

Gaël Villanueva-Charbonneau  
Steven Murray  
Louis-Delmont Lafond

Intégration en biochimie

Suivi intermédiaire n°2

Travail présenté à  
Mme Goulet

# Table des matières

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>3</b>
<b>LA SAVEUR</b> .....	<b>6</b>
EXPÉRIMENTATIONS .....	6
<b>POUVOIR D'IMBIBITION</b> .....	<b>8</b>
<b>CONSERVATION DU PAIN</b> .....	<b>8</b>
HYPOTHÈSE.....	8
EXPÉRIMENTATION .....	9
CONCLUSION.....	9
<b>LA CROÛTE</b> .....	<b>9</b>
<b>L'ALVÉOLAGE</b> .....	<b>10</b>
EXPÉRIENCE.....	10
<b>L'ACIDITÉ</b> .....	<b>10</b>
EXPÉRIMENTATION .....	10
CONCLUSION.....	10
<b>LE VOLUME DU PAIN</b> .....	<b>10</b>
EXPÉRIMENTATION .....	10
CONCLUSION.....	11
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>12</b>
<b>TABLEAU 1</b> .....	<b>13</b>
<b>ANNEXE 1</b> .....	<b>14</b>

## Introduction

Il a été déclaré dans le cadre théorique de ce projet, les différences fondamentales entre deux familles de pain très distinctes : le pain à levure conventionnel qui sera nommé pain à la «poolish» et le pain fait à base d'un levain appelé pain au levain. Ces différences ont été reproduites dans le *tableau 1*. Ce qui suit passera en revue chaque différence pour pouvoir rendre compte efficacement des avancements théoriques et expérimentaux qui ont été faits dans le projet. Ces différences entre les pains sont constatables par sept caractéristiques organoleptiques essentielles : la saveur, le pouvoir d'imbibition (pas étudié), la conservation du pain, la croûte (pas étudié), l'alvéolage, l'acidité et le volume du pain.

### La saveur

Dans la littérature, la différence de goût entre le pain au levain et le pain à la «poolish» est expliquée par la complexité de la composition moléculaire lors de la fermentation dans le pain au levain.

a) En somme, la littérature explique que la fermentation panair alcoolique, présente dans les deux sortes de pain, donne comme produit du  $\text{CO}_2$ , de l'éthanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ), des aldéhydes, des cétones et des alcools sapides et aromatiques. Les différentes molécules possibles sont en outre le 3-hydroxy-2-butanone ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ), le 3-méthyl-1-butanol ( $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_2$ ) et le 2-phényléthanol ( $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}$ ). Ni leurs propriétés et leurs caractéristiques physico-chimiques n'ont pas été recherchées ni leurs origines chimiques exactes, puisque ces molécules se trouvent dans les deux pains et donc, elles ne répondent pas aux différences entre ces pains. Par contre, exclusivement dans le pain au levain, la littérature rapporte la présence d'aldéhydes mono- et poly-insaturés, des alcools primaires comme le pentanol et l'alcool benzylique, des alcools supérieures, des succinates et des esters aromatiques. Il est à ajouter que les trois premiers produits, cités ci-haut, trouvent leurs origines dans l'oxydation des lipides. Donc, la description exacte de leurs provenances chimiques ne pourra pas être explorées, parce que nos observations se réduisent aux glucides. Toutefois, les propriétés et les caractéristiques physico-chimiques de toutes ces molécules n'ont pas été recherchées. Il sera possible d'approfondir plus particulièrement ce sujet en contactant Lallemand.

b) La question suivante était de se demander d'où provenaient les produits supplémentaires présents dans le pain au levain. Ainsi, il a été découvert que la biodiversité et la densité des microorganismes dans le levain sont de loin supérieures.

En effet, dans le pain à la «poolish», les boulangers utilisent une levure industrialisée qui est l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*, une levure aérobie facultative. Donc, cette espèce exécute la fermentation alcoolique, même en milieu oxygéné. Le produit principal de cette fermentation est l'éthanol et le  $\text{CO}_2$ . Il existe une seule voie métabolique pour synthétiser l'éthanol. Cela débute par la transformation du glucose ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) en acide pyruvique ( $\text{CH}_3\text{COCOOH}$ ). Ce processus passe par environ huit réactions qui nécessite autant d'enzyme et qui se nomme glycolyse. Par la suite, l'acide pyruvique devient de l'éthanal (aussi appelé acétaldéhyde ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ )) catalysé par l'enzyme pyruvate décarboxylase. L'éthanal se convertit finalement en éthanol. De plus, la complexité du métabolisme de cette levure et ses multiples enzymes transforment et fabriquent un grand nombre de composés : des esters, aldéhydes, glycérol, etc. qui modifient les caractéristiques organoleptiques du pain. Pourtant, leurs origines biochimiques n'ont pas pu être identifiées.

Par contre, dans le pain au levain, on indique, en plus de la présence de *Saccharomyces cerevisiae*, la présence de bactéries du genre et espèce *Lactobacillus plantarum*, *brevis*, *sanfrancisco*, *cotyneformis*, *casei* et *farciminis*; *Leuconostoc mesenteroides* et *Pediococcus acidilactici* et *pentosaceus*. Le mode de vie et l'anatomie de ces bactéries n'ont pas encore été explorés dans tous ces détails, mais nous savons que les bactéries énumérées ci-haut sont du type lactiques homofermentaires ou hétérofermentaires. Les bactéries lactiques homofermentaire se caractérisent par l'utilisation de la fermentation lactique pour l'extraction de l'énergie nécessaire à leur métabolisme et, quant à eux, les bactéries lactiques hétérofermentaires se caractérisent par la production notable d'acide acétique, d'éthanol et de CO<sub>2</sub> et de d'autres produits (acétaldéhyde, acétoïne, diacétyle, etc.) dont leurs présences contribuent à la saveur caractéristique du pain au levain. Encore une fois, les origines biochimiques exactes de ces produits n'ont pas été cernées.

Tout de même, cette indication conduit à la différence biochimique majeure entre le pain au levain et le pain à la «poolish» : la microflore du pain au levain exécute des fermentations alcoolique, lactique et acétique, tandis que le pain à la «poolish» exécute uniquement la fermentation alcoolique.

Pour la fermentation lactique, le processus débute de la même manière que pour la fermentation alcoolique, soit par la production d'acide pyruvique dans la glycolyse qui deviendra, ensuite, l'acide lactique (CH<sub>3</sub>CHOHCOOH) catalysé par l'enzyme lactico-déshydrogénase qui se trouve naturellement présent dans plusieurs organes (reins, cœur, muscle, foie et poumon). L'acide lactique est un acide faible de pKa=3,90, possédant deux stéréoisomères et dont le mélange racémique possède les caractéristiques suivantes :

$$T_{eb}=122\text{ °C}, \quad \rho=1,2060^{21}\text{ g/cm}^3 \quad n=1,4392^{20}$$

Pour la fermentation acétique, le processus débute aussi par la glycolyse. Par la suite, une enzyme catalyse l'acide pyruvique en acétyl-CoA. Finalement, La réaction peut prendre deux chemins différents selon les enzymes localement présents, soit l'acétyl-CoA devient de l'acide acétique, soit il devient de l'éthanol. Le produit final est, bien sûr, l'acide acétique (CH<sub>3</sub>COOH) qui est aussi un acide faible de pKa=4,8 dont les caractéristiques physiques sont :

$$T_{eb}=117,9\text{ °C} \quad \rho=1,0446^{25}\text{ g/cm}^3 \quad n=1,3720^{20}$$

En fait, la présence de ces molécules uniquement dans le pain au levain serait la différence fondamentale au niveau du goût entre le pain à la «poolish» et le pain au levain. Néanmoins, il n'a pas encore été possible d'identifier l'origine chimique des autres types de molécules identifiés plus haut (des alcools supérieures, des succinate et des esters aromatiques).

Encore en comparaison avec les deux pains, la microflore se développe naturellement dans le levain, ce qui conduit à une biodiversité de 50 à 100 fois supérieurs à celle de la levure fraîche qui possède de huit à dix milliards de cellules vivantes par gramme.

c) Les autres molécules aromatiques du pain produites par les bactéries lactiques hétérofermentaires dont il a été question dans le suivi 1 (acétoïne, diacétyle, acétaldéhyde) ont été analysées plus en détail. Pour la formation d'acétoïne (CH<sub>3</sub>-COCHOH-CH<sub>3</sub>), la réaction générale est pyruvate → acétoïne + CO<sub>2</sub>. Dans cette réaction, il se forme un intermédiaire, l'acide α-acétolactique (CH<sub>3</sub>-CO-COCH<sub>3</sub>-COOH), duquel les bactéries enlèvent le groupement carboxyle pour donner l'acétoïne. De plus, l'acétoïne se trouve en équilibre avec un alcool inférieur en présence d'une déshydrogénase : acétoïne + DPNH + H<sup>+</sup> → 2,3-butènediol + DPN<sup>+</sup>. De la même manière, l'acétaldéhyde (CH<sub>3</sub>COH) est un intermédiaire de

réaction en équilibre lors des processus fermentaires des bactéries hétérofermentaires et de la fermentation alcoolique.

## Conservation du pain

La théorie montre comment le pH a un impact sur la conservation du pain. En effet, la plus grande acidité du pain au levain, prouvé tant en laboratoire que par la théorie, empêche les microorganismes de décomposer ce pain rapidement. Les acides lactiques et acétiques principalement sont ainsi responsables de l'acidité du pain au levain (pH entre 4,0 et 5,0). Sachant que le pain à «poolish» n'est pas très acide (pH entre 5,5 et 6), il est possible de dire que ce premier représente un milieu plus propice au développement des microorganismes responsables de la décomposition du pain. Il est intéressant de constater que le pain au levain est près de 15 fois plus acide que le pain à la «poolish». Enfin, il existe trois facteurs qui expliquent pourquoi le pain au levain se conserve plus longtemps. Premièrement, l'acidification du milieu par les bactéries lactiques (abaissement du pH, salinité, déshydratation du milieu) réduit l'éventail de possibilité des microbes, du genre moisissure, pouvant s'y développer. Deuxièmement, La compétition nutritionnelle due à plus grande biodiversité empêche l'instauration de microbes pathogènes dans le milieu. Troisièmement, les bactéries lactiques sécrètent des produits antimicrobiens qui empêchent leurs développement dans le pain au levain. Ces produits sont, en outre, du peroxyde, de la nisine (par certains *Lactobacillus*), des acides organiques (maltique, citrique, lactique, acétique, ect.) et du diacétyle. Dans un même ordre d'idées, une hypothèse s'est posé pour essayer d'expliquer cette meilleure conservation et elle sera partiellement validé dans la conclusion.

## L'alvéolage

Premièrement, l'alvéolage provient de l'emprisonnement du gaz carbonique de la fermentation de certains organismes dans le complexe de gluten. Ce phénomène est d'autant plus amplifié lors de la cuisson, puisque la solubilité du CO<sub>2</sub> dans les différents composés du pain diminue, la dilatation thermique de ce gaz s'effectue et la cuisson fixe l'alvéolage final. Deuxièmement, dû à la plus grande biodiversité dans le pain au levain face au pain à la «poolish», l'alvéolage est plus irrégulier dans ce premier. La cause de ce fait provient de la formation de colonies dans la pâte de levain pendant la fermentation panair. En effet, il y a deux facteurs qui expliquent la formation de colonies : la compétition nutritionnelle et les conditions du milieu local. D'abord, chaque espèces d'organismes se livrent une compétition pour les nutriments présents dans la pâte. Puis, les organismes à fermentation alcoolique inhibent les autres bactéries par accumulation d'alcool localement et vice-versa les bactéries à fermentation lactique et acétique inhibent les organismes qui résistent mal à l'acidification du milieu. Ainsi, il se crée localement différentes colonies de microorganismes qui correspondent aux besoins et résistances de cette colonie. Conséquemment, les localités où les colonies font une fermentation sans dégagement gazeux (lactique) ne créent pas d'alvéolage. Tandis que, les localités où les colonies font une fermentation avec dégagement gazeux (acétique et alcoolique) créer un alvéolage plus intense. Donc, l'homogénéité des organismes dans la pâte régulière crée une uniformisation de l'alvéolage, par opposition au pain au levain où les alvéoles sont plus irrégulières dues à la formation de colonies.

## L'acidité

Les bactéries lactiques du levain consomment le glucose par fermentation lactique. Ils produisent ainsi de l'acide lactique. Il y a deux types de fermentations lactiques :

homolactiques et hétérolactiques. Les bactéries font soit de la fermentation homolactique, soit de la fermentation hétérolactique. Dans le premier cas, le glucose est dégradé en lactate, pour ensuite devenir de l'acide lactique, tandis que dans le deuxième cas, le glucose est transformé en acide lactique ou en pentose, puis le pentose est transformé en acide acétique et en éthanol. Dépendant des conditions, les bactéries qui font de la fermentation hétérolactique transforment le glucose en différentes proportions de pentose par rapport à l'acide lactique, ce qui influence l'acidité. Dans le pain à la «poolish», il n'y a que des levures, et elles ne font que de la fermentation alcoolique. La fermentation alcoolique ne produit pas d'acide. Elle produit plutôt de l'éthanol et du gaz carbonique, encore à partir du glucose.

## Le volume du pain

La panification donne le volume au pain. La panification est le procédé pour faire lever le pain, donc d'augmenter le volume du pain. La panification par le levain et la panification par ajout de levure en solution (pain à la «poolish») font les deux lever le pain par la production de dioxyde de carbone par les levures, les *Saccharomyces cerevisiae*. La quantité de dioxyde de carbone produite n'est pas la même, car dans la panification par ajout de levure, la quantité de levure ajoutée dépasse celle qu'il y a dans le levain à n'importe quel moment de la panification. De plus, les levures sont en compétition avec les bactéries lactiques pour consommer le glucose. Ainsi, la pâte à la «poolish» lève beaucoup plus rapidement. De plus, le pain à la «poolish» est moins élastique que le pain au levain, car le dioxyde de carbone à l'intérieur du pain étire plus la pâte. Le gluten est une protéine qui forme un réseau viscoélastique, c'est-à-dire qu'il est la substance élastique du pain.

## **La saveur**

### ***Expérimentations***

#### **Dégustations**

a) La saveur du pain au levain a été évalué le lundi 26 février 2007. Le pain avait été fraîchement fait la veille et le levain entretenu pendant une semaine. L'échantillon des goûteurs se dénombrait à une dizaine de personnes, soit : soit le professeur de biologie, la technicienne, les autres élèves de la classe et nous-mêmes. L'idée générale ressortit de cette expérimentation est que le pain possède un goût peu salé et acidulé, mais qu'en général la saveur est forte.

De son côté, le pain à la «poolish» était aussi frais que le pain au levain et les évaluateurs sont les mêmes. La saveur de ce pain a été décrite comme plus fade, moins forte et possédant un arrière-goût âcre, mais la saveur générale était appréciable. Aucun goûteur n'a dénoté l'arôme de noisette décrite dans le *tableau 1*. Par ailleurs, les évaluateurs dénotent aussi un manque de sel à l'aliment, sauf que, dans le cadre de l'évaluation, il a été mentionné que nous nous en tiendrons au pain sans additif pour pouvoir les comparer sur une même base, donc il n'y aura pas d'ajout à ce niveau.

Donc, la différence théorique ayant été observée étant le goût plus acidulé dans le pain au levain et le goût léger noisette dans le pain à la «poolish», le goût acidulé a été identifier par les évaluateurs, tandis que le goût noisette ne l'a pas été. De façon générale, il s'agissait d'identifier le goût acidulé du pain au levain et ceci a été confirmé par cette expérimentation.

b) Suite aux découvertes faites dans la littérature, l'équipe a effectué d'autre expérimentation. D'abord, il s'agissait de voir si la biodiversité du pain au levain était supérieur à celle du pain

à la «poolish». Pour ce faire, il a fallu mettre en gélose les microorganismes du levain et des levures industrielles dilués, au préalable, dans de l'eau tiède pour la réactivation. Il a été possible de conclure, après avoir étudié les trois géloses mises en culture (une pour la levure de pain à la «poolish», une pour le levain maison et une pour la pâte de levain du boulanger), que le levain contenait une biodiversité beaucoup plus importante. En effet, nous avons compté environ 15 types de colonies différentes dans le levain comparé à 3 dans la levure de pain à la «poolish» et 5 dans la pâte de levain du boulanger qui était faite à base d'un levain industriel (Annexe 1). Ce qui démontre une bien plus grande biodiversité dans le pain au levain si on considère qu'il est tout à fait possible qu'il y ait des colonies invisibles à l'œil nu ou tout simplement que certains microorganismes, présents au départ dans le levain, n'ont pas réussi à s'installer correctement sur la gélose pour de multiples raisons (compétition, milieu impropre à leur croissance et reproduction, température, etc.) De plus ces résultats montrent que la levure industrielle présente trois types de colonies, ce qui laisse croire que la *Saccharomyces cerevisiae* ne travaille pas toute seule... Finalement, la pâte de levain du boulanger, qui sert de comparatif pour le levain fait maison, présente une bien plus petite biodiversité. Ainsi, ce qu'on appelle le levain fait industriel présente plus de biodiversité que la levure industrielle, mais cette première ne se compare pas à celle du levain fait maison.

c) Finalement, il serait utile de démontrer expérimentalement la différence de goût entre le pain à la «poolish» et le pain au levain. Rien n'a encore été fait, mais plusieurs idées ont été proposées. Une de ces idées était d'amener le pain à la «poolish» à goûter le pain au levain par ajout direct de molécules chimiques. Dans l'hypothèse que la différence majeure est la présence d'acide lactique et acétique dans le pain au levain, il suffirait d'ajouter ces deux acides à une étape quelconque du processus de conception du pain à la «poolish» et de constater si ce pain, une fois cuit, a un goût similaire à celui du pain au levain.

Pour obtenir l'acide acétique, il serait possible de faire intervenir des processus biologiques et chimiques. Dans la littérature, un genre particulier de bactérie, *Acetobacter* qui est un type d'organisme extrêmement aérophile, synthétise de l'acide acétique à partir de l'éthanol. En fait, l'acide acétique n'est qu'un intermédiaire de leur réaction métabolique qui conduit en bout de ligne à du gaz carbonique et de l'eau. Or, en prenant n'importe quel produit possédant de l'éthanol (exemple : bière), en plaçant ce produit en présence d'*Acetobacter* et en surveillant l'évolution du pH, il serait possible d'arrêter la réaction à n'importe quel moment où le pH est à son plus bas (lorsque l'acide acétique est en plus grande quantité) en coupant l'accès d'oxygène et par la suite à faire une extraction classique de l'acide. Les possibilités d'extraction n'ont pas encore été explorées, mais nous explorerons cette voie plus en détail.

Pour obtenir l'acide lactique, il suffirait de prendre des bactéries lactiques homofermentaires, de les placer dans un milieu propice à la fermentation lactique et d'extraire l'acide lactique du milieu. Encore une fois, les possibilités d'extraction n'ont pas encore été explorées, mais d'autres recherches seront effectuées.

d) Une autre de ces idées était de simplement prouver la présence d'acide acétique et lactique dans le pain au levain à l'aide de kits enzymatiques. L'extraction d'acide lactique n'a pas encore été commencée, nous attendons toujours la réception de la bactérie *Lactobacillus*.

## **Préparation d'un pain avec des ingrédients produits par des microorganismes : Principe**

Le but de l'expérience est d'ajouter à la pâte à la «poolish» avant la cuisson, contenant seulement des levures, les produits des fermentations lactiques qui se retrouvent dans le pain au levain pour déterminer leur impact sur l'arôme du pain au levain. Le pain produit devrait avoir un goût très semblable au pain au levain. Le pain produit par l'expérience aura la même composition que le pain au levain, les arômes en moins.

Les substances seront produites par des bactéries, de sorte qu'on peut les associer à la production de substances produites.

Dans la première phase de l'expérience, on utilise des acétobacters aceti, des bactéries, pour produire de l'acide acétique à partir de l'éthanol en milieu oxygéné. Ils font ce qu'on appelle de la fermentation acétique, qui est plutôt une oxydation. La bière est une source d'éthanol valable pour ces bactéries. En absence, d'éthanol, ils oxydent ensuite l'acétate en dioxyde de carbone et en eau. Ils forment du même coup, une couche mince, irisé, et d'un blanc mat à la surface du liquide. Il faut alors arrêter l'apport d'oxygène pour pouvoir recueillir le maximum d'acide acétique. De plus, il devrait y avoir augmentation du pH, car la transformation de l'acide acétique en dioxyde de carbone abaisse le pH. En effet, le dioxyde de carbone soluble dans l'eau devient de l'acide carbonique, mais il a une constante de dissociation ( $pK_a=6,90$ ) plus élevé que celle de l'acide acétique ( $pK_a=4,76$ ) Ainsi, on peut connaître à l'aide d'un pH mètre le moment d'arrêter l'oxydation. Ensuite, on extrait l'acide acétique par distillation.

Dans la deuxième phase de l'expérience, on utilise des bactéries du genre lactobacillus pour produire de l'acide lactique. Ce sont des souches qui font de la fermentation hétérolactique.

→ L'expérience impliquant Acétobacter Aceti est en cours. plus de détails seront données dans le rapport final.

→ Aujourd'hui même, nous commençons la détection d'acide acétique par voie enzymatique dans le pain au levain. Aucun cadre théorique n'a été élaboré pour l'instant. Cette expérience avec celle présenté plus haut servira à déterminer dans quelle proportion la microflore du levain produit de l'éthanol, de l'acide acétique et de l'acide lactique. Ce laboratoire sera étalé en détail lors du rapport final.

→ L'extraction d'acide lactique n'a pas encore été commencée, nous attendons toujours la réception de la bactérie lactobacillus.

## **Pouvoir d'imbibition**

Cette caractéristique organoleptique des pains n'a pas encore été l'objet d'une expérimentation dans le cadre de ce projet

## **Conservation du pain**

### ***Hypothèse***

La biodiversité du pain au levain décomposent et digèrent énormément les nutriments de la pâte, avant cuisson, du pain au levain. Or, la pâte de levain possède énormément de matière métabolisée et synthétisée; nourriture de la biodiversité propre au levain. Ceci fait en sorte

que les autres microorganismes responsables de la décomposition du pain qui ont évolué d'une façon telle qu'il décompose mieux la farine brute composé de nutriments primaires, font face, dans le pain au levain, où beaucoup des molécules ont déjà été métabolisées. Donc, les microorganismes responsables de la décomposition doivent se donner une période indéterminée d'adaptation à ce milieu particulier. Ainsi, durant cette période, ils ne peuvent que s'alimenter du petit reste des nutriments primaires n'ayant pas été métabolisés par la biodiversité du pain au levain (puisque nous pensons qu'une grande partie a été métabolisée par la biodiversité du pain au levain et qu'il ne reste qu'une petite quantité de nutriments primaires). Ainsi, le processus de pourrissement prend d'avantage de temps.

## **Expérimentation**

Nous avons fait une expérience bien simple. Cette expérience consistait de laisser un échantillon de chaque type de pain («poolish» et levain) se décomposer. Il est important de mentionner que les deux échantillons ont été mis dans des sacs de plastique étanches afin d'éviter la déshydratation du milieu. Les résultats sont concluants; le pain au levain a pris une semaine avant qu'il y ait la présence des premières moisissures tandis que le pain à la «poolish» n'a pris que 3 jours. Bref, le pain au levain prend plus de deux fois plus de temps à commencer à moisir. Les expériences de l'acidité des pain (après cuisson) et de la pâte (avant cuisson) peuvent aussi être des indices important concernant la conservation des pain. Leur implication sera expliquée plus en détail dans la conclusion qui suit.

→ Il n'y aura pas d'exploration plus en profondeur, au niveau expérimental, sur la conservation du pain.

## **Conclusion**

Il est maintenant possible d'approuver une partie des hypothèses. Il est vrai que le pain au levain possède une plus grande biodiversité de microorganismes que le pain à la «poolish». Ainsi, cette biodiversité de levures et bactéries qui cohabitent dans le même milieu cherche à se protéger et à créer un milieu hostile pour les intrus. Par conséquent, les microorganismes fabriquent, par exemple, des acides (acide lactique et acide acétique principalement) pour diminuer le pH et produisent des anti-biotiques. Comme mentionné auparavant, le faible pH du levain créer une barrière de protection contre les intrus, qu'on pourrait appeler de barrière de protection primaire. D'un autre côté, les anti-biotiques produits par les êtres du levain qui attaques les intrus voulant s'établir dans le levain sont plus spécifiques et pourrait considérés de barrière de protection secondaire. Les expériences de mesures de l'acidité des deux type de pain ont démontré que les pH des pain restaient constant avant et après la cuisson. Ainsi, il est possible de conclure à ce sujet que l'acidité créée dans le levain est conservée dans le pain cuit et par conséquent ce dernier possède la propriété d'être un milieu impropice au développement de microorganismes étrangers.

## **La croûte**

Nous n'aborderons pas ce sujet, ni au niveau théorique ni au niveau expérimentale, dans le cadre de ce projet, puisqu'il implique le processus de cuisson du pain, ce que nous ne nous intéressons pas dans le cours.

## L'alvéolage

### **Expérience**

Après avoir cuisiné les deux types de pain artisanalement (dans des conditions que nous contrôlons) il a été possible de voir, lors de l'analyse interne, que l'alvéolage était beaucoup plus irrégulier dans le pain au levain.

## L'acidité

### **Expérimentation**

Nous suivons un protocole provenant du *Manuel suisse des denrées alimentaires* pour mesurer l'acidité des deux types de pain. Le but de l'expérience est de prouver qu'il y a plus d'acide dans le pain au levain que dans le pain à la «poolish». Pour prouver cette caractéristique du pain au levain comparativement au pain à la poolish, on fait un test de pH à l'aide du pH mètre. On dilue le pain ou la pâte dans un volume mesuré d'eau, qui doit être entre 40 et 90 ml, puis on prend la mesure du pH lorsqu'on aura jugé que le pain est assez dissout. La dissociation ne se fait pas instantanément car le gluten n'est pas soluble dans l'eau et il réduit l'aire de contact entre les substances solubles et l'eau.

Pour mesurer la quantité d'acide dans le pain, on procède à un dosage potentiométrique avec comme indicateur le rouge de phénol. Sinon, on utilise le pH mètre et on cherche à atteindre un pH de 8,5 en ajoutant une base forte de concentration connue. Le pH atteint, on trouve la quantité d'acide dans le pain en faisant à partir du volume de base ajouté et appliquer la formule  $C_a V_a = C_b V_b$ .

### **Conclusion**

Il est possible de conclure que le pain au levain possédait beaucoup de moles d'acide pour 10 g de mie que le pain à la «poolish». En fait, le pain au levain contient 15 fois plus de moles d'acides que le pain à la «poolish». Nous avons également, comme mentionnée dans la section «conservation du pain», que le pH reste constant avant et après la cuisson; ceci nous indique qu'il y a de fortes chances que les acides lactiques et acétiques ne sont pas détruits durant la cuisson.

## Le volume du pain

### **Expérimentation**

En mesurant la quantité de CO<sub>2</sub> dégagée à partir d'un montage utilisant des pâtes de même quantité de farine et de même viscosité, une pâte pour chaque type de pain, nous pourrions quantifier la différence de volume de pain (ou pâte) entre les deux pains pour un certain temps donné et pour une température constante. Cependant, si la présence de gluten dans la pâte empêche la mesure du dégagement de dioxyde de carbone produit (étant emprisonné par le gluten, et donc non mesurable), les résultats de l'expérience risquent d'être faux. Heureusement, en mesurant le changement de volume du pain entre le pétrissage et la cuisson à partir d'une simple immersion dans de l'eau (avec sac de plastique enrobant la pâte pour empêcher l'entrée d'eau), il est possible de à nouveau de quantifier la différence de volume

entre les deux pâtes. Cependant, il faut faire attention de ne pas écraser les pâtes pour éviter d'évacuer le dioxyde de carbone de celle-ci. Bref, Pour les deux sortes de pâte, il s'agit de monter un système à burette inverse relié à un milieu fermé sucré où la microflore de chacune des pâtes est en processus de fermentation. Ainsi on pouvait mesurer le volume de CO<sub>2</sub> dégagé par les organismes en présence en fonction du temps et en dégager la vitesse de dégagement en mole/min d'après  $P*V=n*R*T$ .

## **Conclusion**

Le but était de déterminer l'activité bactérienne dans le levain et la pâte selon la vitesse de fermentation. Or, l'analyse de l'expérience est encore en cours à l'heure actuelle, mais il a été déterminé que la vitesse de fermentation de la pâte **en ml de CO<sub>2</sub> / min** est de  $(1,3 \pm 0,2) * 10^{-2}$  ml/min, tandis que pour le levain, cette vitesse est de  $(7,7 \pm 0,2) * 10^{-2}$  ml/min. Soit environ 6 fois plus rapide. Par contre, ces données numériques ne pourront qu'être utilisées à titre qualitatif et non quantitatif, parce que les bactéries ne se trouvaient pas dans leurs milieux habituels durant l'expérience (elles ont été solubilisées dans une solution de glucose). Dès lors, il est certain que les bactéries ne se sont pas développées de la même manière qu'elles ne l'auraient faites directement dans le pain. Il aurait fallu laisser les bactéries dans leurs milieux naturels, mettre la pâte dans un sac hermétiquement fermé, l'immerger dans l'eau et calculer la différence de volume pour avoir des données plus représentatives de la réalité. De toute façon, il est tout de même possible de conclure que l'activité bactérienne du pain au levain est plus forte que celle de la pâte. D'autres détails seront apportés dans le rapport final.

## Bibliographie

AUTEUR. «**Titre de l'article**» dans *Biologie alimentaire*, **ville**, **édition**, **année**, p.139.

AUTEUR. *Les nouvelles de la Boulangerie Pâtisserie*, ville, édition, année, **pages**...

BOURGEOIS, C.-M. et J.-P. LÁRPEND. Microbiologie alimentaire, vol. 2, **ville**, **édition**, **année**, **pages** ...

CAMPBELL, Niel et al. *Biologie 2e édition*, Saint-Laurent, Éditions Pearson Education, 2004, 1364 p.

GARRETTET, **Prénom** et **Prénom** GRISHAN. *Biochimie*, 2<sup>e</sup> édition, Université de Boeck, Paris, 2000, 1254p. (p. 47 consultée)

JEANTET, Romain et al. *Science des aliments*, Paris, Lavoisier, 2006, 383 p.

LACASSE, Denise. «Fermentation alimentaire» dans *Introduction à la microbiologie alimentaire*, Montréal, Les éditions Saint-Martin, 1995, p. 170.

THIS, Hervé. «**Titre de l'article**» dans *Les secrets de la casserole*, **ville**, **édition**, **année**, p.169-170.

THIS, Hervé. «**Titre de l'article**» dans *Casseroles et éprouvettes*, **ville**, **édition**, **année**, p.92-93.

THURIAUX, Pierre. «**Titre de l'article**» dans *Les organismes modèles : la levure*, **ville**, **édition**, **année**, p. 81-83.

WIKIPEDIA. *Faire du pain*, s.l., 9 mars 2007, [[http://fr.wikipedia.org/wiki/Faire\\_du\\_pain](http://fr.wikipedia.org/wiki/Faire_du_pain)], (15 mars 2006), 48 ko.

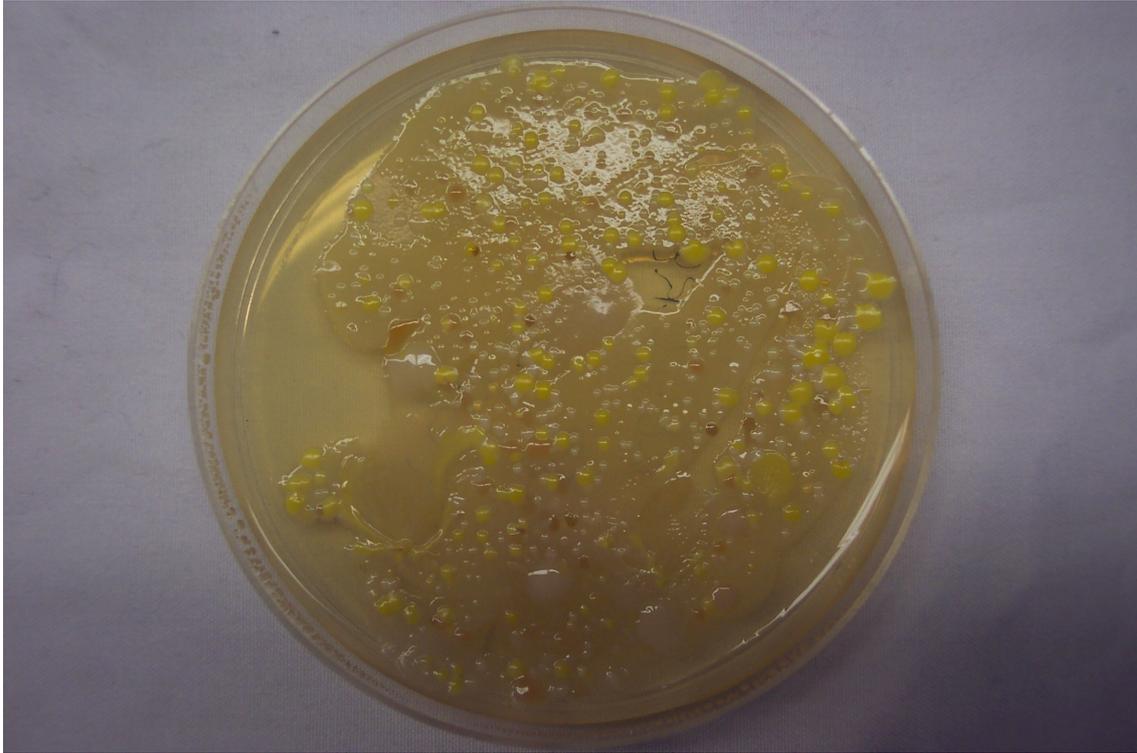
**Gras** = renseignements manquants

**Tableau 1**

Caractéristiques organoleptiques	Pain au levain	Pain à la «poolish»
	1) Saveur acidulée	Saveur légère de noisette
	2) Pouvoir d'imbibition faible	Pouvoir d'imbibition moyen
	3) Conservation du pain de longue durée	Conservation du pain de durée moyenne
	4) Croûte épaisse et colorée	Croûte jaune claire
	5) Alvéolage très irrégulier	Alvéolage irrégulier
	6) Acidité importante (pH=4,3)	Acidité faible
	7) Volume du pain faible	Volume du pain moyen

## Annexe 1

### Gélose levure commerciales



### Gélose pâte à levain du boulanger



Gélose levain

