

Bases physicochimiques du fractionnement & procédés associés

Thomas Croguennec

Agrocampus Ouest

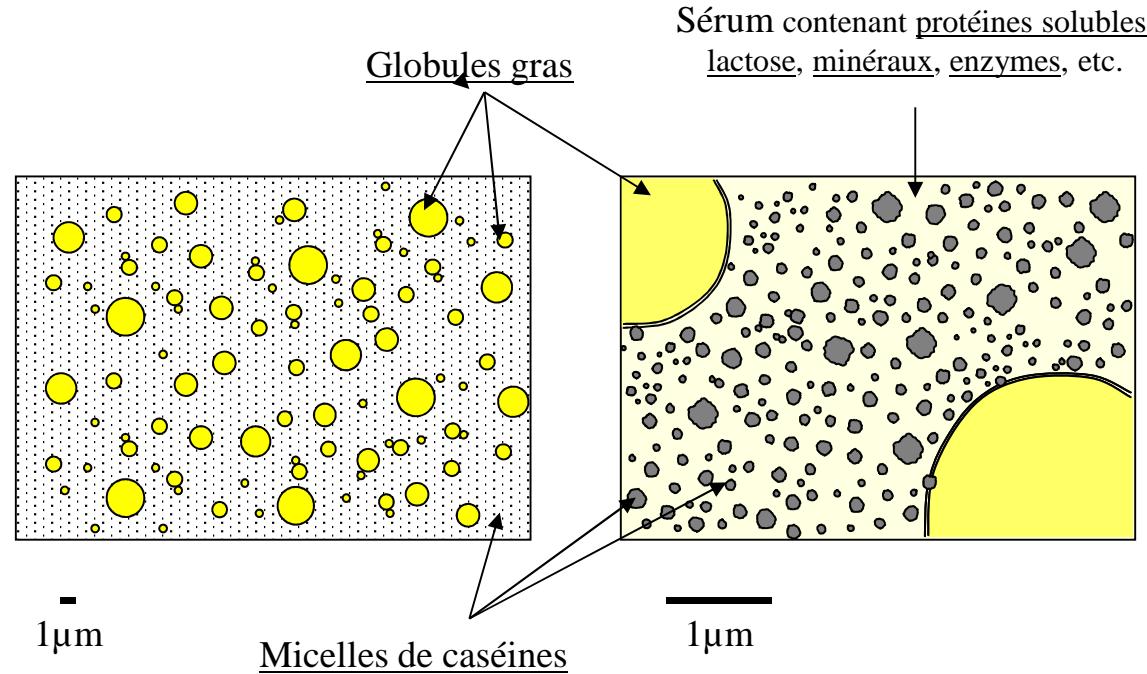
UMR *Science et Technologie du lait et de l'œuf*

Introduction

□ Le lait vu à différentes échelles

Le lait

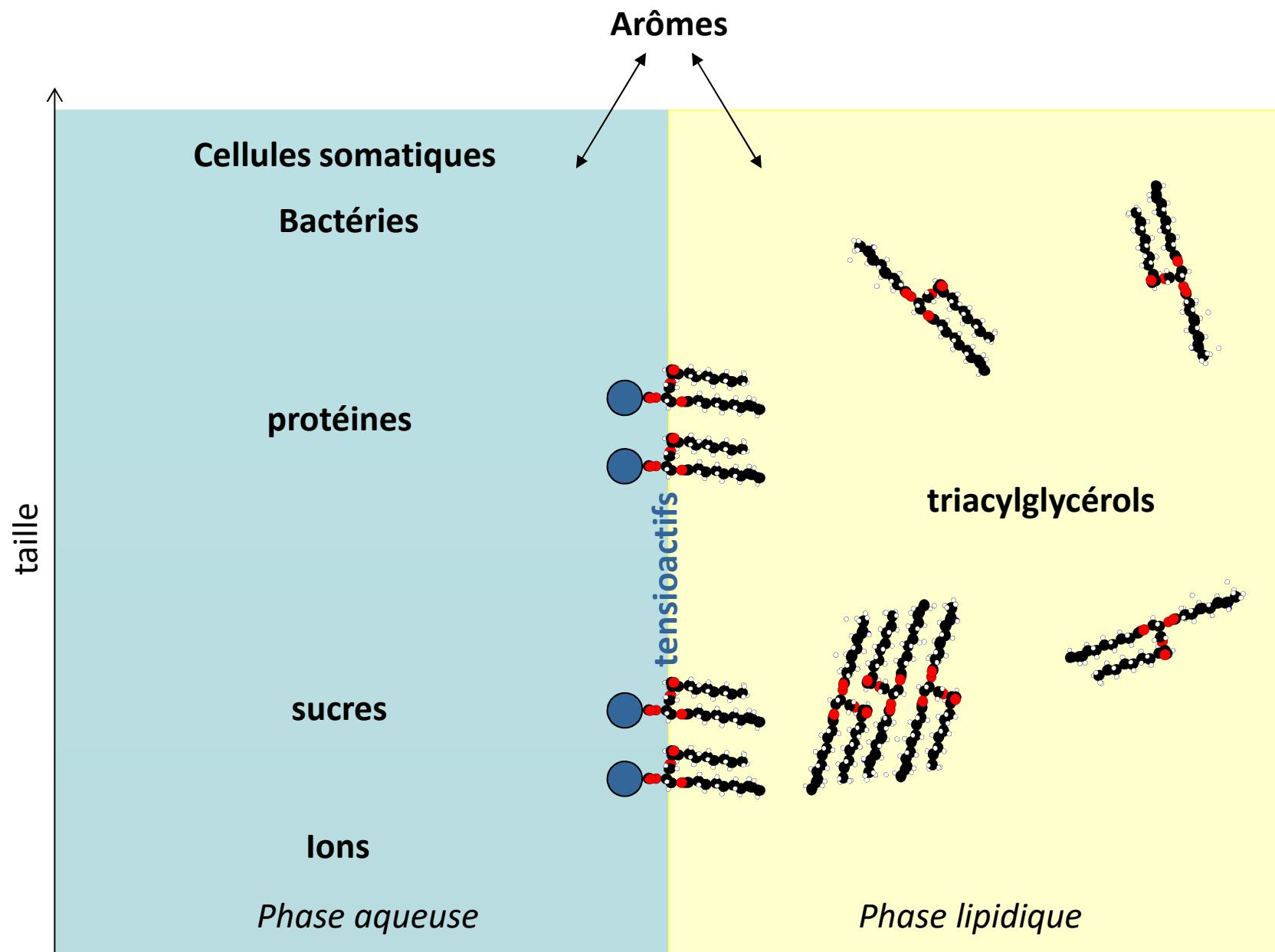
Composants	%
Eau	87,3
Lactose	4,8
Matière grasse	4,0
Protéines	3,2
Minéraux	0,7



Une composition

Une structure

Éléments dispersés (globules gras, colloïdes)
Éléments solubilisés (moléculaires)



Introduction

Les méthodes de préparation des ingrédients laitiers sont basées sur une ou des propriétés physicochimiques particulières du constituant à extraire :

- Isolation spécifique d'un constituants à partir d'un milieu complexe
- Concentration par élimination progressive des constituants non désirés

Séparation particulaire

particules naturelles

particules obtenues par agrégation d'éléments moléculaires

particules obtenues par cristallisation d'éléments moléculaires

particules obtenues par insolubilisation d'éléments moléculaires

Séparation moléculaire ou supramoléculaire de nature stérique

Séparation moléculaire de nature ionique

Séparation moléculaire par affinité

Extraction de molécules volatiles

Extraction de molécules lipophiles

Introduction

- Pour un composé ou une famille de composés → différentes méthodes disponibles
- Le choix d'une méthode de séparation dépend de :
 - ✓ Quantités à extraire
 - ✓ Rendement du procédé de séparation et pureté des fractions
 - ✓ Nombre d'étapes
 - ✓ Coût
 - ✓ Qualité des co-produits
 - ✓ Fonctionnalités des fractions
 - ✓ Cadre réglementaire ou cahier des charges
 - ✓ Considérations environnementales, etc.

Séparation particulaire

□ Particules naturelles (*Éléments dispersés du lait*)



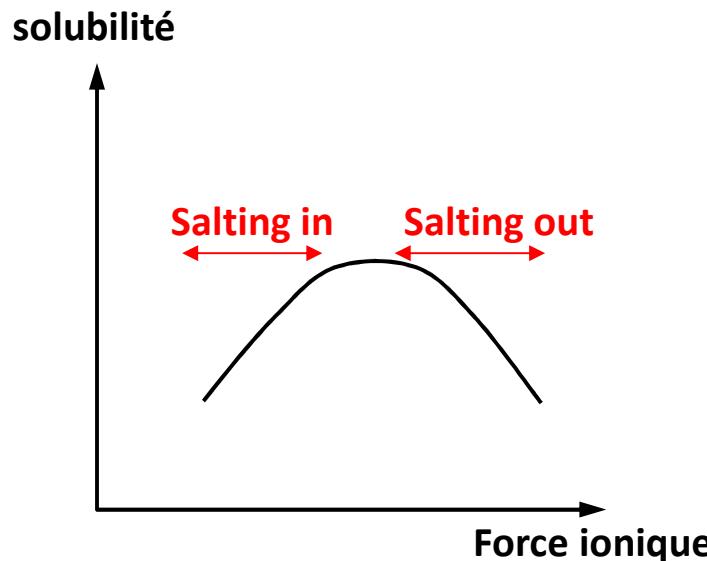
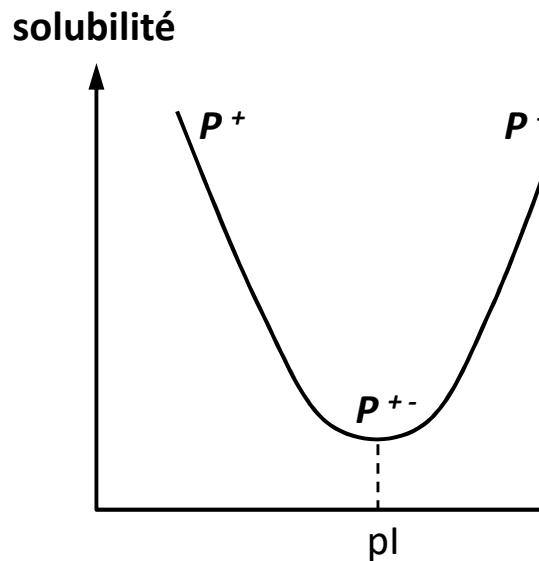
Masse volumique du lait, $\rho_0 = 1030 \text{ kg.m}^{-3}$

Loi de Stockes :
(*décantation, crémage*)

$$V = \frac{D^2}{18 \cdot \eta_0} \cdot (\rho - \rho_0) \cdot g$$

Séparation particulaire

- Particules obtenues par agrégation d'éléments moléculaires
 - Protéines
 - Phospholipides
- Agrégation des protéines à leur *pI* ou en augmentant la force ionique (salting out)



Caséines : déstabilisation des micelles par écrantage des charges de surface

- ↘ pH (+ solubilisation du phosphate de calcium colloïdal)
- + Ca^{2+}

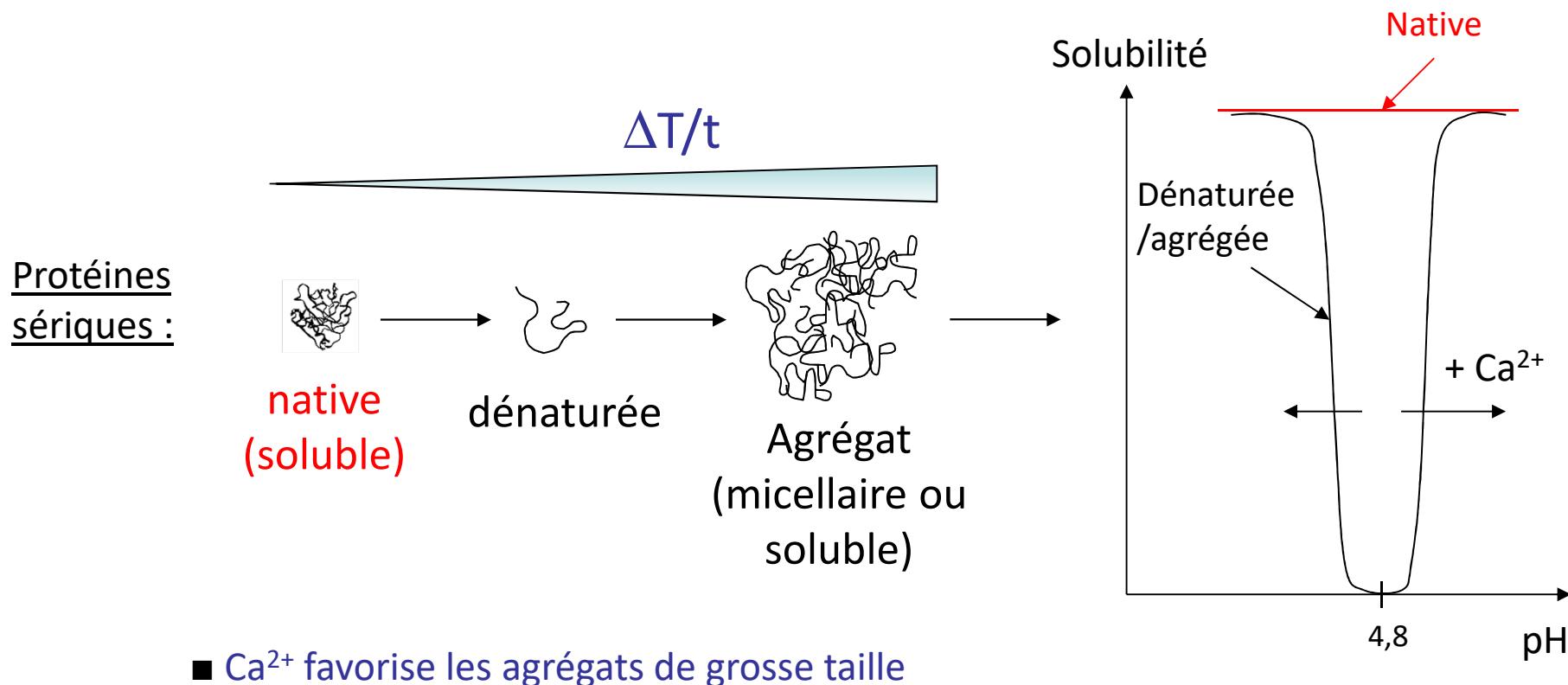
Séparation particulaire

□ Particules obtenues par agrégation d'éléments moléculaires

- Protéines

- Phospholipides

✓ Agrégation des protéines à leur *pI* après dénaturation/agrégation thermique



Séparation particulaire

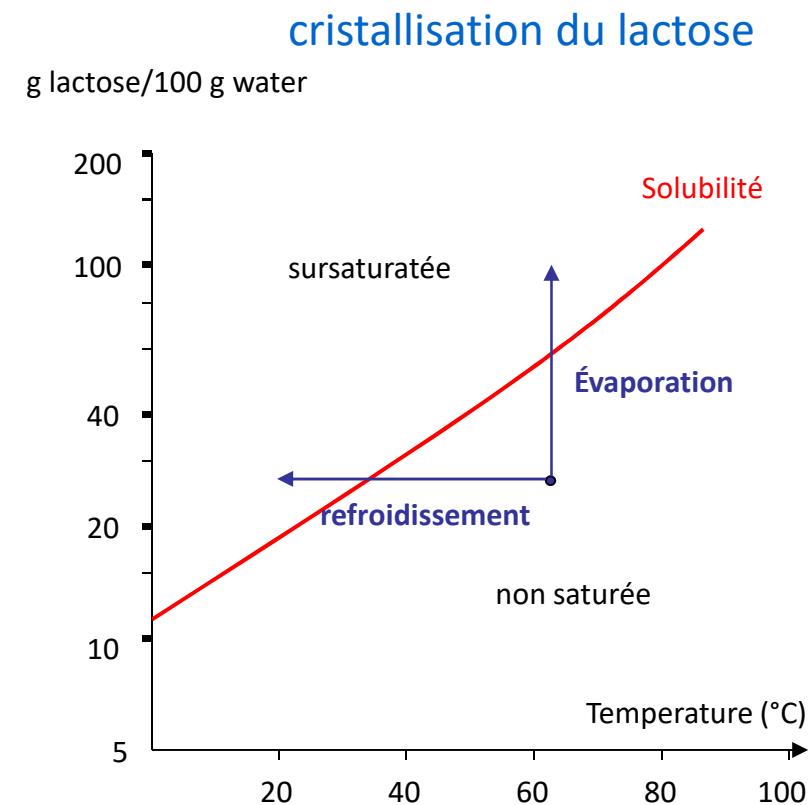
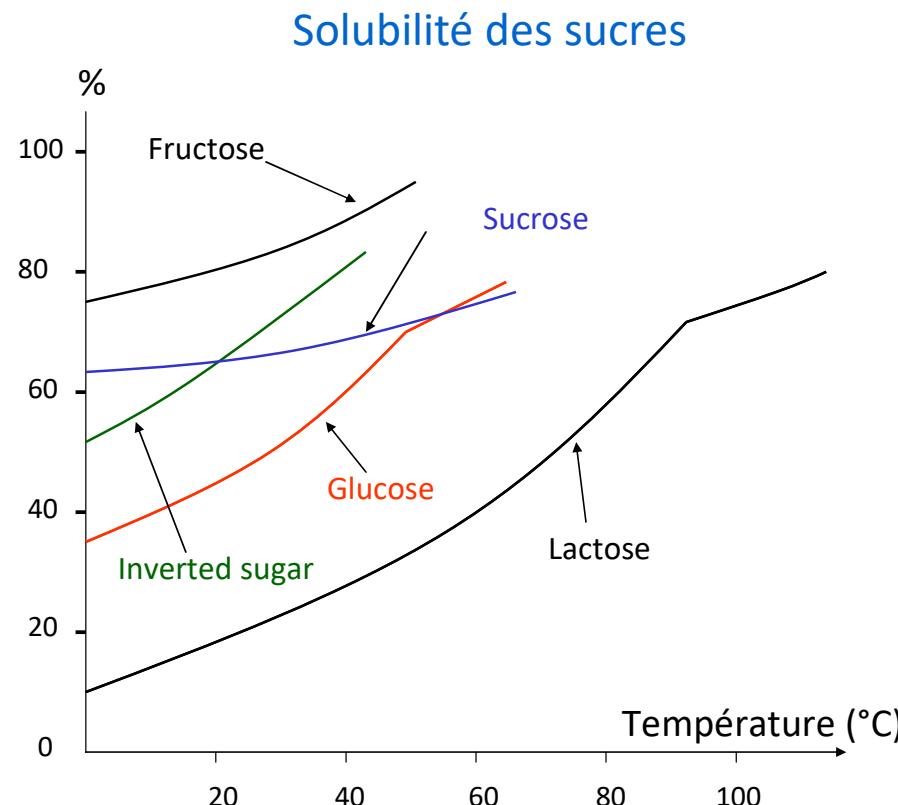
Particules obtenues par cristallisation d'éléments moléculaires

→ lactose

→ sel

→ matière grasse

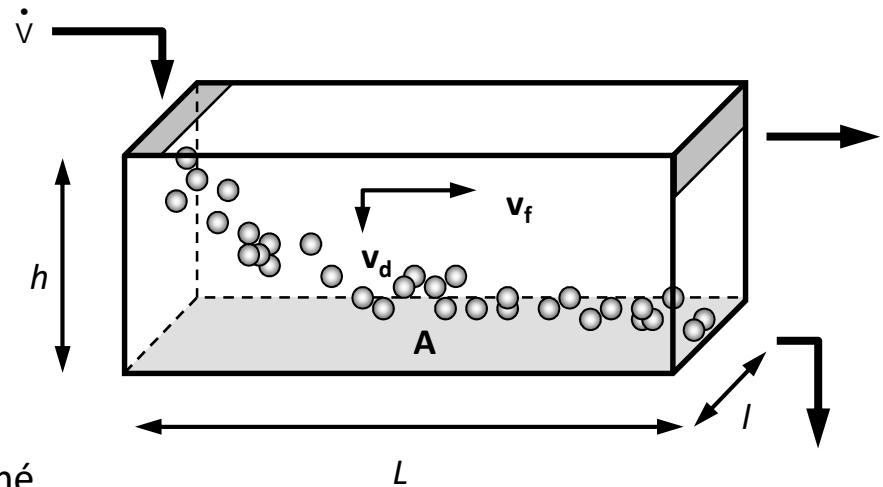
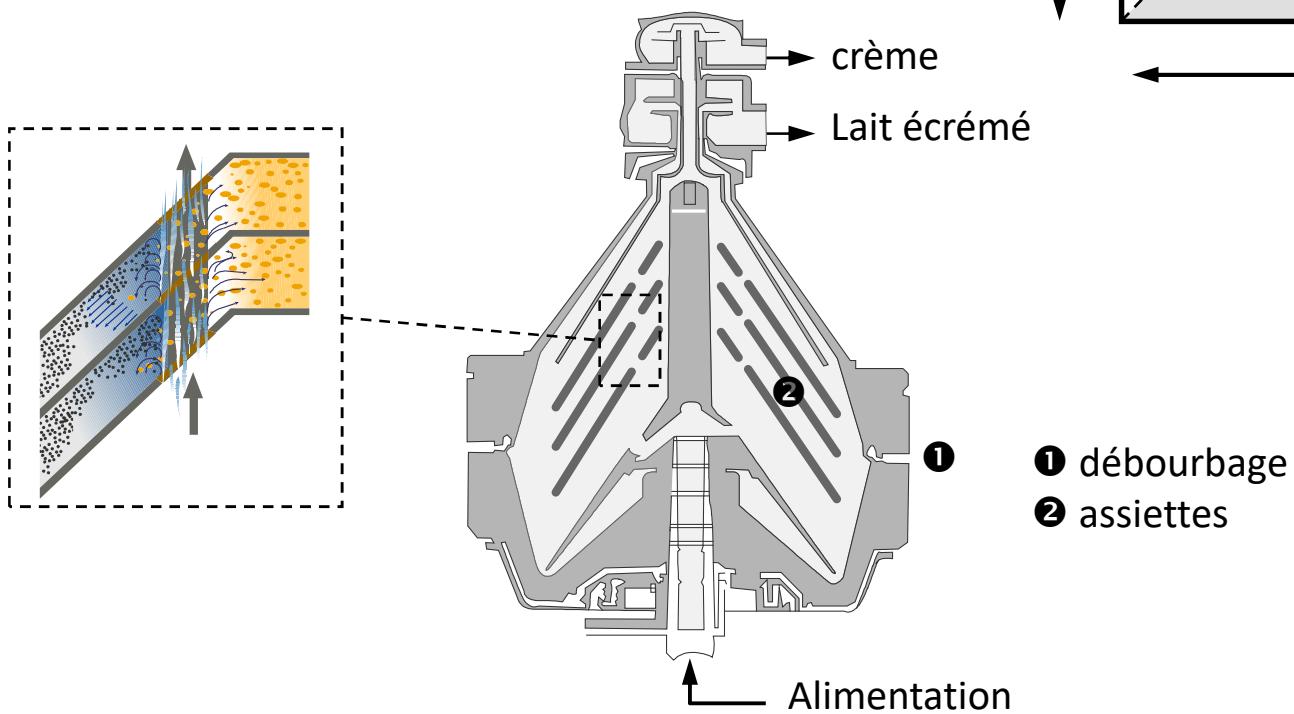
Cristallisation déclenchée par modification de la température et/ou du niveau de concentration



Séparation particulaire

❑ Procédés de séparation

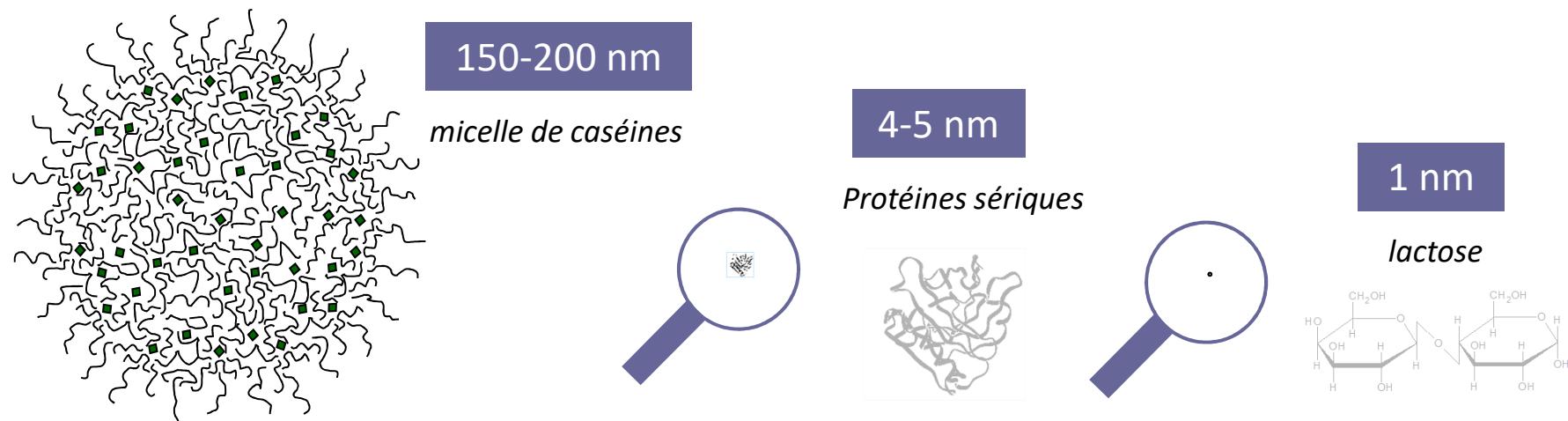
- décantation
- centrifugation



- ① débourbage
- ② assiettes

Séparation moléculaire de nature stérique

- Structures moléculaires et supramoléculaires ont des tailles différentes
 - Séparation aisée et efficace quand il existe une différence de taille importante entre les structures
(Ex: séparation protéine/sucre, protéine/sels, etc.)

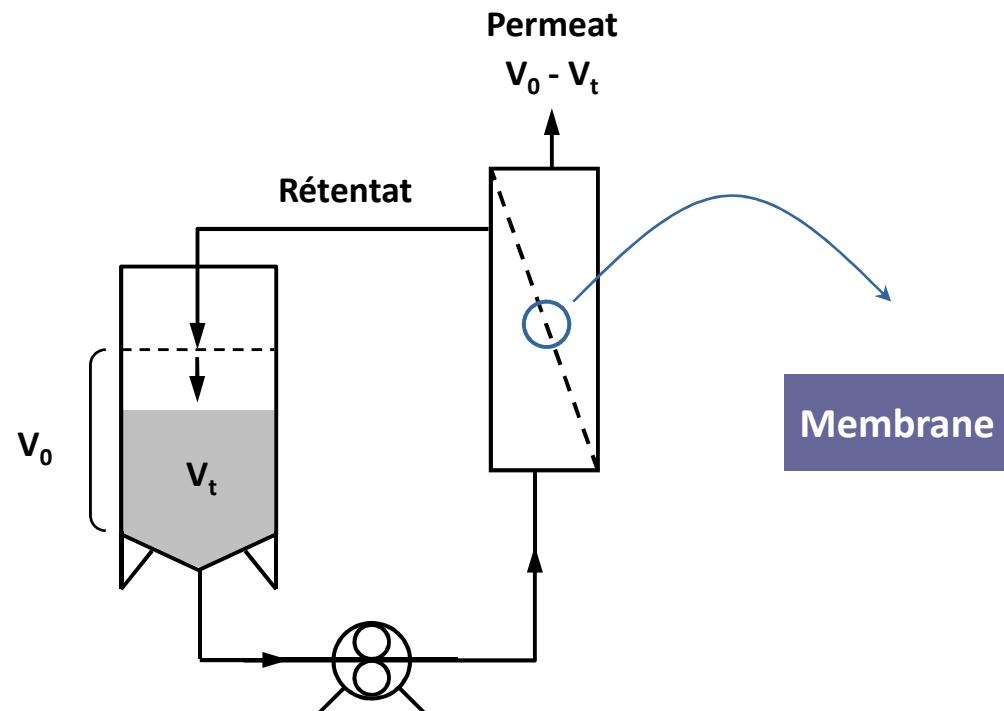


- lorsque la taille des molécules à séparer est proche, une 1^{ère} étape est nécessaire :
 - dégradation d'un des composés
(Ex: séparation galactose/glucose après dégradation du glucose par des agents biologiques; hydrolyse des protéines pour la purification des phospholipides)
 - augmenter/diminuer la taille des composés à éliminer ou à concentrer (indépendant de p)
(Ex: phosphopeptides, caseine β , α -lactalbumine, CMP/GMP)

Séparation moléculaire de nature stérique

□ Procédés de séparation

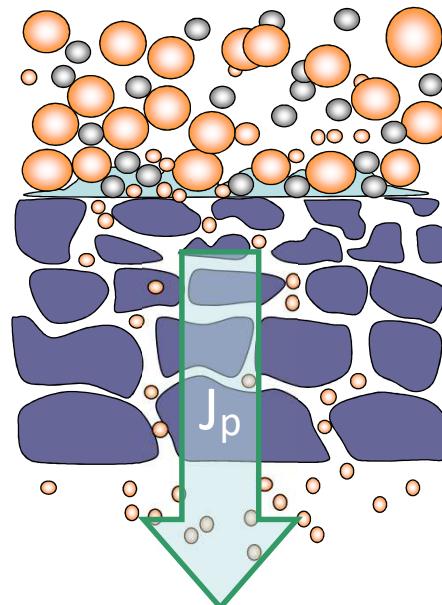
- Microfiltration, ultrafiltration, nanofiltration, osmose inverse



Ex: séparation micelle de caséines /protéines solubles, etc.

- Chromatographie d'exclusion de taille

Retentat → fraction concentrée



Permeat → fraction traversant la membrane sous l'effet d'un gradient de pression

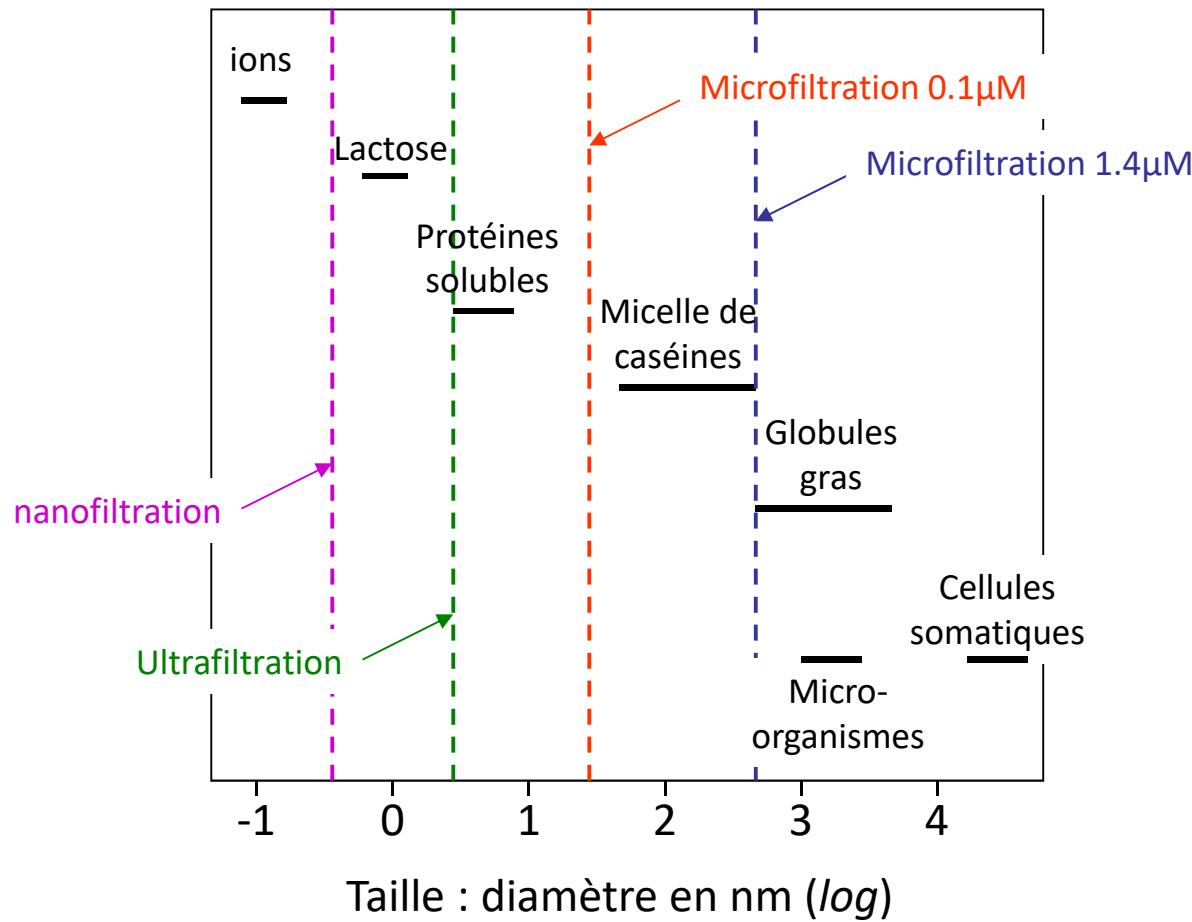
Séparation moléculaire de nature stérique

□ Procédés de séparation

	Osmose inverse OI	Nanofiltration NF	Ultrafiltration UF	Microfiltration MF
Ø pores (nm)	< 0,5*	≈ 1	10 - 100	100 - 10 000
Pression Transmembranaire (10 ⁵ Pa)	30 - 80	10 - 40	2 - 10	0,2 - 1
Particules Colloïdes Micro-organismes	MF	UF	NF	RO
Protéines				
Composés Organiques				
Minéraux				
H ₂ O				
	↓	↓	↓	↓
	Clarification, élimination des micro-organismes	Séparation des protéines	déminalérisation, séparation de composés organiques concentration	

Séparation moléculaire de nature stérique

□ Procédés de séparation



Séparation moléculaire de nature ionique

De nombreuses molécules possèdent des groupements chargés (positif ou négatif) dans leur structure. Elles ont la possibilité d'établir des interactions électrostatiques avec un support chargé (ex: protéines, ions)

Le nombre de charge, la densité de charge et donc les interactions électrostatiques évoluent suivant les conditions physicochimiques du milieu (pH, force ionique)

Ex : protéines

○ pH < pl $\rightarrow P^+$

○ pH > pl $\rightarrow P^-$

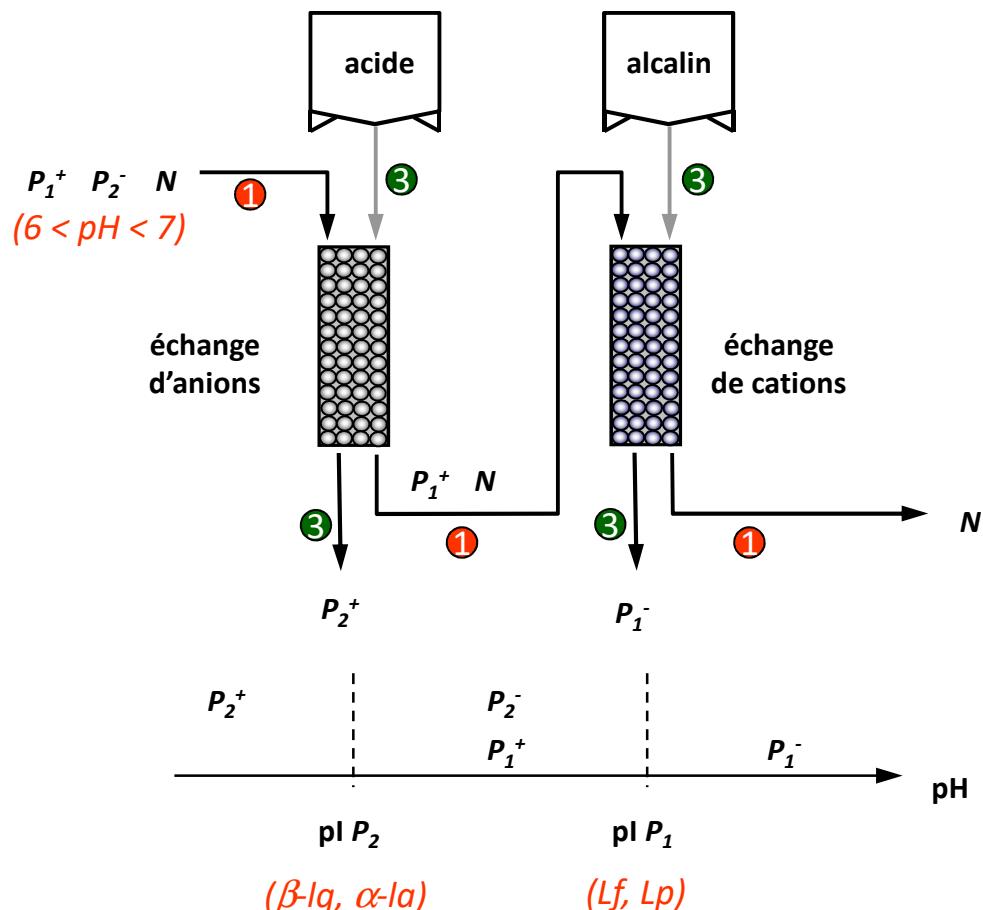
Chromatographie d'échange d'ions

① chargement

② lavage

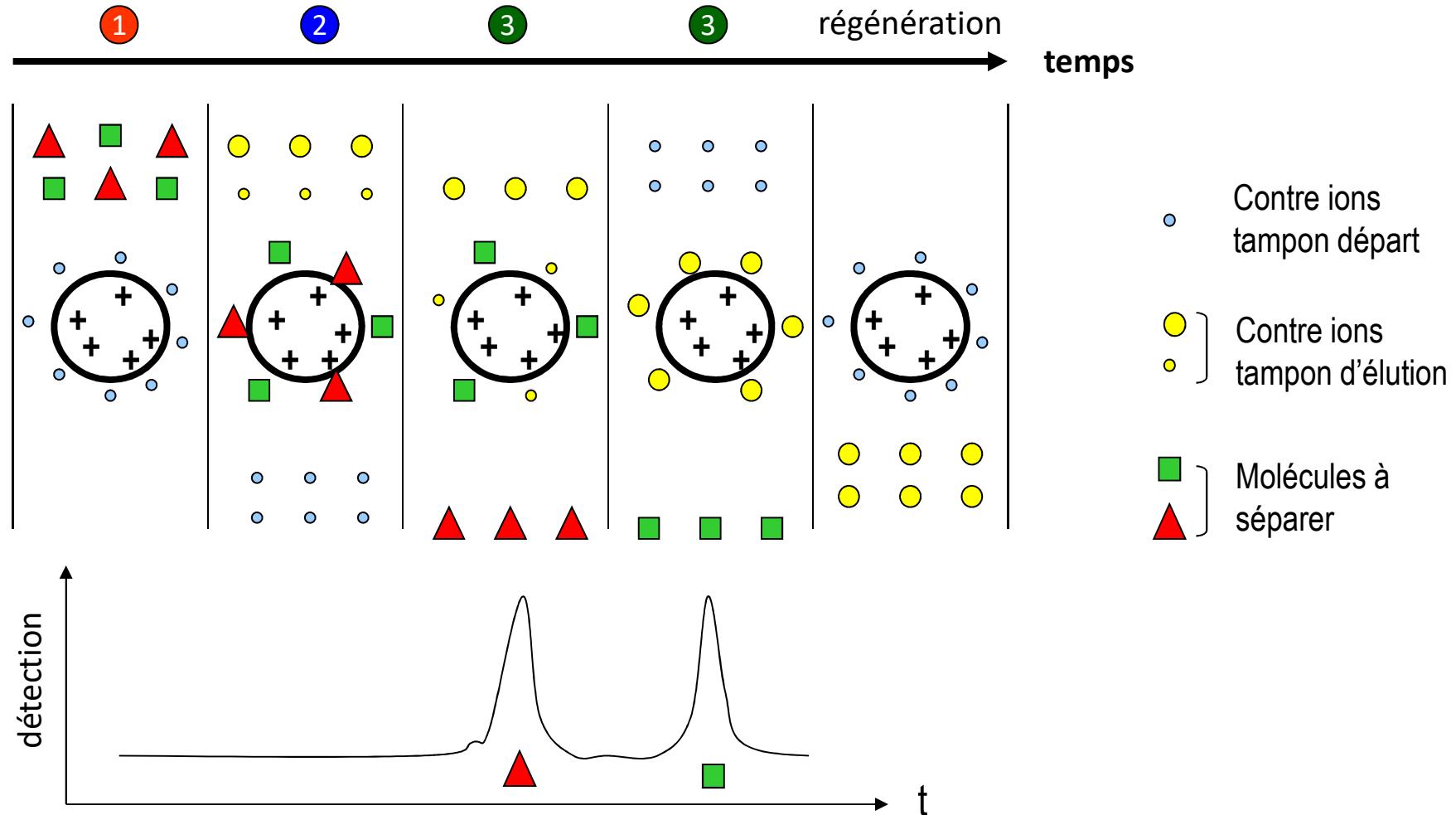
③ Elution

Ex: séparation β -Ig, α -Ia/Lf, Lp à pH neutre



Séparation moléculaire de nature ionique

- Procédés de séparation
- Chromatographie d'échange d'ions



Séparation moléculaire de nature ionique

□ Procédés de séparation

✓ Électrodialyse

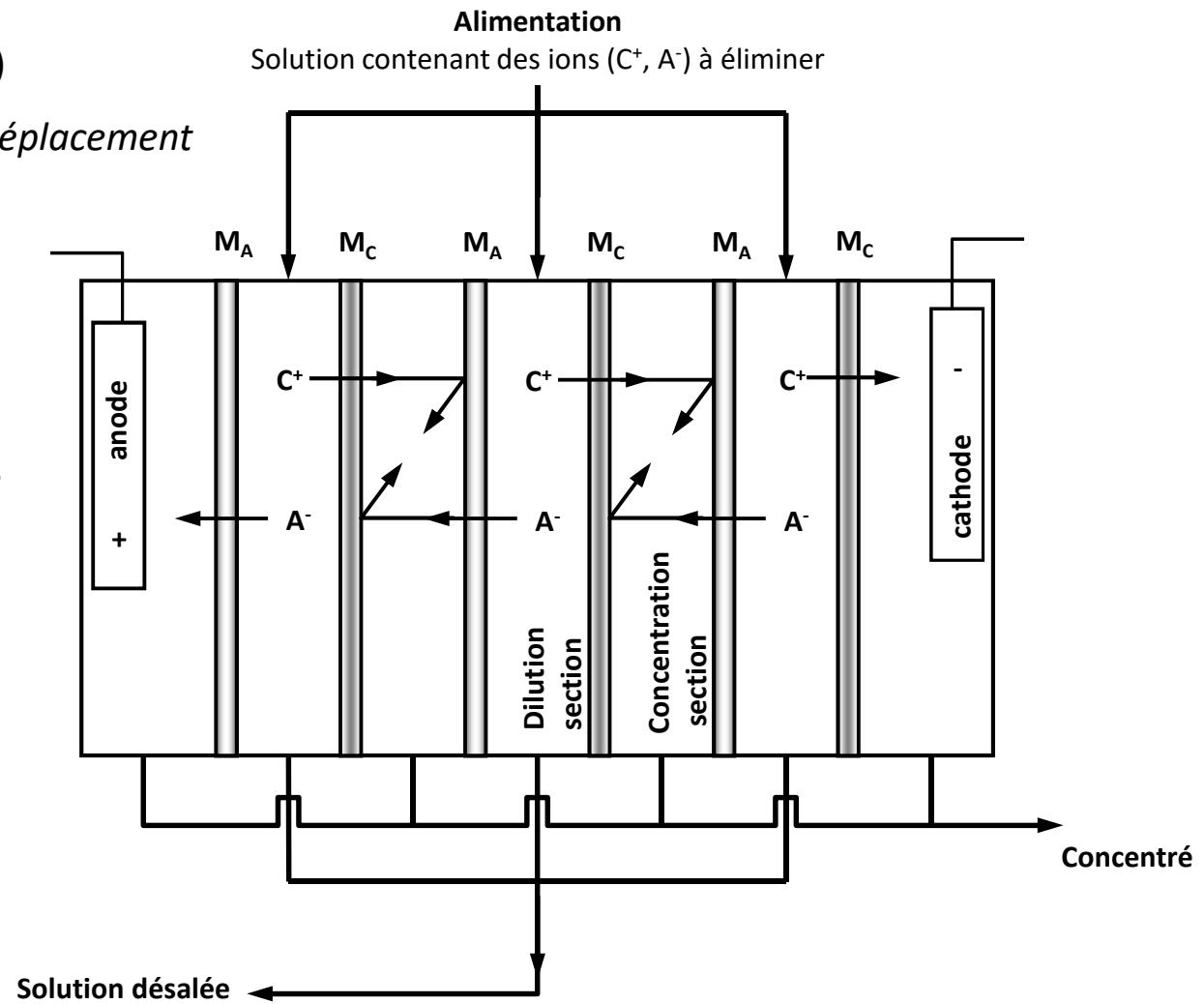
(Membrane + champ électrique)

↳ Force de déplacement

→ Sélectivité (A^- , C^+)

Procédé physique pour la séparation d'espèces ioniques (minérales, organiques) en solution

→ déminéralisation



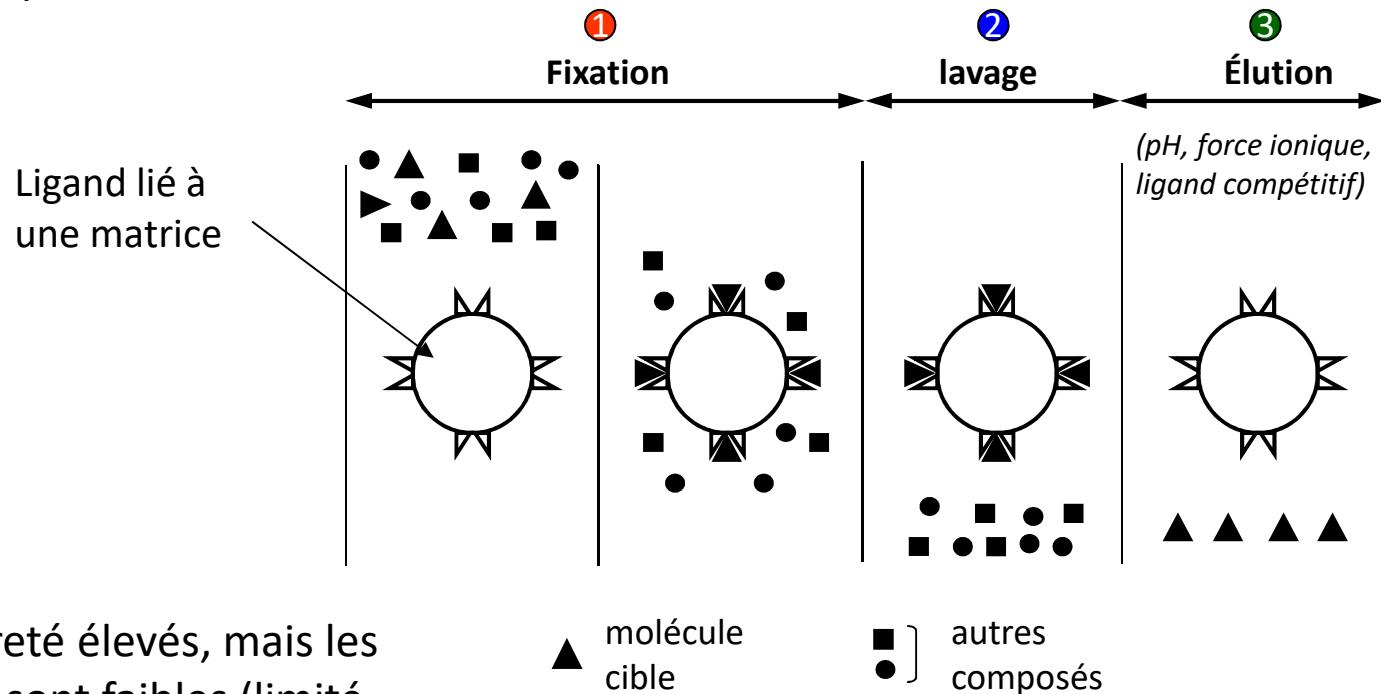
Séparation moléculaire par affinité

Certaines molécules établissent des interactions fortes et spécifiques avec un ligand (anticorps, métaux de transition, vitamines, etc.).

Chromatographie d'affinité

Principes:

- ① Fixation
- ② Lavage
- ③ Elution



○ rendement et pureté élevés, mais les quantités récupérés sont faibles (limité aux composés mineurs)

○ limité aux composés à très forte valeur ajoutée

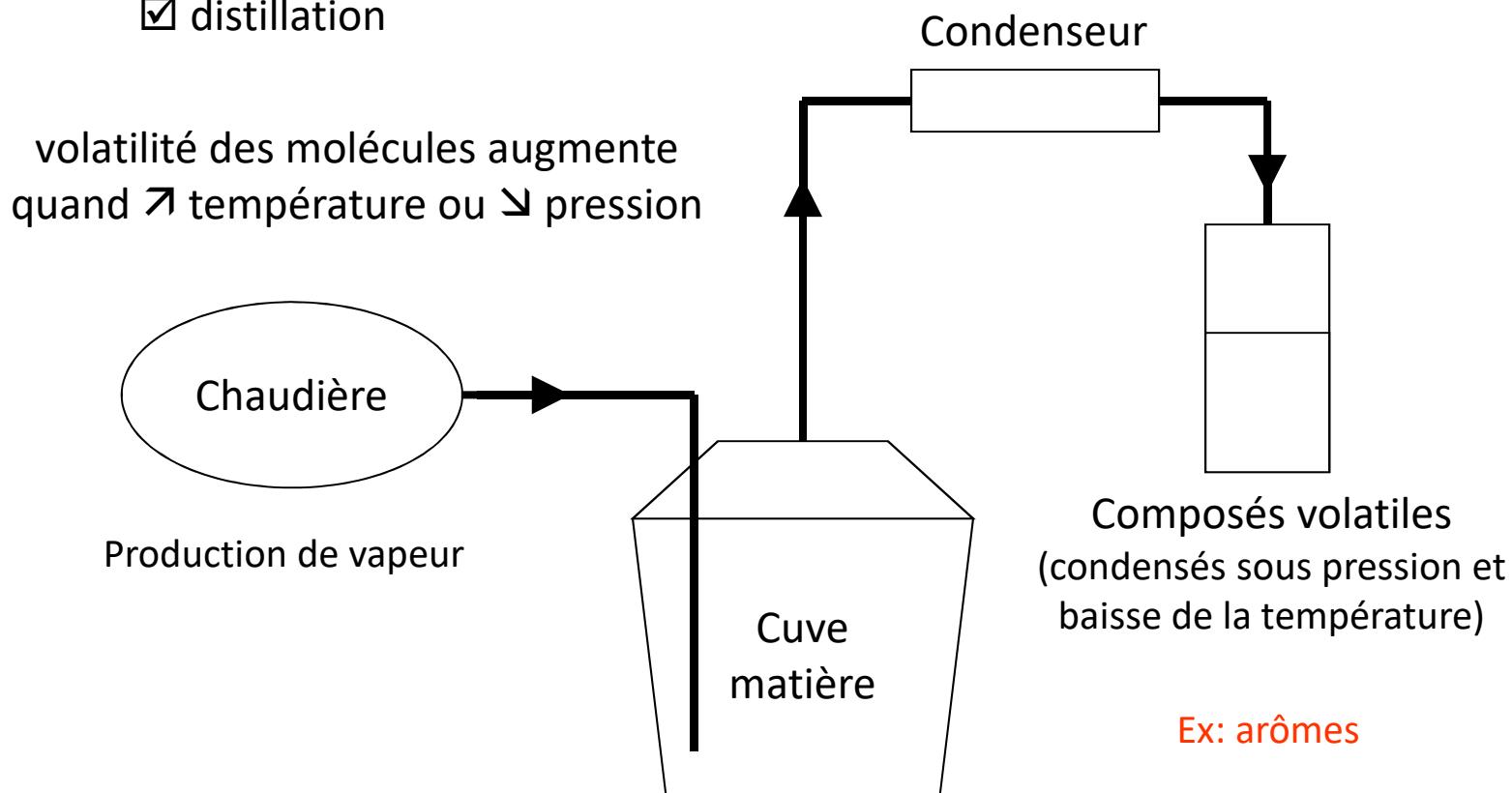
Ex: phosphopeptide, lactoferrine

Extraction de molécules volatiles

Certaines molécules sont volatiles dans les conditions de température et pression courantes (ex: acides gras courtes chaînes)

❑ Procédés de séparation

distillation



Extraction de molécules lipophiles

Les molécules se répartissent en deux phases non miscibles (aqueuse/organique) selon leur coefficient de partage (K)

□ Procédés de séparation

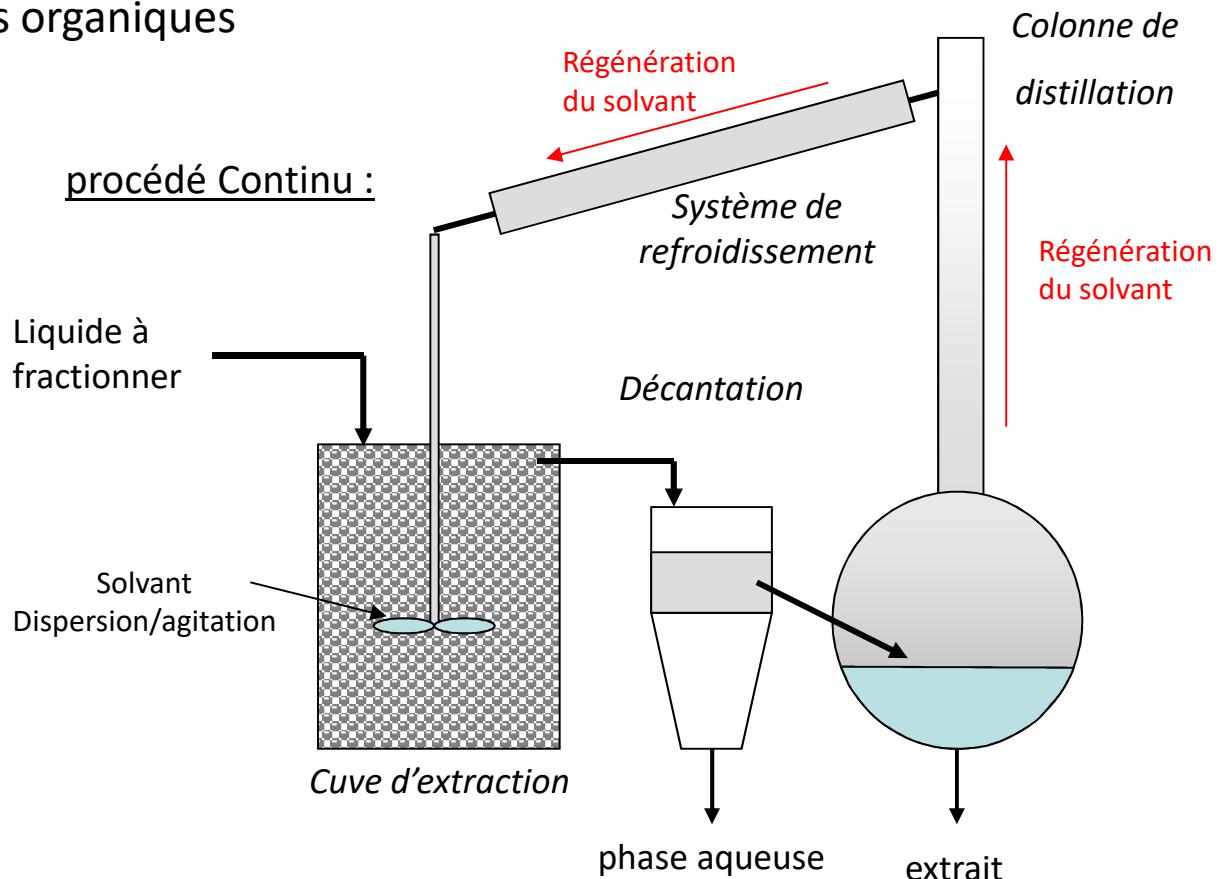
✓ Extraction par solvants organiques

K , dépend du solvant et conditionne la quantité de solvant à utiliser

$$A_{\text{aq}} \leftrightarrow A_{\text{org}}$$

$$K = \frac{a_{A_{\text{org}}}}{a_{A_{\text{aq}}}}$$

Ex: phospholipides



Extraction de molécules lipophiles

❑ Procédés de séparation

Extraction par Fluide Supercritique (CO_2)

à température et pression supérieur au point critique

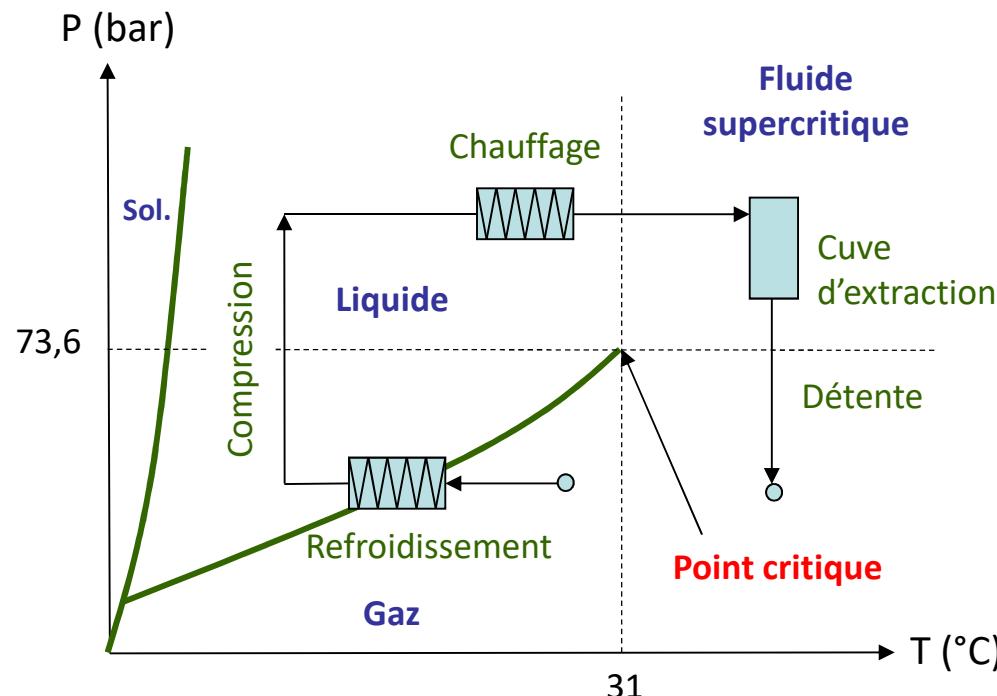


Diagramme (P/T) pour un corps pur (CO_2)

Ex: phospholipides, etc.

Conclusion

□ Comment choisir un procédé de séparation

