H. O., Leevy, C. M., Viahcevic, Z. R., Rodgers, J. B., Maddrev, W. C., Seef, L., & Levy, L. L. (1977). Comparison of lactulose and neomycin in the treatment of chronic portal-systemic encephalopathy. A double blind controlled trial. *Gastroenterology*, 72, 573-583.
- Coster, M., & Chermant, J. L. (1989). *Précis d'analyse d'image*. CNRS plus, Presses du CNRS (eds), France.
- Davies, A.P. (1986). Protein Functionality in Bakery Products. In: *Chemistry and Physics of Baking. Materials, processes and products*. Blanshard, J.M.V., Frazier, P.J. and Galliard, T. (Eds). Royal Society of Chemistry, Londres, 89-104.
- De Kock, S., Taylor, J., & Taylor, J. R. N. (1999). Effect of heat treatment and particle size of different brans on loaf volume of brown bread. *LWT- Food Science and Technology*, 32 (6), 349-356.
- De Preter, V., Coopmans, T., Rutgeerts, P., & Verbeke, K. (2006). Influence of Long-Term Administration of Lactulose and *Saccharomyces Boulardii* on the Colonic Generation of Phenolic Compounds in Healthy Human Subjects. *Journal of the American College of Nutrition*, 25 (6), 541-549
- Debyser, W., Peumans, W. J., Van Damme, E. J. M., & Delcour, J. A. (1999). Triticumaestivum xylanase inhibitor (TAXI), a new class of enzyme inhibitor affecting bread making performance. *Journal of Cereal Science*, 30 (1), 39-43.
- Den Hond E., Geypens B., & Ghooos Y. (2000). Effect of high performance chicory inulin on constipation. *Nutrition Research*, 20, 731-736.
- Dural, N. H., & Hines, A. L. (1993). Adsorption of water on cereal-bread type dietary fibers. *Journal of Food Engineering*, 20 (1), 17-43.
- Eliasson, A. C. & Larsson, K. (1993). *Cereals in Bread making*. New York, Marcel Dekker, Inc., 376 pp.

- Ferreira, M. M. C., Morgano, M. A., de Queiroz, S. C. N., & Mantovani, D. M. B. (2000). Relationships of the minerals and fatty acid contents in processed turkey meat products. *Food Chemistry*, 69 (3), 259-265.
- Flander, L., Suortti, T., Katina, K., & Poutanen, K. (2011). Effects of wheat sourdough process on the quality of mixed oat-wheat bread. *LWT-Food Science and Technology*, 44 (3), 656-664.
- Flood, M. T., & Kondo, M. (2004). Toxicity evaluation of a beta-galactosidase preparation produced by *Penicillium multicolor*. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 40, 281–292.
- Gan, Z., Ellist, P. R., & Schofield, D. (1995). Mini review - Gas cell stabilisation and gas retention in wheat bread dough. *Journal of Cereal Science*, 21, 215-230.
- Gänzle, M. G., Haase, G., & Jelen, P. (2008). Lactose: Crystallization, hydrolysis and value-added derivatives. *International Dairy Journal*, 18 (7), 685-694.
- Ghiasi, K., Hosney, R. C. & Varriano-Marston, E. (1983). Effects of flour components and dough ingredients on starch gelatinization. *Cereal Chemistry*, 60, 58-61.
- Gibson, G. R., Probert, H. M., Van Loo, J., Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17, 259-275.
- Grandvoinet, P., & Pratz, B. (1994). Farines et mixes. In: *La panification française*, Vol. 528.
- Haider, T., & Husain, Q. (2007). Preparation of lactose free milk by using ammonium sulphate fractionated proteins from almonds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 1278–1283.
- Haralampu, S. G. (2000). Resistant starch- a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydrate Polymers*, 41 (3), 285-292.
- Haseborg, E., & Himmelstein, A. (1988). Quality problems with high-fiber breads solved by use of hemicellulase enzymes. *Cereal Foods World*, 38 (5), 419-421.

- Hashemi, S. A., & Ashtiani, F. Z. (2010). The isomerization kinetics of lactose to lactulose in the presence of sodium hydroxide at constant and variable pH. *Food and Bioproducts Processing*, 88, 181-187.
- Hayman, A., Hosney, R. C. & Faubion, J. M. (1998a). Effect of pressure (crust formation) on bread crumb grain development. *Cereal Chemistry*, 75, 581-584.
- Heijnen, A. M. P., Brink, E. J., Lemmens, A. G., & Beynen, A. C. (1993). Ideal pH and apparent absorption of magnesium in rats fed on diets containing either lactose or lactulose. *British Journal of Nutrition*, 70, 747-756.
- Heredia, D., Caballeria, J., Arroyo, V., Ravelli, G., & Rodes, J. (1987). Lactitol versus lactulose in the treatment of acute portal systemic encephalopathy (PSE). A controlled trial. *Journal of Hepatology*, 3, 293-298
- Hernandez-Hernandez, O., Muthaiyan, A., Moreno, F. J., Montilla, A., Sanz, M. L., & Ricke, S. C. (2012). Effect of prebiotic carbohydrates on the growth and tolerance of *Lactobacillus*. *International Journal of Food Microbiology*, 30, 355-361.
- Hernandez-Hernandez, O., Montanes, F., Clemente, A., Moreno, F. J., & Sanz, M. L. (2011). Characterization of galactooligosaccharides derived from lactulose. *Journal of Chromatography A*, 1218, 7691-7696.
- Hosney, R. C. (1986). Principles of Cereal Science and Technology. St. Paul, MN : AACC. In Marquart, L., Slavin, J. L., & Fulcher, R. G. (Eds.). *Whole Grain Foods in Health and Disease* Chapitre 3. St-Paul, MN : AACC. pp. 47-82.
- Institute of Medicine. (2002). *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Protein and Amino Acids (Macronutrients)*. The National Academy of Sciences. Washington, D.C., pp. 265-328.
- Jaishree, P., Anil, K. V., & Ravi, V. (2007). Role of gut flora in inflammatory bowel disease- A state of art. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, 705-718.
- Jalbout, A. F., Shipar, M. A. H., & Navarro, J. L. (2007). Density functional computational studies on ribose and glycine Maillard reaction: Formation of

- the Amadori rearrangement products in aqueous solution. *Food Chemistry*, 103, 919-926.
- Jeffrey, G. A., Wood, R. A., Pfeffer, P. E., & Hicks, K. B. (1983). Crystal structure and solid-state NMR analysis of lactulose. *Journal of the American Chemical Society*, 105, 2128-2133.
- Junge, R. C. & Hosney, R. C. (1981). A mechanism by which shortening and certain surfactants improve loaf volume in bread. *Cereal Foods World*, 58, 408-412.
- Jurado, E., Camacho, F., Luzon, G., & Vicaria, J. M. (2002). A new kinetic model proposed for enzymatic hydrolysis of lactose by a β galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. *Enzyme and Microbial Technology*, 31, 300–309.
- Kiger, J., & Kiger, J. G. (1968). *Techniques modernes de la biscuiterie-pâtisserie boulangerie (industrielles et artisanales) et des produits de régime*. France
- Kissell, L. T., Marshall, B. D. & Yamazaki, W. T. (1973). Effect of variability in sugar granulation on the evaluation of flour cookie quality. *Cereal Chemistry*, 50, 255-264.
- Klewicki, R. (2007). Formation of gal-sorbitol during lactose hydrolysis with β -galactosidase. *Food Chemistry*, 100 (3), 1196-1201.
- Kokke, F. T., Scholtens, P. A., Alles, M. S., Decates, T. S., Fiselier, T. J., Tolboom, J. J., Kimpen, J. L., & Benninga, M. A. (2008). A dietary fiber mixture versus lactulose in the treatment of childhood constipation: a double-blind randomized controlled trial. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 47, 592–597.
- Koutelidakis, I., Papaziogas, B., Giamarellos-Bourboulis, E. J., Makris, J., Pavlidis, T., Giamarellou, H., & Papaziogas, T. (2003). Systemic endotoxaemia following obstructive jaundice: the role of lactulose. *Journal of Surgical Research*, 113, 243-247.
- Kutos, T., Golob, T., Kac, M., & Plestenjak, A. (2003). Dietary fibre content of dry and processed beans. *Food Chemistry*, 80 (2), 231-235.

- Lai, C. S., Hosney, R.C., & Davis, A.B. (1989). Effects of wheat bran in bread making. *Cereal Chemistry*, 66 (3), 217-219.
- Layton, A. A. (1992). Lactulose preparation using food safe reagents. Master Thesis. University of British Columbia.
- Lee, D. H., Kang, S. G., Suh, S. G., & Byun, J. K. (2003). Purification and characterization of a beta-galactosidase from peach (*Prunus persica*). *Molecules and Cells*, 15, 68–74.
- Lee, Y. J., Kim, C. S., & Oh, D. K. (2004). Lactulose production by β -galactosidases in permeabilized cells of *Kluyveromyces lactis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64, 787–793.
- Lineback, D.R., & Rasper, V.F. (1988). Wheat carbohydrates. In Y. Pomeranz Edition. *Wheat Chemistry and Technology*. St-Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. pp. 277-372.
- Logan, A. C., Venket, Rao, A., & Irani, D. (2003). Chronic fatigue syndrome: lactic acid bacteria may be of therapeutic value. *Medical Hypotheses*, 60 (6), 915-923.
- López-Molina, D., Navarro-Martínez, M. D., Rojas-Melgarejo, F., Hiner, A. N .P., Chazarra S, & Rodríguez-López, J.N. (2005). Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochemistry*, 66 (12), 1476-1484.
- Luangsakul, N., Keeratipibul, S., Jindamorakot, S., & Tanasupawat, S. (2009). Lactic acid bacteria and yeasts isolated from the starter doughs for Chinese steamed buns in Thailand. *LWT-Food Science and Technology*, 42 (8), 1404-1412.
- Mac Ritchie, F., & Gras, P. W. (1973). The role of flour lipids in baking. *Cereal Chemistry*, 50, 292-302.
- MacGillivray, P. C., Finlay, H. V. L., & Binns, T. B. (1959). Use of lactulose to create a preponderance of lactobacilli in the intestine of bottle-fed infants. *Scottish Medical Journal*, 4, 182-189.

- Manisha, G., Soumya, C., & Indrani, D. (2012). Studies on interaction between stevioside, liquid sorbitol, hydrocolloids and emulsifiers for replacement of sugar in cakes. *Food Hydrocolloids*, 29 (2), 363-373.
- Mayer, J., Conrad, J., Klaiber, I., Lutz-Wahl, S., Beifuss, U., & Fischer, L. (2004). Enzymatic production and complete nuclear magnetic resonance assignment of the sugar lactulose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6983–6990.
- Meredith, P. (1964). A theory of gluten structure. *Cereal Science Today*, 9, 34-54.
- Meyer, A. S., Christensen, L. P., & Hansen, A. (2002). Changes in dietary fibre, phenolic acids and activity of endogenous enzymes during rye bread-making. *European Food Research and Technology*, 214, 33-42.
- Minervini, F., Pinto, D., Di Cagno, R., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2011). Scouting the application of sourdough to frozen dough bread technology. *Journal of Cereal Science*, 54 (3), 296-304.
- Mitchell, J. R., Areas, J. A. G., & Rasul, S. (1994). Modifications chimiques et texturation des protéines à faibles teneurs en eau. In: *La cuisson-extrusion*, Colonna, P. and Della Valle, G. eds., Tec et doc. Lavoisier, France, 85-108.
- Mizota, T., Tamura, Y., Tomita, M., & Okonogi, S. (1987). Lactulose as a sugar with physiological significance. *Bulletin of the International dairy Federation (IDF)*, 212, 69–76
- Mohamed, S., Hashim, S. N., & Rahman, H. A. (2012). Seaweeds: A sustainable functional food for complementary and alternative therapy. *Trends in Food Science & Technology*, 23 (2), 83-96. ,
- Mongeau, R., & Brassard, R. (1982a). Determination of neutral detergent fiber in breakfast cereals: pentose, hemicellulose, cellulose and lignin content. *Journal of Food Science*, 47 (2), 550-555.
- Mongeau, R., & Brassard, R. (1982b). Insoluble dietary fiber from breakfast cereals and brans: bile salt binding and water-holding capacity in relation to particle size. *Cereal Chemistry*, 59, 413-417.

- Mongeau, R., & Brassard, R. (1989). A comparison of three methods for analyzing dietary fiber in 38 foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2, 189-199.
- Mongeau, R., & Brassard, R. (1993). Enzymatic-gravimetric determination in foods of dietary fiber as sum of insoluble and soluble fiber fractions: summary of collaborative study. *Journal of the AOAC International*, 76 (4), 923-925.
- Moore, W. R., & Hosney, R. C. (1985). The leavening of bread dough. *Cereal Foods World*, 30, 791-792.
- Morris, C., & Morris, G. A. (2012). The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. *Food Chemistry*, 133, (2), 237-248.
- Morris, V. J. (1990). Starch gelation and retrogradation. *Trends in Food Science and Technology*, 7, 2-6.
- Mulvihill, D. M., & Donovan, M. (1987). Whey proteins and their thermal denaturation - a review. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 11, 43-75.
- Myers, C. D. (1990). Study of thermodynamics and kinetics of protein stability by thermal analysis. In: *Thermal analysis of food*, Harwalkar, V. R. and Ma, C. Y. eds., Elsevier science publishers LTD, USA, 16-50.
- Nagengast, F. M., Hectors, M. P., Buys, W. A., & Van Tongeren, J. H. (1988). Inhibition of secondary bile acid formation in the large intestine by lactulose in healthy subjects of two different age groups. *European Journal of Clinical Investigation*, 18, 56-61.
- Nagy, Z., Kiss, T., Szentirmai A., & Biro, S. (2001). Beta-galactosidase of *Penicillium chrysogenum*: production, purification, and characterization of the enzyme. *Protein Expression and Purification*, 21, 24–29.
- Nandini, C. D., & Salimath, P. V. (2001). Carbohydrate composition of wheat, wheat bran, sorghum and bajra with good chapati/roti (Indian flat bread) making quality. *Food Chemistry*, 73, 197-203.

- Nelles, E. M., Randall, P. G., & Taylor, J. R. N. (1998). Improvement of brown bread quality by prehydration treatment and cultivar selection of bran. *Cereal Chemistry*, 75 (4), 536-540.
- Nicolas, V., Salagnac, P., Glouannec, P., Ploteau, J. P., Jury, V., & Boillereaux, L. (2012). Modelling heat and mass transfer in bread baking with mechanical deformation. *Journal of Physics: Conference Series*, 395, 012146.
- Nobuo, S., Hirokazu, H., Yuriko, L., Yuzo, A., Sadayuki, K., Koji, Y., Yoshitaka, T., Kazuhiro, U., & Hideki, K. (2007). Effect of lactulose on calcium and magnesium absorption: a study using stable isotopes in adult men. *Journal of Nutrition and Science Vitaminology*, 53, 5-12.
- Okot-Kotber, M., Yong, K. J., Barorogoza, K., & Liavoga, A. (2003). Phytase activity in extracts of flour and bran from wheat cultivars: enhanced extractability with β -glucanase and endo-xylanase. *Journal of Cereal Science*, 38, 307-315.
- Olano, A., & Corzo, N. (2009). Lactulose as a food ingredient. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 1987-1990.
- Özer, D., Akin, S., & Ozer, B. (2005). Effect of inulin and lactulose on survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* BB-02 in *Acidophilus-Bifidus* yoghurt. *Food Science and Technology International*, 11, 19–24.
- Panesar, P. S., & Kumari, S. (2011). Lactulose: Production, purification and potential applications. *Biotechnology Advances*, 29 (6), 940-948.
- Peterson, D., & Fulcher, R. (2002). Variation in Minnesota HRS wheats: bran content. *Journal of Food Science*, 67 (1), 67-70.
- Peyron, S., Chaurand, M., Rouau, X., & Abecassis, J. (2000a). Relationship between branmechanical properties and milling behaviour of durum wheat (*Triticumdurum* Desf.) Influence of tissue thickness and cell wall structure. *Journal of Cereal Science*, 36 (3), 377-386.
- Peyron, S., Surget, A., Mabilie, F., Autran, J.C., Rouau, X., & Abecassis, J. (2000b). Evaluation of tissue dissociation of durum wheat grain (*Triticum durum* Desf.) generated by the milling process. *Journal of Cereal Science*, 36 (2), 199-208.

- Pham, T. T., & Shah, N. P. (2008). Effect of lactulose on biotransformation of isoflavone glycosides to aglycones in soymilk by *Lactobacilli*. *Journal of Food Science*, 73, 158–165.
- Pinheiro De Souza Oliveira, R., Rodrigues Florence, A. C., Perego, P., Nogueira De Oliveira, M., & Converti, A. (2011). Use of lactulose as prebiotic and its influence on the growth, acidification profile and viable counts of different probiotics in fermented skim milk. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 22-27.
- Prasad, S., Dhiman, R. K., Duseja, A., Chawla, Y. K., Sharma, A., & Agarwal, R. (2007). Lactulose improves cognitive functions and health-related quality of life in patients with cirrhosis who have minimal hepatic encephalopathy. *Hepatology*, 45, 549-59.
- Pylar, E.J. (1988). *Baking Science and Technology*. Chicago, IL: Siebel Publishing Company.
- Rabe, E. (1999). Effect of processing on dietary fiber in foods. In S.S. Cho, L. Prosky, & M. L. Dreher (Eds.). *Complex Carbohydrates in Foods*. New York: Marcel Dekker, Inc. pp. 395-409.
- Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., & Astroth, K. (1990). Total and soluble fiber in selected bakery and other cereal products. *Cereal Chemistry*, 67, 499-501.
- Riedl, K. M., Zhang, Y. C., Schwartz, S. J., & Vodovotz, Y. (2005). Optimizing Dough Proofing Conditions To Enhance Isoflavone Aglycones in Soy Bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (21), 8253-8258.
- Robertson, J. A., Monredon, F. D., Dyessler, P., Guillon, F., Amado, R., & Thibault, J. F. (2000). Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 33 (2), 72-79.
- Rodionova, N. A., Kaprel-yants, L. V., Serednitskii, P. V., & Kilimnik, A. Y. (1992). Hemicelluloses of cereal grains and their enzyme catalysts. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 28 (5), 485-501.
- Rouau, X. (1993). Investigations into the effects of an enzyme preparation for baking on wheat dough pentosans. *Journal of Cereal Science*, 18, 145-272.

- Rouau, X. (1996). Les hémicellulases en panification. *Industries des Céréales*, 96, 13-19.
- Rouau, X., & Thibault, J. F. (1987). *Les Fibres Alimentaires* Paris: APRIA.
- Rouau, X., El-Hayek, M. L., & Moreau, D. (1994). Effect of an enzyme preparation containing pentosanases on the bread-making quality of flours in relation to changes in pentosan properties. *Journal of Cereal Science*, 19, 259-157.
- Roussel, P., & Chiron, H. (2002). *Les pains français : Evolution, qualité, production*. 1^{ed.}, MAE-ERTI. (Eds), France.
- Saarela, M., Hallamaa, K., Mattila-Sandholm, T., & Matto, J. (2003). The effect of lactose derivatives lactulose, lactitol and lactobionic acid on the functional and technological properties of potentially probiotic *Lactobacillus* strains. *International Dairy Journal*, 13, 291-302.
- Sablani, S. S., Marcotte, M., Baik, O. D. & Castaigne, F. (1998). Modeling of simultaneous heat and water transport in the baking process. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technology*, 31, 201-209.
- Salvatore, S., & Vandeplass, Y. (2010). Chapter 13. Prebiotics and Probiotics in Therapy and Prevention of Gastrointestinal Diseases in Children. In: Ronald Ross W, Victor RP (eds) *Bioactive Foods in Promoting Health*. Academic Press, Boston, pp 181-203.
- Schrezenmeir, J., & De Vrese, M. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics-approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 361S-364S.
- Schumann, C. (2002). Medical, nutritional and technological properties of lactulose. An update. *European Journal of Nutrition*, 41, 17-25.
- Schuster-Wolff-Bühning, R., Fischer, L., & Hinrichs, J. (2010). Production and physiological action of the disaccharide lactulose. *International Dairy Journal*, 20, 731-741.
- Schwarz, P. B., Kunerth, W. H., & Youngs, V. L. (1988). The distribution of lignin and other fiber components within hard red spring wheat bran. *Cereal Chemistry*, 65, 59-64.

- Seki, N., & Saito, H. (2012). Lactose as a source for lactulose and other functional lactose derivatives. *International Dairy Journal*, 22 (2), 110-115.
- Seyer, M. E. (2005). Les fibres alimentaires et le pain de blé entier. Mémoire de maîtrise en Sciences et technologie des aliments. Faculté des études supérieures de l'Université Laval.
- Shams-Ud-Din, M., Saalfeld, U., & Freund, W. (1998). Influence of aqueous extracted wheat bran on the quality of wheat bread. *Getreide Mehl-und-Brot*, 52 (4), 227-232.
- Shetty, K., Gopinadhan, P., Pometto, A., & Levin, R. E. (2006). *Food biotechnology*. Second Edition, CRC Press, F. L, U.S.A.
- Shewry, P. R., Tatham, A. S., Ford, J., Kreis, M. & Mifflin, B. J. (1986). The classification and Nomenclature of wheat gluten proteins : a reassessment. *Journal of Cereal Science*, 4, 97-106
- Shimizu, Y., Maeda, T., Hidaki, Y., Tani, H., & Morita, N. (2003). Identification and effect of ethyl galactoside on the properties and baking quality of dough. *Food Research International*, 36 (4), 373-379.
- Shortt, C., & O'Brien, J. (2003). *Handkook of functional dairy products*, Chap.3. CRC Press, 34-58.
- Simonson, L., Salovaara, H., & Korhola, M. (2003). Response of wheat sourdough parameters to temperature, NaCl and sucrose variations. *Food Microbiology*, 20 (2), 193-199.
- Slavin, J. (2003a). Impact of the proposed definition of dietary fiber on nutrient databases. *Journal of Food Compostition and Analysis*, 16 (3), 287-291.
- Slavin, J. (2003b). Why whole grains are protective: biological mechanisms. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62, 129-134.
- Soille, P. (2003). *Morphological image analysis. Principles and application*. Springer, 391 p.
- Strange, E. D., & Onwulata, C. I. (2002). Effect of particle size on the water sorption properties of cereal fibers. *Journal of Food Quality*, 25 (1), 63-73.
- Talley, N. J., Abreu, M. T., Achkar, J. P., Bernstein, C. N., Dubinsky, M. C., Hanauer, S. B., Kane, S. V., Sandborn, W. J., Ullman, T. A., & Moayyedi, P.

- (2011). An evidence-based systematic review on medical therapies for inflammatory bowel disease. *American Journal of Gastroenterology*, 106, S2-S25.
- Torres P. M. D., Gonçalves, M. P. F. M., Teixeira, J. A., & Rodrigues, R. L. (2010). Galacto-Oligosaccharides: Production, Properties, Applications, and Significance as Prebiotics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 438-454.
- Toufeili, I., Lambert, I. A., & Kokini, J. L. (2002). Effect of glass transition and crosslinking on rheological properties of gluten: development of a preliminary state diagram. *Cereal Chemistry*, 79, 138-142.
- Van Berge Henegouwen, G. P., van der Werf, S. D., & Ruben, A.T. (1987). Effect of long term lactulose ingestion on secondary bile salt metabolism in man: potential protective effect of lactulose in colonic carcinogenesis. *Gut*, 6, 675-80.
- Van Vliet, T., Janssen, A. M., Bloksma, A. H., & Walstra, P. (1992). Strain hardening of dough as a requirement for gas retention. *Journal of Texture Studies*, 23, 439-460.
- Venema, K., van Nuenen, M. H. M. C., Heuvel, E. G., Pool, W., & van der Vossen, J. M. B. M. (2003). The Effect of Lactulose on the Composition of the Intestinal Microbiota and Short-chain Fatty Acid Production in Human Volunteers and a Computer-controlled Model of the Proximal Large Intestine. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 15, (2), 94-105.
- Verma, A., & Shukla, G. (2013). Administration of prebiotic inulin suppresses 1,2 dimethylhydrazine dihydrochloride induced procarcinogenic biomarkers fecal enzymes and preneoplastic lesions in early colon carcinogenesis in Sprague Dawley rats. *Journal of Functional Foods*, 5, 991-996.
- Villamiel, M., Corzo, N., Foda, M. I., Montes, F., & Olano, A. (2002). Lactulose Formation Catalysed by Alkaline-Substituted Sepiolites in Milk Permeate. *Food Chemistry*, 76, 7-11.

- Walker, W. A., & Duffy, L. C. (1998). Diet and bacterial colonization: role of probiotics and prebiotics. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 9 (12), 668-675.
- Wang, Y. G., Khan, K., Hareland, G., & Nygard, G. (2007). Distribution of Protein Composition in Bread Wheat Flour Mill Streams and Relationship to Breadmaking Quality. *Cereal Chemistry Journal*, 84 (3), 271-275.
- Webb, T., Heaps, P. W., Russell Eggitt, P. W., & Coppock, J. B. M. (1970). A rheological investigation of the role of water in wheat flour doughs. *Journal of Food Technology*, 5, 65-76.
- Williams, J., Perry, L., & Watkins, C. (2011). *Acute stroke nursing*, Wiley-Blackwell, U.K., 148.
- Wright, G., Chattree, A., & Jalan, R. (2011). Management of hepatic encephalopathy. *International Journal of Hepatology*, 2011, 1-10.
- Zanoni, B., Smaldone, D., & Schiraldi, A. (1991). Starch Gelatinization in Chemically Leavened Bread Baking. *Journal of Food Science*, 56(6), 1702-1706.
- Zhang, D., & Moore, W. R. (1997). Effect of wheat bran particle size on dough rheological properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74 (4), 490-496.
- Zhang, D., & Moore, W. R. (1999). Wheat bran particle size effects on bread baking performance and quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 805-809.
- Zhou, Q. Z. K., & Chen, X. D. (2001). Effect of temperature and pH on the catalytic activity of the immobilized β galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. *Biochemical Engineering Journal*, 9, 33-40.
- Zokaee, F., Kaghazchi, T., Soleimani, M., & Zare, A. (2002a). Isomerisation of Lactose to Lactulose Using Sweet Cheese Whey Ultrafiltrate. *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers*, 37, 307-313.
- Zokaee, F., Kaghazchi, T., Soleimani, M., & Zare, A. (2002b). Isomerisation of Lactose to Lactulose. Study and Comparison of three catalytic systems. *Process Biochemistry*, 37, 629-635.

Zubillaga, M., Weill, R., Postaire, E., Goldman, C., Caro, R., & Boccio, J. (2001).
Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases.
Nutrition Research, 21 (3), 569-579.

ANNEXES

Annexe 1 : Interprétation mathématique du processus de cuisson du pain

A1.1. Mise en contexte

Le pain est un milieu complexe dans lequel de nombreux phénomènes physiques et chimiques se produisent au cours de la cuisson. Après la fermentation, la pâte est constituée de bulles de dioxyde de carbone qui sont responsable, en grande partie, de l'expansion du volume durant la cuisson. Initialement, les bulles sont isolées l'une de l'autre et n'y a pratiquement pas de transfert de gaz dans la matrice. Lorsque les bulles grossissent avec le dégagement de CO_2 et l'augmentation de la température, ils entrent en contact et le transfert de gaz devient alors possible. Le gonflement du produit (pâte en cours de cuisson) induit une augmentation de la porosité de la matrice. Cela est dû au dioxyde de carbone produit suite à la fermentation de levure. Ce phénomène crée une augmentation de pression au début de la cuisson. À côté du CO_2 , la matrice pâteuse libère aussi un volume important de vapeur d'eau. Dépendamment de la forme de la matrice (présence ou absence de gluten et forme de celui-ci), le volume du pain peut prendre des dimensions pouvant dépasser le triple du volume de la pâte. Ces phénomènes se produisent en simultanément et s'influencent mutuellement. Au cours de la cuisson, l'amidon se gélatinise, une croûte solide se forme à la surface du pain et les propriétés thermo-physiques de la matrice changent.

Dans cette section, le but suivi était de modéliser le processus de cuisson du pain en supposant que le transfert de chaleur vers la pâte se fait par convection et rayonnement puis la chaleur est transférée vers le centre de la matrice par conduction. De cette manière, on élimine l'interférence des différents modes de transfert de chaleur à l'intérieur du pain durant la cuisson. Le modèle développé est appliqué, de façon globale, au processus de cuisson et de façon particulière aux changements qui peuvent survenir avec les protéines et la gélatinisation de l'amidon. Toutefois, le même modèle peut être aussi appliqué aux changements

qui peuvent avoir lieu avec le gras, fibres solubles et insolubles, ainsi que tout autre constituant de la pâte boulangère.

A1.2. Modélisation mathématique

En adéquation avec le principe de conservation de l'énergie, on peut écrire l'équation suivante (Nicolas et al., 2012):

$$\rho \cdot C_p \cdot \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot (k \cdot \nabla T) \quad (\text{Eq. 1})$$

On admet que toute la chaleur qui arrive à la surface du pain se fait par le mode convectif, auquel s'ajoute le transfert de chaleur par rayonnement. Une fois arrivée la surface de la pâte (pain en cours de cuisson), cette chaleur est transférée à l'intérieur de la pâte (pain) par conduction. Alors, on peut écrire ce qui suit :

$$-k \cdot \nabla T = h \cdot (T_s - T_\alpha) + \varepsilon \cdot \sigma \cdot (T_s^4 - T_\alpha^4) \quad (\text{Eq. 2})$$

On peut également exprimer le bilan massique par l'équation suivante:

$$\frac{\partial W}{\partial t} = \nabla \cdot (D \cdot \nabla W) \quad (\text{Eq. 3})$$

On admet les conditions limites suivantes :

La migration de l'eau de l'intérieur de la pâte (pain en cours de cuisson) vers la surface du pain est gouvernée par un flux convectif. Donc, on peut écrire l'équation suivante :

$$-D \cdot \nabla W = k_g \cdot [(P_s \cdot T_s) - (P_\alpha \cdot T_\alpha)] \quad (\text{Eq. 4})$$

$$P_s = a_w \cdot P_{sat} \cdot T_s$$

$$P_\alpha = RH \cdot P_{sat} \cdot T_\alpha$$

Au cours de la cuisson, on observe une expansion de la pâte qui est due à l'augmentation du volume de CO₂ et de la vapeur d'eau qui sont accumulés durant la fermentation et l'évaporation de l'eau liquide causée par l'augmentation de la température. On peut utiliser le principe du fluide en mouvement qui peut se faire de deux façons équivalentes. On peut suivre le mouvement des particules du fluide selon le point de vue de Lagrange ou le faire sous forme d'un cliché à un instant

donné du champ de vitesse de toutes les particules du fluide qui correspond au point de vue d'Euler. On peut alors écrire l'équation suivante :

$$\frac{\partial^2}{\partial x^2} \cdot \left(\frac{\partial x}{\partial t} \right) + \frac{\partial^2}{\partial y^2} \cdot \left(\frac{\partial x}{\partial t} \right) = 0 \quad (\text{Eq. 5})$$

En se basant sur le principe que le volume du pain est le résultat composé de l'expansion du volume de CO₂ et de la vapeur d'eau, on peut exprimer le taux d'expansion du pain par un facteur proportionnel à la température interne de la pâte durant la cuisson. On exprime alors cette expansion par la vitesse de maille (V_n). Donc, on obtient ce qui suit :

$$V_n = K \cdot T \quad (\text{Eq. 6})$$

Dans l'équation 6, K représente le coefficient de proportionnalité par lequel on peut attribuer la valeur de $3.37 \times 10^{-7} \text{ m}^3/\text{K.s}$.

Durant la cuisson du pain, l'amidon se gélatinise. C'est ce phénomène qui donne au pain sa structure finale et en détermine son profil organoleptique (Zanoni et al., 1991). On peut exprimer ce phénomène de gélatinisation de l'amidon par une réaction de pseudo premier ordre et l'écrire comme suit :

$$1 - \alpha = e^{-k \cdot t} \quad (\text{Eq. 7})$$

Dans l'équation 7, α , k et t sont le degré de gélatinisation de l'amidon, la constante de la réaction et le temps de gélatinisation, respectivement.

On peut aussi exprimer k en utilisant l'équation d'Arrhenius comme suit:

$$k = k_0 e^{\left(\frac{-E_a}{RT} \right)} \quad (\text{Eq. 8})$$

$$k_0 = 2.89 \times 10^{18} \text{ s}^{-1}$$

$E_a = 140 \times 10^3 \text{ J/mol}$ (Énergie d'activation calculée sur la base des données obtenues par calorimétrie différentielle à balayage).

Les protéines de la farine et celles contenues dans le son de blé sont également assujetties à des modifications qui ont lieu pendant la cuisson du pain. En règle

générale, on observe une diminution de la teneur en protéines dans le pain final par rapport à la quantité initialement présente dans la pâte. Selon les résultats de l'application de la méthode des moindres carrés, on peut obtenir la constante de la vitesse d'une réaction chimique qui se produit lors de la cuisson pour les protéines et on peut l'exprimer comme suit :

$$k = \alpha \cdot \tau^n \cdot t^m \quad (\text{Eq. 9})$$

k : La constante de la vitesse de la réaction chimique qui se produit avec les protéines.

α : Coefficient de proportionnalité.

t : La température de cuisson, ° C.

τ : Le temps de cuisson, min.

n et m : Coefficients indiquant la relation entre la constante de vitesse d'une réaction chimique, le temps de cuisson et la température, respectivement.

En remplaçant tous les termes de l'équation 9 par leurs logarithmes, on obtient la relation linéaire suivante :

$$\ln k = \ln \alpha + n \cdot \ln \tau + m \cdot \ln t \quad (\text{Eq. 10})$$

En utilisant les modifications linéaires suivantes ($K = \ln k$, $\theta = \ln \tau$, $T = \ln t$, $b_0 = \ln \alpha$, $b_1 = n$ et $b_2 = m$), on obtient ce qui suit:

$$K = b_0 + b_1 \cdot \theta + b_2 \cdot T \quad (\text{Eq. 11})$$

Constante de la réaction, (k)	Temps de cuisson, (τ) min	Température de cuisson, (t), °C	(K)	(θ)	(T)
0.1179	40	215	-2.11	3.71	5.32
0.1180	35	225	-2.10	3.65	5.36
0.1429	25	235	-1.98	3.54	5.41

Pour déterminer les coefficients b_0 , b_1 et b_2 , on peut composer et résoudre le système d'équations normales suivantes:

$$\sum y_i = n \cdot b_0 + b_1 \cdot \sum x_{1i} + b_2 \cdot \sum x_{2i} \quad (\text{Eq. 12})$$

$$\sum (y_i \cdot x_{1i}) = b_0 \cdot \sum x_{1i} + b_1 \cdot \sum x_{1i}^2 + b_2 \cdot \sum x_{1i} \cdot x_{2i} \quad (\text{Eq. 13})$$

$$\sum (y_i \cdot x_{2i}) = b_0 \cdot \sum x_{2i} + b_1 \cdot \sum x_{1i} \cdot x_{2i} + b_2 \cdot \sum x_{2i}^2 \quad (\text{Eq. 14})$$

La solution du système d'équations 12-13 et la combinaison avec les équations (9-11) permet d'exprimer l'équation 9 comme suit :

$$y = 0.016 \cdot \tau^{-0.51} \cdot t^{0.73} \quad (\text{Eq. 15})$$

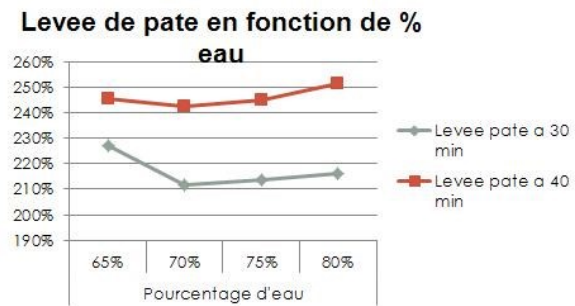
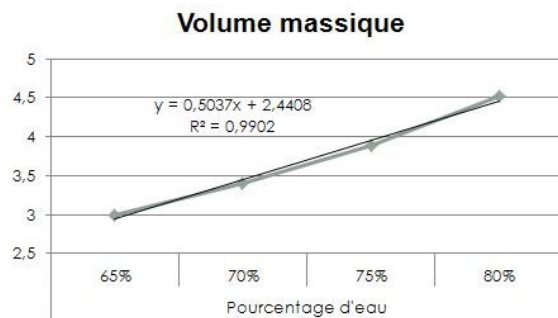
En suivant le principe du modèle mathématique, on peut représenter la réaction de décomposition des protéines durant la cuisson sous la forme d'un système d'équations différentielles. En résolvant le système d'équations par intégration, on peut facilement tracer les courbes de changement de la teneur relative en protéines lors de la cuisson du pain par rapport au temps. De même, on peut obtenir des équations différentielles et construire des graphiques pour exprimer les changements de la teneur en gras, sucres, amidon, fibres alimentaires (cellulose) au cours de la cuisson (Auerman, 2005).

$$\frac{\partial Y_p}{\partial \tau} = k_p \cdot Y_p = 0.016 \cdot \tau^{-0.51} \cdot t^{0.73} \cdot Y_p \quad (\text{Eq. 16})$$

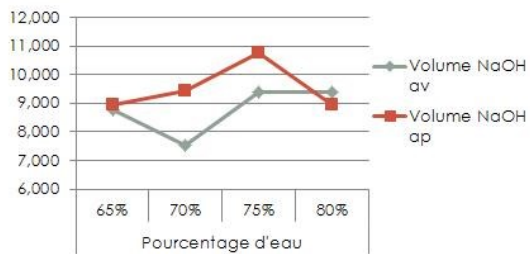
Finalement, on obtient la valeur $Y_p^0 = 22.84$.

Pour plus de détails sur les mesures et procédures expérimentales, le lecteur peut se référer aux **Annexes 2-6**.

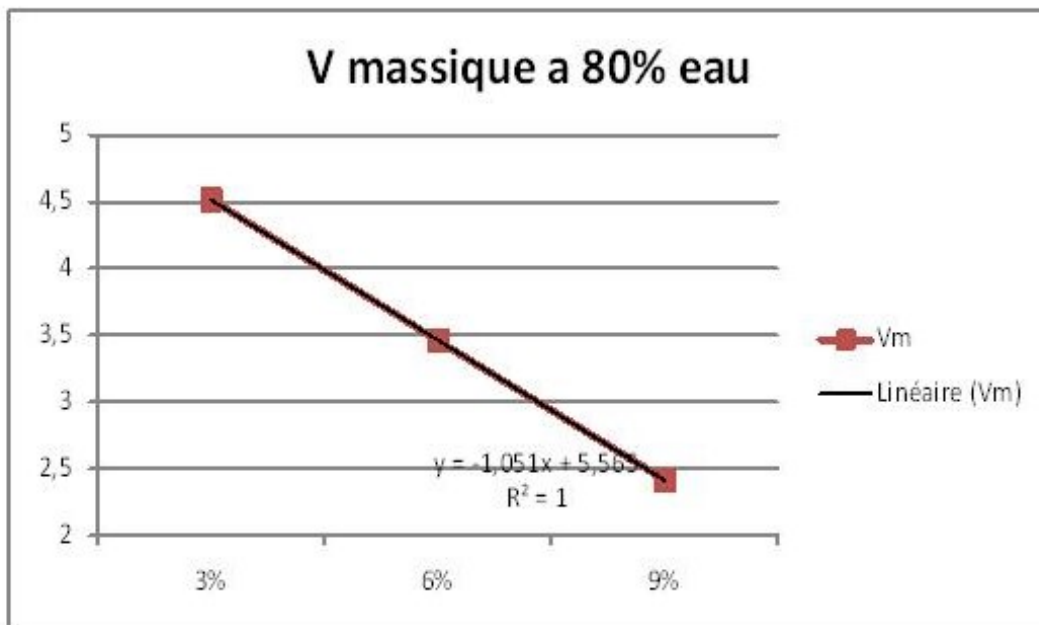
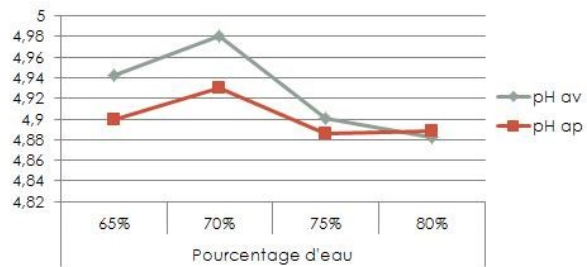
Annexe 2: Différents paramètres technologiques de la pâte



Volume NaOH en fonction de % eau



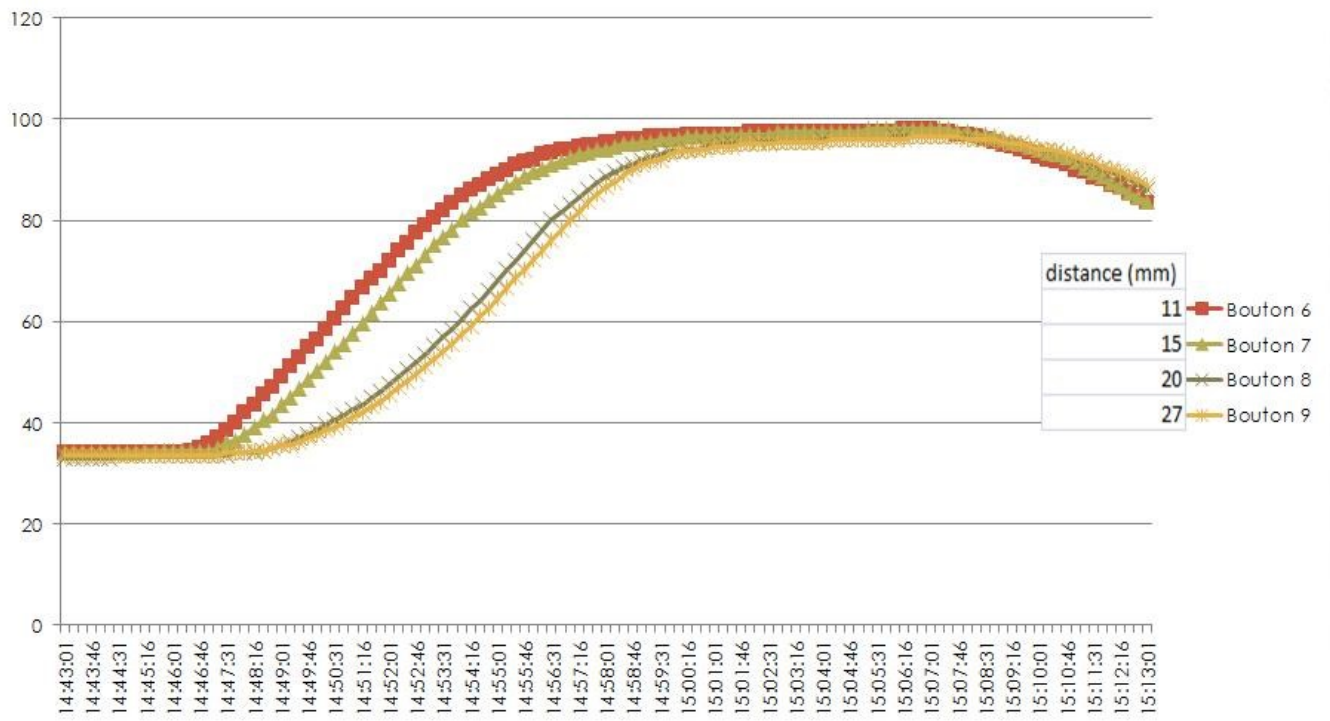
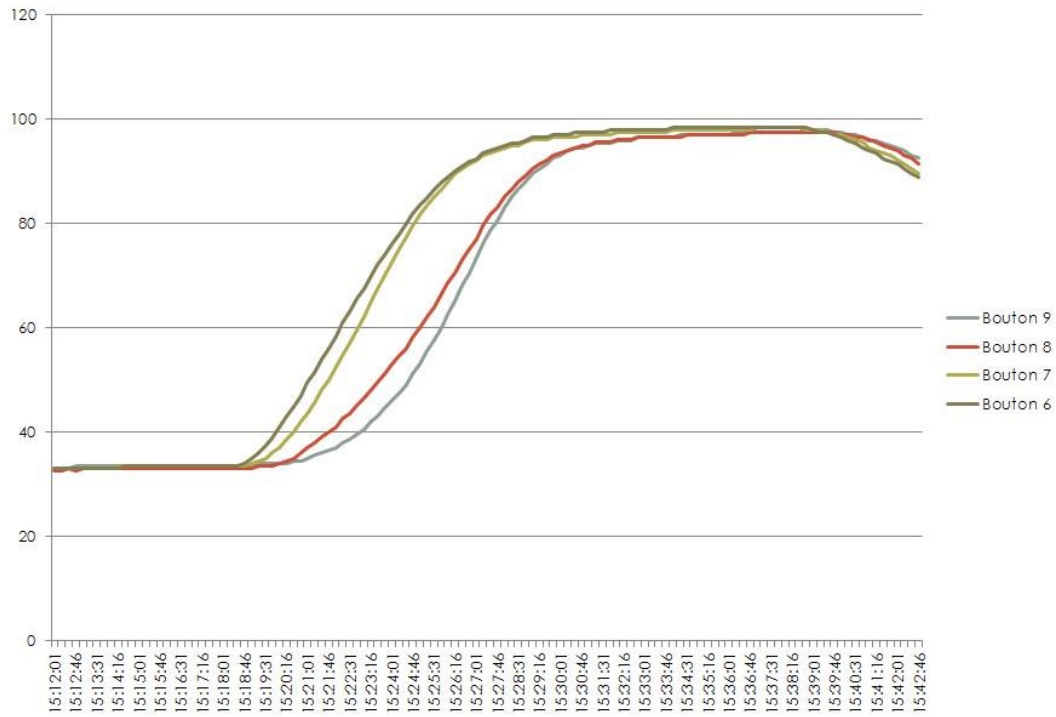
pH en fonction de % eau



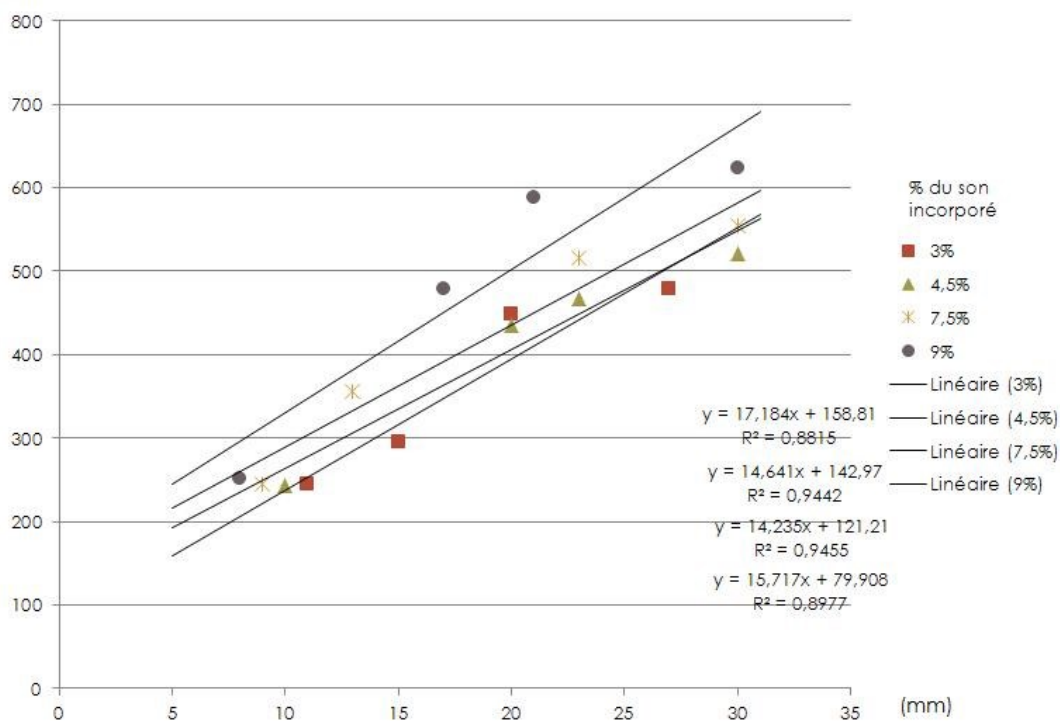
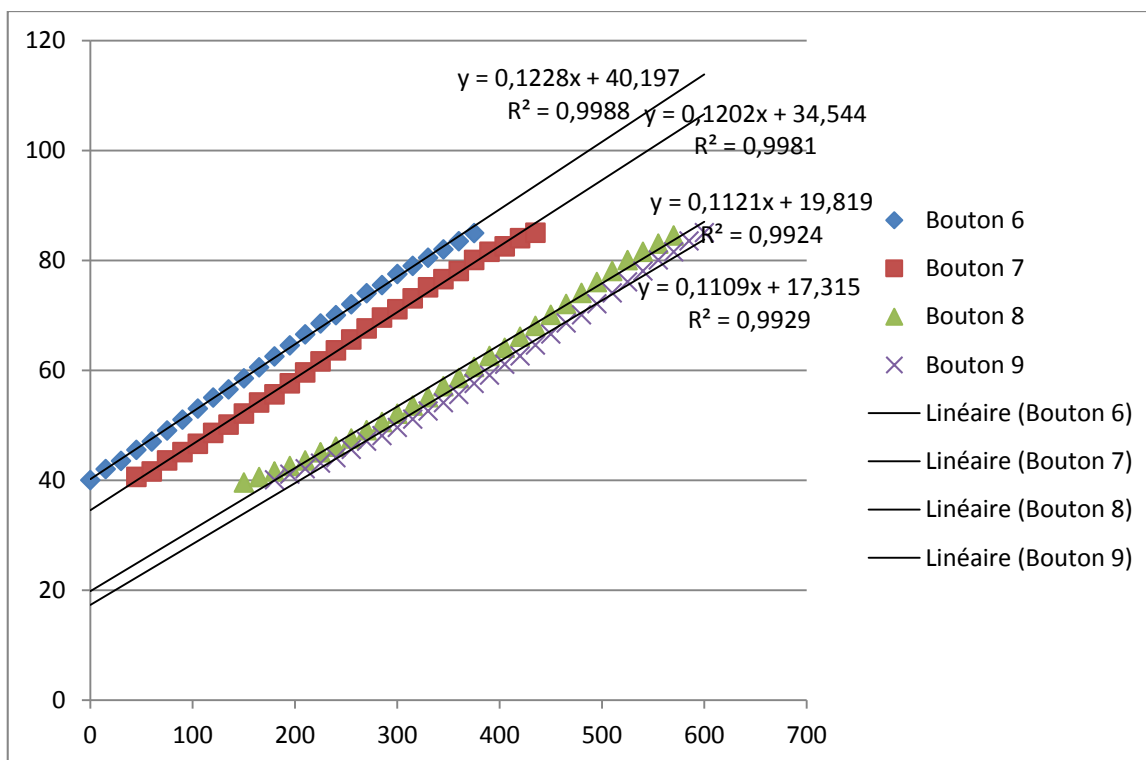
Annexe 3: Différentes illustrations du pain lors de la cuisson



Annexe 4: Courbes de températures à l'intérieur du pain lors de la cuisson



Annexe 5: Différences de températures dans le pain en fonction de la disposition des boutons enregistreurs de température



Annexe 6: Évolution de la température de la croûte et variation du volume du pain pendant la cuisson

