

Bases physicochimiques du fractionnement & procédés associés

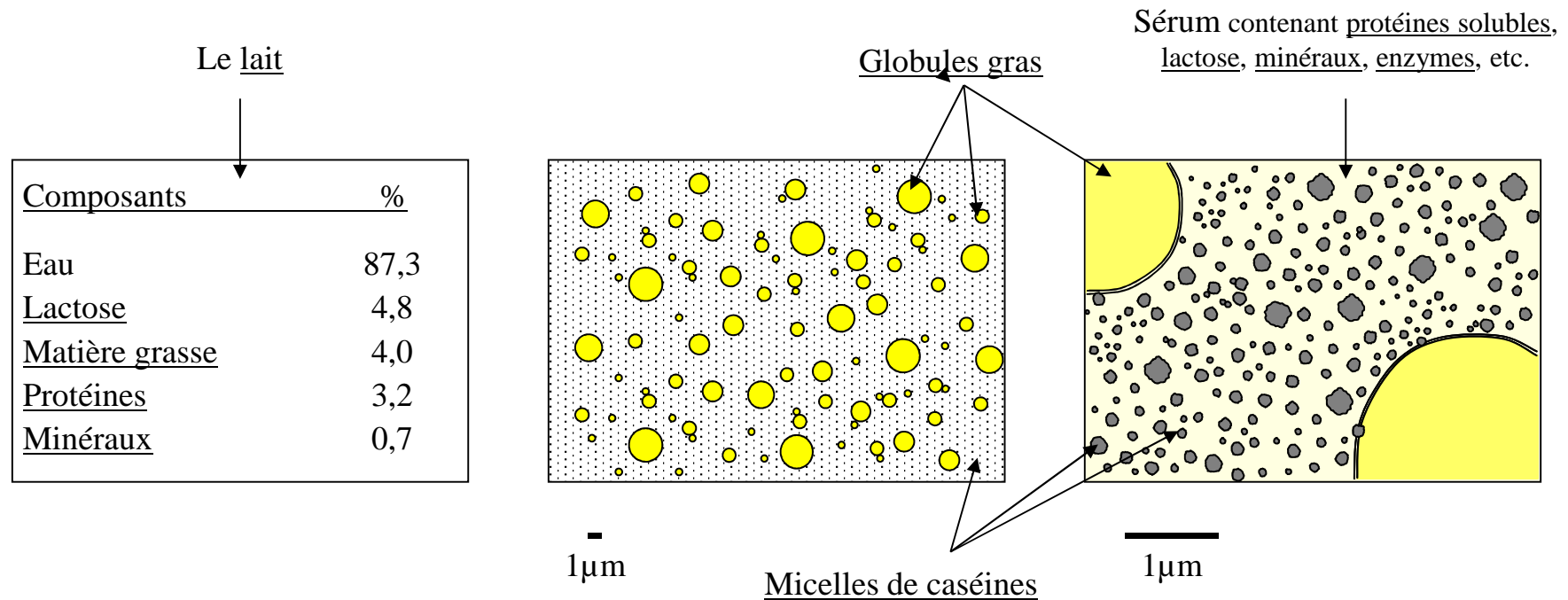
Thomas Croguennec

Agrocampus Ouest

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

Introduction

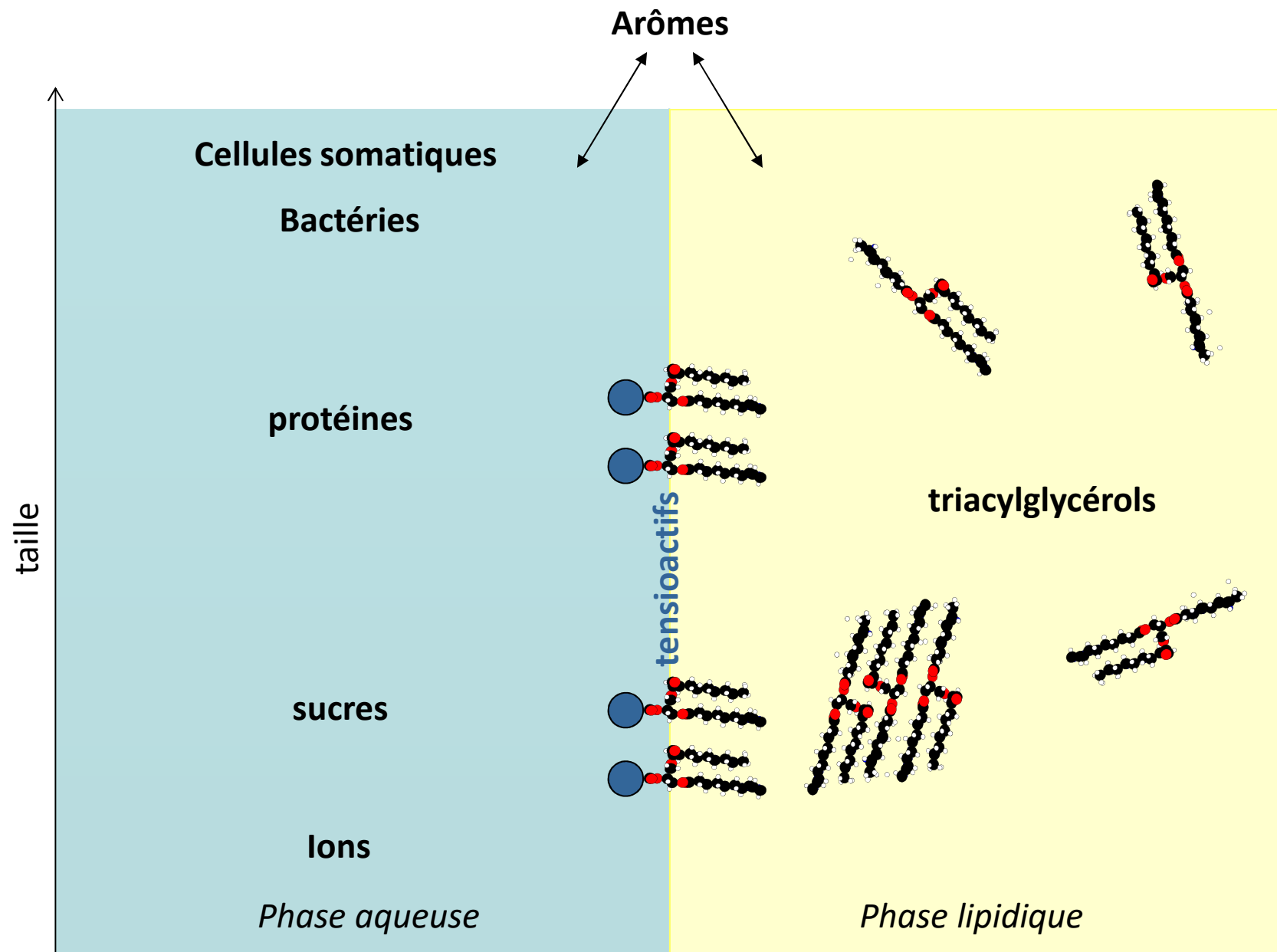
❑ Le lait vu à différentes échelles



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 constituant 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 Stokes :
(*décantation, crémage*)

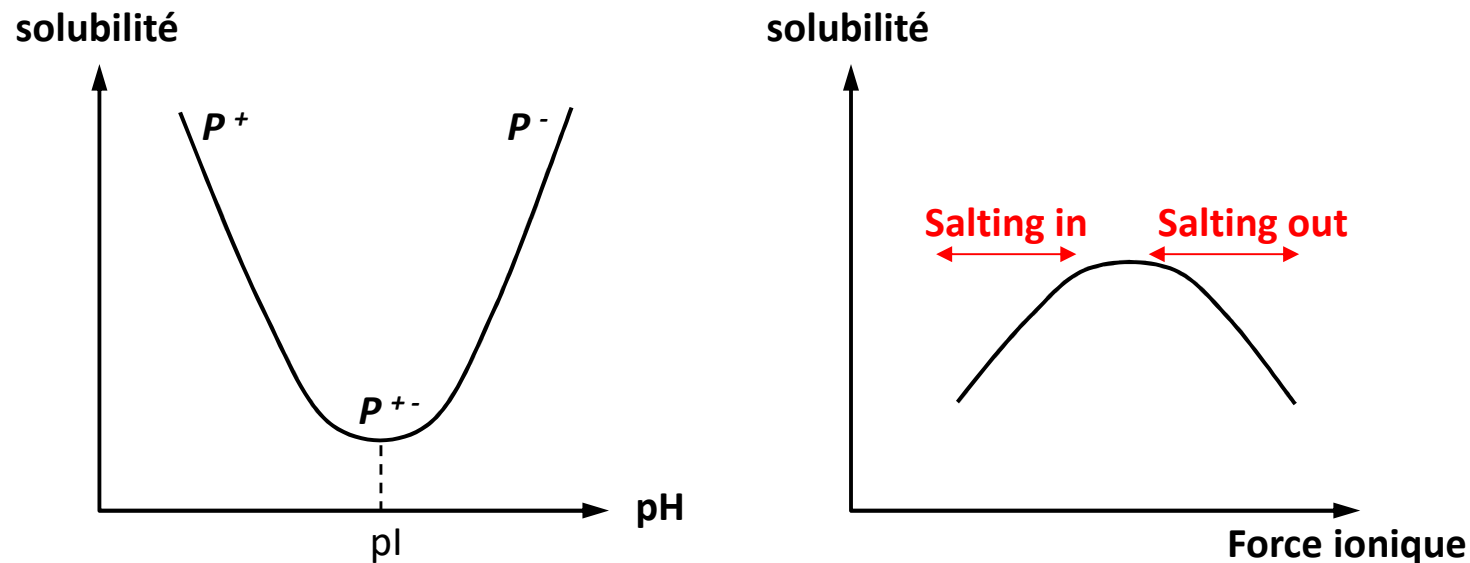
$$v = \frac{D^2}{18.\eta_0} . (\rho - \rho_0) . g$$

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)

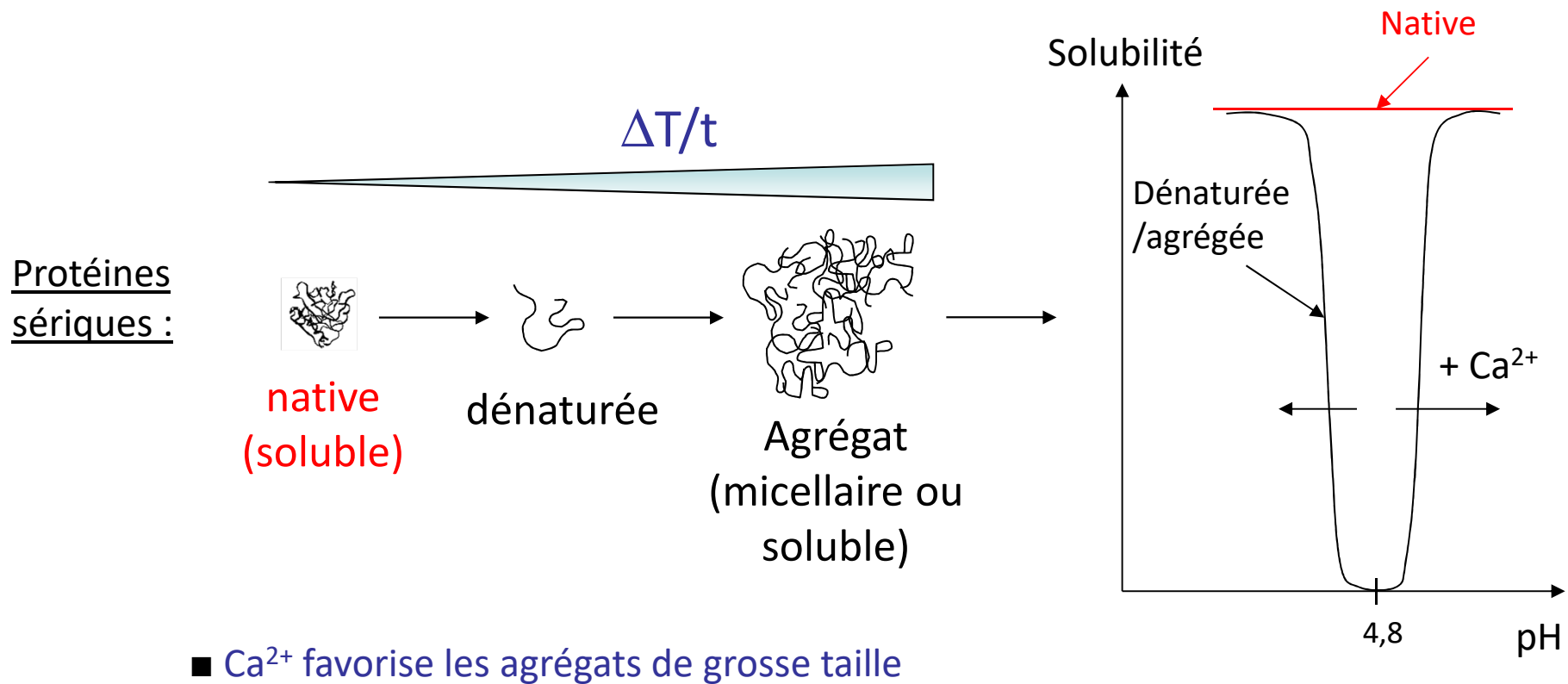


Caséines : déstabilisation des micelles par écrantage des charges de surface

- \searrow 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



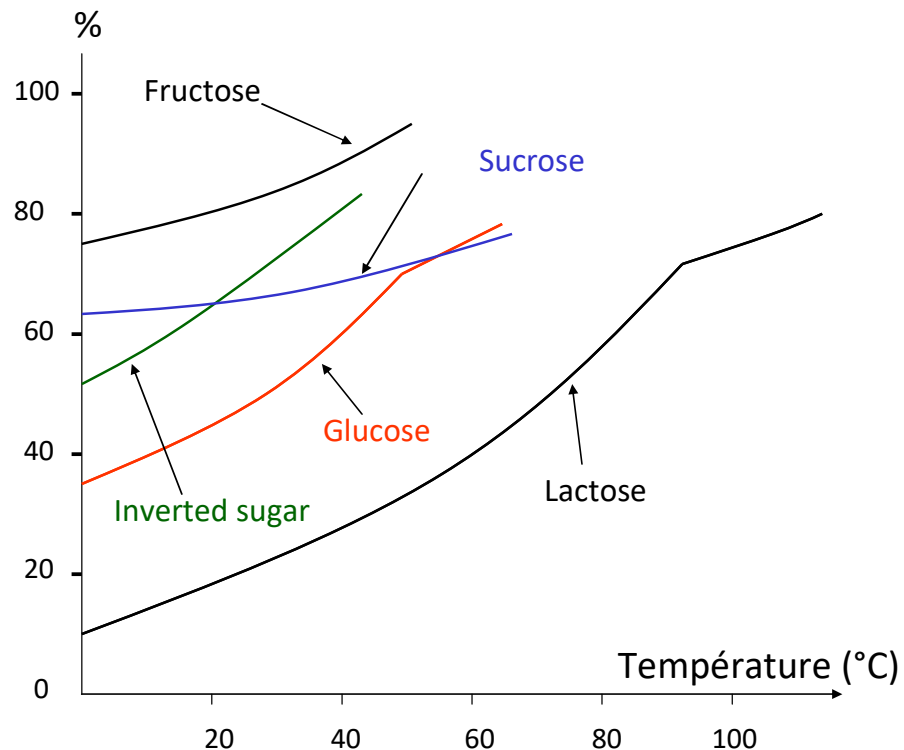
Séparation particulaire

☐ Particules obtenues par cristallisation d'éléments moléculaires

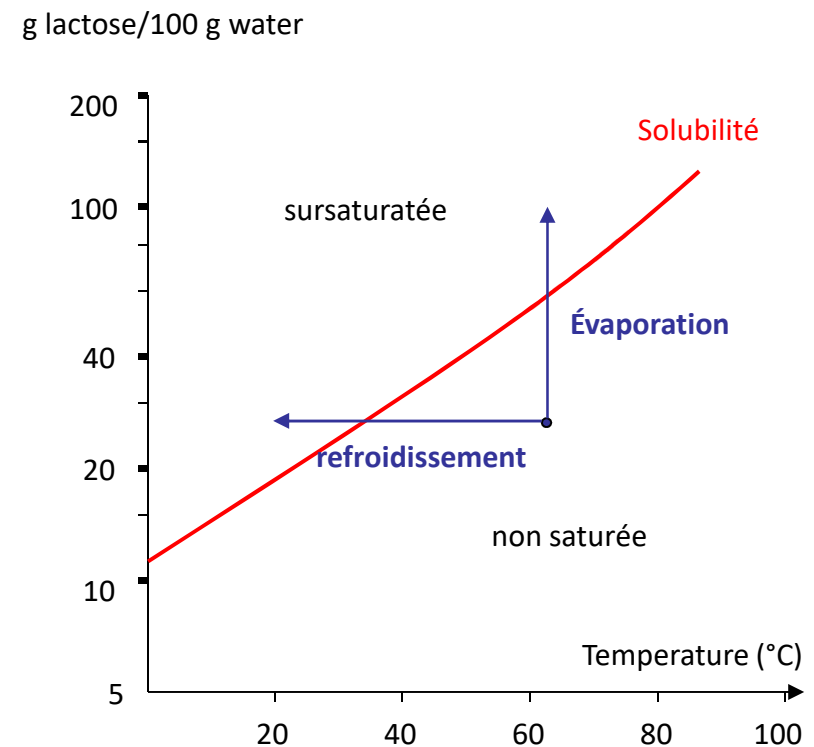
- lactose
- sel
- matière grasse

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

Solubilité des sucres



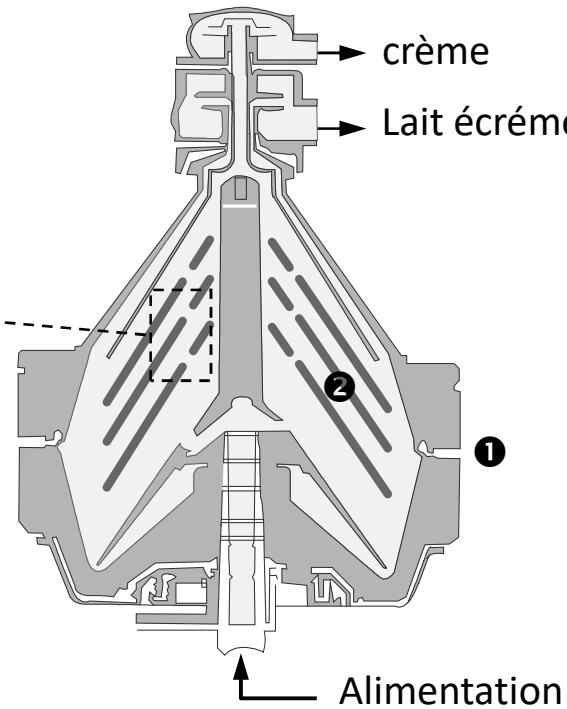
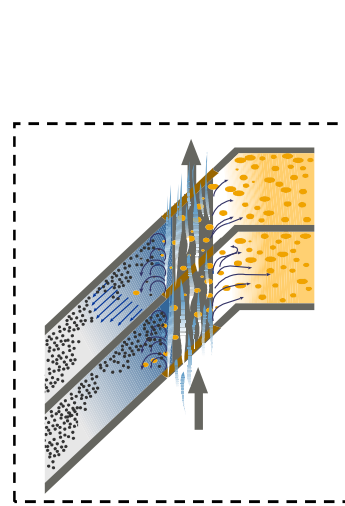
cristallisation du lactose



Séparation particulaire

❑ Procédés de séparation

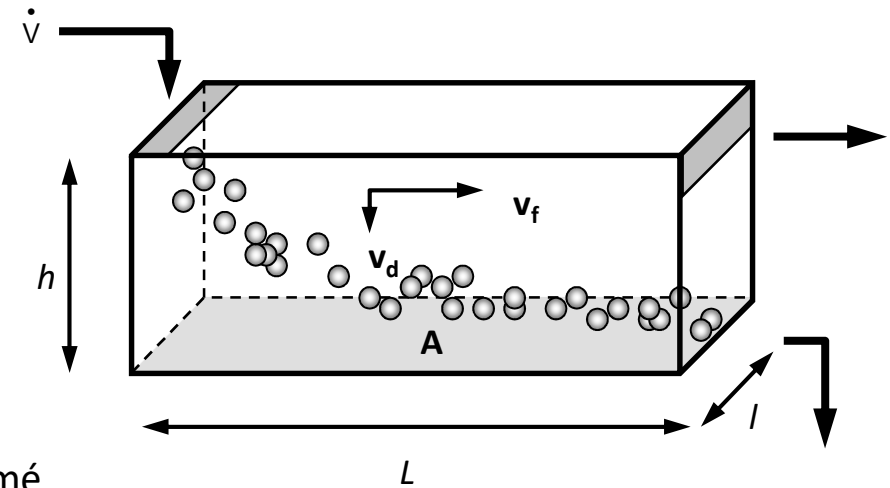
- ☑ décantation
- ☑ centrifugation



crème

Lait écrémé

Alimentation



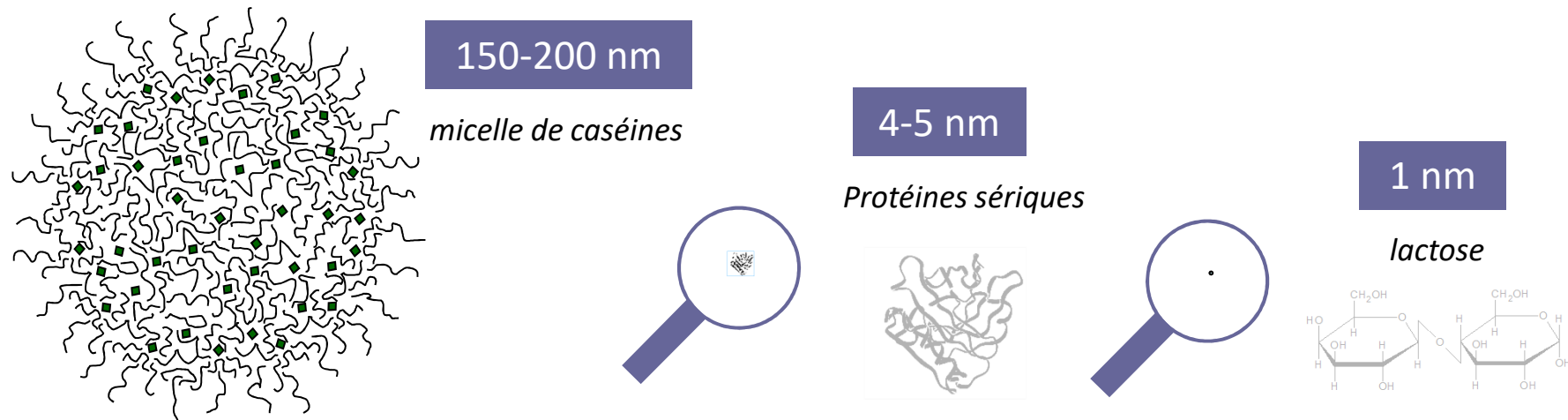
- ❶ débourbage
- ❷ assiettes

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)

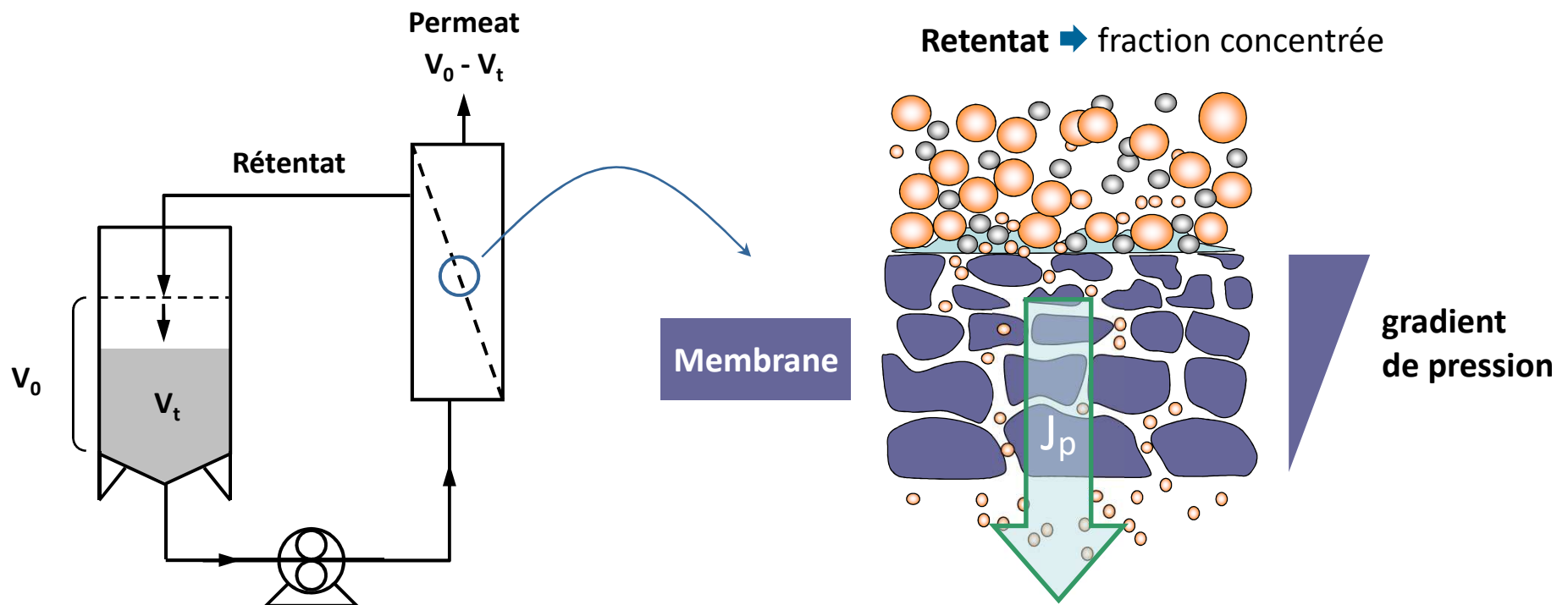
○ augmenter/diminuer la taille des composés à éliminer ou à concentrer (indépendant de p)

(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

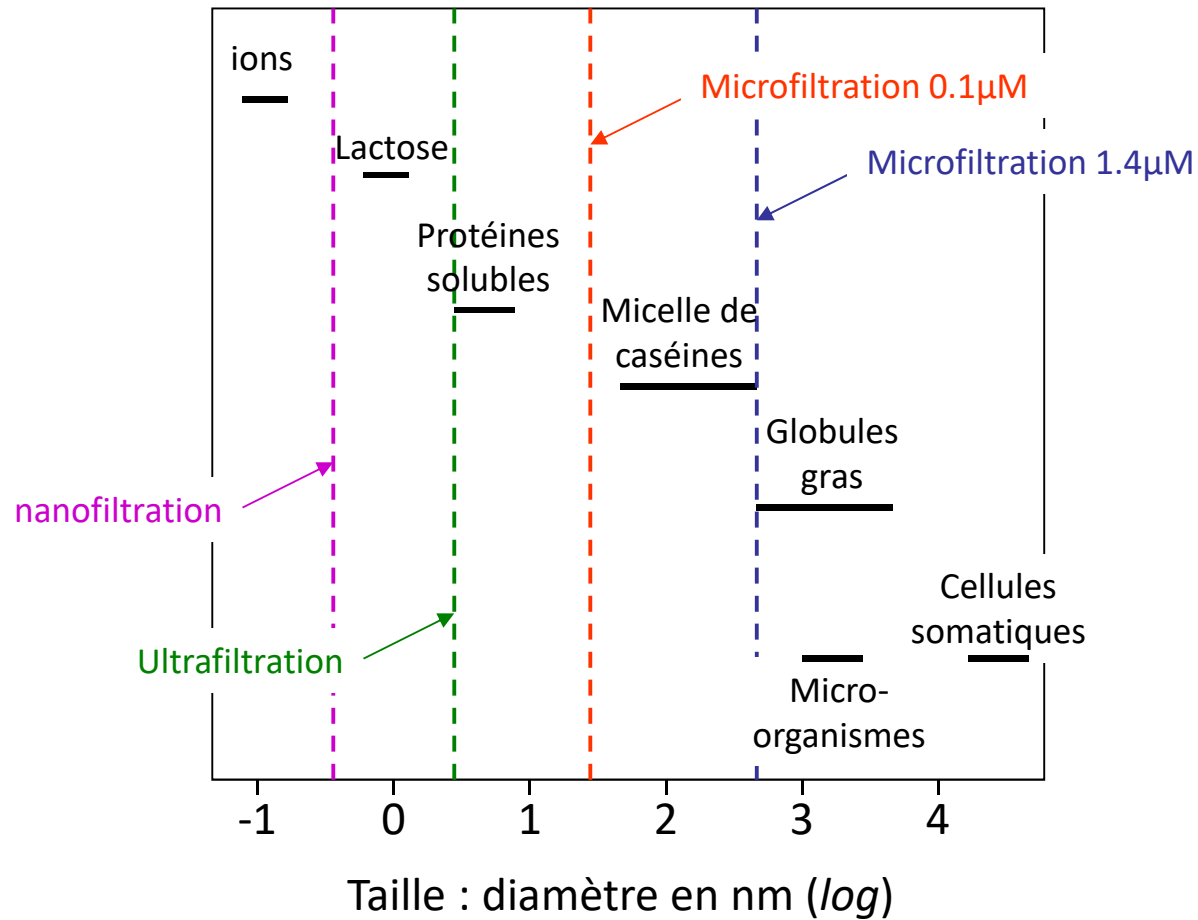
Séparation moléculaire de nature stérique

❑ 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
<div> <div>Particules Colloïdes</div> <div>Micro-organismes</div> <div>Protéines</div> <div>Composés Organiques</div> <div>Minéraux</div> <div>H₂O</div> </div>				
MF	Clarification, élimination des μorganismes			
UF	Séparation des protéines			
NF	démminéralisation, séparation de composés organiques			
RO	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

○ $\text{pH} < \text{pI} \rightarrow \text{P}^+$

○ $\text{pH} > \text{pI} \rightarrow \text{P}^-$

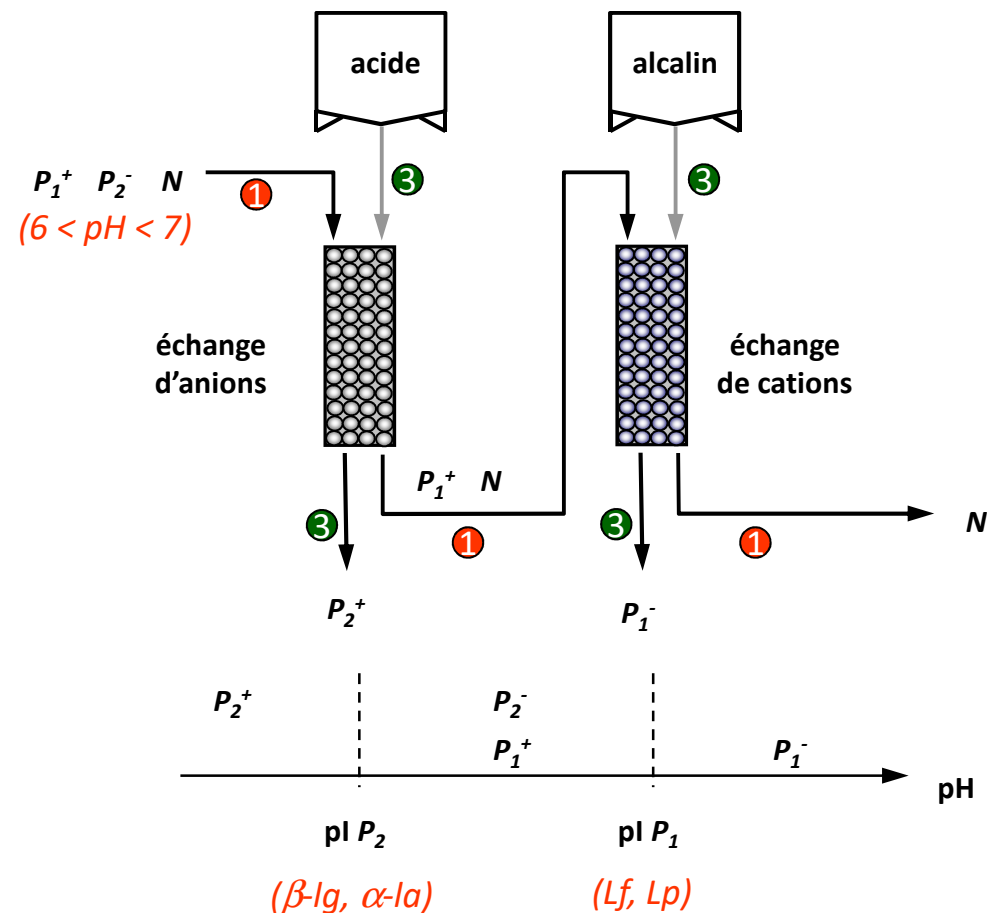
☑ Chromatographie d'échange d'ions

① chargement

② lavage

③ Elution

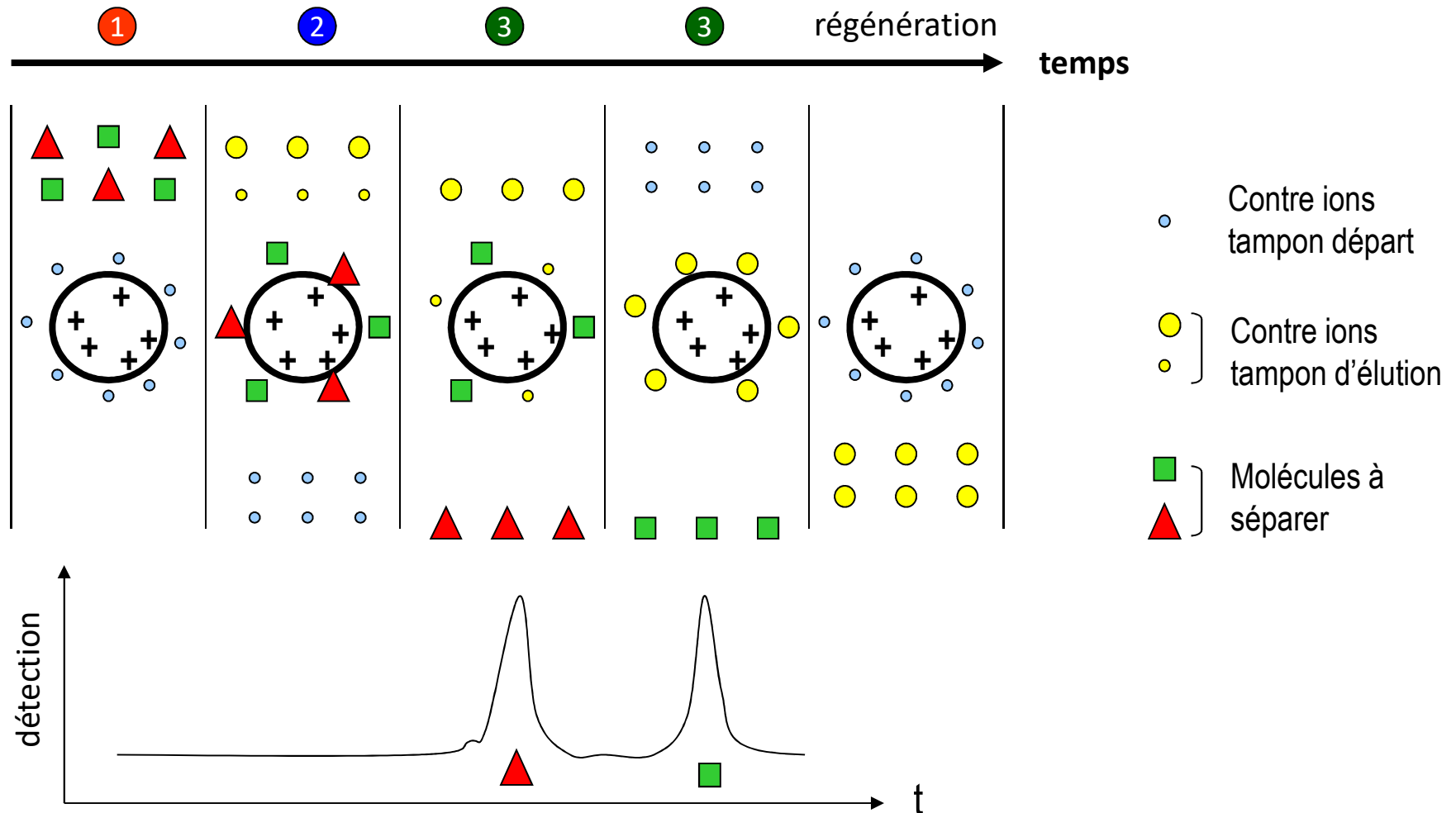
Ex: séparation β -lg, α -la/Lf, Lp à pH neutre



Séparation moléculaire de nature ionique

☐ Procédés de séparation

☒ Chromatographie d'échange d'ions



Séparation moléculaire de nature ionique

❑ Procédés de séparation

☑ Électrodialyse

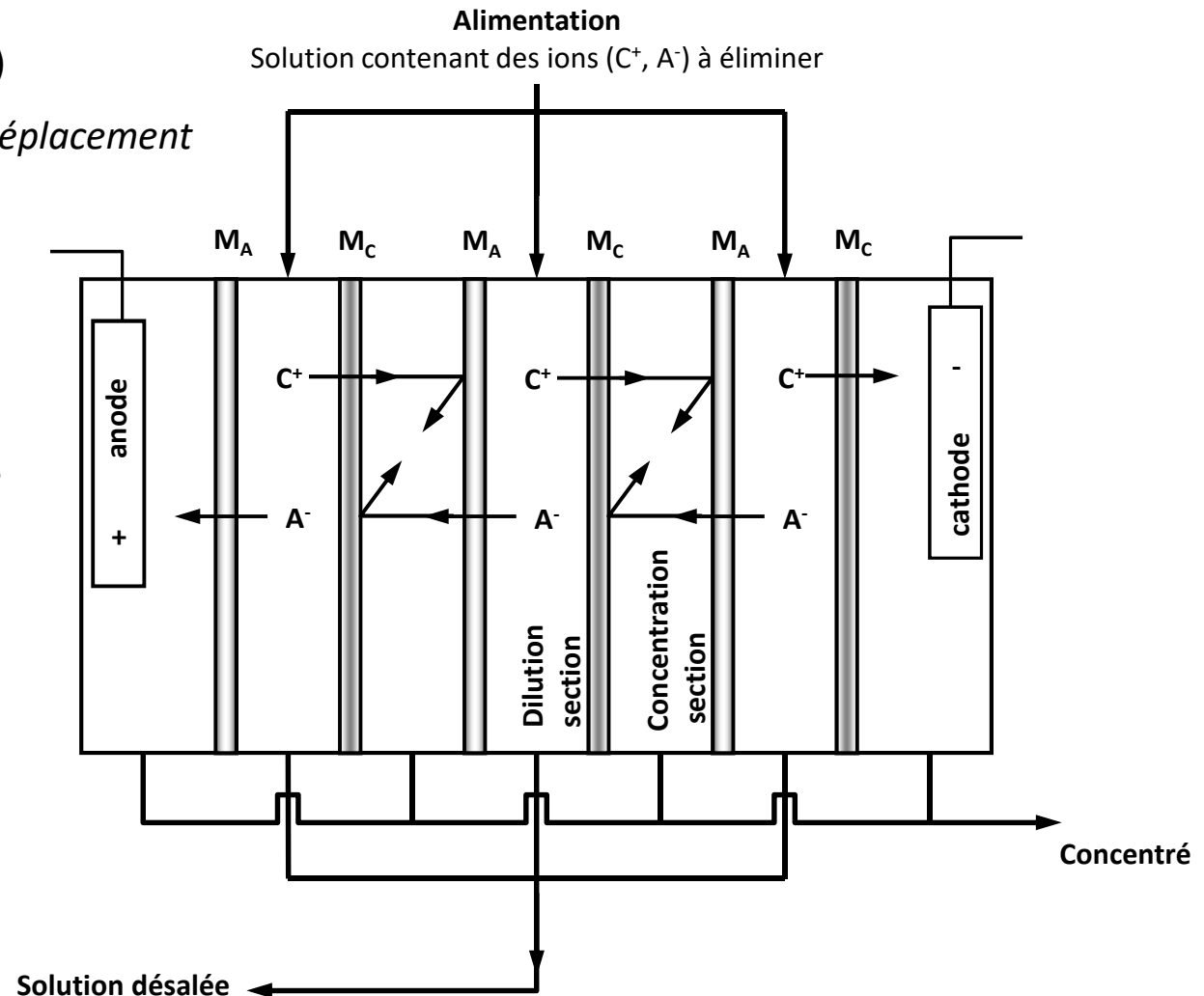
(Membrane + champ électrique)

↳ Force de déplacement

↳ Sélectivité (A^- , C^+)

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

→ déminéralisation



Séparation moléculaire par affinité

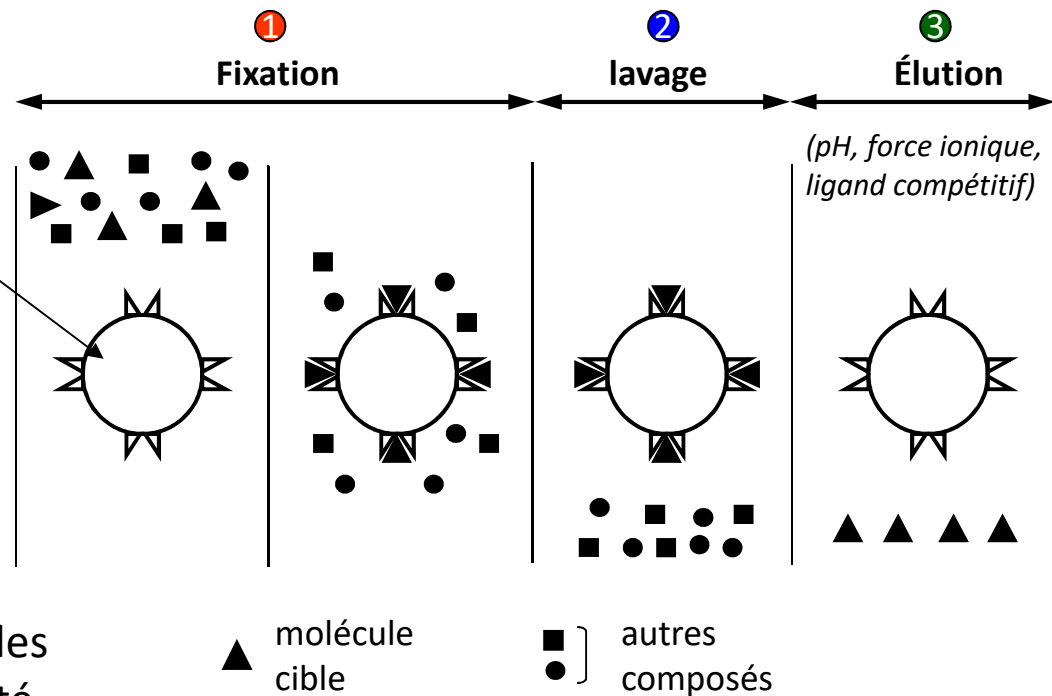
Certaines molécules établissent des interactions fortes et spécifiques avec un ligand (anticorps, métaux de transition, vitamines, etc.).

☑ Chromatographie d'affinité

Principes:

- ① Fixation
- ② Lavage
- ③ Elution

Ligand lié à une matrice



○ 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

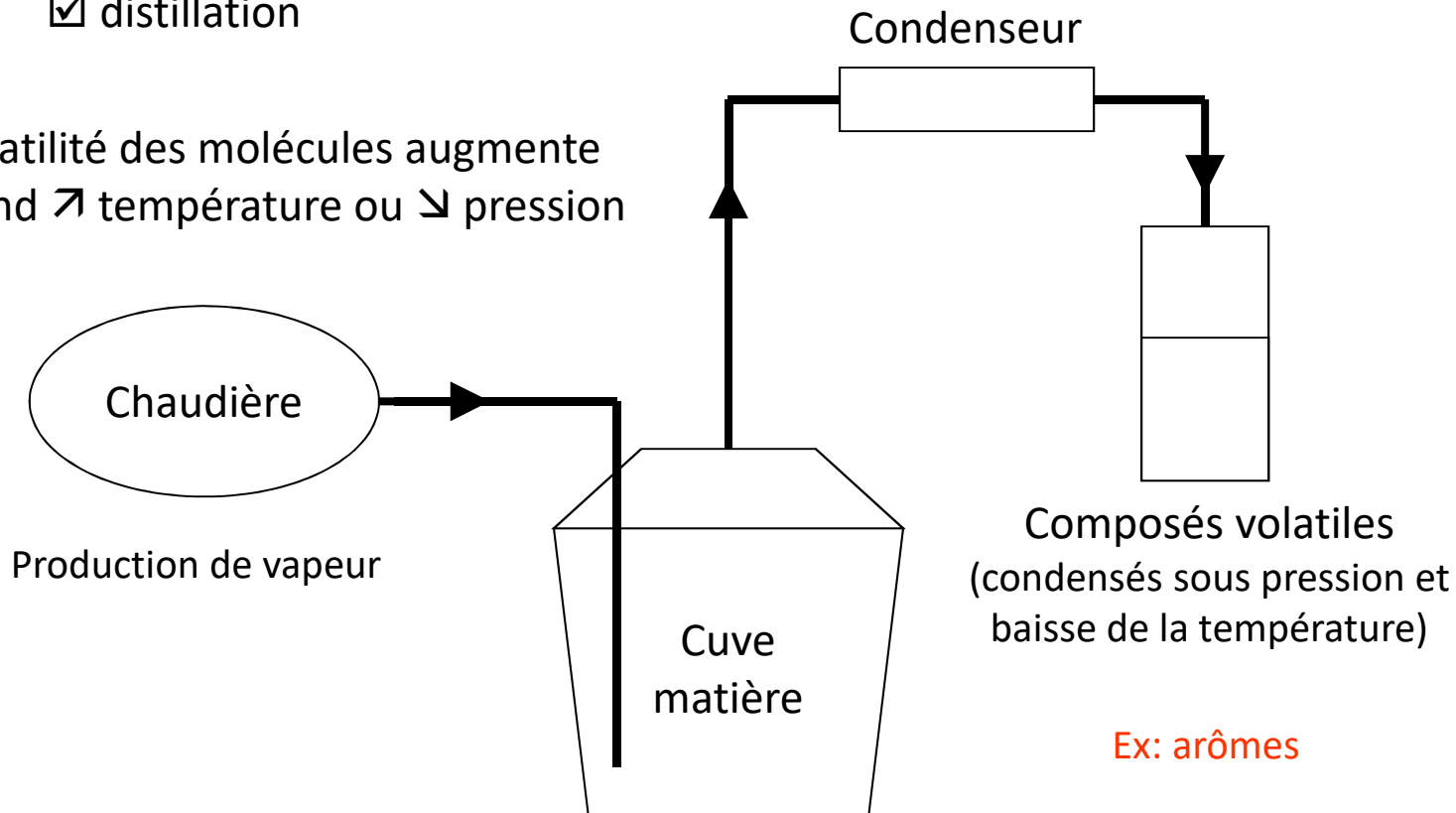
Extraction de molécules volatiles

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

❑ Procédés de séparation

☑ distillation

volatilité des molécules augmente
quand ↗ température ou ↘ pression



Extraction de molécules lipophiles

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

❑ Procédés de séparation

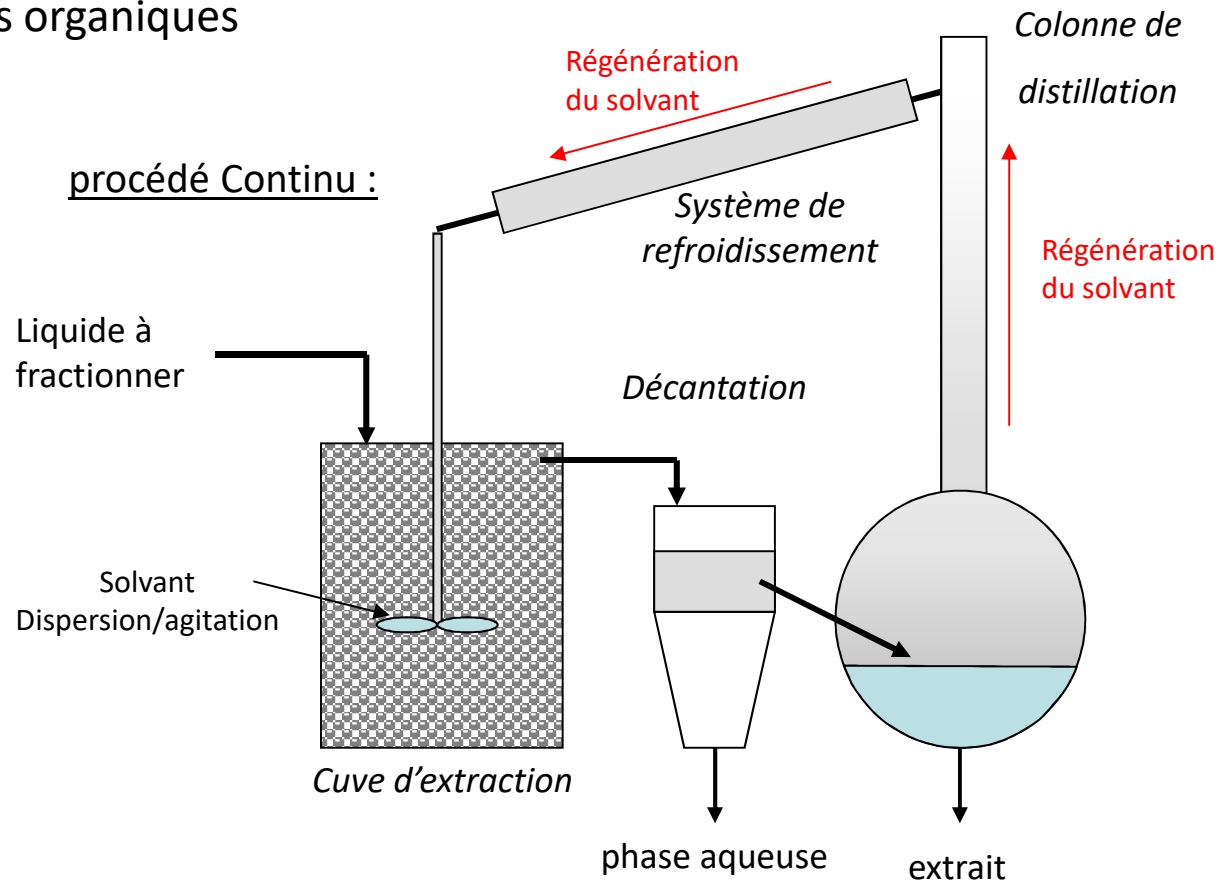
☑ Extraction par solvants organiques

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



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

Ex: phospholipides



Extraction de molécules lipophiles

❑ Procédés de séparation

☑ Extraction par Fluide Supercritique (CO_2)

à température et pression supérieure au point critique

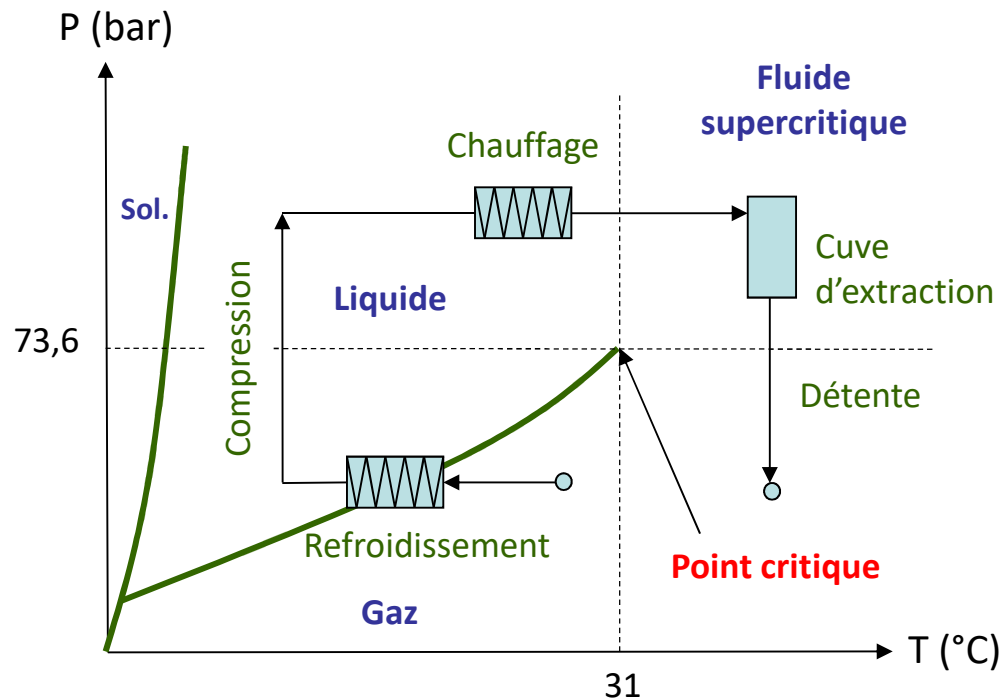


Diagramme (P/T) pour un corps pur (CO_2)

Ex: phospholipides, etc.

Conclusion

❑ Comment choisir un procédé de séparation

