

# **Chapitre : Dénaturation des protéines (cas du processus de coagulation du lait)**

## **I. Dénaturation des protéines**

En industries agroalimentaires, les protéines occupent une place de choix tant par leur valeur nutritionnelle que par leurs propriétés techno-fonctionnelles.

### **I.1. Concept dénaturation des protéines**

La conformation d'une protéine est liée à la structure secondaire et tertiaire, elle est réalisée par l'intermédiaire de liaisons faible énergie donc fragiles. La dénaturation résulte d'une modification des structures quaternaire, tertiaire et secondaire sans fragmentation de la chaîne peptidique. La dénaturation des protéines passe par des structures éphémères qui peuvent aboutir à un déplissement total de la molécule.

Cette dénaturation modifie les propriétés des protéines :

- Baisse de la solubilité par démasquage de groupes hydrophobes
- Diminution des propriétés d'hydratation
- Perte d'activité biologique
- Augmentation de la susceptibilité à la protéolyse
- Accroissement de la viscosité intrinsèque

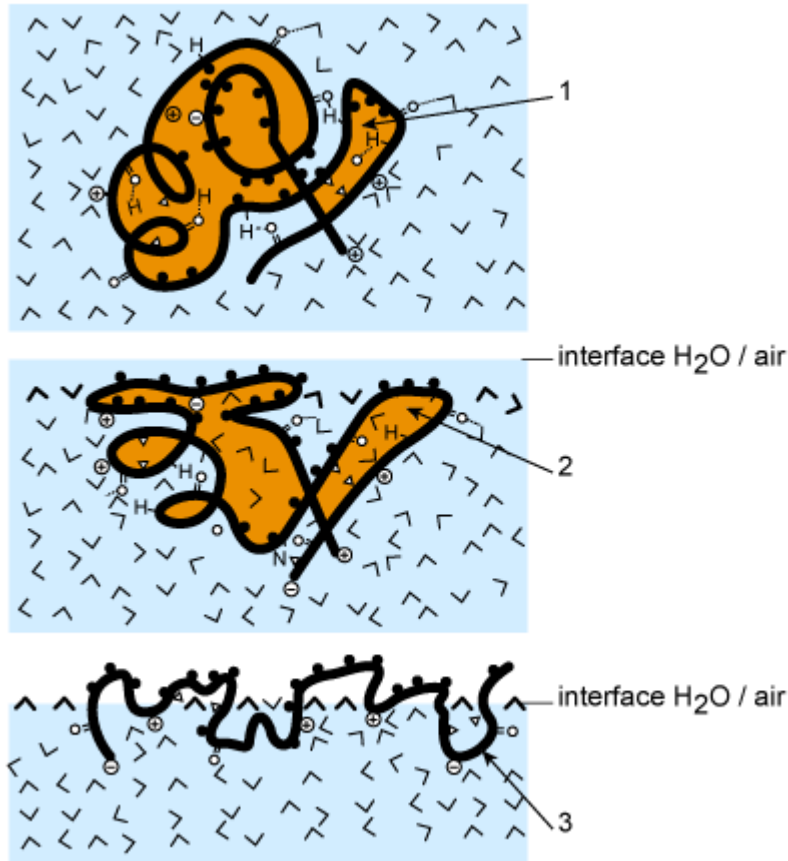
### **I.2. Agents de dénaturation**

#### **I.2.1. Agents physiques de dénaturation**

##### **a. Action de la chaleur**

Dans une réaction chimique lorsque la température augmente de 10°C la vitesse de la réaction est augmentée d'un facteur 2. La dénaturation des protéines s'effectue avec des vitesses qui peuvent être multipliées par un facteur 600. La présence d'eau favorise la dénaturation.

Dans un système présentant une phase hydrophile et une phase hydrophobe les protéines dénaturées sous l'action de la température vont venir se placer à l'interface hydrophile/hydrophobe. C'est ce qui est représenté dans le schéma suivant :



- *Dénaturation thermique d'une protéine glandulaire*
- 1 : protéine nature ; 2- protéine partiellement dépliée ; 3-protéine dénaturée

**Remarque:** Le traitement thermique peut engendrer de profonde modification comme par exemple la destruction des acides aminés soufrés avec production d'H<sub>2</sub>S, de diméthylsulfure, d'acide cystéique (cas des protéines laitières, de la viande, de la chair de poisson...), la destruction de la sérine, de la thréonine, de la lysine. Il peut y avoir des réactions de désamination si la température est supérieure à 100°C.

Si la dénaturation a lieu à haute température, il peut y avoir transformation des acides aminés de la série L à la série D.

En milieu alcalin, certains acides aminés sont détruits : Dans le cas de la lysine on obtiendra la lysinoalanine. Cette molécule est éliminée à part égale par les fèces et les urines.

## b) Action du froid

Les basses températures peuvent dénaturer les protéines (enzymes). Des protéines sont susceptibles de s'associer au cours des traitements de congélation comme les gliadines, les protéines aviaires, les protéines du lait...

Une protéine possédant un rapport acide aminé hydrophobe/acide aminé polaire élevé sera très susceptible à la dénaturation au froid.

### **c) Traitement mécanique**

Les forces de cisaillement mises en œuvre lors du pétrissage ou du laminage peuvent dégrader les structures secondaires des protéines et entraîner une dénaturation (perte de l'hélicité  $\alpha$ ).

### **d) Pression hydrostatique**

La dénaturation des protéines intervient dès que la pression est supérieure à 50 kPa : c'est le cas de l'ovalbumine, de la trypsine. Le schéma ci-après décrit le processus général de dénaturation.

## **I.2. Agents chimiques de dénaturation**

Plusieurs facteurs peuvent intervenir ; les pH extrêmes qui entraînent un déplissement de la molécule par ionisation de cette dernière et phénomène de répulsion des fragments peptidiques dévoilés.

La perte des ions associés à une protéine entraîne la dénaturation des molécules. Les solvants organiques modifient la constante diélectrique du milieu et, par conséquent vont modifier la répartition des charges donc des forces électrostatiques qui maintiennent la cohésion de la structure protéique.

Les solvants apolaires peuvent réagir avec les zones hydrophobes et rompre l'interaction hydrophobe qui maintient la conformation de la protéine.

## **II. Processus de coagulation du lait**

À un niveau industriel, il est important de stabiliser la structure de protéines d'intérêt dans le produit final, afin de lui garantir ses qualités et de maîtriser les processus se produisant à l'interface eau/lipides lieu de l'interaction entre les protéines et les lipides. C'est notamment le cas lors de la fabrication de produits laitiers. Les caséines sont principalement associées au phosphate de calcium.

Dans le lait les caséines forment des agrégats hétérogènes solubles composés de polymères des différentes fractions caséiniques associés. On retrouve les caséines sensibles au calcium telles les caséines  $\alpha_{S1}$ ,  $\alpha_{S2}$  et  $\beta$  qui sont phosphorylées. On trouve également les caséines  $\kappa$  qui sont insensibles au calcium, et possèdent des régions hydrophiles. En particulier le caséinomacropéptide, permet de stabiliser toutes les caséines en solution sous formes de complexes stables appelés micelles.

Ces micelles sont donc des assemblages hétérogènes de caséines. Leur formation a lieu grâce aux interactions hydrophobes entre les caséines  $\alpha_{S1}$ ,  $\alpha_{S2}$ ,  $\beta$  et  $\kappa$  et en fonction de leur taille

Les caséines sont de nature hydrophobes, et ne possèdent pas de ponts disulfures ce qui leur confère une grande flexibilité.

La coagulation du lait correspond à une déstabilisation de l'état micellaire originel des caséines du lait. Cette déstabilisation peut être réalisée de deux manières :

- soit par voie fermentaire à l'aide de bactéries lactiques contenues dans la flore indigène du lait et/ou apportées sous forme de ferments,
- soit par voie enzymatique à l'aide d'enzymes coagulantes, en particulier la présure. Les mécanismes d'action impliqués lors de la coagulation par voie fermentaire ou enzymatique

sont très différents au niveau de la micelle de caséine. Bien qu'ils conduisent tous deux à la formation d'un caillé, les propriétés rhéologiques de ce dernier restent caractéristiques du mode de coagulation.

### **a. Coagulation acide**

La fonction principale de ces bactéries est de dégrader le lactose pour produire de l'acide lactique. Ce dernier est libéré lors de la croissance des microorganismes et neutralise progressivement les charges électronégatives des caséines  $\kappa$ . La répulsion électrostatique entre les micelles de caséine diminue au fur et à mesure de l'enrichissement du milieu en ions  $H^+$ , puis disparaît provoquant ainsi un rapprochement et une agrégation des micelles de caséine.

### **b. La coagulation enzymatique**

Le mécanisme de la coagulation enzymatique est décrit en trois phases

La phase primaire est la phase enzymatique. Le caséinomacropéptide, qui constitue un fragment hydrophile et chargé de la caséine  $\kappa$ , est hydrolysé par l'action enzymatique de la présure et est éliminé dans le lactosérum. Le fragment de caséine restant et appelé *para* caséine  $\kappa$  et possède des propriétés hydrophobes.

La phase secondaire est le début du rapprochement des micelles. Cette phase démarre lorsqu'environ 85 à 90% des caséines  $\kappa$  sont hydrolysées. La *para* caséine  $\kappa$  va alors s'agréger aux caséines hydrophobes  $\alpha_{S1}$  et  $\alpha_{S2}$ . Les caséines  $\kappa$  formant le manteau hydrophile délimitant les micelles voient alors leur hydrophobicité augmenter. Les micelles de caséine perdent alors leur affinité pour la phase aqueuse et vont se rapprocher et s'agréger entre elles sous l'effet des interactions hydrophobes, faisant ainsi cailler le lait.

Cette phase correspond à la floculation proprement dite. C'est un phénomène dynamique qui se traduit par une modification importante des propriétés physiques du lait. Lorsque l'agrégation des micelles prend le pas sur la réaction d'hydrolyse, la taille des agrégats augmente rapidement et la viscosité s'accroît. Cela conduit à la formation de colloïdes de tailles importantes qui se rejoignent pour former une structure continue appelée le gel laitier.

La phase tertiaire est ce que l'on appelle la phase de réticulation du gel. Celui-ci devient de plus en plus organisé et structuré. Au niveau microscopique, on observe un accroissement des liaisons entre les micelles modifiées, principalement des interactions hydrophobes et électrostatiques, ainsi que la formation des ponts phosphocalciques. Elle correspond au niveau macroscopique au durcissement du gel.

Après la prise en gel intervient la phase d'égouttage qui correspond à l'expulsion d'une partie du lactosérum du gel.