



Effet des pratiques de la filière boulangerie sur l'acide férulique et sa transformation

Sonia Boudaoud

► To cite this version:

Sonia Boudaoud. Effet des pratiques de la filière boulangerie sur l'acide férulique et sa transformation. Médecine humaine et pathologie. Université Montpellier, 2020. Français. NNT : 2020MONTG056 . tel-03329661

HAL Id: tel-03329661

<https://theses.hal.science/tel-03329661>

Submitted on 31 Aug 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Science des aliments et nutrition

**École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre,
Eau**

Sciences pour l'œnologie, INRAe Montpellier

Effet des pratiques de la filière boulangerie sur l'acide férulique et sa transformation

**Présentée par Sonia Boudaoud
Le 18 décembre 2020**

Sous la direction de Chahinez AOUF

Devant le jury composé de

Amel DOUMANDJI, Professeure, Université de Blida-1, Algérie

Rapporteure

Valérie TOMAO, Maître de conférences, Université d'Avignon, France

Rapporteure

Didier MONTET, Chercheur, UMR CIRAD-Qualisud, France

Président

Delphine SICARD, Directrice de recherche, INRAe, France

Invitée

Chahinez AOUF, Chargée de recherche, INRAe, France

Directrice de thèse



**UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER**

Effet des pratiques de la filière boulangerie sur l'acide férulique et sa transformation

Le son de blé est le coproduit principal de l'industrie meunière, résultant de la transformation des grains de blé en farine ou en semoule. Il représente l'enveloppe extérieure du grain renfermant différents tissus ; dont principalement le péricarpe, la testa et la couche d'aleurone. Le son de blé est produit chaque année en quantités considérables et destiné principalement à l'alimentation animale. Toutefois, compte tenu de sa composition en éléments nutritifs et de sa disponibilité, il pourrait également servir pour l'alimentation humaine. Plusieurs études ont montré l'effet bénéfique de la consommation du son de blé sur la santé humaine, notamment en diminuant les risques d'obésité, des maladies cardiovasculaires, du diabète et autres.

L'acide férulique (AF) (*-cis* et *-trans*) et ses dimères (8,5'-diFA, 8,5 '- benzo-diFA, 8-*O*-4'-diFA et 5,5'-DiFA) présentent environ 95% des acides phénoliques du son de blé, concentrés principalement dans la couche aleurone et le péricarpe. L'AF est connu pour ses propriétés anti-oxydantes, anti-microbiennes et anti-inflammatoires. Il a également la capacité de se transformer en dérivés aromatiques tels que la vanilline ou le 4-vinylguaiacol, en présence de microorganismes. En lien avec la filière boulangerie, ce travail de thèse a pour objectif principal d'étudier l'effet des pratiques sur le contenu en AF et ses dérivés dans le son, les pâtes et/ou le pain. L'étude des variations de contenu en AF du blé au pain a montré un effet du terroir, et des variétés de blé sur le contenu en AF du son ainsi qu'un effet du type de ferment sur le contenu en AF des pains. Dans un milieu levain modèle, le comportement de l'AF a été étudié en présence de levures et de bactéries lactiques provenant de levains, seules ou en combinaison. Nous avons montré que le métabolisme de l'AF dépend des souches et que les interactions levures-bactéries avait un effet sur la consommation et la transformation de l'AF. En effet, la conversion de l'AF en acide dihydroférulique est favorisée en co-cultures par rapport aux monocultures, au détriment de la production de 4-vinylguaiacol. Globalement, nos résultats clarifient le devenir de l'AF de grain jusqu'à pain en mettant en évidence le rôle important des microorganismes fermentaires et de leur interaction dans sa transformation, et sont discutés au regard de leur intérêt en boulangerie.

Mots clés : acide férulique, son de blé, variété, espèce, terroir, fermentation, bactéries lactiques, levures, interactions microbiennes, panification

Effect of bakery industry practices on ferulic acid and its transformation

Wheat bran is the main co-product of the milling industry, resulting from the transformation of wheat grains into flour or semolina. It represents the outer layer of the grain containing various tissues; mainly pericarp, testa and aleurone. Wheat bran is produced every year in considerable quantities and is mainly used for animal feed. However, given its nutrient composition and availability, it could also be used for human food. Several studies have shown the beneficial effect of wheat bran consumption on human health, particularly in reducing the risk of obesity, cardiovascular disease, diabetes and others.

Ferulic acid (FA) (*-cis* and *-trans*) and its dimers (8,5'-diFA, 8,5 '- benzo-diFA, 8-O-4'-diFA and 5,5'-DiFA) account for about 95% of the phenolic acids in wheat bran, concentrated mainly in the aleurone layer and the pericarp. FA is known for its antioxidant, anti-microbial and anti-inflammatory properties. It is also able to be transformed into aromatic derivatives such as vanillin or 4-vinylguaiacol in the presence of microorganisms. In connection with the bakery industry, the main objective of this PhD work is to study the effect of certain practices on the content of FA and its derivatives in bran and/or bread. The study of the variations in FA content from wheat to bread showed an effect of terroir and wheat varieties on the FA content of bran as well as an effect of the type of ferment on the FA content of bread. In a synthetic fermentation medium, the behavior of FA was studied in the presence of sourdough yeasts and lactic acid bacteria, alone or in combination. We found that FA metabolism varied among strains and that yeast/bacteria interactions had an effect on the consumption and conversion of FA. Indeed, the transformation of FA into dihydroferulic acid is favored in co-cultures compared to monocultures, to the detriment of the production of 4-vinylguaiacol. Overall, our results clarify the evolution of FA from grain to bread by highlighting the important role of fermentation microorganisms and their interaction in its transformation, and are discussed in view of their interest in baking.

Key words: ferulic acid, wheat bran, variety, species, terroir, fermentation, lactic acid bacteria, yeasts, microbial interactions, bread-making

Remerciements

Cette thèse est le fruit de trois années d'apprentissage, d'expérimentations, de science, de paillasse, de recherche, de discussions, de stresse et de joie. Il me sera très difficile de remercier tout le monde car c'est grâce à l'aide de nombreuses personnes que j'ai pu mener ce travail à son terme.

Je remercie profondément en premier lieu le gouvernement Algérien pour le financement et de m'avoir donné cette opportunité assez précieuse pour réaliser cette thèse.

Mes sincères et grands remerciements sont destinés à mes encadrantes de thèse, à ma directrice de thèse Chahinez AOUF et à ma co-encadrante Delphine SICARD, pour les connaissances techniques et scientifiques que vous m'avez apportées tout au long de ces années. Merci de votre immense patience, confiance, de votre écoute et de votre accompagnement.

Merci au jury d'avoir accepté de juger mon travail, Amel DOUMANDJI, Valérie TOMAO et Didier MONTET.

Merci aux membres de mon comité de thèse, Hélène FALENTIN, Jean-Marie SABLAYROLLES, Dominique DESCLAUX, Geneviève CONEJERO, et à ma référente de l'école doctorale GAIA Maria-Cruz FIGUEROA, pour l'intérêt porté à mon travail et pour leurs orientations et conseils très utiles.

Un immense merci à tous les membres de l'équipe ADEL de l'UMR SPO qui m'ont accueillie durant cette thèse. Merci à Diego SEGOND d'avoir été un troisième encadrant pour moi, merci pour toute ton aide sur les grosses manipulations au robot, tes formations sur la fermentation et sur la Cytométrie, et tout ce que tu m'as appris. A Thibault NIDELET pour les discussions en statistiques, ses formations en R et représentations graphiques, à Stéphane GUEZENEC pour son aide sur tout ce qui concerne les souches et microorganismes. Merci à Virginie GALEOTE, Jean-Luc LEGRAS, Thérèse MARLIN, Martine PRADAL, Catherine TESNIERE, Jessica NOBLE, Cécile CADOUX, Cécile NEUVEGLISE, Frédéric BIGEY, Olivier TEUF, Marta AVRAMOVA, Elisa MICHEL et tous les membres de l'équipe ADEL.

Mes remerciements sont aussi destinés aux membres de l'équipe BIO de l'UMR SPO avec qui j'ai passé ma première année de thèse dans un climat de bienveillance et de partage, à Aude VERNHET, Céline PONCET-LEGRAND, François GARCIA, Frédéric VERAN, Laetitia MOULS et Julie MEKOUE NGUELA.

Mes profonds remerciements sont destinés également à Lucas SUC pour tout ce qui m'a appris sur la chimie analytique et sur la chromatographie (pleins de souvenirs avec notre fameuse UPLC), pour sa patience et sa gentillesse, mais aussi les moments de rires, de consoles, les pauses thé et repas, partagés avec les deux « STEPHANIES » : Stéphanie ROI et Stéphanie CARRILLO, vous êtes les meilleures.

Je remercie beaucoup aussi Valérie NOLLEAU du plateau technique d'analyse des volatils (PTV) de l'UMR SPO, pour son aide sur les analyses sur chromatographie gazeuse, ses explications et son temps consacré à moi, sa gentillesse et sa patience.

J'adresse un immense merci à Geneviève CONEJERO responsable du plateau MRI-PHIV, Lavalette (CNRS, Montpellier), de m'avoir donné l'opportunité de découvrir le monde de la microscopie et le microspore multi-photonique. Je te remercie pour ton aide et tes conseils précieux, ta patience, ton temps et ton sourire. C'était l'une de mes meilleures expériences dans la recherche.

Je remercie aussi tous les doctorants et post-doctorants de l'UMR SPO, les anciens et les nouveaux, spécialement Elissa ABI-HABIB, Saul ASSUNCAO BICCA, Carmen BECERRA RODRIGUEZ, Irene DE GUIDI, Giovanna GIRARDI PIVA, Cécile LEBORGNE, Lauriane MEITTON, Lucas VON-GASTROW, Coline LERICHE, Charlie GUITTIN, Joséphine GODILLOT, Gabriel DOURNES, Stacy DESHAIES, Léa DELCROS, et tout le monde.

Je remercie du fond du cœur Valeria KARASEVA, ma collègue de bureau et de labo, merci pour tous les bons moments, tes conseils, tes consolations, ta douceur et tes jolis mots positifs aux moments de déprime. Tu m'as trop apporté (je n'oublierai jamais les belles pauses chocolat, thé et observation des écureuils).

Je tiens aussi à remercier le directeur de l'UMR SPO Jean-Marie SABLAYROLLES pour son accueil et sa gentillesse tout au long de mon séjour à l'UMR, ainsi que Isabelle DELMAS, Agnès AGEORGES, Agnès MASQUIN, Aurélie ROLAND, Patrick BERGER, Philippe POLIZZI, Christian PICOU, Marc PEREZ, Audrey BLOEM, Véronique CHEYNIER, Teddy GODET, MACNA Faïza, MEUDEC Emmanuelle, Jean-Roch MOURET, Nicolas SOMMERER, Pascale BRIAL, Soline CAILLE, Erick CASALTA, Carole CAMARASA, Pascale WILLIAMS, Virginie HUGOUVIEUX et à tous les anciens et les nouveaux membres de l'UMR SPO que j'ai peut-être oublié de mentionner.

J'adresse un immense merci à mes chères copines, chacune avec son prénom, qui m'ont soutenue et qui ont égayé cette thèse. A toi Nawel BENBOUGUERRA, à toi Rihab BENABBAS, à toi Meriem DADOUCH, tous les mots ne suffisent pas pour exprimer ma reconnaissance pour avoir été ma famille en France, pour votre bienveillance, votre gentillesse inestimable et votre soutien moral, émotionnel et intellectuel. Merci aussi à mes copines qui m'envoient tout le temps des pensées d'Algérie : à vous Kahina ZOUGHMAZ et Hanane ABDELLAH.

Enfin, mes mots de remerciements, de reconnaissance, d'amour... sont destinés à ma FAMILLE. A eux, je dédie ce travail. A mon cher papa « AREZKI », à ma chère mama « FATIMA », à mes anges de frères « AZEDINE » et « NABIL ». A l'âme de mon grand-père « SAID ». Merci d'avoir cru en moi, de m'avoir soutenue, suivie, protégée, et de m'avoir donné la confiance pour mener une vie autonome. Vous êtes tout pour moi. Je vous aime.

Merci à tous les membres de ma grande famille, surtout maternelle, de m'avoir soutenue tout au long de mes trois ans à l'étranger.

Table des matières

Table des matières

Effet des pratiques de la filière boulangerie sur l'acide férulique et sa transformation	i
Effect of bakery industry practices on ferulic acid and its transformation	ii
Remerciements	iv
Liste des tableaux	xii
Liste des figures	xiii
Liste des abréviations	xv
Introduction générale.....	1
Chapitre I. Revue bibliographique	7
1.1. Le blé en quelques chiffres	9
1.2. Origine et description.....	10
1.3. Histologie et composition chimique du grain de blé	11
1.4. Les espèces de blé.....	13
1.5. Les variétés de blé.....	15
1.6. Origines des semences	16
1.7. Le terroir	17
2. Les produits et sous-produits de l'industrie meunière	19
2.1. Le son de blé	19
2.1.1. Histologie et composition biochimique du son de blé.....	20
2.1.2. Applications du son de blé.....	21
2.1.3. Effet de la consommation du son de blé sur la santé humaine	22
2.2. La Farine de blé	23
2.2.1. Taux de cendre.....	24
2.2.2. Types de moulins	25
3. La panification.....	26
3.1. Le procédé de panification.....	26
3.2. La fermentation.....	28

3.2.1.	La levure commerciale	28
3.2.2.	Le levain	29
3.2.2.1.	La communauté microbienne du levain.....	31
4.	Les composés phénoliques dans le son de blé.....	34
4.1.	L'acide férulique (AF)	38
4.1.1.	L'AF dans le blé	39
4.1.2.	Propriétés et effet sur la santé.....	40
4.1.2.1.	Effet antioxydant	41
4.1.2.2.	Effet antimicrobien	41
4.1.2.3.	Effet anti-inflammatoire	41
4.2.	Procédés de libération et d'extraction de l'AF de la matière végétale.....	42
4.2.1.	Hydrolyse chimique.....	42
4.2.2.	Hydrolyse biotechnologique.....	43
4.3.	Métabolisme de l'AF	46
4.3.1.	La décarboxylation non oxydative	48
4.3.2.	La réduction de l'AF.....	49
4.3.3.	Désacétylation indépendante ou dépendante de la coenzyme A	51
4.4.	Les métabolites fermentaires essentiels de l'AF et leurs propriétés	53
5.	Le devenir de l'AF en présence de levain (microorganismes du levain)	55
Chapitre II.	Présentation générale des Matériels et Méthodes mis en œuvre pendant la thèse	57
1.	Généralités.....	59
1.1.	Réactifs	59
1.2.	Outils et méthodes d'analyses.....	59
2.	Extraction et quantification de l'AF	61
2.1.	Préparation des échantillons	61
2.1.1.	Les échantillons de blé biologique	61

2.1.2.	Broyage et récupération du son de blé.....	64
2.1.3.	Echantillons de levains, pâtes et pains.....	67
2.1.4.	Préparations pour le broyage des échantillons delevains, pâtes et pains.....	71
2.2.	Extraction d'AF libre à partir d'échantillons de son de blé, de levain, de pâte et de pain	72
2.3.	Extraction de l'AF hydrolysable à partir des échantillons de son de blé, de levain, de pâte et de pain.....	73
2.4.	Quantification de l'AF	73
2.5.	Localisation de l'AF dans les grains et le son de blé après broyage par microscopie à fluorescence.....	74
3.	Fermentation de l'AF en milieu levain synthétique	75
3.1.	Préparation du milieu levain synthétique (SSM)	75
3.2.	Souches de levures et de LAB	76
3.3.	Préparation des souches et des pré-cultures	77
3.4.	Fermentation en mono- et co-culture et caractérisation du métabolisme de l'AF.	78
4.	Analyses statistiques	79
	Chapitre III. Variation de la teneur en acide férulique : du grain de blé vers le pain	83
	Partie 1. Etude des facteurs influençant la teneur en acide férulique du grain au pain	86
	Abstract	89
1.	Introduction	90
2.	Materials and Methods	92
2.1.	Wheat samples.....	92
2.2.	Wheat grains milling and bran recovery	94
2.3.	Dough and bread preparation	94
2.4.	Preparation of sourdough, dough and bread samples for solvent extraction	95
2.5.	Extraction of free and hydrolysable FA from wheat bran, sourdough, dough, and bread samples	95
2.6.	FA quantification from bran, sourdough, dough and bread samples	96

2.7. Statistical analyses.....	96
3. Results and Discussion	98
3.1. Wheat bran yield: effect of species, terroir and variety	98
3.2. FA content in wheat bran	100
3.3. FA in sourdoughs, doughs and breads	105
4. Conclusion	108
References.....	109
Partie 2. Localisation et distribution de l'acide férulique dans le son de blé à l'aide de la microscopie à fluorescence.....	114
Chapitre IV. Métabolisme de l'acide férulique au cours de la fermentation par des bactéries lactiques et des levures	119
Abstract.....	123
1. Introduction	124
2. Materials and methods	127
2.1. Chemicals.....	127
2.2. Strains, synthetic sourdough medium, and growth conditions	127
2.3. Automated fermentation	129
2.4. Cell count and viability	130
2.5. Characterization of FA metabolism after fermentation	130
2.6. In silico analysis of putative ferulic acid reductase and decarboxylase in <i>F. sanfranciscensis</i>	131
2.7. Statistical analysis.....	131
3. Results	132
3.1. Selection of LAB-Yeast couples for co-culture fermentations.....	132
3.2. Effect of FA on microbial growth in mono- and co-culture	133
3.3. Effect of FA on fermentation parameters of yeast and LAB in mono- and co-culture	
134	

3.4. Consumption and conversion of FA by LAB and yeasts in mono- and co-culture	135
4. Discussion	138
4.1. Effect of FA on microbial growth in mono- and co-culture	138
4.2. Fermentation of yeast and LAB in mono- and co-culture	139
4.3. Consumption and conversion of FA by LAB and yeasts in mono- and co-culture	
140	
5. Conclusion.....	142
References	143
Chapitre V. Discussion générale	152
1. Critique de la méthodologie et des résultats.....	155
2. Quelques idées reçues et leur corrélation avec les données scientifiques.....	157
3. Perspectives scientifiques.....	159
4. Sur une échelle d'application	161
Références	163
Annexes	199

Liste des tableaux

Tableau 1. Principaux pays producteurs de blé (en millions de tonnes). Perspective de récolte et situation alimentaire. Rapport mondial trimestriel. FAO, Mars, 2020.....	9
Tableau 2 : la composition chimique générale du grain de blé.....	12
Tableau 3. Principaux produit obtenus après broyage du blé (Feillet, 2000).....	19
Tableau 4. Les types de farines de blé en fonction du taux de cendres par rapport à la matière sèche, selon le décret n ° 63-720 du 13 juillet 1963.....	25
Tableau 5. Teneurs des principaux acides phénoliques dans le son de blé (mg / g de matière sèche).....	36
Tableau 6. Teneurs en AF dans les sons de céréales.....	38
Tableau 7. Résumé des microorganismes capables de dégrader l'AF et les voies métaboliques impliquées.	47
Tableau 8. Masse de toutes les fractions issues du broyage mécanique. Les masses moyennes des fractions sont exprimés en g de matière sèche.....	67
Tableau 9. Les échantillons de levains, pâte et pains avec les différents types de fermentation	68
Tableau 10. Ingrédients et conditions des différentes étapes de la panification	69
Tableau 11. Genres, espèces et souches de bactéries lactiques (LAB) et de levures utilisées pour cette étude. Les espèces LAB <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. hammessii</i> et <i>L. xiangfangensis</i> sont hétérofermentaires strictes. Les espèces <i>L. plantarum</i> , <i>L. curvatus</i> et <i>L. sakei</i> sont hétérofermentaires facultatives.	76

Liste des figures

Figure 1. Schéma de la thèse « Effet des pratiques de la filière boulangerie sur l'acide férulique et sa transformation »	6
Figure 2. Plante et grains de blé (modifiée de https://kingflour.com/all-about-wheat-2/).....	11
Figure 3. Les trois fractions du grain du blé entier (endosperme, son et germe) et leur composition chimique (Fardet, 2017).	13
Figure 4. Exemples de grains de (A) Blé dur, variété « Bidi17 » et (B) blé tendre, variété « Chevalier »	15
Figure 5. Image d'un microscope à fluorescence montrant les différents tissus constituants le son de blé (modifiée de (Sapirstein, 2016))	21
Figure 6. Meule de pierre (1) et meule cylindrique (2). Sources des images : (1) : https://pixabay.com/photos/stone-mill-traditional-old-rustic-3212205/ , (2) : https://www.feedmachinery.com/glossary/equipment/roller_mills/	26
Figure 7. Diagramme de panification française (Roussel et al., 2010)	27
Figure 8. Le métabolisme de la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Les sucres sont convertis en glycérol ou pyruvate par la glycolyse. Le pyruvate peut être transporté vers le cycle de Krebs (TCA) pour la respiration (à gauche) ou vers la fermentation alcoolique (à droite) (figure modifiée de (Dzialo et al., 2017)).....	29
Figure 9. Photo d'un levain en microscopie électronique d'après Bernard Onno (Roussel et al., 2020).....	30
Figure 10. Schéma synthétique des voies métaboliques des LAB homofermentaires (A) et heterofermentaires (B) (Gänzle, 2015).....	33
Figure 11. Structure chimique des acides phénoliques	35
Figure 12. Schéma des complexes lignine-acides phénolique-glucide dans les parois cellulaires de son de blé (Li et al., 2020)	37
Figure 13. La structure chimique de l'AF	38
Figure 14. Un résumé des avantages de la consommation des acides phénolique dont l'AF sur la santé (Daniel et al., 2013).....	42
Figure 15. Les voies possibles de dégradation de l'AF en métabolites intermédiaires via l'action de différentes enzymes (Priefert et al., 2001, Furuya et al., 2015, Lin et al., 2015, Rodríguez et al., 2009, Overhage et al., 1999, Santamaría et al., 2018, Graf and Altenbuchner, 2014).....	46

Figure 16. Transformation de l'acide férulique (AF) par la voie de décarboxylase non oxydative (QI : intermédiaire quinoïde ; 4-VG : 4-vinylguaiacol) (Batista, 2014)	49
Figure 17. Réduction microbienne de l'acide férulique (FA) (QI : intermédiaire quinoïde ; (DHFA) acide dihydroférulique. CA : alcool coniférylique (CA) (Batista, 2014).	51
Figure 18. Conversion de l'acide férulique (FA) par les voies de désacétylation indépendante de la coenzyme-A (A) et de la désacétylation dépendante de la coenzyme-A (B). (4H3MPHPA : 4-hydroxy-3-méthoxyphényl- β -hydroxypropionique ;4H3MPHPA-SCoA :4-hydroxy-3-méthoxyphényl- β -hydroxypropionyl-SCoA) (Batista, 2014)	52
Figure 19. Photo du système robotique PlateButler® de l'UMR SPO	60
Figure 20. Variétés, espèces et terroirs de blé utilisés	62
Figure 21. Localisation des terroirs de blé sur la carte de France	64
Figure 22. Schéma Récapitulatif de l'obtention du son de blé à partir des grains.....	66
Figure 23. Schéma synthétique des différents échantillons de levains, pâtes et pains analysés	69
Figure 24. Préparation des broyats de levains, pâtes et pains.	72
Figure 25. Schéma du protocole d'analyse de l'AF des grains et du son de blé par le microscope multiphotonique.	75
Figure 26. Schéma des principales opérations avant et après fermentation.....	79
Figure 27. Images spectrales des coupes transversales des grains de blé et de leurs sons après broyage. Variétés de blé tendre Chevalier : grain : a.1 ; son : a.2, et Rouge de Bordeaux : grain : b.1 ; son : b.2. Variétés de blé dur LA1823 : grain : c.1; son : c.2, et Bidi17 : grain : d.1 ; son : d.2, observés au microscope multi-photonique à 720 nm. Les images montrent les principaux tissus : per : péricarpe, alr : couche d'aleurone. Les trois couleurs correspondent à trois composés fluorescents. La couleur rouge correspond à l'AF. Les autres sont inconnues.	117
Figure 28. Spectres des intensités maximales de fluorescence des différents composés détectés dans les différents tissus des coupes transversales des grains de blé Chevalier et Rouge de Bordeaux, ainsi que l'AF pur.....	118

Liste des abréviations

4-VG : 4-vinylguaiacol

ADN : acide désoxyribonucléique

AF : acide férulique

AFNOR : Association française de normalisation

ALFIS : Système d'information sur la fermentation alcoolique

AOC : Appellations d'Origine Contrôlées

ATP : adénosine triphosphate

DHFA : acide dihydroférulique

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

GAE : équivalent acide gallique

LAB : bactéries lactiques

ISO : Organisation internationale de normalisation

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide

NAD⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide oxydé

PBS : tampon phosphate salin

LDL : Lipoprotéine de basse densité

pH : Potentiel hydrogène

UNESCO : Organisation des Nations unies pour l'éducation, la science et la culture

Introduction générale

Introduction générale

Le blé joue un rôle primordial dans l'alimentation d'une très large fraction de l'humanité. C'est actuellement la céréale la plus cultivée et la plus commercialisée sur les marchés mondiaux. Depuis les années 60, la consommation mondiale du blé s'est accrue à un rythme soutenu, avec toutefois une préférence pour les produits raffinés, telle que la farine dite « blanche », qui est source du pain « blanc ». Ceci a conduit à une très faible valorisation des coproduits de meunerie comme le son de blé, qui représente environ 13-17% de la masse du blé, et qui est souvent brûlé, ou utilisé pour l'alimentation animale, et ce malgré sa richesse en éléments nutritifs comme les fibres, les minéraux, les vitamines et les antioxydants.

Aujourd'hui, nous sommes témoin d'une révolution au niveau de notre alimentation et de notre façon d'appréhender les produits que nous consommons. Un engouement de plus en plus croissant, de la part des consommateurs, des agriculteurs et des artisans pour l'agriculture bio, les produits du terroir, la sélection des variétés du blé, le retour vers la fabrication artisanale du pain au levain, est en train de se manifester.

En relation avec la filière boulangerie, de nombreuses études mettent en lumière l'effet des pratiques anciennes, souvent empiriques, sur la qualité nutritionnelle et gustative des produits. En effet, la littérature regorge d'articles sur l'effet de la communauté microbienne présente dans le levain et les modes de panification, sur la digestibilité, la conservation et sur le goût particulier du pain au levain. Ces études sont souvent liées aux modes de transformation des carbohydrates et des protéines présentes dans la farine. Très peu d'étude sont cependant menée sur le suivi de constituants minoritaires dans le blé, mais qui possèdent des propriétés nutritives et organoleptiques très intéressantes.

Pour notre part, nous avons porté notre attention sur l'un des composés phénoliques présent dans le grain de blé, et plus précisément dans le son, et nous avons voulu suivre son évolution et son comportement depuis le grain, jusqu'au pain, en passant par une étude plus approfondie sur la fermentation.

L'acide férulique (AF) et ses dimères est l'acide phénolique le plus abondant sans le son de blé. Il représente environ 95% (w/w) des polyphénols totaux du blé et est doté de propriétés antioxydante, antimicrobienne et anti-inflammatoire. En milieu fermentaire, il a la capacité de

se transformer en dérivés aromatiques tels que le 4-vinylguaiacol, la vanilline et l'acide vanillique.

Cette thèse a pour objectif de répondre à trois grandes questions scientifiques :

- La teneur de l'AF est-elle influencée par les variétés, l'espèce et le terroir de culture du blé ?
- Le teneur en AF dans les pâtes et les pains dépend-elle du type de ferment (levain, levure, mixte des deux) ?
- L'AF est-il assimilé et comment est-il transformé par les souches de bactéries lactiques (LAB) et de levures quand elles sont cultivées en mono- ou en co-culture dans un milieu levain synthétique ?

Ainsi, nous avons, dans un premier temps évalué l'effet du terroir, des variétés et des espèces de blé (tendre et dur) sur la teneur en AF contenu dans le son de blé issus de l'agriculture biologique en France. Dans un second temps, et en lien avec les pratiques de certains artisans boulangers, nous avons examiné le rôle des fermentations utilisés sur la teneur en AF dans les pâtes et les pains issus des différents modes de fermentations.

La seconde partie des travaux de cette thèse a été consacrée à une étude plus fondamentale visant à comprendre le comportement de certains microorganismes de levain vis-à-vis de l'AF. En effet, dans un milieu levain modèle, nous avons examiné la consommation et la conversion de l'AF en présence de levures seules, de LAB seules, et lorsque les deux types de microorganismes sont combinés.

Cette thèse s'articule en cinq chapitres (Figure 1) :

- I. Le premier chapitre propose une revue bibliographique qui décrit les différentes espèces et variétés de blé ; les modes de transformation du blé en pain, en mettant l'accent sur les différents types de ferment. Une partie importante porte sur la présence de l'AF dans le son de blé, ainsi que sur ses voies de transformation par les microorganismes en milieu fermentaire.
- II. Le deuxième chapitre détaille les matériels et méthodes utilisés durant cette thèse essentiellement appliqués à l'analyse de l'AF dans les différentes matrices étudiées : son, levain (synthétique et naturel), pâte et pain.
- III. Le troisième chapitre se présente en deux parties :
 - a. La première partie, sous forme d'article, présente une étude sur les facteurs influençant la teneur en AF, allant du terroir jusqu'au ferment utilisés dans la panification.
 - b. La deuxième partie, complémentaire, donne un aperçu sur la localisation de l'AF dans le son de blé avant et après mouture, au moyen de la microscopie à fluorescence
- IV. Le quatrième chapitre, lui aussi sous forme d'article, retrace l'étude menée sur le métabolisme de l'AF en milieu levain modèle en présence de différentes souches de levures et de LAB cultivées en mono- et co-cultures.
- V. Le cinquième chapitre est consacré à une discussion générale de l'ensemble des résultats obtenus au regard de la bibliographie et de certaines idées répandues. Cette discussion s'achève par une présentation des perspectives scientifiques de ce travail.

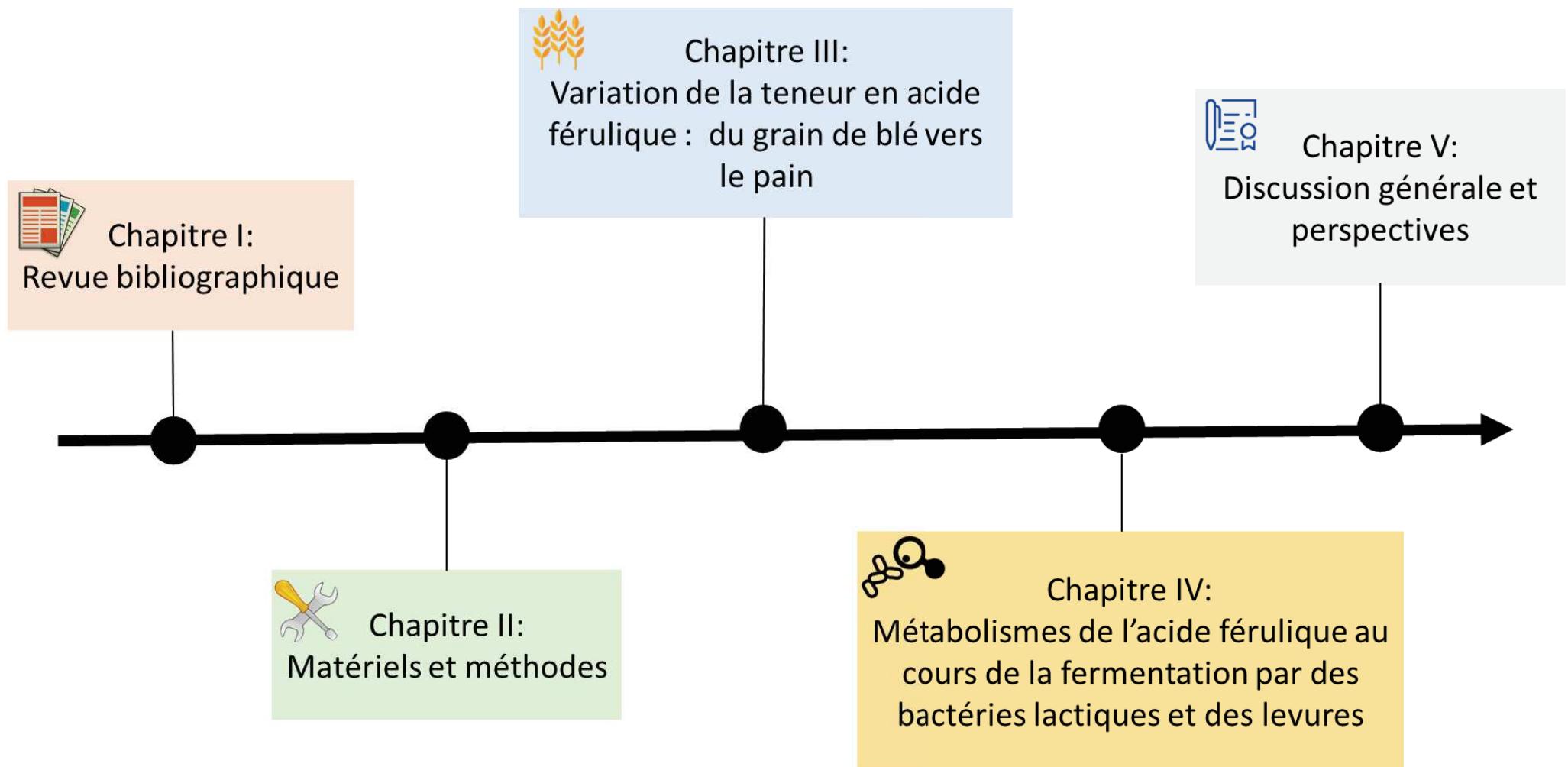


Figure 1. Schéma de la thèse « Effet des pratiques de la filière boulangerie sur l'acide férulique et sa transformation »

Chapitre I. Revue bibliographique

1. Le blé

1.1. Le blé en quelques chiffres

Le blé est parmi les céréales clés qui occupe une partie importante dans l'alimentation de base d'une large population mondiale. Il représente 20% à 50% des apports caloriques dans les pays producteurs. (Shewry, 2018). Il est principalement produit par les États-Unis, la Chine, la Russie, l'Inde, le Pakistan, l'Union européenne (UE), le Canada, l'Argentine et l'Australie (Tableau 1). Selon la FAO, la production mondiale du blé en 2019/2020 a atteint 761.6 millions de tonnes, avec une consommation estimée à 753 millions de tonnes. Par conséquent, les échanges mondiaux de blé en 2020/2021 devraient atteindre un niveau record de 181.5 millions de tonnes (bulletin FAO de septembre 2020), soit une hausse de 2.9 millions de tonnes par rapport au mois de juillet 2020 et un niveau légèrement supérieur (0.3%) au niveau record de 2019-2020 (FAO, 2020. <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/>).

Tableau 1. Principaux pays producteurs de blé (en millions de tonnes). Perspective de récolte et situation alimentaire. Rapport mondial trimestriel. FAO, Mars, 2020

Pays	Moyenne sur 5 ans (2014/2015-2018/2019)	Prévisions de 2020
Union Européenne + le Royaume-Uni	150.4	145
Chine continentale	133.1	134
Inde	95.9	106
Fédération de Russie	73.5	80
États-Unis d'Amérique	54.0	50
Canada	30.9	34
Ukraine	26.4	26
Pakistan	25.5	25
Australie	21.6	21
Turquie	20.7	20
Argentine	17.4	19
Kazakhstan	13.8	13
Iran	12.6	13
Égypte	9.0	9.0
Ouzbékistan	6.4	6.0
Autres	59.2	62

1.2. Origine et description

Le blé a été domestiqué pendant la révolution néolithique caractérisée par la transition de tribus de chasseurs-cueilleurs vers des communautés d'agriculteurs. Selon les archéologues et les botanistes, le croissant fertile en Moyen-Orient est le berceau du blé cultivé (Gill and Friebe, 2002, Chopra and Prakash, 2002). Les blés cultivés sont le résultat de l'évolution et de l'hybridation de plusieurs espèces sauvages (Belderok, 2000, Feillet, 2000, Shewry, 2009b).

Ils peuvent être divisées en trois groupes qui diffèrent par le nombre de chromosomes et comprennent : le blé diploïde *Triticum monococcum L.* ou « engrain ou petit-épeautre » avec le génome AA ($2n=14$), les blés tétraploïdes *Triticum dicoccum* ou « amidonnier » et *Triticum turgidum subsp. durum* ou « blé dur » avec les génomes AA et BB ($2n=28$), les blés hexaploïdes *Triticum spelta L.* « épeautre » ($2n=42$) et *Triticum aestivum* « blé tendre » avec les génomes AA, BB et DD.

De façon générale, le blé est un monocotylédone appartenant au genre *Triticum* de la famille des *Gramineae* (Zohary et al., 2012). C'est une plante annuelle à paille d'une hauteur variant de 0.5 à 1.5 m. Elle est composée de feuilles entourant une tige mince qui se termine par des épis de grains au sommet (Figure 2). Le blé cultivé a souvent les épis fusiformes, barbu et facilement battus (McKevith, 2004). Chaque épi est composé d'épillets, qui enferment le grain de blé entre lemme et paléole (glumelles). En générale, un grain de blé a la forme d'un ovale, avec une longueur comprise entre 5 à 8 mm, une largeur entre 2 à 4 mm, et une épaisseur entre 2.5 à 3.5 mm. Sa section longitudinale est entre 10 à 16 mm² et sa section transversale entre 4 à 7.5 mm². Son poids varie entre 20 à 50 mg et sa densité entre 1.3 et 1.4 (Feillet, 2000).

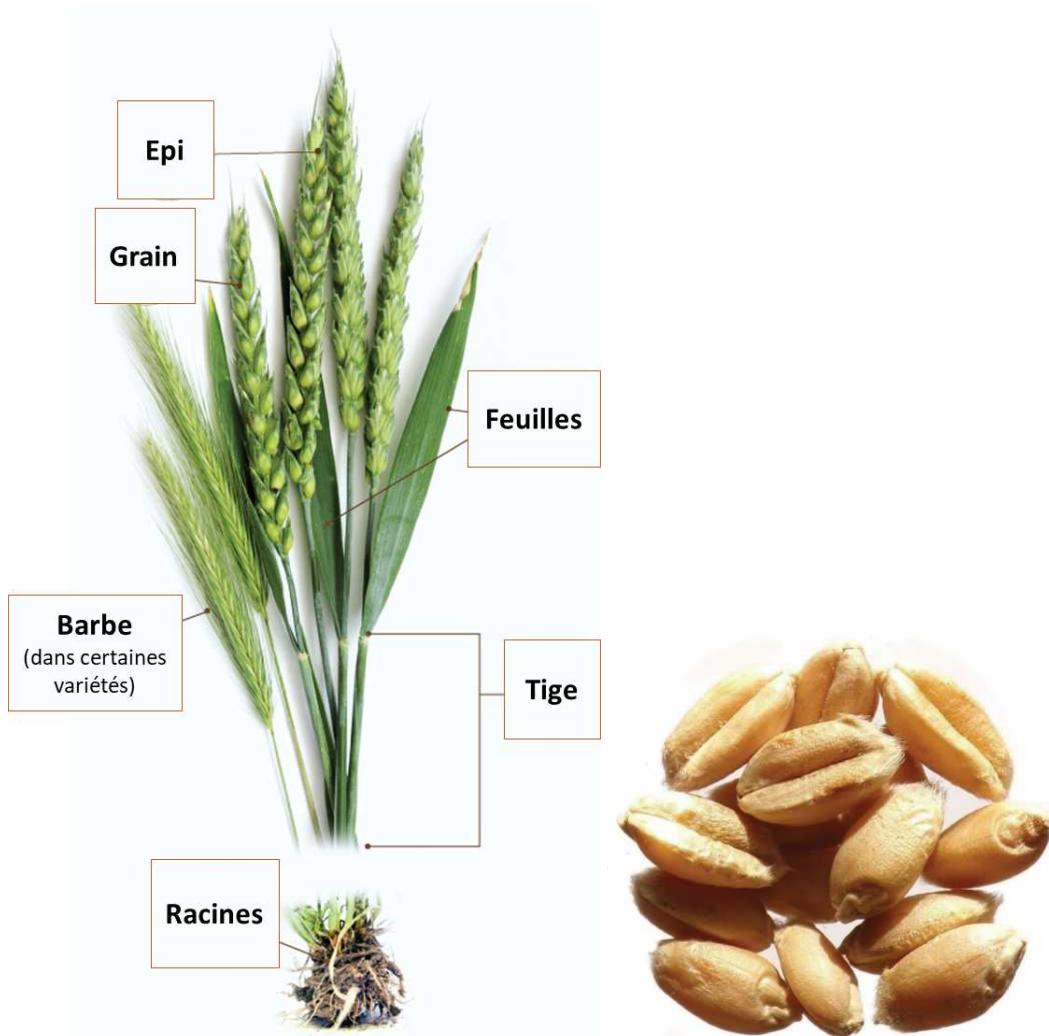


Figure 2. Plante et grains de blé (modifiée de <https://kingflour.com/all-about-wheat-2/>)

1.3. Histologie et composition chimique du grain de blé

Trois parties distinctes composent le grain de blé (Figure 3).

L'endosperme : constitue entre 80 à 85% du poids du grain. Il contient l'albumen amylose avec des cellules remplies de granules d'amidon (arabinoxylane et β -glucane) dispersées au milieu d'une matrice protéique (Jääskeläinen et al., 2013, Dornez et al., 2011).

Le son (enveloppes extérieures) : il est formé de péricarpe (qui englobe le péricarpe externe et interne), la testa, la bande hyaline et la couche aleurone. Ces tissus dans leur ensemble constituent entre 13 à 17% du poids total du grain. Ils sont composées de cellules vides dont les parois sont composées généralement de xylène (environ 60%), de cellulose (environ 30%), de lignine (environ 10%) et d'acides phénoliques (Jääskeläinen et al., 2013).

Le germe : il représente environ 3% du poids total du grain et se compose de l'embryon et du scutellum. Ce dernier facilite le transfert des nutriments de l'endosperme vers l'embryon (Evers and Millar, 2002, Glidewell, 2006).

En plus des glucides, le grain de blé contient des protéines, des lipides, ainsi que des micronutriments tels que les vitamines, les minéraux, les fibres solubles et insolubles et les composés phénoliques (Tableau 2) (Løje et al., 2003, Liu, 2007, Fardet, 2010, Dinelli et al., 2011, Kumar et al., 2011, Van Der Kamp et al., 2014, Andersson et al., 2013, Arendt and Zannini, 2013, Shamloo et al., 2017).

Tableau 2 : la composition chimique générale du grain de blé

Composé	Teneur (% du poids du grain blé entier sec)
Glucides	78 - 85%
Fibres	11 - 15%
Protéines	8 - 15%
Lipides	2 - 4%
Minéraux	1 - 2%
Cendres	1.9 - 2.3%
Cellulose	2%
Composés bioactifs	2%
Lignine	2%
Acides phénoliques	0.11%
• Acide férulique	≈70-90 (% APT)
• Acide sinapique	≈7.8 (% APT)
• Acide <i>p</i> -coumarique	≈4.3 (% APT)
• Acide vanillique	≈2.4 (% APT)
• Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	≈2 (% APT)
• Acide syringique	≈1.6 (% APT)
Flavonoïdes	0.037
Vitamines	0.014%
• Vitamines de groupe B	0.01 (% VT)
• Vitamine E	0.005 (% AVT)
Lignanes	0.0004

%APT : pourcentage par rapport aux acides phénoliques totaux

%VT : pourcentage par rapport aux vitamines totaux

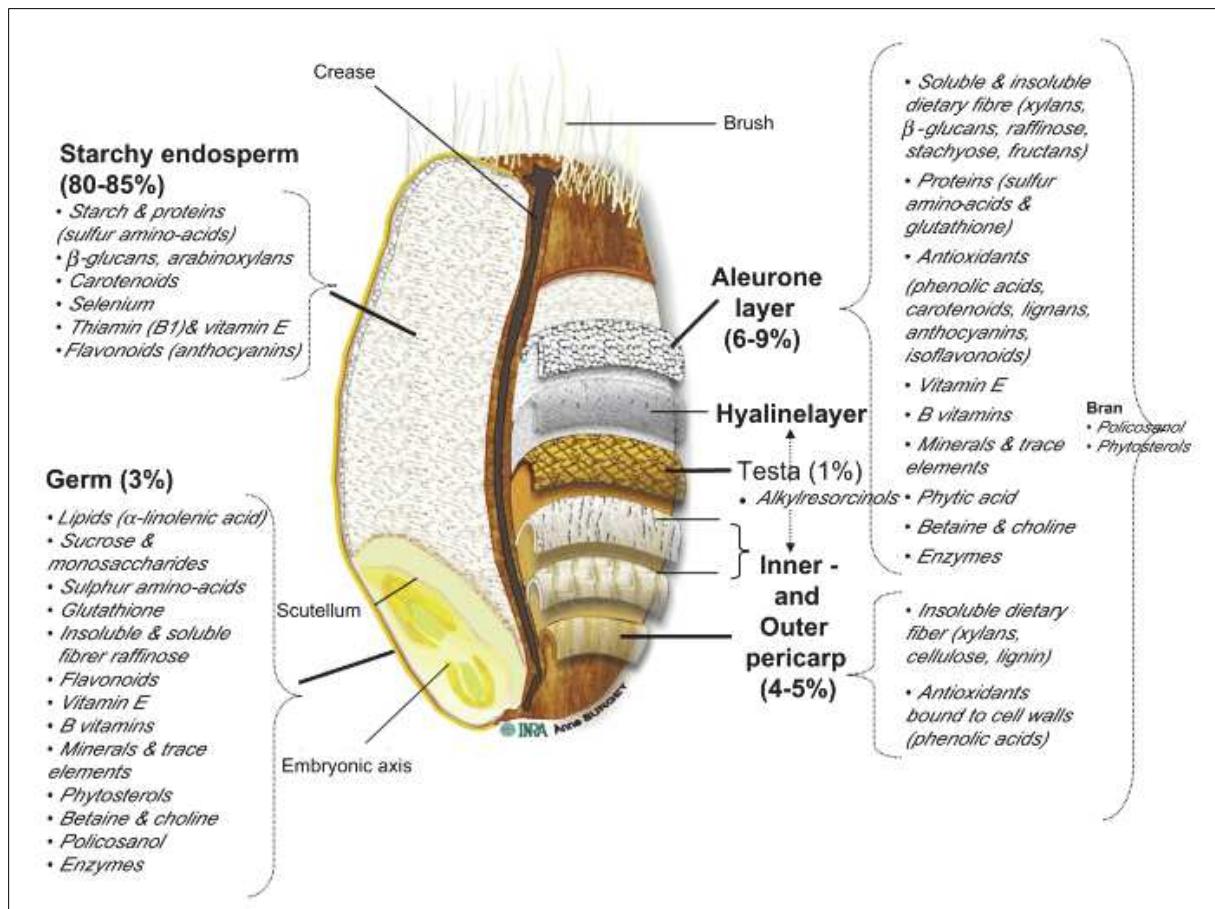


Figure 3. Les trois fractions du grain du blé entier (endosperme, son et germe) et leur composition chimique (Fardet, 2017).

1.4. Les espèces de blé

Blé est un terme générique qui désignent plusieurs céréales du genre *Triticum*. Les deux espèces de blé majoritairement cultivées aujourd’hui sont: le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*) avec une proportion de 95% et 5% de la production de blé mondiale respectivement (Shewry, 2009b). Ceux sont commercialement les espèces les plus importantes, cultivées à la fois comme céréales d'hiver et de printemps (Figure 4).

- Blé dur

Le blé dur (*Triticum turgidum L. ssp. durum (Desf.) Husn*) dispose de deux génotypes AA et BB dont chacun est constitué de 7 chromosomes. Il est issu de la domestication de

l'amidonner (*Triticum turgidum* spp. *dicoccum* (Schrank ex Schübl.), dérivé lui-même de l'amidonner sauvage *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* (Körn. Ex Ash. & Graebn) (Dubcovsky and Dvorak, 2007, Avni et al., 2017, Maccaferri et al., 2019, Pont et al., 2019, Scott et al., 2019). C'est une espèce dont les grains sont vitreux et « dures », ce qui la rend favorable à la production de semoule. Les grains sont généralement de forme ovoïde, d'une taille d'environ 30% plus grande que le blé tendre. Les gros grains ont un rapport surface / masse relativement plus petit. Par conséquent, les gros grains fournissent une plus grande proportion d'endosperme (le composant de grain formant la semoule) que les autres composants (abats de broyage, son, germe). La semoule produite est riche en protéines fortes de gluten, ce qui lui offre la couleur jaune propre. Elle est destinée principalement à la fabrication des pâtes, du boulgour, du couscous et autres produits traditionnels (Hare, 2017) (Figure 4).

- Blé tendre

Le blé tendre (*Triticum aestivum L.*) dispose de trois génotypes (AA, BB et DD) dont chacun est constitué de 7 paires de chromosome homologues soit un total de 42 chromosomes. Il est supposé provenir de l'hybridation entre *Triticum turgidum* et l'espèce sauvage *Aegilops tauschii* Coss. (génome DD) (Pont et al., 2019, Scott et al., 2019). C'est une culture importante dans le monde qui fournit jusqu'à 60% de l'apport énergétique total dans certains pays (FAOSTAT, 2013; <http://www.faostat.fao.org>), et une source quotidienne de Zinc et de Fer (Khokhar et al., 2018). Cette espèce est destinée essentiellement à la panification. Elle confère de l'élasticité et de l'extensibilité à la pâte ce qui permet sa dilatation et la rétention de gaz pendant le processus de cuisson (Edwards et al., 2001) (Figure 4).



Figure 4. Exemples de grains de (A) Blé dur, variété « Bidi17 » et (B) blé tendre, variété « Chevalier »

1.5. Les variétés de blé

Une variété est un terme désignant un groupe de plantes qui a des caractéristiques phénotypiques, culturelles et historiques identifiées par les paysans ou les sélectionneurs qui les développent et les cultivent (Roussel et al., 2020). Les longues expériences de culture du blé dans des sols et des conditions climatiques différentes ont contribué à la formation d'une grande diversité de variétés de blé. L'appartenance à une variété inclue les classifications botaniques, génétiques, économiques et morpho-physiologiques. La sélection se base sur la productivité, la stabilité et certaines propriétés technologiques du grain (tendre, mi-dur et dur) ou de la plante dans son ensemble, comme par exemple la longueur de la paille et le type d'épi, la taille, la couleur des grains (rouge, blanc et ambre) et le nombre d'épillets et fleurs dans l'épillet, etc. Le blé peut être aussi subdivisé en fonction de son cycle de vie (printemps ou hiver) (Arendt and Zannini, 2013, Demyanchuk et al., 2013).

1.6. Origines des semences

- Variétés de blé ancien, locale, population

Les variétés anciennes (ou variétés locales ou variété de pays) ont une réalité historique avérées. Ce terme fait souvent référence à des variétés développées avant la création du Catalogue officiel des espèces et variétés végétales en 1932 (Roussel et al., 2020). Ce sont des variétés de cultures traditionnelles développées, nommées et entretenues par les agriculteurs après des années de sélection naturelle et humaine pour répondre à leurs besoins sociaux-économiques, culturels et environnementaux, et sont adaptées aux conditions environnementales et aux pratiques de gestion locales (Jaradat, 2013). L'appellation variétés « d'agriculteurs » ou variétés « population » montre le rôle innovant des sociétés paysannes dans leur développement et leur maintien (Jaradat, 2011). On parle de population quand le groupe des plantes cultivées au champs présente de la diversité génétique et phénotypique, comme par exemple quand les paysans mélangeant les semences de diverses origines.

Les effets combinés de la sélection naturelle et humaine ont conduit à modifier certains caractères, tels que la vigueur à la croissance précoce, la tolérance au froid, à la chaleur et à la sécheresse, le remplissage des grains, la compétition avec les mauvaises herbes, la tolérance aux maladies, l'utilisation efficace de l'eau et des nutriments, et des traits de qualité adaptés à divers objectifs de subsistance et de préférences alimentaires locales (Villa et al., 2005, Jones et al., 2008, Jaradat, 2011). En opposition aux phénotypes des variétés modernes, les variétés anciennes de blé se caractérisent par des plantes très hautes, un rendement faibles en grains, des phénotypes et génotypes souvent pas homogènes (Sanchez-Garcia et al., 2015, Migliorini et al., 2016). La capacité d'absorption de l'eau et le gluten index des pâtes faites avec les variétés anciennes sont inférieures à celui des variétés modernes (Sanchez-Garcia et al., 2015).

- Variétés de blé moderne

Les blés modernes ont été développés dans les années 1950, avec notamment l'utilisation de gènes nains pour réduire la taille des plantes de blé (Kucek et al., 2015). Ils sont génétiquement homogènes et sont évalués et validés pour pouvoir être inscrits au catalogue des variétés et commercialisés.

Le blé moderne est un résultat des efforts de sélection intensifs concentrés sur l'amélioration du rendement en grains et des caractéristiques de qualité pour développer des cultivars tolérants aux stress biotiques et abiotiques et répondant à la demande de l'intensification de l'agriculture et de l'industrialisation de la transformation des grains en agro-alimentaire. Par exemple, ils sont plus tolérants à l'utilisation d'un surplus d'engrais azoté (Guarda et al., 2004).

1.7. Le terroir

- Définition

Plusieurs définitions ont tenté de décrire précisément la notion de « terroir » à travers les siècles (depuis le XIIe siècle). Terroir a pour origine le terme « *territorum* » défini comme une région rurale présentant une influence sur ses habitants. Au XXe siècle, le lien a été établi avec la production agricole (Cluzel, 2009), pour que la définition soit par la suite précisée et internationalisée par l'UNESCO dans sa charte de 2005. Dans la définition de l'UNESCO le terroir est « *un espace géographique délimité, défini à partir d'une communauté humaine qui construit au cours de son histoire un ensemble de traits culturels distinctifs, de savoirs et de pratiques, fondés sur un système d'interactions entre le milieu naturel et les facteurs humains. Les savoir-faire mis en jeu révèlent une originalité, confèrent une typicité et permettent une reconnaissance pour les produits ou services originaires de cet espace et donc pour les hommes qui y vivent. Les terroirs sont des espaces vivants et innovants qui ne peuvent être assimilés à la seule tradition.* » (Terroirs et cultures, 2005. Charte des terroirs. Document présenté lors des rencontres internationales Planète Terroirs, 10 novembre, Paris, UNESCO).

Dans le cadre d'une convention de recherche regroupant des chercheurs de l'INRA et des agents de l'INAO (Institut national de l'origine et de la qualité) (2000-2003, France), le terroir a été défini comme un « *espace géographique délimité dans lequel une communauté humaine construit au cours de son histoire un savoir collectif de production, fondé sur un système d'interactions entre un milieu physique et biologique et un ensemble de facteurs humains. Les itinéraires socio-techniques ainsi mis en jeu, révèlent une originalité, confèrent une typicité et aboutissent à une réputation, pour un bien originaire de cet espace géographique*

Il est clair à travers l'ensemble de ces définitions que le « terroir » met en relation la terre, l'environnement, les pratiques humaines et la qualité des produits agricoles. Il comprend donc les conditions pédoclimatiques (telles que le type de sol et le climat) ainsi que les pratiques agronomiques susceptibles d'affecter la composition d'un produit ainsi que sa qualité organoleptique et nutritionnelle (Lucini et al., 2020).

- Effet et rôle

La distance géographique et la manque de connaissance entre les producteurs d'aliments et les consommateurs s'est accrue dans le monde développé. Les chaînes de production sont plus complexes et les personnes sont moins impliquées dans la production alimentaire et par conséquent savent moins comment est cultivée leur propre nourriture ou comment la nourriture est produite (Hendrickson and Heffernan, 2002, Eden et al., 2008).

En France, le terroir est à l'origine des Appellations d'Origine Contrôlées (AOC) qui « *désigne un produit dont toutes les étapes de production sont réalisées selon un savoir-faire reconnu dans une même aire géographique, qui donne ses caractéristiques au produit. C'est un signe européen qui protège le nom du produit dans toute l'Union* » (INAO, 2016). Le terme « produit locale ou de terroir » peut être lié à un concept de biens ou services naturels produits ou fournis par différentes entreprises situées dans des zones rurales ayant une identité socio-économique établie (Cvijanović et al., 2020) . Les produits de terroir sont reconnus par les consommateurs comme une alternative rassurante à une production standardisée et généralement mondialisée. Aussi, la consommation des produits de terroir contribue à préserver l'environnement et le patrimoine régional et participe à l'essor économique des régions concernées (O'Hara and Stagl, 2001, Smithers et al., 2008). En effet, les consommateurs bénéficient ainsi d'une meilleure connaissance des origines des aliments et d'un accès à des aliments plus frais et plus authentiques (Lamine, 2005). Les avantages économiques résident dans la possibilité de conserver une plus grande part de l'argent dépensé pour les importations des aliments dans l'économie locale, tandis que les avantages environnementaux sont associés à l'utilisation des systèmes agricoles moins exigeants sur le plan écologique (Smithers et al., 2008).

2. Les produits et sous-produits de l'industrie meunière

La meunerie consiste à transformer les grains de blé en farine ou en semoule en passant par le nettoyage, le mouillage et la mouture. De cette opération, différents produits et sous-produits sont obtenus, avec le son comme sous-produit principal (Tableau 3).

Tableau 3. Principaux produit obtenus après broyage du blé (Feillet, 2000)

Produits et sous-produits de la mouture	Caractéristiques
Farine	Particules fines d'albumen, de 30 à 200µm de diamètre
Semoule	Grosses particules d'albumen de 150 à 500µm de diamètre, sans les enveloppes adhérentes
Gruaux	Particules de l'albumen dont la taille est intermédiaire entre celles des farines et celles des semoules, isolés du cœur de l'albumen
Semoules bises	Grosses particules d'albumen collées à des fragments d'enveloppes
Remoulages	Fines particules d'enveloppes collées à l'albumen
Sons fins	Petits fragments d'enveloppes (0.5 à 1mm de dimension principale ; 0.5 à 1 mm ²), sans albumen
Gros sons	Gros fragments d'enveloppes (1 à 5mm de dimension principale ; 1 à 10 mm ²), sans albumen

2.1. Le son de blé

Chaque année, environ 120 millions de tonnes de son de blé sont produites dans le monde (Pazo-Cepeda et al., 2019). C'est un matériau végétal complexe, habituellement éliminé lors de la fabrication de la farine blanche.

2.1.1. Histologie et composition biochimique du son de blé

Tel qu'il a été décrit précédemment, le son de blé est constitué de plusieurs tissus végétaux, chacun ayant une composition chimique différente (Figure 5).

En partant de l'extérieur vers l'intérieur du grain, le son se compose de péricarpe (qui rassemble l'épiderme, l'hypoderme, les cellules transversales et les cellules tubulaires), de tégument ou testa, de la bande hyaline ou l'épiderme nucellaire et de la couche d'aleurone qui est étroitement liée au tégument (Delcour and Hoseney, 2010, Evers and Millar, 2002). Le terme « son » en meunerie signifie toutes les couches du tissu végétal citées ci-dessus avec de l'endosperme résiduel qui reste attaché à la couche d'aleurone après mouture (Deroover et al., 2020). Le péricarpe est composé de cellules vides dont les parois sont constituées principalement d'environ 30% de cellulose, 60% d'arabinoxylane et 12% de lignine (Fincher and Stone, 1986, Brouns et al., 2012, Shewry et al., 2013).

La couche d'aleurone se situe sur la face interne du son en contact avec l'endosperme, elle contient des β -glucanes et une majorité d'arabinoxylane avec 29% et 65% respectivement, le reste étant des protéines, de la cellulose, du glucomannane et des acides phénoliques (principalement l'AF qui constitue 90% des acides phénoliques totaux) (Antoine et al., 2003, Brouns et al., 2012, Jääskeläinen et al., 2013). La couche d'aleurone est aussi riche en nutriments comme les minéraux (fer, magnésium, zinc et calcium) et presque toutes les vitamines du groupe B (Deroover et al., 2020).

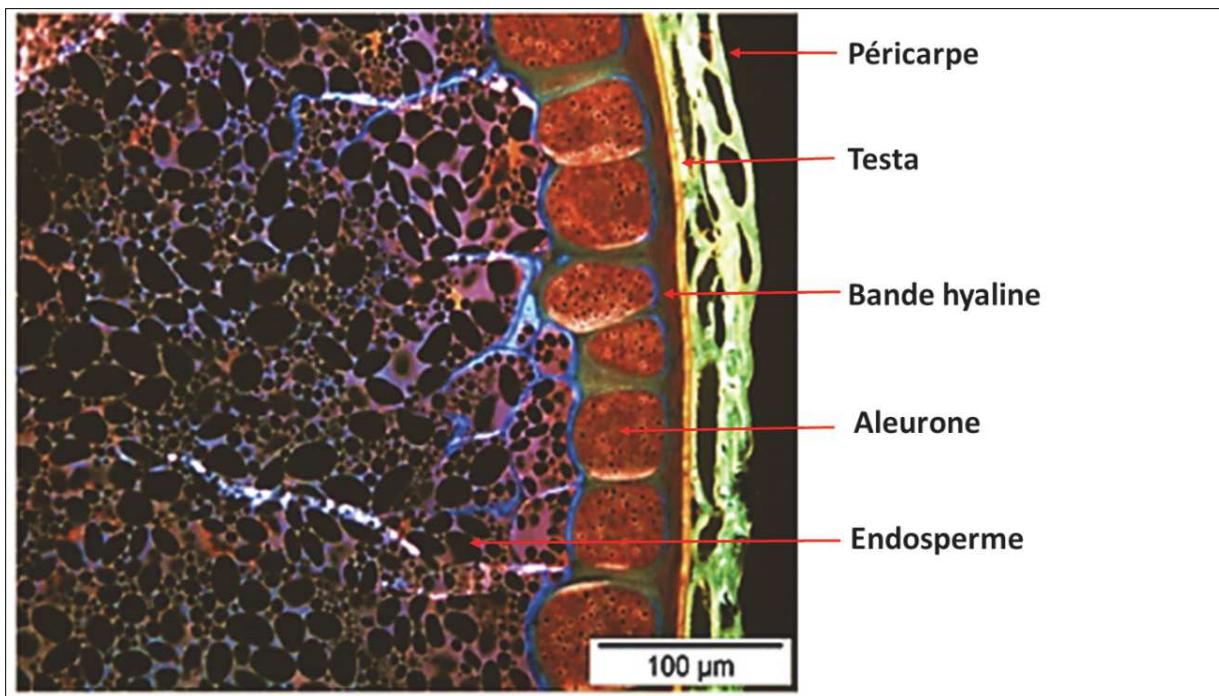


Figure 5. Image d'un microscope à fluorescence montrant les différents tissus constituants le son de blé (modifiée de (Sapirstein, 2016))

2.1.2. Applications du son de blé

Aujourd’hui, le son de blé est principalement destiné à l’alimentation animale (environ 90% du son de blé) comme source de phosphore, afin d’alléger les aliments denses et lourds et pour augmenter l’apport en fibres chez les animaux (Deroover et al., 2020). Toutefois, les coûts de transport élevés obligent souvent le meunier à jeter le son dans la nature (Xie et al., 2008, Rahman et al., 2017). Seulement 10% de la production annuelle en son est destinée à l’alimentation humaine, soit en boulangerie (pain complet, produits du petit-déjeuner) ou en tant qu’additif dans les produits destinés aux régimes alimentaires minceurs comme source de fibres (Prueckler et al., 2014, Hemdane et al., 2015, Onipe et al., 2015). Il commence également à être employé comme émulsifiant, afin d’augmenter la capacité de rétention d’eau de l’aliment, réduisant ainsi son temps de cuisson. Grâce à son apport en arabinoxylane, il est utilisé comme agent gélifiant. Les protéines isolées du son de blé peuvent être utilisées comme ingrédients dans des formulations alimentaires (Khan, 2016, Hossain et al., 2013).

Hormis les applications en alimentation animale et humaine, d’autres voies de valorisation du son de blé commencent à voir le jour.

Dans l'industrie papetière, il est employé comme charge pour la production de sacs en papier utilisés comme housses de protection dans les pépinières forestières. Contrairement aux sacs en PVC conventionnels, les composites papier/son de blé sont biodégradables, avec une bonne résistance au vieillissement. Aussi, la combinaison de l'amidon et de la cellulose et du son de blé avec d'autres matériaux peuvent constituer des emballages alimentaires biodégradables (Modzelewska and Adamska, 2006, Hossain et al., 2013). Dans le domaine des biocarburants, l'hydrolyse des polysaccharides de la paroi cellulaire du son conduit à la production de sucres précurseurs de bioéthanol (Palmarola-Adrados et al., 2005).

2.1.3. Effet de la consommation du son de blé sur la santé humaine

De nombreuses études ont rapporté les effets de la consommation de blé entier ou du son de blé sur la prévention de différentes maladies telles que le cancer du côlon, les maladies cardiovasculaires, l'obésité, certains troubles gastro-intestinaux, la constipation, le syndrome du côlon irritable, le diabète de type 2, etc.(Fung et al., 2002, Koh-Banerjee et al., 2004, Jones, 2006, Sahyoun et al., 2006, Seal, 2006, De Munter et al., 2007, Schatzkin et al., 2007, Mellen et al., 2008, Fardet, 2010, Stevenson et al., 2012, Aune et al., 2016). Ceci grâce à ses constituants tels les fibres, les minéraux, les vitamines, le folate et certains composés phytochimiques (spécialement les composés phénoliques) (Shewry, 2009a).

Les mécanismes spécifiques par lesquels les fibres de son peuvent prévenir l'incidence du cancer sont divers et vont du piégeage de composants alimentaires nocifs et toxiques dans la matrice fibreuse à la production d'acides gras à chaînes courtes dans l'intestin, ainsi que par la régulation négative des protéines impliquées dans la progression du cancer (Welti-Chanes, 2020).

Les fibres agissent également sur le contrôle du poids. En favorisant la sécrétion de la salive et du suc gastrique dans le tractus gastro-intestinal, elles encouragent la mastication, ce qui induit une sensation de satiété (Clark and Slavin, 2013, Deroover et al., 2020).

Les acides phénoliques, les alkylrésorcinols ainsi que la vitamine E présents dans le son de blé possèdent une action antioxydante qui joue un rôle important dans la protection de molécules importantes telles que l'ADN, les protéines et les lipides membranaires contre les dommages oxydatifs, ce qui réduit les risques des maladies cardiovasculaires et les cancers. Par exemple, les acides phénoliques et principalement l'AF (qui assure *in vitro* jusqu'à 60% de

l'activité antioxydante de la couche aleurone) inhibent l'oxydation des lipoprotéines à basse densité (LDL), éventuellement en se liant à l'apolipoprotéine B. Les alkylrésorcinols stimulent la production de thromboxane et inhibent la formation de triglycérides, protégeant ainsi contre les maladies cardiovasculaires. La vitamine E quant à elle, possède la capacité de maintenir le Sélénium à l'état réduit. Ce dernier est connu comme cofacteur de la glutathion peroxydase (enzyme ayant une action suppressive sur la prolifération cellulaire à des niveaux élevés)(Mateo Anson et al., 2008, Vaher et al., 2010, Yu et al., 2005, Liyana-Pathirana and Shahidi, 2007, Ross et al., 2004, Slavin, 2004, Fardet, 2010).

Le son de blé contient d'autres composants biologiquement actifs tels que les acides aminés soufrés. La méthionine et la cystine se trouvent à environ 0.6% dans le son du blé. Etant les précurseurs du glutathion (un antioxydant intracellulaire), elles contribuent au contrôle du statut oxydatif des cellules (Fardet, 2010).

L'unique inconvénient lié à la consommation du son de blé est la présence de l'acide phytique (1 à 2% du poids de grain), abondant dans la couche aleurone et le péricarpe (Dost and Tokul, 2006, Noort et al., 2010). Cet acide a tendance à former des complexes insolubles en se liant aux minéraux présents dans le blé (calcium, magnésium, zinc, fer), limitant ainsi leurs absorption et digestion (Brinch-Pedersen et al., 2002). L'enzyme endogène phytase est capable de dégrader l'acide phytique. Ainsi, la réduction de la taille du son de blé permet de le mettre en contact avec l'enzyme et conduit à sa dégradation. Le soumettre à des traitements thermiques en conditions acides ($\text{pH}=4.5$) ou à des procédés de fermentation contribuent également à réduire sa concentration dans le son de blé (de 8% à 90%) (Watzke, 1998, Leenhardt et al., 2005, Mosharraf et al., 2009, Majzoobi et al., 2014).

2.2. La Farine de blé

Depuis l'aube de la civilisation, le blé a été moulu en farine, qui quand mélangée avec de l'eau donnera une pâte. La farine, produit de mouture du grain de blé, a un pH de 6.2 à 6.5, et se compose principalement d'amidon (environ 70–75%, dont 72% - 75% d'amylopectine et 25% - 28% d'amylose), d'eau (environ 14%), de protéines (environ 10-12%, dont 70% - 80% sont des protéines de stockage à savoir gliadines et gluténines, et environ 10% à 20% sont des hydrolases telles que les α - et β -amylases et protéases ; ou des oxydases telles que la lipoygénase et la polyphénol oxydase), de polysaccharides non amylosés (environ 2 à 3%, en

particulier 1.5% -2% d'arabinoxylanes et moins de 2% de β -glucanes), de lipides (environ 2%) et de cendres (1.17 à 2.96%) (Goesaert et al., 2005, Carson and Edwards, 2009, De Vuyst et al., 2017, Cardoso et al., 2019). Cette composition chimique ainsi que les propriétés physico-chimiques qu'elle confère à la pâte (résistance, élasticité, extensibilité...), appelées aussi qualité boulangère, varient en fonction de la période de récolte, du choix du cultivar, des pratiques agricoles, des conditions météorologiques, du procédé de mouture, des conditions de stockage et de transformation (de la farine en produit fini) (Maraschin et al., 2008, Doblado-Maldonado, 2012, Koehler and Wieser, 2013, Shewry et al., 2013, Li et al., 2014, Pontonio et al., 2015, Schmidt et al., 2016, Alfonzo et al., 2017).

2.2.1. Taux de cendre

Le type de farine est principalement déterminé à travers la concentration en cendres. Les cendres sont un ensemble de composées minéraux constitués majoritairement de phosphore (45%), potassium (38%), calcium (3%), magnésium (13%), fer, zinc, et cuivre (1%) (Kulkarni et al., 2006, Piironen et al., 2009). Le taux de cendres des farines est le rapport de la masse de cendres restantes (formé de minéraux oxydés) après incinération d'une masse de farine pendant une heure à 900 ° C (méthode de détermination prévue dans la norme AFNOR NF V 03-720 / Méthode A de la norme ISO 2171). Le taux de cendre dépend du génotype, de la variété, du terroir et de l'année de culture. L'aleurone et le péricarpe contiennent le taux le plus élevé en minéraux avec environ 68%, alors que l'endosperme contient environ 20% et le germe 12% (Obert et al., 2004, Kulkarni et al., 2006, Khan, 2016, Czaja et al., 2020). Le taux de cendre est donc lié à la présence de son de blé dans une farine et donne une indication sur la pureté de cette dernière. Les différents types de farines disponibles dans le commerce sont caractérisés par leur taux de cendre (Roussel et al., 2002, Michel, 2018) (Tableau 4).

Tableau 4. Les types de farines de blé en fonction du taux de cendres par rapport à la matière sèche, selon le décret n ° 63-720 du 13 juillet 1963

Type de farines de blé	Taux de cendres (% de matière sèche)
Type 45	Inférieur à 0,50 %
Type 55	Entre 0,50 à 0,60 %
Type 65	Entre 0,62 à 0,65 %
Type 80	Entre 0,75 à 0,90 %
Type 110	Entre 1,00 à 1,20 %
Type 150	Plus de 1,40 %

2.2.2. Types de moulins

Il existe deux types de moulins qui permettent d'obtenir les différents types de farine à partir du grain de blé (Figure 6). La mouture sur meule de pierre est la méthode la plus simple et la plus rapide pour la production de la farine de blé entière et qui contient toutes les fractions du grain (endosperme, son, et germe) en proportions naturelles. Cette méthode est privilégiée par de nombreux boulangers bio qui ont travaillé à son optimisation au fil des années (Di Silvestro et al., 2014, Cappelli et al., 2018). Cette méthode contribuerait à réduire la teneur en mycotoxines (vomitoxine et zéaralénone) des farines par rapport au système de mouture sur cylindre (Palpacelli et al., 2007). Les farines produites se caractérisent par une concentration élevée en minéraux, polyphénols, fibres, caroténoïdes (Ficco et al., 2016, Albergamo et al., 2018, Liu et al., 2018), et par des saveurs sucrées et parfumées.

La mouture sur cylindre est utilisée dans presque tous les moulins industriels. La séparation de l'albumen et de l'enveloppe se fait par cisaillement entre des cylindres cannelés qui tournent en sens inverse, en quatre ou cinq passages successifs. Les farines et semoules sont ensuite réduites en particules plus fines entre des cylindres lisses. Elle permet de séparer l'endosperme du son et du germe, avec une réduction progressive de la taille des particules (Campbell, 2007, Campbell et al., 2007, Finnie and Atwell, 2016). Les farines produites donnent des pâtes avec des propriétés rhéologiques différentes de celles des farines issues des moutures sur meule de pierre (Posner, 2003, Kihlberg et al., 2004). La mouture sur cylindre est plus flexible et plus efficace en terme de rendements (Meuser, 2003, Doblado-Maldonado et al., 2012). En revanche, elle présente des effets négatifs sur la teneur en minéraux si le taux de cendre n'est pas corrigé par ajout de son micronisé (Cubadda et al., 2009).

Elle peut également être associée à des problèmes d'oxydation et de rancissement du germe (Boukid et al., 2018).



Figure 6. Meule de pierre (1) et meule cylindrique (2). Sources des images :

(1) :<https://pixabay.com/photos/stone-mill-traditional-old-rustic-3212205/>,

(2) :https://www.feedmachinery.com/glossary/equipment/roller_mills/

3. La panification

3.1. Le procédé de panification

La panification est un procédé qui consiste à transformer la farine en pain (Figure 7). Ceci implique de mélanger en proportions appropriées de la farine, de l'eau, du sel, un ferment qui peut être une levure commerciale (le plus souvent *Saccharomyces cerevisiae*) et/ou du levain (naturel ou ensemencé par des fermentations industriels) et éventuellement des additifs autorisés. Le pain conventionnel peut contenir jusqu'à 14 additifs autorisés selon la directive européenne 95/2/CE, parlement européen 1995 : acide acétique et ses sels, acide lactique et ses sels, acide ascorbique, lécithine, mono et diglycéride d'acide gras. Pour le pain biologique, seuls quelques additifs sont autorisés comme l'acide ascorbique, la farine de riz ou les huiles végétales pour huiler les moules (règlement CE N 889/2008, Commission européenne 208).

Un pétrissage mécanique ou manuel est appliqué pour former la pâte. La pâte pétrie est laissée fermenter une première fois lors du pointage qui dure en général de 1h à 5h. Ce dernier permet la fermentation en masse de la pâte. La pâte est ensuite subdivisée en morceaux unitaires (pâtons), façonnée et laissée pour une deuxième fermentation (apprêt) qui dure en général entre 1 à 3h. cela induit une modification des propriétés physiques et rhéologiques des morceaux de pâte. Enfin, les pâtons sont scarifiés et enfournés à environ 250 degrés. L'alcool produit lors de la fermentation est évaporé, et la pâte se caramélise sous l'effet des réactions de Maillard donnant à la croûte ses arômes caractéristiques (Roussel et al., 2002, Roussel et al., 2010, Michel, 2018).

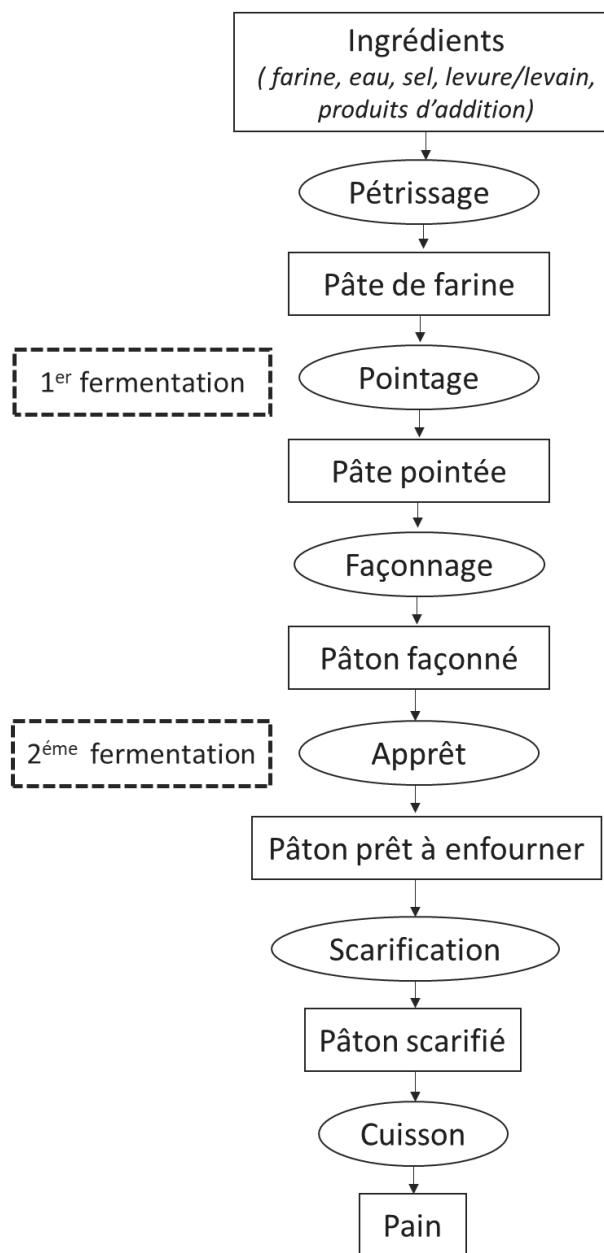


Figure 7. Diagramme de panification française (Roussel et al., 2010)

3.2. La fermentation

La fermentation est un procédé ancien pratiqué depuis des siècles pour la transformation des aliments.

Elle peut être naturelle (spontanée) par l'action des microorganismes endogènes, comme dans le cas des levains naturels, ou contrôlée par l'inoculation de microorganismes spécifiques (levure commerciale *Saccharomyces cerevisiae*, levains ensemencés). La fermentation implique la transformation de substrats présents dans les aliments via l'activité microbienne, donnant lieu à des modifications de l'apparence, de la saveur, de la composition nutritionnelle, de la couleur et de la texture de produit en question (Adebo et al., 2017, Adebo and Gabriela Medina-Meza, 2020).

3.2.1. La levure commerciale

La fermentation par les levures commerciales est un procédé très répandu.

Le genre *Saccharomyces* est cultivé et utilisé par l'homme pour la fermentation des produits alimentaires (Cavalieri et al., 2003, Kulp and Lorenz, 2003, Sicard and Legras, 2011). Au fil du temps, *Saccharomyces cerevisiae* est devenue l'espèce la plus cultivée, et la plus utilisée dans la panification industrielle. Au cours de la fermentation, *S. cerevisiae* transforme le glucose en éthanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) et en dioxyde de carbone (CO_2) avec production d'une quantité d'énergie sous forme d'ATP (Adénosine TriPhosphate). Lors de la formation de l'éthanol, le pyruvate ($\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_3$) (la forme anion de l'acide pyruvique $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$) issu de la consommation et transformation du glucose au cours de la glycolyse est d'abord décarboxylé en acétaldéhyde (CH_3CHO) avec libération d'une molécule de dioxyde de carbone CO_2 , qui est réduit en éthanol par l'alcool déshydrogénase avec oxydation d'une molécule de NADH en NAD^+ . En plus du CO_2 et de l'éthanol, une large gamme de composés aromatiques sont produits, tels que des alcools, des aldéhydes, 2,3-butanedione (diacétyl), 3-hydroxy 2-butanone (acétoïne) et des esters) (Figure 8) (Birch et al., 2013, Michel, 2018).

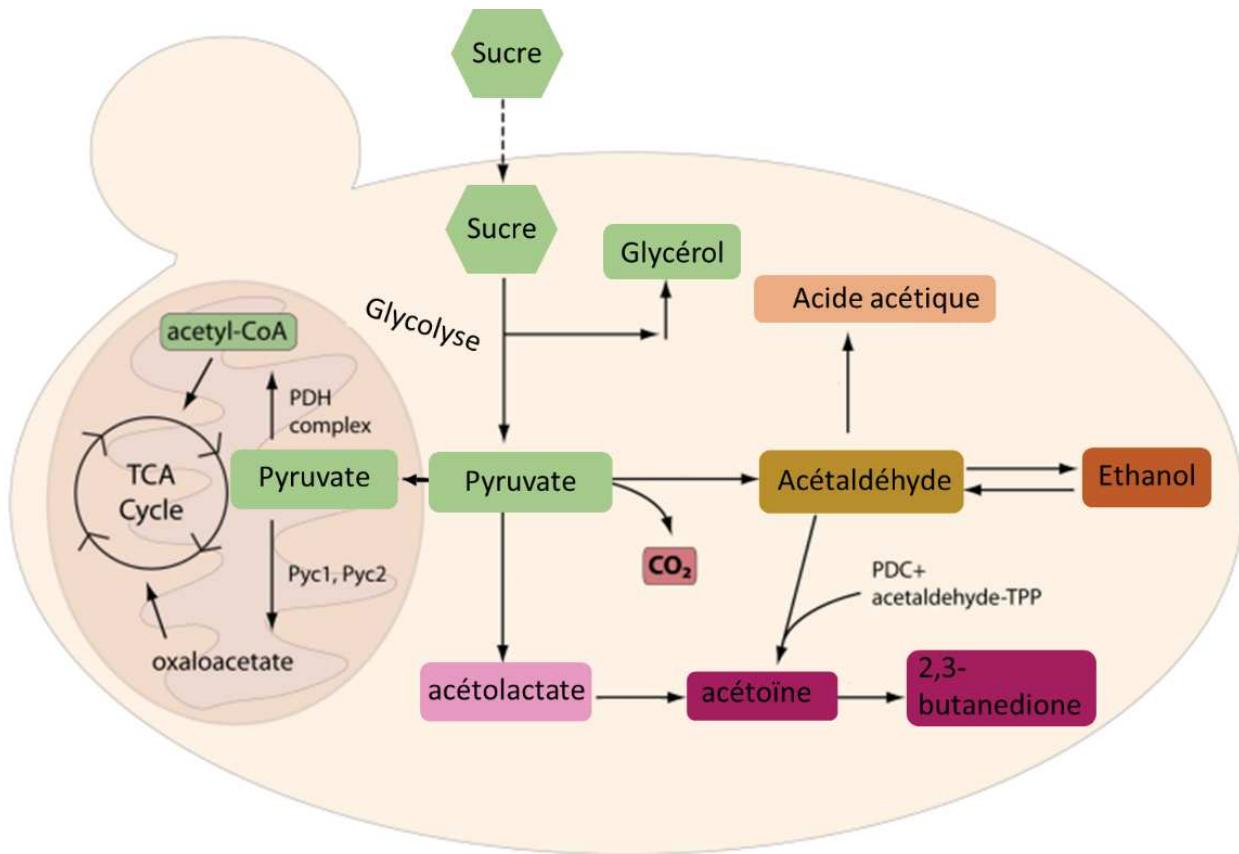


Figure 8. Le métabolisme de la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Les sucres sont convertis en glycérol ou pyruvate par la glycolyse. Le pyruvate peut être transporté vers le cycle de Krebs (TCA) pour la respiration (à gauche) ou vers la fermentation alcoolique (à droite) (figure modifiée de (Dzialo et al., 2017)).

3.2.2. Le levain

Le levain est un mélange de farine et d'eau, fermenté spontanément à l'aide de bactéries lactiques (LAB) et de levures, et se caractérise par un pH acide (De Vuyst et al., 2014) (Figure 9). Le développement de la communauté microbienne dans le levain est assuré et maintenu par les « rafraîchis », qui est le processus d'ajout de farine et d'eau à la pâte initiale de levain, communément appelée « levain chef ou levain mère ». Les pâtes au levain sont plus acides que les pâtes à la levure et contiennent de l'acide lactique et de l'acide acétique qui confèrent un goût plus ou moins lactique ou acétique. Le pain au levain se caractérise par des propriétés sensorielles, nutritionnelles et physiques différentes de celles du pain à la levure. Il présente généralement une saveur plus intense, un goût acide, une compacité de la mie plus élevée et une durée de conservation accrue (Siepmann et al., 2018, Papadimitriou et al., 2019).

Sur le plan nutritionnel, le pain au levain présente un indice glycémique (IG) plus bas et une plus grande biodisponibilité minérale. Par conséquent, ce type de pains est de plus en plus apprécié par les consommateurs. La production de pain au levain est pratiquée par des boulangers artisanaux souvent passionnés par ce type de pain (Catzeddu, 2019). Le levain peut être fait à partir de farine d'une large diversité de céréales, dont les plus communes sont le blé et le seigle.

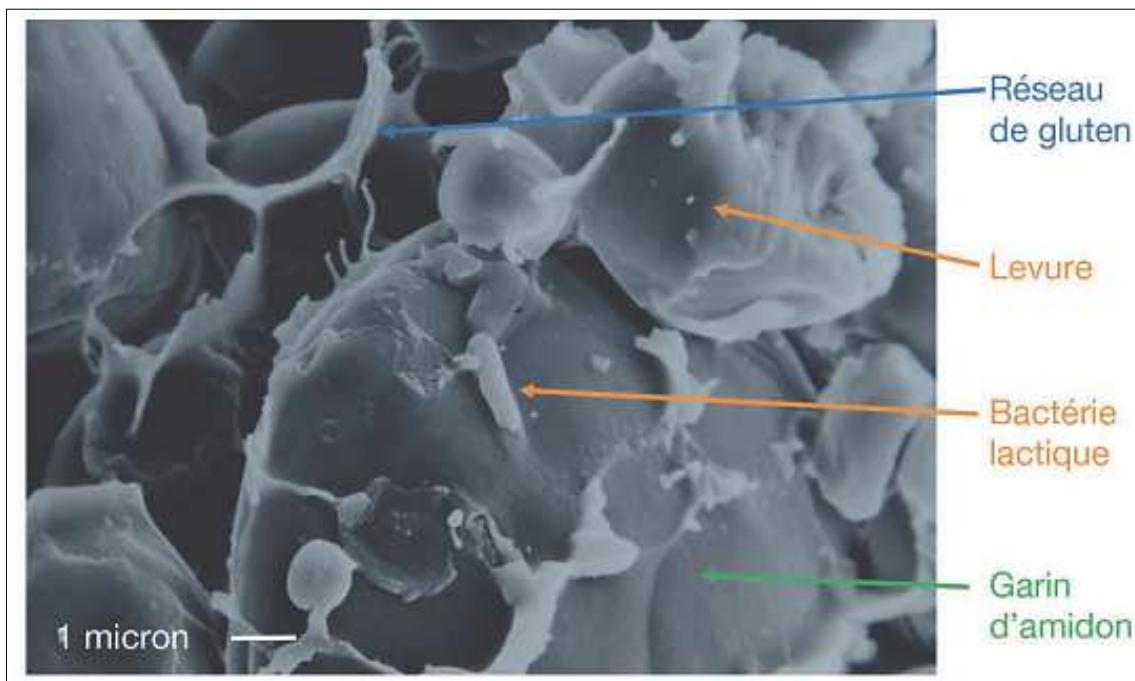


Figure 9. Photo d'un levain en microscopie électronique d'après Bernard Onno (Roussel et al., 2020).

Il existe trois types de levain (Hammes and Gänzle, 1998) :

- Les levains de type I ou levain traditionnel

Il est le résultat d'une fermentation spontanée par la flore microbienne endogène naturelle (De Vuyst et al., 2002, Ripari et al., 2016). La sélection des microorganismes se fait au cours des rafraîchis, où le boulanger mélange de l'eau et de la farine au levain mère. Ce type de levain est utilisé majoritairement par les paysans-boulangers et artisans-boulangers traditionnels, et lié à leurs pratiques, typiques et diversifiées (Michel, 2018).

- Le levain de type II ou levain liquide

Ces levains sont sous la forme liquide et ne sont pas rafraîchis aussi fréquemment que les levains de type I. Ils sont souvent maintenus à des températures élevées, autour de 30°C. Ces paramètres ne sont pas favorables aux levures. Ce levain est donc souvent utilisé industriellement dans le but d'acidifier la pâte. Le plus souvent, des levures starters doivent être ajoutées afin d'aider à la levée de la pâte (De Vuyst et al., 2014, Siepmann et al., 2018).

- Levain de type III ou levain déshydraté

Ces levains sont déshydratés et le plus souvent les micro-organismes y sont désactivés. Il s'agit souvent d'un levain de type II déshydraté. Il est utilisé pour acidifier la pâte. Ce type de levain se caractérise par une qualité constante et une durée de conservation plus longue (De Vuyst and Neysens, 2005, Decock and Cappelle, 2005, Chavan and Chavan, 2011). Des levures doivent être ajoutées au cours de la panification pour la lever de la pâte.

- Levain de type IV

Ce type de levain est utilisé dans les boulangeries artisanales et les études en laboratoire. Sa pâte est sous la forme ferme ou semi-liquide, fermentée par ajout des starters microbiens qui se propagent suite aux rafraîchis réguliers (Catzeddu, 2019).

3.2.2.1. La communauté microbienne du levain

Le levain est un écosystème qui peut être simple, composé de quelques espèces de microorganismes, ou complexe par la présence d'une communauté microbienne plus diverse (Minervini et al., 2014) . Le levain est un environnement stressant pour les micro-organismes en raison du pH relativement faible, d'une limitation en oxygène, d'une pression osmotique élevée, et d'une forte concentration en maltose comme carbohydrate ressource (De Vuyst et al., 2014).

- Les levures

La diversité des espèces microbiennes des levains a été analysée dans une large panoplie de levains de céréale dans le monde (De Vuyst et al., 2014, Carbonetto et al., 2018). La majorité des espèces de levures identifiées appartiennent au phylum *Ascomycota* (Huys et al., 2013, Carbonetto et al., 2018). Ces levures ont un mode de reproduction asexuée par la formation d'un bourgeon ou par scissiparité, et parfois une reproduction sexuée qui donne des asques qui contiennent des ascospores. Leur métabolisme peut être aérobies ou anaérobie, comme expliquée dans la partie (3.2.1). Plus de 30 espèces de levures ont été décrites dans les levains de panification(Carbonetto et al., 2018). Elles appartiennent aux genres *Saccharomyces*, *Kazachstania*, *Wickerhamomyces*, *Torulaspora* et *Pichia* (Lhomme et al., 2015, Michel et al., 2016, Lhomme et al., 2016, Van Kerrebroeck et al., 2017). Les espèces les plus abondantes sont *Saccharomyces cerevisiae*, *Kazachstania humilis*, *Kazachstania bulderi*, *Pichia kudriavzevii* et *Torulaspora delbrueckii* (Michel et al., 2019, Urien et al., 2019).

- Les bactéries Lactiques (LAB)

Les bactéries lactiques (LAB) sont des microorganismes micro-aérophiles à Gram positif pouvant fermenter les hexoses pour produire de l'acide lactique (Makarova et al., 2006). Elles ont été récemment regroupées en 25 genres (Zheng et al., 2020). A travers le monde, plus de 60 espèces de LAB ont été identifiées dans les levains. Elles appartiennent aux genres *Fructilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Levilactobacillus*, *Latilactobacillus* avec une abondance de l'espèce *Fructilactobacillu sanfranciscensis* (hétérofermentaire obligatoire), en plus de *Levilactobacillus brevis*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Levilactobacillus hammesii* (heterofermentaires obligatoires), *Latilactobacillus sakei*, *Companilactobacillus kimchii*, *Latilactobacillus curvatus*, *Lactiplantibacillus plantarum* (heterofermentaire facultatifs) (De Vuyst et al., 2014, Michel, 2018, Michel et al., 2019). La bactérie *Fructilactobacillus sanfranciscensis* a été découverte dans un levain de San Francisco (USA) et décrite comme l'espèce dominante des levains de panification (Gobbetti et al., 1996).

Les LAB sont soit homofermentaires, fermentant les hexoses par la voie d'Embden-Meyerhof Parnas (glycolyse) pour produire de l'acide lactique, ou hétérofermentaires obligatoires, fermentant les hexoses et les pentoses via la voie pentoses-phosphates pour

produire de l'acide lactique, de l'acide acétique et du CO₂ (Figure 10). Elles peuvent être aussi hétérofermentaires facultatives, fermentant les hexoses via la voie Embden-Meyerhof, et les pentoses via la voie pentoses-phosphates. Leur métabolisme joue un rôle dans la saveur, la texture, les qualités nutritionnelles et la conservation du pain. La production d'acides qui baisse le pH de la pâte conduit à l'activation des protéases de la farine qui vont dégrader les protéines en peptides (Vermeulen et al., 2005).

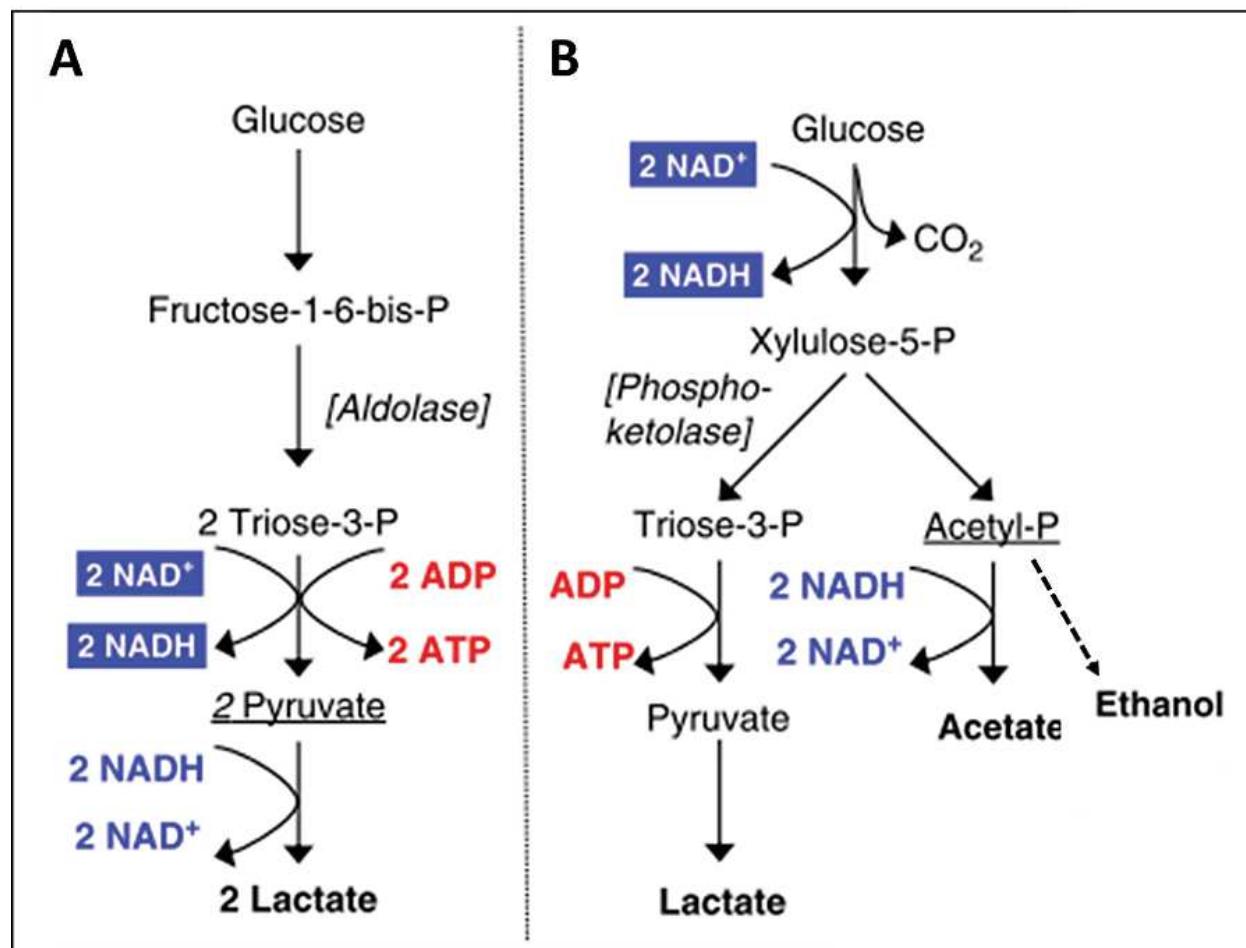


Figure 10. Schéma synthétique des voies métaboliques des LAB homofermentaires (A) et hétérofermentaires (B) (Gänzle, 2015)

- Interaction entre les levures et les LAB

Les interactions microbiennes dans les levains se produisent entre bactéries, entre levures et entre levures et bactéries (De Vuyst and Neysens, 2005, Gobbetti and Gänzle, 2012, Van Kerrebroeck et al., 2017).

Elle peuvent être : 1) négative–négative décrites comme une compétition pour les ressources, 2) négative–neutre ou amensalisme, 3) négative–positive, dites prédation ou parasitisme, 4) positive–neutre, ou commensalisme, 5) positive–positive, ou mutualisme, 6) neutre–neutre, ou neutralisme (Carbonetto et al., 2020). Les interactions (4) et (5) sont aussi connus sous le nom de facilitation.

L’interaction la plus connue dans les levains est celle entre *Kazachstania humilis* et *Fructilactobacillus sanfranciscensis*, fréquemment présentes dans les levains de type I. Les scientifiques ont longtemps fait l’hypothèse que ces deux espèces coopéraient par « cross feeding ». *F. sanfranciscensis*, dégrade le maltose de la farine en glucose et glucose-1-phosphate, le rendant ainsi disponible pour certaines souches de *K. humilis* connues comme étant maltose négative (Gobbetti, 1998, De Vuyst and Neysens, 2005). Toutefois, une étude récente montre que cette interaction ne peut pas être classée aussi simplement comme étant positive, car une diminution de la taille de population était montré dans les souches *K. humilis* maltose-négatives en co-culture avec les LAB hétérofermentaires maltose-positives (Carbonetto et al., 2020). L’espèce *F. sanfranciscensis* pourrait aussi favoriser la croissance des levures par sa capacité à libérer des acides aminés qui sont utilisés par les levures ou autres LAB. Les levures, à leurs tours, peuvent faciliter la croissance des LAB par la libération d’acides aminés, de peptides, de vitamines, et l’hydrolyse du saccharose en glucose et en fructose (Frey-Klett et al., 2011, Gobbetti et al., 1994, De Vuyst and Neysens, 2005, Ponomarova et al., 2017). *S. cerevisiae* en libérant suffisamment de CO₂ favoriserait la croissance de *L. plantarum* et de *F. sanfranciscensis* qui préfère un environnement anaérobie (Sieuwerts et al., 2018). De fait, la nature des interactions bactérie-levure est le résultat d’un ensemble d’échanges métaboliques. Elle dépend des souches car les capacités métaboliques peuvent varier au sein d’une même espèce.

4. Les composés phénoliques dans le son de blé

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires répandus chez les plantes supérieures. Ils se caractérisent par la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Ils possèdent des structures chimiques diverses allant des plus simples (flavonoïdes, acides phénoliques, stilbènes) au plus complexes (tanins, lignines) (Naczk and Shahidi, 2006).

Les acides phénoliques (Figure 11) sont les composés phénoliques les plus abondants dans les grains de blé (

Tableau 5). Ils se localisent dans les enveloppes extérieures comme le péricarpe, la testa et l'aleurone (Kandil et al., 2012). Ils se dévisent en deux grandes classes : les acides hydroxybenzoïques (A) qui comprennent, entre autre, les acides *p*-hydroxybenzoïque, proto-catéchuique, vanillique, gallique et syringique... ; et les acides hydroxycinnamiques (B) incluant les acides férulique, coumarique, caféique et sinapique (Mpofu et al., 2006, Verma et al., 2008).

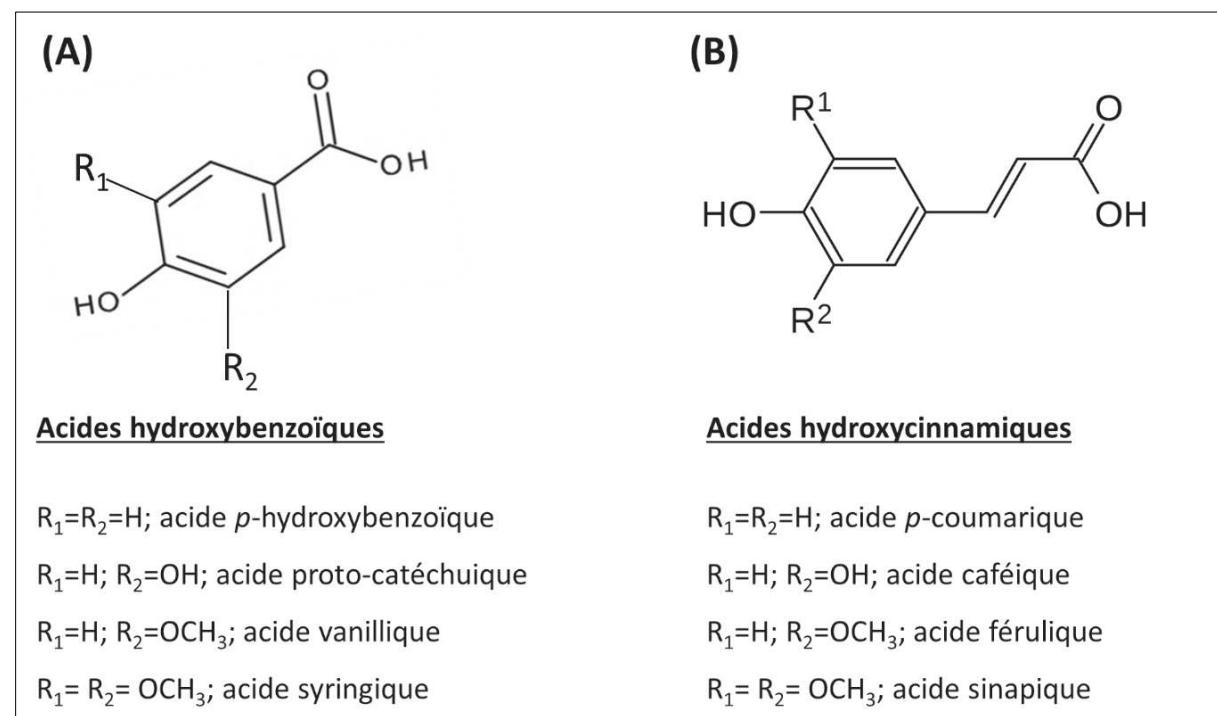


Figure 11. Structure chimique des acides phénoliques

Tableau 5. Teneurs des principaux acides phénoliques dans le son de blé (mg / g de matière sèche)

Composé phénolique	Teneur dans le son de blé (mg/g de matière sèche)	Références
Acide férulique	0.1 - 14.6	(Barron et al., 2007) ;(Antoine et al., 2004) ; (Brouns et al., 2012) ;(Fernandez-Orozco et al., 2010) ; (Zhou et al., 2004) ;(Li et al., 2008) ;(Verma et al., 2009) ;(Liu et al., 2016) ;(Zhao and Moghadasian, 2008, Liyana-Pathirana and Shahidi, 2006)
Acide <i>p</i> -coumarique	0.004-0.16	(Barron et al., 2007) ;(Antoine et al., 2004) ;(Brouns et al., 2012) ;(Fernandez-Orozco et al., 2010) ;(Zhou et al., 2004, Verma et al., 2009) ;(Liu et al., 2016)
Acide sinapique	0.12-0.28	(Barron et al., 2007) ;(Antoine et al., 2004) ;(Brouns et al., 2012) ;(Fernandez-Orozco et al., 2010) ;(Verma et al., 2009)
Acide vanillique	0.02-0.18	(Brouns et al., 2012) ;(Fernandez-Orozco et al., 2010) ;(Zhou et al., 2004) ;(Verma et al., 2009) ;(Liu et al., 2016) ;(Arranz and Calixto, 2010)
Acide syringique	0.03-0.09	(Brouns et al., 2012) ;(Fernandez-Orozco et al., 2010) ;(Zhou et al., 2004); (Verma et al., 2009) ;(Liu et al., 2016)
Acide parahydroxybenzoïque	0.01-0.03	(Brouns et al., 2012); (Zhou et al., 2004); (Verma et al., 2009); (Liu et al., 2016)
Acide caféïque	0.04-4.32	(Arranz and Calixto, 2010)(Stuper-Szablewska and Perkowski, 2019)

Dans les couches extérieures du son de blé, les acides phénoliques se trouvent sous différentes formes (Liyana-Pathirana and Shahidi, 2007, Gao et al., 2017, Shamloo, 2017).

Ils sont :

- libres solubles : ils représentent 0.5-1% (Li et al., 2008), et sont facilement extractibles en solutions alcoolique ou hydro-alcoolique.

- Liés insolubles : ils représentent environ 77% des acides phénoliques totaux (Li et al., 2008), et ne sont pas extractibles en solution alcoolique nécessitant une hydrolyse acide ou alcaline afin de les libérer. Ils sont sous forme de monomères ou d'oligomères et sont liés aux polysaccharides des parois cellulaires par des liaisons esters et peuvent également être associés à la lignine par des liaisons éthers (Figure 12).

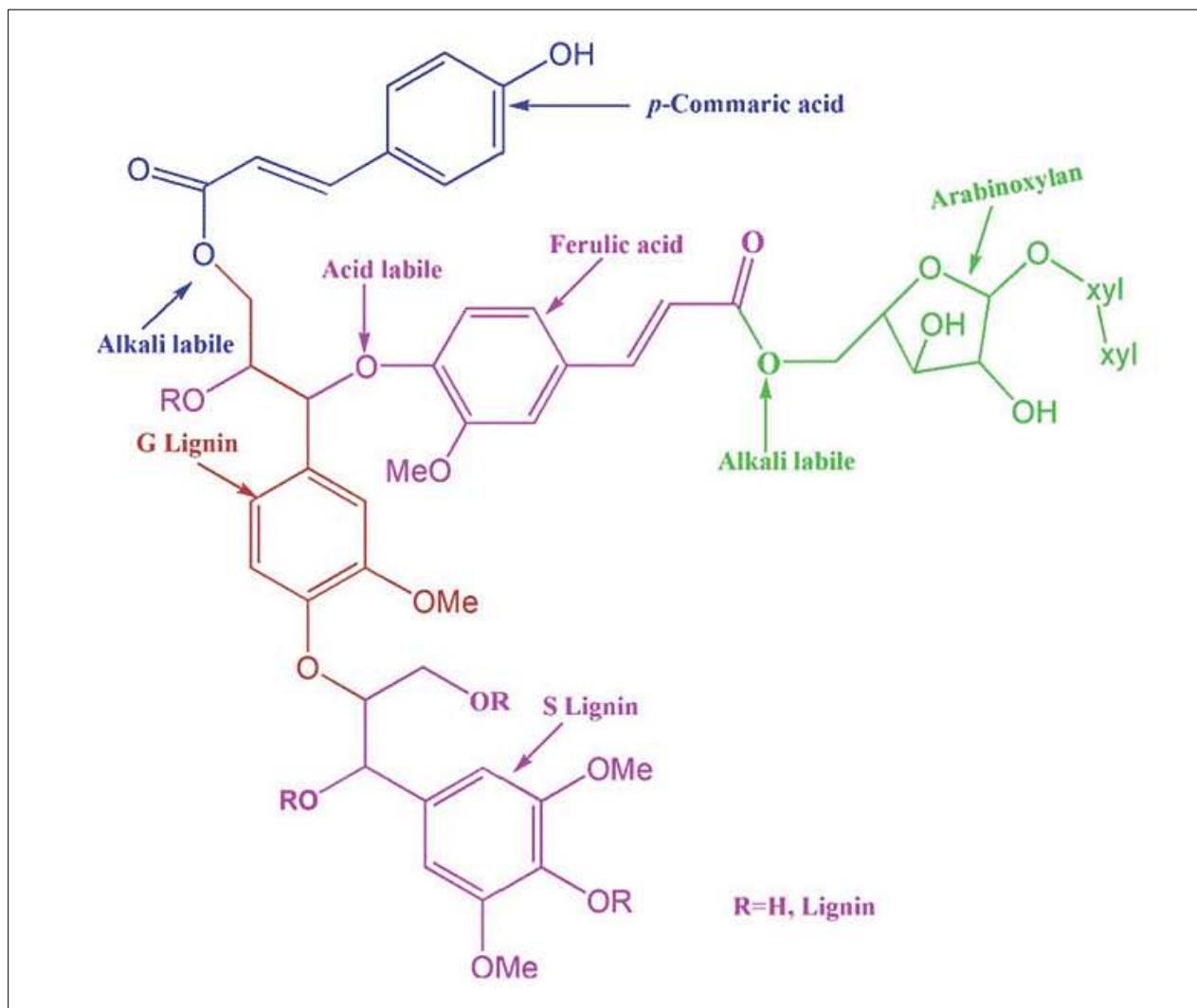


Figure 12. Schéma des complexes lignine-acides phénolique-glucide dans les parois cellulaires de son de blé (Li et al., 2020)

4.1. L'acide férulique (AF)

L'acide férulique (4-hydroxy-3-méthoxycinnamique) (AF) (Figure 13), de formule brute C₁₀H₁₀O₄, est un composé phénolique appartenant à la famille des acides hydroxycinnamiques. Il est assez répandu dans les parois cellulaires de plantes comme les fruits, les légumes et les sons de céréales. Il se présente sous la forme isomère *cis* (liquide huileux jaune) ou *trans* (poudre cristalline blanche), avec une prédominance de la forme *trans* dans les céréales (Zhao and Moghadasian, 2008) (Tableau 6).

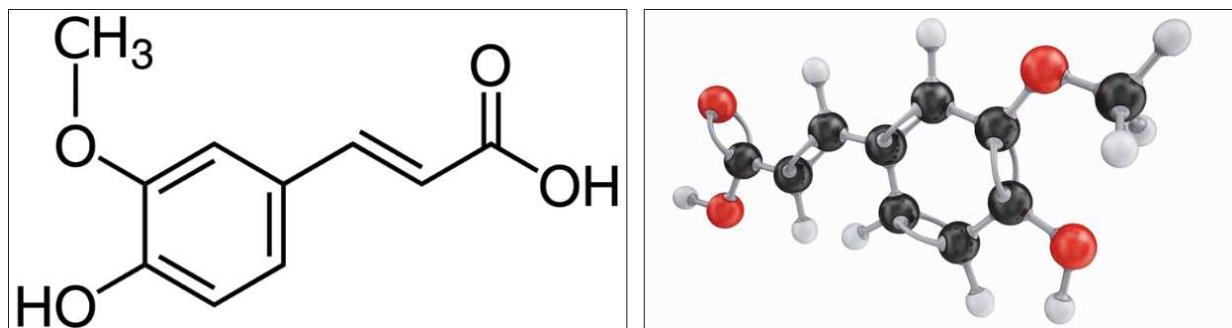


Figure 13. La structure chimique de l'AF

Tableau 6. Teneurs en AF dans les sons de céréales

Céréale	Teneur en l'AF dans le son (mg/g de matière sèche)	Références
Maïs	26.10 - 33	(Zhao and Moghadasian, 2008, Boz, 2015)
Blé	1.39 - 14.56	(Zhao and Moghadasian, 2008, Liyana-Pathirana and Shahidi, 2006, Stuper-Szablewska and Perkowski, 2019, Sharma et al., 2020)
Orge	4.14	(Boz, 2015)
Seigle	2.8	(Zhao and Moghadasian, 2008, Mattila et al., 2005b, Stuper-Szablewska and Perkowski, 2019)
Riz	0.87 - 1.9	(Tuncel and Yilmaz, 2011, Sharma et al., 2020)
Avoine	0.33	(Zhao and Moghadasian, 2008, Mattila et al., 2005b, Stuper-Szablewska and Perkowski, 2019)

4.1.1. L'AF dans le blé

L'AF est parmi les métabolites secondaires essentiels pour la croissance et la reproduction de la plante. La biosynthèse de ce composé est régulée par l'activité d'enzymes comme PAL (Phénylalanine ammonia-lyase) et CHS (chalcone synthase) codés par des gènes tel que C4H (cinnamate 4-hydroxylase), C3H (*p*-coumarate 3-hydroxylase) et COMT2 (cafféic acid O-méthyltransferase) (Ma et al., 2014, Sharma et al., 2019, Chen et al., 2019).

La synthèse de l'AF (et des autres composés phénoliques) est une réponse au stress causé par des facteurs environnementaux ou l'attaque des pathogènes (Abdel-Aal et al., 2001, Kefeli et al., 2003, Kaur and Zhawar, 2015, Siranidou et al., 2002).

Les propriétés antioxydantes de ces composés permettent le piégeage des radicaux libres et entraînent la réduction de la peroxydation des membranes cellulaires, protégeant ainsi les cellules végétales des effets néfastes du stress (Sharma et al., 2019).

La teneur en composés phénoliques, dont l'AF, dans le blé dépend du génotype, de la variété, de l'année de culture, de l'espèce et du terroir (Abdel-Aal et al., 2001, Beta et al., 2005, Mpofu et al., 2006, Li et al., 2008, Fernandez-Orozco et al., 2010, Menga et al., 2010, Shewry et al., 2010, Laddomada et al., 2017). L'effet du terroir est souvent associé aux conditions environnementales et climatiques comme la température et les rayonnements solaires quotidien (Yu et al., 2004, Zhou and Yu, 2004). Il a été montré que les teneurs en acides férulique, *p*-coumarique et caféique dans les espèces de blé petit-épeautre et amidonnier étaient plus élevées pendant les années de culture sèches et très chaudes (Barański et al., 2020).

Des différences ont été notées entre variété de blé ancien /moderne. Certaines études récentes ont montré que les variétés de blé anciennes contenaient environ deux fois plus d'acide phénolique dont l'AF que les variétés de blé modernes (Di Loreto et al., 2018, Gotti et al., 2018, Barański et al., 2020, Truzzi et al., 2020).

L'influence de l'espèce sur la teneur en AF est assez mitigée. Certaines études montrent que le blé tendre est plus riche que le blé dur (Spaggiari et al., 2020), tandis que d'autres montrent le contraire (Abdel-Aal and Rabalski, 2008, Calzuola et al., 2013, Wang et al., 2020). D'autres travaux ne trouvent aucune différence entre les deux espèces (Li et al., 2008, Shewry and Hey, 2015).

Le type de culture aussi (biologique / conventionnelle) influence significativement la teneur en AF dans le blé. Des études ont démontré que les variétés cultivées en agriculture biologique, à faibles intrants chimique, ont des teneurs plus élevées en acides phénoliques (Vaher et al., 2010, Zuchowski et al., 2011, Rempelos et al., 2020, Wang et al., 2020). Tandis que d'autres n'ont pas constaté une différence entre les deux type de culture sur la teneur en composé phénolique, en expliquant que cette teneur est plutôt influencée par les facteurs climatiques (Stracke et al., 2009).

Le grain de blé entier contient environ 0,8 à 2 g d'AF / kg de matière sèche, ce qui correspond à 90% des polyphénols totaux dans le blé (Boz, 2015). L'AF se localise principalement dans la couche d'aleurone. Sa forme libre soluble représente 0.5 à 1% de l'AF total (monomère, dimère, oligomère ou polymères). Sa forme liée (majoritairement aux arabinoxylanes et à la lignine) représente environ 98.5% de l'AF total (Zhao and Moghadasian, 2008, Brouns et al., 2012, Pazo-Cepeda et al., 2019).

L'AF bénéficie d'une attention de plus en plus croissante, grâce à :

- 1- Ses effets positifs sur la santé humaine conférés par ses propriétés antimicrobiennes, anti-oxydantes et anti-inflammatoires (Ou and Kwok, 2004, Shahidi and Chandrasekara, 2010, Paiva et al., 2013, Batista, 2014, Dedeck et al., 2019, Beta et al., 2020, Ou et al., 2007).
- 2- Sa capacité, une fois libre, à se transformer en composés aromatiques possédant des propriétés organoleptiques intéressantes.

4.1.2. Propriétés et effet sur la santé

Différents effets bénéfiques sur la santé humaine ont été attribués à l'AF (certains exemples dans la (Figure 14)).

4.1.2.1. Effet antioxydant

Le potentiel antioxydant de l'AF est supérieur à celui d'autres acides tel que les acides vanillique, coumarique, gallique et cinnamique (Kanski et al., 2002, Kikuzaki et al., 2002). Cette activité antioxydante contribue à l'amélioration de la défense cellulaire et aide à prévenir les dommages liés à l'oxydation des composants cellulaires. En plus, elle neutralise les radicaux libres formés et inhibe la peroxydation lipidique dans le tissu adipeux brun chez les personnes diabétiques (Ohnishi et al., 2004)

4.1.2.2. Effet antimicrobien

L'AF est un agent inhibiteur de nombreux pathogènes tel que *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter koseri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter pylori* et *Shigella sonnei* *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria sp.*, *Botrytis cinerea* et *Penicillium* (Lo and Chung, 1999, Tsou et al., 2000, Ou and Kwok, 2004). La présence d'AF entraîne des changements irréversibles des propriétés des membranes des microorganismes telle que la diminution des charges négatives de surface et l'occurrence de ruptures locales dans les membranes cellulaires, induisant la fuite des constituants intracellulaires essentiels (Borges et al., 2013, Batista, 2014).

4.1.2.3. Effet anti-inflammatoire

L'AF est le composant actif du rhizome des espèces de *Cimicifuga*, une plante fréquemment utilisé comme médicament anti-inflammatoire dans la pharmacopée japonaise. Son effet est associé à la réduction des protéines médiatrices de l'inflammation (interleukine-8) en réponse à des infections par le virus de la grippe *in vitro* et *in vivo* (Hirabayashi et al., 1995). Ce composé a aussi montré un effet sur la diminution de la production de la protéine inflammatoire des macrophages de type 2 en réponse à une infection par le virus respiratoire syncytial (RSV) (Sakai et al., 1999).

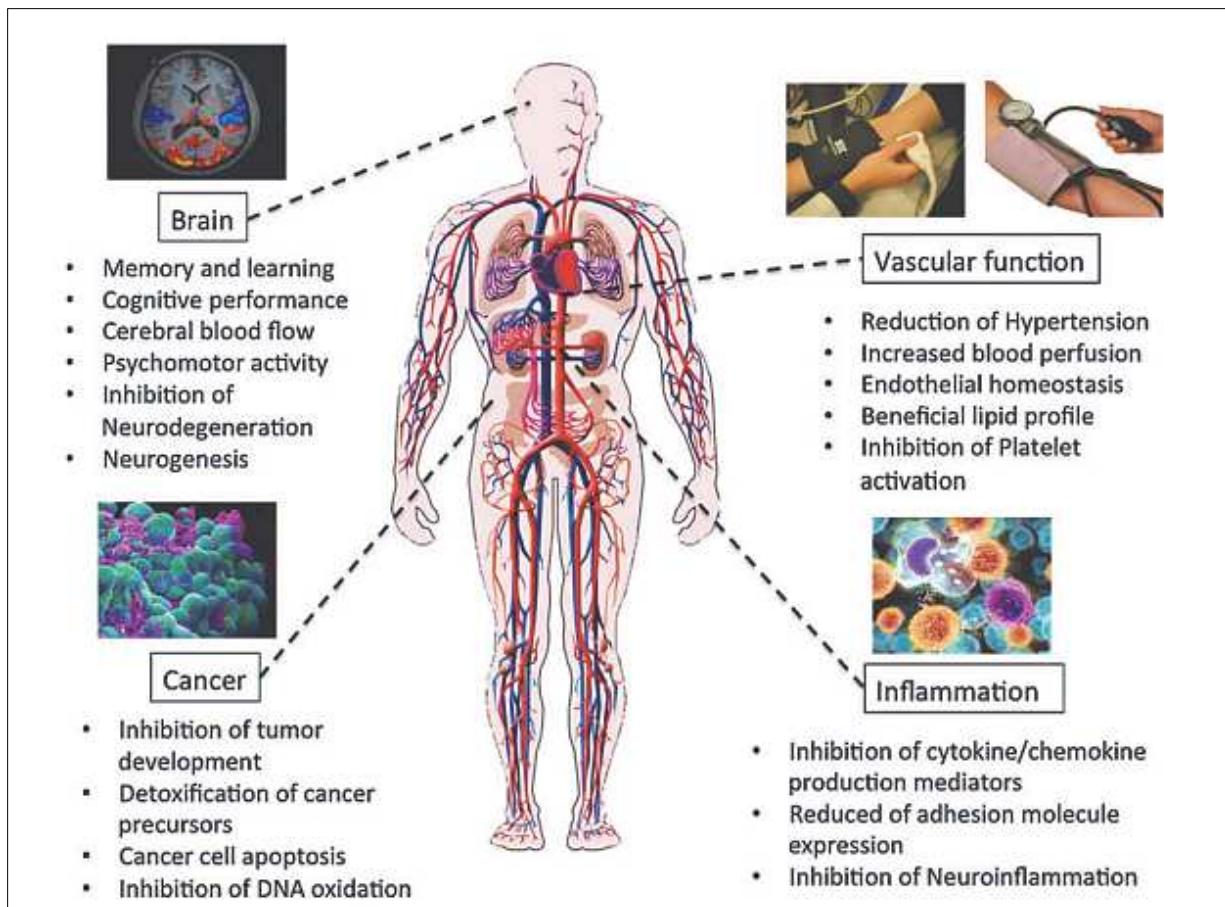


Figure 14. Un résumé des avantages de la consommation des acides phénolique dont l'AF sur la santé (Daniel et al., 2013).

4.2. Procédés de libération et d'extraction de l'AF de la matière végétale

Comme mentionné précédemment, les fractions libres solubles de l'AF sont facilement extractibles en milieux alcoolique ou hydro-alcoolique (exemples 80% (v / v) d'éthanol aqueux, ou 80% (v / v) de méthanol aqueux). Cependant, la libération des formes liées, les plus abondantes, passe par des procédés d'hydrolyse chimique et biotechnologique (Buranov and Mazza, 2009, Beta et al., 2020).

4.2.1. Hydrolyse chimique

L'hydrolyse alcaline ou acide est le procédé le plus utilisé pour la libération de l'AF dans les parois cellulaires. L'hydrolyse alcaline s'avère plus efficace pour libérer l'AF que l'hydrolyse acide (0.6 mg / g de son de blé avec l'hydrolyse acide et 2.19 mg / g avec l'hydrolyse

alcaline) (Arranz and Calixto, 2010). Cependant, les composés corrosifs utilisés et les effluents qui en découlent présentent un danger pour l'environnement. De plus, l'hydrolyse chimique n'est pas sélective (d'autres composés comme les cires ou les oligomères de cellulose peuvent se trouver dans le milieu), ce qui rend difficile la purification de l'AF à partir des extraits bruts (Stavova et al., 2017, Gopalan and Nampoothiri, 2018). D'autres méthodes plus respectueuses de l'environnement ont été testées (Benito-Román et al., 2015, Huerta and Saldaña, 2018). A titre d'exemple, l'extraction de l'AF avec l'éthanol aqueux sous pression (rendement de 2.6 mg / g de son de blé) (Pazo-Cepeda et al., 2019), l'explosion à la vapeur à 2.5 mégapascal pendant 30 seconde (rendement de 0.1mg/g d'AF libre soluble) (Chen et al., 2016), le traitement thermique (10 min, 80 °C) couplé à une extraction assistée par ultrasons (augmentation de l'AF libre du son de blé à 39.18 %) (Călinoiu and Vodnar, 2020) et l'utilisation d'un mélange de solvants composé de glycérol / acide citrique / glycine combiné à un traitement thermique pendant 24 h, à 90°C avec un prétraitement par ultrasons (rendement de 0.28 mg / g de son de blé) (Cherif et al., 2020).

4.2.2. Hydrolyse biotechnologique

- Utilisation d'enzymes purifiées

L'utilisation des enzymes est considérée comme une alternative écologique par rapport aux hydrolyses acide ou alcaline. La dégradation des matériaux lignocellulosiques et la libération de l'AF nécessite une action combinée et synergique de plusieurs enzymes avec des activités différentes. Ces enzymes sont regroupées en trois catégories : la cellulase, l'hémicellulase et les enzymes de dégradation de la lignine. Ce dernier groupe comprend des enzymes telles que l' α -L arabinofuranosidase, l' α -glucuronidase, les acétylxylane estérases et l'AF estérase ou féruloyl estérase.

Les féruloyl estérases et les glycosyl hydrolases ont été utilisées avec succès pour libérer presque tout l'AF du son de blé. Tandis qu'un traitement à la β -glucanase n'a pu convertir que 50 % de l'AF en forme soluble bio-accessible (Coda et al., 2015). Aussi, la combinaison de xylanase et de feruloyl estérase a libéré jusqu'à 86 % de l'AF total lié (Rosa et al., 2013). La féruloyl estérase (EC 3.1.1.73) joue un rôle clé dans l'hydrolyse des groupements esters férulylés impliqués dans le réseau entre les hémicelluloses et les xylènes et la lignine (Fazary and Ju,

2013). Toutefois, les procédés enzymatiques sont longs et coûteux à cause des prix élevés des enzymes et les difficultés liées à leur récupération, ce qui limite leur emploi à l'échelle industrielle, surtout que le rendement d'hydrolyse diminue considérablement avec les enzymes commerciales par rapport aux enzymes purifiées en laboratoire (Fazary and JU, 2007, Barberousse et al., 2009). Néanmoins, plusieurs cocktails enzymatiques industriels contenant le féruloyl estérase mais ayant l'hémicellulase ou la cellulase comme enzymes principales, sont utilisés tels que Depol 740 L et Pectinase PE (Biocatalysts Ltd, Pays de Galles, Royaume-Uni), Pentopan Mono BG® et Novo® 188 (Novozymes, Bagsvaerd, Danemark) et Grindamyl™ S100 (Danisco, Brabrand, Danemark). Dans ces cocktails, l'activité féruloyl estérase est généralement secondaire, sauf pour le Depol 740 L, dont l'activité est normalisée à 36 Ug / L (Giet et al., 2010).

- Utilisation des microorganismes en fermentation

Lors de la fermentation, les enzymes présentes dans le milieu entraînent une dégradation structurelle des parois cellulaires végétales qui se traduit par la rupture de liaisons esters ou éthers et libération des composés phénoliques simples. De nombreuses espèces de bactéries, levures et champignons possèdent cette activité enzymatique (Wang et al., 2014).

Des champignons filamenteux tels que *Cordyceps militaris*, *Auricularia auricular*, *Agrocybe chaxingu*, *Pleurotus ostreatus*, *Hericium erinaceus* ont montré une capacité à libérer l'AF du son de blé grâce à leur activité cellulase qui peut décomposer la cellulose et l'hémicellulose. En conditions de fermentation, l'espèce *Hericium erinaceus* sécrète, en plus de la cellulase, la féruloyl estérase (appelé aussi l'AF estérase (FAE)), l'hydroxycinnamoyl estérase, l'enzyme accessoire hémicellulase, l'ester de cinnamoyl hydrolase (cinnAE)), qui pourraient cliver les liaisons ester avec lesquelles l'AF est lié aux polysaccharides dans les céréales. Par conséquent, elle libère l'AF à des concentrations plus élevées en comparaison aux conditions non fermentaires (environ 44% de plus) (Xie et al., 2010).

Le genre *Aspergillus* est un groupe de champignons filamenteux avec un grand nombre d'espèces, fréquemment utilisées dans les fermentations industrielles en raison de leurs bonnes capacités de fermentation et leurs large gamme d'enzymes capables de dégrader les parois cellulaires, tel que les estérases d'acides phénoliques (de Vries and Visser, 2001, de Vries, 2003). A titre d'exemple, *Aspergillus oryzae* possède une activité élevée en β-glucosidase, et

Aspergillus awamori a des activités élevées en α -amylase et feruloyl estérase. *Aspergillus niger* est l'espèce la plus efficace pour libérer les acides phénoliques liés grâce à ses multiples activités enzymatiques telle que la cellulase, xylanase, arabinofuranosidase et β -xylosidase. Cette espèce libère plus d'AF que les deux autres citées, lors de la fermentation du son de blé, avec une concentration d'environ 416 μ g/g (Yin et al., 2018).

La fermentation en présence de levures s'est également avérée efficace dans la libération de l'AF. La fermentation avec la levure de boulanger *S. cerevisiae* augmente le taux d'acides phénoliques libres, dont l'AF dans le son de blé, à plus de 500 % par rapport au son non fermenté, après 20h de fermentation à 20°C (Katina et al., 2012). La combinaison de *S. cerevisiae* commerciale avec les bactéries *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophiles* lors de la fermentation du son de blé a conduit à une augmentation de la teneur en composés phénoliques (3573,93 μ g GAE (équivalent d'acide gallique) / g), par rapport à la fermentation avec les bactéries seules (3111,32 μ g GAE / g) (Zhao et al., 2017), bien que ces dernières soient également capables de libérer les composés phénoliques.

La fermentation des grains de blé avec les genres de bactéries *Lactobacillaceae*, *Enterococcus*, et *Pediococcus* a conduit à la libération des composés phénoliques (Balli et al., 2019) grâce aux activités glucosidase, α -amylase, cellulase, xylanase et estérase, qui peuvent hydrolyser les glucosides et décomposer les constituants de la paroi cellulaire végétale (Hur et al., 2014). Certaines espèces appartenant aux genres *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Thermomonospora*, *Ruminococcus*, *Bacteroides*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora* et *Streptomyces* sont capables de produire des cellulases pendant la fermentation permettant l'hydrolyse des tissus lignocellulosiques (Sun and Cheng, 2002). *Lactobacillus johnsonii* a permis la libération de 81.9 % et 49.9 % d'AF lors de la fermentation des grains entiers d'orge et d'avoine respectivement (Hole et al., 2012).

La xylanase présente chez *Streptomyces avermitilis* a agit en synergie avec l'AF estérase pour libérer environ 41.2 % de l'AF lié lors de la fermentation du son de blé (Bartolomé et al., 2003).

- Combinaison d'enzymes purifiées et de microorganismes

La combinaison d'enzymes purifiées et de microorganismes lors des fermentations, peut augmenter la biodisponibilité de l'AF de 1,1 % à 5,5 % (Anson et al., 2009). Par exemple, un mélange enzymatique contenant de la xylanase, de la β -glucanase, de l' α -amylase, de la

cellulase et de l'estérase d'AF en combinaison avec *S. cerevisiae* a été utilisé lors de la fermentation du son de blé, ce qui a conduit à une amélioration de la bio-accessibilité des acides phénoliques dont l'AF de 2 à 3 fois plus par rapport au son natif (Mateo Anson et al., 2011).

4.3. Métabolisme de l'AF

En conditions fermentaires, en présence de champignons, levures et bactéries, différentes voies métaboliques de la dégradation de l'AF ont été identifiées. Ces voies donnent lieu à divers métabolites comme la vanilline, l'acide vanillique, l'alcool vanillique, le 4-vinyl guaiacol, l'acide dihydroférulique... (Figure 15).

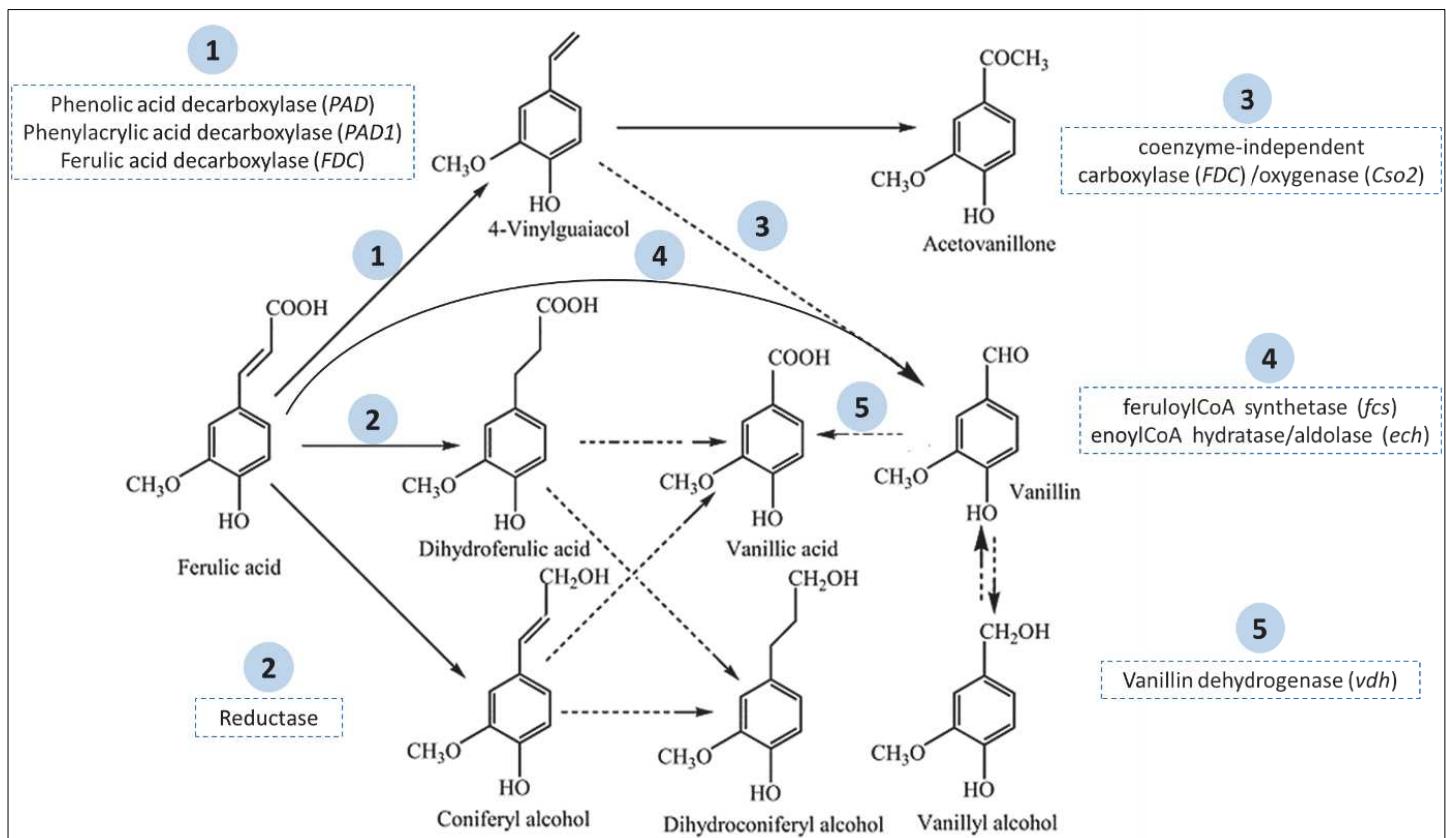


Figure 15. Les voies possibles de dégradation de l'AF en métabolites intermédiaires via l'action de différentes enzymes (Priefert et al., 2001, Furuya et al., 2015, Lin et al., 2015, Rodríguez et al., 2009, Overhage et al., 1999, Santamaría et al., 2018, Graf and Altenbuchner, 2014).

Quatre voies métaboliques principales de la dégradation fermentaire de l'AF ont été décrites. Elle diffèrent en fonction des microorganismes utilisés et les conditions de fermentation. Les microorganismes décrits pour chaque voie métabolique sont présentés dans le Tableau 7.

Tableau 7. Résumé des microorganismes capables de dégrader l'AF et les voies métaboliques impliquées.

Voie métabolique	Microorganisme	Référence
Décarboxylation	Bactéries <ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus pumilus</i> • <i>Bacillus coagulans</i> • <i>Bacillus subtilis</i> • <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> • <i>Levilactobacillus brevis</i> • <i>Levilactobacillus hammesii</i> • <i>Pseudomonas fluorescens</i> • <i>Streptomyces setonii</i> Levures <ul style="list-style-type: none"> • <i>Brettanomyces anomalus</i> • <i>Debaryomyces hansenii</i> • <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Champignons <ul style="list-style-type: none"> • <i>Fusarium solani</i> • <i>Paecilomyces variotti</i> • <i>Sporotrichum thermophile</i> 	(Huang et al., 1993b, Priefert et al., 2001, Mathew et al., 2007, Max et al., 2012, Salgado et al., 2012, Cao et al., 2010, Mukai et al., 2010, Nazareth and Mavinkurve, 1986, Karmakar et al., 2000, Mathew and Abraham, 2006, Gaur et al., 2020, Adeboye et al., 2017, Adeboye et al., 2015, Degrassi et al., 1995, Edlin et al., 1995, Topakas et al., 2003)
Réduction	Bactéries <ul style="list-style-type: none"> • <i>Burkholderia cepacia</i> • <i>Corynebacterium glutamicum</i> • <i>Furfurilactobacillus rossiae</i> • <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> • <i>Latilactobacillus curvatus</i> • <i>Limosilactobacillus fermentum</i> • <i>Pseudomonas fluorescens</i> • <i>Weissella cibaria</i> • <i>Weissella confusa</i> • <i>Wolinella succinogenes</i> Levures <ul style="list-style-type: none"> • <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 	(Priefert et al., 2001, Rosazza et al., 1995, Gaur et al., 2020, Huang et al., 1993b, Adeboye et al., 2015, Santamaría et al., 2018, Filannino et al., 2014a)

β-oxydation	<p>Bactéries</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus subtilis</i> • <i>Corynebacterium glutamicum</i> • <i>Delftia acidovorans</i> • <i>Escherichia coli</i> • <i>Pseudomonas mira</i> • <i>Rhodococcus</i> • <i>Streptomyces setonii</i> <p>Levure</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Rhodotorula rubra</i> <p>Champignons</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Aspergillus sp.</i> • <i>Fusarium solani</i> • <i>Polyporus versicolor</i> • <i>Pycnoporus cinnabarinus</i> 	<p>(Toms and Wood, 1970, Priefert et al., 2001, Batista, 2014, Samejima et al., 1987, Jurková and Wurst, 1993, Gurujeyalakshmi and Mahadevan, 1987, Labuda et al., 1992, Plaggenborg et al., 2006, Krings et al., 2001, Otuk, 1985, Sutherland et al., 1983, Huang et al., 1993a).</p>
Activation par la coenzyme A	<p>Bactérie</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Amycolatopsis sp. HR167</i> • <i>Pseudomonas sp. HR199</i> • <i>Pseudomonas putida</i> • <i>Pseudomonas fluorescens</i> • <i>Pseudomonas fluorescens BF13</i> • <i>Rhodococcus opacus PD630</i> • <i>Streptomyces sannanensis</i> <p>Levure</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Rhodotorula rubra</i> 	<p>(Zenk et al., 1980, Huang et al., 1993a, Gasson et al., 1998, Priefert et al., 2001, Overhage et al., 1999, Calisti et al., 2008, Ghosh et al., 2007, Achterholt et al., 2000)</p>

4.3.1. La décarboxylation non oxydative

Cette voie consiste en la transformation de l'AF en 2-méthoxy-4-vinylphénol (4-vinylguaiacol, 4-VG), via l'action d'une décarboxylase, après une étape d'isomérisation enzymatique initiale de l'AF en un intermédiaire quinoïde (Figure 16) (Huang et al., 1993b).

La décarboxylase de l'AF est produite par différents microorganismes (Mathew and Abraham, 2006, Priefert et al., 2001). Elle a été identifiée chez des bactéries telles que *Pseudomonas fluorescens* (Huang et al., 1993b), *Bacillus pumilus* (Degrassi et al., 1995), *Lactiplantibacillus plantarum*, *Levilactobacillus brevis*, *Levilactobacillus hammesii* (Gaur et al., 2020), *Bacillus subtilis* (Cao et al., 2010), *Bacillus coagulans* (Karmakar et al., 2000), *Streptomyces setonii* (Max et al., 2012, Salgado et al., 2012), ainsi que chez certaines levures

comme *Saccharomyces cerevisiae* (Huang et al., 1993b, Mukai et al., 2010, Adeboye et al., 2017, Adeboye et al., 2015), *Brettanomyces anomalus* (Edlin et al., 1995), *Debaryomyces hansenii* (Mathew et al., 2007) et champignons (*Fusarium solani*, *Paecilomyces variotti*, *Sporotrichum thermophile*) (Nazareth and Mavinkurve, 1986, Rahouti et al., 1989, Topakas et al., 2003).

Chez les bactéries, les gènes responsables de la décarboxylation des acides phénoliques et plus spécifiquement de l'AF sont *PAD* ou *PDC*. Chez les levures, c'est les gènes *PADI* et *FDC1* qui y sont impliqués (Barthelmebs et al., 2000, Cao et al., 2010, Mukai et al., 2010). Le 4-VG ainsi produit peut ensuite être transformé en d'autres composés. Chez *Fusarium solani*, *Bacillus coagulans* et *Paecilomyces variotti*, le 4-VG formé est converti en vanilline, qui est soit oxydée en acide vanillique, soit réduite en alcool vanillique (Nazareth and Mavinkurve, 1986, Karmakar et al., 2000, Mathew and Abraham, 2006). La conversion du 4-VG en vanilline exige une coenzyme-indépendant carboxylase (*FDC*) / oxygénase (*Cso2*) (Furuya et al., 2015).

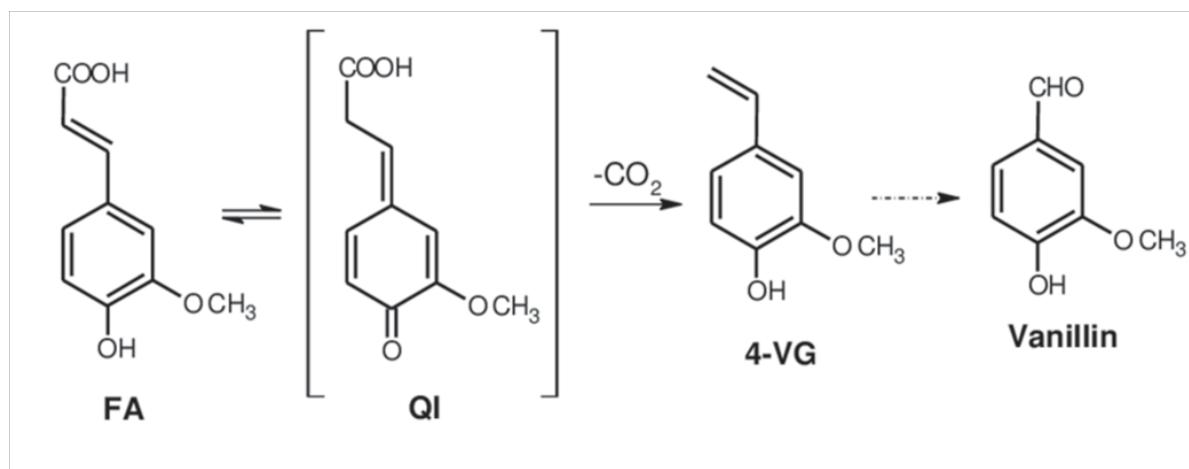


Figure 16. Transformation de l'acide férulique (AF) par la voie de décarboxylase non oxydative (QI : intermédiaire quinoïde ; 4-VG : 4-vinylguaiacol) (Batista, 2014)

4.3.2. La réduction de l'AF

Cette voie consiste en la réduction de la chaîne latérale de l'AF, conduisant à la formation de l'acide 4-hydroxy-3-méthoxyphénylpropionique (acide dihydroférulique, DHFA), qui à son tour peut être métabolisé en d'autres dérivés phénoliques. Cette réaction est typique de la dégradation microbienne anaérobie de l'AF, qui passe dans un premier temps par la

formation d'un intermédiaire quinoïde qui subit une hydrogénéation par la suite (Figure 17) (Rosazza et al., 1995, Batista, 2014).

Cette transformation est observée chez des bactéries telles que *Burkholderia cepacia*, *Cornyebacterium glutamicum*, *Furfurilactobacillus rossiae*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Latilactobacillus curvatus*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Weissella cibaria*, *Weissella confusa* (Filannino et al., 2014a, Santamaría et al., 2018, Gaur et al., 2020), *Wolinella succinogenes* (Ohmiya et al., 1986), *Pseudomonas fluorescens* (Priefert et al., 2001), et la levure *Saccharomyces cerevisiae* (Huang et al., 1993b, Adeboye et al., 2015), principalement dans des conditions d'anaérobiose (Huang et al., 1993b, Priefert et al., 2001). Cependant, elle a également été observée en conditions d'aérobiose avec *Pseudomonas fluorescens* (Priefert et al., 2001).

Le DHFA formé peut-être métabolisé en acides homovanillique, p-carboxyméthylphénol, vanillique et proto-catéchuique chez les bactéries *Wolinella succinogenes* et *Pseudomonas fluorescens* (Ohmiya et al., 1986, Andreoni and Bestetti, 1988).

Un autre mécanisme de dégradation réductrice de l'AF a été décrit chez certains champignons comme *Trametes sp.*, *Sporotrichum pulverulentum* et *Pycnoporus cinnabarinus*. Il conduit à la formation de l'alcool coniférylique, qui est ensuite dégradé en acide vanillique, alcool vanillylique et en méthoxyhydroquinone. Il est important de noter que chez les microorganismes qui ont aussi l'activité décarboxylase de l'AF, la voie réductrice peut être supprimée par la présence d'accepteurs d'électrons tels que le nitrate, le fumarate ou l'oxygène (Nishida and Fukuzumi, 1978, Gupta et al., 1981, Falconnier et al., 1994).

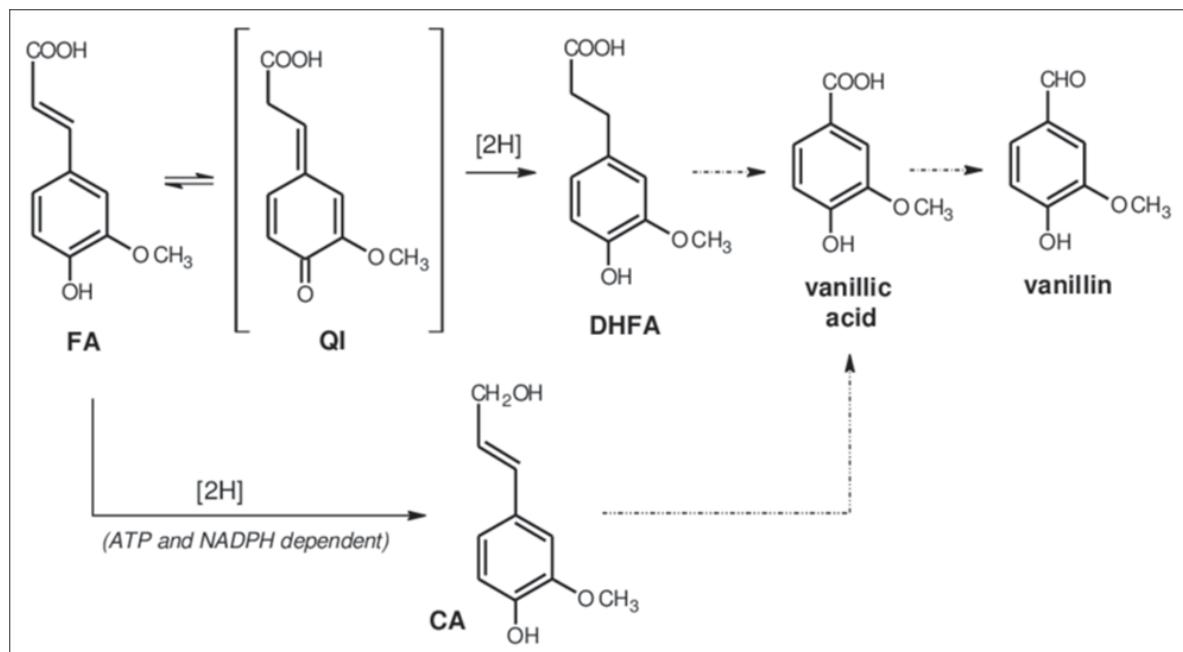


Figure 17. Réduction microbienne de l'acide férulique (FA) (QI : intermédiaire quinoïde ; (DHFA) acide dihydroférulique. CA : alcool coniférylique (CA) (Batista, 2014).

4.3.3. Désacétylation indépendante ou dépendante de la coenzyme A

Chez certains microorganismes, la désacétylation de l'AF qui conduit à la formation de la vanilline passe par deux voies :

- β -oxydation : c'est une voie alternative de dégradation qui implique l'hydratation de la double liaison latérale de l'AF et l'élimination d'un groupement acétate conduisant à l'acide 4-hydroxy-3-méthoxyphényl- β -hydroxypropionique. Ce dernier est transformé en vanilline par l'aldolase (Figure 18.A). Ce mécanisme a été observé chez les bactéries *Delftia acidovorans* (Toms and Wood, 1970), *Pseudomonas mira* (Jurková and Wurst, 1993), *Bacillus subtilis* (Gurujevalakshmi and Mahadevan, 1987), *Corynebacterium glutamicum* *Escherichia coli* (Otuk, 1985), *Streptomyces setonii* (Sutherland et al., 1983), *Rhodococcus* (Plaggenborg et al., 2006), chez la levure *Rhodotorula rubra* (Huang et al., 1993a), et chez les champignons *Aspergillus sp.*, *Fusarium solani*, *Polyporus versicolor*, *Pycnoporus cinnabarinus* (Toms and Wood, 1970, Priefert et al., 2001, Batista, 2014, Krings et al., 2001).

- Activation par la coenzyme A : l'AF est premièrement transformé en son thioester correspondant (le feroyl-SCoA) par l'action de l'enzyme feruloylCoA synthétase (*fcs*), qui est hydraté en 4-hydroxy-3-méthoxyphényl-β-hydroxypropionyl-SCoA (4H3MPHPA-SCoA). Le clivage non oxydant de la chaîne latérale donne lieu à la vanilline et l'acétyl-SCoA (Figure 18.B). Ces réactions d'hydratation et de clivage sont catalysées par deux enzymes désignées respectivement par énoyl-SCoA hydratase et aldolase (*ech*) (Graf and Altenbuchner, 2014, Overhage et al., 1999). Un tel mécanisme a été identifié chez les bactéries *Pseudomonas putida* (Zenk et al., 1980), *Pseudomonas* sp. HR199 (Overhage et al., 1999), *Pseudomonas fluorescens* (Gasson et al., 1998), *Pseudomonas fluorescens* BF13 (Calisti et al., 2008), *Amycolatopsis* sp. HR167 (Achterholt et al., 2000), *Rhodococcus opacus* PD630, *Streptomyces sannanensis* MTCC 6637 (Ghosh et al., 2007), et chez la levure *Rhodotorula rubra* (Huang et al., 1993a).

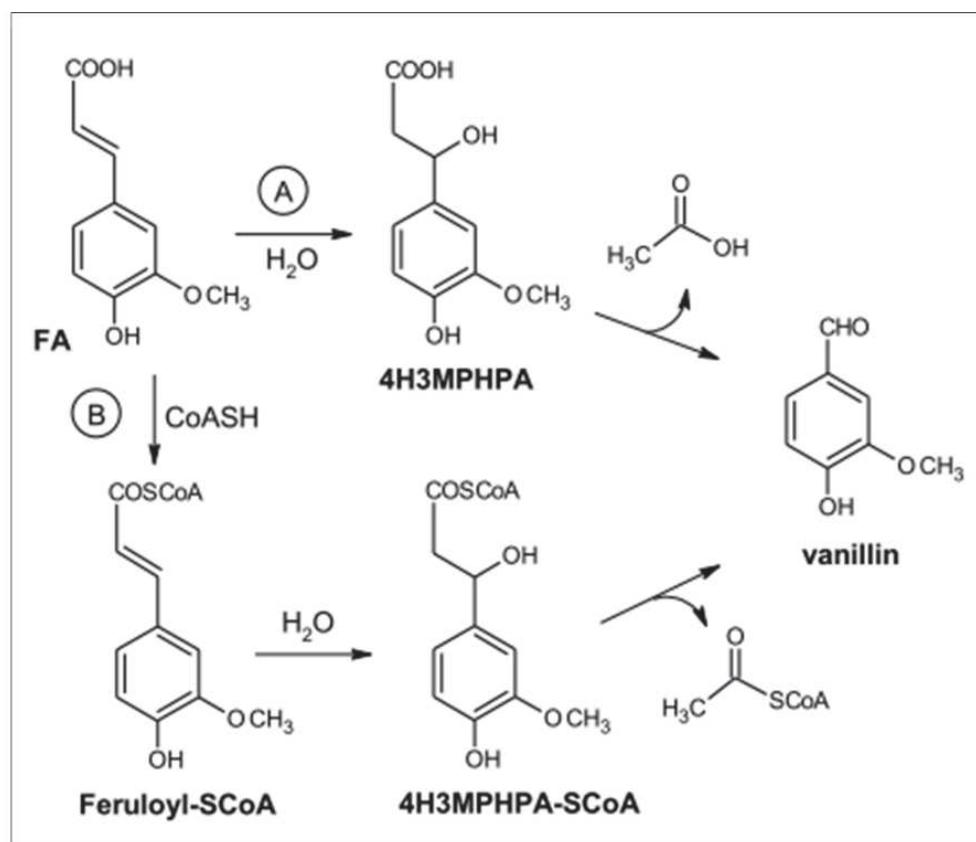


Figure 18. Conversion de l'acide férulique (FA) par les voies de désacétylation indépendante de la coenzyme-A (A) et de la désacétylation dépendante de la coenzyme-A (B). (4H3MPHPA : 4-hydroxy-3-méthoxyphényl-β-hydroxypropionique ;4H3MPHPA-SCoA :4-hydroxy-3-méthoxyphényl-β-hydroxypropionyl-SCoA) (Batista, 2014).

Certains microorganismes adoptent plusieurs voies pour la bioconversion de l'AF (Tableau 7). Par exemple, la bactérie *L. plantarum* et la levure *S. cerevisiae* possèdent à la fois les activités décarboxylase et réductase. Les bactéries *B. subtilis* et *S. setonii* et le champignon *F. solani* peuvent dégrader l'AF par décarboxylation et β -oxydation. Quant à la levure *R. rubra*, elle dégrade l'AF par β -oxydation et par la déacetylation dépendante de la coenzyme A. La bactérie *Pseudomonas fluorescens* métabolise l'AF à la fois via la décarboxylation, la réduction et la déacetylation dépendante de la coenzyme A (Gallage and Møller, 2015).

La conversion des acides phénolique par les microorganismes est un processus de détoxicification. Les concentrations élevées en AF et en vanilline sont toxiques pour de nombreux micro-organismes, comme *Escherichia coli* et *S. cerevisiae* (Klinke et al., 2004). Cette toxicité se manifeste généralement par l'inhibition de la croissance microbienne ou la destruction des membranes cellulaires (la lyse cellulaire). De plus, il a été montré que pour *S. cerevisiae*, la présence de la vanilline peut perturber l'intégrité des membranes biologiques provoquant un déséquilibre des ions intra et extracellulaires (Fitzgerald et al., 2004); elle affecte la fonction de la grande sous-unité ribosomale et réprime la traduction de l'ARN (Iwaki et al., 2013, Ishida et al., 2016); et enfin induit un stress oxydatif et une fragmentation mitochondriale (Nguyen et al., 2014). Pour cette raison, la majorité des microorganismes dégradent l'AF et oxydent la vanilline en composés moins toxiques (Priefert et al., 2001, Ou and Kwok, 2004). Chez les bactéries *Pseudomonas sp.HR199* et *Amycolatopsis sp.* ATCC 39116, la vanilline déshydrogénase (*VDH*) est capable de convertir la vanilline en acide vanillique. Ce dernier est ensuite catabolisé en acide protocatéchique par déméthylation (Priefert et al., 1997, Fleige et al., 2013).

4.4. Les métabolites fermentaires essentiels de l'AF et leurs propriétés

Certains métabolites produits par la dégradation de l'AF possèdent des propriétés nutritionnelles et organoleptiques intéressantes.

- La vanilline (3-méthoxy-4-hydroxy-benzaldéhyde)

C'est l'aldéhyde responsable de l'arôme de vanille (Walton et al., 2003, Banerjee and Chattopadhyay, 2019). La vanilline est largement utilisée dans les industries alimentaires comme agent aromatisant dans divers produits tels que les crèmes glacées, les gâteaux et les

boissons (Chattopadhyay et al., 2018), et dans la production d'autres agents aromatisants, tels que le Zingibérène (le principal agent aromatisant au gingembre) et l'huile de jasmin (Hocking, 1997, Converti et al., 2010). Elle est aussi utilisée comme conservateur alimentaire grâce à ses propriétés antimicrobienne et antioxydante (Tai et al., 2011, Yépez et al., 2016). Grâce à ces mêmes propriétés, elle est également employée en industrie pharmaceutique dans la production de certains médicaments, tels que la dopamine, la L-dopa et l'aldomet (Lim et al., 2004, Ali et al., 2012, Cava-Roda et al., 2012, Kumar et al., 2012, Niazi et al., 2014).

- Le 4-vinylguaiacol (4-VG, 2-méthoxy-4-vinylphénol)

Il est 25 à 30 fois plus coûteux que l'AF. C'est un agent aromatisant précieux dans l'industrie alimentaire caractérisé par un arôme épice de clou de girofle. Il est responsable de l'arôme naturel du sarrasin (Janeš et al., 2009). Il est utilisé pour aromatiser les vins de blé Belge et les bières Allemandes « Rauch » ainsi que la sauce de soja (Prost et al., 2012). Le 4-VG possède aussi des propriétés antioxydantes plus importantes que certains autres dérivés phénoliques (4-vinylphenol, 4-vinylsyringol and 4 vinylcatechol) (Terpinc et al., 2011), ce qui le rend bénéfique pour la conservation des aliments, comme les huiles végétales (Tańska et al., 2018).

- L'acide dihydroférulique (DHFA, acide 4-hydroxy-3-méthoxyphénylpropionique)

Le DHFA est un produit reconnu pour ses propriétés bénéfiques pour la santé humaine. Différentes études ont montré qu'il est associé aux activités anti-inflammatoires intestinales, antioxydantes et neuroprotectrices (Larrosa et al., 2009, Verzelloni et al., 2011). Il est un meilleur piégeur de radicaux libres que son précurseur, l'AF (Amić et al., 2018), contribuant ainsi à protéger contre le stress oxydatif (Verzelloni et al., 2011).

Une étude récente a montré que l'effet de l'AF contre la prise de poids et la stéatose hépatique (induite par le régime riche en graisses), ainsi que l'amélioration de la sensibilité à l'insuline, est plutôt attribué au DHFA, produit de dégradation de l'AF dans le microbiote intestinal. (Ohue-Kitano et al., 2019).

- L'acide vanillique (acide 4-hydroxy-3-méthoxy benzoïque)

L'acide vanillique est homologué comme additif alimentaire (Comité d'experts FAO / OMS sur les additifs alimentaires, JECFA n ° 959) et est largement employé grâce à son agréable odeur crèmeuse. L'acide vanillique possède des activités antioxydante (Zhang et al., 2009) et anti-inflammatoire (Chiang et al., 2003, Itoh et al., 2009).

5. Le devenir de l'AF en présence de levain (microorganismes du levain)

Certains microorganismes présents dans le levain (levures et bactéries lactiques) ont la capacité de dégrader la paroi cellulaire du son de blé et de libérer l'AF. Ils ont également la possibilité de le transformer en d'autres métabolites, comme ceux décrits dans le paragraphe 4.4.

Manini et al., 2014, ont montré que, les espèces de LAB *Leuconostoc mesenteroides*, *Levilactobacillus brevis*, *Latilactobacillus curvatus*, *Latilactobacillus sakei*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus* et *Pichia fermentans*, qui dominent l'écosystème du levain, étaient capables de générer de l'AF libre dans le blé, probablement à cause de la dégradation du xylane lié à l'AF (Manini et al., 2014). Certains lactobacilles de levain libèrent l'AF lié grâce à l'activité de l'acide férulique estérase (féruloyl estérase) (De Vuyst et al., 2017) comme *L. plantarum* (Esteban-Torres et al., 2013) et *L. fermentum* (Xu et al., 2017).

Certaines LAB telles que *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. rossiae*, *Weissella cibaria* et *W. confusa* (Filannino et al., 2014a) métabolisent l'AF via les activités réductases et/ou décarboxylases. L'AF est décarboxylé en 4-VG, et réduit par hydrogénéation de la double liaison en DHFA par des mécanismes spécifiques à la souche (Van Beek and Priest, 2000, Rodríguez et al., 2009).

Chez les levures du levain, *S. cerevisiae* peut libérer l'AF grâce à la présence de l'activité acide férulique estérase (Coghe et al., 2004). Cette espèce convertie ensuite l'AF généralement par décarboxylation en 4-VG (Clausen et al., 1994, Mukai et al., 2010), et rarement par réduction en DHFA. Le DHFA peut être produit comme composé intermédiaire

lors de fermentation avant sa transformation en 4-VG (Larsson et al., 2001, Huang et al., 1993b, Adeboye et al., 2015).

La fermentation en co-culture peut conduire à des activités synergiques. Par exemple, la fermentation en présence de *L. plantarum* et de *L. hammesii* a permis de libérer l'AF (grâce à l'action de *L. hammesii*) et de le métaboliser en DHFA et en métabolites volatiles (grâce au concours de *L. plantarum*) (Ripari et al., 2019).

Chapitre II. Présentation générale des Matériels et Méthodes mis en œuvre pendant la thèse

1. Généralités

1.1. Réactifs

Le Wheat peptone (protéine de blé), Phosphate de monopotassium (KH_2PO_4), Hydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4), Sulfate de manganèse (II) tétrahydraté ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), solution TWEEN®80, Chlorure de sodium (NaCl), Chlorure de potassium (KCl), Hydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4), glucose, maltose, cobalamine, acide folique, acide nicotinique, acide pantothenique, phosphate de pyridoxal, thiamine, acide férulique et l'acide dihydroférulique ont été achetés auprès de Sigma-Aldrich.

Le chlorure d'ammonium (NH_4Cl), le sulfate de magnésium heptahydraté ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ont été achetés auprès de Fluka™. La tryptone a été obtenue auprès de Becton Dickinson and Company. L'extrait de viande et l'extrait de levure provenaient de BIOKAR Diagnostics. L'acétate de sodium ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$), le méthanol (CH_3OH), l'éthanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), l'acétonitrile (CH_3CN), l'acide formique (HCOOH) ont été achetés auprès de VWR Chemicals. Le 4-vinylguaiacol a été synthétisé au laboratoire selon (Zago et al., 2016).

1.2. Outils et méthodes d'analyses

- Analyse par UPLC

L'identification et la quantification de l'Af et de ses métabolites ont été réalisées en utilisant un chromatographe en phase liquide Ultra Performance (Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC) Aquity (Waters, Milford, MA) doté d'un détecteur UV-visible à barrettes de diodes dont la longueur d'onde est fixée à 280 nm, ou 320 nm (en fonction des composés à analyser). Les échantillons (2 μL) sont injectés par un injecteur automatique, directement sur une colonne C18 HSS T3 (100 x 2.1 mm, 1.8 μm de taille des particules), à 38°C, avec un débit constant de 0.55 mL / min. La phase mobile est composée d'un mélange de solvants A (99 % H_2O et 0.1 % HCOOH v / v) et B (100 % CH_3CN). Le gradient d'élution est le suivant : t₀-4min, 99 % à 70 % de A ; 4-7 min, 70 % à 20 % de A ; 7-8 min, 20 % de A ; 8-9 min, 20 % à 99 % de A. Le chromatographe a été découplé du spectromètre de masse et l'identification des composées a été effectué à l'aide des standards commerciaux.

- Analyse des paramètres fermentaires par PlateButler® Robotic

L'analyse des paramètres de fermentation ont été effectué à l'aide de système robotique automatisé « PlateButler® Robotic System by Lab services » décrit par (Bloem et al., 2018) (Figure 19). La plateforme robotique est située dans une pièce à température contrôlée, dans notre cas, elle était réglée à 24 ° C. Les fermenteurs (tubes contenant le mélange fermentaire) sont placés sur des plaques d'agitation magnétiques (300 tours / min). Un bras robotisé déplace les fermenteurs successivement de leur emplacement sur les plaques vers une balance de précision à gauche de la table de travail, pour mesurer le poids, correspondant à la perte en CO₂, toutes les 50min. Ces informations sont transmises au logiciel informatique **ALFIS** (Alcoholic Fermentation Information System). Les cinétiques de fermentation résultant de la libération du CO₂ au cours du temps aident à estimer les paramètres relatifs à la libération maximale de CO₂ (g / L), le temps de latence de fermentation (h) (temps entre l'inoculation et le début de la fermentation calculé à 1 g de CO₂ produit), le taux de production maximal de CO₂ Vmax (g / L / h) et le temps requis pour atteindre le taux de production maximal de CO₂ tVmax (h).



Figure 19. Photo du système robotique PlateButler® de l'UMR SPO

- Analyse de la croissance microbienne par cytométrie en flux

Afin d'analyser la concentration, la croissance et la viabilité des cellules microbiennes avant et après fermentation, le cytomètre en flux C6 (AccuriTM, BD Biosciences), contrôlé par le logiciel « **BD Accuri C6** » a été utilisé. Cet appareil permet l'analyse cellule par cellule sur des paramètres optiques à l'aide d'un flux de liquide. Les cellules doivent donc être en suspension dans un milieu liquide comme le PBS (tampon phosphate salin contenant : NaCl ; 137 mM, KCl ; 2,7 mM ; Na₂HPO₄, 10 mM ; KH₂PO₄; 2 mM) à pH = 7,4). Lors de l'acquisition, l'échantillon est aspiré par l'aiguille de l'appareil et passe dans un faisceau laser.

Pour calculer les volumes de pré-cultures nécessaires pour préparer 1 mL d'inoculum pour les fermentations, les conditions d'acquisition sont les suivantes : vitesse d'analyse 14 µL / min, le seuil de détection a été fixé à 40 000 FSC-H.

Pour les mesures de concentrations cellulaires à la fin de fermentation, l'acquisition a été effectuée dans les conditions suivantes : vitesse d'analyse 20 µL / min, seuil de détection fixé à 40 000 FSC-H.

2. Extraction et quantification de l'AF

2.1. Préparation des échantillons

2.1.1. Les échantillons de blé biologique

Nous avons analysé deux lots de grains de blé issus de l'agriculture biologique qui ont été gracieusement fournis par Dominique Desclaux (INRAe Domaine de Melgueil, Mauguio) et Véronique Chable (INRAe Centre Bretagne-Normandie, UMR BAGAP, Le Rheu, France) (Figure 20). Tous les échantillons ont été et stockés à -20 ° C avant utilisation.

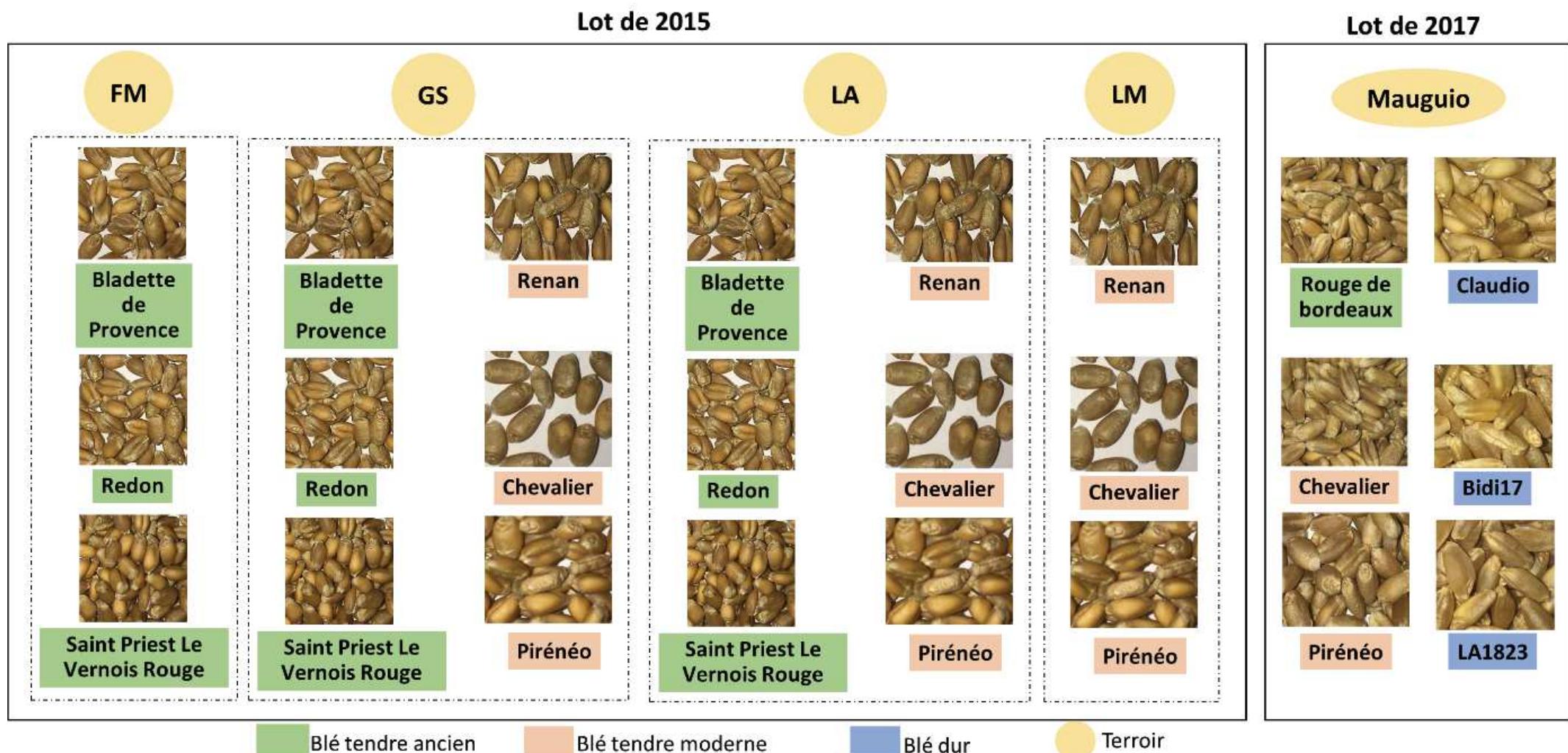


Figure 20. Variétés, espèces et terroirs de blé utilisés

Le premier lot (Figure 20-2017) était composé de trois variétés de blé dur (LA1823, Claudio et Bidi17) et de trois variétés de blé tendre (panifiable) (Chevalier, Piréneo, Rouge de Bordeaux) cultivées à Mauguio en 2017. Mauguio est une petite ville située dans l'Hérault au sud de la France (Figure 21). En 2017, la température moyenne en juillet et août était de 30 ° C, et la température minimale atteinte en janvier était de 0 ° C. La pluviométrie moyenne annuelle était de 321 mm (Météo France: <http://www.meteofrance.fr/>).

Le deuxième lot (Figure 20-2015) ne contenait que des grains de blé tendre d'hiver. Ils ont été obtenus à partir de trois variétés modernes (Chevalier, Renan, Piréneo) et de trois variétés anciennes (locales) (Redon, Bladette de Provence, Saint Priest le Vernois Rouge) cultivées en France en 2015, sur quatre sites : le Rheu (LA) et Chavagne (GS) en Bretagne ; le Pont de l'Arche (FM) et le Puits (LM) au Pays de la Loire. Ces deux régions situées dans le nord-ouest de la France (Figure 21), sont des régions voisines caractérisées par un climat plutôt humide. En 2015, la pluviométrie moyenne était de près de 647 mm en Bretagne, et 611 mm au Pays de la Loire (Météo France : http://www.linternaute.com/voyage/climat/comparaison/angers/rennes/2017/ville_49007/ville-35238).

Les températures maximales enregistrées étaient comprises entre 25 ° C et 27 ° C en juin et des températures minimales de -8 ° C ont été enregistrées en janvier. Toutes les variétés de blé tendre (modernes et anciennes) de 2015 ont été cultivées sur les terroirs GS (Chavagne, Bretagne) et LA (Le Rheu, Bretagne). Dans le terroir LM (Le Puit, Pays de la Loire) n'ont été cultivées que les variétés modernes. Le terroir FM (Pont de l'Arche, Pays de la Loire) n'a fourni que les variétés anciennes.

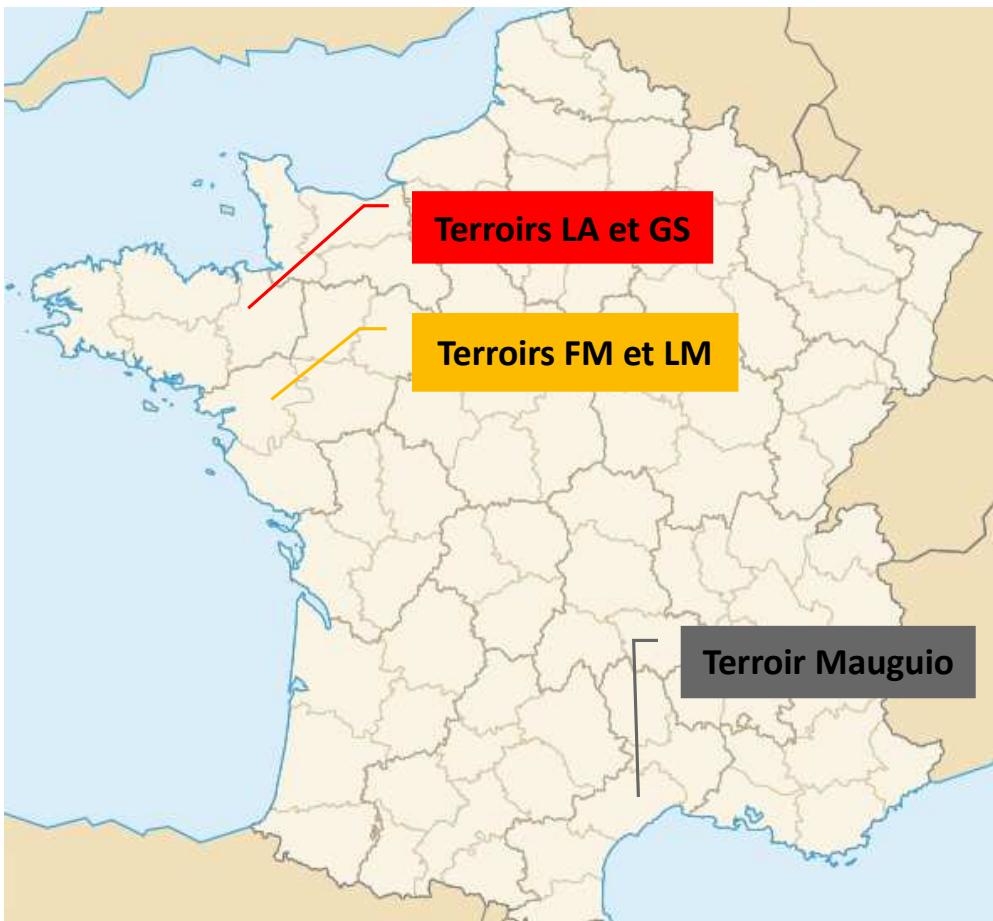


Figure 21. Localisation des terroirs de blé sur la carte de France

2.1.2. Broyage et récupération du son de blé

La récupération du son de blé à partir des différents échantillons cités ci-dessus est schématisée dans la Figure 22.

Environ 5g de grains (la masse moyenne sur tous les échantillons est $4,74 \pm 0,36$ g) ont été humidifiés à 20 % (masse (m) / volume (v)) dans un système rotatif, pendant 3h, et ont ensuite été laissés à température ambiante pendant 24h. Les grains humidifiés ont été broyés dans un broyeur à mortier de la marque « FRITSCH PULVERISETTE2 », fonctionnant à une vitesse de 70 à 80 tours / min. Le broyage N ° 1 a été réalisé selon les paramètres suivants : 12,5 daN (downforce) sur le rouleau supérieur et 0 anneau sur la vis latérale. Le blé moulu a été tamisé à travers deux tamis avec des mailles de 1 mm et 0,5 mm respectivement.

Trois fractions ont été obtenues à l'issu de ce premier broyage, une fraction grossière correspondant au son contenant encore une grande partie de farine (WBF1 de masse moyenne sur tous les échantillons est de $3,7 \pm 0,33$ g), une fraction intermédiaire (IF de masse moyenne de $0,45 \pm 0,17$ g) et une fraction de farine (FF1 de masse moyenne de $0,5 \pm 0,18$ g).

Afin de se débarrasser de la fraction d'endosperme encore attachée au son, la fraction WBF1 a subi un second broyage dans des conditions plus douces (7,5 daN sur le rouleau supérieur, 2 anneaux sur la vis latérale). Une fraction grossière WBF2 (de masse moyenne de $1,54 \pm 0,16$ g), correspondant au son plus ou moins débarrassé de l'endosperme, a été obtenue après tamisage à travers un tamis de 1 mm. Pour enlever toute trace de farine restante, la fraction WBF2 a été lavée avec de l'eau autoclavée (1 g de WBF2 pour 100 mL d'eau) à 50°C, sous agitation, pendant 15 min. Après filtration (filtres à mailles tissées, de marque NITEX, SEFAR, avec des ouvertures de maille de 500 µm), la partie solide a été lavée deux fois avec une eau claire à température ambiante. L'opération de lavage a été répétée 3 fois. La fraction de son sec WBF2-D a été obtenue après séchage à 60 ° C, pendant 18 heures

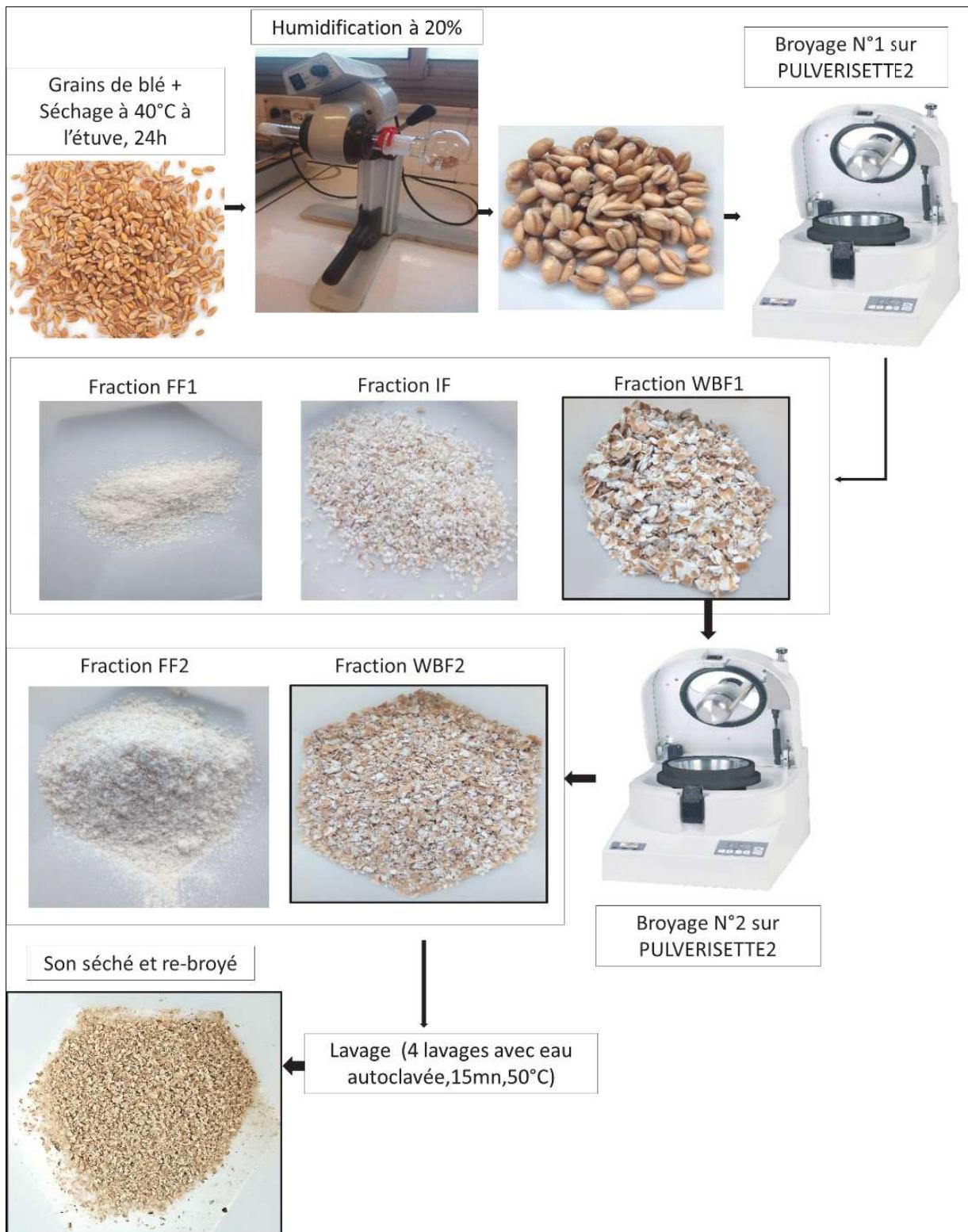


Figure 22. Schéma Récapitulatif de l'obtention du son de blé à partir des grains.

Les masses des différentes fractions obtenues après broyage et séchage sont présentées dans le Tableau 8.

Tableau 8. Masse de toutes les fractions issues du broyage mécanique. Les masses moyennes des fractions sont exprimés en g de matière sèche.

Variété de blé	Terroir/année	Espèce de blé	Grain sec	WBF1	IF	FF1	WBF2	FF2	WBF2-D
Bladette de Provence	Pont de l'Arche, Pays de la Loire (FM)/2015	Blé tendre	4.71± 0.03	3.83±0.38	0.45±0.1	0.39±0.13	1.49±0.01	2.28±0.28	0.54±0.06
Redon			4.69±0.03	3.99±0.09	0.27±0.04	0.31±0.04	1.51±0.03	2.42±0.06	0.62±0.03
Saint Priest le vernois rouge			4.68±0.05	3.57±0.17	0.37±0.09	0.56±0.1	1.29±0.05	2.13±0.18	0.56±0.006
Bladette de Provence	Chavagne, Bretagne (GS)/2015	Blé tendre	4.73±0.03	3.63±0.34	0.59±0.14	0.47±0.18	1.45±0.02	2.13±0.35	0.52±0.07
Chevalier			4.68±0.03	3.42±0.23	0.42±0.02	0.72±0.18	1.46±0.17	1.92±0.08	0.55±0.02
Pireneo			4.76±0.05	3.88±0.33	0.44±0.05	0.41±0.2	1.67±0.07	2.16±0.27	0.62±0.03
Redon			4.76±0.03	3.71±0.21	0.5±0.13	0.51±0.05	1.66±0.08	1.99±0.14	0.64±0.03
Renan			4.75±0.04	3.84±0.43	0.39±0.14	0.44±0.2	1.56±0.08	2.25±0.34	0.58±0.04
Saint Priest le vernois rouge			4.72±0.03	4.07±0.18	0.34±0.04	0.28±0.08	1.59±0.2	2.42±0.23	0.62±0.1
Bladette de Provence			4.61±0.02	3.15±0.17	0.48±0.07	0.86±0.1	1.33±0.005	1.73±0.17	0.55±0.02
Chevalier	Le Rheu, Bretagne (LA)/2015	Blé tendre	4.61±0.01	3.65±0.08	0.33±0.03	0.49±0.05	1.43±0.06	2.08±0.03	0.6±0.05
Pireneo			4.63±0.06	3.58±0.2	0.45±0.17	0.54±0.06	1.49±0.04	2.05±0.24	0.62±0.08
Redon			4.75±0.05	3.85±0.35	0.43±0.15	0.43±0.17	1.64±0.12	2.16±0.26	0.63±0.04
Renan			4.69±0.06	3.54±0.37	0.48±0.12	0.6±0.2	1.52±0.12	1.97±0.25	0.54±0.001
Saint Priest le vernois rouge			4.65±0.02	3.84±0.14	0.29±0.06	0.47±0.1	1.64±0.05	2.18±0.16	0.65±0.08
Chevalier			4.65±0.03	3.61±0.09	0.5±0.07	0.48±0.05	1.51±0.04	2.08±0.08	0.59±0.01
Pireneo	Le puits, Pays de la Loire (LM)/2015	Blé tendre	4.63±0.02	3.6±0.22	0.51±0.11	0.47±0.07	1.42±0.02	2.14±0.19	0.54±0.02
Renan			4.64±0.05	3.88±0.31	0.39±0.13	0.33±0.13	1.63±0.16	2.21±0.13	0.57±0.05
Chevalier			4.74±0.01	3.95±0.28	0.34±0.17	0.43±0.1	1.56±0.18	2.35±0.25	0.64±0.07
Pireno	Mauguio /2017	Blé tendre	4.71±0.01	4.04±0.15	0.29±0.01	0.41±0.07	1.67±0.17	2.32±0.3	0.73±0.02
Rouge de Bordeaux			4.74±0.01	4.00±0.08	0.37±0.00	0.36±0.05	1.83±0.22	2.14±0.25	0.76±0.03
LA1823			4.75±0.02	3.07±0.42	0.86±0.3	0.82±0.16	1.35±0.06	1.75±0.41	0.55±0.07
Claudio	Mauguio /2017	Blé dur	4.75±0.01	3.4±0.14	0.67±0.1	0.69±0.05	1.51±0.02	1.93±0.17	0.59±0.06
Bidi17			4.77±0.02	3.66±0.22	0.64±0.14	0.48±0.09	1.78±0.17	1.96±0.34	0.66±0.02

2.1.3. Echantillons de levains, pâtes et pains

La quantification de l'AF a été effectuée sur des échantillons de levains, pâtes et pains préparés à partir d'une farine semi-complète (T80) issue d'une variété de blé moderne « Renan », récolté en 2019. Les panifications ont été réalisées dans la boulangerie « Le Pain Levain » (Azillanet, France) le 21 janvier 2020. Différents agents levants ont été employés, trois levures commerciales « Hirondelle », « Bioreal » et « Instant » (de marque Lesaffre) et trois levains « CRA », « EDI », « STE ». Ces levains ont été sélectionnés pour leur diversité en espèces de levure. Le levain « CRA » contient *Kazachstania bulderi* comme espèce de levure dominante et *Fructilactobacillus sanfranciscensis* comme espèce dominante de LAB.

Tandis que le levain « EDI » contient *Saccharomyces cerevisiae* et *Kazachstania unispora* comme espèces de levure co-dominantes ainsi que *F. sanfranciscensis* comme espèce dominante de LAB. Le levain « STE » contient *S. cerevisiae* et *Torulaspora delbrueckii* comme espèces de levure co-dominantes ainsi que *F. sanfranciscensis* comme espèce dominante de LAB. Huit pâtes et pains ont été réalisées à partir de ces agents levants. Trois pâtes (et pains) à partir de levures commerciales, trois pâtes (et pains) à partir de levains, ainsi que deux pâtes et (pains) issus du mélange des pâtes à base de levure commerciale « hirondelle » et de levains « STE » ou « CRA » (levain « Hirondelle x « STE » et levain « Hirondelle x « CRA ») (Tableau 9 et Figure 23).

Tableau 9. Les échantillons de levains, pâte et pains avec les différents types de fermentation

Type de l'échantillons	Type de fermentation	Agent levant	Espèces microbiennes dominantes dans l'agent levant
Pâte et pain faits avec levain	Levain	CRA	<i>K. bulderi</i> <i>F. sanfranciscensis</i>
		EDI	<i>S. cerevisiae</i> ; <i>K. unispora</i> ; <i>F. sanfranciscensis</i>
		STE	<i>S. cerevisiae</i> ; <i>T. delbrueckii</i> ; <i>F. sanfranciscensis</i>
Pâte et pain faits avec la levure commerciale	Levure commerciale	BIOREAL	<i>S. cerevisiae</i>
		HIR	<i>S. cerevisiae</i>
		INSTANT	<i>S. cerevisiae</i>
Pâte et pain faits avec un mélange de levain et de levure commerciale	Mélange de levure commerciale et levain	CRA x HIR	<i>K. bulderi</i> ; <i>F. sanfranciscensis</i> ; <i>S. cerevisiae</i> commerciale
		STE x HIR	<i>S. cerevisiae</i> de levain ; <i>T. delbrueckii</i> ; <i>F. sanfranciscensis</i> ; <i>S. cerevisiae</i> commerciale

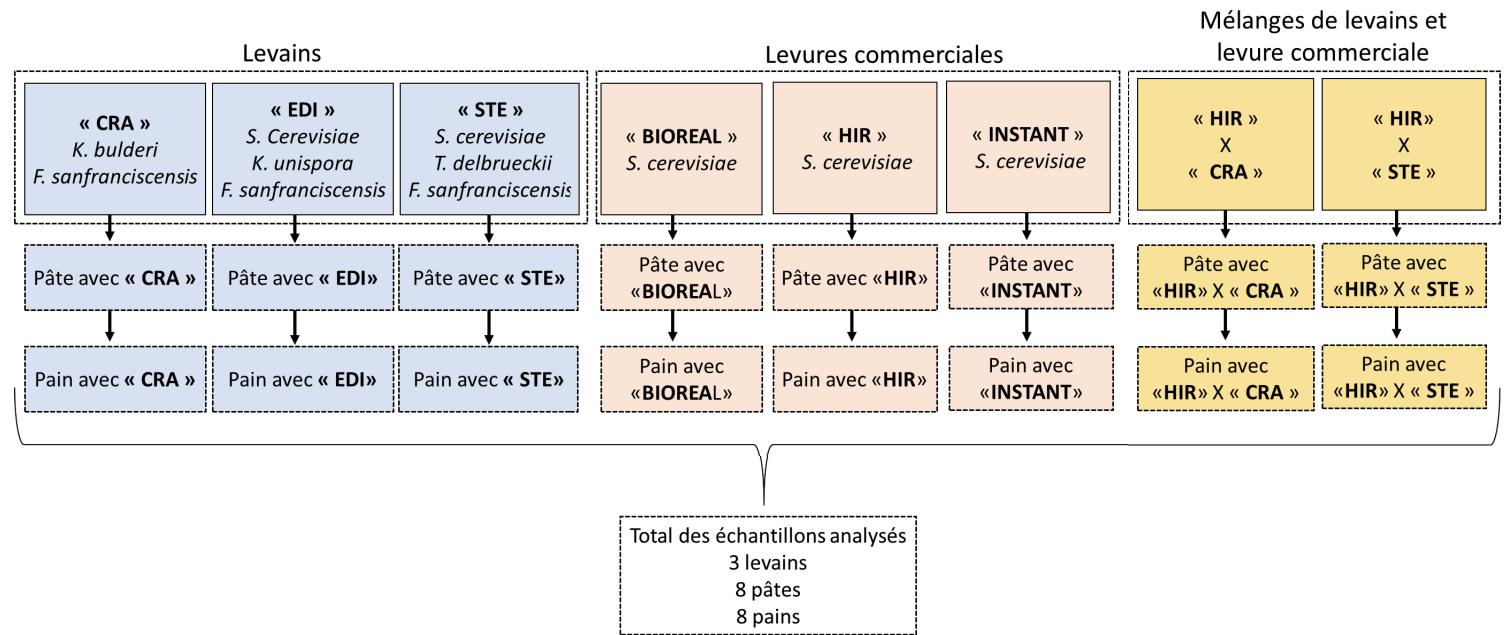


Figure 23. Schéma synthétique des différents échantillons de levains, pâtes et pains analysés

Les pains ont été préparés en pétrissant mécaniquement la farine (T80) avec de l'eau et du sel, à l'aide d'un pétrin de la marque VMI. La pâte a ensuite été divisée et mélangée avec les différents agents levants. La première fermentation a duré de 1h 20 min à 1h 55 min. Les différentes pâtes ont ensuite été façonnées et laissées 3h 35 min pour la seconde fermentation. Enfin, les pains ont été cuits dans un four à bois à 250 °C. Les ingrédients et les conditions des différentes étapes de la panification sont répertoriés dans le Tableau 10.

Tableau 10. Ingrédients et conditions des différentes étapes de la panification

	Pains faits avec la levure commerciale			Pains faits avec levains			Pains faits avec un mix levure commerciale x levain	
	Hirondelle	Bioreal	Instant	CRA	STE	EDI	HIR x STE	HIR x CRA
Farine (Kg)	21.6	21.6	21.6	21.6	21.6	21.6	21.6	21.6
Eau (Kg)	17.4	17.4	17.4	17.4	17.4	17.4	17.4	17.4
Sel (g)	315	315	315	315	315	315	315	315
Température de four (° C)	22	22	22	22	22	22	22	22
Température de la farine (° C)	15	15	15	15	15	15	15	15

Température de l'eau (° C)	35	35	35	35	35	35	35	35
Température de pâte (° C)	26	26	26	26	26	26	26	26
Temps de pétri (min)	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Vitesse de pétrissage	1	1	1	1	1	1	1	1
Division de pâte par 5 Kg	5	5	5	5	5	5	5	5
Ajout de levain (Kg)	0	0	0	0.8	0.9	0.9	1 kg de pâte + 1kg de pâte avec levain « STE »	1kg de pâte + 1kg de pâte avec levain « CRA »
Ajout de levure commerciale (g)	20	30	7	0	0	0	5g de la levure fraîche « Hirondelle »	5g de la levure fraîche « Hirondelle »
Température de levure / levain (° C)	na	10.5	20	18.8	19	20.6	21 (pâte)	11
Sel (g)	0	0	0	15	15	15	0	0
Temps d'incorporation manuel (min)	1	1	1	1	1	1	5	2
Temps de 1 ^{er} fermentation (min)	113	114	115	113	112	110	80	103
Température en fin de boulage (° C)	19.2/ 20.2	19.6	20.4/19 .6/19.6	20	20.6	20.2	19/ 19.2	19.6/ 19.4
Temps de cuisson (min)	27	27	28	27	28	28	27	29
Température du pain enfourné (° C)	250	250	250	250	250	250	250	250

2.1.4. Préparations pour le broyage des échantillons delevains, pâtes et pains

Afin de faciliter leur broyage, les échantillons de levains (« CRA », « STE » et « EDI»), ainsi que les pâtes correspondantes (en triplicat biologique) ont été lyophilisés pendant 47heures dans un lyophilisateur (marque EDWARDS). $48,75 \pm 1,19$ % d'eau a été perdue après lyophilisation (masse moyenne à $t_0 = 9,2 \pm 1,01$ g, masse moyenne à $t_{47h} = 4,73 \pm 1,04$ g).

Trois tranches ont été récupérées de chacun des pains préparés et deux types d'échantillonnage ont été effectués sur chaque tranche. Dans le premier seule la mie a été prélevée au centre de la tranche, et dans le second un mélange de mie et de croûte a été prélevé sur le bord de la tranche. Les échantillons de pains ont ensuite été séchés pendant 18 h à 60°C. Le poids moyen sur les échantillons de la mie avant séchage était $4,79 \pm 0,69$ g, et après séchage était $2,6 \pm 0,45$ g ce qui signifie une perte moyenne d'eau de $45,47 \pm 3,75$ %. Le poids moyen des échantillons contenant la mie et la croûte avant séchage était $4,89 \pm 1,13$ g et après séchage était de $3,34 \pm 0,77$ g, correspondant à une perte moyenne d'eau de $31,7 \pm 1,05$ %.

Les échantillons de levain, pâte et pain séchés ont été broyés à l'aide du broyeur à mortier FRITSCH PULVERISETTE2, avec une force de 12,5 daN sur le rouleau supérieur et 0 anneaux sur la vis pendant 2 min pour les échantillons de pain et 1min pour ceux des levains et pâtes afin d'obtenir une poudre homogène.

Les différentes étapes de séchage et de broyage sont schématisées sur la Figure 24.

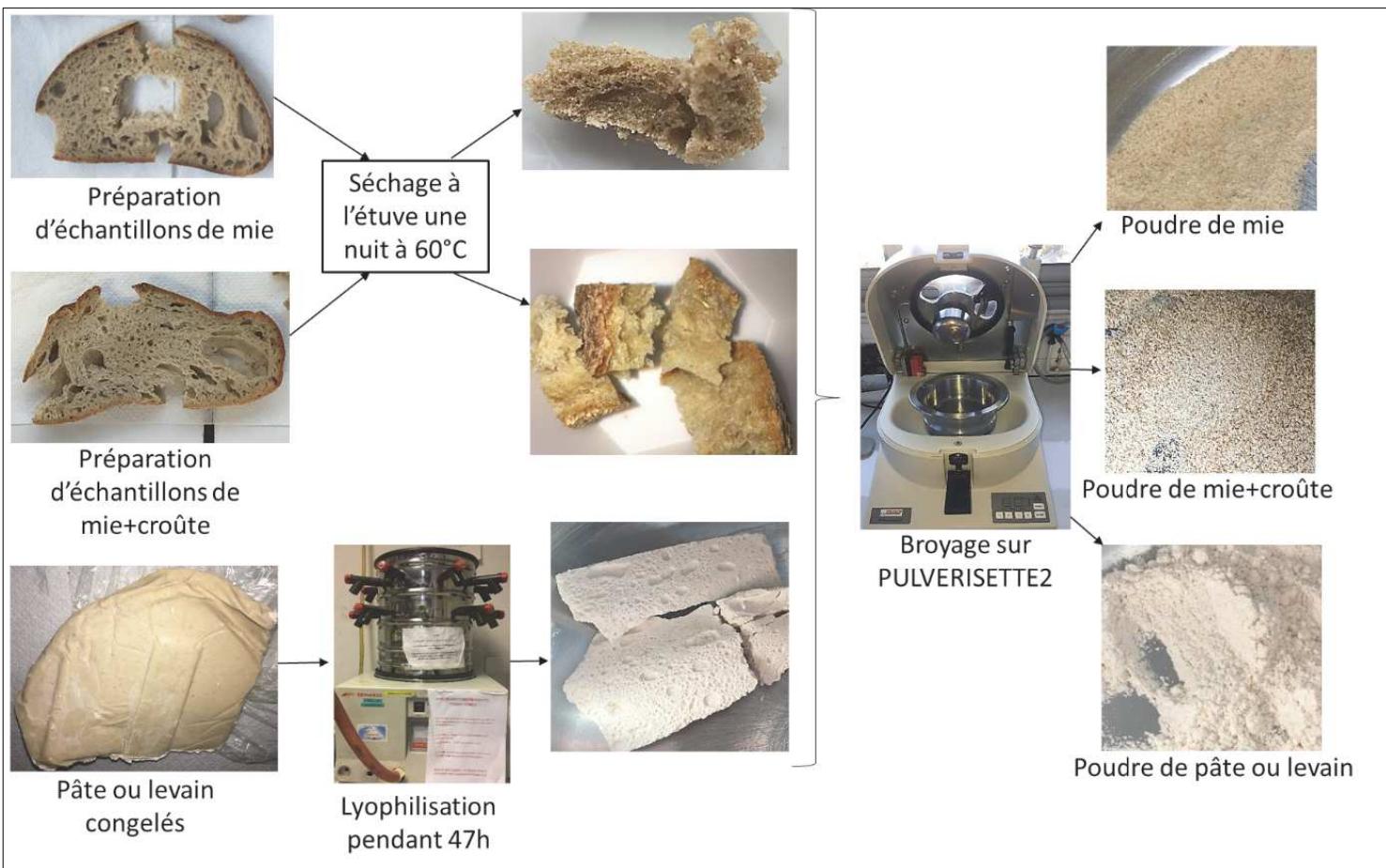


Figure 24. Préparation des broyats de levains, pâtes et pains.

2.2. Extraction d'AF libre à partir d'échantillons de son de blé, de levain, de pâte et de pain

Dans un tube Pyrex de 10 mL, équipé d'un barreau magnétique, ont été introduits, 50 mg de poudre de son de blé et 1 mL d'une solution éthanol / H₂O 50 :50 (v/v). Le tube a été hermétiquement fermé et plongé dans un bain d'huile à 80°C. La suspension a été agitée pendant 1h à cette température.

Dans un tube ependorf de 2 mL, 100 mg de poudre de levain, pâte ou pain sont recouvert de 1 mL d'une solution éthanol / H₂O 50 :50 (v/v). Le tube est fermé et agité dans un vortex pendant 30 secondes. Ensuite, les suspensions sont chauffées dans un bain sec (marque Stuart scientifique) à 60 ° C, pendant 4h, sans agitation (afin d'éviter la désintégration des structures et la formation de pâtes).

Après refroidissement et centrifugation des mélanges (sur mini centrifugeuse Roth, model SD-220VAC, à 6000 rpm / min, pendant 30 sec), 100 µL de surnageant sont prélevés de chaque échantillon, filtrés sur des filtres Agilent pp 0,2 µm, avant d'être injectés en UPLC.

2.3. Extraction de l'AF hydrolysable à partir des échantillons de son de blé, de levain, de pâte et de pain

Afin d'extraire l'AF hydrolysable (lié), une hydrolyse alcaline est effectuée sur les échantillons de son, levain, pâte et pain.

La poudre de son (50 mg) est introduite dans un tube Pyrex de 10 mL, équipé d'un barreau magnétique. 1 mL de la solution d'extraction (NaOH 2M, dans éthanol / H₂O 50 :50) est ajoutée et la suspension est chauffée à 80 ° C, pendant 1 h, sous agitation.

Dans un tube à ependorf, la poudre de levain, pâte ou pain (100 mg) est mélangée à une solution alcaline de NaOH 3M dans éthanol / H₂O 50 :50 (1 mL). Après agitation au vortex pendant 30 secondes, la suspension est chauffée à 60 ° C pendant 4h, sans agitation.

Après refroidissement et centrifugation (sur mini centrifugeuse Roth, model SD-220VAC, à 6000 rpm / min, pendant 30 sec), 100 µL de surnageant sont prélevés de chaque échantillon et neutralisés avec 100 µL d'une solution de HCl (2M dans le cas du son de blé et 3M pour le levain, pâte et pain). Les solutions neutres sont ensuite filtrées sur des filtres Agilent pp 0,2 µm, avant d'être injecté en UPLC.

2.4. Quantification de l'AF

L'identification de l'AF a été effectuée à l'aide du standard commercial, et la quantification de l'AF dans les extraits a été réalisée grâce à un étalonnage externe avec des solutions de *trans*-AF à des concentrations variantes (1 mg / L, 5 mg / L, 10 mg / L, 15 mg / L, 20 mg / L, 25 mg / L, 30 mg / L, 40 mg / L et 50 mg / L).

2.5. Localisation de l'AF dans les grains et le son de blé après broyage par microscopie à fluorescence

Cette étude a été réalisée à la plateforme MRI-PHIV (Montpellier Ressources Imagerie, Lavalette) au centre CIRAD de Montpellier, France, en collaboration avec Geneviève Conéjero.

Des grains de blé tendre (Chevalier, Rouge de Bordeaux) et de blé dur (BIDI17, LA1823) séchés, provenant du terroir de Mauguio, ont été humidifiés pendant 18 h à 40 % m/v. Des sections transversales de 50 µm d'épaisseur obtenues au moyen d'un cryotome (Microm Microtech, 69340 Francheville, France) et ont été montées sur une lame de verre avec une goutte d'eau. Les sections ont été observées avec un microscope multiphoton LSM880 (Zeiss, Iéna, Allemagne), équipé d'un laser Chameleon Ultra II (Coherent, Santa Clara, Californie), avec un objectif W Plan-Apo 20 x /1.0 20 x. L'autofluorescence des cellules a été observée à une longueur d'onde de 720 nm, et la détection a été effectuée entre 410 et 650 nm avec un détecteur spectral (plateforme IRM-PHIV, Montpellier). Les sons de blé correspondants, obtenus après mouture, ont été directement observés sur des lames avec le même microscope et les mêmes paramètres optiques (Figure 25).

Le microscope multiphotonique permet d'exciter les métabolites secondaires de manière similaire au laser UV. Le détecteur spectral permet d'obtenir des spectres d'émission à partir des différents tissus des grains, du son, ainsi que l'AF pur. La fonction de non-mélange linéaire du logiciel ZEN (Zeiss, Iéna, Allemagne) a été exécutée pour séparer, pixel par pixel, les signaux mélangés de l'AF à d'autres molécules fluorescentes dans les tissus. Le canal résiduel montre la différence entre les données spectrales acquises et la combinaison linéaire ajustée des spectres de référence.

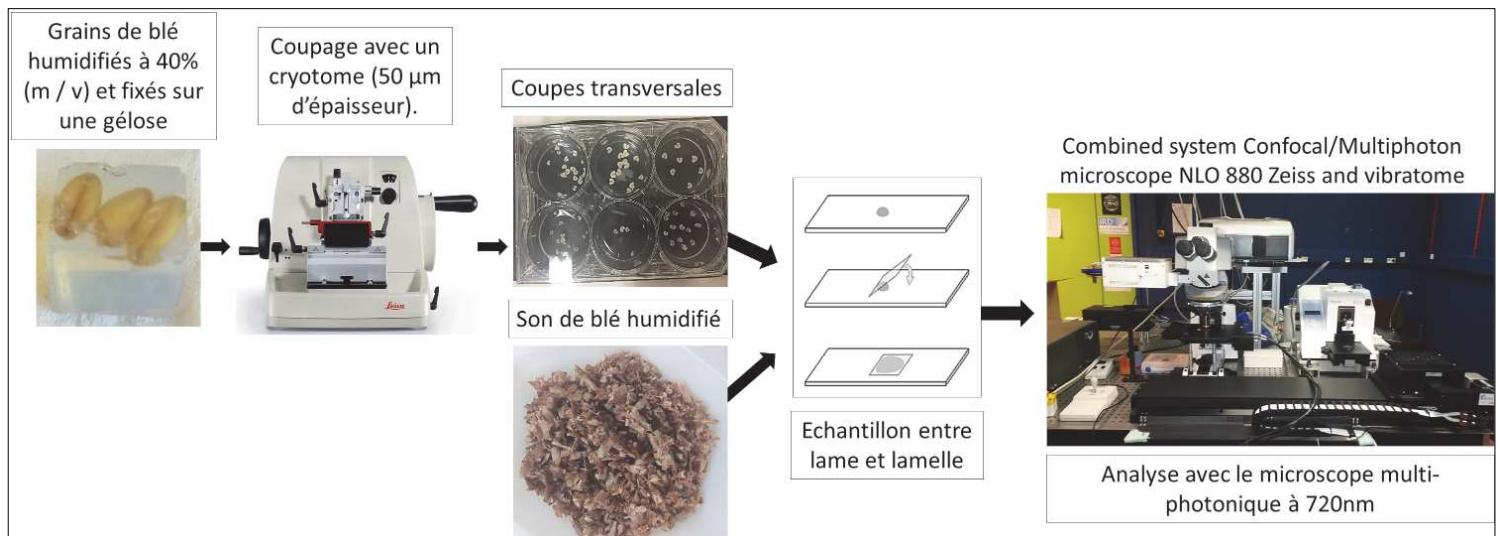


Figure 25. Schéma du protocole d'analyse de l'AF des grains et du son de blé par le microscope multiphotonique.

3. Fermentation de l'AF en milieu levain synthétique

3.1. Préparation du milieu levain synthétique (SSM)

La préparation du milieu levain synthétique (SSM) a été adaptée de (Vrancken et al., 2008) comme suit : Dans un bêcher de 1L, sont mélangés 24 g de peptone de blé, 0,2 g de MgSO₄, 7 H₂O, 0,2 g de MnSO₄.H₂O, 4 g de KH₂PO₄, 4 g de K₂HPO₄ et 1 mL de Tween 80. Ensuite, 899 mL d'eau milliQ sont ajoutés et le pH est ajusté à 4,5 avec de l'acide citrique 3 M. La solution résultante est autoclavée à 120°C, à 0,5 mbar, dans un autoclave LEQUEUX- 1983. Le SSM stérilisé a ensuite été complété avec 100 mL de solution d'un mélange de sucres (glucose 150 g / L, maltose 350 g / L, filtré sur filtre de 0,22 µm pour éliminer les microorganismes) pour atteindre une concentration finale de 15 g / L de glucose et 35 g / L de maltose. Ensuite, 1 mL d'une solution de vitamines filtrée (sur filtre de 0,22 µm) contenant 200 mg / L de chacune des vitamines suivantes (cobalamine, acide nicotinique, acide folique, acide pantothénique, pyridoxal-phosphate, thiamine) a été ajouté pour compléter le SSM à 1L. Ce milieu de levain synthétique constitue le milieu témoin SSM. Le milieu fermentaire contenant l'AF est constitué de SMM, dans lequel a été dissous le *trans*-AF commercial à une concentration de 25 mg/L (SSM-FA). La dissolution de l'AF s'est effectuée par agitation

pendant 1h à température ambiante, et la solution résultante a ensuite été stérilisée par pasteurisation à la vapeur pendant 15 min.

3.2. Souches de levures et de LAB

Les souches de levures et de bactéries lactiques (LAB) utilisées ont été sélectionnées et isolées à partir de levains naturels français, lors de travaux précédents (Urien et al. 2019, Michel et al. 2018). Les levures étaient stockées au laboratoire. Les bactéries ont été fournies par le CIRM-BIA (Centre International de Ressources Microbienne-Bactéries d'Intérêt Alimentaire, Rennes, France). Les souches de levure appartiennent aux espèces *S. cerevisiae*, *K. bulderi* et *K. humilis*. L'espèce *K. humilis* a été détectée dans les levains artisanaux du monde entier (Carbonetto et al., 2018), tandis que *K. bulderi* a fréquemment été trouvée dans les levains des paysans-boulanger français (Michel et al., 2019, Urien et al., 2019). Les souches de bactéries employées sont hétérofermentaires strictes ou facultatives et appartiennent à une grande diversité d'espèces trouvées dans les levains naturels (Michel et al., 2016). Le Tableau 11 regroupe les différentes souches de levures et de bactéries mises en œuvre dans cette étude. Chacune de ces souches a été testée séparément pour sa capacité à assimiler l'AF.

Tableau 11. Genres, espèces et souches de bactéries lactiques (LAB) et de levures utilisées pour cette étude. Les espèces LAB *F. sanfranciscensis*, *L. hammessii* et *L. xiangfangensis* sont hétérofermentaires strictes. Les espèces *L. plantarum*, *L. curvatus* et *L. sakei* sont hétérofermentaires facultatives.

Genre	Espèce	Souche	Code de souche	Code du boulanger	Region française d'isolement	Année de collection
LAB						
<i>Fructilactobacillus</i>	<i>sanfranciscensis</i>	CIRM 2059	bFs17	B17	Somme, Hauts-de-France	Jan.2015
		CIRM 2028	bFs15	B15	Hérault, Occitanie	Jan.2015
		CH-2203	bFs9	B9	Essonne, Ile-de-France	Avr.2013
		NS-203	bFs12	B12	Ille-et-Vilaine, Bretagne	Avr.2013
<i>Lactiplantibacillus</i>	<i>plantarum</i>	AG-105	bLp6	B6	Aude, Grand-Est	Mar.2013
		HS-E9(CIRM 2029)	bLp16	B16	Yvelines, Île-de-France	Jan.2015

		CIRM 2025	bLp20	B20	Alpes-Maritimes, Provence-Alpes-Côte-d'azur	Feb.2015
	xiangfangensis	CIRM 2019	bLx29	B29	Aude, Occitanie	Avr.2015
<i>Levilactobacillus</i>	<i>hammessii</i>	LB-T2C7	bLh5	B5	Oise, Hauts-de-France	Jan.2013
	<i>curvatus</i>	HS-A1	bLc16	B16	Yvelines, Ile-de-France	Jan.2015
<i>Latilactobacillus</i>	<i>sakei</i>	PV2-TPc-308	bLsk4	B4	Loire-Atlantique, Pays-de-la-Loire	Jan.2013
Levures						
<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae</i>	CumuL1	ySc10	B10	Alpes-de-Haute-Provence, Provence-Alpes-Côte-d'Azur	Avr.2013
		HS-4LB	ySc16	B16	Yvelines, Ile-de-France	Jan.2015
		B29-1	ySc29	B29	Aude, Occitanie	Avr.2015
		CaH2-10	ySc9	B9	Essonne, Ile-de-France	Avr.2013
		B32-1	ySc32	B32	Bourgogne-Franche-Comte	Mar.2015
<i>Kazachstania</i>	<i>bulderi</i>	NS-5	yKb12	B12	Bretagne	Avr.2013
		B15-23	yKb15	B15	Hérault, Occitanie	Jan.2015
		B20-1	yKb20	B20	Provence-Alpes-Côte-d'Azur	Fev.2015
		PV-TP1-12	yKb4	B4	Pays-de-la-Loire	Jan.2013
	<i>humilis</i>	B17-1	yKh17	B17	Hauts-de-France	Jan.2015
		LB-TP1-20	yKh5	B5	Ile de France	Jan.2013
		Ang-15	yKh6	B6	Champagne Ardennes	Mar.2013

3.3. Préparation des souches et des pré-cultures

Afin de réactiver les microorganismes préalablement stockés à -80 ° C, les souches de LAB ont été cultivées en anaérobiose à 24 ° C dans des boites pétri avec le milieu MRS-5 (milieu De Man, Rogosa et Sharp) (Meroth et al., 2003) pendant 48 h. Les souches de levure ont été cultivées à 28 ° C dans des boites pétri avec le milieu YEPD (milieu de levure peptone dextrose), pendant 24 h (Xu et al., 2019).

Une pré-culture des souches microbiennes a été réalisée en tubes afin d'obtenir une concentration cellulaire suffisante pour l'expérimentation. Ainsi, une colonie de chaque souche a été cultivée dans des tubes contenant 20 mL de milieu MRS-5 pour les LAB, et dans des tubes contenant 6 mL de milieu YEPD pour les levures. Toutes ces colonies ont été incubées pendant 24h à 28 ° C sous agitation.

Afin de préparer les inoculums pour la fermentation, les pré-cultures ont été centrifugées (4500 tours / min pendant 5 min à 20 ° C). Ensuite, les cellules ont été mises en suspension dans des épendorfs stériles contenant 1 mL de SSM. A partir de ces épendorfs, 50 µL de la suspension de levures et 25 µL de la suspension de LAB ont été dilués avec du PBS afin de déterminer les densités cellulaires au cytomètre et de calculer les volumes de pré-cultures nécessaires pour préparer 1 mL d'inoculum à une concentration de $1,5 \times 10^8$ cellules / mL pour les levures et de $1,5 \times 10^{10}$ cellules / mL pour les bactéries.

3.4. Fermentation en mono- et co-culture et caractérisation du métabolisme de l'AF

Le suivi des fermentations (qui ont été effectuées au moins en triplicat) s'est effectué à l'aide du système robot automatisé PlateButler® Robotic System by Lab services comme expliqué dans les généralités. Les principales opérations avant et après fermentation sont présentées dans la Figure 26.

Dans des tubes de 20 mL contenant 15 mL de SSM ou de SSM-FA, ont été inoculés 100µL d'inoculum de chaque souche en monoculture et en co-cultures (100µL de levures + 100µL de LAB dans ce cas). Les tubes ont par la suite été placés sur les plateaux magnétiques du robot, et mis sous agitation constante (300 tours / min), à 24 ° C, pendant 37 h. Les concentrations cellulaires à la fin de la fermentation ont été déterminées comme décrit dans (Delobel et al., 2012). 200 µL de chaque tube ont été prélevés dans un épendorf de 1,5mL puis centrifugés (10000 tours / min pendant 5 min à 4 ° C). Ensuite, les cellules ont été lavées avec du PBS et analysées par cytomètre.

Après centrifugation des tubes de fermentation (4500 tours / min pendant 10 min à 4°C), 300 µL ont été prélevés de chaque tube, filtrés sur un filtre 0,2 µm et injectés en UPLC. L'AF résiduel, ainsi que ses métabolites formés (identifiés comme étant le 4-vinylguaiacol (4-VG) et l'acide dihydroférulique (DHFA)) ont été quantifiés après étalonnage externe en préparant des solutions de 4-VG et de DHFA dans le méthanol à des concentrations de 0,1 mg / L, 0,3 mg / L, 0,5 mg / L, 0,6 mg / L, 0,8 mg / L, 0,9 mg / L, 1 mg / L, 10 mg / L et 15 mg / L pour le 4-VG et de 1mg / L, 10 mg / L, 15 mg / L, 20 mg / L, 30 mg / L, 40 mg / L et 50 mg / L pour le DHFA, et des solutions d'AF dans le SSM à des concentrations de 1 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 15 mg / L, 20 mg / L, 25 mg / L, 30 mg / L, 40 mg / L et 50 mg / L.

Afin de déterminer le bilan matière de la conversion de l'AF pendant la fermentation, les rendements molaires du 4-VG et DHFA formés, ainsi que celui de l'AF résiduel ont été calculé selon (Filannino et al., 2014b).

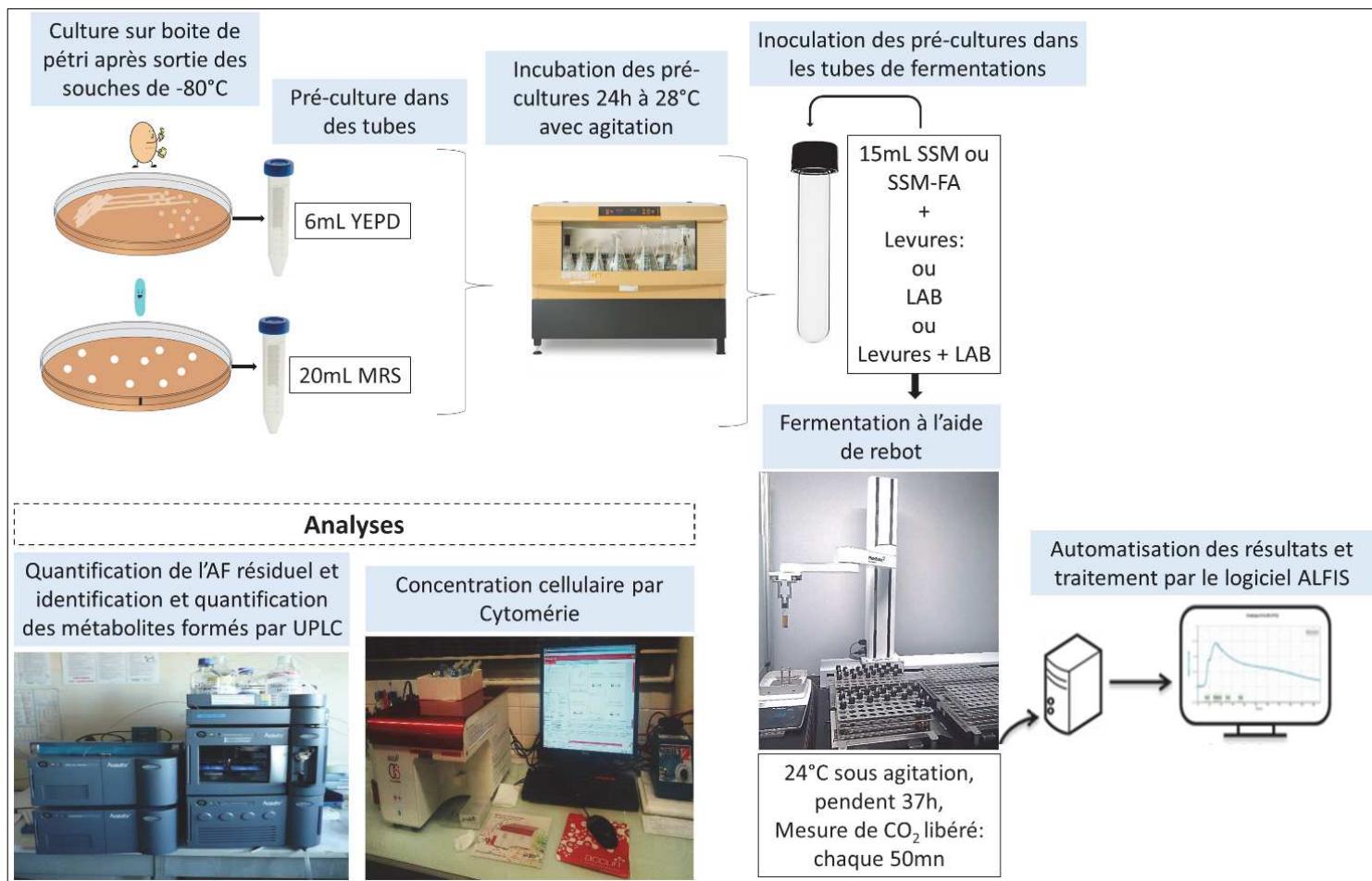


Figure 26. Schéma des principales opérations avant et après fermentation.

4. Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques paramétriques (modèle linéaire à effet fixe et aléatoire) et non paramétriques (Kruskal wallis) ainsi que les figures des résultats de cette thèse ont été réalisées à l'aide du logiciel R après installation des différents packages (notamment lme4, blme, lmerTest, TukeyC, ggplot).

Les tests statistiques ont été effectués en construisant des modèles linéaires avec des effets fixes ou aléatoires (modèle mixte). Les modèles à effets fixes ont été réalisés avec la fonction lm et les modèles mixtes avec la fonction lmer. Des comparaisons de modèles ont

ensuite permis d'identifier le meilleur modèle et de tester les effets aléatoires. Pour comparer les moyennes entre les différentes paires au sein d'un même facteur, un test de Tukey a été réalisé. Les effets testés ont été considérés significatif au seuil de 5 %.

La première partie concernant les analyses des effets de l'espèce, variété et terroir de blé sur le rendement en son et teneur en AF dans le son, ainsi que l'effet de fermentation et cuisson sur la teneur de l'AF de la pâte et du pain, ont été réalisés avec les packages de R version 3.4.4. (<https://rstudio.com/>).

Pour la deuxième partie, concernant l'effet de l'AF sur la croissance microbienne et la performance fermentaires des levures et LAB en mono- et co-culture au laboratoire, nous avons utilisé la version 4.0.3. de R avec les mêmes modèles et packages.

- Effet de l'espèce et de la variété sur le rendement en son et la teneur en AF (lot 2017)

Un premier lot de blé, composé de blé dur et de blé tendre collectées en 2017, a été utilisées pour analyser l'effet des espèces et variétés de blé sur le rendement en son ou la teneur en AF à l'aide du modèle linéaire suivant :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_{ji} + \varepsilon_{ijk},$$

Où Y_{ijk} est le rendement en son ou la teneur en AF de son de blé, μ est une constante, α_i est l'effet de l'espèce de blé ($i = 1, 2$), β_{ji} est l'effet de la variété de blé au sein de chaque espèce ($j = 1, 2, 3$), et ε_{ijk} est l'erreur expérimentale, estimée par la variation du rendement en son sur trois échantillons indépendants de grains de la même variété.

L'effet de la répétition expérimentale a aussi été testé sur la teneur en AF car ce dernier a été mesurée trois fois indépendamment sur les trois échantillons de graines pour chaque variété. Il n'y a eu aucun effet de la répétition expérimentale. Le modèle incluant cet effet aléatoire était moins probable que celui sans cet effet d'où le modèle simplifié.

- Effet de la variété et du terroir sur le rendement en son et la teneur en AF (lot 2015)

Un deuxième lot de blé, composé de blé tendre collecté en 2015 sur différents terroirs, a été utilisé pour tester l'effet de la variété de blé tendre et du terroir sur le rendement en son et la teneur en AF, à l'aide du modèle linéaire suivant :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + \varepsilon_{ijk},$$

Où Y_{ijk} est la variable quantitative (soit le rendement en son, ou la teneur en AF), μ est une constante, α_i est l'effet variété ($i = 1,2,3$), β_j est l'effet terroir ($j = 1,2$), γ_{ij} est l'effet d'interaction entre les variétés et les terroirs et ε_{ijk} est l'erreur résiduelle. Ici aussi, nous n'avons trouvé aucun effet des répétitions expérimentales.

- Effet de fermentation sur la teneur en AF dans les levains, pâtes et pains

L'effet du type de fermentation a été analysé à l'aide du modèle linéaire suivant :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij},$$

Où Y_{ijk} est la teneur en AF dans les pâtes ou les pains, α_i est l'effet de fermentant (levains, levures ou mélange) ($j = 1,2,3$), ε_{ijk} est l'erreur résiduelle.

Les modèles linéaires indiquent si un facteur est significatif, c'est-à-dire si au moins un niveau de ce facteur diffère des autres. Les différences de moyennes du rendement en son ou teneur en AF entre paires d'échantillons ont ensuite été testés en utilisant la méthode HSD de Tukey.

- Effet de l'AF sur la croissance microbienne et la performance fermentaire en levain synthétique

D'abord, nous avons analysé la variation de chacune des variables quantitatives (taille de la population des microorganismes, Vmax, tVmax, CO₂max et t1g) de chaque souche de LAB et de levure en monoculture.

Pour les LAB, nous avons utilisé un modèle mixte linéaire avec : souches, AF, et leur interaction comme effet fixe et le bloc (les expériences ont été réalisées en plusieurs blocs séparés dans le temps)) comme effet aléatoire. Quand aucun effet bloc n'est trouvé, nous avons simplifié le modèle en enlevant l'effet bloc :

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + D_k + \varepsilon_{ijkl},$$

Où Y_{ijkl} est le paramètre fermentaire ou la taille de la population, α_i est l'effet fixe « souche », β_j est l'effet fixe « AF » ($i=1,2$, présence ou absence de l'AF dans le milieu), γ_{ij} est l'effet d'interaction entre « souches » et « AF », D_k est l'effet aléatoire « bloc » et ε_{ijkl} , l'erreur résiduelle.

Pour les levures, nous avons ajouté au modèle précédent un effet espèce et un effet de l'interaction entre l'espèce et la présence d'AF dans le milieu car nous avions au moins trois souches de chaque espèce.

Dans le cas où les résidus s'écartaient de la normalité, nous avons également effectué des tests non paramétriques (tests de Kruskal-Wallis).

Ensuite, nous nous sommes intéressés à la comparaison entre mono- et co-culture en ajoutant un effet fixe avec deux niveaux de mono- ou de co-cultures. Pour cette analyse, nous n'incluons que les monocultures de souches qui ont également été testées en co-cultures :

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + D_k + \varepsilon_{ijkl},$$

Où Y_{ijkl} est le paramètre fermentaire ou la taille de la population, α_i est l'effet fixe « type de culture » (mono- vs co-culture), β_j est l'effet fixe « AF », γ_{ij} est l'effet d'interaction « AF et type de culture », D_k est l'effet aléatoire « bloc » et ε_{ijkl} , l'erreur résiduelle.

Chapitre III. Variation de la teneur en acide férulique : du grain de blé vers le pain

Présentation des parties 1 et 2

Le son de blé est le résidu le plus abondant après mouture du grain. Il contient la majorité des molécules bioactives présentes dans le blé, dont l'acide férulique (AF).

Dans la première partie de ce chapitre, nous avons identifié certains facteurs responsables de la variation de la teneur en AF dans le blé. Pour cela, nous avons sélectionné des lots de grains de blé biologiques (espèce dur et tendre), appartenant à différentes variétés et provenant de différents terroirs. A l'aide de moyens analytiques comme l'UPLC, nous avons déterminé la teneur de l'AF dans chacun de ces lots, et nous avons recherché les effets potentiels de l'espèce, de la variété et du terroir sur la concentration en AF dans les sons de ces grains de blé. Dans un second temps, nous avons analysé l'effet des conditions de panification telles que le ferment utilisé et la cuisson du pain sur la teneur en AF des pâtes et pains. Pour cela, une des variétés de blé étudiée (Renon) a été transformée en farine semi-complète T80 et trois modes de fermentation ont été testé et comparés : la fermentation par la levure commerciale (*S. cerevisiae*), la fermentation par des levains naturels et la fermentation par un mélange de levure commerciale et de levain. Ce travail a fait l'objet d'un article soumis dans Food Science and Nutrition.

La seconde partie de ce chapitre est consacrée à la localisation de l'AF dans le son de blé avant et après mouture, au moyen de la microscopie à fluorescence. En effet, l'AF comme tous les polyphénols émet une fluorescence lorsqu'il subit une radiation par une lumière UV. Ceci permet de le localiser dans les tissus végétaux (plus ou moins dépourvus d'autres substances fluorescentes) et de relier l'intensité de cette fluorescence à sa concentration dans ce même tissu. Ce travail effectué en collaboration avec Geneviève Conéjero de la plateforme d'Histocytologie et d'Imagerie cellulaire Végétale du CIRAD-Montpellier, a permis de comparer l'état des tissus végétaux du son de blé avant et après mouture et d'estimer les différences de teneur en AF dans certaines variétés de blé dur et tendre. Cette partie n'a pas été intégrée à l'article par souci de cohérence et de fluidité. Cependant, elle apporte des compléments sur la distribution de l'AF dans le son de blé et confirme les résultats de quantification obtenus en UPLC.

Partie 1. Etude des facteurs influençant la teneur en acide férulique du grain au pain

Ferulic acid content variation from wheat to bread

Sonia Boudaoud¹, Delphine Sicard¹, Lucas Suc¹, Geneviève Conéjero², Diego Segond¹ and Chahinez Aouf^{3*}

¹UMR 1083SPO, INRAe, Univ Montpellier, Montpellier SupAgro, Montpellier, France.

²UMR B&PMP, INRAe, CNRS, Univ Montpellier, Montpellier SupAgro, Montpellier, France.

³UMR 1208 IATE, INRAe, Univ Montpellier, Montpellier SupAgro, Montpellier, France.

Corresponding Author: Chahinez Aouf

INRAe-SupAgro

UMR IATE 1208. 2 Place Pierre Viala 34060 Montpellier, France

Chahinaz.aouf@inrae.fr

Short version of title (FA content in wheat and bread)

Choice of journal/topic where article should appear

Journal of Food Science and Nutrition

Abstract

The health-promoting effects of whole-grain consumption have been attributed in a large part to the phytochemical profile of the wheat grain, and particularly to the bioactive molecules present in bran. This study shed light on the impact of human practices, especially harvesting sites (terroirs) and wheat species and varieties, as well as bread-making conditions on the variation of the antioxidant and antimicrobial ferulic acid (FA) content. FA concentration in the bran of wheat species (durum and bread wheat) and varieties (Chevalier, Renan, Redon, Saint Priest le vernois rouge, Bladette de Provence, Pireneo, Rouge de Bordeaux, LA1823, Claudio et Bidi17) harvested in five sites in France on 2015 and 2017, has been evaluated. Statistical analysis showed significant differences in FA content for wheat varieties and terroirs. During bread-making, baking and type of leaven impacted the FA content of dough and bread. The differences were not due to the type of fermentation (sourdough / commercial yeast) but rather to the diversity of fermenting microbial strains and flour used for backslopping.

1. Introduction

Wheat is the most important food grain source for humans with an estimated global production of around 747.8 million tons and a consumption that reached 753.9 million tons for the year 2018/2019 (United States Department of Agriculture). This increasing consumption is partly correlated with the nutritional value of the wheat grain which mainly contains carbohydrates (65-75%), proteins (7-12%) and lipids (2-6%) (Pomeranz, 1988). The wheat grain is composed of different parts, of which the bran accounts for 14 to 19% of its weight (Javed et al., 2012). Studies on the effect of wheat, oat and corn brans on human organism showed that wheat bran contains most of the micronutrients and bioactive compounds of the grain (Youna Hemery, Rouau, Lullien-Pellerin, Barron, & Abecassis, 2007), and therefore, it might contribute to reduce certain diseases of the digestive system. Wheat bran comprises the outer tissues of the wheat kernel and includes histologically and chemically distinct layers and tissues, whose aleurone layer accounts for 50% of all bran tissue. Aleurone cell walls contain 29% B-glucans and 65% linear arabinoxylans (Javed et al., 2012; Shewry & Hey, 2015). They are a source of vitamins and bioactive compounds such as phenolic compounds (bound phenolic compounds: 4.73-2020 µg/g) (Onipe, Jideani, & Beswa, 2015). Phenolic compounds of wheat bran mainly belong to phenolic acids group with ferulic acid (4-hydroxy-3-methoxy cinnamic acid) as major component (it represents up to 90% of total phenolic acids) (K. K. Adom, Sorrells, & Liu, 2003). Ferulic acid (FA) mainly occurs in trans configuration and is esterified to arabinose (linked in the O-5 position), stanols, sterols and glucose (Naczk & Shahidi, 2006). It is also able to be associated to lignin via ether and/or ester linkages. Generally, wheat kernels contain 0.64-1.27 mg/g of FA (Kafui Kwami Adom & Liu, 2002; Nishizawa, Ohta, Egashira, & Sanada, 1998).

A number of studies have reported the strong antioxidant activity of FA. DPPH test of different phenolic acids showed that FA has a lower EC₅₀ value (0.0927 µmol/assay) than other counterparts such as vanillic or p-coumaric acids with EC₅₀ values of 14.34 and 66.29 µmol/assay, respectively (Karamac, Kosińska, & Pegg, 2005). FA is also known for its antibacterial and anti-inflammatory properties (Park et al., 2019). All these properties may be correlated to the established health benefits that may result from the consumption of wheat bran and/or whole wheat grains. Thanks to its antioxidant activity, FA (alone or in synergy with other bioactive compounds) acts as a free radicals scavenger, inhibiting thereby some cardiovascular and coronary heart diseases, along with diabetes (Jones, 2006).

Nutritional and health benefits provided by wheat have driven researches towards assessing the wheat growing factors that influence the content of bioactive components, especially phenolic compounds. Several studies have reported the effect of wheat varieties and species on the phenolic composition. One broad study analyzed the phenolic content of 170 genotypes representing diverse wheat species (bread winter wheat, spring wheat, spelt, durum wheat, cultivated emmer and einkorn) and showed that the highest FA content was found in winter wheat and its variation depended on varieties (Li, Shewry, & Ward, 2008). Significant differences between durum and bread wheat varieties were also reported in Italy and USA (K. K. Adom et al., 2003; Bordoni, Danesi, Di Nunzio, Taccari, & Valli, 2017). The effect of climate, year of cultivation and agronomic practices on the FA content has also been previously analyzed (Li et al., 2008). For instance, Shewry et al., (Shewry & Hey, 2015) studied the effect of genotype and environmental variation, including whether conditions, altitude, soil type, temperatures on the phenolic composition of winter and spring wheat. Gasztónyi et al., (Gasztónyi, Farkas, Berki, Petrőczi, & Daood, 2011) evaluated the varietal and agricultural factors, like the use of fungicide, on the phenolic content of different wheat varieties over two years. Heimler et al., (Heimler et al., 2010) analyzed the polyphenol content of ancient and modern varieties of durum and soft wheat sampled over two years. Overall, climate factors and years of cultivation appeared as the main factors that cause variation in polyphenol (Gasztónyi et al., 2011; Pu et al., 2019; Shamloo, 2017). However, to our knowledge, no studies have explored the terroir effect. Terroir can be defined as an ecosystem, in a given place, including many factors such as climatic conditions, cultivar rootstock, geography and topography, as well as soil characteristics like mineral nutrition and water supply. It is also a key index to guide consumers in their search of quality.

Growing wheat with optimal nutritional qualities is useless if the bread we find on our tables, which is the main product of wheat processing is devoid of nutrients. One might wonder whether the different stages of bread-making influence the evolution of the phenolic compounds present in semi-wholemeal and wholemeal flours. Angelino et al. published a recent review summarizing the different operations carried out during bread-making process that might increase the fraction of phenolic compounds (Angelino et al., 2017). Fermentation and baking have been reported as the two main factors contributing to the increase in the fraction of FA in bread. Several studies showed that adding yeasts or lactic bacteria to flour or bran have the potential to release insoluble bound FA (Katina, Laitila, et al., 2007; Zhang, Gao, Chen, & Wang, 2014). In the case of lactic acid bacteria (LAB), the hydrolysis reactions result mainly

from the increase in the acidity of the medium. (Hansen et al., 2002; Konopka, Tańska, Faron, & Czaplicki, 2014). During baking, high temperatures may induce structural modifications in plant cell-walls, provoking as consequence a rupture of some bounds and the release of some compounds such as FA (Chandrasekara & Shahidi, 2011).

In summary, significant work has been done on the impact of wheat growing conditions on the content of bioactive compounds such as FA. However, no studies have highlighted the influence of terroir on FA content. On the other hand, the analysis of the effect of fermentation in a regular artisanal bread making process on FA content was, so far, not reported.

In this work, a set of organic French wheat grains coming from different terroirs, including durum and bread wheat species and belonging to modern and landrace varieties, were studied to compare the FA content of their bran. Then, one modern variety (Renan) has been milled into semi-Wholemeal flour T80, and the impact of fermentation conditions FA content of dough and bread was assessed. Three different types of fermentation representing different bread making practices were compared: fermentation by commercial yeast, fermentation by sourdough and fermentation by a mix of commercial yeast and sourdough. Finally, the baking effect on bread FA content was evaluated.

2. Materials and Methods

2.1. Wheat samples

Two sets of organic wheat grains kindly provided by Dominique Desclaux (INRAE Domaine de Melgueil, Mauguio) were used. The first one was composed of three varieties of durum wheat (LA1823, Claudio and Bidi17) and three varieties of bread wheat (Chevalier, Pireneo, Rouge de Bordeaux) grown in Mauguio in 2017. Mauguio is a small town located in Hérault in the south of France. In 2017, the average temperature in July and August was 30°C, and the minimum temperature in January was 0°C, with an average annual rainfall of 321 mm (Météo France). The second set contained only grains of bread winter wheat. They were obtained from three modern varieties (Chevalier, Renan, Pireneo) and three landraces (Redon, Bladette de Provence, Saint priest le Vernois Rouge) grown in France in 2015, at four locations: le Rheu (LA) and Chavagne (GS) in Bretagne region; along with Pont de l'Arche (FM) and Le Puits (LM) in Pays de la Loire region. These two regions located in northwestern France, are neighboring regions characterized by a rather wet climate. In 2015, the average rainfall was

almost of 647 mm in Bretagne, and 611 mm in Pays de la Loire (Météo France). the maximum recorded temperatures were between 25°C and 27°C in June and the minimum temperatures of -8°C were recorded in January.

All varieties were grown on terroir GS (Chavagne, Bretagne) and terroir LA (Le Rheu, Bretagne). The modern varieties were also grown on terroir FM (Pont de l'Arche, Pays de la Loire). The landraces were also grown on terroir LM (Le puits, Pays de la Loire). The grains were all kindly provided by Veronique Chable (INRAe Centre Bretagne-Normandie, UMR BAGAP, Le Rheu, France) and stored at -20 °C (table 1).

Table1: Bread wheat varieties harvested on 2015 at four French terroirs LA, GS, FM and LM

Terroir	Variety^a	
LA : Le Rheu, Bretagne	landraces	Redon
		Bladette de Provence
		Saint Priest le Vernois Rouge
	modern	Chevalier
		Renan
		Pireneo
GS: Chavagne, Bretagne	landraces	Redon
		Bladette de Provence
		Saint Priest le Vernois Rouge
	modern	Chevalier
		Renan
		Pireneo
FM: Pont de l'Arche, Pays de la Loire	landraces	Redon
		Bladette de Provence
		Saint Priest le Vernois Rouge
LM: Le puits, Pays de la Loire	modern	Chevalier
		Renan
		Pireneo

^aTo perform this study, three seed lots were randomly collected from each variety (biological triplicate).

2.2.Wheat grains milling and bran recovery

Wheat grains, with an average weight of 4.74 ± 0.36 g, were tempered by moistening at 20% w/v in a rotating system, during 3h, and were left at room temperature for 24h. Then, the humidified grains were ground in mortar grinder FRITSCH PULVERISSETTE2, operating at a speed of 70 to 80 rpm, with 12.5 daN (downforce) on the superior roller and 0 ring on the lateral screw. Ground wheat was sieved through two sieves with 1 mm and 0.5 mm size screens respectively. Three fractions were obtained, a coarse fraction corresponding to the bran still containing a large part of flour (WBF1: 3.7 ± 0.33 g), an intermediate fraction (IF: 0.45 ± 0.17 g) and a flour fraction (FF1: 0.5 ± 0.18 g). To isolate bran, fraction WBF1 underwent, a second grinding under softer conditions (7.5 daN on the superior roller, 2 rings on the lateral screw). Coarse fraction (WBF2: 1.54 ± 0.16 g), corresponding to the bran, was obtained after sieving through 1 mm size screen sieve (see supporting data for material balance, table S1). To remove the remaining flour, fraction WBF2 was washed with water (1 g of WBF2 for 100 mL of water) at 50°C , under stirring, for 15 min. After filtration (woven mesh filters, NITEX, SEFAR, with mesh openings of 500 μm), the solid part was washed twice with room temperature water. The washing operation was repeated 3 times. Washed WBF2 was dried overnight at 60°C to obtain the dry bran WBF2-D.

2.3.Dough and bread preparation

Doughs and breads samples were prepared using semi-wholemeal flour (T80) made from Renan wheat variety harvested in 2019. They were prepared in bakery “Le pain Levain” (Azillanet, France) in January 21st, 2020, either by adding commercial yeast, sourdoughs, or a mix of yeast and sourdoughs. Commercial yeast starters were Hirondelle (Lesaffre), Bioreal or Instant (Lesaffre). The three sourdoughs (“CRA”, “EDI”, “STE”,) were chosen for their diversity in yeast species. Sourdough “CRA” contains *Kazachstania bulderi* as dominant yeast species and *L. sanfranciscensis* as dominant LAB species. Sourdough “EDI” contains *Saccharomyces cerevisiae* and *Kazachstania unispora* as co-dominant yeast species as well as *L. sanfranciscensis* as dominant LAB species. Sourdough “STE” contains *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii* as co-dominant yeast species as well as *L. sanfranciscensis* as dominant LAB species. The yeast/sourdough fermentation were made by mixing the dough made with sourdough (“STE” or “CRA”) and the one made with the

commercial yeast Hirondelle (Hirondelle x “STE” sourdough and Hirondelle x “CRA” sourdough).

Doughs were left over for a first fermentation during a time ranging from 1h20 to 1h55. Then, they were divided by 500 g, shaped and left for a second fermentation that lasted 3h35. Dough loafs were then baked in a wood oven at 250°C.

Quantities of ingredients and the conditions of the different steps of bread-making are listed in table S2 (supporting data).

2.4.Preparation of sourdough, dough and bread samples for solvent extraction

Sourdoughs (“CRA”, “STE” and “EDI”) and doughs were freeze-dried for 47 hours in a freeze dryer (EDWARDS) to obtain water-free samples with average weight of 4.73 ± 1.04 g.

Three slices were recovered from each loaf and two types of samples were prepared from each slice. One was composed of crumb taken in the center of the slide (inner bread samples) and one containing crumb and crust was taken on the border of the slide (outer bread samples). To facilitate the grinding, the samples were dried overnight at 60°C. The average weight of the dried inner samples was 2.6 ± 0.45 g and that of dried outer samples was 3.34 ± 0.77 g.

Biological triplicates were prepared from sourdoughs, doughs, inner and outer bread samples, then, they were ground on a mortar grinder FRITSCH PULVERISETTE2 with 12.5 daN on the superior roller and 0 rings on the lateral screw, during 2 minutes for bread samples and 1min for sourdoughs and doughs.

2.5.Extraction of free and hydrolysable FA from wheat bran, sourdough, dough, and bread samples

Bran powder (50 mg), previously ground into fine particles was introduced in a 10mL Pyrex tube, equipped with a magnetic stirring bar and a screw lid. Then, 1 mL of the extraction solution (2M NaOH in water/Ethanol 50:50 v/v) was added. The mixture was heated at 80°C for 1 hour under stirring. After cooling down and centrifuging the mixture, 100 μ l of the

supernatant was collected and neutralized with the same volume of 2M HCl aqueous solution. To remove the resulting salts, the solution was filtered through Agilent pp 0.2 μ m filter.

The extraction of FA from sourdough, dough and bread samples was carried out in the same manner, by using a solution of 3M NaOH in water/Ethanol 50: 50 v/v, as extraction solution and by heating the samples at 60°C during 4h in a dry heating bath, without stirring.

2.6.FA quantification from bran, sourdough, dough and bread samples

The neutralized extraction solutions were injected in Acquity UPLC (Waters, Milford, MA) liquid chromatography system, equipped with a photodiode array detector (DAD). The Waters column was 100mm x 2.1mm, HSS T3, particles size was 1.8 μ m. The solvent used were A (99% H₂O and 1% HCOOH v/v) and B (100% CH₃CN) with a flow rate of 0.55mL/min. The gradient conditions were as follows: from 0 to 4 min, 99% to 70% A; from 4 min to 7 min, 70% to 20% A; from 7 min to 8 min, 20% A; from 8 min to 9 min, 20% to 99% A. The injection volume was 2 μ l and DAD was set at 280nm (λ_{max} of phenolic compounds).

It is well known that the area of a spectral peak is proportional to the amount of the substance that reaches the detector in LC instrument. A response factor was obtained experimentally through calibration curve of commercial trans-FA, obtained by injecting known concentrations ranging from 1mg/L to 50mg/L. The mass relative response factor (MRRFx) of FA equals the area of the spectral peak (mA_u) divided by its mass concentration. Thus, for the quantitation of FA in the extracts, its mass concentration (Cx) can be computed as: Cx = Ax/MRRFx, where Ax is the peak area of FA.

2.7.Statistical analyses

The bran yields as well as FA content in bran, sourdough, dough, and bread samples were analyzed using linear model with the statistical program R version 3.4.4.

2.7.1. Species and variety effect on bran yield and FA content

Data on the first set of grains, composed of durum and bread wheat collected in 2017, was used to analyze the effect of wheat species and varieties using the following linear model:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{species}_i + \text{variety}_j (\text{species})_i + \varepsilon_{ijk},$$

where Y is the bran yield or the FA bran content, μ is a constant, species is the wheat species effect ($i=1,2$), variety (species) is the wheat variety effect within each species ($j=1,2,3$), and ε is the experimental error, estimated by the bran yield variation over seed lots of the same variety.

The FA bran content was measured three times independently on three seed lots of each variety. There was no effect of seed lot. The model including the random seed lot effect was less likely than the one without ($BIC=-16.04 / BIC=-14.34$).

2.7.2. Variety and terroir effect on bran yield and FA content

Data on the second set of grains, composed of bread wheat collected in 2015 from different terroirs, was analyzed to test the effect of bread wheat variety and terroir on the bran yield and the FA content, using the following linear model:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{variety}_i + \text{terroir}_j + \text{variety} \times \text{terroir}_{ij} + \varepsilon_{ijk},$$

where Y is the quantitative variable (either the bran yield or the FA bran content), μ is a constant, variety is the variety effect ($i=1,2,3$), terroir is the terroirs effect ($j=1,2$), terroir \times variety is the interaction effect between varieties and the terroirs and ε is the residuals error.

Again, there was no effect of seed lot. The model including the random seed lot effect was less likely than the one without ($BIC= 53.43 / BIC= 48.75$).

2.7.3. Fermentation effect on sourdoughs, doughs and breads FA content

The fermentation effect was analyzed using the following linear model:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{Fermentation_type}_i + \text{Leaven}_j (\text{Fermentation_type}_i) + \varepsilon_{ijk},$$

Where Y is the total FA content in doughs or breads, Fermentation_type is the fermentation type (sourdoughs, yeasts or mix), Leaven (Fermentation type) is the leaven effect within the Fermentation type ($j=1,2,3$), ε is the residuals error.

The same model without the fermentation type was used to compare FA content among sourdoughs.

Bran yield or the FA content mean differences between pairs of samples (bran, sourdoughs, doughs, breads) were tested using Tukey HSD method.

3. Results and Discussion

FA content in bran of different wheat varieties harvested in different farming sites was evaluated. Then, semi-wholemeal flour T80 made from modern variety Renan (which is the most used in organic agriculture and bakery in France), was processed into breads through different fermentation practices. The impact of fermentations and baking conditions on the evolution of FA content was assessed.

3.1. Wheat bran yield: effect of species, terroir and variety

Tempering is the process of adding water to wheat before milling in order to toughen the bran and soften the endosperm to improve their separation. Many factors are affecting the tempering efficiency such as temperature, moisture, wheat cultivar and time. Xu et al., have assessed the effect of moisture level on the softness of the endosperm and concluded that, according to the kernel nature, the wheat grains could be tempered to moisture levels between 13%-19% (Xu, Mense, Ambrose, Graybosch, & Shi, 2018). In our case, several tests of tempering/milling have been carried out and the most efficient separation between bran and endosperm was achieved by adding 20% (w/v) of water and tempering at room temperature during 24h. After milling, wheat bran WBF2 was washed with warm water four times to reduce as much as possible the starchy part. The bran yields of the wheat varieties studied are displayed on figure 1.

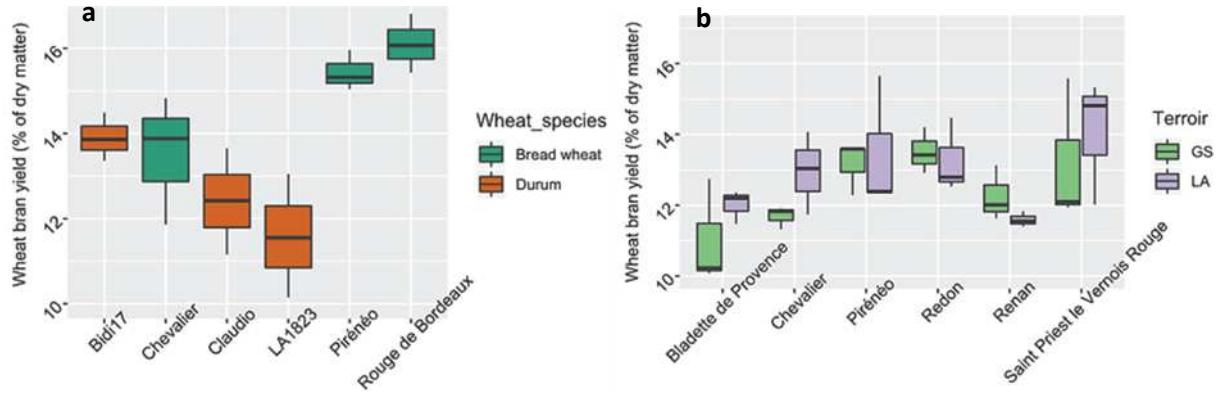


Figure 1. Yield of wheat bran WBF2-D (% of dry matter). The results are presented with a biological triplicate: **a.** On 2017, were harvested the beard wheat varieties: Chevalier, Pireneo, Rouge de Bordeaux and the durum wheat varieties: LA1823, Bidi17, Claudio. **b.** The varieties of bread wheat harvested on 2015 are: Bladette de Provence, Renan, Chevalier, Pireneo, Saint priest le Vernois Rouge, Redon.

The wheat varieties generated between $11.52\pm1.08\%$ to $16.10\pm0.69\%$ of bran with respect to the grain weight. These results are in agreement with Javed et al., who reported that approximate bran yield was between 14% and 19% of wheat kernel (Javed et al., 2012); and Hemery et al., study, in which the bran yield was estimated to range between 10% to 15% of wheat grain (Y. Hemery et al., 2011). The statistical analyses revealed that bran yield does not significantly differ between neither wheat species ($F_{1,4}= 5.39$; $p=0.08$) in 2017; nor terroirs ($F_{1,24}=1.05$; $p=0.31$) and interaction variety-terroirs ($F_{5,24}=0.58$; $p=0.71$) in 2015. By contrast, a significant difference was found between wheat varieties harvested in 2017 ($F_{4,12}=4.1$; $p=0.02$) and 2015 ($F_{5,24}=3.14$; $p=0.02$).

For the wheat kernels harvested on 2017 at Mauguio, the highest wheat bran average yield was observed for the bread wheat varieties Rouge de Bordeaux and Pireneo with $16.10\pm0.69\%$ and $15.44\pm0.47\%$ respectively. These two varieties gave a significantly higher bran yield than Claudio and LA1823 (Tukey test, supplementary data, table S5) with $12.41\pm1.24\%$ and $11.58\pm1.45\%$. The other two varieties (Bidi17 and Chevalier) showed intermediate yields.

Bran yield also significantly changed according to the bread wheat varieties in 2015 although the differences were less marked ($F_{5,24}=3.14$; $p=0.02$). Saint Priest le Vernois Rouge generated the highest amount of bran ($13.63\pm0.73\%$) and differed from Bladette de Provence

(marginally significant Tukey test, supplementary data, table S6). Interestingly, Pireneo and Chevalier varieties harvested in 2017 at Mauguio presented higher yields than those harvested in 2015 at Bretagne and Pays de la Loire suggesting an effect of the year of culture, environmental and climate conditions or nature of soil.

In a study conducted by Peyron et al., the mechanical behaviour of wheat bran under milling conditions was investigated. It was shown that arabinoxylans which account for 70% of the polysaccharide material in aleurone wall, and their degree of cross-linking was the main element controlling bran mechanical properties, which in turn control its behaviour during milling and then its yield (Peyron, Chaurand, Rouau, & Abecassis, 2002). The arabinoxylans content in wheat bran is generally depending on wheat varieties. Indeed, some studies have pointed out the role of breeding in the improvement of arabinoxylans content in wheat varieties (Torok, Szentmiklossy, Tremmel-Bede, Rakszegi, & Tomoskozi, 2019; Tremmel-Bede et al., 2017). In the other hand, it was demonstrated that there is no differences in mechanical properties between durum wheat and bread wheat bran (Mabille, Gril, & Abecassis, 2001), which is in agreement with our results.

3.2.FA content in wheat bran

3.2.1. FA extraction and quantification in wheat bran

FA is mostly cross-linked with lignin and polysaccharides forming lignin/phenolic-carbohydrates complexes in wheat bran. The chemical extraction of free FA from the vegetable matrix is often performed via alkaline or acid hydrolysis. These methods break the ester bonds between FA and the different molecules of cell walls. However, alkaline hydrolysis is the most effective method. It preserves the structural integrity of FA, while acid hydrolysis causes a cleavage in the glycosidic bonds along with some structural degradations on hydroxycinnamic acids (Aarabi, Honarvar, Mizani, Faghihian, & Gerami, 2016).

Ester-linked FA in the different wheat bran samples was released through alkaline hydrolysis, as shown in figure 2.

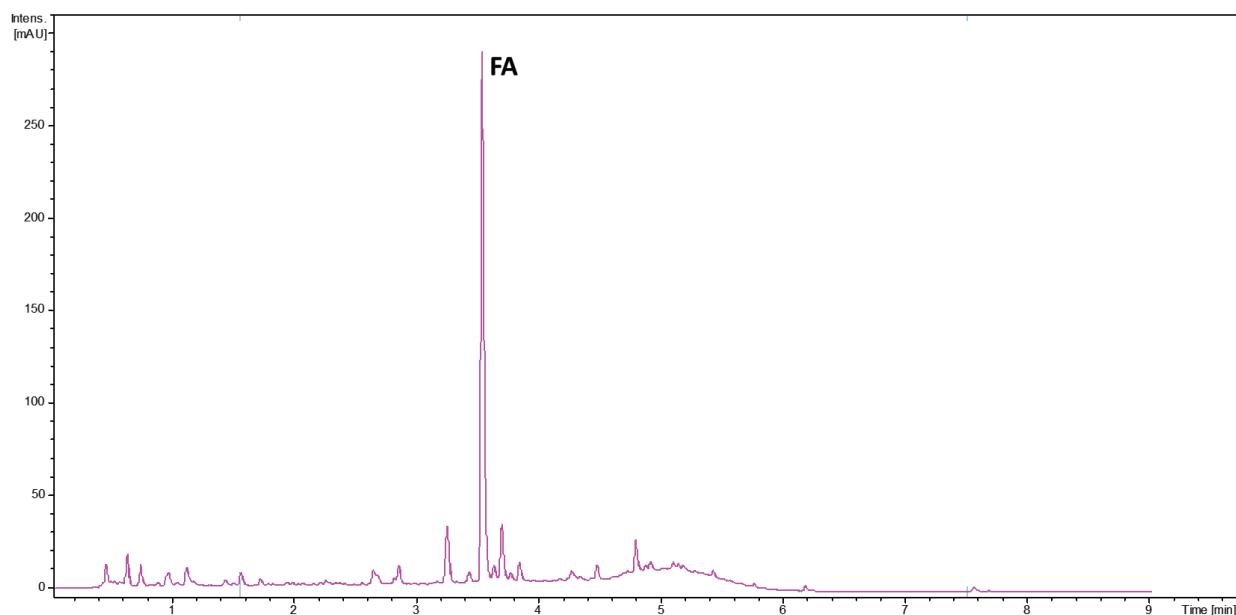


Figure 2. UV chromatogram at 280 nm after alkaline hydrolysis extraction of bran obtained from saint Priest le vernois rouge wheat variety harvested in terroir GS.

The quantification results of FA in wheat brans of the different varieties harvested in 2015 and 2017 are shown on table 2.

Table 2: FA contents in wheat bran of varieties harvested in 2015 or 2017. FA content is expressed in mg par g of dry bran.

Wheat Variety	Terroir/year	Wheat species	FA content in bran (mg/g dry matter)
Bladette de Provence	Pont de l'Arche, Pays de la Loire (FM)/2015	Bread wheat	2.18 ±0.21
Redon			1.69 ±0.09
Saint Priest le vernois rouge			1.90 ±0.17
Bladette de Provence	Chavagne, Bretagne (GS)/2015	Bread wheat	2.51 ±0.21
Chevalier			2.43 ±0.21
Pireneo			2.02 ±0.19
Redon			1.86 ±0.17
Renan			2.16 ±0.19

Saint Priest le vernois rouge			2.13 ± 0.31
Bladette de Provence	Le Rheu, Bretagne (LA)/2015	Bread wheat	2.26 ± 0.26
Chevalier			2.37 ± 0.33
Pireneo			1.81 ± 0.18
Redon			1.96 ± 0.33
Renan			2.11 ± 0.26
Saint Priest le vernois rouge			1.81 ± 0.17
Chevalier	Le puits, Pays de la Loire (LM)/2015	Bread wheat	2.04 ± 0.13
Pireneo			2.01 ± 0.10
Renan			2.04 ± 0.25
Chevalier	Mauguio/2017	Bread wheat	1.79 ± 0.18
Pireno			1.38 ± 0.09
Rouge de Bordeaux			1.36 ± 0.08
LA1823	Mauguio/2017	Durum wheat	1.98 ± 0.21
Claudio			1.58 ± 0.08
Bidi17			1.42 ± 0.2

As depicted in table 2, FA content in the bran of the wheat varieties ranged from 1.36 ± 0.08 to 2.51 ± 0.21 mg/g dm (dry matter). This is in line with other studies that have shown that FA content in wheat bran varies between 0.1 and 14.56 mg/g dm (Liyana-Pathirana & Shahidi, 2006; Zhou, Su, & Yu, 2004). In comparison, bran of Estonian varieties of spring and winter wheat extracted at room temperature, over 4h with 2M NaOH, yielded 0.26 ± 0.05 mg/g dm and 0.53 ± 0.05 mg/g dm, respectively (Vaher, Matso, Levandi, Helmja, & Kaljurand, 2010). These differences in FA yield could be attributed to the difference in varieties, in geographical localizations of crop, in culture conditions and in extraction methods.

Although bound forms of FA prevail in the cell walls, the free form could also exist. To check the presence of free FA in our wheat species and varieties, some representative samples of wheat bran of Bladette de Provence from terroir GS, Redon from terroir LA, along with LA1823 and Rouge de Bordeaux harvested in 2017 at Mauguio, were extracted in ethanol/water solvent (50:50 v/v) at 80°C , during 1h. UV quantification revealed that free FA in all these

samples was 0.01 ± 0.001 mg/g of dry matter, which represents about 0.5% of total FA (table S4, supplementary data). Assuming that the samples tested are representative of the other wheat varieties, it appears clearly that the wheat bran samples studied are very poor in free FA.

These results are in agreement with the study reported by Li et al., which stated that phenolic acids in free form does not exceed 0.5-1% in cereals (Li et al., 2008). One can infer that the occurrence of FA in wheat bran in linked form might hinder its bioavailability. However, experiments conducted on rats concluded that the bond form of FA is more absorbed in organism than the free one (Rondini et al., 2004). Indeed, the cell wall materials are difficult to digest and may survive upper gastrointestinal digestion, to finally reach the colon. Colonic digestion of such materials by microflora may release the bulk of the bound phytochemicals to exert their health benefits locally and beyond absorption (Liu, 2007). Nevertheless, bioavailability of such compounds varies greatly from bran to bran. In the case of corn bran, FA bound with arabinose and arabinoxylan showed lower bioavailability than free FA (Zhao, Egashira, & Sanada, 2005).

3.2.2. Effect of species, terroir and variety on the FA content in wheat bran

As shown in figure 3, for the wheat varieties harvested in 2017 at Mauguio, we found no significant differences in FA content between wheat species ($F_{1,4}=0.49$; $p=0.52$) and no significant differences between seed lots of the same varieties. By contrast differences appeared among varieties ($F_{4,48}=27.08$; $p=8.72 \cdot 10^{-12}$). The highest FA content was found in the durum wheat variety LA1823 (1.98 ± 0.21 mg/g) and was significantly different than the FA content in the bread wheat varieties Rouge de Bordeaux, Pireneo and the durum wheat variety Bidi17 which showed the lowest FA contents with concentrations of 1.36 ± 0.08 mg/g, 1.38 ± 0.09 and 1.42 ± 0.2 mg/g respectively (Tuckey test, supplementary data, table S8). As for bran yield, wheat varieties harvested in 2015 significantly differed in their bran FA content ($F_{5,96}=15.65$; $p=3.03 \cdot 10^{-11}$). Wheat varieties Chevalier and Bladette de Provence had a significantly higher content than Renan, Saint Priest le Vernois Rouge, Pireneo and Redon (Tuckey test, supplementary data, table S9), with FA concentration of 2.40 ± 0.27 mg/g, 2.38 ± 0.27 mg/g, 2.13 ± 0.23 mg/g, 1.97 ± 0.29 mg/g, 1.92 ± 0.21 mg/g and 1.91 ± 0.26 mg/g respectively. In addition, a terroir effect was detected ($F_{1,96}=7.96$; $P=0.0058$) with average concentration of 2.19 ± 0.31 mg/g for terroir GS and 2.05 ± 0.33 mg/g for terroir LA. There was no interaction effect between terroir and varieties ($F_{5,96}=1.8$; $p=0.12$).

On the other hand, the wheat variety Chevalier and Piréneo, harvested in Bretagne on 2015, has a higher FA content than that harvested in Mauguio on 2017 (table 2). This can be attributed to the terroir and/or the year of culture. Indeed, Mauguio region being more warm than Bretagne, it might cause a drop in polyphenols content (Heimler et al., 2010). This result suggest that contrasted terroirs may influence FA content.

The variation of FA content according to the wheat variety has been reported by several studies. In the case of wheat cultivars harvested in USA, the significant difference in FA content was attributed to levels of enzymes involved in phenolic acids metabolism in wheat plant. It was suggested that FA contents were similar during successive phases of grain development, but differences occur in the final concentration, possibly due to FA accumulation and enzyme activities in different cultivars (K. K. Adom et al., 2003; Régnier & Macheix, 1996). Other studies explained this variation by the different distribution of phenolic compounds in the bran and endosperm fractions in each variety (K. K. Adom, Sorrells, & Liu, 2005).

A number of studies have questioned the effect of modern breeding on the bioactivity and health effect of wheat grains. In other words, do landraces contain more bioactive molecules than modern varieties? Most of these studies (including ours) came to the conclusion that there is no correlation between the type of variety (ancient/modern) and its bioactivity (Bordoni et al., 2017; Shewry & Hey, 2015).

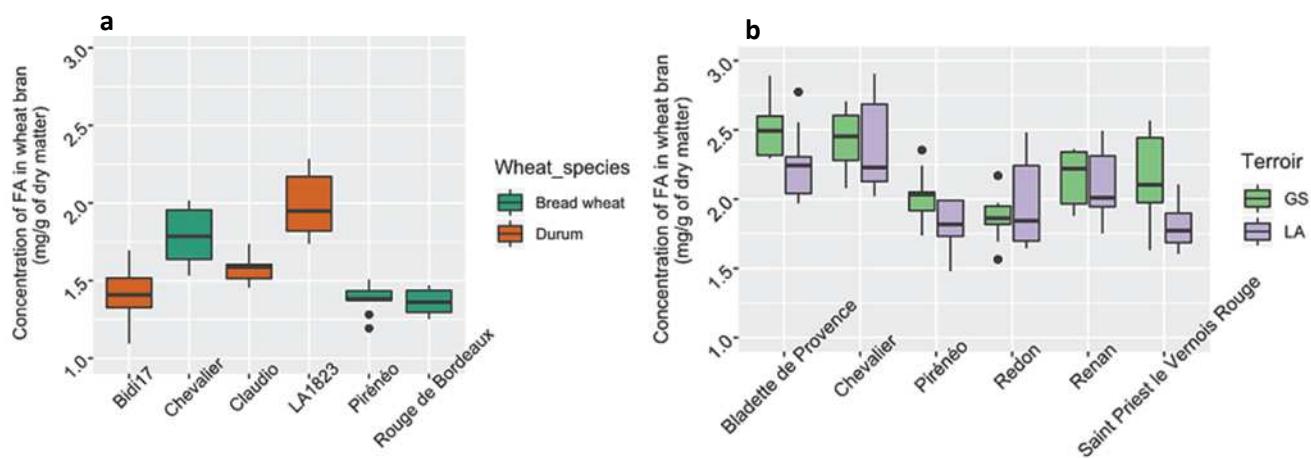


Figure 3. Total FA in the wheat bran of: **a.** The durum wheat and the bread wheat varieties harvested on 2017 in Mauguio and **b.** The bread wheat varieties, harvested on 2015 on terroirs GS and LA (Bretagne).

3.3.FA in sourdoughs, doughs and breads

Total FA content (free and bound) in the different samples of sourdough, dough and bread are depicted in table 3 and in figure 4.

Table 3: Total FA content in sourdough, dough and bread (inner and bread) samples. FA content is expressed in mg/ g of dry matter.

		Total FA (mg/g of the dry matter)			
Fermentation type	Leaven type	Sourdough	Dough	Inner bread	Outer bread
Sourdough	CRA	0.52±0.04	0.28±0.009	0.25±0.02	0.33±0.01
	EDI	0.30±0.004	0.26±0.006	0.24±0.008	0.30±0.007
	STE	0.18±0.008	0.24±0.009	0.24±0.009	0.26±0.005
Yeast	BIOREAL	/	0.26±0.005	0.25±0.002	0.30±0.02
	HIR	/	0.25±0.009	0.25±0.01	0.29±0.02
	INSTANT	/	0.26±0.02	0.22±0.01	0.27±0.01
Mix	CRA x HIR	/	0.26±0.007	0.25±0.02	0.28±0.02
	STE x HIR	/	0.24±0.01	0.22±0.004	0.28±0.01

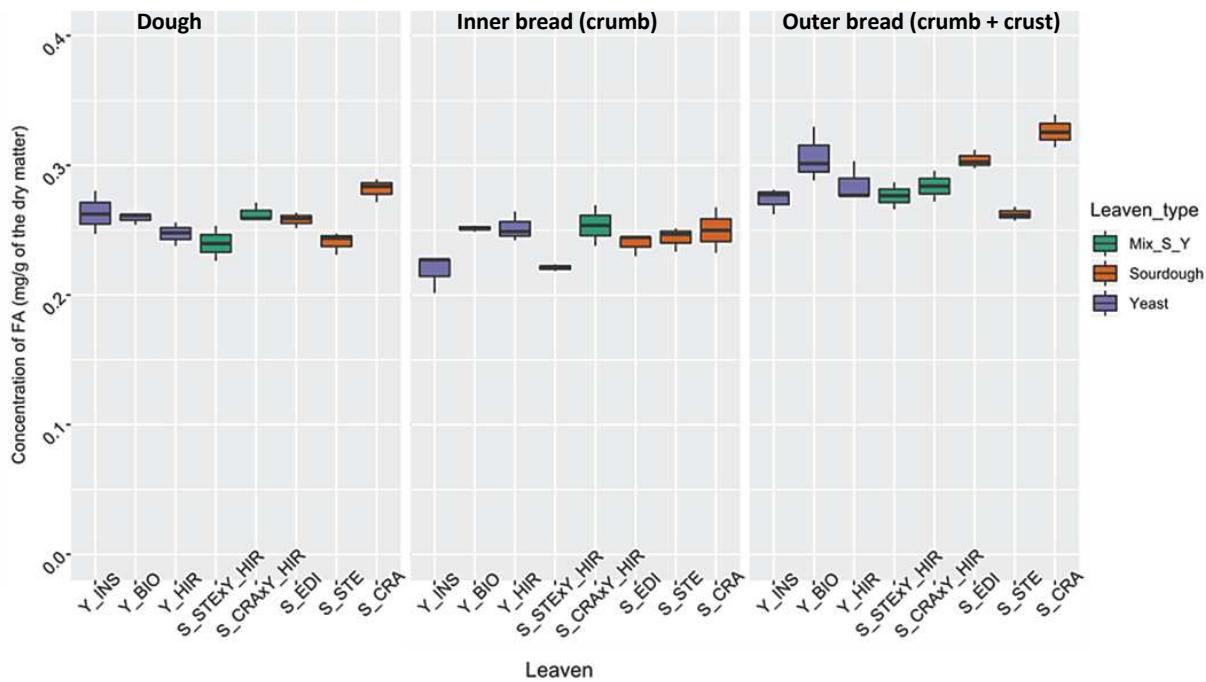


Figure 4. Total FA content in doughs, inner bread samples and outer bread samples, fermented with different leavens. Leavens Y-CRA, Y-EDI, Y-STE represent sourdoughs “CRA”, “EDI” and “STE” respectively. Leavens Y-BIO, Y-HIR, Y-INS represent commercial yeasts “Bioreal”, “Hirondelle” and “Instant” respectively. Leavens (S-CRA x Y-HIR and S-STE x Y-HIR) represent mix of sourdough “CRA” and yeast “Hirondelle”, and mix sourdough “STE” and yeast “Hirondelle” respectively.

3.3.1. FA content in sourdoughs

FA content differed significantly between sourdoughs ($F_{2,6} = 159.5$; $p = 6.29e-06$ ***). It ranged from $0.18 \pm 0.008\text{mg / g dm}$ in sourdough “STE” to $0.52 \pm 0.04\text{mg / g dm}$ in sourdough “CRA”. “EDI” sourdough was an intermediate with a total FA content of $0.3 \pm 0.004\text{mg / g dm}$. “STE” and “EDI” sourdoughs had significantly different FA content, although they were refreshed with the same flour. This result might be due to the difference in the enzymatic activity of yeast and LAB strains that are able to release bound FA or to transform free FA (Katina, Liukkonen, et al., 2007). Indeed, Ripari et al., have shown that the behavior of sourdough microorganisms towards phenolic compounds during fermentation depends on the species and strains, and on their enzymatic activities. *L. plantarum* strains are able to convert free FA but they do not release bound FA while *L. hammessii* strains released bound FA without degrading it (Ripari, Bai, & Gänzle, 2019).

3.3.2. FA content in doughs before baking

In doughs, the variation of total FA content was between $0.24 \pm 0.009 \text{ mg/g}$ and $0.28 \pm 0.009 \text{ mg/g}$. FA content of doughs did not vary according to the fermentation type ($F_{2,5} = 0.184$; $p = 0.837$) but differed according to the leaven used. Doughs fermented with sourdough “STE”, yeast “HIR”, or a mix of both (sourdough “STE” and yeast “HIR”) showed the lowest FA content (respectively 0.24 ± 0.009 , 0.24 ± 0.01 and $0.25 \pm 0.009 \text{ mg/g}$) while the dough fermented with sourdough “CRA” had the highest FA content ($0.28 \pm 0.009 \text{ mg/g}$).

The differences in acidity between dough fermented with sourdough and dough fermented with yeast alone does not appear to be responsible for the variation in the FA content. Instead, variations in FA content seem to be related to differences between microbial strains. All sourdoughs had *L. sanfranciscensis* as dominant lactic bacteria species and all commercial yeasts were composed of *Saccharomyces cerevisiae* strains. However, sourdough “CRA” used to make the dough with the highest FA content contained *K. bulderi* as dominant yeast species while sourdough “STE” and its mix with “HIR”, used to make the dough with the lowest FA content contained *S. cerevisiae* and *T. delbrueckii* as the main yeast strains. Our results suggest that *K. bulderi* may have increased enzyme activity to release bound FA and/or may have a lower AF conversion capacity than *S. cerevisiae* and *T. delbrueckii*.

3.3.3. FA content in breads

It is worth to remind that two type of samples were produced from bread. Inner samples containing only the crumb part of the bread, and outer samples composed of both crumb and crust parts of the bread.

As for doughs, the FA content of breads did not change according to the type of fermentation, i.e sourdough, commercial yeast or mix of the two ($F_{2,5}=0.117$; $p=0.892$ and $F_{2,5}=0.28$; $p=0.767$, for the inner and outer part of the bread respectively). Instead, a leaven effect was observed ($F_{5,14}=4.367$; $p=0.013$ and $F_{5,14}=8.834$; $p<0.001$) and it was more pronounced for the outer samples of bread. Similarly, to doughs, the bread with the highest FA content was made with sourdough “CRA” ($0.33 \pm 0.01 \text{ mg/g}$) and the one with the lowest FA content was made with sourdough “STE” ($0.26 \pm 0.005 \text{ mg/g}$).

Finally, baking effect on the bread FA content was tested. A baking effect was observed for both the inner and the outer bread samples ($t=-3.2646$, $p=0.01$ and $t=6.339$, $P<0.001$

respectively). Compared to the respective doughs, the FA content increased by 0.03 mg/g dm in the outer samples, while it decreased by 0.016 mg/g dm in the inner samples, indicating that the bread crust is richer on FA than the crumb. This is in agreement with Yu. L et al., results that showed that the total phenolic compounds in breads made from purple wheat wholemeal flour and fermented with commercial yeast, was higher in the crust (0.35 mg of FA equivalent / g) than in the crumb (0.29 mg of FA equivalent / g) (Yu, 2015). Several studies suggested that heat stress can contribute to degrade the cell walls linkages contributing to an increase of free phenolic acids productions (Abdel-Aal & Rabalski, 2013; Cheng et al., 2006; Gélinas & McKinnon, 2006). As the crust is subjected to higher heat, it is normal for the FA content to be higher in this part.

4. Conclusion

In an attempt to establish a relationship between wheat nutritional value and human practices from wheat to bread, we studied the effect of wheat varieties, terroir, fermentation and baking on the FA content. In line with previous studies, we detected significant differences in FA content in bran of wheat varieties, and for the first time, we highlighted the terroir effect on the FA content variation. This FA variation was also affected by the choice of the leaven. Making bread using commercial yeast or sourdough did not appear to have a significant influence. The FA content in doughs and breads was rather impacted by the microbial diversity present in the leaven. Therefore, selecting wheat varieties with good nutritional and health properties remains insufficient if the bread-making practices are not diversified. Then, exploiting the microbial diversity in sourdoughs, is a new avenue for improving bread quality.

Acknowledgments

Authors are grateful to the Algerian government for the financial support (PhD grant for Sonia Boudaoud). Authors also thank Thibault NIDELET, Dominique DESCLAUX, Kristel MOINET, Estelle SERPOLAY, Veronique CHABLE, Florent MERCIER, Gilles SIMONNEAUX, Laurent MARTEAU, Stephane MARROU, Edith BRISSIAUD for their collaboration in the realization of this work.

Author Contributions

Sonia Boudaoud conducted the experiments related to FA extraction and quantification and contributed to drafting manuscript. Lucas Suc established experimental protocols for wheat grinding and FA characterization. Diego Second contributed to the setting up of experiments for the preparation of sourdough, doughs and breads. Geneviève Conéjéro contributed to the characterization of FA in wheat bran. Delphine Sicard contributed to the collection of test data, the interpretation of results and the writing of the manuscript. Chahinez Aouf contributed to the design of the study, the interpretation of results and drafting of manuscript.

Conflicts of Interest

There are no conflicts of interest to declare.

References

- Aarabi, A., Honarvar, M., Mizani, M., Faghihian, H., & Gerami, A. (2016). Extraction and purification of ferulic acid as an antioxidant from sugar beet pulp by alkaline hydrolysis. *Italian Journal of Food Science*, 28(3), 362-375.
- Abdel-Aal, E.-S. M., & Rabalski, I. (2013). Effect of baking on free and bound phenolic acids in wholegrain bakery products. *Journal of Cereal Science*, 57(3), 312-318.
- Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6182-6187.

Adom, K. K., Sorrells, M. E., & Liu, R. H. (2003). Phytochemical profiles and antioxidant activity of wheat varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(26), 7825-7834. doi:10.1021/jf030404l

Adom, K. K., Sorrells, M. E., & Liu, R. H. (2005). Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 2297-2306. doi:10.1021/jf048456d

Angelino, D., Cossu, M., Marti, A., Zanoletti, M., Chiavaroli, L., Brighenti, F., . . . Martini, D. (2017). Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in bread: a review. *Food & function*, 8(7), 2368-2393.

Bordoni, A., Danesi, F., Di Nunzio, M., Taccari, A., & Valli, V. (2017). Ancient wheat and health: a legend or the reality? A review on KAMUT khorasan wheat. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68(3), 278-286. doi:10.1080/09637486.2016.1247434

Chandrasekara, N., & Shahidi, F. (2011). Effect of roasting on phenolic content and antioxidant activities of whole cashew nuts, kernels, and testa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 5006-5014.

Cheng, Z., Su, L., Moore, J., Zhou, K., Luther, M., Yin, J.-J., & Yu, L. (2006). Effects of postharvest treatment and heat stress on availability of wheat antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(15), 5623-5629.

Gaszttonyi, M. N., Farkas, R. T., Berki, M., Petróczi, I. M., & Daood, H. G. (2011). Content of phenols in wheat as affected by varietal and agricultural factors. *Journal of food composition and analysis*, 24(6), 785-789.

Gélinas, P., & McKinnon, C. M. (2006). Effect of wheat variety, farming site, and bread-baking on total phenolics. *International journal of food science & technology*, 41(3), 329-332.

Hansen, H. B., Andreasen, M., Nielsen, M., Larsen, L., Knudsen, B. K., Meyer, A., & Christensen, L. (2002). Changes in dietary fibre, phenolic acids and activity of endogenous enzymes during rye bread-making. *European Food Research and Technology*, 214(1), 33-42.

Heimler, D., Vignolini, P., Isolani, L., Arfaiali, P., Ghiselli, L., & Romani, A. (2010). Polyphenol content of modern and old varieties of *Triticum aestivum* L. and *T. durum* Desf. grains in two years of production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(12), 7329-7334.

Hemery, Y., Holopainen, U., Lampi, A. M., Lehtinen, P., Nurmi, T., Piironen, V., . . . Rouau, X. (2011). Potential of dry fractionation of wheat bran for the development of food ingredients, part II: Electrostatic separation of particles. *Journal of Cereal Science*, 53(1), 9-18. doi:10.1016/j.jcs.2010.06.014

Hemery, Y., Rouau, X., Lullien-Pellerin, V., Barron, C., & Abecassis, J. (2007). Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 327-347.

Javed, M. M., Zahoor, S., Shafaat, S., Mehmooda, I., Gul, A., Rasheed, H., . . . Haq, I. (2012). Wheat bran as a brown gold: Nutritious value and its biotechnological applications. *African Journal of Microbiology Research*, 6(4), 724-733.

Jones, J. (2006). Grain-based foods and health. *Cereal Foods World*, 51(3), 108-113.

Karamac, M., Kosińska, A., & Pegg, R. B. (2005). Comparison of radical-scavenging activities for selected phenolic acids. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 14(2), 165-170.

Katina, K., Laitila, A., Juvonen, R., Liukkonen, K.-H., Kariluoto, S., Piironen, V., . . . Poutanen, K. (2007). Bran fermentation as a means to enhance technological properties and bioactivity of rye. *Food microbiology*, 24(2), 175-186.

Katina, K., Liukkonen, K.-H., Kaukovirta-Norja, A., Adlercreutz, H., Heinonen, S.-M., Lampi, A.-M., . . . Poutanen, K. (2007). Fermentation-induced changes in the nutritional value of native or germinated rye. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 348-355.

Konopka, I., Tańska, M., Faron, A., & Czaplicki, S. (2014). Release of free ferulic acid and changes in antioxidant properties during the wheat and rye bread making process. *Food Science and Biotechnology*, 23(3), 831-840.

Li, L., Shewry, P. R., & Ward, J. L. (2008). Phenolic acids in wheat varieties in the HEALTHGRAIN diversity screen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 9732-9739.

Liu, R. H. (2007). Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 207-219. doi:10.1016/j.jcs.2007.06.010

Liyana-Pathirana, C. M., & Shahidi, F. (2006). Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(4), 1256-1264.

Mabille, F., Gril, J., & Abecassis, J. (2001). Mechanical properties of wheat seed coats. *Cereal Chemistry*, 78(3), 231-235. doi:10.1094/cchem.2001.78.3.231

Naczk, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523-1542. doi:10.1016/j.jpba.2006.04.002

Nishizawa, C., Ohta, T., Egashira, Y., & Sanada, H. (1998). Ferulic acid contents in typical cereals. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 45(8), 499-503.

Onipe, O. O., Jideani, A. I. O., & Beswa, D. (2015). Composition and functionality of wheat bran and its application in some cereal food products. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(12), 2509-2518. doi:10.1111/ijfs.12935

Park, C. H., Yeo, H. J., Baskar, T. B., Park, Y. E., Park, J. S., Lee, S. Y., & Park, S. U. (2019). In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Properties of Flower, Leaf, and Stem Extracts of Korean Mint. *Antioxidants*, 8(3), 75.

Peyron, S., Chaurand, M., Rouau, X., & Abecassis, J. (2002). Relationship between bran mechanical properties and milling behaviour of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). Influence of tissue thickness and cell wall structure. *Journal of Cereal Science*, 36(3), 377-386. doi:10.1006/jcrs.2002.0473

Pomeranz, Y. (1988). Chemical composition of kernal structures. *Wheat: Chemistry and Technology*, 1, 348.

Pu, Z., Liu, Q., Li, Z., Chen, S., Liu, Y., Qi, P., . . . Zheng, Y. (2019). Planting Locations with Higher Temperature Produce More Bioactive Compounds and Antioxidant Capacities of Wheat. *Agronomy*, 9(9), 538.

Régnier, T., & Macheix, J.-J. (1996). Changes in wall-bound phenolic acids, phenylalanine and tyrosine ammonia-lyases, and peroxidases in developing durum wheat grains (*Triticum turgidum* L. Var. Durum). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), 1727-1730.

Ripari, V., Bai, Y., & Gänzle, M. G. (2019). Metabolism of phenolic acids in whole wheat and rye malt sourdoughs. *Food microbiology*, 77, 43-51.

Rondini, L., Peyrat-Maillard, M. N., Marsset-Baglieri, A., Fromentin, G., Durand, P., Tome, D., . . . Berset, C. (2004). Bound ferulic acid from bran is more bioavailable than the free

compound in rat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(13), 4338-4343.
doi:10.1021/jf0348323

Shamloo, M. (2017). Effects of genotype and environment variation on wheat secondary metabolites and human health properties.

Shewry, P. R., & Hey, S. (2015). Do “ancient” wheat species differ from modern bread wheat in their contents of bioactive components? *Journal of Cereal Science*, 65, 236-243.

Torok, K., Szentmiklossy, M., Tremmel-Bede, K., Rakszegi, M., & Tomoskozi, S. (2019). Possibilities and barriers in fibre-targeted breeding: Characterisation of arabinoxylans in wheat varieties and their breeding lines. *Journal of Cereal Science*, 86, 117-123.
doi:10.1016/j.jcs.2019.01.012

Tremmel-Bede, K., Lang, L., Torok, K., Tomoskozi, S., Vida, G., Shewry, P. R., . . . Rakszegi, M. (2017). Development and characterization of wheat lines with increased levels of arabinoxylan. *Euphytica*, 213(12). doi:10.1007/s10681-017-2066-2

Vaher, M., Matso, K., Levandi, T., Helmja, K., & Kaljurand, M. (2010). Phenolic compounds and the antioxidant activity of the bran, flour and whole grain of different wheat varieties. In M. Kaljurand (Ed.), *5th Symposium by Nordic Separation Science Society* (Vol. 2, pp. 76-82).

Xu, B., Mense, A., Ambrose, K., Graybosch, R., & Shi, Y. C. (2018). Milling performance of waxy wheat and wild-type wheat using two laboratory milling methods. *Cereal Chemistry*, 95(5), 708-719. doi:10.1002/cche.10086

Yu, L. (2015). Identification and antioxidant properties of phenolic compounds during production of bread from purple wheat grains. *Molecules*, 20(9), 15525-15549.

Zhang, L., Gao, W., Chen, X., & Wang, H. (2014). The effect of bioprocessing on the phenolic acid composition and antioxidant activity of wheat bran. *Cereal chemistry*, 91(3), 255-261.

Zhao, Z., Egashira, Y., & Sanada, H. (2005). Phenolic antioxidants richly contained in corn bran are slightly bioavailable in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12), 5030-5035.

Zhou, K., Su, L., & Yu, L. (2004). Phytochemicals and antioxidant properties in wheat bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(20), 6108-6114.

Partie 2. Localisation et distribution de l'acide férulique dans le son de blé à l'aide de la microscopie à fluorescence

Lorsqu'un tissu végétal est excité par un rayonnement UV-visible de longueurs d'ondes appropriées, certaines molécules émettent une florescence caractéristique. Cette dernière est appelée auto-fluorescence et est intrinsèque à ces molécules (Talamond et al., 2015).

La localisation et la distribution de l'AF dans les grains et les sons de blé dur des variétés LA1823 et Bidi17, et de blé tendre des variétés Chevalier et Rouge de Bordeaux, de Mauguio, ont été établies par microscopie à fluorescence et sont représentées dans la Figure 27.

La Figure 28 regroupe les spectres de fluorescence des différents composés présents dans les tissus des grains de Chevalier et du Rouge de Bordeaux. Les spectres d'auto-fluorescence détectés dans le canal de couleur rouge avec une longueur d'onde maximale de 468 nm correspondent à l'auto-fluorescence de l'AF pur (déterminée à partir de la molécule commerciale).

Nos observations confirment que l'AF est principalement localisé dans la couche aleurone du son (Piot et al., 2000, Barron et al., 2007, Brouns et al., 2012). En comparant les images correspondantes aux coupes transversales des espèces de blé dur et tendre, nous ne remarquons aucune différence dans la distribution ou l'intensité de l'AF dans les tissus du son (Figure 27. c1 et a1). De plus, nous constatons que la mouture réalisée afin de séparer le son de l'endosperme n'a pas altéré la couche aleurone qui est restée assez uniforme (Figure 27. a1 et a2).

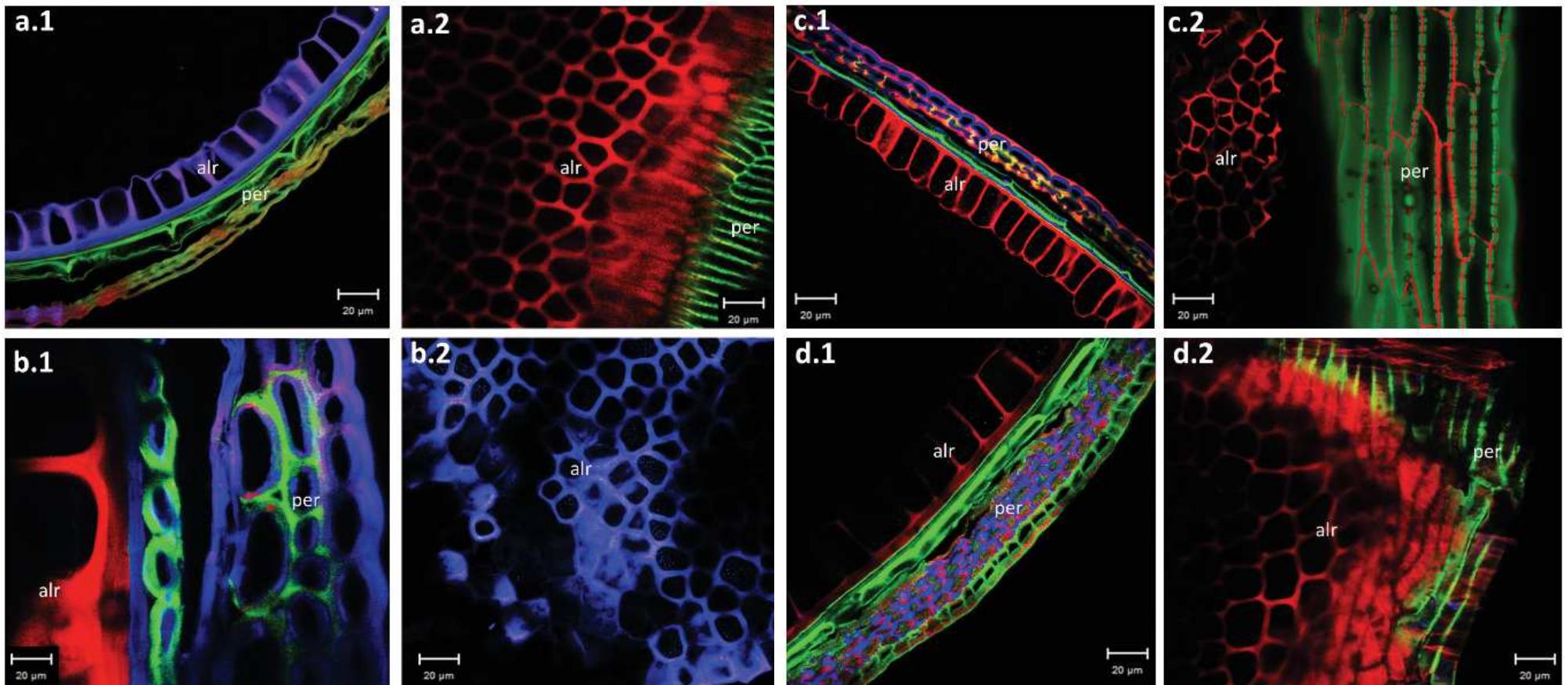


Figure 27. Images spectrales des coupes transversales des grains de blé et de leurs scons après broyage. Variétés de blé tendre Chevalier : grain : a.1 ; son : a.2, et Rouge de Bordeaux : grain : b.1 ; son : b.2. Variétés de blé dur LA1823 : grain : c.1; son : c.2, et Bidi17 : grain : d.1 ; son : d.2, observés au microscope multi-photonique à 720 nm. Les images montrent les principaux tissus : per : péricarpe, alr : couche d'aleurone. Les trois couleurs correspondent à trois composés fluorescents. La couleur rouge correspond à l'AF. Les autres sont inconnues.

Il est établi que l'intensité du pic d'émission des substances fluorescentes est proportionnelle à la concentration de cette substance dans le tissu examiné (Ndolo et al., 2013). Nous pouvons observer dans la Figure 28 que le pic d'émission de l'AF (rouge) présent dans le son de la variété Chevalier est trois fois plus intense que celui détecté dans la variété Rouge de Bordeaux. Ceci indique que Chevalier a une teneur plus élevée en AF, ce qui est en accord avec les résultats obtenus en UPLC.

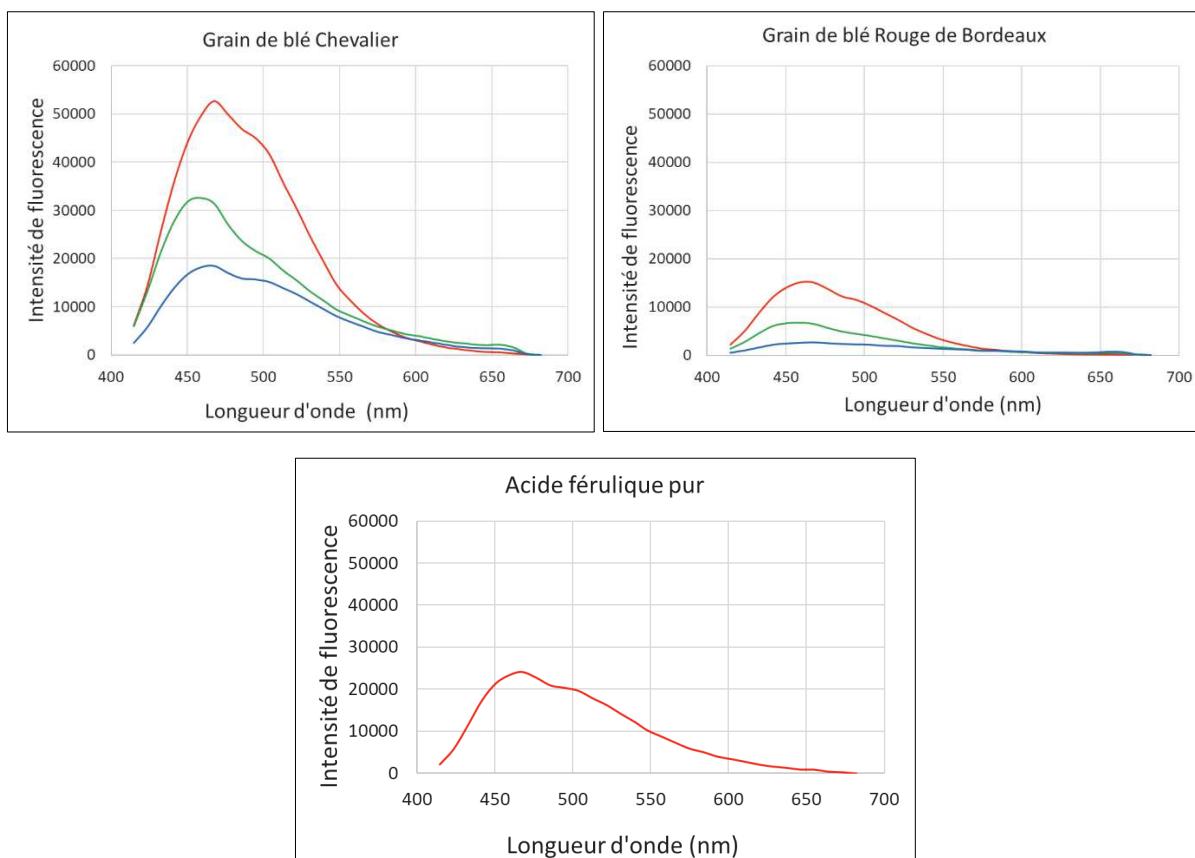


Figure 28. Spectres des intensités maximales de fluorescence des différents composés détectés dans les différents tissus des coupes transversales des grains de blé Chevalier et Rouge de Bordeaux, ainsi que l'AF pur.

Cette analyse en microscopie à fluorescence a donc confirmé les données de la littérature et nous a conforté dans la pertinence de nos méthodes d'extraction et d'analyse de l'AF que nous avons employées.

Chapitre IV. Métabolisme de l'acide férulique au cours de la fermentation par des bactéries lactiques et des levures

Présentation du chapitre IV

L'acide férulique (AF) est l'acide phénolique le plus abondant dans le son de blé. Après mouture, il peut se retrouver dans les farines complètes et semi-complètes, conférant à celles-ci des propriétés nutritives et aromatiques.

Dans ce chapitre, nous avons étudié la transformation de l'AF par des microorganismes appartenant à la communauté microbienne du levain. Pour cela, nous avons sélectionné des souches de levures et de LAB les plus fréquemment trouvées dans les levains français, et nous avons procédé à des fermentations en milieu levain synthétique. A travers cette étude, nous avons comparé le métabolisme de l'AF par ces microorganismes lorsqu'ils sont seuls (monocultures) et lorsqu'ils sont associés (co-cultures de levures et LAB). Nous avons étudié leur capacité à assimiler l'AF et à le transformer en d'autres métabolites qui sont l'acide dihydroférulique (DHFA) et le 4-vinylguaiacol (4VG).

Nous avons également examiné l'effet de l'AF sur la croissance microbienne en mono- et co-culture, ainsi que sur les paramètres de fermentation, notamment le CO₂ généré, la vitesse de production du CO₂ et le temps de latence. Ce travail a fait l'objet d'un article soumis à Food Microbiology.

Sourdough yeast-bacteria interactions can change ferulic acid metabolism during fermentation

Sonia Boudaoud¹, Chahinez Aouf², Hugo Devillers¹, Delphine Sicard¹ and Diego Segond^{1*}

¹UMR 1083 SPO, Univ Montpellier, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France.

²UMR 1208 IATE, Univ Montpellier, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France.

* Corresponding author: Diego Segond

Email: diego.segond@inrae.fr

Keywords: ferulic acid; co-fermentation; sourdough; lactic acid bacteria; yeast; microorganism interactions

Abstract

The metabolism of ferulic acid (FA) was studied during fermentation with different species and strains of lactic acid bacteria (LAB) and yeasts, in synthetic sourdough medium. Yeast strains of *Kazachstania humilis*, *Kazachstania bulderi*, and *Saccharomyces cerevisiae*, as well as lactic acid bacteria strains of *Fructilactobacillus sanfranciscensis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactiplantibacillus xiangfangensis*, *Levilactobacillus hammesii*, *Latilactobacillus curvatus* and *Latilactobacillus sakei* were selected from French natural sourdoughs. Fermentation in presence or absence of FA was carried out in LAB and yeasts monocultures, as well as in LAB/yeast co-cultures. Our results indicated that FA was mainly metabolized into 4-vinylguaiacol (4-VG) by *S. cerevisiae* strains, and into dihydroferulic acid (DHFA) and 4-VG in the case of LAB. Interactions of LAB and yeasts led to the modification of FA metabolism, with a major formation of DHFA, even by the strains that do not produce it in monoculture. Interestingly, FA was almost completely consumed by the *F. sanfranciscensis* bFs17 and *K. humilis* yKh17 pair and converted into DHFA in $89.5 \pm 19.6\%$ yield, while neither bFs17, nor yKh17 strains assimilated FA in monoculture.

1. Introduction

Bread is one of the most widely cereal products consumed worldwide. Unlike unleavened or yeast bread, sourdough bread has an important role in the diet thanks to its appreciated sensory and nutritional qualities (Cappelle et al., 2013, Gobbetti et al., 2014, Gänzle and Ripari, 2016, Pétel et al., 2017, Gobbetti et al., 2019). The preparation of this bread requires a "sourdough" which consists of a mixture of flour and water, naturally fermented by lactic acid bacteria (LAB) and yeasts (De Vuyst et al., 2017, Carbonetto et al., 2018, Gobbetti et al., 2019). Over the world, a wide diversity of microbial species has been identified in sourdoughs, with more than 60 species of LAB and 30 species of yeast (De Vuyst et al., 2014, Carbonetto et al., 2018). Usually only one or two abundant species of each microbial type (LAB and yeast) is detected per sourdough. Most of the sourdough's bacteria belong to genera *Fructilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Levilactobacillus*, *Latilactobacillus* with an abundance of species *Fructilactobacillus sanfranciscensis* (heterofermentative), but *Levilactobacillus brevis*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Levilactobacillus hammesii* (heterofermentative), *Latilactobacillus sakei*, *Companilactobacillus kimchi*, *Latilactobacillus curvatus*, *Lactiplantibacillus plantarum* (homofermentative), can also be found (Gobbetti, 1998, De Vuyst et al., 2014, Zheng et al., 2020). Yeast species described in sourdoughs belong to genera *Saccharomyces*, *Kazachstania*, *Wickerhamomyces*, *Torulaspora*, and *Pichia* (Lhomme et al., 2015, Lhomme et al., 2016, Michel et al., 2016, Van Kerrebroeck et al., 2017). The most abundant species are *Saccharomyces cerevisiae*, *Kazachstania humilis*, *Kazachstania exigua*, *Pichia kudriavzevii*, *Wickerhamomyces anomalus*, and *Torulaspora delbrueckii* (Carbonetto et al., 2018).

Sourdough yeasts ferment flour carbohydrates to mainly produce ethanol and CO₂, which allows the raising of dough. They also generate other metabolites which bring new flavors to the bread, such as organic acids and aroma (Hazelwood et al., 2008, Pico et al., 2015, Pétel et al., 2017). LAB present in sourdough are either homofermentative or heterofermentative. The former metabolize hexoses into lactic acid only; while the latter convert hexoses into lactic acid, acetic acid, ethanol and CO₂ (Gänzle, 2015). The production of acids is generally responsible of the sour taste of breads; it also contributes to increase their shelf-life. Associated to yeasts, LAB could modify their metabolic pathway and vice versa. In co-culture of *K. humilis* and heterofermentative LAB, the amount of the consumed maltose is higher than in LAB monocultures, while *K. humilis* is maltose-negative and maltose

consumption by heterofermentative LAB is very low (Carbonetto et al., 2020). The production of organic acids may also be altered by the yeast/LAB interactions (Collar, 1996, Gobbetti, 1998). The volatile profile of breads turned out to be richer when fermentation occurs with a mixture of yeast and LAB (Xu et al., 2019b). Indeed, a higher content of 2,3-methyl-1-butanol, 2-methyl-propanoic acid, 3-methyl-butanoic acid and 2-phenylethanol are obtained in co-cultures of *F. sanfranciscensis* or *L. plantarum* with *S. cerevisiae* (Gobbetti et al., 1995, Damiani et al., 1996, Gobbetti, 1998).

Beside carbohydrates, other metabolites present in wheat, may potentially contribute to enhance health benefits and organoleptic properties of sourdough breads. Phenolic acids known to be precursors of antioxidant and aromatic compounds, are divided into two subgroups, hydroxybenzoic acids (gallic acid, vanillic acid, syringic acid, etc.) and hydroxycinnamic acids (*p*-coumaric acid, caffeic acid, ferulic acid, etc.) (Li et al., 2008). Ferulic acid (FA) is the major hydroxycinnamic acid present in wheat, accounting for almost 90% of total phenolic compounds (Boz, 2015) and it is mainly located in bran. It varies between 1.36 mg/g and 2.8 mg/g in wheat bran depending on the wheat variety, the terroir, the growing conditions and the extraction methods (Verma et al., 2009, Boudaoud et al., 2020, Ferri et al., 2020, Sharma et al., 2020). FA is widely known for its antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties (Mancuso and Santangelo, 2014, Dędek et al., 2019). Through fermentation, FA is transformed into different derivatives of nutritional and organoleptic interest such as 4-vinylguaiacol or dihydroferulic acid (Figure 1) (Coghe et al., 2004; De Las Rivas et al., 2009; Filannino et al., 2014; Adeboye et al., 2015).

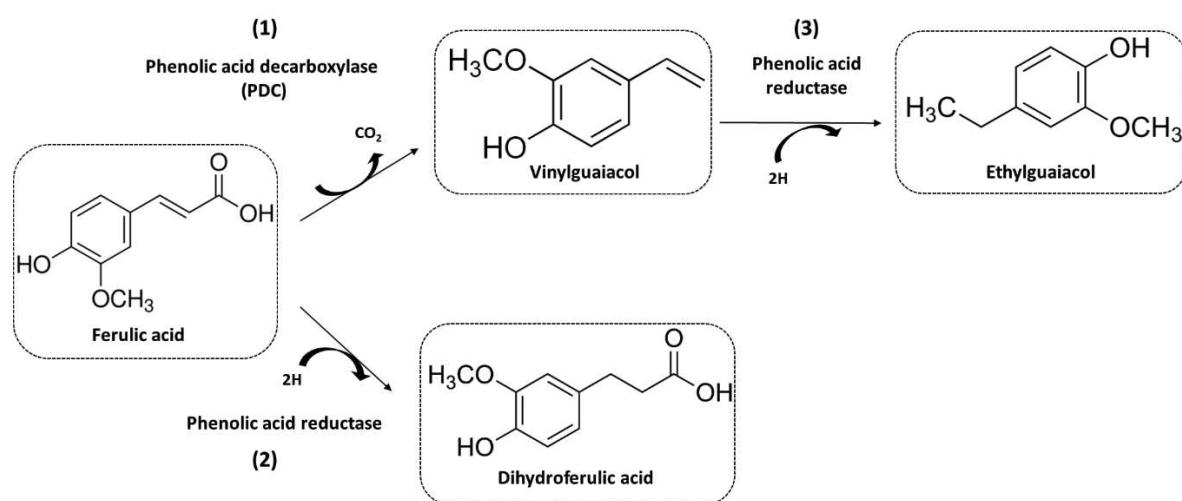


Figure 1. Schematic representation of the general metabolic pathways of FA by LAB. Modified from (Filannino et al., 2014).

The potential of metabolizing FA by sourdough microorganisms has been particularly investigated (separately) for *L. plantarum* and *S. cerevisiae*, with mainly two metabolic pathways. The first involves the decarboxylase activity, responsible of transforming FA into 4-VG. This activity is encoded by genes *pdc1* and *pdc2*, with a lower activity for *pdc2* in *L. plantarum* (Barthelmebs et al., 2000) and by genes *PAD1* and *FDC1* in *S. cerevisiae* (Mukai et al., 2010). The second pathway is the reduction of FA into DHFA through the action of phenolic acid reductase. The reductase activity is linked to the expression of genes *hcrAB*, and particularly to *hcrB* gene in *L. plantarum* (Santamaría et al., 2018). Homologs of *HcrB* have been recently identified in other LAB species (Gaur et al., 2020). To our knowledge this activity has not been documented in *S. cerevisiae*. In bacteria, the ratio between decarboxylase and reductase activities depends on both environmental conditions and strains. In a medium with 20% ammonium sulfate or 20% sodium chloride, the decarboxylase activity is weak. Reductase activity is rather induced in a medium rich in glucose (20 mM) (Barthelmebs et al., 2000). In *L. plantarum* strains that combine reductase and decarboxylase activities, DHFA is produced in a higher amount than 4-VG (Ripari et al., 2019). The only study dealing with the association of sourdough yeast and bacteria on the metabolism of FA was conducted by Koistinen et al., (2018). In this work, two synthetic sourdoughs made from wheat and rye whole meal flours were inoculated with *L. brevis* and *L. plantarum* bacteria combined with *K. humilis* yeast. After fermentation, they identified 118 compounds with increased levels in the sourdoughs, including microbial metabolites of phenolic acids (dihydroferulic acid, dihydrocaffeic acid and dihydrosinapic acid) (Koistinen et al., 2018). However, this was done for a single synthetic starter and the diversity of LAB/yeasts interactions in metabolizing FA, expressed by the differences in the behavior of microorganisms in mono- and co-cultures has never been studied.

In order to shed light on yeast-bacteria interactions effect, this study investigate the metabolism of FA in a synthetic sourdough medium, in the presence of LAB, yeasts, as well as LAB-yeast associations. Strains were isolated from natural sourdoughs and selected among the commonly found sourdough microbial species. LAB strains belong to a wide diversity of species found in sourdoughs (Michel et al., 2016). Yeast strains include *S. cerevisiae* but also *K. bulderi* and *K. humilis* strains. *K. bulderi* has been frequently found in French farmer-baker sourdoughs (Urien et al., 2019, Michel et al., 2019), while *K. humilis* has been detected in worldwide artisanal sourdoughs (Carbonetto et al., 2018).

2. Materials and methods

2.1. Chemicals

Wheat Peptone, potassium dihydrogenphosphate (KH_2PO_4), Dipotassium hydrogen orthophosphate (K_2HPO_4), Manganese (II) sulfate tetrahydrate ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), TWEEN® 80 solution, Glucose, Maltose, Sodium chloride (NaCl), Potassium chloride (KCl), Disodium phosphate (Na_2HPO_4), *trans*-ferulic acid and dihydroferulic acid were purchased from Sigma-Aldrich. 4-vinylguaiacol was synthesized according to (Zago et al., 2016). Ammonium chloride (ClH_4N) and Magnesium sulfate heptahydrate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) were purchased from Fluka™. Tryptone was obtained from Becton Dickinson and Company. Meat extract and yeast extract were supplied by BIOKAR Diagnostics. Sodium acetate ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$), Methanol (CH_3OH), Ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), Acetonitrile (CH_3CN), Formic acid (HCOOH), were purchased from VWR chemicals.

2.2. Strains, synthetic sourdough medium, and growth conditions

2.2.1. Microbial strains

LAB strains were propagated anaerobically at 24°C in MRS-5 medium plates (De Man, Rogosa and Sharp medium, prepared according to (Meroth et al., 2003), for 48 h. Yeast strains were propagated at 28°C in YEPD medium plates (Yeast Peptone Dextrose medium, prepared according to (Xu et al., 2019a), for 24 h. LAB and yeast strains data are described in Table 1. These strains were used in both mono- and co-cultures.

Table 1. Genera, species and strains of lactic acid bacteria (LAB) and yeasts.

Genus	Species	Strain's Code	Reference
Lactic acid bacteria (LAB)			
<i>Fructilactobacillus</i>	<i>sanfranciscensis</i>	bFs17	Michel et al., 2016
		bFs15	Michel et al., 2016
		bFs9	Michel et al., 2016

		bFs12	Michel <i>et al.</i> , 2016
<i>Lactiplantibacillus</i>	<i>plantarum</i>	bLp6	Michel <i>et al.</i> , 2016
		bLp16	Michel <i>et al.</i> , 2016
		bLp20	Michel <i>et al.</i> , 2016
	<i>xiangfangensis</i>	bLx29	Michel <i>et al.</i> , 2016
<i>Levilactobacillus</i>	<i>hammessii</i>	bLh5	Lhomme <i>et al.</i> , 2015
<i>Latilactobacillus</i>	<i>curvatus</i>	bLc16	Michel <i>et al.</i> , 2016
	<i>sakei</i>	bLsk4	Lhomme <i>et al.</i> , 2015
Yeast			
<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae</i>	ySc10	Lhomme <i>et al.</i> , 2015
		ySc16	Michel <i>et al.</i> , 2019
		ySc29	Michel <i>et al.</i> , 2019
		ySc9	Urien <i>et al.</i> , 2019
		ySc32	Michel <i>et al.</i> , 2019
<i>Kazachstania</i>	<i>bulderi</i>	yKb12	Urien <i>et al.</i> , 2019
		yKb15	Urien <i>et al.</i> , 2019
		yKb20	Michel <i>et al.</i> , 2019
		yKb4	Urien <i>et al.</i> , 2019
	<i>humilis</i>	yKh17	Michel <i>et al.</i> , 2019
		yKh5	Urien <i>et al.</i> , 2019
		yKh6	Urien <i>et al.</i> , 2019

2.2.2. Synthetic sourdough medium (SSM)

SSM preparation was adapted from Vrancken *et al.* (2008). It contains per L: wheat peptone, 24 g; MgSO₄.7H₂O, 0.2 g; MnSO₄.H₂O, 0.05 g; KH₂PO₄, 4 g; K₂HPO₄, 4 g; Tween 80, 1 mL. milliQ water (0.899 L) was added to the mixture and pH was adjusted to 4.5 with

citric acid at 3 M. The solution was autoclaved (pressure = 0.5 bar; temperature= 120°C) using autoclave (LEQUEUX-1983). The sterilized SSM was then completed with 100 mL of sugars mixture solution (glucose 150 g/L, maltose 350 g/L, filtrated over 0.22 µm filter to remove microorganisms) to reach a final concentration of 15 g/L of glucose and 35 g/L of maltose. Then, 1mL of filtrated (over 0.22 µm filter) vitamin solution containing 200 mg/L of each of the following vitamins (cobalamin, nicotinic acid, folic acid, pantothenic acid, pyridoxal-phosphate, thiamine) was added to complete 1 L of SSM. This synthetic sourdough medium was used as control. SSM-FA containing FA was prepared as follows: *trans*-FA was added to SSM at a concentration of 25 mg/L. The solution was stirred for 1 hour to completely dissolve FA and then sterilized by steam pasteurization for 15 min. After pasteurization, the FA concentration remained unchanged.

2.2.3. Preparation of microorganism cultures

Pre-cultures were prepared as follows: a colony of each strain was grown in 20 mL of MRS-5 medium for LAB, and in 6 mL of YEPD medium for yeasts. All strains were incubated overnight at 28°C with stirring. These pre-cultures were centrifuged (4500 rpm for 5 min at 20°C) and cells were suspended in 1 mL of SSM. Cells concentration was determined by means of C6 flow cytometer (AccuriTM, BD Biosciences). In monoculture system, 15 mL of SSM or SSM-FA with either 10⁶ cells/mL of yeasts or 10⁸ cells/mL of LAB were placed in 20 mL glass tubes, equipped with filter tip to allow CO₂ release. Co-cultures were prepared by mixing 10⁶ cells/mL of yeast strain with 10⁸ cells/mL LAB strain in 15 mL of SSM or SSM-FA.

2.3. Automated fermentation

Fermentations were carried out over 37h, with a constant stirring (300 rpm) at 24°C, using an automated robotic system (PlateButler® Robotic System by Lab services) (Bloem et al., 2018). This system allowed online monitoring of the fermentation by measuring the weight loss of each sample every 50 min, which is correlated to CO₂ release. The online data are automatically inserted into the ALFIS (Alcoholic Fermentation Information System) software.

Based on polynomial smoothing, four fermentation parameters were estimated from the CO₂ accumulation curve over time (Sablayrolles et al., 1987): the maximum CO₂ release (g/L), the fermentation latency-phase time (h) which is the time between inoculation and the beginning of the fermentation calculated as 1 g of CO₂ release, the maximum CO₂ production rate Vmax (g/L/h) and the time to reach the maximum CO₂ production rate tVmax (h). FA assimilation capacity was first tested in LAB and yeast monocultures. Then, three independent experimentations were carried out for each co-culture, while repeating monocultures as controls.

2.4. Cell count and viability

After 37h, 200 µL of each sample were centrifuged (10000 rpm for 5 min at 20°C) and microbial cells were diluted in PBS (Phosphate-Buffered Saline, containing: NaCl; 137 mM, KCl; 2.7 mM; Na₂HPO₄, 10 mM; KH₂PO₄; 2 mM, at pH = 7.4, filtered through 0.2 µm filter) for flow cytometry analysis (C6 flow cytometer, Accuri, BD Biosciences). Population size and cell viability were determined as described in (Delobel et al., 2012).

2.5. Characterization of FA metabolism after fermentation

Characterization and quantification of FA consumed after fermentation, as well as its corresponding metabolites were performed using ultra pressure liquid chromatography (UPLC). The fermentation tubes were centrifuged (4500rpm for 10 min at 4°C) and 300µL of supernatant were then filtered through 0.2 µm filter to remove all the residues from the solution. Supernatants were injected on an Acquity UPLC (Waters, Milford, MA) equipped with a photodiode array detector (DAD). The Waters C18 column was 100mm x 2.1mm, HSS T3, with particles size of 1.8µm. solvents used were A (99.9% H₂O and 0.1%HCOOH v/v) and B (100% CH₃CN) and the flow rate was 0,55mL/min. The gradient conditions were as follows: from 0 to 4 min, 99% to 70% A; from 4 min to 7 min, 70% to 20% A; from 7 min to 8 min, 20% A; from 8 min to 9 min, 20% to 99% A. The injection volume was 2 µL and DAD was set at 280nm (λ_{max} of phenolic compounds) (adapted from Rouméas et al., 2018). FA and its identified metabolites, namely 4-vinylguaiacol (4-VG) and dihydroferulic acid (DHFA) were

quantified after calibration with standard compounds dissolved in SSM for FA and in methanol for 4-VG and DHFA. The material balance of FA conversion reaction was determined according to (Filannino et al., 2014).

2.6. In silico analysis of putative ferulic acid reductase and decarboxylase in *F. sanfranciscensis*

According to the work of (Gaur et al., 2020), three different genes from *Lactobacillaceae* species were considered as reference ferulic acid reductase, namely *hcrB* (*L. plantarum*, UniProt: F9UNH3, 812 aa), *hcrF* (*L. fermentum*, UniProt: A0A158SNB3, 617 aa), and *par1* (*F. rossiae*, UniProt: A0A0R1RH44, 614 aa). For ferulic acid decarboxylase activity, *pdc1* (*L. plantarum*, UniProt: P94900, 174 aa) was used as reference gene (Barthelmebs et al., 2000). In order to identify putative ferulic acid reductase and decarboxylase genes in *F. sanfranciscensis*, an in-silico analysis was performed on all sequenced strains of this species available on public databases. The complete genome sequences and gene annotations of 30 different strains were retrieved at the NCBI (see Table S22 for the strain names and the corresponding accession numbers). In a first step, BLAST searches (version 2.10.0+) of four genes cited above on the 30 strains of *F. sanfranciscensis* at both the protein level (BLASTp) and the whole chromosome level (tBLASTn) were performed. Then, putative protein domain signatures for all the proteins of the 30 strains (39264 proteins) were predicted with InterProScan (version 5.47-82.0) and compared with the protein domain signatures from the four reference genes.

2.7. Statistical analysis

All experiments were carried out in three replicates. All statistical tests were performed using R software, version 4.0.3. To test the effect of FA on bacteria and yeast growth, the population size per mL was analyzed after 37h fermentation in a synthetic sourdough. The population size was expressed in Log 10 to meet the condition of application of statistical linear models. Also, the effect of FA on the four fermentation parameters was tested. First, we analyzed the variation of each quantitative variable (Population size, Vmax, tVmax, CO₂max

and Latency) in LAB and yeast monocultures in the same way. For bacteria, we used a linear mixed model with presence of FA in the medium, LAB strains and their interaction as fixed effect and experimental block as random effect. When there was no bloc effect, we delete the random block effect from the model:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + D_k + \varepsilon_{ijkl},$$

where Y_{ijk} is the quantitative variable, α_i is the fixed LAB strains effect, β_j is the fixed FA effect, γ_{ij} is the interaction effect between FA and LAB strains, D_k is the random block effect and ε_{ijk} , the residual error.

For yeast, we used the same model except that we include the yeast species fixed effect and a strain random effect. This was not possible for LAB as some LAB species were represented by a single strain only:

$$Y_{ijklm} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + D_k + F_l + \varepsilon_{ijklm},$$

where Y_{ijklm} is the parameter variable, α_i is the fixed yeast species effect, β_j is the fixed FA effect, γ_{ij} is the interaction effect between FA and yeast species, D_k is the random strains effect, F_l is the random block effect and ε_{ijklm} , the residual error. When residues deviated from normality (LAB population size), we also ran non parametric tests, i.e. Kruskal-Wallis tests.

Second, we compared the difference between mono and co-culture by adding to the previous models a fixed effect with two levels mono- or co-cultures. For this analysis, we only include monocultures of strains that were also tested in co-cultures.

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + D_k + \varepsilon_{ijkl},$$

where Y_{ijk} is the parameter variable, α_i is the fixed culture type effect (monoculture vs co-culture), β_j is the fixed FA effect, γ_{ij} is the interaction effect between FA and culture type, D_k is the random block effect and ε_{ijk} , the residual error.

3. Results

3.1.Selection of LAB-Yeast couples for co-culture fermentations

Based on a preliminary test dealing with the assimilation of FA (monitored by liquid chromatography) in monoculture fermentations, LAB/yeast couples were formed according to

three different scenarios: both microorganisms assimilate FA, one of them is able to do that, and none of them transform FA. For each scenario, at least three different LAB/yeast pairs of strains were chosen randomly. The different combinations are displayed in Figure 2.

3.2. Effect of FA on microbial growth in mono- and co-culture

The presence of 25 mg/L of FA had no significant effect on the growth of LAB in average ($p=0.73$), since the LAB population size was almost the same at the end of fermentation in the presence and absence of FA ($8.6 \pm 0.3 \log_{10} \text{cell / mL}$ on average at $[\text{FA}] = 0 \text{ mg/L}$, and $8.6 \pm 0.5 \log_{10} \text{cell / mL}$ at $[\text{FA}] = 25 \text{ mg/L}$). For some specific strains, FA seems to decrease the LAB population size but this effect was only marginally significant ($p<0.001$, Figure S1, Table S1). In the case of yeasts, FA had an inverse effect on the growth of *S. cerevisiae* and *K. bulderi*. While increasing the population size of the former ($p=0.004$), it decreased the population size of the latter ($p=0.04$) (Figure S2, Table S2). This resulted in a non-significant effect of FA on average yeast population size ($8.2 \pm 0.2 \log_{10} \text{cell / mL}$ in the absence of FA and $8.2 \pm 0.2 \log_{10} \text{cell / mL}$ in the presence of FA). Irrespective of the presence of FA, a variation on microbial growth was found among LAB strains ($p<0.01$), where strains bLsk4, bLc16, bFs15 reached population sizes from 2 to 3,5 times lower than those of strains bLp6, bLp20 (Table S1); as well as among yeast species ($p=0.003$; Table S2) with a lower growth of *K. humilis* compared to *K. bulderi* ($p=0.002$) and *S. cerevisiae* ($p=0.002$).

The absence of FA effect on microbial growth was also observed in the case of LAB and yeasts co-cultures (for LAB: FA effect $p=0.71$, FA x Culture type interaction $p=0.65$; for yeasts: $p=0.18$, interaction effect $p=0.59$). However, each type of microorganisms had a negative effect on the growth of the other. Thus, LAB reached a lower population size in co-culture ($8.5 \pm 0.4 \log_{10} \text{cell / mL}$) than in monoculture ($8.6 \pm 0.4 \log_{10} \text{cell / mL}$; $p<0.001$, Figure S3, Table S3), and yeasts population size decreased from $8.2 \pm 0.2 \log_{10} \text{cell / mL}$ in monoculture to $8.1 \pm 0.2 \log_{10} \text{cell / mL}$ in co-culture ($p <0.001$, Figure S4, Table S4).

3.3. Effect of FA on fermentation parameters of yeast and LAB in mono- and co-culture

For each strain fermented in mono- and co-culture, four parameters were analyzed in the presence and absence of FA, CO₂max, latency phase duration, Vmax, and tVmax. During bread making, these parameters provide information on the required fermentation time and the quality of the dough rise. Results showed that again, the differences in fermentation parameters were related to LAB strains and yeast species and not to FA effect. No significant effect of FA was observed on any of the four fermentation parameters.

As expected, heterofermentative LAB produced low amount of CO₂max. However, the CO₂max was significantly different between strains ($p<0.001$, Figure S5, Table S5). The three-yeast species produced significantly different CO₂max ($p<0.001$, Figure S6, Table S6), with a better performance of *S. cerevisiae* which produced 24.4 ± 0.7 g / L of CO₂max on average compared to *K. bulderi* and *K. humilis* with 7.7 ± 0.5 g / L and 8.0 ± 0.8 g / L respectively. CO₂max generated in co-culture was different from that produced in monoculture (yeasts in monoculture and co-culture with LAB: $p<0.001$; and LAB in monoculture and co-culture with yeasts: $p<0.001$, Figures S7 and S8, Tables S7 and S8).

While the maximum rate of CO₂ production (Vmax) did not significantly vary between LAB strains (Figure S5, Table S9), but varied among yeast species ($p<0.001$, Figure S6, Table S10) and strains of *S. cerevisiae*. Significant differences in Vmax were observed between monoculture and co-culture for both LAB ($p<0.001$, Figure S7, Table S11) and yeasts ($p<0.001$, Figure S8, Table S12). The higher Vmax was obtained for *S. cerevisiae* monocultures, followed by yeast/LAB co-cultures, and then LAB monocultures.

The time to reach Vmax, tVmax, in LAB monocultures was shorter than in co-cultures (significant difference: $p<0.001$, Figure S7, Tables S13 and S14). tVmax was significantly different between yeast species ($p<0.001$, Figure S6, Table S15). *S. cerevisiae* had a significantly longer tVmax (18.0 ± 1.5 h), than *K. bulderi* (12.3 ± 1.4 h) which in turn displayed a significantly longer tVmax than that of *K. humilis* (10.2 ± 0.3 h). Compared to yeast monocultures, tVmax significantly decreased in the presence of LAB ($p<0.001$, Figure S8, Table S16), especially for *K. humilis* and *K. bulderi* (in monoculture: 10.2 ± 0.3 h and 12.4 ± 1.3 h respectively, and in co-culture with LAB: 9.6 ± 1.9 h and 12.0 ± 1.4 h respectively).

Latency phase duration did not significantly vary neither between LAB strains, nor among yeast species, nor between yeast monocultures and co-cultures; but a significant

difference was found between LAB monoculture and co-culture ($p=0.001$, Figures S7 and S8, Tables S17 to S20). The latency time of LAB in monoculture lasted 12.8 ± 8.8 h, but the fermentation started more quickly when *K. humilis*, *K. bulderi* or *S. cerevisiae* yeast strain was added (7.4 ± 2.4 h, 8.2 ± 2.6 h and 8.6 ± 2.2 h respectively, Figures S7 and S8, Table S19).

In general, the presence of LAB had a little effect on the fermentation performance of certain yeast species, especially *S. cerevisiae*.

3.4. Consumption and conversion of FA by LAB and yeasts in mono- and co-culture

The FA consumption by microorganisms, as well as the formation of its derived metabolites, namely 4-vinylguaiacol (4-VG) and dihydroferulic acid (DHFA), during fermentation were monitored by UPLC (a representative chromatogram is depicted in Figure S9), and the material balance of conversion reactions was determined taking SSM as control. Results are presented in Figures 2 and 3.

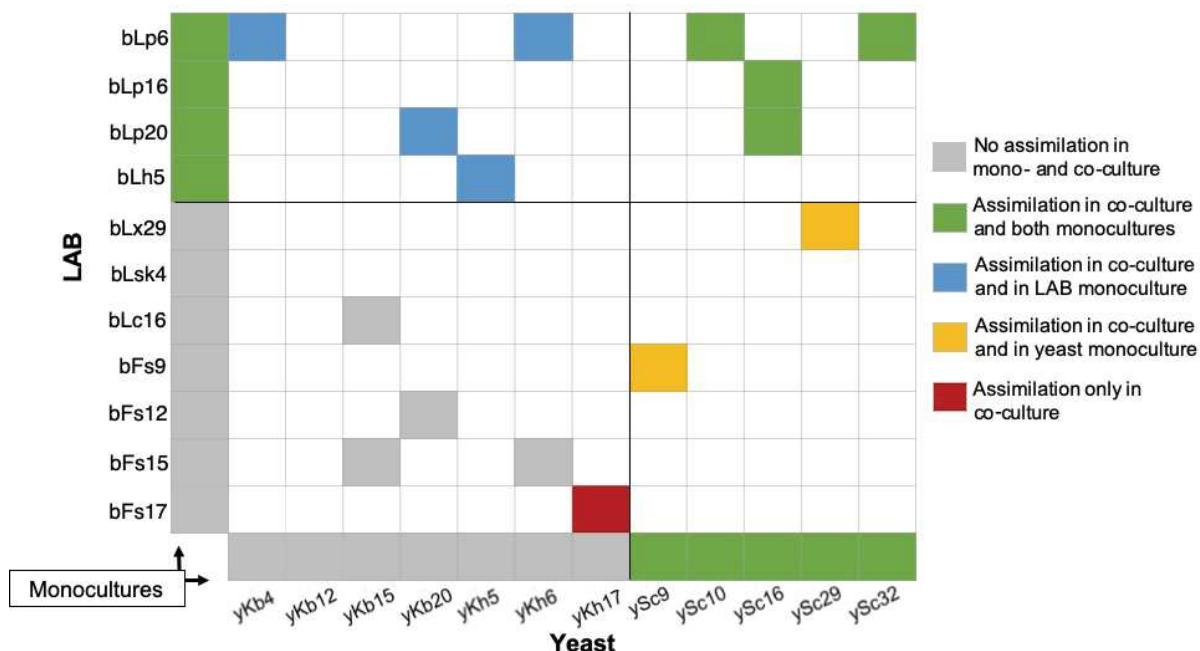


Figure 2. Assimilation of FA (as function of its concentration at t0) after 37h of fermentation in the presence of LAB and yeast strains in mono- and co-culture. The data are presented by a matrix whose colors indicates different cases of strains behavior in the assimilation of FA. The first column and line give monocultures results. The figure center shows co-cultures results.

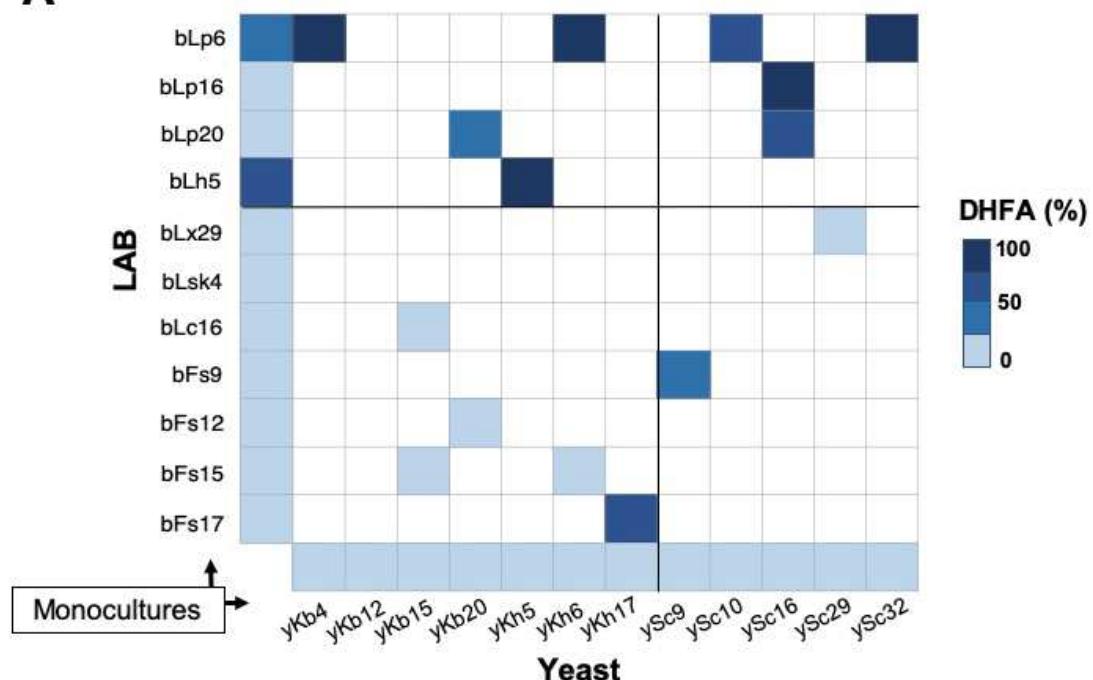
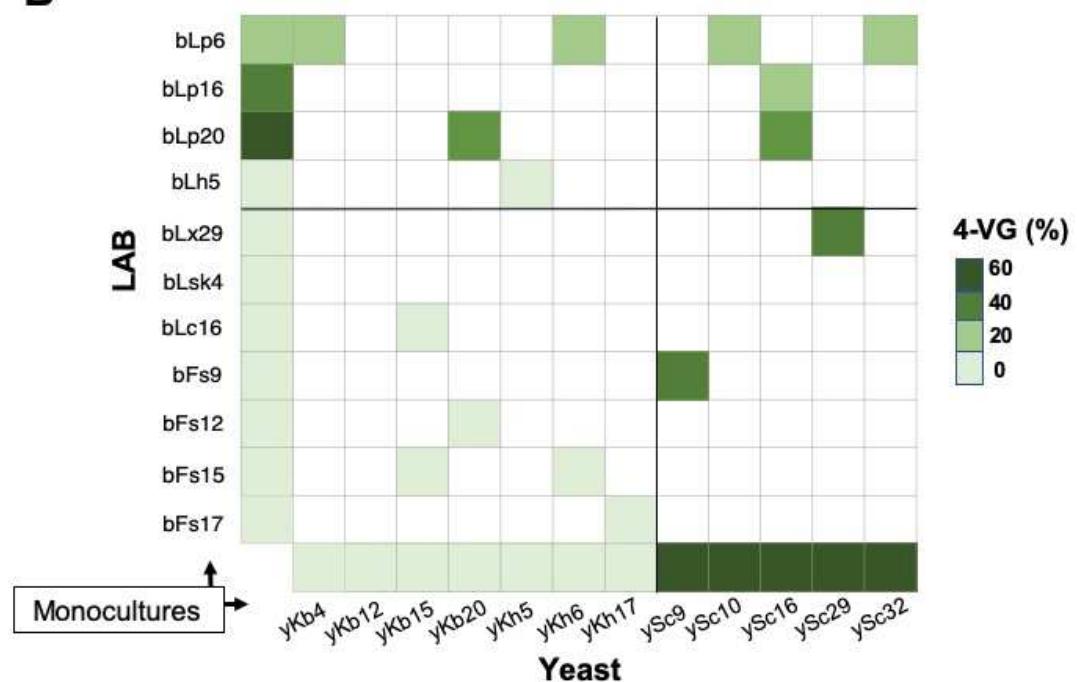
A**B**

Figure 3. Production of dihydroferulic acid (DHFA) (A) and 4-vinylguaiacol (4-VG) (B) by LAB and yeast strains in mono- and co-culture after 37 hours of fermentation. The data are presented by a matrix whose color intensity indicates the amount (in %) of DHFA (in A) or 4-VG (in B) formed from consumed FA.

After 37 hours of fermentation in synthetic sourdough medium, the assimilation of FA was detected in 4 out of 11 strains of LAB (Figure 2 and Table S21). *L. hammesii* bLh5 strain transformed $86.0 \pm 15.4\%$ of FA into DHFA with a $98.5 \pm 28.5\%$ high yield. *L. plantarum* bLp20 and bLp16 strains assimilated respectively $57.6 \pm 8.7\%$ and $27.1 \pm 4.5\%$ of FA, and transformed it into 4-VG with $53.2 \pm 13.0\%$ and $33.8 \pm 9.2\%$ yield respectively. *L. plantarum* bLp6 strain was the only strain able of converting FA ($91.3 \pm 6.1\%$) into both DHFA and 4-VG, with a majority of DHFA ($67.6 \pm 14.4\%$ of DHFA and $11.9 \pm 1.0\%$ of 4-VG) (Figure 3).

Concerning yeasts, the assimilation and conversion of FA was only observed in *S. cerevisiae*, which transformed FA into 4-VG exclusively (Figure 2 and Table S21). Strains ySc10 and ySc16 transformed respectively $77.6 \pm 18.0\%$ and $56.5 \pm 3.1\%$ of FA into $66.6 \pm 14.7\%$ and $60.3 \pm 10.8\%$ of 4-VG respectively, while strains ySc29, ySc9 and ySc32 have almost completely assimilated FA ($91.0 \pm 10.2\%$, $92.3 \pm 6.0\%$ and $91.7 \pm 9.9\%$ respectively) to produce approximately the same amount of 4-VG ($60.7 \pm 1.6\%$) (Figure 3).

The conversion of FA into DHFA and 4-VG was also analyzed in yeast/LAB co-cultures. LAB and yeast strains assimilating FA in monoculture continued to do so in co-culture. However, a variation in the quantities of metabolites produced was noted (Figure 3 and Table S21). Coupling of *S. cerevisiae* strains ySc10 or ySc32 (which converted FA into 4-VG exclusively in monoculture), with *L. plantarum* bLp6 (which produced mainly DHFA under the same conditions), resulted in the conversion of FA into DHFA in high yield (in average of $89.8 \pm 6.6\%$), with a small amount of 4-VG (in average of $6.9 \pm 0.8\%$). Interestingly, the co-culture of *L. plantarum* bLp16 with *S. cerevisiae* ySc16 strains which both produced only 4-VG ($33.8 \pm 9.2\%$, $60.3 \pm 10.8\%$ respectively) in monoculture, led to the assimilation of almost all FA ($92.6 \pm 9.1\%$) and the production of a large amount of DHFA ($85.4 \pm 9.5\%$). It was also the case for the strain pairs *L. plantarum* bLp20 / *K. bulderi* yKb20 and *L. plantarum* bLp20 / *S. cerevisiae* ySc16. The predominance of DHFA as metabolite of FA has also been observed in combinations involving strains able of assimilating FA in monoculture and strains unable of doing so. Indeed, the combination of *L. plantarum* bLp6 and *K. humilis* or *K. bulderi* which are not able to assimilate FA alone, gave rise to the conversion of FA in quantitative yield ($92.7 \pm 7.8\%$ on average) into mainly DHFA ($92.1 \pm 8.8\%$ on average). Association of *F. sanfranciscensis* bFs9 strain unable to assimilate FA in monoculture, with *S. cerevisiae* ySc9 strain, which transformed FA into only 4-VG ($60.1 \pm 8.5\%$), generated the formation of DHFA and 4-VG in equal amount ($37.8 \pm 12.3\%$ DHFA and $35.0 \pm 10.9\%$ 4-VG), after the assimilation of nearly all FA ($92.0 \pm 8.3\%$). Even when DHFA is not formed, the LAB-yeast association

seems to reduce the amount of 4-VG, produced by yeast strain monoculture. *S. cerevisiae* ySc29 strain produced a lower amount of 4-VG ($34.0 \pm 3.62\%$) when it was associated to *L. xiangfangensis* bLx29 strain (which did not assimilate FA), compared to its activity alone ($62.4 \pm 6.3\%$). FA was not assimilated in most of yeast-LAB combinations made of yeast and LAB strains unable to metabolize it in monoculture. A surprising result was obtained from the combination of *F. sanfranciscensis* bFs17 and *K. humilis* yKh17 strains, where $87.3 \pm 21.0\%$ of FA was assimilated and a large amount of DHFA ($89.5 \pm 19.6\%$) was produced, while neither the LAB nor the yeast strains assimilated FA in monoculture. As *F. sanfranciscensis* strains tested in this study were not able to assimilate FA in monoculture, we investigated the presence of putative FA reductase genes, namely *hcrB*, *hcrF* and *par1*, as well as the FA decarboxylase encoding gene *pdc1* in the 30 sequenced strains of *F. sanfranciscensis* available. BLAST searches revealed no consistent homology among all the investigated strains. In addition, none of the protein signature domains from the four reference genes were found in the complete set of proteins from the 30 strains (on the basis of InterProScan predictions), except for the domain IPR005025 (NADP(H) binding domain). This latter is identified in a gene shared by the 30 compared strains that is a homologous gene of *hcrA* (*L. plantarum*) with no enzymatic activity (Gaur et al., 2020). As a consequence, no evidence of genes coding for a ferulic acid reductase or decarboxylase were found in sequenced *F. sanfranciscensis* strains. We could not investigate the presence / absence of decarboxylase (*PAD1*, *FDC1*) or putative reductase encoding genes in *K. humilis*, since no genome is currently available for this species.

All these results suggest that the behavior of LAB and yeast strains when together is not easily predictable from their activity when alone. It is interesting to note that strains which were assumed to not assimilate FA or to produce only 4-VG in monocultures, consumed FA to convert it mainly into DHFA in co-cultures (except *L. xiangfangensis* bLx29), suggesting that yeast-LAB co-cultures facilitate the production of DHFA (bLp16 / ySc16, bLp20 / yKb20, bLp20 / ySc16, bFs9 / ySc9, bFs17 / yKh17) and/or limit the production of 4-VG.

4. Discussion

4.1. Effect of FA on microbial growth in mono- and co-culture

With a concentration of 0.13 mM of FA, no inhibitory effect was observed neither for yeasts, nor for LAB. This is consistent with previous studies that showed that the effect of

phenolic acids on microbial growth is concentration-dependent. In the case of *S. cerevisiae*, yeast biomass began to decrease at 0.25 mM FA (Hou et al., 2018) and FA inhibition threshold is about 1.8 mM (Adeboye et al., 2014). Sanchez-Maldonado et al., 2011 studied the minimum inhibitory concentrations (MIC) of 12 phenolic acids and their metabolites for several bacterial species. They observed that the negative effect of FA in bacteria started at concentration of 0.8mM, with a better tolerance of lactobacilli (MIC 4.6 to 8.65 mM) (Sánchez-Maldonado et al., 2011).

Independently of the presence of FA, we have noticed a reduction in the average cell concentration of yeasts and LAB in co-cultures. This may result from a competition between yeast and LAB caused by limited substrates. Several studies showed that according to the yeast or LAB species, cell growth of one or both can be reduced in co-cultures (De Vuyst and Neysens, 2005, Mendoza et al., 2010, Freire et al., 2015, Carbonetto et al., 2020, Khan et al., 2020).

4.2.Fermentation of yeast and LAB in mono- and co-culture

Strains of *S. cerevisiae* produce three times more CO₂ than *K. humilis* and *K. bulderi*. Although the synthetic medium do not contain all sourdough metabolites (like ergosterol, fructose, arabinose, raffinose, FODMAP, ...), our data are consistent with a previous study reporting a better leavening capacity of *S. cerevisiae* compared to *K. humilis* in experimental doughs (Carbonetto et al., 2020). Moreover, we observed a reduced CO₂ production in LAB / *S. cerevisiae* co-cultures. Competition for glucose and maltose may explain these observations. Yeasts have a preference for monosaccharides (Webster et al., 2019, Wilson et al., 2019), and the presence of glucose suppresses the molecular activities involved in the use of alternative carbon sources such as maltose (Paramithiotis et al., 2007, Kayikci and Nielsen, 2015). In the case of glucose depletion in co-cultures, yeasts need to metabolize more maltose, which could lead to a longer lag phase duration and lower CO₂ production. Additional experiments in sourdough are needed to compare fermentation performance between yeast species and between yeast and LAB-yeast starters.

4.3. Consumption and conversion of FA by LAB and yeasts in mono- and co-culture

At a certain concentration, FA, like other phenolic acids, inhibits the microbial growth (Hou et al., 2017, Hou et al., 2018). To survive in this quite toxic environment, microorganisms undertake a detoxification process that converts toxic phenolic compounds into less toxic derivatives as DHFA and 4-VG (Adeboye et al., 2015). In this study, we investigated the assimilation of FA and its conversion into 4-VG and DHFA by the selected yeasts and LAB. Metabolism of FA has been investigated for some LAB present in sourdough such as *L. plantarum*, *Levilactobacillus brevis*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Furfurilactobacillus rossiae* and *Latilactobacillus curvatus* (Rodríguez et al., 2008, Filannino et al., 2014, Ripari et al., 2019, Gaur et al., 2020).

Depending on the presence / absence of reductase and decarboxylase encoding genes, their regulation and the substrate-specificity of their products, FA metabolism by LAB may vary. Among the 11 LAB strains used in this study, only four were able to convert FA into 4-VG, DHFA or both. All *L. plantarum* strains tested in this study metabolized FA and produced the corresponding metabolites in different ratios. For instance, *L. plantarum* bLp6 strain produced more DHFA than 4-VG while bLp20 strain does not produce any DHFA but produces 4-VG in monoculture. These data demonstrate that the transformation of FA by LAB is strain-specific (Van Beek and Priest, 2000, Curiel et al., 2010, Svensson et al., 2010, Gaur et al., 2020). Moreover, none of the *F. sanfranciscensis* strains tested were able to assimilate FA in monocultures. The in-silico analysis revealed that it may be attributed to the absence of genes coding for FA reductase or decarboxylase activities in *F. sanfranciscensis*. In a future work, it will be interesting to characterize the genes encoding the metabolic enzymes of FA in the tested LAB strains to better understand the mechanisms involved in FA metabolism.

Among sourdough yeast species, FA conversion was widely studied for *S. cerevisiae* (Larsson et al., 2001, Mukai et al., 2010, Adeboye et al., 2015, Dzialo et al., 2017). This species generally lacks the reductase activity (Huang et al., 1993, Larsson et al., 2001, Steensels et al., 2015). However, it expresses two phenylacrylic acid decarboxylase and ferulic acid decarboxylase genes (*PADI* and *FDC1* respectively) which act synergistically to decarboxylate hydroxycinnamic acids (Mukai et al., 2010, Bhuiya et al., 2015). The role of *PADI* is to synthesize cofactor (modified flavin mononucleotide) required by *FDC1* to fulfill its decarboxylation task (Lin et al., 2015). In our experimental conditions, all *S. cerevisiae* strains assimilate FA and transform it into 4-VG in monocultures. *S. cerevisiae* strains which

assimilated all FA gave the same amount of 4-VG as those which did not assimilate FA entirely, suggesting that decarboxylation is a limiting step in FA metabolism in our conditions. Previous studies suggested that the expression of *PAD1* gene constitute a stress response induced by phenolic acid and a resistance to their inhibitory effect (Goodey and Tubb, 1982, Clausen et al., 1994). Adeboye et al., 2015, showed that FA was completely metabolized after 72 hours of fermentation with industrial strains of *S. cerevisiae*. They also found that FA was converted into ferulic acid isomer and DHFA during the first 2 h of cultivation (Adeboye et al., 2015). In order to determine if 4-VG results from other metabolites' transformation, FA fermentation in the presence of *S. cerevisiae* strains ySc16 and ySc9 was monitored every two hours and products were identified by liquid chromatography (see M&M). It was observed that no intermediates were formed before the appearance of 4-VG. In contrast, *Kazachstania* strains were not able to assimilate FA in monocultures. However, in the absence of available genomes for *K. humilis* and *K. bulderi*, it becomes difficult to discuss their behavior.

Interestingly, in co-cultures, microorganisms behaved differently than in mono-cultures. The consumption of FA was higher, since 11 couples have entirely assimilated FA while the same microorganisms did not assimilate it or assimilated it partially in monocultures. As FA was totally consumed to be mainly converted into DHFA, reductase activity seems to be favored in these conditions. By combining yeasts with LAB, a modification of the extracellular conditions occurs, thus, inducing the reductase activity of LAB. Factors favoring the expression of LAB reduction gene in the presence of yeasts are still unknown and no obvious mechanism can be predicted at this stage. Further investigations must be undertaken in order to elucidate the impact of yeasts on LAB activities. In addition, production of DHFA was observed in two couples involving *F. sanfranciscensis* strains (bFs17 / yKh17 and bFs9 / ySc9) while there was no FA reduction in monocultures. As no FA reductase gene homologs were identified by in silico analysis of *F. sanfranciscensis* genomes, it might be suggested that FA reductase activity in yeast was induced by the presence of LAB.

Sourdough metabolites of FA, namely, DHFA and 4-VG are known for their nutritional and organoleptic benefits. DHFA is a better antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotector agent than FA (Ordoudi et al., 2006, Larrosa et al., 2009, Verzelloni et al., 2011, Amić et al., 2018, Ohue-Kitano et al., 2019). It is also suspected to be a vanillic acid precursor, even though the metabolic pathways of such transformation are not elucidated yet (Rechner et al., 2001). 4-VG is a volatile phenolic compound with a smoky flavor note and a clove / spicy aroma that can contribute to a typical bread flavor. It has also higher antioxidant properties than some other

phenolic derivatives (4-vinylphenol, 4-vinylsyringol and 4-vinylcatechol) (Terpinc et al., 2011), and therefore it is considered as a good food preservative (Tańska et al., 2018).

The presence of FA (if it is not entirely assimilated), DHFA and 4-VG in bread can improve its nutritional and organoleptic quality. However, this very preliminary study does not inform us about the behavior of bran FA under real bread making conditions. Several questions remain outstanding and require further investigations. Among other, (i) the bioavailability of bran FA in flour and the capacity of sourdough microorganisms to release it and to transform it; (ii) the influence of bread making conditions including kneading, fermentation time and temperature, as well as baking on the transformation of FA and the availability of its metabolites at the end of the process (Angelino et al., 2017).

5. Conclusion

In this study, assimilation and transformation of FA by sourdough LAB and yeasts have been investigated. In the case of yeasts, *S. cerevisiae* metabolized FA into its decarboxylated product 4-VG. LAB, processing both decarboxylase and reductase activities, produced exclusively or mainly the reduction derivative of FA (DHFA). LAB-yeast combinations resulted in a modification of extracellular conditions, inducing thereby the reductase activity of LAB. Consequently, DHFA was the predominant fermentation product in co-cultures. Influence of yeasts on genes expression of LAB will be the subject of further investigations.

Acknowledgements

Authors thank Stéphane Guézenec (SPO) for his help on the preparation and identification of microbial strains, Faiza Macna, Christian Picou and Marc Perez (SPO) for their assistance on automated robotic system (PlateButler® Robotic System by Lab services) and data recovery, Thibault Nidelet (SPO) for sharing his expertise in R studio software and statistical analyses.

Funding sources

This work was supported by the Algerian government (PhD grant for Sonia Boudaoud).

References

- ADEBOYE, P. T., BETTIGA, M. & OLSSON, L. 2014. The chemical nature of phenolic compounds determines their toxicity and induces distinct physiological responses in *Saccharomyces cerevisiae* in lignocellulose hydrolysates. *Amb Express*, 4, 1-10.
- ADEBOYE, P. T., BETTIGA, M., ALDAEUS, F., LARSSON, P. T. & OLSSON, L. 2015. Catabolism of coniferyl aldehyde, ferulic acid and p-coumaric acid by *Saccharomyces cerevisiae* yields less toxic products. *Microbial cell factories*, 14, 149.
- AMIĆ, A., MARKOVIĆ, Z., KLEIN, E., DIMITRIĆ MARKOVIĆ, J. M. & MILENKOVIĆ, D. 2018. Theoretical study of the thermodynamics of the mechanisms underlying antiradical activity of cinnamic acid derivatives. *Food Chemistry*, 246, 481-489.
- ANGELINO, D., COSSU, M., MARTI, A., ZANOLETTI, M., CHIAVAROLI, L., BRIGHENTI, F., DEL RIO, D. & MARTINI, D. 2017. Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in bread: a review. *Food & function*, 8, 2368-2393.
- BARTHELMEBS, L., DIVIES, C. & CAVIN, J.-F. 2000. Knockout of the p-coumarate decarboxylase gene from *Lactobacillus plantarum* reveals the existence of two other inducible enzymatic activities involved in phenolic acid metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 3368-3375.
- BHUIYA, M. W., LEE, S. G., JEZ, J. M. & YU, O. 2015. Structure and mechanism of ferulic acid decarboxylase (FDC1) from *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 81, 4216-4223.
- BLOEM, A., ROLLERO, S., SEGUINOT, P., CRÉPIN, L., PEREZ, M., PICOU, C. & CAMARASA, C. 2018. Workflow based on the combination of isotopic tracer experiments to investigate microbial metabolism of multiple nutrient sources. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, e56393.
- BOUDAOUD, S., SICARD, D., SUC, L., CONÉJÉRO, G., SEGOND, D. & AOUF, C. 2020. Ferulic acid content variation from wheat to bread (submitted). *Food Science & Nutrition*
- BOZ, H. 2015. Ferulic acid in cereals-a review. *Czech Journal of Food Sciences*, 33, 1-7.
- CAPPELLE, S., GUYLAIN, L., GÄNZLE, M. & GOBBETTI, M. 2013. History and social aspects of sourdough. *Handbook on sourdough biotechnology*. Springer.

CARBONETTO, B., NIDELET, T., GUEZENEC, S., PEREZ, M., SEGOND, D. & SICARD, D. 2020. Interactions between Kazachstania humilis Yeast Species and Lactic Acid Bacteria in Sourdough. *Microorganisms*, 8, 240.

CARBONETTO, B., RAMSAYER, J., NIDELET, T., LEGRAND, J. & SICARD, D. 2018. Bakery yeasts, a new model for studies in ecology and evolution. *Yeast*, 35, 591-603.

CLAUSEN, M., LAMB, C. J., MEGNET, R. & DOERNER, P. W. 1994. PAD1 encodes phenylacrylic acid decarboxylase which confers resistance to cinnamic acid in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene*, 142, 107-112.

COGHE, S., BENOOT, K., DELVAUX, F., VANDERHAEGEN, B. & DELVAUX, F. R. (2004). Ferulic acid release and 4-vinylguaiacol formation during brewing and fermentation: Indications for feruloyl esterase activity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(3), 602–608.

COLLAR, C. 1996. Biochemical and technological assessment of the metabolism of pure and mixed cultures of yeast and lactic acid bacteria in breadmaking applications/Revisión: Aspectos bioquímicos y tecnológicos del metabolismo de cultivos puros y mixtos de levaduras y bacterias ácido lácticas en panificación. *Food Science and Technology International*, 2, 349-367.

CURIEL, J. A., RODRÍGUEZ, H., LANDETE, J. M., DE LAS RIVAS, B. & MUÑOZ, R. 2010. Ability of *Lactobacillus brevis* strains to degrade food phenolic acids. *Food chemistry*, 120, 225-229.

DAMIANI, P., GOBBETTI, M., COSSIGNANI, L., CORSETTI, A., SIMONETTI, M. & ROSSI, J. 1996. The sourdough microflora. Characterization of hetero-and homofermentative lactic acid bacteria, yeasts and their interactions on the basis of the volatile compounds produced. *LWT-food science and technology*, 29, 63-70.

DE LAS RIVAS, B., RODRÍGUEZ, H. C., CURIEL, J. A., LANDETE, J. M. A. & MUÑOZ, R. 2009. Molecular screening of wine lactic acid bacteria degrading hydroxycinnamic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 490-494.

DE VUYST, L. & NEYSENS, P. 2005. The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends in food science & technology*, 16, 43-56.

- DE VUYST, L., VAN KERREBROECK, S., HARTH, H., HUYS, G., DANIEL, H.-M. & WECKX, S. 2014. Microbial ecology of sourdough fermentations: diverse or uniform? *Food microbiology*, 37, 11-29.
- DE VUYST, L., VAN KERREBROECK, S. & LEROY, F. 2017. Microbial ecology and process technology of sourdough fermentation. *Advances in applied microbiology*. Elsevier.
- DĘDEK, K., ROSICKA-KACZMAREK, J., NEBESNY, E. & KOWALSKA, G. 2019. Characteristics and biological properties of ferulic acid. *Biotechnology and Food Science*, 83.
- DELOBEL, J., PRUDENT, M., RUBIN, O., CRETTEAZ, D., TISSOT, J.-D. & LION, N. 2012. Subcellular fractionation of stored red blood cells reveals a compartment-based protein carbonylation evolution. *Journal of Proteomics*, 76, 181-193.
- DZIALO, M. C., PARK, R., STEENSELS, J., LIEVENS, B. & VERSTREPEN, K. J. 2017. Physiology, ecology and industrial applications of aroma formation in yeast. *FEMS microbiology reviews*, 41, S95-S128.
- FERRI, M., HAPPEL, A., ZANAROLI, G., BERTOLINI, M., CHIESA, S., COMMISSO, M., GUZZO, F. & TASSONI, A. 2020. Advances in combined enzymatic extraction of ferulic acid from wheat bran. *New biotechnology*, 56, 38-45.
- FILANNINO, P., GOBBETTI, M., DE ANGELIS, M. & DI CAGNO, R. 2014. Hydroxycinnamic acids used as external acceptors of electrons: an energetic advantage for strictly heterofermentative lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 80, 7574-7582.
- FREIRE, A. L., RAMOS, C. L. & SCHWAN, R. F. 2015. Microbiological and chemical parameters during cassava based-substrate fermentation using potential starter cultures of lactic acid bacteria and yeast. *Food Research International*, 76, 787-795.
- GÄNZLE, M. G. 2015. Lactic metabolism revisited: Metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food Science*, 2, 106–117.
- GÄNZLE, M. & RIPARI, V. 2016. Composition and function of sourdough microbiota: from ecological theory to bread quality. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 19-25.
- GAUR, G., OH, J.-H., FILANNINO, P., GOBBETTI, M., VAN PIJKEREN, J.-P. & GÄNZLE, M. G. (2020). Genetic determinants of hydroxycinnamic acid metabolism in heterofermentative lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(5).

GOBBETTI, M. 1998. The sourdough microflora: interactions of lactic acid bacteria and yeasts. *Trends in food science & technology*, 9, 267-274.

GOBBETTI, M., DE ANGELIS, M., DI CAGNO, R., CALASSO, M., ARCHETTI, G. & RIZZELLO, C. G. 2019. Novel insights on the functional/nutritional features of the sourdough fermentation. *International journal of food microbiology*, 302, 103-113.

GOBBETTI, M., RIZZELLO, C. G., DI CAGNO, R. & DE ANGELIS, M. 2014. How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. *Food microbiology*, 37, 30-40.

GOBBETTI, M., SIMONETTI, M., CORSETTI, A., SANTINELLI, F., ROSSI, J. & DAMIANI, P. 1995. Volatile compound and organic acid productions by mixed wheat sour dough starters: influence of fermentation parameters and dynamics during baking. *Food microbiology*, 12, 497-507.

GOODEY, A. R. & TUBB, R. S. 1982. Genetic and biochemical analysis of the ability of *Saccharomyces cerevisiae* to decarboxylate cinnamic acids. *Microbiology*, 128, 2615-2620.

HAZELWOOD, L. A., DARAN, J.-M., VAN MARIS, A. J., PRONK, J. T. & DICKINSON, J. R. 2008. The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 2259-2266.

HOU, J., DING, C., QIU, Z., ZHANG, Q. & XIANG, W.-N. 2017. Inhibition efficiency evaluation of lignocellulose-derived compounds for bioethanol production. *Journal of Cleaner Production*, 165, 1107-1114.

HOU, J., QIU, Z., HAN, H. & ZHANG, Q. 2018. Toxicity evaluation of lignocellulose-derived phenolic inhibitors on *Saccharomyces cerevisiae* growth by using the QSTR method. *Chemosphere*, 201, 286-293.

HUANG, Z., DOSTAL, L. & ROSAZZA, J. 1993. Microbial transformations of ferulic acid by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pseudomonas fluorescens*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 2244-2250.

KAYIKCI, Ö. & NIELSEN, J. 2015. Glucose repression in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS yeast research*, 15, fov068.

KHAN, S. A., ZHANG, M., LIU, L., DONG, L., MA, Y., WEI, Z., CHI, J. & ZHANG, R. 2020. Co-culture submerged fermentation by lactobacillus and yeast more effectively improved

the profiles and bioaccessibility of phenolics in extruded brown rice than single-culture fermentation. *Food chemistry*, 126985.

KOISTINEN, V. M., MATTILA, O., KATINA, K., POUTANEN, K., AURA, A.-M. & HANHINEVA, K. 2018. Metabolic profiling of sourdough fermented wheat and rye bread. *Scientific reports*, 8, 1-11.

LARROSA, M., LUCERI, C., VIVOLI, E., PAGLIUCA, C., LODOVICI, M., MONETI, G. & DOLARA, P. 2009. Polyphenol metabolites from colonic microbiota exert anti-inflammatory activity on different inflammation models. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53, 1044-1054.

LARSSON, S., NILVEBRANT, N.-O. & JÖNSSON, L. 2001. Effect of overexpression of *Saccharomyces cerevisiae* Pad1p on the resistance to phenylacrylic acids and lignocellulose hydrolysates under aerobic and oxygen-limited conditions. *Applied microbiology and biotechnology*, 57, 167-174.

LHOMME, E., LATTANZI, A., DOUSSET, X., MINERVINI, F., DE ANGELIS, M., LACAZE, G., ONNO, B. & GOBBETTI, M. 2015. Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of sixteen French traditional sourdoughs. *International journal of food microbiology*, 215, 161-170.

LHOMME, E., URIEN, C., LEGRAND, J., DOUSSET, X., ONNO, B. & SICARD, D. 2016. Sourdough microbial community dynamics: an analysis during French organic bread-making processes. *Food microbiology*, 53, 41-50.

LI, L., SHEWRY, P. R. & WARD, J. L. 2008. Phenolic acids in wheat varieties in the HEALTHGRAIN diversity screen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 9732-9739.

LIN, F., FERGUSON, K. L., BOYER, D. R., LIN, X. N. & MARSH, E. N. G. 2015. Isofunctional enzymes PAD1 and UbiX catalyze formation of a novel cofactor required by ferulic acid decarboxylase and 4-hydroxy-3-polyprenylbenzoic acid decarboxylase. *ACS chemical biology*, 10, 1137-1144.

MANCUSO, C. & SANTANGELO, R. 2014. Ferulic acid: pharmacological and toxicological aspects. *Food and Chemical Toxicology*, 65, 185-195.

- MENDOZA, L. M., DE NADRA, M. C. M. & FARÍAS, M. E. 2010. Antagonistic interaction between yeasts and lactic acid bacteria of oenological relevance: Partial characterization of inhibitory compounds produced by yeasts. *Food Research International*, 43, 1990-1998.
- MEROTH, C. B., WALTER, J., HERTEL, C., BRANDT, M. J. & HAMMES, W. P. 2003. Monitoring the bacterial population dynamics in sourdough fermentation processes by using PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 475-482.
- MICHEL, E., MASSON, E., BUBBENDORF, S., LAPICQUE, L., LEGRAND, J., GUÉZENEC, S., NIDELET, T., MARLIN, T., RUÉ, O. & ONNO, B. 2019. Artisanal and farmers bread making practices differently shape fungal species diversity in French sourdoughs. *bioRxiv*, 679472.
- MICHEL, E., MONFORT, C., DEFFRASNES, M., GUEZENEC, S., LHOMME, E., BARRET, M., SICARD, D., DOUSSET, X. & ONNO, B. 2016. Characterization of relative abundance of lactic acid bacteria species in French organic sourdough by cultural, qPCR and MiSeq high-throughput sequencing methods. *International journal of food microbiology*, 239, 35-43.
- MUKAI, N., MASAKI, K., FUJII, T., KAWAMUKAI, M. & IEFUJI, H. 2010. PAD1 and FDC1 are essential for the decarboxylation of phenylacrylic acids in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of bioscience and bioengineering*, 109, 564-569.
- OHUE-KITANO, R., TAIRA, S., WATANABE, K., MASUJIMA, Y., KUBOSHIMA, T., MIYAMOTO, J., NISHITANI, Y., KAWAKAMI, H., KUWAHARA, H. & KIMURA, I. 2019. 3-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl) propionic Acid Produced from 4-Hydroxy-3-methoxycinnamic Acid by Gut Microbiota Improves Host Metabolic Condition in Diet-Induced Obese Mice. *Nutrients*, 11, 1036.
- ORDOUDI, S. A., TSIMIDOU, M. Z., VAFIADIS, A. P. & BAKALBASSIS, E. G. 2006. Structure–DPPH• scavenging activity relationships: parallel study of catechol and guaiacol acid derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5763-5768.
- PARAMITHIOTIS, S., SOFOU, A., TSAKALIDOU, E. & KALANTZOPOULOS, G. 2007. Flour carbohydrate catabolism and metabolite production by sourdough lactic acid bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 1417-1423.
- PÉTEL, C., ONNO, B. & PROST, C. 2017. Sourdough volatile compounds and their contribution to bread: A review. *Trends in food science & technology*, 59, 105-123.

- PICO, J., BERNAL, J. & GÓMEZ, M. 2015. Wheat bread aroma compounds in crumb and crust: A review. *Food Research International*, 75, 200-215.
- RECHNER, A. R., SPENCER, J. P., KUHNLE, G., HAHN, U. & RICE-EVANS, C. A. 2001. Novel biomarkers of the metabolism of caffeic acid derivatives in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 30, 1213-1222.
- RIPARI, V., BAI, Y. & GÄNZLE, M. G. 2019. Metabolism of phenolic acids in whole wheat and rye malt sourdoughs. *Food microbiology*, 77, 43-51.
- RODRÍGUEZ, H., LANDETE, J. M., DE LAS RIVAS, B. & MUÑOZ, R. 2008. Metabolism of food phenolic acids by *Lactobacillus plantarum* CECT 748T. *Food Chemistry*, 107, 1393-1398.
- ROUMÉAS, L., BILLERACH, G., AOUF, C., DUBREUCQ, E. R. & FULCRAND, H. L. N. 2018. Furylated flavonoids: fully biobased building blocks produced by condensed tannins depolymerization. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6, 1112-1120.
- SABLAYROLLES, J.-M., BARRE, P. & GRENIER, P. (1987). Design of a laboratory automatic system for studying alcoholic fermentations in anisothermal enological conditions. *Biotechnology Techniques*, 1(3), 181–184.
- SÁNCHEZ-MALDONADO, A., SCHIEBER, A. & GÄNZLE, M. 2011. Structure–function relationships of the antibacterial activity of phenolic acids and their metabolism by lactic acid bacteria. *Journal of applied microbiology*, 111, 1176-1184.
- SANTAMARÍA, L., REVERÓN, I., DE FELIPE, F. L., DE LAS RIVAS, B. & MUÑOZ, R. 2018. Unravelling the reduction pathway as an alternative metabolic route to hydroxycinnamate decarboxylation in *Lactobacillus plantarum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 84, e01123-18.
- SHARMA, A., SHARMA, A., SINGH, J., SHARMA, P., TOMAR, G. S., SINGH, S. & NAIN, L. 2020. A biorefinery approach for the production of ferulic acid from agroresidues through ferulic acid esterase of lactic acid bacteria. *3 Biotech*, 10, 1-10.
- STEENSELS, J., DAENEN, L., MALCORPS, P., DERDELINCKX, G., VERACHTERT, H. & VERSTREPEN, K. J. 2015. Brettanomyces yeasts—From spoilage organisms to valuable contributors to industrial fermentations. *International journal of food microbiology*, 206, 24-38.

- SVENSSON, L., SEKWATI-MONANG, B., LUTZ, D. L., SCHIEBER, A. & GANZLE, M. G. 2010. Phenolic acids and flavonoids in nonfermented and fermented red sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 9214-9220.
- TAŃSKA, M., MIKOŁAJCZAK, N. & KONOPKA, I. 2018. Comparison of the effect of sinapic and ferulic acids derivatives (4-vinylsyringol vs. 4-vinylguaiacol) as antioxidants of rapeseed, flaxseed, and extra virgin olive oils. *Food Chemistry*, 240, 679-685.
- TERPINC, P., POLAK, T., ŠEGATIN, N., HANZLOWSKY, A., ULRIH, N. P. & ABRAMOVIČ, H. 2011. Antioxidant properties of 4-vinyl derivatives of hydroxycinnamic acids. *Food Chemistry*, 128, 62-69.
- URIEN, C., LEGRAND, J., MONTALENT, P., CASAREGOLA, S. & SICARD, D. 2019. Fungal species diversity in French bread sourdoughs made of organic wheat flour. *Frontiers in microbiology*, 10, 201.
- VAN BEEK, S. & PRIEST, F. G. 2000. Decarboxylation of substituted cinnamic acids by lactic acid bacteria isolated during malt whisky fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 5322-5328.
- VAN KERREBROECK, S., MAES, D. & DE VUYST, L. 2017. Sourdoughs as a function of their species diversity and process conditions, a meta-analysis. *Trends in food science & technology*, 68, 152-159.
- VERMA, B., HUCL, P. & CHIBBAR, R. 2009. Phenolic acid composition and antioxidant capacity of acid and alkali hydrolysed wheat bran fractions. *Food Chem*, 116, 947-954.
- VERZELLONI, E., PELLACANI, C., TAGLIAZUCCHI, D., TAGLIAFERRI, S., CALANI, L., COSTA, L. G., BRIGHENTI, F., BORGES, G., CROZIER, A., CONTE, A. & DEL RIO, D. 2011. Antiglycative and neuroprotective activity of colon-derived polyphenol catabolites. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55, S35-S43.
- VRANCKEN, G., RIMAUX, T., DE VUYST, L. & LEROY, F. 2008. Kinetic analysis of growth and sugar consumption by *Lactobacillus fermentum* IMDO 130101 reveals adaptation to the acidic sourdough ecosystem. *International journal of food microbiology*, 128, 58-66.
- WEBSTER, A., SCHERER, S., FABRI, K., DOUDICAN, H. & FELDER, M. 2019. *Saccharomyces cerevisiae* ferments monosaccharides faster than disaccharides. *Journal of Undergraduate Biology Laboratory Investigations*, 2.

WILSON, J., MILLER, A., HOANG, A., COLLETTE, J. & DUBOSE, T. 2019. Sucrose increases the emission of CO₂ during yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) fermentation faster than glucose. *Journal of Undergraduate Biology Laboratory Investigations*, 2.

XU, D., YIN, Y., ALI, B., ZHANG, Y., GUO, L. & XU, X. 2019a. Isolation of yeast strains from Chinese liquor Daqu and its use in the wheat sourdough bread making. *Food Bioscience*, 31, 100443.

XU, D., ZHANG, Y., TANG, K., HU, Y., XU, X. & GÄNZLE, M. 2019b. Effect of mixed cultures of yeast and lactobacilli on the quality of wheat sourdough bread. *Frontiers in microbiology*, 10, 2113.

ZAGO, E., DUBREUCQ, E., LECOMTE, J., VILLENEUVE, P., FINE, F., FULCRAND, H. & AOUF, C. 2016. Synthesis of bio-based epoxy monomers from natural allyl-and vinyl phenols and the estimation of their affinity to the estrogen receptor α by molecular docking. *New Journal of Chemistry*, 40, 7701-7710.

ZHENG, J., WITTOUCK, S., SALVETTI, E., FRANZ, C. M., HARRIS, H. M., MATTARELLI, P., O'TOOLE, P. W., POT, B., VANDAMME, P. & WALTER, J. 2020. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70, 2782-2858.

Chapitre V. Discussion générale

La filière boulangerie est en pleine transition pour répondre à la crise environnementale et économique induite par les changements climatiques et l'anthropisation grandissante du milieu. Un des leviers est d'adapter les pratiques de fermentation. Le processus de fermentation est en effet l'une des étapes les plus importantes dans la fabrication du pain, car il détermine la qualité du pain. En fonction du ferment utilisé (levure ou levain naturel), les transformations induites seront différentes, conduisant à des pains qui se démarquent nettement en terme de caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques. Dans le cas des levures, les glucides contenus dans la farine sont transformés en dioxyde de carbone, éthanol et d'autres composés aromatiques. La fermentation lactique provoquée par les bactéries lactiques du levain, conduit à la formation d'acides organiques, comme les acides lactique et/ou acétique à partir des glucides. Les différents modes de fermentation sont des savoir-faire ancestraux et les voies métaboliques des glucides et les protéines de farine ont largement été étudiées. Cependant, très peu d'intérêt a été accordé au devenir des substances bioactives contenues dans le blé, lors de la fermentation. Sans doute à cause de la présence de ces substances en faible quantité, et surtout en raison de leur absence dans la farine « dite blanche » qui est très largement consommée par rapport aux farines complètes.

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à une molécule bioactive (antioxydante) assez abondante dans le son de blé, l'acide férulique (AF), et nous avons voulu suivre sa trajectoire, du grain de blé jusqu'au pain. Nous avons accordé une attention assez particulière aux transformations qu'elle allait subir en présence des différents ferment employés en boulangerie aujourd'hui.

En conséquence trois questions scientifiques ont été abordées :

1. L'influence des espèces et des variétés de blé cultivées en agriculture biologique, ainsi que du terroir sur la teneur en AF dans le son.
2. L'influence du type de ferment (levain/levure) sur la biodisponibilité de l'AF et sa transformation en 4-VG et DHFA.
3. La transformation de l'AF par certaines levures et LAB de levain en mono- et co-culture, en milieu synthétique.

Les résultats relatifs à ces questions ont été discutés dans les chapitres précédents (sous forme d'articles). Néanmoins, nous avons souhaité étoffer ces discussions en nous penchant, dans un premier temps sur les limites de notre étude, tout en donnant quelques propositions d'amélioration. Nous discuterons ensuite du regard que nous portons sur certaines idées reçues dans le domaine de la boulangerie. Nous finirons par donner les perspectives scientifiques que nous envisageons, ainsi que quelques idées d'applications.

1. Critique de la méthodologie et des résultats

Dans la première partie de cette thèse, nous avons étudié l'influence des espèces et des variétés de blé, issues de l'agriculture biologique française, sur la teneur en AF contenu dans le son. D'un point de vue purement scientifique, ce travail manque d'originalité, puisque de nombreuses études ont été consacrées à ce sujet (Mattila et al., 2005a, Gélinas and McKinnon, 2006, Menga et al., 2010, Vaher et al., 2010, Lopes et al., 2015, Barański et al., 2020). Cependant, nous avons caractérisé le contenu en AF des variétés très utilisées par les artisans boulangers français comme Bladette de Provence, Chevalier, ou encore la variété population Rouge de Bordeaux dont le contenu en AF n'a jamais été déterminé jusqu'à présent. Ceci pourrait susciter l'intérêt des boulangers soucieux d'améliorer la qualité nutritive de leurs pains, même si notre étude reste limitée compte tenu du nombre important de variétés et de populations cultivées en France, en particulier dans le milieu paysan Bio.

Il était également prévu de comparer des variétés de blé conventionnels aux variétés biologiques, en terme de concentration en AF. Nous avions émis l'hypothèse que les variétés biologiques étaient plus riches en métabolites secondaires, tels que les polyphénols que leurs homologues conventionnelles, car il nous semblait évident qu'en absence de pesticides, ces substances bioactives sont produites en réponses aux attaques des différents pathogènes. Cependant, les études menées à ce sujet sont assez contradictoires, ce qui nous laisse penser que la question est assez complexe.

En effet, une étude comparant la teneur en composé phénoliques totaux de blés tendres de printemps cultivés en Estonie a montré que le mode de culture biologique a conduit à des variétés de blé plus riches en composés phénoliques (Vaher et al., 2010). Les mêmes résultats ont été constatés sur une étude sur des variétés de blé tendre d'hiver et de printemps cultivées en Pologne (Zuchowski et al., 2011). Une étude similaire menée en Suisse a mis en évidence

qu'il n'existait aucune différence entre les deux modes de culture, en terme de composition phénolique. Les différences ont été plutôt observée d'une année à l'autre (Stracke et al., 2009). Pour notre part, nous n'avons pas pu mener cette étude par manque de temps.

La particularité de notre travail porte sur l'étude de l'influence du terroir sur la composition en AF. Dans de nombreuses études, le terroir est confondu avec les facteurs géographiques et certains paramètres environnementaux (Yu et al., 2004, Zhou and Yu, 2004), comme les degrés de précipitations, la température, ou la sécheresse (Shewry et al., 2010, Mallick et al., 2011). Le terroir n'est pas qu'un ensemble de facteurs climatiques et environnementaux, il est également fortement associé aux pratiques agricoles, comme les rotations de cultures (Costanzo et al., 2019). Dans notre travail, nous mettons en exergue les deux aspects constituant un terroir. Les terroirs que nous avons sélectionnés (GS, LA, FM, LM) sont très proches géographiquement avec des conditions géographiques et climatiques assez similaires. Cela nous fait penser que l'effet est plutôt induit par les pratiques agricoles et les différences de sol plutôt que par les conditions climatiques.

Après avoir identifié les facteurs influençant la teneur en l'AF dans les grains de blé, nous nous sommes intéressés au rôle du type de fermentation (levain/levure ou mélange des deux) dans la libération de l'AF et sa transformation en d'autres métabolites. Nous avons donc suivi l'évolution de l'AF depuis la farine jusqu'au pain, en passant par le levain et la pâte. Nous avons montré que les différences dans la teneur en AF n'étaient pas dues au type de ferment utilisé, ce qui nous laisse suggérer que l'acidité du milieu n'a aucun effet sur la libération de l'AF. C'est plutôt la diversité de la flore microbienne présente dans les levains, qui semble à l'origine de ces différences. *Oui, mais comment ?* Les levains que nous avons utilisés contenaient différentes espèces microbiennes qui pourraient chacune avoir un métabolisme différent de transformation de l'AF. Toutefois, les levains contiennent une grande diversité intra-spécifique microbienne tant pour les levures que les LAB (Lhomme et al., 2015, Lhomme et al., 2016, Michel et al., 2016, Ripari and Gänzle, 2016, Carbonetto et al., 2018, Michel et al., 2019). Il est donc difficile d'interpréter les différences entre les ferment que nous avons employés, sans passer par une étude en milieu modèle.

Afin de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents qui régissent la transformation de l'AF en fermentation, nous avons consacré la seconde partie de cette thèse à l'étude de l'évolution de l'AF dans un milieu de levain synthétique.

Nous avons montré que les interactions entre LAB et levures induisaient des changements de comportement de ces microorganismes qui allait vers une production privilégiée de DHFA. *Ceci peut-il être extrapolé à un milieu de levain naturel ?* Le levain synthétique a été employé dans diverses études ultérieures (Vrancken et al., 2008, Vrancken et al., 2011, Aslankoohi et al., 2013, Bigey et al., 2020, OSHIRO et al., 2020) et les résultats de fermentation dans ce milieu sont en accord avec ce que nous pouvons attendre dans un milieu naturel. En effet, les souches de boulangerie y ferment mieux que les autres (Bigey et al., 2020). Toutefois, notre milieu synthétique liquide, dans lequel tous les métabolites sont à l'état libre (avec une biodisponibilité limitée, y compris l'AF) ne permet pas de rendre compte de la complexité du levain naturel. Il aurait été, donc pertinent de ré-inoculer des pâtes stériles avec des souches isolées de LAB et de levures (seules et en associations) afin de soumettre nos hypothèses à des conditions qui s'approchent plus de la réalité.

2. Quelques idées reçues et leur corrélation avec les données scientifiques

Différentes croyances et idées reçues partagées par les professionnels de la boulangerie et les consommateurs, circulent autour du pain, en particulier à l'ère du retour au bio et aux pratiques artisanales. Ces idées sont-elles toujours conformes aux données scientifiques ?

Grâce à ce travail de thèse, nous avons modestement tenté d'apporter quelques éléments de réponse, mais en restant focalisé sur l'un des nutriments présents dans le blé, l'AF.

Les variétés de blé anciennes sont plus nutritives que les variétés modernes

Notre étude, ainsi que d'autre travaux antérieurs ont montré que les variétés anciennes n'étaient pas plus riches en composés phénoliques que les variétés modernes(Kucek et al., 2015, Shewry and Hey, 2015, Antognoni et al., 2017, Arzani and Ashraf, 2017, Van Boxstael et al., 2020). Ainsi, cet argument ne peut pas être avancé pour encourager la culture des variétés anciennes.

Toutefois, les composés phénoliques restent assez minoritaires dans la composition du grain, et d'autres facteurs peuvent expliquer cet engouement croissant pour les variétés anciennes. Les variétés anciennes, cultivées souvent en populations, sont plus résistantes aux

maladies et ont, par conséquent moins besoin de pesticides, ce qui les rend moins nocives pour l'alimentation humaine. Certains artisans boulangers affirment aussi que les protéines de glutens dans les pâtes de blés anciens et de blés modernes sont différentes. En effet le travail des farines de blé ancien est souvent plus difficile pour un boulanger novice que celui des farines de variétés modernes. Toutefois, les différences de gluten restent à démontrer scientifiquement. Plusieurs projets sont actuellement en cours en France pour comparer le gluten pour un grand nombre de variété (projet Gluten : myhthe ou réalité 2, projet ANR GlutN). Ces études s'efforcent aussi de comparer les pains fais avec ces différents types de variété. En effet, la présence d'éléments nutritifs ne doit pas diminuer ou disparaître à l'issu du procédé de panification et doit pouvoir se retrouver dans les pains. Ceci dépendra des pratiques boulangères et des savoir-faire artisanaux. Outre, les qualités nutritionnelles intrinsèques des variétés anciennes, elles sont plutôt employées par des artisans boulangers engagés dans la culture bio et désireux de se défaire de l'emprise de l'industrie agroalimentaire sur la filière blé. Les blés anciens sont souvent moulus à la meule et utilisés en farine semi complète. Leur panification se fait au levain alors que les variétés modernes sont largement utilisées pour faire du pain à la levure. Tous ces facteurs (diversité au champ, type de mouture, type de fermentation...) sont donc souvent confondus quand on compare blés modernes et anciens.

Le pain au levain est meilleur au goût et bon pour la santé

Le pain au levain est une technique ancestrale qui a récemment gagné en popularité. Beaucoup de consommateurs considèrent qu'il est plus sain et plus savoureux que le pain conventionnel. L'élément majeur qui différencie le pain au levain des pains à la levure est la coexistence de microorganismes (levures et bactéries) lors de l'étape de fermentation. Cette coexistence peut être à l'origine de transformations qui ne se produisent pas ou peu lorsque les levures sont seules.

A titre d'exemple, une enquête menée sur un panel de starters isolés de levains australiens a montré que les associations de levures telles que *S. cerevisiae* et *K. exigui* avec des LAB (*Lactiplantibacillus plantarum*, *Levilactobacillus brevis*, *Furfurilactobacillus rossiae*,

Lacticaseibacillus casei) exacerberaient les arômes des pains correspondants (Winters et al., 2019). Aussi, les arômes généralement produits par *S. cerevisiae*, comme 1-propanol, 2-méthyl-1-propanol et 3-méthyl-1-butanol sont plus concentrés lorsque la levure est associée à la bactérie *F. sanfranciscensis* (Gobbetti et al., 1995, Damiani et al., 1996). Concernant la durée de conservation, il a été montré que l'association des souches *L. plantarum* 21B et *S. cerevisiae* 141 retardait la contamination fongique des pains et permettait leur stockage jusqu'à sept jours à température ambiante contre deux jours seulement avec *S. cerevisiae* seule (Lavermicocca et al., 2000).

En effet, les bactéries lactiques apportent de l'acidité au pain et lui permettent de se conserver plus longtemps (Gänzle, 2015). D'un point de vue nutritif, il a été démontré que la présence des bactéries contribuait à la production de peptides antioxydants, à travers la protéolyse des protéines du blé (Coda et al., 2012). En diminuant le pH du milieu, les LAB favorisent aussi la dégradation de l'acide phytique, facilitant ainsi la biodisponibilité des minéraux (Lopez et al., 2000, De Angelis et al., 2003, Reale et al., 2004, Gobbetti et al., 2014). Notre étude va dans le sens des observations précédentes, puisque nous avons montré que les combinaisons levures/LAB étaient plus promptes à métaboliser, de manière sélective, l'AF que les microorganismes seuls. Il reste à prouver que ce comportement persiste dans un milieu naturel et que les métabolites formés ne disparaissent pas pendant la cuisson. Dans la pâte à pain, la combinaison de bactéries et de levures pourrait aussi améliorer la biodisponibilité de l'AF. Des études sur la fermentation du riz ont montré que la co-culture des souches de *L. plantarum*, *L. fermentum* et *S. cerevisiae* pour la fermentation de riz brun améliore la bioaccessibilité des composés phénoliques et augmente de plus de 10 fois la teneur en acide vanillique (Khan et al., 2020). Cela peut améliorer la qualité nutritionnelle du pain au levain.

3. Perspectives scientifiques

Dans le chapitre IV, nous avons montré que les levures du genre *Kazachstania* n'étaient pas capables de transformer l'AF alors que toutes les souches de *S. cerevisiae* l'étaient. Il serait intéressant d'analyser par PCR si le gène codant pour l'activité décarboxylase de l'AF, est présent chez les *Kazachstania*.

En effet la séquence de la décarboxylase de l’AF est connue chez *S. cerevisiae* (*FDC1*, Ferulic acid decarboxylase, <https://www.yeastgenome.org/locus/S000002947>) et pourrait être utilisée pour désigner des amorces PCR. On pourrait aussi voir si la présence de *FDC1* est spécifique des souches de levain chez *S. cerevisiae* ou si la séquence de *FDC1* diverge entre souches de levain et souches provenant d’environnements qui ne contiennent pas d’AF. Plus de 1000 souches de *S. cerevisiae* ont été séquencées, dont 63 souches de boulangerie (Peter et al., 2018, Bigey et al., 2020). Les génomes sont donc disponibles et il serait possible de rechercher le gène codant pour l’activité décarboxylase.

De même, nous avons montré que certaines souches de bactéries lactiques n’étaient pas capables de consommer l’AF. Il serait intéressant de cribler notre collection de LAB pour la présence de gène codant pour la décarboxylase (*PDC*) comme cela a été fait par Ripari et al 2018 (*PDC* gene, (Ripari et al., 2019)).

Enfin, nos résultats montrent que le métabolisme de l’AF diffère en co-culture et monoculture. Ceci nous a conduit à emmèner l’hypothèse que la présence des levures, induisait un changement dans l’expression des gènes chez les LAB, avec une surexpression de l’activité réductase. Afin d’évaluer cette hypothèse, il serait intéressant d’analyser les variations d’expression des gènes impliqués dans le métabolisme de l’AF chez les levures et les LAB, en mono- et co-culture. Pour cela, il faudrait extraire les ARN de mono- et co-culture et quantifier les ARN issus de l’expression des gènes décarboxylase et réductase par PCR quantitative. Une autre possibilité serait de faire de la transcriptomique ou du RNASeq sur l’ensemble des ARN des mono- et des co-cultures. Cette approche nous permettrait d’analyser les changements d’expression de gènes induits par les co-cultures au-delà des activités décarboxylase et réductase. Pour l’instant, cette étude serait possible pour l’espèce *S. cerevisiae* dont nous avons le génome.

Les génomes de *K. bulderi* et *K. humilis* sont en cours d’obtention. Concernant les LAB, des génomes de références sont décrits en littérature pour *F. sanfranciscensis* et *L. plantarum* (Vogel et al., 2011, Ladero et al., 2013), ainsi que pour *L. xiangfangensis*, *L. sakei*, *L. hammesii*, *L. curvatus* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

L’étude que nous avons menée en milieu modèle, en présence d’AF libre ne traduit pas totalement ce qui peut se passer dans des milieux complexes contenant des farines complètes

ou semi-complètes. Il est donc nécessaire d'étudier le comportement de ces associations de microorganismes face à de l'AF lié, évoluant dans un milieu complexe.

Nous proposons de réaliser des fermentations en mono- et co-cultures, en augmentant graduellement la complexité du milieu. Dans un premier temps, nous pourrions examiner l'effet des microorganismes sur la libération et la transformation de l'AF, à partir de la couche aleurone, qui peut être obtenue par broyage et séparation électrostatique et triboélectrique (Chen et al., 2013, Chen et al., 2020).

Dans un second temps, nous pourrions étudier la fermentation du son en entier. Enfin, le devenir de l'AF pourrait être suivi au cours des différentes étapes de panification, de la production de la farine, jusqu'à la cuisson du pain.

Si nous entreprenons ce travail, il serait intéressant de nous pencher sur deux questions essentielles :

- Est-il pertinent d'utiliser les variétés de blé les plus riches en AF pour produire des pains complets au levain, en sachant que la présence de l'AF libre à certaines concentrations peut inhiber les microorganismes présents ? la réponse à cette question dépendra des microorganismes starter (puisque la concentration inhibitrice est dépendante des microorganismes (Sánchez-Maldonado et al., 2011, Hou et al., 2018) et de leur capacité à libérer l'AF.
- Dans le cas où les microorganismes employés soient capables de libérer et de métaboliser l'AF, quelles seraient les concentrations en DHFA et 4-VG dans les pains, et quelle serait la conséquence sur leur qualité ? Des analyses sensorielles devraient être associées à ce travail, pour répondre à cette question.

4. Sur une échelle d'application

A travers les résultats obtenus au cours de cette thèse, nous pouvons guider certains artisans boulanger à la recherche de moyens pour améliorer ou augmenter les constituants antioxydants et/ou aromatiques dans leurs pains. Nous pouvons les orienter dans leurs choix

des variétés de blé les plus riches en antioxydants, comme nous pouvons préférentiellement leur proposer de réaliser une étude plus approfondie sur l'effet du terroir, afin de détecter les interactions potentielles entre terroirs et variétés. Nous serions également en mesure de les accompagner au cours des différentes étapes de panification, en élargissant notre étude, à l'analyse de l'AF et des différents arômes produits, et leur lien avec les levains employés.

Cette thèse amène aussi des éléments intéressants pour la construction de starter levain synthétique composé de couple levure/bactérie. Elle aide au choix de souches qui pourraient être pertinentes. La production de levain synthétique représente une piste d'innovation très intéressante qui fait l'objet de nombreuses recherche et développement dans les entreprises de production de ferment.

Références

- ABDEL-AAL, E.-S., HUCL, P., SOSULSKI, F., GRAF, R., GILLOTT, C. & PIETRZAK, L. 2001. Screening spring wheat for midge resistance in relation to ferulic acid content. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49, 3559-3566.
- ABDEL-AAL, E.-S. M. & RABALSKI, I. 2008. Bioactive compounds and their antioxidant capacity in selected primitive and modern wheat species. *The Open agriculture journal*, 2.
- ACHTERHOLT, S., PRIEFERT, H. & STEINBÜCHEL, A. 2000. Identification of Amycolatopsis sp. strain HR167 genes, involved in the bioconversion of ferulic acid to vanillin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54, 799-807.
- ADEBO, O. A. & GABRIELA MEDINA-MEZA, I. 2020. Impact of fermentation on the phenolic compounds and antioxidant activity of whole cereal grains: A mini review. *Molecules*, 25, 927.
- ADEBO, O. A., NJOBEH, P. B., ADEBIYI, J. A., GBASHI, S., PHOKU, J. Z. & KAYITESI, E. 2017. Fermented pulse-based food products in developing nations as functional foods and ingredients. *Functional Food—Improve Health through Adequate Food; Hueda, MC, Ed*, 77-109.
- ADEBOYE, P. T., BETTIGA, M., ALDAEUS, F., LARSSON, P. T. & OLSSON, L. 2015. Catabolism of coniferyl aldehyde, ferulic acid and p-coumaric acid by *Saccharomyces cerevisiae* yields less toxic products. *Microbial cell factories*, 14, 149.
- ADEBOYE, P. T., BETTIGA, M. & OLSSON, L. 2017. ALD5, PAD1, ATF1 and ATF2 facilitate the catabolism of coniferyl aldehyde, ferulic acid and p-coumaric acid in *Saccharomyces cerevisiae*. *Scientific reports*, 7, 42635.
- ALBERGAMO, A., BUA, G. D., ROTONDO, A., BARTOLOMEO, G., ANNUARIO, G., COSTA, R. & DUGO, G. 2018. Transfer of major and trace elements along the “farm-to-fork” chain of different whole grain products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 212-220.
- ALFONZO, A., MICELI, C., NASCA, A., FRANCIOSI, E., VENTIMIGLIA, G., DI GERLANDO, R., TUOHY, K., FRANCESCA, N., MOSCHETTI, G. & SETTANNI, L. 2017. Monitoring of wheat lactic acid bacteria from the field until the first step of dough fermentation. *Food microbiology*, 62, 256-269.
- ALI, S. M. M., AZAD, M. A. K., JESMIN, M., AHSAN, S., RAHMAN, M. M., KHANAM, J. A., ISLAM, M. N. & SHAHRIAR, S. M. S. 2012. In vivo anticancer activity of vanillin semicarbazone. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2, 438-442.

- AMIĆ, A., MARKOVIĆ, Z., KLEIN, E., DIMITRIĆ MARKOVIĆ, J. M. & MILENKOVIĆ, D. 2018. Theoretical study of the thermodynamics of the mechanisms underlying antiradical activity of cinnamic acid derivatives. *Food Chemistry*, 246, 481-489.
- ANDERSSON, A. A., ANDERSSON, R., PIIRONEN, V., LAMPI, A.-M., NYSTRÖM, L., BOROS, D., FRAŚ, A., GEBRUERS, K., COURTIN, C. M. & DELCOUR, J. A. 2013. Contents of dietary fibre components and their relation to associated bioactive components in whole grain wheat samples from the HEALTHGRAIN diversity screen. *Food Chemistry*, 136, 1243-1248.
- ANDREONI, V. & BESTETTI, G. 1988. Ferulic acid degradation encoded by a catabolic plasmid. *FEMS Microbiology Ecology*, 4, 129-132.
- ANSON, N. M., SELINHEIMO, E., HAVENAAR, R., AURA, A.-M., MATTILA, I., LEHTINEN, P., BAST, A., POUTANEN, K. & HAENEN, G. R. 2009. Bioprocessing of wheat bran improves in vitro bioaccessibility and colonic metabolism of phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57, 6148-6155.
- ANTOGNONI, F., MANDRIOLI, R., BORDONI, A., DI NUNZIO, M., VIADEL, B., GALLEGÓ, E., VILLALBA, M. P., TOMÁS-COBOS, L., TANEYO SAA, D. L. & GIANOTTI, A. 2017. Integrated evaluation of the potential health benefits of einkorn-based breads. *Nutrients*, 9, 1232.
- ANTOINE, C., PEYRON, S., LULLIEN-PELLERIN, V., ABECASSIS, J. & ROUAU, X. 2004. Wheat bran tissue fractionation using biochemical markers. *Journal of cereal science*, 39, 387-393.
- ANTOINE, C., PEYRON, S., MABILLE, F., LAPIERRE, C., BOUCHET, B., ABECASSIS, J. & ROUAU, X. 2003. Individual contribution of grain outer layers and their cell wall structure to the mechanical properties of wheat bran. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51, 2026-2033.
- ARENKT, E. & ZANNINI, E. 2013. Wheat and other *Triticum* grains. *Cereal grains for the food and beverage industries*, 1.
- ARRANZ, S. & CALIXTO, F. S. 2010. Analysis of polyphenols in cereals may be improved performing acidic hydrolysis: A study in wheat flour and wheat bran and cereals of the diet. *Journal of cereal science*, 51, 313-318.
- ARZANI, A. & ASHRAF, M. 2017. Cultivated ancient wheats (*Triticum* spp.): a potential source of health-beneficial food products. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 16: 477–488.
- ASLANKOOHI, E., ZHU, B., REZAEI, M. N., VOORDECKERS, K., DE MAEYER, D., MARCHAL, K., DORNEZ, E., COURTIN, C. M. & VERSTREPEN, K. J. 2013.

- Dynamics of the *Saccharomyces cerevisiae* transcriptome during bread dough fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 79, 7325-7333.
- AUNE, D., KEUM, N., GIOVANNUCCI, E., FADNES, L. T., BOFFETTA, P., GREENWOOD, D. C., TONSTAD, S., VATTEN, L. J., RIBOLI, E. & NORAT, T. 2016. Whole grain consumption and risk of cardiovascular disease, cancer, and all cause and cause specific mortality: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *bmj*, 353.
- AVNI, R., NAVI, M., BARAD, O., BARUCH, K., TWARDZIOK, S. O., GUNDLACH, H., HALE, I., MASCHER, M., SPANNAGL, M. & WIEBE, K. 2017. Wild emmer genome architecture and diversity elucidate wheat evolution and domestication. *Science*, 357, 93-97.
- BALLI, D., BELLUMORI, M., PAOLI, P., PIERACCINI, G., DI PAOLA, M., DE FILIPPO, C., DI GIOIA, D., MULINACCI, N. & INNOCENTI, M. 2019. Study on a fermented whole wheat: Phenolic content, activity on PTP1B enzyme and in vitro prebiotic properties. *Molecules*, 24, 1120.
- BANERJEE, G. & CHATTOPADHYAY, P. 2019. Vanillin biotechnology: the perspectives and future. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99, 499-506.
- BARAŃSKI, M., LACKO-BARTOŠOVÁ, M., REMBIAŁKOWSKA, E. & LACKO-BARTOŠOVÁ, L. 2020. The Effect of Species and Cultivation Year on Phenolic Acids Content in Ancient Wheat. *Agronomy*, 10, 673.
- BARBEROUSSE, H., KAMOUN, A., CHAABOUNI, M., GIET, J. M., ROISEUX, O., PAQUOT, M., DEROANNE, C. & BLECKER, C. 2009. Optimization of enzymatic extraction of ferulic acid from wheat bran, using response surface methodology, and characterization of the resulting fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 1634-1641.
- BARRON, C., SURGET, A. & ROUAU, X. 2007. Relative amounts of tissues in mature wheat (*Triticum aestivum* L.) grain and their carbohydrate and phenolic acid composition. *Journal of cereal science*, 45, 88-96.
- BARTHELMEBS, L., DIVIES, C. & CAVIN, J.-F. 2000. Knockout of the p-coumarate decarboxylase gene from *Lactobacillus plantarum* reveals the existence of two other inducible enzymatic activities involved in phenolic acid metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 3368-3375.
- BARTOLOMÉ, B., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., SANCHO, A. I., DÍEZ, N., FERREIRA, P., SOLIVERI, J. & COPA-PATIÑO, J. L. 2003. Growth and release of hydroxycinnamic

- acids from brewer's spent grain by *Streptomyces avermitilis* CECT 3339. *Enzyme and Microbial Technology*, 32, 140-144.
- BATISTA, R. 2014. Uses and potential applications of ferulic acid. *Ferulic Acid: Antioxidant Properties, Uses and Potential Health Benefits; Warren, B., Ed*, 39-70.
- BELDEROK, B. 2000. Developments in bread-making processes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 55, 1-14.
- BENITO-ROMÁN, Ó., ALVAREZ, V. H., ALONSO, E., COCERO, M. J. & SALDAÑA, M. D. 2015. Pressurized aqueous ethanol extraction of β-glucans and phenolic compounds from waxy barley. *Food research international*, 75, 252-259.
- BETA, T., NAM, S., DEXTER, J. E. & SAPIRSTEIN, H. D. 2005. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chemistry*, 82, 390-393.
- BETA, T., QIU, Y., LIU, Q., BORGEN, A. & APEA-BAH, F. B. 2020. Purple Wheat (*Triticum* sp.) Seeds: Phenolic Composition and Antioxidant Properties. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. Elsevier.
- BIGEY, F., SEGOND, D., FRIEDRICH, A., GUEZENEC, S., BOURGAIS, A., HUYGHE, L., AGIER, N., NIDELET, T. & SICARD, D. 2020. Evidence for two main domestication trajectories in *Saccharomyces cerevisiae* linked to distinct bread-making processes. *bioRxiv*.
- BIRCH, A. N., PETERSEN, M. A. & HANSEN, Å. S. 2013. The aroma profile of wheat bread crumb influenced by yeast concentration and fermentation temperature. *LWT - Food Science and Technology*, 50, 480-488.
- BLOEM, A., ROLLERO, S., SEGUINOT, P., CRÉPIN, L., PEREZ, M., PICOU, C. & CAMARASA, C. 2018. Workflow based on the combination of isotopic tracer experiments to investigate microbial metabolism of multiple nutrient sources. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, e56393.
- BORGES, A., FERREIRA, C., SAAVEDRA, M. J. & SIMOES, M. 2013. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microbial drug resistance*, 19, 256-265.
- BOUKID, F., FOLLONI, S., RANIERI, R. & VITTADINI, E. 2018. A compendium of wheat germ: Separation, stabilization and food applications. *Trends in food science & technology*, 78, 120-133.
- BOZ, H. 2015. Ferulic acid in cereals-a review. *Czech Journal of Food Sciences*, 33, 1-7.

- BRINCH-PEDERSEN, H., SØRENSEN, L. D. & HOLM, P. B. 2002. Engineering crop plants: getting a handle on phosphate. *Trends in plant science*, 7, 118-125.
- BROUNS, F., HEMERY, Y., PRICE, R. & ANSON, N. M. 2012. Wheat aleurone: separation, composition, health aspects, and potential food use. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52, 553-568.
- BURANOV, A. U. & MAZZA, G. 2009. Extraction and purification of ferulic acid from flax shives, wheat and corn bran by alkaline hydrolysis and pressurised solvents. *Food Chemistry*, 115, 1542-1548.
- CĂLINOIU, L. F. & VODNAR, D. C. 2020. Thermal processing for the release of phenolic compounds from wheat and oat bran. *Biomolecules*, 10, 21.
- CALISTI, C., FICCA, A. G., BARGHINI, P. & RUZZI, M. 2008. Regulation of ferulic catabolic genes in *Pseudomonas fluorescens* BF13: involvement of a MarR family regulator. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80, 475-483.
- CALZUOLA, I., PERNI, S., CAPRARÀ, G., GIANFRANCESCHI, G. & MARSILI, V. 2013. A comparative study of the antioxidant activity of rice, wheat and spelt. *Progress in Nutrition*, 15, 194-205.
- CAMPBELL, G. M. 2007. Roller milling of wheat. *Handbook of powder technology*, 12, 383-419.
- CAMPBELL, G. M., FANG, C. & MUHAMAD, I. 2007. On predicting roller milling performance VI: Effect of kernel hardness and shape on the particle size distribution from first break milling of wheat. *Food and Bioproducts Processing*, 85, 7-23.
- CAO, X., CUI, Y., LIAO, X., ZHOU, G. & THAMM, L. 2010. Gene cloning of phenolic acid decarboxylase from *Bacillus subtilis* and expression in top-fermenting yeast strain. *African Journal of Biotechnology*, 9.
- CAPPELLI, A., CINI, E., GUERRINI, L., MASELLA, P., ANGELONI, G. & PARENTI, A. 2018. Predictive models of the rheological properties and optimal water content in doughs: An application to ancient grain flours with different degrees of refining. *Journal of cereal science*, 83, 229-235.
- CARBONETTO, B., NIDELET, T., GUEZENEC, S., PEREZ, M., SEGOND, D. & SICARD, D. 2020. Interactions between Kazachstania humilis Yeast Species and Lactic Acid Bacteria in Sourdough. *Microorganisms*, 8, 240.
- CARBONETTO, B., RAMSAYER, J., NIDELET, T., LEGRAND, J. & SICARD, D. 2018. Bakery yeasts, a new model for studies in ecology and evolution. *Yeast*, 35, 591-603.

- CARDOSO, R. V., FERNANDES, Â., HELENO, S. A., RODRIGUES, P., GONZALÉZ-PARAMÁS, A. M., BARROS, L. & FERREIRA, I. C. 2019. Physicochemical characterization and microbiology of wheat and rye flours. *Food Chemistry*, 280, 123-129.
- CARSON, G. R. & EDWARDS, N. M. 2009. Criteria of wheat and flour quality. *Wheat: chemistry and technology*, 97-118.
- CASABIANCA, F., SYLVANDER, B., NOËL, Y., BERANGER, C., COULON, J.-B., GIRAUD, G., FLUTET, G., RONCIN, F. & VINCENT, E. 2006. Terroir et typicité: propositions de définitions pour deux notions essentielles à l'appréhension des Indications Géographiques et du développement durable. *VIe Congrès international sur les terroirs viticoles, Bordeaux-Montpellier*, 2.
- CATZEDDU, P. 2019. Sourdough breads. *Flour and breads and their fortification in health and disease prevention*. Elsevier.
- CAVA-RODA, R. M., TABOADA-RODRÍGUEZ, A., VALVERDE-FRANCO, M. T. & MARÍN-INIESTA, F. 2012. Antimicrobial activity of vanillin and mixtures with cinnamon and clove essential oils in controlling *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 in milk. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2120-2131.
- CAVALIERI, D., MCGOVERN, P. E., HARTL, D. L., MORTIMER, R. & POLSINELLI, M. 2003. Evidence for *S. cerevisiae* fermentation in ancient wine. *Journal of molecular evolution*, 57, S226-S232.
- CHATTOPADHYAY, P., BANERJEE, G. & SEN, S. K. 2018. Cleaner production of vanillin through biotransformation of ferulic acid esters from agroresidue by *Streptomyces sannanensis*. *Journal of Cleaner Production*, 182, 272-279.
- CHAVAN, R. S. & CHAVAN, S. R. 2011. Sourdough technology—a traditional way for wholesome foods: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10, 169-182.
- CHEN, Y., ZHANG, R., LIU, C., ZHENG, X. & LIU, B. 2016. Enhancing antioxidant activity and antiproliferation of wheat bran through steam flash explosion. *Journal of food science and technology*, 53, 3028-3034.
- CHEN, Z., MA, Y., YANG, R., GU, Z. & WANG, P. 2019. Effects of exogenous Ca²⁺ on phenolic accumulation and physiological changes in germinated wheat (*Triticum aestivum* L.) under UV-B radiation. *Food Chemistry*, 288, 368-376.

- CHEN, Z., XIA, Q., ZHA, B., SUN, J., XU, B. & CHEN, Z. 2020. Triboelectric separation of wheat bran tissues: Influence of tribo-material, water content, and particle size. *Journal of Food Process Engineering*, 43, e13346.
- CHEN, Z., ZHA, B., WANG, L., WANG, R., CHEN, Z. & TIAN, Y. 2013. Dissociation of aleurone cell cluster from wheat bran by centrifugal impact milling. *Food research international*, 54, 63-71.
- CHERIF, M. M., GRIGORAKIS, S., HALAHLAH, A., LOUPASSAKI, S. & MAKRIS, D. P. 2020. High-efficiency Extraction of Phenolics from Wheat Waste Biomass (Bran) by Combining Deep Eutectic Solvent, Ultrasound-assisted Pretreatment and Thermal Treatment. *Environmental Processes*.
- CHIANG, L.-C., NG, L. T., CHIANG, W., CHANG, M.-Y. & LIN, C.-C. 2003. Immunomodulatory activities of flavonoids, monoterpenoids, triterpenoids, iridoid glycosides and phenolic compounds of *Plantago* species. *Planta Medica*, 69, 600-604.
- CHOPRA, V. & PRAKASH, S. 2002. *Evolution and adaptation of cereal crops*, Science Publishers, Inc.
- CLARK, M. J. & SLAVIN, J. L. 2013. The effect of fiber on satiety and food intake: a systematic review. *Journal of the American College of Nutrition*, 32, 200-211.
- CLAUSEN, M., LAMB, C. J., MEGNET, R. & DOERNER, P. W. 1994. PAD1 encodes phenylacrylic acid decarboxylase which confers resistance to cinnamic acid in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene*, 142, 107-112.
- CLUZEL, A. 2009. Le Terroir, un enseignement d'avenir. *Mémoire de master «Histoire, philosophie et didactique des sciences»*, Université Montpellier, 2.
- CODA, R., KATINA, K. & RIZZELLO, C. G. 2015. Bran bioprocessing for enhanced functional properties. *Current Opinion in Food Science*, 1, 50-55.
- CODA, R., RIZZELLO, C. G., PINTO, D. & GOBBETTI, M. 2012. Selected lactic acid bacteria synthesize antioxidant peptides during sourdough fermentation of cereal flours. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 1087-1096.
- COGHE, S., BENOOT, K., DELVAUX, F., VANDERHAEGEN, B. & DELVAUX, F. R. 2004. Ferulic acid release and 4-vinylguaiacol formation during brewing and fermentation: indications for feruloyl esterase activity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52, 602-608.
- CONVERTI, A., ALIAKBARIAN, B., DOMÍNGUEZ, J., VÁZQUEZ, G. B. & PEREGO, P. 2010. Microbial production of biovanillin. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 519-530.

- COSTANZO, A., AMOS, D. C., DINELLI, G., SFERRAZZA, R. E., ACCORSI, G., NEGRI, L. & BOSI, S. 2019. Performance and Nutritional Properties of Einkorn, Emmer and Rivet Wheat in Response to Different Rotational Position and Soil Tillage. *Sustainability*, 11, 6304.
- CUBADDA, F., AURELI, F., RAGGI, A. & CARCEA, M. 2009. Effect of milling, pasta making and cooking on minerals in durum wheat. *Journal of cereal science*, 49, 92-97.
- CVIJANOVIĆ, D., IGNJATIJEVIĆ, S., VAPA TANKOSIĆ, J. & CVIJANOVIĆ, V. 2020. Do Local Food Products Contribute to Sustainable Economic Development? *Sustainability*, 12, 2847.
- CZAJA, T., SOBOTA, A. & SZOSTAK, R. 2020. Quantification of Ash and Moisture in Wheat Flour by Raman Spectroscopy. *Foods*, 9, 280.
- DAMIANI, P., GOBBETTI, M., COSSIGNANI, L., CORSETTI, A., SIMONETTI, M. & ROSSI, J. 1996. The sourdough microflora. Characterization of hetero-and homofermentative lactic acid bacteria, yeasts and their interactions on the basis of the volatile compounds produced. *LWT-food science and technology*, 29, 63-70.
- DANIEL, D., ANA, R., JEREMY, P., MASSIMILIANO, T., GINA, B. & ALAN, C. 2013. Dietary (poly) phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid Redox Signaling*, 18, 1818-1892.
- DE ANGELIS, M., GALLO, G., CORBO, M. R., MCSWEENEY, P. L., FACCIA, M., GIOVINE, M. & GOBBETTI, M. 2003. Phytase activity in sourdough lactic acid bacteria: purification and characterization of a phytase from *Lactobacillus sanfranciscensis* CB1. *International Journal of Food Microbiology*, 87, 259-270.
- DE MUNTER, J. S., HU, F. B., SPIEGELMAN, D., FRANZ, M. & VAN DAM, R. M. 2007. Whole grain, bran, and germ intake and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study and systematic review. *PLoS Med*, 4, e261.
- DE VRIES, R. 2003. Regulation of *Aspergillus* genes encoding plant cell wall polysaccharide-degrading enzymes; relevance for industrial production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61, 10-20.
- DE VRIES, R. P. & VISSER, J. 2001. *Aspergillus* enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. *Microbiology and molecular biology reviews*, 65, 497-522.
- DE VUYST, L. & NEYSENS, P. 2005. The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends in food science & technology*, 16, 43-56.
- DE VUYST, L., SCHRIJVERS, V., PARAMITHIOTIS, S., HOSTE, B., VANCANNEYT, M., SWINGS, J., KALANTZOPOULOS, G., TSAKALIDOU, E. & MESSENS, W. 2002.

The biodiversity of lactic acid bacteria in Greek traditional wheat sourdoughs is reflected in both composition and metabolite formation. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 6059-6069.

DE VUYST, L., VAN KERREBROECK, S., HARTH, H., HUYS, G., DANIEL, H.-M. & WECKX, S. 2014. Microbial ecology of sourdough fermentations: diverse or uniform? *Food microbiology*, 37, 11-29.

DE VUYST, L., VAN KERREBROECK, S. & LEROY, F. 2017. Microbial ecology and process technology of sourdough fermentation. *Advances in applied microbiology*. Elsevier.

DECOCK, P. & CAPPELLE, S. 2005. Bread technology and sourdough technology. *Trends in food science & technology*, 16, 113-120.

DĘDEK, K., ROSICKA-KACZMAREK, J., NEBESNY, E. & KOWALSKA, G. 2019. Characteristics and biological properties of ferulic acid. *Biotechnology and Food Science*, 83.

DEGRASSI, G., DE LAURETO, P. P. & BRUSCHI, C. V. 1995. Purification and characterization of ferulate and p-coumarate decarboxylase from *Bacillus pumilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 326-332.

DELCOUR, J. A. & HOSENEY, R. C. 2010. Principles of cereal science and technology.

DELOBEL, J., PRUDENT, M., RUBIN, O., CRETTEZ, D., TISSOT, J.-D. & LION, N. 2012. Subcellular fractionation of stored red blood cells reveals a compartment-based protein carbonylation evolution. *Journal of Proteomics*, 76, 181-193.

DEMYANCHUK, A., GRUNDAS, S. & VELIKANOV, L. 2013. Identification of wheat morphotype and variety based on x-ray images of Kernels. *Adv. Agrophys. Res*, 10, 223-267.

DEROOVER, L., TIE, Y., VERSPREET, J., COURTIN, C. M. & VERBEKE, K. 2020. Modifying wheat bran to improve its health benefits. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60, 1104-1122.

DI LORETO, A., BOSI, S., MONTERO, L., BREGOLA, V., MAROTTI, I., SFERRAZZA, R. E., DINELLI, G., HERRERO, M. & CIFUENTES, A. 2018. Determination of phenolic compounds in ancient and modern durum wheat genotypes. *Electrophoresis*, 39, 2001-2010.

DI SILVESTRO, R., DI LORETO, A., MAROTTI, I., BOSI, S., BREGOLA, V., GIANOTTI, A., QUINN, R. & DINELLI, G. 2014. Effects of flour storage and heat generated during

- milling on starch, dietary fibre and polyphenols in stoneground flours from two durum-type wheats. *International Journal of Food Science & Technology*, 49, 2230-2236.
- DINELLI, G., SEGURA-CARRETERO, A., DI SILVESTRO, R., MAROTTI, I., ARRÁEZ-ROMÁN, D., BENEDETELLI, S., GHISELLI, L. & FERNADEZ-GUTIERREZ, A. 2011. Profiles of phenolic compounds in modern and old common wheat varieties determined by liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218, 7670-7681.
- DOBLADO-MALDONADO, A. F. 2012. New Technologies for Whole Wheat Processing: Addressing Milling and Storage Issues.
- DOBLADO-MALDONADO, A. F., PIKE, O. A., SWELEY, J. C. & ROSE, D. J. 2012. Key issues and challenges in whole wheat flour milling and storage. *Journal of cereal science*, 56, 119-126.
- DORNEZ, E., HOLOPAINEN, U., CUYVERS, S., POUTANEN, K., DELCOUR, J. A., COURTIN, C. M. & NORDLUND, E. 2011. Study of grain cell wall structures by microscopic analysis with four different staining techniques. *Journal of cereal science*, 54, 363-373.
- DOST, K. & TOKUL, O. 2006. Determination of phytic acid in wheat and wheat products by reverse phase high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 558, 22-27.
- DUBCOVSKY, J. & DVORAK, J. 2007. Genome plasticity a key factor in the success of polyploid wheat under domestication. *Science*, 316, 1862-1866.
- DZIALO, M. C., PARK, R., STEENSELS, J., LIEVENS, B. & VERSTREPEN, K. J. 2017. Physiology, ecology and industrial applications of aroma formation in yeast. *FEMS Microbiology Reviews*, 41, S95-S128.
- EDEN, S., BEAR, C. & WALKER, G. 2008. Mucky carrots and other proxies: problematising the knowledge-fix for sustainable and ethical consumption. *Geoforum*, 39, 1044-1057.
- EDLIN, D. A., NARBAD, A., DICKINSON, J. R. & LLOYD, D. 1995. The biotransformation of simple phenolic compounds by *Brettanomyces anomalus*. *FEMS microbiology letters*, 125, 311-315.
- EDWARDS, N. M., PERESSINI, D., DEXTER, J. E. & MULVANEY, S. J. 2001. Viscoelastic properties of durum wheat and common wheat dough of different strengths. *Rheologica Acta*, 40, 142-153.

- ESTEBAN-TORRES, M., REVERÓN, I., MANCHEÑO, J. M., DE LAS RIVAS, B. & MUÑOZ, R. 2013. Characterization of a feruloyl esterase from *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 79, 5130-5136.
- EVERS, T. & MILLAR, S. 2002. Cereal grain structure and development: some implications for quality. *Journal of cereal science*, 36, 261-284.
- FALCONNIER, B., LAPIERRE, C., LESAGE-MEESSEN, L., YONNET, G., BRUNERIE, P., COLONNA-CECCALDI, B., CORRIEU, G. & ASTHER, M. 1994. Vanillin as a product of ferulic acid biotransformation by the white-rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus* I-937: identification of metabolic pathways. *Journal of Biotechnology*, 37, 123-132.
- FARDET, A. 2010. New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: what is beyond fibre? *Nutrition research reviews*, 23, 65-134.
- FARDET, A. 2017. New concepts and paradigms for the protective effects of plant-based food components in relation to food complexity. *Vegetarian and plant-based diets in health and disease prevention*. Elsevier.
- FAZARY, A. E. & JU, Y.-H. 2013. The large-scale use of feruloyl esterases in industry. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 3, 95-110.
- FAZARY, A. E. & JU, Y. H. 2007. Feruloyl esterases as biotechnological tools: current and future perspectives. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39, 811-828.
- FEILLET, P. 2000. *Le grain de blé: composition et utilisation*, Editions Quae.
- FERNANDEZ-OROZCO, R., LI, L., HARFLETT, C., SHEWRY, P. R. & WARD, J. L. 2010. Effects of environment and genotype on phenolic acids in wheat in the HEALTHGRAIN diversity screen. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58, 9341-9352.
- FICCO, D. B. M., DE SIMONE, V., DE LEONARDIS, A. M., GIOVANNIELLO, V., DEL NOBILE, M. A., PADALINO, L., LECCE, L., BORRELLI, G. M. & DE VITA, P. 2016. Use of purple durum wheat to produce naturally functional fresh and dry pasta. *Food Chemistry*, 205, 187-195.
- FILANNINO, P., GOBBETTI, M., DE ANGELIS, M. & DI CAGNO, R. 2014a. Hydroxycinnamic Acids Used as External Acceptors of Electrons: an Energetic Advantage for Strictly Heterofermentative Lactic Acid Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 7574-7582.
- FILANNINO, P., GOBBETTI, M., DE ANGELIS, M. & DI CAGNO, R. 2014b. Hydroxycinnamic acids used as external acceptors of electrons: an energetic advantage

- for strictly heterofermentative lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 80, 7574-7582.
- FINCHER, G. & STONE, B. 1986. Cell walls and their components in cereal grain technology. *Advances in cereal science and technology*, 8, 207-295.
- FINNIE, S. & ATWELL, W. A. 2016. *Wheat Flour*, American Association of Cereal Chemists, Inc (AACC).
- FITZGERALD, D., STRATFORD, M., GASSON, M., UECKERT, J., BOS, A. & NARBAD, A. 2004. Mode of antimicrobial action of vanillin against Escherichia coli, Lactobacillus plantarum and Listeria innocua. *Journal of Applied Microbiology*, 97, 104-113.
- FLEIGE, C., HANSEN, G., KROLL, J. & STEINBÜCHEL, A. 2013. Investigation of the Amycolatopsis sp. strain ATCC 39116 vanillin dehydrogenase and its impact on the biotechnical production of vanillin. *Appl. Environ. Microbiol.*, 79, 81-90.
- FREY-KLETT, P., BURLINSON, P., DEVEAU, A., BARRET, M., TARKKA, M. & SARNIGUET, A. 2011. Bacterial-fungal interactions: hyphens between agricultural, clinical, environmental, and food microbiologists. *Microbiology and molecular biology reviews*, 75, 583-609.
- FUNG, T. T., HU, F. B., PEREIRA, M. A., LIU, S., STAMPFER, M. J., COLDITZ, G. A. & WILLETT, W. C. 2002. Whole-grain intake and the risk of type 2 diabetes: a prospective study in men. *The American journal of clinical nutrition*, 76, 535-540.
- FURUYA, T., MIURA, M., KUROIWA, M. & KINO, K. 2015. High-yield production of vanillin from ferulic acid by a coenzyme-independent decarboxylase/oxygenase two-stage process. *New biotechnology*, 32, 335-339.
- GALLAGE, NETHAJI J. & MØLLER, BIRGER L. 2015. Vanillin–Bioconversion and Bioengineering of the Most Popular Plant Flavor and Its De Novo Biosynthesis in the Vanilla Orchid. *Molecular Plant*, 8, 40-57.
- GÄNZLE, M. G. 2015. Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food Science*, 2, 106-117.
- GAO, Y., MA, S., WANG, M. & FENG, X.-Y. 2017. Characterization of free, conjugated, and bound phenolic acids in seven commonly consumed vegetables. *Molecules*, 22, 1878.
- GASSON, M. J., KITAMURA, Y., MCLAUCHLAN, W. R., NARBAD, A., PARR, A. J., PARSONS, E. L. H., PAYNE, J., RHODES, M. J. & WALTON, N. J. 1998. Metabolism of Ferulic Acid to Vanillin A bacterial gene of the enoyl-SCoA hydratase/isomerase superfamily encodes an enzyme for the hydration and cleavage of

- a hydroxycinnamic acid SCoA thioester. *Journal of Biological Chemistry*, 273, 4163-4170.
- GAUR, G., OH, J.-H., FILANNINO, P., GOBBETTI, M., VAN PIJKEREN, J.-P. & GÄNZLE, M. G. 2020. Genetic determinants of hydroxycinnamic acid metabolism in heterofermentative lactobacilli. *Applied and environmental microbiology*, 86.
- GÉLINAS, P. & MCKINNON, C. M. 2006. Effect of wheat variety, farming site, and bread-baking on total phenolics. *International Journal of Food Science & Technology*, 41, 329-332.
- GHOSH, S., SACHAN, A., SEN, S. K. & MITRA, A. 2007. Microbial transformation of ferulic acid to vanillic acid by Streptomyces sannanensis MTCC 6637. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 34, 131-138.
- GIET, J.-M., ROISEUX, O. & BLECKER, C. 2010. Enzymatic process development for the extraction of ferulic from wheat bran. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, 14, 539.
- GILL, B. & FRIEBE, B. 2002. Cytogenetics, phylogeny and evolution of cultivated wheats. *Bread wheat: improvement and production. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome*, 71-88.
- GLIDEWELL, S. M. 2006. NMR imaging of developing barley grains. *Journal of cereal science*, 43, 70-78.
- GOBBETTI, M. 1998. The sourdough microflora: interactions of lactic acid bacteria and yeasts. *Trends in food science & technology*, 9, 267-274.
- GOBBETTI, M., CORSETTI, A. & ROSSI, J. 1994. The sourdough microflora. Interactions between lactic acid bacteria and yeasts: metabolism of carbohydrates. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 41, 456-460.
- GOBBETTI, M., CORSETTI, A. & ROSSI, J. 1996. Lactobacillus sanfrancisco, a key sourdough lactic acid bacterium: physiology, genetic and biotechnology. *Advances in food sciences*, 18, 167-175.
- GOBBETTI, M. & GÄNZLE, M. 2012. *Handbook on sourdough biotechnology*, Springer Science & Business Media.
- GOBBETTI, M., RIZZELLO, C. G., DI CAGNO, R. & DE ANGELIS, M. 2014. How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. *Food microbiology*, 37, 30-40.
- GOBBETTI, M., SIMONETTI, M., CORSETTI, A., SANTINELLI, F., ROSSI, J. & DAMIANI, P. 1995. Volatile compound and organic acid productions by mixed wheat

- sour dough starters: influence of fermentation parameters and dynamics during baking. *Food microbiology*, 12, 497-507.
- GOESAERT, H., BRIJS, K., VERAVERBEKE, W. S., COURTIN, C. M., GEBRUERS, K. & DELCOUR, J. A. 2005. Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in food science & technology*, 16, 12-30.
- GOPALAN, N. & NAMPOOTHIRI, K. M. 2018. Biorefining of wheat bran for the purification of ferulic acid. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 15, 304-310.
- GOTTI, R., AMADESI, E., FIORI, J., BOSI, S., BREGOLA, V., MAROTTI, I. & DINELLI, G. 2018. Differentiation of modern and ancient varieties of common wheat by quantitative capillary electrophoretic profile of phenolic acids. *Journal of Chromatography A*, 1532, 208-215.
- GRAF, N. & ALTENBUCHNER, J. 2014. Genetic engineering of *Pseudomonas putida* KT2440 for rapid and high-yield production of vanillin from ferulic acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 137-149.
- GUARDA, G., PADOVAN, S. & DELOGU, G. 2004. Grain yield, nitrogen-use efficiency and baking quality of old and modern Italian bread-wheat cultivars grown at different nitrogen levels. *European Journal of Agronomy*, 21, 181-192.
- GUPTA, J. K., HAMP, S. G., BUSWELL, J. A. & ERIKSSON, K.-E. 1981. Metabolism of trans-ferulic acid by the white-rot fungus *Sporotrichum pulverulentum*. *Archives of Microbiology*, 128, 349-354.
- GURUJEYALAKSHMI, G. & MAHADEVAN, A. 1987. Dissimilation of ferulic acid by *Bacillus subtilis*. *Current Microbiology*, 16, 69-73.
- HAMMES, W. P. & GÄNZLE, M. 1998. Sourdough breads and related products. *Microbiology of fermented foods*. Springer.
- HARE, R. 2017. Chapter 6 - Durum Wheat: Grain-Quality Characteristics and Management of Quality Requirements. In: WRIGLEY, C., BATEY, I. & MISKELLY, D. (eds.) *Cereal Grains (Second Edition)*. Woodhead Publishing.
- HEMDANE, S., LEYS, S., JACOBS, P. J., DORNEZ, E., DELCOUR, J. A. & COURTIN, C. M. 2015. Wheat milling by-products and their impact on bread making. *Food Chemistry*, 187, 280-289.
- HENDRICKSON, M. K. & HEFFERNAN, W. D. 2002. Opening spaces through relocalization: locating potential resistance in the weaknesses of the global food system. *Sociologia ruralis*, 42, 347-369.

- HIRABAYASHI, T., OCHIAI, H., SAKAI, S., NAKAJIMA, K. & TERASAWA, K. 1995. Inhibitory effect of ferulic acid and isoferulic acid on murine interleukin-8 production in response to influenza virus infections in vitro and in vivo. *Planta Medica*, 61, 221-226.
- HOCKING, M. B. 1997. Vanillin: synthetic flavoring from spent sulfite liquor. *Journal of chemical education*, 74, 1055.
- HOLE, A. S., RUD, I., GRIMMER, S., SIGL, S., NARVHUS, J. & SAHLSTRØM, S. 2012. Improved bioavailability of dietary phenolic acids in whole grain barley and oat groat following fermentation with probiotic *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, and *Lactobacillus reuteri*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60, 6369-6375.
- HOSSAIN, K., ULVEN, C., GLOVER, K., GHAVAMI, F., SIMSEK, S., ALAMRI, M., KUMAR, A. & MERGOUM, M. 2013. Interdependence of cultivar and environment on fiber composition in wheat bran. *Australian journal of crop science*, 7, 525.
- HOU, J., QIU, Z., HAN, H. & ZHANG, Q. 2018. Toxicity evaluation of lignocellulose-derived phenolic inhibitors on *Saccharomyces cerevisiae* growth by using the QSTR method. *Chemosphere*, 201, 286-293.
- HUANG, Z., DOSTAL, L. & ROSAZZA, J. 1993a. Mechanisms of ferulic acid conversions to vanillic acid and guaiacol by *Rhodotorula rubra*. *Journal of Biological Chemistry*, 268, 23954-23958.
- HUANG, Z., DOSTAL, L. & ROSAZZA, J. 1993b. Microbial transformations of ferulic acid by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 2244-2250.
- HUERTA, R. R. & SALDAÑA, M. D. 2018. Pressurized fluid treatment of barley and canola straws to obtain carbohydrates and phenolics. *The Journal of Supercritical Fluids*, 141, 12-20.
- HUR, S. J., LEE, S. Y., KIM, Y.-C., CHOI, I. & KIM, G.-B. 2014. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160, 346-356.
- HUYSEN, G., DANIEL, H.-M. & DE VUYST, L. 2013. Taxonomy and biodiversity of sourdough yeasts and lactic acid bacteria. *Handbook on sourdough biotechnology*. Springer.
- INAO 2016. Institut National de l'Origine et de la Qualité (INAO). <https://www.inao.gouv.fr/Les-signes-officiels-de-la-qualite-et-de-l-origine-SIQQ/Appellation-d-origine-protegee-controlee-AOP-AOC>.

- ISHIDA, Y., NGUYEN, T., KITAJIMA, S. & IZAWA, S. 2016. Prioritized expression of BDH2 under bulk translational repression and its contribution to tolerance to severe vanillin stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Frontiers in microbiology*, 7, 1059.
- ITOH, A., ISODA, K., KONDOH, M., KAWASE, M., KOBAYASHI, M., TAMESADA, M. & YAGI, K. 2009. Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on concanavalin a-induced liver injury. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32, 1215-1219.
- IWAKI, A., OHNUKI, S., SUGA, Y., IZAWA, S. & OHYA, Y. 2013. Vanillin inhibits translation and induces messenger ribonucleoprotein (mRNP) granule formation in *Saccharomyces cerevisiae*: application and validation of high-content, image-based profiling. *PloS one*, 8, e61748.
- JÄÄSKELÄINEN, A.-S., HOLOPAINEN-MANTILA, U., TAMMINEN, T. & VUORINEN, T. 2013. Endosperm and aleurone cell structure in barley and wheat as studied by optical and Raman microscopy. *Journal of cereal science*, 57, 543-550.
- JANEŠ, D., KANTAR, D., KREFT, S. & PROSEN, H. 2009. Identification of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) aroma compounds with GC-MS. *Food Chemistry*, 112, 120-124.
- JARADAT, A. A. 2011. Wheat landraces: genetic resources for sustenance and sustainability. *USDA-ARS, Morris, Minnesota, USA. Available at https://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/50600000/products-wheat/AAJ-Wheat%20Landraces.pdf* (accessed June 2018), 1-20.
- JARADAT, A. A. 2013. Wheat landraces: A mini review. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 20-29.
- JONES, H., LISTER, D. L., BOWER, M. A., LEIGH, F. J., SMITH, L. M. & JONES, M. K. 2008. Approaches and constraints of using existing landrace and extant plant material to understand agricultural spread in prehistory. *Plant Genetic Resources*, 6, 98.
- JONES, J. 2006. Grain-based foods and health. *Cereal Foods World*, 51, 108-113.
- JURKOVÁ, M. & WURST, M. 1993. Biodegradation of aromatic carboxylic acids by *Pseudomonas mira*. *FEMS microbiology letters*, 111, 245-250.
- KANDIL, A., LI, J., VASANTHAN, T. & BRESSLER, D. C. 2012. Phenolic acids in some cereal grains and their inhibitory effect on starch liquefaction and saccharification. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60, 8444-8449.
- KANSKI, J., AKSENOVA, M., STOYANOVA, A. & BUTTERFIELD, D. A. 2002. Ferulic acid antioxidant protection against hydroxyl and peroxy radical oxidation in

- synaptosomal and neuronal cell culture systems in vitro: structure-activity studies. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13, 273-281.
- KARMAKAR, B., VOHRA, R., NANDANWAR, H., SHARMA, P., GUPTA, K. & SOBTI, R. 2000. Rapid degradation of ferulic acid via 4-vinylguaiacol and vanillin by a newly isolated strain of *Bacillus coagulans*. *Journal of Biotechnology*, 80, 195-202.
- KATINA, K., JUVONEN, R., LAITILA, A., FLANDER, L., NORDLUND, E., KARILUOTO, S., PIIRONEN, V. & POUTANEN, K. 2012. Fermented wheat bran as a functional ingredient in baking. *Cereal Chemistry*, 89, 126-134.
- KAUR, L. & ZHAWAR, V. K. 2015. Phenolic parameters under exogenous ABA, water stress, salt stress in two wheat cultivars varying in drought tolerance. *Indian Journal of Plant Physiology*, 20, 151-156.
- KEFELI, V. I., KALEVITCH, M. V. & BORSARI, B. 2003. Phenolic cycle in plants and environment. *J. Cell Mol. Biol*, 2, 13-18.
- KHAN, K. 2016. *Wheat: chemistry and technology*, Elsevier.
- KHAN, S. A., ZHANG, M., LIU, L., DONG, L., MA, Y., WEI, Z., CHI, J. & ZHANG, R. 2020. Co-culture submerged fermentation by lactobacillus and yeast more effectively improved the profiles and bioaccessibility of phenolics in extruded brown rice than single-culture fermentation. *Food chemistry*, 126985.
- KHOKHAR, J. S., SAREEN, S., TYAGI, B. S., SINGH, G., WILSON, L., KING, I. P., YOUNG, S. D. & BROADLEY, M. R. 2018. Variation in grain Zn concentration, and the grain ionome, in field-grown Indian wheat. *PloS one*, 13, e0192026.
- KIHLBERG, I., JOHANSSON, L., KOHLER, A. & RISVIK, E. 2004. Sensory qualities of whole wheat pan bread—fluence of farming system, milling and baking technique. *Journal of cereal science*, 39, 67-84.
- KIKUZAKI, H., HISAMOTO, M., HIROSE, K., AKIYAMA, K. & TANIGUCHI, H. 2002. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50, 2161-2168.
- KLINKE, H. B., THOMSEN, A. & AHRING, B. K. 2004. Inhibition of ethanol-producing yeast and bacteria by degradation products produced during pre-treatment of biomass. *Applied microbiology and biotechnology*, 66, 10-26.
- KOEHLER, P. & WIESER, H. 2013. Chemistry of cereal grains. *Handbook on sourdough biotechnology*. Springer.
- KOH-BANERJEE, P., FRANZ, M., SAMPSON, L., LIU, S., JACOBS JR, D. R., SPIEGELMAN, D., WILLETT, W. & RIMM, E. 2004. Changes in whole-grain, bran,

- and cereal fiber consumption in relation to 8-y weight gain among men. *The American journal of clinical nutrition*, 80, 1237-1245.
- KRINGS, U., PILAWA, S., THEOBALD, C. & BERGER, R. 2001. Phenyl propenoic side chain degradation of ferulic acid by *Pycnoporus cinnabarinus*—elucidation of metabolic pathways using [5-2H]-ferulic acid. *Journal of Biotechnology*, 85, 305-314.
- KUCEK, L. K., VEENSTRA, L. D., AMNUAYCHEEWA, P. & SORRELLS, M. E. 2015. A grounded guide to gluten: how modern genotypes and processing impact wheat sensitivity. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14, 285-302.
- KULKARNI, S., ACHARYA, R., NAIR, A., RAJURKAR, N. & REDDY, A. 2006. Determination of elemental concentration profiles in tender wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) using instrumental neutron activation analysis. *Food Chemistry*, 95, 699-707.
- KULP, K. & LORENZ, K. 2003. *Handbook of dough fermentations*, Crc Press.
- KUMAR, P., YADAVA, R., GOLLEN, B., KUMAR, S., VERMA, R. K. & YADAV, S. 2011. Nutritional contents and medicinal properties of wheat: a review. *Life Sciences and Medicine Research*, 22, 1-10.
- KUMAR, R., SHARMA, P. & MISHRA, P. S. 2012. Vanillin Derivatives Showing Various Biological Activities. *ChemInform*, 43, no-no.
- LABUDA, I. M., GOERS, S. K. & KEON, K. A. 1992. Bioconversion process for the production of vanillin. Google Patents.
- LADDOMADA, B., DURANTE, M., MANGINI, G., D'AMICO, L., LENUCCI, M. S., SIMEONE, R., PIARULLI, L., MITA, G. & BLANCO, A. 2017. Genetic variation for phenolic acids concentration and composition in a tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.) collection. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64, 587-597.
- LADERO, V., ALVAREZ-SIEIRO, P., REDRUELLO, B., DEL RIO, B., LINARES, D. M., MARTIN, M. C., FERNÁNDEZ, M. & ALVAREZ, M. A. 2013. Draft genome sequence of *Lactobacillus plantarum* strain IPLA 88. *Genome announcements*, 1.
- LAMINE, C. 2005. Settling shared uncertainties: local partnerships between producers and consumers. *Sociologia ruralis*, 45, 324-345.
- LARROSA, M., LUCERI, C., VIVOLI, E., PAGLIUCA, C., LODOVICI, M., MONETI, G. & DOLARA, P. 2009. Polyphenol metabolites from colonic microbiota exert anti-inflammatory activity on different inflammation models. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53, 1044-1054.

- LARSSON, S., NILVEBRANT, N.-O. & JÖNSSON, L. 2001. Effect of overexpression of *Saccharomyces cerevisiae* Pad1p on the resistance to phenylacrylic acids and lignocellulose hydrolysates under aerobic and oxygen-limited conditions. *Applied microbiology and biotechnology*, 57, 167-174.
- LAVERMICOCCA, P., VALERIO, F., EVIDENTE, A., LAZZARONI, S., CORSETTI, A. & GOBBETTI, M. 2000. Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 4084-4090.
- LEENHARDT, F., LEVRAT-VERNY, M.-A., CHANLIAUD, E. & RÉMÉSY, C. 2005. Moderate decrease of pH by sourdough fermentation is sufficient to reduce phytate content of whole wheat flour through endogenous phytase activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53, 98-102.
- LHOMME, E., LATTANZI, A., DOUSSET, X., MINERVINI, F., DE ANGELIS, M., LACAZE, G., ONNO, B. & GOBBETTI, M. 2015. Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of sixteen French traditional sourdoughs. *International journal of food microbiology*, 215, 161-170.
- LHOMME, E., URIEN, C., LEGRAND, J., DOUSSET, X., ONNO, B. & SICARD, D. 2016. Sourdough microbial community dynamics: an analysis during French organic bread-making processes. *Food microbiology*, 53, 41-50.
- LI, E., DHITAL, S. & HASJIM, J. 2014. Effects of grain milling on starch structures and flour/starch properties. *Starch-Stärke*, 66, 15-27.
- LI, L., SHEWRY, P. R. & WARD, J. L. 2008. Phenolic acids in wheat varieties in the HEALTHGRAIN diversity screen. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56, 9732-9739.
- LI, M., JIA, Z., WAN, G., WANG, S. & MIN, D. 2020. Enhancing isolation of p-coumaric and ferulic acids from sugarcane bagasse by sequential hydrolysis. *Chemical Papers*, 74, 499-507.
- LIM, J. A., KWANG, J. S., YU, B. S. & BAEK, S. H. 2004. Cytotoxic Activity of 13 (E)-Labd-13-ene-8\$\alpha\$, 15-diol. *Journal of Physiology & Pathology in Korean Medicine*, 18, 1169-1172.
- LIN, F., FERGUSON, K. L., BOYER, D. R., LIN, X. N. & MARSH, E. N. G. 2015. Isofunctional enzymes PAD1 and UbiX catalyze formation of a novel cofactor required by ferulic acid decarboxylase and 4-hydroxy-3-polyprenylbenzoic acid decarboxylase. *ACS chemical biology*, 10, 1137-1144.

- LIU, F., HE, C., WANG, L. & WANG, M. 2018. Effect of milling method on the chemical composition and antioxidant capacity of Tartary buckwheat flour. *International Journal of Food Science & Technology*, 53, 2457-2464.
- LIU, L., ZHAO, M., LIU, X., ZHONG, K., TONG, L., ZHOU, X. & ZHOU, S. 2016. Effect of steam explosion-assisted extraction on phenolic acid profiles and antioxidant properties of wheat bran. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 3484-3491.
- LIU, R. H. 2007. Whole grain phytochemicals and health. *Journal of cereal science*, 46, 207-219.
- LIYANA-PATHIRANA, C. M. & SHAHIDI, F. 2006. Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54, 1256-1264.
- LIYANA-PATHIRANA, C. M. & SHAHIDI, F. 2007. The antioxidant potential of milling fractions from breadwheat and durum. *Journal of cereal science*, 45, 238-247.
- LO, H. H. & CHUNG, J.-G. 1999. The effects of plant phenolics, caffeic acid, chlorogenic acid and ferulic acid on arylamine N-acetyltransferase activities in human gastrointestinal microflora. *Anticancer research*, 19, 133-139.
- LØJE, H., MØLLER, B., LAUSTSEN, A. & HANSEN, Å. 2003. Chemical composition, functional properties and sensory profiling of einkorn (*Triticum monococcum* L.). *Journal of cereal science*, 37, 231-240.
- LOPES, M. S., EL-BASYONI, I., BAENZIGER, P. S., SINGH, S., ROYO, C., OZBEK, K., AKTAS, H., OZER, E., OZDEMIR, F. & MANICKAVELU, A. 2015. Exploiting genetic diversity from landraces in wheat breeding for adaptation to climate change. *Journal of experimental botany*, 66, 3477-3486.
- LOPEZ, H. W., OUVRY, A., BERVAS, E., GUY, C., MESSAGER, A., DEMIGNE, C. & REMESY, C. 2000. Strains of lactic acid bacteria isolated from sour doughs degrade phytic acid and improve calcium and magnesium solubility from whole wheat flour. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48, 2281-2285.
- LUCINI, L., ROCCHETTI, G. & TREVISAN, M. 2020. Extending the concept of terroir from grapes to other agricultural commodities: An overview. *Current Opinion in Food Science*.
- MA, D., SUN, D., WANG, C., LI, Y. & GUO, T. 2014. Expression of flavonoid biosynthesis genes and accumulation of flavonoid in wheat leaves in response to drought stress. *Plant physiology and biochemistry*, 80, 60-66.

- MACCAFERRI, M., HARRIS, N. S., TWARDZIOK, S. O., PASAM, R. K., GUNDLACH, H., SPANNAGL, M., ORMANBEKOVA, D., LUX, T., PRADE, V. M. & MILNER, S. G. 2019. Durum wheat genome highlights past domestication signatures and future improvement targets. *Nature genetics*, 51, 885-895.
- MAJZOobi, M., PASHANGEH, S., FARAHNAKY, A., ESKANDARI, M. H. & JAMALIAN, J. 2014. Effect of particle size reduction, hydrothermal and fermentation treatments on phytic acid content and some physicochemical properties of wheat bran. *Journal of food science and technology*, 51, 2755-2761.
- MAKAROVA, K., SLESAREV, A., WOLF, Y., SOROKIN, A., MIRKIN, B., KOONIN, E., PAVLOV, A., PAVLOVA, N., KARAMYCHEV, V. & POLOUCHINE, N. 2006. Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 15611-15616.
- MALLICK, S., GUPTA, M., MONDAL, S. & SINHA, B. 2011. Characterization of wheat (*Triticum aestivum*) genotypes on the basis of metabolic changes associated with water stress. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 81, 767.
- MANINI, F., BRASCA, M., PLUMED-FERRER, C., MORANDI, S., ERBA, D. & CASIRAGHI, M. C. 2014. Study of the chemical changes and evolution of microbiota during sourdoughlike fermentation of wheat bran. *Cereal Chemistry*, 91, 342-349.
- MARASCHIN, C., ROBERT, H., BOUSSARD, A., POTUS, J., BARET, J. L. & NICOLAS, J. 2008. Effect of storage temperature and flour water content on lipids, lipoxygenase activity, and oxygen uptake during dough mixing. *Cereal Chemistry*, 85, 372-378.
- MATEO ANSON, N., AURA, A. M., SELINHEIMO, E., MATTILA, I., POUTANEN, K., VAN DEN BERG, R., HAVENAAR, R., BAST, A. & HAENEN, G. R. 2011. Bioprocessing of wheat bran in whole wheat bread increases the bioavailability of phenolic acids in men and exerts antiinflammatory effects ex vivo. *The Journal of nutrition*, 141, 137-143.
- MATEO ANSON, N., VAN DEN BERG, R., HAVENAAR, R., BAST, A. & R. M. M. HAENEN, G. 2008. Ferulic Acid from Aleurone Determines the Antioxidant Potency of Wheat Grain (*Triticum aestivum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56, 5589-5594.
- MATHEW, S. & ABRAHAM, T. E. 2006. Bioconversions of ferulic acid, an hydroxycinnamic acid. *Critical reviews in microbiology*, 32, 115-125.

- MATHEW, S., ABRAHAM, T. E. & SUDHEESH, S. 2007. Rapid conversion of ferulic acid to 4-vinyl guaiacol and vanillin metabolites by *Debaryomyces hansenii*. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 44, 48-52.
- MATTILA, P., PIHLAVA, J.-M. & HELLSTRÖM, J. 2005a. Contents of Phenolic Acids, Alkyl- and Alkenylresorcinols, and Avenanthramides in Commercial Grain Products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53, 8290-8295.
- MATTILA, P., PIHLAVA, J.-M. & HELLSTRÖM, J. 2005b. Contents of phenolic acids, alkyl- and alkenylresorcinols, and avenanthramides in commercial grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53, 8290-8295.
- MAX, B., CARBALLO, J., CORTÉS, S. & DOMÍNGUEZ, J. M. 2012. Decarboxylation of ferulic acid to 4-vinyl guaiacol by *Streptomyces setonii*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 166, 289-299.
- MCKEVITH, B. 2004. Nutritional aspects of cereals. *Nutrition Bulletin*, 29, 111-142.
- MELLEN, P. B., WALSH, T. F. & HERRINGTON, D. M. 2008. Whole grain intake and cardiovascular disease: a meta-analysis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 18, 283-290.
- MENGA, V., FARES, C., TROCCOLI, A., CATTIVELLI, L. & BAIANO, A. 2010. Effects of genotype, location and baking on the phenolic content and some antioxidant properties of cereal species. *International Journal of Food Science & Technology*, 45, 7-16.
- MEROOTH, C. B., WALTER, J., HERTEL, C., BRANDT, M. J. & HAMMES, W. P. 2003. Monitoring the bacterial population dynamics in sourdough fermentation processes by using PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 475-482.
- MEUSER, F. 2003. MILLING| Types of Mill and Their Uses.
- MICHEL, E. 2018. Dispersion, sélection et rôle des espèces microbiennes des levains en boulangerie française à faible intrant.
- MICHEL, E., MASSON, E., BUBBENDORF, S., LAPICQUE, L., LEGRAND, J., GUÉZENEC, S., NIDELET, T., MARLIN, T., RUÉ, O. & ONNO, B. 2019. Artisanal and farmers bread making practices differently shape fungal species diversity in French sourdoughs. *bioRxiv*, 679472.
- MICHEL, E., MONFORT, C., DEFFRASNES, M., GUEZENEC, S., LHOMME, E., BARRET, M., SICARD, D., DOUSSET, X. & ONNO, B. 2016. Characterization of relative abundance of lactic acid bacteria species in French organic sourdough by

cultural, qPCR and MiSeq high-throughput sequencing methods. *International journal of food microbiology*, 239, 35-43.

- MIGLIORINI, P., SPAGNOLO, S., TORRI, L., ARNOULET, M., LAZZERINI, G. & CECCARELLI, S. 2016. Agronomic and quality characteristics of old, modern and mixture wheat varieties and landraces for organic bread chain in diverse environments of northern Italy. *European Journal of Agronomy*, 79, 131-141.
- MINERVINI, F., DE ANGELIS, M., DI CAGNO, R. & GOBBETTI, M. 2014. Ecological parameters influencing microbial diversity and stability of traditional sourdough. *International Journal of Food Microbiology*, 171, 136-146.
- MODZELEWSKA, I. & ADAMSKA, K. 2006. Application of cereal bran in production of paper products—initial investigations. *Acta Sci Pol Silv*, 5, 175-184.
- MOSHARRAF, L., KADIVAR, M. & SHAHEDI, M. 2009. Effect of hydrothermaled bran on physicochemical, rheological and microstructural characteristics of Sangak bread. *Journal of cereal science*, 49, 398-404.
- MPOFU, A., SAPIRSTEIN, H. D. & BETA, T. 2006. Genotype and environmental variation in phenolic content, phenolic acid composition, and antioxidant activity of hard spring wheat. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54, 1265-1270.
- MUKAI, N., MASAKI, K., FUJII, T., KAWAMUKAI, M. & IEFUJI, H. 2010. PAD1 and FDC1 are essential for the decarboxylation of phenylacrylic acids in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of bioscience and bioengineering*, 109, 564-569.
- NACZK, M. & SHAHIDI, F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41, 1523-1542.
- NAZARETH, S. & MAVINKURVE, S. 1986. Degradation of ferulic acid via 4-vinylguaiacol by *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. *Canadian Journal of Microbiology*, 32, 494-497.
- NDOLLO, V., BETA, T. & FULCHER, R. 2013. Ferulic acid fluorescence intensity profiles and concentration measured by HPLC in pigmented and non-pigmented cereals. *Food research international*, 52, 109-118.
- NGUYEN, T. T. M., IWAKI, A., OHYA, Y. & IZAWA, S. 2014. Vanillin causes the activation of Yap1 and mitochondrial fragmentation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of bioscience and bioengineering*, 117, 33-38.
- NIAZI, J., KAUR, N., SACHDEVA, R. K., BANSAL, Y. & GUPTA, V. 2014. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of vanillin. *Drug Development and Therapeutics*, 5, 145.

- NISHIDA, A. & FUKUZUMI, T. 1978. Formation of coniferyl alcohol from ferulic acid by the white rot fungus *Trametes*. *Phytochemistry*, 17, 417-419.
- NOORT, M. W., VAN HAASTER, D., HEMERY, Y., SCHOLS, H. A. & HAMER, R. J. 2010. The effect of particle size of wheat bran fractions on bread quality—Evidence for fibre–protein interactions. *Journal of cereal science*, 52, 59-64.
- O'HARA, S. U. & STAGL, S. 2001. Global food markets and their local alternatives: A socio-ecological economic perspective. *Population and environment*, 22, 533-554.
- OBERT, J. C., RIDLEY, W. P., SCHNEIDER, R. W., RIORDAN, S. G., NEMETH, M. A., TRUJILLO, W. A., BREEZE, M. L., SORBET, R. & ASTWOOD, J. D. 2004. The composition of grain and forage from glyphosate tolerant wheat MON 71800 is equivalent to that of conventional wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 52, 1375-1384.
- OHMIYA, K., TAKEUCHI, M., CHEN, W., SHIMIZU, S. & KAWAKAMI, H. 1986. Anaerobic reduction of ferulic acid to dihydroferulic acid by *Wolinella succinogenes* from cow rumen. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 23, 274-279.
- OHNISHI, M., MATUO, T., TSUNO, T., HOSODA, A., NOMURA, E., TANIGUCHI, H., SASAKI, H. & MORISHITA, H. 2004. Antioxidant activity and hypoglycemic effect of ferulic acid in STZ-induced diabetic mice and KK-A^y mice. *Biofactors*, 21, 315-319.
- OHUE-KITANO, R., TAIRA, S., WATANABE, K., MASUJIMA, Y., KUBOSHIMA, T., MIYAMOTO, J., NISHITANI, Y., KAWAKAMI, H., KUWAHARA, H. & KIMURA, I. 2019. 3-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl) propionic Acid Produced from 4-Hydroxy-3-methoxycinnamic Acid by Gut Microbiota Improves Host Metabolic Condition in Diet-Induced Obese Mice. *Nutrients*, 11, 1036.
- ONIPE, O. O., JIDEANI, A. I. & BESWA, D. 2015. Composition and functionality of wheat bran and its application in some cereal food products. *International Journal of Food Science & Technology*, 50, 2509-2518.
- OSHIRO, M., TANAKA, M., ZENDO, T. & NAKAYAMA, J. 2020. Impact of pH on succession of sourdough lactic acid bacteria communities and their fermentation properties. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 2019-038.
- OTUK, G. 1985. Degradation of ferulic acid by *Escherichia coli*. *Journal of fermentation technology*, 63, 501-506.
- OU, S. & KWOK, K. C. 2004. Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1261-1269.

- OU, S., LUO, Y., XUE, F., HUANG, C., ZHANG, N. & LIU, Z. 2007. Separation and purification of ferulic acid in alkaline-hydrolysate from sugarcane bagasse by activated charcoal adsorption/anion macroporous resin exchange chromatography. *Journal of Food Engineering*, 78, 1298-1304.
- OVERHAGE, J., PRIEFERT, H. & STEINBÜCHEL, A. 1999. Biochemical and genetic analyses of ferulic acid catabolism in *Pseudomonas* sp. strain HR199. *Applied and environmental microbiology*, 65, 4837-4847.
- PAIVA, L. B. D., GOLDBECK, R., SANTOS, W. D. D. & SQUINA, F. M. 2013. Ferulic acid and derivatives: molecules with potential application in the pharmaceutical field. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49, 395-411.
- PALMAROLA-ADRADOS, B., CHOTĚBORSKÁ, P., GALBE, M. & ZACCHI, G. 2005. Ethanol production from non-starch carbohydrates of wheat bran. *Bioresource technology*, 96, 843-850.
- PALPACELLI, V., BECO, L. & CIANI, M. 2007. Vomitoxin and zearalenone content of soft wheat flour milled by different methods. *Journal of food protection*, 70, 509-513.
- PAPADIMITRIOU, K., ZOUMPOPOULOU, G., GEORGALAKI, M., ALEXANDRAKI, V., KAZOU, M., ANASTASIOU, R. & TSAKALIDOU, E. 2019. Sourdough Bread. *Innovations in Traditional Foods*. Elsevier.
- PAZO-CEPEDA, V., BENITO-ROMÁN, Ó., NAVARRETE, A. & ALONSO, E. 2019. Valorization of Wheat Bran: Ferulic Acid Recovery Using Pressurized Aqueous Ethanol Solutions. *Waste and Biomass Valorization*, 1-10.
- PETER, J., DE CHIARA, M., FRIEDRICH, A., YUE, J.-X., PFLIEGER, D., BERGSTRÖM, A., SIGWALT, A., BARRE, B., FREEL, K. & LLORED, A. 2018. Genome evolution across 1,011 *Saccharomyces cerevisiae* isolates. *Nature*, 556, 339-344.
- PIIRONEN, V., LAMPI, A.-M., EKHOLM, P., SALMENKALLIO-MARTTILA, M. & LIUKKONEN, K.-H. 2009. Micronutrients and phytochemicals in wheat grain. *Wheat: chemistry and technology*, 179-222.
- PIOT, O., AUTRAN, J.-C. & MANFAIT, M. 2000. Spatial distribution of protein and phenolic constituents in wheat grain as probed by confocal Raman microspectroscopy. *Journal of cereal science*, 32, 57-71.
- PLAGGENBORG, R., OVERHAGE, J., LOOS, A., ARCHER, J. A., LESSARD, P., SINSKEY, A. J., STEINBÜCHEL, A. & PRIEFERT, H. 2006. Potential of *Rhodococcus* strains for biotechnological vanillin production from ferulic acid and eugenol. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72, 745.

- PONOMAROVA, O., GABRIELLI, N., SÉVIN, D. C., MÜLLEDER, M., ZIRNGIBL, K., BULYHA, K., ANDREJEV, S., KAFKIA, E., TYPAS, A. & SAUER, U. 2017. Yeast creates a niche for symbiotic lactic acid bacteria through nitrogen overflow. *Cell systems*, 5, 345-357. e6.
- PONT, C., LEROY, T., SEIDEL, M., TONDELLI, A., DUCHEMIN, W., ARMISEN, D., LANG, D., BUSTOS-KORTS, D., GOUÉ, N. & BALFOURIER, F. 2019. Tracing the ancestry of modern bread wheats. *Nature genetics*, 51, 905-911.
- PONTONIO, E., NIONELLI, L., CURIEL, J. A., SADEGHI, A., DI CAGNO, R., GOBBETTI, M. & RIZZELLO, C. G. 2015. Iranian wheat flours from rural and industrial mills: Exploitation of the chemical and technology features, and selection of autochthonous sourdough starters for making breads. *Food microbiology*, 47, 99-110.
- POSNER, E. 2003. Milling/Principles of Milling w Encyclopedia of Food Science and Nutrition. London, Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich Publishers.
- PRIEFERT, H., RABENHORST, J. & STEINBÜCHEL, A. 1997. Molecular characterization of genes of *Pseudomonas* sp. strain HR199 involved in bioconversion of vanillin to protocatechuate. *Journal of Bacteriology*, 179, 2595-2607.
- PRIEFERT, H., RABENHORST, J. & STEINBÜCHEL, A. 2001. Biotechnological production of vanillin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56, 296-314.
- PROST, C., POINOT, P., RANNOU, C. & ARVISENET, G. 2012. Bread aroma. *Breadmaking*. Elsevier.
- PRUECKLER, M., SIEBENHANDL-EHN, S., APPRICH, S., HOELTINGER, S., HAAS, C., SCHMID, E. & KNEIFEL, W. 2014. Wheat bran-based biorefinery 1: Composition of wheat bran and strategies of functionalization. *LWT-Food Science and Technology*, 56, 211-221.
- RAHMAN, A., ULVEN, C. A., DURANT, C., JOHNSON, M. A., FEHRENBACH, J. & HOSSAIN, K. G. Selection, pretreatment, and use of wheat bran for making thermoplastic composite. 2017 ASABE Annual International Meeting, 2017. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 1.
- RAHOUTI, M., SEIGLE-MURANDI, F., STEIMAN, R. & ERIKSSON, K.-E. 1989. Metabolism of ferulic acid by *Paecilomyces variotii* and *Pestalotia palmarum*. *Appl Environ Microbiol*, 55, 2391-2398.
- REALE, A., MANNINA, L., TREMONTE, P., SOBOLEV, A. P., SUCCI, M., SORRENTINO, E. & COPPOLA, R. 2004. Phytate degradation by lactic acid bacteria and yeasts during

the wholemeal dough fermentation: a ^{31}P NMR study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52, 6300-6305.

REMPELOS, L., ALMUAYRIFI, M. S. B., BARANSKI, M., TETARD-JONES, C., BARKLA, B., CAKMAK, I., OZTURK, L., COOPER, J., VOLAKAKIS, N. & HALL, G. 2020. The effect of agronomic factors on crop health and performance of winter wheat varieties bred for the conventional and the low input farming sector. *Field crops research*, 254, 107822.

RIPARI, V., BAI, Y. & GÄNZLE, M. G. 2019. Metabolism of phenolic acids in whole wheat and rye malt sourdoughs. *Food microbiology*, 77, 43-51.

RIPARI, V. & GÄNZLE, M. G. 2016. Composition and function of sourdough microbiota: From ecological theory to bread quality.

RIPARI, V., GÄNZLE, M. G. & BERARDI, E. 2016. Evolution of sourdough microbiota in spontaneous sourdoughs started with different plant materials. *International Journal of Food Microbiology*, 232, 35-42.

RODRÍGUEZ, H., CURIEL, J. A., LANDETE, J. M., DE LAS RIVAS, B., DE FELIPE, F. L., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., MANCHEÑO, J. M. & MUÑOZ, R. 2009. Food phenolics and lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 132, 79-90.

ROSA, N. N., BARRON, C., GAIANI, C., DUFOUR, C. & MICARD, V. 2013. Ultra-fine grinding increases the antioxidant capacity of wheat bran. *Journal of cereal science*, 57, 84-90.

ROSAZZA, J., HUANG, Z., DOSTAL, L., VOLM, T. & ROUSSEAU, B. 1995. Biocatalytic transformations of ferulic acid: an abundant aromatic natural product. *Journal of Industrial Microbiology*, 15, 457-471.

ROSS, A. B., KAMAL-ELDIN, A. & ÅMAN, P. 2004. Dietary alkylresorcinols: absorption, bioactivities, and possible use as biomarkers of whole-grain wheat-and rye-rich foods. *Nutrition Reviews*, 62, 81-95.

ROUSSEL, P., CHIRON, H., DELLA VALLE, G. & NDIAYE, A. 2010. Glossaire terminologique appliqué aux pains français. INRA CEPIA. Available from: <http://www4.inra.fr/cephia/Editions/glossaire....>

ROUSSEL, P., CHIRON, H. & PAILLARD, G. 2002. *Les pains français: évolution, qualité, production*, Maé-Erti.

ROUSSEL, P., ONNO, B., MICHEL, E. & SICARD, D. 2020. La panification au levain naturel. éditions Quae.

- SAHYOUN, N. R., JACQUES, P. F., ZHANG, X. L., JUAN, W. & MCKEOWN, N. M. 2006. Whole-grain intake is inversely associated with the metabolic syndrome and mortality in older adults. *The American journal of clinical nutrition*, 83, 124-131.
- SAKAI, S., KAWAMATA, H., KOGURE, T., MANTANI, N., TERASAWA, K., UMATAKE, M. & OCHIAI, H. 1999. Inhibitory effect of ferulic acid and isoferulic acid on the production of macrophage inflammatory protein-2 in response to respiratory syncytial virus infection in RAW264.7 cells. *Mediators of Inflammation*, 8.
- SALGADO, J. M., MAX, B., RODRÍGUEZ-SOLANA, R. & DOMÍNGUEZ, J. M. 2012. Purification of ferulic acid solubilized from agroindustrial wastes and further conversion into 4-vinyl guaiacol by *Streptomyces setonii* using solid state fermentation. *Industrial Crops and Products*, 39, 52-61.
- SAMEJIMA, M., TATARAZAKO, N., ARAKAWA, T., SABURI, Y. & YOSHIMOTO, T. 1987. Metabolism of 3, 4-dimethoxycinnamic acid and ferulic acid by mutant strains derived from *Pseudomonas* sp TMY1009. *Mokuzai Gakkaishi*, 33, 728-734.
- SANCHEZ-GARCIA, M., ÁLVARO, F., PEREMARTI, A., MARTÍN-SÁNCHEZ, J. A. & ROYO, C. 2015. Changes in bread-making quality attributes of bread wheat varieties cultivated in Spain during the 20th century. *European Journal of Agronomy*, 63, 79-88.
- SÁNCHEZ-MALDONADO, A. F., SCHIEBER, A. & GÄNZLE, M. G. 2011. Structure-function relationships of the antibacterial activity of phenolic acids and their metabolism by lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 111, 1176-1184.
- SANTAMARÍA, L., REVERÓN, I., DE FELIPE, F. L., DE LAS RIVAS, B. & MUÑOZ, R. 2018. Unravelling the reduction pathway as an alternative metabolic route to hydroxycinnamate decarboxylation in *Lactobacillus plantarum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 84, e01123-18.
- SAPIRSTEIN, H. 2016. Bioactives in Wheat Bran.
- SCHATZKIN, A., MOUW, T., PARK, Y., SUBAR, A. F., KIPNIS, V., HOLLENBECK, A., LEITZMANN, M. F. & THOMPSON, F. E. 2007. Dietary fiber and whole-grain consumption in relation to colorectal cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. *The American journal of clinical nutrition*, 85, 1353-1360.
- SCHMIDT, M., HORSTMANN, S., DE COLLI, L., DANAHER, M., SPEER, K., ZANNINI, E. & ARENDT, E. K. 2016. Impact of fungal contamination of wheat on grain quality criteria. *Journal of cereal science*, 69, 95-103.
- SCOTT, M. F., BOTIGUÉ, L. R., BRACE, S., STEVENS, C. J., MULLIN, V. E., STEVENSON, A., THOMAS, M. G., FULLER, D. Q. & MOTT, R. 2019. A 3,000-

- year-old Egyptian emmer wheat genome reveals dispersal and domestication history. *Nature plants*, 5, 1120-1128.
- SEAL, C. J. 2006. Whole grains and CVD risk. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65, 24-34.
- SHAHIDI, F. & CHANDRASEKARA, A. 2010. Hydroxycinnamates and their in vitro and in vivo antioxidant activities. *Phytochemistry Reviews*, 9, 147-170.
- SHAMLOO, M. 2017. Effects of genotype and environment variation on wheat secondary metabolites and human health properties.
- SHAMLOO, M., BABAWALE, E. A., FURTADO, A., HENRY, R. J., ECK, P. K. & JONES, P. J. 2017. Effects of genotype and temperature on accumulation of plant secondary metabolites in Canadian and Australian wheat grown under controlled environments. *Scientific reports*, 7, 1-13.
- SHARMA, A., SHAHZAD, B., REHMAN, A., BHARDWAJ, R., LANDI, M. & ZHENG, B. 2019. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, 24, 2452.
- SHARMA, A., SHARMA, A., SINGH, J., SHARMA, P., TOMAR, G. S., SINGH, S. & NAIN, L. 2020. A biorefinery approach for the production of ferulic acid from agroresidues through ferulic acid esterase of lactic acid bacteria. *3 Biotech*, 10, 1-10.
- SHEWRY, P. 2009a. The HEALTHGRAIN programme opens new opportunities for improving wheat for nutrition and health. *Nutrition Bulletin*, 34, 225-231.
- SHEWRY, P. R. 2009b. Wheat. *Journal of experimental botany*, 60, 1537-1553.
- SHEWRY, P. R. 2018. Do ancient types of wheat have health benefits compared with modern bread wheat? *Journal of cereal science*, 79, 469-476.
- SHEWRY, P. R., HAWKFORD, M. J., PIIRONEN, V., LAMPI, A.-M., GEBRUERS, K., BOROS, D., ANDERSSON, A. A., ÅMAN, P., RAKSZEGI, M. & BEDO, Z. 2013. Natural variation in grain composition of wheat and related cereals. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61, 8295-8303.
- SHEWRY, P. R. & HEY, S. 2015. Do “ancient” wheat species differ from modern bread wheat in their contents of bioactive components? *Journal of cereal science*, 65, 236-243.
- SHEWRY, P. R., PIIRONEN, V., LAMPI, A.-M., EDELMANN, M., KARILUOTO, S., NURMI, T., FERNANDEZ-OROZCO, R., RAVEL, C., CHARMET, G. & ANDERSSON, A. A. 2010. The HEALTHGRAIN wheat diversity screen: effects of genotype and environment on phytochemicals and dietary fiber components. ACS Publications.

- SICARD, D. & LEGRAS, J.-L. 2011. Bread, beer and wine: yeast domestication in the *Saccharomyces* sensu stricto complex. *Comptes rendus biologies*, 334, 229-236.
- SIEPMANN, F. B., RIPARI, V., WASZCZYNSKYJ, N. & SPIER, M. R. 2018. Overview of sourdough technology: From production to marketing. *Food and Bioprocess Technology*, 11, 242-270.
- SIEUWERTS, S., BRON, P. A. & SMID, E. J. 2018. Mutually stimulating interactions between lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* in sourdough fermentation. *LWT*, 90, 201-206.
- SIRANIDOU, E., KANG, Z. & BUCHENAUER, H. 2002. Studies on symptom development, phenolic compounds and morphological defence responses in wheat cultivars differing in resistance to Fusarium head blight. *Journal of Phytopathology*, 150, 200-208.
- SLAVIN, J. 2004. Whole grains and human health. *Nutrition research reviews*, 17, 99-110.
- SMITHERS, J., LAMARCHE, J. & JOSEPH, A. E. 2008. Unpacking the terms of engagement with local food at the farmers' market: Insights from Ontario. *Journal of Rural Studies*, 24, 337-350.
- SPAGGIARI, M., CALANI, L., FOLLONI, S., RANIERI, R., DALL'ASTA, C. & GALAVERNA, G. 2020. The impact of processing on the phenolic acids, free betaine and choline in *Triticum* spp. L. whole grains and milling by-products. *Food Chemistry*, 311, 125940.
- STAVOVA, E., PORIZKA, J., STURSA, V., ENEV, V. & DIVIS, P. 2017. Extraction of ferulic acid from wheat bran by alkaline hydrolysis. *MendelNet*, 24, 574-575.
- STEVENSON, L., PHILLIPS, F., O'SULLIVAN, K. & WALTON, J. 2012. Wheat bran: its composition and benefits to health, a European perspective. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63, 1001-1013.
- STRACKE, B. A., EITEL, J., WATZL, B., MÄDER, P. & RÜFER, C. E. 2009. Influence of the production method on phytochemical concentrations in whole wheat (*Triticum aestivum* L.): A comparative study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57, 10116-10121.
- STUPER-SZABLEWSKA, K. & PERKOWSKI, J. 2019. Phenolic acids in cereal grain: Occurrence, biosynthesis, metabolism and role in living organisms. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59, 664-675.
- SUN, Y. & CHENG, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource technology*, 83, 1-11.

- SUTHERLAND, J. B., CRAWFORD, D. L. & POMETTO III, A. L. 1983. Metabolism of cinnamic, p-coumaric, and ferulic acids by *Streptomyces setonii*. *Canadian Journal of Microbiology*, 29, 1253-1257.
- TAI, A., SAWANO, T. & YAZAMA, F. 2011. Antioxidant properties of ethyl vanillin in vitro and in vivo. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 75, 2346-2350.
- TALAMOND, P., VERDEIL, J.-L. & CONÉJÉRO, G. 2015. Secondary metabolite localization by autofluorescence in living plant cells. *Molecules*, 20, 5024-5037.
- TAŃSKA, M., MIKOŁAJCZAK, N. & KONOPKA, I. 2018. Comparison of the effect of sinapic and ferulic acids derivatives (4-vinylsyringol vs. 4-vinylguaiacol) as antioxidants of rapeseed, flaxseed, and extra virgin olive oils. *Food Chemistry*, 240, 679-685.
- TERPINC, P., POLAK, T., ŠEGATIN, N., HANZLOWSKY, A., ULRIH, N. P. & ABRAMOVIČ, H. 2011. Antioxidant properties of 4-vinyl derivatives of hydroxycinnamic acids. *Food Chemistry*, 128, 62-69.
- TOMS, A. & WOOD, J. M. 1970. Degradation of trans-ferulic acid by *Pseudomonas acidovorans*. *Biochemistry*, 9, 337-343.
- TOPAKAS, E., KALOGERIS, E., KEKOS, D., MACRIS, B. & CHRISTAKOPOULOS, P. 2003. Bioconversion of ferulic acid into vanillic acid by the thermophilic fungus *Sporotrichum thermophile*. *LWT-Food Science and Technology*, 36, 561-565.
- TRUZZI, F., DINELLI, G., SPISNI, E., SIMONETTI, E., TREBBI, G., BOSI, S. & MAROTTI, I. 2020. Phenolic acids of modern and ancient grains: Effect on in vitro cell model. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100, 4075-4082.
- TSOU, M. F., HUNG, C. F., LU, H. F., WU, L. T., CHANG, S. H., CHANG, H. L., CHEN, G. W. & CHUNG, J.-G. 2000. Effects of caffeic acid, chlorogenic acid and ferulic acid on growth and arylamine N-acetyltransferase activity in *Shigella sonnei* (group D). *Microbios*, 101, 37-46.
- URIEN, C., LEGRAND, J., MONTAVENT, P., CASAREGOLA, S. & SICARD, D. 2019. Fungal species diversity in French bread sourdoughs made of organic wheat flour. *Frontiers in microbiology*, 10, 201.
- VAHER, M., MATSO, K., LEVANDI, T., HELMJA, K. & KALJURAND, M. 2010. Phenolic compounds and the antioxidant activity of the bran, flour and whole grain of different wheat varieties. *Procedia Chemistry*, 2, 76-82.

- VAN BEEK, S. & PRIEST, F. G. 2000. Decarboxylation of substituted cinnamic acids by lactic acid bacteria isolated during malt whisky fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 5322-5328.
- VAN BOXSTAEL, F., AERTS, H., LINSSEN, S., LATRÉ, J., CHRISTIAENS, A., HAESAERT, G., DIERICKX, I., BRUSSELLE, J. & DE KEYZER, W. 2020. A comparison of the nutritional value of Einkorn, Emmer, Khorasan and modern wheat: whole grains, processed in bread, and population-level intake implications. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- VAN DER KAMP, J. W., POUTANEN, K., SEAL, C. J. & RICHARDSON, D. P. 2014. The HEALTHGRAIN definition of ‘whole grain’. *Food & nutrition research*, 58, 22100.
- VAN KERREBROECK, S., MAES, D. & DE VUYST, L. 2017. Sourdoughs as a function of their species diversity and process conditions, a meta-analysis. *Trends in food science & technology*, 68, 152-159.
- VERMA, B., HUCL, P. & CHIBBAR, R. 2009. Phenolic acid composition and antioxidant capacity of acid and alkali hydrolysed wheat bran fractions. *Food Chem*, 116, 947-954.
- VERMA, B., HUCL, P. & CHIBBAR, R. N. 2008. Phenolic content and antioxidant properties of bran in 51 wheat cultivars. *Cereal Chemistry*, 85, 544-549.
- VERMEULEN, N., PAVLOVIC, M., EHRMANN, M. A., GÄNZLE, M. G. & VOGEL, R. F. 2005. Functional characterization of the proteolytic system of *Lactobacillus sanfranciscensis* DSM 20451T during growth in sourdough. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 6260-6266.
- VERZELLONI, E., PELLACANI, C., TAGLIAZUCCHI, D., TAGLIAFERRI, S., CALANI, L., COSTA, L. G., BRIGHENTI, F., BORGES, G., CROZIER, A., CONTE, A. & DEL RIO, D. 2011. Antiglycative and neuroprotective activity of colon-derived polyphenol catabolites. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55, S35-S43.
- VILLA, T. C. C., MAXTED, N., SCHOLTEN, M. & FORD-LLOYD, B. 2005. Defining and identifying crop landraces. *Plant Genetic Resources*, 3, 373-384.
- VOGEL, R. F., PAVLOVIC, M., EHRMANN, M. A., WIEZER, A., LIESEGANG, H., OFFSCHANKA, S., VOGET, S., ANGELOV, A., BÖCKER, G. & LIEBL, W. Genomic analysis reveals *Lactobacillus sanfranciscensis* as stable element in traditional sourdoughs. *Microbial cell factories*, 2011. Springer, S6.
- VRANCKEN, G., DE VUYST, L., RIMAUX, T., ALLEMEERSCH, J. & WECKX, S. 2011. Adaptation of *Lactobacillus plantarum* IMDO 130201, a wheat sourdough isolate, to

- growth in wheat sourdough simulation medium at different pH values through differential gene expression. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 3406-3412.
- VRANCKEN, G., RIMAUX, T., DE VUYST, L. & LEROY, F. 2008. Kinetic analysis of growth and sugar consumption by *Lactobacillus fermentum* IMDO 130101 reveals adaptation to the acidic sourdough ecosystem. *International journal of food microbiology*, 128, 58-66.
- WALTON, N. J., MAYER, M. J. & NARBAD, A. 2003. Vanillin. *Phytochemistry*, 63, 505-515.
- WANG, J., CHATZIDIMITRIOU, E., WOOD, L., HASANALIEVA, G., MARKELOU, E., IVERSEN, P. O., SEAL, C., BARANSKI, M., VIGAR, V. & ERNST, L. 2020. Effect of wheat species (*Triticum aestivum* vs *T. spelta*), farming system (organic vs conventional) and flour type (wholegrain vs white) on composition of wheat flour—results of a retail survey in the UK and Germany-2. Antioxidant activity, and phenolic and mineral content. *Food Chemistry: X*, 100091.
- WANG, T., HE, F. & CHEN, G. 2014. Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. *Journal of Functional Foods*, 7, 101-111.
- WATZKE, H. J. 1998. Impact of processing on bioavailability examples of minerals in foods. *Trends in food science & technology*, 9, 320-327.
- WELTI-CHANES, J. 2020. *Science and Technology of Fibers in Food Systems*, Springer.
- WINTERS, M., PANAYOTIDES, D., BAYRAK, M., RÉMONT, G., VIEJO, C. G., LIU, D., LE, B., LIU, Y., LUO, J. & ZHANG, P. 2019. Defined co-cultures of yeast and bacteria modify the aroma, crumb and sensory properties of bread. *Journal of applied microbiology*, 127, 778-793.
- XIE, C.-Y., GU, Z.-X., YOU, X., LIU, G., TAN, Y. & ZHANG, H. 2010. Screening of edible mushrooms for release of ferulic acid from wheat bran by fermentation. *Enzyme and Microbial Technology*, 46, 125-128.
- XIE, X. S., CUI, S. W., LI, W. & TSAO, R. 2008. Isolation and characterization of wheat bran starch. *Food research international*, 41, 882-887.
- XU, D., YIN, Y., ALI, B., ZHANG, Y., GUO, L. & XU, X. 2019. Isolation of yeast strains from Chinese liquor Daqu and its use in the wheat sourdough bread making. *Food Bioscience*, 31, 100443.

- XU, Z., HE, H., ZHANG, S., GUO, T. & KONG, J. 2017. Characterization of feruloyl esterases produced by the four *Lactobacillus* species: *L. amylovorus*, *L. acidophilus*, *L. farciminis* and *L. fermentum*, isolated from ensiled corn stover. *Frontiers in microbiology*, 8, 941.
- YÉPEZ, R., ILLESCAS, J. F., GIJÓN, P., SÁNCHEZ-SÁNCHEZ, M., GONZÁLEZ-ZAMORA, E., SANTILLAN, R., ÁLVAREZ, J. R., IBARRA, I. A. & AGUILAR-PLIEGO, J. 2016. HKUST-1 as a Heterogeneous Catalyst for the Synthesis of Vanillin. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, e54054.
- YIN, Z., WU, W., SUN, C., LEI, Z., CHEN, H., LIU, H., CHEN, W., MA, J., MIN, T. & ZHANG, M. 2018. Comparison of releasing bound phenolic acids from wheat bran by fermentation of three *Aspergillus* species. *International Journal of Food Science & Technology*, 53, 1120-1130.
- YU, L., HALEY, S., PERRET, J. & HARRIS, M. 2004. Comparison of wheat flours grown at different locations for their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 86, 11-16.
- YU, L. L., ZHOU, K. & PARRY, J. W. 2005. Inhibitory effects of wheat bran extracts on human LDL oxidation and free radicals. *LWT-Food Science and Technology*, 38, 463-470.
- ZAGO, E., DUBREUCQ, E., LECOMTE, J., VILLENEUVE, P., FINE, F., FULCRAND, H. & AOUF, C. 2016. Synthesis of bio-based epoxy monomers from natural allyl-and vinyl phenols and the estimation of their affinity to the estrogen receptor α by molecular docking. *New Journal of Chemistry*, 40, 7701-7710.
- ZENK, M. H., ULBRICH, B., BUSSE, J. & STÖCKIGT, J. 1980. Procedure for the enzymatic synthesis and isolation of cinnamoyl-CoA thioesters using a bacterial system. *Analytical biochemistry*, 101, 182-187.
- ZHANG, Z., LIAO, L., MOORE, J., WU, T. & WANG, Z. 2009. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). *Food Chemistry*, 113, 160-165.
- ZHAO, H.-M., GUO, X.-N. & ZHU, K.-X. 2017. Impact of solid state fermentation on nutritional, physical and flavor properties of wheat bran. *Food Chemistry*, 217, 28-36.
- ZHAO, Z. & MOGHADASIAN, M. H. 2008. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chemistry*, 109, 691-702.
- ZHENG, J., WITTOUCK, S., SALVETTI, E., FRANZ, C. M., HARRIS, H. M., MATTARELLI, P., O'TOOLE, P. W., POT, B., VANDAMME, P. & WALTER, J. 2020. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of

Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70, 2782-2858.

ZHOU, K., SU, L. & YU, L. 2004. Phytochemicals and antioxidant properties in wheat bran. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52, 6108-6114.

ZHOU, K. & YU, L. 2004. Antioxidant properties of bran extracts from Trego wheat grown at different locations. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52, 1112-1117.

ZOHARY, D., HOPF, M. & WEISS, E. 2012. *Domestication of Plants in the Old World: The origin and spread of domesticated plants in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin*, Oxford University Press on Demand.

ZUCHOWSKI, J., JONCZYK, K., PECIO, L. & OLESZEK, W. 2011. Phenolic acid concentrations in organically and conventionally cultivated spring and winter wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 1089-1095.

Annexes

Annexes

Ces annexes contiennent des tableaux et des figures, qui n'ont pas été inclus dans les différents chapitres. Ils permettent aux lecteurs d'avoir des éléments supplémentaires de compréhension.

Ainsi, nous présentons dans les annexes du chapitres III, les tableaux détaillés relatifs au rendement en son de blé, les teneurs en AF dans le son, les levains, pâtes et pains, ainsi que les tableaux des analyses statistiques de tukey.

Les annexes du chapitres IV incluent les tableaux représentant les résultats des analyses des tests de tukey sur la croissance microbienne, la performance fermentaire et la transformation de l'AF par les LAB et les levures, en mono- et co-culture. Elles contiennent également des figures supplémentaires montrant les différences en tailles cellulaires, les paramètres de fermentation et les résultats d'assimilation et de transformation de l'AF par les souches de LAB et de levures en mono- et en co-culture.

Annexes du chapitre III

Table 1. Rendement en son de blé et teneur en AF dans les sons des différentes espèces et variétés de blé appartenant aux différents terroirs.

Année de culture	Espèce	Type	Terroir	Variété	Répétition biologique	Répétition technique	Masse de son (en g)	Rendement en son (% de masse de grain sec)	AF dans le son (mg / g de masse de son sec)
2015	Tendre	ancien	FM	Saint Priest le Vernois Rouge	1	1	0.56	11.99	2.107
2015	Tendre	ancien	FM	Saint Priest le Vernois Rouge	1	2	na	na	2.121
2015	Tendre	ancien	FM	Saint Priest le Vernois Rouge	1	3	na	na	2.117
2015	Tendre	ancien	FM	Saint Priest le Vernois Rouge	2	1	0.56	12.07	1.71
2015	Tendre	ancien	FM	Saint Priest le Vernois Rouge	2	2	na	na	1.745
2015	Tendre	ancien	FM	Saint Priest le Vernois Rouge	2	3	na	na	1.755
2015	Tendre	ancien	FM	Saint Priest le Vernois Rouge	3	1	0.55	11.6	1.864
2015	Tendre	ancien	FM	Saint Priest le Vernois Rouge	3	2	na	na	1.813
2015	Tendre	ancien	FM	Saint Priest le Vernois Rouge	3	3	na	na	1.879
2015	Tendre	ancien	GS	Saint Priest le Vernois Rouge	1	1	0.56	11.94	2.567
2015	Tendre	ancien	GS	Saint Priest le Vernois Rouge	1	2	na	na	2.443
2015	Tendre	ancien	GS	Saint Priest le Vernois Rouge	1	3	na	na	2.457
2015	Tendre	ancien	GS	Saint Priest le Vernois Rouge	2	1	0.74	15.58	2.028
2015	Tendre	ancien	GS	Saint Priest le Vernois Rouge	2	2	na	na	1.841
2015	Tendre	ancien	GS	Saint Priest le Vernois Rouge	2	3	na	na	1.63
2015	Tendre	ancien	GS	Saint Priest le Vernois Rouge	3	1	0.57	12.1	1.975

2015	Tendre	ancien	GS	Saint Priest le Vernois Rouge	3	2	na	na	2.103
2015	Tendre	ancien	GS	Saint Priest le Vernois Rouge	3	3	na	na	2.128
2015	Tendre	ancien	LA	Saint Priest le Vernois Rouge	1	1	0.71	15.33	1.703
2015	Tendre	ancien	LA	Saint Priest le Vernois Rouge	1	2	na	na	1.66
2015	Tendre	ancien	LA	Saint Priest le Vernois Rouge	1	3	na	na	1.605
2015	Tendre	ancien	LA	Saint Priest le Vernois Rouge	2	1	0.69	14.81	1.772
2015	Tendre	ancien	LA	Saint Priest le Vernois Rouge	2	2	na	na	1.898
2015	Tendre	ancien	LA	Saint Priest le Vernois Rouge	2	3	na	na	1.686
2015	Tendre	ancien	LA	Saint Priest le Vernois Rouge	3	1	0.56	12.02	2.106
2015	Tendre	ancien	LA	Saint Priest le Vernois Rouge	3	2	na	na	2.005
2015	Tendre	ancien	LA	Saint Priest le Vernois Rouge	3	3	na	na	1.86
2015	Tendre	moderne	GS	Chevalier	1	1	0.53	11.32	2.266
2015	Tendre	moderne	GS	Chevalier	1	2	na	na	2.453
2015	Tendre	moderne	GS	Chevalier	1	3	na	na	2.079
2015	Tendre	moderne	GS	Chevalier	2	1	0.55	11.83	2.69
2015	Tendre	moderne	GS	Chevalier	2	2	na	na	2.302
2015	Tendre	moderne	GS	Chevalier	2	3	na	na	2.53
2015	Tendre	moderne	GS	Chevalier	3	1	0.56	11.91	2.705
2015	Tendre	moderne	GS	Chevalier	3	2	na	na	2.28
2015	Tendre	moderne	GS	Chevalier	3	3	na	na	2.604
2015	Tendre	moderne	LA	Chevalier	1	1	0.65	14.07	2.127
2015	Tendre	moderne	LA	Chevalier	1	2	na	na	2.021
2015	Tendre	moderne	LA	Chevalier	1	3	na	na	2.111
2015	Tendre	moderne	LA	Chevalier	2	1	0.54	11.74	2.905
2015	Tendre	moderne	LA	Chevalier	2	2	na	na	2.685
2015	Tendre	moderne	LA	Chevalier	2	3	na	na	2.783
2015	Tendre	moderne	LA	Chevalier	3	1	0.6	13.04	2.19

2015	Tendre	moderne	LA	Chevalier	3	2	na	na	2.308
2015	Tendre	moderne	LA	Chevalier	3	3	na	na	2.228
2015	Tendre	moderne	LM	Chevalier	1	1	0.59	12.72	2.128
2015	Tendre	moderne	LM	Chevalier	1	2	na	na	2.059
2015	Tendre	moderne	LM	Chevalier	1	3	na	na	2.025
2015	Tendre	moderne	LM	Chevalier	2	1	0.6	12.88	1.913
2015	Tendre	moderne	LM	Chevalier	2	2	na	na	1.918
2015	Tendre	moderne	LM	Chevalier	2	3	na	na	2.16
2015	Tendre	moderne	LM	Chevalier	3	1	0.57	12.13	2.29
2015	Tendre	moderne	LM	Chevalier	3	2	na	na	1.973
2015	Tendre	moderne	LM	Chevalier	3	3	na	na	1.937
2015	Tendre	ancien	FM	Bladette de Provence	1	1	0.61	12.87	2.132
2015	Tendre	ancien	FM	Bladette de Provence	1	2	na	na	2.108
2015	Tendre	ancien	FM	Bladette de Provence	1	3	na	na	2.072
2015	Tendre	ancien	FM	Bladette de Provence	2	1	0.49	10.47	2.613
2015	Tendre	ancien	FM	Bladette de Provence	2	2	na	na	2.33
2015	Tendre	ancien	FM	Bladette de Provence	2	3	na	na	2.308
2015	Tendre	ancien	FM	Bladette de Provence	3	1	0.53	11.28	1.906
2015	Tendre	ancien	FM	Bladette de Provence	3	2	na	na	2.053
2015	Tendre	ancien	FM	Bladette de Provence	3	3	na	na	2.125
2015	Tendre	ancien	GS	Bladette de Provence	1	1	0.48	10.08	2.339
2015	Tendre	ancien	GS	Bladette de Provence	1	2	na	na	2.294
2015	Tendre	ancien	GS	Bladette de Provence	1	3	na	na	2.317
2015	Tendre	ancien	GS	Bladette de Provence	2	1	0.6	12.74	2.599
2015	Tendre	ancien	GS	Bladette de Provence	2	2	na	na	2.493

2015	Tendre	ancien	GS	Bladette de Provence	2	3	na	na	2.296
2015	Tendre	ancien	GS	Bladette de Provence	3	1	0.48	10.23	2.589
2015	Tendre	ancien	GS	Bladette de Provence	3	2	na	na	2.891
2015	Tendre	ancien	GS	Bladette de Provence	3	3	na	na	2.739
2015	Tendre	ancien	LA	Bladette de Provence	1	1	0.56	12.2	2.041
2015	Tendre	ancien	LA	Bladette de Provence	1	2	na	na	1.969
2015	Tendre	ancien	LA	Bladette de Provence	1	3	na	na	2.017
2015	Tendre	ancien	LA	Bladette de Provence	2	1	0.53	11.47	2.182
2015	Tendre	ancien	LA	Bladette de Provence	2	2	na	na	2.305
2015	Tendre	ancien	LA	Bladette de Provence	2	3	na	na	2.243
2015	Tendre	ancien	LA	Bladette de Provence	3	1	0.57	12.36	2.774
2015	Tendre	ancien	LA	Bladette de Provence	3	2	na	na	2.556
2015	Tendre	ancien	LA	Bladette de Provence	3	3	na	na	2.245
2015	Tendre	moderne	GS	Pirénéo	1	1	0.59	12.29	1.966
2015	Tendre	moderne	GS	Pirénéo	1	2	na	na	2.354
2015	Tendre	moderne	GS	Pirénéo	1	3	na	na	2.241
2015	Tendre	moderne	GS	Pirénéo	2	1	0.64	13.59	1.737
2015	Tendre	moderne	GS	Pirénéo	2	2	na	na	1.917
2015	Tendre	moderne	GS	Pirénéo	2	3	na	na	1.855
2015	Tendre	moderne	GS	Pirénéo	3	1	0.64	13.59	2.05
2015	Tendre	moderne	GS	Pirénéo	3	2	na	na	2.041
2015	Tendre	moderne	GS	Pirénéo	3	3	na	na	2.033
2015	Tendre	moderne	LA	Pirénéo	1	1	0.72	15.65	1.479
2015	Tendre	moderne	LA	Pirénéo	1	2	na	na	1.732
2015	Tendre	moderne	LA	Pirénéo	1	3	na	na	1.597
2015	Tendre	moderne	LA	Pirénéo	2	1	0.58	12.34	1.996

2015	Tendre	moderne	LA	Pirénéo	2	2	na	na	1.802
2015	Tendre	moderne	LA	Pirénéo	2	3	na	na	1.818
2015	Tendre	moderne	LA	Pirénéo	3	1	0.57	12.39	1.994
2015	Tendre	moderne	LA	Pirénéo	3	2	na	na	1.907
2015	Tendre	moderne	LA	Pirénéo	3	3	na	na	1.991
2015	Tendre	moderne	LM	Pirénéo	1	1	0.55	11.9	2.08
2015	Tendre	moderne	LM	Pirénéo	1	2	na	na	1.804
2015	Tendre	moderne	LM	Pirénéo	1	3	na	na	1.954
2015	Tendre	moderne	LM	Pirénéo	2	1	0.55	11.83	2.131
2015	Tendre	moderne	LM	Pirénéo	2	2	na	na	2.046
2015	Tendre	moderne	LM	Pirénéo	2	3	na	na	1.992
2015	Tendre	moderne	LM	Pirénéo	3	1	0.52	11.28	2.091
2015	Tendre	moderne	LM	Pirénéo	3	2	na	na	1.927
2015	Tendre	moderne	LM	Pirénéo	3	3	na	na	2.057
2015	Tendre	ancien	FM	Redon	1	1	0.63	13.38	1.686
2015	Tendre	ancien	FM	Redon	1	2	na	na	1.513
2015	Tendre	ancien	FM	Redon	1	3	na	na	1.588
2015	Tendre	ancien	FM	Redon	2	1	0.58	12.37	1.754
2015	Tendre	ancien	FM	Redon	2	2	na	na	1.727
2015	Tendre	ancien	FM	Redon	2	3	na	na	1.69
2015	Tendre	ancien	FM	Redon	3	1	0.64	13.73	1.776
2015	Tendre	ancien	FM	Redon	3	2	na	na	1.791
2015	Tendre	ancien	FM	Redon	3	3	na	na	1.669
2015	Tendre	ancien	GS	Redon	1	1	0.611	12.92	2.169
2015	Tendre	ancien	GS	Redon	1	2	na	na	1.972
2015	Tendre	ancien	GS	Redon	1	3	na	na	1.856
2015	Tendre	ancien	GS	Redon	2	1	0.64	13.42	1.565
2015	Tendre	ancien	GS	Redon	2	2	na	na	1.818
2015	Tendre	ancien	GS	Redon	2	3	na	na	1.693
2015	Tendre	ancien	GS	Redon	3	1	0.68	14.2	1.886
2015	Tendre	ancien	GS	Redon	3	2	na	na	1.862
2015	Tendre	ancien	GS	Redon	3	3	na	na	1.949
2015	Tendre	ancien	LA	Redon	1	1	0.61	12.79	2.481

2015	Tendre	ancien	LA	Redon	1	2	na	na	2.427
2015	Tendre	ancien	LA	Redon	1	3	na	na	2.242
2015	Tendre	ancien	LA	Redon	2	1	0.6	12.53	1.847
2015	Tendre	ancien	LA	Redon	2	2	na	na	1.793
2015	Tendre	ancien	LA	Redon	2	3	na	na	1.843
2015	Tendre	ancien	LA	Redon	3	1	0.68	14.47	1.691
2015	Tendre	ancien	LA	Redon	3	2	na	na	1.698
2015	Tendre	ancien	LA	Redon	3	3	na	na	1.645
2015	Tendre	moderne	GS	Renan	1	1	0.55	11.63	2.127
2015	Tendre	moderne	GS	Renan	1	2	na	na	2.344
2015	Tendre	moderne	GS	Renan	1	3	na	na	2.22
2015	Tendre	moderne	GS	Renan	2	1	0.567	12.01	2.285
2015	Tendre	moderne	GS	Renan	2	2	na	na	2.362
2015	Tendre	moderne	GS	Renan	2	3	na	na	2.34
2015	Tendre	moderne	GS	Renan	3	1	0.63	13.13	1.912
2015	Tendre	moderne	GS	Renan	3	2	na	na	1.966
2015	Tendre	moderne	GS	Renan	3	3	na	na	1.879
2015	Tendre	moderne	LA	Renan	1	1	0.55	11.83	1.937
2015	Tendre	moderne	LA	Renan	1	2	na	na	1.997
2015	Tendre	moderne	LA	Renan	1	3	na	na	1.752
2015	Tendre	moderne	LA	Renan	2	1	0.53	11.4	2.487
2015	Tendre	moderne	LA	Renan	2	2	na	na	2.494
2015	Tendre	moderne	LA	Renan	2	3	na	na	2.312
2015	Tendre	moderne	LA	Renan	3	1	0.55	11.55	2.022
2015	Tendre	moderne	LA	Renan	3	2	na	na	1.945
2015	Tendre	moderne	LA	Renan	3	3	na	na	2.01
2015	Tendre	moderne	LM	Renan	1	1	0.61	13.26	2.138
2015	Tendre	moderne	LM	Renan	1	2	na	na	2.318
2015	Tendre	moderne	LM	Renan	1	3	na	na	1.992
2015	Tendre	moderne	LM	Renan	2	1	0.59	12.55	1.704
2015	Tendre	moderne	LM	Renan	2	2	na	na	1.749
2015	Tendre	moderne	LM	Renan	2	3	na	na	1.768
2015	Tendre	moderne	LM	Renan	3	1	0.51	11.04	2.191

2015	Tendre	moderne	LM	Renan	3	2	na	na	2.161
2015	Tendre	moderne	LM	Renan	3	3	na	na	2.358
2017	Tendre	moderne	Maugio	Chevalier	1	1	0.7	14.83	1.637
2017	Tendre	moderne	Maugio	Chevalier	1	2	na	na	1.533
2017	Tendre	moderne	Maugio	Chevalier	1	3	na	na	1.587
2017	Tendre	moderne	Maugio	Chevalier	2	1	0.56	11.86	2.016
2017	Tendre	moderne	Maugio	Chevalier	2	2	na	na	1.998
2017	Tendre	moderne	Maugio	Chevalier	2	3	na	na	1.955
2017	Tendre	moderne	Maugio	Chevalier	3	1	0.65	13.88	1.785
2017	Tendre	moderne	Maugio	Chevalier	3	2	na	na	1.712
2017	Tendre	moderne	Maugio	Chevalier	3	3	na	na	1.88
2017	Tendre	moderne	Maugio	Pirénéo	1	1	0.71	15.042	1.508
2017	Tendre	moderne	Maugio	Pirénéo	1	2	na	na	1.38
2017	Tendre	moderne	Maugio	Pirénéo	1	3	na	na	1.434
2017	Tendre	moderne	Maugio	Pirénéo	2	1	0.72	15.32	1.42
2017	Tendre	moderne	Maugio	Pirénéo	2	2	na	na	1.373
2017	Tendre	moderne	Maugio	Pirénéo	2	3	na	na	1.44
2017	Tendre	moderne	Maugio	Pirénéo	3	1	0.75	15.96	1.193
2017	Tendre	moderne	Maugio	Pirénéo	3	2	na	na	1.281
2017	Tendre	moderne	Maugio	Pirénéo	3	3	na	na	1.382
2017	Tendre	ancien	Maugio	Rouge de Bordeaux	1	1	0.79	16.81	1.361
2017	Tendre	ancien	Maugio	Rouge de Bordeaux	1	2	na	na	1.296
2017	Tendre	ancien	Maugio	Rouge de Bordeaux	1	3	na	na	1.253
2017	Tendre	ancien	Maugio	Rouge de Bordeaux	2	1	0.73	15.43	1.286
2017	Tendre	ancien	Maugio	Rouge de Bordeaux	2	2	na	na	1.396
2017	Tendre	ancien	Maugio	Rouge de Bordeaux	2	3	na	na	1.311
2017	Tendre	ancien	Maugio	Rouge de Bordeaux	3	1	0.76	16.07	1.47
2017	Tendre	ancien	Maugio	Rouge de Bordeaux	3	2	na	na	1.436

2017	Tendre	ancien	Maugio	Rouge de Bordeaux	3	3	na	na	1.47
2017	Dur	Inconnu	Maugio	LA1823	1	1	0.55	11.55	2.17
2017	Dur	Inconnu	Maugio	LA1823	1	2	na	na	2.28
2017	Dur	Inconnu	Maugio	LA1823	1	3	na	na	2.286
2017	Dur	Inconnu	Maugio	LA1823	2	1	0.48	10.15	1.948
2017	Dur	Inconnu	Maugio	LA1823	2	2	na	na	1.999
2017	Dur	Inconnu	Maugio	LA1823	2	3	na	na	1.847
2017	Dur	Inconnu	Maugio	LA1823	3	1	0.62	13.05	1.759
2017	Dur	Inconnu	Maugio	LA1823	3	2	na	na	1.737
2017	Dur	Inconnu	Maugio	LA1823	3	3	na	na	1.82
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Bidi17	1	1	0.69	14.49	1.662
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Bidi17	1	2	na	na	1.517
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Bidi17	1	3	na	na	1.694
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Bidi17	2	1	0.66	13.86	1.408
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Bidi17	2	2	na	na	1.399
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Bidi17	2	3	na	na	1.5
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Bidi17	3	1	0.64	13.36	1.214
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Bidi17	3	2	na	na	1.326
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Bidi17	3	3	na	na	1.095
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Claudio	1	1	0.53	11.16	1.569
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Claudio	1	2	na	na	1.511
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Claudio	1	3	na	na	1.665
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Claudio	2	1	0.59	12.42	1.514
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Claudio	2	2	na	na	1.737
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Claudio	2	3	na	na	1.588
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Claudio	3	1	0.65	13.65	1.455
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Claudio	3	2	na	na	1.604
2017	Dur	Inconnu	Maugio	Claudio	3	3	na	na	1.593

Table 2. Concentration de l'AF libre dans certains échantillons de blé, exprimée en mg / g de son sec.

Année de culture	Espèce	Type	Terroir	Variété	Répétition	AF libre (mg/g de masse de son sec)
2015	Tendre	ancien	GS	Bladette de Provence	1	0.012
2015	Tendre	ancien	GS	Bladette de Provence	2	0.010
2015	Tendre	ancien	GS	Bladette de Provence	3	0.010
2015	Tendre	ancien	LA	Redon	1	0.013
2015	Tendre	ancien	LA	Redon	2	0.013
2015	Tendre	ancien	LA	Redon	3	0.013
2017	Tendre	ancien	Maugio	Rouge de Bordeaux	1	0.010
2017	Tendre	ancien	Maugio	Rouge de Bordeaux	2	0.010
2017	Tendre	ancien	Maugio	Rouge de Bordeaux	3	0.009
2017	Dur	Inconnu	Maugio	LA1823	1	0.011
2017	Dur	Inconnu	Maugio	LA1823	2	0.010
2017	Dur	Inconnu	Maugio	LA1823	3	0.010

Tableau 3. Comparaison du rendement en son entre les blés durs et les blés tendres, récoltés en 2017. Les résultats sont exprimés en pourcentage moyen de matière sèche. G1, G2, expriment des groupes de variétés. Les variétés avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes

Echantillon	Rendement moyen en son (% de grain de blé sec)	G1	G2
Rouge de Bordeaux	16.10	a	
Pirénéo	15.44	a	
Bidi17	13.90	a	b
Chevalier	13.52	a	b

Claudio	12.41	b
LA1823	11.58	b

Tableau 4. Comparaison du rendement en son des variétés de blé tendre récoltées en 2015, dans les terroirs GS et LA. Les résultats sont exprimés en pourcentage moyen de matière sèche. G1 exprime un groupe de variétés. Les variétés avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes

Echantillon	Rendement moyen en son (% de grain de blé sec)	G1
Saint Priest le Vernois Rouge	13.63	a
Redon	13.39	a
Pirénéo	13.31	a
Chevalier	12.32	a
Renan	11.93	a
Bladette de Provence	11.51	a

Tableau 5. Comparaison de la teneur en AF des sons des variétés de blé dur et de blé tendre, récoltés en 2017. Les résultats sont exprimés par la teneur moyenne en mg / g de matière sèche (son de blé). G1, G2, G3, G4 expriment des groupes de variétés. Les variétés avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes.

Echantillon	AF total moyen (en mg / g de matière sèche de son de blé)	G1	G2	G3	G4
LA1823	1.98	a			
Chevalier	1.79	a	b		
Claudio	1.58		b	c	
Bidi17	1.42			c	d
Pirénéo	1.38			c	d
Rouge de Bordeaux	1.36				d

Tableau 6. Comparaison de la teneur en AF des sons des variétés de blé tendre récoltées en 2015, dans les terroirs GS et LA. Les résultats sont exprimés par la teneur moyenne en mg / g de matière sèche (son de blé). G1, G2, expriment des groupes de variétés. Les variétés avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes

Echantillon	AF total moyen (en mg / g de matière sèche de son de blé)	G1	G2
Chevalier	2.40	a	
Bladette de Provence	2.38	a	
Renan	2.13		b
Saint Priest le Vernois Rouge	1.97		b
Pirénéo	1.92		b
Redon	1.91		b

Tableau 7. Comparaison de la teneur en AF des sons des variétés de blé tendre récoltées en 2015, dans les quatre terroirs GS, LA, LM et FM. Les résultats sont exprimés par la teneur moyenne en mg / g de matière sèche (son de blé). G1, G2, G3, G4, G5, G6 et G7 expriment des groupes de variétés. Les variétés avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes.

Echantillon	AF total moyen (en mg / g de matière sèche de son de blé)	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
GS_Bladette de Provence	2.51	a						
GS_Chevalier	2.43	a	b					
LA_Chevalier	2.37	a	b	c				
LA_Bladette de Provence	2.26	a	b	c	d			
FM_Bladette de Provence	2.18	a	b	c	d	e		
GS_Renan	2.16	a	b	c	d	e	f	
GS_Saint Priest le Vernois Rouge	2.13		b	c	d	e	f	
LA_Renan	2.11		b	c	d	e	f	
LM_Chevalier	2.04			c	d	e	f	g
LM_Renan	2.04			c	d	e	f	g

GS_Pirénéo	2.02		c	d	e	f	g
LM_Pirénéo	2.01		c	d	e	f	g
LA_Redon	1.96			d	e	f	g
FM_Saint Priest le Vernois Rouge	1.90			d	e	f	g
GS_Redon	1.86				e	f	g
LA_Pirénéo	1.81					f	g
LA_Saint Priest le Vernois Rouge	1.81					f	g
FM_Redon	1.69						g

Tableau 8. Comparaison de la teneur totale en AF dans les levains. G1, G2, G3 expriment des groupes de différences. Les levains avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différents

Levain	AF total moyen (en mg / g de matière sèche)	G1	G2	G3
CRA	0.52	a		
EDI	0.30		b	
STE	0.18			c

Tableau 9. Comparaison de la teneur totale en AF dans les pâtes, panifiées avec les différents types de fermentation et ferment. G1, G2 expriment des groupes de différences. Les cieux avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différents.

Echantillons du Pâtes	AF total moyen (en mg / g de matière sèche)	G1	G2
S_CRA	0.28	a	
Y_INS	0.26	a	b
S_CRA x Y_HIR	0.26	a	b
Y_BIO	0.26	a	b
S_EDI	0.26	a	b
Y_HIR	0.25		b
S_STE	0.24		b
S_STE x Y_HIR	0.24		b

Tableau 10. Comparaison de la teneur totale en AF dans les mises et croûtes du pain, préparées avec différents types de fermentation et de ferment. G1, G2, G3 expriment des groupes de différences. Ceux avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différents.

Echantillons du pains (mie + croûte)	AF totale moyen (en mg / g de matière sèche)	G1	G2	G3
S_CRA	0.33	a		
Y_BIO	0.31	a	b	
S_EDI	0.30	a	b	
Y_HIR	0.29		b	c
S_CRA x Y_HIR	0.28	a	b	c
S_STE x Y_HIR	0.28		b	c
Y_INS	0.27		b	c
S_STE	0.26			c

Tableau 11. Comparaison de la teneur totale en AF dans les mises des pains préparés avec différents types de fermentations et de ferments. G1 exprime les groupes de différences. Les échantillons avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différents

Echantillons des mises des pains	AF totale moyen (en mg / g de matière sèche)	G1
S_CRA	0.25	a
Y_BIO	0.25	a
S_EDI	0.24	a
S_CRA x Y_HIR	0.25	a
Y_HIR	0.25	a
S_STE	0.24	a
S_STE x Y_HIR	0.22	a
Y_INS	0.22	a

Annexes du chapitre IV

Tableau 12. Taille de la population des souches de LAB en présence et en absence d'AF. Les lettres représentent les groupes de test tukey. Les échantillons avec la même lettre ne sont pas significativement différents.

Souche	AF	Nombre moyen de cellules (en Log ₁₀ UFC / mL)	Ecart standard	ymax	ymin
bFs12	0	8.7 abcde	0.03	8.8	8.7
	25	8.1 e	0.6	8.7	7.5
bFs15	0	8.4 bcd e	0.3	8.7	8.1
	25	8.1 e	0.2	8.4	7.9
bFs17	0	8.7 abcde	0.04	8.7	8.6
	25	8.6 bcd e	0.08	8.7	8.5
bFs9	0	8.5 abcde	0.1	8.6	8.4
	25	8.6 bcd e	0.1	8.7	8.5
bLc16	0	8.2 bc	0.04	8.2	8.2
	25	8.2 e	0.1	8.3	8.2
bLh5	0	8.7 abcde	0.1	8.8	8.6
	25	8.9 abcde	0.3	9.2	8.6
bLp16	0	8.7 abcde	0.2	8.8	8.5
	25	9.1 abcd	0.5	9.6	8.6
bLp6	0	8.9 abcde	0.2	9.1	8.8
	25	9.3 a	0.3	9.5	9.04
bLp20	0	9.1 ab	0.05	9.1	9.0
	25	9.1 abc	0.05	9.1	9.0
bLsk4	0	8.1 ce	0.01	8.1	8.1

	25	8.1 e	0.01	8.1	8.1
bLx29	0	8.7 abcde	0.04	8.8	8.7
	25	8.7 abcde	0.1	8.7	8.6

Tableau 13. Taille de la population des souches de LAB en co-culture avec les souches des levures.

Co-culture	Nombre moyen de cellules (en Log ₁₀ UFC / mL)	Ecart standard	ymax	ymin
bFs12 x yKb20	8.0	0.1	8.0	7.9
bFs15 x yKb15	8.0	0.2	8.2	7.8
bFs15 x yKh6	8.2	0.01	8.3	8.2
bFs17 x yKh17	8.6	0.1	8.6	8.5
bFs9 x ySc9	8.3	0.2	8.5	8.1
bLc16 x yKb15	8.2	0.1	8.3	8.1
bLh5 x yKh5	8.6	0.1	8.7	8.5
bLp16 x ySc16	7.9	0.1	8.0	7.8
bLp6 x yKb4	8.9	0.04	8.9	8.8
bLp6 x yKh6	8.9	0.1	9.0	8.8
bLp6 x ySc10	8.5	0.03	8.6	8.5
bLp6 x ySc32	8.6	0.1	8.7	8.6
bLp20 x yKb20	8.9	0.2	9.1	8.8
bLp20 x ySc16	8.1	0.1	8.1	8.0
bLx29 x ySc29	8.6	0.05	8.7	8.6

Tableau 14. Taille de la population des souches de levures en présence et en absence d'AF.

Souche	AF	Nombre moyen de cellules (en Log ₁₀ UFC / mL)	Ecart standard
yKb12	0	8.3	0.04
	25	8.3	0.04
yKb15	0	8.3	0.01
	25	8.3	0.05
yKb20	0	8.3	0.06
	25	8.2	0.07
yKb4	0	8.3	NA
	25	8.3	0.09
yKh17	0	8.0	0.02
	25	8.0	0.1
yKh5	0	8.0	0.02
	25	8.0	0.05
yKh6	0	7.9	0.08
	25	7.8	0.1
ySc10	0	8.4	0.01
	25	8.5	0.002
ySc16	0	8.4	0.08
	25	8.4	0.03
ySc29	0	8.2	0.01
	25	8.2	0.01
ySc32	0	8.3	0.02
	25	8.3	0.02
ySc9	0	8.1	0.04
	25	8.2	0.02

Tableau 15. Taille de la population des espèces de levures en présence et en l'absence d'AF.

Espèce	AF	Nombre moyen de cellules (en Log ₁₀ UFC / mL)	Ecart standard	ymax	ymin
<i>K. bulderi</i>	0	8.3	0.04	8.3	8.3
	25	8.2	0.1	8.3	8.2
<i>K. humilis</i>	0	8.0	0.1	8.1	7.9
	25	7.9	0.1	8.0	7.8
<i>S. cerevisiae</i>	0	8.3	0.1	8.4	8.1
	25	8.3	0.1	8.4	8.2

Tableau 16. Taille de la population des souches de levures en co-culture avec les souches de LAB.

Co-culture	Nombre moyen de cellules (en Log ₁₀ UFC / mL)	Ecart standard	ymax	ymin
yKb15 vs bFs15	8.1	0.3	8.3	7.8
yKb15 vs bLc16	8.2	0.01	8.2	8.2
yKb20 vs bFs12	8.1	0.1	8.2	7.9
yKb20 vs bLp20	8.2	0.2	8.4	8.1
yKb4 vs bLp6	8.1	0.04	8.2	8.1
yKh17 vs bFs17	7.9	0.1	8.0	7.8
yKh5 vs bLh5	7.8	0.04	7.8	7.7
yKh6 vs bFs15	7.8	0.04	7.8	7.8
yKh6 vs bLp6	7.8	0.03	7.8	7.8
ySc10 vs bLp6	8.3	0.05	8.3	8.2
ySc16 vs bLp20	8.4	0.1	8.5	8.3
ySc16 vs bLp16	8.4	0.05	8.5	8.4

ySc29 vs bLx29	8.1	0.02	8.1	8.1
ySc9 vs bFs9	8.0	0.3	8.2	7.7

Tableau 17. Le CO₂ maximum (g / L) produit par les souches de LAB en monoculture. Les lettres représentent les groupes de test tukey. Les échantillons avec la même lettre ne sont pas significativement différents.

Strain	CO ₂ Max (g/L)	Ecart standard	ymax	ymin
bFs12	1.5 b	0.5	2.0	1.0
bFs15	3.4 a	0.8	4.3	2.6
bFs17	2.8 ab	0.5	3.3	2.2
bFs9	1.9 ab	0.6	2.5	1.2
bLc16	1.8 ab	0.6	2.4	1.2
bLh5	2.2 ab	1.1	3.3	1.2
bLp16	1.7 b	0.5	2.2	1.2
bLp6	1.9 ab	0.2	2.1	1.7
bLp20	1.5 b	0.6	2.2	0.9
bLsk4	1.8 ab	0.3	2.2	1.5
bLx29	1.5 b	0.3	1.7	1.2

Tableau 18. La durée de la phase de latence (h) des souches de LAB en monoculture.

Souche	Durée Moyenne de la phase de latence (h)	Ecart standard	ymax	ymin
bFs12	8.7	2.0	10.7	6.7
bFs15	10.2	3.5	13.7	6.7
bFs17	9.3	5.9	15.2	3.4
bFs9	8.0	3.1	11.1	4.9
bLc16	8.6	5.8	14.3	2.8

bLh5	16.8	11.5	28.3	5.4
bLp16	12.3	8.9	21.2	3.4
bLp6	9.6	3.2	12.8	6.4
bLp20	17.1	15.3	32.4	1.9
bLsk4	16.4	4.2	20.6	12.2
bLx29	16.1	8.8	25.0	7.3

Tableau 19. Vitesse de fermentation maximale (Vmax) (g / L / h) des souches de LAB en monoculture.

Souche	Vmax (g/L/h)	Ecart standard	ymax	ymin
bFs12	0.2	0.03	0.2	0.1
bFs15	0.2	0.1	0.3	0.2
bFs17	0.3	0.1	0.4	0.1
bFs9	0.2	0.1	0.3	0.2
bLc16	0.2	0.02	0.2	0.2
bLh5	0.3	0.2	0.5	0.1
bLp16	0.2	0.1	0.3	0.1
bLp6	0.2	0.1	0.3	0.1
bLp20	0.2	0.1	0.4	0.1
bLsk4	0.1	0.01	0.1	0.1
bLx29	0.2	0.03	0.2	0.1

Tableau 20. Temps nécessaire pour atteindre la vitesse de fermentation maximale (tVmax) (h) des souches de LAB en monoculture.

Souche	tVmax (h)	Ecart standard	ymax	ymin
bFs12	10.1	9.4	19.5	0.7
bFs15	10.3	6.9	17.2	3.5
bFs17	13.2	11.2	24.4	2.0
bFs9	8.0	3.4	11.4	4.6
bLc16	1.5	1.6	3.1	-0.1
bLh5	11.7	12.3	24.0	-0.7
bLp16	9.4	9.6	19.0	-0.2
bLp6	20.5	12.9	33.5	7.6
bLp20	8.9	5.2	14.1	3.8
bLsk4	18.5	12.4	30.9	6.1
bLx29	5.5	3.3	8.8	2.3

Tableau 21. CO₂ max (g / L) produit par les LAB en monoculture et en co-culture avec les espèces de levures. Les lettres représentent les groupes de test tukey. Les échantillons avec la même lettre ne sont pas significativement différents.

Type de culture	CO ₂ max (g/L)	Ecart standard	ymax	ymin
co-culture-Kb	8.1 b	1.3	9.4	6.8
co-culture-Kh	7.8 b	0.8	8.6	7.0
co-culture-Sc	22.3 a	1.0	23.3	21.4
monoculture	2.1 c	0.9	3.0	1.3

Tableau 22. La durée de la phase de latence (h) des LAB en monoculture et en co-cultures avec les espèces de levures. Les lettres représentent les groupes de test tukey. Les échantillons avec la même lettre ne sont pas significativement différents.

Type de culture	Durée de la phase de latence (h)	Ecart standard	ymax	ymin
co-culture-Kb	8.2 b	2.6	10.8	5.6
co-culture-Kh	7.4 b	2.3	9.7	5.0
co-culture-Sc	8.6 b	2.2	10.8	6.5
monoculture	12.8 a	8.8	21.6	4.0

Tableau 23. Vitesse de fermentation maximale (Vmax) (g / L / h) des LAB en monoculture et en co-cultures avec les espèces de levures. Les lettres représentent les groupes de test tukey. Les échantillons avec la même lettre ne sont pas significativement différents.

Type de culture	Vmax (g/L/h)	Ecart standrad	ymax	ymin
co-culture-Kb	0.9 b	0.2	1.1	0.7
co-culture-Kh	1.0 b	0.3	1.2	0.7
co-culture-Sc	2.3 a	0.4	2.8	1.9
monoculture	0.2 c	0.1	0.3	0.1

Tableau 24. Temps nécessaire pour atteindre la vitesse de fermentation maximale (tVmax) (h) des LAB en monoculture et en co-cultures avec les espèces de levures. Les lettres représentent les groupes de test tukey. Les échantillons avec la même lettre ne sont pas significativement différents.

Type de culture	tVmax (h)	Ecart standard	ymax	ymin
co-culture-Kb	12.0 b	1.4	13.4	10.6
co-culture-Kh	9.6 b	1.9	11.5	7.7
co-culture-Sc	18.9 a	2.8	21.7	16.1
monoculture	10.8 b	9.1	19.9	1.7

Tableau 25. CO₂max (g / L) produit par les souches de levure en monoculture.

Souche	CO ₂ max (g/L)	Ecart standrad	ymax	ymin
yKb12	7.6	0.2	7.9	7.4
yKb15	7.6	0.6	8.2	7.1
yKb20	7.6	0.6	8.2	7.0
yKb4	7.9	0.7	8.6	7.1
yKh17	8.1	1.0	9.1	7.0
yKh5	7.9	0.8	8.7	7.1
yKh6	7.9	0.3	8.2	7.7
ySc10	24.3	0.5	24.8	23.7
ySc16	24.5	0.9	25.4	23.6
ySc29	24.5	0.6	25.1	23.9
ySc32	24.1	0.9	25.0	23.2
ySc9	24.5	0.6	25.1	23.9

Tableau 26. La durée de la phase de latence (h) des souches de levure en monoculture.

Souche	Durée de la phase de latence (h)	Ecart standard	ymax	ymin
yKb12	8.5	2.2	10.8	6.3
yKb15	9.7	0.3	10.0	9.4
yKb20	9.0	1.8	10.8	7.1
yKb4	7.8	3.5	11.3	4.2
yKh17	6.6	2.9	9.5	3.7
yKh5	6.4	3.3	9.8	3.1
yKh6	8.7	1.4	10.1	7.2
ySc10	8.0	2.5	10.5	5.5
ySc16	8.0	3.2	11.2	4.8

ySc29	7.5	1.7	9.2	5.8
ySc32	6.4	3.9	10.3	2.5
ySc9	7.4	3.7	11.1	3.7

Tableau 27. Vitesse de fermentation maximale (V_{max}) (g / L / h) des souches de levure en monoculture

Souche	V_{max} (g/L/h)	Ecart standard	ymax	ymin
yKb12	1.1	0.1	1.2	1.0
yKb15	1.2	0.1	1.3	1.1
yKb20	1.1	0.1	1.2	1.0
yKb4	1.1	0.1	1.3	1.0
yKh17	1.2	0.1	1.3	1.1
yKh5	1.3	0.1	1.3	1.2
yKh6	1.0	0.3	1.3	0.6
ySc10	3.4	0.1	3.4	3.3
ySc16	3.0	0.1	3.1	2.9
ySc29	3.1	0.04	3.1	3.1
ySc32	2.5	0.1	2.6	2.5
ySc9	3.2	0.2	3.4	3.1

Tableau 28. Temps nécessaire pour atteindre la vitesse de fermentation maximale (t_{Vmax}) (h) des souches de levure en monoculture.

Souche	t_{Vmax} (h)	Ecart standard	ymax	ymin
yKb12	12.0	1.5	13.6	10.5
yKb15	11.7	1.9	13.5	9.8
yKb20	13.0	0.5	13.6	12.5

yKb4	12.0	1.8	13.8	10.2
yKh17	10.3	0.3	10.6	10.0
yKh5	10.1	0.1	10.3	10.0
yKh6	10.2	0.5	10.7	9.7
ySc10	17.1	1.4	18.5	15.8
ySc16	18.3	0.7	19.1	17.6
ySc29	16.4	1.5	17.9	15.0
ySc32	18.8	1.3	20.1	17.5
ySc9	18.9	0.6	19.5	18.2

Tableau 29. Le CO₂max (g / L) produit par les espèces de levures en monoculture et en co-culture avec les LAB. Les lettres représentent les groupes de test tukey. Les échantillons avec la même lettre ne sont pas significativement différents.

Type de culture	CO ₂ Max (g/L)	Ecart standard	ymax	ymin
co-culture-Kb	8.1 c	1.3	9.4	6.8
co-culture-Kh	7.8 c	0.8	8.6	7.0
co-culture-Sc	22.3 b	1.0	23.3	21.4
Kb	7.7 c	0.6	8.3	7.1
Kh	8.0 c	0.7	8.7	7.2
Sc	24.4 a	0.7	25.1	23.7

Tableau 30. La durée de la phase de latence (h) des espèces de levure en monoculture et en co-culture avec les LAB.

Type de culture	Durée de la phase de latence (h)	Ecart standard	ymax	ymin
Sc	7.4	3.0	10.4	4.4
Kh	7.2	2.7	9.9	4.5

Kb	8.9	2.1	10.9	6.8
co-culture-Sc	8.6	2.2	10.8	6.5
co-culture-Kh	7.4	2.3	9.7	5.0
co-culture-Kb	8.2	2.6	10.8	5.6

Tableau 31. Vitesse de fermentation maximale (Vmax) (g / L / h) des espèces de levure en monoculture et co-cultures. Les lettres représentent les groupes de test tukey. Les échantillons avec la même lettre ne sont pas significativement différents.

Type de culture	Vmax (g/L/h)	Ecart standard	ymax	ymin
co-culture-Kb	0.9 c	0.2	1.1	0.7
co-culture-Kh	1.0 c	0.3	1.2	0.7
co-culture-Sc	2.3 b	0.4	2.8	1.9
Kb	1.1 c	0.1	1.2	1.0
Kh	1.1 c	0.2	1.4	0.9
Sc	3.0 a	0.3	3.3	2.7

Tableau 32. Temps nécessaire pour atteindre la vitesse de fermentation maximale (tVmax) (h) des espèces de levure en monoculture et en co-cultures avec les LAB. Les lettres représentent les groupes de test tukey. Les échantillons avec la même lettre ne sont pas significativement différents

Type de culture	tVmax (g/L/h)	Ecart standard	ymax	ymin
co-culture-Kb	12.0 bc	1.4	13.4	10.6
co-culture-Kh	9.6 d	1.9	11.5	7.7
co-culture-Sc	18.9 a	2.8	21.7	16.1
Kb	12.4 b	1.3	13.8	11.1
Kh	10.2 cd	0.3	10.5	9.9
Sc	18.0 a	1.4	19.4	16.5

Tableau 33. Assimilation d'AF et production d'acide dihydroférulique (DHFA) et de 4-vinylguiacon (4-VG) par les souches de LAB et de levure en mon- et en co-culture, dans le milieu de levain synthétique.

Culture	Microbe	Species	Strain	% FA remaining	% DHFA formed	% 4-VG formed
Monoculture	Lactic acid bacteria (LAB)	<i>F. sanfranciscensis</i>	bFs17	96.3 ± 3.0	0.0	0.0
			bFs15	98.7 ± 1.3	0.0	0.0
			bFs9	95.2 ± 3.7	0.0	0.0
			bFs12	98.2 ± 2.1	0.0	0.0
		<i>L. plantarum</i>	bLp6	8.7 ± 6.1	67.6 ± 14.4	11.9 ± 1.0
			bLp16	72.9 ± 4.5	0.0	33.8 ± 9.2
			bLp20	42.4 ± 8.7	0.0	53.2 ± 13.0
		<i>L. sakei</i>	bLsk4	100 ± 0.0	0.0	0.0
		<i>L. hammessii</i>	bLh5	14.0 ± 15.4	98.5 ± 28.5	0.0
		<i>L. curvatus</i>	bLc16	97.7 ± 2.2	0.0	0.0
		<i>L. xiangfangensis</i>	bLx29	85.1 ± 16.5	0.0	0.0
	Yeast	<i>K. humilis</i>	yKh17	90.3 ± 14.6	0.0	0.0
			yKh5	84.9 ± 26.1	0.0	0.0
			yKh6	94.5 ± 5.1	0.0	0.0
		<i>K. bulderi</i>	yKb20	92.8 ± 5.0	0.0	0.0
			yKb15	93.4 ± 4.4	0.0	0.0
			yKb12	89.4 ± 9.2	0.0	0.0
			yKb4	96.2 ± 5.4	0.0	0.0
	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	ySc10	22.4 ± 18.0	0.0	66.6 ± 14.7
			ySc16	43.5 ± 3.1	0.0	60.3 ± 10.8
			ySc29	9.0 ± 10.2	0.0	62.4 ± 6.3
			ySc9	7.7 ± 6.0	0.0	60.1 ± 8.5
			ySc32	8.3 ± 10.0	0.0	59.5 ± 6.0
		<i>F. sanfranciscensis</i>	bFs15 / yKb15	99.4 ± 0.9	0.0	0.0

Co-culture	LAB / Yeast	/ <i>K. bulderi</i>	bFs12 / yKb20	91.3 ± 0.6	0.0	0.0	
		<i>F. sanfranciscensis</i> /	bFs15 / yKh6	95.5 ± 0.3	0.0	0.0	
			bFs17 / yKh17	12.7 ± 21.0	89.5 ± 19.6	0.0	
		<i>K. humilis</i> /	bFs9 / ySc9	8.1 ± 8.3	37.8 ± 12.3	35.0 ± 10.9	
			<i>L. hammessii</i> /	bLh5 / yKh5	7.3 ± 9.1	102.9 ± 8.2	
		<i>L. plantarum</i> /	bLp6 / yKb4	7.3 ± 9.2	94.9 ± 6.7	6.6 ± 2.2	
			<i>K. bulderi</i>	bLp20 / yKb20	7.4 ± 9.1	62.5 ± 5.8	
		<i>L. plantarum</i> /	bLp6 / yKh6	7.4 ± 9.2	93.9 ± 15.9	7.6 ± 4.2	
			<i>K. humilis</i>	bLp6 / ySc10	7.4 ± 9.2	85.1 ± 2.9	
		<i>S. cerevisiae</i> /	bLp6 / ySc32	7.3 ± 9.2	94.4 ± 4.3	7.5 ± 2.5	
			bLp16 / ySc16	7.4 ± 9.1	85.4 ± 9.5	5.4 ± 2.5	
			bLp20 / ySc16	7.3 ± 9.1	62.9 ± 2.6	22.0 ± 6.3	
			<i>L. curvatus</i> /	bLc16 / yKb15	88.8 ± 0.4	0.0	
		<i>L. xiangfangensis</i> /	<i>S. cerevisiae</i>	bLx29 / ySc29	17.4 ± 14.2	0.0	
- Les données proviennent d'expériences indépendantes.							
- Le rendement en DHFA et 4-VG est un rapport de sa quantité (en mmol) sur la quantité théorique x 100.							

Table 34. Liste des génomes de *F. sanfranciscensis* disponibles au NCBI (Centre national d'information sur la biotechnologie : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Assembly_accession	BioProject	Strain	Scaffold_count	Total_length	CDS_count
GCA_000225325.1	PRJNA43579	TMW 1.1304	3	1375770	1284
GCA_002907145.1	PRJNA339913	TMW 1.2137	25	1272753	1263
GCA_002907155.1	PRJNA339913	TMW 1.2138	33	1252720	1251
GCA_002907185.1	PRJNA339913	TMW 1.2139	35	1329228	1316
GCA_002907205.1	PRJNA339913	TMW 1.2140	44	1293144	1291
GCA_002907225.1	PRJNA339913	TMW 1.2142	27	1278409	1266
GCA_002907245.1	PRJNA339913	TMW 1.2141	28	1309594	1303
GCA_002907255.1	PRJNA339913	TMW 1.726	31	1253149	1246
GCA_002907285.1	PRJNA339913	TMW 1.1597	29	1318230	1296
GCA_002907305.1	PRJNA339913	TMW 1.54	52	1308584	1301
GCA_002907325.1	PRJNA339913	TMW 1.1150	25	1281791	1254
GCA_002907345.1	PRJNA339913	TMW 1.392	44	1262093	1263
GCA_002907365.1	PRJNA339913	TMW 1.53	48	1295539	1304
GCA_003369815.1	PRJNA484036	JCM 5668	71	1267448	1328
GCA_006334415.1	PRJNA470555	Ah4	71	1368476	1398
GCA_006334425.1	PRJNA470555	Gs9	62	1365822	1402
GCA_006334465.1	PRJNA470555	Sd1-3	51	1304535	1344
GCA_006334475.1	PRJNA470555	Gs2	52	1373332	1411
GCA_006334515.1	PRJNA470555	Ts9	68	1325807	1382
GCA_009496975.1	PRJNA579432	LS451	1	1310991	1303
GCA_009749295.1	PRJNA470555	Ls-1001	67	1349331	1396
GCA_010377125.1	PRJNA515196	TMW11730	44	1307874	1354
GCA_010377135.1	PRJNA515196	TMW11470	18	1264120	1276
GCA_010377165.1	PRJNA515196	TMW11221	59	1256830	1256
GCA_010377175.1	PRJNA515196	TMW11304	44	1309936	1357
GCA_010377205.1	PRJNA515196	TMW11154	40	1242516	1250
GCA_010377225.1	PRJNA515196	TMW11152	33	1253076	1248
GCA_010377235.1	PRJNA515196	TMW12134	38	1254138	1294
GCA_010377255.1	PRJNA515196	TMW1907	50	1281500	1318
GCA_010377275.1	PRJNA515196	TMW1640	41	1297108	1309

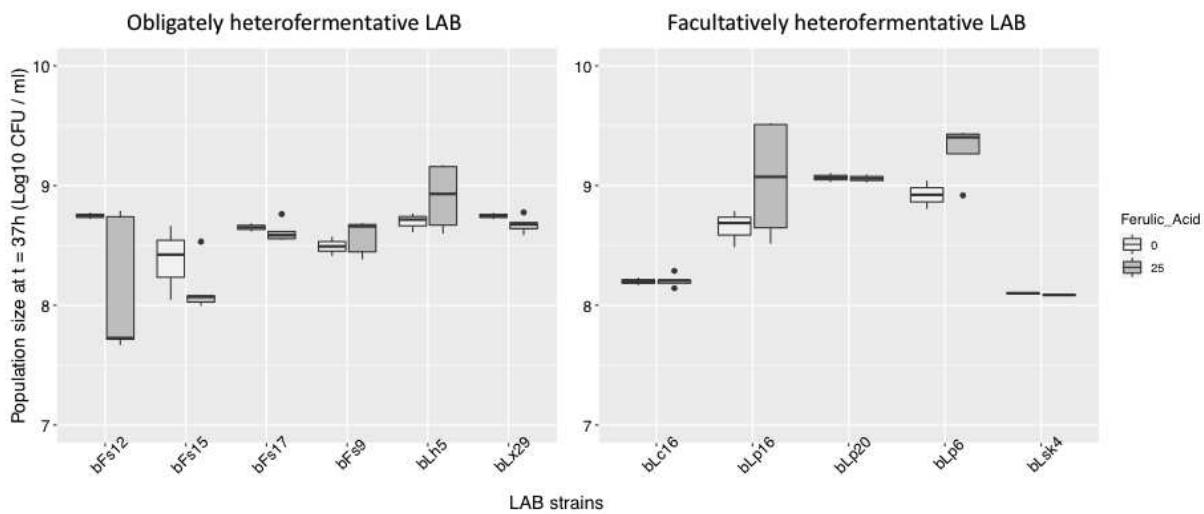


Figure 1. Taille de la population des souches de LAB en monoculture après 37 heures de fermentation en présence (25mg / L) et absence (0) d'AF en milieu levain synthétique. Les lettres indiquent l'espèce et le nombre indique la souche.

bLc = *Latilactobacillus curvatus*; bLh = *Levilactobacillus hammessii*; BLp = *Lactiplantibacillus plantarum*; BFs = *Fructilactobacillus sanfranciscensis*; BLsk = *Latilactobacillus sakei*; BLx = *bLactiplantibacillus plantarum*; bLsk = *Latilactobacillus sakei*; bLx = *Lactiplantibacillus xiangfangensis*.

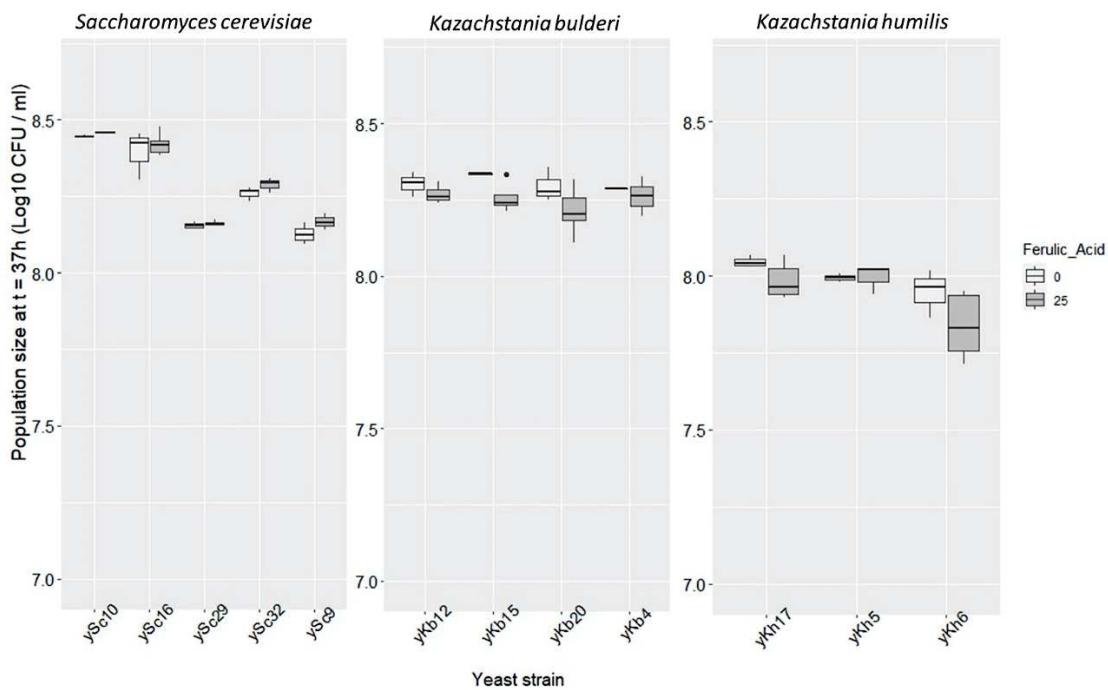


Figure 2. Taille de la population des souches de levure en monoculture après 37 heures de fermentation en présence (25mg / L) et absence (0) d'AF en milieu levain synthétique. Les lettres indiquent l'espèce et le nombre indique la souche. ySc: *Saccharomyces cerevisiae*; yKb: *Kazachstania bulderi*; yKh: *Kazachstania humilis*.

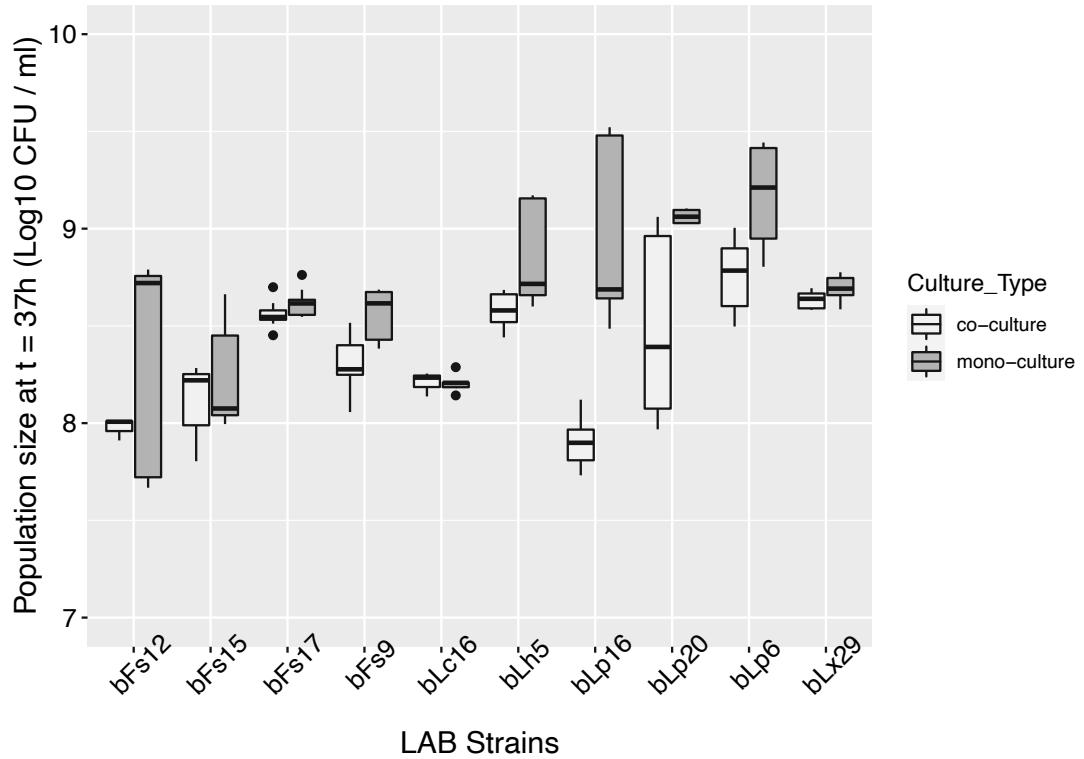


Figure 3. Taille de la population des souches de LAB en monoculture et co-culture avec les levures après 37 heures de fermentation dans le levain synthétique.

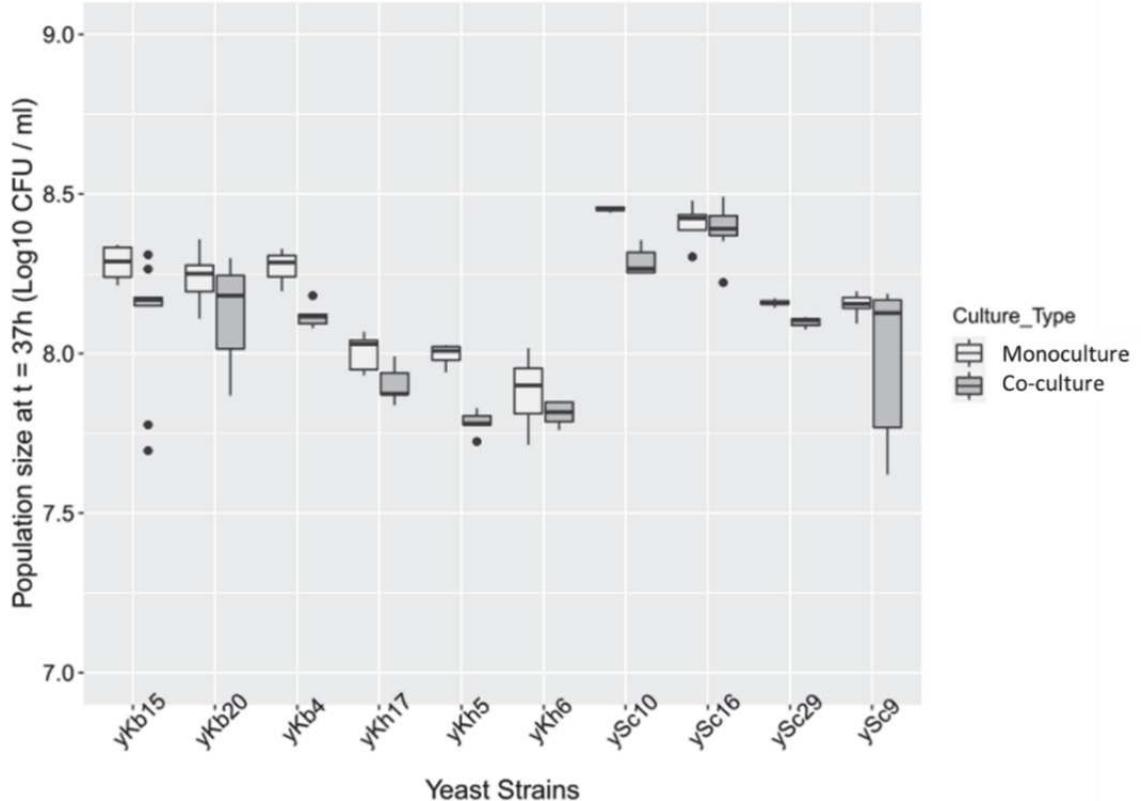


Figure 4. Taille de la population des souches de levures en monoculture et co-culture avec les LAB après 37 heures de fermentation dans le levain synthétique.

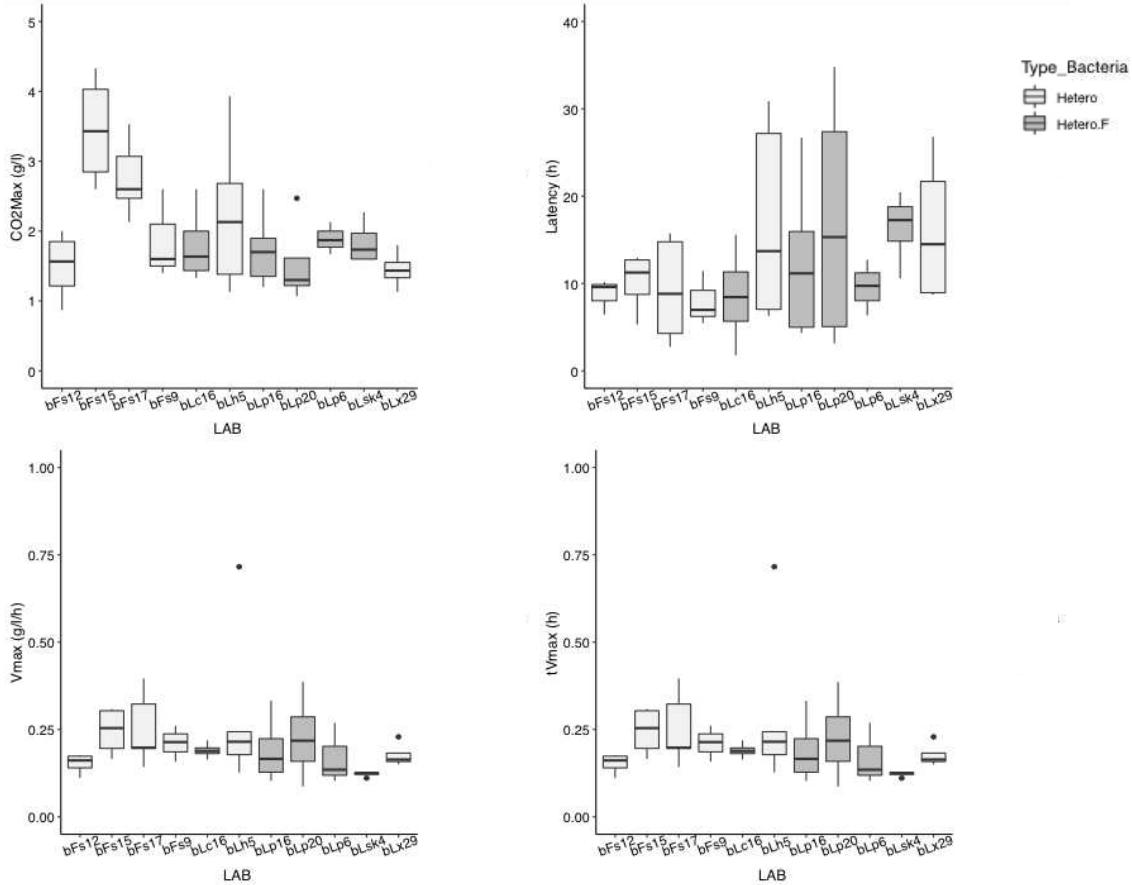


Figure 5. Variation des paramètres de fermentation des LAB en monoculture.

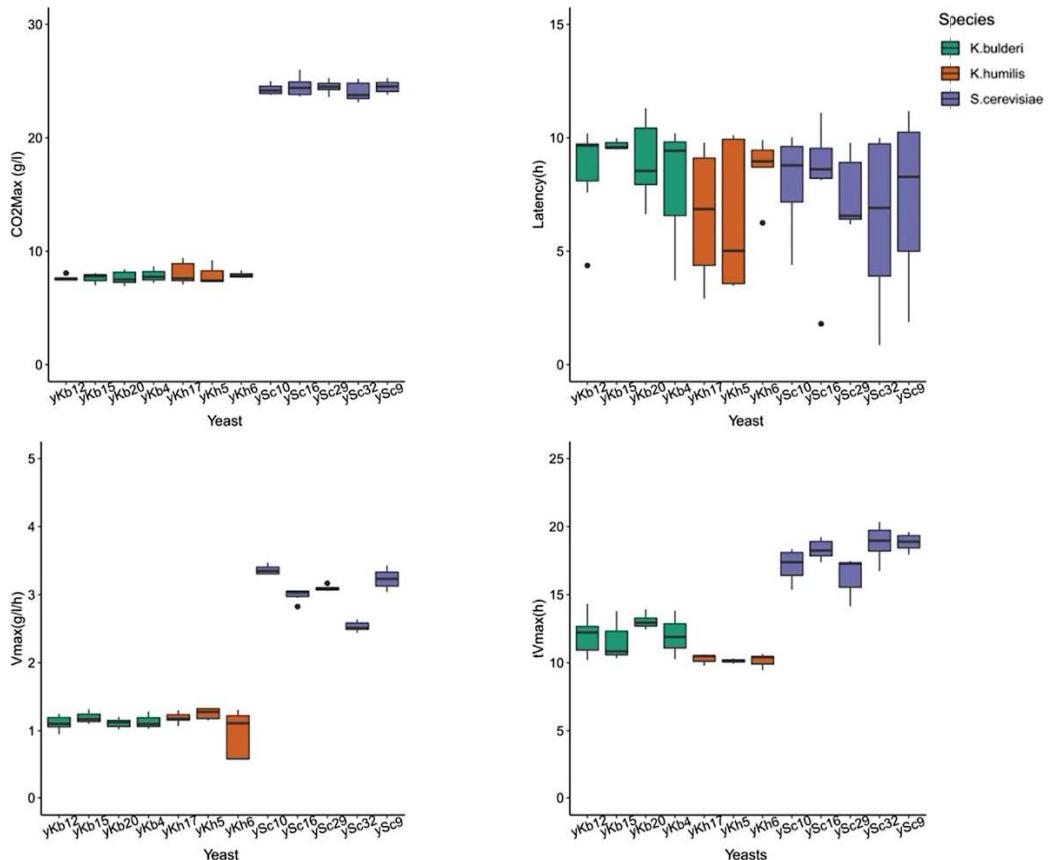


Figure 6. Variation des paramètres de fermentation des levures en monoculture.

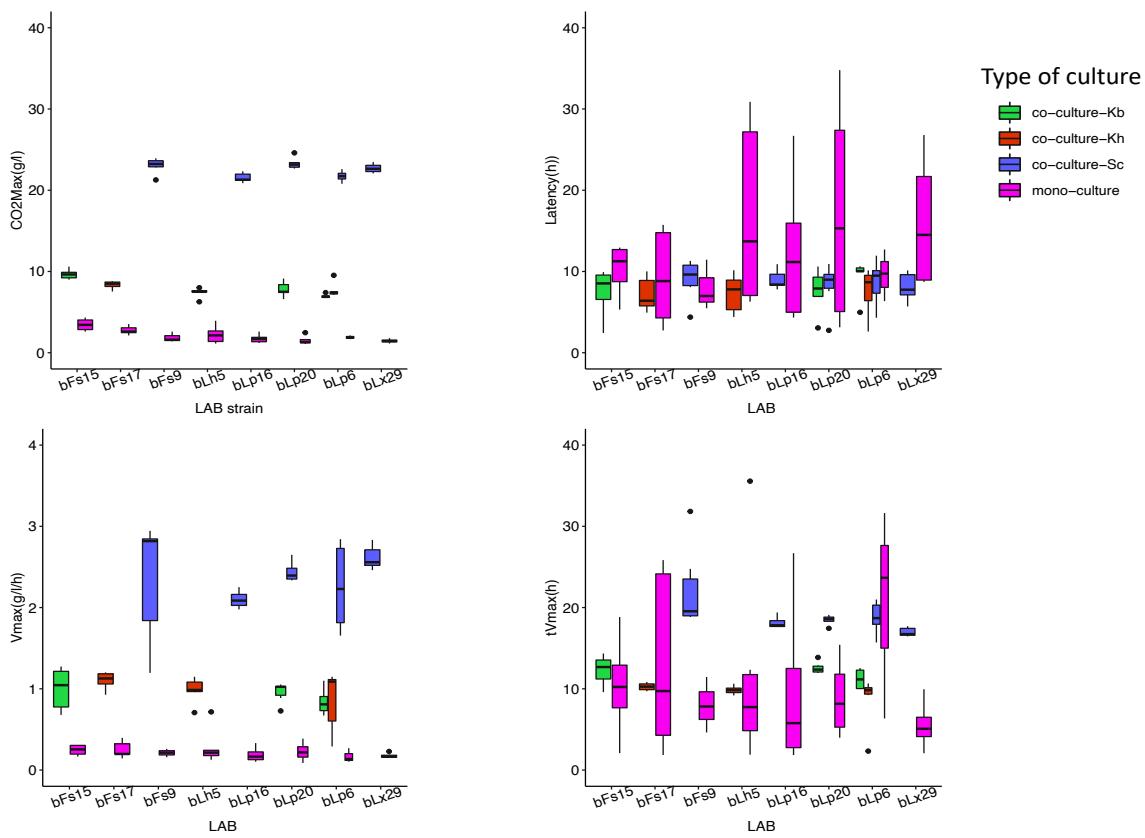


Figure 7. Variation des paramètres de fermentation des LAB en monoculture et en co-culture avec les espèces de levures.

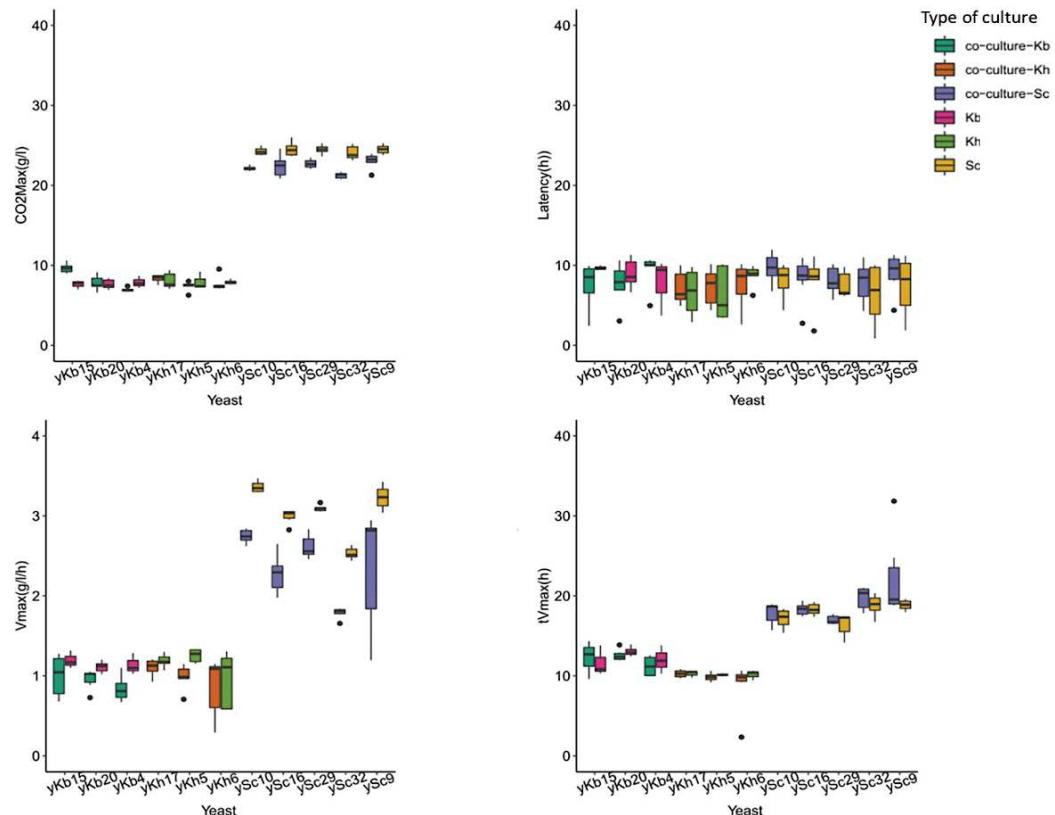


Figure 8. Variation des paramètres de fermentation des levures en monoculture et en co-culture avec les LAB.

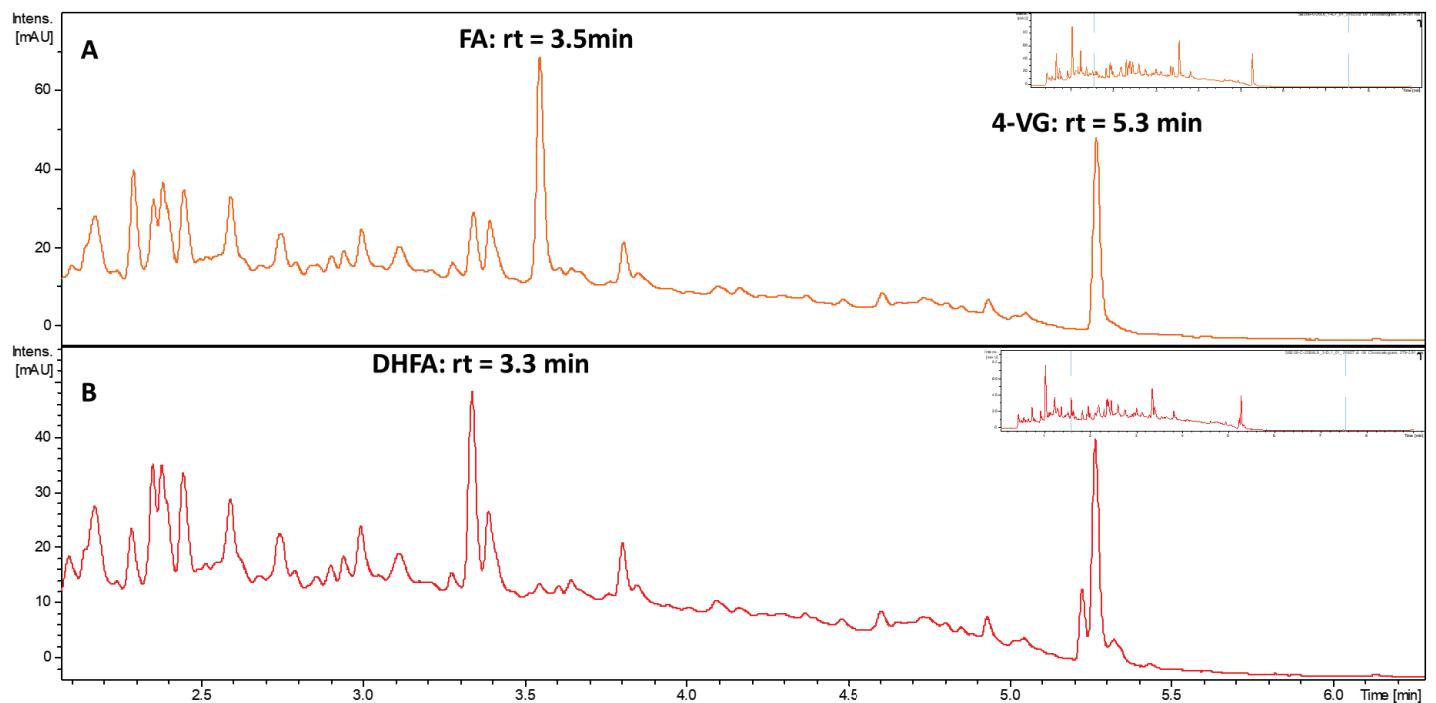


Figure 9. (A) : un agrandissement du chromatogramme UV à 280 nm du surnageant de fermentation de l'AF en présence de la souche de levure ySc16. L'AF restant apparaît à $rt = 3,5$ min et le 4-VG produit apparaît à $rt = 5,3$ min. (B) : un agrandissement du chromatogramme UV à 280 nm du surnageant de fermentation de l'AF en présence d'une co-culture de ySc9 et bFs9. L'AF est entièrement consommée. DHFA apparaît à $rt = 3,3$ min et 4-VG apparaît à $rt = 5,3$ min.

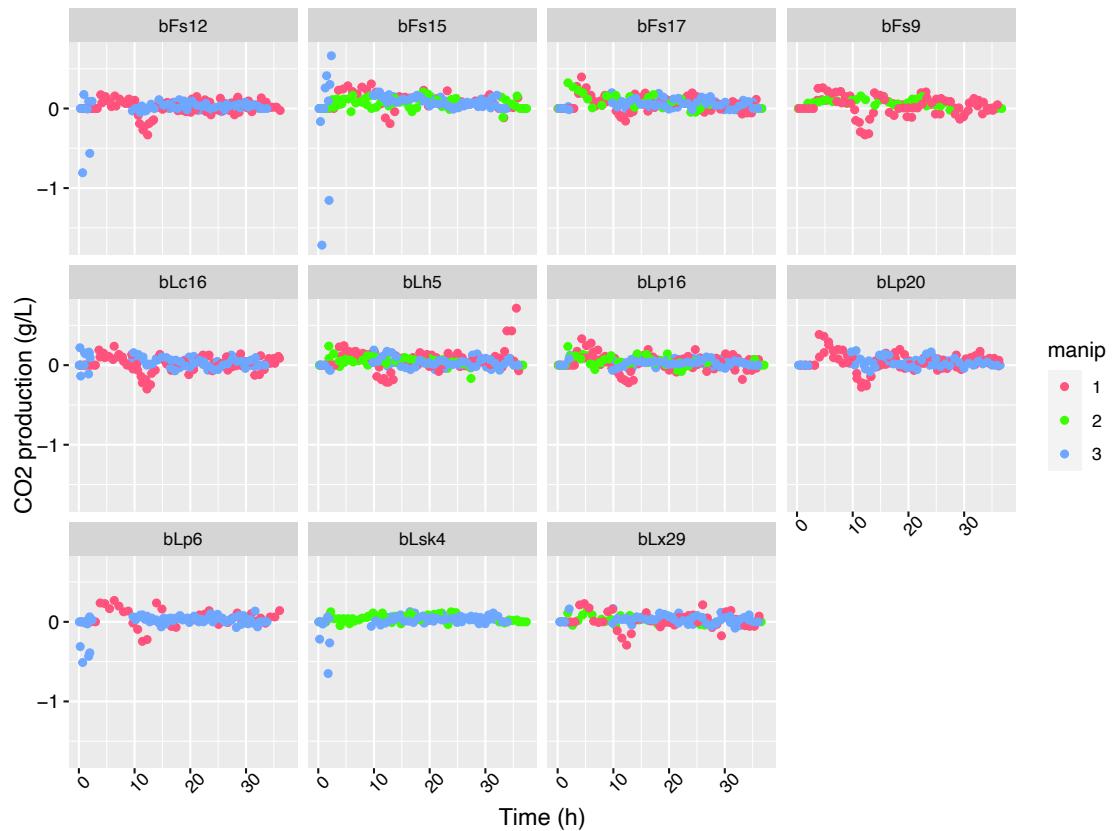


Figure 10. Cinétique du débit de production de CO₂ par LAB en monoculture pendant la fermentation (37h)

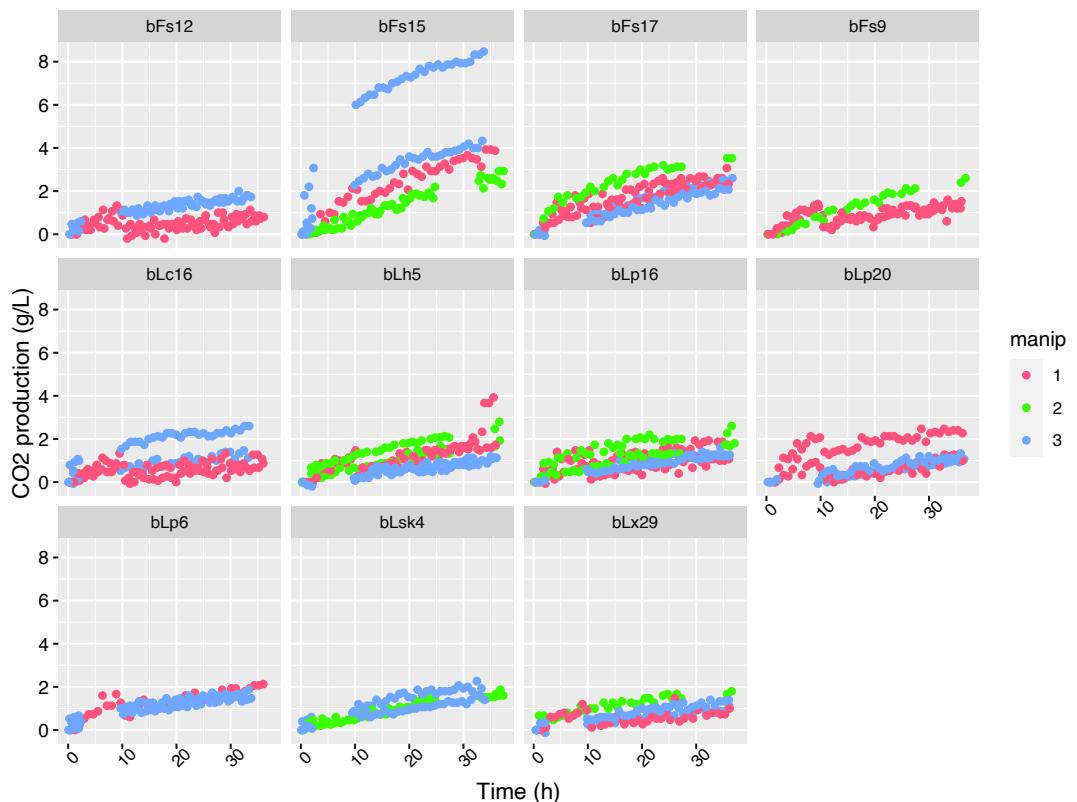


Figure 11. Cinétique d'accumulation de CO₂ par LAB en monoculture pendant la fermentation

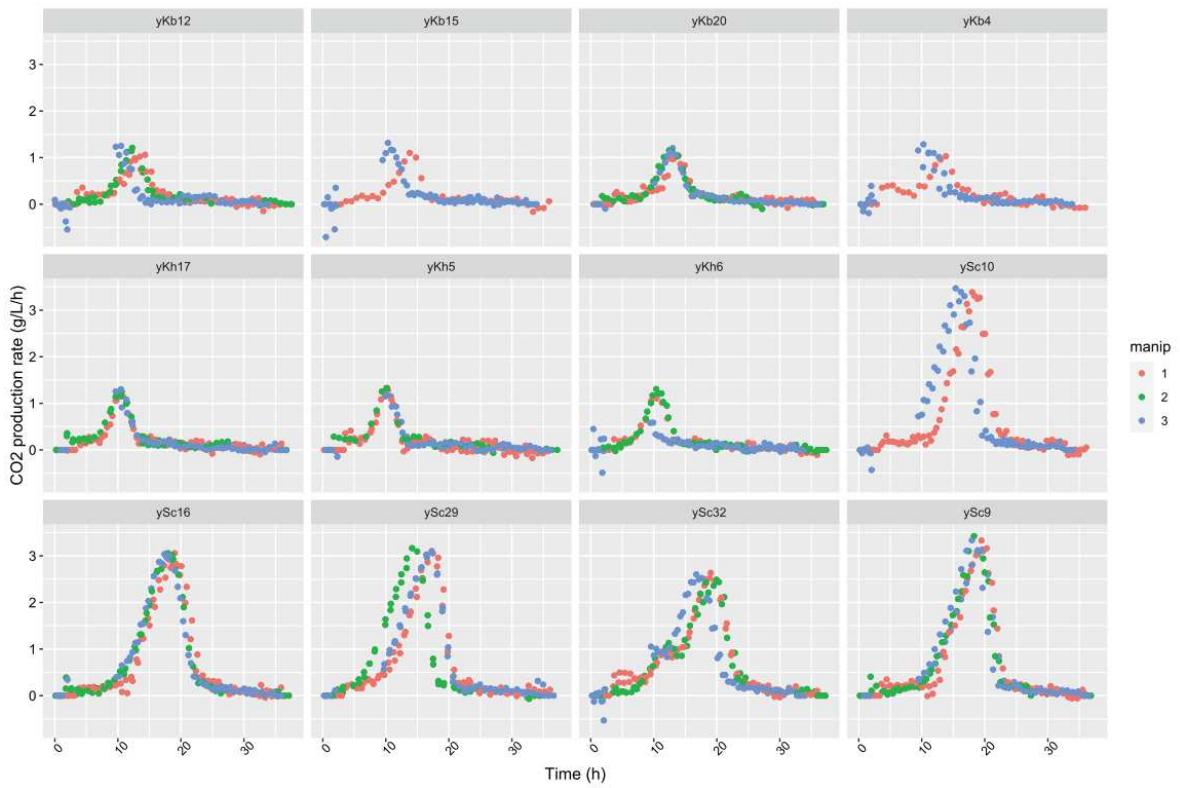


Figure 12. Cinétique du débit de production de CO₂ par les levures en monoculture pendant la fermentation (37h)

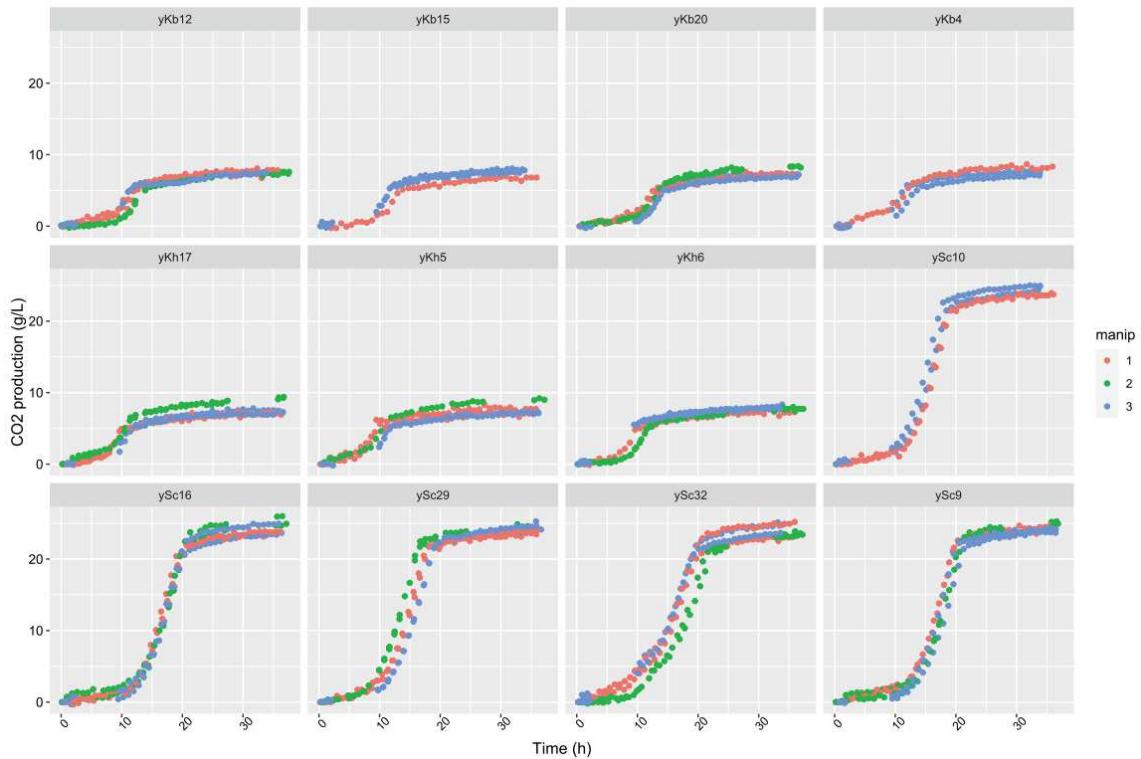


Figure 13. Cinétique d'accumulation de CO₂ en fonction du temps par les levures en monoculture pendant la fermentation (37h)

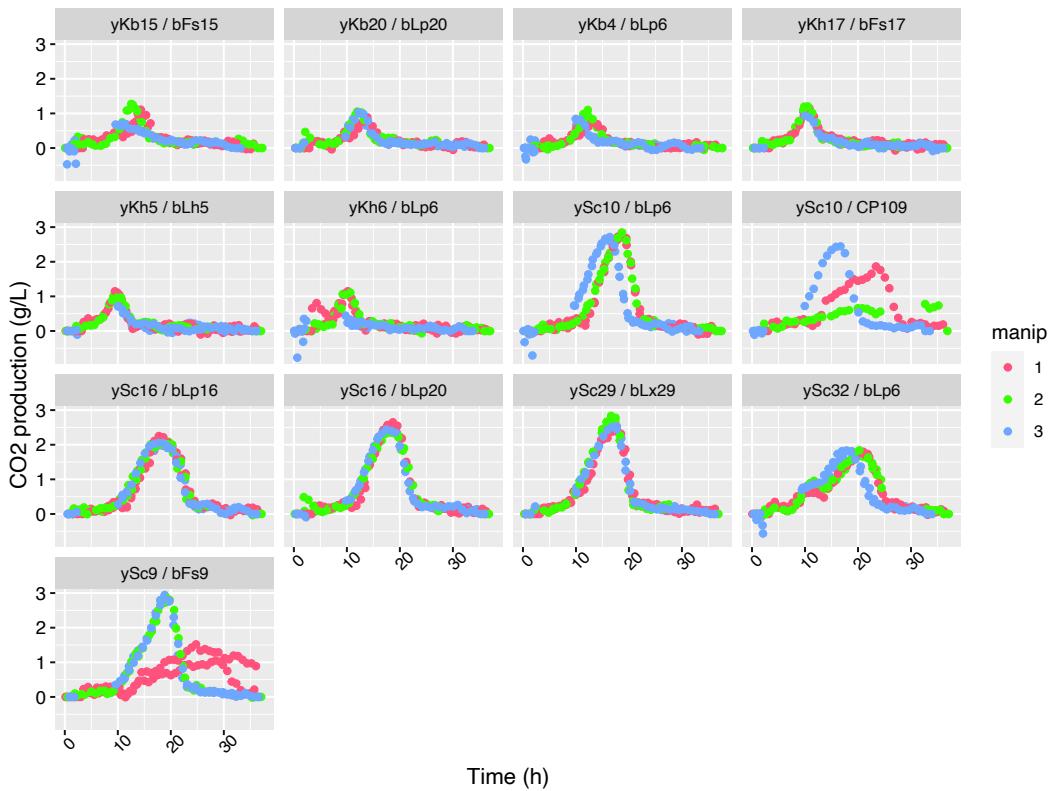


Figure 14. Cinétiques des débits de production de CO₂ par les LAB et levures en co-culture pendant la fermentation (37h)

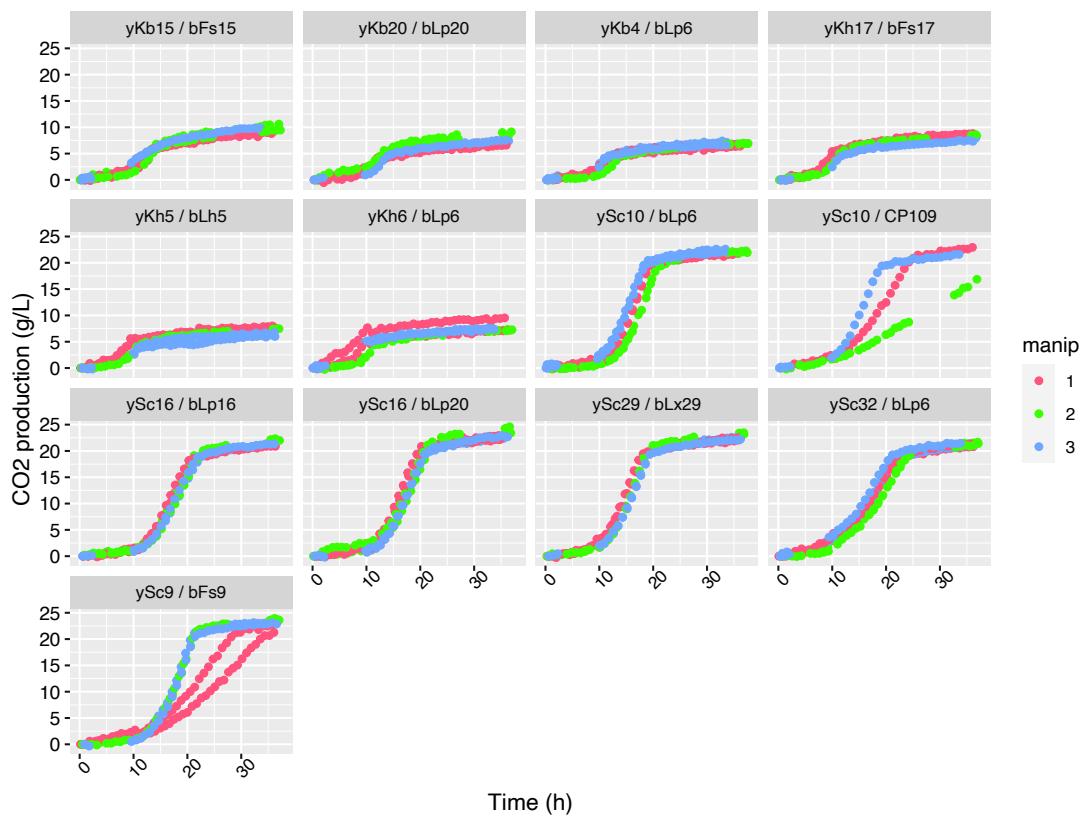


Figure 15. Cinétiques des accumulations de CO₂ en fonction du temps, par les LAB et levures en co-culture pendant la fermentation (37h)

Effet des pratiques de la filière boulangerie sur l'acide férulique et sa transformation

Le son de blé est le coproduit principal de l'industrie meunière, résultant de la transformation des grains de blé en farine ou en semoule. Il représente l'enveloppe extérieure du grain renfermant différents tissus ; dont principalement le péricarpe, la testa et la couche d'aleurone. Le son de blé est produit chaque année en quantités considérables et destiné principalement à l'alimentation animale. Toutefois, compte tenu de sa composition en éléments nutritifs et de sa disponibilité, il pourrait également servir pour l'alimentation humaine. Plusieurs études ont montré l'effet bénéfique de la consommation du son de blé sur la santé humaine, notamment en diminuant les risques d'obésité, des maladies cardiovasculaires, du diabète et autres.

L'acide férulique (AF) (*-cis* et *-trans*) et ses dimères (8,5'-diFA, 8,5 '- benzo-diFA, 8-O-4'-diFA et 5,5'-DiFA) présentent environ 95% des acides phénoliques du son de blé, concentrés principalement dans la couche aleurone et le péricarpe. L'AF est connu pour ses propriétés anti-oxydantes, anti-microbiennes et anti-inflammatoires. Il a également la capacité de se transformer en dérivés aromatiques tels que la vanilline ou le 4-vinylguaiacol, en présence de microorganismes. En lien avec la filière boulangerie, ce travail de thèse a pour objectif principal d'étudier l'effet des pratiques sur le contenu en AF et ses dérivés dans le son, les pâtes et/ou le pain. L'étude des variations de contenu en AF du blé au pain a montré un effet du terroir, et des variétés de blé sur le contenu en AF du son ainsi qu'un effet du type de ferment sur le contenu en AF des pains. Dans un milieu levain modèle, le comportement de l'AF a été étudié en présence de levures et de bactéries lactiques provenant de levains, seules ou en combinaison. Nous avons montré que le métabolisme de l'AF dépend des souches et que les interactions levures-bactéries avait un effet sur la consommation et la transformation de l'AF. En effet, la conversion de l'AF en acide dihydroférulique est favorisée en co-cultures par rapport aux monocultures, au détriment de la production de 4-vinylguaiacol. Globalement, nos résultats clarifient le devenir de l'AF de grain jusqu'à pain en mettant en évidence le rôle important des microorganismes fermentaires et de leur interaction dans sa transformation, et sont discutés au regard de leur intérêt en boulangerie.

Mots clés : acide férulique, son de blé, variété, espèce, terroir, fermentation, bactéries lactiques, levures, interactions microbiennes, panification

Effect of bakery industry practices on ferulic acid and its transformation

Wheat bran is the main co-product of the milling industry, resulting from the transformation of wheat grains into flour or semolina. It represents the outer layer of the grain containing various tissues; mainly pericarp, testa and aleurone. Wheat bran is produced every year in considerable quantities and is mainly used for animal feed. However, given its nutrient composition and availability, it could also be used for human food. Several studies have shown the beneficial effect of wheat bran consumption on human health, particularly in reducing the risk of obesity, cardiovascular disease, diabetes and others.

Ferulic acid (FA) (*-cis* and *-trans*) and its dimers (8,5'-diFA, 8,5 '- benzo-diFA, 8-O-4'-diFA and 5,5'-DiFA) account for about 95% of the phenolic acids in wheat bran, concentrated mainly in the aleurone layer and the pericarp. FA is known for its antioxidant, anti-microbial and anti-inflammatory properties. It is also able to be transformed into aromatic derivatives such as vanillin or 4-vinylguaiacol in the presence of microorganisms. In connection with the bakery industry, the main objective of this PhD work is to study the effect of certain practices on the content of FA and its derivatives in bran and/or bread. The study of the variations in FA content from wheat to bread showed an effect of terroir and wheat varieties on the FA content of bran as well as an effect of the type of ferment on the FA content of bread. In a synthetic fermentation medium, the behavior of FA was studied in the presence of sourdough yeasts and lactic acid bacteria, alone or in combination. We found that FA metabolism varied among strains and that yeast/bacteria interactions had an effect on the consumption and conversion of FA. Indeed, the transformation of FA into dihydroferulic acid is favored in co-cultures compared to monocultures, to the detriment of the production of 4-vinylguaiacol. Overall, our results clarify the evolution of FA from grain to bread by highlighting the important role of fermentation microorganisms and their interaction in its transformation, and are discussed in view of their interest in baking.

Key words: ferulic acid, wheat bran, variety, species, terroir, fermentation, lactic acid bacteria, yeasts, microbial interactions, bread-making