

EFFET DES ULTRASONS SUR LES PROPRIÉTÉS ÉMULSIFIANTES DE PROTÉINES DES LACTOSÉRUMS BRUTS ET MODIFIÉS

ACEM Kamel^{1*}, CHOUKRI Ali², BEJAR Samir³, GARGOURI Youssef⁴, HADJ-TAIB Noomen³, BASSEM Jaouadi³ et MOULAI- MOSTEFA Nadji⁵

1. Laboratoire d'Agrobiotechnologie et de Nutrition en Zones Semi-Arides, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Ibn-Khaldoun, BP 78, Tiaret 14000 – Algeria.

2. Université de Djelfa, Algeria

3. Laboratoire d'Enzymes et des Métabolites des Procaryotes, CBS, Sfax, Tunisia

4. Laboratoire de Biochimie et de Génie Enzymatique des Lipases à l'ENIS, Sfax, Tunisia

5. Laboratoire d'Analyse Fonctionnelle des Procédés Chimiques, Université de Blida Algeria

Reçu le 29/10/2017, Révisé le 14/12/2017, Accepté le 31/12/2017

Résumé

Description du sujet : Etude des lactosérums pour la production des émulsions après modifications par des moyens physiques ou chimiques

Objectifs : Etude l'effet des ultrasons de puissance fixés à 35KHz sur les propriétés émulsifiantes de plusieurs lactosérums. Examen la caractérisation des phases de l'émulsion qui sont l'huile d'amande douce, lactosérums bruts et déminéralisés, et l'étude du pouvoir émulsifiant des protéines des lactosérums bruts et déminéralisés

Méthodes : La modification des lactosérums a été réalisée par la chromatographie échangeuse d'ions (résine échangeuse cationique). Les caractérisations des émulsions ont été réalisées par spectrophotométrie et les dimensions des gouttes des émulsions par microscopie.

Résultats : Les valeurs des paramètres physicochimiques du lactosérum doux brut sont supérieures à celles du lactosérum acide brut notamment : protéines, lactose, densité et viscosité. Par contre celles obtenus dans les lactosérums modifiés sont variables selon la nature des techniques appliquées. Les valeurs de la tension interfaciale sont inférieures pour les lactosérums déminéralisés.

Conclusion : Les résultats montrent que les paramètres physicochimiques de l'huile d'amande douce sont convenables à l'émulsification, les valeurs des paramètres physicochimiques du lactosérum doux brut sont supérieures à celles trouvées dans le lactosérum acide brut. Le traitement ultrasonore des lactosérums bruts et modifiés a amélioré leurs comportements émulsifiants au cours du temps par rapport aux lactosérums bruts et modifiés non traités dont la stabilité des émulsions dépend de la nature des lactosérums.

Mots clés : Lactosérums bruts ; lactosérums déminéralisés ; huile d'amande douce ; résine échangeuse d'ions cationique

EFFECT OF ULTRASOUND ON THE EMULSIFYING PROPERTIES OF RAW AND MODIFIED WHEY PROTEINS

Abstract

Description of the subject : Study of whey for the production of emulsions after modification by physical or chemical means.

Objectives : Study the effect of power ultrasound set at 35KHz on the emulsifying properties of several whey. Examining the characterization of the phases of the emulsion which are sweet almond oil, raw and demineralized whey, and the study of the emulsifying power of crude and demineralized whey proteins

Methods: The modification of the whey was carried out by ion exchange chromatography (cationic exchange resin). The characterizations of the emulsions were carried out by spectrophotometry and the dimensions of the drops of the emulsions by microscopy.

Results: The values of the physicochemical parameters of raw sweet whey are superior to those of crude acid whey in particular: proteins, lactose, density and viscosity. On the other hand, those obtained in modified whey are variable according to the nature of the techniques applied. The values of interfacial tension are lower for demineralized whey.

Conclusion: The results show that the physicochemical parameters of sweet almond oil are suitable for emulsification; the physicochemical parameters of raw sweet whey are higher than those found in crude acid whey. The ultrasonic treatment of crude and modified whey has improved their emulsifying behavior over time compared to untreated crude and modified whey whose stability of emulsions depends on the nature of the whey.

Key words: Raw whey; demineralized whey; sweet almond oil ; cationic ion exchange resin

* Auteur correspondant: ACEM Kamel, E-mail : kamelacem@yahoo.fr

INTRODUCTION

L'industrie agro-alimentaire doit faire face à un grand problème, il s'agit de la pollution provoquée par les déchets et les rejets de cette dernière. La branche laitière en est une de l'activité agro-alimentaire, qui est à l'origine de la production de grande quantité de lactosérum nocif pour l'environnement. Le lactosérum est un déchet industriel fromager, par ses matières organiques fermentescibles constitue le facteur favorable de la pollution biologique des écosystèmes dulçaquicoles. La quantité du lactosérum en Algérie et comme dans les autres pays du monde représente environ 85% du lait transformé en fromage; le lactosérum est cependant un produit intéressant par ses teneurs en protéines riches en acides aminés indispensables (lysine et tryptophane), en lactose, en minéraux et par la présence de nombreuses vitamines du groupe B comme la thiamine et la riboflavine [1].

Les émulsions forment la base d'une large gamme de produits manufacturés aussi bien dans le domaine alimentaire (lait, crème, mayonnaise, beurre etc.) qu'en pharmacie, en agrochimie ou encore en cosmétologie. Elles sont constituées d'au moins deux liquides non miscibles, l'un étant dispersé dans l'autre sous forme de gouttelettes. Cependant, la formulation des produits à base d'émulsion d'aujourd'hui intègre des agents de texture mixtes, spécifiques à une utilisation et dont la composition résulte d'observations empiriques et d'un savoir-faire de spécialistes des mélanges. Il devient impérieux de comprendre le comportement des molécules en mélanges par l'étude de leurs interactions entre elles et avec les constituants protéiques ou non protéiques naturellement présents dans les matières premières.

Les émulsions sont par définition des systèmes instables qui peuvent se déstabiliser suivant plusieurs mécanismes réversibles ou non. Parmi ces mécanismes, les deux principaux sont le crémage et la coalescence. Le crémage correspond à la migration des gouttelettes vers le haut sous l'effet de la gravité ce qui est dû aux différentes densités des deux phases, dispersée et continue. La coalescence correspond à la fusion de deux gouttelettes pour en former une plus grosse. Les différents phénomènes de déstabilisation se traduisent par des modifications à la fois de la taille et du nombre de gouttelettes présentes dans l'émulsion et par des modifications de l'aspect microscopique des émulsions.

L'étude de la stabilité des émulsions est primordiale pour comprendre les paramètres permettant d'obtenir des systèmes répondant à des critères de stabilité définis, a priori, différentes méthodes ont été proposées pour suivre la déstabilisation d'émulsion incluant des mesures de conductivités, de turbidité ou encore des techniques ultrasonores [2].

Parmi les techniques d'activation qui permettent l'intensification des procédés physico-chimiques, les ultrasons de puissance sont connus pour augmenter la conversion et/ou la sélectivité de nombreuses réactions chimiques ainsi que pour améliorer divers procédés physiques grâce aux effets de la cavitation. Les effets les plus exploités sont les effets physiques : implosion des bulles de cavitation près d'interfaces générant mélange, rupture d'interfaces et érosion. Les ultrasons sont des ondes acoustiques (mécaniques) sinusoïdales dont la fréquence se situe entre 16 kHz et 10 MHz, c'est-à-dire entre les domaines des sons audibles (16 Hz-16 kHz) et des hypersons (> 10 MHz). Dans cette gamme de fréquences, l'effet recherché est une modification du milieu par les ultrasons principalement grâce à la cavitation : l'onde modifie le milieu irradié. Cette modification peut être physique (décapage, dégazage, émulsification) ou chimique (modification du mécanisme réactionnel, production de radicaux libres).

D'autres applications de dégazage ultrasonore sont mentionnées, en photographie ou en agroalimentaire, sur des gélatines ou des produits visqueux, des boissons, des huiles, du chocolat et dans l'industrie plastique (élastomères, thermoplastiques...). Par ailleurs, l'étude de l'inactivation par ultrasons des espèces bactériennes les plus actives dans le lait comme *Pseudomonas fluorescens* et *Streptococcus thermophilus*, a été réalisée par Villamiel et De-Jong [3] et que Ferrante *et al.* [4] ont pu déduire que le traitement par ultrasons combiné aux antimicrobiens naturels (vanilline et /ou citral) inactive *Listeria monocytogenes* et il constitue une alternative pour la conservation de jus de fruit. L'effet de dégazage des ultrasons est donc très prometteur, pourtant il n'existe pas de représentation physique claire du mécanisme de dégazage sous ultrasons, ou de lien entre les paramètres du champ ultrasonore et leurs conséquences sur le dégazage, et d'une manière générale la littérature à ce sujet reste peu abondante [5-7].

La connaissance des structures primaires et tridimensionnelles des 6 protéines majeures du lait et du lactosérum a permis de relier ces structures au comportement physico-chimique et fonctionnel et de prédire les propriétés d'un ingrédient dans un produit déterminé en fonction des conditions de préparation. Les protéines du lactosérum sont de plus en plus utilisées comme ingrédients de texture dans de nombreux produits intermédiaires ou prêts à être consommés. Plusieurs travaux ont été entrepris sur le comportement fonctionnel et individuel des caséinates et des concentrés protéiques du lactosérum en solution aqueuse [9-19].

Les propriétés fonctionnelles du lactosérum peuvent être améliorées en modifiant le milieu (électrodialyse, ultrafiltration, échange d'ions), en dénaturant par voie thermique à pH neutre ou acide, en batch ou par des traitements en continu (échangeurs à surface raclée, cuisson-extrusion), les traitements chimiques restent des méthodes de laboratoire utilisées pour expliquer les relations structure-fonction. Quant à la protéolyse, elle ne peut s'appliquer que pour améliorer la solubilité [20]. En plus les modifications induites par les ultrasons dans le domaine de chimie sont très étudiées que dans le domaine alimentaire ; peu de données sont disponibles sur leurs effets sur les constituants alimentaires [21].

Or les travaux récents de Rezek Jambak *et al.* [22] ont montré l'effet améliorant des ultrasons sur la solubilité et les propriétés moussantes des protéines du lactosérum. Dans ce contexte, notre étude a pour objectif d'améliorer les propriétés techno-fonctionnelles (pouvoir émulsifiant) des protéines des lactosérums dont la recherche est axée sur la modification des lactosérums bruts (acide et doux) en produisant des sérums déminéralisés (bioconversion du lactose et la chromatographie d'échange d'ions) et de comparer la stabilité des émulsions préparées à base des lactosérums bruts (acide et doux) et modifiés (lactosérums déminéralisés) non traités par ultrasons avec celles confectionnées par des lactosérums bruts (acide et doux) et déminéralisés et traités par ultrasons.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Lactosérums bruts

Les deux types des lactosérums sont préparés au niveau du laboratoire à partir d'une poudre du lait écrémé (0%MG) fabriqué à base du lait de vache par FONTERRA Ltd, 9 Princes Street, Auckland, Nouvelle-Zélande. Le lactosérum acide brut (LSAB) est préparé en ajustant le pH du lait reconstitué 10% au pH isoélectrique des protéines insolubles, par contre le sérum doux brut (LSDB) est préparé à partir de même type de lait en lui ajoutant 2V de présure 1%, et chauffer à 35°C/40min. Les deux types de sérums sont récupérés après filtration simple (décantation) et ils sont conservés à 4°C.

2. Lactosérums modifiés

L'emploi d'un type de résine : DATA SHEET résines échangeuse d'ions cationique type S100 fournie par ase chemicals n.v. de Keyserlei 58-B-2018 ANTWERP/BELGIUM en phase Na⁺ (régénération avec HCl 4% m/v) nous a permis de déminéraliser nos lactosérums bruts en calcium (LSAD_M, LSDD_M).

3. Émulsions

L'émulsion est composée d'une phase dispersée (l'huile d'amande douce fournie par le commerce algérien ; origine Mazouna, Algérie) et une phase dispersante (lactosérums bruts et modifiés) traitée et non traitée par ultrasons (appareil : SONOREX TH52 fixé à 35KHz) durant 5, 10 et 15 min; les dispersions sont préparées en présence ou en absence de caséinates de sodium (agent stabilisant) suivant un rapport V/V égale à 0.0526% chaque mélange est homogénéisé à 25°C suivant la vitesse 8000tours/30min par un homogénéisateur (ultraturax JANKE and KUNCKEL, IKA, labotechnik). La stabilité des émulsions est une mesure spectrale déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre BAUSCH et LOMB, spectronic 70. Les données sont analysées statistiquement par un logiciel de statistica 6. Le diamètre moyen des globules est déterminé à l'aide d'un micromètre oculaire gradué de 0 à 10 dont les graduations sont distantes les unes des autres de 0.1µm.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Lactosérums

Le tableau 1 indique les paramètres physico-chimiques et biochimiques moyens des lactosérums étudiés.

Le tableau 1 indique que la majorité des paramètres physico-chimiques et biochimiques des lactosérums déminéralisés ont subi une variabilité par rapport à ceux trouvés dans les lactosérums bruts (acide et doux); pour les lactosérums déminéralisés, la résine cationique augmente la concentration des ions H^+ du lactosérum ce qui explique la chute du pH dans les lactosérums déminéralisés (tableau 1). Or une diminution d'environ 100% de la teneur en cendres du lactosérum doux déminéralisé (LSDD_M) par rapport à celle obtenu dans le lactosérum doux brut; nous estimons 0.43g/l pour LSDD_M contre 6.82g/l pour LSDB, et une chute presque la moitié de la teneur en cendres marquée dans LSAD_M comparativement à celle notée dans le LSAB. Nous enregistrons 4.67g/l pour LSAD_M contre 7,97 g/l pour LSAB. Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par Racotta *et al.* [23] qui ont déduit que la teneur en minéraux du lactosérum doux a baissé de 7.3% à 1% de l'extrait sec suite à un échangeur ionique; dans ce cas l'abaissement du pH par échangeur de cations provoque un rendement plus faible en protéine et un taux plus élevé de matière minérale [24]. Or, la teneur en protéines du LSAB a baissé d'une manière notable après le traitement par la résine échangeuse cationique.

Nous notons une teneur en protéines plus faible pour LSAD_M que pour LSAB. Ce résultat peut être expliqué par le taux d'échange élevé des protéines solubles avec le contre ion H^+ de la résine échangeuse ionique contrairement aux cendres dont son taux d'échange est moins élevé, et par ailleurs dans un milieu acide (cas du LSAB) c'est-à-dire si le pH du milieu est inférieur au pHi des protéines solubles du lactosérum. Celles-ci se trouvent sous forme ionisée dont la forme cationique est prédominante et selon Jeantet *et al.* [25]. Les protéines du lactosérum chargées négativement à pH=6,5 (β -lactoglobuline, α -lactalbumine) sont retenues sur une résine en échange d'anions. Par contre, le lactose et les protéines du lactosérum chargées positivement à pH=6,5 (environ 10% des protéines du lactosérum) traversent la résine sans être retenues. Le même constat a été enregistré pour la teneur en calcium (Ca). La teneur en calcium diminue dans les lactosérums déminéralisés sur résine cationique. Cette forte fixation du calcium est due principalement à la sélectivité de la résine échangeuse cationique envers les cations du lactosérum. Les valeurs du calcium trouvées pour l'ensemble des lactosérums sont inférieures comparativement aux ceux obtenus par Britten [26]. Saulnier *et al.* [27] révèlent que la teneur en calcium des lactosérums (acide et doux) varie selon les traitements de modifications (concentration). En outre, Pouliot *et al.* [28] notent que sur une zone de pH comprise entre 6,6 et 8,0, à 25 et 50°C. Il est apparu que les conditions pH 8,0 et 50°C provoquaient la précipitation la plus complète, soit 61% du calcium et 32% du phosphate solubles.

Tableau 1 : Paramètres physico-chimiques et biochimiques moyens des lactosérums

Paramètres	Bruts		Déminéralisés	
	LSAB	LSAD	LSAD _M	LSDD _M
pH à 25°C	4.65	6.72	4.25	1.09
Calcium (g/l)	0,026	0,086	0,001	0,000
Cendres (g/l)	7.97	6.82	4.67	0.43
Protéines (g/l)	7.0	13.0	1.1	11.9
Lactose (g/l)	47.36	48.42		
Viscosité (cP) à 25°C	1.223	1.323	1.177	1.263
Densité à 25°C	1.027	1.031	1.026	1.024
Tension interfaciale (Dynes/cm) à 25°C	35.5	34.4	32.0	31.1

Les différentes techniques de modification des lactosérums ont montré des valeurs de viscosité et de densité inférieures. Selon Boudier et Luquet [29], la densité dépend de la teneur en matière sèche, matière grasse et ainsi que de la température. Pour les propriétés de

surface : huile d'amande douce /lactosérum ; l'ensemble des tensions interfaciales trouvées sont inférieures à celle obtenu pour huile d'amande douce /eau qui est égale à 45 Dynes/cm.

Or, les valeurs de la tension interfaciale varient d'un sérum à un autre dont les plus faibles sont enregistrées dans les lactosérums déminéralisés : 32 Dynes/cm pour LSAD_M et 31.1 Dynes/cm pour LSDD_M. Selon Jeant *et al.* [25,30], à l'interface de deux phases (liquide/gaz, liquide/liquide non miscible), les molécules sont dans un environnement dissymétrique et les forces attractives exercées par chacune des phases sur les molécules localisées à l'interface sont différentes. Il en résulte une énergie ou tension interfaciale qui correspond à une énergie par unité de surface, en revanche les molécules organiques se concentrent préférentiellement à l'interface et abaissent la tension interfaciale dans le cas où elles présentent des zones hydrophiles et hydrophobes (caractère amphiphile). En revanche Jeant *et al.* [25] soulignent que la tension interfaciale diminue avec la concentration du soluté en solution jusqu'à obtention d'un palier correspondant à l'organisation des molécules amphiphiles en micelles

2. Huile d'amande douce

Le tableau 2 indique quelques paramètres physicochimiques moyens de l'huile d'amande douce commerciale étudiée.

Tableau 2 : Paramètres physicochimiques moyens de l'huile d'amande douce utilisée

Paramètres à 25°C	Huile d'amande douce
Viscosité (cP)	69.0963
Indice d'acidité(%)	0.72
Densité	0.9155
pH	5.83

La valeur moyenne de la viscosité de l'huile d'amande douce est légèrement inférieure à celle trouvée par Morin [31], qui a trouvé une valeur de 71cP. Selon Karleskind [32], la viscosité varie de 68 à 76 cP à 20 C ; elle dépend de la structure chimique des corps gras, de la température et du poids moléculaire qui entraîne une augmentation de la viscosité. L'indice d'acidité de l'huile d'amande douce est égal à 0.72%. La densité obtenue est comparable à celle trouvée par Morin [31], qui a trouvé une valeur de 0.911 à 0.917 pour l'huile d'amande douce. Selon Karleskind [32], la densité d'un corps gras dépend de sa température et de sa composition chimique. Nous notons que le pH de l'huile d'amande douce étudiée se rapproche de celui de la neutralité, ce qui convient mieux à la peau [33].

3. Stabilité des émulsions

3.1. Lactosérums bruts et déminéralisés

D'après la figure 1, nous notons que l'ensemble des allures de la stabilité des émulsions préparées à base des lactosérums bruts (acide et doux) et des sérums modifiés sont décroissantes au cours du temps. La stabilité des émulsions varie selon le type du lactosérum mis en préparation et la présence ou l'absence de caséinate de sodium ; les lactosérums bruts sont caractérisés par des moyennes de stabilités (MS) variables (tableau 2) ; les plus élevées sont notées respectivement : MS=75.6% et MS=72.8% pour LSAas et LSDas

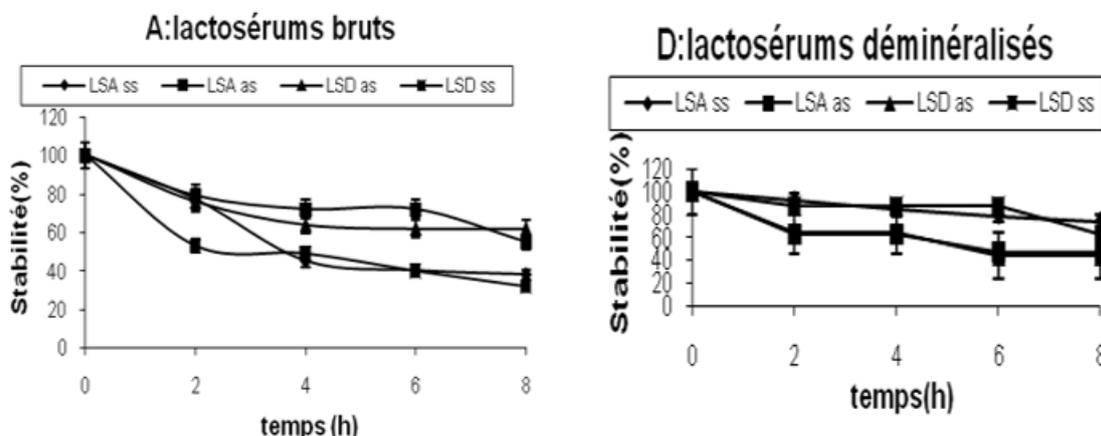


Figure 1: Stabilité des émulsions à base des Lactosérums bruts (A) et modifiés (B, C et D) en présence (as) ou en absence (ss) de caséinates de sodium.

Tableau 2 : Statistique descriptive de la stabilité (%) des émulsions préparées à base des lactosérums bruts et déminéralisés (démín)

Variables	N actifs	Moyenne		Minimum		Maximum		Ecartype	
		Brut	Démín	Brut	Démín	Brut	Démín	Brut	Démín
LSAss	5	60	86	38	74	100	100	27.38	10.32
LSAas	5	75.6	64	55	47	100	100	16.26	21.66
LSDas	5	72.8	63.6	62	44	100	100	16.29	22.90
LSDss	5	54.8	84.6	32	62	100	100	26.55	13.83

L'étude de la stabilité des émulsions a montré que celle-ci varie selon le type du lactosérum mis en œuvre ; la stabilité des émulsions dépend de type de lactosérum et la présence ou l'absence de caséinate de sodium. La figure 3 montre que la caséinate de sodium a un léger effet sur la stabilité des émulsions. Selon Dickinson [34], Morr et Ha [35], Cayot, [36], à pH = 6 et 8, l'émulsion faite à l'aide de caséinate de sodium possède une stabilité supérieure à celle obtenue avec un concentré des protéines quelle que soit la température, en revanche Cayot et Lorient [37] montrent que la perte de l'ion calcium occasionne des changements certes limités chez l' α -lactalbumine, mais la rend vulnérable aux changements de conditions du milieu. Les changements de milieu sont responsables des changements réversibles ou irréversibles des structures protéiques ; ils provoquent les phénomènes qui traduisent les propriétés fonctionnelles [35]. Les données concernant les propriétés fonctionnelles de différentes

protéines du lactosérum sont influencées par la composition, la structure, les conditions du milieu (pH, force ionique, température, etc.), les prétraitements, les procédés de fabrication, l'étendu de la dénaturation [37-39], les interactions avec les autres composés du système [39] et les méthodes utilisées pour la détermination de ces propriétés fonctionnelles. Dans le même contexte Lorient *et al.* [20] concluent que le comportement fonctionnel des protéines du lait dépend en grande partie de leur comportement vis-à-vis de l'eau en relation avec leur structure spatiale et leurs propriétés physico-chimiques (voluminosité, hydrophobicité de surface, amphipolarité). D'après De Wit et Hontelez-Backx [37], les protéines du lactosérum se trouvent dans un système complexe, elles sont influencées par le lactose, pH, sel, lipides, chauffage et autres protéines. Les émulsions qui ont enregistré des valeurs de stabilité les plus élevées dont les écarts types les plus inférieurs sont illustrées par les photos données par la figure 4.

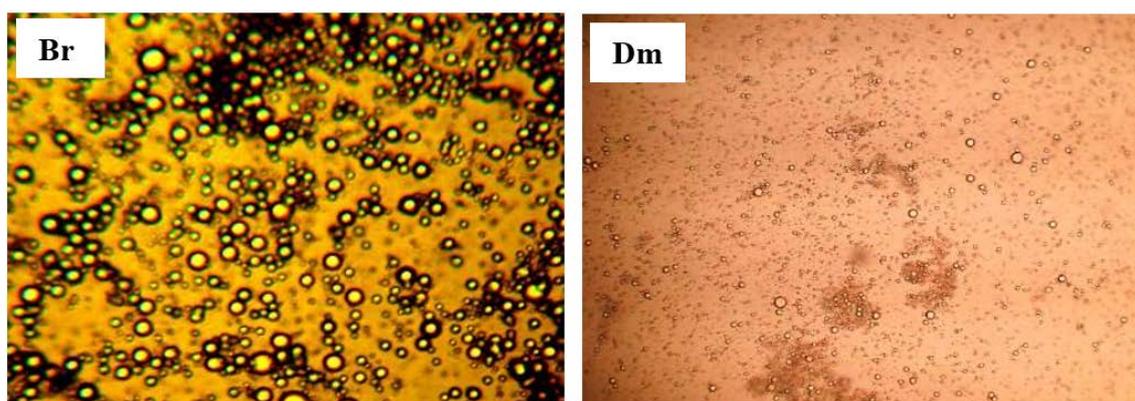


Figure 2 :Photos des émulsions de type huile d'amande douce (HA) dans lactosérum brut (Br) et huile d'amande douce (HA) et déminéralisé (Dm) prises par un microscope photonique

(Microscope photonique: PHYWE, hund WETZLAR, GERMANY, Gx10) à temps t0 montrant l'influence de la composition de la phase dispersante sur la taille moyenne et la dispersion des gouttelettes (les formes sphériques) d'huile d'amande douce : émulsion HA/lactosérum brut (Br) ; cas de HA/LSAas (7g/l de protéines : $\Phi=0.8\mu\text{m}$, $ET=16.26\%$), émulsion HA/lactosérum déminéralisé (Dm) ; cas de HA/LSAss (1.1g/l de protéines : $\Phi=0.94\mu\text{m}$, $ET=10.32\%$).

3.2. Lactosérums traités par ultrasons

3.2.1. Lactosérums bruts

Les lactosérums bruts (LSAas et LSDas) sont caractérisés par des stabilités variables ; une diminution après 2 heures, une stabilité et une diminution après 6 heures (tableau 2). Par contre, le LSDas ($MS=72.8\%$) s'est caractérisé par une diminution après 2 heures et une forte stabilité jusqu'à 8 heures. Le traitement par ultrasons après 5min des lactosérums bruts a amélioré les comportements émulsifiants des protéines des lactosérums dans les émulsions étudiées surtout : une stabilité presque constante pour le LSDss ($MS=91.6\%$) et LSDas ($MS=89.6\%$) et une autre décroissante au cours du temps pour le LSAas ($MS=64.2\%$).

Les lactosérums bruts traités par ultrasons après 10min ont suscité une amélioration nette de la stabilité de l'émulsion confectionnée à base du LSDss ($MS=95.2\%$) au cours du temps par contre une diminution de la stabilité après 2heures pour qu'elle soit stabilisée après 6 heures (LSDas dont $MS=72.4\%$). Or, le traitement par ultrasons des lactosérums bruts après 15min a amélioré surtout les valeurs de la stabilité de l'émulsion préparée à base du LSAas ($MS=90\%$) qui est maintenue jusqu'à 4heures puis elle s'abaisse et elle devient stable dès 6 heures ; mais la stabilité de l'émulsion fabriquée à base LSAss ($MS=76\%$) diminue dès sa préparation puis elle conserve son aspect dès 2 heures jusqu'à 8heures ; en outre celle préparée à partir du LSDss ($MS=77.4\%$) s'est caractérisée par une allure décroissante dès 2 heures jusqu'à 8 heures.

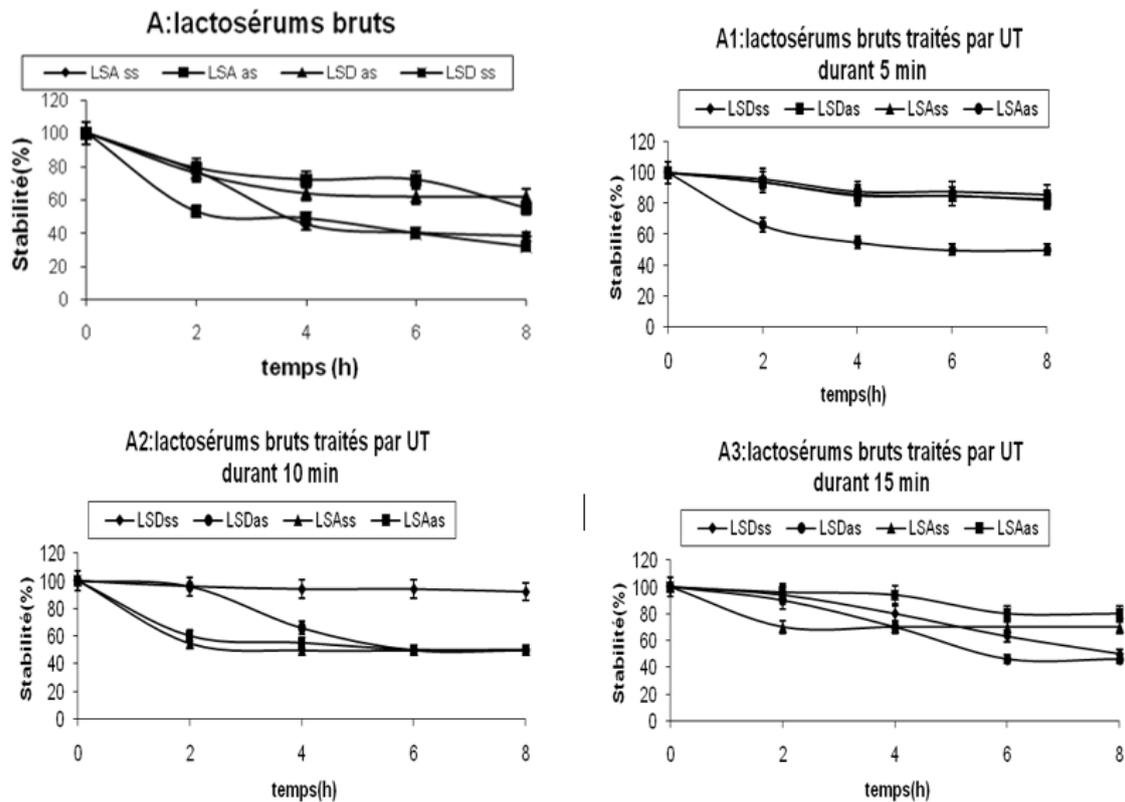


Figure 3 : Stabilité des émulsions à base des lactosérums bruts (A) et traités (A1, A2 et A3) en présence (as) ou en absence (ss) de caséinates de sodium.

Tableau 3 : Statistique descriptive de la stabilité(%) des émulsions préparées à base des lactosérums bruts traités par ultrasons.

Variables	N actifs	Moyenne				Minimum				Maximum				Ecart-type			
		Br	Br*	Br**	Br***	Br	Br*	Br**	Br***	Br	Br*	Br**	Br***	Br	Br*	Br**	Br***
LSAss	5	60	89.2	61	76	38	82	50	70	100	100	100	100	27.38	7.53	21.91	13.42
LSAas	5	75.6	64.2	63	90	55	50	50	80	100	100	100	100	16.26	21.05	21.10	9.38
LSDas	5	72.8	89.6	72.4	70.4	62	83	50	46	100	100	100	100	16.29	7.16	24.31	4.76
LSDss	5	54.8	91.6	95.2	77.4	32	86	92	50	100	100	100	100	26.55	6.07	3.03	0.92

Br : brut, Br* : brut traité durant 5min, Br** : brut traité durant 10min, Br*** : brut traité durant 15min.

Nous pouvons dire que le traitement par ultrasons est à la base d'un grand nombre de procédés d'amélioration des propriétés fonctionnelles (propriétés émulsifiantes) ; la sonication est utilisée pour supprimer la résistance des protéiques sériques du lait à la protéolyse [39,40]. Par traitement thermodénaturant, on peut ainsi accroître le pouvoir de rétention d'eau, ainsi que les propriétés tensioactives, à condition qu'on opère à des pH différents des pHi. Lorient *et al.* [20] conclue que l'activité émulsifiante et la capacité moussante des protéines purifiées sont supérieures à celles du lactosérum témoin, à la même concentration protéique (minimum au pHi pour l'activité émulsifiante, maximum au pHi pour la capacité moussante). Il en est de même pour les stabilités émulsifiantes et moussantes [41]. Une viscosité aussi élevée freine les remaniements interfaciaux ; en général, la viscosité de surface de mélange est toujours plus faible que la somme des viscosités des constituants (Dickinson, 1986) ce qui expliquerait nos observations sur les émulsions. Nous pouvons expliquer les médiocres propriétés tensioactives du lactosérum brut, sont dus à l'effet mélange négatif par la présence de substances antisurfactantes. Les résultats de Wang *et al.* [42] prouvent que le degré de dommage aux molécules protéiques sériques de BSA (bovine sérum albumine) augmente avec l'augmentation de la fréquence ultrasonique et le temps d'irradiation. En effet, le régime de cavitation est atteint lorsque l'amplitude de la tension appliquée au triplet est telle qu'elle provoque, à l'intérieur du milieu à étudier, des variations de pression dont l'amplitude est supérieure à la pression d'équilibre liquide-vapeur, à la température de ce milieu durant la demi-alternance négative de variation de pression de l'onde ultrasonore. Il y a formation de petites cavités, remplies de vapeur, cavités qui sont susceptibles d'exploser durant la demi-alternance positive suivante. L'explosion de ces petites cavités est un phénomène violent et encore mal connu : ondes de choc accompagnées localement et instantanément par des pointes de pression et de température très élevées, et par des possibilités de réactions chimiques secondaires. Parmi ces réactions, la production de radicaux libres H^+ et OH^- et la formation de H_2O_2 a été mise en évidence depuis déjà longtemps [43]. Les meilleurs résultats sont obtenus après 15min de traitement à 40KHz qu'après 30min dont les

températures des échantillons augmentent et la conductivité électrique diminue au cours du traitement. Les meilleures émulsions qui ont marqué des valeurs de stabilité les plus élevées qui se traduisent par les écarts types les plus inférieurs sont illustrées par les photos données par la figure 4.

3.2.2. Lactosérums déminéralisés

La figure 5 montre les différentes allures de la stabilité des émulsions confectionnées à base des lactosérums déminéralisés et traités par ultrasons.

Les lactosérums déminéralisés révèlent des comportements émulsifiants différents ; une amélioration de la stabilité pour les émulsions faites par le LSDss (tableau 4 : $MS=84.6\%$), LSAas ($MS=64\%$) et LSAss ($MS=86\%$) et une diminution de la stabilité de l'émulsion à base de LSDas ($MS=63.6\%$). Comparativement aux sérums déminéralisés non traités. Le traitement par ultrasons des lactosérums déminéralisés pendant 5min a amélioré son comportement émulsifiant dans la majorité des émulsions. Or, les lactosérums traités par ultrasons durant 10min et 15 min ont provoqué une variabilité de la stabilité des émulsions étudiées ; une atténuation de la stabilité pour les émulsions fabriquées à base du LSDss, LSAas et LSAss et une amélioration de la stabilité concernant l'émulsion faite par LSDas ($MS=77\%$ après 10min et $MS=73.4\%$ après 15min).

Pore [44], déduit que la stabilité de l'émulsion est fonction des quantités des différents constituants en présence et de la concentration en sels de la phase aqueuse ; pour obtenir une excellente dispersion. Il faut établir le rapport de divers constituants pour arriver à la meilleure formulation en employant l'émulsifiant (ou le mélange d'émulsifiants) dont l'efficacité est la plus grande pour le type de la matière grasse à émulsifier et correspondant bien aux conditions opératoires que l'on doit définir : température, nature et quantité d'émulsifié, concentration de l'eau en sel, etc.

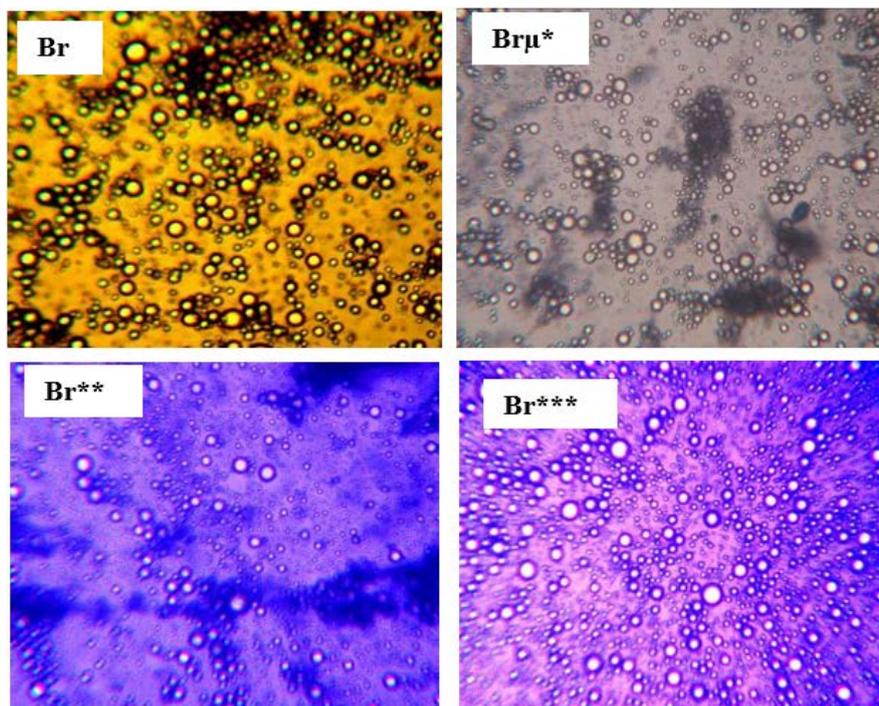


Figure 4 : Photos des émulsions de type huile d’amande douce (HA) dans lactosérum brut (Br) et huile d’amande douce (HA) dans lactosérum brut traité par ultrasons durant 5min (Br*), 10min (Br**)et 15min (Br***) prises par un microscope photonique

(Microscope photonique: PHYWE, hund WETZLAR, GERMANY, Gx10) à temps t0 montrant l’influence de traitement de la phase dispersante par ultrasons de puissance sur la taille moyenne et la dispersion des gouttelettes (les formes sphériques) d’huile d’amande douce : émulsion HA/lactosérum brut(Br) ; cas de HA/LSAAs (7g/l de protéines : $\Phi=0.8\mu\text{m}$, $ET=16.26\%$), émulsion HA/lactosérum brut traité (Br*) ; cas de HA/LSDss (13g/l de protéines : $\Phi=1.1\mu\text{m}$, $ET=6.07\%$), émulsion HA/lactosérum brut traité (Br**) ; cas de HA/LSDss (13g/l de protéines : $\Phi=0.75\mu\text{m}$, $ET=3.03\%$), émulsion HA/lactosérum brut traité (Br***) ; cas de HA/LSAAs (7g/l de protéines : $\Phi=1.4\mu\text{m}$, $ET=9.38\%$).

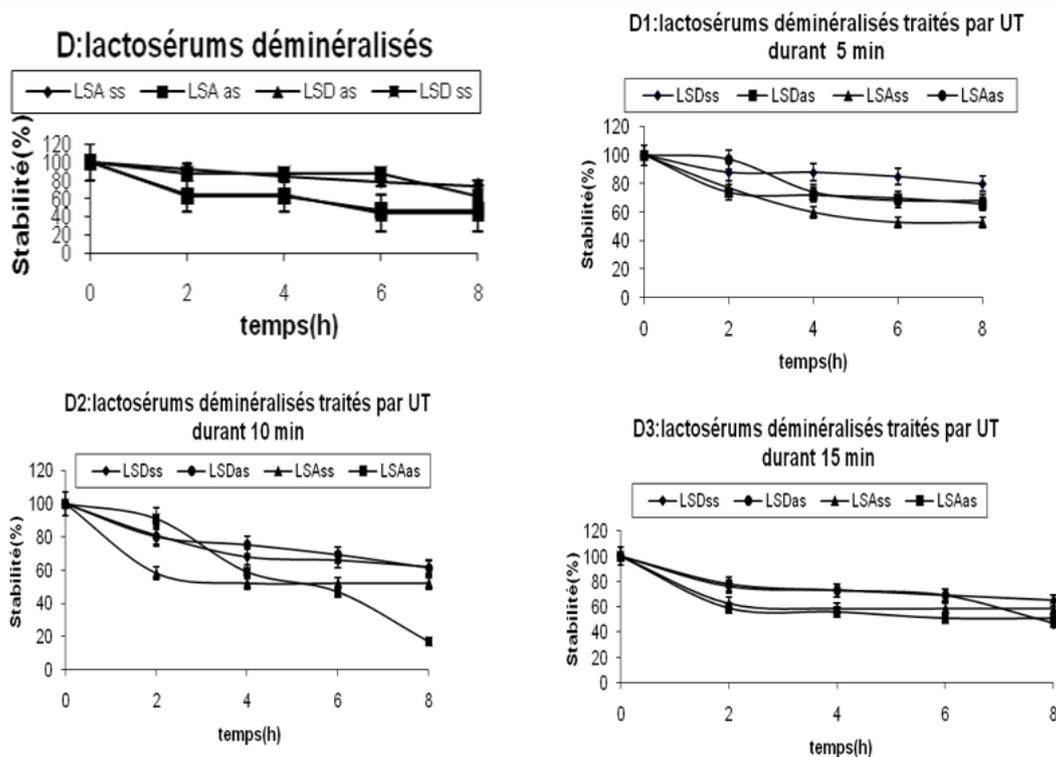


Figure 5 : Stabilité des émulsions à base des lactosérums déminéralisés (D) et traités (D1, D2 et D3) en présence (as) ou en absence (ss) de caséinates de sodium.

Tableau 4 : Statistique descriptive de la stabilité(%) des émulsions préparées à base des lactosérums déminéralisés traités par ultrasons.

Variables	N actifs	Moyenne				Minimum				Maximum				Ecart-type			
		Dm	Dm*	Dm**	Dm***	Dm	Dm*	Dm**	Dm***	Dm	Dm*	Dm**	Dm***	Dm	Dm*	Dm**	Dm***
LSAss	5	86	68.6	62.8	68	74	53	52	59	100	100	100	100	10.32	20.11	20.96	7.97
LSAas	5	64	81.4	62.8	63.4	47	68	17	51	100	100	100	100	21.66	15.84	33.69	0.74
LSDas	5	63.6	76.4	77	73.4	44	66	61	47	100	100	100	100	22.90	13.52	14.68	9.01
LSDss	5	84.6	88.2	75.4	76.6	62	80	62	65	100	100	100	100	13.83	7.36	15.49	3.72

Dm : déminéralisé, Dm* : déminéralisé traité durant 5min, Dm** : déminéralisé traité durant 10min, Dm*** : déminéralisé traité durant 15min.

Les polymères aux propriétés tensioactives forment un film interfacial dont la rigidité contribue à la stabilité de l'émulsion ; un film constitué de protéines ou de molécules chargées peut par les répulsions électrostatiques participer à la stabilisation de l'émulsion [25]. Des interactions électrostatiques entre les groupements chargés de macromolécules amphotères adsorbées peuvent également provoquer l'agrégation (floculation) d'une émulsion. Les travaux de Mohanty *et al.* [44] ont montré qu'une faible

présence d'ions Ca^{2+} augmente la capacité émulsifiante de caséinate à pH=2.5 (<5mM) ou 7 (<20mM) mais la diminue fortement à concentration élevée. Le phénomène de cavitation diminue d'intensité avec l'augmentation de la concentration en électrolyte, par suite de la diminution de la solubilité des gaz dans le milieu [43]. La figure 6 illustre les meilleures émulsions qui ont marqué un bon comportement émulsifiant (des valeurs de stabilité les plus élevées et écarts types les plus inférieurs).

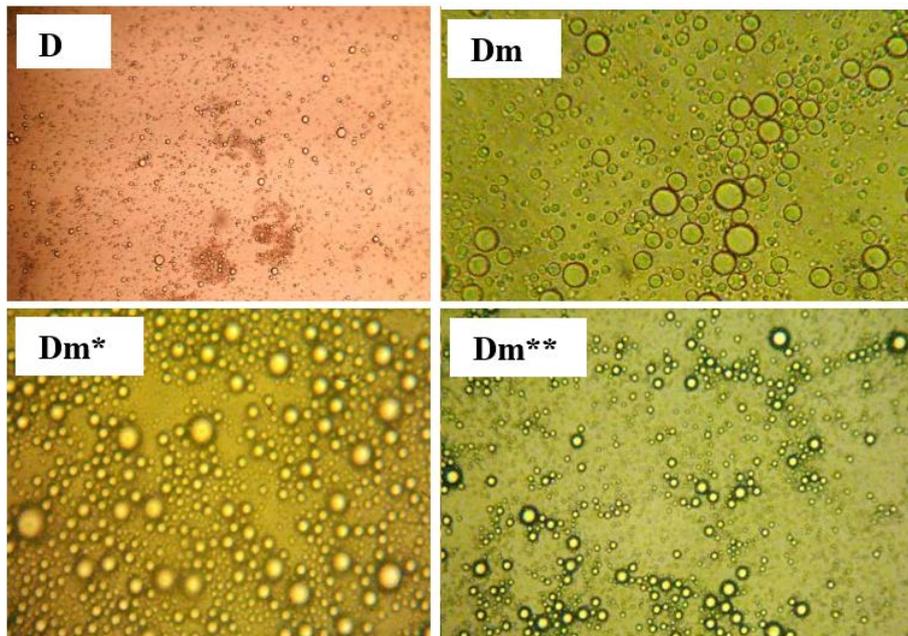


Figure 6 : Photos des émulsions de type huile d'amande douce (HA) dans lactosérum déminéralisé (Dm) et huile d'amande douce (HA) dans lactosérum déminéralisé traité par ultrasons durant 5min (Dm*), 10min (Dm**) et 15min (Dm***) prises par un microscope photonique

(Microscope photonique : PHYWE, hund WETZLAR, GERMANY, Gx10) à temps t0 montrant l'influence de traitement de la phase dispersante par ultrasons de puissance sur la taille moyenne et la dispersion des gouttelettes (formes sphériques) d'huile d'amande douce :émulsion HA/lactosérum déminéralisé (Dm) ; cas de HA/LSAss (1.1g/l de protéines : $\Phi=0.94\mu m$, $ET=10.32\%$), émulsion HA/lactosérum déminéralisé traité (Dm*) ; cas de HA/LSDss (11.9g/l de protéines : $\Phi=0.49\mu m$, $ET=7.36\%$), émulsion HA/lactosérum déminéralisé traité (Dm**) ; cas de HA/LSDas (11.9g/l de protéines : $\Phi=0.36\mu m$, $ET=14.68\%$), émulsion HA/lactosérum déminéralisé traité (Dm***) ; cas de HA/LSDss (11.9g/l de protéines: $\Phi=0.41\mu m$, $ET=13.72\%$).

CONCLUSION

Cette présente étude a un double intérêt ; intérêt écologique réside dans la réduction de la pollution hydrique des écosystèmes dulçaquicoles qui est le résultat du rejet direct des lactosérums bruts dans l'environnement (fromagerie, TREFL, Sidi Saada, Yellel, Relizane, Algérie) et intérêt économique traitant la recherche de nouvelles substances tensioactives d'origine animale dans lactosérums bruts afin de les valoriser dans le domaine des émulsions.

La présente recherche est axée dans la caractérisation physicochimique et biochimique des lactosérums bruts et modifiés et l'étude de leurs comportements émulsifiants ; la modification des lactosérums bruts a été effectuée par chromatographie échangeuse d'ions cationique qui génère des lactosérums déminéralisés (décationisés). Les paramètres physicochimiques et biochimiques des lactosérums bruts et modifiés varient selon le type du lactosérum.

Les résultats montrent que les paramètres physicochimiques de l'huile d'amande douce sont convenables à l'émulsification, les valeurs des paramètres physicochimiques du lactosérum doux brut sont supérieures à celles trouvées dans le lactosérum acide brut notamment : protéines, lactose, densité et viscosité ; par contre celles obtenus dans les lactosérums modifiés sont variables selon la nature des techniques appliquées, nous enregistrons des valeurs de la tension interfaciale inférieures pour les lactosérums déminéralisés.

Le traitement ultrasonore appliqué pour les lactosérums bruts et modifiés durant 5, 10 et 15min a produit des valeurs du pH stables par contre il a modifié les valeurs de la température : 26-27°C après 5min, 30-31°C après 10min et 32-33°C après 15min. L'étude statistique montre que la taille moyenne et la dispersion des globules gras à temps t_0 dépendent de la composition protéique de la phase dispersante (lactosérums bruts et modifiés), la présence ou l'absence de caséinates de sodium comme agent stabilisant, et le rapport huile/lactosérum. En plus, le traitement ultrasonore des lactosérums bruts et modifiés a amélioré leurs comportements émulsifiants au cours du temps par rapport aux lactosérums bruts et modifiés non traités dont la stabilité des émulsions dépend de la nature des lactosérums (bruts ou modifiés),

la présence ou l'absence de caséinates de sodium comme agent stabilisant, le rapport huile/lactosérum et le temps d'exposition des lactosérums au traitement par les ultrasons de puissance. La stabilité des émulsions étudiées ne se traduit pas forcément par l'abaissement du diamètre des globules gras à temps t_0 , mais elle indique de sa stabilité au cours du temps. En perspective, l'application d'autres techniques douces pour améliorer les conditions et la rentabilité de la modification des lactosérums bruts (acide et doux) comme l'ultrafiltration, l'électrodialyse et de comparer le comportement émulsifiant des lactosérums bruts et modifiés traités par chauffage reste à prévoir.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons nos vifs remerciements aux chefs des Laboratoires pour leur coopération et leur soutien durant ce travail : Laboratoire d'enzymes et des métabolites des procaryotes, CBS, Sfax, Tunisie, Laboratoire de biochimie et de génie enzymatique des lipases à l'ENIS, Sfax, Tunisie, Laboratoire d'analyse fonctionnelle des procédés chimiques, université de Blida, et Fromagerie TREFL, Sidi Saada, Yellel, Relizane, Algérie.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **FAO. (1995).**: Lait et produits laitiers dans la nutrition humaines. FAO, Rome, 262p.
- [2] **Novales B., Papineau P., Sire A., Axelos M. (2009).** Caractérisation d'émulsions et de suspensions par analyse d'images vidéo, Mise au point de protocoles d'acquisition, *INRA*, 33: 45-48.
- [3] **Villamiel M., De Jong P. (2000).** Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* and *Streptococcus thermophilus* in Trypticase Soy Broth and total bacteria in milk by continuous-flow ultrasonic treatment and conventional heating, *J. Food Engineer.*, 45, 171-179.
- [4] **Ferrante S., Guerrero S., Alzamora SM. (2007).** Utilisation combinée des ultrasons et des antimicrobiens naturels pour inactiver *Listeria monocytogenes* dans le jus d'orange. *J. Food Prot.*, 8: 1850-1856.

- [5] **Kapustina O.A. (1973).** «*Degassing of liquids*» in «*Physical principle of ultrasonic technology*», Vol. 1, Plenum Press éditeur, New-York, pages 376-505.
- [6] **Puskar A. (1982).** «*Applications in various technologies*» in «*The use of high-intensity ultrasonics*», Materials Science Monographs éditeur, Bratislava, pages 13-18.
- [7] **Gondrexon N., Renaudin V., Boldo P., Gonthier Y., Bernis A., Petrier C. (1997).** «*Degassing effect and gas-liquid transfer in a high frequency sonochemical reactor*», *Chem. Eng. J.*, 66: 21-26.
- [8] **Cheftel J. C., Lorient D. (1982).** Aspects technologiques: les propriétés fonctionnelles des protéines laitières et leur amélioration. *Le Lait*, 62: 435-483.
- [9] **Fox PF., Mulvihill DM. (1983).** Functional properties of casein, caseinates and coprecipitates. In: *Proc Int Dairy Fed Symp Physico-Chemical Aspects of Dehydrated Protein*. In Rich Milk Products éditeur, Helsingor, pages 188-285.
- [10] **Kinsella JE. (1984).** Milk proteins: physicochemical and functional properties. *CRC Crit Rev. Food Sci. Nutr.* 23: 197-262
- [11] **Dewit J.N. (1984).** Functional properties of whey proteins in food systems. *Neth. Milk Dairy J.* 38: 71 -89.
- [12] **Kinsella JE., FOX PF. (1985).** Water sorption by proteins: milk and whey proteins. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr.* 24: 91-139
- [13] **Modler HW. (1985).** Functional properties of non-fat dairy ingredients - a review. Modifications of products containing casein. *J Dairy Sci.*, 68:2195-2205.
- [14] **Anderson M., Brooker BE., Needs EC. (1987).** The role of proteins in the stabilization/ destabilization of dairy foams. In Royal Society of Chemistry éditeur, Londres, pages 100-109.
- [15] **Colas B. (1988).** Viscosité des caséines, caséinates et coprécipités. In: Lavoisier éditeur : Techniques et Documentation, Paris, pages 89-103.
- [16] **Dumay E. (1988).** Dénaturation thermique de la β -Iactoglobuline et propriétés gélifiantes des concentrés protéiques de lactosérum. In Lavoisier éditeur : Techniques et Documentation, Paris, pages 67-87.
- [17] **Leman J., Kinsella JE. (1989).** Surface activity film formation and emulsifying properties of milk proteins. *CRC Crit Rev Food Sei Nutr* 28: 115-136.
- [18] **Yoshida C.M.P., Antunes A.J. (2004).** Characterization of whey protein emulsion films, *Braz. J. Chem. Engineer.*, 21: 247 – 252.
- [19] **Ashokkumar M., Lee J., Zisu B., Bhaskarcharya R., Palmer M., Kentish S. (2009).** Hot topic: Sonication increases the heat stability of whey proteins, *J. Dairy Sci.*, 92(11): 5353–5356.
- [20] **Lorient D., Closs B., Caurthaudan JL. (1991).** Connaissances nouvelles sur les propriétés fonctionnelles des protéines du lait et des dérivés, *Le Lait*, 71: 141-171.
- [21] **Petit B., Ritz M., Federighi M. (2002).** Nouveaux traitements physiques de conservation des aliments. *Rev. Méd, Vét.*, 153(10): 653-664.
- [22] **Rezek Jambrak A., Mason T J., Lelas V., Herceg Z., Ljubic Herceg I. (2008).** Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions, *J. Food Engineer.*, 86: 281-287.
- [23] **Racotta V., Humbert G., Lorient D. (1978).** Procédé de valorisation des protéines du lactosérum de fromagerie par thermocoagulation. *Le Lait*, 57: 606-622.
- [24] **Racotta V. (1976).** Technologie para obtener un concentra do proteico para consumo humano a partir de suero lacteo. Master of Science, Ecole National des Sciences Biologiques, Institut Polytechnique National, Mexico.
- [25] **Jeanet R., Croguennec T., Schuck P., Brule G. (2007).** Science des aliments, In Lavoisier éditeur : Techniques et Documentation, Paris, pages 456.
- [26] **Britten M. (2002).** Ingrédients laitiers, In Presses internationales, Montréal, 471-526.
- [27] **Saulnier F., Ferrero F., Bottero J.Y., LINDEN G. (1995).** Variations de composition et nature de la fraction insoluble des lactosérums industriels. *Le Lait*, 75: 93-100.
- [28] **Pouliot Y., Landry J., Giasson J. (1990).** Induction de la précipitation phosphocalcique dans le perméat de lactosérum de fromagerie, *Le Lait*, 71: 313-320.

- [29] **Boudier J.F., Luquet F. (1980).** Utilisation de lactosérum en alimentation humaine et animale. *Sér. Synth. Biblio.*, 21, 78-9.
- [30] **Jeantet R., Croguennec T., Schuck P., Brule G. (2006).** Science des aliments, In Lavoisier éditeur : Techniques et Documentation, Paris, pages 383.
- [31] **Morin O. (1992).** Amande, Noisette, Noix, in manuel des corps gras. In Lavoisier éditeur : Techniques et Documentation, Paris, pages 157-160
- [32] **Karleskind A. (1992).** Détermination des caractéristiques physiques in manuel des corps gras, In Lavoisier éditeur : Techniques et Documentation, Paris, pages 1290-1303.
- [33] **Schnadeltach D. (1997).** Pharmacopée européenne 3^e édition. Conseil Européen, 1912
- [34] **Mohanty B., Mulvihill DM., Fox PF. (1988).** Emulsifying and foaming properties of acidic caseins and sodium caseinate. *Food Chem*, 28: 17-30.
- [35] **Morr C.V., Ha Eyw. (1993).** Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties; *Crit Rev Food Sci Nutri*, 33: 431-476.
- [36] **Cayot P. (1998).** Structures et technofonctions des protéines du lait. In éditeur Arilait Recherches, Technique and documentation, pages 33-58.
- [37] **Cayot P., Lorient D. (1998).** Structures et techno fonctions des protéines du lait, Lavoisier éditeur : Techniques et Documentation, Paris, pages 363.
- [38] **De Wit J.N., Klarenbeek G., Hontelez-Bach E. (1983).** Evaluation of functional properties of whey protein concentrates and whey protein isolates. Isolation and characferization. *Neth. Milk Dairy J.* 37: 37-49.
- [39] **Dickinson E. (1992).** An introduction to food colloids. Oxford science publication, Oxford.
- [40] **Lillard HS. (1994).** Decontamination of poultry skin by sonication. *Food Technol.*, 33: 72-73.
- [41] **Closs B., (1990).** Influence de la structure sur les propriétés de surface des protéines de lactosérum. Thèse de Doctorat, Université de Bourgogne, ENSBANA, Dijon.
- [42] **Dickinson E. (1986).** Mixed protein aqueous emulsifiers: review of competitive protein adsorption and the relationship to food colloid stabilization. *Food Hydrocolloids* 1: 3-23.
- [43] **Raharintsoa C., Gaulard M.L., Alais C. (1977).** Etude de l'action des ultrasons cavitants sur quelques enzymes coagulantes, *Le Lait*, 569-570: 631-645.
- [44] **Pore J., (1995).** Emulsion, micro émulsions, émulsion multiples, In Edition. Techniques des industries des corps gras, pages 270.