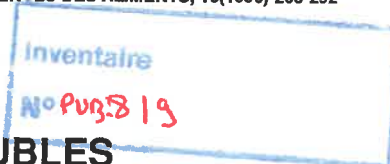




SCIENCES DES ALIMENTS, 10(1990) 283-292



STRUCTURE ET PROPRIÉTÉS DE PENTOSANES HYDROSOLUBLES DE LA FARINE DE BLÉ

STRUCTURE AND PROPERTIES OF WATER-SOLUBLE PENTOSANS FROM WHEAT FLOUR

Catherine M.G.C. RENARD, X. ROUAU (*), J.F. THIBAUT (1)

RÉSUMÉ

Les pentosanes sont un composant quantitativement mineur du blé mais ils ont une grande influence sur les propriétés technologiques de la farine, notamment par leurs propriétés rhéologiques. Les pentosanes ont été extraits de farine de blé Top type 55 par de l'eau à 4°C. Après déprotéinisation et amylolyse les pentosanes sont précipités par l'éthanol 85 % v/v. Le rendement est de 1% de la matière sèche initiale. Le produit obtenu comprend 33 % (p/p) de xylose, 25 % d'arabinose et 11 % de galactose. La teneur en acide férulique est faible (0,1 %). L'analyse des types des liaisons osidiques par perméthylation montre la présence d'arabinoxylanes et d'arabinogalactanes de type II. Deux populations sont séparées par filtration sur gel de Sépharose CL-6B. L'acide férulique est élué avec la fraction de masse élevée. Les pentosanes présentent des viscosités élevées. Les traitements par des agents oxydants entraînent une augmentation de la viscosité sans réelle prise en gel.

Mots clés : blé, *Triticum vulgare*, farine, pentosanes, structure, viscosité.

SUMMARY

Pentosans are quantitatively minor components of wheat but they influence technological properties of flour, notably by their rheological behaviour. Water-soluble pentosans have been extracted from flour (wheat Top, grade 55) by cold

(1) Institut National de la Recherche Agronomique, Laboratoire de Biochimie et Technologie des Glucides, rue de la Géraudière, B.P. 527, 44026 Nantes Cedex 03, France.

(*) Adresse actuelle : Institut National de la Recherche Agronomique, Laboratoire de Technologie des Céréales, place Viala, 34060 Montpellier Cedex, France.

water (4°C). The pentosans were collected by alcohol precipitation (*figure 1*) after deproteinisation and removal of residual starch. The yield was 1% of the flour dry weight. The precipitate contained 33% (w/w) xylose, 25% arabinose and 11% galactose. The ferulic acid content was low (0.1%). The precipitate also contained 13% proteins, 5% uronic acids and minor amounts of glucose, mannose, rhamnose and fucose (*figure 2*). Analysis of the glycosidic linkages by methylation analysis (*table 1*) showed the presence of arabinoxylans and of type II arabinogalactans. Two populations could be separated by gel-filtration on Sepharose CL-6B (*figure 3*). Ferulic acid was eluted with the high molecular weight fraction. The water-soluble pentosans were highly viscous. Treatment with oxidants such as persulfate or chlorite led to an increase in viscosity but without obtention of a gel.

Key-words: *wheat, Triticum vulgare, flour, pentosans, structure, viscosity.*

1 - INTRODUCTION

Les pentosanes sont des composants mineurs du grain de blé (2 à 3 % p/p), mais ils jouent un rôle important dans la panification par leur influence sur la capacité de rétention d'eau et la viscosité de la pâte (CAWLEY, 1964 ; D'APPOLONIA, 1971 ; JELACA et HLYNKA, 1971 ; PATIL *et al.*, 1975, 1976 ; McCLEARY *et al.*, 1986). Leurs effets sont accrus après traitement de la pâte par des agents oxydants (HOSENEY et FAUBION, 1981 ; MORITA *et al.*, 1974 ; SHELDON et D'APPOLONIA, 1985). Ils interviennent aussi pour diminuer la rétrogradation des gels d'amidon (KIM et D'APPOLONIA, 1977).

Les pentosanes de blé sont des polymères constitués essentiellement de résidus xylose formant des chaînes linéaires par des liaisons β (1 \rightarrow 4) et portant sur les O-2 et O-3 des ramifications constituées d'une unité arabinose (PERLIN, 1951a, b ; MONTGOMERY et SMITH, 1955 ; FINCHER et STONE, 1986). Galactose, glucose et acides uroniques y sont associés en quantité plus faible (ERLIN, 1951a ; MORITA *et al.*, 1974) ; des acides féruliques sont aussi présents (MORITA *et al.*, 1974 ; NEUKOM *et al.*, 1967 ; GEISSMAN et NEUKOM, 1973 ; NEUKOM, 1980). Les pentosanes sont divisés en deux groupes selon leur solubilité : pentosanes hydrosolubles (environ un quart) et pentosanes insolubles (souvent appelés hémicelluloses), sans qu'il y ait de différence de structure marquée entre ces deux fractions (FINCHER et STONE, 1986).

Le but de notre travail était d'étudier la structure et les propriétés physico-chimiques de pentosanes extraits par l'eau à 4°C afin de minimiser les dégradations et notamment l'action des enzymes endogènes du blé (CAWLEY, 1964).

2 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Isolement des pentosanes hydrosolubles

Les pentosanes ont été extraits de farine de blé Top type 55 selon le schéma donné en figure 1. Après extraction à l'eau à 4°C (1,5 l pour 300 g de farine), le surnageant est récupéré par centrifugation (6 800 g, 20 min). Les surnageants sont amenés à ébullition pendant deux minutes. Le matériel coagulé (protéines) est éliminé par filtration sur verre fritté (porosité 3).

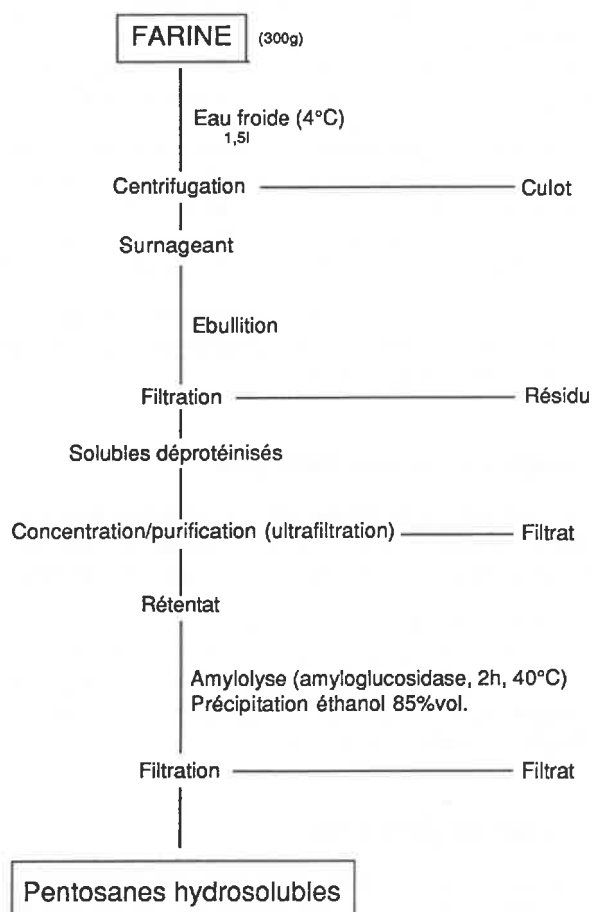


Figure 1
Schéma d'extraction des pentosanes hydrosolubles

Figure 1
Extraction scheme of water soluble pentosans

Le filtrat est concentré par ultrafiltration (membrane de porosité 10 000) et additionné d'azide de sodium (0,01 %). L'amidon résiduel est dégradé par de l'amylglucosidase (Merck, Darmstadt, RFA) (500 mg) pendant 2 h à 40°C. Les pentosanes sont précipités par de l'éthanol 85 % (v/v) et récupérés par filtration sur verre fritté (porosité 4). Après lavage par l'éthanol 85 % (v/v) ils sont séchés par échange de solvants (éthanol, acétone, éther).

2.2 Méthodes analytiques

Les teneurs en oses neutres ont été mesurées individuellement par chromatographie liquide-gaz après dérivatisation en acétates d'alditols selon la méthode décrite par HOEBLER *et al.* (1989).

Les acides uroniques ont été déterminés selon AHMED et LABAVITCH (1977), les protéines par la méthode de Kjeldahl en utilisant un coefficient de 5,7. L'acide férulique a été identifié par HPLC (CREPEAU et THIBAUT, 1988) et quantifié par sa densité optique à 375 nm à pH 10 (FRY, 1982).

Dans les fractions obtenues après chromatographie, les teneurs en oses neutres et en acides uroniques ont été respectivement mesurées par les méthodes à l'orcinol (TOLLIER et ROBIN, 1979) et au mHDP (THIBAUT, 1979) (étalons : xylose et acide glucuronique). Les valeurs obtenues pour les oses neutres ont été corrigées de l'interférence des acides uroniques.

Les types de liaisons osidiques ont été analysés par perméthylation selon la méthode de HAKAMORI (1964) modifiée par JANSSEN *et al.* (1976), LOMAX *et al.* (1983) et HARRIS *et al.* (1984).

2.3 Méthodes physico-chimiques

Cinq mg de pentosanes ont été injectés sur une colonne de Sépharose CL-6B (Pharmacia) (80 x 1,5 cm), éluée par du tampon acétate de sodium 0,1 M, pH 4 avec un débit de 21 ml/h. Des fractions de 4 ml ont été collectées.

Les mesures viscosimétriques ont été obtenues grâce à un viscosimètre capillaire de type Ubbelohde à dilution automatique (Fica). Elles ont été effectuées à 25°C, dans l'eau distillée et dans NaCl 0,1 M. La viscosité intrinsèque est obtenue par extrapolation à concentration nulle de la viscosité réduite par la relation de Huggins.

2.4 Essais de gélification

Des solutions de pentosanes ont été additionnées de persulfate d'ammonium (THIBAUT et ROMBOUTS, 1986) ou de chlorite de sodium (NEUKOM *et al.*, 1967) de façon à obtenir les concentrations finales suivantes : pentosanes 2 % ou 3 %, persulfate et chlorite 0,01 M.

Les tubes à essai contenant ces solutions ont été laissés une nuit à température ambiante avant observation de leur comportement.

3 - RÉSULTATS

3.1 Composition

Les pentosanes hydrosolubles représentent 1 % de la matière sèche initiale. La composition du matériel obtenu est donnée en figure 2. Les oses neutres sont la fraction principale du produit isolé, avec 73,6 % (p/p). Les oses principaux sont le xylose et l'arabinose, suivis du galactose. Le taux d'acides uroniques est assez élevé pour ce type de matériel (FINCHER et STONE, 1986). Glucose, mannose, rhamnose et fucose sont présents en proportions mineures. Le traitement par la chaleur a éliminé les protéines intracellulaires du blé mais il persiste près de 13 % de protéines car les pentosanes sont présents dans la paroi sous forme de glycoprotéines. La valeur trouvée est dans la gamme des résultats de la littérature (PATIL *et al.*, 1975). La teneur en acides phénoliques est faible par rapport aux valeurs rapportées pour d'autres matériels végétaux tels que les pulpes de betterave (ROMBOUTS et THIBAUT, 1986) ou d'autres fractions de grain de blé (FINCHER et STONE, 1986). Les spectres comparés à pH 10 et 4 de 250 à 450 nm et les chromatogrammes obtenus en HPLC (comparés avec des témoins) ont montré que l'acide férulique est le seul acide phénolique présent.

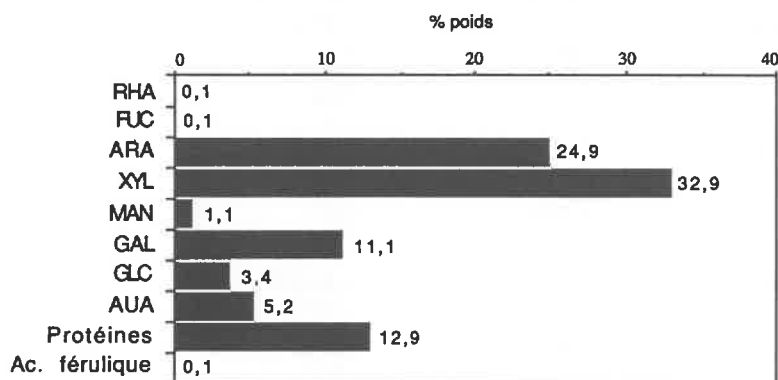


Figure 2
Composition (% p/p) des pentosanes hydrosolubles

Figure 2
Composition (weight %) of water soluble pentosans

3.2 Structure

3.2.1 Analyse des types de liaisons osidiques

Les résultats de l'analyse par méthylation sont donnés dans le tableau 1. Les pourcentages relatifs des oses correspondent à ceux obtenus par les acétates d'alditols. L'arabinose est présent à 98 % sous forme terminale : dérivé 1,4 diacétyl 2,3,5 triméthylarabinitol, qui correspond à un seul site de liaison, sur

le carbone 1. Les dérivés obtenus pour le xylose correspondent à des résidus liés en 1→4 (1,4,5 triacétyl 2,3 diméthylxylitol, qui provient de résidus liés en 1 et en 4) éventuellement porteurs de ramifications sur O-2 (dérivés acétylés en 1, 2, 4 et 5) ou doublement substitués en O-2 et O-3. A la différence des résultats de PERLIN (1951b) et MONTGOMERY et SMITH (1955) il n'a pas été détecté de résidus xylose substitués uniquement sur O-3. En supposant que le seul substituant possible du xylose est l'arabinose, le rapport xylose/arabinose obtenu est de 1,8, plus élevé que les valeurs rapportées par FINCHER et STONE (1986). Les dérivés du galactose correspondent à un galactane de type II, c'est-à-dire comportant des liaisons 1→3 ou 1→6 (dérivés acétylés en 2, 3 et 4 ou 2, 4 et 6), et éventuellement doublement substitués (dérivé acétylé en 2 et 4). Il ne semble pas y avoir de galactane de type I (liaisons 1→4). Les dérivés du glucose correspondent à des résidus inclus dans des chaînes par des liaisons 1→3 ou 1→4, c'est-à-dire à des glucanes mixtes.

Tableau 1
Acétates d'alditols partiellement méthylés
obtenus après méthylation et hydrolyse des pentosanes hydrosolubles

Table 1
*Partially methylated alditol acetates
obtained after methylation and hydrolysis of the water soluble pentosans*

	Liaisons	Dérivé méthylé	Pourcentages
Arabinose (furanose)	1	2,3,5 Ara	98
	1,3	2,5 Ara	0,5
	1,5	2,3 Ara	1,5
		Total	31,9 (35,2)
Xylose (pyranose)	1	2,3,4 Xyl	2
	1,4	2,3 Xyl	61
	1,2,4	3 Xyl	19
	1,2,3,4	Xyl	18
		Total	46,9 (46,6)
Galactose (pyranose)	1	2,3,4,6 Gal	4
	1,3	2,4,6 Gal	17
	1,6	2,3,4 Gal	16
	1,3,6	2,4 Gal	63
		Total	15,5 (12,8)
Glucose (pyranose)	1	2,3,4,6 Glc	32
	1,4	2,3,6 Glc	52
	1,3	2,4,6 Glc	16
		Total	3,5 (4,0)
	Mannose (pyranose)	1,4	2,3,6 Man
		Total	2,4 (1,3)

2,3,5 Ara signifie 1,4 diacétyl 2,3,5 triméthylarabinitol, etc. Ce dérivé provient d'un arabinofuranose lié en 1.

Les pourcentages sont donnés en % de la somme des surfaces des dérivés de l'ose.

La ligne "Total" contient pour chaque ose le pourcentage (% en moles) mesuré et entre parenthèses les valeurs obtenues par analyse des acétates d'alditols.

2,3,5 Ara means 1,4 di-O-acétyl 2,3,5 tri-O-méthylarabinitol, etc. This compound comes from a 1-linked arabinose residue.

The values given are the percentage of the surface of the peak obtained for that particular derivative to the sum of the surfaces of the peaks of all the derivatives of that sugar.

The "Total" line contains the mole % of the sugar and in parentheses the corresponding value obtained by alditol acetates analysis.

3.2.2 Répartition des poids moléculaires

Le chromatogramme obtenu par gel-filtration sur Sépharose CL-6B est donné en figure 3. La majorité des oses neutres sont élués au volume d'exclusion de la colonne mais une autre population est éluée vers $K_{av} = 0,6$. YEH *et al.* (1980) sur Sépharose CL-4B et PATIL *et al.* (1975) sur Biogel P-150 ont obtenus des répartitions similaires. Les acides uroniques semblent distribués de façon semblable aux oses neutres. Par contre, l'acide férulique est élué essentiellement avec la fraction de masse la plus élevée, de façon similaire à ce qui a été observé par YEH *et al.* (1980).

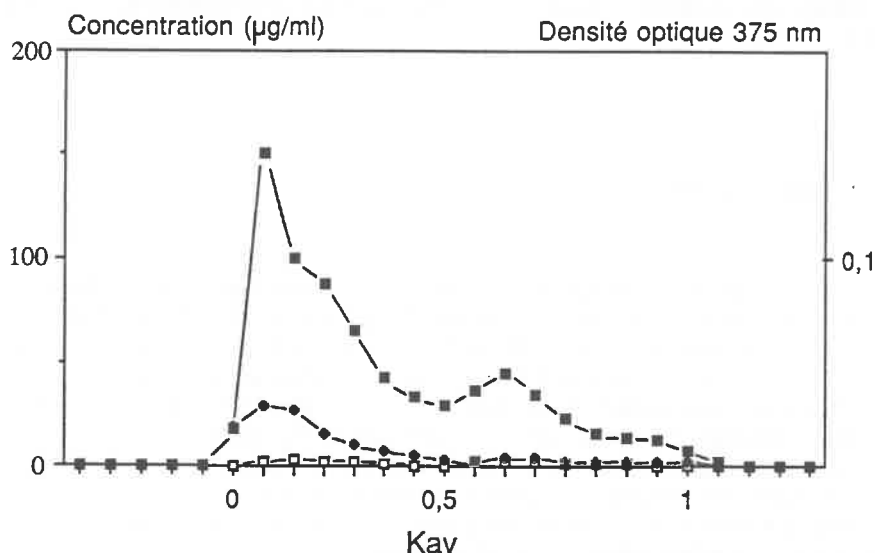


Figure 3
Gel-filtration des pentosanes hydrosolubles sur Sépharose CL-6B

Figure 3
Gel-filtration of water soluble pentosans on Sepharose CL-6B

Eluant : tampon acétate de sodium 0,1 M pH 4. ■ Oses neutres. □ Acides uroniques. ♦ Absorbance à 375 nm (acide férulique).

Eluant: sodium acetate buffer 0,1 M pH 4. ■ Neutral sugars. □ Anhydrouronic acid. ♦ Absorbance at 375 nm (ferulates).

3.3 Propriétés

3.3.1 Viscosité

Les pentosanes hydrosolubles isolés présentent de fortes viscosités intrinsèques : 214 ml/g en milieu eau distillée et 193 ml/g dans NaCl 0,1 M. Cette viscosité élevée est une des caractéristiques marquantes des pentosanes solubles, souvent constatée mais rarement mesurée (BAKER *et al.*, 1943 ; UDY, 1956 ; CAWLEY, 1964 ; D'APPLONIA, 1971 ; PATIL *et al.*, 1975 ; D'APPOLONIA et SHELDON, 1985 ; McCLEARY *et al.*, 1985 ; FINCHER et STONE, 1986). Malgré la présence de 5 % d'acides uroniques, ces pentosanes hydrosolubles ne manifestent pas de propriétés de polyélectrolytes.

3.3.2 Gélification oxydative

L'addition de persulfate n'a pas entraîné la prise en gel de solutions à 2 et 3 % de pentosanes, contrairement à la situation observée avec les pectines de betterave (THIBAUT et ROMBOUTS, 1986), ou de chlorite (NEUKOM *et al.*, 1967). Ces solutions, déjà visqueuses, ont par contre montré un épaississement lors de ces traitements. Ceci correspond aux données de la littérature, où des auteurs désignent sous le nom de gélification un simple processus d'épaississement : augmentation d'environ 9 % de la viscosité après traitement par H₂O₂ ou du persulfate (HOSENEY et FAUBION, 1980) ou observent le comportement de mélanges pentosanes + gluten (UDY, 1956), voir de pâtes (CAWLEY, 1964 ; PATIL *et al.*, 1976).

4 - CONCLUSION

Les pentosanes hydrosolubles ne forment pas une population homogène. Ils sont composés essentiellement d'arabinoxylanes et d'arabinogalactanes de type II. Deux types de polymères de masse molaire différente sont séparés par chromatographie de perméation sur gel. Les pentosanes sont pauvres en férulates et apparaissent incapables de gélifier lors d'un traitement oxydant. Une hypothèse possible sur la différence entre pentosanes solubles et insolubles est que ces derniers, plus riches en férulates (GEISSMAN et NEUKOM, 1973), sont présents dans la paroi sous forme de gels impliquant les férulates, tandis que les pentosanes solubles seraient incapables de former des gels à cause de leur faible teneur en acide férulique.

Manuscrit reçu le 20 juin 1989, accepté le 26 octobre 1989.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AHMED A.R., LABAVITCH J.M., 1977. A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. *J. Food Biochem.*, **1**, 361-365.

BAKER J.C., PARKER H.K., MIZE M.D., 1943. The pentosans of wheat flour. *Cereal Chem.*, **20**, 267-280.

CAWLEY R.W., 1964. The role of wheat flour pentosans in baking. II: Effect of added flour pentosans and other gums on gluten-

starch loaves. *J. Food Sci. Agric.*, **15**, 834-838.

CREPEAU M.J., THIBAUT J.F., 1988. Dosage des acides phénoliques dans les pectines de betterave. *Cah. Techn. INRA*, **17**, 33-42.

D'APPOLONIA B.L., 1971. Role of pentosans in bread and dough, a review. *Bakers Dig.*, **45**, 20-23.

- FINCHER G.B., STONE B.A., 1986. Cell walls components in cereal grain technology. *Adv. Cereal Sci. Technol.*, **8**, 207-295.
- FRY S.C., 1982. Phenolic components of the primary cell wall. Feruloylated disaccharides of D-galactose and L-arabinose from spinach polysaccharide. *Biochem. J.*, **203**, 493-504.
- GEISSMAN T., NEUKOM H., 1973. A note on ferulic acid as a constituent of the water-insoluble pentosans of wheat flour. *Cereal Chem.*, **50**, 414-416.
- HAKAMORI S., 1964. A rapid permethylation of a glycolipid and polysaccharide catalyzed by methylsulfinyl carbanion in dimethylsulfoxide. *J. Biochem.*, **55**, 205-208.
- HARRIS P.J., HENRY R.J., BLAKENEY A.B., STONE B.A., 1984. An improved procedure for the methylation analysis of oligosaccharides and polysaccharides. *Carbohydr. Res.*, **127**, 59-73.
- HOEBLER C., BARRY J.L., DAVID A., DELORT-LAVAL J., 1989. Rapid acid hydrolysis of plant cell wall polysaccharides and simplified quantitative determination of their neutral monosaccharides by gas-liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 360-365.
- HOSNEY R.C., FAUBION J.M., 1981. A mechanism for the oxidative gelation of wheat flour water-soluble pentosans. *Cereal Chem.*, **58**, 421-424.
- JANSSEN P.E., KENNE L., LIEDGRAN H., LINDBERG B., LÖNNGREN J., 1976. A practical guide to the methylation analysis of carbohydrates. *Chem. Commun. Univers. Stock-holm*, **8**, 1-20.
- JELACA S.L., HLYNKA I., 1971. Water-binding capacity of wheat flour crude pentosans and their relation to mixing characteristics of dough. *Cereal Chem.*, **48**, 211-222.
- KIM S., D'APPOLONIA B.L., 1977. Effect of pentosans on the retrogradation of wheat starch gels. *Cereal Chem.*, **54**, 150-160.
- LOMAX J.A., GORDON A.H., CHESSON A., 1983. Methylation analysis of unfractionated, primary and secondary cell walls of plants, and the localisation of alkali-labile substituents. *Carbohydr. Res.*, **122**, 11-22.
- Mac CLEARY B.V., GIBSON T.S., ALLEN H., GAMS T.C., 1986. Enzymic hydrolysis and industrial importance of barley β -glucans and wheat flour pentosans. *Starch/Stärke*, **38**, 433-437.
- MONTGOMERY R., SMITH F., 1955. The carbohydrates of the Gramineae. VII: The constitution of a water-soluble hemicellulose of the endosperm of wheat (*Triticum vulgare*). *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 3325-3328.
- MORITA S.I., ITO T., HIRANO S., 1974. A gel-forming polysaccharide containing ferulic acid in protein-free form present in aqueous extract of wheat flour. *Int. J. Biochem.*, **5**, 201-205.
- NEUKOM H., 1980. Oxidative cross-linking of proteins and other biopolymers. In: SIMIC M.G., KAREL M. (eds), *Autoxydation in food and biological systems*, 249-259. Plenum Press, New York.
- NEUKOM H., PROVIDOLI L., GREMLI H., HUI P.A., 1967. Recent investigations on wheat flour pentosans. *Cereal Chem.*, **44**, 238-244.
- PATIL S., FINNEY K.F., SHOGREN M.D., TSEN D.D., 1976. Water-soluble pentosans of wheat flour. III: Effect of water-soluble pentosans on loaf volume of reconstituted gluten and starch dough. *Cereal Chem.*, **53**, 347-354.
- PATIL S.K., TSEN C.C., LINEBACK D.R., 1975. Water-soluble pentosans of wheat flour. I: Viscosity properties and molecular weight estimated by gel-filtration. *Cereal Chem.*, **52**, 44-56.
- PERLIN A.S., 1951a. Isolation and composition of the soluble pentosans of wheat flour. *Cereal Chem.*, **28**, 370-381.
- PERLIN A.S., 1951b. Structure of the soluble pentosans of wheat flour. *Cereal Chem.*, **28**, 382-393.
- ROMBOUTS F.M., THIBAUT J.F., 1986. Feruloylated pectic substances from sugar-beet pulp. *Carbohydr. Res.*, **154**, 177-187.
- SHELDON D.R., D'APPOLONIA B.L., 1985. Carbohydrate functionality in the baking process. *Cereal Foods World*, **30**, 437-442.
- THIBAUT J.F., 1979. Automatisation du dosage des substances pectiques par la méthode au méta-hydroxydiphényl. *Lebensm. Wiss. U. Technol.*, **12**, 247-251.
- THIBAUT J.F., ROMBOUTS F.M., 1986. Effect of some oxidising agents, especially ammonium peroxydisulfate, on sugar-beet pectins. *Carbohydr. Res.*, **154**, 205-215.

TOLLIER M.T., ROBIN J.P., 1979. Adaptation de la méthode à l'orcinol sulfurique au dosage automatique des oses neutres et totaux. *Ann. Technol. Agric.*, **28**, 1-15.

UDY D.C., 1956. The intrinsic viscosities of the water-soluble components of wheat flour. *Cereal Chem.*, **33**, 67-745.

YEH Y.F., HOSENEY R.C., LINEBACK D.R., 1980. Changes in wheat flour pentosans as a result of dough mixing and oxydation. *Cereal Chem.*, **57**, 144-148.