

ÉTIENNE KOMBILA-MOUNDOUNGA

**DÉNATURATION THERMIQUE ET GÉLIFICATION DES PROTÉINES DE  
LACTOSÉRUM EN SOLUTION MODELE ET DANS UN ALIMENT  
COMPLEXE, LE FROMAGE FONDU À TARTINER:  
EFFETS DU NA<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DU LACTOSE ET DU GLYCÉROL**

Thèse  
présentée  
à l'École des gradués  
de l'Université Laval  
pour l'obtention  
du grade de Philosophiae Doctor (Ph. D.)

Faculté des Sciences de L'Agriculture et de L'Alimentation  
UNIVERSITÉ LAVAL  
QUÉBEC

Mai 1992

servés de Etienne Kombila-Moundounga 1992

Ce 25<sup>o</sup> jour du mois de Mars 19 92,

les personnes soussignées, en leur qualité de membres du jury, ont assisté à la soutenance de cette thèse et recommandé son acceptation à l'École des gradués de l'Université Laval.

NOMS

UNIVERSITÉ

SIGNATURE

FRANÇOIS CASTAIGNE

STA./LAVAL

F. Castaigne.

JACQUES GOULET

STA/LAVAL

Goulet

LOUIS LALEYE

AULT FOODS.

Louis Laleye

YVES POULIOT.

STA/LAVAL.

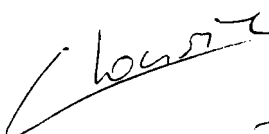
Yves Pouliot

  
ALFRED TRÉPANIÉ

SIGNATURE DU PRÉSIDENT DE LA SOUTENANCE

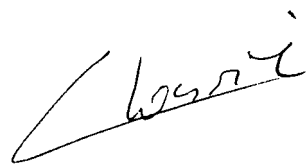
## RÉSUMÉ

Nous avons tenté de relier la dénaturation thermique des protéines de lactosérum à leur gélification en systèmes modèles simples et en systèmes alimentaires complexes. Les effets de certains humectants (NaCl, lactose et glycérol) ont été déterminés sur le comportement thermique et de gélification des protéines de lactosérum en solutions aqueuses et dans des fromages fondus à tartiner contenant ces protéines. Les résultats obtenus avec les deux systèmes d'étude ont été corrélés. L'addition des humectants a entraîné d'importantes modifications dans les deux systèmes d'étude. La fermeté a évolué en présence des humectants selon les mêmes tendances dans les deux systèmes, soit une diminution avec le sel et le lactose et une diminution ou une augmentation avec le glycérol dépendamment de la concentration. La stabilité thermique des protéines a été accrue en présence des humectants. Cette étude a révélé l'existence des liens positifs entre la température de dénaturation de l' $\alpha$ -lactalbumine et de la  $\beta$ -lactoglobuline et l'obtention à la fois des fromages fermes et des gels de force élevée retenant fortement l'eau.



pour

Etienne Kombila-Moundounga



Christophe Lacroix

## RÉSUMÉ

Dans ce travail, nous avons étudié les effets des combinaisons de NaCl, lactose et glycérol sur les propriétés thermiques des protéines de lactosérum en mélange et sur leurs propriétés gélifiantes en solutions aqueuses et au sein des fromages fondus à tartiner. L'étude a été menée dans le but, d'une part, de tenter d'expliquer le comportement de gélification des protéines de lactosérum dans des systèmes alimentaires complexes à partir de leur comportement thermique et de gélification en systèmes modèles simples en présence d'humectants et, d'autre part, d'explorer la relation existant entre la dénaturation thermique de ces protéines et leur gélification.

Nous avons formulé des fromages avec des protéines de lactosérum et des humectants ajoutés selon un plan factoriel complet  $3^3$ . Des mesures de l' $A_w$  ont été effectuées sur ces produits. Les résultats ont démontré l'efficacité du contrôle de l' $A_w$  à l'aide des combinaisons d'humectants. Des équations de régression prédisant plus de 96% de l' $A_w$  à partir des concentrations finales en humectants des fromages ont été développées. Afin d'évaluer l'impact de l'addition d'humectants sur la texture et la couleur des fromages, les paramètres de texture (fermeté, cohésion et adhésion), de tartinabilité (seuil d'écoulement et viscosité apparente), la luminosité (L) et les indices chromatiques **a** (rouge) et **b** (jaune) ont été mesurés. Les modifications de tous ces paramètres ont été provoquées principalement par les effets simples des humectants. Nous avons observé un effet négatif du sel et du lactose sur la tartinabilité des produits, tandis que le glycérol l'a améliorée.

Des solutions à 10% (p/p) de protéines de lactosérum contenant les mêmes humectants que les fromages ont été préparées. Les gels formés par les solutions protéiques ont été analysés pour la fermeté, la force de rupture, la cohésion et la capacité de rétention d'eau. D'importantes variations de ces paramètres ont été

provoquées par les effets simples des humectants. L'évolution de la fermeté des gels a suivi les mêmes tendances que celle des fromages, soit une augmentation avec le sel et le lactose et une diminution ou une augmentation avec le glycérol selon la concentration.

Les solutions protéiques ont été soumises à une analyse de calorimétrie différentielle à balayage (DSC) qui a permis de mesurer la température de dénaturation ( $T_{max}$ ) et l'enthalpie ( $\Delta H$ ) associée à la dénaturation de la  $\beta$ -lactoglobuline et de l' $\alpha$ -lactalbumine. La présence d'humectants dans les solutions a accru la stabilité thermique des protéines. Les effets les plus importants de ces facteurs ont été les effets linéaires, lesquels ont été reliés aux températures de dénaturation des protéines.

Les corrélations existant entre les caractéristiques des fromages et les propriétés rhéologiques et thermiques des solutions protéiques ont été recherchées. Les caractéristiques des fromages étaient corrélées avec les propriétés thermiques des solutions plutôt qu'avec les paramètres rhéologiques des gels. Les corrélations ont révélé l'existence des liens positifs entre les températures de dénaturation de l' $\alpha$ -lactalbumine et de la  $\beta$ -lactoglobuline et l'obtention des fromages fermes, de même que des gels de force élevée retenant fortement l'eau. Les résultats de l'étude pourraient permettre la fabrication d'aliments contenant des protéines de lactosérum avec des caractéristiques finales constantes.

Etienne Kombila-Moundounga

Christophe Lacroix

## AVANT PROPOS

Nous avons présenté au chapitre 1 un aperçu bibliographique sur la situation des protéines de lactosérum, leur problématique, l'état actuel des connaissances sur le sujet de recherche, et les objectifs spécifiques du projet. Ces objectifs sont traités séparément et font l'objet des chapitres 2 jusqu'à 6.

Dans les chapitres 2 et 3, nous avons présenté les résultats d'études effectuées en systèmes alimentaires complexes. Plus spécifiquement, au chapitre 2, nous avons mesuré les effets des combinaisons de sel, lactose et glycérol sur l'activité de l'eau ( $A_w$ ) des fromages fondus à tartiner et développé des équations de prédiction de ce paramètre dans les fromages à partir de leur composition. Les résultats de cette étude font l'objet d'une publication dans le journal de l'Institut Canadien de Science et Technologie Alimentaires (1991, 24: 233).

Dans le chapitre 3, nous avons rapporté les résultats de l'évaluation des modifications des paramètres de texture et de tartinabilité entraînées par l'addition des humectants dans les fromages formulés avec des protéines de lactosérum. Ce chapitre a également été publié dans le journal de l'Institut Canadien de Science et Technologie Alimentaire (1991, 24: 239).

Les résultats des études effectuées en solutions aqueuses sur le comportement de gélification des protéines de lactosérum sont présentés au chapitre 4 et sur leurs propriétés thermiques au chapitre 5.

Le chapitre 6 a été consacré aux relations, d'une part entre les résultats des deux systèmes à l'étude, et d'autre part, entre les résultats de la dénaturation thermique des protéines de lactosérum et leur gélification en solutions aqueuses et dans des fromages fondus à tartiner.

Au chapitre 7, nous avons rapporté les principales conclusions des études, leur impact et les perspectives de développement.

Il est essentiel de mentionner que la réalisation de ce travail a été rendue possible grâce au concours de certaines personnes et institutions à qui j'adresse tous mes remerciements. Pour avoir dirigé cette thèse, pour les enseignements reçus et pour son soutien, particulièrement à certains moments difficiles, je rend hommage au Docteur Christophe Lacroix envers qui je suis reconnaissant.

Ma reconnaissance vaut autant aux Dr François Castaigne, Jacques Goulet, Yves Pouliot, professeurs au département de sciences et technologie des aliments, ainsi qu'au Dr Louis Laleye (Aliments Ault Ltée), les examinateurs de cette thèse.

L'environnement favorable ayant permis l'accomplissement de ce travail est à mettre au crédit de l'Université Laval, de la Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation et plus particulièrement à celui du Département de sciences et technologie des aliments et du Centre de recherche en sciences et technologie du lait (STELA).

La collaboration au projet de la fromagerie Lactantia (Victoriaville) et notamment de M. Julio Neuman et M. Robert Lagacé a été déterminante. Déterminante tout autant a été la contribution des personnes suivantes: Réjean Proulx, Carole Paradis et Maurice Carrier (assistants de recherche), de Pascal Audet, Lise Lemieux, Pierre Verret et Foued Chéour (département de S.T.A.); de Gervais Gagnon (département de phytologie); de Hélène Routhier et Robert Giroux (bibliothèque scientifique), ainsi que celle de Fernande Michaud (Université du Québec) et de Quy Tram Do (Direction générale de la vie étudiante).

Pour tout le soutien et leurs précieux encouragements, j'exprime ma gratitude envers mes beaux-parents Lucille et Daniel Levesque; mes frères et soeurs, parmi lesquels Marcel Moussadji-Moundounga, Thérèse Matsanga-Moundounga et Lié-Bernard Koumba-Moukagni; mes amis Rolande Veilleux-Gervais, Susette et Lucien Adambounou, Julie et Joseph Makhlouf, Laurie et Denis Choinière, Johanne et Louis Laleye, Bolamba Digbo et Foued Chéour, de même qu'envers mes jeunes compatriotes de la dynamique Association des étudiants et stagiaires gabonais à Québec.

Enfin, qu'il me soit permis de dédier cette thèse à mes défunts parents, à mes filles Léonie Matsanga et Andréane Milongou, à tous mes neveux et nièces du Gabon et du Canada ainsi qu'à mon épouse Manon Levesque méritant largement de partager avec moi les félicitations du jury pour l'obtention du grade de Philosophiae Doctor.

---



## TABLE DES MATIERES

	Page
RÉSUMÉ .....	ii
AVANT-PROPOS.....	v
TABLE DES MATIERES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
LISTE DES FIGURES.....	xiv
CHAPITRE 1: INTRODUCTION GÉNÉRALE .....	1
1.1 Le lactosérum.....	1
1.2 Les protéines du lactosérum.....	3
1.3 Gélification des protéines du lactosérum.....	6
1.4 Dénaturation thermique des protéines du lactosérum.....	9
1.5 Origine et objectifs de l'étude.....	11
1.6 Références bibliographiques .....	14
CHAPITRE 2: EFFET DES COMBINAISONS DE NaCl, DE LACTOSE ET DE GLYCÉROL SUR L'ACTIVITÉ DE L'EAU ( $A_w$ ) DES FROMAGES FONDUS À TARTINER.....	18
2.1 Résumé .....	18
2.2 Introduction .....	19
2.3 Matériel et méthodes.....	20
2.3.1 Fabrication des fromages fondus à tartiner expérimentaux.....	21
2.3.2 Analyses physico-chimiques .....	21
2.3.2.1 Humidité.....	21
2.3.2.2 $A_w$ .....	21
2.3.2.3 Analyse du lactose et du NaCl .....	22
2.3.3 Analyses statistiques .....	22
2.4 Résultats et discussion .....	23
2.5 Conclusion.....	26
2.6 Références bibliographiques .....	28
2.7 Tableaux.....	30
CHAPITRE 3: EFFET DES COMBINAISONS DE CHLORURE DE SODIUM, DE LACTOSE ET DE GLYCÉROL SUR LES CARACTÉRISTIQUES RHÉOLOGIQUES ET LA COULEUR DES FROMAGES FONDUS À TARTINER.....	36
3.1 Résumé .....	36

3.2	Introduction.....	37
3.3	Matériel et méthodes.....	38
3.3.1	Fabrication des fromages fondus à tartiner.....	38
3.3.2	Détermination des paramètres rhéologiques.....	39
3.3.3	Détermination du pH.....	40
3.3.4	Détermination de la couleur.....	40
3.3.5	Dosage de l'humidité.....	40
3.3.6	Analyses statistiques.....	40
3.4	Résultats et discussion.....	41
3.4.1	Effet du sel, du lactose et du glycérol sur le pH des fromages fondus à tartiner.....	41
3.4.2	Effet du sel, du lactose et du glycérol sur les caractéristiques rhéologiques des fromages fondus à tartiner.....	41
3.4.2.1	Formation de cristaux.....	41
3.4.2.2	Modification des caractéristiques rhéologiques des fromages fondus à tartiner.....	42
3.4.3	Influence de la teneur en eau et de l'activité de l'eau sur la rhéologie des fromages fondus à tartiner.....	44
3.4.4	Influence du pH sur la rhéologie des fromages fondus à tartiner.....	44
3.4.5	Effets directs du sel, du lactose et du glycérol sur l'hydratation des protéines fromagères.....	45
3.4.6	Influence des humectants sur la stabilité thermique des protéines du lactosérum des fromages.....	46
3.4.7	Effets du sel, du lactose et du glycérol sur la couleur des fromages.....	47
3.5	Conclusion.....	48
3.6	Références bibliographiques.....	48
3.7	Tableaux et figures.....	51

CHAPITRE 4:	GÉLIFICATION DES PROTÉINES DU LACTOSÉRUM: EFFET DU SEL, DU LACTOSE ET DU GLYCÉROL SUR LES PROPRIÉTÉS RHÉOLOGIQUES ET LA CAPACITÉ DE RÉTENTION D'EAU DES GELS.....	62
-------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

4.1	Résumé.....	62
4.2	Introduction.....	63
4.3	Matériel et méthodes.....	64
4.3.1	Préparation des gels de protéines du lactosérum.....	64
4.3.2	Détermination de la texture des gels.....	64
4.3.2.1	Test de double compression.....	65
4.3.2.2	Compression au point de rupture.....	65
4.3.3	Détermination de la capacité de rétention d'eau (CRE) des gels.....	65
4.3.4	Analyses chimiques.....	66
4.3.4.1	Humidité, gras, protéines et lactose.....	66
4.3.4.2	$\alpha$ -lactalbumine et $\beta$ -lactoglobuline.....	66
4.3.4.3	Minéraux.....	66
4.3.5	Analyses statistiques.....	67
4.4	Résultats et discussion.....	68

4.4.1	Composition chimique du CPL de l'étude et gélification des solutions aqueuses des protéines du lactosérum.....	68
4.4.2	Effet du NaCl, du lactose et du glycérol sur les paramètres rhéologiques et la capacité de rétention d'eau des gels de protéines du lactosérum .....	70
4.4.3	Influence de la concentration protéique de la phase aqueuse sur la modification des propriétés des gels.....	72
4.4.4	Influence du NaCl, du lactose et du glycérol sur la dénaturation thermique des protéines du lactosérum .....	73
4.4.5	Influence du NaCl, du lactose et du glycérol sur l'agrégation des protéines du lactosérum.....	75
	4.4.5.1 Effet du sel .....	76
	4.4.5.2 Effet du lactose et du glycérol .....	77
4.5	Conclusion.....	78
4.6	Références bibliographiques.....	78
4.7	Tableaux et figures.....	81
 CHAPITRE 5: PROPRIÉTÉS THERMIQUES DES PROTÉINES DU LACTOSÉRUM EN PRÉSENCE DE CHLORURE DE SODIUM, DE LACTOSE ET DE GLYCÉROL.....		91
5.1	Résumé.....	91
5.2	Introduction .....	91
5.3	Matériel et méthodes.....	93
	5.3.1 Préparation des solutions aqueuses de protéines du lactosérum .....	93
	5.3.2 Analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC) des solutions protéiques de lactosérum .....	93
	5.3.3 Analyses statistiques .....	94
5.4	Résultats et discussion .....	95
	5.4.1 Propriétés thermiques de la solution protéique (10% de protéines du lactosérum) sans addition d'humectants .....	95
	5.4.2 Effets de l'addition de NaCl, de lactose et de glycérol sur les propriétés thermiques de l' $\alpha$ -lactalbumine et de la $\beta$ -lactoglobuline.....	98
	5.4.2.1 Mécanisme de dénaturation thermique des protéines du lactosérum en mélange.....	99
	5.4.2.2 Influence du NaCl, du lactose et du glycérol sur l'hydratation des protéines et la structure de l'eau .....	101
	5.4.2.3 Influence du NaCl, du lactose et du glycérol sur la structure des protéines du lactosérum .....	102
5.5	Conclusion.....	103
5.6	Références bibliographiques.....	103
5.7	Tableaux et figures.....	105

CHAPITRE 6: RELATION ENTRE LES PROPRIÉTÉS THERMIQUES DES PROTÉINES DE LACTOSÉRUM ET LEUR GÉLIFICATION EN SOLUTION AQUEUSE ET DANS LE FROMAGE FONDU À TARTINER.....	110
6.1 Résumé.....	110
6.2 Introduction .....	111
6.3 Matériel et méthodes.....	112
6.3.1 Fabrication des fromages, des solutions protéiques, des gels et méthodes d'analyses.....	112
6.3.2 Analyses statistiques.....	112
6.4 Résultats et discussion .....	112
6.5 Conclusion .....	115
6.6 Références bibliographiques.....	116
6.7 Tableaux .....	117
CHAPITRE 7: CONCLUSION GÉNÉRALE.....	120

## LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 2.1: Liste des ingrédients des fromages expérimentaux et leurs origines
- Tableau 2.2: Formulation des ingrédients variables des fromages fondus expérimentaux (kg/15 kg de fromage)
- Tableau 2.3: Caractéristiques de composition et  $A_w$  des fromages fondus à tartiner après 2 semaines de conservation.
- Tableau 2.4: Effet du sel, lactose et glycérol sur l' $A_w$  des fromages expérimentaux: résultats de l'analyse de variance.
- Tableau 2.5: Équations de régression reliant l' $A_w$  à la composition en humectants des fromages fondus à tartiner expérimentaux.
- Tableau 3.1: Composition chimique finale et pH des fromages fondus à tartiner.
- Tableau 3.2: Valeurs des paramètres rhéologiques et d'indices de couleur des fromages fondus à tartiner
- Tableau 3.3: Résultats des analyses de variance des données de tartinabilité, de texture, du pH et de couleur des fromages fondus à tartiner expérimentaux.
- Tableau 3.4: Equations de régression reliant la tartinabilité et la texture aux effets significatifs des humectants.
- Tableau 4.1: Composition chimique du CPL de l'étude et contribution à la composition finale des solutions protéiques expérimentales.

- Tableau 4.2: Quantités de NaCl, de lactose, de glycérol et d'eau requises pour la préparation des solutions expérimentales à 10% de protéines du lactosérum (sur une base de calcul de 300g).
- Tableau 4.3: Valeurs moyennes des paramètres de texture et de capacité de rétention d'eau (CRE) des gels en fonction des concentrations en NaCl, lactose et glycérol dans le produit final.
- Tableau 4.4: Résultats d'analyses de variance effectuées sur les paramètres de texture et la capacité de rétention d'eau des gels.
- Tableau 4.5: Equations de régression reliant les paramètres mesurés sur les gels à leurs concentrations finales en sel, lactose et glycérol.
- Tableau 5.1: Effet de la concentration en NaCl, en lactose et en glycérol sur la température et l'enthalpie de dénaturation de la  $\beta$ -lactoglobuline et de l' $\alpha$ -lactalbumine en mélange.
- Tableau 5.2: Analyses de variance réalisées sur les données de température et d'enthalpie de dénaturation de l' $\alpha$ -La et de la  $\beta$ -lg en présence de NaCl, de lactose et de glycérol dans des solutions à 10% de protéines du lactosérum.
- Tableau 5.3: Équations de prédiction de la température de dénaturation de l' $\alpha$ -La et de la  $\beta$ -lg en mélange à partir des concentrations de sel, de lactose et de glycérol de la solution protéique.
- Tableau 6.1: Propriétés thermiques des protéines du lactosérum et caractéristiques rhéologiques et de rétention d'eau des gels et des fromages fondus à tartiner en fonction des concentrations de sel, de lactose et de glycérol.
- Tableau 6.2: Relation entre les propriétés thermiques des protéines du lactosérum et les caractéristiques rhéologiques et de rétention d'eau des gels et des fromages fondus à tartiner.

## LISTE DES FIGURES

- Figure 3.1: Effet du sel et du glycérol sur la fermeté des fromages fondus à tartiner pour une concentration en lactose de 6,35%.
- Figure 3.2: Effet du sel et du glycérol sur le seuil d'écoulement des fromages fondus à tartiner pour une concentration en lactose de 6,35%.
- Figure 3.3: Effet du sel et du glycérol sur l'évolution de la viscosité apparente des fromages fondus à tartiner pour une concentration en lactose de 6,35%.
- Figure 3.4: Effet du sel et du lactose sur l'évolution de la viscosité apparente des fromages fondus à tartiner.
- Figure 3.5: Relation entre les logarithmes de seuil d'écoulement et de viscosité apparente des fromages fondus à tartiner.
- Figure 4.1: Chromatogramme HPLC de caractérisation des fractions protéiques du CPL de l'étude..
- Figure 4.2: Effet du sel et du glycérol sur la fermeté des gels de protéines de lactosérum pour une concentration de lactose de 3,72%.
- Figure 4.3: Effet du sel et du lactose sur la force de rupture des gels de protéines de lactosérum.
- Figure 5.1: Thermogramme de DSC pour une solution à 10% de protéines de lactosérum en mélange en présence de lactose à une concentration de 3,72%.

## CHAPITRE 1

### INTRODUCTION GÉNÉRALE

#### 1.1 Le lactosérum

Produit dérivé de l'industrie fromagère et caséinière, le lactosérum ou petit-lait de fromage est un liquide jaunâtre obtenu après séparation par précipitation des caséines du lait. De grandes quantités sont produites à travers le monde. La fabrication d'une tonne de fromage ou de caséine génère 8 ou 25 tonnes de lactosérum, respectivement. En 1980, pour chaque tonne de lactosérum de caséine produite, on comptait 15 tonnes de lactosérum de fromage (Marshall, 1982). La production mondiale totale de lactosérum de l'ordre de 85 millions de tonnes en 1983 atteindrait les 110 millions de tonnes en 1991 à raison d'un accroissement annuel de 3% (Zall, 1984). Les principaux producteurs de lactosérum sont les pays en développement avec 29,2% de la production mondiale, suivis des pays de la CEE (27,2%), des USA (16,7%) et de l'ancienne URSS (14,5%) (Zall, 1984). Au Canada, la production de lactosérum, représentant 1,3% de la production mondiale est surtout concentrée au Québec, où il s'en produit 2600 tonnes par jour, soit les 2/3 de la production canadienne (Rolland, 1984).

Pendant longtemps le lactosérum a été considéré comme un résidu. Les unités de fabrication fromagère disséminées un peu partout en régions rurales n'utilisaient qu'une partie de ce produit pour l'alimentation porcine, le reste étant soit épandu dans les champs, soit déversé dans les rivières. Le rejet dans la nature d'environ 50% de la production mondiale de lactosérum engendrait de sérieux problèmes de pollution, 1000 l de lactosérum ayant en moyenne une demande biochimique



d'oxygène (DBO) élevée, de 80,000 ppm, soit l'équivalent d'un pouvoir polluant de 400 personnes (Marshall, 1982; Maubois, 1982). Un tel gaspillage de produit et la pollution qui en résulte proviennent d'une attitude peu enthousiaste de l'industrie laitière vis à vis du développement de produits de protéines de lactosérum, en partie pour des raisons économiques et législatives. Ce n'est que récemment, avec un accroissement élevé des frais de disposition de produit, résultant de l'augmentation de la production de lactosérum (suite au regroupement amorcé dans les années 50 des unités fromagères de plus en plus importantes), qu'une nouvelle attitude a été adoptée. Ce fait, conjugué aux pressions environnementalistes de plus en plus fortes exercées à partir des années 1960, a amené l'industrie laitière à se préoccuper de la valorisation du rejet de lactosérum. Celle-ci, dans un premier temps, entreprit de redistribuer une partie de son lactosérum aux éleveurs pour l'engraissement des porcs et à produire de la poudre de lactosérum de bonne qualité (Malige, 1982). Par la suite, elle opta pour le fractionnement du lactosérum afin de valoriser le lactose, d'une part, et la fraction protéique, d'autre part, en regard à la demande mondiale croissante en protéines. Les protéines de lactosérum représentent, en fait, une fraction de haute valeur dans l'industrie des composants du lactosérum (Alais, 1984). Pour de nombreux usages, selon cet auteur, l'emploi des concentrés de protéines est préférable à celui du lactosérum brut.

Ce nouvel intérêt pour les protéines de lactosérum a conduit à certains développements technologiques, telle la précipitation des protéines à la chaleur et en milieu acide afin d'en faire un fromage de lactosérum le Ricotta. Par le procédé "Centriwhey", les protéines pouvaient être séparées et réajoutées au lait destiné à la fabrication fromagère dans le but d'accroître le rendement fromager. Les protéines ainsi récupérées, grâce à leur thermocoagulation au point isoélectrique n'étaient malheureusement pas solubles et présentaient des propriétés fonctionnelles limitées, alors que, dans plusieurs utilisations des protéines du lactosérum, on a de plus en plus recours aux protéines solubles, peu ou pas modifiées par la chaleur (Malige, 1982). Aussi, c'est avec le développement des technologies à membrane, notamment grâce aux possibilités offertes par l'ultrafiltration permettant de récupérer de façon économique les protéines tout en minimisant leur modification, qu'une véritable industrie basée sur la transformation du lactosérum s'est créée et connaît dès lors une croissance rapide (Maubois, 1982).

Fonctionnant comme un tamis, vis-à-vis des éléments macromoléculaires du lactosérum, la technique d'ultrafiltration permet de séparer le lactosérum soumis à une pression modérée en deux liquides distincts: le perméat et le rétentat. Le perméat, représentant la fraction ayant traversé la membrane contient les éléments dissous du lactosérum dont le lactose, les sels minéraux et l'azote non-protéique, de taille moléculaire inférieure au diamètre des pores de la membrane. Les éléments de taille supérieure, essentiellement les protéines, se retrouvent concentrés dans le rétentat, la fraction liquide n'ayant pas traversé la membrane. En général, la composition d'un lactosérum dépend de celle du lait de départ et des méthodes mises en oeuvre pour son obtention (Marshall, 1982). Par exemple, on obtient un lactosérum doux de faible acidité (pH minimal de 5,6), lorsque le lait, lors de la fabrication fromagère ou caséinière, a été coagulé par activité enzymatique de la présure. Au contraire, l'addition d'acide au lait à la place de la présure donne un lactosérum acide de pH inférieur ou égal à 5,1 (Marshall, 1982). Une comparaison des deux types de lactosérum montre que la teneur en solides totaux, en protéines et en lactose est plus élevée pour le lactosérum doux, mais qu'en revanche, un lactosérum acide possède une teneur en sel minéraux plus élevée (Marshall, 1982).

## 1.2. Les protéines du lactosérum

En moyenne, un litre de lactosérum renferme environ 65g de solides composés essentiellement de lactose (70-80%), des minéraux (9%) et des protéines demeurées en solution dans le sérum du lait après la précipitation des caséines (9%). Ce groupe de protéines constitue la fraction des protéines du lait communément désignée par le terme de "protéines du lactosérum". Elle représente 15 à 22% des protéines totales d'un lait bovin. Les constituants majeurs sont la  $\beta$ -lactoglobuline ( $\beta$ -lg) (55 à 65%), l' $\alpha$ -lactalbumine ( $\alpha$ -La) (15 à 25%), les immunoglobulines (10 à 15%), la sérumalbumine bovine (SAB) (5 à 6%), ainsi que les protéose-peptones issus de la dégradation de la  $\beta$ -caséine (10 à 20%). A des concentrations plus faibles, on y retrouve également de la  $\beta$ -caséine (1 à 2%), de même que diverses autres protéines telles la lactoferrine, la lactolline et la transferrine sanguine (Marshall, 1982, Marshall et Harper, 1988).

En soumettant un lactosérum à l'ultrafiltration on obtient un concentrat de protéines de lactosérum (CPL) qui, après séchage possède une teneur en protéine

dépendante du facteur de concentration, et d'un certain nombre d'autres paramètres, telles la composition protéique initiale, l'application d'un prétraitement (le plus souvent la clarification destinée à l'élimination de la matière grasse d'un lactosérum doux) ou celle d'un traitement supplémentaire, du genre diafiltration visant à purifier davantage les protéines. L'appellation de CPL englobe ainsi des produits différant de par leur composition et conséquemment, par leur valeur nutritive et leurs propriétés fonctionnelles. Melachouris (1984) définit un CPL comme étant un produit dérivé du traitement d'un lactosérum et composé d'au moins 25% de protéines. La teneur en protéines des CPL peut aller de 25 à plus de 95% et celle des autres constituants, de l'ordre de 0,2 à 10% pour matière grasse, de 0,1 à 15% pour les minéraux et de 0 à 6% pour le lactose (Marshall et Harper, 1988). Pour des CPL obtenus par ultrafiltration, on observe généralement une augmentation de la valeur nutritive et de la fonctionnalité par unité de poids du concentrat, lorsque la teneur en protéine de celui-ci augmente (Melachouris, 1984; Marshall et Harper, 1988). Cependant, lorsque la teneur protéique du CPL est élevée, le prix de revient par unité de protéine augmente et conséquemment, le marché potentiel du produit rétrécit (Melachouris, 1984). Bien équilibrées, quelle que soit la protéine de référence choisie (oeuf, F.A.O. - W.H.O.), les protéines de lactosérum suscitent un grand intérêt du point de vue nutritionnel grâce à leur richesse en lysine, tryptophane et en acides aminés soufrés leur conférant une valeur biologique élevée (Cheftel et Lorient, 1982; Maubois, 1982).

Contrairement aux protéines issues d'un traitement de thermocoagulation, les protéines non dénaturées des CPL obtenus par ultrafiltration sur membrane présentent d'excellentes propriétés fonctionnelles. Par propriété fonctionnelle ou fonctionnalité, selon les auteurs, on entend toute propriété (propriétés nutritionnelles exclues ou incluses) d'une substance ayant une influence sur son utilisation (Pour El, 1981). Les diverses propriétés fonctionnelles des CPL, l'influence des traitements technologiques, de même que des exemples de systèmes alimentaires pour lesquels ces propriétés sont recherchées, ont été rapportés par divers auteurs (de Wit et de Boer, 1975; Maubois, 1982; Marshall et Harper, 1988). Certaines de ces propriétés fonctionnelles sont importantes pour une application donnée; toutefois, les propriétés de gélification, de dénaturation, d'émulsification, de moussage, d'absorption d'eau et de solubilité sont considérées comme étant les plus critiques du fait de leurs effets prononcés sur un grand

nombre d'applications (Cheftel et Lorient, 1982; Maubois, 1982; Melachouris, 1984; Marshall et Harper, 1988).

Concernant la solubilité, les protéines du lactosérum présentent une singularité par rapport à d'autres protéines utilisées en alimentation, du fait de leur solubilité sur toute l'échelle de pH. Dans un sens strict, toutefois, ces protéines précipiteraient à leur pH isoélectrique, mais grâce à leur capacité d'hydratation élevée, celles-ci se résolubiliseront rapidement, d'où leur solubilité en milieu acide (Melachouris, 1984). Selon Marshall et Harper (1988), la solubilité des CPL est d'une importance directe pour les boissons et indirecte pour d'autres applications alimentaires, cette propriété fonctionnelle étant reliée à d'autres propriétés comme le moussage, la gélification, l'émulsification et l'absorption d'eau.

Cependant, la commercialisation des CPL ne s'est pas avérée une chose facile. Commercialisés sous l'étiquette d'ingrédients protéiques, les CPL entrent en compétition avec d'autres sources protéiques dont l'albumine d'oeuf, la caséine et les protéines de soja. A fonctionnalité égale il n'est pas assuré que le fabricant alimentaire opte pour le CPL, mais plutôt pour la source protéique la moins chère. Afin d'assurer la commercialisation des CPL, un aspect important auquel doivent faire face les producteurs de lactosérum, touche le développement d'applications alimentaires pour les différents CPL (Melachouris, 1984). Selon cet auteur, il faut développer des CPL spécifiques correspondant à des applications alimentaires précises. Etant donné les nombreux facteurs impliqués dans le traitement du lactosérum, lesquels entraînent des variations au niveau de la fonctionnalité du CPL, il est peu probable, sinon invraisemblable de développer une qualité unique de CPL pouvant être utilisée économiquement pour plusieurs applications alimentaires. Il reviendrait aux producteurs de lactosérum de déterminer pour un CPL donné le marché et les applications spécifiques et par la suite, d'établir des spécifications pour ce CPL (Melachouris, 1984). A titre d'exemple, si l'évaluation en systèmes modèles des propriétés fonctionnelles d'un CPL met en évidence d'excellentes propriétés émulsifiantes du produit, alors un tel CPL pourra être utilisé pour la stabilisation des émulsions du type mayonnaise.

### 1.3 Gélification des protéines du lactosérum

De structure globulaire, les protéines du lactosérum une fois chauffées subissent un déplissement de leur structures secondaire et tertiaire, plus ou moins marqué selon la température et le pH. Suite à un tel déplissement, il se produit des phénomènes d'agrégation conduisant à l'obtention d'un précipité, d'un coagulum ou d'un gel dépendamment de plusieurs facteurs. Par exemple, lorsqu'elles sont chauffées en solution diluée, à une concentration en protéines inférieure à 5% et dans une zone de pH comprise entre pH 4 et 6, les protéines du lactosérum déplissées sont immédiatement soumises à des réactions d'agrégation et de précipitation, survenant à 65°C pour les immunoglobulines, vers 70-80°C pour la  $\beta$ -Ig et la SAB (sérum albumine bovine) et vers 95°C pour  $\alpha$ -La. En solution à une concentration protéique plus élevée, supérieure à 5 ou 7%, celles-ci forment un coagulum ou un gel à partir de 70-85°C (Cheftel et Lorient, 1982; Marshall et Harper, 1988). Un coagulum granuleux résultant d'une agrégation très rapide, plutôt qu'un gel homogène se produit dans la zone de pH isoélectrique, tandis qu'à un pH éloigné de cette zone, les réactions d'agrégation moins rapides favorisent un équilibre entre les interactions protéine-eau et protéine-protéine responsables de la formation d'un réseau protéique tridimensionnel ordonné, caractérisant un gel protéique (Hermansson et Akesson, 1975a,b; de Wit, 1981; Cheftel et Lorient, 1982; Mulvihill et Kinsella, 1987). Des gels viscoélastiques d'apparence translucide à opaque et thermoirréversibles impliquant la formation de ponts disulfure intermoléculaires au cours de l'agrégation peuvent être formés par les protéines du lactosérum.

Dans les aliments, la gélification protéique est généralement utilisée pour améliorer l'absorption d'eau, l'épaississement et la liaison des particules, la stabilisation des émulsions et des mousses. Du fait de certaines similitudes avec les gels de blanc d'oeuf, les CPL ont été proposés en tant que remplaçants potentiels de l'albumine d'oeuf dans certains aliments, afin de contrer la hausse du prix des oeufs (To et al., 1985). La capacité d'une protéine à former après un traitement thermique un réseau de gel retenant l'eau et d'autres ingrédients protéiques est très recherchée pour de nombreux aliments et pour le développement de nouveaux produits (Schmidt, 1981). De nombreux auteurs ont rapporté la mise à profit des propriétés gélifiantes des protéines de lactosérum pour la fabrication de desserts gélifiés, de produits carnés (viande hachée de type hamburger, saucisses) et fromagers (Cheftel et Lorient, 1982; de Wit, 1988).

Les protéines du lactosérum sont en particulier employées dans la fabrication des fromages fondus à tartiner. En général, le fromage fondu à tartiner est un aliment complexe habituellement obtenu en mélangeant une ou plusieurs variétés de fromages naturels (cheddar, suisse, brick, mozzarella) avec des agents émulsifiants (les sels de fonte), de nombreux ingrédients optionnels incluant des ingrédients laitiers et de l'eau lui conférant une certaine plasticité (Kosikowski, 1982). Le produit final caractérisé par une teneur en eau, un pH et une activité de l'eau ( $A_w$ ) élevés et conditionné dans des récipients fermés hermétiquement, présente des risques d'activité microbienne et spécialement celle des clostridies et d'autres microorganismes anaérobies. Les risques sont d'autant plus grands que la cuisson du mélange pendant 3 minutes est effectuée entre 65°C et 85°C (Rayan et al., 1980). Un tel traitement thermique modéré, comparable à une pasteurisation appliquée à la préparation fromagère, est insuffisant pour détruire les entérotoxines des staphylocoques et les spores clostridiennes (Kautter et al., 1979; Ibrahim, 1982; Warburton et al., 1986). L' $A_w$  étant un paramètre important pour l'activité microbienne (incluant la reproduction, la production de toxine et la survie des microorganismes), divers composés capables de la contrôler (dont des sels et divers sucres) peuvent être introduits dans la formulation des fromages fondus à tartiner (Bone, 1973; Haas et al., 1975; Sloan et Labuza, 1975). Cependant, les humectants utilisés dans les aliments pour diverses fonctions dont l'abaissement de l' $A_w$  exercent, par ailleurs, une influence importante sur la stabilité thermique des protéines et les caractéristiques des gels obtenus. Les protéines de lactosérum présentes dans ces fromages, de par leurs propriétés gélifiantes, jouent un rôle important au niveau de la texture finale et plus particulièrement de la tartinabilité, facteur conditionnant en bonne partie l'acceptabilité du produit par le consommateur (Tanaka et al., 1971; Matthews, 1984; Patart, 1984; Awadhwal et Singh, 1985).

Malheureusement, malgré leurs qualités nutritionnelles et leur grande disponibilité, l'utilisation des protéines de lactosérum par l'industrie alimentaire demeure faible (Melachouris, 1984; Kohnhorst et Mangino, 1985; Morr, 1985; Peltonen-Shalaby et Mangino, 1986; Mangino et al., 1987). Hormis la présence sur le marché d'autres produits protéiques concurrentiels, l'utilisation des CPL dans les systèmes alimentaires est également limitée pour des motifs de variabilité de la fonctionnalité, dont la source n'est pas clairement identifiée. De nombreux auteurs ont rapporté la présence sur le marché de CPL avec des comportements fonctionnels

variables. Cheftel et Lorient (1982), Melachouris, (1984), Schmidt et al., (1984), Schmidt et Morris (1984), Cheftel et al., (1985), Mulvihill et Kinsella (1987) et plus récemment Paulsson et al. (1990) ont revu les divers facteurs influençant la capacité de formation de gels de CPL, les principaux étant la composition du lactosérum initial, les procédés impliqués lors de la fabrication des CPL et les conditions de préparation des gels (pH, force ionique et type d'ions, température et conditions de chauffage, état de la protéine et concentration de celle-ci, présence de certains composés dont les agents humectants). Cependant, les interrelations entre ces nombreux facteurs, de même que leurs influences sur la fermeté et d'autres propriétés des gels ne sont pas entièrement élucidées. A ces facteurs, peuvent s'ajouter l'absence de méthodes standardisées pour l'évaluation de la fonctionnalité protéique. Divers instruments sont utilisés pour déterminer les caractéristiques des gels (module d'élasticité, seuil d'écoulement, temps de relaxation, etc.). Des tests empiriques de pénétration ou de compression sont également effectués pour mesurer la fermeté, la résistance à la rupture, la cohésion ou l'adhésion des gels. Les résultats rapportés dans la littérature dépendent ainsi de l'appareillage et des conditions de mesure. En plus de présenter une fonctionnalité variable, des CPL ayant démontré une bonne fonctionnalité en solutions aqueuses n'ont pas toujours bien performé, une fois incorporés dans des systèmes alimentaires plus complexes. Plusieurs auteurs (Harper, 1982; Morr, 1985; Peltonen-Shalaby et Mangino, 1986; Mangino et al., 1987) ont d'ailleurs admis que la sous-utilisation des CPL dans les systèmes alimentaires était largement attribuable à la difficulté de l'industrie à fabriquer des produits alimentaires comportant des protéines de lactosérum avec des caractéristiques constantes. Une fois introduites dans des systèmes alimentaires comme le pain, les émulsions carnées ou les fromages fondus à tartiner, le comportement des préparations protéiques devient difficile à prédire et à interpréter du fait des interactions possibles de nombreux paramètres de l'aliment (parmi lesquels la présence d'autres fractions protéiques, l'environnement ionique, le pH, l' $A_w$ ) justifiant les restrictions de certains auteurs relatives aux transferts des résultats obtenus avec des systèmes modèles aux aliments plus complexes (Evans, 1982; Morr, 1982; de Wit, 1989).

#### 1.4 Dénaturation thermique des protéines de lactosérum

En général, la dénaturation thermique d'une protéine est difficile à prédire en raison de nombreux facteurs susceptibles de l'influencer. Dans le cas plus précis des protéines du lactosérum, les difficultés de prédiction et d'interprétation sont plus élevées, dues au comportement complexe de ces protéines lors des traitements thermiques, attribuable selon de Wit (1988) à leur grande sensibilité thermique. Les traitements thermiques appliqués aux protéines de lactosérum, en particulier lors des opérations de pasteurisation, de stérilisation ou de séchage, provoquent une dénaturation, laquelle rend difficile toute standardisation de la fonctionnalité des CPL.

Lorsqu'une protéine est chauffée, les liaisons maintenant ses structures secondaire et tertiaire s'affaiblissent et se rompent à une certaine température. Cette rupture de liaisons noncovalentes ainsi que la modification de la structure protéique résultante constituent la dénaturation (Mangino, 1984). Le changement de la conformation des protéines entraîne des modifications de leur comportement fonctionnel dont l'amplitude dépend généralement des mêmes paramètres que ceux de la gélification. Dans l'aliment, des modifications de la structure de certaines protéines présentes peuvent se produire suite à une participation de celles-ci à des interactions avec d'autres ingrédients ou par le biais de l'influence des facteurs d'environnement du système alimentaire (Marshall et Harper, 1988). La  $\beta$ -lactoglobuline ( $\beta$ -lg) et l' $\alpha$ -lactalbumine ( $\alpha$ -La), fractions protéiques dominantes dans le lactosérum, jouent un rôle primordial dans la fonctionnalité du CPL (Schmidt et Morris, 1984). La dénaturation thermique de la  $\beta$ -lg se produit à 76°C et celle de l' $\alpha$ -La à 64°C (de Wit et Klarenbeek, 1984). Cependant, l' $\alpha$ -La est dotée d'une capacité de renaturation élevée, laquelle a entraîné des confusions d'interprétation au niveau de la stabilité thermique de cette protéine chez de nombreux auteurs. La renaturation exprime la capacité d'une protéine à revenir à sa forme originale après que l'agent perturbant ait été enlevé, tandis que la stabilité thermique exprime sa capacité de résister à un changement de structure ou de conformation lors du chauffage (Wright, 1982). Au cours de la dénaturation thermique, les protéines de sérum subissent un déroulement de leur conformation globulaire compact conduisant à une conformation au hasard. A certains niveaux de déroulement, des interactions protéine-protéine représentant la principale cause de l'agrégation des protéines s'établissent suite au découverture des groupements



réactifs des protéines, spécialement les groupements hydrophobes. En solution, la structure d'une protéine dépend d'un équilibre précaire entre les interactions protéine-protéine et protéine-solvant (Wright, 1982). Tout facteur influençant un côté ou l'autre de cet équilibre peut significativement altérer la stabilité de la molécule protéique. La stabilité thermique de l' $\alpha$ -La et de la  $\beta$ -lg est influencée par de nombreux facteurs parmi lesquels la température, le pH, la force ionique et le type d'ions, la concentration en protéine, la présence de sucres ou de polyols (Rüegg et al., 1977; Varunatian et al., 1983; Park et Lund, 1984).

Le déplissement des protéines globulaires s'accompagne généralement d'une absorption de chaleur (de Wit, 1988). Cet effet endothermique peut être détecté par calorimétrie différentielle à balayage (DSC), une technique quantifiant la différence d'énergie requise pour maintenir un échantillon et une référence donnée à la même température pendant qu'on élève celle-ci progressivement à une vitesse programmée. Tout changement induit par la chaleur survenant au niveau de l'échantillon est alors enregistré en tant que flux de chaleur différentiel en fonction du temps ou de la température (linéairement reliés) et représenté par un pic sur le thermogramme. L'intégration de l'aire sous la ligne de base du pic fournit une valeur de la variation d'enthalpie associée au processus de dénaturation (Wright, 1982; de Wit, 1988). L'analyse de DSC offre également la possibilité de mesurer les cinétiques et les températures de dénaturation des protéines, de même que leurs capacités calorifiques et de plusieurs autres paramètres thermodynamiques. Pour plus de détails, on peut se référer aux travaux de Wright (1982) et de de Wit (1988). Appliquée à l'étude du comportement protéique dans les aliments, le DSC permet d'acquérir non seulement des données fondamentales sur les caractéristiques de dénaturation des protéines, mais aussi des informations sur des aspects du comportement des protéines reliés directement à la qualité de l'aliment ou à une étape du procédé (Wright, 1982). Réalisées sous des conditions particulières (basse vitesse de chauffage, faible concentration protéique, valeurs extrêmes de pH) afin d'éliminer ou de minimiser l'influence de certains facteurs compliquant l'étude de la dénaturation des protéines (tels les phénomènes d'agrégation protéique et de dénaturation irréversible), les études de DSC fourniraient de "vraies" données thermodynamiques portant plus particulièrement sur des aspects essentiellement théoriques. Au contraire, les études reliées au comportement des protéines dans le contexte de l'aliment sont réalisées dans des

conditions avoisinant ou pouvant être facilement reliées à l'aliment ou aux conditions de fabrication.

Le comportement thermique des protéines de lactosérum a déjà fait l'objet de nombreuses études. Celles-ci ont porté, pour la plupart, sur le comportement des protéines chauffées individuellement. Les protéines chauffées individuellement donnent des résultats différents de ceux obtenus en mélange, du fait d'interactions avec les ingrédients (Rüegg et al., 1977). Peu de travaux ont été consacrés à l'étude des protéines de lactosérum en mélange dont ceux de de Wit et al., 1983; Varunsatian et al., 1983; de Wit et Klarenbeek, 1984; Patel et al., 1990. En dépit d'un nombre considérable d'études biochimiques et physicochimiques réalisées sur les protéines de lactosérum, il est encore difficile de relier avec précision les propriétés fonctionnelles à la structure de ces protéines (Cheftel et Lorient, 1982). De plus, il manque de données de corrélation entre la fonctionnalité protéique en systèmes modèles et dans des systèmes alimentaires plus complexes (Schmidt et al., 1984).

### 1.5 Origine et objectifs de l'étude

Malgré leurs excellentes propriétés nutritionnelles, fonctionnelles et organoleptiques, de même que leur grande disponibilité, l'utilisation par l'industrie alimentaire des protéines du lactosérum demeure remarquablement faible, en raison de la difficulté de l'industrie alimentaire à fabriquer des produits avec des propriétés fonctionnelles constantes. Les sources de cette variabilité ont été reliées principalement, au comportement complexe des protéines de lactosérum lors des traitements thermiques, résultant de leur grande sensibilité à la chaleur (de Wit, 1988). L'emploi des protéines de lactosérum dans les produits alimentaires requiert une connaissance précise de leur comportement dans diverses conditions thermiques et chimiques. Ceci inclut à la fois les techniques utilisées pour la préparation des protéines et les propriétés fonctionnelles mises en jeu dans l'aliment, de même que leur dépendance avec la composition du milieu et les procédés utilisés pour la préparation de cet aliment. En particulier, une information détaillée sur l'état de dénaturation ou d'altération de la structure des protéines induit par diverses étapes de procédé, est importante pour prédire leur fonctionnalité (de Wit, 1989).

La plupart des études publiées sur les propriétés fonctionnelles des protéines de lactosérum ont été réalisées avec des solutions aqueuses (Delaney, 1976). Ceci complique, sinon rend spéculative toute extrapolation des résultats aux aliments (Kinsella, 1976; Chefftel *et al.*, 1982). De plus, l'absence de techniques standardisées pour la détermination et l'évaluation de telles propriétés limite l'utilisation efficace des informations acquises (de Wit, 1988). Certains auteurs (Evans, 1982; Morr, 1985) ont souligné que la relation entre les bases physico-chimiques et les propriétés fonctionnelles des protéines de lactosérum, lorsqu'influencée par les facteurs de composition et de procédé était encore peu comprise et que des recherches additionnelles étaient requises pour déterminer cette relation, aussi bien dans des systèmes modèles, que dans des systèmes alimentaires commerciaux. Le développement de modèles permettant de prédire les caractéristiques des gels de protéines de lactosérum en fonction de leur composition pourrait entraîner un accroissement de l'utilisation des CPL dans les aliments (de Wit, 1984; Kohnhorst et Mangino, 1985; Peltonen-Shalaby et Mangino, 1986). Dans ce contexte et dans le but de déterminer la relation entre la structure des protéines de lactosérum et leurs propriétés fonctionnelles sous l'influence de certains facteurs de composition (tels les humectants ajoutés dans les aliments pour le contrôle de l' $A_w$ ), le présent travail est consacré à l'étude des effets du sel, du lactose, du glycérol et de leurs interactions sur la dénaturation thermique de ces protéines et sur leur gélification en solutions aqueuses et dans des fromages fondus à tartiner.

Dans un premier temps, nous avons fabriqué des fromages fondus à tartiner formulés avec un concentrat de protéines de lactosérum commercial présentant un faible niveau de dénaturation et une solubilité élevée, dans lesquels l' $A_w$  a été contrôlée à l'aide de combinaisons de NaCl, de lactose et de glycérol. Nous avons évalué les conséquences de l'addition des humectants et de leurs interactions sur la texture finale des produits à laquelle participent les protéines de lactosérum agissant principalement par leurs propriétés gélifiantes.

Par ailleurs, nous avons déterminé les effets de ces mêmes humectants et de leurs interactions sur les caractéristiques rhéologiques et la capacité de rétention d'eau des gels formés par les protéines de lactosérum en solutions aqueuses simples. Les effets de ces facteurs sur les propriétés thermiques des protéines de lactosérum en solution ont également été analysés à l'aide de la technique de calorimétrie

différentielle à balayage afin d'explorer la relation existant entre la dénaturation thermique des protéines et leurs propriétés gélifiantes. Nous avons enfin tenté de relier les données obtenues en système alimentaire complexe à celles recueillies lors de l'exploration du système modèle. Ainsi, les caractéristiques de texture et de tartinabilité des fromages fondus à tartiner ont été mises en parallèles à la fois avec les propriétés thermiques des protéines de lactosérum en solution et les caractéristiques rhéologiques et de rétention d'eau des gels formés par ces solutions protéiques. Les corrélations entre ces mêmes propriétés thermiques et le comportement de gélification des protéines de lactosérum en simples solutions aqueuses et au sein des fromages fondus à tartiner ont également été examinées.

## 1.6 Références bibliographiques

- Alais, C. 1984. Science du lait. Principes des techniques laitières. 4e Ed. Edition Sepaic, Paris.
- Awadwal, N.K. et Singh, C.P. 1985. A rheological model for milk products. J. Food Sci. 50: 1611.
- Bone, D. 1973. Water activity in intermediate moisture foods. Food Technol. 27: 71.
- Cheftel, J.C. et Lorient, D. 1982. Les propriétés fonctionnelles des protéines laitières et leur amélioration. Le Lait. 62: 435.
- Cheftel, J.C., Cuq, J.L. et Lorient, D. 1985. Protéines alimentaires. Technique et Documentation-Lavoisier, Paris.
- Delaney, R.A.M. 1976. Composition, properties and uses of whey protein concentrates. J. Soc. Dairy Technol. 29: 91.
- de Wit, J.N. 1981. Structure and functional behaviour of whey proteins. Neth. Milk Dairy J. 35: 47.
- de Wit, J.N. 1984. Functional properties of whey proteins in food systems. Neth. Milk Dairy J. 38: 71.
- de Wit, J.N. 1988. Empirical observations and thermodynamical considerations on water-binding by whey proteins in food products. J. Food Sci. 53: 1553.
- de Wit, J.N. 1989. Effects of heat treatments on functional properties of whey proteins in food products. Dans: Nouvelles utilisations du lait (Colloque international, Québec, 1988). Stela, Université Laval, Québec.
- de Wit, J.N. et de Boer, R. 1975. Ultrafiltration of cheese whey and some functional properties of the resulting whey protein concentrate. Neth. Milk Dairy J. 29: 198.
- de Wit, J.N. et Klarenbeek, G. 1984. Effects of various heat treatments on structure and solubility of whey proteins. J. Dairy sci. 67: 2701.
- de Wit, J.N., Klarenbeek, G. et Hontelez-Backx, E. 1983. Evaluation of functional properties of whey proteins concentrates and whey protein isolates. 1. Isolation and characterization. Neth. Milk Dairy J. 37: 37.
- Evans, E.W. 1982. Uses of milk proteins in formulated foods. Dans: Developments in food proteins.1. B.J.F. Hudson (Ed.). p. 131-169. Applied Science Publishers, London.

- Haas, G.J., Bennett, D., Herman, E.B. et Colette, D. 1975. Microbial Stability of intermediate moisture foods. *Food Prov. Dev.* 9: 86.
- Hermansson, A.M. et Akesson, C. 1975a. Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems. Effect of concentration and temperature on water binding properties of model meat systems. *J. Food Sci.* 40: 595.
- Hermansson, A.M. et Akesson, C. 1975b. Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems. Effect of salt on water-binding properties of model meat systems. *J. Food Sci.* 40: 603.
- Ibrahim, G.F. 1982. Effect of non-salting of cheddar made with induced starter failure on growth of clostridia and keeping quality of processed cheese. *J. Food Prot.* 45: 356.
- Kautter, D.A. et Lilly, Jr., Lynt, R.K. et Solomon, H.M. 1979. Toxin production by Clostridium botulinum in shelf-stable pasteurized process cheese spreads. *J. Food Prot.* 42: 784.
- Kinsella, J.E. 1976. Functional properties of proteins in foods: A survey. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 7: 219.
- Kohnhorst, A.L. et Mangino, M.E. 1985. Prediction of the strength of whey protein gels based on composition. *J. Food Sci.* 50: 1403.
- Kosikowski, F. 1982. Cheese and fermented milk food, 2e ed. F.V. Kosikowski et Associates (Ed.). p. 382. New York, N.Y.
- Lorient, D. 1988. Propriétés fonctionnelles des macromolécules alimentaires. D. Lorient, B. Colas, M. Le Meste (Eds.). Les cahiers de l'ENSBANA (6), Dijon.
- Malige, B. 1982. Les protéines du lactosérum extraites par chromatographie. Dans: Protéines animales. Extraits, concentrés et isolats en alimentation humaine. C.M. Bourgeois et P. Leroux (Eds.). p. 191-201. Technique et Documentation-Lavoisier, Paris.
- Mangino, M.E. 1984. Physicochemical aspects of whey protein functionality. *J. Dairy Sci.* 67: 2711.
- Mangino, M.E., Liao, Y.Y., Harper, N.J., Morr, C.V. et Zadow, J.G. 1987. Effects of heat processing on the functionality of whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 52: 1522.
- Marshall, K.R. 1982. Industrial isolation of milk proteins: whey proteins. Dans: Developments in dairy chemistry-1. P.F. Fox (Ed.). p. 339-373. Applied Science Publishers, London.
- Marshall, K.R. et Harper, W.J. 1987. Whey protein concentrates. *Bulletin of IDF.* 233: 21.

- Mattews, M.E. 1984. Whey protein recovery process and products. *J. Dairy Sci.* 67: 2680.
- Maubois, J.L. 1982. Les protéines du lactosérum extraites par ultrafiltration. Dans: *Protéines animales. Extraits, concentrés et isolats en alimentation humaine.* C.M. Bourgeois et P. Le Roux (Eds.). p. 172-190. Technique et Documentation-Lavoisier, Paris.
- Melachouris, N. 1984. Critical aspects in development of whey protein concentrate. *J. Dairy Sci.* 67: 2693.
- Morr, C.V. 1982. Functional properties of milk proteins and their use as food ingredients. Dans: *Developments in dairy chemistry.* 1. P.F. Fox (Ed.). p. 375-399. Applied Science Publishers, London.
- Morr, C.V. 1985. Composition, physicochemical and functional properties of reference whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 50: 1406.
- Mulvihill, D.M. et Kinsella, J.E. 1987. Gelation characteristics of whey proteins and  $\beta$ -lactoglobulin. *Food Technol.* 41: 102.
- Park, K.H. et Lund, D.B. 1984. Caloricetric study of thermal denaturation of  $\beta$ -lactoglobulin. *J. Dairy Sci.* 67: 1699.
- Patart, J.P. 1984. Les fromages fondus. Dans: *Le fromage.* André Eck (Ed.). Technique et Documentation-Lavoisier, Paris.
- Patel, M.T., Kilara, A., Huffman, L.M., Hewitt, S.A. et Houlihan, A.V. 1990. Studies on whey protein concentrates. 1. Compositional and thermal properties. *J. Dairy Sci.* 73: 1439.
- Paulsson, M., Dejmek, P. et Vliet, T.V. 1990. Rheological properties of heat induced  $\beta$ -lactoglobulin gels. *J. Dairy Sci.* 73: 45.
- Peltonen-Shalaby, R. et Mangino, M.E. 1986. Compositional factors that affect the emulsifying and foaming properties of whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 51: 91.
- Pour El, A. 1981. Protein functionality: classification, definition and methodology. Dans: *Protein functionality in foods.* J.P. Cherry (Ed.). p. 1-20. Am. Chem. Soc., Washington, D.C.
- Rayan, A.A., Kalàb, M. et Ernstrom, C.A. 1980. Microstructure and rhiology of process cheese. *Scanning Electron Microscopy/1980/III.* SEM Inc. AMF O'Hare (Chicago), II.

- Rolland, J. 1984. Sous-produits du lait. Dans: Science et technologie du lait. Principes et applications. La Fondation de technologie Laitière du Québec, Inc. (Ed.). p. 359-381. Les Presses de l'Université Laval, Québec.
- Rüegg, M., Moor, U. et Blanc, B. 1977. A calorimetric study of the thermal denaturation of whey proteins in simulated milk ultrafiltrate. *J. Dairy Res.* 44: 509.
- Schmidt, R.H., Packard, V.S. et Morris, H.A. 1984. Effect of processing on whey protein functionality. *J. Dairy Sci.* 67: 2723.
- Schmidt, R.H. 1981. Gelation and coagulation. Dans: Protein functionality in foods. J.P. Cherry (Ed.). p. 131-147. Am. Chem. Soc., Washington.
- Schmidt, R.H. et Morris, H.A. 1984. Gelation properties of milk proteins, soy proteins and blended protein systems. *Food Technol.* 38: 85.
- Sloan, A.E. et Labuza, T.P. 1975. Humectant water sorption isotherms. *Food Prog. Dev.* 9: 75.
- Tanaka, M., de Man, J.M. et Voisey, P.W. 1971. Measurement of textural properties of food with a constant speed cone penetrometer. *J. Texture Stud.* 2: 306.
- To, B., Helbig, N.B., Nakai, S. et Ma, C.Y. 1985. Modification of whey protein concentrate to simulate whippability and gelation of egg white. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 18: 150.
- Varunsatian, S., Watanabe, K., Hayakawa, S. et Nakamura, R. 1983. Effects of  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$  et  $Na^{++}$  on heat aggregation of whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 48: 42.
- Warburton, D.W., Peterkin, P.I. et Weiss, K.F. 1986. A survey of the microbiological quality of processed cheese products. *J. Food Prot.* 49: 229.
- Wright, D.J. 1982. Application of scanning calorimetry to the study of protein behaviour in foods. Dans: Developments in food proteins. 1. B.J.F. Hudson (Ed.). p. 61-89. Applied Science Publishers, London.
- Zall, R.R. 1984. Trends in whey fractionation and utilization. A global perspective. *J. Dairy Sci.* 67: 2621.
-



## CHAPITRE 2

### EFFET DES COMBINAISONS DE SEL, LACTOSE ET GLYCÉROL SUR L'ACTIVITÉ DE L'EAU ( $A_w$ ) DES FROMAGES FONDUS À TARTINER.

#### 2.1 Résumé

Le contrôle de l'activité de l'eau dans les fromages fondus à tartiner est habituellement assuré par le NaCl ajouté lors de la formulation. Dans cette étude, l' $A_w$  a été contrôlée à l'aide de combinaisons de plusieurs humectants répartis dans les échantillons de fromage selon un plan factoriel complet  $3^3$ : NaCl (0%, 1,5% et 3%, p/p), lactose (0%, 3% et 5%, p/p) et glycérol (0%, 5% et 10%, p/p). L' $A_w$  a varié de 0,965 (échantillon sans humectant ajouté) à 0,786 (échantillon renfermant le plus d'humectants). Hormis le témoin (sans addition d'humectant), seulement 4 échantillons pouvaient présenter des risques de développement des clostridies avec des valeurs d' $A_w$  supérieures à l' $A_w$  limite (0,95) pour la croissance de Clostridium. Une équation de régression reliant l' $A_w$  des fromages aux facteurs significatifs ( $p < 0,001$ ) de l'Anova (effets linéaires des 3 humectants étudiés et interaction sel x glycérol) a été calculée ( $R^2 > 0,96$  et  $p < 0,01$ ). Les coefficients de cette équation ont permis de classer les humectants selon leur importance sur la dépression de l' $A_w$  (sel > glycérol > lactose) et de quantifier l'importance de l'interaction significative entre le sel et le glycérol dans les fromages fondus à tartiner.

## 2.2 Introduction

Caractérisés par une teneur en eau (44% à 60%), un pH ( $\text{pH} > 5,2$ ) et une activité de l'eau relativement élevée ( $A_w$  supérieure à 0,97 selon Rüegg et Blanc, 1981), les fromages fondus à tartiner ont été impliqués à plusieurs reprises dans des cas d'intoxications alimentaires associés à la présence de botuline dans le produit (Kautter et al., 1979; Leung et al., 1976). Le traitement thermique modéré ( $65^\circ\text{C}$  et plus) comparable à une pasteurisation qui est appliqué à la préparation fromagère de fondu est insuffisant pour détruire les entérotoxines des staphylocoques et les spores clostridiennes (Warburton et al., 1986; Kautter et al., 1979; Ibrahim, 1982). Par ce fait, le fromage fondu à tartiner conditionné dans un emballage hermétique et conservé à température ambiante présente les risques de développement des sporulés anaérobies, parmi lesquels Clostridium tyrobutyricum, capable de se développer en présence de lactate (Veisseyre, 1975).

Les circonstances permettant la croissance de Clostridium botulinum et sa production de toxine dans le fromage fondu à tartiner ont déjà été déterminées mais sans toutefois clarifier la relation entre ces facteurs et la prévention de la production de la botuline (Tanaka et al.; 1986, Karahadian et al., 1985; Leung et al., 1976; Kautter et al., 1979; Ibrahim, 1982). Ces circonstances, selon ces auteurs, dépendent de la variété du fromage, du pH et des quantités d'eau, de NaCl, de phosphate de sodium ou de citrate de sodium ajoutées au fromage. Or, il est admis depuis longtemps que l' $A_w$  des aliments influence la reproduction, l'activité métabolique, la résistance et la survie des microorganismes (Leistner et al., 1981). L' $A_w$  représente, en fait, la disponibilité de l'eau nécessaire aux transformations par voies microbienne, enzymatique et chimique. Elle est définie comme étant le rapport entre la pression partielle de l'eau d'un produit  $p$  et la pression de vapeur d'eau pure à la même température  $p_0$  (de Man, 1976; Haas et al., 1975). La relation entre l' $A_w$  et l'humidité relative à l'équilibre peut être exprimée par l'équation suivante:

$$A_w = \frac{P}{P_0} = \frac{\text{HRE}}{100} \quad (1)$$

où  $P$ = pression partielle de l'eau du produit  
 $P_0$ = pression de vapeur d'eau pure à la même température

HRE=humidité relative à l'équilibre

L' $A_w$  est habituellement contrôlée par un ou plusieurs humectants capables de lier l'eau du produit et de conserver une texture plastique et agréable. Dans le fromage fondu à tartiner, le NaCl est en général ajouté en quantité relativement élevée pour contrôler l' $A_w$  alors que, pour des raisons de santé, le développement d'aliments à teneur réduite en sel est de plus en plus encouragé (Karahadian *et al.*, 1985; Hardy, 1985; Kosikowski, 1982; Barbut et Mittal, 1988). Mais face à la difficulté de substituer le sel par un autre humectant idéal, une alternative consiste à contrôler l' $A_w$  de l'aliment à l'aide de plusieurs agents humectants. Selon Haas *et al.* (1975), l'utilisation de plusieurs humectants pourrait assurer un avenir prometteur à beaucoup d'aliments. Ainsi, la présente étude a porté sur le contrôle de l' $A_w$  du fromage fondu à tartiner par ajout de sel, de lactose et de glycérol. L'objectif visé était de déterminer l'effet de chaque humectant seul ou en combinaison sur la dépression de l' $A_w$  du produit.

## 2.3 Matériel et méthodes

### 2.3.1 Fabrication des fromages fondus à tartiner expérimentaux

Les fromages expérimentaux ont été fabriqués à la fromagerie Lactantia Ltée (Victoriaville, Québec). Les ingrédients introduits dans un cutter plurivalent (Stephan, Hameln, R.F.A.) étaient broyés et homogénéisés. La cuisson à 85°C avec brassage durait 3 min. dont la dernière sous-vide. Le fromage fondu obtenu était conditionné en pots de 500g et entreposé au moins 15 jours à 4°C avant les analyses. L'origine et la liste des ingrédients entrant dans la composition des fromages expérimentaux sont présentées au Tableau 2.1. L'eau et les agents humectants constituaient les ingrédients variables tandis que les autres ingrédients étaient constants dans tous les échantillons. Les 3 humectants retenus étaient répartis dans les échantillons de fromage selon un plan factoriel à 3 facteurs et 3 niveaux d'étude: sel (0%, 1,5% et 3%, p/p), lactose (0%, 3% et 5%, p/p) et glycérol (0, 5% et 10%, p/p). La quantité d'agent humectant dans l'échantillon était calculée pour des recettes de 15 kg en fonction du niveau d'addition de l'humectant et de sa pureté (glycérol pur à 96%). La quantité d'eau ajoutée dans les fromages était déterminée en tenant compte de la quantité d'agents humectants, de l'eau délivrée à l'état de vapeur au cours de la cuisson (15 kg x 0,12) et de celle

contenue dans le glycérol ajouté (4%, p/p). Cette quantité d'eau pour 15 kg de produit final était calculée à partir de l'équation suivante:

$$\text{Eau(kg)} = 15 \times \frac{(100 - \sum \% \text{ ingrédients fixes} - \% \text{ eau de la vapeur} - \sum \% \text{ Humectants secs})}{100} \quad (2)$$

soit, en utilisant les valeurs du Tableau 2.1 pour le % des ingrédients fixes et la quantité d'eau apportée par la vapeur:

$$\text{Eau(kg)} = 3,915 - 15 \times \frac{(\% \text{ sel} + \% \text{ lactose} + \% \text{ glycérol} \times \frac{1}{0,96})}{100} \quad (3)$$

Les quantités d'humectants et d'eau additionnées pour chaque traitement expérimental sont présentées au Tableau 2.2.

## 2.3.2 Analyses physico-chimiques

### 2.3.2.1 Humidité

La teneur en eau des échantillons de fromages fondu à tartiner et des ingrédients (beurre de lactosérum et fromage cheddar) a été déterminée en triplicata après séchage dans un four à vide sous une pression inférieure à 13,3 kPa. Les procédures 16.259 et 16.231 de l'A.O.A.C. (1984) ont été utilisées respectivement pour les fromages et le beurre de lactosérum.

### 2.3.2.2 A<sub>w</sub>

L' $A_w$  des fromages fondus à tartiner expérimentaux a été mesurée à 25°C à l'aide d'un hygromètre Nova-Sina EEJB (Novasina, Zurich) doté de 3 cellules de mesure d'humidité relative à l'équilibre (HRE). La calibration des cellules, vérifiée toutes les 48 heures avec des solutions saturées de NaCl ( $A_w = 0,75$ ), de KCl ( $A_w = 0,85$ ) et de  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  ( $A_w = 0,95$ ) à 25°C, était effectuée au moyen d'étalons d'humidité de 80% et 95% de Rotronic ag (Zurich, Suisse). Environ 5 g d'échantillon prélevés des pots de fromage ayant séjourné plus de 24h à température de la pièce étaient disposés dans des plats appropriés (Novasina) et placés dans les cellules de mesure. Après un temps d'équilibrage de 2 heures, la valeur obtenue d'humidité

relative d'équilibre à 25°C est alors divisée par 100 pour exprimer l' $A_w$  du produit. Les valeurs finales d' $A_w$  rapportées sont les moyennes de 3 répétitions.

### 2.3.2.3 Lactose et NaCl

Le lactose et le NaCl ont été dosés dans l'échantillon de fromage fondu (témoin) dans lequel aucun humectant n'a été ajouté. Les teneurs en lactose et en NaCl (apportées par les ingrédients fixes de la recette) ont été additionnées à celles du plan expérimental (Tableau 2.2) pour déterminer la concentration totale en lactose et en NaCl dans les fromages expérimentaux. Le lactose a été dosé par une méthode HPLC. Un gramme d'échantillon a été homogénéisé en présence de 9 ml de  $H_2SO_4$  0,0065 N et l'homogénat a été centrifugé à 12 000 rpm pendant 10 minutes à 4°C. Le surnageant (15 $\mu$ l) était ensuite injecté dans une colonne HPLC (Ion-3000 de Mandel) après filtration sur filtre Millipore (HA 0,45  $\mu$ m). La teneur en NaCl a été déterminée à partir de l'analyse du sodium (Na) sur un échantillon de 0,5g au moyen d'un spectrophotomètre d'absorption atomique (Instrumentation Laboratory 751 Wilmington, M.A.) utilisé en mode émission à 589 nm (AOAC, 1984). La quantité de sodium apportée par le phosphate disodique (2% x 23 x 2/142) et le citrate trisodique dihydraté (0,4% x 23 x 3/294.10) a été retranchée du % total de sodium pour tenir compte du Na des sels émulsifiants dosé en même temps que celui du NaCl. La différence obtenue était considérée comme étant le Na apporté par le NaCl. La teneur en NaCl de l'échantillon témoin était alors calculée selon l'expression suivante:

$$\% \text{ NaCl} = (\text{Na}_{\text{total}} - 0,648 - 0,094) \times \frac{58,5}{23} \quad (4)$$

### 2.3.3 Analyses statistiques

Les résultats d' $A_w$  des fromages fondus à tartiner expérimentaux ont été analysés à l'aide du progiciel SAS (SAS, 1985). Une analyse de variance a été effectuée sur ces résultats et après décomposition en degré simple de liberté, une équation linéaire multiple a été calculée à partir des effets hautement significatifs pour relier l' $A_w$  à la composition finale en humectants des fromages (%). Une seconde

équation de régression a été calculée à partir des valeurs de composition des fromages fondus transformées en g d'humectant pour 100 g d'eau.

## 2.4 Résultats et discussion

Au Tableau 2.3 sont présentées les caractéristiques de composition des échantillons de fromage fondu à tartiner après cuisson. Les quantités de sel et de lactose des échantillons apportées par le fromage cheddar et le beurre de lactosérum (ingrédients fixes) et déterminées à partir de l'échantillon témoin étaient respectivement de 0,88% ( $S_x=0,06\%$ ) et 6,35%. ( $S_x=0,10\%$ ) Ces valeurs ont été ajoutées à celles de la formulation des ingrédients variables (Tableau 2.2) pour déterminer la composition totale en NaCl et en lactose des fromages expérimentaux (Tableau 2.3). Les valeurs d'humidité des fromages représentent en fait l'eau ajoutée lors de la formulation incluant celle délivrée à l'état de vapeur par le cuiseur (Tableau 2.2) en plus de l'eau apportée par certains ingrédients comme le fromage cheddar (35,91%), le beurre de lactosérum (20%) et dans une moindre mesure le glycérol (4%). Les valeurs d'humidité sont comprises entre 40% et 55%. Les teneurs en eau des échantillons 122, 212 et 222 sont en dessous des normes, le niveau d'eau dans les fromages fondus à tartiner étant habituellement fixé entre 44 et 60% (Kosikowski, 1982). Il est important de maintenir la teneur en eau du produit dans l'intervalle usuel étant donné son influence intrinsèque sur le développement des microorganismes et sur les caractéristiques rhéologiques du produit. Une teneur en eau élevée peut augmenter la plasticité du produit mais en revanche elle peut favoriser le développement des microorganismes. En effet, Haas *et al.*, (1975) ont observé une accélération de la vitesse de croissance d'Aspergillus glaucus, due à une augmentation de la teneur en eau sur 3 milieux de même  $A_w$  ( $A_w= 0,83$ ) mais différents par leurs teneurs en eau et par le type ou la quantité d'humectant. La croissance de la moisissure était plus rapide sur le milieu contenant 40% d'eau, suivi en ordre décroissant des milieux composés de 25% et de 15% d'eau.

Les valeurs d' $A_w$  des fromages expérimentaux sont présentées au Tableau 2.3. La baisse hautement significative ( $p < 0,001$ ) de l' $A_w$  est expliquée à plus de 96% par les effets linéaires du NaCl, du lactose, du glycérol ainsi que par l'effet linéaire de l'interaction sel x glycérol (Tableau 2.4). Certains effets quadratiques, comme le glycérol quadratique ( $F_{obs} = 7,37$ ) et l'interaction sel quadratique x glycérol linéaire ( $F_{obs} = 9,21$ ), sont significatifs au niveau de 95%. Cependant, le pourcentage de la variation totale expliquée par ces effets (soit, respectivement 0,8% et 1%) est très faible. Aussi, seuls les effets linéaires des traitements principaux et de l'interaction

sel x glycérol hautement significatifs ( $p < 0,001$ ) ont été retenus pour le calcul de l'équation de régression dans le but de simplifier son expression et son utilisation. Deux équations (Tableau 2.5) ont donc été calculées à partir des résultats de l'Anova. Une première régression permet de relier l' $A_w$  des fromages fondus à tartiner à leur composition finale en humectants exprimée en % (Tableau 2.3). La seconde équation a été calculée à partir des concentrations en humectants (g d'humectant/100g d'eau) dans la phase aqueuse des fromages. Cette concentration a été déterminée pour chaque échantillon à partir des données du Tableau 2.3, en effectuant le rapport entre la concentration de l'humectant et la teneur en eau de l'échantillon. La seconde équation calculée pour tenir compte des variations de l'eau dans l'action des humectants sur l' $A_w$  des fromages fondus à tartiner est plus largement utilisable par les fabricants de fromages fondus dans les intervalles de validité définis.

L'ordre d'importance des coefficients des deux équations reste inchangé mais la seconde équation aboutit à l'obtention d'un coefficient de détermination et d'une valeur de F plus élevée (Tableau 2.5). En considérant que les coefficients des équations expriment l'importance du rôle de chaque humectant dans la dépression de l' $A_w$ , il est possible de classer ces humectants par ordre décroissant selon leur efficacité à lier l'eau des fromages fondus à tartiner: sel > glycérol > lactose. Ces résultats paraissent tout à fait en accord avec ceux d'autres études, portant notamment sur des émulsions cuites à base de viande de type frankfurter, qui ont montré que l'abaissement de l' $A_w$  est plus marqué en présence de NaCl suivi du glycérol et du lactose ou du saccharose (Leistner *et al.*, 1981; Lacroix et Castaigne, 1983).

Pour des valeurs d' $A_w$  supérieures à 0,80, la dépendance entre l' $A_w$  et la concentration en soluté (en g/100g d'eau) d'une solution pure à 23°C est linéaire pour le sel, le glycérol et le saccharose (Lacroix et Castaigne, 1983). La pente de cette droite a été estimée à  $7,67 \times 10^{-3}$  et  $2,09 \times 10^{-3}$  pour le sel et le glycérol, respectivement. Dans le cas du lactose, les données de Sloan et Labuza (1975) permettent d'estimer cette pente à  $1,2 \times 10^{-3}$  dans un intervalle d' $A_w$  de 0,95 à 1,00. Dans notre étude sur le fromage fondu, nous avons obtenu en absence de terme d'interaction (sel x glycérol) dans l'équation de régression, un coefficient associé au sel de  $7,61 \times 10^{-3}$  comparable à celui trouvé par Lacroix et Castaigne (1983). Par contre, nous avons obtenu un coefficient de  $1,52 \times 10^{-3}$  pour le lactose



et de  $3,68 \times 10^{-3}$  pour le glycérol plus élevés que ceux de la littérature. On peut remarquer également que dans l'équation du Tableau 2.5 exprimée en gramme d'humectant/100g d'eau, les coefficients associés au glycérol et au lactose sont sensiblement plus élevés qu'en solutions pures alors que celui du sel est significativement plus faible en l'absence de glycérol. Cet effet dépresseur du sel sur l' $A_w$  plus faible dans le cas de mélanges réels que dans une solution pure, a déjà été observé pour les émulsions de viande et les yogourts (Lacroix et Castaigne, 1983; Lacroix et Lachance, 1988). Il pourrait être en partie expliqué par la présence d'interaction avec les protéines laitières, impliquant un échange supplémentaire d'ions  $\text{Na}^+$  contre des cations à la surface des micelles de caséines (Abd-El-Salem *et al.*, 1987). De plus, à pH voisin de 6,0, une partie des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  pourrait être impliquée dans la neutralisation d'une partie de la charge effective des protéines (Lacroix et Castaigne, 1983). Les coefficients associés au lactose et au glycérol sont plus élevés qu'en solutions pures probablement du fait qu'une partie de l'eau ayant servi au calcul de la concentration des humectants dans la phase aqueuse, est liée et n'est donc pas disponible comme solvant (Rüegg et Blanc, 1981).

Le poids moléculaire déterminerait le pouvoir dépressif de l' $A_w$  par les humectants. Selon Hardy (1985), les petites molécules (par exemple NaCl) qui présentent une bonne solubilité possèdent un pouvoir d'abaissement de l' $A_w$  plus important que les grosses molécules. Malheureusement, le sel, à cause des effets néfastes potentiels sur la santé, est de plus en plus déconseillé par les organismes officiels qui encouragent le développement des aliments à teneur réduite en sel (Karahadian *et al.*, 1985; Hardy, 1985). Pour cette raison et face aux difficultés de substituer le sel par un autre agent humectant idéal, le contrôle de l' $A_w$  dans les aliments devrait être réalisé par des combinaisons d'humectants. Dans de telles combinaisons, par exemple sel et glycérol, le sel pourrait accroître l'efficacité du glycérol vis-à-vis de certains organismes (Clostridium botulinum: type A, B et E, C. perfringens, Bacillus cereus, Salmonella oranienburg et Vibrio parahaemolyticus) qui peuvent croître, germer et sporuler à une  $A_w$  plus basse que si le sel ou le sucre était utilisé seul comme humectant (Leistner *et al.*, 1981; Karel, 1975). Exceptés l'échantillon témoin et l'échantillon #4 présentant des valeurs d' $A_w$  supérieures à 0,96, les valeurs d' $A_w$  des autres fromages expérimentaux étaient inférieures à 0,95, ou avoisinaient cette valeur qui représente l' $A_w$  limite pour la croissance de Clostridium (Haas *et al.*, 1975).

Le lactose en concentration relativement élevée, peut servir de nutriment aux bactéries de contamination (Alais, 1984). Il est également associé à la formation de cristaux dans le fromage fondu à tartiner et il peut produire des réactions de Maillard indésirables lors des traitements thermiques en plus de ne pas être toléré par de nombreux consommateurs (Kosikowski, 1982). Certains fromages expérimentaux formulés avec du lactose présentaient des cristaux une à deux semaines seulement après leur fabrication. Cette cristallisation probable du lactose dans les fromages expérimentaux pourrait résulter de son insolubilisation dans la phase aqueuse attribuable à la concentration trop élevée dans certains échantillons. Le glycérol quant à lui joue un rôle plastifiant dans les aliments (Warner, 1981), mais il apporte un goût sucré et amer aux concentrations élevées, au-delà de 10% dans le produit (Karel, 1975). Les équations de l' $A_w$  (Tableau 2.5) comportent un terme d'interaction entre le sel et le glycérol mais relativement faible en importance (environ 3% seulement de la variation totale). Lacroix et Castaigne (1983) ont également rapporté l'existence d'une telle interaction sur la dépression de l' $A_w$  des émulsions cuites à base de viande. En plus de ses bonnes propriétés de rétention d'eau reliées à sa structure chimique (trialcool) et à son faible poids moléculaire (PM = 92), le glycérol, grâce à son rôle stabilisateur des systèmes biologiques (Dipaola et Belleau, 1978), pourrait permettre l'application de traitements thermiques plus élevés au fromage fondu à tartiner qui ne peut supporter un traitement thermique suffisant pour détruire les spores bactériennes, au risque d'altérer la qualité organoleptique du produit (Warburton, 1986). Cependant, lors de l'addition d'humectant à un produit alimentaire, il est important de tenir compte des modifications d'ordre rhéologique et organoleptique susceptibles de se produire. Aussi, pour tenir compte de ces éventuelles modifications, les effets des combinaisons de sel, de lactose et de glycérol sur les paramètres rhéologiques et physicochimiques des fromages fondus expérimentaux ont été étudiés. Les résultats sont présentés au chapitre 3.

## 2.5 Conclusion

La majorité des combinaisons d'humectants étudiées ont permis d'abaisser l' $A_w$  des fromages fondus à tartiner sous la valeur d' $A_w$  limite (0,95) pour la croissance de Clostridium. Le pouvoir dépresseur de l' $A_w$  des humectants étudiés a été classé par ordre d'importance (sel > glycérol > lactose) et l'effet d'une interaction sel x glycérol a été observé. Des équations de régression reliant l' $A_w$  aux humectants

contenus dans le fromage fondu à tartiner ont été calculées. L'utilisation de telles équations peut être utile pour éviter les erreurs de formulation ou de mesure de l' $A_w$ . Ces équations peuvent permettre particulièrement la formulation d'un produit à une  $A_w$  inférieure à 0,95 avec des concentrations relativement faibles en certains humectants comme le sel et le lactose. L'addition de glycérol à une certaine concentration au produit pourrait permettre, en plus des réductions de quantités de sel et de lactose, l'application de traitement thermique plus élevé sans risque d'altérer la qualité organoleptique du fromage à tartiner.

## 2.6 Références bibliographiques

- Abd-El-Salam, M.H., El-Shibiny, S., Mahfouz, M.B. et El-Dein, H.F. 1987. Effect of pH and sodium chloride on the viscosity of skim milk retentates. *Le Lait*. 67: 111.
- Alais, C. 1984. *Science du lait: Principes de techniques laitières*, 4e édit. Sepaic. Paris.
- A.O.A.C. 1984. *Official Methods Of Analysis*, 14e ed. p. 305 et p. 309. Association of Official Analytical Chemist. Arlington, VI.
- Barbut, S. et Mittal, G.S. 1988. Rheological and gelation properties of meat batters prepared with chloride salts. *J. Food Sci.* 53: 1296.
- Dipaola, G. et Belleau, B. 1978. Apparent molal heat capacities and volumes of amino-acids in aqueous polyol solutions. *Can. J. Chem.* 56: 1827.
- Haas, G.J., Bennett, D., Herman, E.B. et Colette, D. 1975. Microbial Stability of intermediate moisture foods. *Food Prod. Dev.* 9: 86.
- Hardy, J. 1985. Le chlorure de sodium: Propriétés et utilisation en fromagerie. Dans: *Laits et produits laitiers (tome 2). Les Produits Laitiers: transformation et technologies*. François M. Luquet. (Ed.). Technique et Documentation (Lavoisier), Paris.
- Ibrahim, G.F. 1982. Effect of non-salting of cheddar cheese made with induced starter failure on growth of clostridia and keeping quality of processed cheese. *J. Food Prot.* 45: 356.
- Karahadian, C., Lindsay, R.C., Dillman, L.L. et Deibel, R.H. 1985. Evaluation of the potential for botulinal toxigenesis in reduced-sodium processed american cheese foods and spreads. *J. Food Prot.* 48: 63.

- Karel, M. 1975. Water activity and food preservation. Dans: Principles of Food Science (Part II). Physical Principles Of Food Preservation. Owen R. Fennema (Ed.). p. 237. Marcel Dekker Inc., New York, N.Y.
- Kautter, D.A., Lilly, Jr., Lynt, R.K. et Solomon, H.M. 1979. Toxin production by Clostridium botulinum in shelf-stable pasteurized process cheese spreads. J. Food Prot. 42:784.
- Kosikowski, F. 1982. Dans: Cheese and fermented milk food, 2e ed. F.V. Kosikowski et Associates (Ed.). p.382. New York, N.Y.
- Lacroix, C. et Castaigne, F. 1983. Détermination d'une fonction reliant l'activité de l'eau aux teneurs en sel, sucre, protéines végétales et glycérol des émulsions cuites à base de viande de type frankfurters. Lebensmwiss. U-Technol. 16: 129.
- Lacroix, C. et Lachance, O. 1988. Effet des agents humectants sur l' $A_w$  et les propriétés rhéologiques du yogourt. Can. Inst. Food Sci. Technol. 21: 511.
- Leistner, L., Rödel, W. et Krispien, K. 1981. Microbiology of Meat and Meat Products in High- and Intermediate-Moisture Ranges. Dans: Water Activity: Influences on Food Quality. L. B. Rockland et G. F. Stewart (Eds.). p. 855. Academic Press.Inc., New York, N.Y.
- Leung, H. Morris, H.A., Sloan, A.E. et Labuza, T.P. 1976. Development of an intermediate-moisture processed cheese food product. Food Technol. 29: 42.
- Rüegg, M. et Blanc, B. 1981. Influence of Water Activity on the Manufacture and Aging of Cheese. Dans: Water Activity: Influences on Food Quality. Louis B. Rockland et George F. Stewart (Ed.). p. 791. Academic Press, Inc., New York, N.Y.
- SAS 1985. SAS User's Guide: Statistics, Version 5, Edition. Cary NC: SAS Institute Inc.
- Sloan, A.E. et Labuza, T.P. 1975. Humectant water sorption isotherms. Food Prod. Dev. 9: 75.
- Tanaka, N., Traisman, E., Plantinga, P., Finn, L., Flom, W., Meske, L. et Guggisberg, J. 1986. Evaluation of factors involved in antibotulinal properties of pasteurized process cheese spreads. J. Food Prot. 49: 526.
- Veisseyre, R. 1975. Technologie du lait. La Maison Rustique. Paris.
- Warburton, D. W., Peterkin, P.I. et Weiss, K.F. 1986. A survey of the microbiological quality of processed cheese products. J. Food Prot. 49: 229.

Warner, D.T. 1981. Theoretical Studies of Water in Carbohydrates and Proteins. Dans: Water Activity: Influences On Food Quality. Louis B. Rockland and G. F. Stewart (Eds.). p. 435. Academic Press, Inc., New York, N.Y.

## 2.7 Tableaux

Tableau 2.1: Liste des ingrédients des fromages expérimentaux et leurs origines

Ingrédients	Teneur dans le Produit final (%)	Origine des ingrédients
Fromage Cheddar frais	40	Lactantia (Victoriaville, Qué.)
Concentrat protéique du lactosérum (34,58% de protéines)	16,5	Saputo (Montréal, Qué.)
Beurre de lactosérum à 80% de matière grasse	3	Lactantia (Victoriaville, Qué.)
Phosphate disodique ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	2	Fourni par Lactantia (Victoriaville, Qué.)
Citrate trisodique ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \text{Na}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0,4	Fourni par Lactantia (Victoriaville, Qué.)
Sel	*	Sifto (Windsor, Ont.)
Lactose	*	Saputo (Montréal, Qué.)
Glycérol	*	Canada Packers (Toronto, Ont.)

\* % variable d'un échantillon à l'autre (Tableau 2.2)

**Tableau 2.2:** Formulation des ingrédients variables des fromages fondus expérimentaux (Kg/15 Kg de fromage).

Echantillon	Sel		Lactose		Glycérol(1)		Eau à ajouter (2)
	%	(Kg)	%	(Kg)	%	(Kg)	(kg)
1	0	0,000	0	0,000	0	0,000	3,915
2	0	0,000	0	0,000	5	0,781	3,133
3	0	0,000	0	0,000	10	1,563	2,352
4	0	0,000	3	0,450	0	0,000	3,465
5	0	0,000	3	0,450	5	0,781	2,684
6	0	0,000	3	0,450	10	1,563	1,602
7	0	0,000	5	0,750	0	0,000	3,165
8	0	0,000	5	0,750	5	0,781	2,384
9	0	0,000	5	0,750	10	1,563	1,602
10	1,5	0,225	0	0,000	0	0,000	3,690
11	1,5	0,225	0	0,000	5	0,781	2,909
12	1,5	0,225	0	0,000	10	1,563	2,127
13	1,5	0,225	3	0,450	0	0,000	3,240
14	1,5	0,225	3	0,450	5	0,781	2,459
15	1,5	0,225	3	0,450	10	1,563	1,677
16	1,5	0,225	5	0,750	0	0,000	2,940
17	1,5	0,225	5	0,750	5	0,781	2,159
18	1,5	0,225	5	0,750	10	1,563	1,377
19	3,0	0,450	0	0,000	0	0,000	3,465
20	3,0	0,450	0	0,000	5	0,781	2,684
21	3,0	0,450	0	0,000	10	1,563	1,903
22	3,0	0,450	3	0,450	0	0,000	3,015
23	3,0	0,450	3	0,450	5	0,781	2,234
24	3,0	0,450	3	0,450	10	1,563	1,452
25	3,0	0,450	5	0,750	0	0,000	2,715
26	3,0	0,450	5	0,750	5	0,781	1,934
27	3,0	0,450	5	0,750	10	1,563	1,153

(1): La quantité de glycérol a été calculée en tenant compte de la pureté du produit (96%):  
 $\text{glycérol (Kg)} = 15 \text{ Kg} \times \% \text{ glycérol} \times 1/0,96$ .

(2): La quantité d'eau ajoutée lors de la formulation a été déterminée en tenant compte de l'eau délivrée à l'état de vapeur (1,800 Kg) et de celle apportée par le glycérol (pur à 96%):  
 $\text{Eau (Kg)} = 3,915 - 15 \text{ Kg} (\% \text{ sel} + \% \text{ lactose} + \% \text{ glycérol} \times 1/0,96)/100$ .

**Tableau 2.3:** Caractéristiques de composition et  $A_w$  des fromages fondus à tartiner après 2 semaines de conservation.

Echantillon	Teneur en humectant (%)			Humidité <sup>(2)</sup> %	$A_w$ <sup>(3)</sup> (à 25°C)
	NaCl <sup>(1)</sup>	Lactose <sup>(1)</sup>	Glycérol		
1	0,88	6,35	0	54,58	0,965
2	0,88	6,35	5	51,92	0,951
3	0,88	6,35	10	47,71	0,903
4	0,88	9,35	0	50,67	0,963
5	0,88	9,35	5	48,38	0,931
6	0,88	9,35	10	46,71	0,886
7	0,88	11,35	0	48,83	0,932
8	0,88	11,35	5	42,82	0,919
9	0,88	11,35	10	44,08	0,866
10	2,38	6,35	0	51,70	0,955
11	2,38	6,35	5	50,11	0,921
12	2,38	6,35	10	47,72	0,870
13	2,38	9,35	0	49,00	0,955
14	2,38	9,35	5	47,81	0,903
15	2,38	9,35	10	45,32	0,857
16	2,38	11,35	0	47,84	0,945
17	2,38	11,35	5	45,16	0,902
18	2,38	11,35	10	41,98	0,845
19	3,88	6,35	0	50,42	0,938
20	3,88	6,35	5	48,15	0,896
21	3,88	6,35	10	45,61	0,846
22	3,88	9,35	0	47,90	0,925
23	3,88	9,35	5	46,49	0,877
24	3,88	9,35	0	43,22	0,807
25	3,88	11,35	0	46,15	0,912
26	3,88	11,35	5	44,33	0,866
27	3,88	11,35	10	40,19	0,786

(1) % calculé à partir de la valeur mesurée dans l'échantillon témoin et de la quantité ajoutée dans la formulation.

(2) Erreur-type de la moyenne ( $S_x$ )= 0,57%.

(3) Erreur-type de la moyenne ( $S_x$ )= 0,009.



**Tableau 2.4:** Effet du sel, lactose et glycérol sur l' $A_w$  des fromages expérimentaux: résultats de l'analyse de variance.

Source de Variation (a)	dl (b)	S.C.E. ( $\times 10^{-4}$ ) (c)	% var. exp. (d)
Sel L	1	129,337***	23,06
Sel Q	1	2,592N.S.	0,46
Lact L	1	35,452***	6,32
Lact Q	1	0,006N.S.	0,00
Glyc L	1	357,603***	63,75
Glyc Q	1	4,478*	0,80
Sel L Lact L	1	1,062N.S.	0,20
Sel L Lact Q	1	0,135N.S.	0,02
Sel Q Lact L	1	2,221N.S.	0,40
Sel Q LactQ	1	0,013N.S.	0,00
Sel L Glyc L	1	18,976***	3,38
Sel L Glyc Q	1	0,003N.S.	0,00
Sel Q Glyc L	1	5,600*	1,00
Sel Q Glyc Q	1	0,646N.S.	0,12
Lact L Glyc L	1	1,304N.S.	0,23
Lact L Glyc Q	1	0,002N.S.	0,00
Lact Q Glyc L	1	1,277N.S.	0,23
Lact Q Glyc Q	1	0,362N.S.	0,07
Erreur	8	4,867	0,87
Total	26	560,955	

(a): Lact = lactose, Glyc = glycérol, L = effet linéaire et Q = effet quadratique

(b): d.l. = degré de liberté

(c): S.C.E. = somme des carrés des écarts

(d): % var. exp. = % variation expliquée par un facteur par rapport à la variation totale.

N.S.: Non significatif; \*: F significatif à 95%; \*\*\*: F significatif à 99,9%.

**Tableau 2.5:** Équations de régression reliant l' $A_w$  à la composition en humectants des fromages fondus à tartiner expérimentaux.

Equations(a)	R <sup>2</sup>	F(b)
$A_w = 0,975 - (9,49.S + 5,58.L + 6,40.G + 1,68.SG) \times 10^{-3}$	0,965	152,02***
$A_w = 0,994 - (4,53.s + 1,49.l + 2,32.g + 0,26.sg) \times 10^{-3}$	0,977	226,78***

(a) S, L et G désignent respectivement le sel, le lactose et le glycérol exprimés en % du produit final tandis que s, l et g sont exprimés en g d'humectant/100g d'eau.

(b) \*\*\* F = significatif à plus de 99,9%

N.B. Les équations calculées sont valides dans les intervalles de variation des humectants étudiés, soit:

$0,88 \leq S \leq 3,88\%$ ,  $6,35 \leq L \leq 11,35\%$  et  $0 \leq G \leq 10\%$ .

$1,61 \leq s \leq 9,65$  g/100g d'eau,  $11,63 \leq l \leq 28,24$  g/100g d'eau et  $0 \leq g \leq 24,88$  g/100g d'eau.

## CHAPITRE 3

### EFFET DES COMBINAISONS DE CHLORURE DE SODIUM, DE LACTOSE ET DE GLYCÉROL SUR LES CARACTÉRISTIQUES RHÉOLOGIQUES ET LA COULEUR DES FROMAGES FONDUS À TARTINER.

#### 3.1 Résumé

Dans le chapitre précédent, l'activité de l'eau dans les fromages fondus à tartiner a été contrôlée au moyen de combinaisons de NaCl (0; 1,5 et 3% p/p), lactose (0; 3 et 5% p/p) et glycérol (0; 5 et 10% p/p). La présente étude a pour but d'évaluer l'influence de ces humectants sur les caractéristiques rhéologiques et la couleur des fromages. Tous les humectants étudiés ont influencé ces paramètres, avec la présence d'interactions marquées entre le sel et le glycérol ainsi que entre le sel et le lactose dans certains cas. Par ailleurs, la baisse du pH observée pour les fromages expérimentaux lors de l'addition d'humectants a été attribuée principalement au NaCl (plus de 87% de l'effet) et le brunissement des fromages, davantage au lactose et au glycérol. L'addition de sel et de lactose a produit un effet négatif sur la tartinabilité des fromages fondus tandis que le glycérol l'améliorait. L'amélioration maximale de la tartinabilité était obtenue avec le glycérol à une teneur de 5% dans le produit. Les humectants pourraient modifier les caractéristiques rhéologiques des fromages fondus en influençant les propriétés d'hydratation des protéines fromagères.

### 3.2 Introduction

Le fromage fondu à tartiner est obtenu par chauffage du fromage naturel (le plus souvent le cheddar, le gruyère, le mozzarella et l'emmental) aux environs de 85°C en présence de sels émulsifiants qui complexent le calcium. Les sels émulsifiants utilisés dans la fonte des fromages sont le plus souvent les citrates et les phosphates (orthophosphates, pyrophosphates et polyphosphates) de sodium. Certains ingrédients optionnels tels des ingrédients laitiers (lait en poudre, lactosérum, crème, beurre de lactosérum, etc.), des acides organiques, des gommes et des colorants peuvent entrer dans la composition du fromage fondu à tartiner (Kosikowski, 1982). De l'eau est également ajoutée au mélange pour son effet plastifiant qui confère au produit son caractère tartinable et une texture molle et lisse. Enfin, le NaCl contribue à l'obtention de la texture désirée et au développement du goût et de l'arôme.

Sous l'action du chauffage, le fromage broyé et dispersé dans l'eau perd sa structure compacte. Les sels émulsifiants chélatent le calcium lié aux protéines fromagères, transformant ainsi le paracaséinate de calcium insoluble en paracaséinate de sodium soluble (Rayan et al., 1980). Au cours de ce processus de déstabilisation du fromage naturel, le déroulement des chaînes protéiques ainsi que l'augmentation du nombre de charges négatives résultant tous deux de la disparition de ponts calciques, augmentent les capacités d'interaction des groupements latéraux polaires des protéines avec les molécules d'eau (Paquet, 1988). En même temps que se déroule ce processus d'hydratation, le paracaséinate de sodium émulsifie la matière grasse libérée sous la forme de gros globules gras dans le mélange en cours de fonte. L'homogénéisation provoquée par les effets simultanés des sels émulsifiants, du chauffage et de l'agitation réduit la taille de ces globules gras et améliore ainsi la stabilité de l'émulsion (Rayan et al., 1980). La gélification se produit au cours du refroidissement du mélange fondu dans lequel s'est formée une structure protéique tridimensionnelle retenant fortement l'eau d'hydratation et la matière grasse émulsifiée (Paquet, 1988).

Le produit final présentant une couleur uniforme et une structure lisse et homogène, sans présence de cristaux (Caric et Kalab, 1987) est également caractérisé par une teneur en eau (44 à 60%), un pH ( $\text{pH} > 5,2$ ) et une activité de l'eau ( $A_w > 0,95$ ) élevés. Ces caractéristiques de composition peuvent favoriser une croissance

microbienne dans le produit, particulièrement celle des bactéries sporulées anaérobies et rendre le produit à risque d'intoxication alimentaire.

Lors d'une étude antérieure rapportée au chapitre 2, l' $A_w$  (qui dirige l'activité microbienne dans un produit) dans les fromages fondus à tartiner avait été contrôlée par addition de sel, lactose et glycérol dans le but d'assurer leur stabilité microbiologique durant la conservation. Comme les caractéristiques texturales des fromages peuvent être altérées par toute modification de leur composition chimique, il devenait intéressant de rechercher les répercussions de l'addition de tels humectants seuls ou en combinaison sur la texture, la couleur et tout particulièrement sur la tartinabilité des fromages, étant donné son rôle important dans l'acceptabilité du produit par le consommateur (Awadhwal et Singh, 1985; Tanaka *et al.*, 1971).

### 3.3 Matériel et méthodes

#### 3.3.1 Fabrication des fromages fondus à tartiner

Les fromages expérimentaux ont été fabriqués à la fromagerie Lactantia Ltée (Victoriaville, Québec) à partir des ingrédients suivants: fromage cheddar frais (40%); concentrat protéique de lactosérum à 34.58% de protéines (16.5%), Saputo (Montréal, Qué.); beurre de lactosérum à 80% de matière grasse (3%); phosphate disodique (2%) et citrate trisodique dihydraté (0.4%). Tous ces ingrédients se retrouvaient en proportions constantes dans les fromages expérimentaux tandis que le NaCl (Sifto, Windsor, Ont.), le lactose (Saputo, Montréal, Qué.) et le glycérol (Canada Packers, Toronto, Ont.) ajoutés en quantité variable selon l'échantillon, remplaçaient une quantité équivalente d'eau de la formule. La fabrication des fromages expérimentaux a été détaillée dans le chapitre précédent. Les ingrédients introduits dans un broyeur polyvalent (Stephan, Hameln, R.F.A.) étaient homogénéisés et cuits à 85°C avec brassage durant 3 min. dont la dernière sous vide partiel. Le fromage fondu obtenu était conditionné en pots de 500g et entreposé au moins 15 jours à 4°C avant les analyses.

### 3.3.2 Détermination des paramètres rhéologiques

Les paramètres rhéologiques des fromages ont été mesurés par la méthode du pénétromètre à cône (Tanaka et al., 1971) monté sur un appareil Instron "Universal Testing Machine" (Burlington, Ontario) avec une cellule de charge maximale de 19.62 N. Des tests préliminaires nous ont permis de déterminer qu'un angle du cône de 50° et une vitesse de pénétration de 10 cm/min donnaient une meilleure sensibilité, précision et reproductibilité. La contrainte de pénétration ou fermeté, l'adhésion et la cohésion ont été déterminées à partir des rhéogrammes obtenus après deux pénétrations successives à une profondeur de 1 cm. La fermeté ou contrainte de pénétration (kPa) est calculée en divisant la force de pénétration F par la projection de la surface latérale du cône en contact avec le produit (Tanaka et al., 1971):

$$\text{Fermeté} = \frac{F}{\pi p^2 \frac{\tan(\theta/2)}{\cos(\theta/2)}} \quad (1)$$

où Fermeté= fermeté ou contrainte de pénétration (kPa)  
 F= force de pénétration (N)  
 p= profondeur de pénétration (m)  
 θ= angle du cône (°)

soit, dans notre cas:

$$\text{Fermeté} = \frac{F}{16,164 \times 10^{-5}} \quad (2)$$

La cohésion est obtenue en divisant l'aire sous la courbe de la seconde pénétration du cône ( $A_2$ ) par l'aire sous la courbe de la première pénétration à la même vitesse de pénétration ( $A_1$ ). L'adhésion ( $A_3$ ) a été évaluée à partir de l'aire délimitée par la courbe négative située entre les 2 cycles de pénétration. Avant chaque test, les échantillons de fromage conservés à 4°C séjournèrent 48h à la température de la pièce (environ 22°C). Les mesures étaient effectuées dans le pot (500g) sur trois couches de fromage. Quatre mesures étaient réalisées au niveau de chaque couche et les valeurs des différents paramètres de texture sont les moyennes obtenues à partir de 2 pots de fromage.

La tartinabilité exprimée conjointement par le seuil d'écoulement et par la viscosité apparente était calculée à partir d'une droite de la contrainte de pénétration obtenue en fonction de la vitesse de cisaillement. La contrainte de pénétration était mesurée à différentes vitesses de pénétration du cône (5, 10 et 20 cm/min) et la vitesse de cisaillement était obtenue par le rapport entre la vitesse de pénétration du cône et la profondeur de pénétration du cône dans l'échantillon (soit 1 cm). L'ordonnée à l'origine de cette droite correspond au seuil d'écoulement (en kPa) et la pente à la viscosité apparente (en Pa.s) (Tanaka et al., 1971).

### 3.3.3 Détermination du pH

Le pH était mesuré en triplicata à l'aide d'une électrode de pH Orion Research, modèle 816300, introduite directement dans l'échantillon ayant séjourné 24h à température de la pièce (environ 22°C).

### 3.3.4 Détermination de la couleur

Le système colorimétrique de Hunter a été utilisé pour l'analyse de la couleur. La luminosité L et les indices chromatiques **a** (rouge) et **b** (jaune) ont été déterminés en triplicata sur environ 30g d'échantillon au moyen du colorimètre Colorgard system 1000/05 (Pacific scientific Inc., Silverspring, MD).

### 3.3.5 Dosage de l'humidité

La teneur en eau dans les échantillons de fromage a été déterminée en triplicata après séchage dans un four à vide selon la procédure 16.259 de l'A.O.A.C. (1984).

### 3.3.6 Analyses statistiques

La répartition des humectants dans les fromages était réalisée selon un plan factoriel à 3 facteurs et 3 niveaux d'étude: NaCl (0; 1,5 et 3% p/p), lactose (0; 3 et 5% p/p) et glycérol (0; 5 et 10% p/p). L'analyse des données a été effectuée selon les procédures du progiciel SAS (SAS, 1985). Pour chaque paramètre mesuré, les moyennes ont été calculées et soumises à l'analyse de variance. Un test F était réalisé dans le but de différencier les traitements et les interactions ayant eu un effet significatif sur un paramètre donné après décomposition des sommes des carrés

des écarts à la moyenne et de leurs degrés de liberté en degrés simples de liberté (Lison, 1968). Des équations de régression multiple reliant les différents paramètres rhéologiques aux effets principaux et aux interactions des humectants significatifs à plus de 95% ont été calculées. Les effets complexes des humectants sur ces paramètres ont été illustrés par des représentations tridimensionnelles des surfaces de réponse à l'aide de SAS Graph afin de visualiser les tendances des paramètres mesurés.

### 3.4 Résultats et discussion

#### 3.4.1 Effet du sel, du lactose et du glycérol sur le pH des fromages fondus à tartiner

La teneur en humectants et en humidité ainsi que le pH des différents fromages expérimentaux sont présentées au Tableau 3.1. L' $A_w$  des fromages a varié de 0,97 (échantillon sans humectant) à 0,79, la teneur en eau de 55 à 40% et le pH de 5,76 à 6,20. Les fromages fondus à tartiner sont généralement caractérisés par une  $A_w$  ( $A_w > 0,97$ ) et une teneur en eau (44 à 60%) élevées alors que leur pH est habituellement compris entre 5,0 et 6,5 (Shimp, 1985). Les effets linéaires et quadratiques de NaCl expliquent plus de 87% de la variation totale du pH entre les fromages (Tableau 3.3). De telles variations de pH dues aux effets du NaCl ont été rapportées pour les émulsions de viande (Barbut, 1988) ainsi que pour le yogourt (Lacroix et Lachance, 1988). Le NaCl provoquerait un échange d'ions  $\text{Na}^+$  avec  $\text{H}^+$  des groupements  $\text{NH}_3^+$  des protéines du lait, entraînant une libération d'ions  $\text{H}^+$  dans le milieu et une baisse du pH (Abd-El-Salam *et al.*, 1987).

#### 3.4.2 Effet du sel, du lactose et du glycérol sur les caractéristiques rhéologiques des fromages fondus à tartiner

##### 3.4.2.1 Formation de cristaux

Deux semaines après leur fabrication, la présence de cristaux a été observée dans huit échantillons tandis que les autres fromages étaient d'apparence lisse et homogène, avec des couleurs uniformes et une texture élastique. Les fromages présentant des cristaux avaient tous reçu une addition de lactose (Tableau 3.1).



La formation de cristaux s'avère un défaut physico-chimique sérieux et courant dans les fromages fondus à tartiner (Caric et Kaláb, 1987). Ces petits cristaux blancs identifiés par Pommert et al. (1988) et Caric et Kalab (1987) comme étant du citrate de calcium se développent parfois à la surface du fromage fondu une semaine seulement après sa fabrication lorsque les sels émulsifiants sont composés de citrates. Cependant, les phosphates, les tartrates, la tyrosine ainsi que le lactose peuvent également former des cristaux dans ce produit (Patocka et Jelen, 1988; Caric et Kalab, 1987). Dans les fromages expérimentaux, la formation de cristaux a vraisemblablement été produite par le lactose étant donné sa faible solubilité dans l'eau. Kanterewicz et Chirife (1986) rapportent un point de saturation du lactose à 25°C variant de 20,5 à 21,7 g/100g d'eau. Dans les fromages présentant des cristaux, la concentration de lactose était comprise entre 18,5 et 28 g/100 g d'eau, ce qui peut expliquer sa cristallisation. Ce phénomène de sursaturation du lactose avait également été observé par Patocka et Jelen (1988) sur des produits à tartiner à base de lactosérum conservé à 7°C. Il est à noter que les échantillons sans glycérol semblent plus susceptibles à cette cristallisation. Le glycérol pourrait ralentir la cristallisation du lactose du fait de l'augmentation de la viscosité de la phase aqueuse qui diminue la vitesse de diffusion du lactose. Cet humectant, comme l'eau, pourrait également agir comme solvant et milieu dispersant pour le lactose (Labuza, 1974).

#### 3.4.2.2 Modification des caractéristiques rhéologiques des fromages fondus à tartiner

L'addition d'humectants dans les fromages expérimentaux a fortement influencé leur comportement rhéologique comme en témoigne l'ampleur des variations rapportées au Tableau 3.2. L'analyse de variance a permis de déterminer les principaux effets responsables de la variation des différents paramètres rhéologiques ainsi que leurs tendances (Tableau 3.3). Les effets des traitements significatifs à plus de 95% ont été retenus pour le calcul d'équations de régression reliant chaque paramètre observé à la composition finale en humectants des fromages expérimentaux (Tableau 3.4). Des représentations graphiques tridimensionnelles ont été effectuées pour les paramètres rhéologiques importants des fromages fondus à tartiner (fermeté, seuil d'écoulement et viscosité apparente) dont les équations renferment des termes d'interaction et des termes quadratiques (Figures 3.1 à 3.4). La fermeté mesurée instrumentalement ou par les méthodes

sensorielles, est habituellement corrélée à la tartinabilité (de Man et al., 1979; Walstra, 1981; Hayakawa et de Man, 1982). La plupart des méthodes de mesure de la tartinabilité sont en fait des mesures de la fermeté qui exprime la résistance à la déformation (de Man et al., 1979). Tel qu'indiqué par leurs coefficients de détermination ( $R^2$ ), les équations calculées valides dans les intervalles de variation des paramètres de l'étude (soit:  $0,88 \leq \text{NaCl} \leq 3,88\%$ ;  $6,35 \leq \text{lactose} \leq 11,35\%$  et  $0 \leq \text{glycérol} \leq 10\%$ ) ont permis la prédiction de l'adhésion, du seuil d'écoulement, de la viscosité apparente, de la fermeté et de la cohésion, dans des proportions allant de 77% (adhésion) à 53% (cohésion) de la variation totale ( $p < 0,01$ ).

Le seuil d'écoulement et la viscosité apparente calculés à partir des relations linéaires obtenues entre la contrainte de pénétration et la vitesse de cisaillement ( $8,33$  à  $33,33 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) exprimeraient conjointement la tartinabilité, selon Tanaka et al. (1971). L'écoulement des fromages expérimentaux ne commençait qu'au delà d'une contrainte appliquée correspondant au seuil d'écoulement. Le comportement rhéologique de ces produits s'apparente à celui des corps de Bingham qui doivent présenter, sous contrainte, une faible viscosité pour s'étaler plus facilement et une forte viscosité au repos pour ne pas couler (Couarraze et Grossiord, 1987). Le seuil d'écoulement des fromages expérimentaux était inférieur à 10 KPa avec une viscosité apparente comprise entre 0,75 et  $16,5 \times 10^3 \text{ Pa.S}$  (Tableau 3.2). Avec de telles valeurs, la tartinabilité des fromages expérimentaux serait supérieure à celle d'un beurre ordinaire à 20°C, mais comparable à celle d'une margarine molle (Makhlouf et al., 1987). Les résultats obtenus dans notre étude indiquent un effet important du glycérol sur le seuil d'écoulement et la viscosité apparente des fromages fondus expérimentaux (Tableaux 3.3 et 3.4), illustré aux Figures 3.2 et 3.3. Cet effet permet d'envisager une amélioration de la tartinabilité des fromages expérimentaux par addition de glycérol avec un effet maximal aux environs de 5%. Il est à noter enfin qu'une relation linéaire (Figure 3.5), significative à plus de 99% a été obtenue entre les logarithmes des valeurs de viscosité et de seuil d'écoulement des fromages expérimentaux ( $r = 0,87$ ). Ce résultat est en accord avec ceux obtenus par Tanaka et al. (1971) pour plusieurs produits alimentaires dont le fromage fondu à tartiner.

Les surfaces de réponse (Figures 3.1 à 3.4) représentant les paramètres rhéologiques des fromages en fonction de leurs teneurs en humectants ont montré des formes variables qui reflètent la nature dynamique des relations existant entre

les constituants des produits tout en mettant en évidence des interactions entre certains de ces constituants. L'eau et les humectants ajoutés en concentration variable dans les échantillons modifieraient la rhéologie des fromages expérimentaux en influençant les propriétés d'hydratation des protéines présentes via l'activité de l'eau et le pH ou éventuellement en modifiant la stabilité thermique et la gélification de ces protéines lors de la fabrication.

#### 3.4.3 Influence de la teneur en eau et de l'activité de l'eau sur la rhéologie des fromages fondus à tartiner.

L'eau habituellement ajoutée dans le fromage fondu à tartiner pour son effet plastifiant conférerait au produit son caractère tartinable (Kosikowski, 1982). Dans les fromages expérimentaux, les humectants ajoutés étant substitués à une quantité équivalente d'eau de la recette (Chapitre 2), l'effet propre de l'humectant sur les propriétés texturales des fromages serait donc confondu avec celui de la diminution de l'eau associée. Cependant, la teneur en eau variable des fromages (55 à 40%) ne peut expliquer seule les variations rhéologiques observées. A cet effet, on peut remarquer que certains fromages expérimentaux, par exemple les échantillons 3, 12, 14, 16 et 22 (Tableau 3.1) présentaient des caractéristiques rhéologiques différentes bien qu'ayant une teneur en eau finale identique (d'environ 48%). De plus, les différences de texture et de tartinabilité présentées par les échantillons de fromage proviendraient en partie d'une réduction de la quantité d'eau libre résultant de l'effet combiné de la diminution de l'eau de la recette et de la liaison de l'eau par l'humectant, avec des conséquences sur l'état d'hydratation des protéines du fromage. L'influence de l' $A_w$  sur la modification des propriétés texturales de nombreux produits alimentaires est largement rapportée dans la littérature (Chordash et Potter, 1972; Kapsalis *et al.*, 1970; Troller et Christian, 1978; Urbanski *et al.*, 1983; Kreisman et Labuza, 1978; Hardy et Steinberg, 1984).

#### 3.4.4 Influence du pH sur la rhéologie des fromages fondus à tartiner

En abaissant le pH des fromages, le NaCl diminue la charge nette des protéines fromagères et modifie les interactions protéines-protéines et protéines-eau. Les caséines et les protéines lactosériques composant les fromages subissent une diminution de leur capacité d'hydratation en se rapprochant de pH 5,0 (Kaharadian, 1984; Shimp, 1985; Caric et Kaláb, 1987). Toutes ces modifications influent sur le

réseau protéique tridimensionnel constituant la "charpente" des fromages (Vassal et al., 1986) et peuvent expliquer en partie les variations rhéologiques des fromages expérimentaux. Au voisinage de pH 5,0, on obtient un produit de texture friable (résultant de l'affaiblissement des interactions protéines-protéines et protéines-eau), mais qui possède en revanche de bonnes caractéristiques de conservation et ne présente pas de risque de séparation de la matière grasse (Shimp, 1985). Par contre, si le pH se situe à une valeur trop élevée (pH > 6,5), les interactions protéines-protéines de même que protéines-eau augmentent et donnent un fromage de texture trop molle (Kaharadian, 1984) qui peut également présenter des problèmes microbiologiques (Shimp, 1985). Les fromages fondus à tartiner de l'étude, avec des valeurs de pH situées entre 5,76 et 6,19 avaient dans l'ensemble une texture molle (très recherchée) et élastique.

#### 3.4.5 Effets directs du sel, lactose et glycérol sur l'hydratation des protéines fromagères

Lorsque les protéines sont en solution dans de l'eau distillée, leur structure quaternaire se dissocie et les forces de répulsion intramoléculaires augmentent, conduisant à une expansion moléculaire, à une absorption d'eau et à une augmentation de la viscosité de la solution (Urbanski et al., 1983). En ajoutant à ces solutions des agents humectants qui compétitionnent avec les protéines pour les molécules d'eau, la viscosité peut alors diminuer (Cheftel et al., 1985).

Dans les fromages expérimentaux, la viscosité apparente augmentait ou diminuait en fonction de la nature de l'humectant ajouté, de sa concentration et de la présence d'autres humectants (Figures 3.3 et 3.4). Le NaCl à de faibles concentrations dans les échantillons de fromage élevait la viscosité alors qu'il la réduisait à plus fortes teneurs. Ces résultats concordent avec ceux d'autres études (Urbanski et al., 1983; Cheftel et al., 1985). La viscosité augmenterait à la suite de l'hydratation accrue des protéines en présence de faibles concentrations salines et diminuerait aux fortes concentrations de sel suite à une déshydratation des protéines. La prédominance des interactions eau-sel, au détriment des interactions eau-protéines provoquerait cette déshydratation des protéines aux fortes teneurs en sel (Cheftel et al., 1985). Par ailleurs, de par sa nature ionique dans l'eau, le NaCl peut diminuer la viscosité des fromages expérimentaux en prévenant à la fois l'expansion moléculaire et l'hydratation des protéines. L'action du NaCl porterait

sur l'atténuation des forces répulsives intramoléculaires et sur la stabilisation de la structure quaternaire des protéines (Urbanski *et al.*, 1983). L'augmentation de la force ionique du milieu en présence de sel diminue également l'absorption d'eau et la solubilité des protéines (Yon, 1969).

Le lactose a produit une augmentation ou une diminution de la viscosité des fromages expérimentaux selon la teneur en sel (Figure 3.4). Habituellement, les glucides tels que le glucose et le saccharose diminuent la viscosité des suspensions protéiques à cause de la plus grande affinité de l'eau pour ces solutés que pour les protéines (Urbanski *et al.*, 1983). L'affinité de l'eau pour le lactose au détriment des protéines pourrait être favorisée par le NaCl, expliquant ainsi la diminution de la viscosité par le lactose en présence de fortes teneurs en sel (Figure 3.4). Dans certains échantillons, la cristallisation probable d'une partie de lactose a pu interférer avec l'action propre de ce constituant en solution.

La diminution de la viscosité apparente par le glycérol jusqu'à une certaine concentration (Figure 3.3) pourrait également s'expliquer par la plus grande affinité de l'eau pour cet humectant que pour les protéines. Par contre, aux fortes concentrations, le glycérol a augmenté la viscosité de la phase aqueuse. Selon Di Paola et Belleau (1978) et Warner (1981), le glycérol manifesterait un effet plastifiant comparable à celui de l'eau. Ce composé de trois carbones possédant trois fonctions hydroxyles pourrait remplacer l'eau d'hydratation des protéines en occupant les sites de fixation des molécules d'eau sur les molécules protéiques, avec pour conséquence une augmentation de la viscosité.

#### 3.4.6 Influence des humectants sur la stabilité thermique des protéines du lactosérum des fromages

Les humectants pourraient avoir eu un effet stabilisant sur la conformation des protéines au cours du chauffage avec des implications sur les caractéristiques rhéologiques des produits finis. Cet effet stabilisant des humectants a été évoqué pour le sel et les sucres (Garrett *et al.*, 1988; Urbanski *et al.*, 1983; Chinachoti et Steinberg, 1985) de même que pour le glycérol (Di Paola et Belleau, 1978; Lacroix et Castaigne, 1985). Les effets propres du sel, du lactose et du glycérol sur la gélification (impliquant l'hydratation des protéines) de même que sur la stabilité thermique des protéines du lactosérum ont fait l'objet d'une investigation séparée

au moyen de systèmes modèles formés par les protéines lactosériques non-dénaturées et les humectants en solution. Les résultats de cette recherche, présentés aux chapitres 4 et 5, ont révélé l'existence d'effets significatifs et variables des humectants sur les caractéristiques texturales et la capacité de rétention d'eau des gels (Chapitre 4), de même que sur l'augmentation de la stabilité thermique des fractions protéiques majeures des protéines du lactosérum natives (chapitre 5). Dans le cas de l'étude présente, l'effet des humectants sur la stabilité thermique lors de la cuisson et la gélification des protéines de lactosérum contenues dans la recette (concentrat de protéines de lactosérum non-dénaturées) a pu influencer les caractéristiques rhéologiques finales des fromages.

#### 3.4.7 Effets du sel, du lactose et du glycérol sur la couleur des fromages

Les résultats de l'analyse colorimétrique des fromages fondus à tartiner expérimentaux sont présentés au Tableau 3.2. Une diminution significative des valeurs de luminosité a été observée avec l'augmentation de la concentration en agents humectants, tandis que les indices chromatiques **a** (rouge) et **b** (jaune) ont légèrement augmenté. Les plus importantes modifications résultaient des effets principaux des humectants bien que certaines interactions se soient révélées significatives ( $p < 0,05$ ) (Tableau 3.3).

L'assombrissement observé pourrait être expliqué par les réactions de brunissement non-enzymatique (réactions de Maillard) se produisant dans les fromages lors du traitement thermique. L'abaissement de l' $A_w$  des fromages de 0,965 à 0,789 accompagné d'une réduction de la quantité d'eau libre a pu favoriser les réactions de brunissement en concentrant les substances réactantes impliquées dans ces réactions. Le lactose et le glycérol ont davantage influencé le brunissement non enzymatique des fromages dans notre étude. La réaction de Maillard se produit lors des traitements thermiques ou de l'entreposage d'aliments protéiques contenant des sucres réducteurs tel le lactose ou des composés carbonylés dérivés de l'oxydation des lipides (Cheftel et al., 1985). La vitesse de la réaction de Maillard augmente lorsque l' $A_w$  diminue, avec un maximum pour des  $A_w$  de 0,70 à 0,65, selon le produit (Eichner, 1975). Cependant, cette valeur limite d' $A_w$  peut être abaissée lorsqu'un humectant liquide tel le glycérol est utilisé dans la dépression de l' $A_w$ , en raison de son effet diluant (Labuza et Saltmarch, 1981; Eichner, 1975).

### 3.5 Conclusion

L'addition d'humectants pour abaisser l' $A_w$  dans les fromages fondus à tartiner a entraîné d'importantes modifications de la texture et de la couleur du produit. L'augmentation du seuil d'écoulement et de la fermeté par le sel et le lactose indique un effet négatif de ces humectants sur la tartinabilité conditionnant l'acceptabilité du produit auprès des consommateurs. En revanche, le glycérol semble améliorer la tartinabilité du produit, avec un optimum voisin de 5% dans le fromage. Les modifications observées des propriétés rhéologiques des fromages pourraient s'expliquer par l'effet propre des humectants sur l'état d'hydratation des protéines fromagères, sur le pH du produit et éventuellement sur la stabilité thermique et la gélification des protéines du lactosérum. La réduction de la quantité d'eau libre dans les fromages lors de l'addition de sel, lactose et glycérol et la diminution associée de la teneur en eau, entraîneraient une concentration des substances impliquées dans les réactions de Maillard, particulièrement le lactose et le glycérol, avec pour conséquence un brunissement accentué des produits. Les équations de régression calculées pour les paramètres rhéologiques seraient de nature à optimiser la texture et la tartinabilité du fromage fondu à tartiner en tenant compte de sa teneur en humectants.

### 3.6 Références bibliographiques

- Abd-El-Salam, M.H., El-Shibiny, S., Mahfouz, M.B. et E-Dein, H.F. 1987. Effect of pH and sodium chloride on the viscosity of skim milk retentates. *Le Lait*, 67: 111.
- A.O.A.C. 1984. Official methods of analysis, 14th ed. p. 309. Association of Official analytical chemists. Arlington, VI.
- Awadhwal, N.K. et Singh, C.P. 1985. A rheological model for milk products. *J. Food Sci.* 50: 1611.
- Barbut, S. 1988. Microstructure of reduced salt meat batters as affected by polyphosphates and chopping time. *J. Food Sci.* 53: 1300.
- Caric, M. et Kaláb, M. 1987. Processed cheese products. Dans: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Volume 2, P.F. Fox (Ed.). p. 339. Elsevier Applied Science Publishers Ltd. London.
- Cheftel, J.C., Cuq, J.L. et Lorient, D. 1985. *Protéines alimentaires. Technique et Documentation-Lavoisier*, Paris.

- Chinachoti, P. and Steinberg, M.P. 1985. Interaction of sodium chloride with raw starch in freeze-dried mixtures as shown by water sorption. *J. Food Sci.* 50: 825.
- Chordash, R.A. et Potter, N.N. 1972. Effects of dehydration through the intermediate moisture range on water activity, microbial growth, and texture of selected foods. *J. Milk Food Technol.* 35: 395.
- Couarraze, G. et Grossiord, J.L. 1987. *Initiation à la rhéologie. Technique et Documentation-Lavoisier, Paris.*
- de Man, J.M., Dobbs, J.E. et Sherman, P. 1979. Spreadability of butter and margarine. Dans *Food Texture and Rheology*. P. Sherman (Ed.). p. 43. Academic Press, Inc., New York, NY.
- Di Paola, G. et Belleau, B. 1978. Polyol-protein interactions. Thermodynamical evidence for a selective solvation of glycerol and hexitols by aqueous  $\beta$ -lactoglobulin. *Can. J. Chem.* 56: 848.
- Eichner, K. 1975. The influence of water content on non-enzymic browning reactions in dehydrated foods and model systems and the inhibition of fat oxidation by browning intermediates. Dans: *Water Relations of Foods*. p. 417. R.B. Duckworth (Ed.). Academic Press Inc. (London) Ltd, London.
- Garrett, J.M., Stairs, R.A. et Annet, R.G. 1988. Thermal denaturation and coagulation of whey proteins: effect of sugars. *J. Dairy Sci.* 71: 10.
- Hardy, J.J. et Steinberg, M.P. 1984. Interaction between sodium chloride and paracasein as determined by water sorption. *J. Food Sci.* 49: 127.
- Hayakawa, N. et de Man, J. 1982. Consistency of fractionated milk fat as measured by two penetration methods. *J. Dairy Sci.* 65: 1095.
- Karahadian, C., M. Sc. 1984. Technological aspect of reduced-sodium process american cheese. Masters thesis, University of Wisconsin. Madison.
- Kanterewicz, R.J. et Chirife, J. 1986. Determination and correlation of the water activity of cheese whey solutions. *J. Food Sci.* 51: 227.
- Kapsalis, J.G., Walker, Jr., J.E. et Wolf, M., 1970. Physico-chemical properties of low and intermediate moisture Foods. *J. Texture stud.* 1: 464.
- Kreisman, L.N., et Labuza, T.P. 1978. Storage stability of intermediate moisture food process cheese food products. *J. Food Sci.* 43: 341.
- Kosikowski, F. 1982. *Cheese and Fermented Milk Food*, 2nd ed.. F.V. Kosikowski and Associates (Eds ). p. 382. New York, NY.



- Labuza, T.P. et Saltmarch, M. 1981. The non-enzymatic browning reaction as affected by water in foods. Dans: Water Activity: Influences on Food Quality. R.B. Rockland et G.F. Stewart (Ed.). p. 605. Academic Press, Inc. New York, NY.
- Labuza, T.P. 1974. Storage stability and improvement of intermediate moisture foods. Phase II. Rept. Contract NAS 9-12560, NASA. Houston, TX.
- Lacroix, C. et Castaigne, F. 1985. Influence du glycérol sur la texture et la stabilité des émulsions cuites à base de viande de type frankfurters. J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment. 18: 34.
- Lacroix, C. et Lachance, O. 1988. Effet des agents humectants sur l' $A_w$  et les propriétés rhéologiques du yogourt. J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment. 21: 511.
- Lison, L. 1968. Statistiques appliqués à la biologie expérimentale: la planification de l'expérience et l'analyse des résultats. Edition Gauthier Villars, Paris.
- Makhlouf, J., Arul, J., Boudreau, A., Verret, P. et Sahasrabudhe, M.R. 1987. Fractionnement de la matière grasse laitière par cristallisation simple et son utilisation dans la fabrication de beurres mous. J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment. 20: 236.
- Paquet, D. 1988. La fonte des fromages: aspects physico-chimiques. Dans: Propriétés Fonctionnelles des Macromolécules Alimentaires. D. Lorient, B. Colas et M. Le Meste. Les cahiers de l'ENS-BANA, p. 227 Technique et Documentation-Lavoisier, Paris, France.
- Patocka, J. et Jelen, P. 1988. Enzymatic lactose hydrolysis for prevention of lactose crystallization in a whey spread. J. Food Sci. 53: 1370.
- Pommert, J.F., Klæbe, A., Perie, J., Lebugle, A. et Puech, J. 1988. Observation and analysis of crystalline phases in processed cheese. J. Food Sci. 53: 1367.
- Rayan, A.A., Kaláb, M. et Ernstrom, C.A. 1980. Microstructure and rheology of process cheese. Scanning Electron Microscopy /1980 /III, SEM Inc., AMF O'Hare (Chicago), Ill.
- SAS, 1985. SAS User's Guide: Statistics, Version 5, Edition. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Shimp, L.A. 1985. Process cheese principles. Food Technol. 39: 63.
- Tanaka, M., de Man, J. M. et Voisey, P.W. 1971. Measurement of textural properties of Food with a constant speed cone penetrometer. J. Texture Stud. 2: 306.
- Troller, J.A. et Christian, J.H.B. 1978. Water Activity and Food. p. 69. Academic Press, Inc., New York, NY

- Urbanski, G.E., Wei, L.S., Nelson, A.I. et Steinberg, M.P. 1983. Rheology models for pseudoplastic soy systems based on water binding. *J. Food Sci.* 48: 1436.
- Vassal, L., Monnet, V., Le Bars, D., Roux, C. et Gripon, J.C. 1986. Relation entre le pH, la composition chimique et la texture des fromages de type Camembert. *Le Lait.* 66: 341.
- Walstra, P. 1981. Evaluation of the firmness of butter. *Fédération internationale de laiterie (F.I.L.), Bulletin, Document 135.*
- Warner, D.T. 1981. Theoretical studies of water in carbohydrates and proteins. Dans: *Water Activity: Influences on Food Quality.* L.B. Rockland et G.F. Stewart (Eds.), p. 435 Academic Press, Inc., New-York, NY.
- Yon, J. 1969. *Structure et dynamique conformationnelle des protéines.* Hermann, Paris.

### 3.7 Tableaux et figures

Tableau 3.1: Composition chimique finale et pH des fromages fondus à tartiner.

Echantillon	Teneur en humectant (%)			Humidité %	pH	Cristaux
	NaCl(1)	Lactose(1)	Glycérol			
1	0,88	6,35	0	54,58	6,06	
2	0,88	6,35	5	51,92	6,08	
3	0,88	6,35	10	47,71	6,04	
4	0,88	9,35	0	50,67	6,19	+
5	0,88	9,35	5	48,38	6,09	
6	0,88	9,35	10	46,71	6,06	
7	0,88	11,35	0	48,83	6,07	+
8	0,88	11,35	5	42,82	6,08	
9	0,88	11,35	10	44,08	6,09	+
10	2,38	6,35	0	51,70	5,90	
11	2,38	6,35	5	50,11	5,91	
12	2,38	6,35	10	47,72	5,84	
13	2,38	9,35	0	49,00	5,94	+
14	2,38	9,35	5	47,81	5,91	
15	2,38	9,35	10	45,32	5,95	
16	2,38	11,35	0	47,84	6,00	+
17	2,38	11,35	5	45,16	5,92	
18	2,38	11,35	10	41,98	5,97	
19	3,88	6,35	0	50,42	5,78	
20	3,88	6,35	5	48,15	5,87	
21	3,88	6,35	10	45,61	5,88	
22	3,88	9,35	0	47,90	5,82	+
23	3,88	9,35	5	46,49	5,76	
24	3,88	9,35	10	43,22	5,86	
25	3,88	11,35	0	46,15	5,81	+
26	3,88	11,35	5	44,33	5,84	
27	3,88	11,35	10	40,19	5,81	+

(1) Le % de NaCl (0,88%) déterminé de l'échantillon témoin (no 1) a été additionné aux valeurs de NaCl du plan expérimental; il en est de même du lactose dont le % dans le témoin est de 6,35% (Chapitre 2).

**Tableau 3.2:** Valeurs des paramètres rhéologiques et d'indices de couleur des fromages fondus à tartiner.

Echan- tillon	Tartinabilité		Texture			Couleur		
	Seuil d'écoulement (kPa)	Viscosité (Pa.s)	Fermeté (kPa)	Adhésion apparente (N.m $\times 10^4$ )	Cohésion	L (luminosité)	a (rouge)	b (jaune)
1	3,49	6,62 x 10 <sup>3</sup>	4,11	3,03	0,580	88,17	12,16	33,90
2	0,37	7,50 x 10 <sup>2</sup>	0,48	2,58	0,809	85,52	13,32	36,19
3	0,83	1,79 x 10 <sup>3</sup>	1,04	4,72	0,816	80,99	15,10	37,37
4	1,61	3,98 x 10 <sup>3</sup>	2,40	3,52	0,565	83,63	11,06	35,91
5	0,91	1,74 x 10 <sup>3</sup>	1,09	4,85	0,800	81,38	13,80	36,58
6	1,43	3,26 x 10 <sup>3</sup>	1,93	6,98	0,732	79,48	15,97	37,84
7	2,48	5,62 x 10 <sup>3</sup>	3,16	4,25	0,623	83,97	13,36	36,62
8	4,79	5,54 x 10 <sup>3</sup>	5,40	17,98	0,716	80,20	16,32	37,33
9	3,10	4,23 x 10 <sup>3</sup>	3,62	11,41	0,683	79,07	16,65	37,18
10	2,83	3,55 x 10 <sup>3</sup>	3,13	4,70	0,632	85,28	13,07	35,72
11	0,61	8,98 x 10 <sup>2</sup>	0,75	3,31	0,807	83,11	14,79	35,82
12	0,90	3,67 x 10 <sup>3</sup>	1,44	5,45	0,694	80,53	16,06	37,45
13	4,94	8,48 x 10 <sup>3</sup>	4,37	8,30	0,660	83,19	13,99	37,01
14	1,08	1,29 x 10 <sup>3</sup>	1,29	4,90	0,774	81,70	15,83	37,41
15	1,95	5,22 x 10 <sup>3</sup>	2,56	8,20	0,659	80,26	16,05	37,75
16	7,76	1,21 x 10 <sup>4</sup>	10,09	11,55	0,535	83,52	13,98	36,73
17	2,64	5,58 x 10 <sup>3</sup>	3,34	8,15	0,620	77,73	19,78	35,57
18	4,45	5,77 x 10 <sup>3</sup>	5,44	15,04	0,680	79,22	16,30	37,41
19	4,20	8,65 x 10 <sup>3</sup>	4,53	8,40	0,692	84,04	14,79	35,05
20	2,21	5,36 x 10 <sup>3</sup>	2,72	6,34	0,607	83,01	16,12	36,47
21	3,00	1,65 x 10 <sup>4</sup>	3,15	8,19	0,666	80,46	16,13	37,38
22	5,45	6,39 x 10 <sup>3</sup>	5,95	11,84	0,677	81,92	16,71	35,80
23	1,23	2,13 x 10 <sup>3</sup>	1,59	5,16	0,638	82,80	16,25	36,07
24	6,59	6,83 x 10 <sup>3</sup>	7,45	18,14	0,638	79,42	15,73	37,09
25	5,79	7,13 x 10 <sup>3</sup>	6,43	13,89	0,655	82,57	15,73	36,06
26	3,56	4,41 x 10 <sup>3</sup>	4,05	11,77	0,699	81,33	15,66	36,45
27	9,30	8,62 x 10 <sup>3</sup>	10,40	22,67	0,625	78,31	15,90	36,17

**Tableau 3.3:** Résultats des analyses de variance des données de tartinabilité, de texture, du pH et de couleur des fromages fondus à tartiner expérimentaux.

Source de Variation S.C.E. (a)	d.l (b)	Tartinabilité		Texture		
		Seuil d'écoulement S.C.E. (c)	Visco. app. S.C.E. (x 10 <sup>6</sup> )	Fermeté S.C.E.	Adhésion S.C.E.	Cohésion (x 10 <sup>-3</sup> )
		Sel L	1	27.68**	59.01**	29.49*
Sel Q	1	0.67	0.74	0.41	13.02	0.18
Lact L	1	33.27**	4.68	47.75**	258.60***	11.46
Lact Q	1	5.29	16.75	8.96	20.69	1.06
Glyc L	1	2.72	2.44	2.83	54.50*	18.30*
Glyc Q	1	23.08**	74.00**	29.31*	29.93	23.56*
Sel L Lact L	1	1.27	24.84*	1.53	0.70	3.18
Sel L Lact Q	1	0.67	2.84	0.65	3.86	0.05
Sel Q Lact L	1	1.07	36.39*	2.52	0.96	4.24
Sel Q Lact Q	1	0.01	2.43	0.78	0.20	3.21
Sel L Glyc L	1	2.68	23.30*	4.28	0.55	25.95*
Sel L Glyc Q	1	10.60*	11.88	9.89	79.51*	14.24
Sel Q Glyc L	1	8.69	13.18	8.32	9.92	0.05
Sel Q Glyc Q	1	0.48	0.40	0.76	4.22	2.30
Lact L Glyc L	1	3.66	7.64	3.20	23.89	0.99
Lact L Glyc Q	1	0.21	5.07	0.62	0.50	0.15
Lact Q Glyc L	1	0.01	0.12	0.36	0.92	0.83
Lact Q Glyc Q	1	1.08	1.13	0.84	16.65	1.25
Erreur	8	14.89	30.71	23.47	69.59	24.81
Total	26	138.02	317.54	175.96	711.35	145.94

(a): Lact = lactose, Glyc = glycérol, L = effet linéaire et Q = effet quadratique

(b): d.l. = degré de liberté

(c): S.C.E. = somme des carrés des écarts

\*: = F significatif à 95%; \*\* = F significatif à 99% et \*\*\* = F significatif à 99.9%.

Visco. app. = viscosité apparente

Tableau 3.3 (suite)

Source de Variation	d.l.	pH		Couleur	
		S.C.E. (x 10 <sup>-3</sup> )	L S.C.E.	a S.C.E.	b S.C.E.
Sel L	1	118.91***	3.44*	7.36*	0.21
Sel Q	1	215.46***	1.58	6.72*	0.83
Lact L	1	3.83	36.55***	7.59*	1.22*
Lact Q	1	0.00	0.36	1.19	0.95
Glyc L	1	0.53	82.56***	20.14**	9.16***
Glyc Q	1	0.22	0.00	3.53	0.13
Sel L Lact L	1	1.35	1.09	0.02	0.61
Sel L Lact Q	1	0.79	2.35	0.08	0.47
Sel Q Lact L	1	7.60	2.54	2.97	0.77
Sel Q Lact Q	1	3.29	0.10	2.66	0.34
Sel L Glyc L	1	0.01	1.51	1.18	0.66
Sel L Glyc Q	1	2.89	1.58	8.46*	0.08
Sel Q Glyc Q	1	0.66	4.96*	1.04	0.15
Lact L Glyc L	1	0.02	0.60	0.20	3.21**
Lact L Glyc Q	1	4.22	3.41*	2.60	0.07
Lact Q Glyc L	1	3.03	2.42	0.02	0.00
Lact Q Glyc Q	1	2.71	1.91	1.48	0.01
Erreur	8	15.56	4.51	8.22	1.68
Total	26	381.34	152.40	77.05	21.48

**Tableau 3.4:** Equations de régression reliant la tartinabilité et la texture aux effets significatifs des humectants.

Paramètre mesuré	Equations <sup>(a)</sup>	R <sup>2</sup>	F
Seuil écoulement (kPa)	$(15,327 + 8,733 S + 5,402 L - 3,057 G + 0,133 G^2 - 3,710 SG + 0,434 SG^2) \times 10^{-1}$	0,725	8,77***
Viscosité apparente (Pa.s)	$(5,647 - 3,436 S + 1,577 S^2 + 0,375 L - 1,757 G + 0,141 G^2 + 1,217 SL - 0,533 S^2L + 0,186 SG) \times 10^3$	0,710	5,50**
Adhésion (N.m)	$2,592 S + 1,506 L + 1,195 G - 0,089 G^2 - 1,160 SG + 0,119 SG^2 - 0,185$	0,768	11,03***
Fermeté (kPa)	$1,902 + (8,533 S + 6,472 L - 9,633 G + 0,884 G^2) \times 10^{-1}$	0,622	9,04***
Cohésion	$0,602 + (0,152 S + 0,407 G - 0,025 G^2 - 0,062 SG) \times 10^{-1}$	0,534	6,30***

(a) S, L et G expriment respectivement les % de sel, de lactose et de glycérol des fromages.

\*\* p < 0.01

\*\*\* p < 0.001

N.B. Les équations calculées sont valides dans les intervalles de variation des humectants étudiés, soit:  $0,88 \leq \text{sel} \leq 3,88\%$ ,  $6,35 \leq \text{Lactose} \leq 11,35\%$  et  $0 \leq \text{Glycérol} \leq 10\%$ .

Figure 3.1 : Effet du sel et du glycérol sur la fermeté des fromages fondus à tartiner pour une concentration en lactose de 6,35 %.

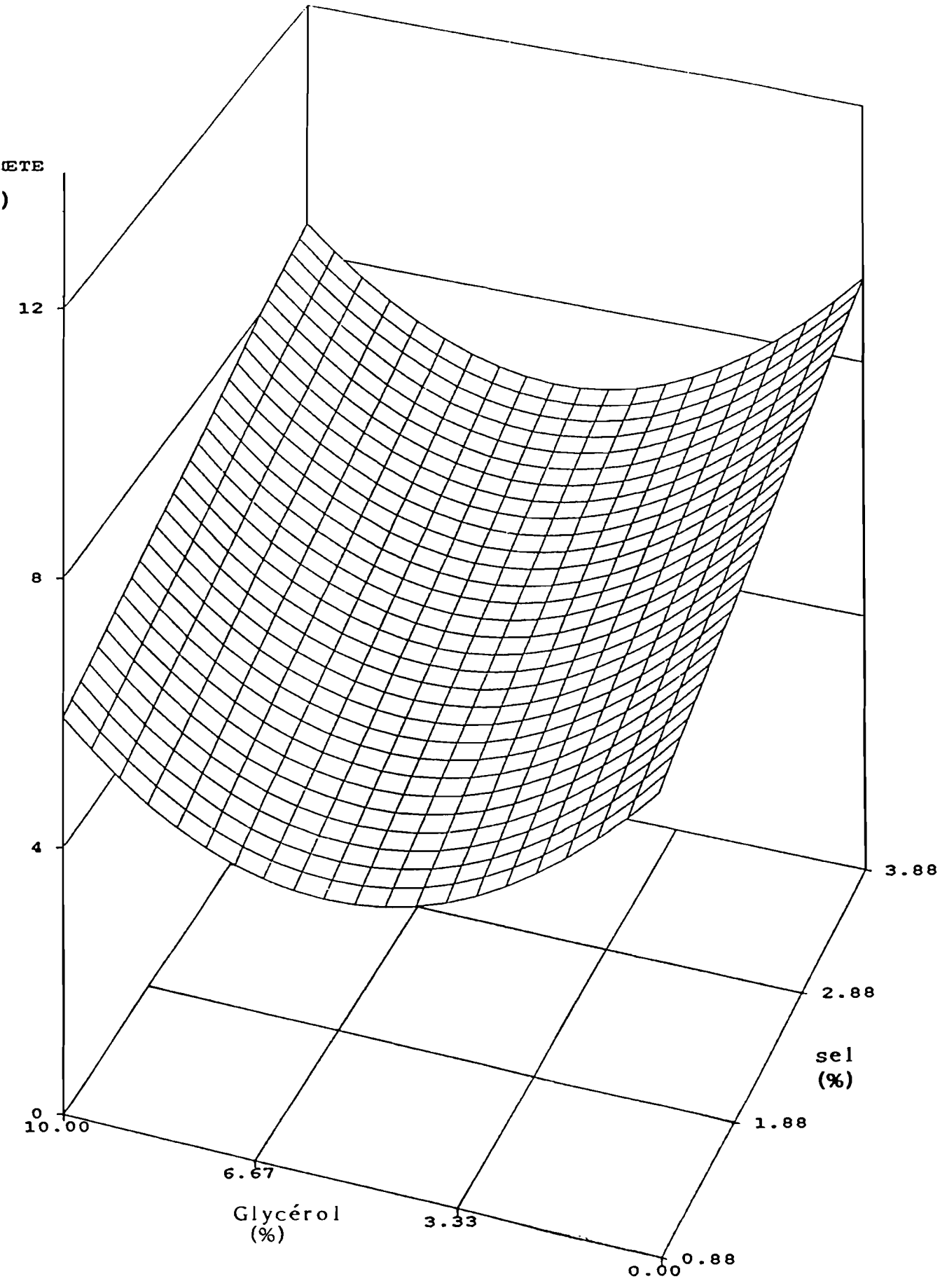




Figure 3.2 : Effet du sel et du glycérol sur le seuil d'écoulement des fromages fondus à tartiner pour une concentration en lactose de 6,35 %.

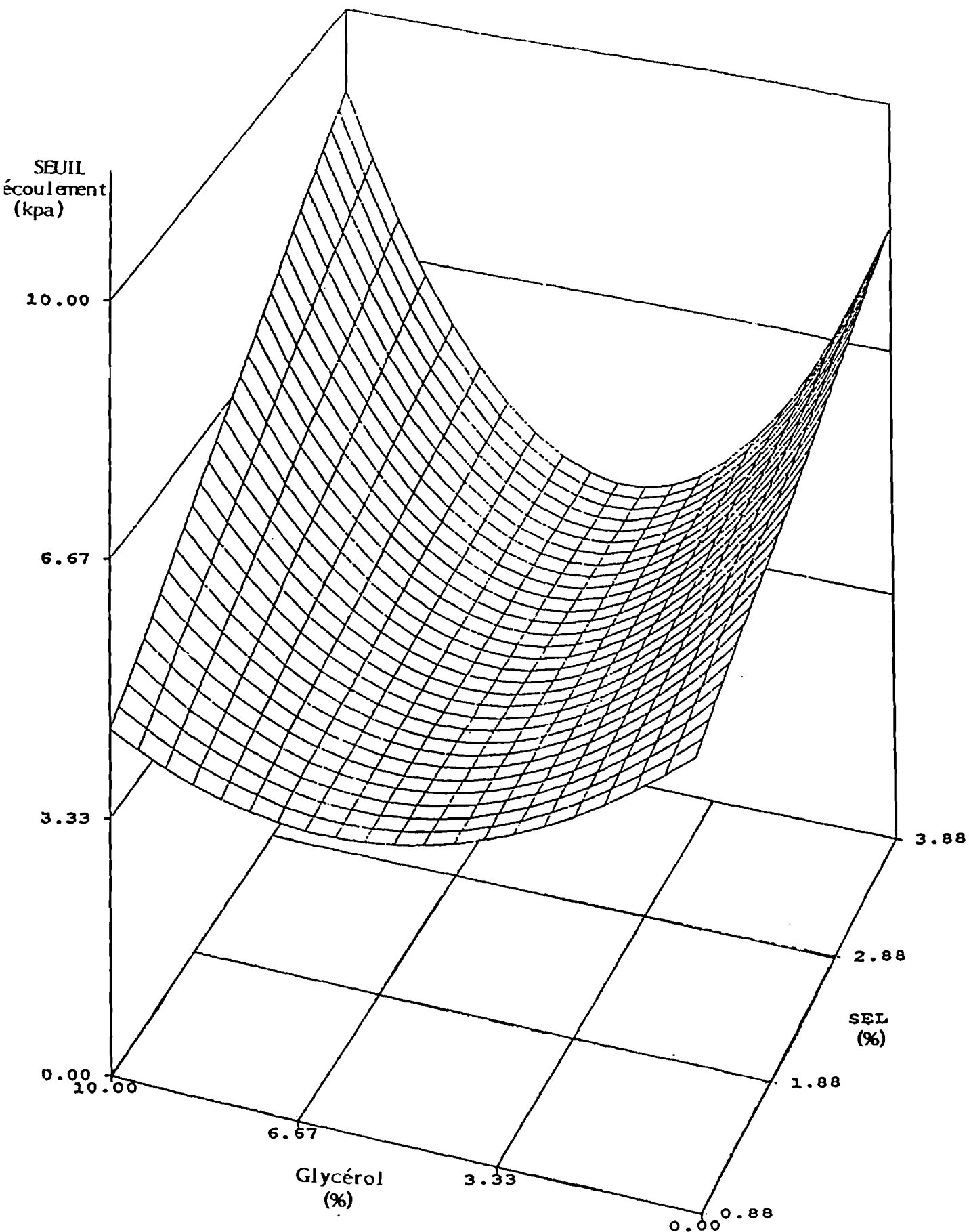


Figure 3.3: Effet du sel et du glycérol sur l'évolution de la viscosité apparente des fromages fondus à tartiner pour une concentration en lactose de 6,35%.

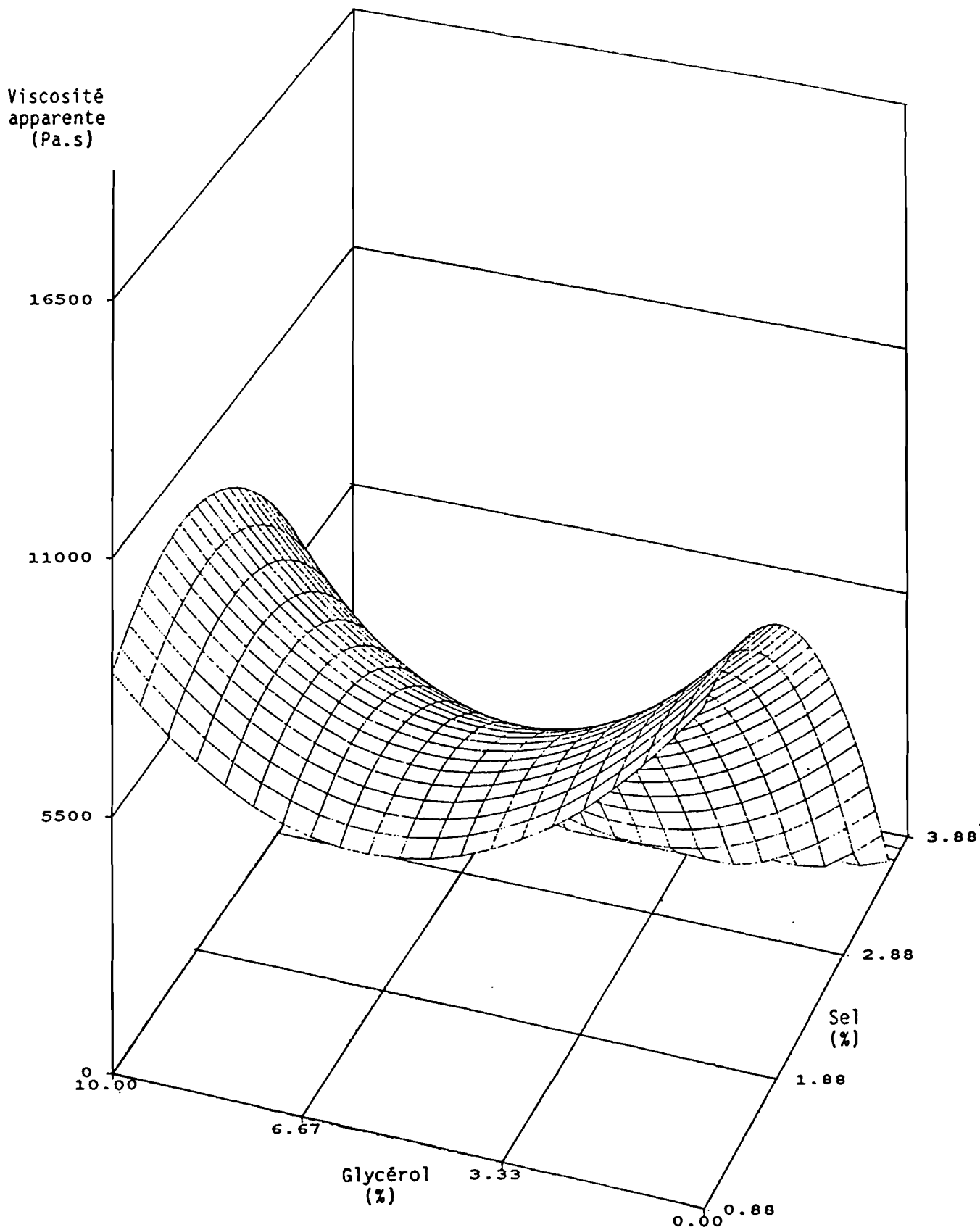


Figure 3.4: Effet du sel et du lactose sur l'évolution de la viscosité apparente des fromages fondus à tartiner.

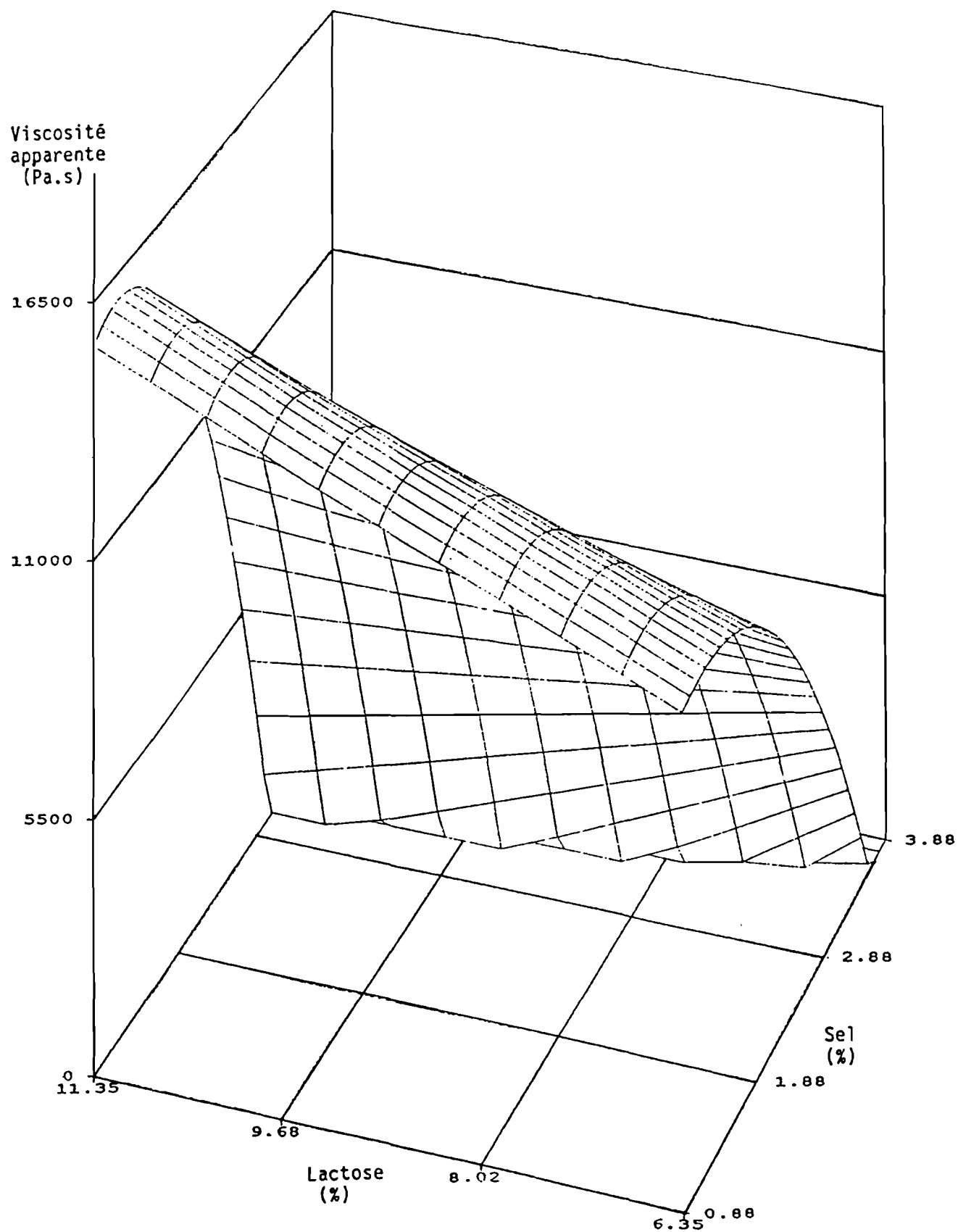
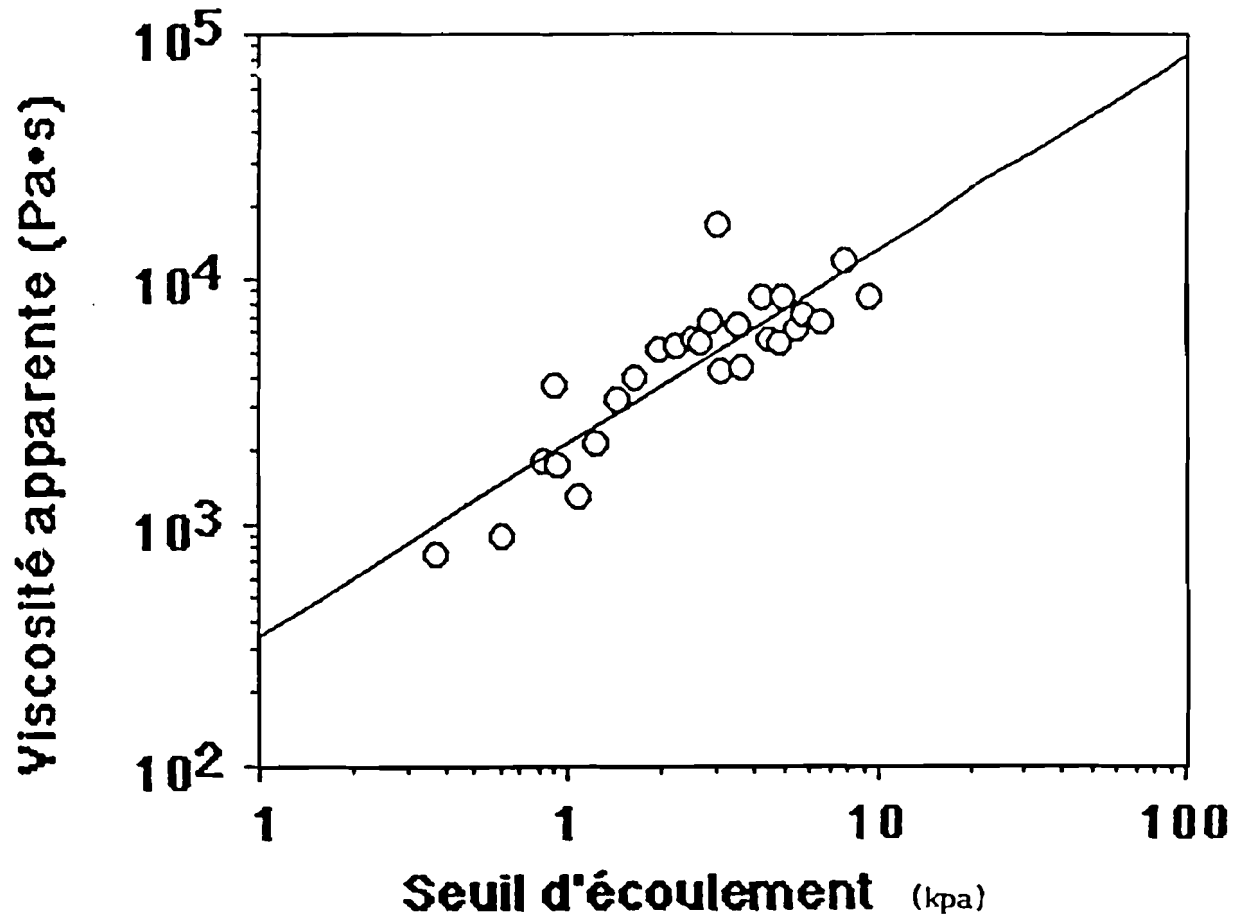


Figure 3.5: Relation entre les logarithmes de seuil d'écoulement et de viscosité apparente des fromages fondus à tartiner.



## CHAPITRE 4

### GÉLIFICATION DES PROTÉINES DU LACTOSÉRUM: EFFETS DU NaCl, DU LACTOSE ET DU GLYCÉROL SUR LES CARACTÉRISTIQUES RHÉOLOGIQUES ET LA CAPACITÉ DE RÉTENTION D'EAU DES GELS.

#### 4.1. Résumé

Une étude antérieure rapportée dans les chapitres précédents avait été menée afin d'examiner les effets du NaCl, du lactose et du glycérol sur les caractéristiques physico-chimiques d'un aliment complexe le fromage fondu à tartiner contenant des protéines du lactosérum. Les effets de ces mêmes facteurs ont été mesurés sur les propriétés rhéologiques et la capacité de rétention d'eau des gels formés par les protéines du lactosérum en solution aqueuse afin de tenter d'expliquer leur participation dans le comportement des fromages fondus. Les gels protéiques étaient formés suite au chauffage à 90° C (pendant 15 min.) de solutions contenant 10% de protéines du lactosérum (pH 6.0), ainsi que des humectants ajoutés selon un plan factoriel à 3 facteurs et 3 niveaux d'étude: NaCl (0, 1,5 et 3%), lactose (0, 3 et 6%) et glycérol (0, 5 et 10%). La capacité de rétention d'eau (CRE) a été déterminée par centrifugation et le profil de texture des cylindres de gel (fermeté, cohésion et force de rupture) par des tests de compression sur Instron. Des équations de régression permettant la prédiction de la texture et de la CRE des gels de protéines du lactosérum à partir des concentrations finales en sel, en lactose et en glycérol ont été calculées. L'addition de sel aux solutions de protéines a entraîné une plus grande augmentation de la CRE et de la fermeté des gels que celle du lactose ou du glycérol. Les valeurs de la force de rupture étaient plus élevées avec des concentrations de 2,5% de NaCl et de 7,3% de lactose. Les valeurs de cohésion non modifiées par le sel atteignaient des maxima avec des concentrations d'environ 6% de lactose et de 4% de glycérol. Les modifications des paramètres de texture et de la capacité de rétention d'eau des gels résultaient à la fois de la variation de la concentration des protéines dans la phase aqueuse des gels provoquée par l'addition des composés et des effets simultanés du sel, du lactose et du glycérol, sur la dénaturation thermique et sur l'agrégation des

protéines du lactosérum conditionnant toutes deux la formation du réseau protéique de gel.

#### 4.2 Introduction

En plus d'être reconnues pour leurs propriétés nutritionnelles et organoleptiques (odeur, saveur et couleur), les protéines du lactosérum possèdent également d'excellentes propriétés fonctionnelles qui les rendent compatibles avec la préparation de nombreux produits alimentaires (Delaney, 1976; Schmidt et al., 1979; Kohnhorst et Mangino, 1985; de Wit, 1988). De ces propriétés fonctionnelles, la plus importante serait celle de gélification impliquée dans l'amélioration de la texture de nombreux aliments. Les gels de protéines peuvent être définis comme étant des réseaux ordonnés à trois dimensions formés par des interactions inter-protéines et immobilisant de grandes quantités d'eau (Kinsella et Melachouris, 1976).

Les travaux des dernières années sur la gélification des protéines du lactosérum ont porté principalement sur les facteurs influençant cette propriété. On admet généralement que celle-ci dépend d'un grand nombre de facteurs que l'on peut regrouper dans trois catégories, soit: 1) les facteurs reliés à la protéine elle-même (état natif, composition en acides aminés, poids moléculaire, hydrophobicité nette et concentration protéique); 2) les conditions de fabrication (nature du traitement thermique, vitesse de chauffage et de refroidissement) et 3) les facteurs environnementaux (incluant le pH, la nature des ions et la force ionique, ainsi que la présence d'autres composés tels que le lactose, les polyols, les lipides et les composés possédant des groupements thiol) (Schmidt, 1981; Cheftel et al., 1985; Mulvihill et Kinsella, 1987; Paulsson et al., 1990). Cependant, les interactions entre ces facteurs, de même que leurs influences sur les propriétés texturales des gels sont peu connues (Mulvihill et Kinsella, 1987). Des recherches additionnelles sont nécessaires pour déterminer les effets individuels et combinés des divers facteurs sur la gélification des protéines du lactosérum entières et spécialement sur celle de la  $\beta$ -lactoglobuline. La  $\beta$ -lactoglobuline étant la principale fraction protéique du lactosérum, ses propriétés jouent un rôle majeur dans la détermination des propriétés gélifiantes des protéines du lactosérum (Dumay, 1988; Mulvihill et Kinsella, 1988).

Toutefois, étant donné les nombreux facteurs impliqués dans la gélification, il est difficile de prédire comment vont réagir les protéines du lactosérum, tout particulièrement dans les systèmes alimentaires complexes. Dans cette étude, les effets de certains facteurs comme le sel, le lactose et le glycérol, de même que ceux de leurs interactions sur les propriétés texturales et la capacité de rétention d'eau des gels de protéines du lactosérum ont été recherchés.

### 4.3 Matériel et méthodes

#### 4.3.1 Préparation des gels de protéines de lactosérum

Un concentrat de protéines du lactosérum (CPL) a été fabriqué au Laboratoire du Département de sciences et technologie des aliments de l'Université Laval à partir de 2 lots de lactosérum doux de fromage cheddar obtenus à 1 semaine d'intervalle. Le lactosérum écrémé de pH 6,2 provenant de la fromagerie Lactantia (Victoriaville, Qué.) a été clarifié par microfiltration à l'aide d'une membrane Romicon de 0,2  $\mu\text{m}$  avant ultrafiltration et diafiltration sur une membrane PM-10 (Romicon). Le rétentat d'ultrafiltration a été transféré dans des plateaux pour congélation et lyophilisation pendant environ 72 h. La poudre obtenue broyée au moyen d'un robot culinaire a été mélangée à l'aide d'un mélangeur de poudres Twin shell dry blender (Paterson-Kelley Co., Stroudsburg, Pennsylvanie). La composition du concentrat de protéines de lactosérum obtenu est présentée au Tableau 4.1. Des solutions aqueuses à 10% de protéines de lactosérum et à différents niveaux de sel (Sifto, Windsor, Ont.), de lactose (Saputo, Montréal, Qué.) et de glycérol (Canada Packers, Toronto, Ont.) ont été préparées. Les quantités d'ingrédients calculées pour 300g de solution finale sont présentées au Tableau 4.2. Le pH des solutions protéiques a été ajusté à 6,0 au moyen de NaOH 1 M et l'hydratation des protéines à température de la pièce a duré 1 h. Le chauffage des échantillons transférés dans des seringues en plastique de 60 ml et dans des tubes à gel en plastique de 15 ml a été effectuée à 90°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) pendant 15 minutes, suivie d'un refroidissement d'environ 1 h dans de l'eau glacée.

#### 4.3.2 Détermination de la texture des gels

Les gels formés, sortis soigneusement des seringues pour éviter les bris, ont été équilibrés à température de la pièce pendant environ deux heures. Trois segments

de 25 mm de long avec un diamètre de 26 mm ont été découpés dans la région centrale de chaque gel et soumis à deux tests de compression entre deux plaques métalliques parallèles à l'aide d'un appareil Instron "Universal Testing Machine" (Instron Canada Ltée, Burlington, Ont.).

#### 4.3.2.1 Test de double compression

Six segments d'un même échantillon de gel étaient compressés radialement à deux reprises jusqu'à 20% du diamètre initial avec une cellule de charge maximale de 19,62 N à une vitesse de 10 cm/min. L'analyse du profil de texture de la double compression a été réalisée selon la méthode de Bourne (1978). La fermeté (N/m) correspondant à la résistance à la compression d'un échantillon ou encore à la force requise pour atteindre une déformation donnée (Szczeniak, 1963), a été obtenue en effectuant le rapport de la force requise pour compresser l'échantillon sur la déformation engendrée. La cohésion a été calculée comme étant le rapport de l'aire sous la courbe de la seconde compression sur l'aire sous la courbe de la première.

#### 4.3.2.2 Compression au point de rupture

Six cylindres de gel ont également été compressés, jusqu'à la rupture, à l'aide d'une cellule de charge maximale de 4905N, à une vitesse de 10 cm/min. Le point de rupture indiqué par un rapide changement de pente sur la courbe et la force de rupture correspondante étaient enregistrées.

#### 4.3.3 Détermination de la capacité de rétention d'eau (CRE) des gels

La capacité de rétention d'eau des gels a été évaluée par centrifugation selon la méthode de Jauregui et al. (1981) légèrement modifiée. Des échantillons d'environ 1,5g prélevés des tubes à gel ont été pesés avant et après centrifugation. Les échantillons placés dans des tubes de cellulose tapissés dans le fond par des petits morceaux de coton à fromage pour faciliter la récupération du produit écrasé ont été centrifugé à 4°C à une force correspondant à 30900 g à l'aide d'une centrifugeuse Sorvall RC-5B et d'un rotor SS-34 (Du Pont Instruments). La CRE (%) a été calculée et exprimée soit en g de solution aqueuse expulsée par 100g de gel (équation 1) ou en g d'eau perdue par 100g de gel (équation 2).



$$CRE = \frac{\text{g d'échantillon après centrifugation}}{\text{g d'échantillon avant centrifugation}} \times 100 \quad (1)$$

$$CRE = \frac{\text{g de solution expulsée}}{100\text{g de gel}} \times \frac{100\text{g d'eau}}{100 + \sum H} \quad (2)$$

où  $\sum H$  = Somme de la concentration d'humectants dans la phase aqueuse des gels (exprimée en g/100g d'eau).

La mesure de la capacité de rétention d'eau des gels a été réalisée en triplicata.

#### 4.3.4 Analyses physico-chimiques

##### 4.3.4.1 Humidité, gras, protéines et lactose

La teneur en eau du concentrat protéique lyophilisé a été déterminé par séchage dans un four à vide pendant 18 h à 100° C (A.O.A.C., 1984). La matière grasse a été évaluée par extraction à chaud des lipides à l'aide d'un mélange de chloroforme-méthanol sur un extracteur Goldfish (Rinn *et al.*, 1990). Les protéines ont été dosés par la méthode Kjeldahl automatisée sur un appareil Kjell-Foss Automatic 16210 A/SN (Foss Electric, Roskildevej, Danemark), en utilisant un facteur de conversion de 6,38. Le dosage du lactose a été réalisée par une méthode colorimétrique (Barnett *et al.*, 1957). La densité optique des solutions était mesurée à une longueur d'onde de 490 nm avec un spectrophotomètre HP 8451A (Hewlett-Packard, Corvallis, Oregon).

##### 4.3.4.2 $\alpha$ -lactalbumine et $\beta$ -lactoglobuline

Le pourcentage d' $\alpha$ -La et de  $\beta$ -lg dans la poudre protéique a été déterminé par HPLC, selon la méthode décrite par Vijayalakshmi *et al.* (1986), en utilisant une colonne TSK-SW 2000 équipée d'une pré-colonne TSK-GSWP.

##### 4.3.4.3 Minéraux

Le dosage spécifique des principaux minéraux du CPL a été effectué après extraction humide par spectrophotométrie d'absorption atomique. Pour le dosage

du Ca, Mg, Fe et Mn, 12 ml d'acide nitrique concentré ont été ajoutés dans un tube à digestion renfermant 1 g d'échantillon séché et broyé pour une pré-digestion d'environ 12 h. On a ensuite ajouté 3 ml d'acide perchlorique au mélange avant de placer les tubes dans un bloc digesteur pour réaliser une digestion de 30 min à environ 400°C. Le résidu a été transféré dans une fiole jaugée de 25 ml et dilué avec de l'eau bidistillée et déminéralisée. L'analyse du calcium (Ca) et du magnésium (Mg) a nécessité une dilution avec de l'oxyde de lanthane (5000 ppm) afin de libérer les ions pouvant être retenus par les phosphates. Le dosage était réalisé au moyen d'un spectrophotomètre d'absorption atomique Instrumentation Laboratory 751 (Wilmington, MA) utilisé en mode absorption. Pour l'analyse de K et de Na, une extraction humide a été également réalisée mais sur 0,5g d'échantillon séché et broyé. La solution extractive (25ml) était composée d'oxalate d'ammonium 0,24 N (A.O.A.C., 1984). Après une durée d'extraction de 30 min le mélange a été filtré et dilué à la concentration désirée toujours avec de la solution extractive. L'analyse en duplicata a été réalisée sur spectrophotomètre en mode émission.

#### 4.3.5 Analyses statistiques

Le sel (0, 1,5 et 3% p/p), le lactose (0, 3 et 6% p/p) et le glycérol (0, 1,5 et 10% p/p) ont également été ajoutés à différentes concentrations dans les échantillons selon un plan factoriel complet à 3 facteurs et 3 niveaux. Le protocole de préparation des gels et des analyses subséquentes de la texture et de la capacité de rétention d'eau des gels a été répété. Les valeurs moyennes pour les différents paramètres mesurés ont été soumises aux analyses de variance selon la procédure ANOVA (SAS, 1985) afin de déterminer les effets des traitements significatifs au seuil de 95%. Les degrés de liberté associés au NaCl, au lactose, au glycérol et à leurs interactions ont été décomposés en degré simple de liberté. Les effets trouvés significatifs et expliquant au moins 5% de la variation expliquée d'un paramètre donné ont été retenus pour le calcul d'équations de régression multiple. Des représentations graphiques tridimensionnelles à l'aide de SAS-Graph ont été effectuées pour les équations comprenant des termes complexes (termes quadratiques ou d'interactions).

## 4.4 Résultats et discussion

### 4.4.1 Composition chimique du CPL de l'étude et gélification des solutions aqueuses des protéines du lactosérum.

La composition chimique du CPL de l'étude et la contribution de celle-ci à la composition des solutions aqueuses expérimentales sont présentées au Tableau 4.1. Les protéines en plus grande concentration dans le CPL représentent 65%. On peut également noter la présence de lactose, de lipides résiduels et celle des minéraux à des concentrations pouvant influencer la gélification des protéines. La séparation des fractions protéiques par HPLC a révélé la présence sur le chromatogramme de 2 pics majeurs à des temps de rétention de 23,1 et 24,1 minutes (Figure 4.1). Le premier pic dominant correspondrait à la  $\beta$ -lg et le second à l' $\alpha$ -La, des temps de rétention identiques, de 23,5 et 24,3 ayant été rapportés, respectivement pour la  $\beta$ -lg et l' $\alpha$ -La (Vijayalakshmi et al., 1986). La  $\beta$ -lg représentant 53% de la fraction protéique dominait ainsi la composition du CPL de l'étude. Les CPL délipidés auraient un ratio  $\alpha$ -La/ $\beta$ -lg de 0,51 (de Wit et al., 1986). Ce même ratio avoisinant 0,75 pour le CPL de l'étude, indique que celui-ci présentait une teneur élevée en  $\alpha$ -La. Divers facteurs, tels que le type et la source du lactosérum de départ, les caractéristiques de réjection de la membrane d'ultrafiltration et le niveau de concentration atteint, peuvent modifier le rapport entre fractions protéiques d'un CPL issu d'une ultrafiltration (Delaney, 1976). La protéine en plus grande concentration dans un CPL domine habituellement les propriétés de gélification de ce CPL (Paulsson et al., 1986). Selon ces mêmes auteurs, en mélange et à concentration égale, l'influence sur la gélification des protéines du lactosérum diminue selon l'ordre suivant: sérumalbumine bovine >  $\beta$ -lg >  $\alpha$ -La. En solutions aqueuses à 10% de protéines, la gélification du CPL a été dirigée vraisemblablement par la  $\beta$ -lg avec des capacités gélifiantes intermédiaires entre  $\alpha$ -La et la SAB et représentant plus de la moitié des protéines présentes.

La concentration en lipides résiduels dans les solutions protéiques était de 0,45%. Il est bien connu que la présence de lipides nuit à la gélification des protéines du lactosérum (Schmidt et al., 1978; Schmidt, 1981; Mulvihill et Kinsella, 1987). D'après Schmidt et al. (1978), des solutions dialysées de protéines de lactosérum présentant un ratio protéines/lipides de 100 forment des gels translucides, de cohésion et de fermeté très élevées. Ce ratio, de l'ordre de 20 pour les solutions

protéiques expérimentales, indique qu'en dépit de l'opération de clarification par microfiltration appliquée au lactosérum afin d'éliminer les lipides résiduels, celles-ci présentaient une teneur en lipide qui a pu interférer négativement avec la gélification des protéines.

Les principaux minéraux du CPL ont été, en ordre décroissant, le potassium, le calcium et le sodium. Les effets des minéraux sur la gélification des protéines dépendent de la force ionique et de la nature des ions (Schmidt et al., 1979; Varunsatian et al., 1983). En l'absence d'addition de NaCl, la force ionique ( $I$ ) des solutions protéiques était contrôlée essentiellement par le potassium ( $I = 0,034$ ) et le calcium ( $I = 0,01$ ), la contribution des autres espèces étant négligeable ( $I < 0,01$ ). A force ionique égale, les ions  $\text{Na}^+$  préviendraient l'agrégation des protéines de lactosérum chauffées à plus de  $70^\circ\text{C}$ , tandis que les ions  $\text{Ca}^{++}$  ou  $\text{Mg}^{++}$  la favoriseraient (Varunsatian et al., 1983). Cet effet du calcium serait néanmoins dépendant de sa concentration, une certaine quantité de calcium étant requise pour des liaisons croisées inter-protéines (Kohnhorst et Mangino, 1985). D'après ces auteurs, le calcium à des concentrations élevées, inhibe la formation de gel en favorisant les interactions protéine-protéine conduisant à l'agrégation. Cet élément trouvé en plus grande concentration que le sodium et le magnésium a pu jouer un rôle important dans la formation des gels, particulièrement pour les échantillons n'ayant pas reçu d'addition de NaCl. De plus, à une concentration de 12,37 mM/l dans les échantillons, le calcium avoisinerait le niveau optimal de 11,1 mM/l requis pour obtenir un gel de force maximale (Schmidt et al., 1979). Le rôle joué par le calcium (et d'autres cations divalents) dans la formation des gels peut se situer dans la formation de ponts salins entre molécules protéiques partiellement dépliées et chargées négativement. Ce type de liaison impliquant une énergie de 42 à 84 kJ . mole<sup>-1</sup> (Cheftel et al., 1985) serait avec la liaison hydrophobe, d'une grande importance dans la formation de gels de protéines de lactosérum. Un modèle incluant l'hydrophobicité et la teneur en calcium des échantillons a été proposé par Kohnhorst et Mangino (1985) pour prédire la force de ces gels. Les teneurs en lactose et en eau du CPL ont été considérées dans le calcul de la composition finale des gels.

#### 4.4.2 Effets du NaCl, du lactose et du glycérol sur les paramètres rhéologiques et la capacité de rétention d'eau des gels de protéines du lactosérum

Le chauffage à 90° C pendant 15 min des solutions à 10% de protéines de lactosérum à pH 6,0 a produit des gels blancs opaques analogues à ceux du blanc d'oeuf. Les propriétés rhéologiques et la capacité de rétention d'eau (CRE) de ces gels ont été déterminées. Les valeurs moyennes des deux répétitions de l'expérience sont résumées au Tableau 4.3. On peut remarquer dans ce tableau que l'échantillon témoin avait les valeurs les plus faibles pour l'ensemble des paramètres rhéologiques mesurés, excepté pour la cohésion. De plus, les échantillons de gel de composition différente en sel, lactose et glycérol présentaient d'importantes différences de texture et de CRE. L'ampleur des différences pour la CRE était plus grande lorsque les données de ce paramètre étaient calculées et exprimées en g d'eau perdue/100g de gel plutôt qu'à partir du simple % de solution perdue par rapport au produit initial.

Les résultats des analyses de variance présentés au Tableau 4.4 ont révélé que les trois humectants exercent une influence significative au seuil de confiance de 95% sur l'ensemble des paramètres à l'exception de la cohésion non affectée par le NaCl. L'analyse de tendance réalisée sur les effets des 3 facteurs a permis de constater que les effets significatifs les plus importants ont été les effets linéaires. Les effets linéaires combinés des 3 facteurs de composition expliquaient 63% de la variation de la fermeté, 55% de celle de la force de rupture et 93% de la variation de la CRE exprimée en g d'eau perdue/100 g de gel.

Des effets quadratiques hautement significatifs ( $p < 0.0001$ ) ont été trouvés, mais le % de variation absorbé par ces effets était inférieur à 9%, à l'exception des effets quadratiques du lactose sur la cohésion (18%) et sur la force de rupture des gels (11%). Les effets quadratiques expliquant au moins 5% de la variation totale ont été retenus dans le calcul des équations de régression reliant les effets du sel, du lactose et du glycérol aux caractéristiques des gels. Certaines interactions significatives ( $p < 0,05$ ) entre le sel, le lactose et le glycérol, ont également été trouvées mais la plupart d'entre elles étaient de moindre importance, (avec des % de variation expliquée inférieurs à 5%), à l'exception de sel L x glyc Q sur la CRE (7%) (Tableau 4.4). Ainsi le sel, le lactose et le glycérol influencent de façon

essentiellement indépendante les propriétés de texture et de rétention d'eau des gels. Pour cette raison et pour des motifs de simplification aucun terme d'interaction n'a été considéré dans le calcul des équations de régression.

On peut remarquer également au Tableau 4.4 que les effets des traitements restent inchangés pour la CRE exprimée en g de solution/100g ou en g d'eau/100g, alors que les valeurs de F et les % de la variation expliquée des effets hautement significatifs augmentent fortement dans le dernier cas. Ces changements résulteraient de la diminution du terme de l'erreur dont la part dans la variation totale est passée d'environ 35% à 4%, entraînant une augmentation du seuil de significativité et du % de la variation expliquée par les facteurs d'étude.

A partir des données du Tableau 4.4, une sélection des termes a été effectuée afin de calculer des équations de régression permettant la prédiction des paramètres étudiés des gels. Les critères de sélection étaient doubles. Un terme était retenu lorsque celui-ci était significatif ( $p < 0,05$ ) et expliquait au moins 5% de la variation totale afin de ne pas alourdir les expressions par des termes complexes expliquant un faible % de la variation.

Les diverses équations de régression calculées à partir des effets sélectionnés lors de l'analyse de variance sont présentées au Tableau 4.5. Ces équations permettent de prédire une part importante de la CRE (93%), de la force de rupture (73%), de la fermeté (68%) et dans une moindre mesure de la cohésion (37%). Toutes ces équations hautement significatives ( $p < 0,0001$ ) sont valides dans les limites du plan expérimental rapporté au Tableau 4.3, à savoir:  $0 < \text{sel} < 3\%$ ;  $3,72 < \text{lactose} < 9,72\%$  et  $0 < \text{glycérol} < 10\%$ . Les équations de la fermeté et de la force de rupture comprenant des termes quadratiques et prédisant plus de 50% de l'évaluation du paramètre mesuré ont été représentées graphiquement afin de visualiser les tendances (Figures 4.2 et 4.3). Les équations et les figures associées permettent de suivre l'évolution des caractéristiques rhéologiques et de la capacité de rétention d'eau des gels en fonction de la concentration des humectants de ces derniers. A partir de l'équation de la fermeté et de la figure 4.2, on peut observer que la fermeté des gels augmente avec les niveaux de sel, de lactose et aussi de glycérol. Cependant, l'augmentation de la fermeté par le glycérol débute à partir d'une concentration d'environ 1,75%. La force de rupture exprimant également la force des gels s'élève légèrement en fonction du glycérol, tandis que ce paramètre

croît ou décroît selon la concentration de sel ou de lactose (Figure 4.3). La force de rupture atteint un maximum pour une concentration de 2,5% de NaCl et de 7,3% de lactose. La perte d'eau des gels diminue fortement avec toute addition d'humectants. Le modèle pour prédire la cohésion s'est révélé imprécis, permettant de prédire seulement 37% de la variation de ce paramètre. L'erreur de la mesure peut être à l'origine de la faiblesse du modèle, l'analyse de variance indiquant un terme d'erreur élevé, lequel représente 46% de la variation totale (Tableau 4.4). Dans les équations de régression, les coefficients associés au NaCl étaient en général plus élevés que ceux du lactose et du glycérol. Ceci peut indiquer que parmi les trois humectants testés, le sel a joué un rôle prépondérant sur la gélification des solutions protéiques. Le lactose avec des coefficients d'une valeur intermédiaire se classerait au second rang devant le glycérol. Cependant, lors de l'addition d'humectants aux solutions protéiques, la variation associée de la concentration protéique dans la phase aqueuse des gels a pu également modifier les propriétés des gels.

#### 4.4.3 Influence de la concentration protéique de la phase aqueuse sur la modification des propriétés des gels

Les quantités de sel, de lactose et de glycérol ajoutées dans un échantillon ont substitué une quantité équivalente d'eau de la recette de l'échantillon témoin sans ajout. En conséquence, l'eau s'est trouvée à des proportions variables dans les échantillons, entraînant une modification de la concentration en humectants et en protéines dans la phase aqueuse des gels (tel qu'indiqué au Tableau 4.6), alors que la concentration en protéines par g de gel a été maintenue constante pour tous les échantillons. On peut remarquer au Tableau 4.6 que les plus importantes augmentations se sont produites avec les protéines dont la concentration est passée de 11,76g/100g d'eau dans l'échantillon le plus hydraté (échantillon témoin) à 15,27g/100g d'eau dans l'échantillon le moins hydraté (échantillon 27), soit une variation de l'ordre de 30%. Toutefois, cette variation de la concentration protéique entre échantillons est réduite lorsqu'on tient compte du glycérol présent dans certains échantillons (Tableau 4.6). Selon et Lacroix et Castaigne (1985), le glycérol agit comme l'eau, en tant que solvant et milieu dispersant pour les autres ingrédients dans la phase aqueuse. La variation extrême passe de 30% à moins de 23%, entre l'échantillon 18 (11,37 g/100g) et l'échantillon 25 (13,93g/100g). L'augmentation de la concentration en protéines dans la phase aqueuse peut

expliquer en partie les modifications observées au niveau des propriétés rhéologiques et de la capacité de rétention d'eau des gels. Un calcul des coefficients de corrélation simple a été effectué pour mesurer le degré de relation entre la concentration en protéines dans la phase aqueuse et la variation de divers paramètres des gels. Des valeurs de  $r$  de l'ordre de  $-0,95$  ( $p < 0,0001$ ),  $0,694$  ( $p < 0,0001$ ),  $0,484$  ( $p < 0,0001$ ) et de seulement  $0,347$  ( $p < 0,05$ ) ont été obtenues, respectivement pour la CRE (exprimée en g d'eau perdue/100g), la fermeté, la force de rupture et la cohésion. Ces résultats indiquent que lorsque la concentration en protéines augmente, la force des gels augmente également tandis que la perte d'eau diminue. La force des gels exprimée à la fois par la fermeté et la force de rupture augmenterait en fonction de la concentration en protéines suite à une augmentation de la probabilité de rencontre des protéines et à la formation d'un réseau plus dense (Bau *et al.*, 1985). Par ailleurs, aux concentrations protéiques élevées, il y aurait formation d'un réseau gélifié avec des mailles serrées et de plus petits pores pouvant retenir plus fortement l'eau libre (Woodward et Cotterill, 1986), avec pour conséquence une diminution de la quantité d'eau expulsée du gel lors de la centrifugation. Cependant, l'effet de l'eau ne peut expliquer seul les résultats obtenus pour les gels. En effet, le sel par exemple, avec un effet majeur sur les caractéristiques rhéologiques des gels n'a en fait varié que de 0 à 3% dans les échantillons, impliquant une variation de la teneur en protéines de 11,76 à 12,27g/100g d'eau pour les échantillons témoin (1) et à 3% de sel ajouté (19) (Tableau 4.6).

#### 4.4.4 Influence du NaCl, du lactose et du glycérol sur la dénaturation thermique des protéines du lactosérum

Les mécanismes sous-tendant la formation des gels protéiques ne sont pas entièrement élucidés. Néanmoins, il semble admis qu'une certaine dénaturation correspondant à un déplissement ou à une altération de la conformation des protéines natives soit un pré-requis à la formation d'une structure ordonnée de gel (Hermansson, 1979; Mulvihill et Kinsella, 1987). Cette dénaturation serait suivie d'une agrégation impliquant des interactions à la fois entre protéines dénaturées et entre les protéines et l'eau. La dénaturation des protéines suivie de l'agrégation des molécules protéiques dénaturées constituent les 2 étapes de la gélification. Le sel, le lactose et le glycérol ont pu apporter des modifications aux gels de protéines du lactosérum en influençant l'une ou l'autre de ces étapes. Le déplissement des



molécules protéiques favorise les interactions protéine-protéine en augmentant l'exposition des groupements réactifs, spécialement des groupements hydrophobes des protéines globulaires (Cheftel *et al.*, 1985). Les groupements sulfhydrils internes sont aussi démasqués par le chauffage qui aurait pour rôle de découvrir un grand nombre de sites de liaison et de favoriser la formation de ponts disulfure (Razanajatovo *et al.*, 1978). Le déroulement des protéines du lactosérum sans aucune addition de sel surviendrait à 75°C (Varunsatian *et al.*, 1983).

En soumettant les solutions protéiques à un traitement thermique de 90° C pendant 15 minutes, il s'est produit un déplissement des molécules de protéines du lactosérum, de même qu'un démasquage de leurs groupements réactifs, en particulier pour l'échantillon sans addition d'humectants. L'effet protecteur du NaCl vis à vis de la dénaturation thermique des protéines est bien connu (Hermansson et Akesson, 1975), de même que celui des sucres et des polyols (Bernal et Jelen, 1985; Garrett *et al.*, 1988). A cette température de 90°, les protéines, spécialement pour les échantillons contenant le plus d'humectants, n'ont éventuellement pas toutes été dénaturées et n'ont pu ainsi participer pleinement aux réactions d'agrégation. Une diminution de la dénaturation et de l'agrégation subséquente des protéines lorsque les concentrations en NaCl, lactose et glycérol augmentent peuvent expliquer la diminution de la cohésion et de la force de rupture observée à partir de certaines concentrations. Pour la force de rupture, par exemple, la diminution s'est produite avec le sel à partir de 2,5% et le glycérol à partir de 7,3%. Une étude plus approfondie de l'influence de ces humectants sur la dénaturation thermique des protéines du lactosérum a été réalisée et rapportée au chapitre 5. L'étude a été menée afin de vérifier dans quelle mesure les modifications des caractéristiques des gels pourraient être expliquées par les effets éventuels du NaCl, du lactose et du glycérol sur la dénaturation thermique des protéines du lactosérum.

#### 4.4.5 Influence du NaCl, du lactose et du glycérol sur l'agrégation des protéines du lactosérum

L'agrégation des protéines dénaturées constitue la seconde étape de la gélification. Celle-ci doit se dérouler plus lentement que l'étape de dénaturation pour permettre aux protéines dépliées de s'orienter librement et de se lier à des sites spécifiques afin de former un réseau à 3 dimensions capable de piéger l'eau (Hermansson, 1979). Le processus implique principalement des interactions hydrophobes, ainsi que des liaisons ioniques, hydrogènes et covalentes représentant ensemble les forces d'attraction. En même temps que ces interactions protéine-protéine, se développent d'autres interactions entre les protéines et l'eau. Ainsi, la capacité des protéines du lactosérum dénaturées à former des gels dépendrait de l'équilibre critique entre les forces attractives et les forces répulsives, ces dernières étant représentées par les interactions protéine-solvant et les répulsions électrostatiques (Mitchell, 1980; Schmidt, 1981; Cheftel et al., 1985; Mulvihill et Kinsella, 1987).

En s'orientant avant l'agrégation, les protéines formeraient un réseau ordonné de gel homogène, fortement expansé, très élastique, transparent et capable d'immobiliser ou de piéger de grandes quantités d'eau (Schmidt, 1981; Cheftel et al., 1985). Le chauffage de la solution protéique à pH 6,0 sans addition d'humectant a produit un gel de force et de cohésion faibles et retenant faiblement l'eau. A pH 6,0, les molécules protéiques étaient soumises à de faibles répulsions électrostatiques étant donné la proximité de leurs points isoélectriques (pI) situé dans la gamme de pH de 4,5 à 5,5 (Jost et al., 1986). Au pH isoélectrique, en l'absence des répulsions, les attractions excessives entre groupements chargés des protéines conduisent à la formation d'un gel moins ferme et moins hydraté se rapprochant d'un coagulum (Cheftel et al., 1985). Le réseau gélifié formé serait grossier, moins fort, avec de larges pores et une capacité de rétention d'eau faible (Woodward et Cotterill, 1986). Selon Bau et al. (1985), les molécules protéiques soumises aux fortes attractions se plisseraient et s'agrègeraient individuellement. Au pH des solutions expérimentales (pH 6,0), les fractions protéiques du lactosérum avaient une légère charge nette pour leur permettre de gélifier. Cependant, il est possible que les répulsions électrostatiques n'étaient pas suffisantes pour contrer les importantes forces d'attraction et ainsi favoriser la formation d'une matrice de gel de force et de capacité de rétention d'eau élevées.

#### 4.4.5.1 Effet du sel

L'addition de NaCl aux solutions protéiques a entraîné une augmentation de la force des gels et de leur capacité de rétention d'eau. Les minéraux, selon leurs propriétés naturelles et leur concentration dans le milieu, peuvent influencer les attractions et les répulsions électrostatiques intra ou inter molécules protéiques en atténuant la charge électrostatique des groupements  $\text{COO}^-$  et  $\text{NH}_3^+$  des protéines (Mitchell, 1980; Bau et al., 1985). Cet effet des sels, selon Woodward et Cotterill (1986) est cependant dépendant du pH, surtout à faible concentration. L'augmentation de la force des gels et de la capacité de rétention d'eau lors de l'addition de NaCl pourrait s'expliquer par un effet de liaison des ions chlorure aux protéines du lactosérum. Lorsque cette liaison survient aux pH supérieurs au point isoélectrique, la charge nette des protéines est alors accrue, de même que les forces répulsives, permettant l'obtention de gels plus forts retenant plus d'eau. Des effets analogues du NaCl sur l'augmentation de la charge des protéines du lactosérum ont été rapportés par Mulvihill et Kinsella (1988) et sur celui d'autres systèmes protéiques par Hermansson et Akesson (1975).

L'effet positif du NaCl observé sur la force des gels dépend néanmoins de sa concentration dans le produit. L'équation de la force de rupture (Tableau 4.5) permet de situer la limite pour l'obtention des gels forts à une concentration en NaCl équivalente à 2,5% (soit, 0,43 M). Ces résultats concordent avec les observations de Schmidt et al. (1978) qui ont également obtenu des gels de protéines de lactosérum forts en présence de NaCl, jusqu'à une concentration de 0,43 M. Le NaCl améliorerait l'équilibre entre les forces attractives et les forces répulsives au voisinage de cette concentration. A des concentrations supérieures, les répulsions entre molécules protéiques deviendraient excessives pour permettre l'établissement d'interactions protéine-protéine à un niveau optimal.

Le NaCl ajouté aux solutions expérimentales a pu également modifier les propriétés des protéines du lactosérum en solution en influençant la force ionique. Selon Schmidt (1981), il y aurait plus d'attractions protéine-protéine à une force ionique élevée, d'autant plus qu'aux concentrations élevées de sel, les ions compétitionnent avec les protéines pour l'eau. Aux faibles valeurs de la force ionique, la solubilité protéique croît (phénomène de salting in). Le NaCl en concentration de 0,05 M à 0,1 M aurait un effet protecteur sur la  $\beta$ -lactoglobuline vis-

à-vis de l'agrégation, tandis que, au delà de 0,2 M, il favoriserait cette dernière (Harwalkar et Kalab, 1985). La gélification des protéines du lactosérum a pu être favorisée jusqu'à une force ionique limite, au delà de laquelle un début de précipitation protéique a pu se produire (phénomène de salting out). Selon Schnepf (1989), des interactions protéine-solvant importantes dans un système résultent en un gel viscoélastique fortement hydraté, tandis qu'un faible niveau d'interactions protéine-solvant entraîne une précipitation due à l'exclusion de l'eau du système.

#### 4.4.5.2 Effet du lactose et du glycérol

Des gels de cohésion et de force élevées ayant de bonnes propriétés de rétention d'eau ont également été obtenus lors d'addition de lactose et de glycérol. Les liaisons croisées entre molécules protéiques dépliées permettant la formation d'une structure de gel implique la mise en jeu de diverses forces de liaison d'énergie différente dont les liaisons hydrogènes. Celles-ci, avec une énergie de liaison de 8 à 12 kJ . mole<sup>-1</sup> seraient particulièrement favorisées lors du refroidissement par la présence de sucres et de polyols (Chefftel et al., 1985). L'augmentation de la force des gels et de leur capacité de rétention d'eau par le lactose et le glycérol pourrait résulter de ce phénomène. Cependant, des diminutions observées de la force de rupture et de la cohésion des gels à certaines concentrations de lactose et de glycérol laissent penser qu'il existerait des concentrations limites au-delà desquelles ces humectants inhibent l'agrégation protéique. Dans le cas du lactose, le calcul effectué à partir de l'équation de la force de rupture indique une concentration limite proche de 7,3% et dans celui du glycérol, une concentration limite de 4%, déterminée à partir de l'équation de la cohésion. L'inhibition de l'agrégation protéique par le lactose et le glycérol au delà de leurs concentrations limites s'expliquerait par l'influence de ces substances sur les monomères de la  $\beta$ -lactoglobuline dirigeant la gélification. Cette protéine existant essentiellement sous forme d'un dimère à son état natif (à un pH voisin du pH isoélectrique) se monomérisent dès les premiers temps du chauffage. C'est un début de dénaturation, mais il est à noter qu'à ce moment, les monomères de la  $\beta$ -lg ne sont pas encore dépliés. Hillier et Lyster (1979), de même que Garrett et al. (1988) ont rapporté que le lactose inhibait l'agrégation des protéines du lactosérum lors des traitements thermiques. Selon Garrett et al. (1988), les sucres stabiliseraient la forme dénaturée de la  $\beta$ -lactoglobuline. En d'autres mots, les

sucre empêcheraient les monomères de la  $\beta$ -lactoglobuline de se dérouler et de découvrir leurs sites réactifs conduisant à des réactions d'agrégation. Les polyols exerceraient un effet identique.

#### 4.5 Conclusion

Les effets du NaCl, du lactose et du glycérol, ainsi que de leurs interactions sur des caractéristiques rhéologiques et la capacité de rétention d'eau des gels de protéines du lactosérum ont été déterminés dans cette étude. L'addition de NaCl, de lactose et de glycérol aux solutions protéiques a entraîné d'importantes modifications au niveau des gels. Ces modifications pourraient provenir de divers effets des humectants à la fois sur la dénaturation thermique et l'agrégation des protéines du lactosérum partiellement dépliées.

Le NaCl a pu modifier la gélification des protéines du lactosérum en augmentant leur charge électrostatique et en influençant la force ionique des solutions jusqu'à une concentration de 0,43 M. Le lactose et le glycérol peuvent avoir contribué à la formation des gels en favorisant l'établissement de liaisons hydrogènes. L'addition d'humectants aux solutions protéiques a également entraîné une variation de la concentration protéique dans la phase aqueuse des gels pouvant contribuer en partie à la variation des paramètres mesurés.

Des équations de régression pouvant permettre la prédiction des paramètres rhéologiques et de la capacité de rétention d'eau des gels de protéines du lactosérum à partir de la concentration en NaCl, en lactose et en glycérol des solutions protéiques ont été déterminées.

#### 4.6 Références bibliographiques

- A.O.A.C. 1984. Official methods of analysis. 14 ed. p. 303. (Association of official analytical chemists) Arlington, VI.
- Bau, H.M., Mohtadi-Nia, D.J., Lorient, D. et Debry, G. 1985. Les caractéristiques de la gélification d'isolat protéique du soja. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 18: 274.
- Barnett, A., John, G. et Abdel Tawab, G. 1957. A rapid method for the determination of lactose in milk and cheese. J. Sci. Food Agric. 8 (July).

- Bernal, V. et Jelen, P. 1985. Thermal stability of whey proteins. A calorimetric study. *J. Dairy Sci.* 68: 2847.
- Bourne, M.C. 1978. Texture Profile Analysis. *Food Technol.* 32: 62.
- Chefftel, J.-C., Cuq, J.-L. et Lorient, D. 1985. Protéines alimentaires. Technique et Documentation - Lavoisier, Paris.
- Delaney, R.A.M. 1976. Composition, properties and uses of whey protein concentrates. *J. Soc. Dairy Technol.* 29: 91.
- de Wit, J.N., Klarenbeek, G. et Adamse, M., 1986. Evaluation of functional properties of whey protein concentrates and whey protein isolates. 2. Effects of processing history and composition. *Neth. Milk Dairy J.* 40: 41.
- de Wit, J.N. 1988. Empirical observations and thermodynamical considerations on water-binding by whey proteins in food products. *J. Food Sci.* 53: 1553.
- Dumais, E., 1988. Dénaturation thermique de la  $\beta$ -lactoglobuline et propriétés gélifiantes des concentrés protéiques de lactosérum. Dans: Propriétés fonctionnelles des macromolécules alimentaires. D. Lorient, B. Colas et M. Le Meste (Eds.). Les cahiers de l'ENSBANA (6), Dijon.
- Garrett, J.M., Stairs, R.A. et Annet, R.G. 1988. Thermal denaturation and coagulation of whey proteins: effect of sugars. *J. Dairy Sci.* 71:10.
- Harwalkar, V.R. et Kalab, M. 1985. Thermal denaturation and aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin at pH 2.5. Effect of ionic strength and protein concentration. *Milchwissenschaft*, 40: 31.
- Hermansson, A.-M. 1979. Aggregation and denaturation involved in gel formation. Dans: Functionality and protein structure. A. Pour-Ei (Ed.). p. 81-103. Am. Chem. Soc. Washington, D.C.
- Hermansson et Akesson, 1975. Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems. Effect of salt on water-binding properties of model meat systems. *J. Food Sci.* 40: 603.
- Hillier, R.M. et Lyster, R.L. 1979. Whey protein denaturation in heated milk and cheese whey. *J. Dairy Res.* 46: 95.
- Jauregui, C.A., Regenstein, J.M. et Baker, R.C. 1981. A simple centrifugal Method for Measuring expressible moisture, A water-binding Property of Muscle Foods. *J. Food Sci.* 46: 1271.
- Jost, R., Baechler, R. et Masson, G. 1986. Heat gelation of oil-in-water emulsions stabilized by whey protein. *J. Food Sci.* 51: 440.
- Kinsella, J.E. et Melachouris, N. 1976. Functional properties of proteins in foods: a survey. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 7: 219.

- Kohnhorst, A.L. et Mangino, M.E. 1985. Prediction of the strength of whey protein gels based on composition. *J. Food Sci.* 50: 1403.
- Lacroix, C. et Castaigne, F. 1985. Influence du glycérol sur la texture et la stabilité des émulsions cuites à base de viande de type frankfurters. *J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment.* 18: 34.
- Mitchell, J.R. 1980. The rheology of gels. *Texture Stud.* 11: 315.
- Mulvihill, D.M. et Kinsella, J.E. 1988. Gelation of  $\beta$ -lactoglobulin: Effects of sodium chloride and calcium chloride on the rheological and structural properties of gels. *J. Food Sci.* 53: 231.
- Mulvihill, D.M. et Kinsella, J.E. 1987. Gelation characteristics of whey proteins and  $\beta$ -lactoglobulin. *Food Technol.* 41: 102.
- Paulsson, M., Hegg, P.-O., et Castberg, H.B. 1986. Heat induced gelation of individual whey proteins: A dynamic rheological study. *J. Food Sci.* 51: 87.
- Paulsson, M., Dejmek, P. et Vliet, T.V. 1990. Rheological properties of heat induced  $\beta$ -lactoglobulin gels. *J. Dairy Sci.* 73: 45.
- Razanajatovo, L., Alais, C. et Paul, R. 1978. Gélification des protéines lactosériques en présence de saccharose. *Le Lait.* 58: 483.
- Rinn, J.C., Morr, C.V., Seo, A. et Surak, J.G. 1990. Evaluation of nine semi-pilot scale whey pretreatment modifications for producing whey protein concentrate. *J. Food Sci.* 55: 510.
- SAS Institute Inc. 1985. SAS user's Guide: Statistics, Version 5, Edition Cary NC: SAS Institute Inc.
- Schmidt, R.H., Illingworth, B.L., Deng, J.C. et Carnell, J.A. 1979. Multiple regression and response surface analysis of the effects of calcium chloride and cysteine on heat-induced whey protein gelation. *J. Agric. Food Chem.* 27: 529.
- Schmidt, R.H., Illingworth, B.L., Ahmed, E.M. et Richter, R.L. 1978. The effect of dialysis on heat-induced gelation of whey protein concentrate. *J. Food Proc. Pres.* 2: 111.
- Schmidt, R.H. 1981. Gelation and coagulation. Dans: Protein functionality in foods. J.P. Cherry (Ed.). p. 131-147. ACS Symp. Series 147. Am. Chem. Soc., Washington, D.C.
- Schnepf, M. 1989. Protein-water interactions. Dans: Water and food quality. T.M. Hardman (Ed.). p. 135-168. Elsevier Applied Science, London.
- Szczesniak, A.S. 1963. Classification of textural characteristics. *J. Food Sci.* 28: 385.

- Vijayalakshmi, M.A., Lemieux, L. et Amiot, J. 1986. High performance size exclusion liquid chromatography of small molecular weight peptides from protein hydrolysates using methanol as a mobile phase additive. *J. Liq. Chromatog.* 9: 3559.
- Varunsatian, S., Watanabe, K., Hayakawa, S. et Nakamura, R. 1983. Effects of  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  and  $\text{Na}^{++}$  on heat aggregation of whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 48: 42.
- Woodward, S.A. et Cotterill, O.J. 1986. Texture and microstructure of heat-formed egg white gels. *J. Food Sci.* 51: 333.

#### 4.7 Tableaux et figures



**Tableau 4.1:** Composition chimique du CPL de l'étude et contribution à la composition finale des solutions protéiques expérimentales.

Composition chimique	CPL (% p/p)	Solutions protéiques (% p/p)	Concentration des minéraux	CPL (% p/p)	Solutions protéiques (mM)
Protéines totales	64,9	10,0	Sodium	0,2	10,1
$\alpha$ -La	26,0	4,0	Potassium	1,7	68,2
$\beta$ -lg	34,4	5,3	Calcium	0,3	12,4
Lactose	24,0	3,7	Magnesium	0,1	3,8
Lipides	2,9	0,5	Fer	11,5 (ppm)	< 0,1
Eau	6,0	0,9	Manganèse	1,0 (ppm)	< 0,1

**Tableau 4.2:** Quantités de NaCl, de lactose, de glycérol et d'eau requises pour la préparation des solutions expérimentales à 10% de protéines du lactosérum (sur une base de calcul de 300g).

Echantillon (1)	NaCl (g)	Lactose (g)	Glycérol(2) (g)	Eau pour compléter 300 g de solution (g)
1	0,0	0,0	0,0	253,5
2	0,0	0,0	15,6	237,9
3	0,0	0,0	31,3	222,3
4	0,0	9,0	0,0	244,5
5	0,0	9,0	15,6	228,9
6	0,0	9,0	31,3	213,3
7	0,0	18,0	0,0	235,5
8	0,0	18,0	15,6	219,9
9	0,0	18,0	31,3	204,3
10	4,5	0,0	0,0	249,0
11	4,5	0,0	15,6	233,4
12	4,5	0,0	31,3	217,8
13	4,5	9,0	0,0	240,0
14	4,5	9,0	15,6	224,4
15	4,5	9,0	31,3	208,8
16	4,5	18,0	0,0	231,0
17	4,5	18,0	15,6	215,4
18	4,5	18,0	31,3	199,8
19	9,0	0,0	0,0	244,5
20	9,0	0,0	15,6	228,9
21	9,0	0,0	31,3	213,3
22	9,0	9,0	0,0	235,5
23	9,0	9,0	15,6	219,9
24	9,0	9,0	31,3	204,3
25	9,0	18,0	0,0	226,5
26	9,0	18,0	15,6	210,9
27	9,0	18,0	31,3	195,3

(1) La quantité de CPL (à 64,9% de protéine) ajoutée aux échantillons était de 46,2g.

(2) La quantité de glycérol (pur à 96%) a été calculée en tenant compte de sa pureté soit: glycérol (g)= 300g x % glycérol x 1/0,96.

**Tableau 4.3:** Valeurs moyennes pour les 2 répétitions du plan d'expérience des paramètres de texture et de la capacité de rétention d'eau (CRE) des gels en fonction des concentrations en NaCl, lactose et glycérol dans le produit final.

Echantillon de gel	Concentration dans le produit final				Paramètres de texture			Capacité de rétention d'eau	
	NaCl	Lactose <sup>1</sup>	Glycérol	eau <sup>2</sup>	Fermeté	Cohésion	Force de rupture	CRE	CRE
	(% p/p)	(% p/p)	(% p/p)	(% p/p)	(N/m)		(N)	(g sol./100g)	(g eau/100g)
1	0,0	3,7	0,0	85,1	0,12	0,66	4,85	76,73	73,52
2	0,0	3,7	5,0	80,6	0,25	0,72	6,03	75,50	68,13
3	0,0	3,7	10,0	75,7	0,20	0,77	8,39	72,93	61,73
4	0,0	6,7	0,0	81,5	0,16	0,80	8,82	74,56	68,87
5	0,0	6,7	5,0	77,3	0,17	0,83	9,45	72,15	62,65
6	0,0	6,7	10,0	72,4	0,34	0,68	10,78	74,72	60,71
7	0,0	9,7	0,0	78,6	0,19	0,75	8,01	72,85	64,82
8	0,0	9,7	5,0	74,8	0,24	0,74	8,95	71,90	60,07
9	0,0	9,7	10,0	69,5	0,39	0,65	12,94	73,89	57,57
10	1,5	3,7	0,0	83,0	0,26	0,71	9,27	72,91	68,59
11	1,5	3,7	5,0	78,5	0,21	0,88	12,49	72,67	64,30
12	1,5	3,7	10,0	73,3	0,39	0,67	10,98	72,19	59,78
13	1,5	6,7	0,0	80,0,	0,28	0,80	11,49	75,18	68,16
14	1,5	6,7	5,0	75,0	0,27	0,70	18,41	71,03	60,38
15	1,5	6,7	10,0	72,0	0,39	0,72	16,39	73,67	58,79
16	1,5	9,7	0,0	77,0	0,31	0,70	12,53	74,35	64,89
17	1,5	9,7	5,0	72,7	0,31	0,72	18,99	71,19	58,21
18	1,5	9,7	10,0	68,0	0,36	0,67	17,63	70,39	53,64
19	3,0	3,7	0,0	81,5	0,27	0,75	11,00	71,47	66,01
20	3,0	3,7	5,0	76,8	0,33	0,69	16,38	73,44	63,71
21	3,0	3,7	10,0	72,6	0,41	0,71	13,25	72,94	59,28
22	3,0	6,7	0,0	79,6	0,31	0,80	16,91	71,04	63,31
23	3,0	6,7	5,0	75,3	0,26	0,87	16,81	72,20	60,39
24	3,0	6,7	10,0	71,8	0,38	0,77	23,40	70,95	55,66
25	3,0	9,7	0,0	75,5	0,33	0,72	13,88	73,92	63,26
26	3,0	9,7	5,0	71,3	0,30	0,72	12,99	73,39	58,78
27	3,0	9,7	10,0	65,5	0,36	0,68	11,88	69,50	51,60
$S_x^3$					0,011	0,09	0,59	0,68	0,68

1 La composition finale en lactose correspond au niveau d'addition du lactose dans l'échantillon additionné de la quantité de lactose apportée par le lactosérum.

2 Le % d'eau dans les gels équivaut à l'eau ajoutée lors de la formulation des échantillons additionné de la quantité d'eau apportée par le lactosérum (soit 0,93%).

3  $S_x$  = Erreur-type de la moyenne

**Tableau 4.4:** Résultats d'analyses de variance effectuées sur les paramètres de texture et la capacité de rétention d'eau des gels.

Source de variation	dl	FERMETÉ		FORCE DE RUPTURE		COHÉSION		CRE (g solution/100g)		CRE (g eau/100g)	
		SCE(c) (x 10 <sup>-3</sup> )	Var exp(d) (%)	SCE(c)	Var exp(d) (%)	SCE(c) (x 10 <sup>-4</sup> )	Var exp(d) (%)	SCE(c)	Var exp(d) (%)	SCE(c)	Var exp(d) (%)
(a)	(b)										
REP	1	0,24	0,07	1,87	0,19	36,34	1,72	7,65	4,20	5,85	0,45
Sel L	1	87,32****	25,33	377,14****	38,43	15,47	0,73	29,73****	16,33	144,53****	11,10
Sel Q	1	10,23*	2,97	64,31****	6,55	9,72	0,46	1,77	0,97	1,61	0,12
Lact L	1	15,01**	4,36	70,42****	7,18	45,11	2,14	9,42*	5,39	303,06****	23,28
Lact Q	1	0,41	0,12	109,99****	11,21	388,74**	18,44	0,05	0,03	0,00	0,00
Glyc L	1	115,56****	33,53	92,71****	9,45	157,08*	7,45	15,48**	8,50	759,72****	58,36
Glyc Q	1	21,90**	6,35	12,83*	1,31	187,23*	8,88	1,94	1,07	1,79	0,14
Sel L Lact L	1	11,87*	3,44	26,08**	2,66	1,01	0,05	4,99	2,74	5,11	0,39
Sel L Lact Q	1	0,29	0,08	37,33**	3,80	40,20	1,91	1,58	0,87	0,37	0,03
Sel Q Lact L	1	0,01	0,00	32,27	3,29	59,77	2,84	0,84	0,46	1,09	0,08
Sel Q Lact Q	1	0,67	0,19	9,30	0,95	100,04	4,75	6,91	3,79	4,65	0,36
Sel L Glyc L	1	8,89*	2,58	2,27	0,23	0,09	0,00	0,03	0,02	0,22	0,02
Sel L Glyc Q	1	2,45	0,71	2,69	0,27	7,54	0,36	12,20*	6,70	8,21*	0,63
Sel Q Glyc L	1	1,06	0,31	2,18	0,22	6,54	0,31	2,53	1,39	1,77	0,14
Sel Q Glyc Q	1	3,54	1,03	38,96**	3,97	14,57	0,69	7,01	3,85	5,55	0,43
Lact L Glyc L	1	0,96	0,28	0,05	0,01	55,82	2,65	3,08	1,69	1,35	0,10
Lact L Glyc Q	1	1,74	0,51	2,77	0,28	7,74	0,37	2,00	1,10	1,40	0,11
Lact Q Glyc L	1	0,29	0,08	6,96	0,71	51,68	2,45	3,14	1,72	2,79	0,21
Lact Q Glyc Q	1	6,25	1,81	3,60	0,37	0,11	0,01	8,02*	4,40	6,70*	0,52
Erreur	35	60,16		89,47		960,29		63,45		46,11	
Total	53	344,70		981,31		2107,75		182,23		1301,85	

(a) Rep = répétition; Lact = lactose; Glyc = glycérol; L = effet linéaire; Q = effet quadratique.

(b) dl = degré de liberté

(c) SCE = Somme des carrés des écarts

(d) Var exp = variation expliquée

\* Significatif au seuil 0,05; \*\* Significatif au seuil 0,01; \*\*\*\* Significatif au seuil 0,0001.

**Tableau 4.5:** Equations de régression multiple reliant les paramètres mesurés sur les gels à leurs concentrations en sel, lactose et glycérol.

Paramètre du gel	Equations <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	F
Fermeté (N/m)	$Y=(150,46 + 32,83S + 6,81L - 5,96G + 1,71G^2) \times 10^{-3}$	0,684	26,52****
Force de rupture (N)	$Y=(5,24S - 1,03S^2 + 4,99L - 0,34L^2 + 0,32G) - 9,22$	0,728	25,72****
Cohésion	$Y=(520,44 + 81,26L - 6,32L^2 + 11,62G - 1,58G^2) \times 10^{-3}$	0,369	7,17****
Capacité de rétention d'eau (g eau/100 g de gel)	$Y=75,20 - 1,34S - 0,97L - 0,92G$	0,927	212,83****

<sup>1</sup> S = sel; L = lactose et G = glycérol;

Intervalles de validité: 0 < sel < 3%; 3,72 < lactose < 9,72%; 0 < glycérol < 10% (g/100g de solutions)

\*\*\*\* Significatif au seuil 0,0001

**Tableau 4.6:** Concentration en NaCl, lactose, glycérol et protéines dans la phase aqueuse des gels.

Echantillon de gel	NaCl (g/100g eau)	Lactose (g/100g eau)	Glycérol (g/100g eau)	Protéine (g/100g eau)	Protéine (g/100g eau + glycérol)
1	0,00	4,37	0,00	11,76	11,76
2	0,00	4,61	6,20	12,41	11,68
3	0,00	4,91	13,21	13,21	11,67
4	0,00	8,25	0,00	12,27	12,27
5	0,00	8,69	6,47	12,93	12,15
6	0,00	9,28	13,81	13,81	12,13
7	0,00	12,37	0,00	12,73	12,73
8	0,00	13,00	6,69	13,37	12,53
9	0,00	13,98	14,38	14,38	12,57
10	1,81	4,48	0,00	12,05	12,05
11	1,91	4,74	6,37	12,50	11,98
12	2,05	5,07	13,64	12,74	12,00
13	1,88	8,40	0,00	12,99	12,99
14	2,00	8,96	6,67	13,34	12,50
15	2,09	9,34	13,90	13,64	12,20
16	1,95	12,63	0,00	13,76	13,76
17	2,06	13,37	6,88	13,90	12,87
18	2,21	14,30	14,71	14,71	11,37
19	3,68	4,57	0,00	12,27	12,27
20	3,91	4,85	6,51	12,56	12,23
21	4,13	5,13	13,78	13,03	12,11
22	3,77	8,44	0,00	13,25	13,25
23	3,99	8,93	6,65	13,29	12,46
24	4,18	9,36	13,93	13,78	12,23
25	3,98	12,88	0,00	13,93	13,93
26	4,21	13,63	7,01	14,02	13,10
27	4,58	14,84	15,27	15,27	13,25

Figure 4.1 : Chromatogramme obtenu lors de la quantification par H P L C des fractions protéiques du C P L de l'étude.

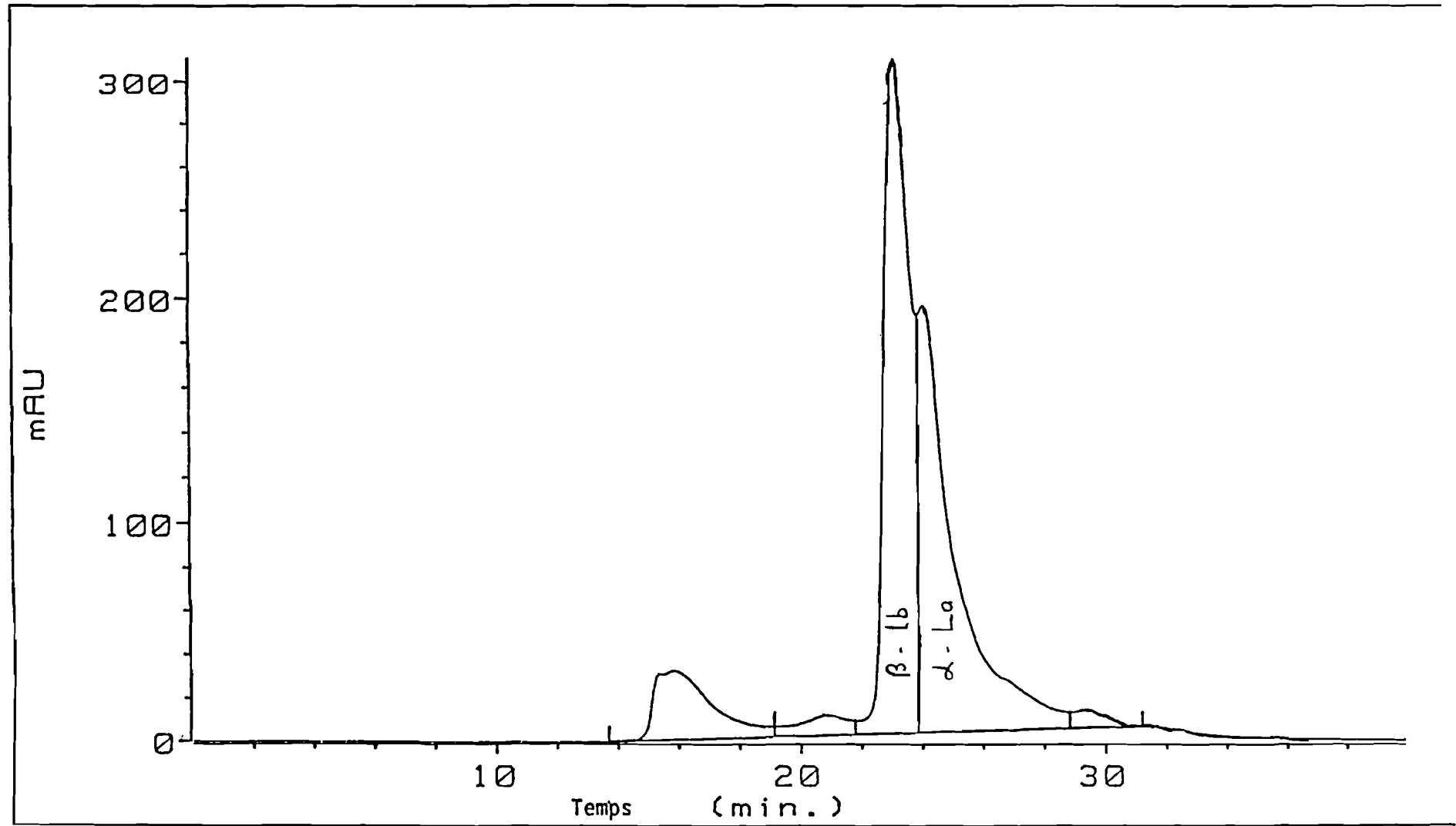


Figure 4.2 : Effet du sel et du glycérol sur la fermeté des gels de protéines de lactosérum pour une concentration de lactose de 3,72 %.

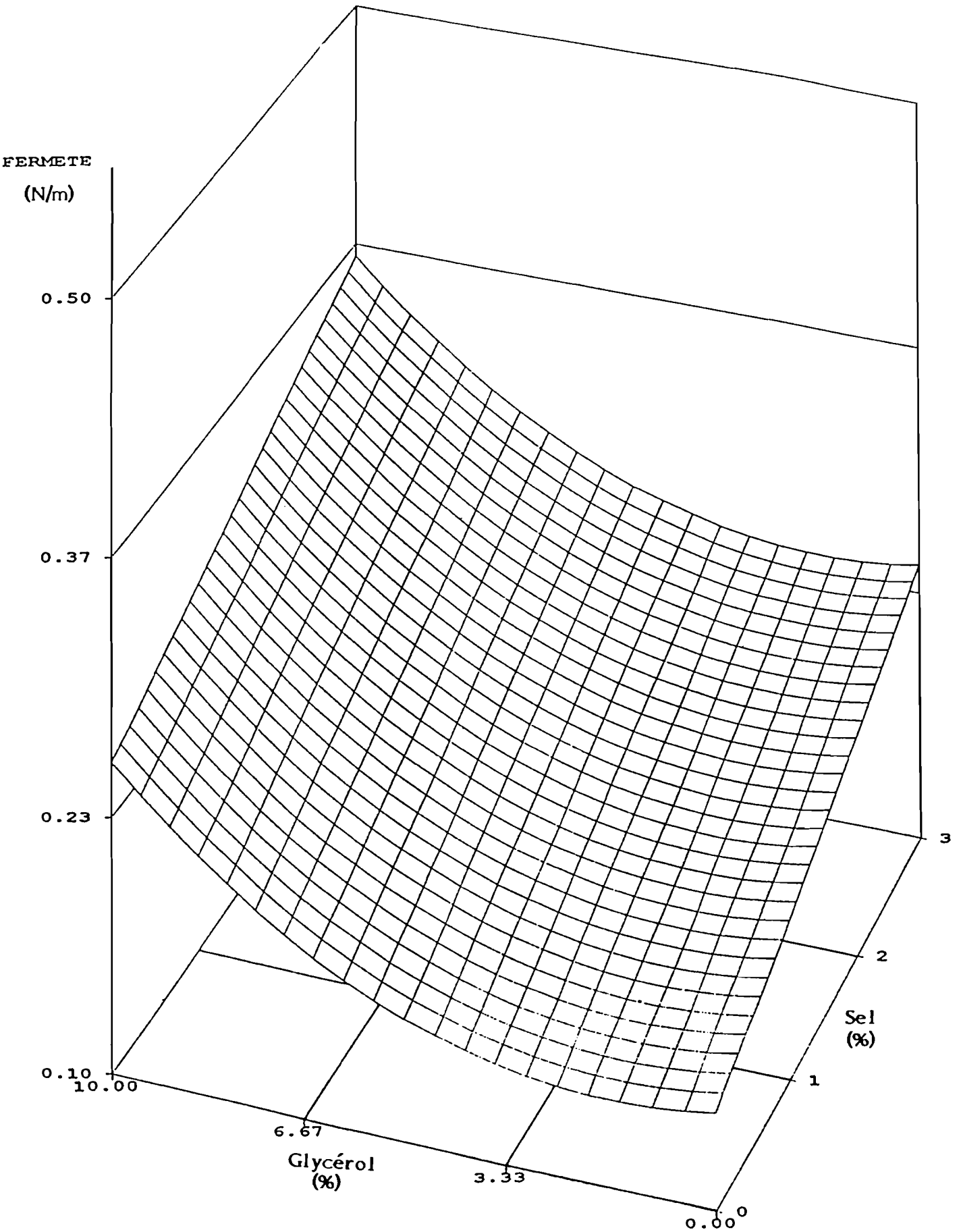
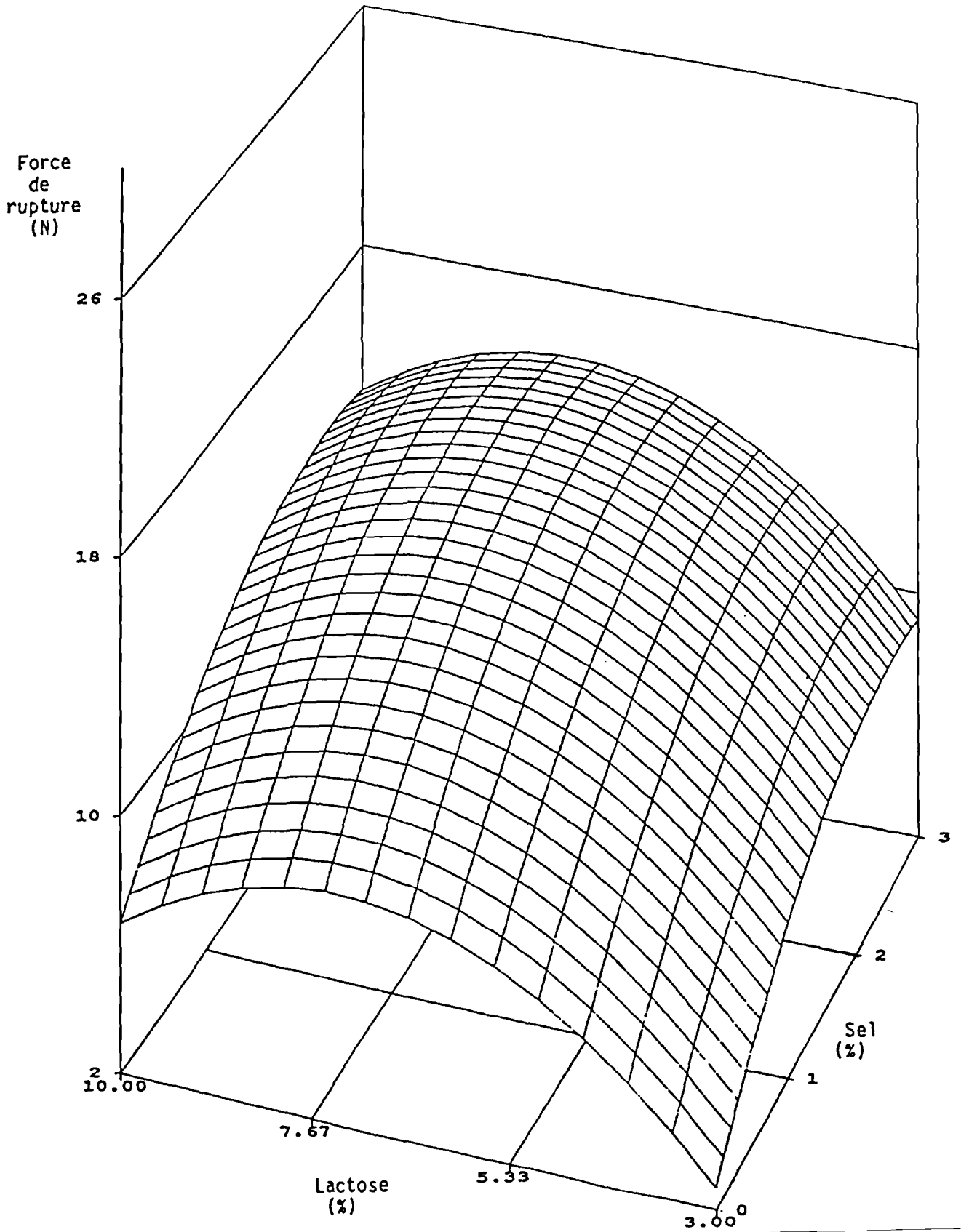




Figure 4.3: Effet du sel et du lactose sur la force de rupture des gels de protéines de lactosérum.



## CHAPITRE 5

### PROPRIÉTÉS THERMIQUES DES PROTÉINES DU LACTOSÉRUM EN PRÉSENCE DE CHLORURE DE SODIUM, DE LACTOSE ET DE GLYCÉROL.

#### 5.1 Résumé

Le comportement thermique des protéines du lactosérum en solutions aqueuses à 10% de protéines (pH 6,0) en présence de NaCl (0 à 3%), de lactose (3,7 à 9,7%) et de glycérol (0 à 10%) a été étudié par calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Les thermogrammes obtenus ont été dominés par la présence de 2 transitions endothermiques correspondant à la dénaturation de l' $\alpha$ -lactalbumine ( $\alpha$ -La) et de la  $\beta$ -lactoglobuline ( $\beta$ -lg). Pour l'échantillon sans addition de sel, de lactose ou de glycérol, la température de dénaturation ( $T_{max}$ ) de l' $\alpha$ -La a été de 70,5°C et l'enthalpie de dénaturation ( $\Delta H$ ) de 6 J/g de protéine. La  $\beta$ -lg a été dénaturée à 78,8°C avec un  $\Delta H$  de 10 J/g de protéine. Des valeurs de  $T_{max}$  et de  $\Delta H$  plus élevées ont été obtenues lors d'addition de sel, de lactose et de glycérol aux solutions protéiques. L'effet thermostabilisant du NaCl a été le plus important, suivi de celui du lactose. Les changements dans le comportement thermique des protéines du lactosérum résulteraient des influences individuelles du NaCl, du lactose et du glycérol sur la structure du solvant, l'eau, et sur les principales forces de liaison qui stabilisent la structure native des protéines, spécialement les interactions hydrophobes.

#### 5.2 Introduction

Les protéines du lactosérum, largement utilisées comme ingrédients dans de nombreux produits alimentaires, sont bien connues pour leur valeur nutritionnelle

élevée et la diversité de leurs propriétés fonctionnelles. Cependant, l'utilisation par l'industrie alimentaire de ces protéines en tant que source de protéines fonctionnelles n'a pas encore atteint son plein potentiel dû en partie à leur comportement variable dans les produits (Morr, 1985; Mangino *et al.*, 1987). Selon de Wit (1988), cette variabilité de la fonctionnalité serait reliée au comportement complexe des protéines du lactosérum lors des traitements thermiques, associé à leur thermo-sensibilité élevée. Étapes importantes dans la production de concentrats de protéines du lactosérum et lors de la fabrication des produits alimentaires, les traitements thermiques couramment utilisés, tels le préchauffage, la pasteurisation et la stérilisation, affectent la structure et les propriétés des protéines du lactosérum de façon réversible ou irréversible (de Wit et Klarenbeek, 1984). Une meilleure compréhension de leur comportement thermique est essentielle pour arriver à contrôler les propriétés fonctionnelles des protéines du lactosérum (de Wit, 1988). La connaissance de la stabilité sous diverses conditions des protéines du lactosérum dans les aliments auxquels elles sont ajoutées, est importante pour les fabricants qui envisagent l'utilisation des concentrats de protéines du lactosérum (CPL) en tant qu'ingrédients nutritionnels et fonctionnels (Bernal et Jelen, 1985).

Le chauffage déclenche des réactions de dénaturation, d'agrégation et de précipitation des protéines du lactosérum. Ces réactions à leur tour altèrent les propriétés fonctionnelles et provoquent une diminution des propriétés de solubilité, d'émulsification, de moussage et de gélification (Morr, 1982; Mulvihill et Donovan, 1987; Patel *et al.*, 1990). Lorsqu'elles sont chauffées, les protéines globulaires se déplissent. Un tel déplissement est accompagné d'un changement de propriétés thermiques de la protéine pouvant être observé par l'analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC) (Wright, 1982). Selon Paulsson *et al.* (1990), l'utilisation du DSC pour étudier la stabilité et certains paramètres thermodynamiques de la dénaturation protéique s'est largement généralisée. Cette technique, peut fournir directement des informations sur les changements d'enthalpie associés à la dénaturation de la protéine, en plus des données de température accessibles par des méthodes spectroscopiques.

De nombreux travaux sur la stabilité thermique des protéines du lactosérum ont déjà été réalisés à l'aide du DSC, mais ces travaux ont été majoritairement consacrés au comportement thermique des protéines du lactosérum considérées

individuellement (Rüegg et al., 1977; de Wit et Swinkels, 1980; Harwalkar, 1980; de Wit et Klarenbeek, 1981; Bernal et Jelen, 1985; Park et Lund, 1984). Seulement quelques travaux portant sur le comportement thermique des protéines du lactosérum entières en fonction de certains facteurs environnementaux (pH, lactose, calcium) sont rapportés dans la littérature. de Wit et al. (1983) ont mesuré le niveau de dénaturation des protéines de divers concentrats de protéines de lactosérum du commerce; Varunsatian et al. (1983) ont étudié les effets des sels et de Wit et Klarenbeek (1984) ceux des traitements thermiques sur les propriétés thermiques des concentrats de protéines du lactosérum. Plus récemment Patel et al. (1990) ont déterminé la relation existant entre les propriétés thermiques des protéines du lactosérum et la composition des concentrats protéiques.

Dans la présente étude, les objectifs visés étaient de déterminer les changements dans le comportement thermique des protéines du lactosérum en solutions aqueuses en présence de NaCl, de lactose et de glycérol à différentes concentrations en vue d'expliquer les effets de ces humectants sur le pouvoir gélifiant des protéines.

### 5.3 Matériel et méthodes

#### 5.3.1 Préparation des solutions aqueuses de protéines du lactosérum

Tel que détaillé au chapitre précédent (chapitre 4, section 4.3.1), des solutions aqueuses à 10% de protéines du lactosérum (pH 6,0) et à différentes concentrations de NaCl (0, 1,5 et 3%, p/p), de lactose (3,72, 6,72 et 9,72%, p/p) et de glycérol (0, 5 et 10%, p/p) ont été préparées à partir d'un concentrat à 65% de protéines du lactosérum originant d'un lactosérum doux écrémé, clarifié, concentré par ultrafiltration et diafiltration, puis lyophilisé, et dont la composition a été présentée au Tableau 4.1.

#### 5.3.2 Analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC) des solutions protéiques de lactosérum

L'analyse des propriétés thermiques des protéines du lactosérum a été effectuée à l'aide d'un calorimètre différentiel à balayage Dupont 9900 (Dupont, Wilmington, DE) équipé d'une cellule DSC 910. Le calibration du calorimètre pour la

température et l'enthalpie était effectuée au moyen de l'indium possédant une température de fusion de 156,6°C et une enthalpie de 6,80 cal/g. Des échantillons de solutions protéiques d'environ 20mg ont été pesés précisément ( $\pm 0,1$ mg) et scellés hermétiquement dans des capsules d'aluminium Dupont. De l'eau distillée (20mg) était également scellée dans une autre capsule et utilisée comme référence. Les échantillons ont été chauffés de 20°C à 110°C à une vitesse de 10°C/min. Les courbes obtenues de flux de chaleur versus température présentaient 2 pics de transition (Figure 5.1) dont la délimitation des aires a été effectuée en extrapolant le début de la seconde transition jusqu'à la ligne de base (Wright, 1982). Le tracé de cette ligne, ainsi que le calcul de l'aire sous la courbe du pic de transition endothermique ont été effectués à l'aide du programme d'intégration des courbes du DSC (Dupont, Wilmington, DE). L'enthalpie (J/g) associée à la dénaturation de la fraction protéique a été mesurée à partir de l'aire sous la courbe du pic de transition endothermique et rapportée à la quantité de la fraction protéique de l'échantillon:

$$\Delta H = C \frac{A}{M} \quad (1)$$

où C= Constante de calibrage (J/m<sup>2</sup>)

A= Aire sous la courbe du pic endothermique de la fraction considérée (m<sup>2</sup>)

M= Quantité de la fraction protéique considérée dans l'échantillon (g)

La température maximum du pic (T<sub>max</sub>) a été considérée comme représentant la température de dénaturation de la fraction protéique considérée (Wright, 1982). L'analyse thermique des échantillons a été effectuée en triplicata.

### 5.3.3 Analyses statistiques

La répartition du sel, du lactose et du glycérol dans les solutions protéiques de lactosérum avait été effectuée selon un plan factoriel complet à 3 facteurs et 3 niveaux. Les niveaux d'addition étaient les suivants: NaCl (0, 1,5 et 3%, p/p), lactose (0, 3 et 6%,p/p) et glycérol (0, 5 et 10%,p/p). La préparation et la composition des échantillons sont indiquées aux Tableaux 4.2 et 4.3. Les valeurs moyennes de température et d'enthalpie de dénaturation ont été calculées à partir des thermogrammes et soumises à une analyse de variance après décomposition en degré simple de liberté par une méthode de comparaison orthogonale (Lison,

1968). Le seuil de significativité des effets des traitements a été fixé à  $\alpha = 0,05$ . Les effets significatifs expliquant au moins 5% de la variation totale d'un paramètre ont été retenus pour une analyse de régression multiple afin de calculer des équations reliant les différents paramètres aux effets importants des facteurs étudiés. Le calcul des moyennes, les contrastes, les analyses de variance et de régression ont été réalisés à l'aide des procédures du progiciel SAS (SAS Institute Inc., 1985).

## 5.4 Résultats et discussion

### 5.4.1 Propriétés thermiques de la solution protéique (10% de protéines du lactosérum) sans addition d'humectants

L'analyse par DSC de la solution de protéines du lactosérum sans additif (échantillon témoin) a généré des thermogrammes caractérisés par la présence de deux transitions endothermiques (Figure 5.1), à partir desquelles étaient mesurées la température ( $T_{max}$ ) et l'enthalpie ( $\Delta H$ ) de dénaturation représentant respectivement la stabilité thermique et l'énergie requise pour dénaturer la protéine. La première transition a été obtenue à  $70,5^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 0,87^{\circ}\text{C}$ ) et la seconde à  $78,8^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 0,46^{\circ}\text{C}$ ). La première transition correspondrait à la dénaturation de l' $\alpha$ -lactalbumine ( $\alpha$ -La) et la seconde à la  $\beta$ -lactoglobuline ( $\beta$ -lg), l' $\alpha$ -La étant moins stable à la chaleur que la  $\beta$ -lg (de Wit et al., 1983; Bernal et Jelen, 1985; Patel et al., 1990). Les enthalpies correspondantes à la dénaturation de ces 2 protéines ont été de 6,3 J/g d' $\alpha$ -La et de 10 J/g de  $\beta$ -lg.

Les valeurs de  $T_{max}$  de cette étude sont comparables à celles de Paulsson et al. (1990) qui ont récemment rapporté des  $T_{max}$  de  $67^{\circ}\text{C}$  et  $80^{\circ}\text{C}$ , respectivement pour l' $\alpha$ -La et la  $\beta$ -lg. D'autres auteurs (de Wit et al., 1983; de Wit et Klarenbeek, 1984; Bernal et Jelen, 1985; Patel et al., 1990) ont rapporté des températures de dénaturation plus basses pour ces 2 protéines du lactosérum, mais les valeurs rapportés avaient été obtenues après extrapolation de la température de dénaturation ( $T_D$ ) à une vitesse de chauffage nulle afin d'éliminer l'effet de la vitesse de chauffage produisant des valeurs de température de dénaturation plus élevées (de Wit et Swinkels, 1980). Ainsi, de Wit et Klarenbeek (1984) ont obtenu des  $T_D$  de  $62^{\circ}\text{C}$  pour l' $\alpha$ -La,  $64^{\circ}\text{C}$  pour la sérumalbumine bovine,  $72^{\circ}\text{C}$  pour l'immunoglobuline (G) et  $76^{\circ}\text{C}$  pour la  $\beta$ -lg. La valeur d'enthalpie associée à la dénaturation de la  $\beta$ -lg dans cette étude est similaire à celle trouvée par Paulsson et

al. (1990), tandis que pour l' $\alpha$ -La, nous avons obtenu une valeur plus faible. Une valeur de  $\Delta H$  faible pour l' $\alpha$ -La peut indiquer que cette protéine dans le concentrat protéique étudié avait subi une dénaturation partielle avant l'analyse.

On admet généralement que les transitions endothermiques observées sur les thermogrammes de DSC traduisent les changements de conformation des protéines. La conformation d'une protéine liée à ses structures secondaire et tertiaire est fragile et par conséquent, le traitement des protéines par un acide, une base, des solutions salines concentrées, la chaleur, les radiations, etc. peut modifier de façon importante cette conformation (Cheftel et al., 1985). Tout changement de conformation de la molécule protéique résultant d'une modification au niveau de la structure secondaire, tertiaire ou quaternaire et non suivi d'une rupture de liaisons peptidiques impliquées dans la structure primaire peut être considéré comme une dénaturation protéique (Arntfield et Murray, 1981; Cheftel et al., 1985). La sensibilité d'une protéine à la dénaturation est fonction de la vitesse avec laquelle l'agent dénaturant va rompre les interactions ou liaisons stabilisant les structures autres que primaire et comme ces structures varient d'une protéine à l'autre, les effets des agents dénaturants dépendront de la protéine (Cheftel et al., 1985). La chaleur est, parmi les agents physiques, celui qui est le plus souvent impliqué dans le phénomène de dénaturation des protéines.

Les changements importants qui se sont produits dans la structure des protéines du lactosérum étaient gouvernés par la température. Dû à la faible stabilité de leur structure tridimensionnelle résultant de la faible énergie impliquée dans chacune des interactions stabilisant les structures secondaire, tertiaire et quaternaire, les protéines du lactosérum sont particulièrement sensibles à la dénaturation thermique. Selon Cheftel et al. (1985), la vitesse de dénaturation des protéines du lactosérum augmenterait d'environ 600 fois lorsque la température augmente de 10°C dans l'intervalle de température dans lequel intervient la dénaturation, alors que dans les mêmes conditions, la vitesse double pour de nombreuses réactions chimiques. Cependant, le comportement thermique affiché par chacune des protéines du lactosérum a possiblement été influencé par d'autres facteurs pouvant être la vitesse de chauffage, la présence d'autres protéines, leurs proportions et leur état natif, le pH, la nature et la quantité d'autres constituants présents tels les lipides, le lactose et les minéraux. En effet, la température de dénaturation augmente avec la vitesse de chauffage (de Wit et Swinkels, 1980). En mélange les

protéines du lactosérum chauffées manifestent une plus grande stabilité due à la fois à la présence d'autres protéines et constituants du CPL (Rüegg *et al.*, 1977; Bernal et Jelen, 1985). Il est bien connu que la résistance à la dénaturation thermique des protéines augmente avec la concentration protéique. Cette concentration atteignant 10% (p/p) dans les solutions protéiques étudiées a été dominée par la  $\beta$ -lg (5,3%, p/p) et l' $\alpha$ -La (4,0%, p/p). Dans les préparations protéiques de lactosérum où la  $\beta$ -lg est majoritaire comme dans cette étude, ce serait la thermosensibilité de cette protéine qui influencerait le comportement de l'ensemble des constituants protéiques (Dumais, 1988). La présence d'environ 0,5% de matière grasse dans les solutions protéiques a également pu contribuer à la stabilité des protéines du lactosérum, des protéines telle la SAB voyant leur stabilité à la chaleur augmentée par des liaisons avec des acides gras (Bernal et Jelen, 1985). L'effet protecteur de ces acides gras semble d'ailleurs fonction de la longueur de la chaîne (Yon, 1969). Parmi les constituants de la solution protéique sans humectants ajoutés, figure le lactose (à raison de 3,7%, p/p) dont les effets sur la dénaturation thermique des protéines du lactosérum seront discutés en détail ultérieurement (section 5.4.2.).

Il est aussi connu que lors du chauffage d'une solution de protéines du lactosérum, le pH exerce un effet considérable sur la dénaturation des protéines, mais variable de part et d'autre d'une valeur de pH (pH isoélectrique) où la stabilité protéique est habituellement la plus grande. Aux valeurs extrêmes de pH, les protéines sont souvent dénaturées par les fortes répulsions électrostatiques des groupes ionisés favorisant le déplissement de la molécule (Cheftel *et al.*, 1985). La zone isoélectrique des protéines du lactosérum est située dans l'intervalle de pH 4,5 - 5,5 (Jost *et al.*, 1986; Paulsson *et al.*, 1986). Ces protéines, cependant, présenteraient du côté alcalin du point isoélectrique une thermosensibilité plus élevée que du côté acide (de Wit, 1981; Varunsatian *et al.*, 1983). La  $\beta$ -lg, par exemple, stable à un pH de 5 à 7 subirait une diminution de sa température de dénaturation lorsque le pH augmente de 6 à 8 (Park et Lund, 1984). Les autres constituants importants du concentrat protéique étudié ayant pu influencer la stabilité thermique des protéines sont les minéraux. Les minéraux en plus grande concentration dans les solutions protéiques expérimentales ont été le  $K^+$  (68 mM), suivi de  $Ca^{++}$  (12 mM/l), de  $Na^+$  (10 mM/l) et de  $Mg^{++}$  (4 mM/l) donnant une force ionique, respectivement de 0,034, 0,024, 0,005 et 0,008. Selon Varunsatian *et al.*, (1983) les effets de certains de ces cations ( $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$  et  $Na^+$ ) sur la dénaturation des protéines du lactosérum



peuvent être observés à des concentrations correspondant à une force ionique aussi faible que 0,01, soit pour les ions  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Mg}^{++}$  une concentration d'environ 5 mM/l et pour les ions  $\text{Na}^+$ , une concentration de 20 mM/l. Les minéraux trouvés ont pu exercer une action stabilisante sur les protéines du lactosérum. L' $\alpha$ -La, par exemple, aurait besoin de la présence du calcium pour augmenter sa stabilité thermique à un pH supérieur à 4,5 (Dumais, 1988). Cependant, en dépit de l'importance du sujet, relativement peu de travaux ont été consacrés à ce jour sur les effets des minéraux sur la stabilité thermique des protéines du lactosérum.

#### 5.4.2 Effets de l'addition de NaCl, de lactose et de glycérol sur les propriétés thermiques de l' $\alpha$ -La et de la $\beta$ -lg.

Les modifications apportées au comportement thermique de l' $\alpha$ -La et de la  $\beta$ -lg suite à l'addition dans les solutions protéiques de NaCl, de lactose et de glycérol seuls ou en combinaison sont présentées au Tableau 5.1. On peut remarquer pour les deux protéines que l'addition d'humectant a entraîné une augmentation de la température de dénaturation. Pour la  $\beta$ -lg,  $T_{\text{max}}$  a varié de 78,75°C (échantillon sans addition d'humectant) à 87,82°C (échantillon ayant reçu le plus d'humectant) et pour l' $\alpha$ -La de 70,46°C à 75,18°C. Contrairement à la température de dénaturation, les valeurs de  $\Delta H$  pour les deux protéines augmentaient ou diminuaient selon les cas, avec des variations relatives plus importantes pour l' $\alpha$ -La. L'analyse de variance réalisée sur les données de température et d'enthalpie de dénaturation a donné les résultats rapportés au Tableau 5.2. Pour la température de dénaturation des protéines, les effets simples des humectants ont été les plus importants. L'effet linéaire du NaCl expliquait à lui seul 87% de la variation totale du  $T_{\text{max}}$  de la  $\beta$ -lg et 49% pour l' $\alpha$ -La. Celui du lactose représentait 14% de la variation totale du  $T_{\text{max}}$  de l' $\alpha$ -La et près de 5% pour la  $\beta$ -lg. L'effet linéaire du glycérol, significatif seulement pour la  $\beta$ -lg, n'assumait que 2% seulement de la variation totale de la température de dénaturation de cette protéine. Un seul effet complexe significatif a été observé, soit l'interaction lactose linéaire x glycérol quadratique pour le  $T_{\text{max}}$  de l' $\alpha$ -La, avec moins de 2% de la variation totale. Pour l'enthalpie de dénaturation, l'effet linéaire du NaCl a expliqué 39% de la variation de l' $\alpha$ -La et 3% seulement de celle de la  $\beta$ -lg. L'effet principal du lactose était significatif sur la variation d'enthalpie des 2 protéines, et celui du glycérol uniquement sur la variation d'enthalpie de la  $\beta$ -lg. Les effets complexes significatifs et expliquant au moins 5% de la variation totale d'enthalpie ont été, pour

l' $\alpha$ -La, l'effet quadratique du lactose (5%) et les interactions suivantes: sel linéaire x lactose linéaire (8%), sel quadratique x lactose linéaire (6%) et lactose linéaire x glycérol quadratique (9%). Pour la  $\beta$ -lg, de tels effets complexes ont été: l'interaction sel quadratique x lactose linéaire (6%), sel quadratique x lactose quadratique (7%), sel linéaire x glycérol quadratique (5%), sel quadratique x glycérol quadratique (11%). Seules les équations de régression reliant le  $T_{max}$  de l' $\alpha$ -La et de la  $\beta$ -lg aux effets principaux significatifs des humectants ont été calculées et présentées au Tableau 5.3. Ces équations valides dans l'intervalle des limites de l'étude permettent d'expliquer 95% de la variation de la température de dénaturation de la  $\beta$ -lg et 66% de celle de l' $\alpha$ -La. La température de dénaturation des protéines du lactosérum augmente avec la concentration de sel principalement et de lactose. L'influence du glycérol sur la stabilité des protéines a été la moins importante, son coefficient étant le plus faible. Dans l'ensemble, les résultats obtenus concordent avec les propriétés générales des agents humectants sur la dénaturation des protéines. Le NaCl, le lactose et le glycérol stabilisent les protéines globulaires contre un déplissement à la chaleur. Un effet protecteur similaire du NaCl sur la dénaturation thermique de la  $\beta$ -lg a déjà été rapporté (Yon, 1969; Varunsatian *et al.*, 1983; Harwalkar et Kalab, 1985). Il en est de même de celui du lactose (de Wit, 1981; Park et Lund, 1984; Bernal et Jelen, 1985), ainsi que de celui du glycérol vis à vis de la dénaturation thermique de diverses protéines (Back *et al.*, 1979). Ces derniers auteurs ayant mesuré l'augmentation de la température de dénaturation de plusieurs protéines en présence des sucres et des polyols (glucose, saccharose, sorbitol et glycérol) ont observé également que, parmi tous ces composés, l'effet protecteur du glycérol sur la dénaturation thermique des protéines était le plus faible, même si le glycérol était utilisé à une concentration aussi élevée que 50% dans les solutions protéiques.

#### 5.4.2.1 Mécanisme de dénaturation thermique des protéines du lactosérum en mélange

Le mécanisme de la dénaturation thermique des protéines du lactosérum en mélange a été proposé par certains auteurs (Hillier et Lyster, 1979; Dumais, 1988;

Garrett et al., 1988). Processus à deux étapes incluant un déplissement et une agrégation, la dénaturation thermique des protéines du lactosérum serait réversible lorsque le déplissement implique une rupture des liaisons hydrogènes et hydrophobes et irréversible lorsque celui-ci implique une rupture de ponts disulfures contribuant au maintien de la conformation native des protéines (Schmidt et al., 1984; Cheftel et al., 1985; de Wit, 1989). La dénaturation des protéines en mélange a probablement débuté au dessus de 40°C avec une dissociation en monomère (PM = 18000 - 18400 Da) de la  $\beta$ -lg existant essentiellement sous la forme d'un dimère (PM= 36000 Da) à l'état natif et à un pH voisin du pH isoélectrique (pH 5,2 - 5,4). Entre 40 et 70°C, le déplissement des monomères de la  $\beta$ -lg ne serait que partiel et encore réversible, celui-ci n'impliquant qu'une rupture de liaisons hydrogènes et hydrophobes. Contrairement à la  $\beta$ -lg, l' $\alpha$ -La et la SAB dans le même intervalle de température seraient déplissées de façon irréversible. Le déplissement de ces deux protéines a pu stimuler celui des monomères de la  $\beta$ -lg en l'impliquant dans les réactions d'agrégation entre 70 et 90°C. Le déplissement d'une protéine du lactosérum serait intimement relié à celui des autres protéines (Bernal et Jelen, 1985; Paulsson et al., 1990). Au delà de 79°C, pour le contrôle sans addition d'humectants, les deux ponts disulfures stabilisant la conformation de la  $\beta$ -lg partiellement déplissée se sont ouverts. Le bris des ponts disulfures a entraîné une dénaturation irréversible de cette protéine, les monomères de celle-ci étant devenus plus susceptibles à participer pleinement à une série de réactions incluant les interactions inter-protéines via la formation de nouveaux ponts disulfures et de ponts de calcium, ainsi que via la formation des liaisons hydrophobes et hydrogènes lors du refroidissement. La conformation déplissée des molécules de protéines du lactosérum découvrirait les chaînes latérales enfouies dans la structure native des protéines globulaires et augmenterait ainsi la réactivité de certains groupements tels les ponts disulfures et plus spécialement les groupements thiol des cystéines (Paulsson et al., 1990). Il est connu que les réactions d'échange entre groupements thiol et les ponts disulfures jouent souvent un rôle décisif dans l'irréversibilité de la dénaturation des protéines en déclenchant les phénomènes d'agrégation, la seconde étape de la dénaturation. En fin de traitement, le stade ultime de la dénaturation pouvait correspondre à une structure protéique totalement déplissée dans laquelle les interactions intra-protéines et protéine-eau étaient transitoires (Cheftel et al., 1985). En ajoutant du sel, du lactose et du glycérol aux solutions protéiques, de nombreux phénomènes ont pu intervenir simultanément, lesquels ont conféré une plus grande stabilité thermique aux

protéines du lactosérum. L'influence des humectants ajoutés s'est manifestée à la fois sur le solvant l'eau et sur la structure même des protéines.

#### 5.4.2.2 Influence du sel, du lactose et du glycérol sur l'hydratation des protéines et la structure de l'eau

Selon de Wit (1981), la thermolabilité des protéines du lactosérum diminue lorsque la teneur en matière sèche augmente. La présence d'eau faciliterait ainsi la dénaturation (Cheftel et al., 1985), suite à une augmentation des forces de répulsion intramoléculaires se produisant lorsque les protéines sont en solution dans l'eau (Urbanski et al., 1983). Les conditions qui assurent la stabilité des protéines doivent être considérées en relation avec le milieu dans lequel ces protéines sont dissoutes. Selon Yon (1969), les diverses liaisons non covalentes (telles les liaisons hydrogènes et les liaisons hydrophobes) contribuant à la stabilité conformationnelle des protéines en solution résultent non seulement des interactions entre les groupes polaires ou entre les groupes non-polaires de la molécule, mais aussi des interactions entre ces groupes et le solvant eau.

L'eau en tant que solvant constitue un facteur important en conditionnant la structure des protéines en solution (Yon, 1969). En ajoutant aux solutions protéiques du NaCl, du lactose et du glycérol, la structure de l'eau autour des molécules de protéine a été modifiée, laquelle a pu entraîné une modification de la conformation de la  $\beta$ -lg et de l' $\alpha$ -La. L'action du NaCl sur la structure de l'eau proviendrait du champs électrique des ions. Selon Yon (1969), les ions possédant un champ électrique intense attireraient les dipôles d'eau et possèderaient ainsi un grand pouvoir de relargage ou de précipitation sur les protéines. De plus, à une force ionique (I) inférieure à 0,5 la concentration de NaCl dans les échantillons permettait à ce composé de compétitionner avec les protéines du lactosérum pour l'eau d'hydratation (Arntfield et al., 1986). Le lactose et le glycérol en compétitionnant également avec les protéines pour l'eau d'hydratation renforceraient les interactions hydrophobes (Back et al., 1979). Selon ces mêmes auteurs, il est probable que c'est en structurant l'eau d'hydratation des protéines que résiderait le principal mécanisme par lequel les sucres et les polyols stabilisent généralement les protéines vis à vis de la dénaturation thermique.

#### 5.4.2.3 Influence du NaCl, du lactose et du glycérol sur la structure des protéines du lactosérum.

Parmi les forces de maintien de la structure native des protéines du lactosérum, on peut distinguer les liaisons de forte énergie, comme les ponts disulfures et un grand nombre de liaisons de faible énergie, telles les liaisons hydrogènes, les liaisons électrostatiques et les liaisons hydrophobes. Les interactions hydrophobes, terme désignant les liaisons dans l'eau entre groupements non polaires des protéines, jouent un rôle majeur dans le maintien de l'intégrité de la conformation native (Garrett et al., 1988). De par leur nature et leur nombre, elles vont imprimer à la molécule protéique une conformation particulière. Dans celle-ci, les groupements non polaires tendent à s'associer entre eux dans la partie centrale de la molécule afin d'éviter la phase aqueuse, laissant à la surface de la molécule en contact avec le solvant les groupements polaires qui ont une grande affinité pour les molécules d'eau (Yon, 1969). Avec la modification de la structure de l'eau, les humectants ajoutés aux solutions de protéines du lactosérum ont possiblement favorisé les interactions hydrophobes. Les sucres et les polyols renforceraient ces interactions, tout spécialement les interactions hydrophobes de type "pairwise" au détriment des interactions hydrophobes de type "complete transfert" (Back et al., 1979; Garrett et al., 1988). Dans le type pairwise, les groupements hydrophobes s'associeraient tout en demeurant en contact avec l'eau, tandis que le second type (complete transfert) impliquerait un transfert des groupements hydrophobes de l'eau vers un environnement non polaire. Back et al. (1979) ont trouvé qu'à des concentrations auxquelles ils présentent un effet protecteur sur les protéines contre la dénaturation thermique, le saccharose et le glycérol renforçaient les interactions entre groupements hydrophobes. Les autres liaisons stabilisant la conformation native des protéines du lactosérum ayant pu être influencées par les humectants ajoutés sont les liaisons hydrogènes et les interactions électrostatiques. De par leurs groupements hydroxyl (OH), le lactose et le glycérol ont pu compétitionner avec l'eau dans la formation des liaisons hydrogènes avec certains groupements polaires des protéines, mais avec moins de succès que l'eau (Back et al., 1979). Les interactions électrostatiques étaient possiblement plus élevées dans les solutions protéiques contenant plus d'humectants, la constante diélectrique des solutions de sucre, de polyol et de sel étant plus faible que celle de l'eau pure. Cependant, la contribution de telles interactions sur la stabilisation de la structure protéique serait faible (Back et al., 1979).

## 5.5 Conclusion

Des effets positifs du NaCl, du lactose et du glycérol sur la stabilité thermique de la  $\beta$ -lg et de l' $\alpha$ -La ont été trouvés. La température de dénaturation des protéines du lactosérum augmentait en fonction de la concentration en sel principalement, ainsi que de celles en lactose et en glycérol dans une moindre mesure. L'action d'un humectant était indépendante de celle des autres. L'influence du sel, du lactose et du glycérol a porté vraisemblablement sur la structure de l'eau, qui à son tour a renforcé les interactions hydrophobes.

## 5.6 Références bibliographiques

- Arntfield, S.D. et Murray, E.D. 1981. The influence of processing parameters on food protein functionality. 1. Differential scanning calorimetry as an indicator of protein denaturation. *Can. Inst. Food Sci. Technol.J.* 14: 289.
- Back, J.F., Oakenfull, D. et Smith, M.B. 1979. Increased thermal stability of proteins in the presence of sugars and polyols. *Biochem.* 18: 5191.
- Bernal, V. et Jelen, P. 1985. Thermal stability of whey proteins. A calorimetric study. *J. Dairy Sci.* 68: 2847.
- Cheftel, J.-C., Cuq, J.-L. et Lorient, D. 1985. Protéines alimentaires. Technique et Documentation-Lavoisier, Paris.
- de Wit, J.N. et Swinkels, G.A.M. 1980. A differential scanning calorimetric study of the thermal denaturation of bovine  $\beta$ -lactoglobulin. Thermal behaviour at temperatures up to 100°C. *Biochim. Biophys. Acta.* 624: 40.
- de Wit, J.N. 1981. Structure and functional behaviour of whey proteins. *Neth. Milk Dairy J.* 35: 47.
- de Wit, J.N. et Klarenbeek, G. 1981. A differential scanning calorimetric study of the thermal behaviour of bovine  $\beta$ -lactoglobulin at temperatures up to 160°C. *J. Dairy Res.* 48: 293.
- de Wit, J.N., Klarenbeek, G. et Hontelez-Backx, E. 1983. Evaluation of functional properties of whey protein concentrates and whey protein isolates. 1. Isolation and characterization. *Neth. Milk Dairy J.*, 37: 37
- de Wit, J.N. et Klarenbeek, G. 1984. Effets of various heat treatments on structure and solubility of whey proteins. *J. Dairy Sci.* 67: 2701.
- de Wit, J.N. 1988. Empirical observations and thermodynamical considerations on water-binding by whey proteins in food products. *J. Food Sci.* 53: 1553.

- de Wit, J.N. 1989. Effects of heat treatments on functional properties of whey proteins in food products. Dans: Nouvelles utilisations du lait. (Colloque international, Québec, 1988). Stela, Université Laval, Québec.
- Dumais, E. 1988. Dénaturation thermique de la  $\beta$ -lactoglobuline et propriétés gélifiantes des concentrés protéiques de lactosérum. Dans: Propriétés fonctionnelles des macromolécules alimentaires. D. Lorient, B. Colas et M. Le Meste (Eds.). Les cahiers de l'ENSBANA (6), Dijon.
- Garrett, J.M., Stairs, R.A. et Annet, R.G. 1988. Thermal denaturation and coagulation of whey proteins: Effect of sugars. *J. Dairy Sci.* 71:10.
- Harwalkar, V.R. 1980. Measurement of thermal denaturation of  $\beta$ -lactoglobulin at pH 2.5. *J. Dairy Sci.* 63: 1043.
- Harwalkar, V.R. et Kalàb, M. 1985. Thermal denaturation and aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin at pH 2.5. Effet of ionic strength and protein concentration. *Milchwissenschaft*, 40: 31.
- Hillier, R.M. et Lyster, R.L. 1979. Whey protein denaturation in heated milk and cheese whey. *J. Dairy Res.* 46: 95.
- Jost, R., Baechler, R. et Masson, G. 1986. Heat gelation of oil-in-water emulsions stabilized by whey protein. *J. Food Sci.* 51: 440.
- Lison, L. 1968. Statistiques appliquées à la biologie expérimentale: la planification de l'expérience et l'analyse des résultats. Edition Gauthier Villars, Paris.
- Mangino, M.E., Liao, Y.Y., Harper, N.J., Morr, C.V. et Zadow, J.G. 1987. Effects of heat processing on the functionality of whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 52: 1522.
- Morr, C.V. 1982. Functional properties of milk proteins and their use as food ingredients. Dans: *Developments in dairy chemistry*. 1. P.F. Fox (Ed.). p. 375-399. Applied Science Publishers, London.
- Morr, C.V. 1985. Composition, physicochemical and functional properties of reference whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 50: 1406.
- Mulvihill, D.M. et Donovan, M. 1987. Whey proteins and their thermal denaturation-a review. *Ir. J. Food Sci. Technol.* 11: 43.
- Park, K.H. et Lund, D.B. 1984. Calorimetric study of thermal denaturation of  $\beta$ -lactoglobulin. *J. Dairy Sci.* 67: 1699.

- Patel, M.T., Kilara, A., Huffman, L.M., Hewitt, S.A. et Houlihan, A.V. 1990. Studies on whey protein concentrates. 1. Compositional and thermal properties. *J. Dairy Sci.* 73: 1439.
- Paulsson, M., Hegg, P.-O. et Castberg, H.B. 1986. Heat induced gelation of individual whey proteins: A dynamic rheological study. *J. Food Sci.* 51: 87.
- Paulsson, M., Dejmek, P. et Vliet, T.V. 1990. Rheological properties of heat induced  $\beta$ -lactoglobulin gels. *J. Dairy Sci.* 73: 45.
- Ruëgg, M., Moor, U. et Blanc, B. 1977. A calorimetric study of the thermal denaturation of whey proteins in simulated milk ultrafiltrate. *J. Dairy Res.* 44: 509.
- SAS Institute Inc. 1985. *SAS user's Guide: Statistics, Version 5, Edition Cary NC: SAS Institute Inc.*
- Schmidt, R.H., Packard, V.S. et Morris, H.A. 1984. Effect of processing on whey protein functionality. *J. Dairy Sci.* 67: 2723.
- Urbanski, G.E., Wei, L.S., Nelson, A.I. et Steinberg, M.P. 1983. Rheology models for pseudoplastic soy systems based on water binding. *J. Food Sci.* 48: 1436.
- Varunsatian, S., Watanabe, K., Hayakawa, S. et Nakamura, R. 1983. Effects of  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  and  $\text{Na}^{++}$  on heat aggregation of whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 48: 42.
- Wright, D.J. 1982. Application of scanning calorimetry to the study of protein behaviour in foods. Dans: *Developments in food proteins. 1.* B.J.F. Hudson (Ed.). p. 61-89. Applied Science Publishers, London.
- Yon, J. 1969. *Structure et dynamique conformationnelle des protéines.* Hermann, Paris.

## 5.7 Tableaux et figure



**Tableau 5.1:** Effet de la concentration en NaCl, en lactose et en glycérol sur la température ( $T_{\max}$ ) et l'enthalpie ( $\Delta H$ ) de dénaturation de la  $\beta$ -lactoglobuline et de l' $\alpha$  lactalbumine en mélange.(1)

Traitement	NaCl (%p/p)	Lactose (%p/p)	Glycérol (%p/p)	$T_{\max}\beta\text{-lg}^{(2)}$ (°C)	$T_{\max}\alpha\text{-La}^{(2)}$ (°C)	$\Delta H\text{-}\beta\text{-lg}^{(2)}$ (J/g)	$\Delta H\text{-}\alpha\text{-La}^{(2)}$ (J/g)
1	0	3,72	0	78,75	70,46	9,49	6,13
2	0	3,72	5	79,53	69,84	9,42	3,18
3	0	3,72	10	80,17	70,35	8,52	4,10
4	0	6,72	0	79,82	70,93	9,22	3,45
5	0	6,72	5	80,92	71,26	10,27	5,18
6	0	6,72	10	80,70	71,27	9,33	3,65
7	0	9,72	0	80,08	71,83	9,53	3,43
8	0	9,72	5	80,78	71,26	8,80	2,48
9	0	9,72	10	81,17	72,54	8,09	3,55
10	1,5	3,72	0	82,96	72,93	9,82	5,45
11	1,5	3,72	5	83,81	71,86	8,31	4,10
12	1,5	3,72	10	83,35	72,86	7,78	4,33
13	1,5	6,72	0	83,12	72,03	9,07	5,23
14	1,5	6,72	5	83,90	72,67	10,41	3,53
15	1,5	6,72	10	83,45	73,31	5,76	3,83
16	1,5	9,72	0	84,58	73,90	8,72	5,75
17	1,5	9,72	5	85,11	73,22	13,16	9,03
18	1,5	9,72	10	85,18	72,73	10,42	7,43
19	3,0	3,72	0	85,37	73,79	10,26	6,68
20	3,0	3,72	5	85,06	72,00	9,13	4,30
21	3,0	3,72	10	86,17	73,56	8,82	6,51
22	3,0	6,72	0	85,88	73,03	11,00	5,93
23	3,0	6,72	5	86,81	72,95	9,73	6,25
24	3,0	6,72	10	87,30	74,11	9,71	6,76
25	3,0	9,72	0	86,32	74,54	10,71	7,30
26	3,0	9,72	5	86,77	75,23	8,00	9,45
27	3,0	9,72	10	87,82	75,18	11,89	6,65
$S_x(3)$				0,46	0,87	1,20	0,94

(1) Moyennes calculées à partir des résultats de 3 répétitions

(2)  $\alpha\text{-La}$  =  $\alpha$ -lactalbumine;  $\beta\text{-lg}$  =  $\beta$ -lactoglobuline;

(3)  $S_x$ = erreur-type de la moyenne

**Tableau 5.2:** Analyses de variance réalisées sur les données de température et d'enthalpie de dénaturation de l' $\alpha$ -La et de la  $\beta$ -Ig en présence de NaCl, de lactose et de glycérol dans des solutions à 10% (p/p) de protéines du lactosérum.

Source de variation (a)	$T_{max}$ $\beta$ -Ig			$\Delta H$ $\beta$ -Ig			$T_{max}$ $\alpha$ -La			$\Delta H$ $\alpha$ -La		
	dl(b)	SCE(c)	Var exp.(d) (%)	dl(b)	SCE(c) ( $\times 10^{-3}$ )	Var exp.(d) (%)	dl(b)	SCE(c)	Var exp.(d) (%)	dl(b)	SCE(c) ( $\times 10^{-3}$ )	Var exp.(d) (%)
Répétitions	2	1,12	0,20	2	4,82	1,43	2	1,01	0,53	2	2,22	0,62
Sel L	1	488,05****	86,98	1	10,91	3,24	1	92,60***	48,90	1	137,71****	38,55
Sel Q	1	7,19****	1,28	1	3,16	0,94	1	2,37	1,25	1	0,41	0,12
Lact L	1	25,84****	4,61	1	12,66*	3,76	1	26,82****	14,16	1	25,51****	7,11
Lact Q	1	0,03	0,01	1	0,15	0,05	1	1,47	0,78	1	18,03**	5,05
Glyc L	1	11,26****	2,01	1	17,36*	5,16	1	1,00	0,53	1	1,12	0,31
Glyc Q	1	0,56	0,10	1	3,60	1,07	1	3,64	1,92	1	0,78	0,22
Sel L Lact L	1	0,12	0,02	1	3,27	0,99	1	0,03	0,02	1	29,00**	8,12
Sel L Lact Q	1	0,00	0,00	1	0,34	0,10	1	1,61	0,85	1	0,46	0,13
Sel Q Lact L	1	0,23	0,04	1	18,60*	5,53	1	3,31	1,75	1	20,97**	5,87
Sel Q Lact Q	1	4,53	0,81	1	22,11**	6,57	1	0,02	0,01	1	10,98*	3,02
Sel L Glyc L	1	0,03	0,01	1	0,22	0,07	1	0,08	0,04	1	1,48	0,41
Sel L Glyc Q	1	0,91	0,16	1	15,65*	4,65	1	0,23	0,12	1	1,81	0,51
Sel Q Glyc L	1	1,63	0,29	1	1,86	0,56	1	0,46	0,24	1	0,17	0,05
Sel Q Glyc Q	1	0,93	0,17	1	37,69***	11,20	1	0,06	0,03	1	1,15	0,32
Lact L Glyc L	1	0,07	0,01	1	14,27*	4,24	1	0,07	0,04	1	9,46*	2,65
Lact L Glyc Q	1	0,00	0,00	1	0,33	0,10	1	2,61*	1,38	1	30,61**	8,57
Lact Q Glyc L	1	0,03	0,01	1	5,88	1,75	1	2,47	1,30	1	0,12	0,03
Lact Q Glyc Q	1	0,96	0,17	1	10,02	2,98	1	0,84	0,44	1	0,04	0,01
Erreur	58	11,98		52	150,10		57	43,20		50	70,01	
Total	78	561,10		72	336,51		77	189,38		70	357,24	

(a) Lact = lactose; Glyc = glycérol; L = effet linéaire; Q = effet quadratique.

(b) dl= degré de liberté (c) SCE= somme des carrés des écarts; (d) var exp.= % de la variation totale expliquée par la source.

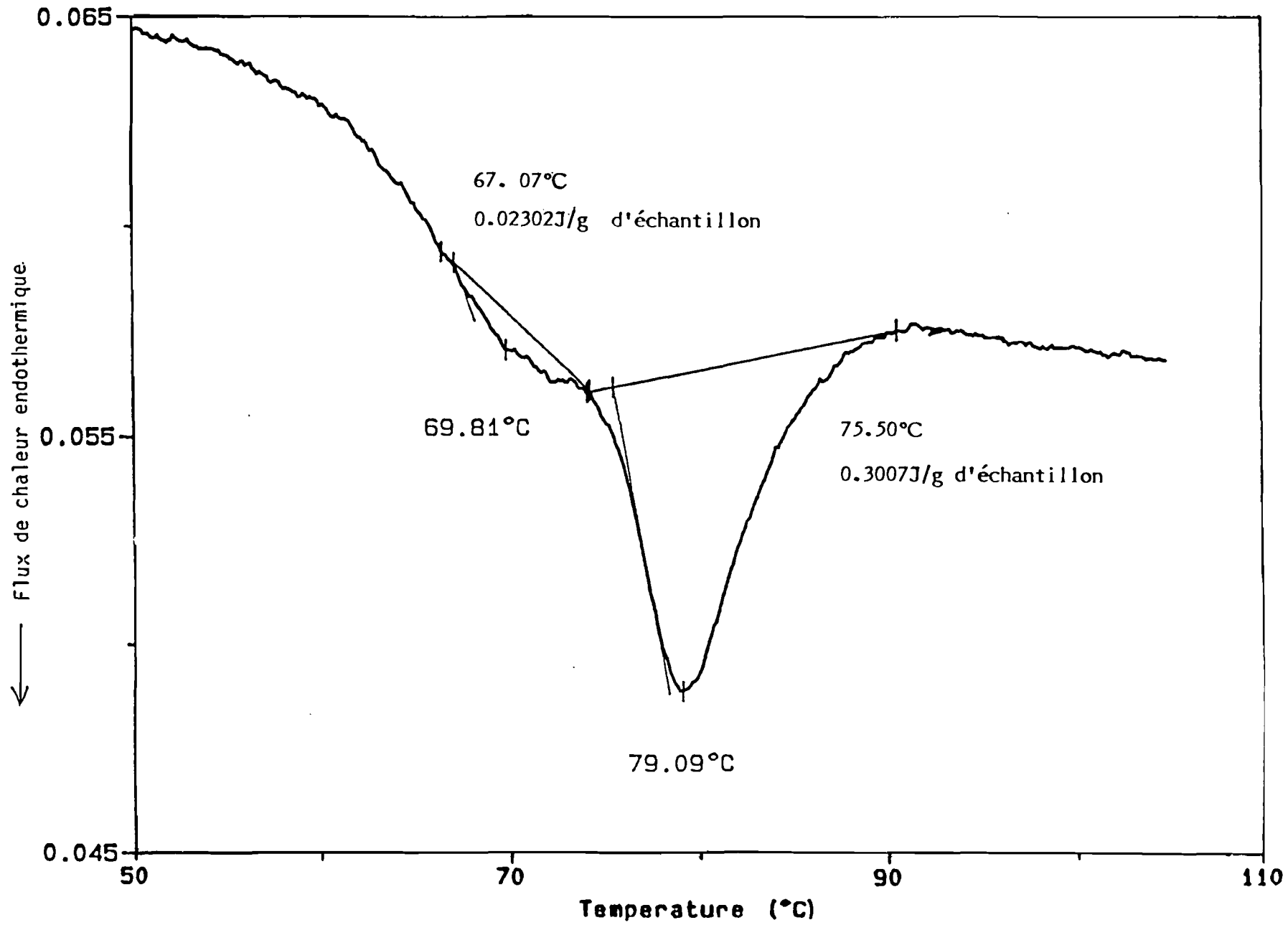
\* Significatif au seuil 0,05; \*\* Significatif au seuil 0,01; \*\*\*Significatif au seuil 0,001; \*\*\*\*Significatif au seuil 0,0001

**Tableau 5.3:** Équations de prédiction de la température de dénaturation de l' $\alpha$ -La et de la  $\beta$ -lg en mélange à partir des concentrations de sel, de lactose et de glycérol de la solution protéique.

		Équation de régression(1)	R <sup>2</sup>	F
T <sub>max</sub> - $\beta$ -lg	=	79,26 + 2,06S + 0,23L + 0,09G	0,947	450,44****
T <sub>max</sub> - $\alpha$ -La	=	70,50 + 0,90S+0,24L	0,660	71,16****

(1) S = sel; L = lactose et G = glycérol, en g/100g de solution protéique.

\*\*\*\* Significatif au seuil 0,0001 dans les limites du plan expérimental, soit: 0 < sel < 3%; 3,72 < lactose < 9,72%; 0 < glycérol < 10%



## CHAPITRE 6

### RELATION ENTRE LES PROPRIÉTÉS THERMIQUES DES PROTÉINES DE LACTOSÉRUM ET LEUR GÉLIFICATION EN SOLUTION AQUEUSE ET DANS LE FROMAGE FONDU À TARTINER.

#### 6.1 Résumé

Les propriétés thermiques et rhéologiques des gels obtenus des solutions de protéines de lactosérum en mélange à 10% (p/p) ont été corrélées aux paramètres de texture et de tartinabilité des fromages fondus à tartiner comportant des protéines de lactosérum. Des corrélations significatives ( $p < 0,05$ ) ont été trouvées entre les propriétés thermiques des solutions protéiques et les caractéristiques de texture des fromages fondus à tartiner. La température de dénaturation s'est révélée la propriété thermique la plus corrélée à la fois aux propriétés des gels et des fromages. Les corrélations obtenues avec la  $\beta$ -lg ont été plus faibles en systèmes alimentaires complexes qu'en systèmes modèles de gel. La meilleure corrélation ( $r = 0,74$ ) a été trouvée entre la température de dénaturation de la  $\beta$ -lg et la force de rupture des gels. La fonctionnalité limitée de la  $\beta$ -lg dans les fromages a pu résulter d'une élévation de sa température minimale de gélification au-delà ou proche de 85°C, correspondant à la température de cuisson des fromages fondus à tartiner. L'obtention de gels de force élevée retenant fortement l'eau et de fromages fondus à tartiner fermes et moins tartinables à des températures de dénaturation de l' $\alpha$ -La et de la  $\beta$ -lg élevées s'expliquerait par un renforcement des interactions hydrophobes résultant d'un effet du NaCl, du lactose et du glycérol sur la structure de l'eau.

## 6.2 Introduction

Les protéines de lactosérum sont des ingrédients réputés rehausser la qualité des produits alimentaires, ceci à cause de leur valeur nutritionnelle élevée et de leurs propriétés fonctionnelles intéressantes dans divers produits alimentaires. (Cheftel et Lorient, 1982; de Wit et al., 1983; de Wit, 1984; de Wit, 1988). Cependant, une fois introduites dans les systèmes alimentaires, le comportement des protéines de lactosérum devient difficile à prédire et à interpréter (Cheftel et Lorient, 1982). Alors que ces protéines ont démontré de bonnes propriétés gélifiantes en simples solutions aqueuses, des expériences effectuées avec des systèmes alimentaires plus complexes se sont révélées inconsistantes (Peltonen-Shalaby et Mangino, 1986). Il est de plus en plus admis que le principal problème limitant l'utilisation des CPL dans les aliments vient de la difficulté rencontrée par l'industrie à fabriquer des produits alimentaires comportant des protéines de lactosérum avec des caractéristiques constantes (Morr, 1985; Peltonen-Shalaby et Mangino, 1986; Mangino et al., 1987). En dépit de nombreuses études effectuées et rapportées sur les propriétés fonctionnelles des protéines de lactosérum en solutions aqueuses, les données sur le comportement des protéines de lactosérum dans des systèmes plus complexes sont limitées (de Wit, 1984; Paulsson et al., 1986). La relation entre les propriétés physico-chimiques des protéines de lactosérum et le comportement fonctionnel de ces protéines, spécialement lorsque ces propriétés sont influencées par des facteurs de composition et de procédé est encore peu comprise (Morr, 1985). Des recherches additionnelles sont requises pour déterminer cette relation, à la fois en systèmes modèles et dans des systèmes alimentaires complexes (Evans, 1982; de Wit, 1989). Une meilleure compréhension des facteurs affectant la gélification des protéines de lactosérum permettrait l'extension de l'utilisation des CPL dans les produits de charcuterie, boulangerie, pâtisserie et fromagerie.

L'objectif principal visé par la présente étude était de déterminer si les propriétés de gélification des protéines de lactosérum en systèmes modèles et dans les fromages fondus à tartiner sont reliés au comportement thermique de l' $\alpha$ -lactalbumine et de la  $\beta$ -lactoglobuline.

### 6.3 Matériel et méthodes

#### 6.3.1 Fabrication des fromages, des solutions protéiques, des gels et méthodes d'analyses

Les méthodes de fabrication et d'analyse de la texture des fromages fondus à tartiner sont détaillées dans les chapitres 2 et 3 et celles des solutions aqueuses et des gels de protéines de lactosérum au chapitre 4. La technique d'évaluation des propriétés thermiques des solutions protéiques a été présentée au chapitre 5. Les données des paramètres de texture des fromages expérimentaux, celles des propriétés thermiques des solutions protéiques, de même que celles des gels correspondants sont présentées au Tableau 6.1.

#### 6.3.2 Analyses statistiques

Les corrélations simples linéaires entre les différents paramètres ont été calculés à l'aide des procédures de SAS (SAS, 1985) du Centre de traitement de l'information de l'Université Laval.

### 6.4 Résultats et discussion

Les corrélations existant entre les caractéristiques de texture des fromages fondus à tartiner contenant des protéines de lactosérum et les propriétés thermiques de ces protéines en simples solutions aqueuses sont présentées au Tableau 6.2. On peut remarquer dans l'ensemble que les caractéristiques de texture des fromages sont corrélées significativement ( $\alpha < 0,05$ ) et positivement avec les propriétés thermiques des protéines de lactosérum en solution. Dans ce même tableau, on peut remarquer également que les coefficients de corrélation obtenus avec l' $\alpha$ -lactalbumine étaient généralement plus élevés que ceux de la  $\beta$ -lactoglobuline. Le coefficient de corrélation le plus élevé a néanmoins été obtenu entre la température de dénaturation de la  $\beta$ -lg et la force de rupture des gels ( $r = 0,74$ ;  $p < 0,0001$ ). Cependant, il est à noter une absence de corrélation entre les propriétés des gels et des fromages et l'enthalpie de dénaturation de la  $\beta$ -lg.

Les résultats obtenus révèlent l'existence d'une relation entre le comportement à la gélification des protéines de lactosérum en solutions aqueuses et dans les

fromages fondus à tartiner. Antérieurement, de nombreuses études ont été effectuées et rapportées sur le comportement fonctionnel des protéines de lactosérum en solutions aqueuses, mais il est très rare que l'on relie ces résultats au comportement des protéines dans les aliments (Delaney, 1976; de Wit, 1984; de Wit, 1988). En l'absence de données de corrélation, l'extrapolation des résultats obtenus en systèmes modèles simples aux produits alimentaires plus complexes est effectuée habituellement sur une base spéculative (Cheftel et Lorient, 1982). Selon Lorient (1988), seul le milieu complexe dans lequel se trouve le constituant étudié permet d'apprécier sa fonctionnalité dans des conditions aussi proches que possible de la réalité alimentaire. Cependant, du fait des nombreux paramètres de l'aliment (dont le pH, l' $A_w$ , la présence d'autres fractions protéiques et de diverses substances), l'approche consistant à évaluer la fonctionnalité des protéines directement au sein de l'aliment complexe est considérée comme empirique, celle-ci excluant toute approche explicative des phénomènes (de Wit, 1988; Lorient, 1988). Pour arriver à comprendre le comportement des protéines dans un système alimentaire, on a recours aux systèmes modèles, représentant une simplification extrême des milieux alimentaires complexes, très variables, mal connus et difficiles à reproduire fidèlement (de Wit, 1988; Lorient, 1988). Selon Lorient (1988), il convient cependant de définir avec précision le système modèle approprié, de déterminer les propriétés physiques ou physico-chimiques de l'aliment les plus corrélées et représentatives de la propriété fonctionnelle étudiée et de choisir adéquatement les conditions d'environnement (pH, force ionique, température, présence d'autres constituants protéiques ou non-protéiques) afin de réaliser un système expérimental imitant celui de l'aliment et permettant l'établissement de corrélations entre les propriétés physiques, fonctionnelles et sensorielles.

L'existence des liens positifs entre la température de dénaturation des protéines de lactosérum et les paramètres rhéologiques des gels et des fromages, de même que celle des liens négatifs entre cette même température de dénaturation et la perte d'eau des gels peut indiquer que des gels plus forts retenant plus d'eau et des fromages plus fermes et moins tartinables s'obtiennent lorsque l' $\alpha$ -La ou la  $\beta$ -Ig est thermiquement plus stable. L'interprétation de tels résultats peut néanmoins porter à confusion. Pour gélifier, les protéines doivent au préalable être dénaturées, la gélification étant le résultat des changements majeurs de la conformation induits par la dénaturation thermique des protéines (Paulsson et al., 1986). La question que l'on pourrait se poser dès lors est celle de savoir comment les protéines de



lactosérum une fois stabilisées thermiquement arrivent à former des gels forts retenant fortement l'eau. Selon de Wit (1981) et Paulsson *et al.* (1986), la corrélation entre la dénaturation thermique d'une protéine et la gélification de celle-ci est très peu connue et difficile à élucider, probablement du fait que le déplissement et l'agrégation constituant les deux étapes de la gélification des protéines sont deux processus différents pouvant se comporter différemment vis-à-vis d'un changement de pH, de la concentration en protéines, en sels ou en autres substances.

Au chapitre 5, nous avons discuté des mécanismes par lesquels les protéines de lactosérum auraient été stabilisées. Le principal mécanisme s'effectuerait via l'influence du NaCl, du lactose et du glycérol sur la structure de l'eau renforçant à son tour les interactions hydrophobes. Ce mécanisme a vraisemblablement prévalu pour les protéines de lactosérum à la fois en systèmes modèles et dans les fromages fondus à tartiner. Tout en accroissant la stabilité thermique des protéines, un renforcement des interactions hydrophobes favorise les interactions protéine-protéine pouvant conduire à la formation des gels plus forts susceptibles de piéger l'eau.

La  $\beta$ -lg, la protéine du lactosérum la plus importante à la fois quantitativement et qualitativement, gouverne habituellement le comportement fonctionnel des protéines du lactosérum. Dans cette étude, son rôle a pu être amoindri, en particulier dans les fromages, comme en témoignent les coefficients de corrélation inférieures à ceux de l' $\alpha$ -La. Un accroissement de la stabilité thermique de l' $\alpha$ -La et de la  $\beta$ -lg a pu entraîner une augmentation de leurs températures minimales de gélification. Les valeurs de température de dénaturation de l' $\alpha$ -La ont oscillé entre 69,84°C et 75,23°C, bien en dessous de 85°C ou de 90°C correspondant aux températures de cuisson des fromages fondus à tartiner et des gels, respectivement. Avec de tels traitements thermiques, on peut penser que cette protéine a subi des déplissements pour lui permettre de gélifier. Au contraire, la température de dénaturation de la  $\beta$ -lg avoisinait ou dépassait le barème de cuisson dans près de la moitié des échantillons de fromage. Il est possible que dans ces échantillons, une partie de la  $\beta$ -lg n'ait pas été dénaturée pour participer pleinement aux réactions d'agrégation. L'implication de la  $\beta$ -lg aurait été plus importante lors de la gélification dans le système modèle, la température de chauffage ayant été plus élevée (90°C). Ceci pourrait expliquer l'obtention des

coefficients de corrélation plus élevés pour la  $\beta$ -lg, notamment avec la force de rupture ( $r= 0,74$ ).

La variation de la température minimale de gélification pour l' $\alpha$ -La et la  $\beta$ -lg résultant des modifications de leur stabilité thermique peut avoir d'importantes répercussions au niveau des applications alimentaires des CPL. Chauffées à environ 85°C, les protéines de lactosérum formeraient des gels de force égale sinon supérieure à celle des gels d'albumine d'oeuf (Melachouris, 1984). Selon cet auteur, les protéines de lactosérum en comparaison avec l'albumine d'oeuf gélifiant à une température plus basse (à environ 60°C) seraient nettement désavantagées. Le désavantage se situerait au niveau de la différence de température de gélification entre les deux sources protéiques. Le rôle de l'albumine d'oeuf dans divers produits alimentaires étant de fournir une structure de gel après chauffage, de nombreux produits alimentaires sont formulés à partir de cette propriété de l'albumine d'oeuf. Un substitut de cette protéine, par exemple les protéines de lactosérum présentant une différence de température minimale de gélification, peut se révéler moins fonctionnel et moins performant dans plusieurs produits alimentaires que l'albumine d'oeuf (Melachouris, 1984). Les protéines de lactosérum en tant que substituts de l'albumine d'oeuf seraient encore moins fonctionnelles et moins performantes si au sein des dits aliments, on y retrouve des facteurs de composition qui stabilisent leurs structures et augmentent ainsi leurs températures de gélification.

## 6.5 Conclusion

Cette étude a permis de relier le comportement de gélification des protéines de lactosérum au sein d'un aliment complexe le fromage fondu à tartiner aux propriétés de ces protéines en solutions aqueuses et plus particulièrement à leurs propriétés thermiques. La relation entre la dénaturation thermique des protéines de lactosérum et leur fonctionnalité en système modèle simple également a été mise en évidence. En accroissant la stabilité des protéines de lactosérum via l'effet sur la structure de l'eau, l'addition d'humectants renforce les interactions hydrophobes pouvant conduire à la formation des gels de force élevée retenant fortement l'eau. La fonctionnalité limitée des protéines du lactosérum et leur comportement variable dans les systèmes alimentaires de type fromage fondu à tartiner pourraient être

expliqués en terme d'effet d'autres ingrédients et paramètres de composition sur leur stabilité thermique conditionnant l'initiation de la gélification.

## 6.6 Références bibliographiques

- Cheftel, J.C. et Lorient, D. 1982. Les propriétés fonctionnelles des protéines laitières et leur amélioration. *Le Lait*. 62: 435.
- Delaney, R.A.M. 1976. Composition, properties and uses of whey protein concentrates. *J. Soc. Dairy Technol.* 29: 91.
- de Wit, J.N. 1981. Structure and functional behaviour of whey proteins. *Neth. Milk Dairy J.* 35: 47.
- de Wit, J.N. 1984. Functional properties of whey proteins in food systems. *Neth. Milk Dairy J.* 38: 71.
- de Wit, J.N. 1988. Empirical observations and thermodynamical considerations on water-binding by whey proteins in food products. *J. Food Sci.* 53: 1553.
- de Wit, J.N. 1989. Effects of heat treatments on functional properties of whey proteins in food products. Dans: *Nouvelles utilisations du lait (Colloque international, Québec, 1988)*. Stela, Université Laval, Québec.
- de Wit, J.N., Klarenbeek, G. et Hontelez-Backx, E. 1983. Evaluation of functional properties of whey protein concentrates and whey protein isolates. 1. Isolation and characterization. *Neth. Milk Dairy J.* 37: 37.
- Evans, E.W. 1982. Uses of milk proteins in formulated foods. Dans: *Developments in food proteins.1*. B.J.F. Hudson (Ed.). p. 131-169. Applied Science Publishers, London.
- Lorient, D. 1988. Propriétés fonctionnelles des macromolécules alimentaires. D. Lorient, B. Colas, M. Le Meste (Eds.). *Les cahiers de l'ENSBANA (6)*, Dijon.
- Mangino, M.E., Liao, Y.Y., Harper, N.J., Morr, C.V. et Zadow, J.G. 1987. Effects of heat processing on the functionality of whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 52: 1522.
- Melachouris, N. 1984. Critical aspects in development of whey protein concentrates. *J. Dairy Sci.* 67: 2693.
- Morr, C.V. 1985. Composition, physicochemical and functional properties of reference whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 50: 1406.
- Paulsson, M., Hegg, P.-O., et Castberg, H.B. 1986. Heat induced gelation of individual whey proteins: A dynamic rheological study. *J. Food Sci.* 51: 87.

Peltonen-Shalaby, R. et Mangino, M.E. 1986. Compositional factors that affect the emulsifying and foaming properties of whey protein concentrates. J. Food Sci. 51: 91.

SAS Institute Inc. 1985. SAS user's Guide: Statistics, Version 5, Edition Cary NC: SAS Institute Inc.

## 6.7 Tableaux

Tableau 6.1:

Propriétés thermiques des protéines du lactosérum et caractéristiques rhéologiques et de rétention d'eau des gels et des fromages fondus à tartiner en fonction des concentrations de sel, de lactose et de glycérol.

	Propriétés des fromages			Propriétés des gels protéiques			Propriétés thermiques des protéines			
	Fermeté (kPa)	Seuil d'écoulement (kPa)	V.A. <sup>(a)</sup> (kPa.s)	Fermeté (N/m)	Force de rupture (N)	CRE (g eau perdue/100g)	T <sub>max</sub> <sup>(b)</sup> (°C)		ΔH <sup>(c)</sup> (J/g)	
							β-Ig	α-La	β-Ig	α-La
1	4,11	3,49	6620	0,115	4,85	73,52	78,75	70,46	9,49	6,13
2	0,48	0,37	750	0,247	6,03	68,13	79,53	69,84	9,42	3,18
3	1,04	0,83	1790	0,201	8,39	61,73	80,17	70,35	8,52	4,10
4	2,40	1,61	3980	0,161	8,82	68,87	79,82	70,93	9,22	3,45
5	1,09	0,91	1740	0,174	9,45	62,65	80,92	71,26	10,27	5,18
6	1,93	1,43	3260	0,340	10,78	60,71	80,70	71,27	9,33	3,65
7	3,16	2,48	5620	0,186	8,01	64,82	80,08	70,49	9,53	3,43
8	5,40	4,79	5540	0,238	8,95	60,07	80,78	71,26	8,80	2,48
9	3,62	3,10	4230	0,393	12,94	57,57	81,17	72,54	8,09	3,55
10	3,13	2,83	3550	0,257	9,27	68,59	82,96	72,93	9,82	5,45
11	0,75	0,61	898	0,207	12,49	64,30	83,81	71,86	8,31	4,10
12	1,44	0,90	3670	0,388	10,98	59,78	83,35	72,86	7,78	4,33
13	4,37	4,94	8480	0,276	11,49	68,16	83,12	72,03	9,07	5,23
14	1,29	1,08	1290	0,267	18,41	60,38	83,90	72,67	10,41	3,53
15	2,56	1,95	5220	0,386	16,39	58,79	83,45	73,31	5,76	3,83
16	10,09	7,76	12100	0,310	12,53	64,89	84,58	73,13	8,72	5,75
17	3,34	2,64	5580	0,312	18,99	58,21	85,11	73,62	13,16	9,03
18	5,44	4,45	5770	0,357	17,63	53,64	85,18	72,73	10,42	7,43
19	4,53	4,20	8650	0,266	11,00	66,01	85,37	73,79	10,26	6,68
20	2,72	2,21	5360	0,329	16,38	63,71	85,06	72,00	9,13	4,30
21	3,15	3,00	16500	0,409	13,25	59,28	86,17	73,56	8,82	6,51
22	5,95	5,45	6390	0,309	16,91	63,31	85,88	73,03	11,00	5,93
23	1,59	1,23	2130	0,259	16,81	60,39	86,81	73,62	9,73	6,25
24	7,45	6,59	6830	0,378	23,40	55,66	87,30	74,11	9,71	6,76
25	6,43	5,79	7130	0,332	13,88	63,26	86,32	74,54	10,71	7,30
26	4,05	3,56	4410	0,296	12,99	58,78	86,77	75,23	8,00	9,45
27	10,40	9,30	8620	0,362	11,88	51,60	87,82	75,18	11,89	6,65

(a) V.A.: Viscosité apparente

(b) T<sub>max</sub>: Température de dénaturation

(c) ΔH: Enthalpie de dénaturation

**Tableau 6.2:** Relation entre les propriétés thermiques des protéines du lactosérum et les caractéristiques rhéologiques et de rétention d'eau des gels et des fromages fondus à tartiner.

		Propriétés thermiques des solutions			
		$T_{\max}(\alpha\text{-La})$ (1)	$T_{\max}(\beta\text{-lg})$	$\Delta H(\alpha\text{-La})$ (2)	$\Delta H(\beta\text{-lg})$
<b>Propriétés des gels</b>					
Fermeté	r(3)	0,637	0,610	0,316	0,018
	p(4)	0,0004***	0,0007***	0,1079	0,9309
Force de rupture	r	0,617	0,740	0,427	0,252
	p	0,0006***	0,0001****	0,0265*	0,2048
Capacité de rétention d'eau (perte d'eau)	r	-0,541	-0,527	-0,409	-0,176
	p	0,0035**	0,0047**	0,0342*	0,3801
<b>Propriétés des fromages</b>					
Fermeté	r	0,537	0,488	0,407	0,320
	p	0,0039**	0,0098**	0,0353*	0,1043
Seuil d'écoulement	r	0,552	0,510	0,408	0,327
	p	0,0028**	0,0066**	0,0344*	0,0961
Viscosité apparente	r	0,409	0,407	0,369	0,121
	p	0,0341*	0,0352*	0,0579	0,5479

1  $T_{\max}$ = Température de dénaturation

2  $\Delta H$ = enthalpie de dénaturation

3 r= coefficient de corrélation (n= 27)

4 p= probabilité

\* corrélation significative à 95%; \*\* corrélation significative à 99%;

\*\*\* corrélation significative à 99,9%; \*\*\*\* corrélation significative à 99,99%.

## CHAPITRE 7

### CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans cette étude, les effets des combinaisons de NaCl, de lactose et de glycérol sur l'abaissement de l' $A_w$  des fromages fondus à tartiner formulés avec des protéines de lactosérum ont été déterminés. Les effets linéaires de tous les humectants ont été les plus importants. Bien que de faible importance, un effet de synergie impliquant le sel et le glycérol dans la dépression de l' $A_w$  a été trouvé. Des équations de régression reliant l' $A_w$  à la concentration des humectants dans le produit final ont été calculées. L'utilisation de ces équations expliquant 97% de la variation totale du paramètre peut être utile en formulation ou pour éviter les erreurs lors de la mesure de l' $A_w$  du produit, notamment aux valeurs d' $A_w$  élevées pour lesquelles les mesures précises prennent du temps et présentent des difficultés techniques importantes. De plus, ces équations peuvent permettre de formuler des fromages fondus d'une  $A_w$  donnée en minimisant la concentration de certains ingrédients comme le sel ou le lactose.

Les modifications physico-chimiques provoquées par l'addition des humectants aux fromages fondus à tartiner ont été mesurées. L'addition des humectants aux fromages s'accompagne d'une diminution du pH provoquée par un échange d'ions  $\text{Na}^+$  du NaCl avec  $\text{H}^+$  des groupements  $\text{NH}_3^+$  des protéines. L'addition de lactose entraîne la formation des cristaux dans les fromages à partir d'une certaine concentration. Cependant, la présence de glycérol ralentit la cristallisation du lactose agissant comme l'eau en tant que solvant et milieu dispersant pour le sucre. Le NaCl et le lactose exercent un effet négatif sur la texture et la tartinabilité

conditionnant l'acceptabilité des fromages fondus à tartiner auprès des consommateurs, alors qu'en revanche, le glycérol l'améliore. Son effet optimal semble se situer à une concentration voisine de 5% dans le fromage. Des équations de régression valides permettant de prédire plus de 71% de l'évolution des paramètres de tartinabilité en fonction de la concentration finale en humectants ont été calculées. Celles-ci peuvent être utiles à l'industrie fromagère pour formuler des produits de tartinabilité optimale sans avoir recours à la mesure de la viscosité apparente et du seuil d'écoulement nécessitant des analyses rhéologiques complexes et coûteuses en équipement. Les tendances dans l'évolution des paramètres de texture des fromages en fonction des humectants sont complexes, elles sont modifiées en raison de la présence d'importantes interactions expliquant plus de 5% de la variation totale, notamment entre le sel et le lactose, ainsi que entre le sel et le glycérol. Lors de la formulation des fromages fondus, il serait recommandé de tenir compte de l'effet des humectants sur la couleur, un paramètre organoleptique important, les humectants tels le lactose et le glycérol favorisant le brunissement des produits. A défaut d'un substitut de sel, ce dernier étant de plus en plus déconseillé pour des raisons de santé, l'utilisation des combinaisons d'humectants assurant la stabilité microbienne des fromages pourrait avoir un avenir prometteur. Dans de telles combinaisons, le glycérol pourrait jouer un rôle important. En plus d'un effet de synergie avec le sel pour déprimer l' $A_w$ , cet humectant semble contrebalancer les principaux effets négatifs du sel et du lactose sur la texture et la tartinabilité des fromages fondus à tartiner.

Les protéines de lactosérum en simples solutions aqueuses ont démontré une certaine sensibilité face aux effets du sel, du lactose et du glycérol agissant principalement de façon indépendante lors de la gélification. A la lueur des résultats de cette étude, il s'avère que la force des gels de protéines de lactosérum augmente ou diminue selon la concentration de l'humectant. Le glycérol accroît la fermeté des gels à partir d'une concentration d'environ 2%. La force de rupture exprimant également la force des gels atteint un maximum avec le sel à une concentration de 2,5% et avec le lactose à 7,3%, alors que la capacité de rétention d'eau des gels augmente avec toute addition d'humectant. Des équations de prédiction des propriétés rhéologiques et de rétention d'eau des gels de protéines sont présentées dans cette étude. Celles-ci peuvent être utiles particulièrement en recherche et développement de nouveaux produits. Devant la difficulté d'incorporer de nouveaux ingrédients protéiques dans les produits alimentaires existant sans



changer leur texture et leur qualité organoleptique, une approche alternative consiste à développer de nouveaux produits avec des qualités organoleptique, nutritionnelle et texturale désirées. Les protéines du lactosérum possédant une saveur douce, une valeur nutritionnelle élevée et d'intéressantes propriétés gélifiantes sont appropriées pour une telle voie. Dans un tel cas, les équations de régression reliant les paramètres des gels à leurs concentrations en humectants pourraient servir à optimiser ces paramètres.

Les propriétés thermiques de ces protéines de lactosérum en solution ont également été modifiées par l'addition des humectants. En mélange, l'action d'un humectant sur la stabilité thermique des protéines est indépendante de celle des autres. Les substances étudiées stabiliseraient les protéines via plusieurs mécanismes dont principalement la structure de l'eau renforçant à son tour les interactions hydrophobes.

Le comportement de gélification des protéines de lactosérum dans des systèmes alimentaires complexes a été corrélé aux comportements thermique et à la gélification des protéines de lactosérum en solutions aqueuses. Il n'existe pas de corrélation statistiquement significative au seuil de confiance de 95% entre les caractéristiques de l'aliment complexe et les propriétés rhéologiques et de rétention d'eau des gels. En revanche, des liens positifs existent entre la stabilité thermique des protéines et l'obtention de gels de force et de capacité de rétention d'eau élevées à la fois en systèmes complexes et en système modèles simples. Avec un renforcement des interactions hydrophobes au niveau des molécules de protéine (via l'effet sur la structure de l'eau), les interactions protéine-protéine seraient favorisées, lesquelles se solderaient par la formation de gel fort capable d'emprisonner l'eau dans ses mailles.

La température de dénaturation correspondant généralement à la température de début de gélification, toute variation de la température de dénaturation des protéines de lactosérum s'accompagnerait d'une modification de leurs températures de début de gélification. De telles modifications des températures de gélification de l' $\alpha$ -La et de la  $\beta$ -Ig seraient vraisemblablement à l'origine de la variabilité et de la fonctionnalité limitée des CPL dans plusieurs aliments du type fromages fondus à tartiner dans lesquels ils sont ajoutés. Des équations hautement significatives ( $p < 0,0001$ ) permettant la prédiction de la température de dénaturation de la  $\beta$ -Ig et de

$\alpha$ -La ont été développées. L'utilisation de telles équations peut s'avérer utile pour extrapoler les températures de gélification de ces protéines et de fixer un barème de température approprié afin de s'assurer d'un déplissement des protéines constituant la première étape de gélification. La méthode utilisée dans cette étude pour observer le comportement de gélification des protéines ne permettait pas d'obtenir des données sur la cinétique de gélification, ni sur la température à laquelle la gélification était initiée. Pour une meilleure prédiction du comportement de gélification des protéines de lactosérum dans les aliments, il serait intéressant dans une future étude de développer un modèle reliant directement la température de dénaturation des protéines de lactosérum à leur température de gélification. En déterminant les effets d'un facteur de composition ou de procédé sur la stabilité thermique de la  $\beta$ -lg et de  $\alpha$ -La, il serait en bonne partie possible d'optimiser leur comportement de gélification à la fois en systèmes modèles simples et dans les aliments complexes.