

MARIE-MICHÈLE FILION

**AMÉLIORATION DE LA STABILITÉ THERMIQUE
DU LAIT PAR MODULATION DU POTENTIEL
D'OXYDORÉDUCTION**

Mémoire présenté
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval
dans le cadre du programme de maîtrise en sciences et technologie des aliments
pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

AVRIL 2006

© Marie-Michèle Filion, 2006

Résumé

Les traitements thermiques appliqués au lait de façon courante causent des modifications indésirables. Le but de ce projet était d'acquérir des connaissances sur l'effet du traitement d'électroréduction sur les modifications encourues par le lait lors d'un traitement thermique.

L'évaluation des cinétiques de coagulation par la présure a démontré que le temps de prise des gels de lait électroréduit est inférieur à celui des gels de lait dégazé ou témoin, alors que l'indice de fermeté est supérieur. Les analyses physicochimiques démontrent que le lait électroréduit possède la concentration en thiols la plus élevée.

L'étude du temps de coagulation par la chaleur montre que la stabilité thermique du lait électroréduit, à pH supérieur à 6,90, est jusqu'à 5 fois supérieure à celle du témoin. De plus, les laits électroréduit et dégazé, chauffés à 140 °C, ont une concentration en thiols plus élevée que le lait témoin.

Abstract

Common heat treatments applied to milk cause undesirable modifications. The goal of this project was to gain knowledge on the effect of an electroreductive treatment on heat-induced modifications in milk. The evaluation of rennet coagulation kinetics showed that the lagtime of electroreduced milk is lower than that of degassed or reference milk gel, whereas firmness is higher. Physico-chemical analyses show that electroreduced milk also has a higher thiol concentration. The study of heat coagulation time shows that electroreduced milk thermal stability, with pH higher than 6,90, is up to 5 times higher than that of the control. Moreover, electroreduced and degassed milks, heated at 140 °C, have a higher thiol concentration than reference milk.

Avant-propos

Ces travaux s'inscrivent dans le cadre d'un projet subventionné par l'action concertée Nateq-Novalait-MAPAQ, volet production et la transformation laitière, en collaboration avec Agriculture et Agroalimentaire Canada et portant sur la régulation électrochimique du potentiel redox du lait. L'axe de recherche qui m'était assigné était l'étude du comportement à la chaleur du lait ayant subi un procédé d'électroréduction.

Tout d'abord, l'aptitude à la coagulation par la présure et à la transformation fromagère des laits électroréduits chauffés à basse température a été déterminée. Ensuite, la stabilité thermique des laits électroréduits chauffés à haute température a été déterminée. Ce mémoire regroupe les résultats obtenus qui ont mené à la présentation d'un exposé et de deux affiches lors de colloques nationaux.

Cependant, ces travaux n'auraient pas été aussi efficaces sans la contribution de nombreuses personnes dont le savoir-être et le savoir-faire méritent d'être soulignés.

Tout d'abord, je tiens à remercier mon directeur le Dr Yves Pouliot pour son soutien constant lors de ces travaux. Ses courriels remplis de calme et de sagesse m'ont été d'un grand secours dans les moments d'incertitude.

Je tiens ensuite à exprimer ma profonde reconnaissance à mon co-directeur, Dr Michel Britten, pour sa rigueur scientifique et son encadrement rigoureux lors de la réalisation des blocs expérimentaux.

L'obtention de la subvention de recherche a mené à la création d'un groupe de recherche sur la régulation électrochimique du potentiel redox du lait. J'exprime ma grande reconnaissance aux Drs Jean Lessard et Jean-Marc Chapuzet, de l'Université de Sherbrooke, pour leur apport dans les aspects fondamentaux de l'électrochimie et à Patrick Fustier pour l'encadrement au sujet des procédés d'électrolyse à membrane utilisés en transformation alimentaire.

La majeure partie des travaux de laboratoire a été réalisée au Centre de recherche et de développement sur les aliments d'Agriculture et agroalimentaire Canada et n'auraient été aussi efficaces sans l'aide des assistantes de recherche des équipes des Drs Daniel St-Gelais et Michel Britten. J'exprime toute ma gratitude à Sophie Turcot, Annie Caron, Nathalie Rémillard et particulièrement Hélène Giroux pour leurs conseils et enseignements.

Ces remerciements ne seraient complets sans un mot pour mes collègues étudiants avec qui de belles amitiés se sont développées et un autre pour ma famille et mon conjoint qui m'ont encouragée à persévérer.

*Le principe des études supérieures,
c'est qu'on y apprend à apprendre.*
Hubert Reeves

Table des matières

Résumé.....	ii
Abstract.....	iii
Avant-propos	iv
Introduction générale.....	1
Chapitre 1 Revue de littérature.....	3
1.1 Lait.....	3
1.1.1 Composition du lait.....	3
1.2 Micelle de caséine.....	11
1.2.1 Composition.....	11
1.2.2 Structure.....	11
1.2.3 Caractéristiques physicochimiques de la micelle de caséine.....	14
1.3 Propriétés électrochimiques.....	17
1.3.1 Réactions d'oxydoréduction	17
1.3.2 Mesure du potentiel redox	17
1.3.3 Potentiel redox du lait.....	20
1.3.4 Oxygène dissous	21
1.4 Comportement du lait face à différents traitements.....	25
1.4.1 Coagulation par la présure	25
1.4.2 Facteurs influençant la coagulation	27
1.4.3 Traitement thermique.....	33
1.5 Électrolyse à membrane.....	46
1.5.1 Principe	46
1.5.2 Applications connues.....	47
1.5.3 Cellule d'électrolyse	47
1.6 Approche proposée	48
1.6.1 Réduire la sensibilité à l'oxydation	48
Chapitre 2 Hypothèse, but et objectifs.....	50
2.1 Hypothèse	50
2.2 But.....	50
2.3 Objectifs.....	51
Chapitre 3 Aptitude à la coagulation par la présure des laits traités à 75 °C.....	53
3.1 Résumé.....	53
3.2 Introduction.....	53
3.3 Matériel et méthode	54
3.3.1 Plan expérimental	54
3.3.2 Préparation des échantillons	54
3.3.3 Potentiel redox et oxygène dissous.....	55
3.3.4 Traitement thermique.....	56
3.3.5 Analyses physico-chimiques.....	56
3.3.6 Propriété technologique	59
3.3.7 Analyse statistique	60

3.4	Résultats.....	60
3.4.1	Traitement d'électroréduction.....	60
3.4.2	Analyses physico-chimiques.....	61
3.4.3	Propriétés technologiques.....	67
3.5	Discussion.....	70
3.5.1	Effet du temps de chauffage.....	70
3.5.2	Effet du traitement d'électroréduction.....	70
3.5.3	Mesures correctives apportées.....	73
3.6	Conclusion.....	73
Chapitre 4	Aptitude à la transformation fromagère des laits traités à 75 °C.....	76
4.1	Résumé.....	76
4.2	Introduction.....	76
4.3	Matériel et méthode.....	77
4.4	Plan expérimental.....	77
4.5	Préparation des échantillons.....	77
4.5.1	Réception et écrémage.....	77
4.5.2	Dégazage.....	77
4.5.3	Électroréduction.....	77
4.6	Traitement thermique.....	78
4.7	Analyses physico-chimiques.....	78
4.7.1	Potentiel redox et oxygène dissous.....	78
4.7.2	Hydratation des micelles.....	79
4.7.3	Teneur protéique du surnageant.....	79
4.7.4	Détermination du profil protéique du surnageant.....	79
4.7.5	Concentration en thiols.....	79
4.7.6	Teneur en minéraux.....	79
4.8	Propriétés technologiques.....	80
4.8.1	Cinétiques de coagulation par la présure.....	80
4.8.2	Production fromagère simulée en laboratoire.....	80
4.9	Résultats.....	83
4.9.2	Propriétés technologiques.....	87
4.10	Discussion.....	91
4.10.1	Effet du chauffage.....	91
4.10.2	Effet du traitement d'électroréduction.....	93
4.11	Conclusion.....	95
Chapitre 5	Comportement du lait traité à 140 °C.....	97
5.1	Résumé.....	97
5.2	Introduction.....	97
5.3	Matériel et méthode.....	98
5.3.1	Temps de coagulation à la chaleur.....	98
5.3.2	Traitement thermique à 140 °C.....	100

5.4	Résultats.....	106
5.4.1	Temps de coagulation à la chaleur.....	106
5.4.2	Traitement thermique à haute température	108
5.5	Discussion.....	124
5.5.1	Temps de coagulation à la chaleur.....	124
5.5.2	Traitement thermique à haute température	125
5.6	Conclusion	126
	Conclusion générale.....	128
	Bibliographie	130
	Annexe A.....	138
	Annexe B.....	142

Liste des tableaux

Tableau 1.1 Composition générale du lait de vache.	4
Tableau 1.2 Caractéristiques physico-chimiques des caséines.	5
Tableau 1.3 Teneur de différents minéraux dans le lait.	9
Tableau 1.4 Composition générale de la micelle de caséine.	11
Tableau 1.5 Impact de la température sur la coagulation du lait par la présure.	29
Tableau 4.1 Effet du traitement sur l'hydratation des micelles de caséine.	84
Tableau 4.2 Effet du traitement sur la concentration protéique et la composition du surnageant.	85
Tableau 4.3 Effet du traitement sur la concentration en thiols totaux des surnageants.	85
Tableau 4.4 Teneur en minéraux totaux des laits témoin, dégazé et électroréduit non chauffés.	86
Tableau 4.5 Effet du traitement sur la teneur en minéraux solubles des surnageants.	87
Tableau 4.6 Effet du traitement sur les paramètres de cinétiques de coagulation par la présure des laits avec et sans ajout de calcium.	88
Tableau 4.7 Effet du traitement sur la composition des caillés.	89
Tableau 4.8 Effet du traitement sur la rétention protéique et lipidique des caillés formés.	90
Tableau 4.9 Effet du traitement sur le rendement actuel et corrigé des caillés formés.	90
Tableau 5.1 Effet du pH et du temps de chauffage à 140 °C sur les paramètres de couleur des laits.	114
Tableau A.1 Effet du traitement sur le pouvoir tampon des laits témoin, dégazé et électroréduit.	138
Tableau A.2 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur le diamètre micellaire des laits témoin, dégazé et électroréduit.	138
Tableau A.3 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur l'hydratation des micelles de caséines des laits témoin, dégazé et électroréduit.	138
Tableau A.4 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur la concentration et la composition protéique des laits témoin, dégazé et électroréduit.	139
Tableau A.5 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur la concentration en thiols totaux du surnageant d'ultracentrifugation des laits témoin, dégazé et électroréduit.	139
Tableau A.6 Concentration en calcium, potassium, magnésium, sodium et potassium totaux des laits témoin, dégazé et électroréduit.	140
Tableau A.7 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur la concentration en calcium, potassium, magnésium, sodium et potassium solubles des surnageants d'ultracentrifugation des laits témoin, dégazé et électroréduit.	140
Tableau A.8 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur les paramètres des cinétiques de coagulation par la présure des laits témoin, dégazé et électroréduit.	141
Tableau B.1 Effet du pH sur le temps de coagulation à 140 °C des laits témoin, dégazé et électroréduit.	142
Tableau B.2 Effet du pH initial et du temps de chauffage à 140 °C sur le pH après traitement thermique des laits témoin, dégazé et électroréduit.	142
Tableau B.3 Effet du pH et du temps de chauffage à 140 °C sur la concentration en calcium, magnésium et phosphore solubles des surnageants d'ultracentrifugation des laits témoin, dégazé et électroréduit.	143

Tableau B.4 Effet du pH et du temps de chauffage à 140 °C sur les paramètres de couleur des laits témoin, dégazé et électroréduit.	144
Tableau B.5 Effet du pH et du temps de chauffage à 140 °C sur la concentration en thiols totaux des laits témoin, dégazé et électroréduit.	144
Tableau B.6 Effet du pH et du temps de chauffage à 140 °C sur la concentration en acide lactique et citrique ainsi qu'en lactose et galactose des laits témoin, dégazé et électroréduit.	145
Tableau B.7 Effet du pH et du temps de chauffage à 140 °C sur la lysine disponible dans les laits témoin, dégazé et électroréduit.	145
Tableau B.8 Effet du pH et du temps de chauffage à 140 °C sur la concentration protéique totale et la concentration protéique de la zone de κ -caséine du surnageant d'ultracentrifugation des laits témoin, dégazé et électroréduit.	146

Liste des figures

Figure 1.1 Structure primaire de la β -lactoglobuline A.....	7
Figure 1.2 Structure tridimensionnelle d'un monomère de la β -lactoglobuline A. Source : Protein Data Bank.....	7
Figure 1.3 Structure du lactose.....	9
Figure 1.4 Modèle de micelle de caséine avec sous-unités.....	12
Figure 1.5 Structure de la micelle selon le modèle à dualité des liens.....	13
Figure 1.6 Les principaux équilibres salins du lait.....	15
Figure 1.7 Répartition du calcium et du phosphore dans le lait.....	16
Figure 1.8 Potentiel redox du lait et le potentiel standard de plusieurs systèmes en fonction du pH.....	19
Figure 1.9 Diminution du potentiel redox du lait pendant l'incubation avec une souche de <i>S.</i> <i>Lactis</i> à 25 °C.....	21
Figure 1.10 Acide ascorbique et déhydroascorbique.....	22
Figure 1.11 Formes oxydées et réduites de la riboflavine.....	23
Figure 1.12. Phases du processus de coagulation enzymatique du lait.....	27
Figure 1.13 Facteurs influençant les paramètres de coagulation enzymatique du lait.....	28
Figure 1.14 Formation d'un intermédiaire énediol.....	34
Figure 1.15. Aperçu du stade initial de la réaction de Maillard.....	38
Figure 1.16 Dégradation du composé d'Amadori au stade avancé de la réaction de Maillard sous conditions acides, neutres et alcalines.....	39
Figure 1.17 Profil de stabilité à la chaleur en fonction du pH.....	41
Figure 1.18. Interactions induites par la chaleur selon le pH.....	45
Figure 1.19 Schéma d'une cellule d'électrolyse à membrane, de type « statique ».....	48
Figure 3.1 Paramètres de coagulation extraits du modèle.....	60
Figure 3.2 Effet de la durée du traitement d'électroréduction (min) sur le potentiel redox apparent (mV) et la concentration en oxygène dissous (ppm) du lait.....	61
Figure 3.3 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur le diamètre micellaire (nm) des laits...	62
Figure 3.4 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur l'hydratation des micelles de caséines (g eau/g prot.) des laits.....	63
Figure 3.5 Effet du temps de chauffage à 75 °C la concentration protéique totale et la composition en β -lactoglobuline, α -lactalbumine et autres protéines du surnageant d'ultracentrifugation des laits.....	64
Figure 3.6 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur la concentration en thiols totaux (μ M/g prot.) du surnageant d'ultracentrifugation des laits.....	65
Figure 3.7 Effet du temps de chauffage à 75 °C (0, 4, 8, 16, 32 et 64 min) sur la concentration en calcium, phosphore et magnésium (ppm) des surnageants d'ultracentrifugation des laits.....	66
Figure 3.8 Effet du traitement appliqué au lait (témoin, dégazé et électroréduit) sur la concentration en calcium, phosphore et magnésium (ppm) des surnageants d'ultracentrifugation des laits.....	67
Figure 3.9 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur l'indice de fermeté finale (DO_{∞}) des laits témoin, dégazé et électroréduit.....	68
Figure 3.10 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur la vitesse maximale de coagulation (V_{max}) des laits témoin, dégazé et électroréduit..	69

Figure 3.11 Effet du temps de chauffage à 75 °C et du traitement (témoin, dégazé, électroréduit) sur le temps de prise (Tlag) des laits témoin, dégazé et électroréduit.....	69
Figure 5.1 Effet de la durée du traitement d'électroréduction (min) sur le potentiel redox apparent (mV) et la concentration en oxygène dissous (ppm) du lait.	107
Figure 5.2 Effet du pH (6,5 à 7,1) sur le temps de coagulation (min) à la chaleur (140 °C) des laits témoin, dégazé et électroréduit.....	108
Figure 5.3 Effet de la durée du traitement d'électroréduction (min) sur le potentiel redox apparent (mV) et la concentration en oxygène dissous (ppm) du lait.	109
Figure 5.4 Effet du pH initial et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur le pH du lait.	110
Figure 5.5 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en calcium soluble (ppm) des surnageants d'ultracentrifugation.	112
Figure 5.6 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en magnésium soluble (ppm) des surnageants d'ultracentrifugation.	112
Figure 5.7 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en phosphore soluble (ppm) des surnageants d'ultracentrifugation.	113
Figure 5.8 Effet du traitement (témoin, dégazé et électroréduit) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en thiols totaux (µM/g prot.). ...	115
Figure 5.9 Effet du pH (6,70 — et 7,05 -----), du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) et du traitement (témoin (●), dégazé (■) et électroréduit (▲) sur la concentration en acide lactique (%) des laits.....	117
Figure 5.10 Effet du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en acide citrique (%) des laits.....	117
Figure 5.11 Effet du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en lactose (%) des laits.	118
Figure 5.12 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en galactose (%) des laits.	118
Figure 5.13 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la lysine disponible (%) des laits.	119
Figure 5.14 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration protéique (%) du surnageant d'ultracentrifugation des laits.....	120
Figure 5.15 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration protéique de la zone de κ-caséine (%) du surnageant d'ultracentrifugation.	121
Figure 5.16 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration et le profil protéique du surnageant d'ultracentrifugation des laits témoin, dégazé et électroréduit déterminé par SDS-PAGE.....	123

Introduction générale

L'industrie laitière s'impose dans l'économie agroalimentaire canadienne en tant que quatrième secteur d'activité en importance, après les grains, les viandes rouges et l'horticulture (CCIL, 2006). Le secteur de la transformation, qui soumet le lait à différents procédés technologiques, utilise plus de 62 % du 7,5 milliards de litres de lait produit (CCIL, 2006). Toute amélioration des procédés de transformation peut avoir des répercussions intéressantes du point de vue économique.

Le principal procédé industriel appliqué au lait est un traitement thermique qui a pour objectifs la santé publique et la qualité du produit. Cependant, les traitements thermiques causent de nombreuses modifications indésirables. Parmi celles-ci, notons la polymérisation des protéines, le brunissement non-enzymatique et la coagulation (van Boekel, 1998). Ces changements affectent négativement les propriétés nutritionnelles, organoleptiques et technologiques des produits. De plus, plusieurs des réactions néfastes sont des réactions d'oxydation mais les transformateurs disposent de peu de moyens pour les maîtriser ou les contrôler.

Pour limiter les effets dommageables du traitement thermique, le contrôle du pH et de la disponibilité du calcium ont été proposés (Singh et Creamer, 1992). Par ailleurs, puisque la stabilité à la chaleur du lait est influencée par des phénomènes d'oxydation des protéines, d'autres proposent de contrôler l'activité oxydoréductrice des produits par l'ajout d'additifs (Halliwell *et al.*, 1995). Cependant, l'usage d'additifs est mal perçu par les consommateurs et demeure strictement réglementé.

Comme autre avenue, il est possible de moduler le potentiel d'oxydoréduction du lait pour créer un milieu réducteur défavorisant les réactions d'oxydation selon un procédé d'électrolyse à membrane. Les compartiments anodiques et cathodiques de la cellule d'électrolyse sont séparés par une membrane cationique. Les réactions qui surviennent à la surface de la cathode sont responsables de la réduction des espèces actives et de l'abaissement du potentiel d'oxydoréduction du lait.

Toutefois, les applications de l'électrolyse à membrane dans le secteur laitier sont encore limitées. Les seuls travaux exploitant l'électrolyse pour moduler la concentration en oxygène, le potentiel d'oxydoréduction ou l'état des espèces électrochimiquement actives sont ceux de Bazinet et collaborateurs (Bazinet *et al.*, 1997) qui avaient pour objectif la réduction des ponts disulfures de la β -lactoglobuline.

En conséquence, le développement d'une technologie d'électrolyse à membrane appliquée à l'électroréduction du lait représente une approche novatrice et prometteuse pour le contrôle de la stabilité du lait à la chaleur. Elle vise à minimiser les impacts négatifs des traitements thermiques appliqués de façon courante au lait et aux produits laitiers.

Chapitre 1 Revue de littérature

1.1 Lait

Le lait est un milieu réactionnel complexe dont le rôle premier est de satisfaire tous les besoins nutritionnels du nourrisson. Il contient principalement des glucides, de la matière grasse, des protéines et des sels minéraux. D'autres constituants se retrouvent dans le lait sous forme de traces tels que les vitamines, les enzymes et les gaz dissous. La composition détaillée du lait est donnée à la section 1.1.1. Le pH naturel du lait se situe entre 6,6 et 6,8 et il est grandement influencé par sa composition.

Le lait se présente sous la forme d'une émulsion de particules de gras dans un environnement aqueux. Les principales protéines laitières sont les caséines qui se présentent sous la forme d'une dispersion de petites particules colloïdales (<300 nm) nommées micelles.

1.1.1 Composition du lait

Les constituants majeurs du lait de vache sont présentés au Tableau 1.1. De ceux-ci, les protéines présentent un intérêt tout particulier car ce sont les responsables majeures des propriétés technologiques du lait. Les protéines représentent 95 % de la matière azotée du lait et peuvent être départagées en deux groupes : les caséines et les protéines du lactosérum. L'azote non-protéique est composé de substances diverses telles que l'urée, l'ammoniac, l'acide urique, des acides aminés libres, des peptides, etc.

Tableau 1.1 Composition générale du lait de vache (Amiot *et al.*, 2002).

	Variations limites (%)	Valeur moyenne (%)
Eau	85,5-89,5	87,5
Matière grasse	2,4-5,5	3,7
Protéines	2,9-5,0	3,2
Glucides	3,6-5,5	4,6
Minéraux	0,7-0,9	0,8
Constituants mineurs	Enzymes, vitamines, pigments, cellules diverses, gaz dissous	

1.1.1.1 Caséines

Les quatre principales caséines qui existent naturellement dans le lait sont les caséines α_{s1} , α_{s2} , β et κ . Les caséines γ sont, pour leur part, des fragments peptidiques issus de la dégradation de la β -caséine par la plasmine. Les caséines se distinguent par leur faible solubilité à pH 4,6 et elles sont différenciées sur la base de la distribution des charges et de la sensibilité à la précipitation par le calcium. Leurs caractéristiques physicochimiques sont présentées au Tableau 1.2. Elles partagent un facteur de composition commun puisque ce sont des protéines conjuguées, la plupart avec des groupements phosphate estérifiés à des résidus sérine. Les sites phosphoséryls sont souvent regroupés, créant des zones hydrophiles dans leur chaîne (Brulé *et al.*, 1997). La capacité des caséines à fixer le calcium diminue dans l'ordre $\alpha_{s2} > \alpha_{s1} > \beta > \kappa$, correspondant à leur contenu décroissant en phosphosérine. Le groupe phosphate des résidus phosphosérine constitue le principal site de liaison du calcium (Rollema, 1992), contribuant à la structure de la micelle.

Tableau 1.2 Caractéristiques physico-chimiques des caséines (Brulé *et al.*,1997).

	Caséine α_{s1}	Caséine α_{s2}	Caséine β	Caséine κ
Résidus d'a.a.*	199	207	209	169
Poids moléculaire (Da)	23 600	25 200	24 000	19 000
Résidus cystéine*	-	2	-	2
Groupe phosphoséryls*	8-9	10-13	5	1-2
Glucides	-	-	-	+
Sensibilité à la chymosine	+	-	+	+++
Sensibilité au calcium	++	+++	+	-

*nombre par mole

La forte présence de résidus proline induit des coudes dans la chaîne qui empêchent la formation d'une structure secondaire serrée et ordonnée. De plus, l'absence de structure tertiaire est responsable de la grande résistance à la dénaturation thermique de ces protéines.

1.1.1.1.1 Caséine κ

Certes, la caséine la plus étudiée est la caséine κ (κ -CN), probablement à cause de son importance dans la stabilité de la micelle et de son rôle en transformation laitière. La caséine κ se différencie des autres caséines par sa grande sensibilité à la chymosine, son peu d'affinité pour le calcium et la présence de résidus glucidiques.

La κ -CN favorise la stabilité de la micelle de deux façons. Tout d'abord, prises individuellement et en présence de calcium, les caséines α_{s1} , α_{s2} sont insolubles et la caséine β n'est soluble qu'entre 0-4 °C. L'association de ces caséines avec la caséine κ est une condition essentielle à leur dispersion en présence de calcium (Holt et Horne, 1996). Ensuite, la κ -CN possède deux régions qui sont séparées lors de l'hydrolyse du lien Phe₁₀₅-Met₁₀₆ par la chymosine. La partie N-terminale se nomme para- κ -CN et est de nature hydrophobe. Elle demeure attachée à la micelle. La partie C-terminale de la κ -CN est le caséinomaclopeptide (CMP), de nature hydrophile et chargée négativement. La partie CMP de la κ -CN s'étend dans le sérum et forme le chevelu micellaire d'une épaisseur de 5 à 10 nm (Dalglish, 1998). Ce dernier participe à la stabilisation des micelles par répulsion

électrostatiques et stériques (Brulé *et al.*, 1997; Holt et Horne, 1996; Lucey, 1995; Fox, 1993). La protéine qui perd le cheveu micellaire par hydrolyse n'a plus la capacité de stabiliser les autres caséines (Amiot *et al.*, 2002).

La κ -CN est également la seule caséine à avoir des résidus glucidiques dans sa constitution (Brulé *et al.*, 1997; Fox et Mulvihill, 1982). La nature et l'emplacement de ces glucides sont responsables de l'hétérogénéité de sa structure. La glycosylation n'a pas de rôle spécifique mais renforce le caractère hydrophile de la partie C-terminale en plus d'augmenter l'encombrement stérique à la surface de la micelle.

1.1.1.2 Protéines du lactosérum

Les autres protéines du lait sont présente dans le lactosérum. Les protéines sériques sont définies comme étant les protéines solubles présentes dans le lactosérum suivant la précipitation des caséines à pH 4,6 à 20 °C. Les protéines sériques englobent une première fraction protéique (80 %) composée de β -lactoglobuline (β -LG), d' α -lactalbumine (α -LA), d'albumine de sérum bovine (BSA) et d'immunoglobulines, et une deuxième fraction non protéique (20 %) composée de protéoses peptones et de composés azotés (De Wit, 1981).

1.1.1.2.1 β -lactoglobuline

Les deux principales protéines sériques sont la β -LG et l' α -LA. À elle seule, la β -LG représente 50 à 60 % des protéines du lactosérum (Amiot *et al.*, 2002). Cette protéine est hautement nutritive puisqu'elle contient tous les acides aminés essentiels. Certains auteurs ont démontré la capacité de la β -LG à lier l'acide rétinoïque ou certains ligands hydrophobes tels que les vitamines liposolubles et les acides gras. Cependant, la fonction biologique réelle de la protéine demeure inconnue (Kontopidis *et al.*, 2002).

La structure primaire de la β -LG, qui possède un poids moléculaire de 18 362 Da, est composée de 162 résidus d'acides aminés dont la séquence est donnée à la Figure 1.1. Il existe plusieurs variants génétiques de cette protéine, les plus communs étant le A et le B qui se différencient par les résidus d'acides aminés en position 64 (aspartyle et glycyle respectivement) et 118 (valyle et alanyle respectivement) (Morr et Ha, 1993).

```

1      11      21      31
L I V T Q T M K G L D I Q K V A G T T W S L A M A A S D I S L L D A Q S A P L R
41     51     61     71
V Y V E E L K P T P E G D L E I L L Q K D E N D E C A Q K K I I A E K T K I P A
81     91    101    111
V F K I D A L N E N K V L V L D T D Y K K T L L F C M E N S A E P E Q S L V C Q
121    131    141    151
C L V R T P E V D D E A L E K F D K A L K A L P M H I R L S F N P T Q L E E Q C
161
H I O H

```

Figure 1.1 Structure primaire de la β -lactoglobuline A (Adapté de Walstra et Jenness, 1984).

La structure secondaire de cette protéine contient environ 50 % de feuillets β , 15 % d'hélices α et 30 % d'enroulements au hasard, tel qu'illustré à la Figure 1.2 (Sawyer et Kontopidis, 2000). Quatre des cinq résidus cystéine forment des ponts disulfures (S-S), 66-160 et 106-119, pour stabiliser la structure. La Cys₁₂₁ exhibe donc un thiol libre libre pouvant induire des réactions d'échange SH/S-S intra et intermoléculaires et qui est responsable de la formation d'agrégats lors du chauffage (Sawyer *et al.*, 2002). Le premier pont disulfure, impliqué dans le maintien du cœur hydrophobe, est faiblement accessible et donc peu réactif comparativement au second (Cayot et Lorient, 1998). La β -lactoglobuline, très compacte de par sa structure, est très résistante à l'hydrolyse, propriété conférée par l'action stabilisante des deux ponts disulfures (Papiz *et al.*, 1986), ce qui en fait une protéine qui résiste à l'hydrolyse gastrique. Selon les conditions du milieu, la structure quaternaire de cette protéine prend différentes formes.



Figure 1.2 Structure tridimensionnelle d'un monomère de la β -lactoglobuline A. Source : Protein Data Bank (Qin *et al.*, 1998).

Le point isoélectrique de la β -LG du lait des ruminants est 5,2 (Kinsella *et al.*, 1989) et la conformation de cette protéine est affectée par les variations de pH. Au pH naturel du lait (pH 6,8), la β -LG se retrouve principalement sous forme de dimère. À mesure que le pH diminue, les dimères tendent à se polymériser en octomères de 147 kDa (Verheul *et al.*, 1999), mais à $\text{pH} < 3,5$, les dimères se dissocient en monomères par répulsions électrostatiques. À pH 7, un dépliement partiel de la structure de la protéine entraîne un changement de conformation. L'exposition du groupement carbonyle du résidu Glu₈₉, favorisé à pH élevé, serait responsable de ce changement de conformation, appelé la transition de Tanford (Qin *et al.*, 1998). À $\text{pH} > 8$, les molécules partiellement dénaturées par la transition de Tanford s'associent de manière irréversible par l'établissement de ponts disulfures intermoléculaires qui peuvent mener à l'agrégation des protéines (Verheul *et al.*, 1999).

La température influence également la structure tridimensionnelle de la β -LG. Bien que la β -LG se retrouve principalement sous forme de dimères au pH naturel du lait, les dimères se dissocient en monomères lorsque la température atteint environ 65 °C. Au-delà de cette température survient un dépliement de la structure qui provoque la dénaturation irréversible de la protéine (Sawyer *et al.*, 2002).

En plus des changements structuraux causés par la température et/ou le pH, des réactions d'échange SH/S-S surviennent également selon l'exposition du résidu thiol libre en position 121 (Cys₁₂₁). Ces réactions sont impliquées dans le mécanisme de dénaturation de la β -LG, de même que dans sa gélification (Shimada et Cheftel, 1989) et sont favorisées à pH neutre ou basique. À pH plus faible, l'augmentation de la température est nécessaire afin d'initier le dépliement et le processus de dénaturation. La formation de ponts disulfures intermoléculaires est à la base de la polymérisation irréversible ainsi que de la gélification de la β -LG (Monahan *et al.*, 1995).

1.1.1.3 Lactose

Le principal glucide du lait est le lactose, un disaccharide composé de α -D-glucose et de β -D-galactose, tel qu'illustré à la Figure 1.3. Puisque le carbone anomérique du glucose n'est pas engagé dans le lien glycosidique, le lactose est un sucre réducteur pouvant réagir avec

une protéine lors de la réaction de Maillard, détaillée à la section 1.4.3.3.2. Quoique le lait contienne près de 4,6 % de lactose, il n'a pas de goût sucré, le pouvoir sucrant du lactose n'étant que de 22 par rapport au saccharose à qui une valeur de 100 est attribuée (Amiot *et al.*, 2002). Le lactose est utilisé comme substrat lors de la fermentation du lait par les bactéries lactiques, phénomène à la base de produits fermentés tels que le fromage et le yogourt.

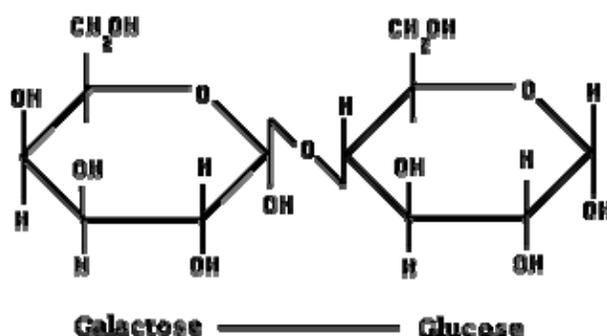


Figure 1.3 Structure du lactose.

1.1.1.4 Minéraux

Les minéraux jouent un rôle important dans l'organisation structurale des micelles de caséine. Les principaux minéraux présents dans le lait sont donnés au Tableau 1.3 et de nombreux autres sont présents à l'état de traces. Les minéraux sont répartis entre l'état soluble, sous la forme d'ions ou de sels, et l'état colloïdal, associés à la micelle de caséine. De plus, les minéraux sont en équilibre entre les deux états. Tout particulièrement, le phosphore et le calcium jouent un rôle prépondérant dans le maintien de l'intégrité de la micelle de caséine. Cet aspect sera approfondi à la section 1.2.3.3.

Tableau 1.3 Teneur de différents minéraux dans le lait (Amiot *et al.*, 2002).

Minéraux	Teneur (ppm)	Minéraux	Teneur (ppm)
Na	445	Ca	1180
Mg	105	Fe	0,5
P	896	Cu	0,1
Cl	958	Zn	3,8
K	1500	I	0,28

1.1.1.5 Constituants mineurs

En plus des protéines, glucides, lipides, et minéraux, le lait contient des vitamines et des enzymes. Les vitamines A, D, E et K sont liposolubles, ainsi se retrouvent-elle dans la matière grasse et peuvent être perdues lors de l'écémage. D'autres vitamines sont hydrosolubles et se retrouvent dans le sérum. C'est le cas de l'acide ascorbique (C) qui s'y retrouve en plus grande concentration à 2 mg/100 ml. La thiamine (B1), la riboflavine (B2), la pyroxydine (B6), la cyanocobalamine (B12), la niacine, l'acidepantothénique, l'acide folique et la biotine (H) (Amiot *et al.*, 2002).

De ces vitamines, l'acide ascorbique joue un rôle important car non seulement est-ce la vitamine présente en plus grande concentration mais c'est un agent anti-oxydant et un stabilisateur du potentiel d'oxydoréduction du lait, tel qu'il sera démontré à la section 1.3.4.1. Des vitamines peuvent être dégradées sous conditions oxydatives, c'est le cas des vitamines C, B2, A et acide folique (Rada-Mendoza *et al.*, 2002). Pour leur part, les pertes en vitamines B12, A et E dépendent de la quantité d'oxygène dans le lait (Schrodes, 1982).

Le lait contient un certain nombre d'enzymes, dont certaines sont oxydoréductrices. C'est le cas des enzymes lactate dehydrogénase, malate déhydrogénase, xanthine oxidase, lactoperoxidase et sulphhydryl oxydase (Walstra et Jenness, 1984). Leur rôle en relation avec les réactions d'oxydoréductions du lait sera approfondi à la section 1.3.4.4.

Comme autre constituant mineur, le lait contient des gaz dissous. Le lait cru contient environ 6 mg/L d'oxygène; cette présence peut avoir un effet négatif sur les qualités nutritionnelles du produit (Walstra et Jenness, 1984).

1.1.1.6 Variabilité de composition

La composition du lait de vache varie selon différents facteurs que sont l'individualité, la race, le stade de lactation, l'alimentation, la saison et l'âge (Amiot *et al.*, 2002). Notamment, la saison possède une grande influence sur la composition générale du lait, ce qui peut avoir des conséquences directes en technologie laitière.

1.2 Micelle de caséine

1.2.1 Composition

La micelle de caséine renferme, en plus des différentes caséines et composants salins présentés au Tableau 1.4, du lactosérum enchâssé et les enzymes lipase et plasmine. La micelle de caséine est constituée à 92 % des caséines α_{s1} , α_{s2} , β et κ et le 8 % restant correspond aux composants salins dont les deux plus importants sont le calcium et le phosphore (Amiot *et al.*, 2002). Les proportions exactes des constituants sont variables selon l'influence sur la composition du lait des facteurs énumérés à la section 1.1.1.6.

Quoique la micelle de caséine soit passablement stable, il y a quatre façons principales d'induire l'agrégation. Ce sont l'utilisation d'enzymes protéolytiques, les conditions acides, les traitements de chaleur et la gélification causée par le vieillissement.

Tableau 1.4 Composition générale de la micelle de caséine (Brulé *et al.*, 1997).

Caséines	(g/100g)	Composants salins	(g/100g)
α_{s1}	33	Calcium	2,9
α_{s2}	11	Magnésium	0,2
β	33	Phosphate inorganique	4,3
κ	11	Citrate	0,5
γ	4		
Total caséines	92	Total composants salins	8,0

1.2.2 Structure

La grande majorité des caséines sont présentes sous la forme de particules colloïdales nommées micelles de caséine qui sont passablement stables. Les quatre principales façons d'induire l'agrégation sont l'utilisation d'enzymes protéolytiques, les conditions acides, les traitements de chaleur et la gélification causée par le vieillissement. Toutefois, la structure exacte de la micelle de caséine fait encore l'objet de spéculations. Il existe plusieurs modèles de micelles de caséines dont le plus répandu est le modèle avec sous-unités de Schmidt (1982). Cependant, le modèle « à dualité des liens » de Horne (1998) tend à vouloir s'imposer chez certains.

1.2.2.1 Modèle avec sous-unités

Le modèle avec sous-unités, présenté à la Figure 1.4, suggère que les sous-unités n'étaient pas toutes de même composition mais que certaines étaient plus riches en κ -CN et étaient situées en surface de la micelle. Finalement, Schmidt (1982) précisa que les sous-micelles étaient reliées par des agrégats de $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$.

Dans le modèle actuel, les micelles sont en fait composées de sous-unités comprenant de 10 à 100 molécules de caséines et nommées sous-micelles. Les sous-micelles sont reliées entre elles par des ponts phosphate de calcium. La composition des sous-micelles au centre et en périphérie est différente. En effet, les caséines β et α_{s1} sont plus présentes au centre de la micelle et forment le cœur hydrophobe alors que la partie externe, davantage hydrophile, est formée de caséine α_{s1} , α_{s2} et κ (Amiot *et al.*, 2002).

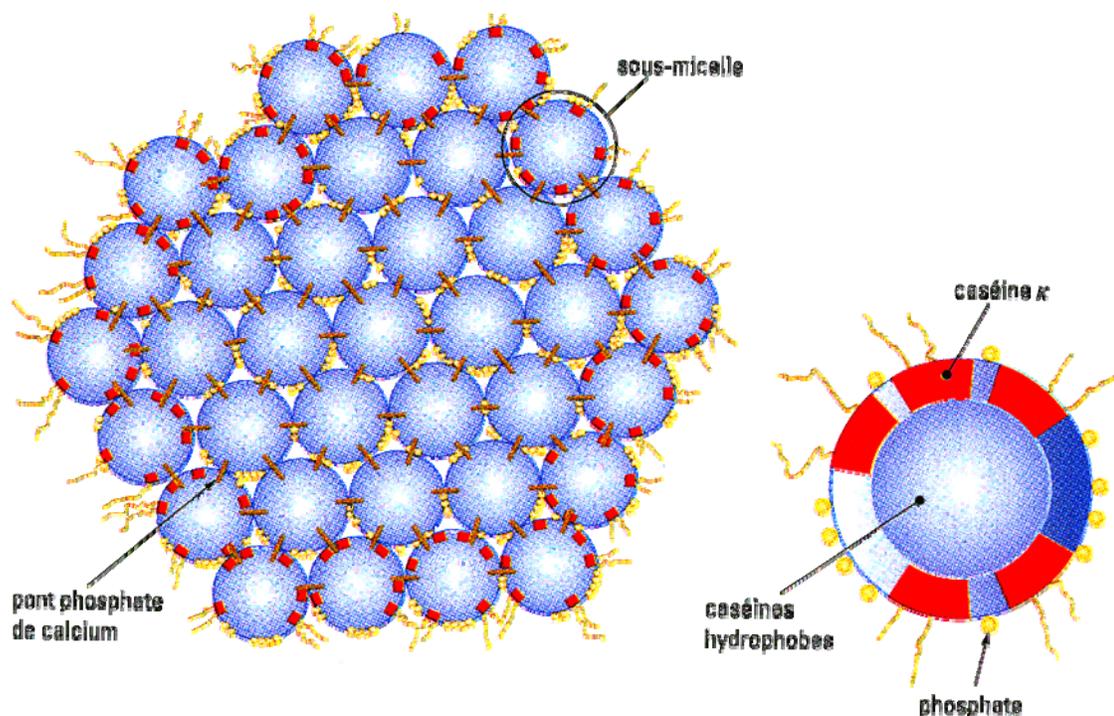


Figure 1.4 Modèle de micelle de caséine avec sous-unités (Amiot *et al.*, 2002).

1.2.2.2 Modèle à dualité des liens

Un nouveau modèle, nommé « à dualité de liens », a récemment été proposé par Horne (1998). Ce modèle est proposé pour remédier au manque d'un mécanisme plausible pour expliquer l'assemblage, la croissance et la terminaison de la croissance des autres modèles, tout en étant conforme à la réaction des micelles suite à un changement de pH, de température, d'addition d'urée ou de retrait de phosphate de calcium avec l'EDTA (Horne, 1998). Le modèle propose deux voies de polymérisation pour l'assemblage des micelles. Ces voies sont la polymérisation de caséines individuelles via les régions hydrophobes des caséines et le pontage grâce au phosphate de calcium colloïdal (CCP). La formation des micelles est contrôlée par l'équilibre entre les forces d'attraction et de répulsion dans les micelles, notamment les excès localisés d'attraction hydrophobe et les répulsions électrostatiques (Horne, 1998). La structure de la micelle selon le modèle à dualité des liens est présentée à la Figure 1.5.

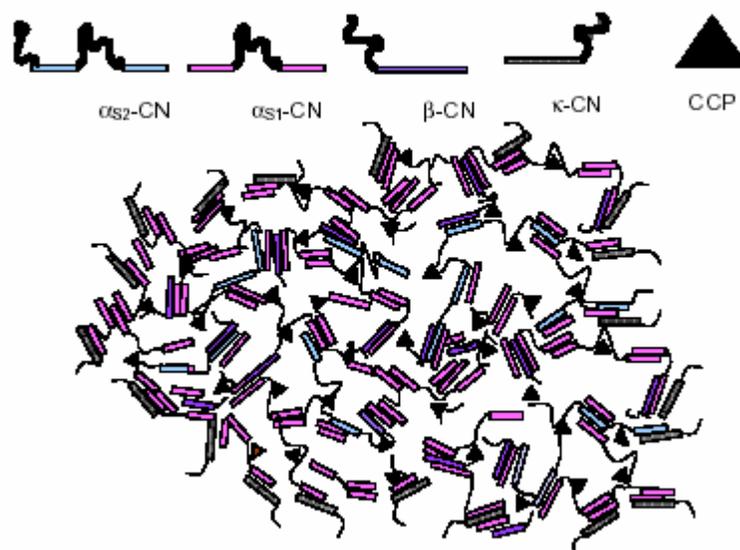


Figure 1.5 Structure de la micelle selon le modèle à dualité des liens (Horne, 1998).

1.2.3 Caractéristiques physicochimiques de la micelle de caséine

1.2.3.1 Diamètre micellaire

Le diamètre de la micelle varie entre 50 à 600 nm et le diamètre moyen est de 120 nm (Fox, 1993). Le rayon de la micelle de caséine est inversement proportionnel au contenu en caséine κ (Horne *et al.*, 1997). En effet, les plus petites micelles renferment de plus fortes proportions de caséine κ en raison du ratio surface-volume élevé des petites micelles (van den Berg *et al.*, 1992). Quoique le contenu en calcium et en phosphore micellaire augmente avec l'augmentation du diamètre micellaire, il ne contrôle pas la taille des micelles. La quantité de caséine κ est donc le facteur dominant (Umeda et Aoki, 2002).

1.2.3.2 Hydratation

La quantité d'eau qui se lie à la micelle dépend de sa composition mais aussi de d'autres facteurs. Ces facteurs sont le nombre de groupes polaires exposés, la conformation des protéines superficielles, la polarité en surface, le pH, les sels présents et leur concentration (Kinsella, 1984). L'eau fixée au chevelu micellaire, soit la couche d'hydratation en surface, est faiblement liée et contribue à la stabilisation de la micelle. La micelle fixe environ 3 g d'eau/g de protéine pour un volume hydrodynamique de 3,9 ml/g de protéines lorsque le chevelu micellaire est inclus (Walstra et van Vliet, 1986; Dalgleish, 1981). Cependant, l'hydratation interne de la micelle est d'environ 2 g d'eau/g protéine (Fox, 1993). Il y a une forte corrélation positive entre la quantité de caséine κ présente et le degré d'hydratation. La capacité d'hydratation et le diamètre micellaire sont donc étroitement reliés. De ce fait, les petites micelles contiennent davantage de caséine κ et sont plus hydratées (Anema et Creamer, 1993).

1.2.3.3 Minéraux

La composition minérale du lait de vache a été abordée à la section 1.1.1.4 et le rôle de certains minéraux dans le maintien de l'intégrité de la micelle a été mentionné. Les deux principaux minéraux d'importance dans la structure de la micelle sont le calcium et le phosphore dont la teneur dans le lait excède leur solubilité. C'est grâce à l'interaction avec

les micelles que la précipitation est évitée. L'équilibre entre les formes solubles et associées de ces minéraux est représenté à la Figure 1.6.

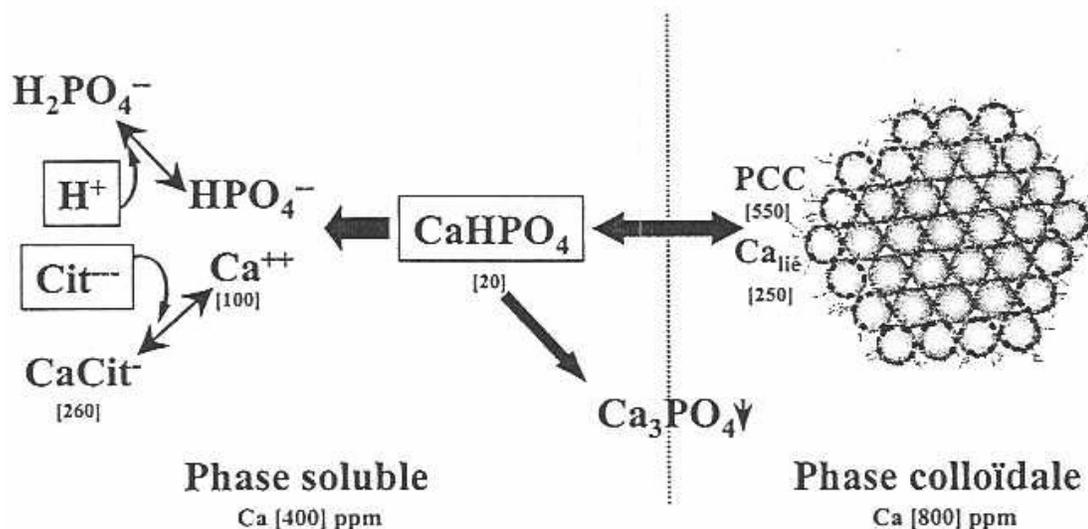


Figure 1.6 Les principaux équilibres salins du lait (Britten et Pouliot, 2002).

Environ le tiers du calcium se retrouve dans la phase soluble qui se divise en 20 % de sel citrate ou phosphate et 10 % d'ions calcium libres. Le deux-tiers restant est soit directement liés à la micelle ou fait partie des complexes de phosphate de calcium à l'intérieur de celle-ci (FAO, 1998).

Dans le cas du phosphore, la majeure partie (60 %) est sous forme de phosphate organique, dont la moitié est liée à la caséine et l'autre en solution, 20 % est lié aux groupements hydroxyles de certains acides aminés et le reste se partage entre les phospholipides et les esters hydrosolubles (FAO, 1998). La Figure 1.7 résume la distribution du calcium et du phosphore dans le lait bovin.

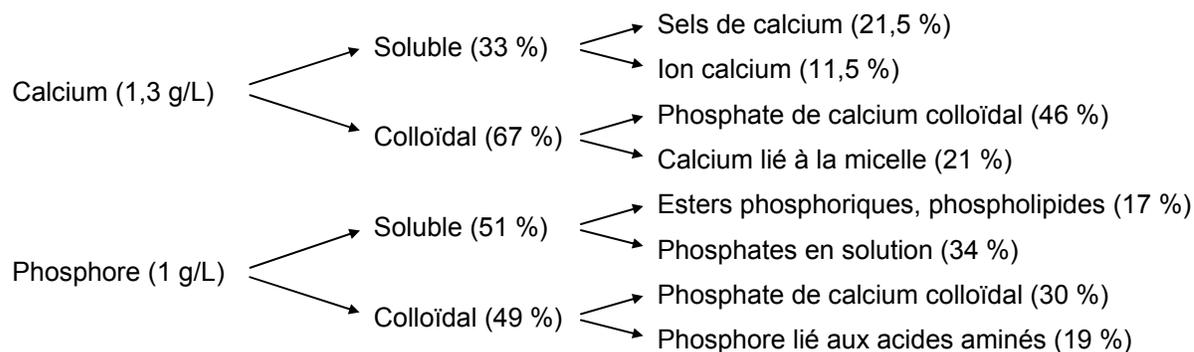


Figure 1.7 Répartition du calcium et du phosphore dans le lait (adapté de FAO, 1998).

Les équilibres salins sont influencés par le pH, la température, la nature et la concentration des sels.

Une diminution de pH entraîne la dissociation du phosphate de calcium (Amiot *et al.*, 2002); l'acidification cause donc une décalcification de la micelle (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002). Au contraire, une augmentation de pH et l'augmentation de la concentration en Ca^{2+} déplacent les équilibres pour entraîner la formation de phosphate de calcium tricalcique qui tend à précipiter (Amiot *et al.*, 2002).

L'effet de la température sur la solubilité du phosphate de calcium est contraire aux principes généraux de solubilité puisque sa solubilité diminue à mesure que la température augmente (Amiot *et al.*, 2002). Au chauffage, le déplacement de l'équilibre a lieu vers la forme colloïdale, ce qui augmente la minéralisation de la micelle. Le déplacement vers la forme colloïdale fait également en sorte que le H_2PO_4^- se dissocie et libère des ions H^+ , abaissant le pH.

Finalement, la variation de la force ionique du lait causée par l'ajout de sels tels que le chlorure de sodium a pour effet de solubiliser le phosphate de calcium colloïdal qui peut mener jusqu'à la dissociation de la micelle (Britten et Pouliot, 2002; Horne, 1998). Lorsqu'il s'agit d'un sel calcique, tel que le chlorure de calcium, il y a augmentation du calcium soluble. Celui-ci, en plus de causer une légère baisse de pH par dissociation du H_2PO_4^- , tend à se fixer à la micelle. Sous l'addition de calcium, ces protéines demeurent

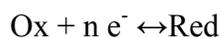
solubles jusqu'à ce qu'une quantité critique soit liée après laquelle la solubilité diminue (Rollema, 1992).

1.3 Propriétés électrochimiques

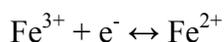
1.3.1 Réactions d'oxydoréduction

Les réactions d'oxydoréduction impliquent le transfert d'électrons entre atomes et molécules. Le transfert d'oxygène, d'hydrogène ou des deux à la fois peut se produire. L'oxydation et la réduction sont, respectivement, la perte et le gain d'électrons. S'il n'y a pas de flux d'électrons qui entrent ou sortent du système à l'étude, les réactions redox sont nécessairement couplées, une réaction d'oxydation (perte d'électrons) ayant lieu simultanément à une réaction de réduction (gain d'électrons) (Walstra et Jenness, 1984).

Une réaction de réduction réversible d'un composé en un autre s'écrit comme suit :



Comme par exemple :



Les réactions d'oxydoréduction dans les systèmes laitiers sont influencés par les traitements thermiques, la concentration en oxygène dissous, la concentration en ions métalliques tels que le Cu^{2+} , l'exposition à la lumière et par les oxydoréductases, à la fois du lait et des microorganismes (Singh *et al.*, 1997; Walstra et Jenness, 1984).

1.3.2 Mesure du potentiel redox

Le potentiel redox est l'aptitude d'un système à capter et céder des électrons. Le système de mesure du potentiel d'un système à transférer des électrons comprend une électrode inerte en or ou platine et une électrode de référence de potentiel connu (Walstra et Jenness, 1984; Sherbon, 1999). Tous les potentiels sont exprimés envers un standard commun, généralement l'électrode à hydrogène (SHE) (Walstra et Jenness, 1984). L'électrode à hydrogène possède une valeur assignée de zéro quand une électrode inerte trempe dans une

solution d'activité unitaire en regard des protons (pH=0) en équilibre avec l'hydrogène gazeux à une pression de 1 atmosphère. Le potentiel redox (E_h) est relié aux concentrations des formes oxydées et réduites du composé suivant l'équation de Nernst :

(1)

$$E_h = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{[red]}{[ox]} \right)$$

où E_h : potentiel redox (V)
 E₀ : potentiel redox standard du système (V)
 R : constante universelle des gaz (8.314 J/K/mol)
 T : température absolue (K)
 n : nombre d'électrons transférés par molécule
 F : constante de Faraday (96.5 kJ/V/mol)
 [Red] : concentration molaire de la forme réduite
 [Ox] : concentration molaire de la forme oxydée

À 25 °C et pour le transfert d'un électron, l'équation devient :

(2)

$$E_h = E_0 + 0.059 \log \left(\frac{[Red]}{[Ox]} \right)$$

En accord avec la convention utilisée par les biochimistes, le potentiel redox tend vers des valeurs plus positives lorsque le ratio [Ox]/[Red] augmente. Le potentiel redox standard du système, caractéristique propre à chaque système redox, est une mesure de l'habilité relative du système à donner ou accepter des électrons. En pratique pour les solutions diluées, les concentrations molaires des composés sont utilisées dans les calculs plutôt que leur activité (Walstra et Jenness, 1984). De plus, le potentiel standard du système dépend aussi du pH. La Figure 1.8 présente le potentiel redox du lait et le potentiel standard de plusieurs systèmes en fonction du pH (Walstra et Jenness, 1984).

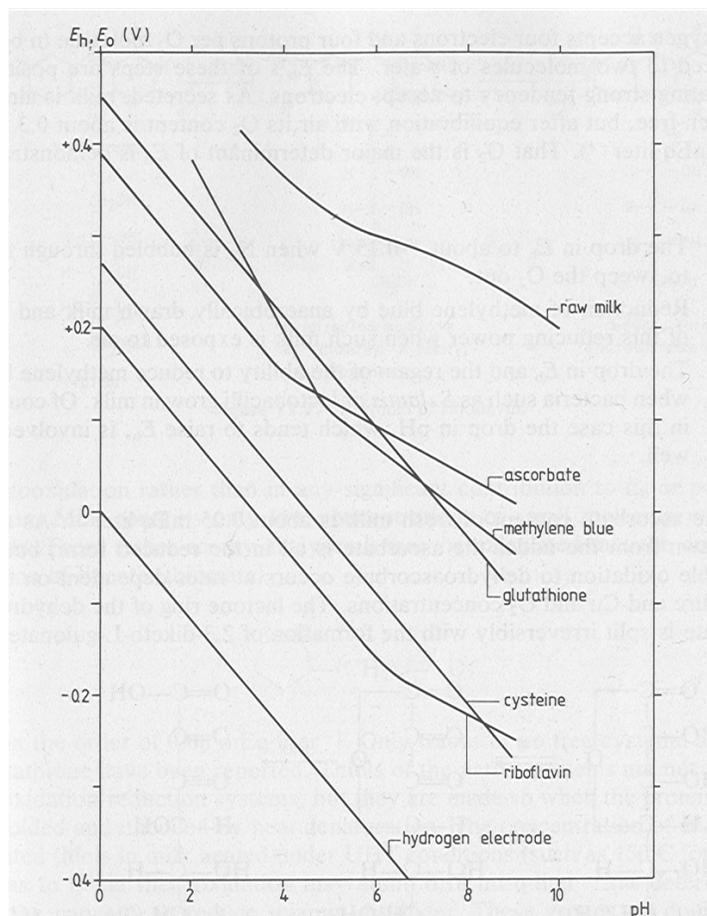


Figure 1.8 Potentiel redox du lait et le potentiel standard de plusieurs systèmes en fonction du pH (Walstra et Jenness, 1984).

Finalement, la cinétique des réactions d'oxydoréduction est importante à considérer dans la mesure du potentiel redox. Certaines réactions présentent un haut niveau d'énergie d'activation ce qui implique qu'un délai considérable peut s'écouler avant que l'équilibre ne soit atteint. Des mesures exactes de potentiel redox sont donc longues dans le lait qui possède plusieurs systèmes qui se superposent et dont certains ne sont que très lentement ou incomplètement réversibles. De plus, la diffusion d'oxygène atmosphérique dans le lait peut compliquer les mesures (Walstra et Jenness, 1984). Le rôle de l'oxygène sera approfondi à la section 1.3.4.

1.3.3 Potentiel redox du lait

Le potentiel redox d'échantillons individuels de lait en équilibre avec l'air, puisque lorsque sécrété le lait est presque entièrement dépourvu d'oxygène, est généralement compris entre +250 à +350 mV (électrode de référence SHE, 25 °C, pH 6,6-6,7). (Walstra et Jenness, 1984). L'alimentation des vaches pourrait y jouer un rôle, les vaches en pâturage produisant du lait présentant un potentiel redox de 20 mV inférieur à celui des vaches nourries à la fois de pâturage et s'ensilage (Sherbon, 1999).

Les principaux systèmes du lait qui déterminent son potentiel redox sont l'oxygène dissous, l'acide ascorbique et la riboflavine. Le système thiol-ponts disulfures, lorsqu'activé par traitement thermique, contribue également (Walstra et Jenness, 1984). D'autres systèmes pourraient influencer le potentiel redox du lait mais ne sont pas réversibles. C'est le cas du système lactate-pyruvate qui n'est pas réversible à moins d'être activé par des enzymes et qui est présent en quantité négligeable dans le lait frais. Le groupement aldéhyde du lactose est oxydable en carboxyl à pH élevé, mais ce n'est pas un système réversible qui contribue au potentiel redox à pH 6,6 (Walstra et Jenness, 1984). En dernier lieu, certaines enzymes oxydo-réductrices pourraient jouer un rôle mineur.

1.3.4 Oxygène dissous

L'importance de l'oxygène dissous dans la valeur du potentiel redox du lait se démontre de plusieurs façons. Tout d'abord, la diminution du potentiel redox du lait à environ $-0,15$ mV suite au barbotage d'azote pour remplacer l'oxygène est observée (Walstra et Jenness, 1984). Ensuite, le bleu de méthylène est réduit par du lait tiré de façon anaérobie mais cette capacité réductrice est perdue lorsqu'un tel lait est exposé à l'air. Finalement, la baisse du potentiel redox et le retour de la capacité réductrice sont observés quand des bactéries telles *S. lactis* ou des lactobacilles croissent dans le lait. Cependant, dans ce dernier cas, la croissance bactérienne cause une diminution de pH qui contribue à l'augmentation du potentiel redox (Walstra et Jenness, 1984). La Figure 1.9 présente la chute de potentiel redox suite à la consommation d'oxygène et la production de réducteurs par une bactérie lactique, conférant au fromage et laits fermentés des potentiels négatifs (Fox et McSweeney, 1998; Sherbon, 1999). Selon l'espèce bactérienne, le potentiel redox peut chuter jusqu'à -100 ou -200 mV (Walstra *et al.*, 1999)

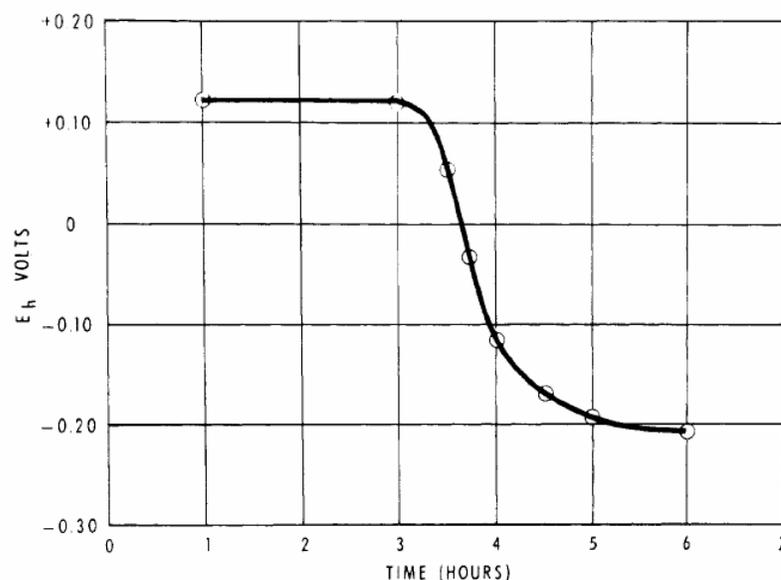


Figure 1.9 Diminution du potentiel redox du lait pendant l'incubation avec une souche de *S. Lactis* à 25 °C (Fox et McSweeney, 1998; Sherbon, 1999).

1.3.4.1 Acide ascorbique

Le contenu en acide ascorbique (Figure 1.10) du lait frais est d'environ 11,2 à 17,2 mg/L et se présente entièrement sous la forme réduite lorsque tiré du pis. L'oxydation réversible en acide déhydroascorbique a lieu à un taux qui dépend de la température et de la concentration en cuivre et oxygène (Walstra et Jenness, 1984; Singh *et al.*, 1997). L'acide ascorbique stabilise le potentiel redox du lait désaéré à 0 mV et celui du lait oxygéné à 200-300 mV (Fox et McSweeney, 1998; Sherbon, 1999). L'acide ascorbique est préservé dans le lait par la prévention de la contamination au cuivre et au fer et par désaération. Des études ont démontré une corrélation inverse significative entre le potentiel redox et le contenu en acide ascorbique réduit dans le lait frais préalablement équilibré avec l'air (Walstra et Jenness, 1984).

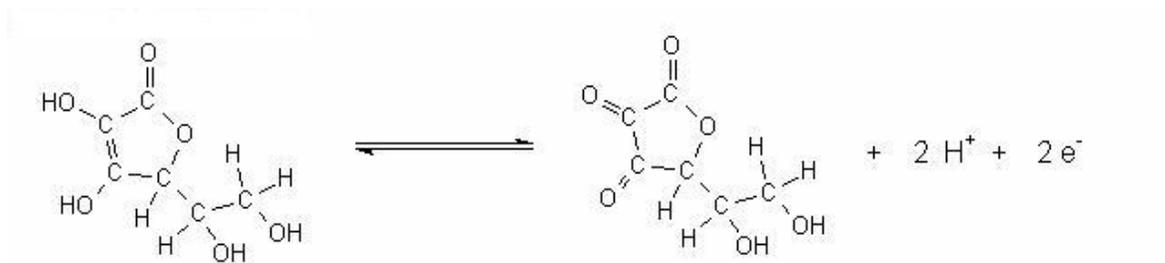


Figure 1.10 Acide ascorbique et déhydroascorbique.

1.3.4.2 Riboflavine

La concentration de riboflavine libre dans le lait est d'à peine 4 μM et sa structure est donnée à la Figure 1.11. Son importance dans le phénomène redox réside dans son rôle dans la photo-oxydation plutôt que par un apport significatif au potentiel redox (Walstra et Jenness, 1984).

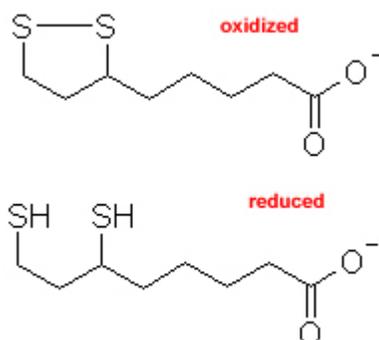


Figure 1.11 Formes oxydées et réduites de la riboflavine.

1.3.4.3 Système thiol-ponts disulfures

Le lait ne contient que de faibles concentrations de thiols de faible poids moléculaire, telle la cystéine libre, et n'ont pas d'influence significative sur le potentiel redox du lait. Les thiols de protéines natives, soit ceux de la β -LG, ne sont pas actifs dans les systèmes redox mais sont activés quand les protéines sont ouvertes et dépliées par dénaturation thermique. Le potentiel standard des thiols du lait liés à la protéine n'est pas connu et le système pourrait ne pas être facilement réversible (Walstra et Jenness, 1984).

1.3.4.4 Enzymes oxydoréductrices

Les enzymes oxydoréductrices du lait sont en temps normal très peu impliquées dans les réactions redox du lait. La lactate déhydrogénase et la malate déhydrogénase sont des enzymes dépendantes au NAD mais il n'y a pas de preuve de la participation ces enzymes dans les réactions redox. (Walstra et Jenness, 1984).

La xanthine oxydase (XO) est une métalloprotéine présente dans le lait bovin à concentration de 35 mg/L. Elle est principalement associée à la membrane des globules de gras et produit H_2O_2 ou $\text{O}_2^{\bullet-}$ si ses substrats, que sont la xanthine, l'hypoxanthine et des aldéhydes, lui sont fournis. Telle qu'isolée du lait, la XO utilise l'oxygène moléculaire comme un accepteur d'électrons, mais si une partie de ses disulfures sont réduits par le dithiothretol elle devient une déhydrogénase dépendante du NAD^+ . La réoxydation des thiols en disulfures avec l'enzyme laitière sulphydryl oxydase rétablit la spécificité de

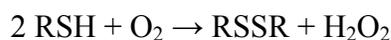
l'enzyme pour l'oxygène comme accepteur d'électrons. L'activité de la XO dans le lait frais est accrue d'environ 4 fois par le rangement à 4 °C, le chauffage à 70 °C pendant 5 minutes, l'homogénéisation ou l'incubation avec des préparations commerciales de protéinase ou lipase parce que de tels traitements transfèrent une grande partie de l'enzyme des globules de gras vers le sérum (Walstra et Jenness, 1984). Les études sur la possibilité que la XO soit impliquée dans le développement des saveurs oxydées du lait n'ont pas encore donné de résultats probants (Walstra et Jenness, 1984).

La catalase qui s'accumule dans la couche de crème catalyse la décomposition du H₂O₂ en eau et oxygène (Walstra et Jenness, 1984).

La lactoperoxydase (LP) peut composer jusqu'à 1 % des protéines sériques du lait. Son activité dans le lait augmente au cours de la lactation pour atteindre un maximum à 40 jours post-partum et diminuer ensuite. Elle catalyse l'oxydation par l'H₂O₂ d'une longue liste de composés donneurs d'électron, incluant des amines aromatiques, des phénols, des acides aromatiques, la tyrosine et tryptophane, l'acide ascorbique, des nitrites, des thiocyanates et d'autres encore. Le thiocyanate est un constituant naturel du lait. Son oxydation mène à un produit inhibiteur de certaines bactéries (Walstra et Jenness, 1984).

La superoxyde dismutase (SOD) catalyse la dismutation de l'ion superoxyde O₂^{•-} en H₂O₂ et O₂. La structure primaire est connue, elle possède un thiol libre et un lien disulfure. Ce pourrait être un important antioxydant protégeant les constituants du lait de l'oxydation par l'ion superoxyde généré par les oxydations catalysées par la xanthine oxydase et la lactoperoxydase ainsi que des photo-réactions de la riboflavine (Walstra et Jenness, 1984).

La sulphydryl oxydase (SO), présente dans le lait bovin à raison de 3 mg/L, catalyse l'oxydation des thiols à la fois dans les petits composés et les protéines en disulfures en utilisant l'oxygène moléculaire comme accepteur d'électron. C'est une oxydase anaérobie, réduisant l'oxygène en H₂O₂ plutôt qu'en eau selon l'équation suivante :



De la SO immobilisée sur billes de verre a été utilisée dans le lait UHT dans le but d'atténuer la saveur de « cuit » puisqu'elle pourrait catalyser l'oxydation des thiols en disulfures dans le lait (Walstra et Jenness, 1984).

Finalement, quelques unes de ces enzymes sont des métalloprotéines (xanthine oxydase, lactoperoxydase) et pourraient devenir pro-oxydantes lors de la dénaturation causée par le chauffage mais ceci n'est pas une activité enzymatique (Walstra et Jenness, 1984).

1.4 Comportement du lait face à différents traitements

Les différents procédés industriels appliqués au lait visent à assurer la qualité et la stabilité des produits. De ces procédés, les traitements de chaleur sont très utilisés en technologie laitière. L'aptitude du lait à supporter les hautes températures est une caractéristique technologique importante, tout comme l'aptitude à la fabrication fromagère (Robitaille, 1995).

1.4.1 Coagulation par la présure

Diverses enzymes protéolytiques ont la capacité de coaguler le lait mais la présure est la plus utilisée. La présure est constituée de deux enzymes, soit la chymosine, qui permet l'hydrolyse de la caséine κ , et la pepsine (Ruetteman et Ladisch, 1987). La coagulation du lait par la présure est divisée en trois étapes : la phase d'hydrolyse enzymatique, la phase d'agrégation et la phase de formation du gel (Brown et Ernstrom, 1988). Elles sont décrites plus en détail ci-après et illustrées à la Figure 1.12.

1.4.1.1 Phase d'hydrolyse enzymatique

Lors de cette première étape, l'enzyme vient couper le lien peptidique Phe₁₀₅-Met₁₀₆ de la caséine κ et la protéine est scindée en deux peptides, le CMP et la para-k-CN, dont les propriétés ont été énoncées à la section 1.1.1.1.1. Le mode d'action de l'enzyme n'est pas encore bien défini. Il est possible que l'enzyme s'attaque à une micelle, en suive la surface et hydrolyse toutes les caséines κ sur son passage ou bien qu'après l'attaque d'une molécule de caséine κ elle retourne en solution pour diffuser jusqu'à la prochaine micelle (Ruettimann et Ladisch, 1987). L'hydrolyse progressive de la caséine κ durant la phase

primaire altère les propriétés des micelles à un point où elles deviennent susceptibles à l'agrégation, qui représente la seconde phase de la réaction (Lucey, 1995).

1.4.1.2 Phase d'agrégation

Lors de la seconde phase, les micelles déstabilisées peuvent se rapprocher et former des liens hydrophobes. Ceci est possible parce que les charges en surface des micelles diminuent lorsque le CMP est libéré. La perte de ce segment réduit le potentiel zeta de la micelle d'environ 30 à 50 % et diminue les interactions de nature entropique (stérique), ce qui permet un rapprochement des micelles attaquées par l'enzyme et facilite l'agrégation (Brulé *et al.*, 1997; Lucey, 1995; Singh et Fox, 1989; Dalgleish, 1981). L'agrégation devient possible lorsqu'un certain degré d'hydrolyse est atteint puisqu'il existe un niveau minimum de caséine κ nécessaire à la stabilisation de la micelle (Horne *et al.*, 1993). Selon les auteurs, l'agrégation commence lorsque de 60 à 90 % de la caséines κ est hydrolysée. Le temps écoulé pour l'atteinte de cette phase se nomme temps de coagulation par la présure ou RCT (pour «Rennet Coagulation Time ») (Dalgleish, 1981). En pratique, le RCT est défini comme le temps écoulé jusqu'à l'observation visuelle de floculation.

1.4.1.3 Phase de formation du gel

La troisième phase mène à la formation d'un réseau tridimensionnel continu nommé gel. Les agrégats augmentent d'abord de taille. Par la suite, la réticulation entre les chaînes et la fusion des particules transforment le lait en gel (Ruettiman et Ladisch, 1987). Le caillé se raffermi et la synérèse débute.

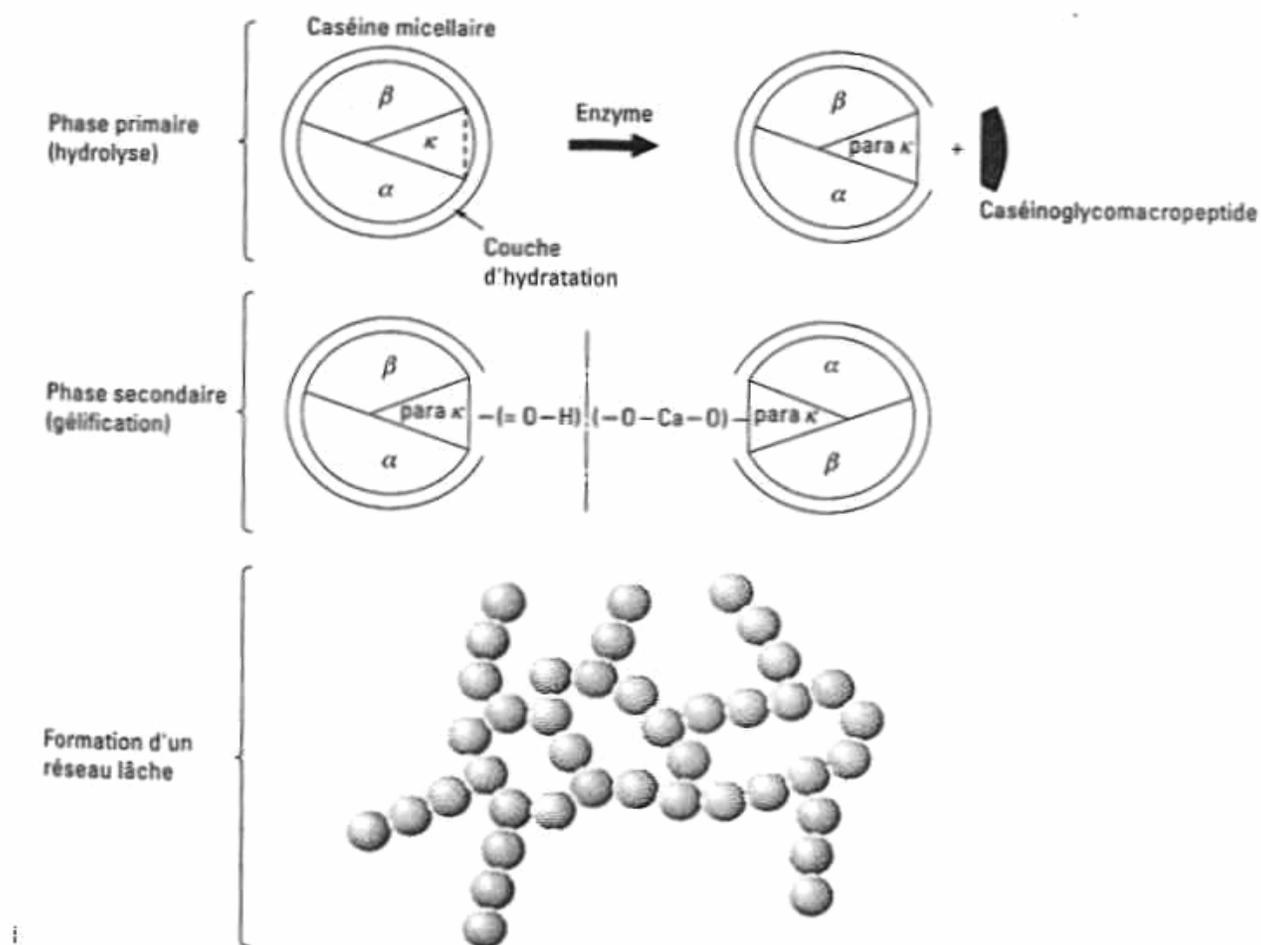


Figure 1.12. Phases du processus de coagulation enzymatique du lait (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002).

1.4.2 Facteurs influençant la coagulation

La production de coagulum satisfaisant est importante dans la fabrication fromagère car la nature du caillé formé détermine la qualité du produit final. De nombreux facteurs influencent la coagulation du lait. Ce sont la composition, la température, le pH, l'ajout de sels, la concentration en présure et le diamètre micellaire. Les effets des facteurs principaux qui influencent les paramètres de coagulation sont résumés à la Figure 1.13.

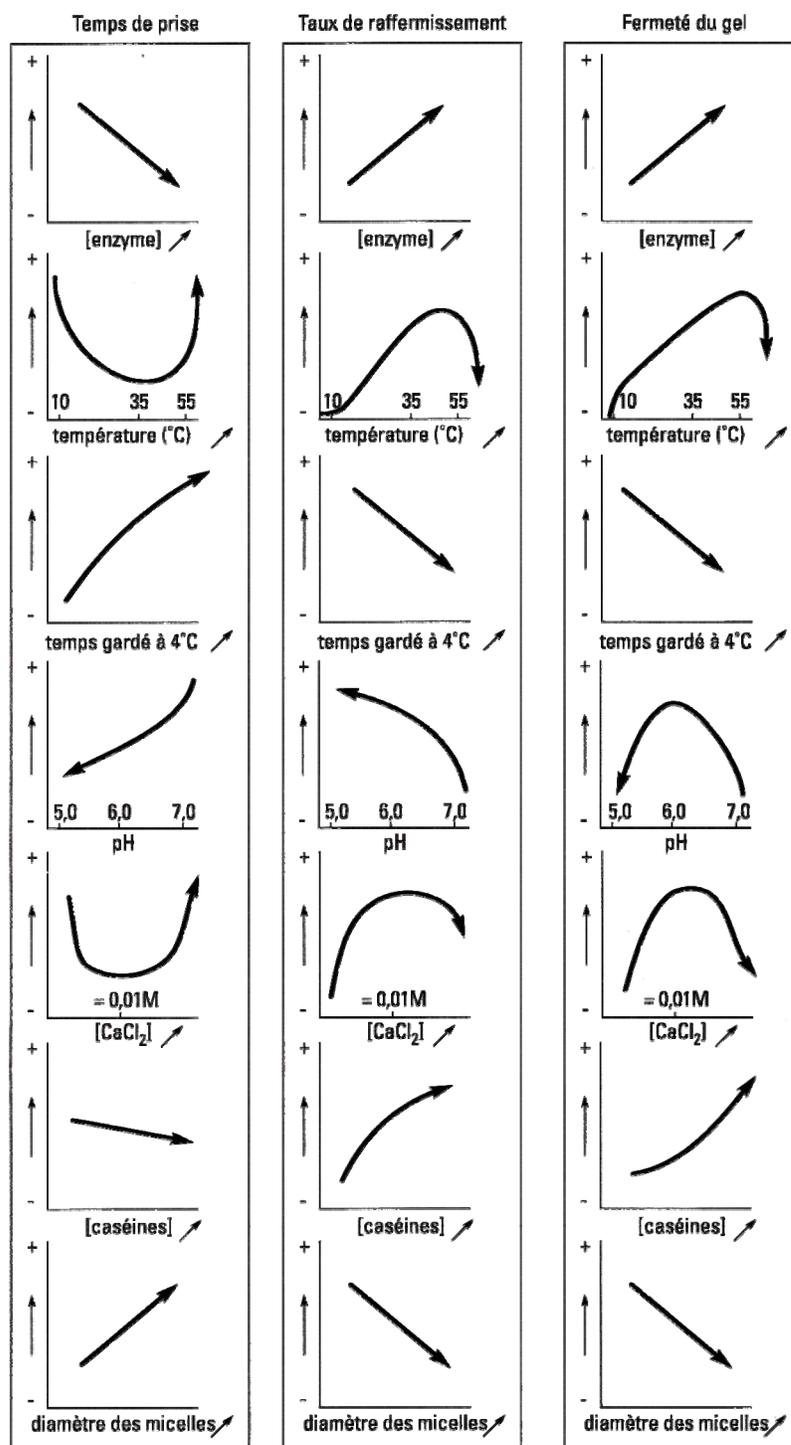


Figure 1.13 Facteurs influençant les paramètres de coagulation enzymatique du lait (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002).

1.4.2.1 Composition du lait

La composition du lait influence la coagulation du lait de différentes façons. Une augmentation du niveau de caséines dans le lait résulte en un temps de coagulation plus court, un taux de raffermissement plus élevé et un caillé plus ferme au temps de coupage (Hill, 1995). Une augmentation du degré de glycosylation de la caséine κ augmente la vitesse de raffermissement du gel sans toutefois influencer le RCT (Robitaille *et al.*, 1995). Du point de vue bactériologique, un compte en cellules somatiques supérieur à 500 000 cellules/ml est caractérisé par une augmentation du RCT et une pertes de fines plus importante menant à une baisse de rendement (Roupas, 2001).

1.4.2.2 Température d'emprésurage et de coagulation

L'activité enzymatique est influencée par la température. L'activité de la présure est donc reliée à la température à laquelle les étapes d'emprésurage et de coagulation sont conduites (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002). La présure montre une activité maximale entre 30 et 42 °C et est inhibée à des températures supérieures à 55 °C (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002). Le Tableau 1.5 résume l'influence de la température au moment où l'enzyme est ajoutée sur la coagulation.

Tableau 1.5 Impact de la température sur la coagulation du lait par la présure (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002).

Température	Impact
<10 °C	Il n'y a pas de coagulation mais l'enzyme agit quand même.
10-20 °C	La coagulation est lente.
30-42 °C	Il y a une augmentation progressive de la vitesse de coagulation.
42-55 °C	La vitesse de coagulation diminue.
55 °C et +	Il y a absence de coagulation.

1.4.2.3 Traitement thermique du lait

Les traitements thermiques appliqués au lait altèrent ses propriétés coagulantes, ce qui rend le lait chauffé inapte à la fabrication fromagère. La fabrication fromagère est réalisée de préférence sur des laits non chauffés ou ayant subi une thermisation (Vasbinder *et al.*, 2003). Ensuite, les traitements thermiques imposés au lait modifient les cinétiques de coagulation. D'une part, l'entreposage du lait au froid conduit à une augmentation du temps de prise puisque les minéraux de la phase colloïdale sont solubilisés (Raynal et Remeuf, 2000). D'autre part, il est connu que le lait surchauffé prend plus de temps à coaguler (Moir *et al.*, 1930, 1931).

La littérature explique la baisse de l'aptitude à la coagulation des laits chauffés par une hydrolyse enzymatique incomplète, une concentration réduite en calcium sérique suite à la précipitation du phosphate de calcium et la stabilisation de la micelle de caséine grâce au recouvrement avec des protéines sériques dénaturées chargées positivement (Vasbinder *et al.*, 2003).

Ensuite, les études démontrent qu'une augmentation de la température de chauffage se traduit par une augmentation du RCT qui augmente de 10 à 15 fois pour les laits chauffés (Vasbinder *et al.*, 2003; Dagleish, 1990; Singh *et al.*, 1988). Un traitement thermique plus sévère que la pasteurisation se traduit par une augmentation du temps de coagulation et à des gels plus faibles. Finalement, lors d'un traitement thermique très sévère (>90 °C, 10 min), le lait perd l'aptitude à coaguler sous l'action de la présure (Singh *et al.*, 1988).

Un des effets du chauffage est le déplacement des équilibres ioniques vers les formes insolubles. Les modifications de composition de la surface des micelles et la précipitation des phosphates diminuent la stabilité de la phase colloïdale. La diminution de calcium soluble rend plus difficile la création de liaisons entre les micelles lors de la formation du gel. Les temps de coagulation allongent alors que la fermeté du caillé et la vitesse d'égouttage diminuent (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002).

En ce qui a trait à l'augmentation du temps de prise, la formation du complexe β -LG- κ -CN serait responsable de la baisse de sensibilité à la chymosine (Morgan *et al.*, 2000; Lucey,

1995; Singh *et al.*, 1988). Il a été démontré que le temps de coagulation augmente avec l'augmentation du degré de dénaturation de la β -lactoglobuline et avec le pourcentage de cette protéine associée aux micelles (Singh et Waungana, 2001). La complexation des protéines du lactosérum dénaturées avec la caséine- κ modifie la conformation de la κ -CN et rendrait le site d'hydrolyse moins accessible pour l'enzyme. De plus, une bonne partie de la β -lactoglobuline ne s'associe pas et se présente sous forme d'agrégats dans le sérum qui pourraient interférer dans les processus d'agrégation et de formation du réseau, d'où les gels plus faibles (Waungana *et al.*, 1996; Lucey, 1995; Lucey *et al.*, 1993; McMahon *et al.*, 1993; Dalgleish, 1990).

Toutefois, l'équipe de Vasbinder et coll. (2003) soutient que le début de la coagulation, soit le relâchement du CMP par hydrolyse enzymatique, n'est pas affecté par le chauffage. En effet, l'application d'un traitement thermique à 90 °C pendant 10 minutes au lait s'est traduit par une diminution de 6 % du CMP relâché, diminution insuffisante pour inhiber l'agrégation des micelles (Vasbinder *et al.*, 2003). L'agrégation des micelles a lieu indépendamment du traitement thermique appliqué cependant les micelles perdent la capacité de former un gel. Cette observation correspond à un temps de coagulation plus élevés et une diminution du module d'élasticité (G') tel que rapportés dans la littérature et qui sont attribués à une diminution de l'activité enzymatique, la précipitation du calcium et la dénaturation des protéines sériques (Vasbinder *et al.*, 2003). Puisque les travaux ne démontrent aucun effet du traitement thermique sur l'hydrolyse enzymatique, la précipitation du phosphate de calcium par la chaleur comme facteur influençant l'hydrolyse enzymatique est exclue (Vasbinder *et al.*, 2003). L'altération des propriétés coagulantes du lait chauffé est entièrement attribuée aux protéines sériques dénaturées qui enrobent les micelles de caséine puisqu'en absence de protéines sériques, les micelles de caséines du lait chauffé s'agrègent (Vasbinder *et al.*, 2003).

1.4.2.4 pH

L'influence du pH est double. Tout d'abord, le pH optimal de la chymosine se situe entre 5,3 et 5,5 (Lenoir *et al.*, 1997; Fox, 1993). L'acidification du lait à pH de 6,3 améliore les propriétés de coagulation à la présure (Renault *et al.*, 2000). Il y a augmentation de la vitesse d'hydrolyse enzymatique, réduction du RCT et formation d'un gel plus ferme (Roupas, 2001; Lenoir *et al.*, 1997; Horne et Muir, 1994).

Ensuite, l'acidification mène à la neutralisation des charges de répulsion puisque le nombre de charges positives augmente, ce qui déstabilise la micelle et permet davantage d'attraction électrostatique entre les micelles (Renault *et al.*, 2000). La diminution du pH mène également à la solubilisation du phosphate de calcium micellaire et fait augmenter le calcium soluble. Le calcium qui se lie à la surface des micelles contribue à modifier leur charge nette en plus d'accroître l'efficacité des collisions entre l'enzyme et le substrat (Roupas, 2001).

1.4.2.5 Concentrations en sels

La composition minérale du lait va affecter la coagulation et tout particulièrement la quantité de calcium ajouté au lait. En effet, le temps de prise diminue tandis que le taux de raffermissement et la fermeté du gel vont augmenter jusqu'à des concentrations de CaCl_2 d'environ 0,01 M. On attribue cet effet à l'augmentation d'ions calcium. Cependant, à des concentrations supérieures, on observe un phénomène inverse pour chacun des paramètres de coagulation (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002).

Le calcium n'est pas requis dans la phase initiale d'hydrolyse enzymatique mais est essentiel à l'agrégation des micelles. L'ajout de CaCl_2 en technologie fromagère stimule la coagulation, le raffermissement du caillé et permet de réduire les pertes dans le lactosérum, tout en diminuant le pH et réduisant la charge de la micelle (Roupas, 2001).

L'addition de NaCl, pour sa part, augmente la force ionique et cause une déminéralisation de la micelle. L'augmentation de la force ionique entraîne une modification des charges de la chymosine et de la κ -caséine, ce qui entrave l'attraction entre l'enzyme et son substrat (Roupas, 2001).

1.4.2.6 Concentration présure

L'activité de l'enzyme dépend du pH, de la température et la concentration en calcium, sujet qui ont été traités précédemment. Il existe une corrélation linéaire entre la concentration en présure et le temps de coagulation, ce dernier devenant plus court à mesure que la concentration en présure augmente (Horne et Muir, 1994). Le taux de raffermissement et la fermeté du gel augmentent quant à eux avec la concentration en présure (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002).

1.4.2.7 Diamètre micellaire

La coagulation enzymatique est un phénomène de surface et elle est influencée par le diamètre des micelles de caséine. En général, plus le diamètre est grand, plus le temps de prise est long et plus le taux de raffermissement et la fermeté finale sont faibles (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002). En fromagerie, de petites micelles seront donc recherchées puisqu'elles sont associées à un temps de prise plus court et un taux de raffermissement plus rapide (Park *et al.*, 1999). De plus, les micelles de petites tailles fusionnent plus étroitement entre elles et sont donc caractérisées par la formation d'un réseau protéique plus dense, plus cohérent et plus ferme que celles de grande taille (Roupas, 2001; Lenoir *et al.*, 1997; Delacroix-Buchet *et al.*, 1993).

1.4.3 Traitement thermique

Les divers traitements thermiques appliqués au lait en industrie, tels que la pasteurisation et la stérilisation, peuvent avoir des effets dénaturants sur les protéines du lait. Des réactions de dégradation des protéines, de dégradation du lactose et des modifications de l'équilibre minéral sont observées. En effet, lors du chauffage, des réactions de dénaturation et d'agrégation de protéines se produisent et le phosphate de calcium précipite.

1.4.3.1 Potentiel redox

Les impacts des traitements thermiques sur le potentiel redox du lait ont été considérablement étudiés jusqu'au milieu du siècle dernier. Une baisse marquée du potentiel coïncide avec la libération des groupements thiols par dénaturation des protéines, principalement la β -lactoglobuline. (Sherbon, 1999). Tout d'abord, le chauffage du lait en

présence d'oxygène accélère l'oxydation des thiols et la destruction du système acide ascorbique-dehydroascorbique. Ensuite, le chauffage favorise la réaction de Maillard entre le lactose et les protéines et la production de réducteurs de type énediol (Figure 1.14) (Walstra et Jenness, 1984).

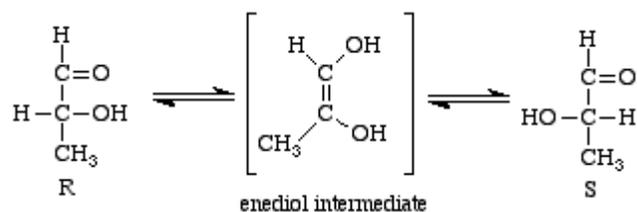


Figure 1.14 Formation d'un intermédiaire énediol.

Ces diverses réactions diffèrent d'énergie d'activation. En conséquence, la balance globale du système redox après traitement thermique dépend grandement du temps et de la température utilisés. De plus, le taux de production de réducteurs par réaction de Maillard augmente avec la concentration en réactifs. Il y a donc davantage de ces composés réducteurs résultant du traitement thermique appliqué dans la concentration et le séchage du lait que de ceux utilisés dans les laits non-concentrés (Walstra et Jenness, 1984). Cependant, la désaération et traitements thermiques HTST résultent en un potentiel redox minimal et produisent des poudres de lait de qualité supérieure contre la dégradation produisant une saveur oxydée (Sherbon, 1999).

Des études, rapportées par Walstra et Jenness (1984), sur la capacité réductrice et le potentiel redox du lait sous différentes conditions montrent que le potentiel redox du lait témoin se situe à +315 mV. Lorsque ce lait est chauffé à 85 °C pendant 30 minutes, le potentiel redox diminue à +200 mV. Cependant, lorsque l'atmosphère n'est plus de l'air ambiant mais de l'azote, le potentiel redox chute à 0 mV, mettant en évidence l'importance des gaz dissous sur le potentiel redox des laits chauffés.

1.4.3.2 Dégradation des protéines

Alors que les caséines sont très résistantes à la chaleur, les protéines sériques le sont moins. Malgré cette résistance, les caséines peuvent tout de même être affectées et déstabilisées par la chaleur. (O'Connell et Fox, 2000).

1.4.3.2.1 Dénaturation des protéines sériques

Les différentes protéines sériques n'ont pas la même résistance face aux traitements thermiques. L'ordre de sensibilité à la chaleur est immunoglobulines > sérumalbumines > β -lactoglobuline > α -lactalbumine (Corredig et Dalgleish, 1996). Le chauffage des protéines sériques entraîne l'ouverture des structures secondaire et tertiaire qui permet l'agrégation de ces protéines entre elles ou avec les micelles de caséine.

Le chauffage mène à une perte de la structure native de la protéine. La dénaturation des protéines sériques résulte en le déplissement de leurs polypeptides, exposant ainsi des résidus habituellement cachés à l'intérieur de la structure globulaire (Singh et Waungana, 2001; Calvo, 1995). Dans le cas de la β -lactoglobuline, ce processus intramoléculaire qui expose le cœur hydrophobe expose en même temps le groupement thiol libre ainsi que des ponts disulfures très réactifs (Fryer *et al.*, 1995). Les protéines déplissées présentent donc une configuration instable qui est ensuite stabilisée par la phase d'agrégation. La dénaturation de la β -lactoglobuline est réversible jusqu'à ce que l'agrégation prenne place tandis que la dénaturation de l' α -lactalbumine est réversible jusqu'à 85 °C (Kinsella, 1984).

La disponibilité de nouveaux sites exposés par le déplissement des protéines permet la formation d'agrégats constitués exclusivement de protéines sériques ou d'un mélange avec les caséines. Le fait que la β -lactoglobuline s'associe avec la micelle ou bien forme des agrégats exclusivement composés de protéines sériques dépend de plusieurs facteurs tels que la durée et l'intensité du chauffage, le pH, la force ionique, la concentration en calcium et en phosphate solubles ainsi que le degré de dissociation de la caséine κ de la micelle (Devold *et al.*, 2000). L' α -lactalbumine, bien qu'elle participe aussi aux interactions, ne se lie pas directement aux caséines, elle le fait plutôt par l'intermédiaire de la β -lactoglobuline (Dzurec et Zall, 1985). En effet, il a été démontré que l' α -lactalbumine ne polymérise pas en l'absence des autres protéines sériques, même si des caséines sont présentes (Calvo, 1995). De plus, la présence de β -lactoglobuline est nécessaire à l'interaction de l' α -lactalbumine avec les micelles. En effet, en dessous de 90 °C, l' α -lactalbumine et la β -lactoglobuline s'associent pour former des complexes intermédiaires qui eux s'associent

ensuite aux micelles (Corredig et Dalgleish, 1999). L'attachement de protéines sériques dénaturées à la surface de la micelle, fait l'objet de la prochaine section.

1.4.3.2.2 Formation d'un complexe entre la β -LG et la caséine κ

Les groupements thiols libres présents dans la structure native de la β -lactoglobuline sont à l'origine des complexes formés entre les protéines sériques et les micelles de caséine sous l'effet de la chaleur. Durant le traitement thermique, il y a interaction entre la β -lactoglobuline dénaturée et la caséine κ située à la surface de la micelle et formation d'un complexe stabilisé par des interactions mettant principalement en cause les groupements thiols mais aussi des groupements hydrophobes et ioniques (Devold *et al.*, 2000; Singh, 1995; Hill, 1989). Le chauffage à pH inférieur à 6,7 mène à une plus grande quantité de complexes formés avec les micelles alors qu'à pH supérieur à 6,7, les complexes se dissocient de la micelle à cause de la dissociation de la caséine κ elle-même (Singh et Waungana, 2001). L'étendue des interactions augmente avec la durée et l'intensité du traitement thermique appliqué (entre 75 et 90 °C) et l'interaction entre la β -lactoglobuline et la caséine κ atteint un plateau laissant croire qu'une quantité limitée de sites sont disponibles pour l'interaction (Corredig et Dalgleish, 1999).

Il est bien connu aussi que la formation du complexe entre la β -LG et la κ -CN est responsable de la baisse de sensibilité à la chymosine (Morgan *et al.*, 2000). Quand la β -LG et la κ -CN sont chauffées ensemble entre 80 et 90 °C, elles interagissent par la formation des liens S-S. Morrissey suggérait dès 1969 que les interactions entre la β -LG et les caséines au chauffage affectent de façon marquée la coagulation à la présure du lait (Morrissey *et al.*, 1969; Ustumol et Brown, 1985).

1.4.3.3 Dégradation du lactose

Le lactose est impliqué dans deux types de réactions de dégradation dans le lait, soit l'isomérisation et la réaction de Maillard. Alors que la première est plus importante d'un point de vue quantitatif à des températures supérieures à 100 °C, c'est la seconde qui prédomine à des températures inférieures (van Boekel, 1998 ; Berg et van Boekel, 1994).

1.4.3.3.1 Isomérisation du lactose

Le lactose est sujet à des réactions d'isomérisation dans le lait (Berg et van Boekel, 1994, van Boekel, 1996). La principale dégradation est celle de Lobry-de-Bruin-Alberda-van-Ekenstein où les protéines agissent comme catalyseur. Les produits de la réaction sont le lactulose et l'épilactose, des disaccharides formés de galactose et de, respectivement, fructose et mannose. L'énolisation du lactulose mène ensuite à la formation de produits de dégradation tels le galactose, le tagatose, l'acide formique ainsi que différents composés carbonés. L'acide formique formé en grande quantité est largement responsable de la baisse de pH induite par la chaleur, de concert avec l'altération l'équilibre salin.

1.4.3.3.2 Réaction de Maillard

La réaction de Maillard est une réaction chimique des groupements aminés et des sucres réducteurs qui mène à la formation de composés bruns. Ce brunissement non enzymatique est influencé par la température, le pH, l'activité de l'eau et la présence de certains sels et vitamines. Quoique cette réaction soit désirable dans certains produits, elle est le plus souvent indésirable en transformation laitière (Walstra et Jenness, 1984).

Dans le cas du lait, les groupements aminés en cause sont principalement des résidus lysine dans les protéines laitières puisque le contenu en acide aminé est très faible (Walstra et Jenness, 1984). Les résidus lysine des caséines semblent être plus réactifs que les protéines sériques et la κ -CN semble être la caséine la plus réactive (van Boekel, 1998). Le sucre réducteur du lait est le lactose (van Boekel, 1998).

Dans le but de systématiser l'ensemble des réactions impliquées, une classification en trois stades est généralement utilisée. Récemment toutefois, une classification conceptuelle a été proposée par Yaylayan (1997). La classification usuelle en trois stades est utilisée ici. Le stade initial, illustré à la Figure 1.15, comprend la condensation du sucre réducteur avec le groupement aminé et donne, via la base de Schiff et le réarrangement d'Amadori (transformation d'un aldose en cétose), le composé d'Amadori. Dans le lait, le composé d'Amadori est la lactulosyllysine, attachée aux protéines. Au stade avancé, illustré à la Figure 1.16, il y a brisure du composé d'Amadori qui, par les voies que sont l'énolisation, la cyclisation et la déshydratation, mènent à des produits de réaction différents. Le stade

final, moins bien caractérisé d'un point de vue chimique, comprend la condensation de composés aminés et de fragments de sucre en protéines polymérisées et pigments bruns, appelées mélanoïdines (Van Boekel, 1998). Les principaux produits de dégradation de la lactulosyllysine liée à des protéines dans le lait sont le galactose et l'acide formique (Berg et van Boeckel, 1994).

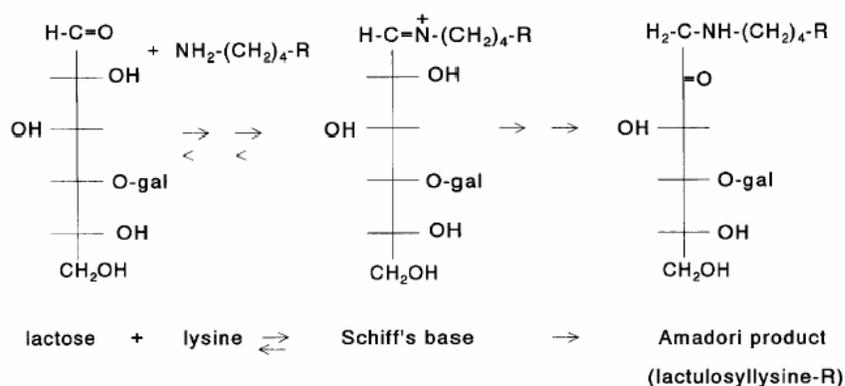


Figure 1.15. Aperçu du stade initial de la réaction de Maillard (gal = galactose, R = chaîne protéique) (van Boekel, 1998).

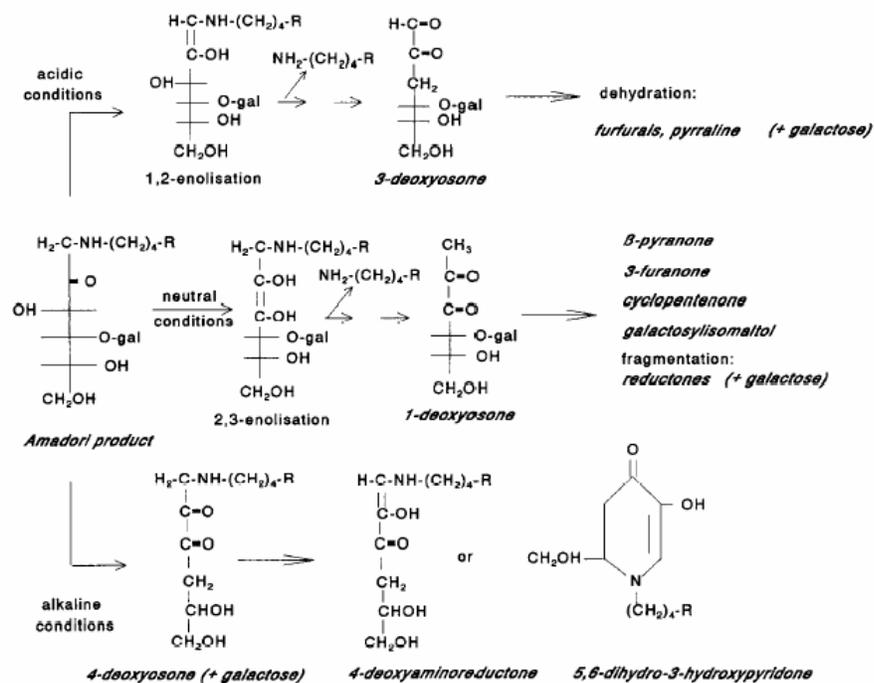


Figure 1.16 Dégénération du composé d'Amadori au stade avancé de la réaction de Maillard sous conditions acides, neutres et alcalines (gal = galactose, R = chaîne protéique) (van Boekel, 1998).

L'un des facteurs, nommés ci-avant, intervenant dans le développement de la réaction de Maillard est le pH. L'augmentation du pH de 6,6 à 7,0 se traduit par une augmentation de la formation de lactulose, composée intervenant dans la réaction de Maillard puisque l'isomérisation des sucres réducteurs est favorisée à pH élevé (Berg, 1993).

Les conséquences de la réaction de Maillard dans le lait sont importantes et comprennent la perte de valeur nutritive car les résidus lysine sont bloqués et non assimilés, une digestibilité réduite et l'inhibition d'enzymes, la production de saveur, la formation de composés anti-oxydants mais aussi de composés mutagènes, antimutagènes et anticancérigènes, la formation possible de composés antibactériens, la diminution de l'allergénicité, la polymérisation des protéines du lait ainsi que le développement de coloration brune à cause des mélanoidines (van Boekel, 1998).

1.4.3.3 Acides organiques

L'isomérisation du lactose ainsi que la réaction de Maillard mènent tous deux à la formation d'acide formique, un produit de la dégradation du galactose. Un chauffage intense peut aussi mener à la formation d'acide acétique, lactique, propionique, butyrique et laevulinique (Berg et van Boekel, 1994 ; Walstra et Jenness, 1984).

1.4.3.4 Modification de l'équilibre minéral

Les traitements thermiques appliqués au lait entraînent la réduction du calcium total soluble et du calcium ionique dans le lait. Le phosphore soluble subit des changements similaires (Ustunol et Brown, 1985). L'équilibre entre le phosphate de calcium colloïdal et soluble affecte l'équilibre des constituants de caséine et leur degré d'association (Ustunol et Brown, 1985).

1.4.3.5 Modification du pH

L'application d'un traitement de chaleur cause l'abaissement du pH suite à trois réactions. Ce sont l'oxydation thermique du lactose en acides organiques (50 % de l'abaissement de pH), l'hydrolyse du phosphate organique (phosphosérines) (30 %) et enfin la précipitation du phosphate de calcium tricalcique et le relâchement concomitant d'ion H⁺ (20 %) (Singh, 2004).

1.4.3.6 Stabilité thermique

L'augmentation de la stabilité thermique du lait est désirable dans plusieurs applications alimentaires dans le but, par exemple, d'assurer la vie de tablette des laits stérilisés en évitant la gélification à l'entreposage (Singh, 2004). La stabilité du lait à chaleur réfère à sa résistance à la coagulation à des températures de stérilisation (Singh et Creamer, 1992) alors que Singh définissait la stabilité thermique comme étant la capacité du lait de résister aux hautes températures des procédés industriels sans coagulation visible ou gélification (Singh, 2004). Le facteur le plus important vis-à-vis de la stabilité est le pH. Les autres facteurs qui influencent la stabilité thermique sont les sels, les protéines du lait (Morgan *et al.*, 2000; Singh et Creamer, 1992) ainsi que les traitements tels le préchauffage, la

concentration et l'homogénéisation, qui peuvent causer la coagulation partielle ou complète pendant la transformation ou l'entreposage (Singh et Creamer, 1992, Singh, 2004).

La façon la plus commune de mesurer la stabilité thermique du lait est d'établir le profil du temps de coagulation à la chaleur en fonction du pH (HCT-pH) tel que présenté à la Figure 1.17. Le lait est classé en deux types selon son profil de stabilité. Le lait de type A, prédominant au Québec, possède un minimum de stabilité à pH 6,9 et un maximum à pH 6,7 alors que la stabilité thermique du lait de type B augmente continuellement en fonction du pH (Singh, 2004; O'Connell et Fox, 2000; Singh et Creamer, 1992).

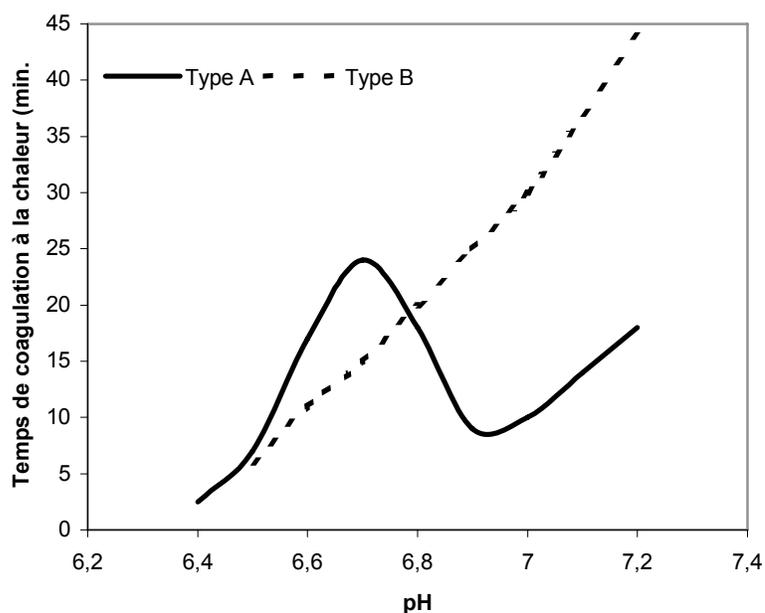


Figure 1.17 Profil de stabilité à la chaleur en fonction du pH (Adapté de Singh, 2004).

Le minimum de stabilité peut être supprimé en modifiant la composition du lait. Une légère diminution de la concentration totale en ions calcium et magnésium, de l'ordre de 11 à 13 mM, élimine le minimum alors qu'une augmentation diminue la stabilité pour tous les pH. L'addition de phosphates augmente le HCT, et la diminution de phosphate soluble déplace le profil vers les valeurs alcalines. L'addition de citrate a pour effet de déplacer le maximum vers des valeurs plus acides. Le retrait de 40 % du phosphate de calcium

colloïdal augmente le HCT entre pH 6,4 et 7,4 alors que le retrait plus prononcé, de l'ordre de 60 à 100 %, n'augmente le HCT qu'entre pH 6,4 et 7,0 et présente un effet déstabilisant à pH plus élevé (Singh, 2004).

L'urée est le seul constituant indigène du lait dont la présence corrèle fortement avec les variations normales de stabilité à la chaleur. L'addition à de faibles concentrations n'affecte pas le HCT dans la région du maximum mais à forte concentration elle augmente le HCT (Singh, 2004). De plus, il est bien établi que l'urée est apte à stabiliser à la chaleur le lait de type A dans la région du pH de stabilité maximale et du lait de type B à travers les pH de 6,4 à 7,4 (Holt *et al.*, 1978).

La relation entre les protéines du lactosérum et la stabilité à la chaleur est bien établie pour le lait de vache : la β -LG et la κ -CN sont les protéines qui ont le plus d'influence sur le profil du temps de coagulation à la chaleur (HCT). De plus, la β -LG est nécessaire au développement d'un profil de type A. En effet, la stabilité des micelles de caséines en absence de protéines sériques augmente continuellement avec le pH alors que l'addition de β -LG à une dispersion de micelles de caséines introduit un minimum et un maximum dans le profil de stabilité. D'autre part, l'enrichissement du lait en κ -CN accroît la stabilité dans la région du minimum et convertit un lait de type A en lait de type B (Singh, 2004).

De nombreux additifs peuvent modifier le profil de stabilité à la chaleur en fonction du pH. Les agents bloqueurs de thiols tel le N-éthylmaleimide réduisent le HCT dans la région du max. L'addition d'agents réducteurs, tel le 2-mercaptoéthanol, déstabilise le lait sur toute la gamme de pH. L'addition d'agents oxydants, tel le KBrO_4 , éliminent le minimum dans la courbe HCT-pH. Le KIO_3 , pour sa part, a un effet stabilisant marqué à travers la gamme de pH 6,5 à 7,3. Le formaldéhyde augmente la stabilité, particulièrement dans la région du minimum qui est éliminé. Les détergents anioniques, comme le SDS, augmentent la stabilité dans la région du minimum mais déplacent aussi la courbe vers des pH plus élevés. Les détergents cationiques, tel le cetylméthylammonium, déplacent aussi la courbe dans le même sens mais augmentent au contraire la stabilité dans la région du maximum. Finalement, les extraits riches en polyphénols, comme l'acide caféique, contribue à augmenter le HCT, surtout dans la région du minimum (Singh, 2004).

1.4.3.7 Coagulation à la chaleur

La coagulation du lait suite à un chauffage prononcé à des températures entre 120 et 140 °C est une conséquence de la perte de stabilité de la micelle résultant de nombreux changements physiques et chimiques de ses composants.

Les traitements de chaleur modifient à la fois les micelles de caséines et l'environnement de la phase sérique autour d'elles. Les changements qui ont lieu dans les micelles de caséines elles-mêmes sont l'association des protéines sériques, les changements des équilibres minéraux, la déphosphorylation et la dissociation des caséines. Dans la phase sérique, des changements de pH et la concentration des sels solubles sont observés ainsi que l'hydrolyse du lactose. (Singh, 2004).

1.4.3.7.1 Changement dans les micelles de caséines

Le pH de chauffage a une grande influence sur l'étendue de l'association des protéines sériques aux micelles de caséine. À des valeurs de pH inférieures à 6,8, une vaste majorité des complexes de protéines sériques demeure associée à la surface de la micelle de caséine. À des valeurs de pH plus élevées, les agrégats de protéines sériques demeurent dans le sérum et le κ -CN se dissocie de la micelle. Singh mentionne que le mécanisme exact n'est pas encore élucidé. Il serait possible que les interactions entre le β -LG et le κ -CN aient lieu dans la micelle et que le complexe se dissocie dans la phase sérique ou encore que le complexe soit formé dans le sérum. Néanmoins, la présence de protéines du lactosérum accroît de façon marquée la dissociation de la κ -CN micellaire à des valeurs de pH > 6,9. D'autres caséines (α_{s1} , α_{s2} et β) se dissocient de la micelle lors du chauffage mais de façon beaucoup moins marquée (Singh, 2004).

Selon le pH au chauffage, deux types de particules de caséine sont produites avec une structure et une stabilité différente. L'association des protéines du lactosérum aux micelles à des pH < 6,8 modifie la surface des particules de caséine. Il a été démontré récemment que l'association de protéines sériques dénaturées avec les micelles de caséine augmente leur taille et que le potentiel zeta des micelles enveloppées de protéines sériques est plus grand que celui des micelles natives, ce qui contribue à la stabilité de ces particules (Anema et

Li, 2003). En conséquence, les micelles enveloppées de protéines sériques sont plus stables à la chaleur, aux ions calcium, à l'éthanol et à la présure que les micelles de caséines natives (Singh et Fox, 1986).

Les micelles de caséine appauvries en κ -CN formées par chauffage du lait à $\text{pH} > 6,8$ ont un potentiel zeta réduit et présentent une sensibilité accrue aux ions calcium, à l'éthanol et à la chaleur comparativement aux micelles natives. Cependant, la détermination de l'état moléculaire de la κ -CN qui se dissocie de la micelle est compliquée par le fait que, lors du chauffage, les protéines sériques interagissent avec celle-ci via des réactions d'échange thiols-disulphide. L'hypothèse avancée par Singh (2004) pour expliquer la dissociation de la κ -CN à pH légèrement alcalin repose sur les interactions hydrophobes qui seraient insuffisantes pour retenir la κ -CN une fois une valeur critique de charge de surface atteinte. Les répulsions électrostatiques entre la κ -CN et les autres composantes de la micelle causeraient alors la dissociation. L'autre hypothèse implique la conversion du phosphate de calcium colloïdal en une forme alternative moins apte à lier les molécules de caséine et de maintenir la structure de la micelle. Cependant, puisque l'attachement de la κ -CN à la micelle n'implique pas de phosphate de calcium colloïdal, un tel changement influencerait la dissociation des autres caséines mais très peu la dissociation de la κ -CN (Singh, 2004).

1.4.3.7.2 Changements dans la phase sérique

Le chauffage affecte aussi la phase sérique qui entoure les micelles. En effet, le pH du lait décroît graduellement avec l'augmentation du temps de chauffage à 140 °C. De plus, les traitements thermiques diminuent les concentrations de phosphate soluble ainsi que du calcium soluble et ionique. Toutefois, l'activité de l'ion calcium, qui dépend du pH initial du lait, décroît pendant le chauffage malgré que le pH diminue (Singh, 2004).

1.4.3.7.3 Mécanismes de coagulation du lait à la chaleur

Un mécanisme pour expliquer les profils HCT-pH des laits a été développé. Tout d'abord, la courbe HCT-pH est divisée en deux régions en fonction du pH (Figure 1.18).

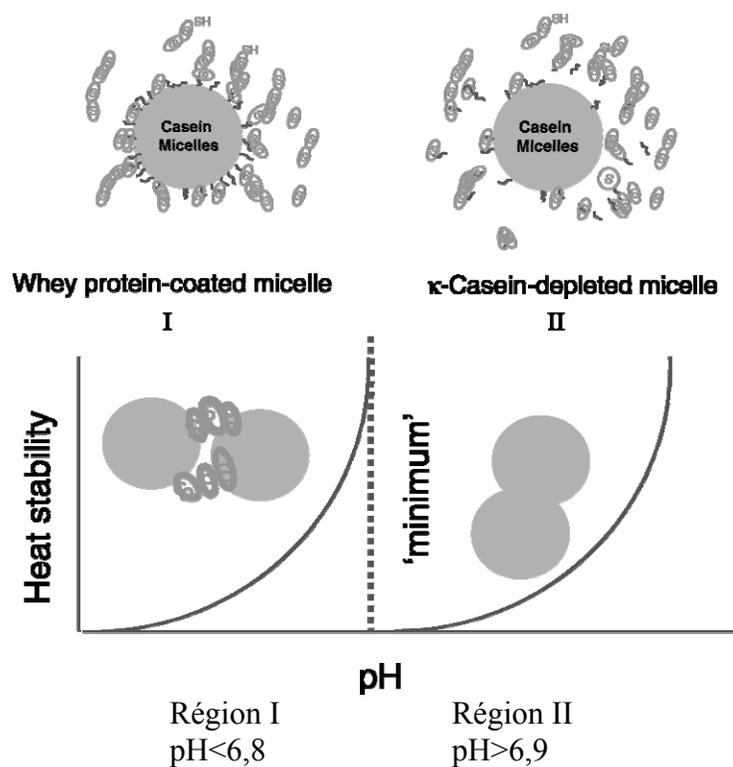


Figure 1.18. Interactions induites par la chaleur selon le pH (Singh, 2004).

Dans la région I (pH < 6,8), la stabilité des micelles est assurée par le recouvrement en protéines sériques. À pH bien en-dessous du maximum de stabilité, le lait coagule rapidement à cause du faible pH et de la diminution des répulsions électrostatiques. De plus, les grandes quantités de protéines sériques associées aux micelles peuvent favoriser l'agrégation des particules de caséine par réticulation des protéines sériques liées à des micelles différentes. La présence d'un maximum (pH=6,7-6,8) dans les profils de stabilité à la chaleur est attribuable à la plus grande stabilité des micelles recouvertes de protéines sériques. La formation du complexe β -LG- κ -CN à la surface des micelles de caséine altère les interactions stériques et électrostatiques et prévient la dissociation de la κ -CN micellaire (Singh, 2004; O'Connell et Fox, 2003).

Dans la région II, la stabilité thermique décroît suite à la dissociation de la κ -CN micellaire qui avait un effet stabilisant. Le minimum de stabilité dans le profil HCT-pH est le résultat de la coagulation induite par les sels des micelles appauvries en κ -CN, plus sensibles à la présence d'ions calcium. À pH supérieur au minimum de stabilité, et ce même si la dissociation de la κ -CN micellaire augmente, il y a accroissement de la stabilité thermique grâce à l'augmentation de la charge protéique et de la faible activité de l'ion calcium (Singh, 2004; O'Connell et Fox, 2003).

Cependant, O'Connell et Fox (2003) ont émis une hypothèse alternative pour expliquer la dépendance au pH de la stabilité thermique du lait qui amplifie le rôle joué par le calcium. Toutefois, cette hypothèse n'explique pas la dissociation de la κ -CN à $\text{pH} > 6,9$, telle qu'observée par de nombreux chercheurs (Singh, 2004).

1.5 Électrolyse à membrane

Les électrotechnologies, basées sur la l'utilisation d'électrodes qui peuvent ajouter ou retirer des électrons à des espèces, sont largement utilisés dans le recouvrement de métaux lourds des eaux usées, la dépollution d'air contaminé et le recyclage d'effluents (Pletcher et Weinberg, 1992b). Certaines sont des technologies « vertes » puisqu'elles ne produisent pas d'effluents et qu'elles n'utilisent ni ne produisent de matériel toxique. La technologie est basée sur l'utilisation de cellules électrolytiques, combinées ou non à des membranes perméables aux ions, qui utilisent l'énergie électrique pour forcer des réactions à la surface d'une électrode immergée dans le liquide à traiter. Ces cellules fonctionnent en mode continu, semi-continu et discontinu (Pletcher et Weinberg, 1992a,b).

1.5.1 Principe

Les modifications chimiques qui ont lieu dans une cellule d'électrolyse sont déterminées par trois facteurs à savoir les réactions d'oxydation à l'anode, les réactions de réduction à la cathode et la nature des espèces chimiques circulant à travers des séparateurs entre les électrodes. Les séparateurs sont le plus souvent des membranes qui peuvent être perméable aux anions ou au cations (Pletcher et Weinberg, 1992a,b). Les membranes laissent passer le courant et sont utilisées pour permettre l'équilibre des charges du système. La neutralité

électrique évite une éventuelle oxydation, à l'anode, de l'espèce réduite à la cathode et vice-versa (Bazinet *et al.*, 1998). Dans le cas de l'électroréduction, les électrons fournis par une source de courant sont transférés de la cathode aux espèces en solution et les cations circulent de l'anode vers la cathode à travers une membrane de telle sorte qu'une charge équivalente à celle transférée aux électrodes soit transportée à travers la membrane (Bazinet *et al.*, 1998 ; Pletcher et Weinberg, 1992a,b). De ce fait, un composé n'est oxydé que si un autre est réduit (Bazinet *et al.*, 1998).

1.5.2 Applications connues

De nombreuses applications des traitements d'électrolyse dans le monde alimentaire ont été développées. Les traitements électrolytiques sont utilisés pour coaguler les protéiques sériques (Janson et Lewis, 1994), prévenir le brunissement du jus de pomme (Tronc *et al.*, 1998), produire du tofu (Hara *et al.*, 2003) et obtenir de l'huile de canola hydrogénée comportant moins d'acides gras *trans* (Mondal et Lalvani, 2003). De le domaine laitier, un brevet a été obtenu pour la production de poudre de lait de meilleure saveur et odeur (Inoue *et al.*, 2003). La seule application connue de l'électroréduction dans le secteur laitier est la réduction, jusqu'à 39 % sous certaines conditions, des ponts disulfures des protéines de lactosérum (Bazinet *et al.*, 1997). Ces travaux ouvrent la voie à l'empêchement possible de l'oxydation des groupements thiols de la β -lactoglobuline menant à la fixation de celle-ci sur la κ -caséine par l'application d'un traitement d'électroréduction au lait.

1.5.3 Cellule d'électrolyse

Une cellule d'électrolyse à membrane pour l'électroréduction en mode statique est généralement composée de deux électrodes métalliques immergées dans des électrolytes séparés par une membrane cationique (Bazinet *et al.*, 1998). La Figure 1.19 illustre une cellule de verre typiquement utilisée en laboratoire. La solution à traiter est placée dans le compartiment cathodique alors qu'un acide dilué est placé dans le compartiment anodique. Une membrane cationique de grade alimentaire assure la séparation des liquides tout en laissant passer le courant et les cations pour assurer l'électroneutralité (Bazinet *et al.*, 1998). Les électrodes d'acier inoxydable sont reliées à un générateur de courant et divers appareils de mesure peuvent être introduits dans le système. Une électrode de référence est

insérée tout près de la cathode afin de contrôler le potentiel appliquée à celle-ci. Finalement, les compartiments sont munis de barreaux magnétiques pour permettre une agitation constante dans le but de minimiser les zones de polarisation, le colmatage à la surface de la membrane et la formation de dépôts à la surface des électrodes.

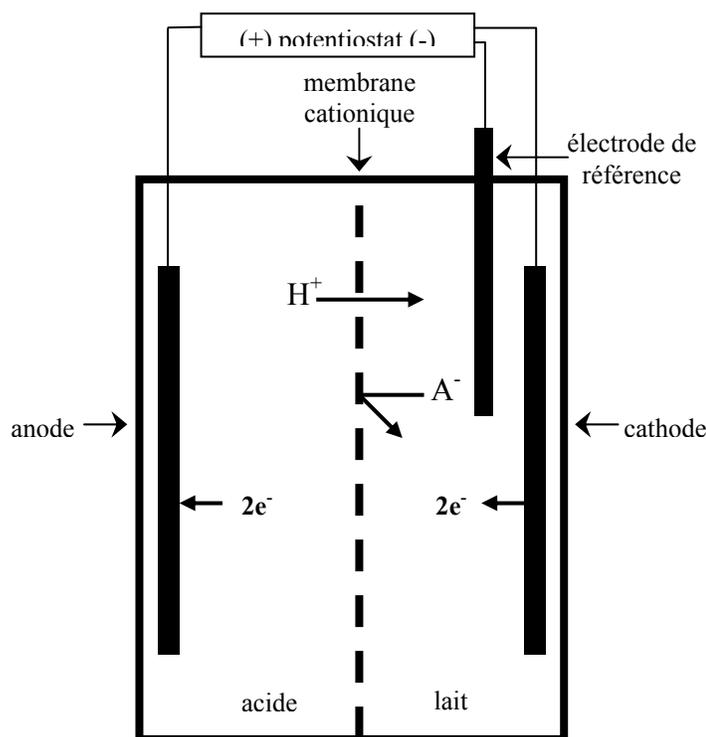


Figure 1.19 Schéma d'une cellule d'électrolyse à membrane, de type « statique ».

1.6 Approche proposée

1.6.1 Réduire la sensibilité à l'oxydation

À notre connaissance, aucune étude n'a porté sur la modulation du potentiel d'oxydoréduction (redox) pour contrôler les réactions d'oxydation dans le lait. La valeur du potentiel redox (ORP) est une mesure de l'affinité pour les électrons ou du potentiel à donner des électrons d'un système redox. Plus le potentiel redox est négatif, plus la tendance à donner des électrons est grande. Le potentiel redox augmente donc avec l'augmentation d'énergie des électrons (Patushenko *et al.*, 2000). Certaines études ont étudié l'effet de l'ajout de substances chimiques anti-oxydantes dans le lait avec des résultats mitigés (Halliwell *et al.*, 1995). De plus, ces substances ne sont pas toutes

permises dans le lait et le consommateur est réticent à l'ajout d'additifs chimiques. Pour contourner ce problème, nous proposons la modulation du potentiel redox par électrolyse à membrane pour augmenter stabilité lait à la chaleur. Le procédé d'électrolyse à membrane utilise l'énergie électrique pour forcer des réactions à la surface d'une cathode inerte en contact avec le produit à traiter (Wang *et al.*, 1991). Les réactions qui surviennent à la cathode sont responsables de la réduction des espèces actives et de l'abaissement du ORP. Les protons utilisés sont remplacés par ceux de l'anolyte qui traversent la membrane cationique pour maintenir l'électroneutralité de la solution. Une telle cellule d'électrolyse a été utilisée par Bazinet et collaborateurs (Bazinet *et al.*, 1997) pour réduire les ponts disulfures de la β -LG. Par cette technologie, il sera possible de contrôler la concentration d'oxygène dissous dans le lait, le potentiel redox et l'état d'oxydation des espèces chimiques actives pour augmenter la stabilité du lait à la chaleur et ainsi prévenir les pertes de lysine, l'apparition de la coloration brune et la coagulation à l'entreposage des laits stérilisés, tout en favorisant l'attaque du lait à la présure en fabrication fromagère.

Chapitre 2 Hypothèse, but et objectifs

2.1 Hypothèse

Après une revue détaillée de la littérature sur les modifications causées au lait par la chaleur et du principe d'électroréduction, il est légitime de s'interroger sur la relation entre ces deux concepts. L'hypothèse ayant motivée nos travaux de recherche est donc la suivante :

« L'application d'un traitement d'électroréduction au lait permet de créer un environnement réducteur prévenant la lactosylation et la formation du complexe κ -caséine : β -lactoglobuline. »

2.2 But

Le but de cette étude était d'acquérir des connaissances sur l'effet du traitement d'électroréduction sur les modifications encourues par le lait lors d'un traitement thermique. Ces nouvelles connaissances seront utiles à l'amélioration des procédés de pasteurisation et de stérilisation pour en diminuer l'impact négatif des traitements thermiques sur les propriétés technologiques du lait

2.3 Objectifs

Les objectifs poursuivis par ces travaux sont les suivants.

- Déterminer l'aptitude à la coagulation à la présure des laits électroréduits chauffés à 75 °C;
 - o Mesurer l'interaction entre la caséine- κ et la β -lactoglobuline dans les laits chauffés,
 - o Établir la cinétique de coagulation par la présure du lait soumis à un traitement de chaleur à 75 °C,
 - o Déterminer les bilans fromagers;

- Déterminer la stabilité thermique du lait électroréduit chauffé à 140 °C;
 - o Mesurer l'interaction entre la caséine- κ et la β -lactoglobuline dans les laits chauffés à 140 °C,
 - o Mesurer la dégradation du lactose et la production d'acides organiques,
 - o Étudier la sensibilité au brunissement non-enzymatique induit par la chaleur,
 - o Mesurer la dégradation de la lysine,
 - o Établir la cinétique de coagulation à la chaleur en fonction du pH.

Les dispositifs expérimentaux mis en œuvre pour l'atteinte du premier objectif sont présentés aux chapitres 3 et 4 alors que le chapitre 5 porte sur le deuxième objectif.

Les travaux de ce chapitre ont été réalisés après des essais préliminaires avec une cellule d'électrolyse de configuration différente pouvant fonctionner en modes statique et continu. Cependant, la conception déficiente de la cellule d'électrolyse entraînait un colmatage important de la membrane. Les travaux ont donc été repris avec une nouvelle cellule d'électrolyse, dite en « H », fonctionnant en mode statique. Puisque l'objet de ce mémoire n'est pas l'optimisation d'un procédé d'électroréduction appliqué au lait mais bien d'acquérir des connaissances sur l'effet du traitement d'électroréduction sur les modifications encourues par le lait lors d'un traitement thermique, les paramètres d'électroréduction ont été fixés après des essais préliminaires. Le potentiel appliqué a été choisi pour éviter d'engendrer l'électrolyse de l'eau présente dans le lait, qui se manifeste par l'apparition de bulles dans le lait. L'intensité des traitements thermiques appliqués pour les travaux du présent chapitre et du suivant sont modérés et, par opposition à ceux du chapitre 5, ces traitements sont dits « à basse température ». Toutefois, ces traitements sont suffisants pour engendrer des modifications dans le lait. Dans ce chapitre, nous avons voulu vérifier si l'application d'un traitement d'électroréduction au lait avant chauffage améliorerait son aptitude à la fabrication fromagère par la détermination des cinétiques de coagulation par la présure.

Chapitre 3 Aptitude à la coagulation par la présure des laits traités à 75 °C

3.1 Résumé

Les traitements thermiques appliqués au lait altèrent ses propriétés coagulantes, ce qui rend le lait chauffé impropre à la fabrication fromagère. Les études démontrent qu'une augmentation de la température de chauffage se traduit par l'augmentation du temps de prise et que la formation du complexe β -LG- κ -CN serait responsable de la baisse de sensibilité à la chymosine (Morgan *et al.*, 2000; Lucey, 1995; Singh *et al.*, 1988). Le but de cette étude était d'évaluer si l'application d'un traitement d'électroréduction peut limiter la fixation de la β -LG et accroître l'aptitude à la coagulation du lait. L'interaction entre la β -LG et la κ -CN, ainsi que les cinétiques de coagulation par la présure, ont été mesurées sur le lait témoin et électroréduit, de même que sur un lait dégazé puisqu'une diminution de la concentration en oxygène dissous est observée lors du traitement d'électroréduction. Un traitement thermique à 75 °C a ensuite été appliqué pour une période variant de 4 à 64 minutes. Le traitement d'électroréduction n'a pas réduit la quantité de β -LG fixée à la micelle après le traitement thermique mais a modulé l'aptitude du lait à la coagulation par la présure. Le temps de prise des gels de lait électroréduit est inférieur à celui des gels de lait dégazé ou témoin, alors que l'indice de fermeté est supérieur. Ces propriétés se révèlent intéressantes pour l'industrie fromagère car elles témoignent d'une meilleure organisation du réseau de para-caséine qui pourrait se traduire par des rendements fromagers accrus.

3.2 Introduction

Le lait chauffé est impropre à la fabrication fromagère car les traitements thermiques altèrent les propriétés coagulantes du lait (Vasbinder *et al.*, 2003). Les études démontrent qu'une augmentation de la température de chauffage se traduit par l'augmentation du temps de prise et la formation du complexe β -LG- κ -CN serait responsable de la baisse de sensibilité à la chymosine (Morgan *et al.*, 2000; Lucey, 1995; Singh *et al.*, 1988). Puisque la fixation de la β -LG sur la κ -CN en surface des micelles résulte de l'oxydation d'un groupement thiol, le dispositif expérimental mis en oeuvre vise à vérifier si la création d'un

milieu réducteur grâce à l'électroréduction, en amont du traitement thermique, peut limiter la fixation de la β -LG et accroître l'aptitude à la coagulation du lait. Pour ce faire, l'interaction entre la β -LG et la κ -CN, ainsi que les cinétiques de coagulation par la présure, seront mesurées.

3.3 Matériel et méthode

3.3.1 Plan expérimental

Un dispositif expérimental avec trois traitements appliqués au lait (témoin, dégazé, électroréduit) et six niveaux de traitement thermique à 75 °C (0, 4, 8, 16, 32 et 64 min) était réalisé en trois répétitions.

3.3.2 Préparation des échantillons

3.3.2.1 Réception et écrémage

Le lait crû de mélange utilisé lors du projet provenait de chez Parmalat (St-Hyacinthe, QC). Suite à sa réception, le lait était écrémé par centrifugation (Sorvall RC-5B, rotor SLA-3000, 25 min, 4 °C, 2700 \times g). De l'azote de sodium était ajouté au taux de 0,02 % comme agent de conservation. Le pH du lait était ajusté à 6,55 avec l'acide lactique 20 %. La composition du lait en gras, protéine, lactose, solides non gras et solides totaux était mesurée par interféromètre à infrarouge à transformée de Fourier (MilkoScan FT120, Foss North America, Eden Prairie, USA). Le lait était standardisé à 3,05 % (p/p) de protéine en diluant avec du perméat de lait cru obtenu par ultrafiltration à flux tangentiel avec une membrane au seuil de coupure de poids moléculaire 30 kDa (Minitan, membrane PM30 #PTTK OMP 04 ou PM30 #PLTK OMP 04, Millipore, MA, USA). Le lait crû écrémé était conservé dans des bouteilles de polyéthylène à 4 °C jusqu'à utilisation.

3.3.2.2 Dégazage

Le lait dégazé était obtenu par agitation sous vide pendant 30 min puis sous jet d'azote pendant 30 min.

3.3.2.3 Électroréduction

Le lait écrémé était traité dans une cellule d'électrolyse en verre d'une capacité de 280 ml constituée d'une électrode de travail (ET) et d'une contre-électrode (CE) de 37 cm² chacune en acier inoxydable séparées par une membrane de grade alimentaire perméable aux cations de 19,64 cm² (Neosepta CMX-SB, Electrolytica Inc., USA). Les électrodes étaient conditionnées par passage à l'acide chlorydrique 5 N entre chaque utilisation. Un volume de 280 mL de lait était placé dans le compartiment de la cathode alors que 250 mL d'acide sulfurique 0,1 N était utilisé dans le compartiment de l'anode. Une électrode de référence maison (ER) de type Ag/AgCl était utilisée pour mesurer le potentiel à l'électrode de travail. Deux électrodes pour la mesure du potentiel redox et de l'oxygène dissous étaient insérées dans le compartiment cathodique. Le courant électrique était fourni par un potentiostat (410 Potentiostatic Controller, 420A Accessory Power Unit, 640 Digital Coulometer, ESC, USA) et la différence de potentiel appliquée était de -1,4 V (ET/ER) pendant 60 minutes. L'intensité du courant et la différence de potentiel (ET/CE) étaient enregistrés par des multimètres (189 True-RMS Multimeter, Fluke Corporation, USA). Trois électroréductions étaient effectuées pour obtenir un volume suffisant pour les analyses après quoi le lait était combiné sous jet d'azote puis rangé à 4 °C pendant 24 heures dans une bouteille de verre jusqu'à la mise en tube pour le traitement thermique.

3.3.3 Potentiel redox et oxygène dissous

Un pH-mètre en mode de lecture mV (pH-Meter 140, Corning, USA) avec une électrode combinée au fil de platine (6.0402.100, Metrohm, USA) était utilisé pour mesurer le potentiel redox. L'électrode à potentiel redox était calibrée avant utilisation dans une solution standard à +250 mV à 20 °C (6.2306.020, Metrohm, USA) avec une tolérance de ± 5 mV.

L'oxygène dissous était mesuré avec un moniteur et une électrode Orion (Orion 850A plus, électrode 083005D, Thermo Electron Corporation, USA). La calibration de l'électrode à oxygène dissous était vérifiée quotidiennement dans une solution de bisulfite de sodium 6 % pour obtenir une lecture inférieure à 1 ppm en moins de 60 secondes.

3.3.4 Traitement thermique

Les laits témoin, dégazé et électroréduit ont été soumis à un traitement thermique à 75°C pour une période variant de 4 à 64 min dans un bain thermostaté. Pour ce faire, des aliquotes de 13 ml de lait étaient prélevés et mis en tubes de verre (16x100 mm) à bouchons vissés. Les tubes de lait dégazé et électroréduit étaient fermés sous jet d'azote. Les tubes disposés aléatoirement dans des supports à éprouvette en plastique pour chaque temps de chauffage. Les supports étaient plongés conjointement dans le bain maintenu à 78 °C et rempli pour obtenir un niveau d'eau tout juste sous le bouchon. Le temps nécessaire à l'atteinte de la température cible (75 °C) dans les tubes de contrôle était de 4 min 30 sec. À ce moment, le chronomètre était démarré et le contrôle de température du bain ajusté à 75,2 °C. Les supports étaient prélevés à 4, 8, 16, 32 et 64 minutes et plongés immédiatement dans un bain d'eau glacée pour refroidir les tubes à 4 °C en moins de 2 minutes. Par la suite, les échantillons étaient réfrigérés à 4 °C pendant 18 heures avant analyse.

3.3.5 Analyses physico-chimiques

3.3.5.1 Pouvoir tampon

Le pouvoir tampon des laits témoin, dégazé et électroréduit a été mesuré par titration de 30 grammes de lait tempéré à 22 °C à l'aide du titrateur TIM865 (électrode pH C-2001-8, sonde de température T201-A, Radiometer Analytical SAS, Lyon, France) utilisant du HCl 0,5 N à un débit de 0,15 ml/min sous agitation magnétique pour abaisser le pH de 7,0 à 3,0. Le pouvoir tampon a été déterminé comme étant la quantité d'acide utilisée (ml HCl 0,5 N) pour faire passer le pH de 5,5 à 4,5.

3.3.5.2 Diamètre micellaire

Le diamètre micellaire a été mesuré à 25 °C selon la technologie Non-Invasive Back-Scatter (ZetaSizer Nano ZS, Malvern Instruments, Southborough, MA, USA). Les échantillons de lait ont été préparés immédiatement avant la lecture par dilution 1:50 dans du perméat de lait cru et filtration avec un filtre de 0,45 µm (Millipore, Billerica, MA, USA). Les lectures ont été prises à 25 °C en duplicata. La cuvette de quartz était rincée trois fois à l'eau distillée entre chaque échantillon et les mesures ont été prises en duplicata.

3.3.5.3 Hydratation des micelles

L'hydratation des micelles a été déterminée par le dosage de la teneur en humidité et en protéine du culot obtenu suite à une ultracentrifugation ($90\,000 \times g$, 2 h., 30 °C, Beckman L8-70M, rotor 60 TI, Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA).

L'hydratation des micelles a été calculée comme suit :

$$\frac{\text{humidité du culot (g eau/100g culot)}}{\text{teneur en protéines du culot (g protéines/100g culot)}} = \text{hydratation de micelles (g eau/g protéine)}^{(1)}$$

La teneur en humidité du culot a été déterminée par différence de poids suite à une lyophilisation de 48 heures avec un vide à 200 microns (Virtis SE-08, SP Industries Company, Gardiner, NY, USA) et un séchage (100 °C, 5 heures).

La teneur en protéines du culot a été déterminée par Kjeldahl (Kjeltec 1030, Foss North America, Eden Prairie, USA) en utilisant un facteur de conversion d'azote de 6,38 pour les protéines laitières. Les échantillons étaient analysés en duplicata.

3.3.5.4 Teneur en protéine du surnageant

La concentration en protéines dans le surnageant a été déterminée par mesure de la densité optique à 280 nm. Les échantillons étaient dilués 1 :20 dans du tampon dissociant (50 mM EDTA, 8 M urée, pH=10,00) et la densité optique à 280 nm mesurée au spectrophotomètre (Beckman DU-65, Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA). Les échantillons étaient préparés en triplicata. Une courbe standard construite à partir d'un isolat de protéines de lactosérum (Bipro, Davisco Food International Inc., Eden Prairie, MN, USA) a été utilisée.

3.3.5.5 Détermination des protéines du surnageant

La détermination des protéines du surnageant a été effectuée par HPLC en phase inverse (System Gold, Beckman, pompe modèle 126, détecteur modèle 166, échantillonneur modèle 507) avec une colonne Vydac C4 (Chromatography Sciences Company Inc., St-

Laurent, QC, Canada) et un détecteur ultraviolet, fixé à 214 nm, en appliquant un gradient linéaire eau/acétonitrile (adapté de Jaubert et Martin, 1992).

Tampons utilisés

- Tampon A : 0,1 % acide trifluoroacétique (TFA) dans de l'eau déionisée
- Tampon B : 0,096 % TFA dans un mélange acétonitrile 80 %- eau déionisée 20 %

Condition appliquée

- Gradient d'élution 65 à 50 % de tampon B en 15 min

Les échantillons dilués à une concentration d'environ 3 mg/ml dans le tampon A étaient filtrés sur une colonne de désalage (HiTrap Desalting Column, Amersham Pharmacia Biotech, NJ, USA) puis sur un filtre de 0,45 µm (Millipore, Billerica, MA, USA). Les facteurs de correction utilisés pour les coefficients d'extinction molaire à 214 nm étaient respectivement de 0,81, 0,75 et 1 pour la BSA, l' α -lactalbumine et la β -lactoglobuline.

Le pourcentage de protéine a été calculé comme suit :

(2)

% protéine = aire x facteur de correction x 100/somme des aires corrigées

3.3.5.6 Concentration en thiols

Les thiols totaux étaient mesurés par densité optique dans le surnageant après ultracentrifugation suite à la réaction avec le réactif d'Ellman (Beveridge *et al.*, 1974). Les échantillons étaient dilués à concentration protéique 0,5 % dans du tampon (8 M urée, 0,086 M tris, 0,004 M EDTA, 0,09 M glycine, pH=8,0). Par la suite, 1 ml d'échantillon dilué était ajouté à 2 ml de tampon. La solution était transférée dans une cuvette à laquelle 30 µl de 5,5'-Dithiobis-(2- acide nitrobenzoïque) (DTNB) 10 mM était ajouté directement. Après un délai de 5 minutes pour favoriser le développement de la couleur, la densité optique à 412 nm était enregistrée (Beckman DU-65, Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA). Les échantillons étaient préparés en triplicata. Une courbe standard construite à partir de L-cystéine a été utilisée pour la détermination du coefficient d'extinction molaire.

3.3.5.7 Teneur en minéraux

Les minéraux totaux (Ca, Na, Mg, K et P) des échantillons de lait témoin, dégazé et électroréduit ainsi que les minéraux solubles dans les surnageants de ces mêmes laits soumis à différents temps de chauffage ont été déterminés par spectroscopie de plasma à couplage inductif (Applied Research Laboratories ICP Model 3510 PC Spectrometer, Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, USA) Les échantillons étaient préparés en triplicata.

3.3.6 Propriété technologique

3.3.6.1 Cinétique de coagulation

La cinétique de coagulation après ajout de présure était déterminée à 34 °C selon la méthode de Robitaille *et al.* (2004) en utilisant un lecteur de microplaque à 96 puits (EL808 Ultra Microplate Reader, Bio-Tek Instruments Inc., USA). La présure commerciale (Maxiren, Seclin, France) était préalablement diluée à une concentration de 0,0055 % dans du perméat de lait cru puis 10 µl étaient ajoutés à 90 µl d'échantillon de lait au fond des puits. La densité optique à 650 nm était enregistrée aux 30 secondes pendant 90 minutes. Les paramètres de coagulation étaient obtenus par l'ajustement des lectures de densité optique au modèle mathématique à 5 paramètres suivant :

(3)

$$F(x) = (a-d)/(1+(x/c)^b)^e+d$$

Où a = valeur minimale
 b = coefficient de pente
 c = coefficient du point d'inflexion
 d = valeur maximale
 e = coefficient de symétrie

Le temps de prise (T_{lag}), l'indice de fermeté finale (DO_{∞}), la vitesse maximale de coagulation (V_{max}), ainsi que le temps (TV_{max}) et la densité optique (DOV_{max}) nécessaires pour atteindre V_{max} ont été extraits du modèle. Les paramètres de coagulation sont illustrés à la Figure 3.1. Les cinétiques de chaque échantillon étaient mesurées en triplicata.

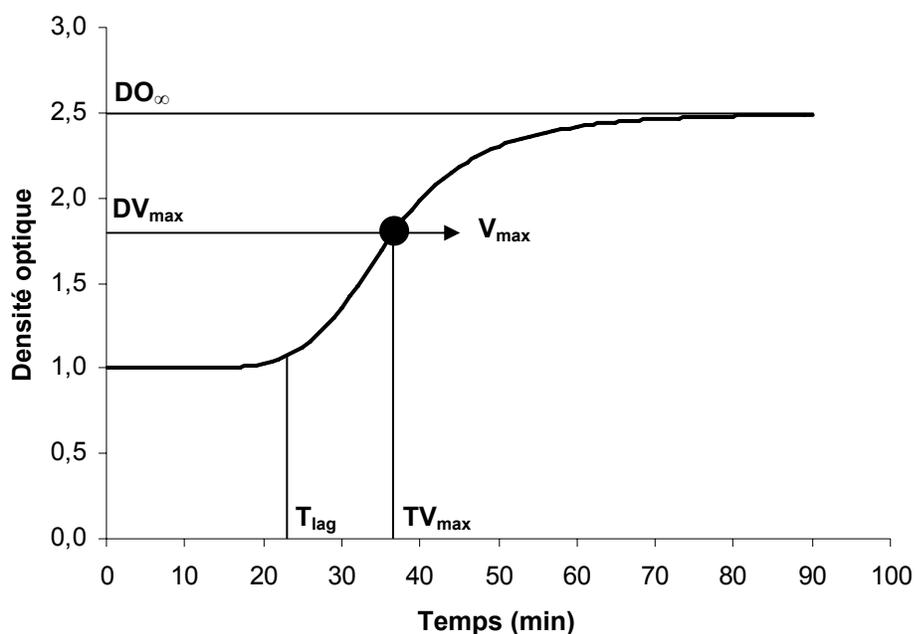


Figure 3.1 Paramètres de coagulation extraits du modèle.

3.3.7 Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée selon un dispositif expérimental factoriel en blocs complet à l'aide de la procédure GLM du logiciel SAS v 8.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) où les blocs correspondaient aux trois répétitions du bloc expérimental.

3.4 Résultats

3.4.1 Traitement d'électroréduction

Le traitement d'électroréduction abaisse le potentiel redox apparent du lait de 405 ± 76 mV en moyenne au départ pour atteindre -280 ± 59 mV après 60 minutes de traitement. Parallèlement, une diminution de la concentration en oxygène dissous du lait de plus de 86 % est observée. De $8,80 \pm 1,16$ ppm au départ, la concentration en oxygène dissous est réduite à $1,16 \pm 1,02$ ppm après traitement d'électroréduction. La Figure 3.2 illustre les chutes de potentiel redox apparent et d'oxygène dissous dans le lait en cours de traitement d'électroréduction.

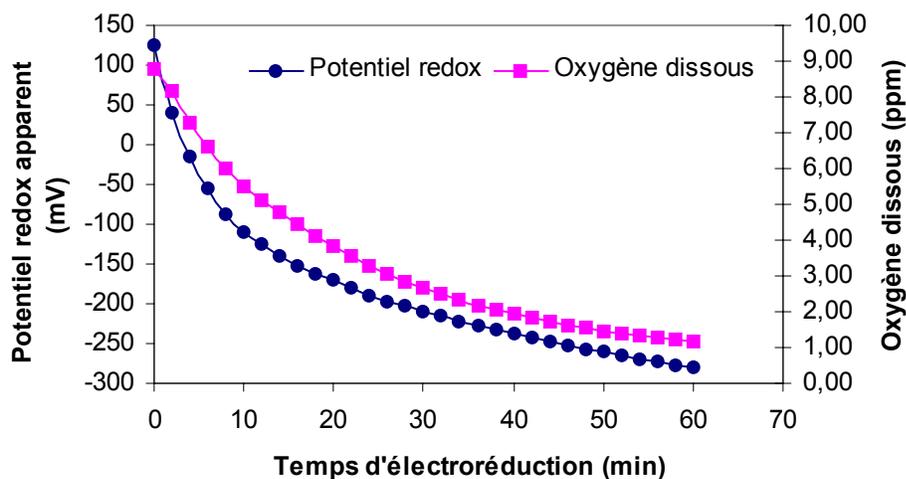


Figure 3.2 Effet de la durée du traitement d'électroréduction (min) sur le potentiel redox apparent (mV) et la concentration en oxygène dissous (ppm) du lait.

3.4.2 Analyses physico-chimiques

3.4.2.1 Pouvoir tampon

Le pouvoir tampon des laits témoin, dégazé et électroréduit non chauffés a été déterminé. Les résultats obtenus sont présentés en annexe au Tableau A.1. L'analyse révèle que le pouvoir tampon n'est pas modifié par le traitement appliqué au lait et s'établit en moyenne à $1,75 \pm 0,08$ ml HCl 0,5 N pour faire passer le pH de 30 ml de lait de 5,5 à 4,5.

3.4.2.2 Diamètre micellaire

Le temps de chauffage des laits a eu un effet ($p=0,0322$) sur la taille des micelles de caséines des laits tel qu'illustré à la Figure 3.3. Une légère contraction des micelles de caséine (~ 3 nm) est observée pour les courtes périodes de chauffage et le diamètre minimal est atteint après 4 minutes. On observe ensuite une augmentation du diamètre avec l'augmentation du temps de chauffage. Les données sont présentées en annexe au Tableau A.2. Quant au traitement préalable du lait par dégazage ou électroréduction, il n'a eu aucun effet sur l'évolution de la taille micellaire pendant le chauffage ($p=0,2637$).

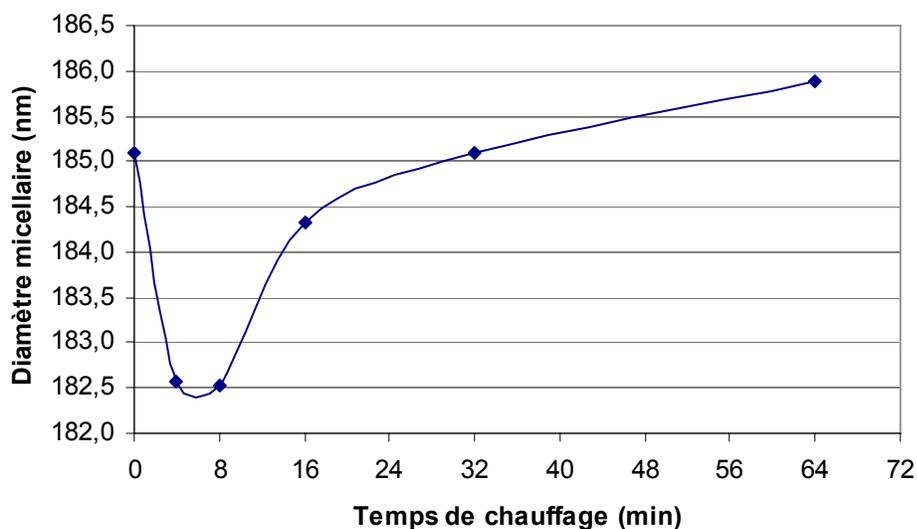


Figure 3.3 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur le diamètre micellaire (nm) des laits. Erreur-type : 0,4 nm.

3.4.2.3 Hydratation des micelles de caséine

Le temps de chauffage des laits a eu un effet ($p=0,0080$) sur le degré d'hydratation des micelles de caséines (Figure 3.4). Une diminution du degré d'hydratation est observée pour les 16 premières minutes de chauffage, passant de 2,31 à 2,21 g eau/g protéine. Une très légère augmentation de l'hydratation des micelles est par la suite observée pour les temps de chauffage plus longs. Les données sont présentées en annexe au Tableau A.3. Le traitement préalable des laits par dégazage ou électroréduction n'a eu aucun effet sur l'évolution de l'hydratation des micelles pendant le traitement thermique ($p=0,0707$).

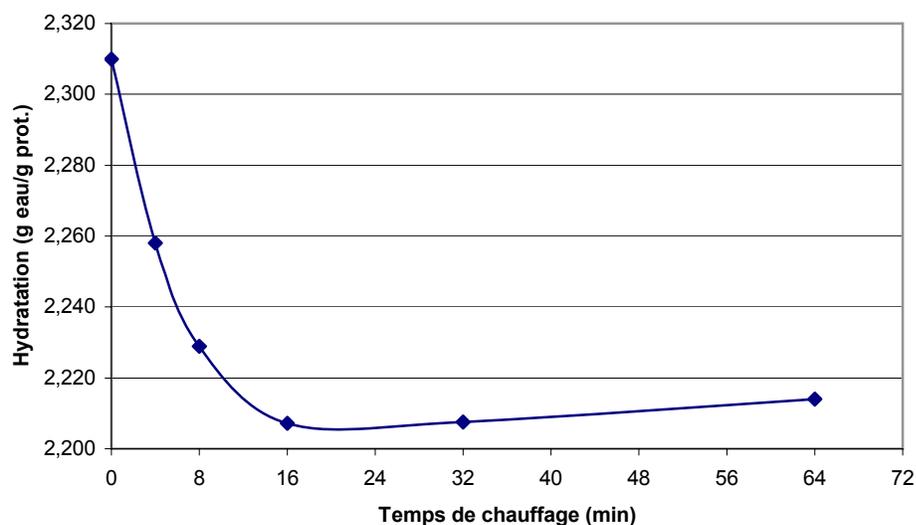


Figure 3.4 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur l'hydratation des micelles de caséines (g eau/g prot.) des laits. Erreur-type : 0,01 g eau/g protéine.

3.4.2.4 Concentration et profil protéique du surnageant

Le temps de chauffage a eu un effet à la fois sur la concentration ($p < 0,0001$) en protéines du surnageant d'ultracentrifugation ainsi que sur la composition en α -lactalbumine ($p = 0,0042$) et β -lactoglobuline ($p < 0,0001$) de ce surnageant. La concentration en protéines diminue continuellement avec le temps de chauffage alors qu'elle passe de 1,12 à 0,86 % en 64 minutes. Pendant cette période, la proportion de β -lactoglobuline diminue de 60 à 38 % de la protéine présente et la proportion d' α -lactalbumine diminue très légèrement, passant de 21 à 19 %. La Figure 3.5 illustre ces résultats. Les données sont présentées en annexe au Tableau A.4. Les traitements de dégazage ou d'électroréduction n'ont pas influencé l'évolution de la concentration en protéine solubles pendant le chauffage du lait ($p = 0,5722$).

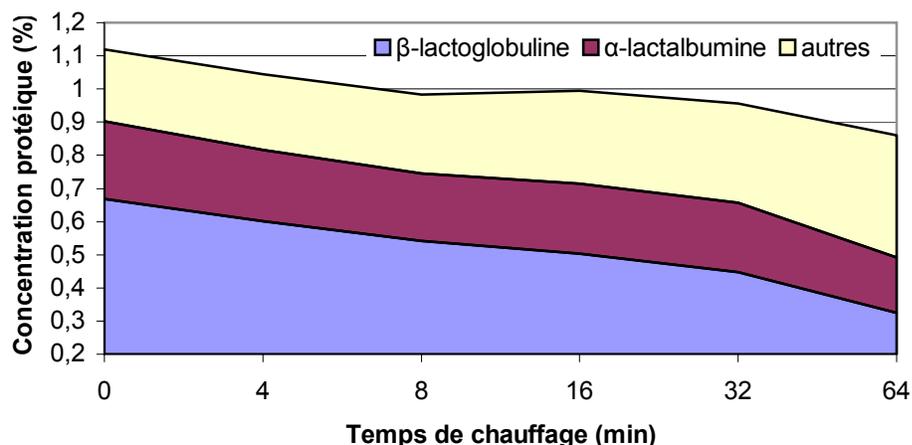


Figure 3.5 Effet du temps de chauffage à 75 °C la concentration protéique totale et la composition en β -lactoglobuline, α -lactalbumine et autres protéines du surnageant d'ultracentrifugation des laits. Erreurs-types : concentration protéique = 1,12 %, β -lactoglobuline = 0,22 %, α -lactalbumine = 1,65 %.

3.4.2.5 Concentration en thiols totaux du surnageant

Le temps de chauffage a un effet sur la teneur en thiols totaux ($p < 0,0001$) des protéines du surnageant d'ultracentrifugation des laits. La concentration en thiols diminue de 48 % après 64 minutes de chauffage pour passer de 15,3 à 7,9 $\mu\text{M/g}$ protéine, tel qu'illustré à la Figure 3.6. Les données sont présentées en annexe au Tableau A.5. Les traitements de dégazage et d'électroréduction n'ont pas influencé l'évolution de la concentration des thiols pendant le chauffage du lait ($p = 0,4387$).

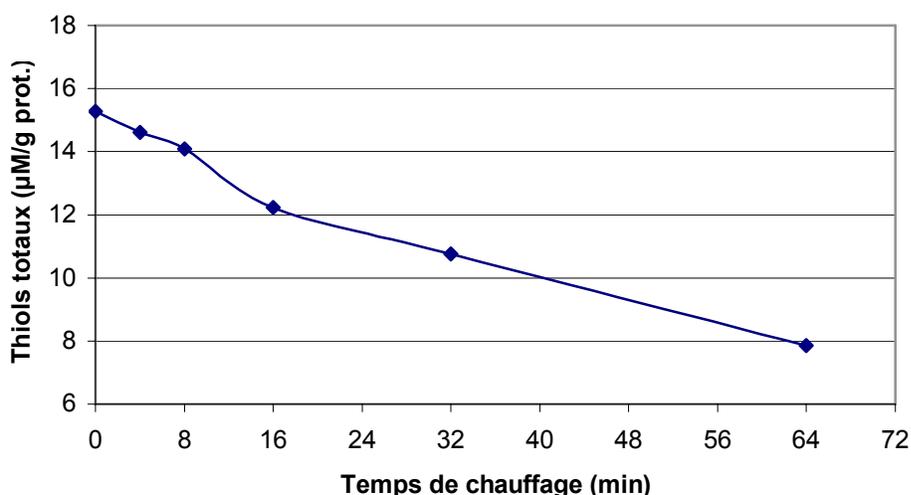


Figure 3.6 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur la concentration en thiols totaux ($\mu\text{M/g}$ prot.) du surnageant d'ultracentrifugation des laits. Erreur-type : $0,62 \mu\text{M/g}$ protéine.

3.4.2.6 Teneur en minéraux

La composition minérale des laits non-chauffés a été déterminée et l'analyse révèle qu'elle n'est pas influencée par les traitements appliqués au lait. La concentration minérale s'établit à 1080 ± 22 , 731 ± 25 et 102 ± 3 ppm pour le calcium, phosphore et magnésium respectivement. Ces valeurs sont près des valeurs rapportées par la littérature de 1180, 896 et 105 ppm pour ces mêmes éléments (Amiot et al, 2002). Les données sont présentées en annexe au Tableau A.6.

La composition en minéraux solubles dans le surnageant d'ultracentrifugation des laits chauffés a été déterminée et est présentée en annexe au Tableau A.7. Le temps de chauffage a un effet sur la concentration en calcium ($p=0,0046$), phosphore ($p=0,0145$) et magnésium ($p=0,0124$). Cet effet est présenté à la Figure 3.7. Les concentrations respectives de ces minéraux diminuent jusqu'à atteindre 407 ± 7 , 458 ± 9 et 70 ± 3 ppm après 64 minutes de chauffage. Ces valeurs représentent des diminutions de 5,1, 5,4 et 7,8 % respectivement pour le calcium, phosphore et magnésium. La littérature rapporte que les traitements thermiques favorisent la minéralisation de la micelle car ils entraînent la réduction du calcium et phosphore solubles (Ustunol et Brown, 1985). L'influence des traitements de dégazage et d'électroréduction sur la concentration en calcium ($p<0,0001$), phosphore ($p<0,0001$) et magnésium ($p=0,0004$) des surnageants est présentée à la Figure 3.8. À cet

égard, le surnageant de lait électroréduit présente une concentration de ces minéraux inférieure à celles des surnageants de lait témoin et dégazé. Alors que la concentration en calcium soluble du lait électroréduit s'établit à 408 ± 10 ppm, celle des laits dégazé et témoin sont de 423 ± 7 ppm ($p=0,0040$) et 433 ± 14 ppm ($p<0,0001$). La concentration en phosphore soluble est de 456 ± 10 ppm pour le lait électroréduit, inférieure à 479 ± 11 ppm ($p=0,0001$) et 486 ± 16 ppm ($p<0,0001$) pour les laits dégazé et témoin respectivement. Finalement, la concentration en magnésium soluble du lait électroréduit est de 72 ± 3 ppm, encore une fois inférieure à celle des laits dégazé ($p=0,0008$) et témoin ($p=0,0003$) qui sont respectivement de 76 ± 1 et 76 ± 4 ppm.

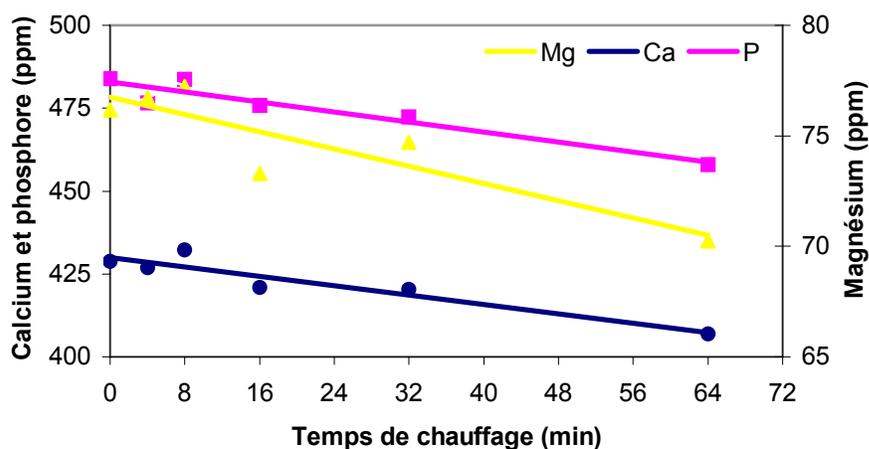


Figure 3.7 Effet du temps de chauffage à 75 °C (0, 4, 8, 16, 32 et 64 min) sur la concentration en calcium, phosphore et magnésium (ppm) des surnageants d'ultracentrifugation des laits.

Les coefficients de détermination (R^2) des droites de régression présentées sont : Ca = 0,8871, P = 0,9072 et Mg = 0,8002. Erreurs-types : Ca = 3,28 ppm, P = 4,02 ppm, Mg = 0,79 ppm.

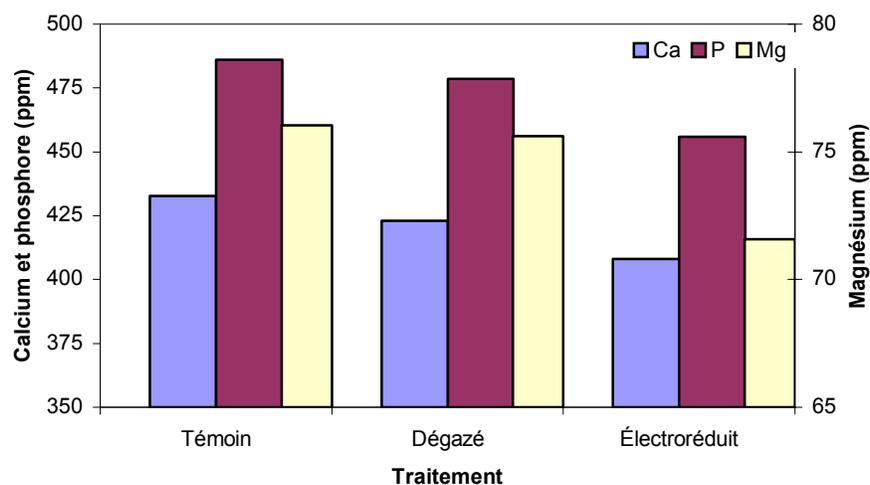


Figure 3.8 Effet du traitement appliqué au lait (témoin, dégazé et électroréduit) sur la concentration en calcium, phosphore et magnésium (ppm) des surnageants d'ultracentrifugation des laits.

Les valeurs représentent les concentrations moyennes mesurées en cours de chauffage. Erreurs-types : Ca = 3,28 ppm, P = 4,02 ppm, Mg = 0,79 ppm.

3.4.3 Propriétés technologiques

3.4.3.1 Cinétiques de coagulation par la présure

Les résultats obtenus pour les cinétiques de coagulation par la présure sont présentés au Tableau A.8 en annexe. Une interaction traitement x temps de chauffage significative ($p=0,0325$), présentée à la Figure 3.9, est observée pour l'indice de fermeté finale (DO_{∞}). Le chauffage du lait entraîne une diminution rapide de l'indice de fermeté des gels présure qui atteint environ 12 % après 8 minutes. Une période de chauffage plus longue réduit davantage la fermeté, mais le taux de réduction de fermeté est plus lent (environ 0,1 %/min). En général, l'indice de fermeté des gels produits à partir du lait électroréduits est plus élevé que les indices mesurés sur les gels de laits témoins et dégazés.

Le temps de chauffage a un effet significatif sur la vitesse maximale de coagulation (V_{max}) ($p=0,0001$) présentée à la Figure 3.10. On observe une diminution de la vitesse de formation du gel qui passe de $0,103 \pm 0,006$ à $0,023 \pm 0,001 \text{ min}^{-1}$ lorsque le lait est chauffé

pendant 64 minutes. Quant aux traitement d'électroréduction et de dégazage, ils n'ont eu aucun effet sur la vitesse de coagulation ($p=0,1230$).

Le temps de prise (T_{lag}) est influencé significativement par le temps de chauffage ($p<0,001$) et le traitement ($p=0,0034$). Une augmentation du temps de prise est observée pour tous les laits pour les 8 premières minutes de chauffage après quoi il diminue continuellement. Le comportement du lait électroréduit est différent à la fois du lait dégazé ($p=0,0169$) et du lait témoin ($p=0,0010$). Très similaire pour les 8 premières minutes, un écart plus important et presque constant, d'environ 45 secondes, est observé par rapport au lait témoin et dégazé. La Figure 3.11 illustre l'effet du chauffage et du traitement sur le temps de prise des laits.

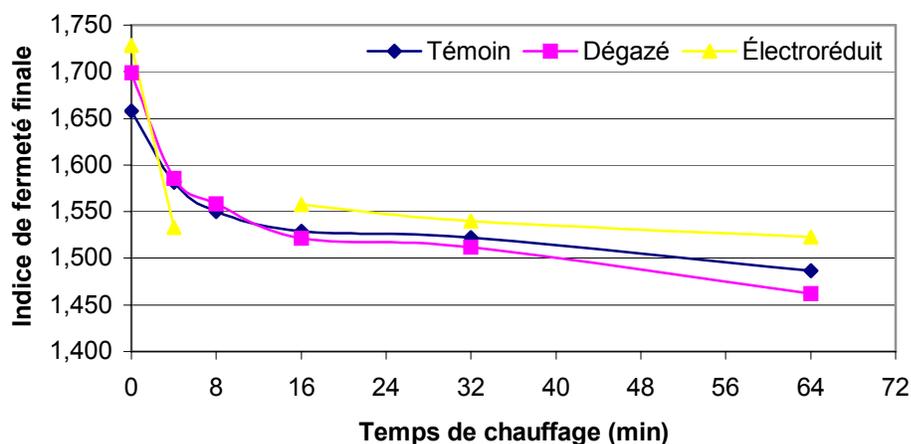


Figure 3.9 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur l'indice de fermeté finale (DO_{∞}) des laits témoin, dégazé et électroréduit. Erreur-type : 0,017.

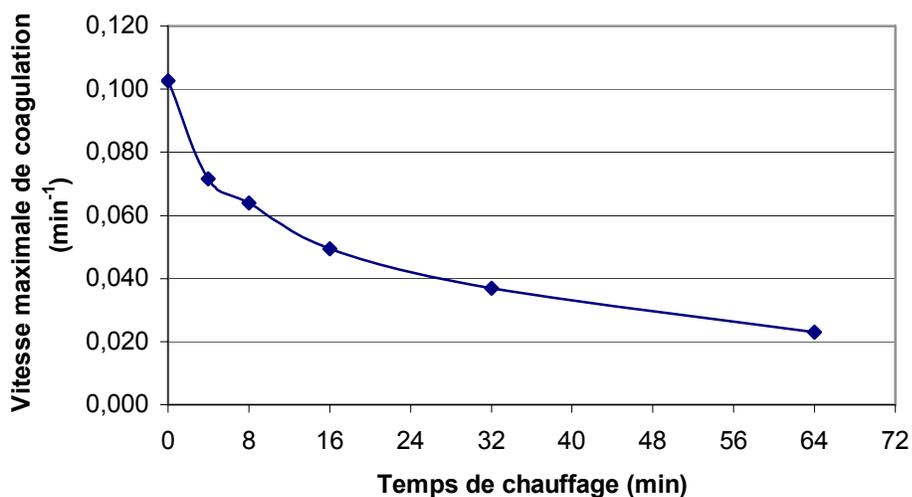


Figure 3.10 Effet du temps de chauffage à 75 °C sur la vitesse maximale de coagulation (V_{max}) des laits témoin, dégazé et électroréduit. Erreur-type : $0,006 \text{ min}^{-1}$.

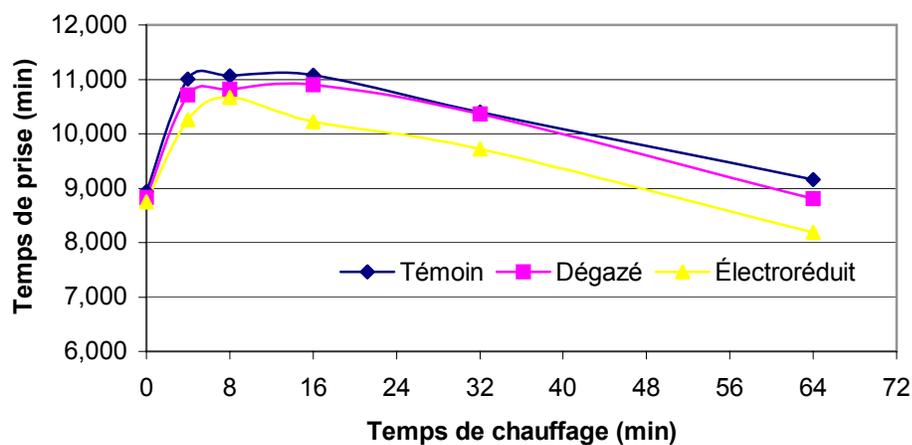


Figure 3.11 Effet du temps de chauffage à 75 °C et du traitement (témoin, dégazé, électroréduit) sur le temps de prise (T_{lag}) des laits témoin, dégazé et électroréduit. Erreur-type : $0,230 \text{ min}$.

3.5 Discussion

3.5.1 Effet du temps de chauffage

Le chauffage du lait entraîne des modifications au milieu et les résultats obtenus témoignent de ces changements. Tout d'abord, la concentration en protéines sériques, et particulièrement de la β -lactoglobuline, diminue par suite de la fixation sur la κ -caséine des micelles. Cette fixation, qui se fait par formation de pont disulfure, explique d'ailleurs en grande partie la diminution de 48 % de la concentration en thiols observée après 64 minutes de chauffage alors que la concentration en β -lactoglobuline diminue de 51 %.

Les modifications subies par le lait auquel un traitement thermique a été appliqué se font sentir également sur les micelles dont le diamètre et le degré d'hydratation varient en fonction du temps de chauffage. Tout d'abord, il y a diminution du diamètre et de l'hydratation des micelles pendant les premières minutes de chauffage. Puisque la température augmente l'entropie des molécules d'eau libre, il y a augmentation de l'effet hydrophobe, causant la contraction des structures protéiques. Par la suite, une augmentation des valeurs de diamètre et d'hydratation est observée, en accord avec la littérature (Singh et Fox, 1989). Les micelles chauffées augmentent de taille suite à la fixation de la β -lactoglobuline en surface, contribuant ainsi à augmenter l'hydratation des micelles, davantage d'eau était retenue par le cheveu micellaire.

En dernier lieu, la concentration en minéraux solubles qui diminue en cours de chauffage est un indice de minéralisation de la micelle suite à la précipitation du phosphate de calcium.

3.5.2 Effet du traitement d'électroréduction

Par des essais (résultats non montrés) où l'intensité du courant était mesurée après chaque incrémentation de voltage, il a été déterminé que le potentiel auquel l'électrolyse de l'eau a lieu dans le lait crû est de $-1,55$ V. En conséquence, une marge de sécurité a été prise et un potentiel de $-1,4$ V a été appliqué pour l'électroréduction du lait. Toutefois, il aurait été possible d'appliquer un voltage légèrement supérieur. Néanmoins, le traitement est

relativement efficace puisqu'une diminution du potentiel redox à -280 mV après 60 minutes de traitement est observée. La mesure du potentiel redox du lait n'est pas aisée puisque le milieu est complexe. Par conséquent, plusieurs systèmes se superposent et il faut plusieurs minutes pour que l'équilibre avec l'électrode redox soit atteint. Les lectures réalisées en cours de traitement sont donc des mesures de potentiel redox apparent mais sont tout de même les meilleures lectures disponibles étant donné les contraintes techniques.

Le traitement d'électroréduction n'a pas modifié la concentration des minéraux totaux du lait crû. Ce résultat indique que le traitement est sans effet sur la balance minérale et que les minéraux ne migrent pas, sous l'influence du courant électrique, à travers la membrane. Cette observation est renforcée du fait que le pouvoir tampon des laits n'est pas non plus modifié par le traitement d'électroréduction.

On remarque cependant que la concentration en calcium, phosphore et magnésium solubles dans les surnageants d'ultracentrifugation des laits électroréduits est inférieure à celle des laits témoin et dégazé. La raison avancée, puisque les concentrations en minéraux totaux ne sont pas différentes, est que les minéraux du lait électroréduit se répartissent différemment entre le culot et le surnageant que dans les autres laits, et ce à la faveur du culot. Les modifications du pH au voisinage de la cathode ou le transfert de protons en provenance du comportement anodique pendant le traitement d'électroréduction peuvent modifier l'équilibre minéral du lait. Malheureusement, les analyses réalisées sur les échantillons de lait ne permettent pas de confirmer ces hypothèses.

L'hypothèse selon laquelle l'électroréduction, en créant un milieu réducteur, prévient l'oxydation des thiols et par le fait même la formation subséquente du complexe β -LG- κ -CN à la chaleur est infirmée. Dans les conditions utilisées, aucun effet du traitement d'électroréduction n'a été observé sur la concentration en thiols totaux. La concentration de β -LG dans le surnageant d'ultracentrifugation après chauffage du lait n'a pas été influencée par le traitement d'électroréduction. Ces résultats suggèrent l'absence d'effet du traitement d'électroréduction sur la formation de complexes entre la β -LG et la κ -CN.

L'absence d'effet du traitement d'électroréduction peut être attribuable à différentes raisons. Tout d'abord, les travaux n'ont été réalisés qu'à une seule condition d'électroréduction. Les conditions optimales pourraient être déterminées par d'autres travaux de nature plus fondamentale sur le processus d'électroréduction du lait. Et malgré un environnement réducteur, il n'existe aucune certitude que les réactions chimiques vont être influencées. Ensuite, les substances réduites en cours de traitement ne sont pas identifiées et il se peut que le système soit facilement, et rapidement réversible. De plus, le rôle de l'oxygène dissous dans le potentiel redox du lait n'est pas encore défini mais il appert qu'il est très important et que de très petites quantités puissent influencer grandement le potentiel redox mesuré. Or, il y a eu, d'une part, un délai d'une journée entre l'électroréduction et le traitement thermique et, d'autre part, les contenants d'entreposage peuvent présenter un espace de tête important qui favorise la solubilisation de l'oxygène atmosphérique. Des essais dans différents contenants avec différents espaces de tête ont révélé qu'après 24 heures d'entreposage, une partie de l'effet du traitement d'électroréduction sur le potentiel redox est perdu. Lorsque les bouteilles présentant divers espaces de tête étaient remplies sous jet d'azote, de 48 à 83 % de l'effet du traitement sur le potentiel redox était perdu, résultant en un potentiel redox positif, après une journée d'entreposage. La plus faible perte de l'effet du traitement d'électroréduction, 15 %, a été enregistrée lorsque des contenants de verres étaient remplis à ras bord et fermés dans une hotte anaérobie dont l'atmosphère dépourvue d'oxygène était principalement constituée d'azote. Ces essais ont révélé l'importance de minimiser l'espace de tête et d'appliquer le traitement thermique le plus tôt possible après l'électroréduction.

Bien que l'électroréduction n'ait montré aucun effet sur la formation de complexes entre la β -LG et la κ -CN, l'aptitude du lait à la coagulation par la présure semble en partie modulée par le traitement. Le temps de prise des gels de lait électroréduit est inférieur à celui des gels de lait dégazé ou témoin, alors que l'indice de fermeté est supérieur. Ces propriétés se révèlent intéressantes pour l'industrie fromagère car une diminution du temps de prise peut se traduire par une diminution des coûts de fabrication. De plus, un caillé plus ferme est généralement associé à une meilleure rétention des protéines et des lipides, conduisant à une augmentation du rendement fromager. Bien que le traitement d'électroréduction ne réduise pas la quantité de β -LG fixée à la micelle après le traitement thermique, il semble

qu'il réduise l'interférence causée par la protéine sérique dénaturée au processus d'agrégation des micelles emprésurées. Un changement de conformation des complexes à la surface de la micelle ou en suspension dans la phase aqueuse du lait pourrait expliquer le phénomène. Cependant, des travaux supplémentaires seraient nécessaires pour préciser cette hypothèse.

3.5.3 Mesures correctives apportées

Pour la suite des travaux, suite aux constats réalisés dans cette partie, des mesures correctives devront être apportées. Tout d'abord, il y a lieu de pousser davantage le traitement d'électroréduction en augmentant le voltage appliqué pour obtenir des valeurs de potentiel redox finales encore plus basses. Ensuite, il apparaît très important d'effectuer les traitements thermiques le plus tôt possible après l'électroréduction pour éviter la dissolution de gaz atmosphérique et la remontée du potentiel redox. Dans un contexte industriel, un montage où la plateforme d'électroréduction en continu alimenterait directement le pasteurisateur est facilement envisageable. De plus, lors des essais en laboratoire, une importance particulière devra être accordée au choix des contenants pour minimiser l'espace de tête. Finalement, le remplacement de l'azote par un autre gaz inerte devrait être envisagée. L'argon semble une solution de rechange intéressante puisqu'il présente l'avantage d'avoir une densité supérieure à l'air. Ce sont donc les principaux points qui devront être présents à l'esprit lors de la réalisation des travaux subséquents.

3.6 Conclusion

Le traitement électrolytique appliqué au lait a permis d'abaisser le potentiel redox à -280 mV en une heure et a modulé l'aptitude du lait à la coagulation par la présure. Le temps de prise des gels de lait électroréduit est inférieur à celui des gels de lait dégazé ou témoin, alors que l'indice de fermeté est supérieur. Ces propriétés se révèlent intéressantes pour l'industrie fromagère car une diminution du temps de prise peut se traduire par une diminution des coûts de fabrication. De plus, un caillé plus ferme est généralement associé à une meilleure rétention des protéines et des lipides, conduisant à une augmentation du rendement fromager. Les travaux présentés au chapitre suivant permettront de le déterminer par la simulation d'une production fromagère. Bien que le traitement d'électroréduction ne

réduise pas la quantité de β -LG fixée à la micelle après le traitement thermique, il semble qu'il réduise l'interférence causée par la protéine sérique dénaturée au processus d'agrégation des micelles emprésurées. Des études supplémentaires, qui débordent du cadre de ces travaux, seraient nécessaires pour vérifier cette hypothèse.

Ce chapitre s'inscrit dans la poursuite des travaux du chapitre précédent. Puisque des effets du traitement d'électroréduction sur les cinétiques de coagulation par la présure ont été observés au chapitre 3, l'étape suivante était de voir comment ces effets pouvaient se traduire lors d'une fabrication fromagère. Nous avons donc simulé une production fromagère dans le but de déterminer les bilans fromagers. De plus, pour améliorer l'efficacité du traitement d'électroréduction, le potentiel appliqué lors du traitement a été augmenté. Ces travaux complètent l'étude de l'effet du traitement d'électroréduction sur les modifications encourues par le lait lors d'un traitement thermique à basse température.

Chapitre 4 Aptitude à la transformation fromagère des laits traités à 75 °C

4.1 Résumé

Le lait auquel un traitement thermique est appliqué subit des modifications qui limitent son aptitude à la transformation et tout particulièrement à la fabrication fromagère. Les travaux réalisés au chapitre précédent ont montré un effet du traitement d'électroréduction sur l'aptitude à la coagulation par la présure du lait, suggérant une possible augmentation du rendement fromager. Le but de ce projet était de le vérifier par la production d'une fabrication fromagère simulée à partir des laits témoin, dégazé et électroréduit chauffés à 75 °C pendant 5 minutes. Des effets associés au traitement d'électroréduction lors de la fabrication fromagère simulée ont été observés. Le lait électroréduit chauffé est celui dont le taux d'humidité et la rétention protéique ont le moins augmenté par rapport au lait témoin non chauffé. Ces résultats suggèrent une réduction de fixation de la β -lactoglobuline pendant le chauffage du lait électroréduit, corroborée par la concentration en thiols plus élevée dans le surnageant de lait électroréduit que les laits témoin et dégazé chauffés. Cependant, un plus faible concentration en protéine dans le lait électroréduit semble responsable de son comportement fromager et particulièrement du plus faible rendement observé après chauffage. Néanmoins, l'effet observé sur les thiols est conforme à l'hypothèse de travail selon laquelle l'application d'un traitement d'électroréduction au lait prévient la formation du complexe β -LG- κ -CN lors d'un traitement thermique modéré.

4.2 Introduction

Les traitements thermiques appliqués au lait altèrent ses propriétés coagulantes, ce qui rend le lait chauffé impropre à la fabrication fromagère (Vasbinder *et al.*, 2003). Les études démontrent qu'une augmentation de la température de chauffage se traduit par l'augmentation du temps de prise et la formation du complexe β -LG- κ -CN serait responsable de la baisse de sensibilité à la chymosine (Morgan *et al.*, 2000; Lucey, 1995; Singh *et al.*, 1988). Les travaux réalisés au chapitre précédent ont montré un effet du traitement d'électroréduction sur l'aptitude à la coagulation par la présure du lait, suggérant une possible augmentation du rendement fromager. Le but du présent projet, qui s'inscrit

dans la poursuite du chapitre précédent, est de mesurer l'interaction entre la caséine- κ et la β -lactoglobuline dans les laits chauffés et de déterminer les bilans fromagers. La production d'une fabrication fromagère simulée à partir des laits témoin, dégazé et électroréduit chauffés à 75 °C pendant 5 minutes permettra d'atteindre ce but.

4.3 Matériel et méthode

4.4 Plan expérimental

Le dispositif expérimental, qui a été répété trois fois, comporte quatre traitements. Ce sont d'une part le lait témoin non-chauffé et d'autre part les laits témoin, dégazé et électroréduit chauffés à 75 °C pendant 5 minutes.

4.5 Préparation des échantillons

4.5.1 Réception et écrémage

Le lait crû de mélange utilisé lors du projet provenait de chez Parmalat (St-Hyacinthe, QC). Suite à sa réception, le lait était écrémé par centrifugation (Sorvall RC-5B, rotor SLA-3000, 25 min, 4 °C, 2700 \times g). De l'azoture de sodium était ajouté au taux de 0,02 % comme agent de conservation. Le pH du lait était ajusté à 6,75 avec HCl ou NaOH. La composition du lait en gras, protéine, lactose, solides non gras et solides totaux était mesurée par interféromètre à infrarouge à transformée de Fourier (MilkoScan FT120, Foss North America, Eden Prairie, USA). Le lait crû écrémé était conservé à 4 °C jusqu'à utilisation.

4.5.2 Dégazage

Le lait dégazé était obtenu par agitation sous vide de 250 ml de lait dans une fiole d'une capacité de 500 ml pendant 60 minutes.

4.5.3 Électroréduction

L'électroréduction a été conduite telle qu'à la section 3.3.2.3 avec les modifications suivantes. Le volume de lait était de 290 ml. La normalité de l'acide sulfurique était de 0,30 N. La différence de potentiel appliquée était de -1,51 V. Les électrodes étaient

conditionnées par frottement léger avec une solution saturée d'acide oxalique entre chaque utilisation. Le pH était rajusté à 6,75 après traitement avec du HCl 1 N sous jet d'argon et le volume ajouté complété à 5 ml avec de l'eau déionisée. Un volume de 5 ml d'eau déionisée était ajouté aux laits témoin et dégazé pour conserver la même concentration protéique.

4.6 Traitement thermique

Les laits témoin, dégazé et électroréduit ont été soumis à un traitement thermique à 75 °C pour une période 5 min dans un bain thermostaté. Pour ce faire, des aliquotes de 10 ml de lait étaient prélevés et mis en tubes de verre (8 mm diamètre intérieur x 150 mm longueur) à bouchons vissés. Les tubes de lait dégazé et électroréduit étaient fermés sous jet d'argon. Les tubes étaient disposés aléatoirement dans un support à éprouvette plongé dans le bain maintenu à 75 °C et rempli pour obtenir un niveau d'eau tout juste sous le bouchon. Le temps écoulé, le support était plongé immédiatement dans un bain d'eau glacée. Par la suite, les échantillons étaient recombinaés et 150 ml de chaque lait mis de côté pour la fabrication des minis-fromages. Le pH des laits restants était ajusté à 6,55 avec du HCl 1 N et le volume ajouté complété à 0,15 ml avec de l'eau déionisée.

4.7 Analyses physico-chimiques

4.7.1 Potentiel redox et oxygène dissous

Un pH-mètre en mode de lecture mV (pH-Meter 140, Corning, USA) avec une électrode combinée au fil de platine (6.0402.100, Metrohm, USA) était utilisé pour mesurer le potentiel redox. L'électrode à potentiel redox était calibrée avant utilisation dans une solution standard à +250 mV à 20 °C (6.2306.020, Metrohm, USA) avec une tolérance de ± 5 mV.

L'oxygène dissous était mesuré avec un moniteur et une électrode Orion (Orion 850A plus, électrode 083005D, Thermo Electron Corporation, USA). L'électrode à oxygène dissous était calibrée quotidiennement dans une solution de bisulfite de sodium 6 % pour obtenir une lecture inférieure à 1 ppm en moins de 60 secondes.

4.7.2 Hydratation des micelles

L'hydratation des micelles a été déterminée tel que présenté à la section 3.3.5.3 sur les culots d'ultracentrifugation. Cependant, la concentration protéique a été déterminée par combustion de Dumas (modèle FP-428, LECO Corporation, MI, USA). Un standard de protéine de riz (%N=1,36, Iso-Mass Scientific Inc.) était utilisé pour la calibration de l'appareil.

4.7.3 Teneur protéique du surnageant

La concentration en protéines dans le surnageant prélevé suite à l'ultracentrifugation de la section précédente a été déterminée tel que présenté à la section 3.3.5.4 avec la modification suivante. Les échantillons étaient dilués 1 : 15 dans le tampon dissociant.

4.7.4 Détermination du profil protéique du surnageant

La détermination du profil des protéines du surnageant a été effectuée de la façon présentée à la section 3.3.5.5.

4.7.5 Concentration en thiols

Les thiols totaux dans le surnageant après ultracentrifugation étaient mesurés de la façon présentée à la section 3.3.5.6.

4.7.6 Teneur en minéraux

La teneur minérale totale (Ca, Na, P) des échantillons de laits témoin, dégazé et électroréduit non-chauffé a été déterminée. La teneur en minéraux solubles (Ca, Na, P) dans le surnageant d'ultracentrifugation de lait crû et des laits chauffés a également été déterminée. La détermination des minéraux a été effectuée telle que présentée à la section 3.3.5.7.

4.8 Propriétés technologiques

4.8.1 Cinétiques de coagulation par la présure

La cinétique de coagulation du lait témoin cru ainsi que de laits témoin, dégazé et électroréduit chauffés pendant 5 min était déterminée tel qu'à la section 3.3.6.1 avec les modifications suivantes. Un volume de 5 µl de présure diluée était ajouté à 45 µl d'échantillon de lait au fond des puits. De plus, les cinétiques de coagulation pour tous les laits ont été réalisées avec et sans ajout de chlorure de calcium. L'enrichissement des laits en CaCl₂ avait lieu à un taux de 0,0125 %.

4.8.2 Production fromagère simulée en laboratoire

La première étape de fabrication était l'ajustement du lait écrémé à un ratio lipides/protéines de 0,85 avec de la crème (Parmalat, St-Hyacinthe, Québec). La composition du lait et de la crème étaient déterminées par interféromètre à infrarouge à transformée de Fourier (MilkoScan FT120, Foss North America, Eden Prairie, USA). Par la suite, du chlorure de calcium en solution (CaCl₂ 35 %) était ajouté à un taux de 0,0125 %. L'acidification du lait à pH à 6,2 avec de l'acide lactique 20 % était effectuée à 33,7 °C. L'emprésurage avait lieu à un taux de 0,0055 % (Maxiren, Seclin, France), après quoi une masse de 144 gr de lait était transférée dans des bassins en acier inoxydable de 12 x 12 cm recouverts d'un enduit à cuisson anti-adhésif (PAM, ConAgra Foods, Omaha, Ne, USA). Après une incubation de 30 min à 33,7 °C, le caillé était coupé en grains de 1 cm³. La cuisson débutait par 15 min à 33,7 °C sous agitation douce (50 rpm, Microprocessor Shaker Bath, Lab-line Instruments, Melrose Park, IL, USA) et se poursuivait par une montée en température jusqu'à 40,5 °C en 30 min sous agitation modérée (90 rpm). L'égouttage par inversion du bassin avait lieu à 38 °C pendant 60 minutes pour recueillir le sérum par gravité après quoi le caillé était centrifugé (Beckman model J2-21, rotor JS-7.5, 30 min, 32 °C, 10 000 × g) pour simuler le pressage. Le lactosérum recueilli après centrifugation était mélangé au sérum d'égouttage.

Le bilan de masse a été enregistré et des analyses de composition ont été effectuées sur les laits de départ et sur les lactosérums pour calculer la composition du caillé, les coefficients de rétention protéique et lipidique, ainsi que le rendement.

De plus, les protéines totales du sérum ont été déterminées par Kjeldahl selon la méthode officielle IDF 020-1:2001/ISO 8968-1. Finalement, les lipides du sérum ont été dosés par Mojonner selon la méthode officielle 001D:1996 conjointe IDF/ISO/AOAC.

La composition des caillés a été tirée des formules suivantes :

Solides totaux

$$\text{Solides totaux} = \left(\frac{(\text{poids de lait} \times \text{solides du lait}) - (\text{poids de sérum} \times \text{solides du sérum})}{\text{poids de caillé}} \right) \quad (1)$$

Protéines totales

$$\text{Protéines totales} = \left(\frac{(\text{poids de lait} \times \text{protéines du lait}) - (\text{poids de sérum} \times \text{protéines du sérum})}{\text{poids de caillé}} \right) \quad (2)$$

Lipides totaux

$$\text{Lipides totaux} = \left(\frac{(\text{poids de lait} \times \text{lipides du lait}) - (\text{poids de sérum} \times \text{lipides du sérum})}{\text{poids de caillé}} \right) \quad (3)$$

Les coefficients de rétention protéique et lipidique ont été tirés des formules suivantes :

Rétention protéique

$$\text{Rétention protéique} = \left(\frac{\text{poids de caillé} \times \text{protéines du caillé}}{\text{poids de lait} \times \text{protéines du lait}} \right) \quad (4)$$

Rétention lipidique

$$\text{Rétention lipidique} = \left(\frac{\text{poids de caillé} \times \text{lipides du caillé}}{\text{poids de lait} \times \text{lipides du lait}} \right) \quad (5)$$

Les rendements ont été tirés des formules suivantes :

Rendement actuel

(6)

$$\text{Rendement actuel (R)} = 100 \times \left(\frac{\text{poids de caillé}}{\text{poids de lait}} \right)$$

Rendement corrigé pour 50 % d'humidité et 6,9 % de solides solubles

(7)

Rendement corrigé (RC) = R x

$$\left(\frac{100 - \text{humidité du caillé} - \text{solides totaux du sérum}}{100 - \text{humidité de référence du caillé} - \text{solides totaux de référence du sérum}} \right)$$

4.9 Résultats

4.9.1.1 Analyses physico-chimiques

4.9.1.1.1 Potentiel redox et oxygène dissous

Les traitements de dégazage et d'électroréduction influencent grandement le potentiel redox et la concentration en oxygène dissous des laits, tout comme le traitement thermique. Alors que le lait témoin affiche le potentiel redox le plus élevé à 168 ± 56 mV, le potentiel redox du lait dégazé est légèrement plus faible d'environ 5 % pour se situer à 159 ± 5 mV. Le traitement d'électroréduction abaisse quant à lui le potentiel redox de façon très marquée puisqu'il diminue jusqu'à des valeurs négatives pour s'établir à -429 ± 48 mV. En ce qui a trait à la concentration en oxygène dissous, elle s'établit à $8,6 \pm 0,1$ ppm pour le lait témoin. Cette concentration diminue d'environ 66 % après traitement de dégazage et de 94 % après traitement d'électroréduction pour atteindre $2,9 \pm 0,4$ et $0,5 \pm 0,3$ ppm respectivement.

L'influence du traitement thermique sur les laits est différente selon le traitement préalablement appliqué. Des diminutions de 54 % du potentiel redox et de 6 % de la concentration en oxygène dissous sont observées pour le lait témoin chauffé dont les valeurs finales s'établissent à 76 ± 52 mV et $8,1 \pm 0,1$ ppm. Pour ce qui est du lait dégazé chauffé, c'est une diminution de 56 % du potentiel redox qui est observée alors que la concentration en oxygène dissous remonte de 52 %. Les valeurs finales obtenues pour ce lait sont respectivement de 69 ± 56 mV et $4,5 \pm 0,8$ ppm. L'effet du chauffage appliqué au lait électroréduit est différent. Le potentiel redox remonte de 79 % à -91 ± 46 mV et la concentration en oxygène dissous remonte à près de dix fois sa valeur avant traitement thermique, soit $5,1 \pm 0,6$ ppm, équivalente à celle du lait dégazé après traitement thermique.

4.9.1.1.2 Hydratation des micelles

Les données relatives à l'hydratation des micelles de caséine du lait témoin non chauffé et des laits témoin, dégazé et électroréduit chauffés sont présentées au Tableau 4.1. L'hydratation de micelles est différente selon le traitement appliqué ($p=0,0007$). Le degré d'hydratation du lait électroréduit chauffé s'établit à 2,126 g eau/g protéine, plus faible que

celui du dégazé chauffé ($p=0,0005$) et du lait témoin chauffé ($p=0,0003$) qui s'établissent respectivement à 2,228 et 2,240 g eau/g protéine.

Tableau 4.1 Effet du traitement sur l'hydratation (g eau/g prot.) des micelles de caséine.

		Hydratation (g eau/g prot.)
Non-chauffé	Témoin	2,238
	Témoin	2,240
Chauffé	Dégazé	2,228
	Électroréduit	2,146
Erreur-type		0,022

4.9.1.1.3 Détermination de la teneur et du profil protéique du surnageant

La concentration et la composition en protéines du surnageant d'ultracentrifugation du lait témoin non chauffé et des laits témoin, dégazé et électroréduit chauffés est présentée au Tableau 4.2. Un effet du traitement appliqué sur la concentration protéique du surnageant est observé ($p=0,0001$). À cet égard, le surnageant de lait électroréduit possède la plus faible concentration protéique. Elle se situe à 1,02 %, soit 0,05 % de moins que celle des laits témoin et dégazé chauffés ($p=0,0012$). Or, ces deux laits affichent eux aussi une concentration protéique du surnageant inférieure de 0,05 % à celle du lait témoin non-chauffé ($p=0,0019$). En ce qui a trait au profil protéique, le traitement appliqué au lait n'a eu d'effet que sur la proportion de β -lactoglobuline ($p=0,0317$) entre le lait témoin non chauffé (71,35 %) et l'ensemble de laits chauffés (70,88 %). La proportion d' α -lactalbumine s'établit en moyenne à 21,88 % pour l'ensemble des laits.

Tableau 4.2 Effet du traitement sur la concentration protéique (%) et la composition du surnageant (%).

		Concentration protéique (%)	Composition protéique (%)	
			β -LG	α -LA
Non-chauffé	Témoin	1,12	71,35	21,54
Chauffé	Témoin	1,07	71,14	21,88
	Dégazé	1,07	70,78	22,05
	Électroréduit	1,02	70,73	21,92
Erreur-type		0,02	0,15	0,11

4.9.1.1.4 Concentration en thiols

La concentration en thiols du surnageant d'ultracentrifugation du lait témoin non chauffé et des laits témoin, dégazé et électroréduit chauffés est présentée au Tableau 4.3 et diffère selon le traitement appliqué au lait ($p=0,0009$). La concentration en thiols du lait témoin non chauffé est supérieure de 4,5 % à celle du même lait chauffé ($p=0,0003$) pour s'établir à 15,78 $\mu\text{mol/g}$ prot. À cet égard, le lait électroréduit chauffé présente une augmentation de la concentration en thiols par rapport au lait témoin chauffé. En effet, la concentration en thiols du lait électroréduit chauffé, qui s'établit à 15,63 $\mu\text{mol/g}$ prot., est supérieure de 3,57 % ($p=0,0074$) à celle du lait dégazé chauffé (15,21 $\mu\text{mol/g}$ prot.). De plus, ce lait affiche une concentration en thiols déjà supérieure de 3,70 % à celle du lait témoin chauffé ($p=0,0014$).

Tableau 4.3 Effet du traitement sur la concentration en thiols totaux ($\mu\text{M/g}$ prot.) des surnageants.

		Thiols ($\mu\text{M/g}$ prot.)
Non-chauffé	Témoin	15,78
Chauffé	Témoin	15,07
	Dégazé	15,21
	Électroréduit	15,63
Erreur-type		0,17

4.9.1.1.5 Teneur en minéraux

La teneur en minéraux totaux (Ca, Na, P) des laits témoin, dégazé et électroréduit non chauffés est présentée au Tableau 4.4 et le traitement n'a eu un effet que sur le phosphore ($p=0,047$). La concentration en phosphore du lait électroréduit s'établit à 792,89 ppm, ce qui est inférieur de 40 ppm à celle du lait dégazé ($p=0,0020$) et inférieur de 31 ppm à celle du lait témoin ($p=0,0066$). Les concentrations moyennes de calcium et de sodium, non influencées par le traitement, sont respectivement de $1208,29 \pm 12,41$ et $464,47 \pm 24,53$ ppm. Les concentrations obtenues pour les trois minéraux sont en accord avec les valeurs de la littérature présentées à la section 1.1.1.4.

Tableau 4.4 Teneur en minéraux totaux (ppm) des laits témoin, dégazé et électroréduit non chauffés.

	Minéraux totaux (ppm)		
	Ca	Na	P
Témoin	1195,83	449,53	824,28
Dégazé	1208,41	450,98	832,95
Électroréduit	1220,64	492,90	792,89
Erreur-type	7,16	14,22	12,17

La teneur en minéraux solubles (Ca, Na, P) des surnageants de lait témoin non chauffé et des laits témoin, dégazé et électroréduit chauffés est présentée au Tableau 4.5. Le traitement n'a eu aucun effet sur la concentration en sodium soluble, qui s'élève en moyenne à $459,76 \pm 24,70$ ppm, mais a eu un effet sur les concentrations en calcium ($p<0,0001$) et en phosphore ($p<0,0001$) solubles. La concentration en calcium soluble du surnageant de lait témoin s'établit à 435,18 ppm et diminue de 4,1 % après chauffage ($p=0,0003$). La diminution par rapport au lait témoin non chauffé est encore plus marquée les laits dégazés et électroréduits chauffés. En effet, le lait électroréduit chauffé possède une concentration en calcium soluble plus faible de 1,9 % par rapport au lait témoin chauffé ($p=0,0284$) pour s'établir à 409,61 ppm mais qui est similaire à celle du lait dégazé chauffé de 408,51 ppm. La concentration en phosphore soluble du lait témoin est de 556,39 et 547,77 ppm avant et après chauffage respectivement. À ce chapitre, le lait électroréduit chauffé se distingue par sa faible concentration en phosphore soluble, qui s'établit à

493,55 ppm alors que le lait dégazé possède une concentration supérieure de 10,5 % ($p < 0,0001$) et le lait témoin chauffé, de 11,0 % ($p < 0,0001$).

Tableau 4.5 Effet du traitement sur la teneur en minéraux solubles (ppm) des surnageants.

		Minéraux solubles (ppm)		
		Ca	Na	P
Non-chauffé	Témoin	435,18	448,09	556,39
	Témoin	417,38	446,38	547,77
Chauffé	Dégazé	408,51	447,78	545,47
	Électroréduit	409,61	496,79	493,55
Erreur-type		6,16	12,35	14,28

4.9.2 Propriétés technologiques

4.9.2.1 Composition des laits

La composition du lait de départ s'établit comme suit : 0,08 % de gras, 3,53 % de protéines et 4,78 % de lactose. Cependant, suite aux conditions d'électroréduction utilisées, le lait ainsi traité présente une perte de protéine de 0,15 % pour s'établir à 3,37 %. Cet écart est suffisant pour induire des différences dans les propriétés technologiques des laits électroréduits lorsqu'elles sont comparées à celles de laits témoin et dégazé plus riches en protéines.

4.9.2.2 Cinétiques de coagulation par la présure

Les résultats obtenus pour les cinétiques de coagulation par la présure, réalisées avec et sans ajout de calcium, sont présentés au Tableau 4.6.

Les traitements appliqués au lait ont eu un effet ($p=0,0027$) sur le temps de prise (T_{lag}), mais pas l'ajout de chlorure de calcium ($p=0,4705$). Le chauffage du lait témoin augmente le temps de prise des gels de 29,84 %, passant de $5,42 \pm 0,04$ à $7,0 \pm 0,30 \text{ min}^{-1}$ ($p=0,0009$). Toutefois, le temps de prise des gels de lait électroréduit chauffé n'est pas différent de celui des laits témoin ($p=0,3332$) et dégazé ($p=0,3859$) chauffés.

Seul le traitement a eu un effet ($p=0,0376$) sur l'indice de fermeté finale (DO_{∞}) mais il n'y a pas de différences entre le lait témoin cru et chauffé ($p=0,5108$). C'est le lait électroréduit

chauffé qui possède un indice de fermeté de 6,93 % inférieure à celle du lait témoin chauffé et 7,27 % inférieure à celle du lait dégazé chauffé. Par ailleurs, l'indice de fermeté finale n'est pas influencé ($p=0,3607$) par l'ajout de chlorure de calcium.

La vitesse maximale de coagulation (V_{max}) a été influencée à la fois par le traitement appliqué au lait ($p=0,0315$) et plus encore par l'ajout de chlorure de calcium ($p=0,0004$). Tout d'abord, c'est le traitement thermique du lait témoin ($p=0,0101$) qui est responsable des différences observées entre les traitements, la vitesse maximale de coagulation ralentissant de 23,39 % lors du chauffage du lait témoin. L'ajout de chlorure de calcium permet d'augmenter la vitesse maximale de coagulation de l'ensemble des laits de 26,65 %.

Tableau 4.6 Effet du traitement sur les paramètres de cinétiques de coagulation par la présure des laits avec et sans ajout de calcium.

			DO _∞	Vmax (min ⁻¹)	Tlag (min)
Avec Ca	Non-chauffé	Témoin	3,035	0,352	5,452
		Chauffé	2,979	0,261	6,864
	Chauffé	Dégazé	3,025	0,3	6,562
		Électroréduit	2,819	0,263	6,858
Sans Ca	Non-chauffé	Témoin	3,02	0,253	5,403
		Chauffé	2,961	0,202	7,23
	Chauffé	Dégazé	2,937	0,209	7,449
		Électroréduit	2,709	0,199	6,463
Erreur-type			0,041	0,019	0,267

4.9.2.3 Production fromagère simulée en laboratoire

4.9.2.3.1 Composition du caillé

La composition en humidité, protéines et lipides des caillés de lait témoin non chauffé et des laits témoin, dégazé et électroréduit chauffés sont présentés au Tableau 4.7. Un effet du traitement appliqué est observé pour le taux humidité ($p=0,0001$) et la concentration en lipides ($p=0,0006$) mais pas pour la concentration en protéines ($p=0,0772$). Cette dernière s'établit en moyenne à $25,74 \pm 0,34$ % pour tous les caillés. Le chauffage du lait témoin a causé une augmentation de l'humidité des caillés ($p<0,0001$), qui passe de 43,68 à 46,77 %. Le lait électroréduit chauffé est celui dont le taux d'humidité a le moins augmenté et

s'établit à 45,90 %. Il est différent du lait dégazé chauffé ($p=0,0486$) qui affiche 46,82 %, mais pas du lait témoin chauffé ($p=0,0601$). En ce qui concerne la concentration en lipides, le chauffage du lait témoin a causé une baisse en valeur absolue de 2,37 % par rapport au lait témoin non chauffé qui affiche 25,90 % ($p=0,0002$). La concentration en lipides est cependant similaire pour tous les laits chauffés, avec une moyenne de $23,78 \pm 0,23$ %.

Tableau 4.7 Effet du traitement sur la composition des caillés

		Humidité (%)	Protéines (%)	Lipides (%)
Non-chauffé	Témoin	43,68	26,42	25,90
	Témoin	46,77	25,78	23,53
Chauffé	Dégazé	46,82	25,64	23,83
	Électroréduit	45,90	25,93	23,98
Erreur-type		0,735	0,170	0,538

4.9.2.3.2 Rétention protéique et lipidique

Les résultats de rétention protéique et lipidique des caillés de lait témoin non chauffé et de laits témoin, dégazé et électroréduit chauffés sont présentés au Tableau 4.8. Le traitement a un effet sur la rétention protéique ($p=0,0003$) et sur la rétention lipidique ($p=0,0218$). Le chauffage du lait témoin a pour conséquence d'augmenter la rétention protéique, qui passe de 76,11 à 77,63 % ($p=0,0001$). Cependant, c'est le lait électroréduit chauffé qui montre la plus faible augmentation de rétention protéique à 76,80 %, alors qu'elle est de 77,63 % pour les laits témoin et dégazé chauffés ($p=0,0055$). Au niveau de la rétention lipidique, l'analyse de contraste ne révèle aucun effet statistiquement significatif. En effet, le chauffage du lait témoin n'a pas d'effet ($p=0,0519$) et le lait électroréduit chauffé n'est pas différent du lait dégazé ($p=0,0518$) et du lait témoin chauffé ($p=0,1040$). Toutefois, la tendance suggère une diminution de la rétention lipidique de plus de 4,5 % lorsque le chauffage est appliqué au lait témoin. La rétention lipidique du lait électroréduit chauffé, semble encore inférieure, avec un écart de 8,4 % avec le lait témoin non chauffé.

Tableau 4.8 Effet du traitement sur la rétention protéique (%) et lipidique (%) des caillés formés.

		Rétention protéique (%)	Rétention lipidique (%)
Non-chauffé	Témoin	76,11	92,87
Chauffé	Témoin	77,63	88,21
	Dégazé	77,63	89,13
	Électroréduit	76,80	84,46
Erreur-type		0,37	1,73

4.9.2.3.3 Rendements actuel et corrigé

Les rendements fromagers du lait témoin non chauffé et des laits témoin, dégazé et électroréduit chauffés sont présentés au Tableau 4.9. Le traitement appliqué au lait a un effet à la fois sur le rendements actuel ($p=0,0003$) et corrigé ($p=0,0023$). Tout d'abord, le chauffage du lait témoin augmente le rendement actuel ($p=0,0035$), qui passe de 9,83 à 10,27 %. Le rendement actuel du lait électroréduit, à 9,68 %, est inférieur non seulement à celui du le lait dégazé chauffé ($p=0,0003$) qui est le plus élevé de tous à 10,36 % mais aussi au lait témoin chauffé ($p=0,0007$). Le rendement corrigé, par ailleurs, n'est pas affecté par le chauffage du lait témoin ($p=0,0761$). Il est de 11,29 et 11,04 % avant et après chauffage. Toutefois, le rendement corrigé du lait électroréduit chauffé suit le même patron que le rendement actuel puisqu'il est plus faible, à 10,59 %, que celui du lait dégazé chauffé ($p=0,0023$) et que celui du lait témoin chauffé ($p=0,0056$). Ces derniers affichent des rendements corrigés respectifs de 11,12 et 11,29 %.

Tableau 4.9 Effet du traitement sur le rendement actuel (%) et corrigé (%) des caillés formés.

		Rendement actuel (%)	Rendement corrigé (%)
Non-chauffé	Témoin	9,83	11,29
Chauffé	Témoin	10,27	11,04
	Dégazé	10,36	11,12
	Électroréduit	9,68	10,59
Erreur-type		0,17	0,15

4.10 Discussion

Dans cette étude, l'anolyte utilisé pour l'électroréduction du lait était l'acide sulfurique 0,3 N. La concentration de l'acide est trois fois supérieure à celle utilisée au chapitre précédent. En conséquence, le flux de protons traversant la membrane a entraîné un colmatage significatif, causé par la précipitation des protéines. Le lait électroréduit exhibait une concentration protéique inférieure de 0,15 % à celle du lait témoin. Cette différence est suffisante pour masquer les effets possibles du traitement d'électroréduction sur les variables à l'étude.

4.10.1 Effet du chauffage

L'application d'un traitement thermique entraîne la diminution du potentiel redox des laits témoins et dégazés mais l'effet est contraire sur le lait électroréduit. L'exposition des groupements thiols lors du chauffage pourrait possiblement être responsable de la chute de potentiel redox observée dans les laits témoin et dégazé. Dans le cas du lait électroréduit, il semble qu'encore ici le délai entre le traitement d'électroréduction et le chauffage ainsi que l'espace de tête des tubes ou encore que l'incorporation d'oxygène lors des manipulations aient joué un rôle capital dans la remontée du potentiel redox. Le chauffage des laits a réduit les différences de potentiel redox entre les trois laits l'écart devenant inférieur à 180 mV entre le lait électroréduit et les deux autres laits chauffés.

La concentration en oxygène dissous, très peu influencée par le chauffage dans le lait témoin, subit une augmentation dans les cas des laits dégazés et électroréduits. En plus du facteur qu'est l'espace de tête, ce résultat met en lumière le manque d'étanchéité possible des tubes aux gaz.

Le degré d'hydratation des micelles de lait chauffé, sauf pour ce qui est du témoin, est inférieur à celui des micelles non chauffées puisque la chaleur accroît l'entropie des molécules d'eau libre et une augmentation de l'intensité des interactions de nature hydrophobe entre les protéines.

La concentration protéique des surnageants de lait chauffé est inférieure à celle du lait non chauffé puisque le traitement thermique entraîne la dénaturation des protéines sériques dont une partie se fixe la micelle, comme en témoigne la diminution de la concentration en β -LG et des thiols libres des laits chauffés. Le colmatage prononcé de la membrane lors de l'électroréduction a fait diminuer la concentration protéique du lait, ce qui limite l'interprétation des données pour le lait électroréduit.

Lors du chauffage, le phosphate de calcium précipite et les acides phosphoriques se dissocient pour rétablir l'équilibre, ce qui explique la diminution des concentrations de minéraux dans les surnageants après le chauffage des laits.

Le traitement thermique appliqué au lait témoin a des conséquences négatives sur la coagulation par la présure par l'augmentation du temps de prise des gels ainsi que la diminution de la vitesse maximale de coagulation, phénomènes largement rapportés par la littérature (Singh *et al.*, 1988; Dalglish, 1990; Vasbinder *et al.*, 2003). La formation du complexe β -LG- κ -CN a longtemps été tenue responsable de la baisse de sensibilité à la chymosine, d'où le temps de prise allongé. Cependant, β -lactoglobuline non complexée, qui se présente sous forme d'agrégats dans le sérum, interfère dans les processus d'agrégation et de formation du réseau et serait responsable de la formation de gels plus faibles (Lucey *et al.*, 1993; McMahon *et al.*, 1993; Waungana *et al.*, 1996; Lucey, 1995; Dalglish, 1990). L'enrichissement en calcium des laits avant l'emprésurage n'a eu d'effet que sur un seul des trois paramètres où le traitement thermique a eu un effet, à savoir la vitesse maximale de coagulation. La présence de calcium supplémentaire a un effet bénéfique sur la coagulation par la présure puisque la vitesse maximale de coagulation augmente. Le calcium est essentiel à l'agrégation des micelles en réduisant la charge de la micelle (Roupas, 2001) et l'ajout de chlorure de calcium au lait est une pratique courante en fromagerie.

Le traitement de chaleur a influencé la seconde propriété technologique mesurée, à savoir la production fromagère simulée en laboratoire. Le chauffage entraîne une augmentation de l'humidité des caillés puisque les protéines sériques dénaturées retiennent davantage d'eau. En principe, ce gain d'humidité doit entraîner une diminution de la teneur en protéine et en

lipide. On remarque cependant que la teneur en protéine reste constante, en raison des protéines sériques dénaturées, qui restent emprisonnées dans la matrice du caillé. Cet effet est confirmé par les calculs de rétention protéique. La tendance suggère une diminution de la rétention lipidique, attribuable à un caillé fragilisé par le traitement thermique. En conséquence, le ratio protéine/lipide des caillés passe de 1,02 à 1,08 lorsque le lait est chauffé.

4.10.2 Effet du traitement d'électroréduction

Le potentiel redox du lait électroréduit s'établissait à -429 mV, ce qui semble démontrer une plus grande efficacité du traitement conduit à -1,55 V comparativement à celui effectué à -1,4 V au chapitre 3. La diminution de la concentration en oxygène dissous observée est aussi plus grande, la concentration finale, de 0,5 ppm, étant le tiers ce qui avait été mesuré au chapitre précédent.

La relation entre le potentiel redox et la concentration en oxygène dissous reste nébuleuse. En effet, le lait dégazé affiche une concentration en oxygène de 2,09 ppm mais un potentiel redox positif inférieur de seulement 5 % à celui du lait témoin. Les hypothèses avancées sont que la diminution de la concentration en oxygène dans le lait n'entraîne une diminution de potentiel redox que lorsque sa valeur est inférieure à un certain seuil, de l'ordre du ppm ou encore que l'absence d'oxygène contribue peu au potentiel redox mais que toute ré-incorporation favorise l'oxydation des composés du lait et donc la remontée du potentiel redox. Ce sont des recherches de nature fondamentale, qui dépassent le cadre de ces travaux, qui permettront possiblement de répondre à cette question.

Le degré d'hydratation plus faible pour les micelles de lait électroréduit chauffé par rapport aux autres laits chauffés pourrait être associé à une plus faible quantité de β -LG fixée à la micelle.

Une première indication de l'effet protecteur de l'électroréduction sur les thiols est observée. Le lait électroréduit chauffé présente une concentration en thiols plus élevée que les laits témoin et dégazé chauffés. Le milieu réducteur du lait a ainsi pu prévenir l'oxydation des thiols en ponts disulfures.

Il a été mentionné que le lait électroréduit comporte moins de protéines suite à un colmatage de membrane important. Puisque la concentration en phosphate soluble est plus élevée à proximité de la membrane à cause du flux de protons en provenance de l'anolyte, du phosphate, sous la forme d'acide phosphorique, peut avoir été emprisonné dans la matrice protéique qui compose la couche de colmatage. Pour sa part, le calcium soluble ne se distingue pas entre le lait électroréduit et le lait dégazé.

Curieusement, le traitement d'électroréduction n'a pas eu d'effet sur le temps de prise. Ce résultat doit toutefois être mis en perspective : le lait électroréduit était moins riche en protéines. Or, le résultat attendu aurait été une augmentation du temps de prise, phénomène qui ne s'est pas produit. Puisque la concentration en thiols totaux du lait électroréduit est supérieure à celle des autres laits, il est permis de supposer que l'électroréduction a prévenu la formation de complexes β -LG- κ -CN lors du chauffage du lait, permettant de compenser au moins en partie pour la concentration protéique inférieure. D'autre part, les gels de lait électroréduit sont moins fermes, caractéristique qui s'est traduite par des densités optiques plus faibles à la fois à la vitesse maximale de coagulation et à l'infini. Ce résultat était attendu du fait de la concentration protéique inférieure et ne permet pas de conclure sur l'efficacité du traitement d'électroréduction vis-à-vis ces paramètres.

La seconde propriété technologique mesurée, soit la fabrication fromagère simulée, montre des effets associés au traitement d'électroréduction. Le lait électroréduit chauffé est celui dont le taux d'humidité et la rétention protéique ont le moins augmenté par rapport au lait témoin non chauffé. Ces résultats pourraient suggérer une réduction de fixation de la β -lactoglobuline pendant le chauffage du lait électroréduit. Toutefois, comme le traitement a entraîné une perte en protéine par colmatage, la plus faible concentration en protéines au départ pourrait aussi expliquer les effets observés. Le ratio protéine/lipide du caillé de lait électroréduit chauffé (1,08) est similaire à ceux des laits témoin chauffé (1,09) et dégazé chauffé (1,07). Il semble donc que la réduction en protéine du lait soit responsable du comportement fromager du lait électroréduit. Cette différence de composition est également responsable du plus faible rendement fromager observé avec le lait électroréduit chauffé.

4.11 Conclusion

Ce projet a permis de montrer des effets associés au traitement d'électroréduction lors de la fabrication fromagère simulée. Le lait électroréduit chauffé est celui dont le taux d'humidité et la rétention protéique ont le moins augmenté par rapport au lait témoin non chauffé. Ces résultats pourraient suggérer une réduction de fixation de la β -lactoglobuline pendant le chauffage du lait électroréduit, corroborée par la concentration en thiols plus élevée dans le lait électroréduit que les laits témoin et dégazé chauffés. La perte de protéines du lait électroréduit, suite au colmatage de la membrane, semble responsable du comportement fromager du lait électroréduit et particulièrement du plus faible rendement fromager observé avec le lait électroréduit chauffé. Des contraintes externes n'ayant pu permettre la reprise des expérimentations, les travaux réalisés ne permettent pas de conclure sur la possible augmentation des bilans fromagers du lait électroréduit suggérée par les travaux du chapitre précédent. Néanmoins, l'effet observé sur les thiols est conforme à l'hypothèse de travail selon laquelle l'application d'un traitement d'électroréduction au lait prévient la formation du complexe β -LG- κ -CN lors d'un traitement thermique modéré. Ces travaux mettent un terme à l'étude du comportement du lait traité à 75 °C.

Les deux chapitres précédents portaient sur l'étude de l'effet du traitement d'électroréduction sur les modifications encourues par le lait lors d'un traitement thermique à basse température. Nous avons ensuite vérifié l'effet du traitement d'électroréduction sur le lait traité à haute température, près des températures de stérilisation, travaux qui font l'objet du présent chapitre. Dans un premier temps, le temps de coagulation à la chaleur du lait a été déterminé grâce à un appareillage fait maison. Par la suite, l'effet du traitement d'électroréduction sur les modifications encourues par le lait a été déterminé, notamment la sensibilité au brunissement non-enzymatique, la dégradation de la lysine, la dégradation du lactose et la formation d'acides organiques et l'interaction entre la caséine- κ et la β -lactoglobuline. Ces travaux, jumelés à ceux réalisés à basse température, donnent un aperçu des modifications encourues par le lait lors d'un traitement thermique et ouvrent la voie à de nouvelles recherches.

Chapitre 5 Comportement du lait traité à 140 °C

5.1 Résumé

La capacité du lait à résister à de hautes températures est une propriété technologique importante. L'augmentation de la stabilité thermique du lait est désirable dans plusieurs applications alimentaires dans le but d'assurer la vie de tablette des laits stérilisés en évitant la gélification à l'entreposage (Singh, 2004). Le but de cette étude était de déterminer la stabilité thermique du lait traité à 140 °C. La cinétique de coagulation à la chaleur (140 °C) en fonction du pH (6,5 à 7,1) a été établie pour les laits témoin, dégazé et électroréduit. L'application d'un traitement d'électroréduction au lait a permis d'augmenter jusqu'à 5 fois la stabilité thermique à des valeurs de pH supérieures à 6,90. Par la suite, les analyses réalisées sur les laits témoin, dégazé et électroréduit, à pH 6,70 ou 7,05 et chauffés à 140 °C pour une durée de 5 ou 10 minutes ont révélé une concentration en thiols 2,3 fois plus élevée dans le lait électroréduit que dans le lait témoin après 5 minutes de chauffage. Puisque le dégazage du lait permet d'obtenir des résultats similaires à l'électroréduction, l'application d'un traitement électrolytique apparaît comme une façon simple d'abaisser la concentration en oxygène dissous du lait avant l'application d'un traitement de chaleur.

5.2 Introduction

Les traitements thermiques sévères entraînent de nombreuses modifications au lait, affectant les micelles de caséine et la phase sérique. Ils entraînent des défauts de couleur, de saveur et de qualité nutritionnelle des produits laitiers. L'aptitude du lait à supporter ces hautes températures est donc une caractéristique technologique importante, tout comme l'aptitude à la fabrication fromagère (Robitaille, 1995) étudiée au chapitre précédent. L'augmentation de la stabilité thermique du lait est désirable dans plusieurs applications alimentaires dans le but d'assurer la vie de tablette des laits stérilisés en évitant la gélification à l'entreposage (Singh, 2004). Ce travail vise donc à déterminer la stabilité thermique du lait électroréduit chauffé à 140 °C en déterminant tout d'abord le temps de coagulation à la chaleur selon le pH. Ensuite, l'interaction entre la caséine- κ et la β -lactoglobuline, l'étendue de la dégradation du lactose, le brunissement non-enzymatique

induit par la chaleur et la dégradation de la lysine, un acide aminé essentiel, seront quantifiés.

5.3 Matériel et méthode

Deux dispositifs expérimentaux ont été mis en œuvre. Dans un premier temps, l'influence des traitements et du pH sur le temps de coagulation à 140°C a été mesuré. Ensuite, les modifications chimiques induites par le traitement à haute température ont été étudiées.

5.3.1 Temps de coagulation à la chaleur

5.3.1.1 Plan expérimental

Le protocole expérimental impliquait la mesure du temps de coagulation à la chaleur de trois laits (témoin, dégazé et électroréduit) ajustés à 6 niveaux de pH compris entre 6,5 et 7,1. L'ordre dans lequel les laits étaient testés était aléatoire et le protocole a été réalisé deux fois.

5.3.1.2 Préparation des échantillons

5.3.1.2.1 Réception et écrémage

Le lait crû de mélange utilisé lors du projet provenait de chez Parmalat (St-Hyacinthe, QC). Suite à sa réception, le lait était écrémé par centrifugation (Sorvall RC-5B, rotor SLA-3000, 25 min, 4 °C, 2700 × g). De l'azoture de sodium était ajouté au taux de 0,02 % comme agent de conservation. Le pH était ajusté à 6,7 avec du HCl ou du NaOH. La composition du lait en gras, protéine, lactose, solides non gras et solides totaux était mesurée par interféromètre à infrarouge à transformée de Fourier (MilkoScan FT120, Foss North America, Eden Prairie, USA). Le lait crû écrémé était conservé dans des bouteilles de polyéthylène à 4 °C jusqu'à son utilisation.

5.3.1.2.2 Dégazage

Le lait dégazé était obtenu par agitation sous vide de 250 ml de lait dans un erlenmeyer d'une capacité de 500 ml pendant 30 minutes.

5.3.1.2.3 Électroréduction

L'électroréduction a été conduite tel qu'indiqué à la section 4.5.3 avec les modifications suivantes. Le volume de lait était de 250 ml. La normalité de l'acide sulfurique était de 0,15 N alors que la différence de potentiel appliquée était de $-1,51$ V. Les électrodes étaient conditionnées par frottement léger avec une solution saturée d'acide oxalique entre chaque utilisation.

5.3.1.3 Mise en tubes

Le pH était ajusté à 7 niveaux équidistants de 6,5 à 7,1 par ajout d'un volume déterminé de HCl ou NaOH 1 N en incréments de 35 μ l aux aliquots de 20 ml de lait dans des tubes à centrifuger coniques d'une capacité de 50 ml. Dans le cas des laits dégazé et électroréduit, les tubes étaient fermés sous jet d'argon pendant 60 sec. Pour vérifier la qualité de l'ajustement du pH, celui de chacun des tubes était mesuré entre les deux mises à l'huile.

Puisque la mesure du temps de coagulation à la chaleur implique l'immersion de tubes de verre dans un bain d'huile à 140 °C, des tubes de verre (8 mm diamètre intérieur x 2 mm épaisseur x 150 mm longueur) avec bouchons vissés, spécialement conçus pour résister à la chaleur et à la pression, ont été utilisés. Un volume de 5 ml de lait était transféré dans ces tubes, fermés sous jet d'argon pendant 30 secondes pour les laits dégazé et électroréduit. Les tubes remplis étaient conservés à 4 °C pour une période minimale de 30 min avant utilisation.

5.3.1.4 Temps de coagulation à la chaleur

5.3.1.4.1 Appareillage

Les mesures du temps de coagulation à la chaleur étaient réalisées dans un bain d'huile à température contrôlée selon une version modifiée de la méthode de Davies et White (1966). Une tête chauffante avec serpentín était installée à l'extrémité du bain et permettait la circulation de l'huile. La température de l'huile était maintenue à 140 °C. Les tubes contenant les échantillons de lait aux différents pH étaient fixés aléatoirement sur un support métallique. Le support était immergé et déposé sur une plate-forme, reliée à un moteur, qui se balançait à l'horizontale à un taux d'environ 30 oscillations/minute. De cette

façon, le lait était en mouvement constant et la chaleur était répartie uniformément. Une fenêtre d'observation en verre trempé était déposée à la surface du bain, permettant d'observer les tubes sans interférence des vagues de surface causées par la circulation de l'huile. La coagulation du lait était observée à travers une lampe-loupe placée directement au-dessus du bain d'huile.

5.3.1.4.2 Mesure

Au moment où le support était plongé dans l'huile, la plate forme était mise en mouvement et le chronomètre démarré. Dès l'apparition d'agrégats dans le lait, le temps écoulé était enregistré. Les mesures étaient effectuées en duplicata.

5.3.2 Traitement thermique à 140 °C

5.3.2.1 Plan expérimental

Les variables à l'étude dans ce plan expérimental sont au nombre de trois. Il y a d'abord le pH initial du lait (6,70 et 7,05), ensuite le traitement appliqué au lait (témoin, dégazé et électroréduit) et finalement la durée du traitement thermique à 140 °C (0, 5 et 10 minutes). Trois répétitions du plan expérimental ont été réalisées.

5.3.2.2 Standardisation

La standardisation du lait était effectuée telle que décrite à la section 5.3.1.2.1.

5.3.2.3 Traitements du substrat

5.3.2.3.1 Dégazage

Le lait dégazé était obtenu de la façon décrite à la section 5.3.1.2.2.

5.3.2.3.2 Électroréduction

L'électroréduction a été effectuée de la façon décrite à la section 5.3.1.2.3.

5.3.2.4 Potentiel redox et oxygène dissous

Les lectures de potentiel redox et d'oxygène dissous des laits avant chauffage ont été réalisées telles que décrites à la section 4.7.1 avec les modifications suivantes. Le potentiel redox d'échantillons individuels de lait était mesuré après 20 minutes sous très faible agitation. L'oxygène dissous était mesuré avec faible agitation lorsque la valeur semblait se stabiliser. Pour les laits sous atmosphère d'argon, les tubes étaient recouverts de parafilm dans lesquels les électrodes étaient insérées.

5.3.2.5 Traitement thermique

Tout d'abord, l'ajustement du pH des laits témoin, électroréduit et dégazé à 6,70 ou 7,05 était effectué sur un volume de 220 ml par ajout d'un volume connu de HCl ou NaOH 1 N. L'espace de tête des erlenmeyers de lait dégazé et électroréduit était purgé à l'argon avant et après l'ajout de l'acide/base. Chaque lait était ensuite réparti en 7 tubes de 10 ml de lait. Les tubes de lait dégazé et électroréduit étaient fermés sous jet d'argon. Les 21 tubes obtenus étaient disposés aléatoirement dans un support à éprouvette en plastique puis recouvert d'un léger treillis métallique pour éviter que les tubes ne se dispersent dans le bain. Le support était plongé à l'horizontale dans le bain pour un période de 5 ou 10 minutes. Le temps écoulé, le support était retiré et les tubes refroidis dans un bain d'eau à température pièce pendant 10 minutes. Le contenu des tubes était recombinaé dans des pots à échantillon en polyéthylène d'une capacité de 100 ml.

5.3.2.6 Analyses physico-chimiques

5.3.2.6.1 Mesure du pH après traitement thermique

Le pH des échantillons de lait chauffés était mesuré après traitement thermique à l'aide d'un pH-mètre Corning (pH-Meter 340, Corning, USA) et d'une électrode combinée (KCl 3 M, 659-700-02, Corning, USA).

5.3.2.6.2 Teneur en minéraux

Les minéraux solubles (Ca, Mg, et P) des surnageants obtenus par ultracentrifugation (section 3.3.5.3) d'échantillons de lait témoin, dégazé et électroréduit soumis à différents temps de chauffage ont été déterminés par spectroscopie de plasma à couplage inductif

(ICP Optima 4300DV, Perkin Elmer, USA et nébuliseur Meinhard type C) après précipitation au TCA 20 % et filtration sur 0,45 µm (Millipore, Billerica, MA, USA). Les échantillons étaient préparés en duplicata.

5.3.2.6.3 Détermination de la couleur

La couleur était déterminée par colorimétrie (Labscan2 SN-13593, Hunter Associate Laboratory, Reston, Va, USA) avec 25 ml de lait tempéré à 22 °C dans une cuvette conçue pour l'appareil. Le diamètre du faisceau lumineux était de 4,45 centimètres et l'illuminant de référence était D65. Le mode de lecture était l'échelle **Lab** de Hunter, où **L** représente la luminosité (noir =0, blanc =100), **a** représente les teintes de rouge (+) à vert (-) et **b** les teintes de jaune (+) à bleu (-). Le **DE** représente la différence de couleur alors que le **DC** représente la saturation des couleurs et sont calculés comme suit :

$$DE = \sqrt{(\Delta a)^2 + (\Delta b)^2 + (\Delta L)^2} \quad (1)$$

$$DC = C_{\text{échantillon}} - C_{\text{standard}} \quad (2)$$

$$C = \sqrt{a^2 + b^2}$$

5.3.2.6.4 Détermination des thiols totaux dans le lait

Les thiols totaux dans le lait étaient mesurés par densité optique après addition du réactif d'Ellman (Beveridge et al., 1974). Un volume de 2 mL d'échantillon était dilué dans 2,95 mL de tampon (8,5 M urée, 0,143 M Tris, 0,03 M EDTA, 0,15 M glycine pH=8,0) puis 50 µl de 5,5'-Dithiobis-(2- acide nitrobenzoïque) (DTNB) était ajouté. Par la suite, 1,00 ± 0,05 g de sulfate d'ammonium était ajouté pour clarification. Après un repos de 5 à 10 minutes, la solution était filtrée sur 0,45 µm (Millipore, Billerica, MA, USA) directement dans les cuvettes visibles jetables et la densité optique à 412 nm était enregistrée (Beckman DU-65, Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA). Les échantillons étaient préparés en duplicata. Une courbe standard construite à partir de L-cystéine a été utilisée pour la détermination du coefficient d'extinction molaire.

5.3.2.6.5 Détermination des sucres et acides organiques

La détermination du lactose, glucose, galactose, acide citrique et acide lactique des laits a été effectuée par HPLC (Modèle DX-500, Dionex, Sunnyvale, Ca, USA, pompe modèle GP40, détecteur UV/Vis AD20, détecteur réfractomètre d'index différentiel Shodex RI-101, injecteur automatique AS40, logiciel PeakNet version 4.5) avec une pré-colonne Cation H (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) et une colonne Ion 300 (Interaction Chromatography, San Jose, CA, USA) maintenue à 42 °C. La détection en UV pour les acides était effectuée à 210 nm et la phase mobile était du H₂SO₄ 0,02 N.

Les échantillons étaient dilués d'un facteur 1,6 dans du H₂SO₄ 0,2 N puis incubés à 85 °C pendant 30 minutes, refroidis dans un bain d'eau glacée et centrifugés (3 000 × g, 15 min, 4 °C, Centra-GP8R, International Equipment Company, MA, USA), avant d'être filtrés sur 0,45 µm (Millipore, Billerica, MA, USA). Une aliquote était prélevée pour effectuer la seconde dilution d'un facteur 16 dans du H₂SO₄ 0,02 N pour l'analyse du lactose. La préparation des échantillons pour l'analyse du lactose était ensuite la même, seule la centrifugation était omise. Les échantillons étaient préparés en duplicata. Des courbes-étalons étaient préparées avec du lactose, glucose, galactose, acide citrique et acide lactique purs.

5.3.2.6.6 Détermination de la lysine disponible

La détermination de la lysine disponible dans le lait était mesurée par fluorescence selon une version adaptée de Morales et coll. (1996). Le lait était dilué 1 : 2 dans une solution de SDS 12 % et réfrigéré pour la nuit. Le lendemain, les échantillons étaient soumis au bain à ultrasons pour 15 minutes à environ 25 °C (Modèle 2200, Branson Ultrasonics Corporation, Dansbury, CT, USA). Ensuite, 100 µl d'échantillon était ajouté à 3 mL de solution d'ortho-phthalaldéhyde (OPA) sous agitation constante et mis à incuber à 25 °C pour 5 minutes. La solution OPA était préparée quotidiennement comme suit. Dans une fiole volumétrique de 100 mL, 0,080 gr d'OPA et 2 mL de méthanol 95 % étaient mélangés jusqu'à dissolution complète. Ensuite, 50 mL de tampon borate de sodium 0,1 M pH=10,0, 5 mL de SDS 20 % et 200 µl de β-mercaptoéthanol étaient ajoutés et le volume complété à la marque avec de l'eau déionisée. Après incubation, l'échantillon était transféré dans une cuvette de quartz et la fluorescence lue immédiatement (Turner Quantech Digital Filter

Fluorometer model FM 109535, Barnstead International, Dubuque, Iowa, USA) en utilisant une longueur d'onde d'excitation de 340 nm et d'émission de 455 nm (NB360 et NB460, Barnstead International, Dubuque, Iowa, USA). Les échantillons étaient préparés en duplicata. Une solution de quinine sulfate 20 µg/mL, préparée quotidiennement, était utilisée pour la calibration de l'appareil. La quantité de lysine disponible était calculée comme suit, en considérant que le lait crû contient 100 % de lysine disponible.

$$\text{Lysine disponible (\%)} = [\text{FRe}/\text{FRc} \times 100] \quad (3)$$

Où

FRe : Fluorescence relative de l'échantillon

FRc : Fluorescence relative du lait crû

5.3.2.6.7 Teneur en protéines solubles

Les échantillons de lait chauffés étaient ultracentrifugés deux heures après le traitement thermique selon les conditions décrites à la section 3.3.5.3. La teneur en protéines du surnageant a été déterminée par combustion de Dumas (modèle FP-428, LECO Corporation, MI, USA). Les échantillons étaient analysés en duplicata. Un standard de protéine de riz (%N=1,36, Iso-Mass Scientific Inc.) était utilisé pour la calibration de l'appareil.

5.3.2.6.8 Composition des protéines solubles

5.3.2.6.8.1 Chromatographie

La détermination des protéines du surnageant d'ultracentrifugation a été effectuée par HPLC en phase inverse (System Gold, Beckman, pompe modèle 126, détecteur modèle 166, échantillonneur modèle 507) avec une colonne Vydac C4 (Chromatography Sciences Company Inc., St-Laurent, QC, Canada) à détection UV à 214 nm en appliquant un gradient linéaire eau/acétonitrile (adapté de Jaubert et Martin, 1992).

Tampons utilisés

- Tampon A : 0,1 % acide trifluoroacétique (TFA) dans de l'eau déionisée;
- Tampon B : 0,096 % TFA dans un mélange acétonitrile 80 %- eau déionisée 20 %.

Condition appliquée

- Gradient d'éluion 40 % à 60 % de tampon B en 38 minutes.

Les échantillons étaient filtrés sur une colonne de désalage (HiTrap Desalting Column, GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA) puis dilués 1 : 10 dans du dithiothréitol (DTT) 100 mM. Après incubation à 37 °C pendant 60 minutes, les échantillons étaient ramenés à pH d'environ 2 avec 10 µl de TFA puis filtrés sur 0,45 µm (Millipore, Billerica, MA, USA). Le volume injecté était de 50 µl et le plateau de chargement était maintenu à 5 °C.

Étant donné les temps d'éluion semblables pour les caséines et les protéines sériques, les chromatogrammes obtenus ont été divisés en trois sections. Les sections sont la zone de κ-caséine, la zone d'α-lactalbumine ainsi que la zone β-lactoglobuline et β-caséine pour des temps d'éluion respectifs de 10 à 16, 20,5 à 25,5 et 27 à 30 minutes. Le pourcentage de protéine a été calculé comme suit :

$$\% \text{ protéine} = \frac{\text{somme des aires de la zone} \times 100}{\text{somme des aires du chromatogramme}} \quad (4)$$

5.3.2.6.8.2 Électrophorèse

Les protéines du surnageant d'ultracentrifugation ont été séparées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide-SDS (SDS-PAGE) sur un système de minis-gels (PhastSystem Separation and Control Unit, PhastGel Homogeneous 20, GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA) et révélation au nitrate d'argent (PhastGel Protein Silver Staining Kit, GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA). Un prélèvement de 1 ml d'échantillon était dilué avec 2,6 ml de tampon A (Tris-HCl pH=6,8 0,242 %, SDS 1,538 %, bleu de bromophénol 0,031 %, glycérol 30,77 %) et placé 5 minutes dans un bain d'eau bouillante. Après refroidissement à température pièce, 0,5 ml de tampon B (dithiothréitol 0,8 % dans tampon A, frais du jour) était ajouté et le tube placé 5 minutes dans un bain d'eau bouillante avant d'être refroidi à température pièce. Un peigne à huit puits délivrait 1 µL d'échantillon sur le gel et l'appareil était mis en marche selon les instructions du fabricant jusqu'à ce le voltage atteigne environ 95 volt-h. Les gels étaient ensuite révélés au nitrate d'argent selon les instructions du fabricant. Les bandes étaient comparées à celles obtenues

avec de l'isolat de protéine sérique Bipro (Davisco Foods International, Eden Prairie, MN, USA), du caséinate de sodium Alanate 180 (NZMP (North America) Inc., Santa Rosa, CA, USA) et de la κ -caséine de lait bovin (Sigma-Aldrich Company, Milwaukee, WI, USA).

5.3.2.7 Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée selon un dispositif expérimental split-factoriel, avec le pH en parcelle secondaire, à l'aide de la procédure GLM du logiciel SAS v 8.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

5.4 Résultats

5.4.1 Temps de coagulation à la chaleur

5.4.1.1 Traitement d'électroréduction

Le potentiel redox apparent du lait s'abaisse de 408 ± 9 mV dès les quatre premières minutes du traitement d'électroréduction pour atteindre 72 % de la diminution totale obtenue. Le taux d'abaissement du potentiel redox est beaucoup moins élevé par la suite et le potentiel redox apparent final est de -379 ± 16 mV, ce qui correspond à une chute totale de 564 ± 23 mV après 60 minutes de traitement. Parallèlement, une diminution de 80 % de la concentration en oxygène dissous du lait est observée alors qu'elle passe de $7,38 \pm 0,60$ ppm à $1,41 \pm 0,03$ ppm après traitement d'électroréduction. La Figure 5.1 illustre les chutes de potentiel redox apparent et d'oxygène dissous dans le lait en cours de traitement d'électroréduction.

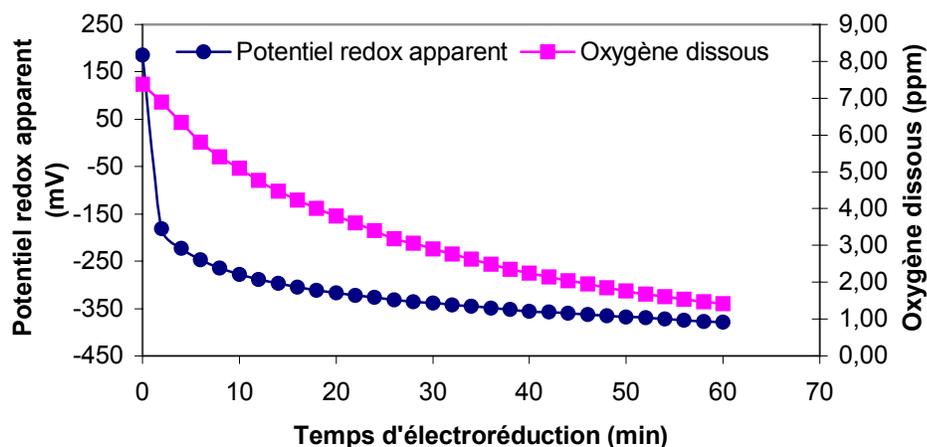


Figure 5.1 Effet de la durée du traitement d'électroréduction (min) sur le potentiel redox apparent (mV) et la concentration en oxygène dissous (ppm) du lait.

5.4.1.2 Temps de coagulation à la chaleur

L'effet du pH sur le temps de coagulation par la chaleur à 140 °C des laits témoin, dégazé et électroréduit est présenté à la Figure 5.2 alors que les données sont en annexe au Tableau B.1. La qualité de l'ajustement du pH est excellente alors que le pH mesuré ne s'éloigne en moyenne du pH cible que de $-0,01 \pm 0,03$ unités. Un profil de coagulation de type A est observé pour tous les laits avec un minimum de stabilité à pH 6,85 et un maximum à pH 6,70. De plus, lorsque le pH est supérieur à 6,90, le temps de coagulation des laits dégazé et électroréduit augmente considérablement jusqu'à atteindre respectivement 6,3 et 5,7 fois la valeur observée à pH 6,80 lorsque le pH est de 7,10. Le lait témoin n'atteint à ce pH que 2,4 fois sa valeur à pH 6,80, alors que les trois laits ont un comportement similaire en dessous de ce pH.

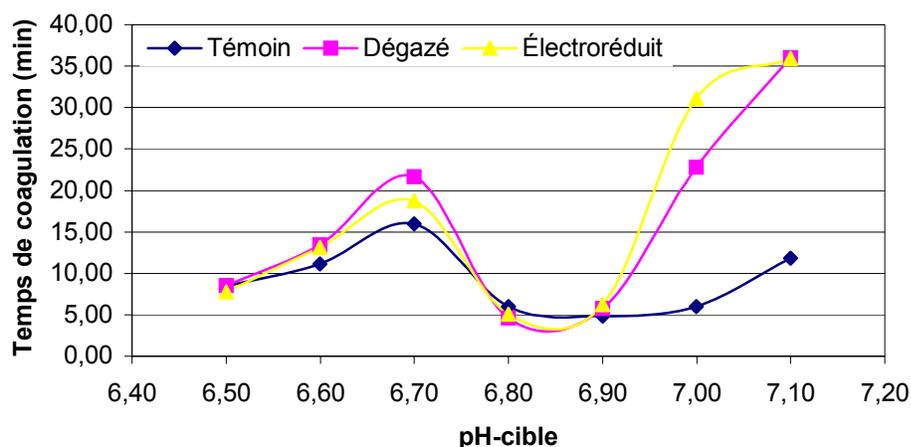


Figure 5.2 Effet du pH (6,5 à 7,1) sur le temps de coagulation (min) à la chaleur (140 °C) des laits témoin, dégazé et électroréduit.

5.4.2 Traitement thermique à haute température

5.4.2.1 Traitement d'électroréduction

Le potentiel redox apparent du lait diminue très rapidement pendant les 6 premières minutes du traitement à -239 ± 18 mV, ce qui représente 81 % de la diminution totale obtenue. La diminution est beaucoup moins marquée pour la suite du traitement. En 60 minutes, le potentiel redox chute de 509 ± 72 mV pour s'établir à -333 ± 33 mV. La concentration en oxygène dissous passe de $7,88 \pm 0,52$ ppm à $1,72 \pm 0,51$ ppm en cours de traitement, soit une baisse de 78 %. La Figure 5.3 illustre les chutes de potentiel redox apparent et d'oxygène dissous dans le lait en cours de traitement d'électroréduction.

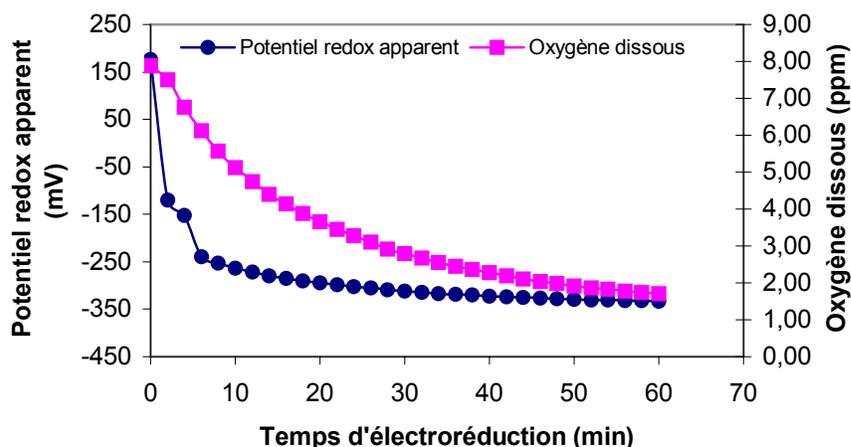


Figure 5.3 Effet de la durée du traitement d'électroréduction (min) sur le potentiel redox apparent (mV) et la concentration en oxygène dissous (ppm) du lait.

5.4.2.2 Potentiel redox et oxygène dissous

Les caractéristiques de potentiel redox et de concentration en oxygène dissous des laits témoin, dégazé et électroréduit à pH initial 6,70 et 7,05 diffèrent lors de l'application du traitement thermique. À pH 6,70, le lait témoin possède un potentiel redox de 94 ± 26 mV qui est similaire à celui du lait dégazé, soit 90 ± 18 mV. Le lait électroréduit possède un potentiel redox bien inférieur qui se situe à -214 ± 23 mV. Les laits dégazé et électroréduit ont une concentration en oxygène dissous comparable, soit de $3,30 \pm 0,17$ et $2,63 \pm 0,42$ ppm alors que le lait témoin affiche $8,00 \pm 0,53$ ppm. Les mêmes observations sont notées à pH 7,05. En effet, le potentiel redox des laits témoin et dégazé est semblable à 41 ± 20 et 30 ± 31 mV respectivement. Le lait électroréduit possède un potentiel redox largement inférieur de -220 ± 31 mV. Pour ce qui est de la concentration en oxygène dissous, elle s'établit à $3,45 \pm 0,35$ et $2,67 \pm 0,50$ ppm pour les laits dégazés et électroréduits, alors qu'elle est de $8,05 \pm 0,74$ ppm pour le lait témoin.

5.4.2.3 pH après traitement thermique

Le pH après traitement thermique à 140 °C des laits témoin, dégazé et électroréduit à pH initial 6,70 ou 7,05 est présenté à la Figure 5.4 alors que les données sont présentées en annexe au Tableau B.2. Le traitement appliqué au lait n'a eu aucune influence sur la diminution du pH en cours de chauffage. Le lait à pH initial 7,05 connaît la plus forte chute avec une pente de $-0,046$ unité de pH par minute de chauffage alors qu'elle n'est que de $-0,031$ unité de pH par minute de chauffage pour le lait à pH initial 6,70.

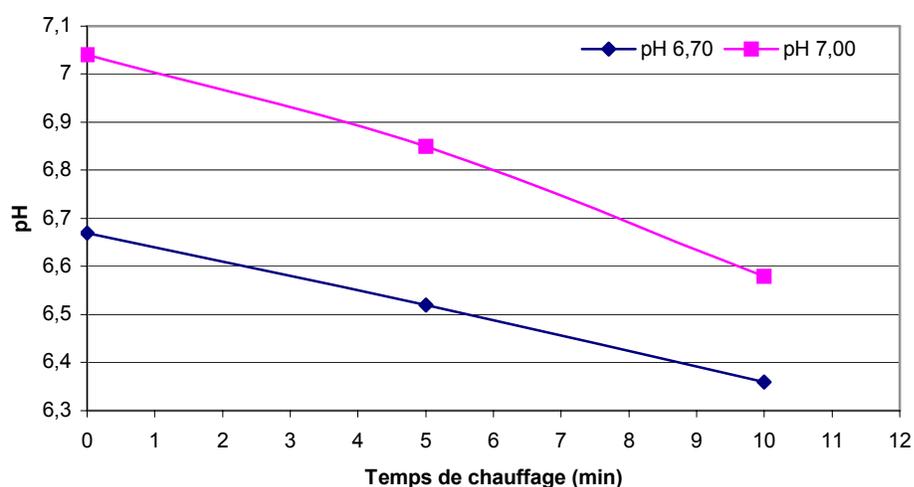


Figure 5.4 Effet du pH initial et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur le pH du lait.

5.4.2.4 Teneur en minéraux

La concentration minérale (Ca, Mg et P) des surnageants d'ultracentrifugation des laits témoin, dégazé et électroréduit est présentée au Tableau B.3 en annexe.

La concentration en calcium soluble est grandement influencée par le pH initial et le temps de chauffage ($p < 0,0001$), tel que présenté à la Figure 5.5. En effet, la concentration en calcium soluble des laits à pH initial 6,70 est 1,2 fois supérieure à celle du lait à pH initial 7,05 avant chauffage. Cet écart entre les laits à pH initial 6,70 et 7,05 diminue à 1,08 et 1,05 fois pour 5 et 10 minutes de chauffage respectivement. De plus, un effet du traitement appliqué au lait est observé sur la concentration en calcium soluble ($p = 0,0451$). En effet, la

concentration en calcium soluble du lait électroréduit est inférieure d'environ 10 ppm à celle du lait témoin ($p=0,0186$) sans être différente de celle du lait dégazé pour le lait à pH initial 6,70. Cette différence n'est pas affectée par le temps de chauffage (interaction non significative).

La concentration en magnésium a été influencée, pour sa part, par le pH initial ($p=0,0013$), le temps de chauffage ($p<0,0001$), tel qu'illustré à la Figure 5.6, et dans une moindre proportion par le traitement ($p=0,0281$) appliqué au lait. Tout d'abord, comme pour le calcium soluble, la concentration en magnésium soluble des laits à pH 6,70 est supérieure à celle des laits à pH initial 7,05. Cet écart est cependant relativement constant à 3 ppm. Ensuite, la concentration en magnésium soluble diminue avec le temps de chauffage. La concentration en magnésium soluble des laits non chauffés s'établit en moyenne à $74,24 \pm 2,41$ ppm, supérieure à celle des laits chauffés pendant 5 minutes ($p<0,0001$) qui affichent en moyenne $63,37 \pm 1,82$ ppm, elle-même supérieure à celle des laits chauffés pendant 10 minutes ($p<0,0001$), dont la moyenne s'établit à $56,86 \pm 1,71$ ppm. Finalement, l'effet du traitement appliqué s'est fait sentir sur le lait électroréduit à pH 6,70 dont la concentration en magnésium soluble, de $49,46 \pm 33,75$ ppm est inférieure à celle des laits dégazés ($p=0,0258$) et des laits témoins ($p=0,0153$) qui affichent respectivement $50,11 \pm 9,37$ et $50,34 \pm 34,32$ ppm.

En dernier lieu, la concentration en phosphore soluble a été influencée par le pH initial et temps de chauffage ($p=0,0015$), tel qu'illustré à la Figure 5.7, ainsi que par le traitement ($p<0,0001$). Tel qu'observé pour les autres minéraux, c'est la concentration en phosphore soluble du lait à pH initial 6,70 qui est la plus élevée et l'écart avec le pH initial 7,00 est presque constant à près de 40 ppm. Le chauffage pendant 10 minutes fait baisser la concentration en phosphore soluble d'environ 10 %. Les différences observées entre les traitements sont attribuables à la concentration en phosphore soluble du lait électroréduit à pH 6,70 très inférieure à celle du lait dégazé ($p<0,0001$) et du lait témoin ($p<0,0001$). Leurs valeurs moyennes respectives sont de $475,50 \pm 28,05$, $489,60 \pm 31,57$ et $491,38 \pm 31,47$ ppm. Cet écart n'était pas affecté par la durée du chauffage (interaction non significative).

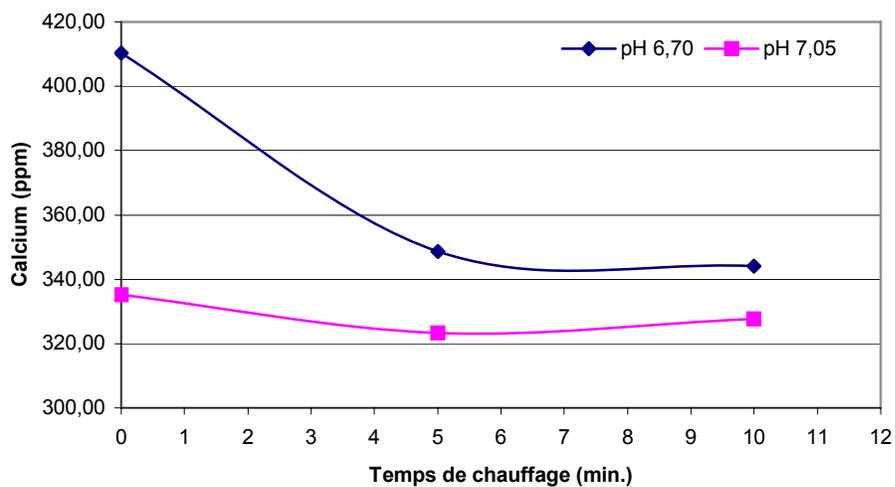


Figure 5.5 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en calcium soluble (ppm) des surnageants d'ultracentrifugation.

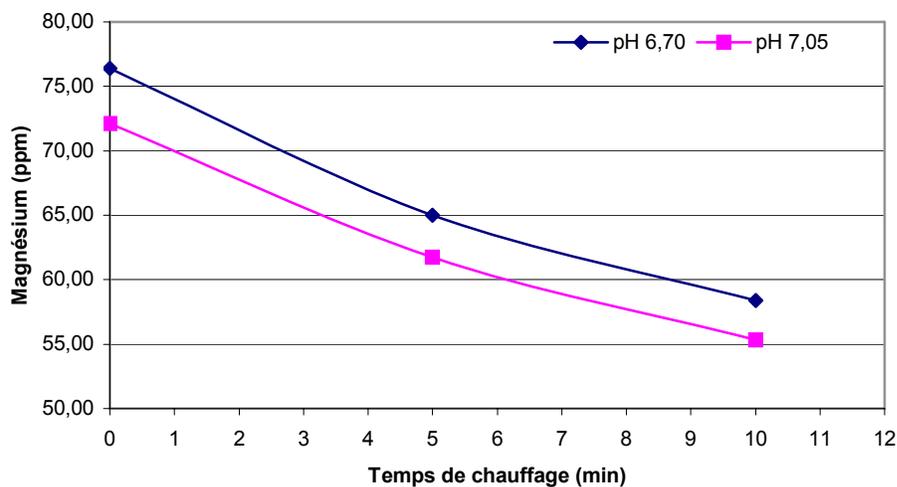


Figure 5.6 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en magnésium soluble (ppm) des surnageants d'ultracentrifugation.

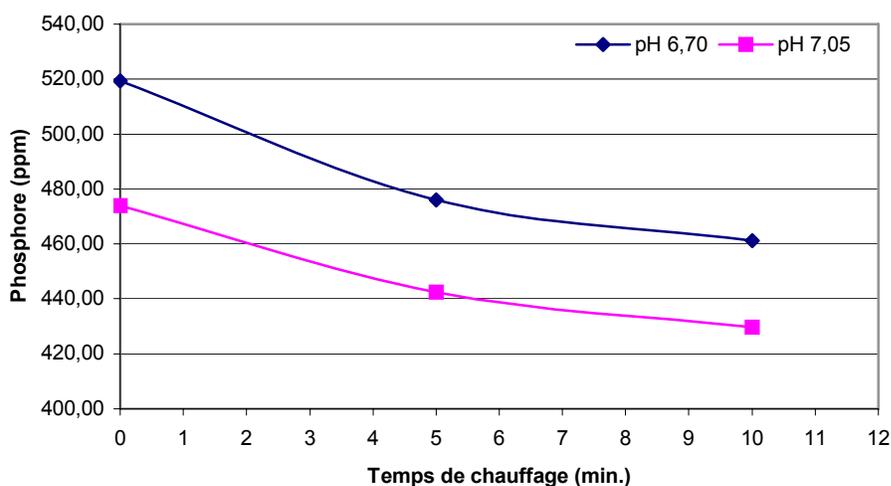


Figure 5.7 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en phosphore soluble (ppm) des surnageants d'ultracentrifugation.

5.4.2.5 Détermination de la couleur

Alors que les valeurs L, a et b sont des paramètres de couleur individuels, les calculs du DE et du DC expriment respectivement la différence de couleur totale et la saturation. Le traitements d'électroréduction et de dégazage appliqué au lait n'ont pas eu d'influence sur les paramètres descriptifs de la couleur; seul l'effet du pH initial combiné au temps de chauffage ($p < 0,0001$) a eu un effet sur ces paramètres. Les résultats sont présentés au Tableau 5.1. Les laits à pH initial élevé (7,05) brunissent davantage au chauffage que ceux à pH 6,70. Après 10 minutes de traitement thermique, la différence de couleur totale du lait à pH 6,70 est de $14,89 \pm 0,46$ alors qu'à pH 7,05 elle est de $22,36 \pm 0,45$, soit 1,5 fois plus élevée. Les résultats détaillés sont présentés en annexe au Tableau B.4.

Tableau 5.1 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur les paramètres de couleur (L, a, b, DE et DC) des laits.

pH	Temps de chauffage (min)	L	a	b	DE	DC
6,70	0	86,23	-4,83	6,68	0,55	0,19
	5	90,94	-3,07	9,33	6,21	1,77
	10	79,89	3,75	17,12	14,89	9,48
7,05	0	85,21	-4,94	6,62	0,18	-0,03
	5	87,87	-2,32	11,53	6,21	3,51
	10	70,42	6,41	18,90	22,37	11,66

5.4.2.6 Détermination de la concentration en thiols totaux

Les concentrations en thiols totaux des laits témoin, dégazé et électroréduit sont présentées au Tableau B.5 en annexe. Alors qu'aucun effet du pH initial ne peut être observé, il existe une interaction entre le traitement appliqué au lait et le temps de chauffage ($p=0,0317$), ce qui est illustré à la Figure 5.8. Tandis qu'avant l'application du traitement thermique, la concentration en thiols totaux est la même pour tous les laits à $4,41 \pm 0,06 \mu\text{M/g prot.}$, une différence marquée est observée après 5 minutes de chauffage. À ce moment, la concentration des laits dégazés et électroréduits en thiols sont similaires, à $1,55 \pm 0,04 \mu\text{M/g prot.}$, et 2,3 fois plus élevée que celle des laits témoins. Après 10 minutes de chauffage, l'écart s'estompe légèrement; les laits dégazés et électroréduits affichent $0,64 \pm 0,10 \mu\text{M thiols/g prot.}$, une concentration plus que deux fois supérieure à celle des laits témoins. L'application d'un traitement thermique de cinq minutes aux laits dégazés et électroréduits dégrade 65,1 % des thiols totaux et la prolongation de 5 minutes supplémentaires entraîne la perte de 58,7 % des thiols totaux qui restaient. La situation est bien différente pour les laits témoins alors que 84,8 % des thiols totaux sont dégradés après 5 minutes de chauffage. De cette quantité, 51,6 % supplémentaires sont perdus lorsque la durée totale du traitement thermique atteint 10 minutes.

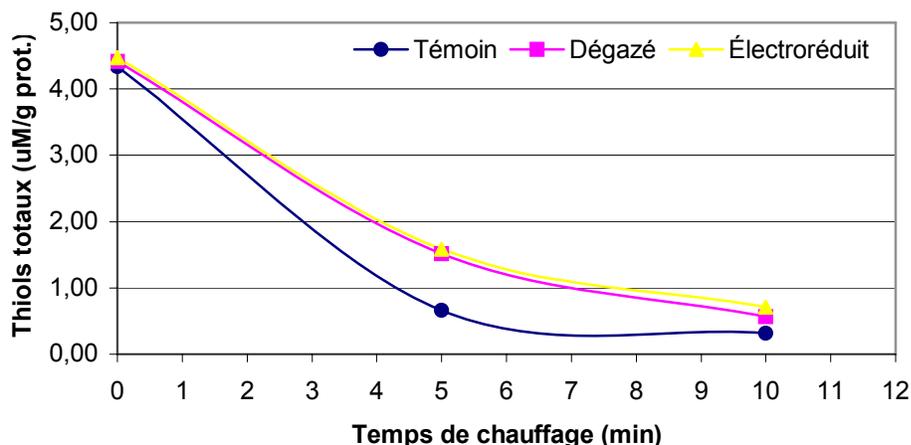


Figure 5.8 Effet du traitement (témoin, dégazé et électroréduit) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en thiols totaux ($\mu\text{M/g prot.}$).

5.4.2.7 Détermination des sucres et acides organiques

La détermination de la concentration en acides organiques (lactique et citrique) et en sucres (lactose et galactose) des laits témoin, dégazé et électroréduit est difficile du fait que les concentrations observées sont près des limites de détection de l'appareil. Néanmoins, les résultats obtenus sont présentés au Tableau B.6 en annexe. L'acide lactique présente une interaction entre le pH initial, le temps de chauffage et le traitement appliqué au lait ($p=0,0120$), ce qui est illustré à la Figure 5.9. De zéro à cinq minutes de chauffage, la concentration en acide lactique varie très peu pour tous les laits. Par la suite, les laits à pH initial 7,05 montrent une plus grande augmentation de la concentration d'acide que ceux à pH 6,70. De plus, à 10 minutes de chauffage et pH 7,05, la concentration des laits témoin et dégazé est similaire alors que celle du lait électroréduit est beaucoup plus faible. Ce phénomène n'est pas observé à pH 6,70 où tous les laits suivent la même tendance, sans égard au traitement.

Les données obtenues pour l'acide citrique montrent un effet du temps de chauffage ($p<0,0001$) mais aucun du pH initial ou du traitement appliqué au lait tel qu'illustré à la Figure 5.10. La concentration initiale moyenne de l'acide citrique est de $0,219 \pm 0,005 \%$; elle augmente à $0,230 \pm 0,004 \%$ dans les laits chauffés pendant 5 minutes ($p=0,0003$). Par

ailleurs, la concentration après 10 minutes de chauffage est supérieure à celle observée après 5 minutes ($p < 0,0001$) et s'établit à $0,252 \pm 0,007$ %.

Du côté des sucres, seul le temps de chauffage a un effet sur la concentration en lactose ($p < 0,0001$). La concentration initiale des laits se situe à $4,57 \pm 0,17$ %, très près de la moyenne de 4,6 % retrouvée dans la littérature (Amiot *et al.*, 2002). La tendance suggère une légère dégradation après 5 minutes de chauffage puisque la concentration passe à $4,50 \pm 0,15$ % mais l'analyse statistique ne permet pas d'établir de différence significative. La Figure 5.11 illustre les résultats obtenus. Toutefois, les laits chauffés pendant 10 minutes présentent une bonne dégradation du lactose lorsque comparés à celles des laits chauffés pendant 5 minutes ($p < 0,0001$). En effet, la concentration en lactose n'est plus que $4,23 \pm 0,12$ %, ce qui représente un écart de 0,34 % par rapport aux laits non-chauffés.

En dernier lieu, un effet combiné du pH initial et du temps de chauffage ($p < 0,0001$) est observé pour le galactose, tel qu'illustré à la Figure 5.12. La concentration initiale en galactose se situe en moyenne à $0,012 \pm 0,002$ % pour tous les laits. Elle n'augmente que très peu après 5 minutes de chauffage pour se situer en moyenne à $0,023 \pm 0,003$ %. L'importance du pH initial se fait sentir après 10 minutes de chauffage. Les laits à pH 6,70 affichent une concentration de $0,071 \pm 0,001$ % alors que la concentration à pH 7,05 est 1,4 fois supérieure et s'établit à $0,099 \pm 0,005$ %.

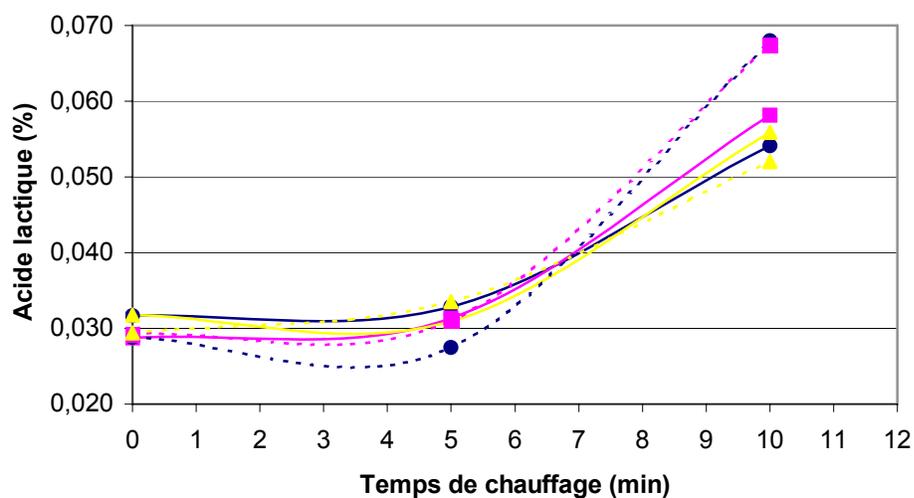


Figure 5.9 Effet du pH (6,70 — et 7,05 -----), du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) et du traitement (témoin (●), dégazé (■) et électroréduit (▲)) sur la concentration en acide lactique (%) des laits.

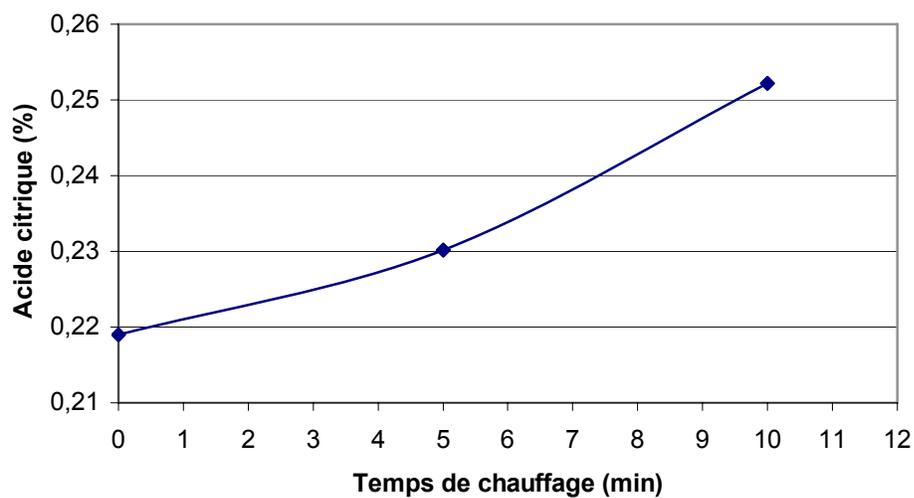


Figure 5.10 Effet du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en acide citrique (%) des laits.

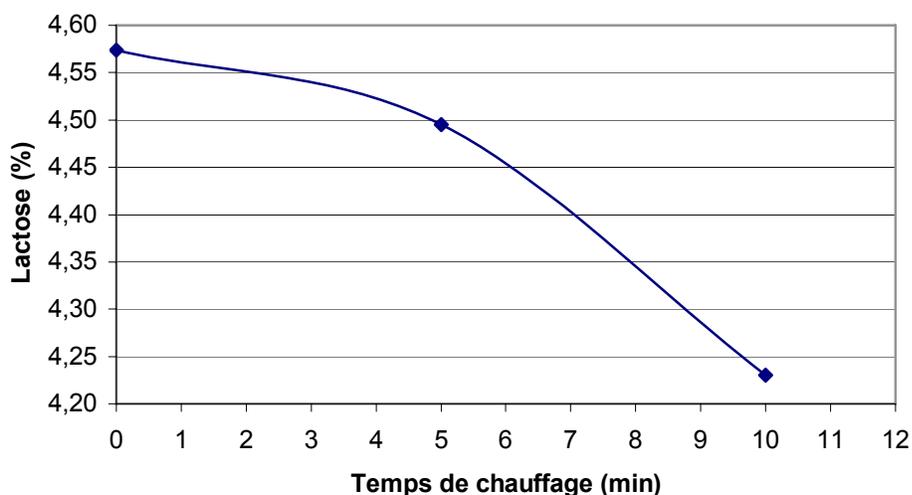


Figure 5.11 Effet du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en lactose (%) des laits.

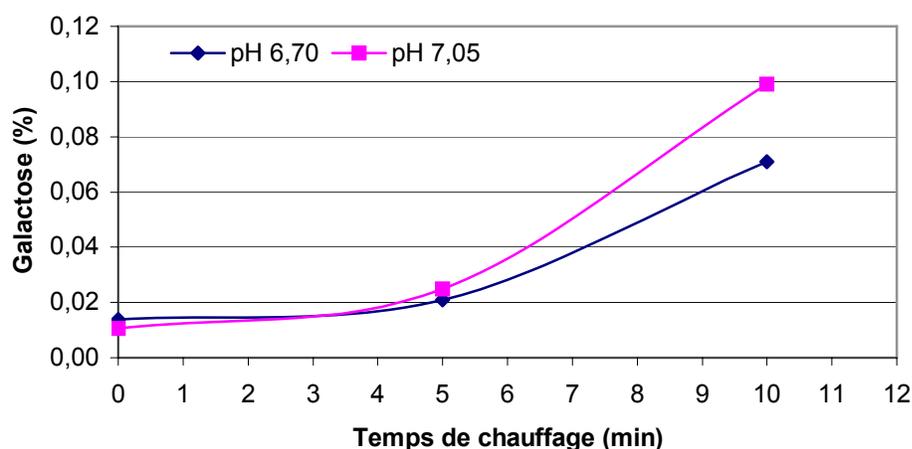


Figure 5.12 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en galactose (%) des laits.

5.4.2.8 Détermination de la lysine disponible

La quantité de lysine disponible est exprimée en concentration relative par rapport au lait témoin . Les données obtenues pour les laits témoin, dégazé et électroréduit en fonction du temps de chauffage sont présentées en annexe au Tableau B.7. Un effet combiné du pH initial et du temps de chauffage ($p=0,0419$), illustré à la Figure 5.13, est observé sur la baisse de la concentration en lysine. Après 5 minutes de chauffage, le lait à pH initial 6,70

affiche la moins grande perte puisqu'il reste $98 \pm 1,8$ % de lysine disponible. Dans le lait à pH initial 7,05, il n'en reste plus que $96 \pm 1,9$ %. L'écart se creuse davantage après 10 minutes de chauffage. À ce moment, $89 \pm 0,7$ % de la lysine est toujours disponible dans le lait à pH initial 6,70 mais il n'en reste plus que $82 \pm 3,8$ % dans le lait à pH initial 7,05. L'application d'un traitement thermique de 5 minutes n'entraîne la perte que de 2 et 4 % de la lysine disponible pour les laits à pH 6,70 et 7,05 respectivement. La prolongation du traitement thermique pour une durée totale de 10 minutes montre un effet bien plus marqué. En effet, lors d'un tel traitement, 11 et 18 % de la lysine disponible est perdue, pour les laits à pH 6,70 et 7,05 respectivement.

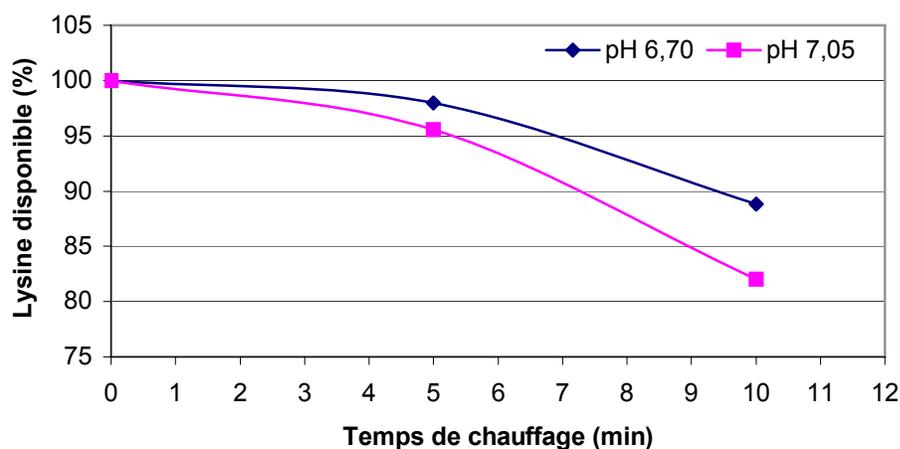


Figure 5.13 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la lysine disponible (%) des laits.

5.4.2.9 Détermination de la concentration et du profil protéique du surnageant

La concentration et la composition en protéines du surnageant d'ultracentrifugation des laits témoin, dégazé et électroréduit à pH initial différent ayant subi un traitement thermique pour différentes durées est présentée au Tableau B.8 en annexe.

Il existe un effet combiné du pH initial et du temps de chauffage ($p < 0,0001$) sur la concentration des surnageants en protéines, tel qu'illustré à la Figure 5.14. Les laits non-chauffés ont une concentration protéique moyenne de $0,87 \pm 0,15$ %. Par la suite, quand un traitement thermique de 5 minutes est appliqué au lait à pH initial 6,70, la concentration en protéines du surnageant diminue à $0,69 \pm 0,03$, alors que celle du lait à pH initial 7,05 augmente à $1,19 \pm 0,04$ %. Lorsque le chauffage est prolongé davantage, la concentration en protéines dans les surnageants atteint un maximum pour chaque pH initial. Elle s'établit à $0,96 \pm 0,03$ et $1,52 \pm 0,01$ % respectivement pour le lait à pH initial 6,70 et 7,05.

On observe aussi un effet du traitement ($p = 0,0260$) sur la concentration en protéine soluble des laits chauffés. En moyenne, elle est supérieure de $0,05 \pm 0,03$ % pour le lait électroréduit chauffé par rapport au lait témoin chauffé ($p = 0,0073$).

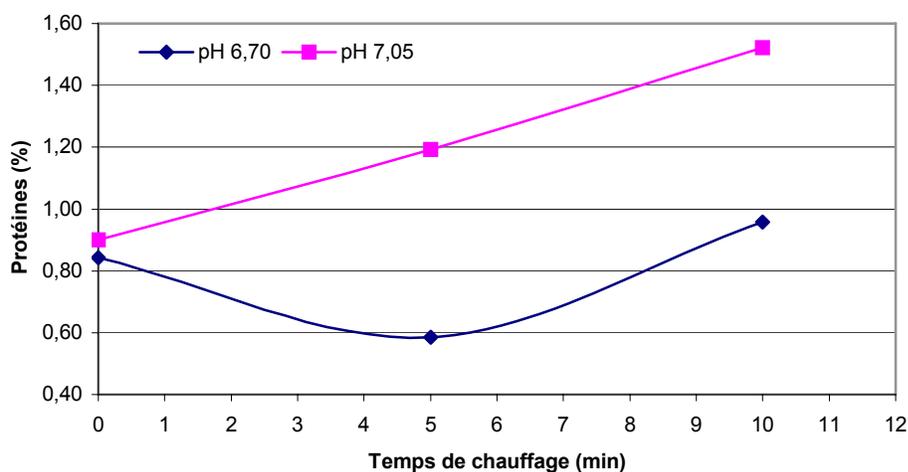


Figure 5.14 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration protéique (%) du surnageant d'ultracentrifugation des laits.

Pour ce qui est de la proportion de κ -caséine soluble dans le surnageant d'ultracentrifugation, une interaction pH initial x temps de chauffage ($p < 0,0001$) est présente. La Figure 5.15 illustre la concentration de κ -caséine soluble, exprimée en fonction de la concentration protéique totale du surnageant. La proportion protéique initiale de la zone de κ -caséine est de 8,76 %. À pH 6,70, elle augmente à $29,92 \pm 2,51$ % après 5 minutes de chauffage puis diminue à $21,82 \pm 1,68$ % après 10 minutes de chauffage. À pH 7,05, elle augmente d'abord à $19,91 \pm 1,37$ %, soit un tiers de moins qu'à pH 6,70, et ne diminue ensuite que très légèrement pour atteindre $19,15 \pm 1,31$ %. En terme de concentration, la κ -caséine soluble représente au départ 0,07 % des protéines présentes dans le surnageant. Cette concentration s'élève pour atteindre, après 5 minutes de chauffage, 0,18 et 0,24 % respectivement pour les pH initiaux de lait de 6,70 et 7,05. L'écart en faveur du lait à pH initial 7,05 se creuse encore davantage après 10 minutes de chauffage. La concentration de la κ -caséine soluble atteint alors 0,21 et 0,29 % de la protéine totale du surnageant, pour les pH initiaux de lait de 6,70 et 7,05.

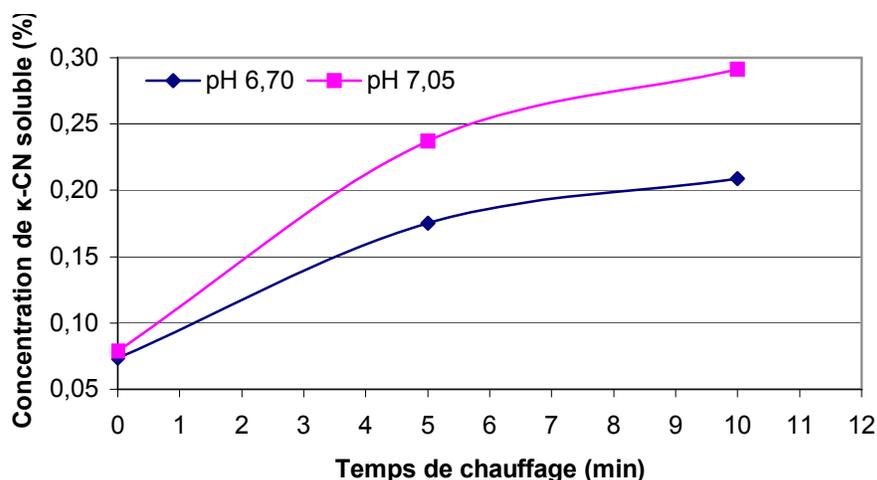


Figure 5.15 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration protéique de la zone de κ -caséine (%) du surnageant d'ultracentrifugation.

L'évaluation qualitative des gels d'électrophorèse réalisés sur les surnageants d'ultracentrifugation des laits témoin, dégazé et électroréduit à pH initial 6,70 ou 7,05 et chauffés à 140 °C (0, 5 et 10 min) révèle des bandes de protéines distinctes de poids moléculaire différent (Figure 5.16). Le pH initial influence les bandes présentes sur les gels. En effet, dès que le lait est chauffé, des différences apparaissent. Il y a davantage de protéines au total dans les laits à pH initial 7,05. De plus, ces protéines sont de poids moléculaire plus élevé, correspondant à des agrégats.

Le lait à pH initial 6,70 connaît une diminution de la quantité de protéines dans le surnageant après 5 minutes de chauffage mais une bande élargie et plus foncée de κ -CN apparaît. Après 10 minutes de chauffage, la quantité totale de protéines augmente; on observe une grande quantité de protéines de plus grand poids moléculaire correspondant à des protéines agrégées. Les gels réalisés sur le lait à pH initial 7,05 montrent que la concentration protéique augmente avec le temps de chauffage. L'apparition d'une large bande de κ -CN après 5 minutes de chauffage est observée, bande qui perd de l'importance lorsque le chauffage est prolongé. Après 10 minutes de chauffage, une longue bande quasi-continue d'agrégats protéines est observée.

Du côté du traitement appliqué au lait, peu de différences sont observées. À pH 6,70, le lait électroréduit chauffé 5 minutes exhibe davantage de κ - et β -CN et moins de α -CN que les autres laits. Ces différences disparaissent lorsque le lait est chauffé davantage. À pH 7,05, il existe peu de différences entre les traitements appliqués au lait si ce n'est que le lait électroréduit chauffé 10 minutes montre une bande plus foncée de κ -CN que les autres.

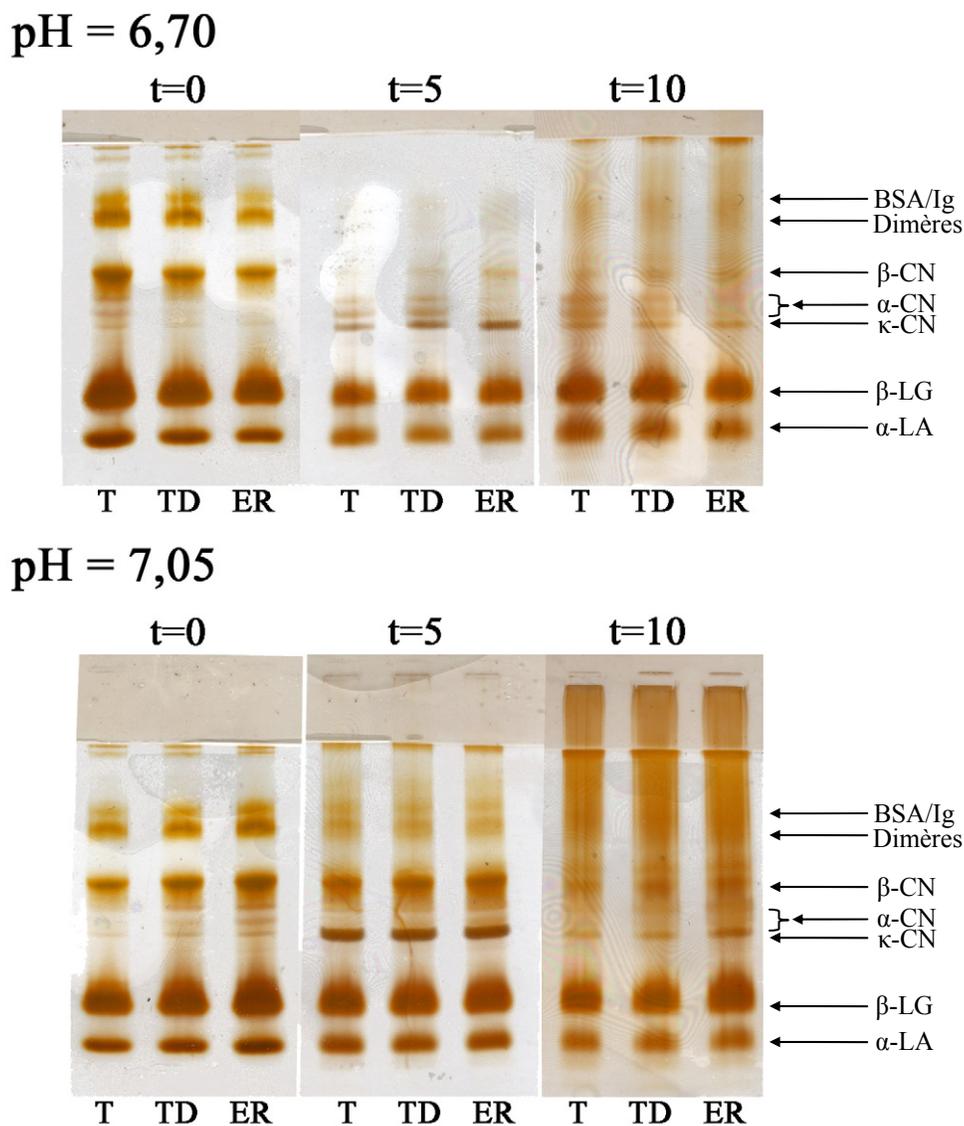


Figure 5.16 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration et le profil protéique du surnageant d'ultracentrifugation des laits témoin, dégazé et électroréduit déterminé par SDS-PAGE.

5.5 Discussion

5.5.1 Temps de coagulation à la chaleur

5.5.1.1 Effet du pH

Le profil du temps de coagulation à la chaleur en fonction du pH exhibe un comportement de type A avec un minimum à pH 6,70 et un maximum à pH 6,85. Ces résultats concordent avec les valeurs rapportées par Singh (2004). Par-contre, le temps requis pour atteindre la coagulation ne peuvent être comparés puisqu'ils dépendent en grande partie de l'appareillage utilisé.

5.5.1.2 Effet du traitement d'électroréduction

Le comportement des laits témoin, dégazé et électroréduit est similaire jusqu'à pH 6,90; le traitement d'électroréduction n'a eu aucun effet sur le minima et le maxima. À des valeurs de pH supérieures à 6,90, toutefois, le comportement du lait électroréduit diffère grandement du témoin puisque la stabilité augmente à un taux beaucoup plus rapide. Or, le lait dégazé présente un comportement similaire. L'augmentation de la stabilité à pH élevé ne semble donc pas causée par le traitement d'électroréduction mais par la faible concentration en oxygène des laits, phénomène qui n'est pas expliqué dans la littérature actuelle. La zone où ces laits se démarquent du témoin correspond à la région II définie par Singh (2004), et l'accroissement de la stabilité thermique s'expliquerait par l'augmentation de la charge protéique et la faible activité de l'ion calcium (O'Connell et Fox, 2003; Singh, 2004). L'état actuel des connaissances ne permet pas cependant d'expliquer la grande différence de stabilité entre les laits dégazé et électroréduit d'une part et le lait témoin d'autre part.

5.5.2 Traitement thermique à haute température

5.5.2.1 Effet du pH

Les deux pH choisis pour l'étude des effets du traitement thermique à haute température correspondent au maximum de stabilité des laits (pH 6,70) et à un point où les différences entre le lait témoin et le celui qui est électroréduit sont grandes (pH 7,05), en plus de se situer dans chacune des deux régions définies par Singh (2004) pour expliquer la stabilité thermique du lait. Ces pH initiaux ont influencé la plupart des résultats. Tout d'abord, la concentration minérale dans les surnageants d'ultracentrifugation deux heures après le traitement thermique est systématiquement plus faible pour les laits à pH 7,05 puisque l'acidification du lait entraîne la dissociation du phosphate de calcium et qu'à l'inverse, l'augmentation du pH favorise sa précipitation (Amiot, 2002).

Ensuite, la couleur du lait après traitement thermique, qui peut jouer un rôle dans l'acceptabilité par le consommateur d'un produit laitier stérilisé, est différente selon le pH initial. En effet, le lait dont le pH initial est supérieur (7,05) brunit davantage et plus rapidement que celui dont le pH initial se situe près du pH naturel du lait. L'isomérisation des sucres réducteurs est favorisée à pH élevé, ce qui accroît la formation de lactulose et par conséquent la formation de pigments bruns (Berg, 1993). Ce résultat est appuyé par celui de la concentration en lysine disponible des laits chauffés, inférieure dans les laits à pH initial 7,05, qui est indicatrice de l'intensité de la réaction de Maillard.

Finalement, la quantité et le profil des protéines retrouvées dans le surnageant d'ultracentrifugation sont différents selon le pH initial, en accord avec la classification de la stabilité thermique selon le pH (O'Connell et Fox, 2003; Singh, 2004). Le lait à pH initial 6,70 se situe dans la région I. La concentration protéique minimale dans le surnageant d'ultracentrifugation s'explique par le recouvrement des micelles de caséines par les protéines sériques (O'Connell et Fox, 2003; Singh, 2004). Lors du chauffage prolongé, l'intégrité de la micelle est détruite ce qui explique la remontée de la concentration protéique du surnageant après 10 minutes de chauffage. Le lait à pH initial 7,05, dont la concentration protéique augmente en fonction du chauffage, se situe dans la région II caractérisée par la dissociation de la κ -CN micellaire mais aussi, de façon moins marquée,

d'autres caséines (O'Connell et Fox, 2003; Singh, 2004). L'examen des gels d'électrophorèse réalisés sur les surnageants a d'abord permis de mettre en évidence la variation de κ -CN selon le pH et le temps de chauffage en accord avec la littérature (O'Connell et Fox, 2003; Singh, 2004). De plus, la polymérisation des protéines chauffées à haute température est très évidente à 10 minutes de chauffage comme en témoignent les bavures, principalement localisées dans les régions de plus haut poids moléculaire.

5.5.2.2 Effet du traitement d'électroréduction

Le lait électroréduit présente des concentrations minérales inférieures à celle des autres laits. Ces écarts peuvent être attribués aux conditions d'électroréduction qui ont causé une perte protéique suite au colmatage de la membrane, entrainant des minéraux. De plus, des minéraux peuvent s'être déposés sur l'électrode qui est recouverte d'un dépôt blanchâtre après traitement.

Pour ce qui est de la prévention de l'oxydation des thiols, les traitements de dégazage et d'électroréduction ont eu le même effet. La mesure des thiols totaux dans le lait montre que l'oxydation des thiols est supérieure dans le lait témoin pour le temps de chauffage le plus court mais similaire pour tous les laits chauffés plus longtemps. L'oxygène étant une molécule oxydante, sa faible concentration dans le lait dégazé peut avoir contribué à prévenir l'oxydation des thiols (Walstra et Jenness, 1984). Cependant, puisque l'effet est le même pour le lait électroréduit, il n'est pas possible à la lueur des connaissances actuelles de déterminer si l'effet préventif du traitement d'électroréduction sur l'oxydation des thiols est attribuable au traitement ou à sa conséquence, à savoir la diminution de la quantité d'oxygène dissous.

5.6 Conclusion

Les dispositifs expérimentaux mis en œuvre dans le présent chapitre n'ont pas permis de déceler des effets significatifs du traitement d'électroréduction sur le brunissement non-enzymatique ou la lysine disponible dans le lait après un traitement thermique sévère. Néanmoins, les travaux ont mis en évidence l'effet positif du dégazage et de l'électroréduction sur la stabilité thermique du lait à pH supérieur à 6,90 ainsi que sur

l'oxydation des thiols. Alors que des travaux supplémentaires seraient nécessaires pour isoler l'effet du traitement d'électroréduction de l'effet de l'abaissement de la concentration en oxygène dissous, l'application d'un traitement d'électroréduction en continu en amont du traitement thermique apparaît comme une façon efficace de dégazer le lait. L'électroréduction est donc une technologie prometteuse même si les mécanismes exacts demeurent à être élucidés.

Conclusion générale

Ce projet a permis de démontrer que l'application d'un traitement d'électroréduction au lait devant subir un traitement thermique subséquent a modulé l'aptitude à la coagulation par la présure et les paramètres associés à la fabrication fromagère simulée, ainsi que la stabilité du lait à haute température. L'étude des cinétiques de coagulation par la présure a révélé que le temps de prise des gels de lait électroréduit est inférieur à celui des gels de lait dégazé ou témoin, alors que l'indice de fermeté est supérieur. Ces propriétés se révèlent intéressantes pour l'industrie fromagère car une diminution du temps de prise peut se traduire par une diminution des coûts de fabrication. De plus, un caillé plus ferme est généralement associé à une meilleure rétention des protéines et des lipides, conduisant à une augmentation du rendement fromager. L'étude des paramètres associés à une fabrication fromagère simulée a révélé que le lait électroréduit chauffé est celui dont le taux d'humidité et la rétention protéique ont le moins augmenté par rapport au lait témoin non chauffé. Ces résultats pourraient suggérer une réduction de fixation de la β -lactoglobuline pendant le chauffage du lait électroréduit, corroborée par la concentration en thiols plus élevée dans le lait électroréduit que les laits témoin et dégazé chauffés et en accord avec l'hypothèse de travail. Toutefois, la perte de protéines du lait électroréduit lors des essais semble responsable du comportement fromager du lait électroréduit et particulièrement du plus faible rendement fromager observé avec le lait électroréduit chauffé, ne permettant pas conclure sur l'augmentation possible du rendement fromager suggéré par l'étude des cinétiques de coagulation. Néanmoins, l'effet observé sur les thiols, en plus grande concentration dans le lait électroréduit, est conforme à l'hypothèse de travail selon laquelle l'application d'un traitement d'électroréduction au lait prévient la formation du complexe β -LG- κ -CN lors d'un traitement thermique modéré.

L'application d'un traitement d'électroréduction au lait a permis d'augmenter le temps de coagulation par la chaleur à un pH supérieur à 6,90 et de diminuer l'oxydation des thiols, tout comme le traitement de dégazage. L'application d'un traitement d'électroréduction en continu en amont du traitement thermique apparaît comme une façon efficace de dégazer le lait.

Des études supplémentaires, de nature fondamentale, sont toutefois requises pour élucider le mécanisme exact des réactions se produisant dans le lait lors du traitement d'électroréduction, identifier les substances électrochimiquement actives et préciser le rôle de l'oxygène dissous. De plus, d'autres études portant sur l'optimisation des conditions d'application du procédé d'électroréduction sont requises pour maximiser l'effet du traitement et le maintien des modifications subies.

Bibliographie

AMIOT J., FOURNIER F., LEBEUF Y., PAQUIN P., SIMPSON R., 2002. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et technique d'analyse du lait. Dans : Science et technologie du lait : transformation du lait. Presses internationales Polytechnique, Montréal, 1-73.

ANEMA S. G., CREAMER L. K., 1993. Effect of the A and B variants of both α_{s1} - and κ -casein on bovine micelle solvation and κ -casein content. *Journal of Dairy Research* 60: 505-516.

ANEMA S. G., LI Y. M., 2003. Association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk and its effect on casein micelle size. *Journal of Dairy Research* 70: 73-83.

BAZINET L., FUSTIER P., LAMARCHE F., 1998. L'électroréduction : une technologie au courant ! *Le monde alimentaire Mars-avril* : 19-22.

BAZINET L., LAMARCHE F., BOULET M., AMIOT J., 1997. Combined effect of pH and temperature during electroreduction of whey protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45(1): 101-107.

BERG H. E., 1993. Reactions of lactose during heat treatment of milk. Thèse de doctorat. Wageningen Agricultural University, Pays-Bas, 180 p.

BERG H. E., van BOEKEL M. A. J. S., 1994. Degradation of lactose during heating of milk. 1 Reaction pathways. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 48: 157-175.

BEVERIDGE T., TOMA S. J., NAKAI S., 1974. Determination of SH- and SS-groups in some food proteins using Ellman's reagent. *Journal of Food Science* 39: 49-51.

BRITTEN M., POULIOT Y., 2002. Rôles fonctionnels du calcium en industrie laitière. Résumé de cours-séminaire, Agriculture et Agroalimentaire Canada, 3 octobre 2002.

BROWN R. J., ERNSTROM C. A., 1988. Milk-clotting enzymes and cheese chemistry, Part 1. Dans: *Fundamentals of dairy chemistry*, Third Edition. Wong N. P. (Ed.). Van Nostrand Reinhold Company, New York, 609-633.

BROWN R. J., ERNSTROM C. A., 1988. Milk-clotting enzymes and cheese chemistry, Part 1. Dans: *Fundamentals of dairy chemistry*, Third Edition. Wong N. P. (Ed.). Van Nostrand Reinhold Company, New York, 609-633.

BRULÉ G., LENOIR J., REMEUF F., 1997. La micelle de caséine et la coagulation du lait. Dans : *Le fromage : de la science à l'assurance-qualité*. Eck A. et Gillis J.-C. (Ed.), Lavoisier TEC & DOC, Paris, New York. 891 p.

CALVO M. M., 1995. Heat-Induced Interactions between Serum Albumin, Immunoglobulin, and κ -Casein Inhibit the Primary Phase of Renneting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 2823-2827.

CORREDIG M., DALGLEISH D. G., 1996. Effect of temperature and pH on the interactions of whey proteins with casein micelles in skim milk. *Food Research International* 29(1): 49-55.

CORREDIG M., DALGLEISH D. G., 1999. The mechanisms of the heat-induced interaction of whey proteins with casein micelles in milk. *International Dairy Journal* 9: 233-236.

DALGLEISH D. G., 1981. Milk proteins-Chemistry and Physics. Dans: *Food proteins*. Fox P. F. et Condon J. J. (Ed.), Applied Science Publisher, 155-178.

DALGLEISH D. G., 1990. The effect of denaturation of β -lactoglobulin on renneting – a quantitative study. *Milchwissenschaft* 45: 491-494.

DALGLEISH D. G., 1998. Casein micelles as colloids: surface structures and stabilities. *Journal of Dairy Science* 81: 3013-3018.

DAVIES D. T., WHITE J. C. D., 1966. The stability of milk protein to heat. I. Subjective measurement of heat stability of milk. *Journal of Dairy Research* 33: 67-81.

DE WIT J. N., 1981. Structure and functional behavior of whey proteins. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 35: 47-64.

DELACROIX-BUCHET A., LEFIER D., NUUYTS-PETIT V., 1993. Polymorphisme de la caséine κ de trois races bovines françaises et aptitude à la coagulation. *Lait* 73: 62-72.

DEVOLD T. G., BROVOLD M. J., LANGSRUD T., VERAGUG G. E., 2000. Size of native and heated casein micelles, content of protein and minerals in milk from Norwegian Red Cattle-effect of milk protein polymorphism and different feeding regimes. *International Dairy Journal* 10: 313-323.

DZUREC D. J. JR., ZALL R. R., 1985. Effect of heating, cooling, and storing milk on casein and whey proteins. *Journal of Dairy Science* 68: 273-280.

FOX P. F., 1993. Exogenous enzymes in dairy technology - A review. *Journal of Food Biochemistry* 17: 73-199.

FOX P. F., MCSWEENEY P. L. H., 1998. Physical properties of milk. Dans: *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Blackie Academic and Professional, London, 437-462.

FOX P. F., MULVIHILL D. M., 1982. Milk proteins: molecular, colloidal and functional properties. *Journal of Dairy Research* 49: 679-693.

FRYER P. J., BELMAR-BEINY M.T., SCHREIER P. J. R., 1995. Fouling and cleaning in milk processing. Dans: Heat-induced changes in milk, International Dairy Federation (IDF) 364-395.

HALLIWELL B., MURCIA M. A., CHIRICO, S., ARUOMA O. I., 1995. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 35(1/2): 7-20.

HARA Y., MATSUDA H., ARAI E., 2003. Effects of weakly electrolysed water on properties of tofu. *Food Science and Technology Research* 9(4): 332-337.

HILL A. R., 1989. The β -lactoglobulin- κ -casein complex. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 22(2): 120-123.

HILL A. R., 1995. Chemical species in cheese and their origin in milk components. Dans: *Chemistry of structure – Function relationships in cheese*. Malin E. L. et Tunick M. H. (Éd.), Plenum Press, 43-58.

HOLT C., HORNE D. S., 1996. The hairy casein micelle: Evolution of the concept and its implications for dairy technology. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 50: 85-111.

HOLT C., MUIR D.D, SWEE TSUR, A. W. M., 1978. Seasonal changes in the heat stability of milk from creamery silos in south-west Scotland. *Journal of Dairy Research* 45(2): 183-190.

HORNE D. S., 1989. Application of fractal concepts to the study of caseinate aggregation phenomena. *Journal of Dairy Research* 56: 535-541.

HORNE D. S., 1998. Casein interactions: casting light on the Black Boxes, the structure in dairy products. *International Dairy Journal* 8: 171-177.

HORNE D. S., BANKS J. M., MUIR D. D., 1997. Genetic polymorphism of bovine κ -casein : effects on renneting and cheese yield. Dans: *Milk protein polymorphism*, International Dairy Federation (IDF), 162-171.

HORNE D. S., MUIR D. D., 1994. Influence of κ -casein phenotype on the rennet coagulation time of bovine milk. *Milchwissenschaft* 49(7): 386-388.

HORNE D. S., MUIR D. D., LEAVER J., MCCREIGHT T. A., BANKS J. M., LAW A. J. R., 1993. Influence of κ -casein genotype on rennet coagulation of bovine milk. Dans: *Cheese yield & factors affecting its control*, International Dairy Federation (IDF), 142-150.

INOUE T. T., KATO W. K. 2003. Brevet international WO 03/053153.

JANSON H. V., LEWIS M. J., 1994. Electrochemical coagulation of whey protein. *Journal of the Society of Dairy Technology*. 47(3): 87-90.

- JAUBERT A., MARTIN P., 1992. Reverse-phase HPLC analysis of goat caseins. Identification of alpha s1 and alpha s2 genetic variants. *Lait* 72: 235-247.
- KINSELLA J. E., 1984. Milk proteins: physicochemical and fonctionnal properties. *CRC Critical Review in Food Science and Nutrition*, 21(3): 197-262.
- KINSELLA J. E., WHITEHEAD D. M., BRADY J., BRINGE N. A. 1989. Milk proteins: possible relationship of structure and functions. Dans: *Developments in Dairy Chemistry*, vol. 4. Fox P. F. (Ed.) Elsevier Applied Science, New-York 55-97.
- KONTOPIDIS G., HOLT C. SAWYER L., 2002. The ligand-binding site of bovine β -Lactoglobulin: evidence for a function? *Journal of Molecular Biology* 318: 1043-1055.
- LENOIR J., REMEUF F, SCHNEID N., 1997. L'aptitude du lait à la coagulation par la présure. Dans : *Le fromage : de la science à l'assurance-qualité*. Eck A. & Gillis J.-C (Ed.) Lavoisier TEC & DOC, Paris, New York. 891 p.
- LUCEY J. A., 1995. Effect of heat treatment on the rennet coagulability of milk. Dans: *Heat-induced changes in milk*, International Dairy Federation (IDF) 171-187.
- LUCEY J. A., GORRY C., FOX P. F., 1993. Rennet coagulation properties of heated milk. *Agricultural Science Finland* 2 : 361-368.
- McMAHON D. J., YOUSSEF B. H., KALAB M., 1993. Effect of whey protein denaturation on structure of casein micelles and their rennetability after ultra-high temperature processing of milk with or without ultrafiltration. *International Dairy Journal* 3(3): 239-256.
- MOIR G. M. 1931. The effect of heat upon rennin coagulation. II. *Journal of Dairy Research* 3 : 80-85.
- MOIR G. M., 1930. The effect of heat upon the rennin coagulation. *Journal of Dairy Research* 2 : 68-75.
- MONAHAN F. J., GERMAN J. B., KINSELLA J. E., 1995. Effect of pH and temperature of protein unfolding and thiol/disulfide interchange reactions during heat-induced gelation of whey proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 46-52.
- MONDAL K., LALVANI S. B., 2003. Electrochemical hydrogenation of canola oil using a hydrogen transfer agent. *Journal of the American Oil Chemist Society* 80: 1135-1141.
- MORALES F. J., ROMERO C., JIMENEZ-PEREZ S., 1996. Evaluation of heat-induced changes in Spanish commercial milk: hydroxymethylfurfural and available lysine content. *International Journal of Food Science and Technology* 31(5): 411-418.

MORGAN F., JACQUET F., MICAULT S., BONNIN V., JAUBERT A., 2000. Study on the compositional factors involved in the variable sensitivity of caprine milk to high-temperature processing. *International Dairy Journal* 10(1/2): 113-117.

MORR C. V., HA E. Y. W., 1993. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 33 : 431-476.

MORRISSEY P. A., 1969. The heat stability of milk as affected by variations in pH and milk salts. *Journal of Dairy Research* 36(3): 343-351.

NAKAI S., MODLER H. W., 1996. Food proteins: properties and characterization. VCH Publishers Inc. 544 p.

O'CONNELL J. E., FOX P. F. 2000. The two-stage coagulation of milk proteins in the minimum of the heat coagulation time-pH profile of milk: effect of casein micelle size. *Journal of Dairy Science* 83: 378-386.

O'CONNELL J. E., FOX P. F. 2003. Heat-induced coagulation of milk. Dans: *Advanced Dairy Chemistry. 1. Proteins*. Fox P. F. et McSweeney P. L. H. (Ed.), Kluwer Academic, London, 879-930.

PAPIZ M. Z., SAWYER L., ELIOPOULOS E. E., NORTH A. C. T., FINDLAY J. B. C.,

SIVAPRASADARAO R., JONES T. A. , NEWCOMER M. E. N., KRAULIS P. J., 1986. The structure of β -lactoglobulin and its similarity to plasma retinol-binding protein. *Nature* 324: 383-385.

PARK S.-Y., NIKI R., SANO Y., 1999. Size effects of casein micelles on rennet gels in the presence of β -lactoglobulin. *International Dairy Journal* 9: 379-380.

PATUSHENKO V., MATTHES H. D., HEINRICH H., 2000. Effect of fat content on the redox potential behaviour of milk. *Milchwissenschaft* 55(10): 547-549.

PLETCHER D., WEINBERG N. L., 1992a. The green potential of electrochemistry. Part 1: the fundamentals. *Chemical Engineering*, August: 98-103.

PLETCHER D., WEINBERG N. L., 1992b. The green potential of electrochemistry. Part 2: the applications. *Chemical Engineering*, November: 132-141.

QIN B. Y., BEWLEY M. C., CREAMER L. K., BAKER H. M., BAKER E. N., JAMESON G. B., 1998. Structural basis of the Tanford transition of bovine β -lactoglobulin. *Biochemistry* 37: 14014-14023.

RADA-MENDOZA M., VILLAMIEL M., OLANO A., 2002. Dissolved air effects on lactose isomerization and furosine formation during heat treatment of milk. *Lait* 82(5): 629-634.

RAYNAL K., REMEUF F., 2000. Effect of storage at 4°C on the physicochemical and renneting properties: a comparison of caprine, ovine and bovine milks. *Journal of Dairy Research* 67: 199-207.

RENAULT C., GASTALDI E., CUQ J. L., TARODO de la FUENTE B., 2000. Effect of temperature of milk acidification on rennet gel properties. *Journal of Food Science* 65(4): 630-634.

ROBITAILLE G., 1995. Influence of κ -casein and β -lactoglobulin genetic variants on the heat stability of milk. *Journal of Dairy Research* 62: 593-600.

ROBITAILLE G., GIROUX H. J., BRITTEN M., 2004. Turbidity method to monitor the kinetics of rennet-induced coagulation of milk using a microplate reader. *Milchwissenschaft* 59(9/10): 479-482.

ROLLEMA H.H. 1992. Casein association and micelle formation. In : *Advanced dairy chemistry-1: Proteins*. Fox P. F. (Ed.), Elsevier Applied Science, London, UK, 111-140.

ROUPAS P., 2001. On-farm practices and post farmgate processing parameters affecting composition of milk for cheesemaking. *The Australian Journal of Dairy Technology* 56(3): 219-232.

RUETTIMANN K. W., LADISCH M. R., 1987. Casein micelles: structure, properties and enzymatic coagulation. *Enzyme and Microbial Technology* 9: 578-589.

SAWYER L., BARLOW P. N., BOLAND M. J., CREAMER L. K., DENTON H., EDWARDS P. J. B., HOLT C., JAMESON G. B., KONTOPIDIS G., NORRIS G. E., UHRINOVA S., WU S., 2002. Milk protein structure-what can it tell the dairy industry? *International Dairy Journal* 12: 299-310.

SAWYER L., KONTOPIDIS G., 2000. The core lipocalin, bovine β -lactoglobulin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1482: 136-148.

SCHMIDT D.G., 1982. Association of caseins and casein micelle structure. In: *Developments in dairy chemistry-1*. Fox P. F. (Ed.), Applied science publisher, London, 61-86.

SCHRODES M. J. A., 1982. Effect of oxygen on the keeping quality of milk. I. Oxidized flavour development and oxygen uptake in milk in relation to oxygen availability. *Journal of Dairy Research* 49: 407-424.

SHERBON J. W., 1999. Physical Properties of milk. Dans: *Fundamentals of dairy chemistry*. Wong N. P. (Ed.). Aspen Publishers, Gaithersburg, Maryland, 409-431.

SHIMADA K., CHEFTEL J. C., 1989. Sulfhydryl group/disulfide bond interchange reactions during heat-induced gelation of whey protein isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37: 161-168.

- SINGH H., 2004. Heat Stability of milk. *International Journal of Dairy Technology* 57(2-3): 111-119.
- SINGH H., 1995. Heat-induced changes in casein, including interactions with whey proteins. In: *Heat-induced changes in milk*, International Dairy Federation (IDF) 86-104.
- SINGH H., CREAMER L. K., 1992. Heat stability of milk. Dans: *Advanced dairy chemistry-1: Proteins*. Fox, P. F. (Ed.), Elsevier Applied Science, London, UK, 621-656
- SINGH H., FOX P. F., 1986. Heat stability of milk : further studies on the pH-dependant dissociation of micellar k-casein. *Journal of Dairy Research*, 53: 237-248.
- SINGH H., FOX P.F., 1989. Heat-induced changes in casein. *Bulletin of the International Dairy Federation (IDF)* 238: 24-30.
- SINGH H., MCCARTHY O. J., LUCEY J. A., 1997. Physico-chemical properties of milk. Dans: *Advanced Dairy Chemistry. 3. Lactose, water, salts and vitamins*. Fox P. F. (Ed.), Chapman and Hall, London, 469-518.
- SINGH H., SHALABI S. I., FOX P. F., FLYNN A., BARRY A., 1988. Rennet coagulation of heated milk: influence of pH adjustment before or after heating. *Journal of Dairy Research* 55: 205-215.
- SINGH H., WAUNGANA A., 2001. Influence of heat treatment of milk on cheesemaking properties. *International Dairy Journal* 11: 543-551.
- ST-GELAIS D., SAVOIE L., 1993. Coagulation of milk enriched with low mineral retentate powders. *Milchwissenschaft* 48(11): 603-606.
- ST-GELAIS D., TIRARD-COLLET P., 2002. Fromage. Dans : *Science et technologie du lait : transformation du lait*. Presses internationales Polytechnique, Montréal, 349-415.
- TRONC J. S., LAMARCHE F., MAKHLOUF J., 1998. Effect of pH variation by electro dialysis on the inhibition of enzymatic browning in cloudy apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 829-833.
- UMEDA T., AOKI T., 2002. Relation between micelle size and micellar calcium phosphate. *Milchwissenschaft*, 57(3): 131-133.
- USTUMOL Z., BROWN J., 1985. Effects of heat treatment and posttreatment holding time on rennet clotting of milk. *Journal of Dairy Science* 68: 526-530.
- van BOEKEL M. A. J. S., 1996. Kinetic modelling of sugar reactions in heated milk-like systems. *Neth. Milk Dairy J.* 50:245-266.
- van BOEKEL M. A. J. S., 1998. Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food Chemistry* 62(4): 403-414

van DEN BERG G., ESCHER J. T. M., DE KONING P. J., BOVENHUIS H., 1992. Genetic polymorphism of κ -casein and β -lactoglobulin in relation to milk composition and processing properties. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 46: 145-168.

VASBINDER A. J., ROLLEMA H. S., de KRUIF C. G., 2003. Impaired rennetability of heated milks ; study of enzymatic hydrolysis and gelation kinetics. *Journal of Dairy Science* 86: 1548-1555.

VERHEUL M., PEDERSEN J. S., ROEFS S. P. F. M., de KRUIF K. G., 1999. Associative behavior of native β -lactoglobulin. *Biopolymers* 49: 11-20.

WALSTRA P., GEURTS T. J., NOOMEN A., JELLEMA A., van BOEKEL M. A. J. S., 1999. Composition, structure and properties. Dans: *Dairy technology*, Marcel Dekker, New-York, 1-26.

WALSTRA P., JENNESS R., 1984. *Dairy chemistry and physics*. John Wiley and sons, New-York, 467 p.

WALSTRA P., van VLIET T., 1986. The physical chemistry of curd making. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 40: 241-259.

WANG T. S., CHANG W. H., CHIANG B. H., 1991. The manufacture of cysteine using an electrochemical membrane reactor. *Journal of Food Engineering* 15(3): 209-219.

WAUNGANA A., SINGH H., BENNETT R.J., 1996. Influence of denaturation and aggregation of β -lactoglobulin on rennet coagulation properties of skim milk and ultrafiltered milk. *Food Research International* 29(8): 715-721.

YAYLAYAN, V.A., 1997. Classification of the Maillard reaction: a conceptual approach. *Trends in Food Science and Technology* 8(1): 13-18.

Ressources électroniques

Centre canadien d'information laitière (CCIL):

<http://www.dairyinfo.gc.ca/ccilsim.htm>

Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO):

http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/t4280f/t4280f04.htm

Annexe A

Tableaux du chapitre 3

Tableau A.1 Effet du traitement sur le pouvoir tampon (ml NaOH 1 N) des laits témoin, dégazé et électroréduit.

Traitement	Pouvoir tampon (ml NaOH 1 N)
Témoin	1,68
Dégazé	1,74
Électroréduit	1,84
Erreur-type	0,05

Tableau A.2 Effet du temps de chauffage à 75 °C (0, 4, 8, 16, 32 et 64 min) sur le diamètre micellaire (nm) des laits témoin, dégazé et électroréduit.

Chauffage (min)	Diamètre micellaire (nm)		
	Témoin	Dégazé	Électroréduit
0	185,2	185,0	185,0
4	183,4	180,9	183,3
8	183,4	182,3	
16	184,6	183,8	184,6
32	183,7	184,6	187,0
64	185,7	184,7	187,2
Erreur-type	0,4		

Tableau A.3 Effet du temps de chauffage à 75 °C (0, 4, 8, 16, 32 et 64 min) sur l'hydratation des micelles de caséines (g eau/g prot.) des laits témoin, dégazé et électroréduit.

Chauffage (min)	Hydratation des micelles (g eau/g prot.)		
	Témoin	Dégazé	Électroréduit
0	2,29	2,31	2,33
4	2,26	2,25	2,27
8	2,21	2,23	
16	2,20	2,21	2,21
32	2,15	2,21	2,26
64	2,19	2,20	2,26
Erreur-type	0,01		

Tableau A.4 Effet du temps de chauffage à 75 °C (0, 4, 8, 16, 32 et 64 min) sur la concentration et la composition protéique (%) des laits témoin, dégazé et électroréduit.

Traitement	Chauffage (min)	Concentration protéique (%)	α -LA (%)	β -LG (%)
Témoin	0	1,12	20,33	60,06
	4	1,03	20,46	57,52
	8	1,00	20,55	54,20
	16	0,99	21,41	50,14
	32	0,94	21,04	45,42
	64	0,87	21,39	39,07
Dégazé	0	1,11	20,81	58,23
	4	1,00	20,62	58,12
	8	0,96	20,30	56,19
	16	0,99	21,76	50,62
	32	0,97	20,32	47,11
	64	0,87	19,63	40,72
Électroréduit	0	1,12	21,59	61,01
	4	0,99	20,52	57,17
	8			
	16	0,99	21,07	51,76
	32	0,96	19,78	47,40
	64	0,84	17,75	42,18
Erreur-type		0,02	0,22	1,65

Tableau A.5 Effet du temps de chauffage à 75 °C (0, 4, 8, 16, 32 et 64 min) sur la concentration en thiols totaux (μ M/g prot.) du surnageant d'ultracentrifugation des laits témoin, dégazé et électroréduit.

Chauffage (min)	Thiols totaux (μ M/g prot.)		
	Témoin	Dégazé	Électroréduit
0	15,08	15,50	15,24
4	14,02	14,62	15,17
8	13,97	13,91	14,36
16	12,24	11,92	12,51
32	10,97	10,57	10,72
64	7,85	7,66	8,06
Erreur-type		0,62	

Tableau A.6 Concentration en calcium, potassium, magnésium, sodium et potassium totaux (ppm) des laits témoin, dégazé et électroréduit.

Traitement	Ca (ppm)	K (ppm)	Mg (ppm)	Na (ppm)	P (ppm)
Témoin	1105,74	1734,88	105,30	455,82	756,54
Dégazé	1071,59	1664,91	102,09	440,93	732,09
Électroréduit	1063,88	1656,37	99,95	438,71	705,85
Erreur-type	12,86	24,87	1,55	5,37	14,64

Tableau A.7 Effet du temps de chauffage à 75 °C (0, 4, 8, 16, 32 et 64 min) sur la concentration en calcium, potassium, magnésium, sodium et potassium solubles (ppm) des surnageants d'ultracentrifugation des laits témoin, dégazé et électroréduit.

Traitement	Chauffage (min)	Ca (ppm)	K (ppm)	Mg (ppm)	Na (ppm)	P (ppm)
Témoin	0	443,51	1640,82	77,85	443,66	495,90
	4	444,77	1620,92	79,53	434,48	489,43
	8	442,27	1619,23	78,85	440,96	496,16
	16	423,73	1662,99	74,96	454,04	486,90
	32	432,11	1648,40	75,60	442,18	492,82
	64	410,69	1503,09	69,39	416,33	454,63
	Dégazé	0	422,05	1651,06	75,12	442,44
4		433,47	1669,12	77,35	450,10	496,77
8		422,38	1612,08	75,63	427,43	471,32
16		421,96	1609,15	75,86	431,51	476,71
32		427,14	1582,40	75,95	426,26	472,72
64		411,56	1594,51	73,77	424,34	467,74
Électroréduit		0	420,94	1601,51	75,55	434,18
	4	402,17	1541,54	73,27	415,44	443,71
	8	424,52	1521,16	67,01	429,46	467,93
	16	416,99	1625,41	69,02	436,91	463,93
	32	401,75	1567,18	72,54	422,23	451,42
	64	398,27	1586,30	67,56	425,99	451,50
	Erreur-type		3,28	11,07	0,88	2,57

Tableau A.8 Effet du temps de chauffage à 75 °C (0, 4, 8, 16, 32 et 64 min) sur les paramètres des cinétiques de coagulation par la présure (d, Tvmax, DOVmax, Vmax, Tlag) des laits témoin, dégazé et électroréduit.

Traitement	Chauffage (min)	DO _∞	Tvmax (min)	DOVmax	Vmax (min ⁻¹)	Tlag (min)
Témoin	0	1,658	15,101	1,255	0,096	8,937
	4	1,581	18,515	1,229	0,070	11,003
	8	1,550	19,258	1,224	0,062	11,066
	16	1,529	20,589	1,216	0,052	11,074
	32	1,522	23,151	1,223	0,039	10,393
	64	1,486	26,369	1,203	0,024	9,154
	Dégazé	0	1,699	14,164	1,250	0,108
4		1,586	17,495	1,221	0,073	10,716
8		1,558	18,386	1,220	0,066	10,819
16		1,522	20,416	1,211	0,050	10,895
32		1,512	22,485	1,215	0,039	10,368
64		1,462	25,238	1,191	0,022	8,810
Électroréduit		0	1,728	15,132	1,273	0,104
	4	1,533	21,693	1,218	0,043	10,255
	8					
	16	1,558	22,314	1,230	0,046	10,225
	32	1,540	24,648	1,221	0,033	9,722
	64	1,523	25,955	1,202	0,023	8,184
	Erreur-type		0,017	0,906	0,005	0,006

Annexe B

Tableaux du chapitre 5

Tableau B.1 Effet du pH (6,5 à 7,1) sur le temps de coagulation (min) à 140 °C des laits témoin, dégazé et électroréduit.

pH	Temps de coagulation à 140 °C (min)		
	Témoin	Dégazé	Électroréduit
6,50	8,41	8,55	7,75
6,60	11,14	13,43	13,10
6,70	15,97	21,65	18,71
6,80	5,96	4,62	5,10
6,90	4,88	5,75	6,25
7,00	6,00	22,78	31,10
7,10	11,79	35,98	35,92

Tableau B.2 Effet du pH initial (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur le pH après traitement thermique des laits témoin, dégazé et électroréduit.

pH	Traitement	pH Chauffage (min)		
		0	5	10
6,70	Témoin	6,66	6,49	6,34
	Dégazé	6,67	6,51	6,35
	Électroréduit	6,68	6,55	6,38
7,05	Témoin	7,01	6,83	6,57
	Dégazé	7,03	6,85	6,57
	Électroréduit	7,07	6,88	6,60
Erreur-type		0,05	0,04	0,03

Tableau B.3 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en calcium, magnésium et phosphore solubles (ppm) des surnageants d'ultracentrifugation des laits témoin, dégazé et électroréduit.

pH	Chauffage (min)	Traitement	Ca (ppm)	Mg (ppm)	P (ppm)
6,70	0	Témoin	415,00	76,90	527,12
		Dégazé	352,23	65,22	479,22
		Électroréduit	346,94	58,86	467,80
	5	Témoin	413,55	76,85	524,80
		Dégazé	350,24	65,33	480,23
		Électroréduit	342,32	58,28	463,77
	10	Témoin	402,33	75,40	506,45
		Dégazé	343,32	64,44	468,29
		Électroréduit	343,11	58,00	451,75
7,05	0	Témoin	335,47	72,02	471,78
		Dégazé	320,95	61,89	444,01
		Électroréduit	328,57	55,60	432,35
	5	Témoin	336,86	72,25	478,24
		Dégazé	324,53	61,94	447,30
		Électroréduit	326,48	55,45	431,09
	10	Témoin	333,31	72,01	471,59
		Dégazé	324,55	61,41	436,07
		Électroréduit	328,09	54,94	425,78
	Erreur-type		7,10	1,79	7,07

Tableau B.4 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur les paramètres de couleur (L, a, b, DC, DE) des laits témoin, dégazé et électroréduit.

pH	Temps	Trait	L	a	b	DC	DE
6,70	0	Témoin	85,74	-4,82	6,45	0,00	0,00
		Dégazé	86,41	-4,84	6,79	0,29	0,77
		Électroréduit	86,53	-4,84	6,78	0,28	0,87
	5	Témoin	90,89	-3,15	8,90	1,39	5,95
		Dégazé	91,05	-3,03	9,41	1,83	6,35
		Électroréduit	90,87	-3,03	9,69	2,09	6,33
	10	Témoin	79,98	3,68	16,74	9,08	14,54
		Dégazé	80,27	3,68	17,15	9,49	14,72
		Électroréduit	79,41	3,90	17,48	9,86	15,42
7,05	0	Témoin	85,32	-4,91	6,68	0,00	0,00
		Dégazé	85,25	-4,94	6,68	0,02	0,17
		Électroréduit	85,06	-4,97	6,50	-0,11	0,38
	5	Témoin	87,91	-2,12	11,57	3,52	6,35
		Dégazé	88,26	-2,41	11,49	3,47	6,28
		Électroréduit	87,45	-2,43	11,53	3,53	6,01
	10	Témoin	70,18	6,63	19,18	12,00	22,79
		Dégazé	70,90	6,25	18,80	11,52	21,90
		Électroréduit	70,16	6,35	18,72	11,47	22,40
		Erreur-type	1,63	1,06	1,16	1,10	1,92

Tableau B.5 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en thiols totaux ($\mu\text{M/g prot.}$) des laits témoin, dégazé et électroréduit.

pH	Traitement	Concentration en thiols totaux ($\mu\text{M/g prot.}$) Chauffage (min)		
		0	5	10
6,70	Témoin	4,474	0,761	0,409
	Dégazé	4,442	1,628	0,362
	Électroréduit	4,535	1,724	0,549
7,05	Témoin	4,211	0,563	0,231
	Dégazé	4,394	1,411	0,778
	Électroréduit	4,407	1,440	0,871
	Erreur-type	0,414		

Tableau B.6 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration en acide lactique et citrique (%) ainsi qu'en lactose et galactose (%) des laits témoin, dégazé et électroréduit.

pH	Traitement	Chauffage (min)	Acide lactique (%)	Acide citrique (%)	Lactose (%)	Galactose (%)
6,70	Témoin	0	0,032	0,225	4,696	0,014
		5	0,033	0,229	4,379	0,018
		10	0,054	0,253	4,176	0,070
	Dégazé	0	0,029	0,221	4,725	0,014
		5	0,031	0,232	4,691	0,022
		10	0,058	0,253	4,397	0,072
	Électroréduit	0	0,032	0,212	4,677	0,014
		5	0,031	0,231	4,688	0,022
		10	0,056	0,249	4,203	0,071
7,05	Témoin	0	0,029	0,217	4,254	0,011
		5	0,027	0,222	4,419	0,024
		10	0,068	0,261	4,085	0,094
	Dégazé	0	0,029	0,218	4,526	0,011
		5	0,031	0,231	4,381	0,024
		10	0,067	0,257	4,133	0,101
	Électroréduit	0	0,029	0,221	4,563	0,010
		5	0,033	0,235	4,413	0,027
		10	0,052	0,240	4,085	0,103
Erreur-type			0,003	0,004	0,053	0,008

Tableau B.7 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la lysine disponible (%) dans les laits témoin, dégazé et électroréduit.

pH	Traitement	Lysine disponible (%)		
		Chauffage (min)		
		0	5	10
6,70	Témoin	100	96	90
	Dégazé	100	100	89
	Électroréduit	100	98	88
7,05	Témoin	100	93	78
	Dégazé	100	97	82
	Électroréduit	100	96	86
Erreur-type		1,64		

Tableau B.8 Effet du pH (6,70 et 7,05) et du temps de chauffage à 140 °C (0, 5 et 10 min) sur la concentration protéique totale et la concentration protéique de la zone de κ -caséine (%) du surnageant d'ultracentrifugation des laits témoin, dégazé et électroréduit.

pH	Traitement	Chauffage (min)	Protéines totales du Zone κ -CN dans le	
			surnageant (%)	surnageant (%)
6,70	Témoin	0	0,8382	8,56
		5	0,5533	27,51
		10	0,9295	22,36
	Dégazé	0	0,8432	8,90
		5	0,5830	32,52
		10	0,9532	23,17
	Électroréduit	0	0,8437	8,71
		5	0,6222	29,74
		10	0,9883	19,94
7,05	Témoin	0	0,8970	9,02
		5	1,1577	22,01
		10	1,5142	20,05
	Dégazé	0	0,9040	9,03
		5	1,1873	19,41
		10	1,5243	19,75
	Électroréduit	0	0,8987	8,29
		5	1,2308	18,31
		10	1,5257	17,65
Erreur-type			0,0713	1,83