



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



UNIVERSITÉ KASDI MERBAH – OUARGLA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Sciences Biologiques

Mémoire de Fin d'Études
Master Académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Alimentaires
Spécialité : Qualité des produits et sécurité alimentaire

Présenté par :

Mlle AMOUMENE Ferial

Mlle MANANE Hadda

Thème :

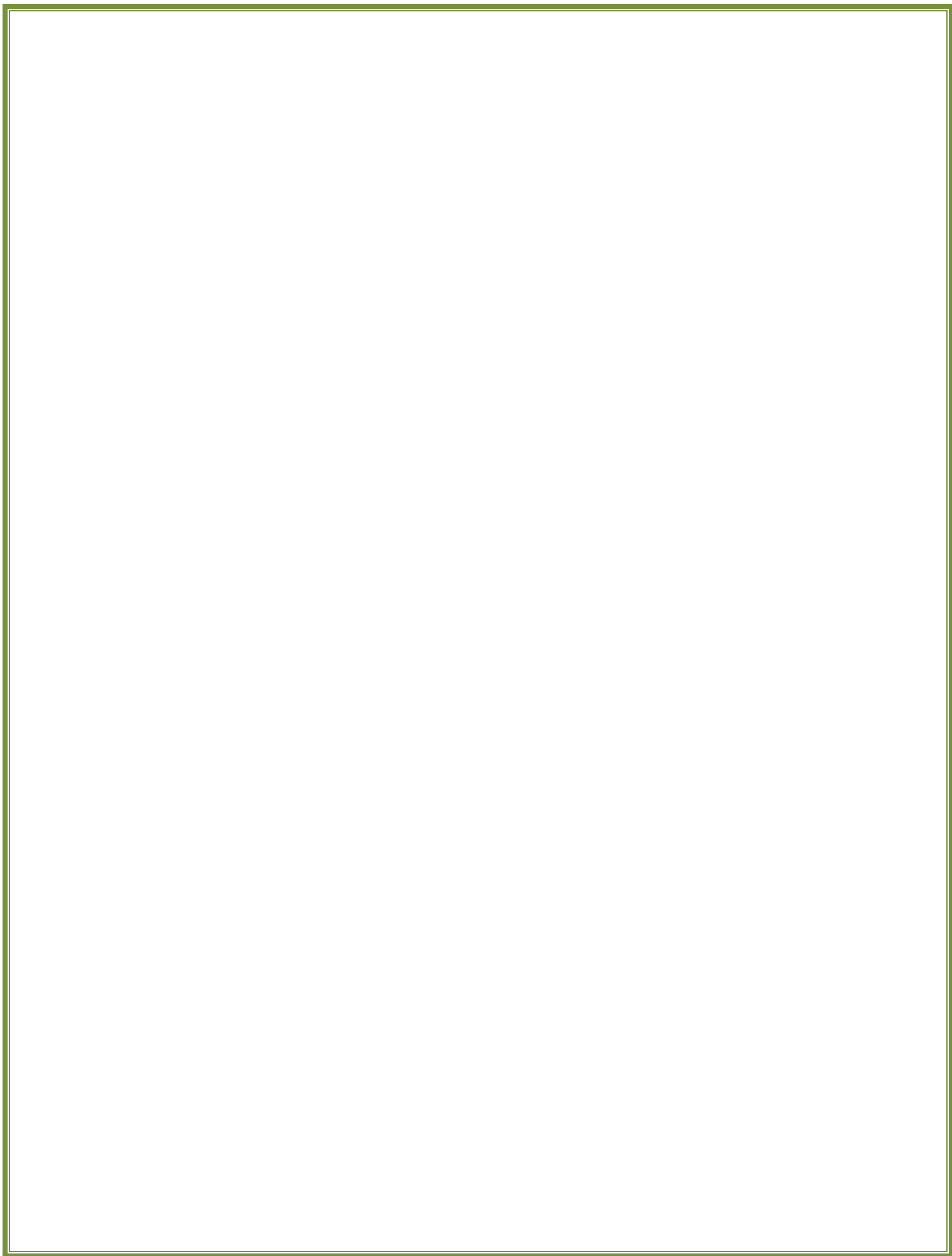
Impact de la congélation sur la valeur Nutritionnelle du pain

Soutenu publiquement le : 15/06/2026

Devant le jury :

Qualité	Nom et Prénom	Grade	Établissement
Président	MOSBAH Said	MCA	UKM Ouargla
Examineur	LACHACHE Amina	MCA	UKM Ouargla
Encadrant	BOUDJENAH HAROUN Saliha	Professeur	UKM Ouargla
Co- Encadrant	TARFAOUI Nesrine	Docteur	UKM Ouargla

Année Universitaire : 2025/2026





الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



UNIVERSITÉ KASDI MERBAH – OUARGLA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Sciences Biologiques

Mémoire de Fin d'Études
Master Académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Alimentaires
Spécialité : Qualité des produits et sécurité alimentaire

Présenté par :

Mlle AMOUMENE Feriel

Mlle MANANE Hadda

Thème :

Impact de la congélation sur la valeur Nutritionnelle du pain

Soutenu publiquement le : 15 /06/2026

Devant le jury :

Qualité	Nom et Prénom	Grade	Établissement
Président	MOSBAH Said	MCA	UKM Ouargla
Examineur	LACHACHE Amina	MCA	UKM Ouargla
Encadrant	BOUDJENAH HAROUN Saliha	Professeur	UKM Ouargla
Co- Encadrant	TARFAOUI Nesrine	Docteur	UKM Ouargla

Année Universitaire : 2025/2026

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dédicace :

Louange à Dieu, par la grâce duquel toute bonne chose s'accomplit.

À mes chers parents,

Source de tendresse et de soutien.

À mes sœurs bien-aimées,

Mes compagnes de route et mon appui de toujours.

Et à moi-même...

Qui ai veillé, peiné et persisté à atteindre mon but, sans jamais abandonner malgré les obstacles.

Je vous dédie le fruit de cet effort.

Manane Hadda



Dédicace :

Je dédie cet ouvrage à ma famille, et plus particulièrement à mes parents, pour leur amour, leur confiance, leur patience et leur soutien indéfectible. Leurs encouragements constants ont toujours été pour moi une source d'inspiration et de persévérance.

Amoumene Ferial

Remerciements :

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu Tout-Puissant de nous avoir donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à notre encadrante, Mme Boujenah Saliha Pour ses précieux conseils, son orientation scientifique, sa patience et sa grande disponibilité tout au long de ce travail de recherche.

Nos remerciements vont également à Mme Nesrine Tarfaoui

Pour son soutien et ses encouragements.

Nous remercions aussi le personnel du laboratoire,

Pour leur aide précieuse et pour avoir facilité notre travail expérimental.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Amoumene Ferial

Manane Hadda



Résumé :

La congélation constitue une méthode largement utilisée pour prolonger la durée de conservation des produits de boulangerie ; toutefois, elle peut induire des modifications affectant leur qualité globale. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'impact de la durée de congélation à -18°C sur la qualité physico-chimique, microbiologique et structurale de pains élaborés à partir de farine et de semoule. Dans Les échantillons de pain ont été soumis à différentes durées de stockage au congélateur (7 et 14 jours, puis 1, 2 et 3 mois) avant d'être décongelés et analysés. Plusieurs paramètres ont été étudiés afin de caractériser l'évolution de la qualité des produits au cours du stockage. Les analyses réalisées comprenaient la détermination de la teneur en humidité, le dénombrement de la flore bactérienne, l'évaluation de la capacité de rétention d'eau, l'observation de la microstructure par microscopie électronique à balayage (MEB), ainsi que le suivi de l'apparition des moisissures et de la perte de poids. Ces différents indicateurs ont permis d'apprécier l'effet de la congélation sur les propriétés technologiques et la stabilité microbiologique des pains. Les résultats obtenus ont montré que la teneur en humidité des échantillons ne présentait pas de variation significative en fonction de la durée de congélation, suggérant une relative stabilité de ce paramètre. En revanche, le suivi de l'apparition des moisissures a révélé une meilleure résistance du pain à base de semoule durant les périodes de congélations courtes, notamment après 7 et 14 jours de stockage. Cet avantage tendait cependant à s'estomper après 30 jours de congélation. Par ailleurs, une augmentation progressive de la vitesse de perte de poids a été observée avec l'allongement de la durée de stockage, traduisant probablement des phénomènes de migration de l'eau et de déshydratation du produit. Les observations au MEB ont également mis en évidence des modifications de la structure de la matrice amidon-protéines, plus marquées pour les durées de congélation prolongées. Dans les conditions expérimentales de cette étude, les résultats suggèrent que la durée optimale de conservation sous congélation (-18°C) des pains à base de farine ou de semoule se situe entre 7 et 14 jours. Au-delà de cette période, une détérioration progressive de la qualité microbiologique et structurale du produit a été observée, caractérisée notamment par le développement de champignons psychrotrophes et de bactéries responsables d'altérations de texture. Ces résultats soulignent l'importance de maîtriser la durée de stockage sous congélation afin de préserver au mieux la qualité et la sécurité des produits de boulangerie.

Mots-clés : Pain, semoule, farine, Congélation, Rétrogradation, amidon, décongélation.

ملخص:

يُعد التجميد طريقة مستخدمة على نطاق واسع لإطالة مدة صلاحية منتجات المخازن، ومع ذلك، يمكن أن يحدث تعديلات تؤثر على جودتها العامة.

كان هدف هذه الدراسة هو تقييم تأثير مدة التجميد عند درجة حرارة -18°C على الجودة الفيزيائية-الكيميائية والميكروبيولوجية والبنية للخبز المصنوع من الدقيق والسميد.

تم إخضاع عينات الخبز لمدد تخزين مختلفة في المجمد (7 و 14 يوماً، ثم 1 و 2 و 3 أشهر) قبل إذابتها وتحليلها. تمت دراسة عدة معايير لوصف تطور جودة المنتجات خلال التخزين. وشملت التحليلات المنجزة تحديد نسبة الرطوبة، وتعداد الفلورا البكتيرية، وتقييم قدرة بالإضافة إلى متابعة ظهور العفن وفقدان الوزن (MEB) الاحتفاظ بالماء، وملاحظة البنية المجهرية بالمجهر الإلكتروني الماسح،

سمحت هذه المؤشرات المختلفة بتقدير تأثير التجميد على الخصائص التكنولوجية والاستقرار الميكروبيولوجي للخبز. أظهرت النتائج المتحصل عليها أن نسبة الرطوبة في العينات لم تشهد أي تغير معنوي حسب مدة التجميد، مما يدل على استقرار نسبي لهذا المعامل. في

المقابل، كشف تتبع ظهور العفن عن مقاومة أفضل لخبز السميد خلال فترات التجميد القصيرة، خاصة بعد 7 و14 يومًا من التخزين. ومع ذلك، كان هذا التفوق يميل إلى الاختفاء بعد 30 يومًا من التجميد.

من ناحية أخرى، لوحظت زيادة تدريجية في معدل فقدان الوزن مع طول مدة التخزين، مما يدل على الأرجح على ظواهر هجرة الماء والجفاف في المنتج. كما أظهرت ملاحظات المجهر الإلكتروني الماسح أيضًا حدوث تعديلات في بنية مصفوفة النشا-البروتين، وكانت أكثر وضوحًا لمدد التجميد الطويلة.

في ظروف هذه الدراسة التجريبية، تشير النتائج إلى أن مدة التخزين المثلى تحت التجميد (-18°م) للخبز المصنوع من الدقيق أو السميد تقع بين 7 و14 يومًا. بعد هذه الفترة، لوحظ تدهور تدريجي في الجودة الميكروبيولوجية والبنية للمنتج، تميز خاصة بنمو الفطريات المحبة للبرودة والبكتيريا المسؤولة عن تغيرات القوام.

تؤكد هذه النتائج على أهمية التحكم في مدة التخزين تحت التجميد للحفاظ على جودة وسلامة منتجات المخازن بأفضل شكل ممكن.

الكلمات المفتاحية: خبز، سميد، دقيق، تجميد، الرجوع إلى الحالة البلورية، النشا، إذابة التجميد

Table des matières:

Basmala	
Dédicace	
Remerciements	
Résumé/ الملخص	
Tableau de matières	
Liste de Tableau	
Liste de figures	
Liste des abréviations	
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique.....	4
1.1. Généralités sur le pain:.....	5
1.1.1. Définition du pain et Valeur nutritionnelle :.....	5
1.1.2 La congélation comme méthode de conservation:.....	5
1.1.2.1. Définition de la congélation:.....	5
1.1.2.2. Types de congélation:	6
1.1.2.2.1. Congélation lente :	6
1.1.2.2.2. Congélation rapide:.....	6
1.1.2.2.3. Congélation profonde ($\leq -18^{\circ}\text{C}$)	6
1.1.3. Effets des basses températures sur les aliments:.....	6
1.1.3.1. Effets physiques:.....	6
1.1.3.2. Effets chimiques:.....	7
1.1.3.3 Effets microbiologiques:	7
1.1.3.4. Effets sensoriels:	7
1.1.4. Effet de la congélation sur l'amidon du pain:	7
1.1.4.1. Concept de l'amidon dans le pain:.....	7
1.1.4.2. Modifications structurales de l'amidon lors de la congélation du pain :	8
1.1.4.2.1. Formation des cristaux de glace et effet mécanique:	8
1.1.4.2.2. Réorganisation moléculaire (Rétrogradation) :	8
1.1.4.2.3 Conséquences scientifiques des modifications de l'amidon:.....	8
1.1.4.2.3.1. Modifications microscopiques :	8
1.1.4.2.3.2. Modifications des propriétés thermiques :	9
1.1.4.2.3.3. Impact sur la digestibilité et la valeur nutritionnelle :	9
Chapitre 2 : Matériels et Méthodes	10
2.1. Préparation des échantillons de pain:.....	11
2.2. Décongélation des échantillons :.....	11
2.3. Analyses Physicochimiques:.....	11

2.3.1. Teneur en humidité du pain:	11
2.3.2. La Capacité de rétention d'eau (CRE) :.....	12
2.3.3. Suivi de la variation du poids du pain durant le stockage à différentes durées :	12
2.3.4. Rétrogradation de l'amidon (ΔH) du pain :	12
2.4. Microbiologiques du pain :	13
2.4.1. Charge microbienne du pain :	13
2.4.2.Évaluation du développement des moisissures dans le pain durant le stockage :.....	13
2.5. Analyse biochimique :	14
Aptitude à la digestion — Dosage des sucres libérés par l' α -amylase :.....	14
2.6. Microscopie Electronique à Balayage (MEB) du pain :	14
Chapitre 03 : Résultat et discussion	16
1/Résultats.....	17
1.1. Analyses Physicochimiques :.....	17
1.1.1. Teneur en humidité du pain:	17
1.1.2. Capacité de rétention d'eau :	18
1.1.3. Suivi de la variation du poids du pain décongelé et entreposé :	19
1.1.4. Rétrogradation de l'amidon (ΔH) du pain:	20
1.2. Microbiologiques du pain:	20
1.2.1. Charge microbienne du pain:	20
1.2.2.Évaluation du développement des moisissures dans le pain durant le stockage :.....	28
1.2.2.Évaluation du développement des moisissures dans le pain durant le stockage :..	Error! Bookmark not defined.
Analyse bio chimique :	29
Aptitude à la digestion — Dosage des sucres libérés par l' α -amylase :.....	30
1.4. Microscopie Electronique à Balayage (MEB) du pain :	30
2.1. Discussion des résultats Teneur du pain en humidité :	31
2.2. Rétention de l'eau du pain :	32
2.3. Discussion scientifique des résultats : Suivi de la variation du poids du pain durant le stockage à différentes durées :	33
2.4. La rétrogradation de l'amidon (ΔH):	33
2.5. Discussion de l'effet de la congélation sur la charge microbienne du pain de semoule et farine:	33
2.6. Discussion scientifique des résultats de moisissures dans le pain durant le stockage :	34
2.7. Aptitude à la digestion — Dosage des sucres libérés par l' α -amylase :	35
2.8. Microscopie Electronique à Balayage (MEB) du pain :	35
Conclusion	42
Recommandation :	45
Référence bibliographique :	46

Liste de tableau

Tableau 1 Capacité de rétention d'eau	18
Tableau 2 suivi de la variation de poids du décongelé et entrepose	19
Tableau3 type de pain semoule	20
Tableau 4 type de pain farine :	24
Tableau 5 Rapporte le délai d'apparition des moisissures sur les échantillons de pain décongelé durant l'entreposage	

Liste de figure

Figure. 1 Teneur en humidité du pain.....	17
Figure 2 Capacité de rétention d'eau.....	18
Figure 3 Cinétique d'évolution de la population microbienne majeure du pain de semoule au cours d'un stockage par congélation à - 18°C.....	23
Figure 4 Cinétique d'évolution des populations microbiennes majeures du pain de farine de blé tendre au cours d'un stockage par congélation à -18°C.....	28
Figure 5 Résultats du MEB pour le pain Farine selon différentes durée de stockage.....	58
Figure 6 Résultats du MEB pour le pain semoule selon différentes durée de stockage.....	58

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
UFC	Unités Formant Colonies
Aw	l'Activité de l'eau
PSF	Pain semoule frais
PFF	Pain farine frais
PSC	Pain semoule congelé
PFC	Pain farine congelé
CRE	Capacité de rétention d'eau
MO	Les Micro-organismes
MEB	La Microscopie Electronique à Balayage
SEM	Scanning Electron Microscopy
EDS	Spectroscopie de dispersion d'énergie des rayons X
CDB	Calorimétrie Différentielle à Balayage
Q1	Quantité
Q2	Qualité
F	Farine
S	Semoule
J0	Valeurs initiales
J1	premier jour
J2	deuxième jour
J4	quatrième jour
J7	septième jour
H1, H2, H3	Hypothèses

Introduction générale

Le pain est l'un des plus vieux aliments connus par l'humanité. Son introduction s'est fait dans le Néolithique, en parallèle du développement de l'agriculture et de la domestication des céréales. Des preuves archéologiques attestent de la consommation de produits proches du pain depuis 14 000 avant notre ère. Des vestiges de pains plats réalisés à partir de céréales sauvages broyées et cuits sur des pierres chauffées ont été effectivement retrouvés dans plusieurs sites archéologiques du Levant **(Rubel, 2011)**.

Avec l'apparition de l'agriculture organisée, il y a environ 10 000 ans, la fabrication du pain a peu à peu évolué avec la culture du blé et de l'orge. La civilisation égyptienne antique a joué un rôle majeur dans l'évolution de la panification vers 3000 à 4000 ans avant J.-C. Les Égyptiens sont généralement considérés comme les premiers à avoir maîtrisé la fermentation naturelle de la pâte grâce à l'action des levures, permettant ainsi l'obtention d'un pain plus volumineux et plus moelleux que les pains non fermentés **(McGee, 2004)**. Ensuite, les techniques de fabrication du pain se sont répandues dans les civilisations grecque et romaine, ce qui a permis d'améliorer les procédés de mouture et de cuisson et de perfectionner les fours de boulangerie. Au fil des siècles, le pain est devenu un aliment de base dans l'alimentation de nombreuses populations dans le monde. Son système de production a toujours évolué avec l'introduction de technologies modernes de transformation, de conservation et de stockage **(FAO, 1995)**.

Le pain est l'un des aliments les plus consommés au monde et tient une place centrale dans le régime alimentaire algérien, où il constitue l'aliment de base de la famille. Il apporte des glucides complexes, des fibres alimentaires, des protéines, des vitamines du groupe B et des minéraux essentiels. La valeur nutritionnelle dépend du type de farine employée, les pains complets étant les plus riches en micronutriments.

Dans le contexte de la vie moderne, la congélation est devenue une pratique répandue dans l'industrie boulangère et au sein des ménages algériens. Elle permet d'allonger la durée de vie du pain sur de longues périodes pouvant aller jusqu'à plusieurs mois, et de réduire considérablement le gaspillage alimentaire. Par ailleurs, la diversification des matières premières, notamment l'utilisation de la farine de blé tendre et de la semoule de blé dur, est une pratique courante dans les boulangeries traditionnelles et industrielles algériennes.

Compte tenu de la place nutritionnelle du pain et de l'utilisation de plus en plus courante de la congélation pour une conservation prolongée, étudier l'impact de ce stockage par congélation sur les qualités de pains à partir de matières premières diverses devient une nécessité scientifique et économique majeure pour les consommateurs et les professionnels.

Toutefois, la congélation et la conservation prolongée provoquent des altérations importantes du point de vue structural et biochimique dans la matrice du pain. Pendant le stockage, la formation et le développement des cristaux de glace altèrent le réseau du gluten et transforment les caractéristiques de l'amidon, surtout par le mécanisme de rétrogradation.

Ainsi, la question centrale de cette recherche porte sur l'impact du stockage par congélation sur une période maximale de 90 jours sur les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques de pains à base de farine de blé tendre et de semoule de blé dur, après décongélation à température ambiante. Le pain à base de farine se comporte-t-il

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

différemment du pain à base de semoule lors d'un stockage par congélation prolongée ?

Pour répondre à cette problématique, la présente étude s'est donné les objectifs suivants:

1. Étude comparative de l'effet de la conservation par congélation sur une durée de 90 jours sur les propriétés physico-chimiques (humidité, activité de l'eau) de deux types de pain : pain à base de farine de blé tendre à 100% et pain à base de semoule de blé dur à 100%
2. Suivre l'évolution microbiologique de la flore aérobie mésophile totale, des levures et des moisissures des deux types de pain pendant leur conservation à l'état congelé.
3. Étudier le phénomène de rétrogradation de l'amidon et l'influence de la durée de conservation sur la structure de l'amidon dans les deux formulations.

Afin de guider ce travail de recherche, les hypothèses suivantes ont été émises :

Hypothèse 1 : L'allongement de la durée de stockage par congélation jusqu'à 90 jours entraîne une diminution progressive de la teneur en eau et de l'activité de l'eau dans les deux types de pain, en raison du phénomène de sublimation.

Hypothèse 2: Le pain à base de semoule de blé dur présente une meilleure stabilité physico-chimique et microbiologique durant le stockage par congélation prolongé que le pain à base de farine de blé tendre, en raison de la différence de composition protéique et de la structure du gluten.

H3 : La congélation à -18°C contribue à inhiber efficacement la croissance microbienne pendant toute la durée de stockage de 90 jours.

Cette recherche se limite à l'étude de l'impact du stockage par congélation à une température de -18°C pour une durée maximale de 90 jours sur deux formulations de pain :

F : Pain préparé à base de farine de blé tendre type 55 à 100%.

S : Pain préparé à base de semoule fine de blé dur à 100%.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1.1. Généralités sur le pain:

Le pain est considéré comme l'un des aliments de base les plus consommés quotidiennement, en raison de sa valeur nutritionnelle et de son rôle dans la satisfaction d'une grande partie des besoins énergétiques de l'homme. La qualité du pain et sa composition nutritionnelle varient en fonction des matières premières utilisées, telles que la semoule et la farine, ainsi que des méthodes de préparation et de conservation adoptées.

Ce chapitre vise à présenter un cadre théorique général du sujet de l'étude. Il abordera tout d'abord la définition du pain et sa valeur nutritionnelle, puis le concept de la congélation et ses différents types, ainsi que l'effet de la baisse des températures sur les aliments. Une attention particulière sera accordée à l'impact de la congélation sur l'amidon du pain, en mettant en évidence sa définition, les transformations structurales qu'il subit lors de la congélation, ainsi que les conséquences scientifiques de ces changements sur la qualité du pain.

1.1.1. Définition du pain et Valeur nutritionnelle:

Le pain est l'un des aliments de base les plus importants et les plus consommés au monde. Il est principalement fabriqué à partir de farine de céréales, notamment de blé, mais il peut également être préparé à base de maïs, d'orge ou de seigle, mélangée à de l'eau, du sel et de la levure. D'autres ingrédients peuvent y être ajoutés selon les coutumes et les techniques alimentaires, tels que le sucre, les fruits secs, les légumes, les épices ou les noix. (FAO (1996), ANSES (2020)).

Les méthodes de fabrication du pain varient selon les cultures, allant des procédés artisanaux traditionnels aux procédés industriels mécanisés. (FAO (1996)).

Sur le plan nutritionnel, le pain constitue une source importante de glucides complexes et joue un rôle essentiel dans l'apport énergétique à l'organisme. Sa valeur énergétique moyenne est estimée à environ 265 kilocalories pour 100 grammes de pain blanc. ANSES (2020).

La valeur nutritionnelle du pain est étroitement liée au type de farine utilisé et à son taux d'extraction. Le pain complet, issu d'une farine à faible taux d'extraction, conserve le son et le germe, riches en fibres alimentaires, en vitamines du groupe B et en minéraux tels que le fer, le magnésium et le zinc. En revanche, un taux d'extraction élevé de la farine entraîne la perte d'une part considérable de ces nutriments, ce qui rend le pain blanc moins intéressant sur le plan nutritionnel que le pain complet. (OMS (2003), USDA (2020)).

1.1.2 La congélation comme méthode de conservation:

1.1.2.1. Définition de la congélation:

La congélation est définie comme une technique de conservation des aliments consistant à abaisser la température du produit en dessous du point de congélation de l'eau (0 °C). En pratique industrielle, des températures standardisées de -18 °C ou inférieures sont généralement adoptées pour le stockage. (Fennema, O.R. (1996)). Cet abaissement thermique entraîne la transformation de la majeure partie de l'eau libre contenue dans la matrice alimentaire en cristaux de glace, ce qui provoque une diminution de (A_w) et, par conséquent, l'inhibition de la croissance des micro-organismes. (Jay, et al 2005)

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

Par ailleurs, les réactions enzymatiques et chimiques sont fortement ralenties en raison de la réduction de l'énergie cinétique des molécules, sans toutefois être totalement arrêtées. ((Fennema, O.R. (1996)).

1.1.2.2. Types de congélation :

La congélation des denrées alimentaires peut être classée, selon la vitesse d'abaissement de la température, en trois principaux types : (Rosell, C.M. et Gómez, M. (2007))

1.1.2.2.1. Congélation lente :

Elle se caractérise par une vitesse de refroidissement inférieure à 1 °C par minute. Ce type de congélation est généralement observé dans les congélateurs domestiques ou les chambres froides traditionnelles.

La diminution lente de la température favorise la formation de cristaux de glace de grande taille, résultant de la migration de l'eau de l'intérieur vers l'extérieur des cellules avant la solidification complète.

Il en résulte :

- Une altération partielle de la structure cellulaire.
- Une diminution de la cohésion structurale.
- Une perte notable de liquides lors de la décongélation (exsudation).

1.1.2.2.2. Congélation rapide:

La vitesse de refroidissement varie entre 1 et 5 °C par minute. Elle est réalisée à l'aide d'équipements industriels spécialisés, tels que les tunnels de congélation à air froid forcé.

Le refroidissement rapide entraîne :

- La formation d'un grand nombre de petits cristaux de glace. (Fennema, O.R. (1996), Rosell, C.M. et Gómez, M. (2007))
- Une distribution plus homogène de la glace dans la matrice alimentaire.
 - Une réduction des dommages structuraux et une meilleure préservation des propriétés sensorielles.

1.1.2.2.3. Congélation profonde (≤ -18 °C)

Ce type repose sur l'atteinte de températures très basses pouvant descendre jusqu'à -40 °C, comme dans la congélation à l'azote liquide ou au dioxyde de carbone.

Il conduit à la formation de cristaux extrêmement fins, proches d'une structure vitreuse (structure vitreuse), et constitue la méthode la plus efficace pour préserver la microstructure et la texture des aliments. (Fennema, O.R. (1996)).

1.1.3. Effets des basses températures sur les aliments:

1.1.3.1. Effets physiques:

Lors de la transformation de l'eau en glace, son volume augmente d'environ 9 %, générant des contraintes mécaniques au sein de la matrice alimentaire. (Roos, Y.H. (1995)), (Fennema,RO (1996)),

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

Cela peut entraîner :

- L'apparition de microfissures dans la structure spongieuse de la mie du pain.
- Une redistribution de l'humidité entre les différentes zones du produit.
 - Des modifications de l'aspect de surface après décongélation.

1.1.3.2. Effets chimiques:

Bien que la baisse de température ralentisse les réactions chimiques, elle ne les stoppe pas totalement. Parmi les principales réactions observées :

- La poursuite de l'oxydation lipidique à faible vitesse.
- Le ralentissement marqué des réactions de Maillard.
 - La continuité du phénomène de rétrogradation de l'amidon, notamment durant la phase de décongélation et à des températures comprises entre 0 °C et +5 °C. (**Fennema, O.R (1996)), (BeMiller, J.N. et Whistler, R.L. (2009))**).

1.1.3.3 Effets microbiologiques:

La majorité des micro-organismes cesse de se multiplier à des températures inférieures à -10 °C. À -18 °C, ils entrent dans un état de dormance. (**Jay, et al (2005))**).

Cependant, cet état ne signifie pas leur destruction. Les micro-organismes (MO) peuvent reprendre rapidement leur activité lors de la décongélation et lorsque la température dépasse +4 °C, ce qui souligne l'importance du respect strict de la chaîne du froid. (**ICMSF, 1996**)

1.1.3.4. Effets sensoriels:

La congélation peut provoquer des modifications sensorielles perceptibles au niveau du pain, notamment :

- Une diminution du moelleux et une augmentation de la fermeté.
- Un ternissement de la couleur ou des fissures au niveau de la croûte.
- Une perte partielle des composés aromatiques volatils responsables de la saveur caractéristique du pain. (**Rosell, C.M. et Gómez, M. (2007))**).

1.1.4. Effet de la congélation sur l'amidon du pain:

1.1.4.1. Concept de l'amidon dans le pain:

L'amidon constitue le principal glucide de la farine de blé. Il est composé essentiellement de deux polymères : l'amylose et l'amylopectine.

Au cours de la cuisson du pain, l'amidon subit un phénomène de gélatinisation sous l'effet combiné de la chaleur et de l'eau. Les granules d'amidon absorbent l'eau, gonflent, puis perdent progressivement leur organisation cristalline native pour adopter une structure amorphe de type gélifiée. (**ICMSF (1996))**).

Dans cette matrice, l'amidon interagit avec le réseau glutineux, contribuant ainsi à la formation de la structure interne de la mie et à la texture moelleuse caractéristique du pain frais.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1.1.4.2. Modifications structurales de l'amidon lors de la congélation du pain:

1.1.4.2.1. Formation des cristaux de glace et effet mécanique:

Lors de la congélation, l'eau libre et partiellement liée au sein de la matrice amidonneuse se transforme en cristaux de glace.

La formation de ces cristaux entraîne :

- Une expansion volumique locale.
- Une contrainte mécanique exercée sur la structure gélifiée de l'amidon.
- L'apparition de microfissures et d'altérations structurales.

Ce phénomène peut conduire à une augmentation de la fraction d'amidon endommagé (damaged starch), correspondant aux parties ayant perdu leur intégrité structurale sous l'effet du stress physique induit par la cristallisation de l'eau. (**Ribotta, et al (2004), Roos, Y.H. (1995))**).

Ainsi, l'impact principal de la congélation sur l'amidon est d'ordre physique plutôt que chimique.

1.1.4.2.2. Réorganisation moléculaire (Rétrogradation) :

Un autre phénomène majeur associé à la congélation est la rétrogradation de l'amidon, qui correspond à une réorganisation des chaînes d'amylose et d'amylopectine après gélatinisation. ((**Ribotta, P.D. et Le Bail, A. (2007))**), (**Gray, J.A. et BeMiller, J.N. (2003))**), (**BeMiller, J.N. et Whistler, R.L. (2009))**).

Sous l'effet des basses températures :

- Les chaînes linéaires d'amylose s'associent en premier.
- De nouvelles liaisons hydrogène se forment.
- Le degré d'organisation moléculaire augmente.
- La cristallinité relative s'élève.

L'amidon évolue ainsi d'un état majoritairement amorphe vers un état partiellement cristallin plus ordonné.

Ce processus est l'un des principaux responsables du durcissement de la mie au cours du stockage à basse température.

1.1.4.2.3 Conséquences scientifiques des modifications de l'amidon:

1.1.4.2.3.1. Modifications microscopiques :

- Les observations microscopiques montrent qu'après congélation.
- La structure devient moins homogène.
- Des fissures et des pores apparaissent.
- La morphologie des granules gélatinisés est altérée.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

L'ampleur des dommages dépend de la vitesse de congélation : une congélation lente favorise la formation de gros cristaux de glace, plus destructeurs que ceux issus d'une congélation rapide. (Ronda, F, et al (2011)), (BeMiller, J.N. et Whistler, R.L. (2009)), (Ribotta, et al . (2004)).

1.1.4.2.3.2. Modifications des propriétés thermiques :

- Les analyses thermiques (par exemple par DSC – Differential Scanning Calorimetry) indiquent que :

- La température de transition peut augmenter.

Une énergie plus importante est nécessaire pour rompre les nouvelles liaisons formées.

Ces résultats traduisent une augmentation de l'organisation moléculaire et de la stabilité structurale de l'amidon rétrogradé. (Ribotta, P.D. et Le Bail, A. (2007)), (Roos, Y.H. (1995)), (BeMiller, J.N. et Whistler, R.L. (2009)).

1.1.4.2.3.3. Impact sur la digestibilité et la valeur nutritionnelle :

La réorganisation cristalline, notamment des chaînes d'amylose, peut conduire à la formation d'amidon résistant (Resistant Starch).

Ce type d'amidon échappe en partie à la digestion dans l'intestin grêle et se comporte comme une fibre alimentaire fermentescible dans le côlon.

D'un point de vue nutritionnel, cela peut entraîner :

- Une réduction de la vitesse de libération du glucose.
- Une diminution de la réponse glycémique postprandiale.
- Des effets potentiellement bénéfiques sur la santé intestinale.

Ainsi, la congélation du pain n'affecte pas uniquement ses propriétés physiques, mais peut également modifier certaines caractéristiques fonctionnelles et métaboliques de l'amidon. (Slavin, J. (2004)), (Roos, Y.H. (1995)), (Gray, J.A. et BeMiller, J.N. (2003)), (Ronda, et al. (2011))

En conclusion, ce chapitre a permis de présenter les notions essentielles liées au pain, à sa valeur nutritionnelle et à la congélation, ainsi que leurs effets sur les aliments. Un accent particulier a été mis sur l'amidon et les transformations qu'il subit lors de la congélation, influençant la qualité du pain.

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

2.1. Préparation des échantillons de pain:

Cette étude a été menée du (18 Décembre à 8 juin) dans des conditions domestiques contrôlées.

Deux types de pain ont été préparés : du pain de semoule (blé dur) et du pain de farine (blé tendre). (Annexe 01 et Annexe 02)

La préparation a suivi un protocole traditionnel. La levure a d'abord été dissoute dans l'eau, puis ce mélange a été ajouté à la semoule (ou à la farine). Du sel a été ajouté et tous les ingrédients ont été soigneusement mélangés. La pâte a ensuite été pétrie jusqu'à obtention d'une consistance lisse.

Pendant ce temps, le tajine a été préchauffé pour assurer une cuisson optimale. La pâte a ensuite été façonnée et cuite sur le tajine chaud jusqu'à obtention d'un pain bien doré.

Après cuisson, le pain a été laissé refroidir à température ambiante. Une fois refroidi, les échantillons ont été placés dans des sacs de congélation et conservés au congélateur à -18°C . (Annexe 03 et Annexe 04)

Les échantillons ont été conservés pendant différentes durées : 7 jours, 14 jours, 1 mois, 2 mois et 3 mois.

Le même protocole a été appliqué pour la préparation du pain à la farine afin de comparer les deux types.

2.2. Décongélation des échantillons:

Avant analyse, les échantillons ont été sortis du congélateur et laissés à décongeler à température ambiante, pendant une durée suffisante jusqu'à décongélation complète.

Une fois l'équilibre thermique atteint, les échantillons ont été immédiatement utilisés pour les différentes analyses.

2.3. Analyses Physicochimiques:

2.3.1. Teneur en humidité du pain:

Principe :

La méthode gravimétrique repose sur la mesure de la perte de masse d'un échantillon soumis à un séchage à l'étuve à une température comprise entre $130^{\circ}\text{C} \pm 133^{\circ}\text{C}$ dans des conditions permettant d'obtenir un résultat conforme à celui de la méthode de référence. La teneur en humidité est exprimée en pourcentage, correspondant à la perte de masse provoquée par le séchage dans les conditions spécifiées. (ISO 712:2009 / ISO 712-1 :2024), (FAO/ISO), (Goesaert, H. et al. (2005)).

Objectif :

La détermination de la teneur en eau est un paramètre fondamental affectant la qualité des matières premières et des produits finis, ainsi que leur durée de conservation. Cette analyse est normalisée pour les céréales et leurs dérivés, notamment le blé, le riz, l'orge, le seigle,

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

l'avoine, la semoule et la farine. Elle permet d'évaluer la stabilité microbiologique et la texture du pain.

2.3.2. La Capacité de rétention d'eau (CRE):

Principe :

La (CRE) est définie comme la quantité d'eau retenue par l'échantillon en l'absence de toute pression externe. Elle est déterminée en ajoutant 10 ml d'eau distillée à 5 g d'échantillon, puis en centrifugeant à une vitesse définie pendant 30 minutes. La CRE est exprimée en grammes d'eau par gramme d'échantillon sec. (De la Hera, E. et al. (2021)), (Traynham, T.L. et al. (2007)), (Rosell, C.M. & Gómez, M. (2007)).

Objectif :

La CRE est étroitement liée aux propriétés rhéologiques de la pâte et à la qualité du produit fini.

2.3.3. Suivi de la variation du poids du pain durant le stockage à différentes durées:

Principe :

Le cycle de congélation-décongélation provoque des modifications physiques dans la structure du pain, connues sous le nom de « rétrogradation de l'amidon ». Pendant la congélation dans un congélateur de laboratoire réglé à -18°C , les molécules d'amidon se cristallisent et le réseau de gluten est endommagé, ce qui réduit sa capacité à retenir l'eau liée. Après décongélation et stockage à température ambiante, cette eau est libérée sous forme d'eau libre et s'évapore dans l'atmosphère, entraînant une diminution progressive du poids du pain au fil du temps. L'ampleur de ce phénomène augmente avec la durée de stockage au congélateur. (Gray, J.A. et BeMiller, J.N. (2003)).

Objectif :

1. Suivre la perte de poids cumulative du pain de farine de blé tendre et du pain de semoule lors de leur stockage à l'air libre et à température ambiante, après des durées de congélation variables : 0 jour, 7 jours, 14 jours, 1 mois, 2 mois et 3 mois.
2. Déterminer la relation entre la durée de congélation préalable et la vitesse de perte de poids après décongélation.
3. Comparer le comportement du pain de farine et du pain de semoule en termes de résistance à la perte d'humidité après exposition à la congélation.

2.3.4. Rétrogradation de l'amidon (ΔH) du pain:

Principe :

La rétrogradation de l'amidon est mesurée par Calorimétrie Différentielle à Balayage (CDB). Cette technique suit le flux de chaleur endothermique de l'amidon rétrogradé lors de la chauffe et génère plusieurs paramètres : la température de début (T_o), la température de pic (T_p), la

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

température de fin (T_c) et l'enthalpie (ΔH) associée à la fusion des cristaux d'amylopectine recristallisée. L'augmentation de ΔH avec la durée de stockage reflète le degré de rétrogradation. (Gusakov, A.V. et al. (2011)), (Shi, X. et BeMiller, J. (2024)), (Le Bail, A. et al. (2015)), (Eliasson, A.C. (1983)).

Objectif :

La rétrogradation de l'amidon (recristallisation de l'amylopectine) est l'un des principaux facteurs responsables du rassissement du pain, en plus des modifications fonctionnelles du gluten, de la migration d'humidité et de l'état vitreux-caoutchouteux des polymères. Les mesures CDB permettent de quantifier objectivement le degré de rassissement et d'évaluer l'efficacité de l'additif anti-rassissement (enzymes, émulsifiants, hydrocolloïdes).

2.4. Microbiologiques du pain:

2.4.1. Charge microbienne du pain:

Principe :

Cette méthode repose sur le principe que chaque cellule microbienne vivante,ensemencée sur ou dans un milieu gélosé nutritif approprié, produit, après incubation, une colonie microbienne visible. Le dénombrement consiste à homogénéiser l'échantillon, à préparer des dilutions décimales successives en solution stérile, puis à les ensemer sur le milieu gélosé.

Le nombre total de colonies correspond au nombre d'unités formant colonies (UFC) présentes dans l'inoculum. (ISO 4833-1:2013), (Jay, et al. (2005)).

Objectif :

La surveillance de la charge microbienne du pain est indispensable pour garantir sa sécurité alimentaire, sa qualité et sa durée de conservation. Le pain fraîchement cuit est microbiologiquement stérile ; toute contamination survient après la cuisson, lors du refroidissement, du tranchage et du conditionnement, à partir de l'air ambiant et des équipements. Cette analyse vise à vérifier la conformité aux critères microbiologiques réglementaires.

2.4.2.Évaluation du développement des moisissures dans le pain durant le stockage :

Principe :

L'expérience repose sur le principe que la congélation à -18°C inhibe l'activité des spores de moisissures sans les détruire. Lors de la décongélation du pain congelé dans une boîte hermétiquement fermée, la condensation de la vapeur d'eau augmente l'humidité relative à plus de 89%, créant ainsi les conditions optimales pour la germination des spores dormantes. Ces conditions sont : 1- La présence d'un substrat nutritif fourni par l'amidon du pain, 2- Une humidité relative élevée, et 3- Une température ambiante. Ceci entraîne un développement fongique même si le pain a été préalablement congelé, comme l'ont démontré dans leurs travaux sur la stabilité microbiologique du pain partiellement cuit. (Leuschner et al. (1999))

Objectif :

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

Cette étude vise à évaluer l'impact de la durée de congélation préalable sur la vitesse d'apparition des moisissures dans le pain lors d'un stockage ultérieur en boîte hermétique, et à comparer le comportement de deux types de pain local : le pain de farine et le pain de semoule.

2.5. Analyse biochimique:

Aptitude à la digestion — Dosage des sucres libérés par l' α -amylase :

Principe :

La digestibilité de l'amidon par l' α -amylase est mesurée par des méthodes colorimétriques basées sur la quantification des sucres réducteurs libérés lors de l'hydrolyse enzymatique. La méthode DNS (acide 3,5-dinitrosalicylique) est la plus couramment employée : le réactif DNS, de couleur jaune pâle, réagit avec les sucres réducteurs (principalement le maltose) pour former un composé de couleur orange-rouge mesuré par spectrophotométrie à 540 nm. La réaction est arrêtée par ébullition à 100 °C pendant 10 minutes. (Visvanathan, R. et al. (2020)), (Miller, G.L. (1959)), (Gusakov, A.V. et al. (2011)).

Objectif :

Le suivi de l'activité de l' α -amylase dans la dégradation de l'amidon constitue un outil important pour le contrôle qualité en boulangerie. L'ajout d' α -amylase dans la farine améliore le taux de fermentation, réduit la viscosité de la pâte, augmente le volume du produit, améliore la texture de la mie et génère des sucres supplémentaires améliorant la saveur et la couleur de la croûte. Cette analyse permet d'optimiser la formulation et d'évaluer la valeur nutritionnelle du pain.

2.6. Microscopie Electronique à Balayage (MEB) du pain:

Principe :

La (MEB), ou Scanning Electron Microscopy (SEM) en anglais, utilise un faisceau d'électrons très fin qui balaie la surface de l'échantillon point par point. Son principe repose sur la détection des signaux générés à proximité de la surface sous l'effet du faisceau électronique, permettant d'obtenir des images à haute résolution et à grande profondeur de champ. L'interaction du faisceau avec la matière génère plusieurs types d'émissions : les électrons secondaires (image topographique de surface), les électrons rétrodiffusés (contraste chimique) et les rayons X (analyse chimique élémentaire par EDS). La préparation des échantillons est une étape critique : ceux-ci doivent être desséchés puis métallisés pour les rendre conducteurs avant leur observation. (Wojciechowicz-Budzisz, A. et al. (2015)), (Lagrain, B. et al. (2012)), (Primo-Martin, C. et al. (2006)), (Rooyen, J. et al. (2023)), (INRAE Plateforme MIMA2 (MEB)).

Objectif :

Le MEB est l'une des techniques les plus importantes pour l'étude de la microstructure de la pâte et du pain, car il fournit des images tridimensionnelles des composants à l'échelle

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

microscopique. Il permet de visualiser le réseau de gluten, la distribution des granules d'amidon, et la structure des cellules gazeuses dans les produits de boulangerie. Les images MEB de la mie de pain révèlent le réseau de gluten avec ses ports de taille moyenne et grande.

Cette technique permet d'étudier les modifications microstructurales induites par les additifs, les modifications de formulation ou les étapes de stockage. Au niveau microstructural, la matrice solide de la mie est composée d'une phase continue d'amidon gélatinisé et d'un réseau continu de gluten enchâssant les granules d'amidon.

2.7. Analyse statistique :

Méthode Anova pour deux Analyse :

- Teneur en humidité d'eau
- Suivi de la variation du poids du pain durant le stockage à différentes durées

Chapitre 03 : Résultat et discussion

Chapitre 03 : Résultat et discussion

Dans ce chapitre nous allons voir les résultats obtenus et leurs discussions :

1/Résultats

1.1. Analyses Physicochimiques :

1.1.1. Teneur en humidité du pain:

- Le Figure 1 présente les résultats de la teneur en humidité initiale du pain de semoule et du pain de farine.

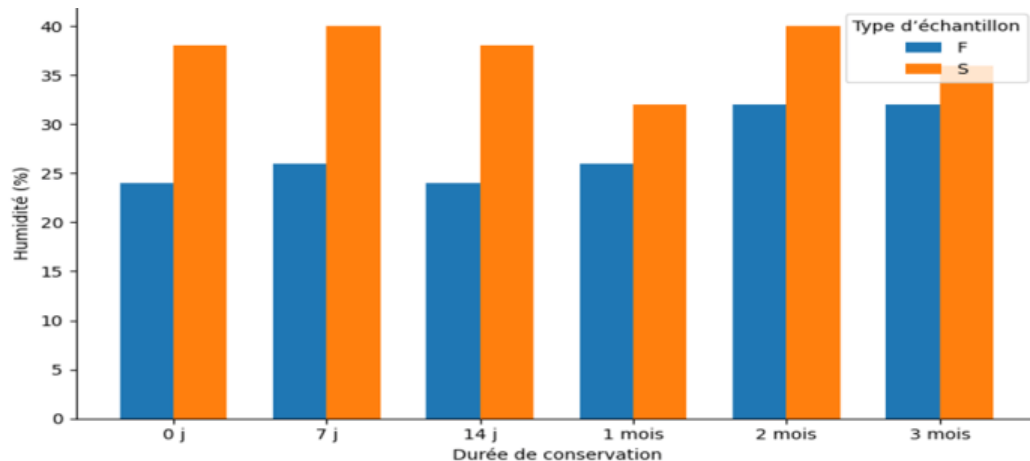
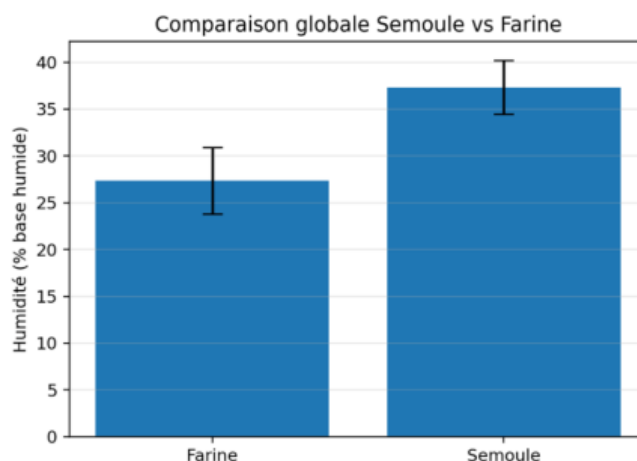


Figure. 1 Teneur en humidité du pain

- Montre que le pain de semoule présente une teneur en humidité initiale significativement plus élevée que celle du pain de farine.



Dans le modèle additif avec les lignes brutes, la base du pain est significative ($p = <0,001$) et la durée ressort également significative ($p = 0,013$). Cependant, cette conclusion sur la durée est fragile, car les répétitions identiques peuvent amplifier artificiellement l'information disponible.

Chapitre 03 : Résultat et discussion

Dans l'approche sans réplication, qui utilise une seule moyenne par combinaison Base $\times$ Durée, l'effet de la base reste significatif ($p = 0,003$), tandis que l'effet de la durée n'est pas significatif ($p = 0,421$). Cette seconde lecture est plus prudente pour ce fichier.

1.1.2. Capacité de rétention d'eau :

- Le Tableau 1 illustre la capacité de rétention d'eau de la farine et de la semoule, déterminée par centrifugation.

Tableau 1 Capacité de rétention d'eau

Type de pain	Durée	Poids avant centrifugation	Poids après centrifugation
PSF	0	1g	2.3 g
PFF	0	1g	2.5 g
PSC	7 jours	1g	1.5 g
PFC	7 jours	1g	1.7 g
PSC	14 jours	1g	2.3 g
PFC	14 jours	1g	2.3 g
PSC	1 mois	1g	3 g
PFC	1 mois	1g	3 g
PSC	2 mois	1g	2 g
PFC	2 mois	1g	2.2 g
PSC	3 mois	1g	2 g
PFC	3 mois	1g	2.2 g

- L'analyse par centrifugation révèle que la farine possède une capacité de rétention d'eau supérieure à celle de la semoule.

Le pourcentage de la rétention d'eau des pains en fonction de la durée de stockage est représenté dans la figure 2.

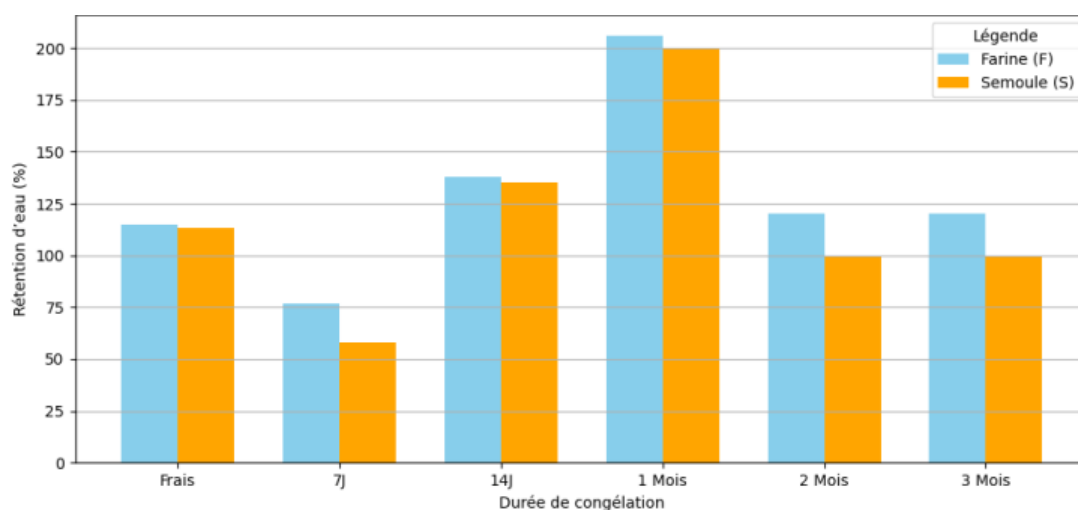


Figure 2 Capacité de rétention d'eau

Chapitre 03 : Résultat et discussion

- La figure 2 illustre la capacité de rétention d'eau supérieure de la farine par rapport à la semoule, mesurée par centrifugation.

1.1.3. Suivi de la variation du poids du pain décongelé et entreposé :

Le Tableau2 résume l'évolution de la perte de poids des échantillons de pain durant sept jours de stockage.

Tableau 2 suivi de la variation de poids du décongelé et entrepose

Type de pain	Durée	1 jour	2 jours	4 jours	7 jours
PSF	0	3g	3g	2g	2g
PFF	0	4g	3g	3g	3g
PSC	7	5g	4g	4g	4g
PFC	7	4g	3g	3g	3g
PSC	14	5g	4g	3g	3g
PFC	14	5g	4g	3g	3g
PSC	1 mois	5g	5g	4g	4g
PFC	1mois	5g	4g	3g	3g
PSC	2 mois	3g	3g	2g	2g
PFC	2 mois	4g	3g	3g	3g
PSC	3 mois	5g	4g	3g	3g
PFC	3 mois	5g	4g	3g	3g

- Pour la perte de poids, tous les échantillons de pain ont enregistré une diminution au 2ème et 4ème jours, suivie d'une stabilisation jusqu'au 7ème jour.

Analyse statique :

La variable analysée est le score de fraîcheur/humidité mesuré aux temps 0h, 24h, 48h, 96h et 168h. Comme l'échelle est discrète (valeurs 2 à 5) et que les effectifs par cellule sont faibles ($n = 3$), les comparaisons principales utilisent des tests non paramétriques.

Indicateurs calculés : (i) moyenne $\pm$ écart-type par condition et temps ; (ii) AUC de fraîcheur, calculée par la règle du trapèze sur 0-168 h ; (iii) perte 0h-168h ; (iv) rétention à 168h = score 168h / score 0h $\times 100$.

Comparaisons réalisées : semoule vs farine aux mêmes durées de congélation et temps avec Wilcoxon apparié par répétition ; non congelé vs congelé dans chaque base avec Mann-

Figure 3 Suivi de la variation du poids du pain durant l'entreposage à différentes durées

Whitney exploratoire ; effet du temps dans chaque condition avec Friedman ; tendance entre durée de congélation et AUC avec Spearman.

1.1.4. Rétrogradation de l'amidon (ΔH) du pain:

L'analyse de la rétrogradation de l'amidon (ΔH) par calorimétrie différentielle à balayage (DSC) n'a pas été réalisée, le matériel nécessaire n'étant pas disponible au laboratoire pendant la période des expérimentations.

1.2. Microbiologiques du pain:

1.2.1. Charge microbienne du pain:

Avant la présentation des résultats, un dénombrement microbiologique des bactéries et des levures a été réalisé afin d'évaluer la quantité (Q1) et la qualité (Q2) des échantillons étudiés.

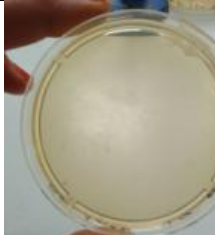
Cela permet de déterminer le niveau de contamination et de le comparer aux normes de référence en vigueur.

Ainsi :

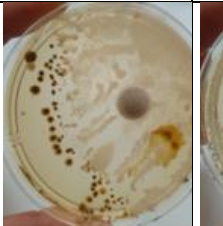
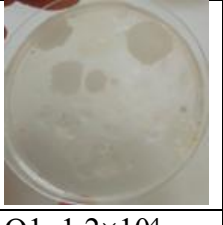
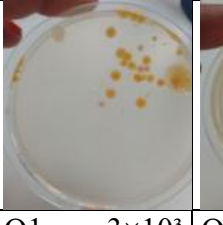
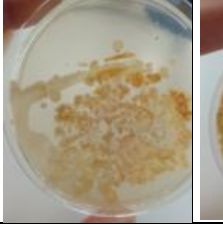
- Les résultats de l'évolution microbiologique du pain de semoule sont présentés dans le (Tableau 4) et la (Figure 4) respectivement.

Tableau 3 type de pain semoule

Chapitre 03 : Résultat et discussion

MO durée	Bactérie			levure		
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
Frais						
	Q1 : non dénombrable. Q2 : - présence de moisissures Noires de grande taille a aspect duveteux.	Q1 : non dénombrable. Q2 : -présence de larves (contamination externe)	Q1 : non dénombrable. Q2 : -colonies nombreuses de couleur verte et brunes.	Q1 25×10^1 UFC Q2 : - présence de colonies fongiques Noires de grande taille + quelques colonies	Q1 : non dénombrable. Q2 : présence de colonies fongiques Noires + colonies de petite taille + tache brune.	Q1 : 0 UFC Q2 : -Absence de croissance.
7 jours						
	Q1 : non dénombrable. Q2 : présence de colonies avec de de taille moyenne grande.	Q1 : Très faible voire nulle. Q2 : -présence de quelques colonies isolées bien séparées.	Q1 : Très faible voire nulle. Q2 : -Absence presque totale de colonies.	Q1 : non dénombrable. Q2 : -forte croissance fongique (moisissures vertes, noires).	Q1 : 5×10^3 UFC Q2 : -flore bactérienne variée (jaune, blanche).	Q1 : 10×10^3 UFC Q2 : -flore mixte (colonies de bactéries et présence de colonies fongiques Noires).
14 jours						

Chapitre 03 : Résultat et discussion

	Q1 : 2.6×10^2 UFC Q2 : - colonies jaunes taille Moyenne. - colonies blanche. - présence de quelque goutte visqueuse.	Q1 : 3.8×10^3 UFC Q2 : - colonies jaune et blanche moyenne + Aspect mucoïde Ressemblant à une goutte visqueuse.	Q1 : 2.2×10^4 UFC Q2 : Petite colonies jaune et colonies blanche + quelque goutte visqueuse.	Q1 : non dénombrable. Q2 : - Tache brunâtre Hétérogène (flore mixte biofilm)	Q1 : non dénombrable. Q2 : - Tache brunâtre Hétérogène (flore mixte biofilm)	Q1 : 6.5×10^4 UFC Q2 : - flore bactérienne diversifiée (brune + blanche)
1 mois	 Q1 : 9×10^2 UFC Q2 : - présence de moisissures de différentes couleurs bien distinctes et séparées.	 Q1 : 1.8×10^3 UFC Q2 : - présence de colonies brunes à centre brun foncé et de quelques colonies blanche.	 Q1 : non dénombrable. Q2 : - présence de colonies blanche de petite taille.	 Q1 : non dénombrable. Q2 : - Moisissures couvrent toute la boîte.	 Q1 : non dénombrable. Q2 : - Flor bactérienne visqueuse (biofilm)	 Q1 : non dénombrable. Q2 : Développement Bactérien massif visqueux.
2 mois	 Q1 : 5.6×10^2 UFC Q2 : - Nombreuses colonies jaunes + colonies blanche de différentes tailles.	 Q1 : 2×10^3 UFC Q2 : présence quelques colonies jaune + quelque goutte visqueuse.	 Q1 : 1.2×10^4 UFC Q2 : présence quelques colonies jaune + quelque goutte visqueuse.	 Q1 : 5×10^1 UFC Q2 : - Moisissures noires et vertes.	 Q1 : 3×10^3 UFC Q2 : - flore bactérienne (jaune, blanche)	 Q1 : 3×10^4 UFC Q2 : - flore bactérienne variée (jaune, brun)
3 mois						

Chapitre 03 : Résultat et discussion

Q1 : 1.4×10^2 UFC Q2 : - Visqueuse. - colonies jaunes et blanche de petite taille.	Q1 : non dénombrable. Q2 : présence colonies jaune et blanche + goutte visqueuse.	Q1 : non dénombrable. Q2 : présence quelques colonies jaune + gouttes visqueuses.	Q1 : 5×10^1 UFC Q2 : - Moisissures + Tache brune (altération avancée)	Q1 : non dénombrable. Q2 : - flore bactérienne visqueuse.	Q1 : non dénombrable. Q2 : Développement Bactérien visqueux.
--	--	--	---	---	--

- Ce tableau résume les résultats du suivi microbiologique du pain de semoule (blé dur) tout au long de la période de stockage, s'étalant de 0 jours à 3 mois. Il met l'accent sur les changements progressifs de la domination microbienne entre la densité bactérienne et la

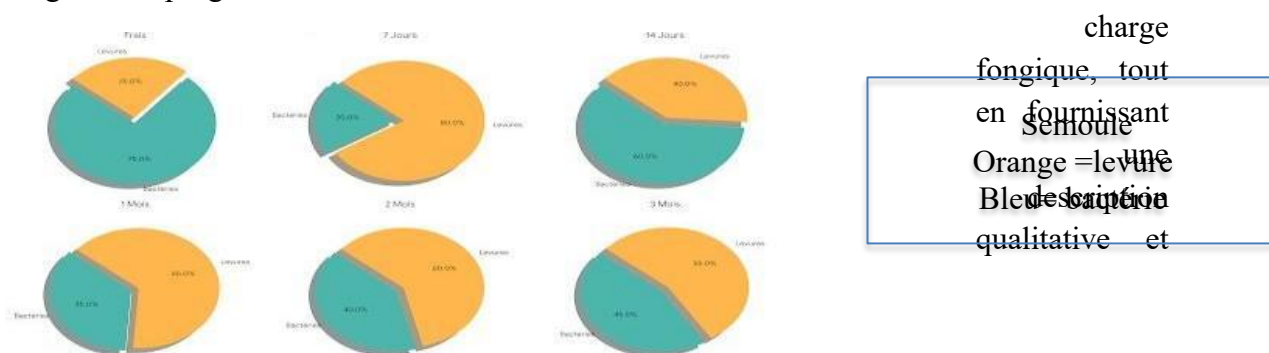
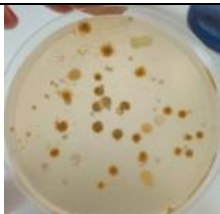
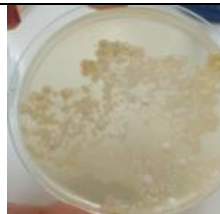
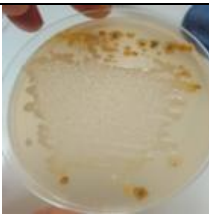


Figure 3 Cinétique d'évolution de la population microbienne majeure du pain de semoule au cours d'un stockage par congélation à -18°C . morphologique précise de la nature des moisissures et des levures apparues sur les boîtes de Pétri, ainsi que les états d'altération avancée des échantillons. (Tableau 3)

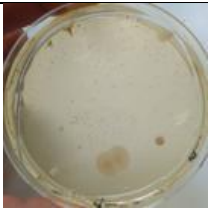
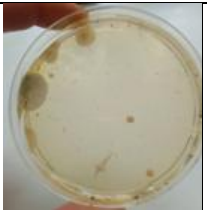
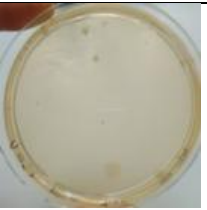
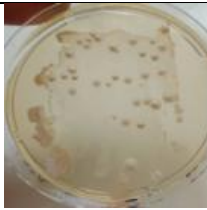
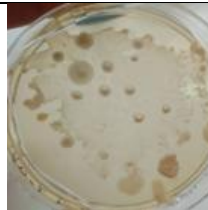
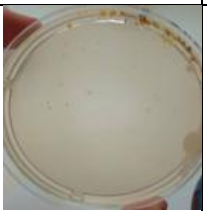
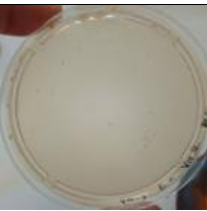
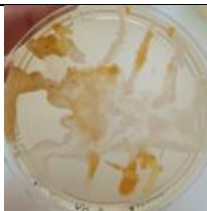
Chapitre 03 : Résultat et discussion

Les résultats de l'évolution microbiologique du pain de farine sont présentés dans le (Tableau 4) et la (Figure4) respectivement.

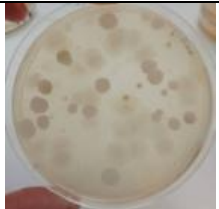
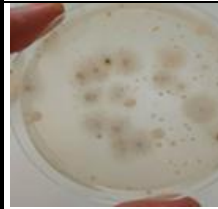
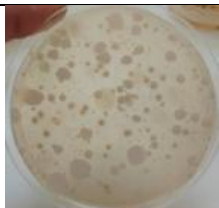
Tableau 4 types de pain farine :

MO durée	Bactérie			levure		
	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ¹	10 ²	10 ³
Fris						
	Q1 : non dénombrable. Q2 : -présence de colonies fongiques et d'organismes vermiformes.	Q1 : non dénombrable. Q2 : -présence d'organismes vermiformes.	Q1 : non dénombrable. Q2 : -présence d'organismes vermiformes.	Q1 : 2.5×10^2 UFC. Q2 : -colonies brun doré poudreuses sporulées. - colonies petite taille blanche - colonies taille moyenne beige	Q1 : Tapis mucoïde Q2 : - Tapis brun doré poudreuses sèche. -colonies (brun, doré) poudreuses sèche.	Q1 : Tapis +colonies isolées Q2 : -Tapis levure granuleux beige. -colonies brun, doré +noire poudreuses, sèche. - colonies orange, beige.

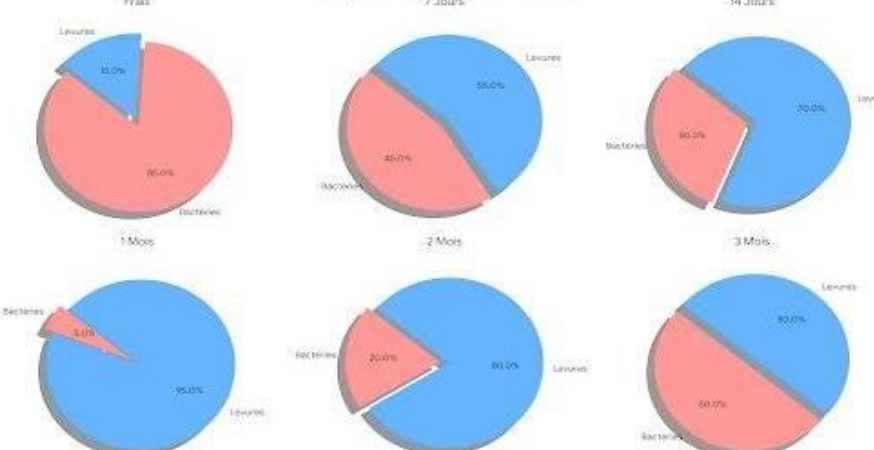
Chapitre 03 : Résultat et discussion

7 jours						
	Q1 : 5×10^1 UFC Q2 : - très petite colonies ponctuelles, Beige clair à Brun clair Malle.	Q1 : 4.4×10^3 UFC. Q2 : -Bactérien petite colonies beiges. -fongique grande colonies blanche avec centre (bleu, vert)	Q1 : 1.5×10^4 UFC. Q2 : -colonies beige clair à crème, Molle, Butyreuse.	Q1 : 1.4×10^2 UFC. Q2 : -colonies levuriennes Blanc crème à Beige. -colonies mucoïdes Brun, beige.	Q1 : 5.1×10^3 UFC. Q2 : -Colonies levuriennes blanc crème à beige clair -colonies filamenteuses.	Q1 : non dénombrable. Q2 : -colonies mucoïdes Brun, blanc - présence de colonies fongiques de grande taille noire.
14 jours						
	Q1 : 3.5×10^2 UFC Q2 : - colonies bactériennes ponctuelles, Beige clair à Brun clair Malle. -grande colonies fongique (blanche, crème à beige rosé).	Q1 : 5.1×10^3 UFC Q2 : - colonies bactériennes ponctuelles, Beige clair à crème, Molle. -colonies orange, jaune -grande colonies	Q1 : 2.5×10^4 UFC Q2 : - colonies bactériennes ponctuelles, Beige à brun clair, Molle, Butyreuse.	Q1 : non dénombrable. Q2 : -colonies rhodotorula orange, doré mucoïde. -colonie central brune, doré poudreuse.	Q1 : non dénombrable. Q2 : Tapis mucoïde beige crème. -colonies fongique jaune.	Q1 : non dénombrable. Q2 : - Colonies rhodotorula orange, doré mucoïde. - colonies brun doré poudreuse Sèche. - colonie brune, doré poudreuse.

Chapitre 03 : Résultat et discussion

1 mois						
	Q1 : NAP Q2 : -colonies circulaire Bords Réguliers, parfois irréguliers surface lisse. -certaines muqueuses Tailles variées, Blanc crème, Beige muqueuses /lisse.	Q1 : colonies Q2 : -Colonies circulaire Bords réguliers, crémé lisse.	Q1 : 4.5×10^4 UFC. Q2 : -colonies circulaires (petite, moyennes, grande) Blanc crème, orange pôle, lisse Muqueuse	Q1 : NAP Q2 : -petite colonies biges.	Q1 : non dénombrable. Q2 : - présence de colonies fongiques et Développement Bactérien massif visqueux.	Q1 : non dénombrable. Q2 : - Développement Bactérien massif visqueux.
2 mois						
	Q1 : 8×10^2 UFC Q2 : -grande colonies gris, beige étalées Molle. -colonies moyennes brun. -Micro-colonies ponctuelles beige clair, Molle.	Q1 : 1.2×10^4 UFC Q2 : - Tapis dense de colonies brun, beige Butyreuse à légèrement. - grande colonies, crème isolées, blanc crème à beige clair.	Q1 : 1.75×10^5 UFC Q2 : - grande colonies gris, beige étalées sèche. -colonies orange	Q1 : 8×10^2 UFC Q2 : -colonies beige crémé Molle. - colonies orange jaune. - petite colonies fongiques noire. - grande colonies crémé blanc.	Q1 : 4.6×10^3 UFC Q2 : -Colonies orange Jaune. -colonies beige, crémé blanc.	Q1 : 8×10^4 UFC Q2 : -colonies orange, jaune. - colonies beige, brun. - petite colonies blanche.
						

Chapitre 03 : Résultat et discussion

3 mois	Q1 : non dénombrable. Q2 : -colonies levuriennes gris beige, Molle.	Q1 : non dénombrable. Q2 : -Tapis colonies Beige, brun clair.	Q1 : non dénombrable. Q2 : -Micro colonies Denses, Beige claire à brun, orange, Molle.	Q1 : non dénombrable. Q2 : -colonies beige brun. -colonies orange, jaune.	Q1 : non dénombrable. Q2 : - Tapis colonies Beige, -certain petite colonies jaune.	Q1 : 3.5×10^4 UFC Q2 : -Tapis beige crémé. - colonies orange jaune.
 Farine Bleu= Leveur Rosé =bactérie						

- Les résultats de l'analyse microbiologique consignés dans ce tableau illustrent l'évolution de la charge microbienne du pain de farine (blé tendre) à travers différentes périodes de stockage allant de 0 jours à 3 mois. Ce tableau met en évidence la répartition entre les bactéries, les moisissures et les levures, en plus de la charge microbienne quantitative UFC et des observations morphologiques descriptives des boîtes de Pétri, telles que les formes, les couleurs et les changements des colonies au cours du temps. (Tableau 4)

Chapitre 03 : Résultat et discussion

Figure 4 Cinétique d'évolution des populations microbiennes majeures du pain de farine de blé tendre au cours d'un stockage par congélation à -18°C.

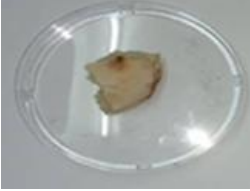
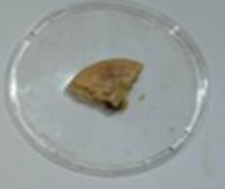
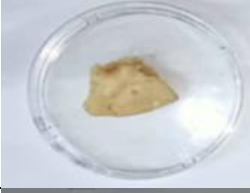
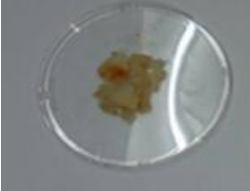
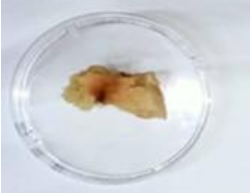
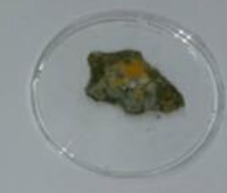
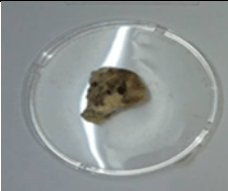
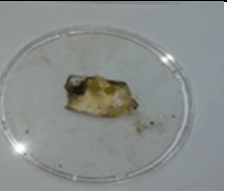
1.2.2.Évaluation du développement des moisissures dans le pain durant le stockage :

Le tableau .6 Rapporte le délai d'apparition des moisissures sur les échantillons de pain décongelé durant l'entreposage.

Tableau 6 Rapporte le délai d'apparition des moisissures sur les échantillons de pain décongelé durant l'entreposage.

Remarque : à partir 3 jour la moisissure il développer.

Chapitre 03 : Résultat et discussion

durée	Avant stockage		Après stockage	
	Farine	Semoule	Farine	Semoule
Frais				
7 jours				
14 jours				
1 mois				
2 mois				
3 mois				

- Concernant les moisissures, il a été observé que le pain de farine présente un développement fongique plus précoce que le pain de semoule durant le l'entreposage c'est ce qui correspond à la capacité de rétention d'eau des deux pains.

Analyse bio chimique :

Aptitude à la digestion — Dosage des sucres libérés par l' α -amylase :

Il aurait été pertinent de quantifier les sucres libérés par l' α -amylase afin d'évaluer la digestibilité de l'amidon et son degré de rétrogradation.

Toutefois, l'indisponibilité des réactifs enzymatique n'a pas permis cette analyse

1.4. Microscopie Electronique à Balayage (MEB) du pain :

Pour des raisons de surcharge au niveau du centre CRAPC nous n'avons pas pu faire passer tous nos échantillons. Pour cela nous avons sélectionné trois échantillons pour

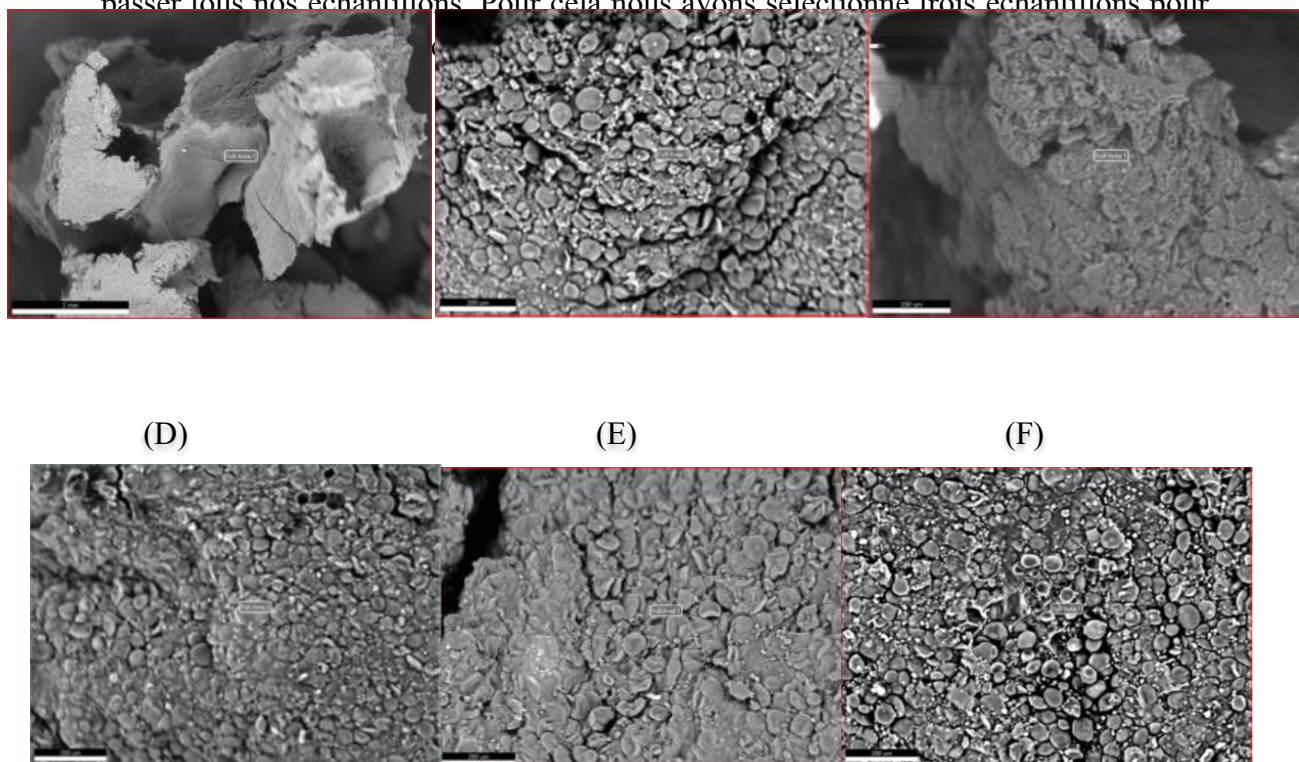


Figure5 Résultats du MEB pour le pain selon différentes durées de stockage

.

Figure6 Résultats du MEB pour le pain semoule selon différentes durée de stockage

2/Discussion :

2.1. Discussion des résultats Teneur du pain en humidité :

A / Valeurs initiales à J0 : pain semoule frais (PSF) et pain farine frais (PFF) Les teneurs en humidité obtenues à J0 sont de 38 % pour le (PSF) et de 24 % pour le (PFF). Ces valeurs sont en accord avec les données de la littérature scientifique (**Scanlon et Zghal ,2001**) qui ont rapporté que la teneur en humidité de la mie de pain fraîchement cuit varie généralement entre 35 et 45 % sur base humide, en fonction de la formulation et des conditions de cuisson (**Scanlon et Zghal ,2001**). La différence observée entre PSF et PFF s'explique surtout par la composition de la formulation. En effet, (**Patel _et al._ (2005)**) ont montré que le taux d'hydratation de la pâte et les conditions thermiques de cuisson influencent directement la rétention d'eau dans la mie, agissant ainsi sur la gélatinisation de l'amidon et sur la réorganisation du réseau gluténique (**Patel _et al._ (2005)**) On s'attend donc à ce qu'un pain de formulation différente présente une capacité de rétention d'eau significativement différente dès la sortie du four.

B/ Changement du niveau d'humidité durant la conservation : L'analyse du (Tableau 3.1) montre que le pain semoule congelé (PSC) conserve une humidité relativement élevée (40 % à 7 jours, 38 % à 14 jours, 32–40 % entre 1 et 3 mois), tandis que le pain farine congelé (PFC) reste systématiquement plus sec (26–32 % sur la même période). Cette évolution est due au phénomène classique de migration de l'eau dans le pain pendant le stockage : sous l'effet du gradient de teneur en eau entre la mie et la croûte, les molécules d'eau migrent progressivement de l'intérieur vers la surface du pain, ce qui entraîne une modification progressive de la texture. (**He, H. et Hoseney, R.C. (1990).**)

(**Baik et Chinachoti , 2000**) ont montré expérimentalement en 2000 que la mie de pain blanc conservée avec sa croûte perd beaucoup d'humidité au cours de deux semaines de stockage , passant de 39,0 % au jour 0 à 30,5 % au 14 jour alors que la mie sans croûte ne subit pratiquement pas de variation (**Baik et Chinachoti , 2000**). Ces résultats concordent avec les valeurs obtenues dans le présent travail et soulignent l'importance de l'emballage dans le contrôle de cette migration.

C/ Relation entre humidité et rassissement (staling) : Le rassissement du pain est un processus complexe qui débute immédiatement après la cuisson et met en jeu d'une part la rétrogradation de l'amidon et d'autre part le transfert de l'eau du gluten vers l'amidon (figure 01). Sur le plan physique, la perte d'eau de la mie lors du stockage –due à la migration vers la croûte– accélère les interactions entre les chaînes d'amylopectine, favorisant leur recristallisation et l'affermissement progressif de la mie. (**Besbes et al. (2014)**) ont montré à l'aide d'un modèle

Chapitre 03 : Résultat et discussion

cinétique du premier ordre que la fermeté augmenté plus rapidement lors du stockage avec croûte que lors du stockage sans croûte, en raison de la perte d'humidité plus importante (**Besbes et al. (2014)**). La différence de comportement entre PSC et PFC mise en évidence dans le présent travail (les valeurs d'humidité du PFC étant toujours inférieures) suggère que la formulation du PFC lui confère une capacité de rétention d'eau moindre et pourrait ainsi accélérer sa cinétique de rassissement.

D/ Activité de l'eau, sécurité microbiologique et impact de la réfrigération : Il est important de distinguer entre l'un et l'autre la teneur en humidité (exprimée en %) et (*Aw*), qui est une grandeur thermodynamique, mesurable sur une échelle de 0 à 1 et qui indique la disponibilité de l'eau pour les réactions chimiques et microbiologiques. Les deux paramètres sont liés, mais ne sont pas identiques : à teneur en humidité égale, deux produits peuvent avoir des *Aw* très différentes selon leur composition et leur structure. (**Czuchajowska, Z. et Pomeranz, Y. (1989)**) ont caractérisé l'*Aw* du pain de blé à une valeur comprise entre 0,94 et 0,97, quelles que soient ses petites fluctuations de teneur en eau.

2.2. Rétention de l'eau du pain :

L'analyse de la CRE révèle une différence entre le pain à base de farine (F) et le pain à base de semoule (S), et met en évidence un effet important de la durée de congélation sur cette propriété technologique. (**Rosell, C.M. (2011)**), (**Gray, J.A. et BeMiller, J.N. (2003)**).

Les échantillons frais ont présenté une capacité moyenne de rétention d'eau (113–115 %), ce qui est le reflet de l'état normal de l'amidon et des protéines avant le stockage au froid (**Legan, J. D. (1993)**). Au bout de 7 jours de congélation, on a noté une baisse importante de la capacité de rétention d'eau, surtout pour le pain de semoule (58 %) comparativement au pain de farine (77 %). Cette diminution peut s'expliquer par le phénomène de rétrogradation de l'amidon qui se caractérise par une réorganisation des molécules d'amidon réduisant leur aptitude à fixer l'eau (**Gray, J.A. et BeMiller, J.N. (2003)**). Après 14 jours puis 1 mois de congélation, on observe une augmentation importante de la rétention d'eau (jusqu'à 200–206 %). Cette augmentation peut être due à :

- une désorganisation partielle de la structure de l'amidon.
- une augmentation de la porosité.
- une dégradation partielle du réseau protéique (**Legan, J. D. (1993)**).

Ces modifications permettent d'absorber davantage d'eau lors de l'analyse (**Legan, J. D. (1993)**). Après 2 et 3 mois de congélation, les valeurs ont baissé puis se sont stabilisées, ce qui peut indiquer :

- une stabilisation du système.
- une diminution progressive de la capacité des constituants du pain à retenir l'eau. (**Sahlström, et al. (2004)**).

Les résultats montrent également que, de manière générale, le pain de farine a une capacité de rétention d'eau plus élevée que le pain de semoule. Cela est dû à une plus grande teneur en gluten et à la création d'un réseau protéique plus élastique et plus capable de retenir l'eau (**Legan, J.**

D. (1993)).

Dans l'ensemble, les résultats montrent que la congélation modifie notablement les propriétés hydriques du pain. L'évolution observée n'est pas linéaire : le stockage congelé provoque une diminution initiale, puis une augmentation, et enfin une stabilisation (**Gray, J.A.et BeMiller, J.N. (2003).), (Sahlström, et al (2004))**)

2.3. Discussion scientifique des résultats : Suivi de la variation du poids du pain durant le stockage à différentes durées :

Il a été observé dans cette étude que tous les échantillons ont présenté une diminution de poids lors du stockage à température ambiante, ce qui s'explique par l'évaporation de l'eau libérée suite à la rétrogradation de l'amidon et à l'endommagement du réseau de gluten après le cycle congélation-décongélation (**Gray, J.A.et BeMiller, J.N. (2003))**. Il a été également observé que de manière générale, les échantillons congelés pendant des durées plus longues ont montré une vitesse de perte de poids plus importante, indiquant qu'une congélation prolongée augmente le degré d'altération de la structure interne du pain. (**Gray, J.A.et BeMiller, J.N. (2003))**)

Concernant la comparaison entre les deux types de pain, il est théoriquement attendu que le pain de semoule soit plus résistant au dessèchement en raison de sa teneur plus élevée en protéines et en fibres (**Gray, J.A.et BeMiller, J.N. (2003))**. Cependant, les résultats pratiques de cette étude ont montré une variabilité et l'absence d'une supériorité constante de l'un ou l'autre type à travers les répétitions.

Cette variabilité s'explique par le fait que le comportement du pain après congélation ne dépend pas uniquement du type de farine, mais est fortement influencé par les différences dans les conditions de fabrication initiales entre les lots, telles que le temps de fermentation, la quantité d'eau ajoutée et la température de cuisson, qui affectent la microstructure finale du produit et sa capacité à retenir l'eau. (**Cauvain, S. P. (2015))**).

2.4. La rétrogradation de l'amidon (ΔH):

L'analyse de La rétrogradation de l'amidon (ΔH) par calorimétrie différentielle à balayage (DSC) n'a pas été réalisée, le matériel nécessaire n'étant pas disponible au laboratoire pendant la période des expérimentations.

2.5. Discussion de l'effet de la congélation sur la charge microbienne du pain de semoule et farine:

2.5.1.pain de Semoule:

Les résultats obtenus pour le pain de semoule cuit à la tadjine montrent une contamination

Chapitre 03 : Résultat et discussion

microbienne élevée dès le jour 0, avec des valeurs TNTC, la présence de larves et une diversité de moisissures. Cette charge initiale est due à la température de cuisson limitée à 150–180°C, insuffisante pour inactiver les spores fongiques et bactériennes naturellement présentes dans la semoule. L'absence de croûte sèche et l'humidité élevée de la mie à 35–40% créent un milieu favorable à l'adhésion des spores aéroportées d'*Aspergillus* et de *Penicillium* après cuisson (Pitt et Hocking, 2009). Après 7 jours de congélation à -18°C, la diminution de la flore bactérienne à 5×10^2 à 1×10^3 UFC/g traduit uniquement une inhibition de croissance, sans destruction des spores. À 14 jours, la remontée à $2,2 \times 10^2$ à $3,8 \times 10^2$ UFC/g et l'apparition d'une viscosité typique de l'altération "Rope" indiquent la germination des endospores de *Bacillus subtilis* du groupe B. cereus (Pepe et al., 2003). La structure granuleuse de la semoule, qui retient l'eau plus longtemps, favorise ce phénomène (Dexter et Edwards, 1998). À un mois, la charge atteint 9×10^3 ($1,8 \times 10^4$) UFC/g avec prolifération fongique massive, proche de la limite de 10^5 UFC/g fixée par le Règlement CE 2073/2005. Entre 2 et 3 mois, les valeurs de $1,4 \times 10^3$ à 5×10^4 UFC/g et le biofilm visqueux témoignent d'une détérioration avancée. Sanitairement, *Aspergillus niger* expose à l'ochratoxine A, mycotoxine néphrotoxique non-détruite par la congélation (FAO/WHO, 2016), tandis que *Bacillus cereus* produit la toxine cereulide thermostable à 121°C/90min, avec une dose toxique de 10^5 – 10^6 UFC/g selon l'EFSA. En conclusion, ce pain présente une faible stabilité microbiologique et sa conservation ne doit pas dépasser 7 jours sous congélation, avec consommation dans les 24h après décongélation. (Seiler)(1997)(2005)(2016)

2.5.2. pain de farine:

L'analyse microbiologique du pain de farine congelé révèle une charge microbienne très élevée dans l'échantillon frais avec des valeurs TNTC $> 10^6$ UFC/g sur PCA et Sabouraud, dominée par *Geotrichum candidum*, *Aspergillus niger* et *Saccharomyces cerevisiae*, traduisant une contamination post-cuisson d'origine environnementale (Alpers et al., 2021)(Nionelli & Rizzello, 2016). La congélation rapide entraîne une réduction significative de la flore aérobie mésophile totale jusqu'à 10^4 UFC/g à 7 jours et 2×10^3 UFC/g à 14 jours, en accord avec l'effet inhibiteur de la cristallisation intracellulaire sur les cellules végétatives (Pitt et Hocking, 2009). En revanche, une congélation prolongée supérieur ou égal à 1 mois provoque une remontée progressive de la charge jusqu'à supérieur ou égal à 10^5 UFC/g à 2 et 3 mois, expliquée par la résistance et la germination des endospores de *Bacillus subtilis* et *B. tequilensis* (Valková et al., 2021). La flore fongique montre une meilleure résistance au froid que la flore bactérienne, avec une dominance persistante de la levure *Rhodotorula spp* dans toutes les durées de stockage, en raison de son caractère psychrotolérant (Pitt et Hocking, 2009). La détection de *Aspergillus niger*, *A. flavus* et *Penicillium spp* indique un risque potentiel de contamination par l'ochratoxine A et les aflatoxines (Frisvad et al., 2007). En comparaison avec le Règlement CE 2073/2005 qui fixe la limite à 10^5 UFC/g pour la flore aérobie et exige l'absence de moisissures visibles, les résultats montrent que la durée de conservation sûre du pain congelé ne dépasse pas 14 jours, et qu'un stockage supérieur à un mois favorise une dégradation microbiologique progressive, conformément aux recommandations d'Anast et al. (2024) qui préconisent une durée inférieure à 3 mois. (Anast et al., 2024)(Pitt et Hocking, 2009).

2.6. Discussion scientifique des résultats de moisissures dans le pain durant le stockage :

Chapitre 03 : Résultat et discussion

Dans cette étude, il a été observé que le pain à base de farine fraîche (0 jour de congélation) présentait une croissance fongique visible plus rapide et plus importante par rapport au pain de semoule. Ce comportement est conforme aux principes scientifiques établis selon lesquels une diminution de (Aw) inhibe la croissance des moisissures, étant donné que la teneur plus élevée en protéines et en fibres de la semoule contribue à lier les molécules d'eau et à réduire l'eau libre disponible pour les micro-organismes. (Fennema, O.R (1996)).

Il a également été observé que cet avantage relatif du pain de semoule persistait dans les échantillons congelés pendant 7 jours et 14 jours. Cela peut s'expliquer par le fait que la congélation à court terme endommage les cellules microbiennes sans les éliminer complètement, ce qui maintient les différences initiales entre les deux types de pain en termes de sensibilité à la moisissure. (Jay, et al. (2005))

En revanche, pour les échantillons congelés pendant 1 mois, 2 mois et 3 mois, il a été constaté que le degré de moisissure et la vitesse d'apparition étaient similaires pour les deux types de pain. Ceci est en accord avec les principes microbiologiques indiquant qu'une exposition prolongée aux basses températures augmente le taux de cellules mortes et cause des dommages subtotaux aux cellules survivantes, ce qui allonge considérablement leur phase de latence (Lag Phase) (Jay, et al (2005)) . Lorsque la charge microbienne viable résiduelle diminue à un niveau très bas et comparable dans les deux échantillons, les conditions environnementales après décongélation deviennent le facteur déterminant de la vitesse d'apparition des moisissures, et non le type de farine.

2.7. Aptitude à la digestion — Dosage des sucres libérés par l' α -amylase :

Il aurait été pertinent de quantifier les sucres libérés par l' α - amylase afin d'évaluer la digestibilité de l'amidon et son degré de rétrogradation.

Toutefois, l'indisponibilité des réactifs enzymatique n'a pas permis cette analyse.

2.8. Microscopie Electronique à Balayage (MEB) du pain :

A. Image (A) : Pain de Farine : Frais (Témoin) :
Observations microstructurales :

L'image MEB du pain frais révèle une microstructure caractéristique d'un pain de bonne qualité technologique. On observe :

Un réseau de gluten bien développé, continu et homogène, formant une matrice tridimensionnelle autour des granules d'amidon gélatinisé.

Des granules d'amidon partiellement gélatinisés, bien dispersés dans la matrice protéique et présentant une surface relativement lisse.

Une bonne organisation de la structure alvéolaire, avec une répartition régulière des

Chapitre 03 : Résultat et discussion

pores, signe d'une bonne levée et d'une bonne fermentation.

La présence de larges feuillets fragmentés, caractéristiques des protéines de gluten non réticulées, est visible dans la partie supérieure de l'image.

Discussion scientifique :

La microstructure observée est cohérente avec les descriptions de **Gan et al. (1990)** et de **Hug-Itten et al. (2003)**, qui soulignent que la qualité de la mie du pain frais est directement liée à l'intégrité du réseau de gluten. La farine de blé tendre, riche en gluténines et en gliadines, forme lors de la panification un réseau viscoélastique qui piège les bulles de CO₂ produites par la fermentation, conférant au pain sa texture légère et alvéolée (**Shewry & Tatham, 1997**). Les granules d'amidon gélatinisés observés attestent d'une cuisson optimale ayant permis le gonflement et la fusion partielle des granules, processus essentiel à la digestibilité et à la texture du pain (**BeMiller & Whistler, 2009**). L'absence de cristaux de glace ou de zones de déchirement confirme l'état natif de la structure.

B. Image (B) : Pain de Farine : Congelé 7 jours

Observations microstructurales :

L'image MEB du pain de farine congelé pendant 7 jours montre d'importantes modifications microstructurales par rapport à l'échantillon frais : Des lacunes et des fibres protéiques plus fragmentées sont observées sous forme de déformations et de ruptures partielles du réseau gluten. La surface des granules d'amidon apparaît légèrement plus irrégulière, avec quelques signes de rétrogradation (réassociation des chaînes amylose). La structure alvéolaire est généralement conservée, bien que certains pores soient déformés ou élargis sous l'effet de la pression des cristaux de glace lors de la congélation.

Des microfissures sont visibles à l'interface gluten-amidon, signe d'un début de déstructuration mécanique.

Discussion scientifique :

Les modifications observées après 7 jours de congélation sont cohérentes avec les travaux de **Ribotta et al. (2003)** sur l'impact de la congélation sur la microstructure du pain. La formation de cristaux de glace pendant la congélation exerce une pression mécanique sur les parois cellulaires de la mie, conduisant à une déformation et à une rupture partielle du réseau de gluten. Ces cristaux, lors de la recristallisation (phénomène d'Ostwald) pendant le stockage, peuvent atteindre des tailles suffisantes pour endommager irréversiblement la matrice protéique (**Autio & Laurikainen, 1997**).

La rétrogradation partielle de l'amidon, même après 7 jours, est signalée par **Primo-Martín et al. (2007)** comme un facteur majeur de rassissement accéléré du pain congelé. L'amylose rétrograde rapidement (en quelques heures à jours), tandis que

Chapitre 03 : Résultat et discussion

l'amylopectine rétrograde plus lentement (sur plusieurs semaines), expliquant les modifications de texture progressives observées.

C. Image (C) : Pain de farine : Surgelé 1 mois
Observations microstructurales :

Le réseau gluten est très désorganisé avec de larges zones de rupture et une perte évidente de continuité de la matrice protéique. Les granules d'amidon présentent des signes avancés de rétrogradation, avec une surface plus rugueuse et une agrégation plus prononcée. La structure alvéolaire est très modifiée : présence de pores irréguliers dilatés et coalescents, qui révèlent un défaut partiel de la structure de la mie. Zones sombres et denses (en bas de l'image) typiques d'un phénomène de synérèse (exsudation d'eau) suivi de zones déshydratées

Discussion scientifique :

Un mois de congélation provoque des dommages microstructuraux sévères et irréversibles. Selon **Meziani et al. (2011)**, les cycles de recristallisation répétés (lors des fluctuations de température en stockage) conduisent à l'agglomération progressive des cristaux de glace (maturation d'Ostwald), générant des contraintes mécaniques importantes et des déchirures profondes dans la matrice gluten-amidon. Ces modifications se traduisent macroscopiquement par une augmentation de la dureté, une diminution de l'élasticité et une détérioration de la qualité organoleptique du pain. La rétrogradation avancée de l'amylopectine, complète après plusieurs semaines, est documentée par **Delcour et al. (2010)** comme responsable de la recristallisation prononcée observable en MEB sous forme de zones denses et agrégées. Cette rétrogradation réduit la digestibilité enzymatique de l'amidon (formation d'amidon résistant de type III), modifiant ainsi la valeur glycémique et nutritionnelle du pain.

D. Image (D) – Pain de Semoule: Frais (Témoin) Observations de microstructure:

L'image MEB du pain frais de semoule présente une microstructure différente de celle du pain de farine et reflète les caractéristiques spécifiques de la semoule de blé dur: C'est la structure de mie la plus dense et la plus compacte, avec des pores plus petits et moins réguliers, caractéristique des pains de farine de semoule de blé dur (*Triticum durum*). Un réseau protéique solide mais différent: la semoule, qui contient plus de protéines que la farine ordinaire (12–14 % contre 10–12 %), forme un gluten plus résistant et moins élastique. Les granules d'amidon de type B et A sont bien intégrés et présentent la distribution bimodale typique du blé dur, avec des surfaces lisses et une bonne cohésion avec la matrice protéique. La microstructure est caractérisée par des fragments de grande taille, liés à la granulométrie plus grossière de la semoule.

Discussion scientifique :

Le pain de semoule présente naturellement une microstructure plus dense en raison des

Chapitre 03 : Résultat et discussion

propriétés rhéologiques spécifiques du gluten de blé dur. Selon **Sissons (2008)**, la semoule de blé dur est particulièrement riche en protéines de haute qualité (gliadines ω et gluténines de haute masse moléculaire), qui confèrent au réseau de gluten une ténacité et une résistance à la déformation supérieures à celles du blé tendre. Cette propriété se reflète en MEB par des filaments protéiques plus épais et plus résistants. La distribution bimodale des granules d'amidon (grands granules de type A, $\varnothing > 10 \mu\text{m}$, et petits granules de type B, $\varnothing < 10 \mu\text{m}$) observée est bien documentée chez *Triticum durum* (**Stoddard, 1999**). La surface lisse des granules confirme leur intégrité et leur bonne gélatinisation lors de la cuisson.

E. Image (E) : Pain de Semoule : 7 jours :
sous maxi température glacée Microstructural observations:
Après 7 jours à -18°C , la microstructure du pain de semoule présente des variations modérées déjà observables : Des discontinuités se présentent au niveau du réseau protéique, mais le gluten de blé dur est, grâce à sa structure, plus robuste et plus résistant aux dommages mécaniques causés lors de la présence des cristaux de glace. Les granules d'amidon semblent bien intégrés dans la matrice de manière générale, avec des signes initiaux de rétrogradation mieux marqués que dans le pain de farine. La structure alvéolaire présente une légère déformation des membranes cellulaires, indication de l'action mécanique des cristaux de glace, mais sans effondrement majeur de la structure.

Présence de quelques microfissures à l'interface gluten-amidon, de moindre intensité que dans le pain de farine à même durée de congélation.

Discussion scientifique :

La meilleure résistance relative du pain de semoule à 7 jours de congélation peut être attribuée à la qualité supérieure des protéines du blé dur. Selon **Joye et al. (2009)**, les protéines du blé dur forment un réseau de gluten plus réticulé et plus résistant aux contraintes mécaniques, expliquant leur plus grande stabilité lors de la congélation. De plus, la teneur plus élevée en caroténoïdes et en pigments xanthophylles de la semoule peut exercer un effet antioxydant protecteur sur les lipides membranaires, réduisant partiellement les dommages oxydatifs liés à la congélation. La rétrogradation plus lente de l'amidon de blé dur est documentée par **Vansteelandt & Delcour (1998)**, qui l'attribuent à la structure cristalline plus stable de l'amylopectine du blé dur (type B), plus résistante à la rétrogradation que celle du blé tendre.

F. Image (F) : Pain base Semoule : Congelé 1 mois Observations microstructurales :

La caractérisation via microscopie électronique à balayage (MEB) du pain de semoule ayant subi une congélation de 30 jours fait état de modifications structurelles importantes bien qu' intrinsèquement différentes de celles notées dans le pain de farine : On observe une aggradation importante et étalée des grains d'amidon détectables à la surface, et l'amidon expose les signes d'une rétrogradation avancée. La structure alvéolaire présente d'importantes déformations liées à l'épaississement des parois cellulaires et à des pores plus irréguliers, conséquences de la pression cumulative que

Chapitre 03 : Résultat et discussion

les cristaux de glace exercent sur toute la durée de stockage. La texture globale de la mie apparaît plus homogène mais plus dense, avec une perte de la structure ouverte caractéristique du pain frais.

Discussion

scientifique:

Bien que le pain de semoule présente une meilleure résistance initiale à la congélation, une durée d'un mois s'avère suffisante pour provoquer des dommages microstructuraux significatifs. Selon **Boukid et al. (2018)**, la congélation prolongée du pain à base de semoule conduit à une dénaturation progressive des protéines de gluten, réduisant leur capacité à retenir l'eau et à maintenir l'élasticité de la mie. La rétrogradation avancée de l'amylopectine, documentée comme étant plus résistante chez le blé dur mais néanmoins inexorable sur le long terme, contribue à la rigidification de la structure. La formation d'amidon résistant de type III (RS3), résultant de la rétrogradation de l'amylopectine lors de la congélation prolongée, est rapportée par **Sajilata et al. (2006)** comme modifiant significativement le profil nutritionnel du pain : réduction de l'index glycémique, augmentation des fibres alimentaires fonctionnelles, mais aussi réduction de la digestibilité globale des glucides.

Comparaison entre les échantillons :

Image (A) et Image (D) : Pains frais
Comparaison microstructurale :

En comparant les images MEB des deux types de pain frais, on observe des différences microstructurales essentielles, qui reflètent la différence de nature des matières premières utilisées : Réseau protéique : structure Le pain de farine (A) a un réseau de gluten plus lâche, plus étirable, avec des filaments fins et une structure plus ouverte. À l'inverse, le pain de semoule (D) présente un réseau protéique plus dense et plus compact, avec davantage de liaisons inter-protéiques, traduisant l'abondance de gluténines de haute masse moléculaire dans le blé dur Structure alvéolaire. La mie du pain de farine (A) a des alvéoles plus larges et plus réguliers, preuve de la bonne extensibilité du gluten de blé tendre. La mie du pain de semoule (D) présente de plus petites alvéoles et plus denses, caractéristiques du gluten plus tenace du blé dur, moins favorable à la dilatation gazeuse.

Granules d'amidon : La mie du pain de semoule (D) est plus dense et contient plus de granules d'amidon que celle du pain de farine (A), ce qui contribue à une texture plus homogène.

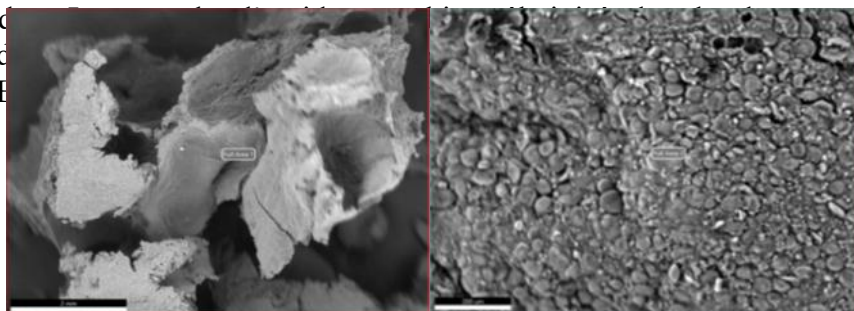


Image (B) et Image (E) : Pains congelée 7 jours

Chapitre 03 : Résultat et discussion

Comparaison microstructure :

Après 7 jours de congélation, les deux types de pain présentent des modifications, mais avec une intensité différente : Principales lésions du réseau de gluten : c) du pain de farine (B) avec des dommages plus importants sur le réseau protéique, casses plus larges et plus désorganisées. Les dommages subis par le pain de semoule (E) sont moins étendus en raison de la solidité de son gluten et de la bonne conservation de la continuité de la matrice protéique.

Rétrogradation de l'amidon : Dans les deux cas, des signes précoces de rétrogradation sont observés, mais ils semblent plus avancés dans le pain à la farine (B) que dans le pain à la semoule (E), ce qui concorde avec la plus grande stabilité cristalline de l'amylopectine (B) dans le (E) blé dur.

Structure alvéolaire : La structure alvéolaire du pain à la farine (B) est plus dégradée que celle du pain à la semoule (E), ce qui reflète une plus grande résistance mécanique.

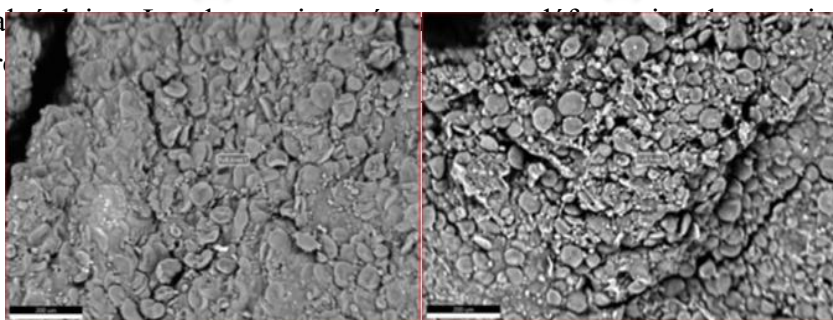


Image (C) et Image (F) : Pains Congelés 1 mois

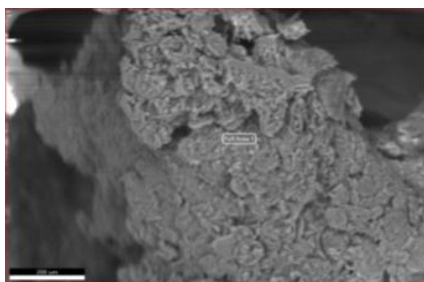
Comparaison microstructurale :

Après un mois de congélation, les deux types de pain présentent des dommages microstructuraux sévères, bien que des différences significatives subsistent : Dégradation générale : On observe dans le pain de farine (C) une dégradation microstructurale plus avancée et plus hétérogène avec présence de zones de synérèse évidentes (zones sombres et denses) coexistants avec des zones très poreuses et désorganisées. Le pain de semoule (F) présente une dégradation plus homogène, bien que significativement dégradé, ce qui reflète une résistance plus uniforme à la déstructuration.

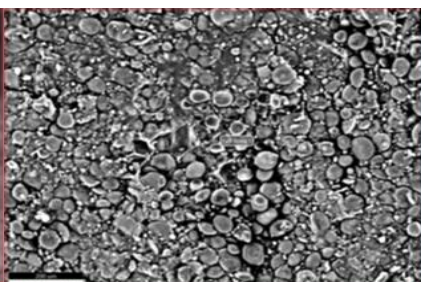
Rétrogradation de l'amidon : Dans les deux pains, on observe une rétrogradation, mais elle est plus hétérogène dans le pain de farine (C), où des zones de forte recristallisation alternent avec des zones d'amidon encore partiellement amorphe. Dans le pain de semoule (F), la rétrogradation paraît plus homogène, ce qui traduit une cinétique de rétrogradation plus lente et plus régulière.

État du réseau de gluten : Dans les deux cas, la matrice protéique est fortement endommagée, mais les fragments protéiques du pain de semoule (F) restent plus volumineux et moins fragmentés que ceux du pain de farine (C), ce qui suggère une meilleure résistance des liaisons inter-protéiques.

(C)



(F)



Conclusion

Cette étude a été menée dans le but d'évaluer de manière comparative les impacts physico-chimiques et microbiologiques d'un stockage prolongé par congélation (allant jusqu'à 90 jours) sur deux types de pains les plus consommés en Algérie : le pain à base de farine de blé tendre (F) et le pain à base de semoule de blé dur (S). L'analyse approfondie et la discussion des résultats obtenus permettent d'apporter des réponses claires et précises à la problématique posée et cela à travers les conclusions majeures suivantes :

Limites de la sécurité microbiologique et moisissures : Contrairement à l'hypothèse théorique stipulant que la congélation à -18°C assure une stabilité biologique absolue, nos résultats pratiques démontrent que ce procédé ne garantit pas la conservation indéfinie du pain. La phase de décongélation à température ambiante, induit un choc thermique favorable à la levée de dormance des spores fongiques qui semblent être des *Aspergillus Niger* et *Penicillium spp.*. Sur le plan sanitaire, les deux types de pain dépassent les seuils de sécurité et deviennent microbiologiquement non sûrs dès que la durée de congélation excède un mois (30 jours).

Dynamique hydrique et phénomènes de rassissement : L'évolution de la Capacité de Rétention d'Eau (CRE) au cours des 90 jours de stockage n'est pas linéaire. Elle est marquée par une chute brutale initiale (J7-J14) liée à la rétrogradation de l'amidon, suivie d'une augmentation paradoxale à 1 mois due à la déstructuration de la matrice gluténique par les cristaux de glace, avant de tendre vers une stabilisation avec une perte de poids continue.

Étude comparative du développement des moisissures : L'origine botanique et la composition biochimique de la matière première influencent directement la vitesse d'apparition du moisi :

Le pain de farine (F) : Présente une sensibilité plus élevée et une croissance fongique visible (moisissure) beaucoup plus rapide et importante sur les échantillons frais ainsi que sur ceux congelés à court terme (7 et 14 jours). Cette vulnérabilité précoce s'explique par la disponibilité de l'eau libre favorisant le développement des champignons.

Le pain de semoule (S) manifeste un avantage relatif avec un retard notable de l'apparition des moisissures visibles à court terme (Frais, J7 et J14). Cela est dû à sa teneur plus élevée en protéines et en fibres qui lient fortement les molécules d'eau, réduisant ainsi l'eau libre nécessaire au développement initial des micro-organismes. Cependant, pour les stockages à long terme (1 à 3 mois), la congélation prolongée cause des dommages cellulaires si importants que le type de farine n'influence plus la cinétique, et les deux pains s'altèrent de manière similaire avec une persistance bactérienne sous forme de (biofilms) pour le pain de semoule.

Limites de l'étude et Perspectives :

Les contraintes enregistrées au niveau des équipements de laboratoire, ainsi que le manque constaté de certains produits et réactifs chimiques indispensables, ont empêché un approfondissement des analyses structurales et microbiologiques, ce qui ouvre largement la voie à des études futures complémentaires.

Sur cette base, nous proposons comme perspectives pour cette recherche :

Conclusion

1. L'étude des propriétés texturales du pain congelé à l'aide d'un analyseur de texture (Texture Profile Analyzer TPA).
2. La mesure précise de l'activité de l'eau (A_w) au moyen d'un A_w -mètre afin de déterminer avec exactitude la cinétique de conservation.
3. Le suivi du phénomène de rétrogradation de l'amidon (Starch Retrogradation) en utilisant des techniques d'analyse thermique (telles que la DSC).
4. La réalisation d'analyses chimiques complémentaires liées aux constituants de la farine, dont l'exécution nécessite la disponibilité de réactifs et de solutions spécifiques.
5. L'étude de l'impact de différents modes de décongélation thermique (four traditionnel, micro-ondes) sur la destruction ou l'inhibition de la flore fongique émergente.

Par conséquent, le développement de cet axe de recherche reste tributaire du renforcement des laboratoires universitaires en moyens techniques nécessaires, au service de l'amélioration de la qualité du produit national.

Recommandation :

Sur la base des résultats obtenus dans cette étude, les recommandations suivantes peuvent être formulées :

1. Pour les boulangeries et les unités de production : Il est préférable de précuire les pains à 80-90% de la cuisson totale avant congélation, puis de finaliser la cuisson directement après décongélation. Cette technique réduit la perte d'humidité et préserve une meilleure texture du produit fini.
2. Pour les laboratoires universitaires et les centres de recherche : Intégrer en priorité l'analyseur de texture (TPA) et l'Aw-mètre dans l'équipement des laboratoires de contrôle de la qualité des aliments, car ils constituent des outils indispensables pour une évaluation objective de la qualité des produits de boulangerie.

Référence bibliographique :

- Alpers, T., Strobl, M., & Rohn, S. (2021). _Impact of storing condition on staling and microbial spoilage behavior of bread._ Foods, 10(1), 76.
- Anast, J. M., Alvarez-Ordóñez, A., & Prieto, M. (2024). _Microbiological quality assessment of commercially available breads._ Foods, 13(20), 3271.
- ANSES. (2020). _Table de composition nutritionnelle Ciquel - Pain courant français.
- Autio, K., & Laurikainen, T. (1997). Relationships between flour/dough microstructure and dough handling and baking properties. Trends in Food Science & Technology, 8(6), 181–185.
- Baik, M. Y., & Chinachoti, P. (2000). _Moisture redistribution and phase transitions during bread staling._ Cereal Chemistry, 77(4), 484–488.
- BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (2009). _Starch: Chemistry and Technology_ 3rd ed. Academic Press.
- Besbes, E., Jury, V., Monteau, J. Y., & Le Bail, A. (2014). _Effect of baking conditions and storage with crust on the moisture profile, local textural properties and staling kinetics of pan bread._ Food Research International, 58, 80–89.
- Boukid, F., Folloni, S., Sforza, S., Vittadini, E., & Prandi, B. (2018). Current trends in ancient grains-based foodstuffs. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 17(1), 123–136.
- Cauvain, S. P. (2015). _Breadmaking: Improving Quality_ 3rd ed. Woodhead Publishing.
- Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. (1999). _Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections._ Science, 284(5418), 1318–1322.
- Czuchajowska, Z., & Pomeranz, Y. (1989). _Differential scanning calorimetry, water activity, and moisture contents in crumb center and near-crust zones of bread during storage._ Cereal Chemistry, 66(4), 305–309.

- De la Hera, E., Rosell, C. M., & Gómez, M. (2021). _Physical Properties of Flours Obtained from Wasted Bread Crusts and Crumbs._ *Foods*, 10(2), 387.

- . Dexter, J. E., & Edwards, N. M. (1998). _Implications of grading factors on durum wheat quality._ *Association of Operative Millers Bulletin*, 2, 7075-7080.

- EFSA. (2016). _Risk of Bacillus cereus and its toxins in food._ *EFSA Journal*, 14(11), e04527.

- Eliasson, A. C. (1983). _Differential scanning calorimetry studies on wheat starch-gluten mixtures._ *Journal of Cereal Science*, 1(3), 199–205.

- European Parliament and Council. (2005). _Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs._ *Official Journal of the European Union*, L 338, 1-26.
- FAO. (1996). _Le pain et les produits de panification._ *FAO Alimentation et Nutrition*, 54.

- FAO/ISO. (2009). _Céréales et produits céréaliers — Détermination de la teneur en humidité._ *ISO 712:2009*.

- . FAO/WHO. (2016). _Safety evaluation of mycotoxins._ *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*, 83rd report. *WHO Technical Report Series*, 1002.

- Fennema, O. R. (1996). _Food Chemistry_ 3rd ed. Marcel Dekker.

- Frisvad, J. C., Smedsgaard, J., Samson, R. A., Larsen, T. O., & Thrane, U. (2007).
Fumonisin B2 production by Aspergillus niger. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(23), 9727–9732.

- Gan, Z., Ellis, P.R., & Schofield, J.D. (1995). Mini review: Gas cell stabilisation and gas retention in wheat bread dough. *Journal of Cereal Science*, 21(3), 215–230.

- Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K., & Delcour, J. A. (2005). _Wheat flour constituents: how they impact bread quality._ *Trends in Food Science & Technology*, 16(1–3), 12–30.

- Goesaert, H., Slade, L., Levine, H., & Delcour, J. A. (2009). _Amylases and bread firming — an integrated view._ Journal of Cereal Science, 50(3), 345–352.

- Gray, J. A., & BeMiller, J. N. (2003). _Bread staling: Molecular basis and control._ Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2(1), 1–21.

- Gusakov, A. V., Kondratyeva, E. G., & Sinitsyn, A. P. (2011). _Comparison of Two Methods for Assaying Reducing Sugars in the Determination of Carbohydrase Activities._ International Journal of Analytical Chemistry, 2011, 1–4

- He, H., & Hosney, R. C. (1990). _Changes in bread firmness and moisture during long-term storage._ Cereal Chemistry, 67(6), 603–605.

- Hug-Iten, S., Handschin, S., Conde-Petit, B., & Escher, F. (1999). Changes in starch microstructure on baking and staling of wheat bread. LWT – Food Science and Technology, 32(5), 255–260.

- . ICMSF. (1996). _Microorganisms in Foods 5: Microbiological specifications of food pathogens._ Blackie Academic & Professional.

- INRAE. _Microscopie Electronique à Balayage (MEB)._
 - ISO. (2013). _Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes._ ISO 4833-1:2013.

- ISO. (2024). _Céréales et produits céréaliers — Détermination de la teneur en eau._ ISO 712-1:2024.

- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). _Modern Food Microbiology_ 7th ed. Springer.

- Joye, I.J., Lagrain, B., & Delcour, J.A. (2009). Endogenous redox agents and enzymes that affect protein network formation during breadmaking. Journal of Cereal Science, 50(1), 1–10.

- Lagrain, B., Wilderjans, E., Glorieux, C., & Delcour, J. A. (2012). _Importance of Gluten and Starch for Structural and Textural Properties of Crumb from Fresh and Stored Bread._ Food Biophysics, 7(3), 173–181.

- Le Bail, A., Monteau, J. Y., Jury, V., & Zuniga, R. (2015). _Impact of local hydrothermal

treatment during bread baking on staling._ Food and Bioprocess Technology, 8(6), 1171–1181.

- Legan, J. D. (1993). _Mould spoilage of bread and its prevention._ International Biodeterioration & Biodegradation, 32(1-3), 33–53.

- Leuschner, R. G. K., O'Callaghan, M. J. A., & Arendt, E. K. (1999). _Moisture distribution and microbial stability in part-baked and rebaked bread during storage._ European Food Research and Technology, 210(1), 33–38.

-Meziani, S., Jasniewski, J., Gaiani, C., Ioannou, I., Muller, J.M., Ghoul, M., & Desobry, S. (2012). Effects of freezing treatments on viscoelastic and structural properties of frozen sweet dough. Journal of Food Engineering, 109(3), 414–420.

- Miller, G. L. (1959). _Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar._ Analytical Chemistry, 31(3), 426–428.

- Nionelli, L., & Rizzello, C. F. (2016). _Sourdough-based biotechnologies for gluten-free foods._ Foods, 5(3), 65.

- OMS. (2003). _Régime alimentaire, nutrition et prévention des maladies chroniques._ Rapport technique 916.

- Patel, B. K., Waniska, R. D., & Seetharaman, K. (2005). _Impact of different baking processes on bread firmness and starch structure at similar water content._ Journal of Cereal Science, 42(1), 18–26.

- Pepe, O., Blaiotta, G., Moschetti, G., Greco, T., & Villani, F. (2003). _Rope-producing Bacillus spp. from wheat bread and strategy for their control by lactic acid bacteria._ Applied and Environmental Microbiology, 69(1), 232-239.

- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). _Fungi and Food Spoilage_ 3rd ed. Springer.

- Primo-Martin, C., de Beukelaer, H., Hamer, R. J., & van Vliet, T. (2006). _The role of the gluten network in the crispness of bread crust._ Journal of Cereal Science, 43(3), 342–352.

- Reid, D. S. (1997). _Fundamentals of food freezing._ In M. S. Rahman (Ed.), _Handbook of Food Preservation_ pp. 27-48. Marcel Dekker.

- Ribotta, P. D., León, A. E., & Añón, M. C. (2004). _Effect of freezing and frozen storage of doughs on bread quality._ *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(4), 913–918.

- Ribotta, P. D., & Le Bail, A. (2007). _Thermo-physical assessment of bread during staling._ *LWT - Food Science and Technology*, 40(5), 879–884.

- Roos, Y. H. (1995). _Phase Transitions in Foods._ Academic Press.
- Ronda, F., Quilez, J., Pando, V., & Roos, Y. H. (2011). _Fermentation time and fiber effects on bread staling._ *Journal of Food Engineering*, 105(2), 229–236.

- Rosell, C. M., & Gómez, M. (2007). _Frozen dough and partially baked bread: an update._ *Food Reviews International*, 23(3), 303–319.

- Rosell, C. M. (2011). _The Science of Doughs and Bread Quality._ Woodhead Publishing.

- Rooyen, J., Delcour, J. A., & Pareyt, B. (2023). _Wheat starch structure-function relationship in breadmaking: A review._ *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(3), 2087–2116.
- Sajilata, M.G., Singhal, R.S., & Kulkarni, P.R. (2006). Resistant starch – A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1), 1–17.

- Sahlström, S., Parkkonen, T., & Kaukovirta-Norja, A. (2004). _Effects of frozen storage and baking on water-soluble arabinoxylan._ *Journal of Cereal Science*, 39(2), 225–232.

- Scanlon, M. G., & Zghal, M. C. (2001). _Bread properties and crumb structure._ *Food Research International*, 34(10), 841–864.

- Seiler, D. A. L. (1989). _Moulds and mycotoxins in cereal products._ In Y. Pomeranz (Ed.), *Cereal Science and Technology* pp. 147-194. Aberdeen University Press.
- Shi, X., & BeMiller, J. (2024). _Unraveling the Complexities of Starch Retrogradation._ *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(15), 4821–4841.

- Shewry, P.R., & Tatham, A.S. (1997). Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *Journal of Cereal Science*, 25(3), 207–227.

- Sissons, M. (2008). Role of durum wheat composition on the quality of pasta and bread. *Food*, 2(2), 75–90.

- Slavin, J. (2004). _Whole grains and human health._ Nutrition Research Reviews, 17(1), 99–110.

- Stoddard, F.L. (1999). Survey of starch particle-size distribution in wheat and related species. Cereal Chemistry, 76(1), 145–149.

- Traynham, T. L., Myers, D. J., Carriquiry, A. L., & Johnson, L. A. (2007). _Evaluation of Water-Holding Capacity for Wheat–Soy Flour Blends._ Journal of the American Oil Chemists' Society, 84(2), 151–155.

- USDA. (2020). _Dietary Guidelines for Americans 2020–2025_ 9th ed.

- Valková, V., Dúranová, H., & Mareček, J. (2021). _Microbiological quality of frozen bakery products._ Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences, 15, 1029-1036.

- Vansteelandt, J., & Delcour, J.A. (1998). Physical behaviour of durum wheat starch (*Triticum durum*) during industrial pasta processing. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(7), 2499–2503.

- Visvanathan, R., Jayathilake, C., & Liyanage, R. (2020). _Critical review on conventional spectroscopic α -amylase activity detection methods._ Food Chemistry, 311, 125940.

- Wojciechowicz-Budzisz, A., Gil, Z., Szychaj, R., & Pejcz, E. (2015). _Effect of Acetylated Retrograded Starch (RS4) on the Nutritional Value and Microstructure of Wheat Bread._ LWT - Food Science and Technology, 63(2), 945–951.

Annexe



Annexe 01 : pain de semoule (blé dur).



Annexe 02 : pain de farine (blé tendre).



Annexe 03 : placés le pain dans des sacs



Annexe 04: congélation et conservés
Au congélateur à -18°C .