

Chapitre 05: Les Protéines

1. Généralités

Les protéines furent découvertes par le chimiste néerlandais Gerhard Mulder (1802-1880). Le terme protéine vient du grec ancien «*prôtos*» qui signifie *premier, essentiel*. Ceci fait probablement référence au fait que les protéines sont indispensables à la vie et qu'elles constituent souvent la part majoritaire (~60%) du poids sec des cellules. Les protéines adoptent en effet de multiples formes et assurent de multiples fonctions.

Les protéines sont des macromolécules biologiques et des constituants fondamentaux des organismes vivants. Elles sont des polymères formés de l'enchaînement d'acides aminés liées entre elles par des liaisons peptidiques. Ces protéines sont des molécules de haut poids moléculaire, la plupart sont comprises entre 25 000 D et 150 000 D, certaines possèdent des poids moléculaires plus bas ou beaucoup plus élevés.

Les protéines sont des éléments de première importance. En effet, elles remplissent des fonctions très diverses au sein de la cellule et de l'organisme. Elles permettent:

- *La catalyse enzymatique*: les enzymes ont un énorme pouvoir catalytique. Presque tous les enzymes sont des protéines. Ils augmentent les vitesses de réaction d'au moins un million de fois.

- *Le transport et la mise en réserve*: beaucoup de petites molécules et d'ions sont transportés par des protéines spécifiques. L'hémoglobine transporte l'oxygène dans les érythrocytes, la myoglobine transporte l'oxygène dans les muscles. Le fer est transporté dans le plasma sanguin par la transferrine et mis en réserve dans le foie sous forme de complexe avec la ferritine.

- *Le mouvement coordonné*: les protéines sont les principaux constituants du muscle.

- *Le support mécanique*: la forte résistance élastique de la peau et de l'os est due à la protéine de collagène, qui est une protéine fibreuse.

- *La protection immune*: les anticorps sont des protéines très spécifiques qui reconnaissent et fixent les substances étrangères.

- *La production et la transmission de l'influx nerveux*: la réponse des cellules nerveuses est médiée par des protéines réceptrices. La rhodopsine est la protéine

photoreceptrice des cellules en bâtonnet de l'œil tandis que la propagation de l'influx nerveux se fait grâce à des protéines réceptrices au niveau de la synapse.

- *Le contrôle de la croissance et la différenciation:* Chez les bactéries, des protéines, les répresseurs, sont des éléments de contrôle qui réduisent au silence des segments spécifiques de l'ADN de la cellule. Dans les organismes supérieurs, la croissance et la différenciation sont contrôlées par des facteurs de croissance protéiques. Les activités des différentes cellules sont coordonnées par des hormones, telles que l'insuline et l'hormone qui stimule la thyroïde .

2. Acides aminés et peptides

Acides aminés

Les protéines sont formées à partir d'un répertoire de 20 acides aminés qui sont donc les éléments de base des protéines. Un acide aminé est constitué d'une fonction amine, d'un groupe carboxylique, d'un atome d'hydrogène et d'un groupe variable: R (Figure 20). Les chaînes latérales se différencient par leur dimension, leur forme, leur charge, leur capacité à contracter des liaisons hydrogène et leur réactivité chimique. En solution à pH neutre, les acides aminés se trouvent essentiellement sous forme d'ions dipolaires .

Les acides aminés les plus répandus chez l'homme sont définie par la formule suivante:

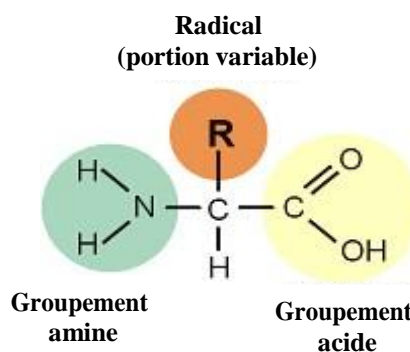


Figure 20: Formule générale d'un acide aminé

Les acides aminés peuvent être classés d'après la structure et la complexité de leur chaîne latérale R. Parmi les différentes classifications possibles, l'une des plus intéressantes repose sur la polarité et les possibilités d'ionisation de cette chaîne (Figure).

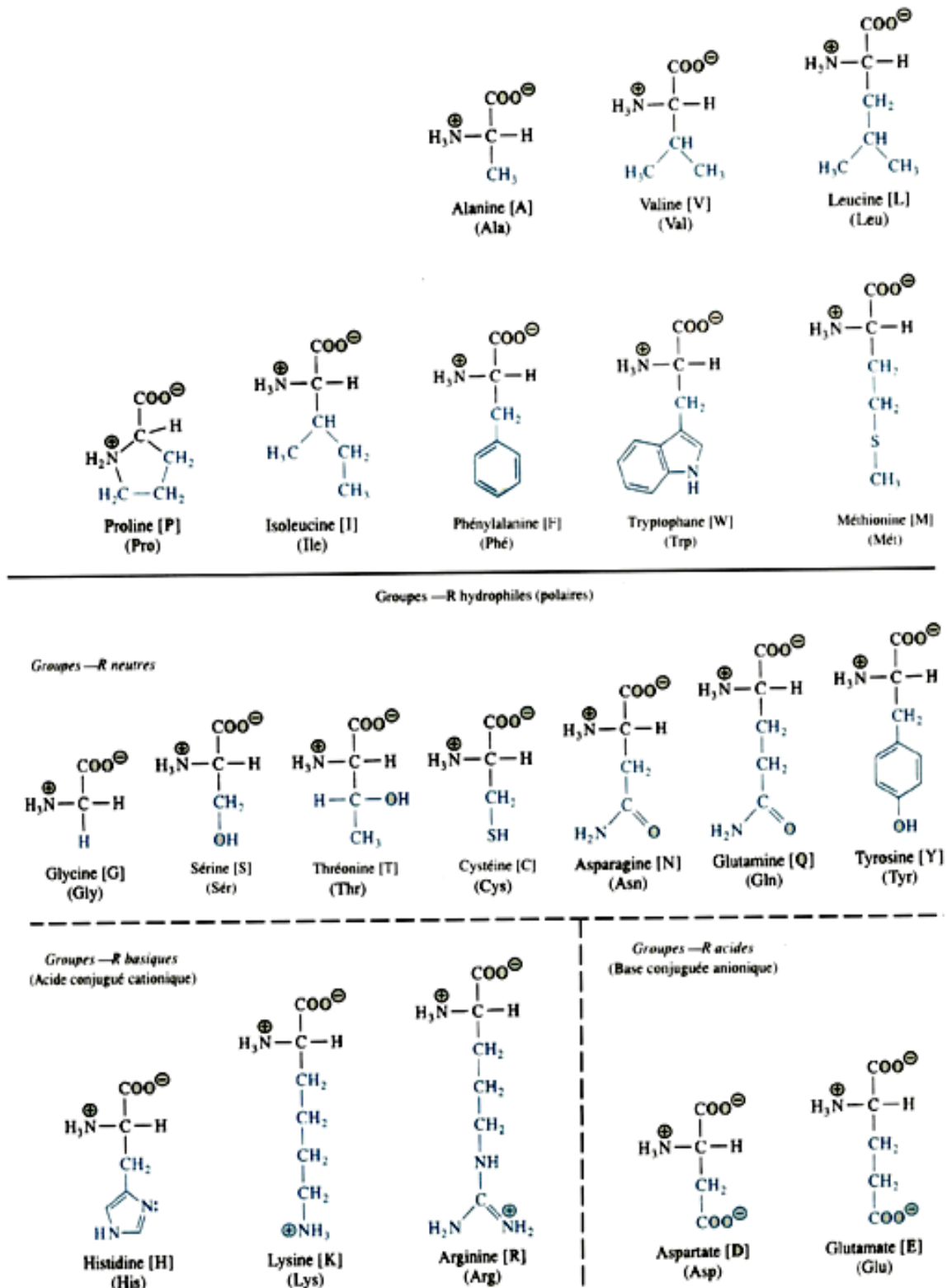


Figure: Les 20 acides aminés

Peptides

Généralement, les protéines sont de longues chaînes d'acides aminés réunis par des liaisons formées au cours de réactions de synthèse, le groupe aminé de chaque acide aminé s'étant lié au groupe acide de l'acide aminé suivant. Cette liaison forme l'arrangement d'atomes caractéristique de la liaison peptidique (Figure). Cette synthèse s'accompagne de la perte d'une molécule d'eau. Les liaisons peptidiques se rompent lorsque de l'eau s'y ajoute (hydrolyse des polypeptides).

L'union de deux acides aminés donne un *dipeptide*; celle de trois acides aminés, un *tripeptide*; celle de dix acides aminés ou plus, un *polypeptide*. Les molécules contenant plus de 50 acides aminés sont des *protéines*. La plupart des protéines sont cependant des macromolécules, c'est-à-dire de grosses molécules complexes formées de 100 à 1000 acides aminés

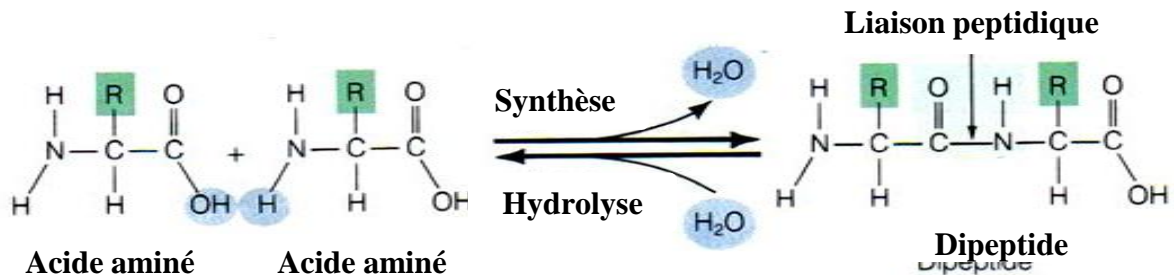


Figure: Synthèse d'une liaison peptidique

Les principaux peptides d'intérêt biologique

a) *Le glutathion* (γ -glutamyl-cystéinyl-glycine): il existe sous la forme réduite et oxydée ce qui lui permet de jouer un rôle dans certaines réactions d'oxydo-réduction.

b) *L'ocytocine et la vasopressine*: hormones de structure très voisine. L'ocytocine stimule la contraction du muscle utérin alors que la vasopressine augmente la pression sanguine et a une action antidiurétique.

c) *L'hormone adrénocorticotrope ou ACTH*: hormone de l'anté-hypophyse qui stimule la synthèse et la sécrétion des hormones stéroïdes par la cortico-surrénale.

d) *L'insuline*: hormone hypoglycémisante sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans. La structure de l'insuline a été la première structure polypeptidique connue grâce aux travaux de Sanger. L'insuline comporte 2 chaînes: la chaîne A de 21 AA et la chaîne B de 30 AA. Il y a 3 ponts disulfures: 2 interchaines (A_7/B_7 et $\text{A}_{20}/\text{B}_{19}$) et un intr chaîne (A_6/A_{11}).

e) *La pénicilline*: est un peptide ayant une activité antibiotique .

3. Protéines

3.1. Différents niveaux de structure des protéines

En fonction des différentes interactions entre les acides aminés composant les protéines, on distingue 4 niveaux de structure.

Structure primaire

La structure primaire des protéines est représentée par la séquence d'acides aminés (Figure 23) qui se lient de manière à former une chaîne polypeptidique. Les propriétés uniques de chaque protéine dépendent des types d'acides aminés qui la composent et de leur séquence. Les êtres vivants renferment des milliers de protéines différentes, aux propriétés fonctionnelles distinctes, toutes construites à partir d'une vingtaine d'acides aminés.

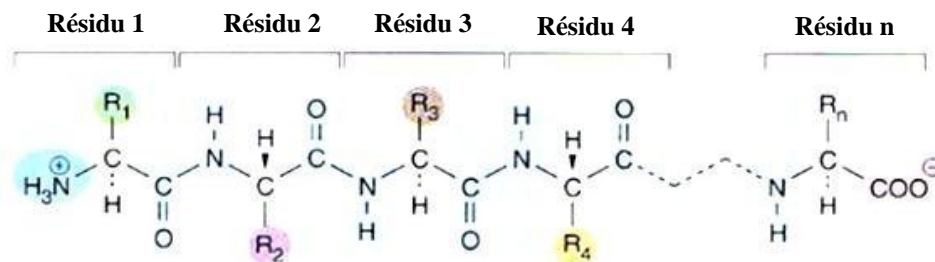


Figure 23: Structure primaire d'une protéine .

Structure secondaire

Les protéines n'existent pas sous forme de chaînes linéaires d'acides aminés; elles se replient sur elles-mêmes conférant à la protéine une structure secondaire. Cette dernière est due à la formation de liaisons hydrogène entre les constituants de la liaison peptidique elle-même. On distingue deux types principaux de structure:

Hélice alpha (α): la chaîne primaire s'enroule sur elle-même puis stabilisée par des liaisons hydrogène entre les groupes NH et CO, à tous les quatre acides aminés environ (Figure). Le groupe CO de chaque AA est lié par liaison hydrogène au groupe NH de l'AA situé 4 résidus plus loin dans la chaîne polypeptidique linéaire. Chaque résidu est disposé par rapport au suivant selon une translation de 1,5 Å le long de l'axe de l'hélice et une rotation de 100°, ce qui donne 3,6 résidus d'AA par tour d'hélice .

Feuillet plissé bêta (β): les chaînes polypeptidiques primaires ne s'enroulent pas mais se lient côte à côte au moyen de liaisons hydrogène et forment une sorte d'échelle pliante (Figure) et la distance axiale entre les AA adjacents est de 3,5 Å. Dans ce type de structure secondaire, les chaînes peptidiques sont disposées soit de façon parallèle soit de façon anti-parallèle .

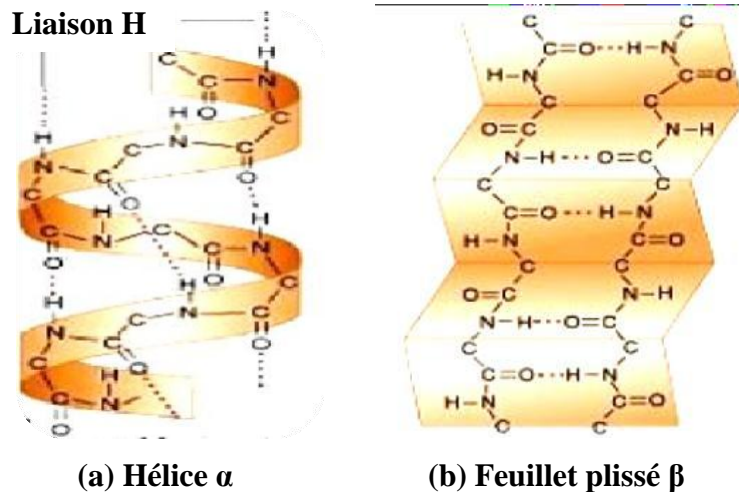


Figure: Structures secondaires d'une protéine .

Structure tertiaire

Dans une protéine, la structure tertiaire décrit l'arrangement tridimensionnel de tous les acides aminés situés dans la chaîne polypeptidique. Il s'agit d'une conformation native, biologiquement active, maintenue par de multiples liaisons et principalement construites à partir des radicaux des amino-acides (Figure). Citons par ordre de stabilité décroissante:

- Des liaisons covalentes par pont disulfure entre deux résidus cystéines;
- Des interactions électrostatiques entre groupements de charges opposées ($-\text{NH}^{3+}$ et $-\text{COO}^-$);
- Des liaisons hydrogène;
- Des interactions de Van Der Waals entre radicaux hydrophobes (Figure).

La structure tertiaire permet à la protéine de former dans l'espace des « *domaines* » indispensables à sa fonction (par exemple un site actif pour une enzyme) .

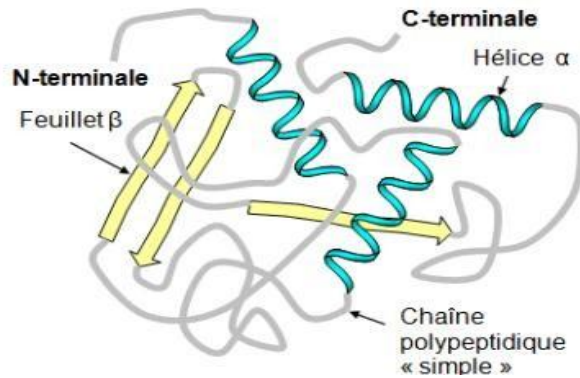


Figure: Structure tertiaire d'une protéine

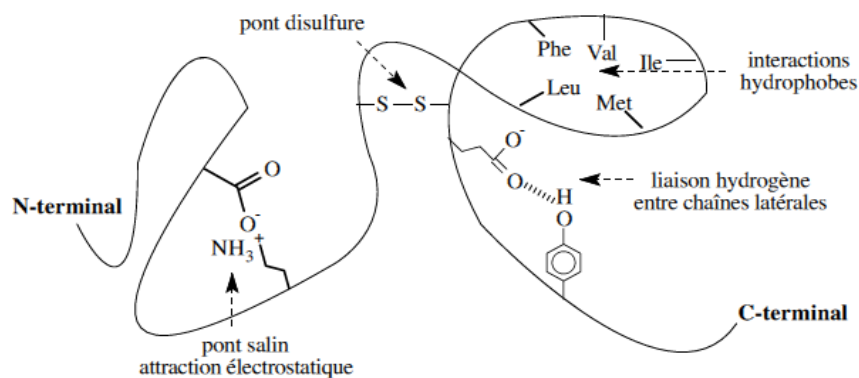


Figure: Stabilisation de la structure tertiaire

Structure quaternaire

Il est possible de distinguer un quatrième niveau de structure protéique pour les protéines contenant plus d'une chaîne polypeptidique. La structure quaternaire est l'arrangement spatial des différentes sous unités polypeptidiques (protomères) avec la description des interactions qui les lient. Les interactions entre les sous-unités sont de même nature que les interactions à l'intérieur des chaînes (covalente ou non). La dissociation de ces assemblages est réversible. L'hémoglobine est un exemple de protéines possédant une structure quaternaire: elle est composée de quatre chaînes polypeptidiques (Figure) dont chacune possède une structure tridimensionnelle. Les chaînes polypeptidiques sont identiques deux à deux: deux chaînes α comportant 141 AA et deux chaînes β comportant 146 AA; Chaque chaîne contient un groupement prosthétique hème. La structure secondaire est composée uniquement d'hélice α . C'est la structure quaternaire qui détermine la fonction de la protéine

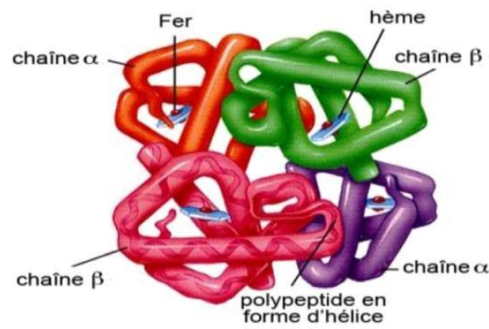


Figure. Structure quaternaire de l'hémoglobine [].

4. Classification des protéines

Selon leur composition, les protéines peuvent appartenir à deux groupes différents: les *holoprotéines* et les *hétéroprotéines*.

● **Holoprotéines** sont des protéines composées exclusivement d'acides aminés. Elles sont divisées en protamines, histones, gluténines, albumines, prolamines, globulines et scléroprotéines.

● **Hétéroprotéines**, quant à elles, elles sont composées d'une partie protéique et d'une partie non protéique appelée groupement prosthétique qui peut être soit:

- Un groupe métallique (chromoprotéines) ou organique (phosphoprotéines);
- Une partie glucidique liée de manière covalente: glycoprotéines;
- Une partie lipidique liée de manière covalente: lipoprotéines

Selon leur forme, elles peuvent être divisées en deux grandes catégories: *fibreuse* et *globulaire*.

● **Protéines fibreuses**: elles sont appelées protéines structurales car elles constituent le principal matériau de construction chez les vertébrés. Elles sont linéaires, insolubles dans l'eau et d'une grande stabilité (support mécanique aux tissus et résistance à la traction). Les principales protéines fibreuses sont le collagène, la kératine, le fibrinogène et les protéines musculaires.

● **Protéines globulaires**: contrairement aux protéines fibreuses, les protéines globulaires sont sphériques et hautement solubles. Elles jouent un rôle important dans le métabolisme tels que les albumines, les globulines, la caséine et les hormones protéiques. Les albumines et les globulines sont abondantes dans les cellules animales, le sérum sanguin, le lait et les œufs

5. Propriétés physiques

5.1. Solubilité

La solubilité se définit par la quantité maximale de protéines pouvant se dissoudre dans un litre de solvant. Les protéines sont insolubles dans des solvants organiques et leur solubilité dans l'eau dépend de plusieurs facteurs:

- De la taille, la forme et la masse de la molécule protéique;
- De la répartition et la proportion des acides aminés polaires et apolaires;
- De la solution (force ionique; pH; solvant...)

Effet de la force ionique de la solution: la Figure 28 montre que la courbe de solubilité d'une protéine, en fonction de la concentration en sel, est sous forme de cloche propre à chaque protéine:

• **A faible force ionique:** les sels neutres ont un effet dissolvant (*Salting-in*) (partie I). Les ions provenant de la dissociation du sel diminuent les interactions électrostatiques entre les groupes chargés des protéines. Ils favorisent l'hydratation des groupes polaires donc la solubilisation des protéines.

• **A force ionique élevée:** les sels neutres ont un effet insolubilisant, précipitant ou relargage (*Salting-out*) (partie III). A concentration élevée, les ions fixent l'eau aux dépens des groupes polaires de la surface protéique. Ils favorisent donc la déshydratation des protéines et leur insolubilité ce qui est appelé encore le *relargage des protéines*.

• Entre ces 2 zones, il y'a une zone de solubilité maximale de la protéine (partie II)

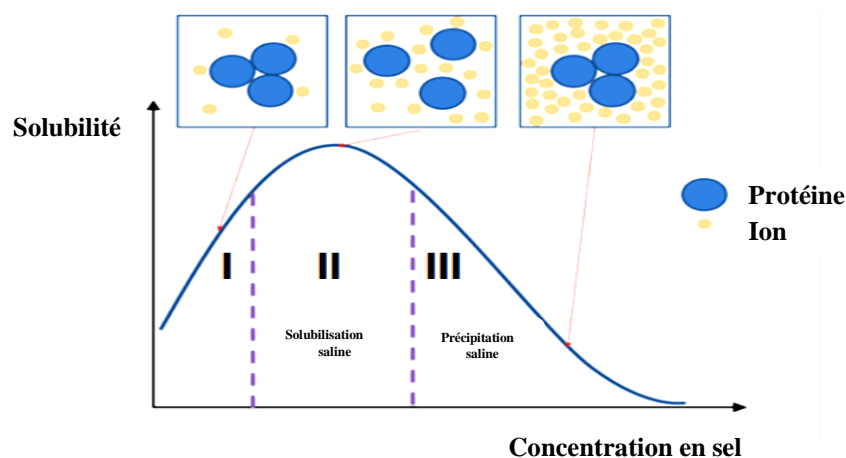


Figure: Courbe de solubilité d'une protéine en fonction de la concentration en sel

Effet des solvants organiques: les solvants organiques miscibles à l'eau (éthanol, acétone, méthanol,...) diminuent la constante diélectrique, ce qui réduit les forces de répulsion des protéines et favorise la déshydratation des protéines et donc leur agrégation, d'où leur précipitation

Effet du pH: la courbe de solubilité en fonction du pH du milieu a une forme en "U" (Figure). Une protéine présente une solubilité minimale lorsque sa charge globale est nulle, donc lorsque $\text{pH}=\text{pH}_i$ (pH isoélectrique). Il n'existe pas de répulsion électrostatique entre les molécules protéiques voisines et elles ont tendance à s'agréger et à précipiter. La solubilité est minimale du fait d'un maximum d'attractions électrostatiques entre les groupes chargés des protéines formant ainsi des agrégats. La solubilité est toujours plus basse au pH_i qu'aux valeurs au-dessus (charge négative) ou au-dessous (charge positive); certaines protéines sont pratiquement insolubles au pH_i

Remarque: les protéines précipitées au voisinage du pH_i conservent leur conformation (structure tertiaire) et peuvent être redissoutes dans un milieu approprié: il n'y a pas donc de dénaturation.

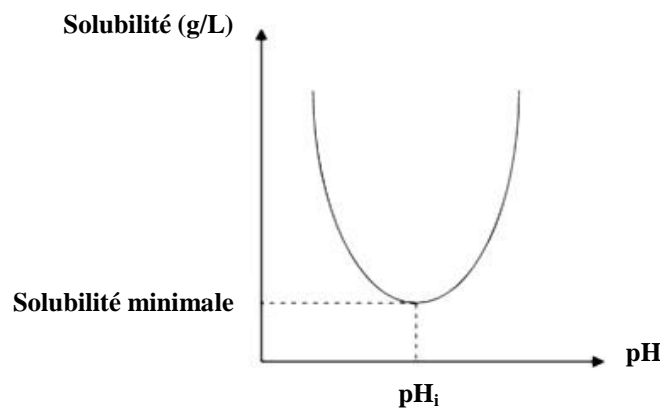


Figure: Courbe de solubilité d'une protéine en fonction de pH du milieu

5.2. Propriétés optiques

Les solutions protéiques sont opalescentes: elles absorbent et diffusent la lumière. Les propriétés optiques sont en rapport avec la concentration de la solution, avec la taille et la forme des molécules. Ces propriétés sont importantes pour l'étude et le dosage des protéines et également pour la détermination des caractéristiques géométriques d'une protéine par diffusion de la lumière

5.3. Propriétés osmotiques

Les protéines ne sont pas ultrafiltrables, ni dialysables car elles ne diffusent pas à travers de membrane perméable grâce à leur taille. Une solution protéique placée dans un compartiment limité par une membrane, développe une pression osmotique appelée pression oncotique qui intervient dans les échanges cellulaires et les échanges entre les secteurs hydriques de l'organisme (cas des protéines plasmatiques)

5.4. Propriétés d'ionisation

Toute protéine possède un nombre important de groupements ionisables caractérisés par leur pK. Ces propriétés sont la base des techniques de séparation et de caractérisation des protéines (électrophorèse ou chromatographie)

6. Dénaturation des protéines

6.1. Définition

La dénaturation est une désorganisation de la structure interne d'une protéine (structures secondaire, tertiaire et quaternaire) par ruptures des liaisons faibles et/ou des ponts disulfures. C'est une propriété singulière des protéines qui résulte d'une modification de la structure spatiale sans aucune rupture de liaisons peptidiques, donc sans décomposition

6.2. Etapes de la dénaturation

La dénaturation d'une protéine comprend deux étapes (Figure):

La première étape est *réversible* quand elle se déplie et perd sa forme spécifique par rupture des liaisons faibles et/ou des ponts disulfures, on dit qu'elle est *déployée*, la suppression de l'agent dénaturant permet sa renaturation c'est-à-dire qu'elle peut revenir à l'état natif en recréant ses liaisons.

La deuxième étape de la dénaturation est *irréversible* consiste en un passage de l'état *déployé* à un état *dénaturé* par établissement de nouvelles liaisons secondaires faibles non spécifiques

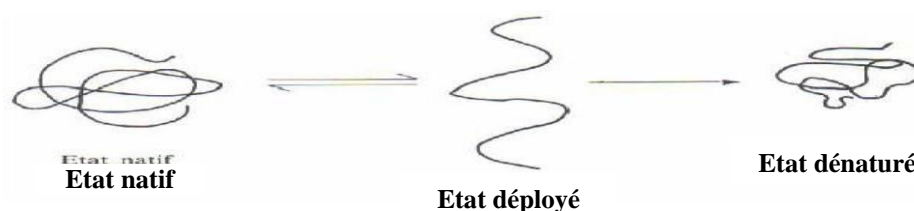


Figure: Dénaturation réversible et irréversible d'une protéine].

6.3. Agents dénaturants

La dénaturation est le résultat de l'action d'agents variés: physiques (la chaleur, les radiations (ultraviolettes, ionisantes), les ultrasons et l'agitation prolongée) ou chimiques (les variations du pH, l'urée, les solvants organiques et les détergents) qui influencent ces interactions peuvent faire évoluer une protéine d'un état « *natif* » fonctionnel vers un état « *dénaturé* » non fonctionnel. De nombreux paramètres peuvent entrer en jeu, mais trois facteurs sont particulièrement importants: la température, le pH, et la présence éventuelle d'agents dénaturants

L'élévation de la température entraîne une agitation thermique (élève l'énergie de vibration et de rotation des liaisons entre atomes des molécules dissoutes) ce qui conduit à des mouvements intramoléculaires à l'origine de la rupture des interactions faibles qui stabilisent la conformation de la protéine (cas de l'ovalbumine lors de la cuisson du blanc d'œuf) et la plupart des protéines sont dénaturées vers 45°C.

- Un pH très acide ou très alcalin dénature les protéines par perturbation des liaisons ioniques. L'acidité gastrique permet une dénaturation des protéines alimentaires, ce qui facilite leur digestion par la pepsine.

- Les agents chaotropiques comme l'urée ou le chlorure de guanidinium lorsqu'ils sont utilisés à des concentrations élevées (6 à 8 mol.L⁻¹), ils désorganisent la structure de l'eau, disloquent les liaisons hydrogène, affaiblissent les interactions hydrophobes et augmentent la solubilité de tous les groupements, polaires ou apolaires.

- Les détergents comme le Sodium Dodécyl Sulfate (SDS) dont la "queue hydrocarbonée" établie des interactions hydrophobes avec les chaînes latérales des résidus d'acides aminés apolaires) forme un complexe protéine-détergent ionisé en surface (groupement sulfate) dans lequel la chaîne polypeptidique est globalement déployée.

- L'addition de solvants organiques, tel que l'éthanol ou l'acétone, interfère également avec des liaisons hydrogène en se substituant aux molécules d'eau qui enveloppent la protéine

6.4. Conséquences de la dénaturation

La dénaturation provoque les modifications suivantes:

- La perte des propriétés biologiques spécifiques: enzymatiques, hormonales, de transport et immunologiques;

● La diminution de la solubilité résulte de modifications dans la distribution des groupements polaires et apolaires. Elle est accompagnée d'une augmentation de la sensibilité aux attaques enzymatiques.

7. Extraction des protéines alimentaires (méthodes, propriétés et utilisation des concentrations et isolats protéiques)

7.1.Chromatographie

Le terme chromatographie désigne un ensemble de techniques de séparation qui reposent sur l'affinité différentielle des molécules d'un mélange pour une phase stationnaire ou matrice, solide et une phase mobile, liquide ou gazeuse.

Dans le cas des protéines, le mélange est déposé au sommet de la phase stationnaire contenue dans une colonne. La phase mobile, un éluant, traverse la phase stationnaire et entraîne progressivement les molécules vers le bas de la colonne où l'effluent est collecté en différentes fractions qui sont ensuite analysées. Selon le type de matrice, les molécules de protéines sont retenues et retardées par la colonne en fonction de paramètres physico-chimiques variés: taille, charge électrique, hydrophobicité de la surface ou affinité pour des ligands déterminés

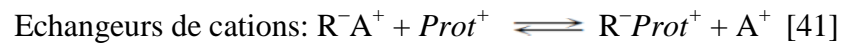
Chromatographie par filtration sur gel

Cette technique chromatographique est également nommée chromatographie par exclusion ou chromatographie par tamisage moléculaire. Dans cette technique, les molécules sont séparées selon leur taille et leur forme. L'échantillon est déposé au sommet d'une colonne de gel constitué de billes de porosité définie. Ces billes sont constituées de dextran (polymère de glucose), d'agarose (polymère de dérivés du galactose) ou de polyacrylamide. Les molécules de petite taille (petites protéines et polypeptides) pénètrent dans les billes et sont donc retardées, alors que les molécules de taille supérieure à celle des pores ne pénètrent pas dans les billes et traversent donc plus rapidement la colonne (Figure).

Chromatographie par échange d'ions

Dans cette chromatographie, la matrice (cellulose, polystyrène, agarose, dextrane) contient des groupes ionisés qui fixent des ions de charge opposée (A^+ , B^-) présents dans la solution; ces ions pourront être échangés avec des protéines. On distingue les échangeurs

d'anions (matrice R chargée positivement) et les échangeurs de cations (matrice chargée négativement):



Les protéines se fixent à la matrice en fonction de leur affinité pour les groupes ionisés. La colonne est ensuite lavée avec un tampon (tampon d'élution), qui entraîne en premier lieu les protéines les plus faiblement liées à l'échangeur. Les protéines les plus fortement liées seront libérées en dernier ou resteront fixées sur la matrice. On réussit en général à libérer l'ensemble des protéines fixées en faisant varier le pH du tampon d'élution ou en augmentant progressivement sa force ionique (Figure).

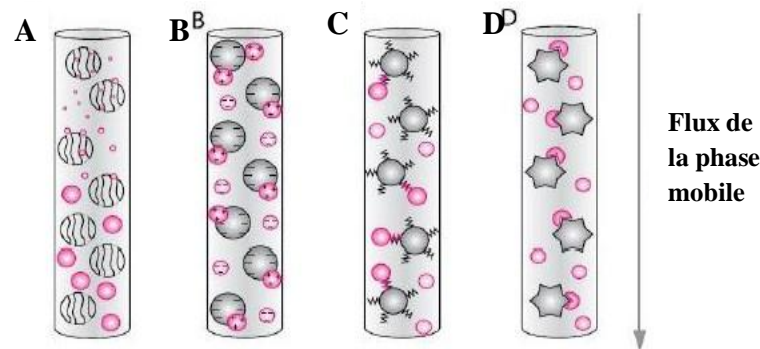


Figure : Différent type de chromatographie

- (A) **Chromatographie par filtration sur gel.** Les protéines (disques roses) de taille supérieure au diamètre des pores ne sont pas retardées par la matrice (disques gris).
- (B) **Chromatographie par échange d'ions.** Les protéines (disques roses) chargées positivement sont retenues par la matrice (disques gris) chargée négativement.
- (C) **Chromatographie par interactions hydrophobes.** Les protéines (disques roses) les plus hydrophobes sont retenues par la matrice (disques gris), elle-même hydrophobe.
- (D) **Chromatographie par affinité.** Les protéines (disques roses) les plus affines sont retenues par la matrice (disques gris) sur laquelle est greffé le ligand spécifique de la protéine d'intérêt.

Chromatographie par interactions hydrophobes

Cette méthode met à profit l'existence de zones hydrophobes discrètes à la surface des protéines. La matrice contenue dans la colonne contient des groupes apolaires (groupes phényle) qui peuvent retenir les protéines en s'associant à leurs régions hydrophobes. Cette interaction est d'autant plus forte que la force ionique est élevée. Aussi, et à l'inverse de la

chromatographie d'échange d'ions, la colonne hydrophobe est éluée par un tampon de force ionique décroissante, ce qui a pour effet d'affaiblir progressivement l'interaction hydrophobe entre les protéines et la matrice. En principe, les protéines contenant peu de zones hydrophobes à leur périphérie sont éluées en premier, les protéines les plus hydrophobes sont éluées en dernier (Figure).

Chromatographie par affinité

Dans cette technique, les protéines sont séparées en fonction de leur affinité pour un groupement (analogue de substrat, anticorps spécifique, lectine...etc.) greffé sur la matrice. La protéine d'intérêt est éluée de la colonne par déplacement avec un analogue de la structure ou molécule reconnue par le groupement lié (Figure).

7.2.Électrophorèse

L'électrophorèse est une technique d'analyse permettant de séparer les molécules électriquement chargées par migration dans un champ électrique. Les acides aminés en milieu aqueux sont présents sous forme d'espèces ioniques chargées différemment selon le pH du tampon dans lequel ils sont solubilisés. Si on dépose au milieu d'une bande de papier un mélange d'acides aminés et si on applique un champ électrique aux extrémités. Selon leurs charges, au pH du tampon considéré, ils migreront vers le pôle positif ou vers le pôle négatif (Figure).

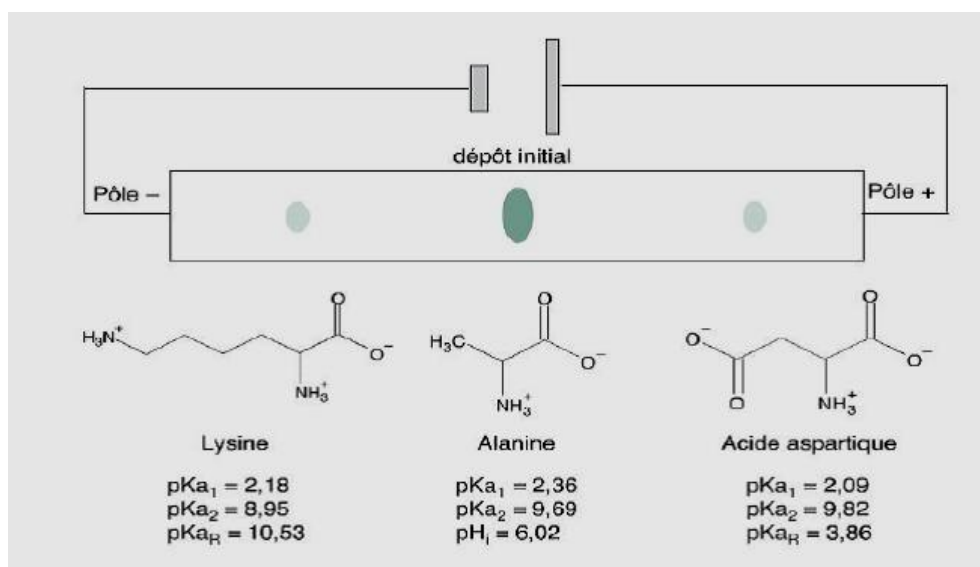


Figure: Exemple de l'électrophorèse d'un mélange d'alanine, d'acide aspartique et de lysine à pH_6 .

8. Propriétés fonctionnelles des protéines laitières et amélioration

8.1. Définition

Les propriétés fonctionnelles des protéines sont les propriétés physiques ou physico-chimiques qui ont une incidence sur le comportement sensoriel de celles-ci dans les systèmes alimentaires pendant les transformations technologiques, les préparations culinaires, la conservation et la consommation.

8.2. Classification

Les propriétés fonctionnelles des protéines est le résultat d'interactions moléculaires de ces derniers avec leur environnement (autres molécules, pH, température ...). Ces propriétés sont généralement classées en trois groupes:

a) Les propriétés d'hydratation qui sont dues aux interactions protéine-eau: absorption, rétention d'eau, gonflement, solubilité, viscosité;

b) Les propriétés de texture dues aux interactions protéine-protéine: précipitation, coagulation, gélification;

c) Les propriétés de surface qui s'expliquent par des interactions protéine-molécule peu polaire ou protéine-molécule gazeuse: *propriétés émulsifiantes* et *moussantes*. Ces propriétés sont très fortement influencées par l'état de dénaturation, le pH et les sels présents ainsi que par les traitements servant à la préparation des ingrédients ou intervenant après incorporation dans les aliments.

● **Propriétés émulsifiantes:** les protéines sont d'excellents émulsifiants pour trois raisons: abaissement de la tension interfaciale eau/huile, formation d'un film rigide interfacial et stabilisation électrostatique, stérique ou osmotique.

● **Propriétés moussantes:** impliquent une capacité à former une mousse fine, dont les bulles sphériques seraient de petit diamètre et de faible densité ($< 0,2 \mu\text{m}$), et l'aptitude à stabiliser la mousse en empêchant le drainage de la phase aqueuse située entre les bulles par la formation d'un film protéique épais hydraté et d'une phase continue visqueuse.

La stabilisation des mousses et émulsions peut être effectuées par l'incorporation d'ingrédients qui accroissent la rigidité et la fermeté du film interfacial et la viscosité de la

phase aqueuse continue; ce rôle est facilement rempli par les polysaccharides (alginates, carraghénanes...) ou à partir de la gélatine.

Le tableau suivant résume les principales utilisations alimentaires des ingrédients laitiers en fonction de leurs propriétés organoleptiques. En dehors de ces utilisations, les protéines laitières peuvent avoir des fonctions nutritionnelles et thérapeutiques. Sous forme d'hydrolysats de concentrés de protéines de lait (CPL) et ces préparations servent d'apport protéique pour les sujets dénutris ou atteints d'insuffisance digestive. En diététique infantile, sous forme hydrolysée, les protéines du lait constituent un apport azoté adapté à l'alimentation des nourrissons. Enfin, les protéines du lait ont d'importantes potentialités en cosmétique et hygiène bucco-dentaire (propriétés hydratantes, bactériostatiques) et en thérapeutique (propriétés antibactériennes des immunoglobulines, propriétés régulatrices de la faim, du sommeil, de la tension artérielle... grâce à des peptides issus des caséines).

Tableau: Principales propriétés fonctionnelles des protéines du lait .

Propriétés	Caséines	Protéines du lactosérum
Solubilité	- Insolubles à pH 4,6	- Très solubles à tous les pH. - Insolubles à pH 5 si thermodénaturées.
Viscosité	- Solutions très visqueuses à pH neutre et alcalin. - Viscosité minimale au pHi (4,6).	- Solutions peu visqueuses sauf si thermodénaturées.
Hydratation	- Rétention d'eau élevée avec formation de colle à forte concentration. - Minimum au pHi.	- Rétention d'eau s'accroissant avec la dénaturation.
Gélification	- Pas de gélification thermique sauf en présence de calcium ou de polysides. - Gélification de la micelle par la chymosine.	- Thermogélification à partir de 70°C influence du pH et des sels.
Propriétés émulsifiantes	- Excellentes propriétés émulsifiantes surtout à pH neutre et alcalin.	- Bonnes propriétés émulsifiantes sauf à pH 4 et 5 si thermodénaturées
Propriétés moussantes	- Bon foisonnement mais faible stabilité des mousses.	- Bon foisonnement et excellente stabilité des mousses.
Rétention d'arômes	- Bonne rétention d'arômes	- Rétention très variable avec l'état de dénaturation.

9. Protéines de l'œuf: propriétés et utilisation

Les propriétés fonctionnelles des protéines de l'œuf et leurs utilisations dans les industries agro-alimentaires sont résumées dans le Tableau suivant.

Tableau: Aperçu des propriétés fonctionnelles de l'œuf et leur utilisation dans l'industrie alimentaire

Œuf et composants	Propriétés fonctionnelles	Produits de substitution	Applications industrielles
Œuf entier			
Nombreux composés volatiles	Pouvoir aromatique		Toutes les industries alimentaires
Protéines coagulables	Pouvoir coagulant	Carraghénates, alginates, amidons modifiés, agar agar	Biscuiterie, pâtisserie, charcuteries
Protéines	Pouvoir liant	Polysaccharides, pectines, gélatines, gommes, protéines	Glaces, pâtes alimentaires, charcuteries
Blanc d'œuf			
Globulines, lysozyme, ovomucine, ovalbumine	Pouvoir moussant	Caséines et caséinates, protéines de lactosérum, plasma, isolat de pois	Biscuiterie, pâtisserie, confiserie, plats cuisinés
Protéines	Pouvoir anti-cristallisant	Polysaccharides	Confiserie
Conalbumine, ovalbumine	Pouvoir coagulant		Pâtisserie, charcuterie
Lysozyme	Propriétés antitrypsiques et antibactériennes		Industrie alimentaire (dont laitière), pharmaceutique
Conalbumine	Propriétés chélatantes (transport des substances minérales dans l'organisme)		Industrie pharmaceutique (entre autres)
Ovomucoïde, ovoinhibiteur	Propriétés antitrypsiques		Industrie pharmaceutique (entre autres)
Avidine, flavoprotéine	Intérêt nutritionnel (transport respectif de la biotine et de la riboflavine)		Industrie pharmaceutique (entre autres)
Jaune d'œuf			
Lécithines (phospholipides), lipoprotéines, cholestérol	Pouvoir émulsifiant	Lécithines de soja (moins onéreuses que la lécithine d'œuf), protéines laitières (caséines et caséinates)	Biscuiterie, pâtisserie, charcuterie, sauces émulsionnées, crèmes glacées + produits cosmétiques (pour la lécithine)
Xanthophylles, caroténoïdes	Pouvoir colorant	Colorants	Biscuiterie, pâtisserie, entremets, pâtes alimentaires, sauces émulsionnées
Phosvitine	Source de phosphore, propriétés antioxydantes		

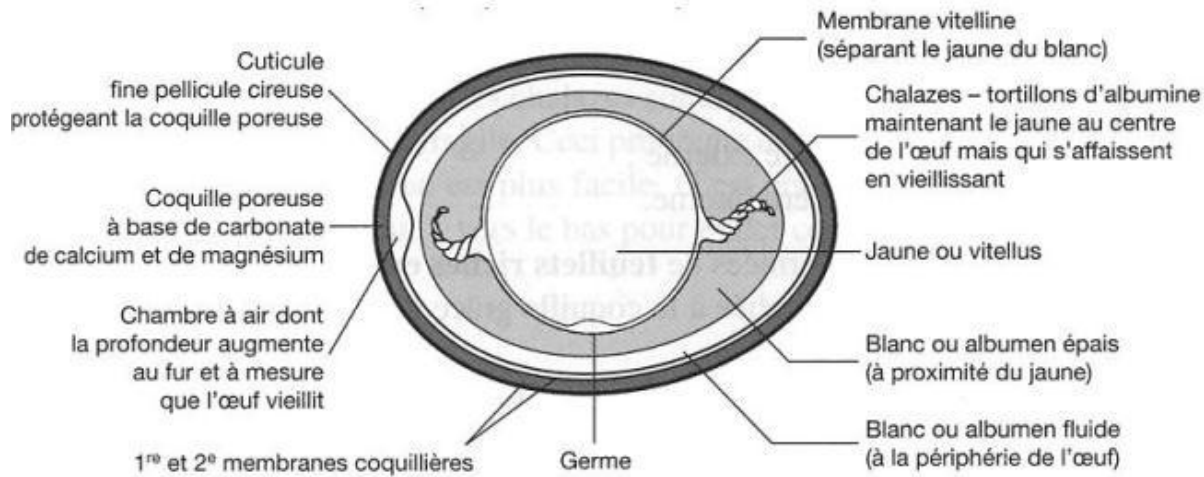


Figure.16. Coupe schématique d'un œuf.

A. Les protéines du blanc d'œuf :

Le pH de blanc d'œuf frais est 7.4, les protéines de blanc d'œuf sont :

❖ **Ovalbumine** : La principale protéine de blanc d'œuf 60%, phospho-glycoprotéine (hydrophobe) sensible à la dénaturation et en particulier à l'exposition à l'interface air-eau.

- Son composition en acides aminés remarquablement en équilibre, elle a des propriétés gélifiantes et moussantes.

❖ Conalbumine (ovotransferrine) :

Sa masse moléculaire est presque le double de celle de l'ovalbumine ;

- Possède une action inhibitrice sur certaines bactéries (activité antimicrobienne et bactéricide);
- Possède une activité antivirale et antifongique avec une activité antioxydante ;
- Facilement dénaturé par la chaleur (glycoprotéine très thermosensible), congelé vers 63°C.

❖ Ovomucoïdes :

- Glycoprotéine riche en glucosamine ;
- Très soluble dans l'acide trichloro-acétique ;
- Résistante aux traitements thermiques à pH acide ;
- Possède une action antitrypsine, activité antimicrobienne, antivirale et antiinflammatoire ;

Le blanc d'œuf congelé (dure) se digère rapidement dans l'intestin du fait de la dénaturation de ce facteur.

❖ Lysozyme :

- Protéine basique existant sous deux formes : glycosylée (forme majoritaire) et non glycosylée (forme secondaire) ;
- Possède une activité antivirale, antimicrobienne et une activité antioxydante ;
- nombreuses application en particulier comme conservateurs en agroalimentaire.

B. les protéines du jaune d'œuf

le jaune d'œuf est une dispersion des particules dans une phase aqueuse continue à plasma. Les particules se séparent par centrifugation. Elles sont constituées d'environ 60% de protéine.

❖ Phosvitine

- Phosphoprotéine fortement phosphorylé, est une réserve de phosphore par l'embryon aussi une source de fer ;
- Représente environ 3% de matière sèche du jaune et 11 à 12% de ses protéines totales.

❖ Lipovitelline

- Elle est de type HDL (lipoprotéines de haute densité) peu phosphorylé ;
- la teneur en lipides est en moyenne 20%, 2/3 phospholipide et 1/3 lipide ;
 - 2/3 de lipide sont neutres avec 4% de choline.

❖ Livitines

- Protéines globulaires non liées à des lipides, présentent dans le plasma ;
- Représentent 11% de la matière sèche du jaune et 30% des protéines.

❖ Lipoprotéines de faible densité (LDL)

- Comprennent un noyau de lipides neutres (triglycérides et esters de cholestérol) entouré par une monocouche de phospholipides et de protéines ;
- Représentent 2/3 de matière sèche du jaune et 22% de ses protéines.

C. Utilisation des protéines de l'œuf

❖ Pouvoir coagulant / gélifiant de l'œuf

Les protéines sous l'action de divers agents physiques (chaleur, action mécanique) et agents chimiques (ions inorganiques, matériaux lourds) forment un réseau protéique qui retient l'eau et les substances solubles.

❖ Pouvoir anti-cristallisant et moussant de blanc:

L'addition de 3% de blanc d'œuf permet de limiter la formation de cristaux saccharose.

Le lysozyme est considéré comme responsable de la formation de musses lors d'un battage (blanc monté en neige) alors que l'ovomucoïde en contrôlerai la stabilité.

❖ Pouvoir émulsifiant de jaune:

Le pouvoir émulsifiant du jaune est dû à la présence dans celui-ci de phospholipide (lécithine en particulier), de plus, la viscosité du jaune confère de la stabilité aux émulsions.

- Le jaune a également un **pouvoir colorant** résultant de la variation de sa pigmentation selon l'alimentation des poules.

IV. les propriétés fonctionnelles des protéines laitières

A. Définition : Sans indication de l'espèce, le mot lait désigne le lait de vache. " Il est le produit intégrale de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrit et non surmenée, il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum".

D'un point de vue physique, le lait est constitué d'un système complexe, système à plusieurs phases :

- **Phase dispersante :** Lactosérum (lactose+ protéine globulaire) ;
- **Phase particulaire1 :** Emulsion des globules de matière grasse ;
- **Phase particulaire2 :** Suspension colloïdale des micelles protéique (caséine+protéine+ sels minéraux, phosphate et calcium).

B. Propriétés fonctionnelles

Comme les traitements technologiques modifient la structure tridimensionnelle et par suite les propriétés fonctionnelles, il convient, pour extraire les protéines du lait d'utiliser des méthodes douces qui limitent la dénaturation: - ultracentrifugation des micelles de caséines; - ultrafiltration des protéines totales avec élimination du lactose et des sels; précipitation par les polyphosphates ; - électrodialyse avec élimination des sels et d'un peu de lactose; - échange d'ions (CM cellulose, Séphérosil).

Malgré ces méthodes, la dénaturation peut se produire par modification même momentanée du pH, de la concentration en sels ou de la température.

❖ La solubilité

Cette propriété est particulièrement importante car elle est en relation avec les autres propriétés telles que la viscosité, l'aptitude à la gélification, à l'émulsification ou au moussage. Elle est aussi un critère de dénaturation. Elle dépend: - du pré-traitement de séparation; - de la méthode de concentration: les procédés d'obtention par précipitation (sels ou chauffage) donnent aux concentrés une moins bonne solubilité (surtout à pH acide) ; - des autres ions.

La caséine précipite pour des concentrations en NaCl supérieures à 15 % alors qu'il n'en est rien pour les protéines de LS (concentration élevée par rapport au salage [2 %]) ; - du pH. Seule la caséine perd sa structure native au pH_i avec la libération de submicelles car le phosphate du Ca qui stabilise les micelles se dissout à pH 5,2 ; - de la température. A partir de 65°-70°C, les protéines de LS perdent leur solubilité par dénaturation.

❖ Absorption d'eau – Gonflement

Les protéines de LS atteignent un maximum d'absorption assez faible après 5 à 10 mn de contact. Les caséinates, au contraire, fixent plus d'eau mais après 1 h de contact. Ce gonflement est peu modifié par le pH ou la concentration en sels. Un chauffage à 80° C durant 45 s des protéines de LS améliore cette capacité de fixation (utile en pâtisserie et charcuterie) ce qui est probablement dû à la baisse de solubilité.

❖ **Floculation:** elle résulte de la formation d'une structure tridimensionnelle contenant de l'eau qui provient elle-même de l'équilibre entre interactions de répulsion électrostatique et interactions d'attraction de Van der Waals.

❖ **Coagulation:** elle peut être considérée comme une agrégation désordonnée telle qu'elle se produit au cours d'une dénaturation thermique ou de la formation de para-phosphocaséinate de Ca.

❖ **Gélification:** elle implique la formation de structures continues plus ou moins ordonnées avec déroulement, déplissement de la chaîne protéique (avec apparition de chaînes latérales d'acides aminés capables de former des liaisons hydrogènes et ioniques), et rupture de liaisons intramoléculaires, puis réarrangement par liaisons intermoléculaires.

En chauffant des solutions de protéines de LS de concentration supérieure à 8 %, un gel se forme après refroidissement. Les caséines ne peuvent former de gel que sous forme de micelles seules ou de para-phosphocaseinate de Ca.

❖ **Propriétés émulsifiantes :** Ces propriétés sont dues à la faculté de réduire les tensions inter faciales entre composants hydrophiles et hydrophobes d'un aliment. Elles sont directement liées à la solubilité de la protéine dans l'eau. Les protéines ayant ces propriétés de surface auront un potentiel d'utilisation important dans les aliments contenant eau et graisses (charcuterie, viande, salade, condiment) : ce sont surtout les protéines de soja, de levure, les caséinates et de plus en plus les protéines de LS. Ces propriétés sont définies par la capacité émulsifiante (quantité d'huile pouvant être émulsifiée par unité de masse de protéine avant inversion de phase) et la stabilité (aptitude à garder l'émulsion inchangée pendant un certain temps).

❖ **Propriétés moussantes :** Très appréciées en pâtisserie (cakes, soufflets, meringues) ces propriétés résultent d'un déplissement partiel des protéines qui s'orientent à l'interface eau/air (propriétés amphipolaires). Un déplissement complet conduirait à une dénaturation et à une précipitation de la mousse. Les protéines laitières ont une faible capacité moussante par rapport au blanc d'œuf, aux protéines de soja ou du sang. Les protéines dénaturées ont en général de bonnes propriétés moussantes.

❖ **Propriétés d'écoulement (ou hydrodynamiques) :** Trois comportements peuvent être observés: - protéines très solubles avec capacité de fixation d'eau faible: solutions peu visqueuses (LS) ;

- protéines solubles avec capacité de fixation d'eau élevée: solutions très visqueuses composées de particules partiellement solubles et gonflées (caséinates de Na) ; - protéines peu solubles et fixant peu d'eau: solutions visqueuses à faible concentration (protéines de soja).

Ces propriétés sont modifiées par le pH, la concentration en sels et les traitements thermiques (début de gélification). Toutes ces propriétés peuvent aussi être modifiées par des réactions enzymatiques (protéolyse, déphosphorylation) et des réactions chimiques (addition de chaînes latérales ou blocage de celles-ci). Ces traitements de modification chimique ou enzymatique peuvent avoir 3 buts: - arrêter la réaction de dégradation; - améliorer la valeur nutritive; - améliorer les propriétés physiques;

V. Les ingrédients protéiques

Pour avoir du succès, un ingrédient protéique doit répondre aux critères suivants :

- Posséder de bonnes propriétés fonctionnelles et nutritionnelles ;
- Avoir une concentration protéique élevée ;
- Supporter les étapes de transformation, conditionnement et conservation sans changement majeur ;
- Etre compatible avec les autres ingrédients du produit ;
- Etre dépourvu de micro-organismes pathogènes et de facteurs toxiques ou antinutritionnels ;
- Etre produit à faible cout et avec une bonne reproductibilité.

❖ Les ingrédients protéiques laitiers

Les ingrédients laitiers intégrés dans la composition d'un aliment sont principalement sous forme de poudre. Il peut s'agir de poudre de lait ou de lactosérum séchés sans traitement préalable. Cependant, la tendance est à l'utilisation d'ingrédients provenant de la concentration et du fractionnement du lait écrémé ou du lactosérum.

- Poudre de lait entier et poudre d lait écrémé (intégrée à différents produits en raison de sa solubilité, sa capacité émulsifiante et de rétention d'eau).
- Poudre de lactosérum : le lactosérum résultant de la fabrication fromagère contient environ 20% des protéines laitières totales.
- Les caséines et les caséinates.
- Les cryo-caséines : plus de 95% de précipité des caséines peut être isolé à partir du lait écrémé par ultrafiltration de lait écrémé suivie d'une cryo-déstabilisation (congélation du retentât à -8°C) et d'une centrifugation du retentât décongelé à 5000g pendant 10min.
- Les concentrés des protéines du lactosérum.