



Microfiltration tangentielle ($0.1 \mu\text{m}$) de lait écrémé: rôle interactions électrostatiques sur le fractionnement de protéines laitières

Geneviève Gésan-Guiziou, Anne Jimenez-Lopez, Fabienne Lambrouin,
Murielle Rabiller-Baudry

► To cite this version:

Geneviève Gésan-Guiziou, Anne Jimenez-Lopez, Fabienne Lambrouin, Murielle Rabiller-Baudry. Microfiltration tangentielle ($0.1 \mu\text{m}$) de lait écrémé: rôle interactions électrostatiques sur le fractionnement de protéines laitières. Journée scientifique du CFM, Nov 2013, Paris, France. hal-01354025

HAL Id: hal-01354025

<https://hal.science/hal-01354025>

Submitted on 6 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Microfiltration tangentielle (0.1 μm) de lait écrémé : rôle interactions électrostatiques sur le fractionnement de protéines laitières

Geneviève Gésan-Guiziou

Anne Jimenez-Lopez

Fabienne Lambrouin-Garnier

Murielle Rabiller-Baudry



INRA Agrocampus Rennes UMR 1253 STLO

“Science et Technologie du Lait et l’Oeuf”
genevieve.gesan-guiziou@rennes.inra.fr

CFM “Journée Fractionnement” 13 nov 2013

Contexte socio-économique

- Filtration membranaire dans l'industrie laitière

- Opérations très largement utilisées : $\approx 40\%$ de la surface membranaire dans les IAA

Concentration des constituants du lait → Fabrication fromagère, standardisation, ...

Fractionnement des constituants du lait → Ingrédients à forte valeur ajoutée



Opérations mal maîtrisées & Performances encore impossibles à prédire

- Variabilité des durées de production et de la qualité des produits transformés
- Difficultés de nettoyage

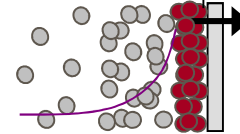
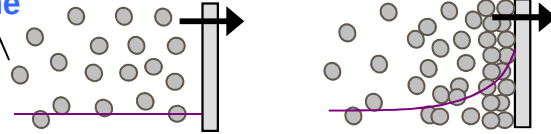
Forte consommation | **d'eau** (2-6 m³ d'eau / 100 m² de membranes / opérations de nettoyage)
de détergents et d'énergie...

Contexte scientifique

- Micro- et Ultra- filtration (tangentielle) de lait écrémé

• Accumulation de matière à la surface des membranes

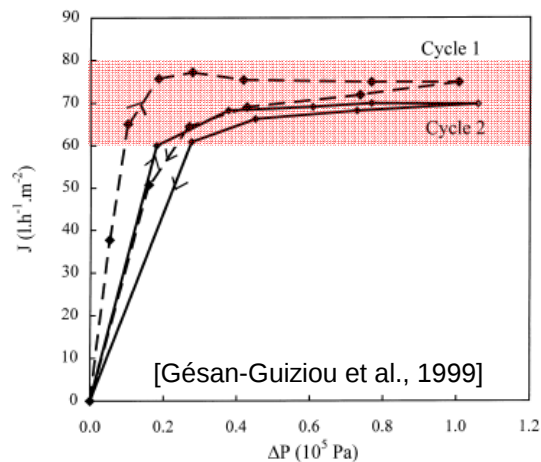
Micelle de caséine
(colloïde)



Matière colloïdale à
l'état "dense", concentré

[Gésan-Guiziou et al., JMS, 1999; Jimenez-Lopez et al, SPT, 2008]

• Altération des performances de l'opération

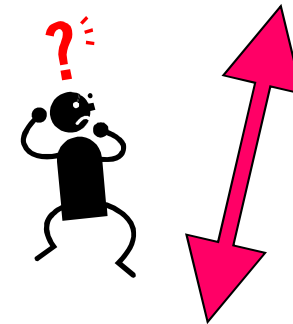


Flux de perméation

Transmission des protéines "solubles"

Colmatage irréversible

Propriétés / Structure de ces
couches concentrées



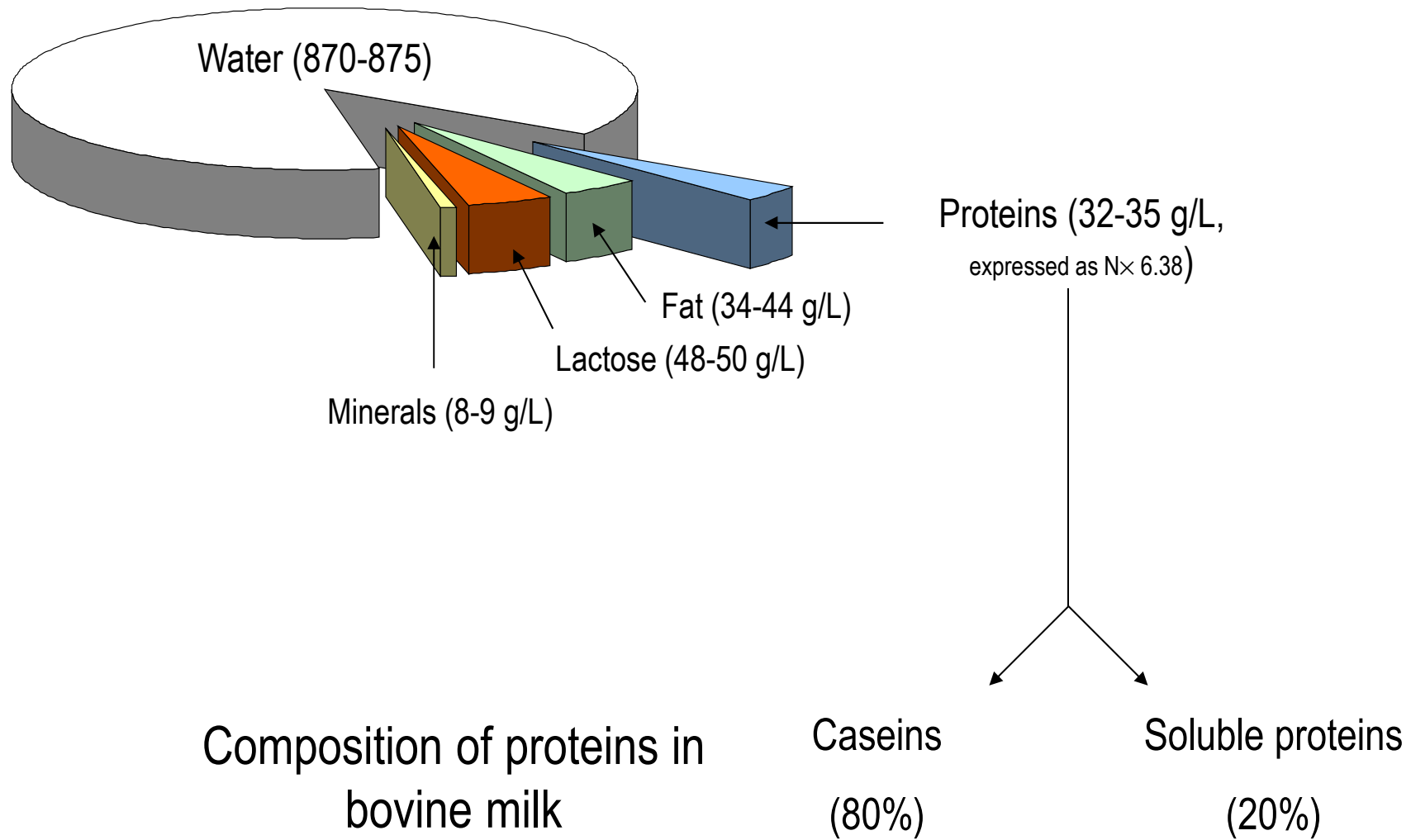
Propriétés de transfert

• Enjeu : Modéliser pour prédire les performances de la filtration

→ Améliorer productivité / qualité des produits

→ Diminuer l'impact environnemental de ces opérations

Composition of milk

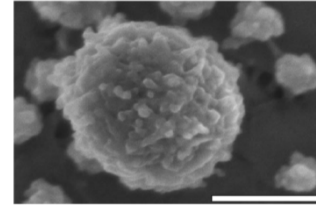


Proteins in bovine milk

Concentration	g/kg	%	micelles
Total proteins	33.0	100.0	
Total caseins	26.0	79.5	
α_{s1} casein	10.0	30.6	
α_{s2} casein	2.6	8.0	
β casein	9.3	28.4	
γ casein	0.8	2.4	
κ casein	3.3	10.1	
Soluble proteins	6.3	19.3	
α - lactalbumin	1.2	3.7	
β - lactoglobulin	3.2	9.8	
BSA	0.4	1.2	
Immunoglobulins	0.7	2.1	
Others	0.8	2.4	
Proteins of fat membrane globule	0.4	1.2	

Micelle de caséine

~80% des protéines dans le lait, C $\approx$ 25 g/L



- **Composition :**

| caséines : α_{s1} , α_{s2} , β , κ (3:1:3:1)

| minéraux : phosphate et calcium

- **Objet colloïdal ($\approx$ sphérique) :**

grande distribution de taille $\sim$ 50-500nm, taille moyenne $\approx$ 120nm

fortement hydratée voluminosité 4.4 ml/g (3.7g d'eau / g protéines)

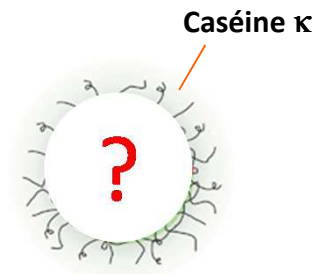
en équilibre dynamique avec la phase solvante

- **Structure :**

| phosphate de calcium $\rightarrow$ nanoclusters

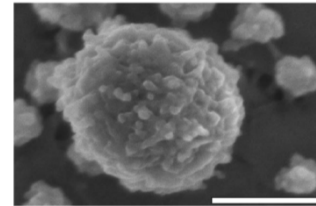
| caséine κ $\rightarrow$ à la périphérie, fortement chargée

La structure interne est encore controversée...



Micelle de caséine

~80% des protéines dans le lait, C $\approx$ 25 g/L



- **Composition :**

| caséines : α_{s1} , α_{s2} , β , κ (3:1:3:1)

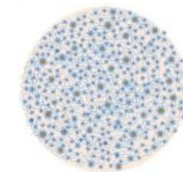
| minéraux : phosphate et calcium

- **Objet colloïdal ($\approx$ sphérique) :**

grande distribution de taille $\sim$ 50-500nm, taille moyenne $\approx$ 120nm

fortement hydratée voluminosité 4.4 ml/g (3.7g d'eau / g protéines)

en équilibre dynamique avec la phase solvante



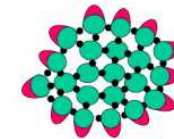
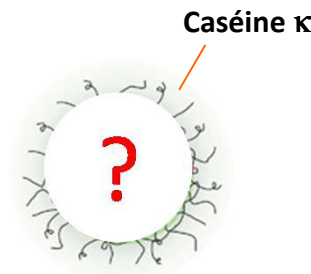
[de Kruif et al., Adv. Colloid Interface Sci., 2012]

- **Structure :**

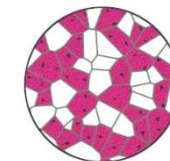
| phosphate de calcium $\rightarrow$ nanoclusters

| caséine κ $\rightarrow$ à la périphérie, fortement chargée

La structure interne est encore controversée...



[Walstra, Int. Dairy. J., 1999]



[Bouchoux et al., Biophys.J., 2010]

Proteins in bovine milk

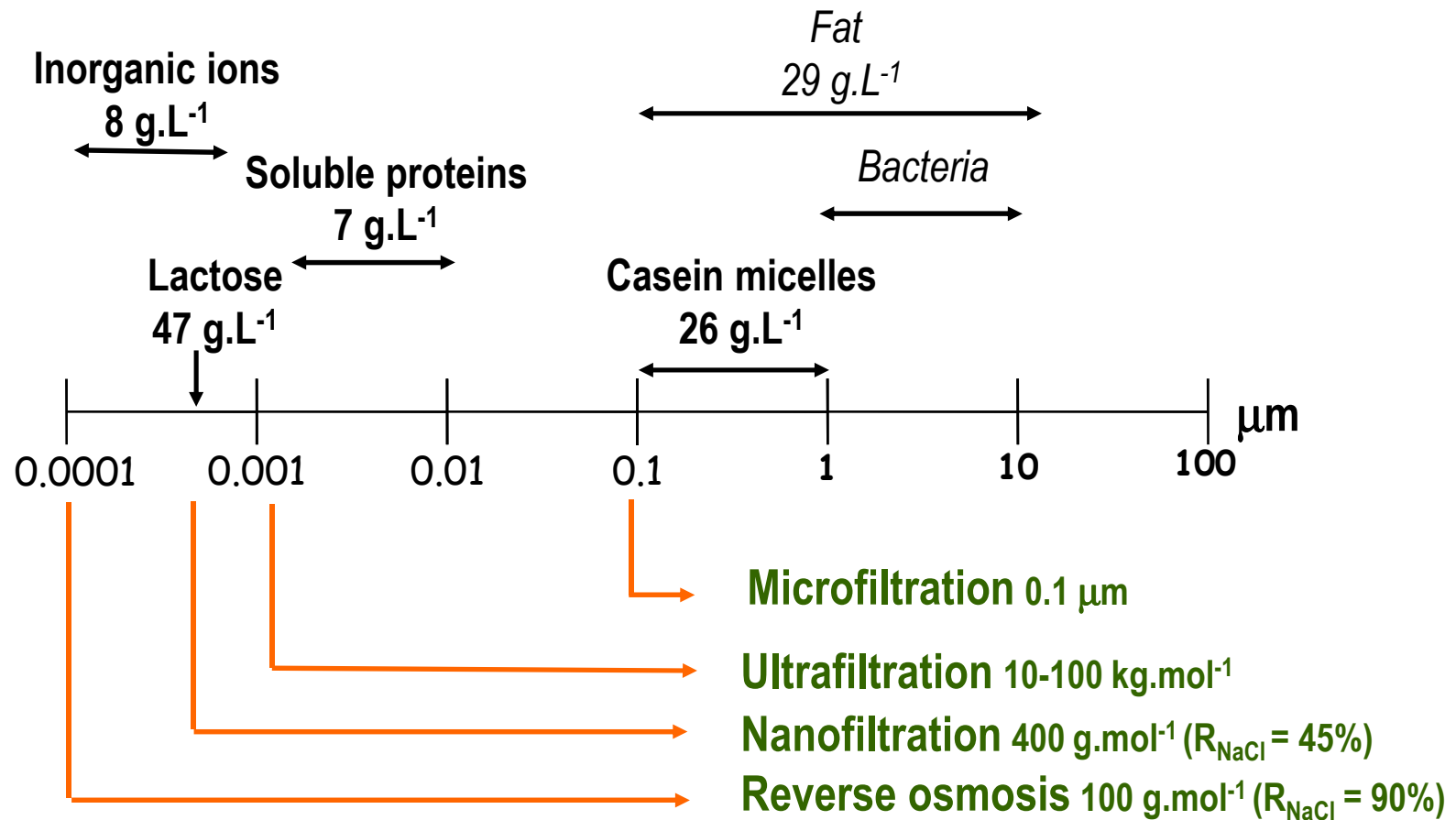
Concentration	g/kg	%
Total proteins	33.0	100.0
Total caseins	26.0	79.5
α_{s1} casein	10.0	30.6
α_{s2} casein	2.6	8.0
β casein	9.3	28.4
γ casein	0.8	2.4
κ casein	3.3	10.1
Soluble proteins	6.3	19.3
α - lactalbumin	1.2	3.7
β - lactoglobulin	3.2	9.8
BSA	0.4	1.2
Immunoglobulins	0.7	2.1
Others	0.8	2.4
Proteins of fat membrane globule	0.4	1.2

Protéines solubles

Protéine	MM (kg mol ⁻¹)	r _s (nm)	pHi	U _{S0} (10 ⁻⁸ m ² V ⁻¹ s ⁻¹)
α-La	14,2	2,0	4,2- 4,5	-2,21 ^{apo} -1,02 ^{holo}
β-Lg	18,2 ^{mono} 36,6 ^{dim}	2,0 ^{mono} 2,7 ^{dim}	5,1- 5,4	-4,72 ^{mono} -7,26 ^{dim}
BSA	67	3,5	4,8- 5,1	-5,26
LF	77 ^{mono} 324 ^{tetra}	2,2 ^{mono} 4,4 ^{tetra*}	8,0- 9,0	1,70
IgG	150-1000	5,5	5,5-8,3	0

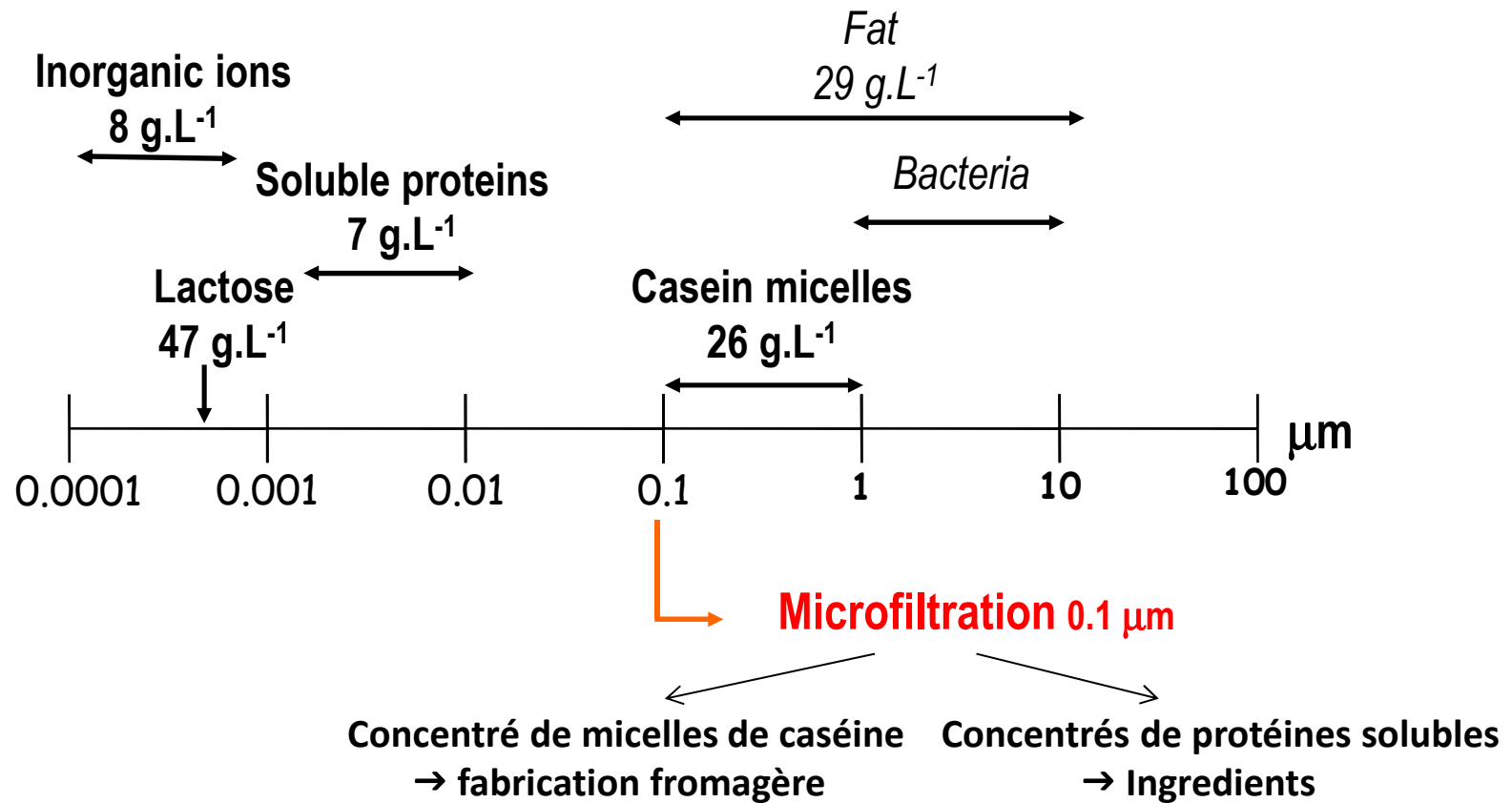
Skimmed milk and crossflow filtration

Milk components

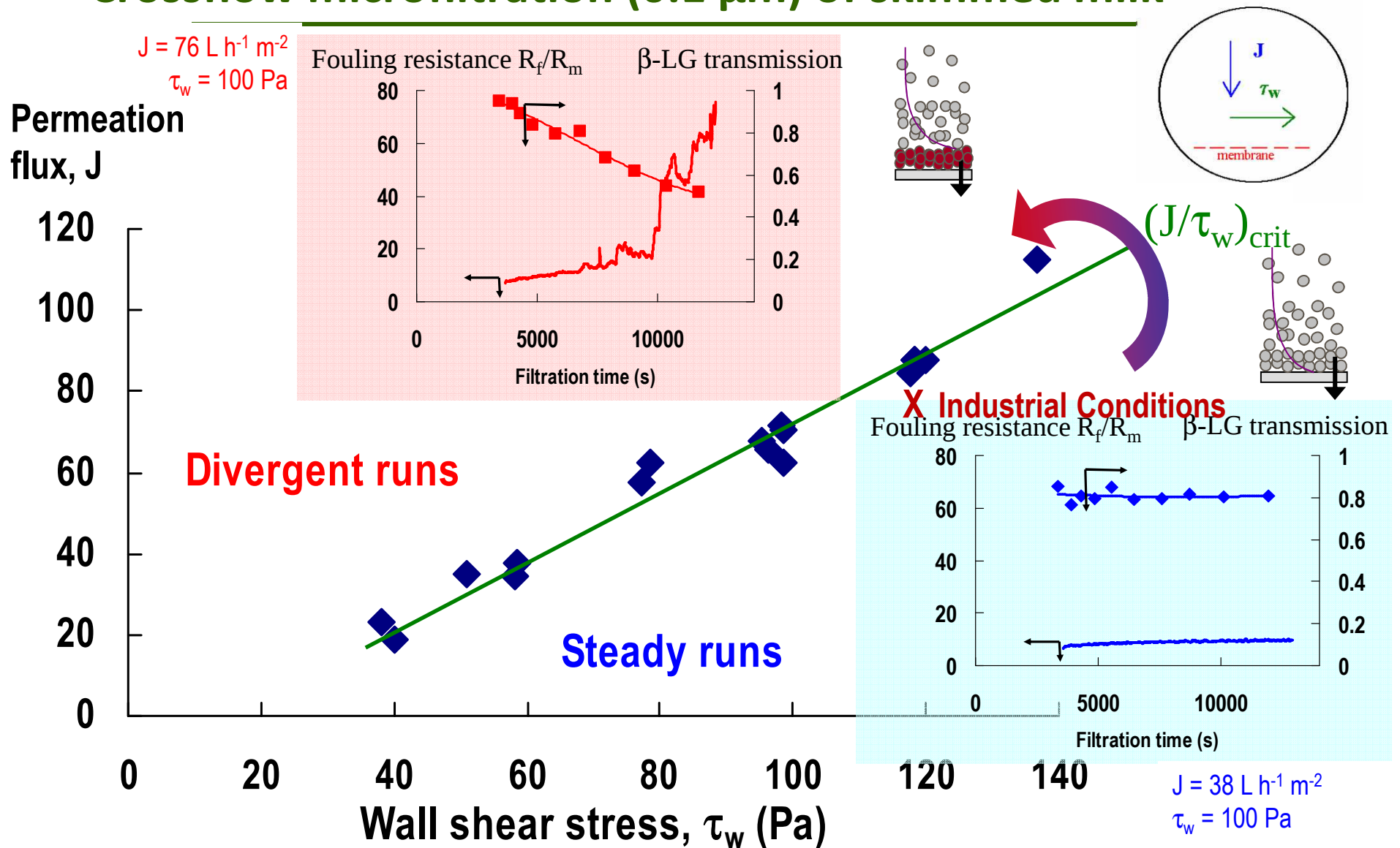


Skimmed milk and crossflow filtration

Milk components



Crossflow microfiltration (0.1 μm) of skimmed milk

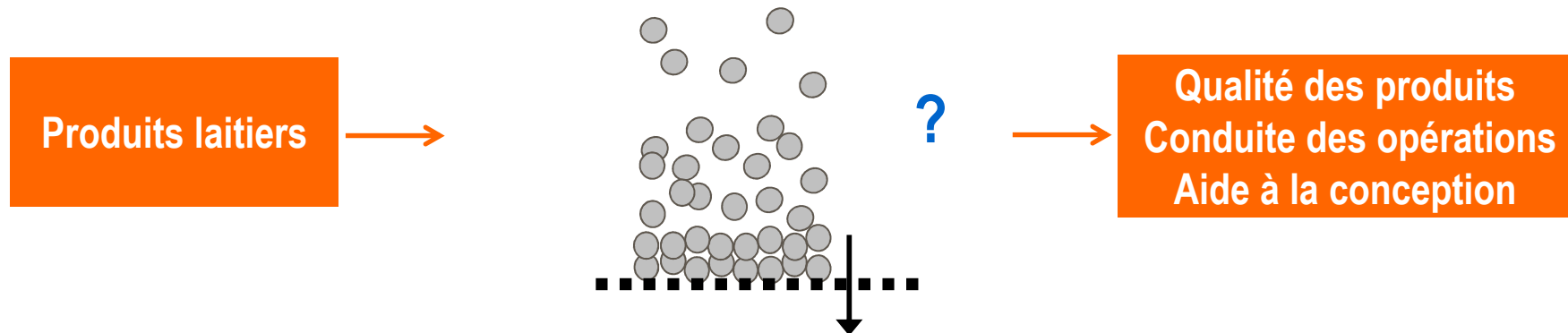


Ceramic membrane 0.1 μm , UTP system, VRR=2, T= 50°C
Le Berre et Daufin, 1996; Gésan-Guizieu *et al.*, 1999; 2000

Objectif

Questions

- Quelles caractéristiques de transfert des couches de micelles ?
- Quels mécanismes responsables de la sélectivité des couches?



Choix de stratégie :

- Fluide d'étude = lait écrémé; disponibilité de concentrés de micelles; microfiltrat
- avant/pendant/après conditions critiques
- protéines solubles = traceurs

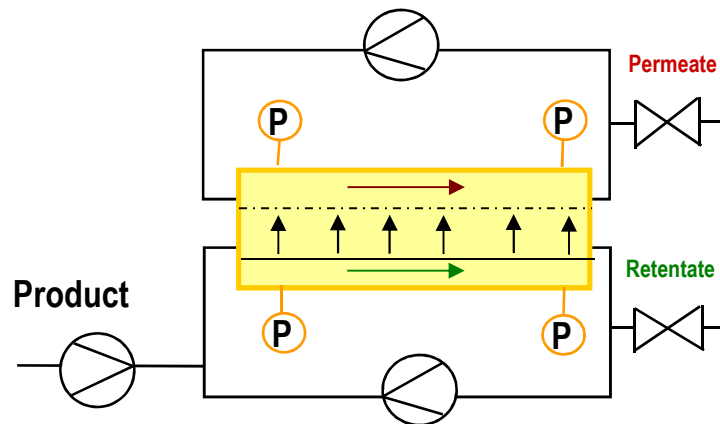
Methodology – Microfiltration experiments

Fluids Heat treated skimmed milk (68°C; 20s) + NaCl (0-300 mM) with pH adjustment (6.55)
Casein Micelles Suspension (CMS), Powder Ingredia (France)
Microfiltrate (0.1 µm) (**M**): milk without the casein micelles (« ideal » whey)
CMS + M = reconstituted milk

Equipment

Ceramic membrane 0.1 µm Kerasep (Orelis, Novasep, France)

Crossflow-filtration with UTP (« Uniform Transmembrane Pressure ») **system**



Methodology – Microfiltration experiments

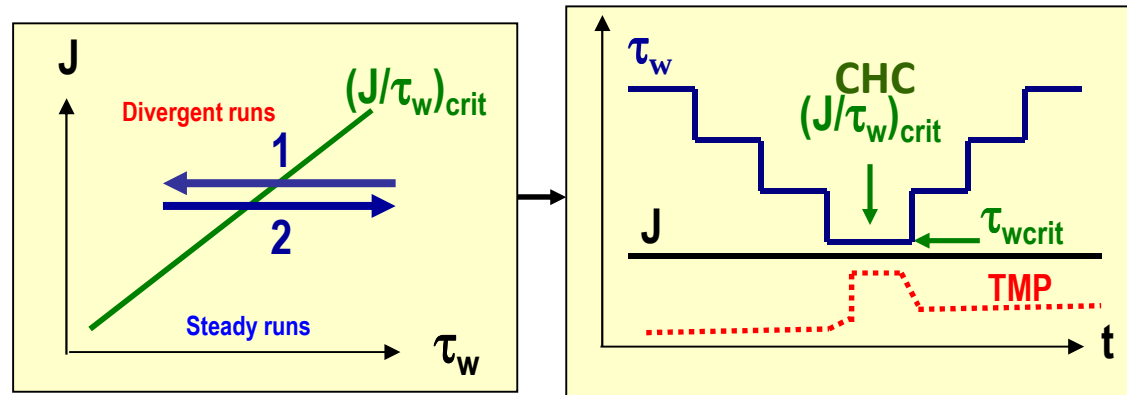
Fluids Heat treated skimmed milk (68°C; 20s) + NaCl (0-300 mM) with pH adjustment (6.55)
Casein Micelles Suspension (CMS), Powder Ingredia (France)
Microfiltrate (0.1 µm) (**M**): milk without the casein micelles (« ideal » whey)
CMS + M = reconstituted milk

Equipment

Ceramic membrane 0.1 µm Kerasep (Orelis, Novasep, France)

Crossflow-filtration with UTP (« Uniform Transmembrane Pressure ») system

Methodology

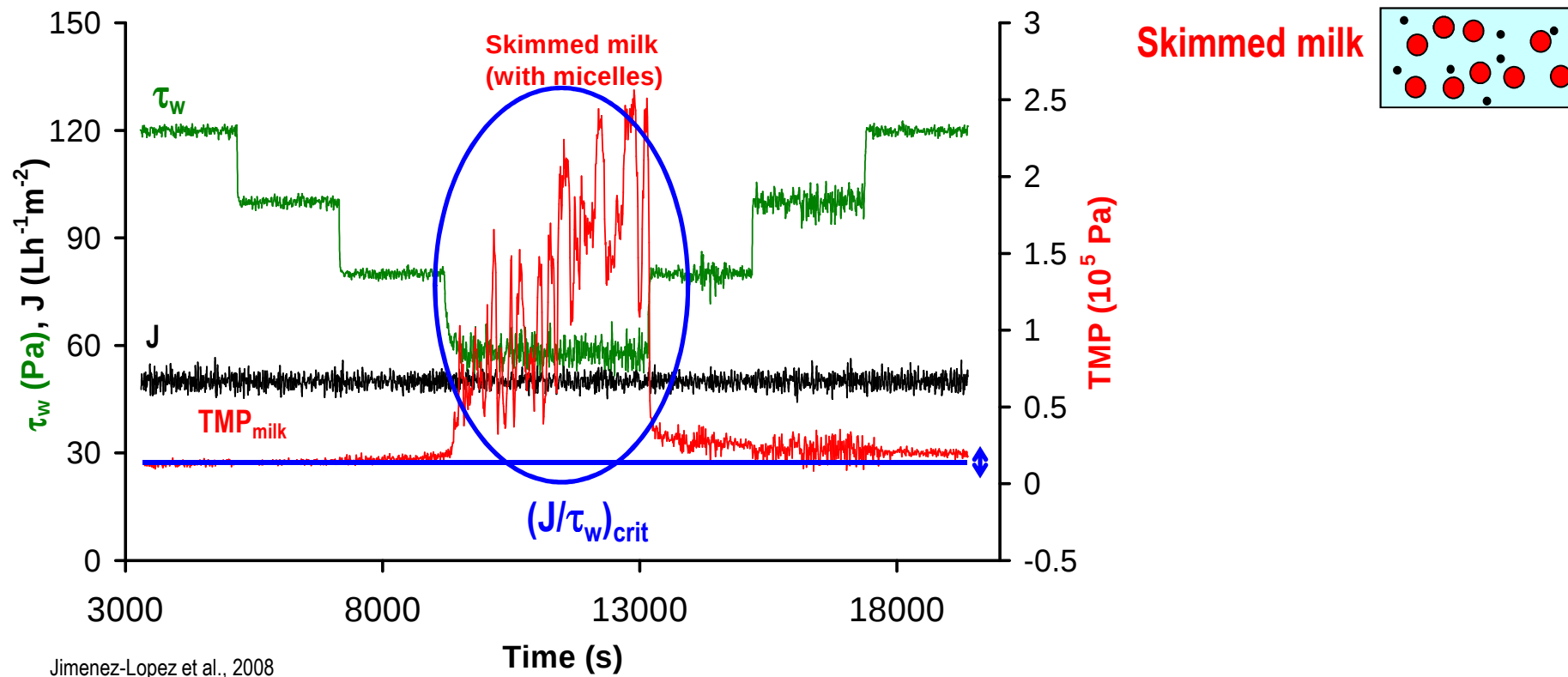


- **Reversibility / irreversibility** (Hysteresis; Darcy's law)
- **Casein micelle and soluble protein transfer**
- **Mass balance** : identification of soluble protein entrapped with accumulated matter

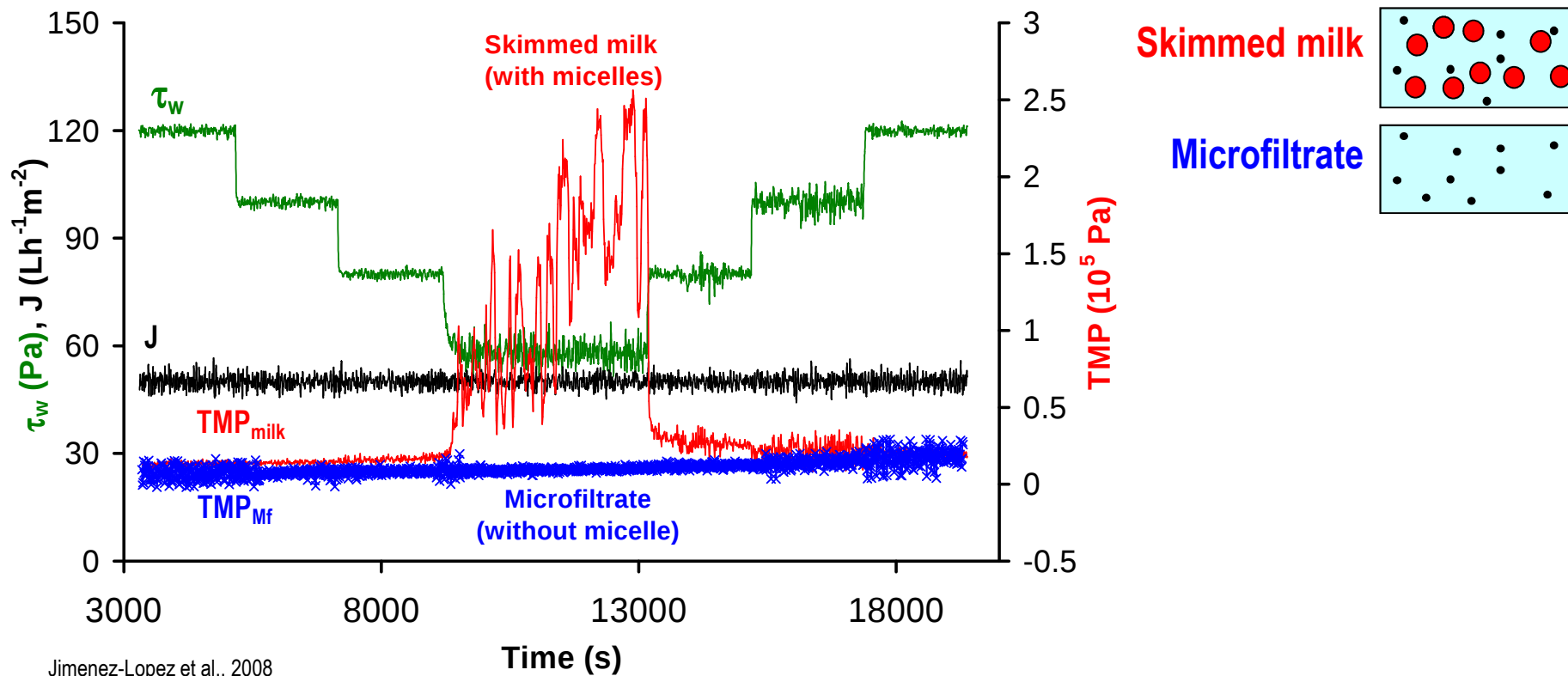
Operating conditions

$T = 48^\circ\text{C}$; $J = 50 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$; Volume Reduction Ratio = 2

Critical conditions $(J/\tau_w)_{crit}$ – main contributor



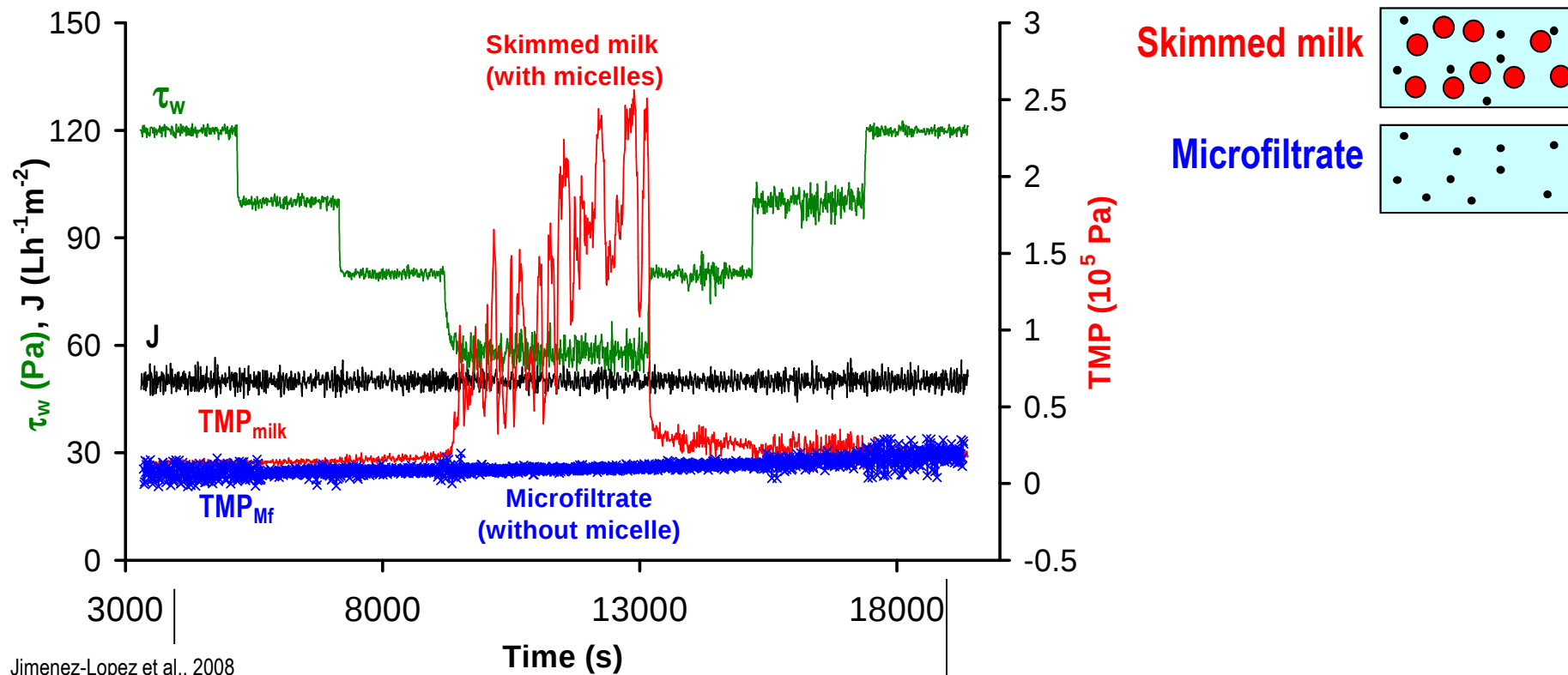
Critical conditions $(J/\tau_w)_{crit}$ – main contributor



Les micelles de caséines sont les composants responsables de l'apparition des conditions critiques

Aucun effet des protéines solubles sur l'apparition des conditions critiques
(comparaison performances : lait et lait sans protéines solubles)

Critical conditions $(J/\tau_w)_{crit}$ – main contributor



Jimenez-Lopez et al., 2008

Leak of casein micelles in the permeate

Turbidity

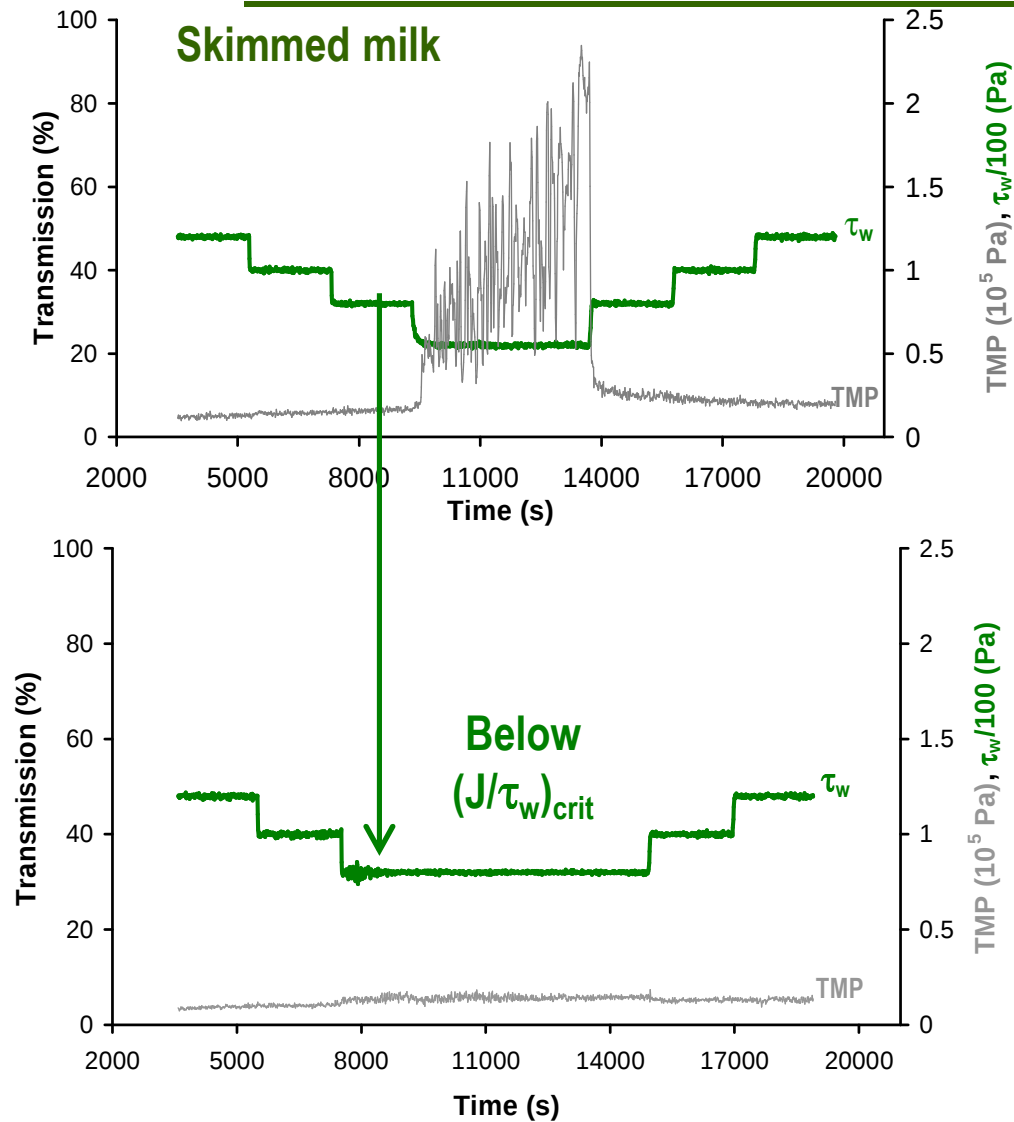
Micelle size

similar before and after $(J/\tau_w)_{crit}$

Blocage de pore peu probable

Dépôt des micelles de caséines à la surface de la membrane

Critical conditions $(J/\tau_w)_{crit}$ – main contributor



Passage au-delà des conditions critiques:

↗ TMP de 67 %
 $R_{if}/R_m = 5.8 \pm 0.9$
 (3 expérimentations)

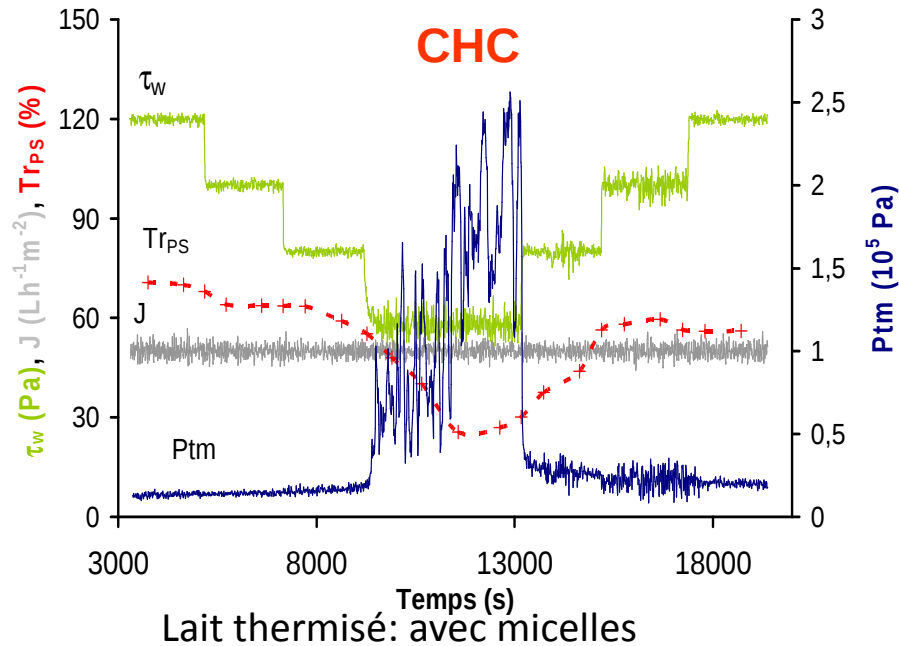
En dessous des conditions critiques:

↗ TMP de 27 %
 $R_{if}/R_m = 2.9 \pm 0.8$
 (3 expérimentations)



L'accumulation des micelles de caséines aux conditions critiques conduit à une augmentation du colmatage irréversible

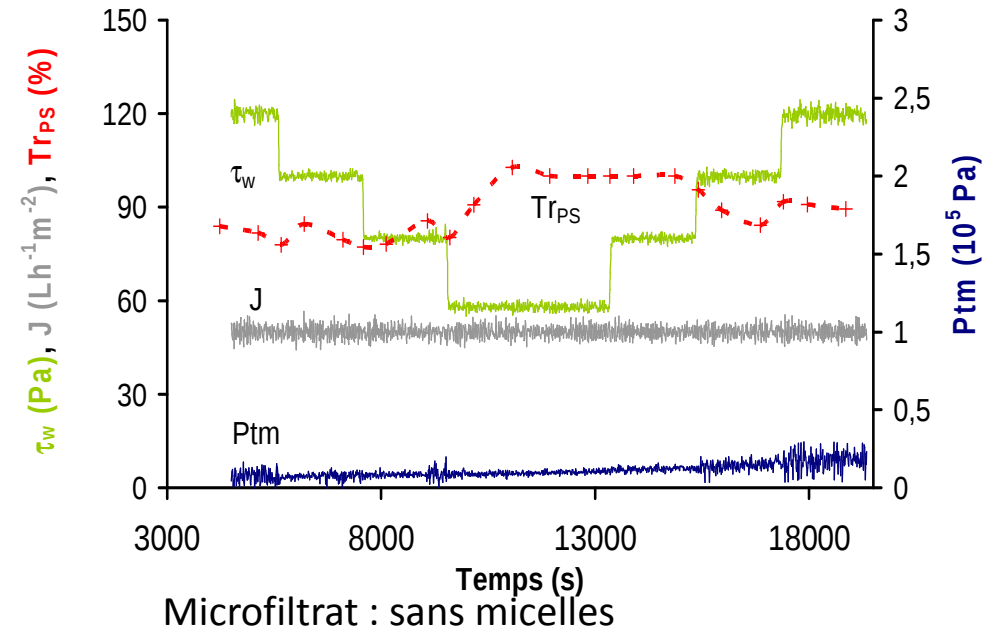
Critical conditions $(J/\tau_w)_{crit}$ – impact on protein transmission



CHC

Forte et brusque $\uparrow$ P_{tm}

$\downarrow$ Tr_{PS}



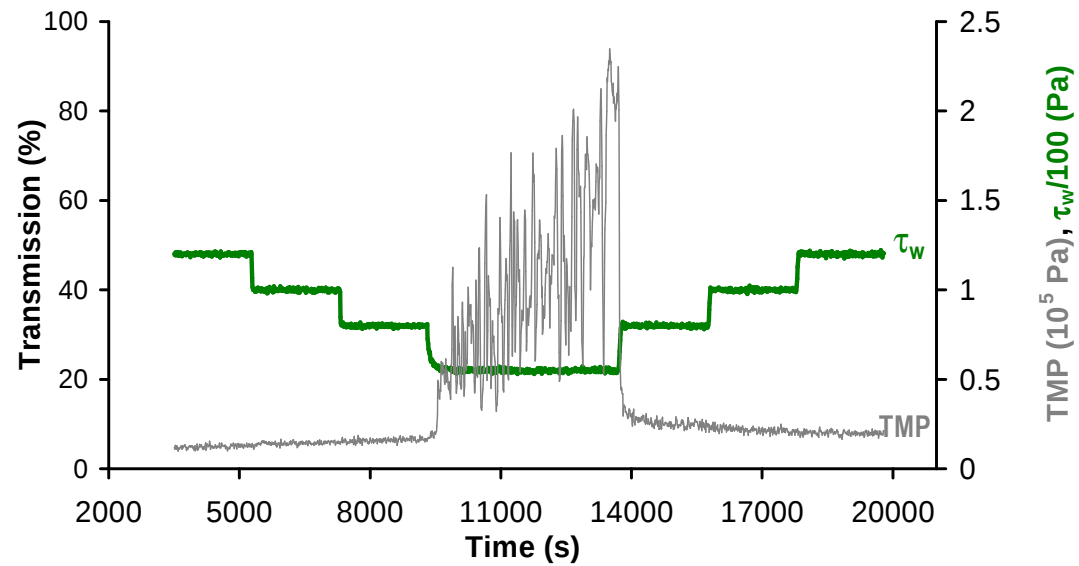
Pas de CHC

Pas de $\uparrow$ P_{tm}

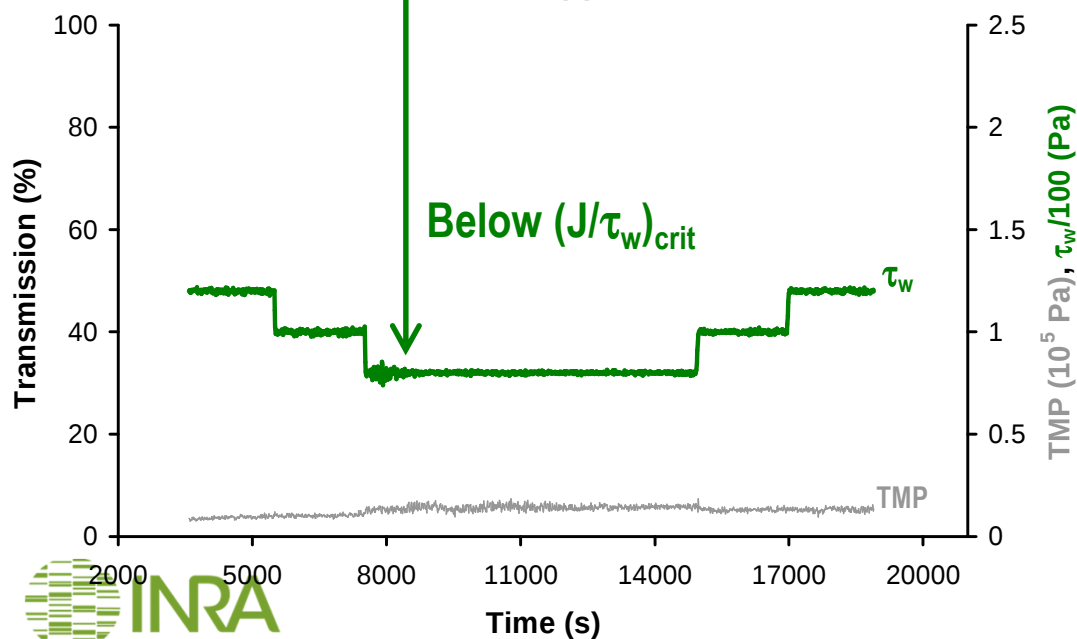
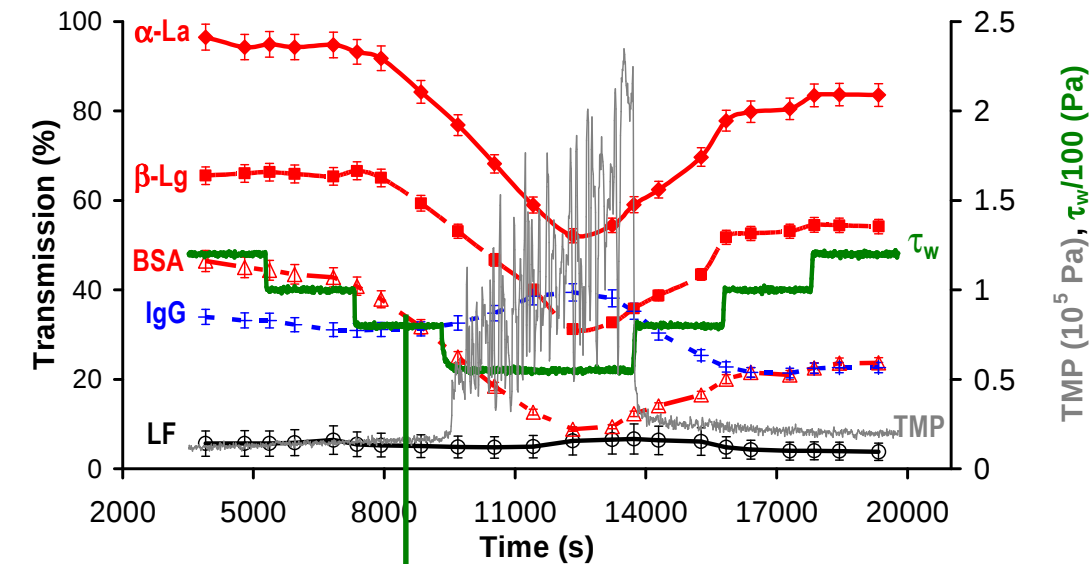
Tr_{PS} $\uparrow$, globalement stable

La présence de micelles de caséines affecte la transmission des protéines solubles

Critical conditions $(J/\tau_w)_{\text{crit}}$ – impact on protein transmission

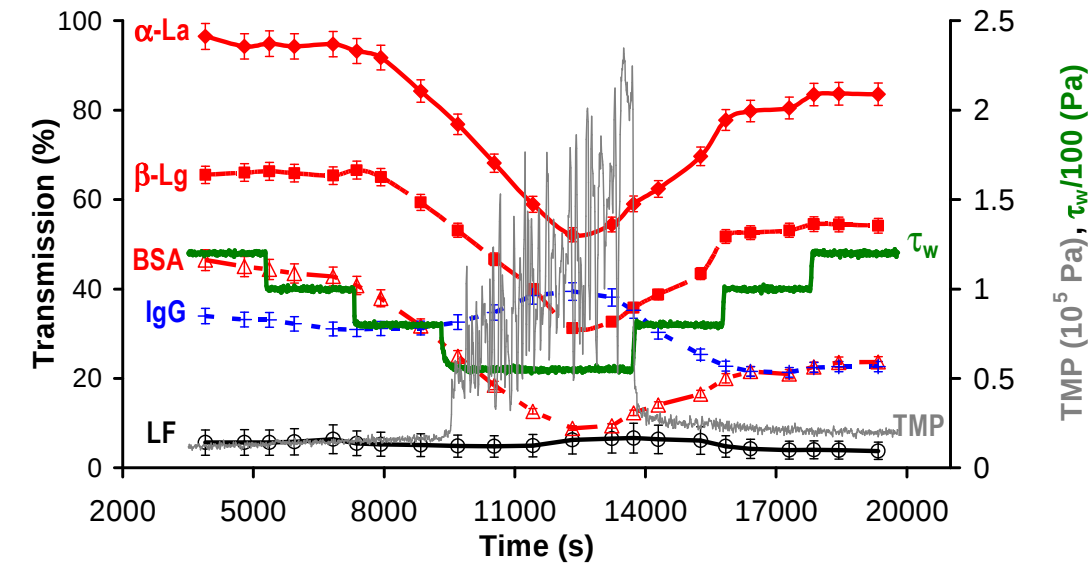


Critical conditions $(J/\tau_w)_{\text{crit}}$ – impact on protein transmission

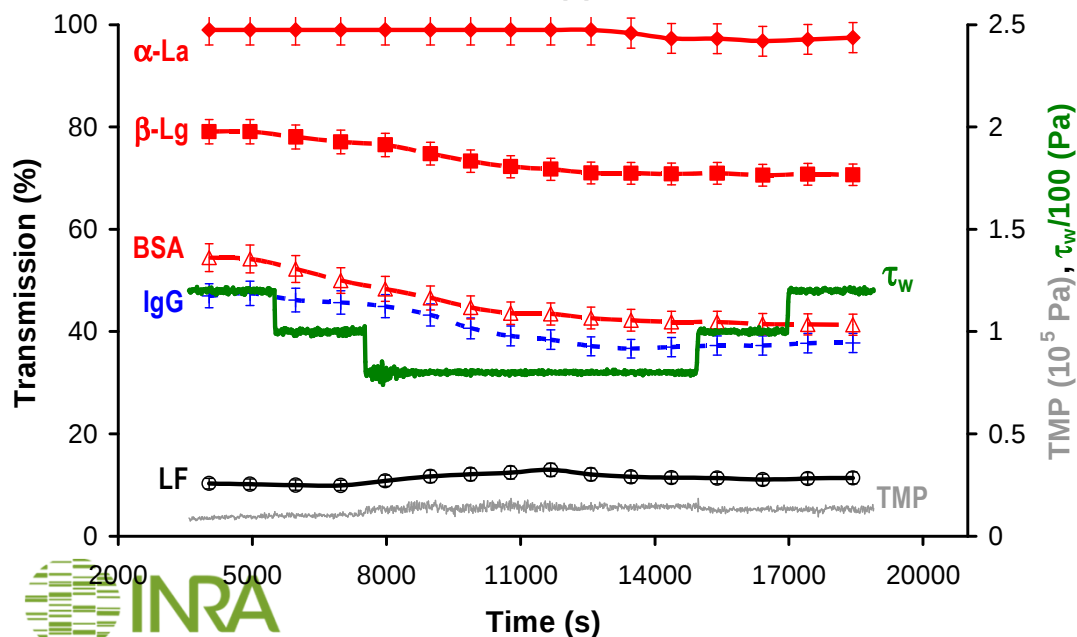


α-LA (14.2 kg mol^{-1})	}	charge -
β-Lg ($36.6^{\text{di}} \text{ kg mol}^{-1}$)		
BSA (67 kg mol^{-1})		
IgG (150 kg mol^{-1})		≈ 0
LF ($324^{\text{tetra}} \text{ kg mol}^{-1}$)		+

Critical conditions $(J/\tau_w)_{crit}$ – impact on protein transmission



α -LA (14.2 kg mol ⁻¹)	}	charge
β -Lg (36.6 ^{di} kg mol ⁻¹)		
BSA (67 kg mol ⁻¹)		
IgG (150 kg mol ⁻¹)		≈ 0
LF (324 ^{tetra} kg mol ⁻¹)		+



Micelle deposit affects protein transmissions

Mécanismes

Exclusion stérique ? Interactions/ répulsions électrostatiques ?

Modèle de Ferry (1936)

$$Tr_{\text{Ferry}} = 1 - \left(1 - \left(1 - \frac{r_{\text{solute}}}{r_{\text{pore}}} \right)^2 \right)^2$$

- Tr_{IgG} et r_{SIgG} $\rightarrow$ d_{app} (membrane + matière accumulée)
- $d_{\text{app}} \rightarrow Tr_{\text{F}}$ α -La, β -Lg, BSA, LF $\rightarrow$ $(Tr_{\text{F}} - Tr)$

Diamètre apparent de la membrane

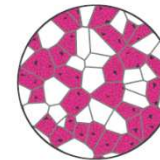
Diamètre apparent de l'ensemble (dépôt + membrane), (d_{app}), calculé selon la loi de Ferry en fonction des conditions hydrodynamiques de filtration et de la présence et absence de micelles

	d_{app} (nm)	
	Présence de micelles (lait)	Absence de micelles (microfiltrat)
Avant CHC ^a	9±1	13±1
Aux CHC ^b	9±1	15±1
Après CHC ^c	8±1	16±2

➤ $d_{app} \approx 9 \text{ nm} \ll 100 \text{ nm}$ (diamètre pores mbre)

➤ $d_{app} \approx 9 \text{ nm} < 18 \text{ nm}$ (diamètre vide micelles)

➤ Pas d'évolution d_{app} , $\forall$ conditions hydrodynamiques



[Bouchoux et al., Biophys.J., 2010]

Adsorption PS + micelles dans pores + surface membrane $\rightarrow \searrow \searrow d_{app}$
 Dépôt ne modifie pas d_{app} : premières couches adsorbées = exclusion stérique cste

Evaluation de $(Tr_F - Tr)$ en présence de micelles

	Avant CHC	CHC	Après CHC
$(Tr_F - Tr)_{\alpha-La}$	-6±10	32±8	9±9
$(Tr_F - Tr)_{\beta-Lgdim}$	10±9	40±7	27±8
$(Tr_F - Tr)_{BSA}$	18±10	48±7	31±7
$(Tr_F - Tr)_{LF}$	42±10	44±10	30±8

1 Avant CHC, Tr_{LF} jamais modèle de Ferry (piégeage avec micelles)

2 Avant CHC, $Tr_{PS} \approx$ accord avec Ferry

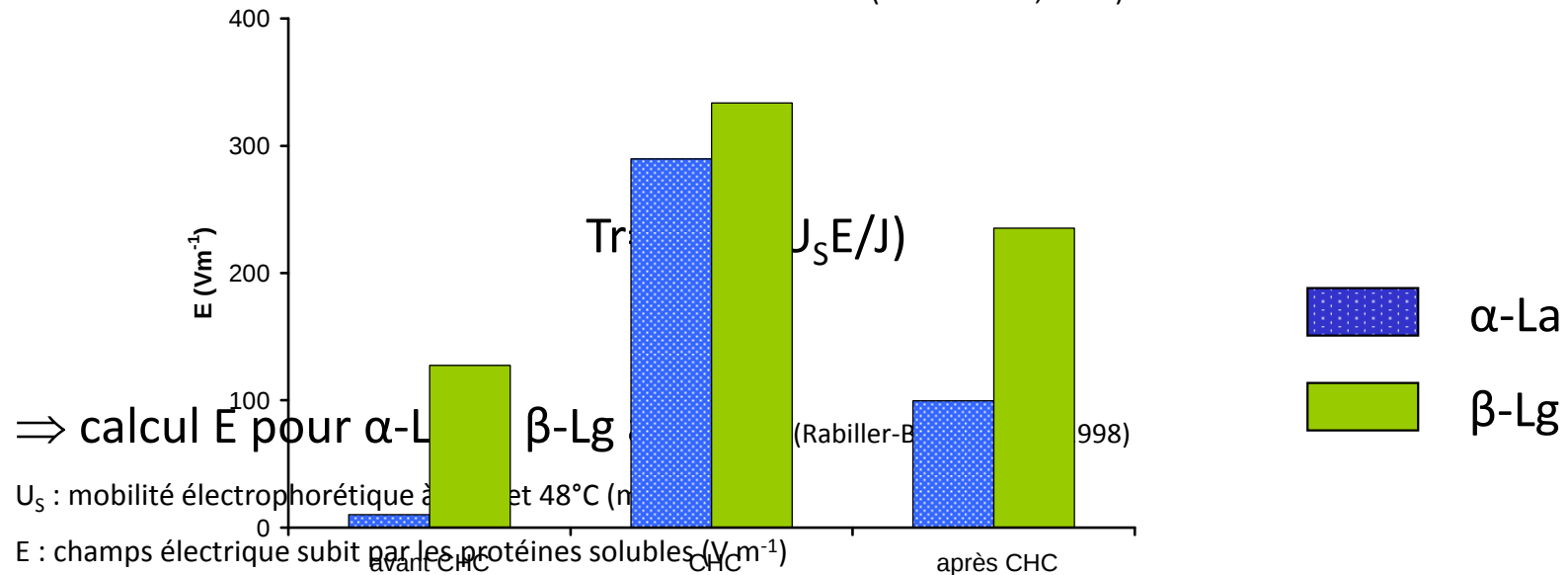
D'autres phénomènes que le simple effet stérique contrôlent le transfert des protéines

3 CHC/ après CHC : Dépôt micelles: $\searrow \searrow Tr_{\alpha-La}$, $Tr_{\beta-Lg}$ et Tr_{BSA}

Repulsions électrostatiques

Répulsions électrostatiques micelles - $PS < 0$ (α -La, β -Lg et BSA) contrôlent le transfert

Modèle établi en électro-ultrafiltration (Daufin *et al.*, 1995)

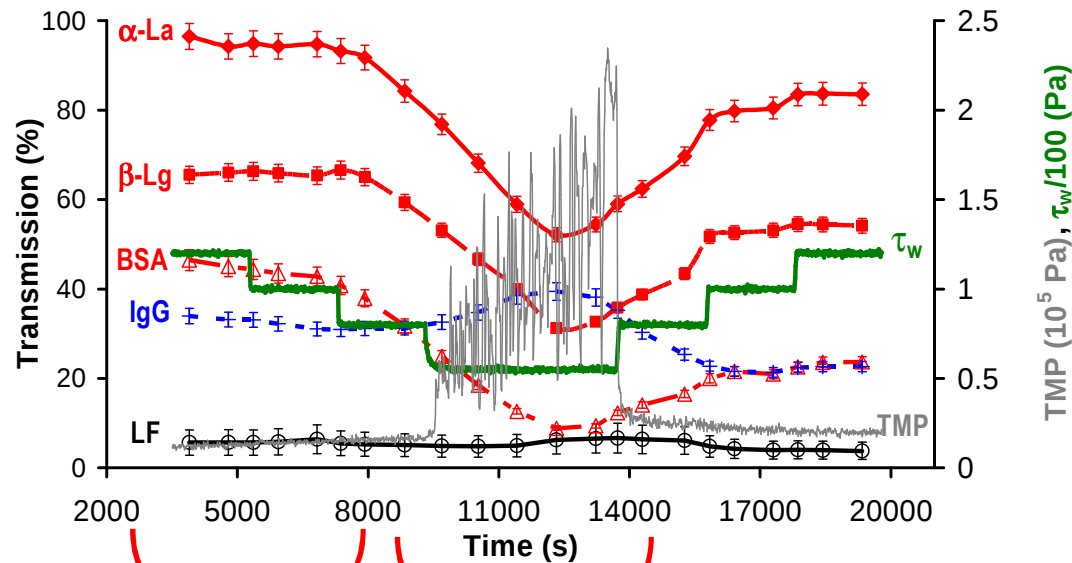


Aux CHC, fort E : $\uparrow$ épaisseur et concentration des micelles dans couche de polarisation

⇒ $\uparrow$ densité charge

Après CHC, dépôt résiduel ⇒ densité charge résiduelle ⇒ hysteresis Tr

Critical conditions $(J/\tau_w)_{crit}$ – impact on protein transmission

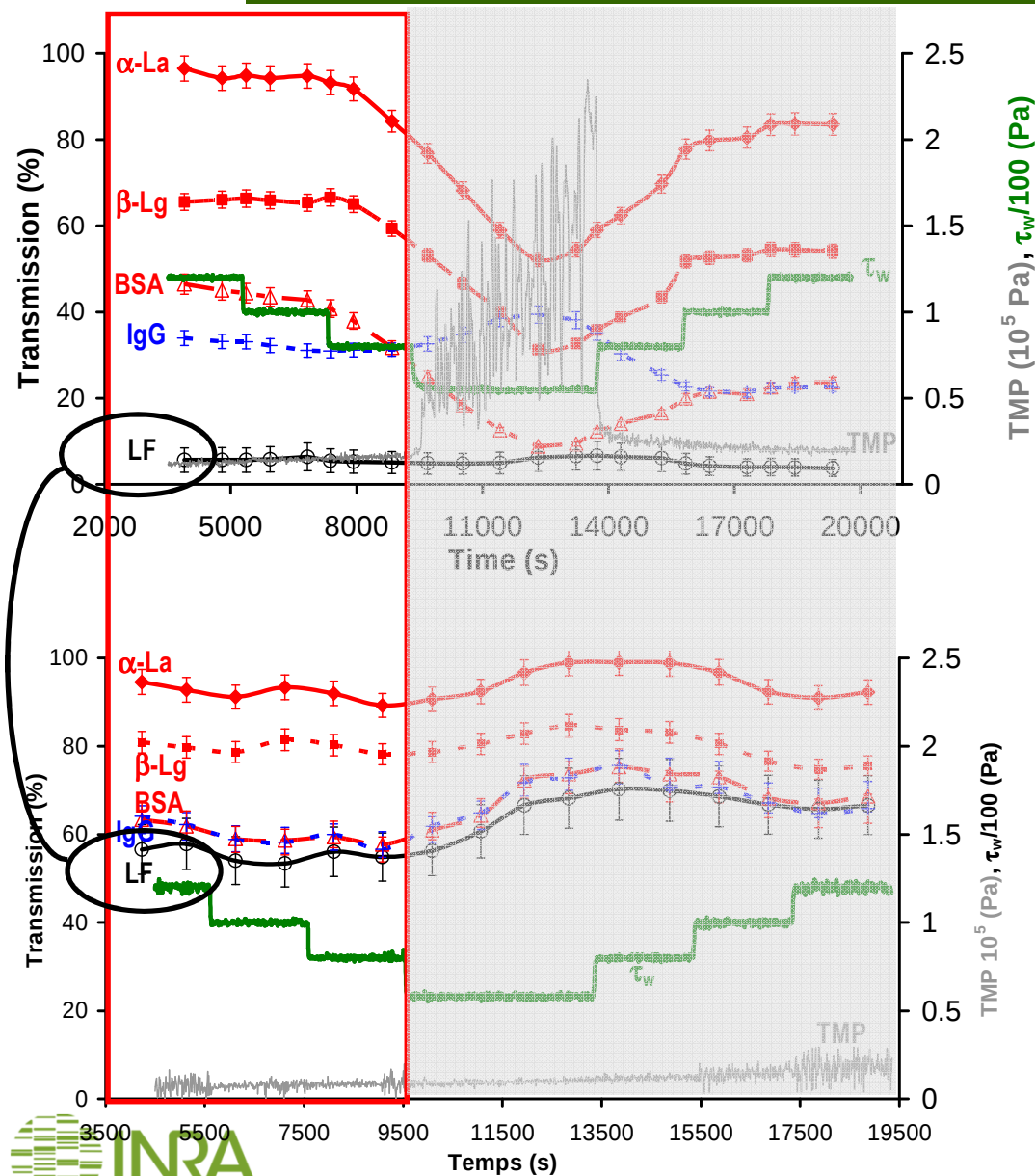


α-LA (14.2 kg mol ⁻¹)	}	charge -
β-Lg (36.6 ^{di} kg mol ⁻¹)		
BSA (67 kg mol ⁻¹)		
IgG (150 kg mol ⁻¹)		≈ 0
LF (324 ^{tetra} kg mol ⁻¹)		+

Tr protein = steric repulsions
except for LF

Tr protein ≠ steric repulsions
Proteins - :electrostatic repulsions with micelles -
Protein ≈ 0 : polarization of concentration

Presence of casein micelles – impact on protein transmission



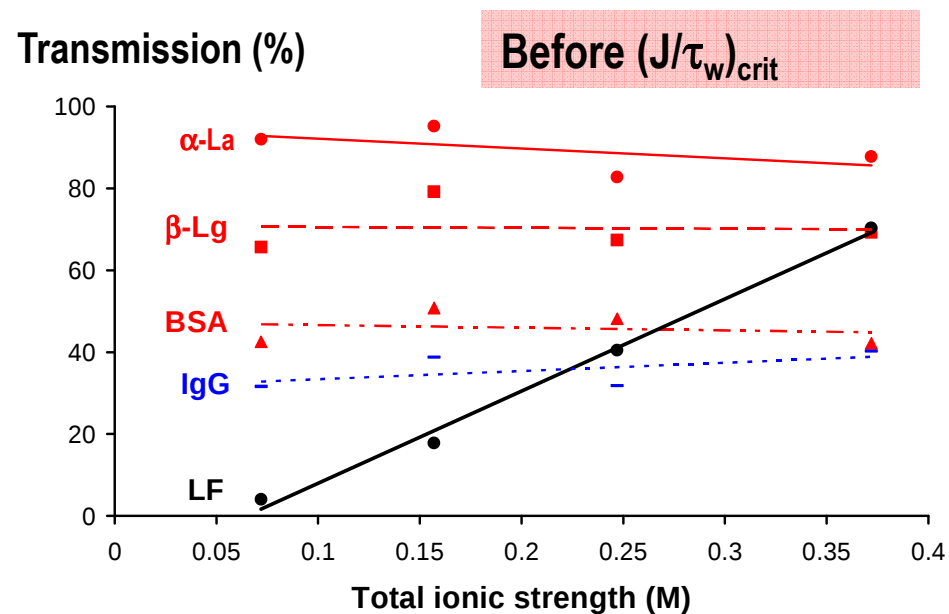
Skimmed milk (with micelles)

-Transmission of **LF** much lower in the presence of **casein micelles** (confirmed by mass balance)

Interactions LF (+) / micelles (-)

Microfiltrate (without micelles)

Impact of ionic strength - soluble protein transmission



With $\nearrow I$

$\nearrow Tr_{LF}$ due to $\searrow$ attractive electrostatic interactions LF / micelles

Conclusions

- **Conclusions**

- Accumulation de micelles : responsable des conditions critiques $(J/\tau_w)_{crit}$ et des modifications des performances (perméabilité, sélectivité)
- Transmission des protéines solubles à travers le réseau de micelles : répulsions stériques + interactions électrostatiques

- **Perspectives**

- Comportement et structure des dépôts des micelles (avec et sans protéines solubles)

Remerciements

**Financement Thèse A. Jimenez
Thèse Soredab**



Merci de votre attention !

