

Gélication des protéines lactosériques en présence de saccharose

I. Influence de certains paramètres physicochimiques

par

L. RAZANAJATOVO, C. ALAIS et R. PAUL
Laboratoire de Biochimie Appliquée, Université de Nancy I
54037 Nancy Cédex

INTRODUCTION

Dans l'industrie alimentaire, la gélication, si l'on exclut la coagulation enzymatique ou acide du lait, s'effectue usuellement en présence d'agents épaississants et gélifiants. La préparation moderne des confitures, des gelées de fruits, de desserts gélifiés, etc., nécessite l'introduction de hauts polymères appartenant à la famille des hydrocolloïdes glucidiques, par exemple : pectine, agar, alginates, carraghénates [3].

Dans le domaine laitier, la gélication peut survenir après un traitement thermique dans des produits suffisamment riches en extrait sec ; bien que dans le cas du lait ordinaire stérilisé à ultra-haute température pendant un temps très court (U.H.T.), un gel puisse apparaître après une longue période de conservation. Divers phénomènes de gélication sans utilisation d'additifs ont été observés et plus ou moins bien expliqués. En introduisant des facteurs de pH et de température, Wiechers [14] réalise un gel à 74° C avec 10 p.100 de concentré de protéines du sérum à pH 10 tandis que Haggett [5] obtient un gel à 85° C à pH 8,5. Heintzberger *et al.* [6] observent la gélication du lait stérilisé concentré après une durée de stockage de 12 mois à 28° C. Selon Carroll *et al.* [1], Schmidt et Bucheim [13], la gélication du lait écrémé concentré se produit en chauffant à 100° C pendant 15 mn. Kalab et Harwalakar [7] ont observé par microscopie à balayage différents gels lactiques obtenus par chauffage de lait concentré (40-50 p.100) de lactosérum partiellement délactosé (40 p.100) et de lait écrémé reconstitué à 9 p.100 et additionné d'acide citrique.

Nous avons étudié un autre type de gélification : la formation des « autogels lactosériques » selon Paul et Legrand [11]. Il s'agit de chauffer sous pression une solution de concentration moyenne (5 p.100) de protéines lactosériques (rétentats d'ultrafiltration du lactosérum de fromagerie), en présence de saccharose. Le gel obtenu est comparable dans sa texture et sa rhéologie à un flan aux œufs ; il se prête à toute addition de colorants et d'arômes ; ne présente pas d'exsudation, d'oxydation, de sédimentation [11]. Ce type de gel alimentaire présente un double intérêt : d'une part il n'implique pas l'addition de substances autres que le saccharose et d'autre part, il utilise et valorise un sous-produit de l'industrie fromagère, dont les débouchés sont encore limités malgré sa haute valeur nutritive.

Des expériences ont montré que la fermeté du gel obtenu est contrôlée par plusieurs paramètres physiques. Notre but est donc de déterminer ces principaux facteurs qui permettront, par la suite, d'émettre une hypothèse préliminaire sur le processus de cette gélification.

MATERIEL ET METHODES

1. Séroprotéines

Nous avons utilisé des séroprotéines d'origine et de composition différentes, qui sont des rétentats d'ultrafiltration. La séroprotéine A provient de lactosérum de pâte pressée à 37 p.100 seulement de protéine dans l'extrait sec ; nous avons employé le produit liquide à 42 p.100 d'ES, avant le séchage à l'usine. Les deux séroprotéines B et C proviennent de fabrications de pâte molle, elles sont aux alentours de 80 p.100 de protéine, l'une est liquide, l'autre en poudre. Le tableau 1 présente la composition de ces produits.

2. Préparation du gel

On a généralement employé une quantité de protéine apportant 5 g de substances protidiques ($N \times 6,38$) pour 100 g de produit fini. Le saccharose est dissous, en quantité variable, dans de l'eau ; on l'ajoute à la solution protéique en évitant le moussage ; on verse le mélange dans un bocal hermétiquement clos et on chauffe sous une pression de 0,5 bars (112° C) pendant 5 mn. Le retour à la pression atmosphérique demande 10 mn ; le bocal est laissé se refroidir 3 h à température ordinaire puis placé au réfrigérateur à 4° C.

3. Mesure de la fermeté du gel

On a utilisé un pénétromètre automatique VEB-Feinmess AP 4/2 équipé d'un corps plongeant spécial, dont le poids et la forme ont

TABLEAU 1
Composition des protéines lactosériques

	A	B	C
Forme	liquide	liquide	poudre
Origine	pâte pressée	pâte molle	pâte molle
Couleur du produit brut	jaune	brune	blanc crème
Couleur de l'autogel	blanc	blanc	blanc
Extrait sec p. 100	42	23	95
Protéines p. 100 ES (N × 6,38)	37	74	80
Lactose p. 100 ES	48	12,6	9,5
Sels p. 100 ES	6	3,9	4
Matière grasse	2,5	5,6	4,2

été établis par Schalinatus et Benke [12] pour la mesure de la fermeté du caillé de fromagerie. L'enfoncement a été mesuré à 10° C après différents temps ; après 10 s, il ne varie presque plus.

Plus le gel est ferme, plus l'enfoncement (f) est faible. Il est proche de 5 mm (ft) dans le gel qualifié de témoin (5 p.100 de protéine, 30 p. 100 de saccharose), qui présente les propriétés organoleptiques les plus satisfaisantes. On a calculé un indice arbitraire de fermeté (F) :

$$F = \frac{ft}{fx} \times 100$$

RESULTATS

1. Propriétés rhéologiques des gels obtenus avec différentes sortes de séroprotéines

Dans les premiers essais, nous avons utilisé une concentration fixe de matières protéiques (P) de 5 p.100, voisine de celle indiquée par Paul et Legrand [11] et des concentrations variables de saccharose (S).

TABLEAU 2

Propriétés rhéologiques des gels de trois types de séroprotéines

Protéines de sérum	Rapport protéine/sucre					
	1/10		1/6		1/3	
	texture	E.P. (1)	texture	E.P. (1)	texture	E.P. (1)
Rétentat liquide A Protéines 37 p. 100 ES	fluide visqueux	11,4	gel excellent	5,0	très dur	3,3
Rétentat liquide B Protéines 74 p. 100 ES	fluide visqueux	13,5	ferme hétérogène (cavités)	5,0	très dur hétérogène	3,0
Rétentat sec C Protéines 78 p. 100 ES	fluide visqueux	11,9	ferme granuleux	5,2	très dur	3,1

(1) E.P. : enfoncement pénétrométrique en mm.

TABLEAU 3

Fermeté des gels en fonction du rapport protéine/saccharose

	Rapport P/S					
	1/10	1/8	1/6	1/4	1/3	1/2
Texture du gel	solution visqueuse	mou s'écoule facilement	lisse et homogène structure gel (parfaite)	gel lisse	gel élastique (caoutchouc)	gel très dur
Enfoncement du corps de pénétration après :						
5 secondes	10,8	7,6	4,7	4,6	3,6	2,9
10 secondes	11,1	7,9	4,9	4,6	3,8	3,2
15 secondes	11,4	8	5	4,7	4	3,3
Indice de fermeté	43	61	100	107	125	150

Pour les trois types de rétentats, dans les rapports P/S : 1/10, 1/6, 1/3, les valeurs respectives de F sont très voisines (tab. 2). Les différences s'observent dans l'aspect du gel. Pour le rapport 1/10, la gélification n'a pas lieu, les trois produits obtenus ont l'aspect d'un fluide très visqueux. Le rétentat A donne un gel lisse et ferme au rapport 1/6. Pour le même rapport, B et C donnent un gel un peu hétérogène et granuleux. Ces différences sont maintenues pour le rapport 1/3 dans les trois cas.

Le tableau 1 montre une différence dans la composition des trois rétentats ; le taux d'extrait sec non protidique varie : lorsqu'on prend 5 g de protéines dans les rétentats A, B et C pour la préparation du gel nous introduisons respectivement 8,5 g, 1,75 g et 1,25 g de matières non protidiques. Le taux d'extrait sec ajouté dans le cas de A est supérieur par rapport aux deux autres types. Nous avons donc essayé d'augmenter le taux d'extrait sec dans B et C, par l'intermédiaire d'un mélange de sel étudié pour faire un sérum artificiel lactosé, selon Koops et Jenness [9]. Nous avons constaté que l'aspect du gel obtenu ne change pas ; les valeurs de F sont presque les mêmes.

Dans les expériences suivantes, nous n'avons utilisé que les séroprotéines A.

2. Effet du rapport P/S

Avec une concentration constante en matière protidique, soit 5 p.100 la fermeté du gel augmente au fur et à mesure qu'on diminue le taux de saccharose (tab. 3). Le rapport 1/6 donne un gel homogène lisse, sans exsudation : c'est le gel témoin. Mais le rapport 1/4 est aussi une formule acceptable. Le saccharose et les protéines sont là en proportions convenables et complémentaires pour former un gel. Lorsque la teneur en saccharose diminue beaucoup (10 p.100, P/S : 1/2) le gel devient très dur et le goût très différent.

3. Obtention de gel sans saccharose

En l'absence de saccharose, 5 p. 100 de protéines ne forment plus un gel dans les conditions de chauffage décrites ci-dessus. La floculation persiste jusqu'à une concentration de 7 p.100. A 8 p.100 de protéines, nous obtenons un gel granuleux, très différent du témoin mais dont l'indice de fermeté est presque le même (tab. 4). Au-delà de 8 p.100, le gel obtenu est très dur.

La texture du gel formé n'est pas lisse, ni homogène bien que nous ayons utilisé le rétentat A. Le saccharose est donc indispensable pour une bonne organisation de la matière. Nous avons ajouté du saccharose à la composition à 8 p.100 de protéines ; le tableau 5 montre que 5 p.100 de saccharose seulement sont nécessaires pour

Propriété des gels obtenus dans différentes conditions

		Pénétration mm/15 s	Indice de fermeté	Texture du gel
1. Gel sans saccharose :				
— teneur en protéines	5 p. 100	19,5	25	floculation sans gélification
«	6 p. 100	14,5	33	floculation sans gélification
«	7 p. 100	8,9	55	floculation sans gélification
«	8 p. 100	5,1	96	granuleux
«	9 p. 100	4,2	116	très ferme
«	10 p. 100	3,1	158	très dur, plâtreux
«	15 p. 100	2,1	233	très dur, plâtreux
2. Gel à 8 p. 100 de protéines :				
— teneur en saccharose	5 p. 100	5	99	lisse
«	10 p. 100	2,8	163	très ferme
«	15 p. 100	3,2	157	ferme, élastique
«	20 p. 100	3,6	134	ferme, élastique
«	30 p. 100	4	128	ferme, élastique
3. Durée du maintien à				
0,5 bar (112° C)	0 mn	5,7	85	lisse mais fragile
(*)	5 mn	4,9	100	lisse, homogène, blanc
	10 mn	4,4	110	caramélisation +
	15 mn	4,2	115	caramélisation ++
	20 mn	4,1	117	lisse, brun
4. Effet du pH				
(*)	3	3,4	144	dur
	4	4,1	122	dur
	5	4,6	105	ferme
	5,9	4,9	100	lisse, homogène
	7	5,1	95	fluide, épais
	8	6,5	75	fluide
	9	18,3	26	liquide

(*) Gel à 5 p. 100 de protéine A et 30 p. 100 de saccharose.

obtenir une bonne texture du gel mais avec un goût très différent du témoin. Au-delà de 5 p. 100 de saccharose, le gel est élastique.

4. Effet des conditions du traitement thermique

La température atteinte au cours du traitement est un facteur important pour la formation des gels. Au-dessous de 100° C, il se produit une floculation. A 100° C, on observe une amorce de gélification : la masse est mal organisée, incohérente. La gélification complète nécessite strictement un traitement thermique sous pression de l'ordre de 0,5 bar, soit une température de 112° C.

La durée de chauffage à 112° C est également importante (tab. 4). En atteignant 0,5 bar (112° C) sans maintenir le chauffage, le gel est formé mais sa structure est fragile. En maintenant pendant 5 mn on obtient le gel témoin. Après un temps plus long, le gel est plus ferme, avec apparition de brunissement, qui s'intensifie au fur et à mesure que la durée augmente. Le produit contient assez de lactose pour que les réactions de Maillard se développent.

Le temps de montée en température, dans nos expériences, est court : 8 mn de 20° C à 100° C et 4 mn sous pression pour atteindre 0,5 bar. Si le temps est beaucoup plus long, le produit peut brunir.

5. Effet de la température de mesure au pénétromètre

Nous avons effectué des mesures après ouverture de l'enceinte sous pression et à des températures intermédiaires. A 95° C l'indice n'est que de 70 ; le gel ne paraît pas être complètement formé, car il tend à s'écouler quand on incline le récipient ; ensuite il se raffermi progressivement (tab. 5).

En réchauffant, au contraire, le gel dans un bain-marie d'eau bouillante, la fermeté diminue, mais l'aspect du gel est conservé.

6. Influence du pH sur la rhéologie du gel

Le gel témoin est obtenu à pH 5,9 avec une structure lisse. Quand on abaisse le pH, le gel devient ferme puis dur, mais il garde toujours l'aspect lisse (tab. 4).

Dans la zone des pH basiques, le gel se ramollit ; à pH 8, une exsudation apparaît dès la fin du chauffage. A pH 9, la structure est détruite ; on a un fluide visqueux.

7. Dispersibilité du gel dans l'urée

Le gel témoin a été broyé, à raison de 5 g dans 100 ml de liquide au moyen d'un omnimixer Sorvall et le broyat a été centrifugé à $4\,000 \times g$ pendant 15 mn. Dans l'eau pure le gel paraît insoluble,

TABLEAU 5. — Fermeté du gel à différentes températures

	95° C	70° C	50° C	30° C	10° C
A) Au refroidissement :					
— enfoncement : mm/15 s	7	6,5	6,2	5,5	4,9
— indice de fermeté	70	75	80	88	100
B) Au réchauffement (*) :					
— enfoncement : mm/15 s	—	6,8	—	5,6	4,9
— indice de fermeté	—	73	—	87	100

(*) Au bain-marie bouillant.

un assez fort sédiment est séparé. Lorsque la dispersion est faite dans une solution d'urée, le sédiment est d'autant plus faible que la concentration du réactif est plus élevée.

La quantité de matières azotées solubles a été déterminée après une longue dialyse contre l'eau du surnageant par la méthode Kjeldahl et on a calculé le rapport $(N \text{ soluble} / N \text{ total}) \times 100$. La figure 1 montre que les matières azotées du gel deviennent très solubles dans l'urée concentrée.

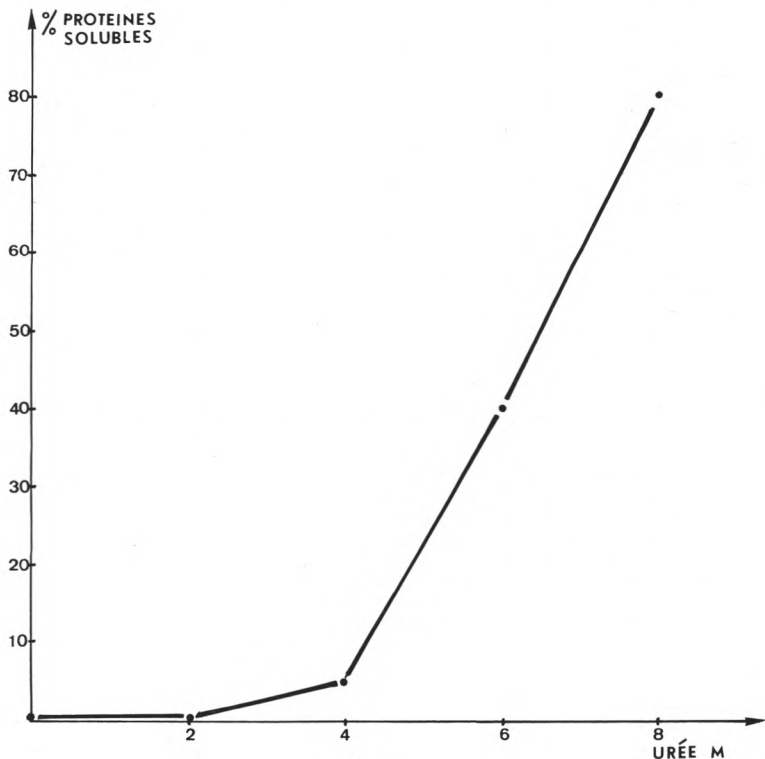


fig. 1

Dispersibilité du gel dans l'urée.

8. Synérèse

Il ne se produit pas de synérèse naturelle dans le gel témoin pendant une conservation d'au moins 15 j au réfrigérateur à 8° C. Le découpage du gel fraîchement préparé ne fait pas exsuder du liquide.

Par centrifugation dans un tube de morceaux de gel à 5 p. 100 de protéine et 30 p. 100 de saccharose à $4\,000 \times g$ pendant 20 mn, on extrait environ 60 p. 100 du volume total sous forme de surnageant limpide jaune. Ce liquide ne contient que 0,5 p. 100 de protéine, mais 20 p. 100 de saccharose. La protéine reste donc pour la plus grande part dans la partie solide contractée sous forme de culot, mais environ les 2/3 du saccharose sont séparés dans la partie liquide. Le saccharose paraît quitter assez facilement le gel, il est cependant nécessaire pour une bonne structure.

DISCUSSION ET CONCLUSION

La formation du gel de protéines en présence de saccharose et ses propriétés dépendent à la fois de l'état des séroprotéines, des concentrations des deux constituants et du traitement thermique appliqué au mélange. Les conditions suivantes se révèlent favorables à l'obtention du gel que l'on peut qualifier de parfait, c'est-à-dire possédant une structure souple, un aspect brillant, comparable au flan à l'œuf.

— Chauffage sous pression de 0,5 bar, soit $112^{\circ} C$, pendant 5 mn avec une montée en température rapide. Un traitement thermique plus long altère peu la structure du gel mais provoque un brunissement ; un traitement plus court donne un gel fragile ; à $100^{\circ} C$ il n'y a qu'une amorce de gélification.

— Rapport protéine / sucre : 1/6 pour une teneur en matières azotées totales ($N \times 6,38$) de 5 p. 100 dans le mélange. Le gel se forme mal lorsque le saccharose est en excès (40 p. 100) ; il devient trop dur lorsque le saccharose est en faible concentration (10 p. 100).

— Qualité convenable des séroprotéines. Un rétentat liquide à 40 p. 100 d'extrait sec, mis au congélateur peu après son obtention, a donné les meilleurs résultats. Un autre rétentat liquide conservé dans de moins bonnes conditions et un rétentat sec ont donné des gels plus ou moins hétérogènes. Le produit sec était imparfaitement soluble, ce qui est peut-être la cause de l'aspect granuleux. Il est possible que des séroprotéines sèches de très bonne solubilité ne donnent pas ce défaut.

Le gel ne se forme pas en milieu alcalin, il est imparfait en milieu neutre et bien constitué en milieu légèrement acide. Le changement du pH modifie la conformation des protéines et change l'accessibilité de certains groupes, comme cela a été récemment précisé par Mills et Creamer [10]. Vers pH 5, 6, les interactions pouvant provoquer la gélification sont favorisées.

L'élaboration de cette structure s'achève pendant le refroidissement. Si l'on considère ce qui se passe avec un liquide simple

comme l'eau pour lequel la viscosité s'accroît considérablement de 90 à 10° C : 0,3 et 1,3 centipoises [4, 8], on peut penser que l'établissement de liaisons hydrogènes au cours du refroidissement sont importantes dans la formation du gel. Le rôle du chauffage serait de découvrir un grand nombre de sites de liaison. L'effet dispersif de l'urée en solution concentrée confirme cette vue, car elle a la propriété de détruire les liaisons de ce type.

En l'absence de saccharose, dans les mêmes conditions de traitement, un gel très différent se forme lorsque la concentration en séroprotéines atteint 8 p.100. Il existe donc des interactions entre protéines qui conduisent à une organisation structurale permettant la gélification. Des interactions de ce genre ont été montrées notamment par Wingerd [15] qui suggère un échange de liaisons disulfures entre l' α -lactalbumine et les autres protéines du sérum ; selon Elfagm *et al.* [2] l' α -lactalbumine et la β -lactoglobuline forment un complexe lorsqu'elles sont chauffées ensemble en solution.

Le saccharose modifie fortement les propriétés du gel. Son mode d'action a fait l'objet de recherches en cours d'achèvement dans notre laboratoire et qui ont mis en œuvre des moyens chimiques (utilisation de polyols variés, modification du saccharose) et physiques (diffusion de la lumière, microscopie électronique). Il ne semble pas que des liaisons covalentes particulières sucre/protéines s'établissent au cours de ce traitement. Ces résultats feront prochainement l'objet d'un second rapport.

Résumé

Par un traitement thermique sous pression (112° C, 0,5 bar) pendant 5 mn le mélange 5 p.100 protéine lactosérique - 32 p.100 saccharose se transforme en gel lisse et homogène ressemblant à un flan aux œufs. Son organisation commence au cours du chauffage et se poursuit pendant le refroidissement. La concentration en protéines et en saccharose, la durée et la température de chauffage, le pH influent sur la rhéologie du gel. Le produit obtenu ne présente pas de brunissement. En l'absence de saccharose 8 p.100 de protéines donnent un gel très différent. La structure du gel est probablement assurée par des liaisons hydrogènes.

Summary

By a heat treatment under pressure (112° C, 234° F ; 0,5 bar) during 5 mn, the mixture of 5 p.100 Whey protein concentrates - 32 p.100 saccharose transforms into a smooth homogeneous gel, resembling to egg custard. Its organization starts in the course of the heating and continues during its cooling off. The proteins and

saccharose concentrations, the heating time and temperature, the pH have their influence on the rheology of the gel. The product obtained does not show any browning. In the absence of saccharose 8 p. 100 of proteins produce a very different gel. The structure of the gel is probably ensured by hydrogen bonds.

Reçu pour publication en juin 1978.

Bibliographie

- [1] CARROLL (R. J.), THOMPSON and MELNYCHYN (P.) (1971). — *J. Dairy Sci.*, 54, 1245-1251.
 - [2] ELFAGM (A. A.) and WHEELOCK (J. V.) (1978). — *J. Dairy Sci.*, 61, 147-280.
 - [3] GLICKSMAN (M.) (1969). — In: Gum Technology in the food Industry. *Acad. Press New York*, 214-235.
 - [4] HANDBOOK of Physics and Chemistry Ed. 51, F-36.
 - [5] HAGGETT (T. O. R.) (1976). — *N.Z.J. Dairy Sci. Technol.*, 11, 244-250.
 - [6] HEINTZBERGER (H.), KOOPS (J.) and WESTERBEEK (1972). — *Neth. Milk Dairy J.*, 26, 31-40.
 - [7] KALAB (M.) and HARWALKAR (V.) (1973). — *J. Dairy Sci.*, 56, 835-842.
 - [8] KALAB (M.), DOUGLAS (B.), EMMONS and VOISEY (P. W.) (1971). — *J. Dairy Sci.*, 54, 640-645.
 - [9] KOOPS (J.) and JENNESS (R.) (1962). — *Netherland Milk and Dairy J.*, 16, 153-164.
 - [10] MILLS (O. E.) and CREAMER (L. K.) (1975). — *Biochim. Biophys. Acta*, 379, 618.
 - [11] PAUL (R.) et LEGRAND (C. G.). — Brevets déposés.
 - [12] SCHALINATUS (E.) et BEHNKE (U.) (1967). — *Milchwissenschaft*, 22, 601-608.
 - [13] SCHMIDT (D. G.) and BUCHEIM (W.) (1968). — *Milchwissenschaft*, 23, 503-505.
 - [14] WIECHERS (S. G.) (1952). — *Neth. Milk Dairy J.*, 127-135.
 - [15] WINGERD (W. H.) (1971). — *J. Dairy Sci.*, 54, 1234.
-