

Obtention de gel par application de hautes pressions à un concentré de protéines de lait

Marie-Hélène Famelart, L Chapron, Gérard Brule, Jean-Louis Maubois

► **To cite this version:**

Marie-Hélène Famelart, L Chapron, Gérard Brule, Jean-Louis Maubois. Obtention de gel par application de hautes pressions à un concentré de protéines de lait. congrès annuel du GFR, Oct 1997, Nantes, France. hal-02244971

HAL Id: hal-02244971

<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02244971>

Submitted on 1 Aug 2019

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.

OBTENTION DE GEL PAR APPLICATION DE HAUTES PRESSIONS A UN CONCENTRE DE PROTEINES DE LAIT

Famelart M.H. (1), Chapron L. (1), Brulé G. (2), Maubois J.L. (1)

(1) INRA, Laboratoire de Recherches de technologie Laitière, 65, rue de St Brieuc,
35042 Rennes Cedex, France

(2) ENSAR, 65, rue de St Brieuc, 35042 Rennes Cedex

Avec la collaboration de Bretagne Biotechnologie Alimentaire

Résumé:

L'application de hautes pressions (400MPa-10 min) à un concentré de protéines de lait à 150 g.kg⁻¹ d'extrait sec conduit à l'obtention de gel. L'étude de la température au cours du traitement (4, 20 ou 40°C), de stockage (2j) et de mesure (4 ou 20°C), ainsi que du pH du concentré a été réalisée pour comprendre la nature des interactions formées. La force, l'élasticité et la blancheur du gel étaient mesurées, ainsi que le poids de sérum relargué et sa teneur en calcium. La fermeté, l'élasticité des gels diminuaient, et le poids de sérum augmentait avec l'augmentation de la température de traitement. Au cours du stockage à 20°C, la force et poids de sérum augmentaient. La force et l'élasticité des gels étaient maximales à pH 5,8-5,9. Ces résultats montrent que la dissociation de la micelle par les températures basses ou l'acidification est favorable à l'obtention de gels fermes.

Abstract:

Gels were obtained by high pressure treatment of milk concentrates at 150 g.kg⁻¹ dry content at 400MPa-10 min. The effect of the temperature of treatment (4, 20 or 40°C), of storage time (2 d) and of measurements (4, 20°C), and of the pH of the concentrates was studied to understand the nature of involved interactions. The force, elasticity and lightness of gels were measured, as the serum weight and its calcium concentration. Gel firmness and elasticity decreased and the serum weight increased with the increase in treatment temperature. During storage at 20°C, gel firmness and serum weight increased. Firmness and elasticity of gels were maximal at pH 5.8-5.9. These results showed that micelle dissociation either by low temperature or acidification was favourable to the formation of firm gels.

INTRODUCTION

D'après Famelart *et al.* (1997), un traitement de hautes pressions de 200 ou 400 MPa pendant 10 min à 20°C appliqué à un concentré de lait obtenu par ultrafiltration ou microfiltration à 80-120 g.kg⁻¹ de protéines conduit à l'obtention de gels, alors qu'un lait additionné de caseinate de sodium à la même teneur en protéine ne gélifie pas. Les gels les plus fermes sont obtenus à 400 MPa à la teneur la plus élevée en protéines, à pH 5,9, sans ajout de chlorure de sodium, ni de citrate de sodium. L'ajout de citrate était favorable à l'augmentation de fermeté quand la teneur en protéines était maximale et que le pH valait 6,6. L'objectif de ce travail était de poursuivre l'étude des facteurs de la gélification des concentrés de lait par les hautes pressions, afin de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu. Nous avons étudié l'influence de la température lors du traitement de pressurisation, de la température de conservation et des mesures rhéologiques, du pH du concentré, ainsi que l'influence de l'ajout de chlorure de calcium et de citrate de sodium.

MATERIELS ET METHODES

Concentrés

Une poudre de lait écrémé cru microfiltré (extrait sec 933,8; matière azotée totale 609,4; matière azotée non caséinique 63,6; matière azotée non protéique 10,8 g.kg⁻¹; Schuck *et al.*, 1994) était dissoute dans de l'eau milli-Q contenant 0,2 g.kg⁻¹ d'azoture de sodium à 50°C sous forte agitation mécanique. Le pH était ajusté à 5,9, sauf lorsque des valeurs de pH sont spécifiées. L'ajustement du pH se faisait à l'aide de HCl 1N sous agitation. L'extrait sec final était de 168,9 g.kg⁻¹ pour l'étude de la température et de 146,8-153,5 g.kg⁻¹ pour la suite de l'étude. L'addition de chlorure de calcium à une concentration finale de 5,1 g.kg⁻¹ (46 mM en CaCl₂) a été effectuée par ajout d'une solution mère à 255,27 g.kg⁻¹ de CaCl₂ et l'addition de citrate de sodium à une concentration finale de 0, 0,25 g.kg⁻¹ (1,3 mM en citrate) ou 0,5 g.kg⁻¹ (2,6 mM en citrate) de citrate, par ajout de solutions mères à 25 g.kg⁻¹ de citrate à pH 5,2. Les ajouts étaient réalisés sous agitation au Polytron et le pH était ajusté à 5,9 après addition des sels. Les concentrés sont conditionnés par fractions de 100 ml en boyaux plastiques de 22,3 mm de diamètre (EDL, Krehalon, France) fermés par 2 noeuds à chaque extrémité et stockés une nuit à température ambiante.

Pressurisation

La pressurisation avait lieu le lendemain sur un pilote GEC ALSTHOM ACB à 400 MPa pendant 10 min. Le temps de montée et de descente de la pression était respectivement d'environ 135 s et 60 s. La température au cours de la pressurisation était régulée à 20°C, sauf lors de l'étude de l'effet de la température.

Caractérisations

Les caractérisations sont faites l'après-midi du jour de pressurisation (J0), et éventuellement pendant les 2 jours suivants (J+1, J+2). Dans le cas de l'étude de la température, les gels étaient conservés soit à 4°C soit à 20°C immédiatement après pressurisation et caractérisés à leur température respective de stockage. Pour l'étude du

pH et de l'addition des sels, les gels sont conservés à 4°C et caractérisés à J0 après thermostatisation à 20°C pendant 1 h. Les gels étaient démoulés et coupés en tronçons de 20 mm d'épaisseur. La force de résistance des gels était mesurée à 6 mm d'enfoncement (30% enfoncement) à 1 mm.s⁻¹ à l'aide du TA-XT2 (Rhéo, France) équipé d'un capteur de 5 kg et d'un plateau inox de 29 mm de diamètre. L'élasticité était calculée comme le rapport de la force à 10 min de relaxation et de la force avant le début de la relaxation, après un enfoncement du plateau de 2 mm à 10 mm.s⁻¹. La blancheur était mesurée comme le L du système L,a,b, mesuré sur un colorimètre (CR-300, Minolta) calibré avec une plaque blanche (Minolta, Y=92,4; x=0,3161; y=0,3325). Le gel (environ 5 mm d'épaisseur) était placé contre une plaque de verre de façon à couvrir toute la fenêtre de mesure du colorimètre et 3 mesures successives se faisaient à travers le verre. Les gels étaient centrifugés en 2 fractions de 22,4 g chacune à 10 900 g pendant 20 min à 20°C dans des tubes Nalgène de 50 ml. Le sérum relargué était mesuré par pesée après retournement. Les quantités de protéines dans ces sérum relargués étaient estimées par mesure de densité optique à 280 nm après dilution environ au 1/500 dans de l'EDTA (10 mM, pH 10) et le calcium étaient mesuré par spectrométrie d'absorption atomique selon la méthode de Brulé *et al.* (1974) dans le concentré avant pressurisation et dans les sérums relargués.

RESULTATS

Effet de la température de pressurisation pour les gels mesurés à 4°C à J0

L'augmentation de la température de pressurisation de 4 à 40°C s'accompagnait d'une diminution de la force et de l'élasticité des gels, d'une augmentation de la blancheur des gels, et du poids de sérum relargué (Fig.1). Les concentrations en calcium dans les sérums augmentaient lorsque la température de pressurisation augmentait de 20 à 40°C. Par contre, les gels pressurisés à 4°C avaient une concentration en calcium dans le sérum un peu plus élevée qu'après une pressurisation à 20°C.

Evolution au cours du stockage à 4°C

La force des gels évoluait peu au cours du stockage, tandis que l'élasticité des gels montrait une nette augmentation, de 24 à 34% pour les concentrés pressurisés à 4°C. Les concentrations en calcium des sérums diminuaient au cours du stockage pour les concentrés pressurisés à 4°C, de 0,84 à 0,80 g.kg⁻¹ de sérum. La blancheur des gels diminuait faiblement pour les concentrés pressurisés à 40°C, de 81 à 78. Les quantités de sérum relargués n'évoluaient pas.

Effet de la température de pressurisation pour les gels mesurés à 20°C à J0

Les mêmes observations sont faites à 20°C : l'augmentation de la température de pressurisation s'accompagne d'une diminution de la force, et de l'élasticité des gels, et d'une augmentation des poids de sérum relargués. Par contre, la blancheur des gels était indépendante de la température de pressurisation. Les concentrations de calcium des sérums montraient la même tendance qu'à 4°C : une diminution de la concentration en

calcium des sérums quand la température de pressurisation passe de 4 à 20°C, et une augmentation quand la température passe de 20 à 40°C. Toutefois, la diminution des concentrations de calcium quand la température de pressurisation augmentait de 4 à 20°C était plus importante pour les gels mesurés à 20°C que dans le cas des gels mesurés à 4°C.

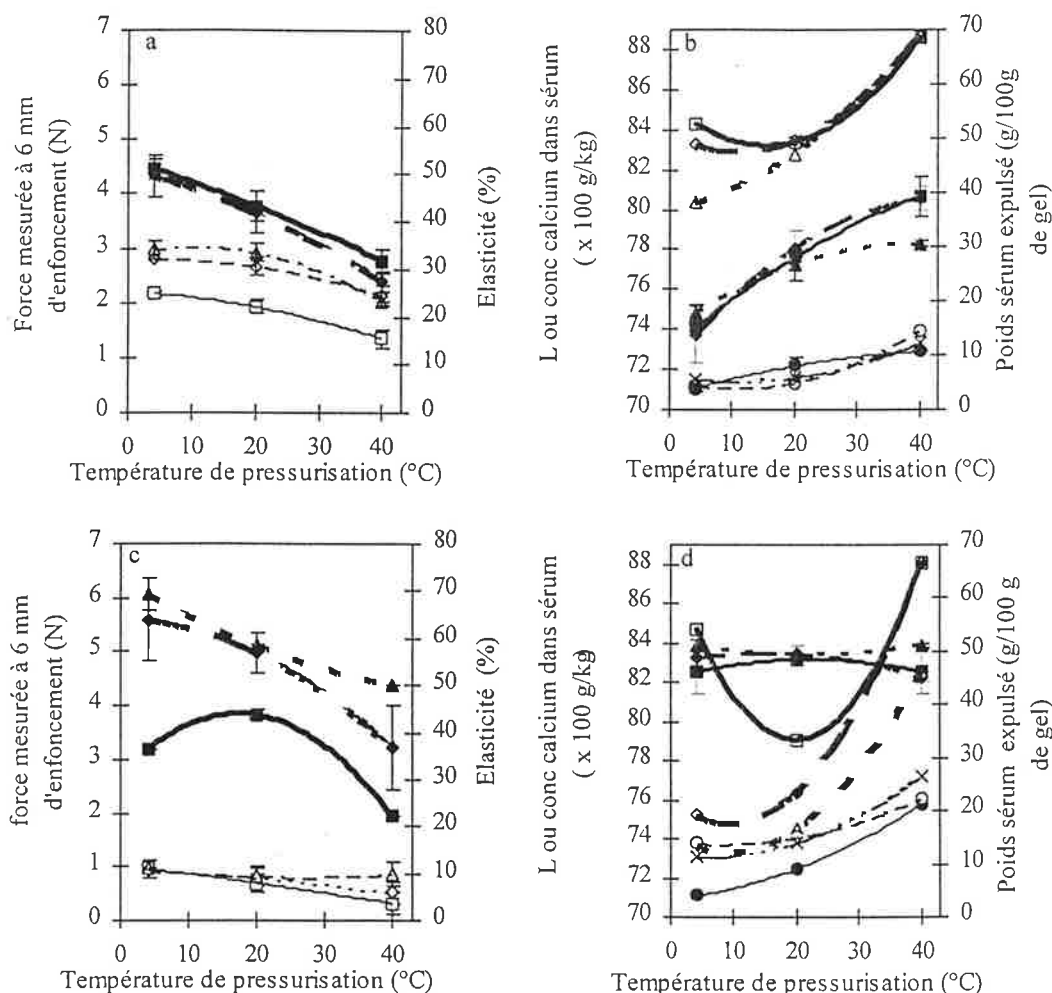


Fig 1 : Effet de la température de pressurisation sur la force (en N), l'élasticité (en %), la blancheur (L) des gels, ainsi que le poids de sérum relargué (en g/100g de gel) et la concentration en calcium dans ces sérums (en x 100 g/kg).

a et b : gels stockés et mesurés à 4°C, c et d : gels stockés et mesurés à 20°C.

a et c : trait épais : force; trait fin : élasticité; trait continu : J0, tirets : J+1; pointillés : J+2;

b et d : trait épais : calcium; trait moyen : L; trait fin : poids sérum relargué; trait continu J0, tirets : J+1; pointillés : J+2;

Evolution au cours du stockage à 20°C

La force des gels et les poids de sérum relargués augmentaient fortement au cours du stockage à 20°C, tandis que l'élasticité et la blancheur des gels ne montraient que de faibles variations. Les forces des gels après 2 j de conservation à 20°C étaient plus élevées qu'à 4°C. Les concentrations en calcium des sérums diminuaient comme au

cours du stockage à 4°C, mais dans une plus forte proportion et pas seulement pour les gels préparés à 4°C. La concentration en calcium diminuait de 0,85 à 0,75 g.kg⁻¹ pour les gels formés à 4°C et de 0,88 à 0,83 g.kg⁻¹ pour les gels formés à 40°C.

Pour l'ensemble des conditions de cette étude, les valeurs d'élasticité étaient faibles, inférieures à 35% pour les gels stockés et mesurés à 4°C et encore plus faibles pour les gels mesurés et stockés à 20°C, puisqu'elles étaient inférieures à 10%.

La blancheur des gels étaient aussi beaucoup plus élevée pour les gels stockés et mesurés à 20°C qu'à 4°C.

La concentration en protéines des sérums relargués présentait la même allure que les concentrations en calcium, sauf que les concentrations protéiques pour les gels stockés à 20°C étaient supérieures à celles des gels conservés à 4°C.

Effet de l'addition de chlorure de calcium et de citrate de sodium

Aucun effet de l'ajout de chlorure de calcium ou de citrate de sodium n'a été observé sur les mesures rhéologiques des gels, pour les 2 répétitions. Tout au plus une augmentation de la concentration de calcium dans les sérums relargués lors de l'ajout de chlorure de calcium. Vingt % du calcium ajouté se retrouvaient dans les sérums (environ 1 g.kg⁻¹ d'augmentation de la concentration en calcium dans les sérums).

Effet du pH des concentrés

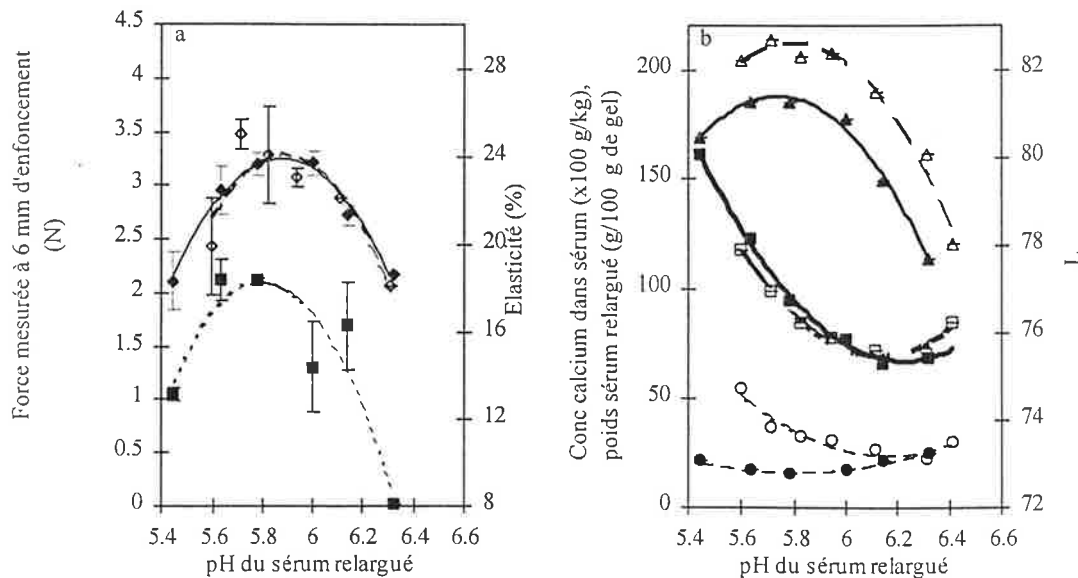


Fig 2 : Effet du pH du sérum relargué (ou du concentré) sur :
a : la force et l'élasticité des gels; , : force (trait continu et tirés pour les 2 répétitions); trait pointillé : élasticité;
b : le poids de gel relargué (trait fin), la concentration en calcium des sérums (trait épais) et la blancheur des gels (trait moyen).

Les valeurs maximales de la force, de l'élasticité et de la blancheur des gels étaient obtenues aux environ de pH 5,8-5,9. Le poids de sérum relargué montrait aussi un minimum entre pH 5,8 et 6,2. Les concentrations en calcium des sérums étaient presque constantes à $0,7 \text{ g.kg}^{-1}$ ou diminuaient faiblement entre pH 6,4 et 6,1, puis elles augmentaient jusqu'à $1,6 \text{ g.kg}^{-1}$ à pH 5,4. Les concentrations en protéines dans les sérums relargués étaient minimales à pH 5,8-5,9.

DISCUSSION

L'application d'un traitement haute pression de 400MPa pendant 10 min à un concentré de protéines laitières permet d'obtenir des gels. On sait que le lait soumis à un traitement de hautes pressions de 100 à 600 MPa subit des modifications physicochimiques et d'aspect : la blancheur du lait diminue, les micelles de caséine sont fragmentées, les concentrations de minéraux sériques augmentent légèrement, l'azote et la teneur en β -lactoglobuline contenus dans le sérum diminuent et l'hydrophobicité exposée ou de surface augmente (Johnston, 1995; Gaucheron *et al.*, 1997). La gélification des concentrés de protéines de lait serait due à la présence des caséines sous forme micellaire. En effet, les protéines sériques seules ne conduisent pas l'obtention de gel à ces valeurs de pH (Famelart *et al.*, 1997). Par ailleurs, des dispersions de micelles de caséines natives dans de l'eau ont également permis d'obtenir des gels (résultats non publiés). Cette gélification est probablement le fait des interactions non covalentes, car aucun travail n'a reporté, pour l'heure, une formation de liaisons covalentes par traitement de hautes pressions. Il est connu que les hautes pressions peuvent stabiliser les interactions hydrogènes, et déstabiliser les interactions hydrophobes (Heremans, 1995), ce qui est à d'ailleurs à l'origine de la dénaturation des protéines globulaires, et à la formation de gels de protéines de blanc d'oeuf ou de lactosérum par pressurisation (Van Camp & Huyghebaert, 1995; Funtenberger *et al.*, 1995).

Ce travail avait pour objectif de préciser la nature des interactions mises en jeu. Par modification de la température du traitement, c'est la présence d'interactions hydrophobes qui est testée, tandis que le rôle des interactions électrostatiques est étudié, par modification du pH ou de la force ionique.

Lorsque la température de pressurisation augmentait de 4 à 40°C, les gels étaient de plus en plus agrégés (L augmente), de moins en moins fermes (force diminue) et de moins en moins élastiques. Ils retenaient moins bien leur sérum après une centrifugation, et la teneur en calcium retenu dans le gel diminuait (calcium des sérum augmente). L'augmentation de la température du traitement de pressurisation ne s'est pas accompagnée d'une augmentation de fermeté des gels et de leur aptitude à retenir le sérum; ceci peut vouloir dire que, soit les interactions hydrophobes ne joueraient aucun rôle dans l'élaboration du réseau, soit que l'élaboration du réseau nécessiterait d'affaiblir les interactions hydrophobes natives de la micelle. La réduction des interactions hydrophobes intramicellaires par les basses températures pendant le traitement de hautes pressions permettrait l'apparition en surface de sites hydrophobes, et la création de nouvelles interactions hydrophobes intermicellaires.

Au cours du stockage, la concentration en calcium retenu dans les gels augmentait, surtout dans le cas des gels conservés et mesurés à 20°C. Cette augmentation de la

concentration de calcium dans le réseau s'accompagnait d'une forte augmentation de la fermeté des gels. Les gels évoluaient au cours du stockage à 20°C; le calcium semblait migrer vers le gel, provoquant probablement une réorganisation du réseau.

Tout ce qui est favorable à la dissociation de la micelle apparaît comme un facteur favorable à l'obtention des gels : c'est le cas des basses températures appliquées lors de la pressurisation et de l'acidification. Dans une étude préalable, Famelart *et al.* (1997) ont montré que la pressurisation de concentrés de lait à 400 MPa pendant 10 min conduit également à la formation de gels. Lorsque la concentration en protéines est maximale (114 g.kg⁻¹) et le pH maximal (pH 6,6), un ajout de citrate à 4 g.kg⁻¹ augmente la fermeté des gels. La dissociation de la micelle par l'ajout de citrate est donc également favorable à la formation des gels. Dans cette étude, un effet positif du citrate n'a pas été observé. Ceci est probablement dû au fait que les concentrations en citrate étaient plus faibles (0,25 ou 0,50 g.kg⁻¹) que dans l'étude de Famelart *et al.* en 1997 (2 ou 4 g.kg⁻¹). Par ailleurs, l'effet positif du citrate dans Famelart *et al.* (1997) est observé exclusivement à pH 6,6, c'est-à-dire en l'absence de dissociation de la micelle par acidification. L'ajout de citrate dans l'étude présente a été réalisé à pH 5,9, donc en présence d'une légère dissociation de la micelle par l'acidification.

Les effets positifs des facteurs étudiés sur la formation de gels de protéines de lait peuvent s'expliquer d'une part par la dissociation des interactions hydrophobes par les basses températures et d'autre part par la dissociation des minéraux colloïdaux par les basses températures, l'ajout de citrate et la réduction du pH. En effet, selon Davies et White (1960), les concentrations de calcium et de phosphore ultrafiltrables du lait augmentent lorsque la température diminue de 20 à 3°C; de faibles augmentations sont également rapportées par Dalgleish et Law (1989). Cette solubilisation minérale peut être corrélée à l'augmentation de la solubilité du phosphate de calcium (Pierre et Brulé, 1981). L'effet positif de l'abaissement du pH rapporté par Famelart *et al.* (1997) étaye aussi l'hypothèse de l'importance de la structure des micelles. En effet entre pH 6,6 et 6,0, la voluminosité de la micelle diminue par réduction de la charge des chaînes protéiques. Banon et Hardy (1992) expliquent cette réduction de voluminosité par le placage du caseinomacropéptide, sorte de cheveux du colloïde, sur la surface de la micelle. Ce placage entraînerait une diminution de la protection stérique des micelles contre l'agrégation et serait favorable à la formation d'interactions.

L'évolution de la teneur en calcium des sérums (Fig.1) est contraire à l'effet de la température seule. Il est bien connu, en effet, que les minéraux de la phase colloïdale sont déplacés vers la phase aqueuse lors d'un refroidissement du lait (Walstra et Jenness, 1984). Ceci prouve que les minéraux joueraient un rôle dans la formation du réseau. Le froid peut dissocier le calcium de la micelle et le rendre disponible pour participer à l'élaboration du réseau au cours de la pressurisation. Ceci explique que les teneurs en calcium retenues dans les gels réalisés à 4°C étaient plus élevées que pour des gels réalisés à 40°C. Cette rétention du calcium dans le réseau s'accompagnait d'ailleurs d'une fermeté plus élevée.

La courbe de l'évolution de la concentration en calcium des sérums en fonction du pH de l'exsudat (et donc du pH des concentrés avant pressurisation) montrait une faible évolution entre pH 6,4 et 6,1. Pourtant, la courbe de la concentration en calcium

ultrafiltrable du concentré en fonction du pH doit montrer une augmentation régulière avec le pH décroissant (Le Graet & Brulé, 1993). La concentration en calcium dans les sérums relargués était donc anormalement basse pour les pH inférieurs à 6,2. Ces résultats indiquent que le calcium devrait jouer un rôle dans l'édification du réseau, puisqu'il est probablement retenu dans les gels. Pourtant, l'étude n'a pas montré d'effet du calcium ajouté sur les fermetés des gels. Les basses températures comme 4°C ou l'acidification solubilisent probablement du phosphate de calcium. C'est sous cette forme qu'il pourrait être retenu dans les gels. Par contre, l'ajout de chlorure de calcium induit une augmentation de calcium ionique, de calcium dissout, et de phosphate et citrate de calcium colloïdal (Van Hooydonk *et al.*, 1986). Mais ces sels de calcium n'ont pas nécessairement les mêmes structures que les sels colloïdaux natifs, et peuvent ne pas intervenir sur la formation des gels.

Les gels de protéines de lait obtenus par pressurisation présentaient des valeurs d'élasticité faibles. Ces gels peuvent adopter la forme du récipient dans lequel on les moule, après pressurisation.

REFERENCES

- Banon S, Hardy J. (1992). A colloidal approach of milk acidification by glucono-delta-lactone. *J. Dairy Sci.*, **75**, 935-941.
- Brulé G., Maubois J.L. & Fauquant J. (1974). Etude de la teneur en éléments minéraux des produits obtenus lors de l'ultrafiltration du lait sur membrane. *Lait*, **54**, 600-615.
- Dalgleish D.G. & Law A.J.R. (1989). pH-Induced dissociation of bovine casein micelles II. Mineral solubilization and its relation to casein release. *J. Dairy Res.*, **56**, 727-735.
- Davies D.T. & White J.C.D. (1960). The use of ultrafiltration and dialysis in isolating the aqueous phase of milk and in determining the partition of milk constituents between the aqueous and disperse phases. *J. Dairy Res.*, **27**, 171-190.
- Famelart M.H., Chapron L., Brulé G. & Maubois J.L. (1997). Soumis à *J. Food Eng.*
- Funtenberger S., Dumay E. & Cheftel J.C. (1995). Pressure-induced aggregation of β -lactoglobulin in pH 7.0 buffers. *Lebensm. -Wiss. u. -Technol.*, **28**, 410-418.
- Gaucheron F., Famelart M.H., Mariette F., Raulot K., Michel F. & Le Graet Y. (1997). Combined effect of temperature and high-pressure treatments on physicochemical characteristics of skim milk. *Food Chem.*, **59**, 439-447.
- Heremans K. (1995). High pressure effects on Biomolecules. In *High pressure processing of foods*, Ed. Ledward D.A., Johnston D.E, Earnshaw R.G & Hasting A.P.M., Nottingham Univ. Press.
- Johnston D.E. (1995). High pressure effects on milk and meat. In *High pressure processing of foods*, Ed. Ledward D.A., Johnston D.E, Earnshaw R.G & Hasting A.P.M., Nottingham Univ. Press.
- Le Graet Y. & Brulé G., (1993). Les équilibres minéraux du lait : influence du pH et de la force ionique. *Lait*, **733**, 51-60.

- Pierre A. & Brulé G., (1981). Mineral and protein equilibria between the colloidal and soluble phases of milk at low temperature. *J. Dairy Res.*, **48**, 417-428.
- Schuck P., Piot M., Mejean S., Fauquant J., Brulé G. & Maubois J.L. (1994). Déshydratation des laits enrichis en caséine micellaire par microfiltration; comparaison des propriétés des poudres obtenues avec celles d'une poudre de lait ultrapropre. *Lait*, **74**, 47-63.
- Van Camp J. & Huyghebaert A. (1995). A comparative rheological study of heat and high pressure induced whey protein gels. *Food Chem.*, **54**, 357-364.
- Van Hooydonk A.C.M., Hagedoorn H.G. & Boerrigter I.J. (1986). The effect of various cations on the renneting of milk. *Neth. Milk Dairy J.*, **40**, 369-390.
- Walstra P. & Jenness R., (1984). *Dairy chemistry and physics*, Wiley, New York.