

INTERACTIONS FER - CASEINES DANS LES EMULSIONS ALIMENTAIRES H/E

Rodica Sturza

*Université Technique de Moldova, Chisinau, 168, Bd. Stefan cel Mare,
Tel. (37322) 31 91 45, E-mail: sturzar@mail.utm.md*

Abstract: The work presents the study over typical food oil-in-water emulsions fortified with inorganic iron introduced as ferrous sulfate and animal proteins represented by caseins. The study includes the analysis of electro-chemical properties of emulsions depending on the environmental factors and emulsions' stabilization by proteins as emulsifying agents.

Keywords: *emulsion, caseins, iron, creaming index, redox, electrokinetic's potential*

INTRODUCTION

L'intensification des toutes sphères de l'activité humaine, l'urbanisation progressive sur le fond des problèmes liés à l'écologie dégradée et les facteurs technogéniques imposent la nécessité d'une réanalyse et modernisation des approches à la nourriture, comme une des plus importantes composantes influençant directement son existence. Une des principales exigences imposées aux produits alimentaires – c'est l'assurance des nécessités physiologiques en fonction d'âge, activité professionnelle, facteurs écologiques, zones géographiques et l'état de santé de l'individu. Malheureusement, ces exigences ne sont pas toujours respectées dans la plupart de pays [1, 9]. L'alimentation incomplète sur le fond de subalimentation chronique présente une des causes principales des mutations indésirables et nombreuses maladies, diminuant l'espérance de vie. C'est pourquoi à côté d'une production suffisante des produits alimentaires on impose

aussi la question de fortification des produits alimentaires en acides aminés, vitamines, minéraux et autres composants alimentaires essentiels [2].

L'enrichissement, associé à l'information de la population, présente une stratégie de longue durée et doit être considérée comme un investissement qui donnera des résultats visibles, car le prix sera pratiquement insignifiant pour le consommateur [10]. Vraisemblablement, aucune autre technologie n'offre aujourd'hui d'aussi vastes possibilités d'améliorer la vie et d'accélérer le développement moyennant un coût aussi faible et en si peu de temps [1].

La carence en fer reste un problème de santé publique pas seulement dans les pays en voie de développement, mais aussi dans les pays industrialisés [2]. Actuellement, c'est la carence la plus importante au monde parmi d'autres comme la carence en iode, vitamine A, etc. [3, 9, 10].

Mais le fer incorporé dans un système complexe comme l'aliment, confronte des divers problèmes, comme l'oxydation et la précipitation. Par suite, sa biodisponibilité s'avère fortement réduite. C'est notamment pour ça que la fabrication des systèmes alimentaires, capables de transporter et de protéger le fer d'une manière efficace est de plus en plus intéressante.

L'enrichissement ou la fortification des aliments et notamment des émulsions alimentaires Huile/Eau (H/E) comme une des méthodes d'éradication de la carence en fer fait le principal objet du présent travail.

MATERIAUX ET METHODES D'ANALYSE

Les émulsions soumises à l'analyse étaient formulées de l'huile de tournesol raffiné et désodoré, de la solution de sulfate ferreux (de concentrations de 2 à 10 mg Fe/100 mL émulsion), caséine et surfactant CREMODAN SE-68 (0,1 %). Les émulsions ont été préparées à l'aide de l'agitateur magnétique (5000 rot/min, 20-30 min). La stabilité des émulsions a été estimée par l'indice de crémage [4].

Les émulsions analysées étaient enrichies en fer bivalent sous forme de sulfate ferreux. Par suit, l'équilibre installé est présenté par l'équation:



Respectivement, le potentiel redox est calculé selon l'équation de Nernst (1):

$$E = E^0 - 0,059 \lg \left[\frac{\text{Fe}^{2+}}{\text{Fe}^{3+}} \right] \quad (1)$$

L'évolution du potentiel redox des émulsions alimentaires H/E enrichies en fer ferreux, en absence et présence de la caséine (0,1 %) et au pH 2-5 a été examinée.

Le potentiel zêta qui apparaît à la surface de glissement a été calculé selon la relation Helmholtz-Smoluchowski [5]:

$$\xi = \frac{\eta \times u}{\varepsilon \times \varepsilon_0 \times H} \quad (2)$$

où: u – vitesse de déplacement des particules; ε – permittivité électrique; ε_0 – permittivité du vide ($8,85 \cdot 10^{-2}$ F/m); H – gradient de potentiel.

Pour la mise en place de l'électrophorèse par la méthode de l'interface mobile on a utilisé l'appareil Burton. Chaque échantillon d'émulsion H/E a été dilué avant les mesures avec le tampon convenable en proportion de 1 : 3.

L'indice de crémage donne de l'information indirecte sur l'état de floculation d'une émulsion [4]. Pour l'estimation de l'indice de crémage, 10 mL d'émulsion a été transféré dans un tube à essai, hermétiquement bouché, et gardé à la température de chambre. L'émulsion se stratifie en temps, en s'obtenant trois couches: un couche opaque, un autre – turbide, et le dernier – transparent. Les couches turbides et transparentes constituent la couche sérique, tandis que celle opaque – l'émulsion. On a mesuré l'hauteur de la couche sérique et de l'émulsion. L'indice de crémage a été calculé selon la relation suivante :

$$I.C. = \frac{H(S)}{H(E)} \times 100\% \quad (3)$$

où: H(S) – hauteur de la couche sérique (divisions de 0,1 mL); H(E) – hauteur de la couche d'émulsion (divisions de 0,1 mL).

L'indice de crémage est inversement proportionnel à la stabilité de l'émulsion [4].

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les caséines constituent approximativement 80 % du total des protéines du lait [8]. Les caséinates sont des poudres riches en caséines, utilisés pour leurs qualités nutritionnelles et fonctionnelles. Habituellement, les caséinates sont obtenus par acidification du lait par voie chimique (acide chlorhydrique ou sulfurique) ou fermentaire (acidification par des bactéries).

Les caséinates sont appréciés en industrie alimentaire pour leur solubilité, leur capacité d'absorption d'eau, leur stabilité à la chaleur et leurs bonnes propriétés émulsifiantes et moussantes. Enfin, ils constituent un apport protéique intéressant, en raison de leur valeur nutritive.

Interactions du fer avec des caséines

La fixation des ions divalents ou l'augmentation de la force ionique modifie le comportement des caséines. C'est particulièrement important lorsque les protéines sont utilisées dans des produits tels que les émulsions.

Le potentiel zêta - ξ caractérise la stabilité électrostatique des émulsions. Plus le potentiel augmente, plus l'émulsion devient stable. Les ions bivalents Fe^{2+} ajoutés aux émulsions H/E forment avec la caséine des caséinates de fer, ce qui influence la stabilité des émulsions et mène au changement du potentiel zêta.

On a constaté que l'ajout de la caséine se reflète positivement sur la stabilité de l'émulsion. La concentration des ions de fer rend à l'augmentation de la concentration des caséinates et la valeur du ξ – potentiel augmente (Figure 1).

Les protéines adsorbées à la surface du globule s'organisent de telle façon que la majorité de la protéine (la partie hydrophobe) est étalée à proximité de ou sur la surface, mais qu'une partie de la molécule (la plus hydrophile et la plus chargée) est saillante et dépasse de la surface vers la solution environnante pour former une monocouche d'environ 10 nm d'épaisseur [6, 7].

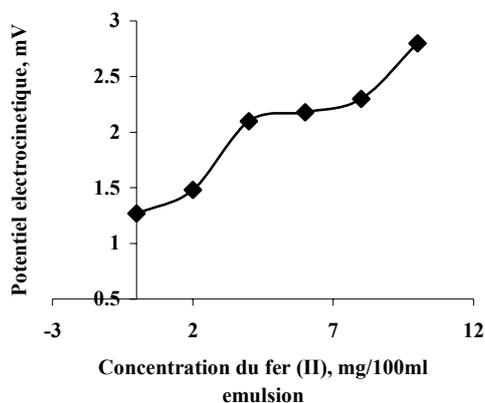


Figure 1. Variation du potentiel zéta en fonction de la concentration du fer ($C_{cas.} = 0,1 \%$; $pH = 4$)

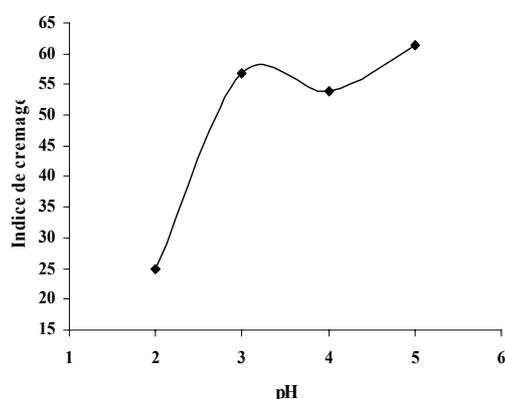


Figure 2. Variation de l'indice de crémage en fonction du pH ($C_{cas.} = 0,1 \%$; $C_{Fe(II)} = 2 \text{ mg Fe}/100 \text{ mL émulsion}$)

La couche de protéine adsorbée est responsable de la stabilité des gouttelettes, d'une part par sa forte charge à pH neutre, d'autre part par la présence des résidus phosphosérine et enfin parce que la structure saillante des molécules adsorbées est responsable de la stabilisation stérique qui en découle.

Influence du pH

A des pH voisins de la neutralité, les caséines sont chargées négativement, ce qui rend possible la fixation des cations. A des pH voisins de leur pH isoionique ($pH_i = 4,96 - 5,43$ pour tous les types de caséines), les caséines étant électriquement neutres, s'agrègent et la possibilité d'interactions électrostatiques entre des sites chargés et des cations devient très limitée voire nulle. A des pH très acides ($< pH_i$) les caséines sont de nouveau solubles et chargées positivement. L'interaction avec des cations est alors limitée alors qu'elle devient plus probable avec des anions.

On constate que l'état le plus stable de l'émulsion correspond au pH 2 (Figure 2). Pour la valeur $pH = 5$ on observe la déstabilisation de l'émulsion par floculation. Selon l'indice de crémage le pH optimal est 3 – 4.

Ces règles de fixation d'ions sur les caséines ne sont valables que pour des liaisons électrostatiques qui dépendent du pH et de la force ionique. Lors d'une acidification, la capacité de liaison de la caséine pour le minéral diminue en raison d'une réduction de la charge négative des résidus phosphosérine et des groupements carboxyliques de la protéine par régression d'ionisation; l'affinité de la caséine étant plus forte pour les ions H^+ que pour le minéral. Par contre pour des liaisons de coordination (le cas du fer), le paramètre pH n'est pas un facteur déterminant pour la fixation.

Influence de la concentration des caséines

L'analyse de l'influence de la concentration de la caséine sur la stabilité des émulsions a montré que la valeur minimale pour l'indice de crémage (qui correspond à la stabilité maximale) est pour la concentration de 0,5 % (Figure 3).

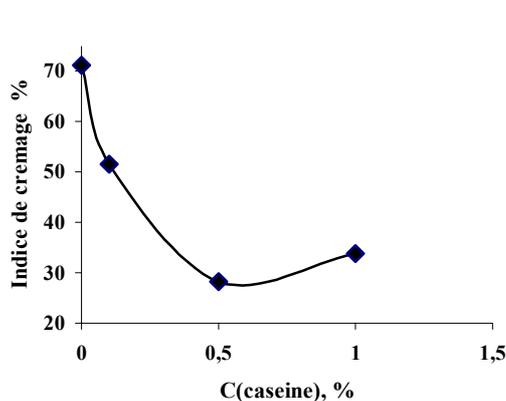


Figure 3. Variation de l'indice de crémage en fonction de la concentration de la caséine; ($C_{Fe(III)} = 4 \text{ mg}/100 \text{ mL}$ émulsion ; $pH = 4$)

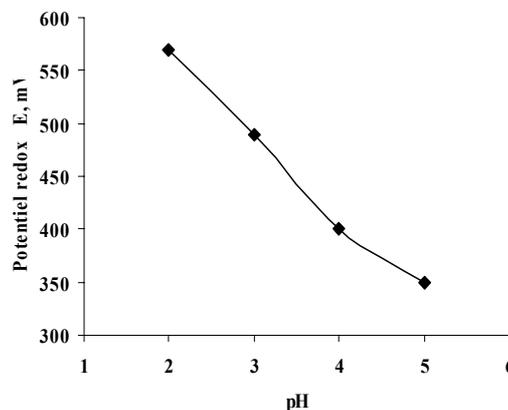


Figure 4. Variation de l'indice de crémage en fonction de la concentration de la caséine; ($C_{Fe(III)} = 4 \text{ mg}/100 \text{ mL}$ émulsion ; $pH = 4$)

A des concentrations plus élevées on constate une légère augmentation de l'indice de crémage.

Les liaisons entre cations et caséines sont, lorsqu'elles sont de nature électrostatique (cas du Ca, Mg, Na, K) sensibles aux variations de force ionique. Toute augmentation de force ionique induisant une diminution du pH_i de la caséine, se traduit par une capacité de liaison du cation par la caséine réduite. A l'opposé, si les liaisons sont de coordination (de même cas du fer) la variation de la force ionique n'a pas d'influence sur la fixation [6].

La liaison du fer aux caséines dépende du type de caséine et de la nature du composé de fer. Quand ce composé donne facilement son fer, les résidus phosphosérine des caséines sont les principaux sites de liaison. En général, le fer se fixe d'autant mieux à la caséine que celle-ci possède un grand nombre de ces résidus phosphosérine. La caséine β est estimée à 7 ions de fer par molécule.

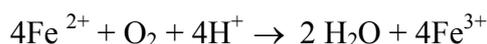
Modifications de charge et de structure

L'ajout du fer aux caséines provoque des modifications de charge et de structure des celles-ci. La liaison du fer aux caséines induit premièrement une neutralisation de leurs charges négatives et une augmentation des interactions hydrophobes pouvant conduire à leur agrégation et précipitation. La charge initiale de l'ion fer est importante car les caséines précipitent à des concentrations respectives de 4 ou 2 mM en présence de Fe^{2+} ou Fe^{3+} . Deuxièmement, la liaison du fer aux caséines, induit des changements dans leur structure. Par spectroscopie UV et de fluorescence, on a indiqué un changement conformationnel de la caséine lorsqu'elle interagit avec le composé Fe (III) [6].

Variation du potentiel redox en fonction du pH

On constate que l'acidification mène à la diminution du potentiel redox en indiquant de telle façon qu'il a lieu la stabilisation du fer ferreux (Figure 4).

Une telle dépendance est, probablement, liée au fait, que la forme oxydée est en prépondérance fixée. Lors des interactions entre des caséines et le fer sous forme de Fe^{2+} , en plus des modifications de structure des caséines, il se produit un changement d'état d'oxydation du fer qui s'accompagne d'une consommation d'oxygène du milieu. La réaction est la suivante :



Dans des conditions d'anaérobie, cette réaction n'a pas lieu, indiquant que l'oxygène dissous est un oxydant nécessaire à la réaction. De plus, la consommation d'oxygène diminue si les caséines sont déphosphorylées, indiquant que la liaison du fer aux caséines se fait préférentiellement aux niveaux des résidus phosphosérine.

Variation du potentiel redox en fonction de la concentration du fer

On a constaté que l'augmentation de la concentration du fer influence positivement la stabilisation de l'état réduit du fer, ce qui se reflète par la diminution du potentiel redox à toute concentration en fer qui dépasse 4 mg Fe/100 mL émulsion (Figure 5).

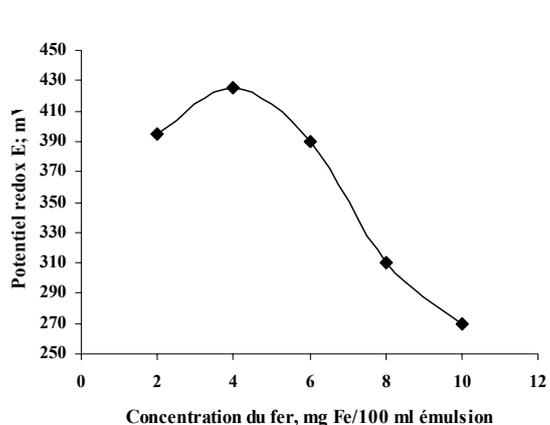


Figure 5. Variation du potentiel redox en fonction de la concentration du fer; ($C_{cas.} = 0,1\%$; $pH = 4$)

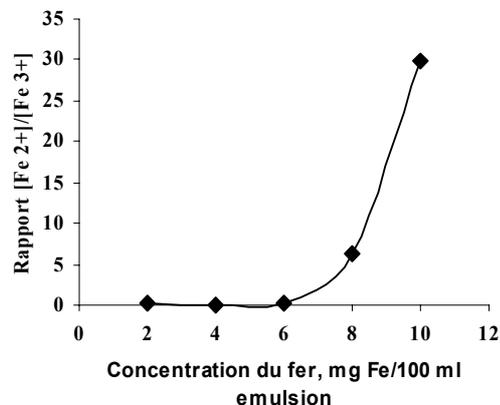


Figure 6. Variation du rapport $[Fe^{2+}]/[Fe^{3+}]$ en fonction de la concentration du fer ($C_{cas.} = 0,1\%$; $pH = 4$)

Variation du ratio $[Fe^{2+}]/[Fe^{3+}]$

La valeur du ratio $[Fe^{2+}]/[Fe^{3+}]$ est inversement corrélée au potentiel redox du système. On a examiné cette variation dans les émulsions alimentaires H/E fonction de la concentration du fer et du pH afin d'établir la prévalence de l'état réduit soit oxydé du fer administré dans les émulsions (Figure 6). Cette variation est étroitement corrélée à la valeur du potentiel redox dans ces conditions.

La variation du ratio $[Fe^{2+}]/[Fe^{3+}]$ fonction de la concentration du fer dénote que la valeur augmente avec la concentration du fer à partir $0,227 \cdot 10^7$ pour 2 mg Fe/100mL émulsion jusqu'à $29,8 \cdot 10^7$ pour 10 mg Fe/100 mL émulsion. On constate qu'à pH variable ($C_{cas.} = 0,1 \%$), le rapport $[Fe^{2+}]/[Fe^{3+}]$ augmente avec le pH (Figure 7).

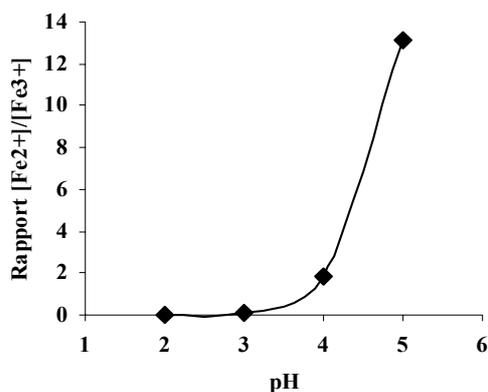


Figure 7. Variation du rapport $[Fe^{2+}]/[Fe^{3+}]$ en fonction du pH
($C_{cas.} = 0,1 \%$; $C_{tot}(Fe) = 4 \text{ mg}/100 \text{ mL émulsion}$)

C'est-à-dire que l'augmentation du pH jusqu'à pH 4-5 conduit à la stabilisation des ions Fe^{2+} dans l'émulsion – le pH optimal de la fortification.

CONCLUSIONS

L'indice de crémage, le potentiel zêta et le potentiel redox sont des paramètres de stabilité des émulsions analysées.

Selon la variation de l'indice de crémage et du potentiel électrocinétique on constate que la stabilité des émulsions est plus importante à l'ajout des caséines qu'en absence de celles-ci. La stabilité augmente avec les concentrations en fer et caséines.

La variation du potentiel redox des émulsions en présence et absence de caséines montre que pour les émulsions ajoutées de caséines le potentiel redox était décroissant pour toutes les concentrations en fer examinées.

La variation du rapport $[Fe^{2+}]/[Fe^{3+}]$ confirme l'action favorable de la caséine sur la stabilité de Fe (II) à la concentration de 0,1 % et pH 4.

L'analyse du comportement des émulsions enrichies en fer et caséines à divers pH indique que la valeur optimale du pH des émulsions est de 4 - 5. Cette valeur correspond à la valeur du pH des produits cibles de la fortification (mayonnaise, sauces etc.).

Les études effectuées montrent que l'enrichissement des émulsions alimentaires H/E avec du fer et protéines animales est possible et même désirable grâce au fait que le fer introduit mène à la stabilisation des émulsions par formation des émulsions triples plus stables et aussi bien parce que les protéines administrées mènent, d'une part, à la stabilisation stérique de l'émulsion par formation des microfilmes stables à l'interface huile/eau et, d'autre part, par la stabilisation du fer ferreux – plus absorbable par l'organisme humain.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Banque Internationale pour la reconstruction et le développement/Banque Mondiale: *Enrichir la vie en surmontant la malnutrition liée aux carences en vitamines et minéraux dans les pays en développement*, Washington DC, USA, **1995**.
2. Clugston, G. Smith, T.: Global Nutrition problems and novel foods, *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, **2002**.
3. Bloem, M.W., Wedel, M., Van-Agtmaal, E.J., Speek, A.J., Saokontha, S.: Vitamin A intervention: Short term effects of a single oral, massive dose on iron metabolism, *Amer. J. Clin. Nutr.*, **1996**, 51(1), 76-9.
4. Sean, A., Hogan Brien, F., Mc Namee, E., O'Riordan, D., O'Sullivan, M.: Stabilisation of Émulsions by Cod Protein Extracts, *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, 52(12).
5. Dickinson, E. Enston, S.R., Woskett, C.M.: Competitive adsorption of food macromolécules and surfactants at the oil-in-water interface, *Progress Colloid and Polimer Sci.*, **1990**, 82, 65-75.
6. Gaucheron, F. *Minéraux et produits laitiers*, Lavoisier, Paris, **2004**, pp. 330, 84-94, 438-443.
7. Atkinson, P.T., Dickinson, E. et al.: Neutron reflectivity of adsorbed β -caseine and β -lactoglobulin at the air/water interface, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **1995**, 91, 2847-2854.
8. Karleskind, A.: *Manuel des corps gras*, Tec & Doc., Paris. vol. 2, pp. 988-994.
9. World Health Organization: *Iron Deficiency anemia: Assessment, Prevention and Control*, WHO, Geneva, Switzerland, **2001**, pp. 1-22.
10. Hurrell, R.F.: *Mineral fortification of food*, Leatherhead Food Research Association, England, **1999**.