



**HAL**  
open science

## Séparations à membrane et fonctionnalités ciblées de fractions protéiques : vers une approche d'éco-conception

Geneviève Gésan-Guiziou, Marieke van Audenhaege, Sophie Omont, D Frolich

### ► To cite this version:

Geneviève Gésan-Guiziou, Marieke van Audenhaege, Sophie Omont, D Frolich. Séparations à membrane et fonctionnalités ciblées de fractions protéiques : vers une approche d'éco-conception. Journée du Carrefour de l'Innovation Agronomique Protéines Laitières: aspects nutritionnels et fonctionnels, Apr 2011, Rennes, France. Innovations Agronomiques, 13, pp.101-115, 2011, Innovations Agronomiques. hal-01454265

**HAL Id: hal-01454265**

**<https://hal.science/hal-01454265v1>**

Submitted on 3 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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

## **Séparations à membrane et fonctionnalités ciblées de fractions protéiques : vers une approche d'éco-conception**

**Gésan-Guiziou G.<sup>a,b</sup>, Van Audenhaege M.<sup>a,b</sup>, Omont S.<sup>c</sup>, Froelich D.<sup>c</sup>**

<sup>a</sup> INRA, UMR1253, STLO, Science et Technologie du Lait et de l'Œuf, 35000 Rennes, France,

<sup>b</sup> AGROCAMPUS OUEST, UMR1253, 35000 Rennes, France

<sup>c</sup> ARTS, Laboratoire MAPIE, 73375 Le Bourget du Lac cedex

Correspondance : genevieve.gesan-guiziou@rennes.inra.fr

### **Résumé**

Face à la compétitivité industrielle et aux enjeux environnementaux et réglementaires actuels, l'industrie agro-alimentaire est amenée à développer des modes de production plus performants et plus respectueux de l'environnement. Dans ce contexte, et du fait de l'intérêt considérable porté aux protéines laitières (propriétés fonctionnelles, nutritionnelles et biologiques remarquables), les procédés de fractionnement des protéines ont été largement étudiés depuis une quarantaine d'années. Les procédés de séparation à membranes sont principalement utilisés à l'échelle industrielle pour l'obtention de concentrés et d'isolats protéiques, alors que les techniques chromatographiques font figure de référence pour l'obtention de fractions purifiées et fonctionnelles (enzymes, protéines à activité biologique, etc.). Pourtant, l'analyse de la littérature et des travaux récents montre les potentialités des procédés membranaires pour la production de fractions enrichies à haute fonctionnalité: les opérations à membranes sont respectueuses de l'intégrité des protéines et peuvent devenir complémentaires, voire compétitives des procédés chromatographiques. Les premières études relatives à l'évaluation environnementale de tels procédés (Analyse du Cycle de Vie, ACV) montrent également que leur impact, essentiellement lié aux consommations énergétiques, est inférieur à celui des techniques chromatographiques. Les pistes d'optimisation dégagées pour les procédés membranaires (conduite à froid, optimisation du nettoyage) devraient permettre le développement futur de procédés de fractionnement à membranes éco-conçus.

**Mots clés** : opération à membrane, lait, protéine, procédé; éco-conception

### **Abstract: Membrane processes and protein fractions with targeted functionalities: toward an eco-designed approach**

As a result of industrial competitiveness, environmental considerations and new regulations, the food industry is forced to design more efficient and environmental-friendly processes. Fractionation processes have already been studied for the last 40 years: due to the exceptional properties of dairy proteins (functional and nutritional values), they enable the production of high added-value protein ingredients. At industrial scale membrane processes are mainly used for the preparation of protein concentrates or isolates, while chromatographic processes are mainly dedicated to the production of purified protein fractions with specific functionality (enzymes, proteins with biological properties, etc.). The analysis of the literature and works reported so far has recently highlighted the potentialities of membrane processes for the preparation of highly functional and purified proteins: structural integrity of protein is well maintained and membrane operations can therefore represent a good alternative or complement to chromatographic operations. The first analyses concerning the global environmental impact of such processes (Life Cycle Assessment) show that their environmental impact is lower than for chromatographic processes and is essentially linked to energetic consumptions (transformation, cleaning). Moreover, they underline the key points to be considered to reduce the impact environmental

(filtration at low temperature, improvement of cleaning steps), thus leading to recommendations for the eco-design of membrane fractionation processes in the future.

## **1. Une orientation vers des produits à fonctionnalité ciblée et éco-conçus pour garantir la compétitivité de la filière laitière**

Avec une production annuelle de 24 millions de tonnes de lait, la filière laitière française occupe le deuxième rang sur l'échiquier européen, après l'Allemagne. En dépit de cette position de force, la compétitivité de l'industrie laitière française est fortement menacée par la conjoncture actuelle.

### *1.1. Des contraintes liées au marché*

Des contraintes liées au marché à l'échelle nationale et internationale pèsent sur la filière :

- l'arrivée des pays de l'Est (en particulier Hongrie, Slovaquie et République Tchèque) dans l'Union Européenne est responsable d'une compétition accrue. Ces pays représentent une capacité annuelle de production d'environ 5 millions de litres de lait, avec de surcroît une qualité de la matière première satisfaisante et des outils de transformation modernes couplés à des prix bas;
- le prix du lait à la production est plus élevé en France que dans les autres pays européens voisins et l'écart est largement plus fort si on compare avec des pays tels que la Nouvelle Zélande, l'Australie ou l'Argentine (CNIEL, 2009);
- l'industrie laitière française est fragilisée par la réforme de la Politique Agricole Commune, qui vise à supprimer ou au moins à réduire les subventions directes à l'exportation et les aides à la production versées aux agriculteurs ;
- enfin, la pression de la grande distribution constitue une menace sérieuse, avec le regroupement des centrales d'achat, les percées des Hard Discount et la concentration des achats en grande surface.

### *1.2. Des contraintes environnementales*

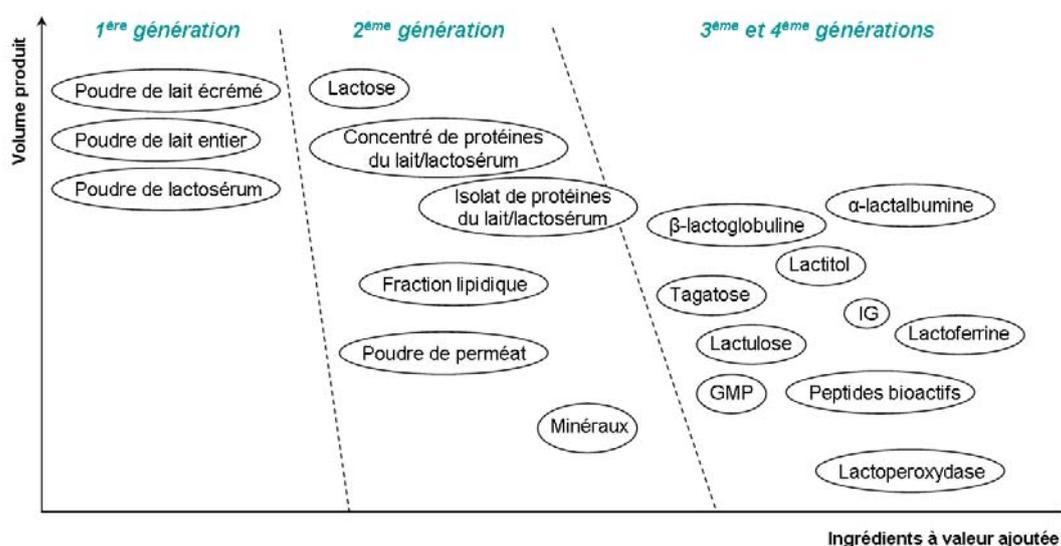
A ces pressions sur les marchés s'ajoutent des pressions d'ordre environnemental : la mise en place des lois relatives au Grenelle de l'environnement (lois n°2009-967 et n°2010-788) démontre clairement l'enjeu majeur des questions environnementales dans le contexte actuel. L'étude EIPRO (Environmental Impact of PROducts) menée dans le cadre de la Politique Intégrée des Produits entre 2003 et 2006 a eu un impact négatif pour l'image de la filière. Les rejets de l'industrie alimentaire, et en particulier ceux de l'industrie laitière, ont été pointés du doigt puisqu'ils seraient responsables de 20 % de la charge totale des eaux résiduaires industrielles. Par ailleurs, l'augmentation régulière de la taxe sur les rejets et la sévérité de plus en plus accrue des normes de rejet pèsent lourdement sur la filière en termes de retombées financières.

### *1.3. Un positionnement stratégique qui s'impose*

Face à l'ensemble de ces menaces, l'industrie laitière ne peut pas compter sur son offre de produits basiques (laits de consommation, beurre, poudres, etc.) pour garantir sa compétitivité sur le marché

mondial. Pour tenir son rang dans une économie mondialisée et rester concurrentielle malgré les fluctuations prévisibles des marchés des matières premières, elle doit relever un certain nombre de défis. En particulier, la filière française n'a d'autre choix que :

- 1) de diversifier ses productions actuelles, en les adaptant aux évolutions de la consommation intérieure et à la demande externe des pays solvables ;
- 2) d'innover en termes de produits et d'ingrédients dérivés du lait (Figure 1), en valorisant au mieux les propriétés biologiques et (techno)-fonctionnelles des divers constituants du lait : à moyen terme, cette voie permettra de répondre aux préoccupations croissantes des consommateurs en termes de bien-être et de santé ;
- 3) de limiter ou maîtriser les coûts de revient, grâce à la maîtrise des procédés existants et le développement de nouveaux concepts technologiques alliant qualité / fonctionnalité des produits obtenus et minimisation des rejets.



**Figure 1.** Evolution des ingrédients laitiers depuis les années 1940 jusqu'à nos jours (d'après Lemoine, 2005). GMP : glycomacropéptide ; IG : immunoglobulines.

#### 1.4. Un exemple particulier : le fractionnement des protéines du lait

Dans ce contexte et depuis près de 25 ans, un intérêt considérable a été porté au développement de procédés permettant l'extraction ou le fractionnement des protéines de la phase aqueuse du lait (Figure 1). Sous forme hautement purifiée, ces protéines sont particulièrement recherchées pour leurs propriétés nutritionnelles mais également texturantes, émulsifiantes ou organoleptiques. Outre leur adaptation aux besoins des individus (qualité nutritionnelle excellente), elles sont incontournables pour la fabrication de nombreux produits alimentaires. Les protéines solubles du lait constituent donc des ingrédients à forte valeur ajoutée valorisables sur des marchés de grande ampleur ou à haut potentiel (nutrition spécialisée). Plus récemment, certaines activités biologiques spécifiques à ces protéines ou aux produits résultant de leur hydrolyse ont également été mises en évidence. Actuellement, elles font encore l'objet de nombreuses recherches mais il est fort probable que ces avancées conduiront à de nouvelles pistes de valorisation à l'échelle industrielle.

Il apparaît donc clairement que la mise en place de procédés respectueux de l'environnement, visant à fractionner les protéines individuelles (comme c'est le cas aujourd'hui pour l' $\alpha$ -lactalbumine, la  $\beta$ -lactoglobuline, la lactoferrine, la lactoperoxydase) ou à obtenir des fractions enrichies en protéines à

fonctionnalité(s) ciblée(s) est un enjeu majeur pour le maintien de la compétitivité de la filière laitière française.

## **2. Les procédés membranaires : une technologie performante pour la production de fractions protéiques laitières à fonctionnalité ciblée**

Les opérations de séparation implantées en industrie laitière pour le fractionnement des protéines du lait utilisent diverses propriétés de ces protéines : différence de taille, de solubilité, de charge, présence d'associations spécifiques menant à l'agrégation, etc. Les techniques séparatives se sont développées progressivement au cours des 40 dernières années, notamment grâce aux progrès réalisés en génie des procédés et à la meilleure connaissance de la physico-chimie du lait. Aujourd'hui, de nombreuses industries exploitent ces procédés d'extraction et de fractionnement pour la production de fractions protéiques de grande pureté : Arla Foods Ingredients, Carbery, Davisco, Friesland Campina Domo, Ingredia, Lactalis, etc.

### *2.1. Les différentes voies de fractionnement*

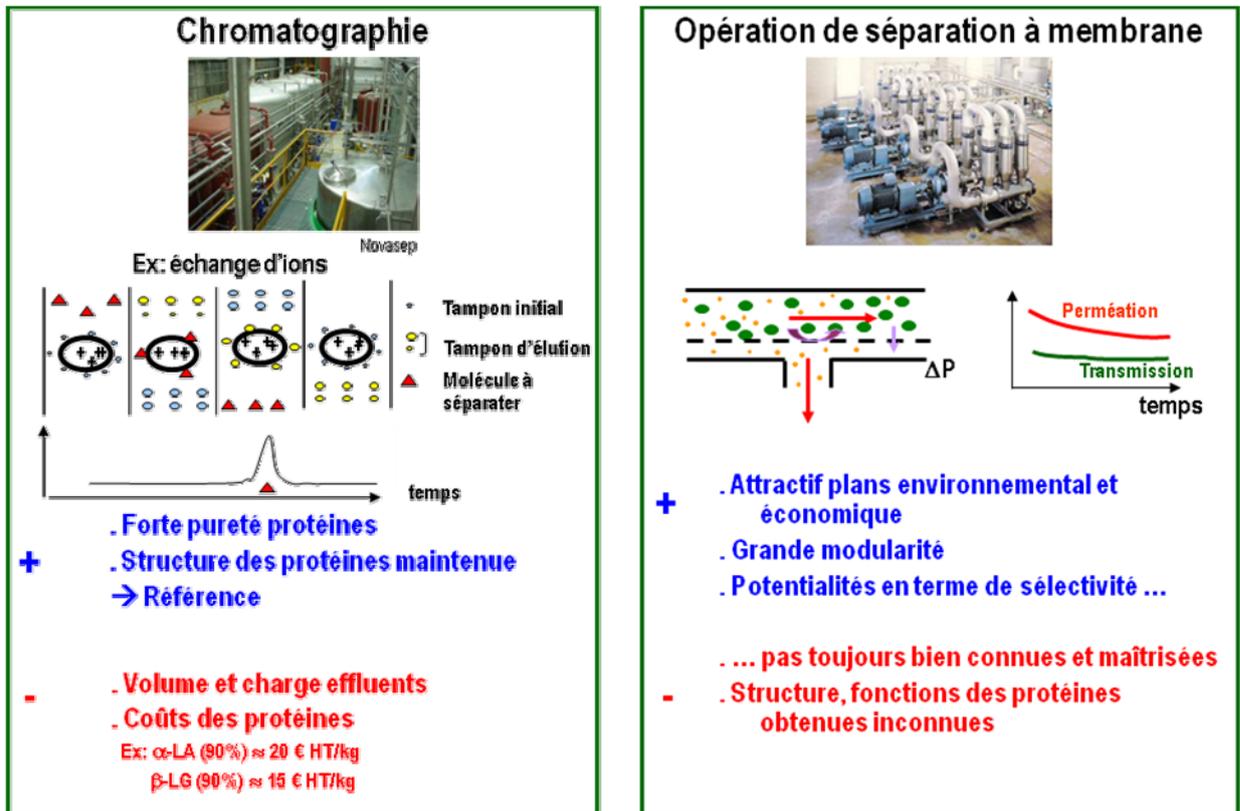
Trois voies de fractionnement principales sont utilisées au niveau industriel. Mais, étant donné les caractéristiques proches des protéines du lait et la présence de nombreux contaminants dans les produits à la base du fractionnement (lait, lactosérum), la purification finale fait le plus souvent appel à la complémentarité des opérations au cours d'étapes successives.

#### **2.1.1. Précipitation fractionnée**

Cette technique exploite, dans des conditions physico-chimiques données, une différence de solubilité entre protéines pour aboutir à leur séparation (Pierre et Fauquant, 1986 ; Tolkach et al., 2005). A titre d'exemple, le chauffage modéré de la phase aqueuse du lait (produit de type « lactosérum ») à un pH voisin de 3,5-4 permet de déstabiliser et de précipiter l' $\alpha$ -lactalbumine en libérant le calcium fixé sur la protéine, tandis que la  $\beta$ -lactoglobuline reste soluble (Pearce, 1983 ; Bramaud et al., 1997). La précipitation fractionnée se caractérise généralement par un bon rendement de récupération et une forte pureté de la protéine cible mais elle ne permet que dans de rares cas de valoriser simultanément plusieurs protéines du lait. En revanche, peu d'études se sont intéressées aux propriétés finales du produit : seule l'élimination de la fraction lipidique résiduelle a été prise en compte par pré-traitement du produit de départ (clarification), ce qui garantit de meilleures propriétés techno-fonctionnelles pour le produit final.

#### **2.1.2. Procédés chromatographiques**

Parmi les nombreux procédés chromatographiques qui existent (exclusion de taille, échange d'ions, phase inverse, affinité), la chromatographie d'échange d'ions est de loin la plus utilisée à l'échelle industrielle. Ces procédés opèrent par adsorption spécifique des protéines laitières sur une résine possédant un potentiel d'échange de cations ou d'anions. Dans le cas de l'adsorption sélective (Noppe et al., 1999 ; de Jongh et al., 2001), seule la protéine d'intérêt est retenue sur la résine lors de la phase de fixation (Figure 2). Après lavage de la colonne, sa récupération est possible grâce à l'utilisation d'un solvant adéquat. Pour les procédés fonctionnant par élution sélective (Etzel, 1999 ; Doultani et al., 2004), l'ensemble des protéines est fixé sur la résine. Des éluions successives avec des conditions physico-chimiques définies permettent alors de décrocher séparément les différentes protéines d'intérêt. Les techniques chromatographiques possèdent l'avantage d'aboutir à des fractions protéiques de grande pureté. Néanmoins, leur coût de revient est élevé en particulier du fait de l'utilisation de forts volumes de solutions salines et de solvants organiques pour l'élution et la régénération des résines.



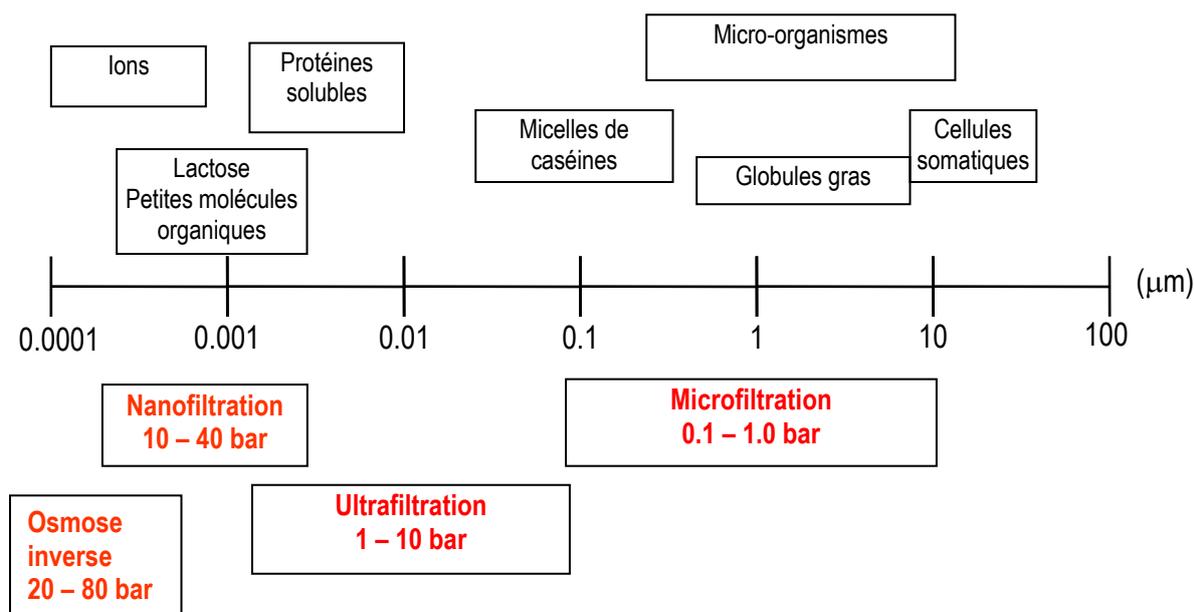
**Figure 2.** Analyse comparative des procédés chromatographiques et des opérations membranaires lors du fractionnement des protéines laitières. α-LA : α-lactalbumine ; β-LG : β-lactoglobuline.

### 2.1.3. Procédés membranaires

Les opérations de séparation à membrane, largement utilisées dans le secteur laitier depuis plus de 40 ans, permettent de concentrer ou d'extraire sélectivement des espèces dissoutes ou en suspension dans un solvant (Roger et al., 1981 ; Maubois et Ollivier, 1998 ; Muller et al., 2003). La séparation s'effectue sous l'effet d'un gradient de pression au travers d'une membrane semi-perméable qui joue le rôle de tamis moléculaire. La taille des espèces et le gradient de pression appliqué (appelé pression transmembranaire) permettent une classification schématique de ces opérations (Figure 3).

### 2.2. Le positionnement des opérations membranaires

Depuis près de 30 ans, les différentes voies de fractionnement des protéines laitières ont été optimisées, principalement en termes de productivité. En chromatographie, ce sont surtout les débits traités et le taux de récupération des protéines cibles qui ont été analysés. Dans le cas des opérations à membrane, les recherches ont majoritairement ciblé l'amélioration de la sélectivité et la minimisation des phénomènes de colmatage. Depuis peu, la qualité et la fonctionnalité des fractions recueillies ont été prises en compte dans l'évaluation de ces procédés. Outre leur caractère attractif sur le plan économique, les opérations de séparation à membrane montrent ainsi leurs potentialités pour la production de fractions protéiques laitières à fonctionnalité ciblée.



**Figure 3** : Classification des opérations à membranes (avec le niveau de pression transmembranaire classiquement rencontré) et répartition en taille des constituants du lait

### **2.2.1. Coût de revient**

Le fractionnement des protéines du lait nécessite de traiter un grand volume de matière première pour aboutir à une quantité minimale de protéines purifiées : le coût d'investissement influence donc fortement le coût de revient. Pour les procédés chromatographiques, la capacité des installations est liée à la quantité de produit récupérée et non pas à celle mise en œuvre, comme c'est le cas pour les procédés de séparation membranaire. Néanmoins, le coût d'investissement élevé pour la mise en place des sites de production, les frais générés par l'utilisation de solvants et les problèmes fréquents de colmatage des résines sont tels que le coût de revient est supérieur. Le prix de revient des fractions obtenues par chromatographie (de l'ordre de 15-20€/kg pour l' $\alpha$ -lactalbumine d'après 3A Business, 2010) peut donc être rédhibitoire (Figure 2), notamment quand il s'agit d'utiliser ces fractions pour des applications en agro-alimentaire.

Au contraire, la grande modularité des opérations de séparation à membrane et la moindre production d'effluents en font une technologie de choix pour la production de protéines laitières enrichies voire purifiées. Les procédés membranaires offrent également des avantages économiques pour la phase de concentration des protéines qui suit le fractionnement : leur fonctionnement nécessite seulement quelques kWh/m<sup>3</sup> contre 100-900 kWh/m<sup>3</sup> pour les procédés thermiques.

### **2.2.2. Sélectivité de l'opération**

Malgré des avantages certains, la sélectivité des opérations membranaires est souvent plus faible qu'en chromatographie. Couplées à des procédés de précipitation sélective des protéines, les opérations de séparation membranaires peuvent cependant conduire à des niveaux de puretés semblables à ceux rencontrés en chromatographie. Des travaux récents (Maubois et al., 2001; projet ANR-06-PNRA-15 ECOPROM, 2007-2010) montrent qu'une précipitation sélective de l' $\alpha$ -lactalbumine associée à une filtration permet d'obtenir des fractions individuelles de protéines ( $\beta$ -lactoglobuline) à des niveaux de pureté supérieurs à 95 % et donc similaires à ceux de la chromatographie.

### **2.2.3. Propriétés des fractions produites**

Les techniques chromatographiques font figure de référence pour le fractionnement quand il s'agit de respecter l'intégrité de la protéine et ont notamment fait leur preuve pour l'obtention de fractions protéiques fonctionnelles (enzymes, protéines à activité biologique, etc.). A l'inverse, les technologies de séparation membranaire ont longtemps souffert d'une image négative à cause d'un manque d'études sur les propriétés des fractions produites. C'est seulement assez récemment (essentiellement depuis le début des années 90) que les chercheurs impliqués ont pris conscience de la nécessité de mieux définir la relation entre la conduite des procédés à membranes et les caractéristiques (structurales et fonctionnelles) du produit final, car cette information est cruciale pour répondre à des applications ciblées.

L'analyse critique des rares travaux réalisés dans ce domaine (Truskey et al., 1987 ; Meireles et al., 1991 ; Bowen et Gan, 1992 ; Vedantham et al., 2003 ; Portugal et al., 2006 & 2008, Van Audenhaege, 2011) montre que :

- 1) les conclusions de nombreuses études sont critiquables car elles ont été obtenues par le biais d'une technique analytique unique. Ce n'est que très récemment (Van Audenhaege et al., 2010) qu'un large panel de techniques a été mis en œuvre pour étudier simultanément les propriétés structurales et fonctionnelles de protéines laitières ( $\alpha$ -lactalbumine et  $\beta$ -lactoglobuline) afin de définir au mieux l'impact possible des procédés membranaires sur les caractéristiques finales du produit,
- 2) la circulation tangentielle dans les installations de filtration, étudiée en ultrafiltration avec rétention totale ou faible transmission des protéines, n'affecte pas significativement la structure et les propriétés fonctionnelles des protéines étudiées dans les conditions opératoires décrites (Narendranathan et Dunnill, 1982 ; Denis et al., 1990 ; Belmejdoub, 2010),
- 3) le transfert des protéines au travers de la membrane, étudié par le biais d'expérimentations en filtration frontale, possède également peu d'impact sur les propriétés des protéines récoltées,
- 4) les modifications qui sont malgré tout observables, sous certaines conditions, peuvent ou pourraient être attribuées :
  - à la présence de contaminants mineurs (Van Audenhaege, 2011) : il apparaît clairement que les performances de la filtration, notamment en termes de fonctionnalité des fractions finales, sont fortement affectées par le mode d'obtention de la protéine ; la comparaison de fractions de  $\beta$ -lactoglobuline issues de procédés membranaires ou chromatographiques valide ce point : la structure de la protéine est similaire dans les deux cas et les différences de fonctionnalité (propriétés moussantes) ne seraient pas attribuables à des modifications structurales engendrées par le procédé mais seraient dépendantes du contenu minéral variable (même à des concentrations inférieures à 5 %), en lien avec la voie d'extraction mise en œuvre,
  - à des conditions opératoires drastiques : forces de cisaillement élevées du fait d'un seuil de coupure proche de la taille de la protéine (Portugal et al., 2006 & 2008 ; Van Audenhaege, 2011), conditions physico-chimiques favorisant l'instabilité de la protéine (Vedantham et al., 2003) et/ou les interactions avec le matériau membranaire (Denis et al., 1990 ; Bowen et Gan, 1992),
  - aux caractéristiques intrinsèques de la protéine d'étude : présence d'un groupement « réactif » de type sulfhydryle libre (Belmejdoub, 2010 ; Van Audenhaege, 2011) ou d'un cofacteur ayant une affinité particulière avec la membrane (Portugal et al., 2006),
  - aux phénomènes survenant dans les couches concentrées à la surface de la membrane : ce point reste à étudier et permettrait de mieux comprendre les performances quantitatives (sélectivité, colmatage) des opérations de séparation membranaire.

Au final, les opérations à membranes sont globalement très respectueuses de l'intégrité des protéines. Sur la base des critères de performances (productivité, coût de revient, pureté et qualité des fractions récoltées), elles peuvent donc être complémentaires, voire compétitives des procédés chromatographiques pour la production de concentrés, d'isolats ou de fractions enrichies de protéines du lait. Les premières études relatives à l'évaluation environnementale de tels procédés confirment leur intérêt dans ce domaine porteur pour la filière.

### **3- Les potentialités des séparations à membrane en termes d'éco-conception**

#### *3.1. Intégration des aspects environnementaux dans l'analyse des procédés de fractionnement : des pratiques récentes*

L'intégration du critère "environnement" s'avère aujourd'hui essentielle pour l'évaluation globale des opérations de fractionnement, notamment quand il s'agit de réfléchir à leur conception ou à leur optimisation. La charge environnementale des produits alimentaires d'origine animale est pourtant associée principalement à l'étape de production agricole (Foster et al., 2006) : ainsi, on estime aujourd'hui que 80 % de l'impact environnemental d'un produit laitier (estimé à partir d'un bilan carbone) est lié à la production de lait (IDF, 2009). Malgré tout, il existe des leviers d'amélioration environnementale à chaque étape du cycle de vie des produits alimentaires, y compris lors de leur transformation (Roy et al., 2009). A ce titre, comme l'explique Jungbluth (2000), l'industrie agroalimentaire peut directement agir sur trois niveaux de prise de décision environnementale, dont la transformation.

Concernant les procédés de fractionnement de protéines laitières, très peu d'études ont été réalisées jusqu'à ce jour pour évaluer de manière comparative les performances environnementales. La conception et l'optimisation des modes de conduite (production, nettoyage) de ces procédés doit pourtant passer par une évaluation de leur charge environnementale. Cette étude peut être conduite grâce à plusieurs outils (Butel-Bellini et Janin, 1999), sachant que l'outil le plus reconnu au niveau international est l'Analyse de Cycle de Vie (ou ACV). C'est en effet la méthode d'analyse ayant fait l'objet de travaux de normalisation par le système de normalisation international. Une étude récente et en cours de publication, basée sur une analyse de cycle de vie, a été réalisée dans le cadre du projet ANR ECOPROM (ANR-06-PNRA-15 ECOPROM, 2007-2010). Cette étude a permis d'apporter des premiers éléments de comparaison pour les deux grands types de procédés de fractionnement des protéines laitières, décrivant ainsi le positionnement des procédés membranaires vis-à-vis des procédés chromatographiques. Les paragraphes suivants présentent la démarche générale de l'ACV ainsi que les principaux éléments de conclusions obtenus dans le cadre des hypothèses fixées par le projet.

#### *3.2. L'Analyse de Cycle de Vie*

L'Analyse de Cycle de Vie (ACV) évalue les impacts environnementaux que génère un produit, procédé ou service dans le cadre d'une fonction particulière, tout au long de son cycle de vie (c'est-à-dire de l'extraction des matières premières à sa fin de vie). Elle permet donc de mettre en lumière les forces et les faiblesses des produits / procédés pour établir des recommandations d'éco-conception visant à l'amélioration des performances environnementales. Il s'agit d'une méthode normée par le système de normalisation international ISO (ISO 14040 : 2006, et ISO 14044 : 2006). La norme ISO 14040:2006 spécifie les principes et le cadre applicable à la réalisation d'analyses du cycle de vie. La norme ISO 14044:2006 fixe quant à elle les exigences et fournit les lignes directrices pour la réalisation d'une ACV. Par souci de simplification, et conformément aux normes précitées, nous qualifierons de "système" tout produit, procédé ou service faisant l'objet d'une ACV.

D'une façon générale, l'ACV peut avoir différentes applications :

- 1) communication environnementale sur un système (déclaration relative à un produit, étiquetage écologique),
- 2) identification des étapes du cycle de vie d'un système ayant le plus d'impact environnemental,
- 3) comparaison des performances environnementales de plusieurs systèmes (dans le cas de l'optimisation d'un procédé par exemple).

Dans le cadre de cet article, l'ACV sera considérée comme un outil d'aide à la décision pour l'éco-conception, permettant d'identifier les possibilités d'amélioration de la performance environnementale d'un procédé de fractionnement des protéines laitières.

### 3.3. Résultats de l'ACV appliquée au fractionnement des protéines laitières

L'analyse présentée ici est une analyse comparative de deux procédés de fractionnement de protéines laitières, en vue de caractériser les forces et faiblesses de chacun. Elle consiste à évaluer leurs impacts environnementaux respectifs, pour en extraire ceux qui sont les plus significatifs et pour définir les principaux éléments contributeurs à ces impacts.

Conformément aux deux normes de la série ISO 14040, la réalisation d'une ACV se déroule en quatre étapes successives.

#### **3.2.1. Définition des objectifs et du champ de l'étude**

La mise en place d'une démarche ACV débute par la définition des objectifs d'étude et du champ d'étude, en lien avec la ou les future(s) application(s) de l'ACV. L'objectif ici est de réaliser la comparaison de deux procédés de fractionnement d'un point de vue environnemental. Pour cela, le "**système étudié**" comportait l'ensemble du procédé mis en œuvre, depuis l'entrée du lait dans l'usine jusqu'à l'obtention de fractions déshydratées de protéines purifiées. Deux scénarios ont été comparés :

- 1) dans le premier cas, la séparation des protéines est assurée par des procédés de filtration membranaire (acidification, dilution et filtration)
- 2) dans le second cas, cette étape est remplacée par une séparation des protéines par chromatographie, avec recyclage de la saumure.

Les "**limites du système**" (ou périmètre d'étude) ont été définies en prenant en compte les activités de production, les équipements et leur nettoyage, les locaux (bâties, éclairage) étant exclus. Le procédé se déroule sur deux sites industriels distincts et séparés de 100 km (laiterie « classique » et unité de séparation des fractions protéiques), ce qui nécessite un transport du produit, pris en compte dans l'étude. Par ailleurs, le périmètre géographique est la France et la durée de vie du système est fixée à 20 ans conformément à l'échelle de vie de nombreux équipements de transformation.

La particularité de l'ACV est de réaliser une analyse sur la base d'une fonction donnée prise comme référence, ce qui nécessite la définition de l'"**Unité Fonctionnelle (UF) du système**". Dans le cadre du projet ECOPROM, il a été fait le choix d'une unité fonctionnelle correspondant au traitement d'un volume de 583 000 L de lait (volume moyen traité quotidiennement dans une laiterie) et permettant d'obtenir les co-produits suivants : crème, rétentat de micelles de caséines et lactose refroidis (valorisés en dehors du procédé étudié) et deux fractions de protéines purifiées déshydratées, qui sont les produits de valorisation.

Par ailleurs, l'objectif étant d'étudier un procédé et non d'évaluer la charge environnementale générée par la fabrication de produits, aucune "**règle d'allocation**" entre les différents co-produits formés n'a été

retenue. Autrement dit, les impacts environnementaux n'ont pas été affectés aux différents co-produits du système d'étude.

Enfin, la "**méthode d'évaluation d'impact**" qui a été retenue est la méthode IMPACT 2002+. Le choix a été réalisé en prenant en compte le système étudié et les objectifs de l'étude. Cette méthode est relativement récente et possède l'avantage d'évaluer une catégorie d'impact "énergies non renouvelables", correspondant à un flux qui semble *a priori* non négligeable dans le système étudié à savoir celui des consommations de gaz et d'électricité. Comme la plupart des autres méthodes, la méthode IMPACT 2002+ utilise l'Inventaire de Cycle de Vie du système pour évaluer les conséquences environnementales d'un système.

### **3.2.2. Réalisation de l'Inventaire du Cycle de Vie**

L'Inventaire de Cycle de Vie (ICV) consiste à recenser l'ensemble des "flux élémentaires" échangés par le système avec l'environnement. Il s'agit ici de matière ou d'énergie, directement extraite de l'environnement ou émise dans l'environnement (ex : minerais). Pour réaliser cet inventaire, il est tout d'abord nécessaire de recenser l'ensemble des flux anthropogéniques (ex : consommation d'électricité) extraits et émis par le système. Cet inventaire se base sur les données collectées auprès d'équipementiers et des utilisateurs, mais également sur des données scientifiques résultant de projets de recherche. Dans un deuxième temps, l'utilisation des bases de données d'ACV et d'un logiciel adapté permet de transcrire ces données en un inventaire de flux élémentaires.

Pour faciliter l'interprétation des résultats de l'ACV, les flux élémentaires peuvent être associés à différents sous-systèmes : production, transport, nettoyage, etc. Le Tableau 1 décrit l'ensemble des opérations unitaires reliées au sous-système "production". A titre indicatif, le sous-système "nettoyage" comprend les opérations unitaires de nettoyage (23 au total) et le traitement des effluents en station d'épuration.

### **3.2.3. Evaluation de l'impact**

Il existe plusieurs méthodes d'évaluation d'impact permettant de classer les flux élémentaires de l'ICV. Chacune d'elles regroupe les effets néfastes sur l'environnement en plusieurs catégories d'impact ou "midpoints" (ex : réchauffement climatique, eutrophisation aquatique, etc.). A titre d'exemple, les flux de gaz à effet de serre (CO<sub>2</sub>, méthane, etc.) vont notamment contribuer à augmenter le score de la catégorie d'impact "réchauffement climatique". Pour chaque catégorie d'impact, la méthode calcule ensuite un score en sommant les flux élémentaires contributeurs, après pondération par un facteur qui dépend de leur degré de contribution à la catégorie d'impact considérée.

Les dommages quantifiés dans les différentes catégories d'impact peuvent ensuite être agrégés en quelques grandes catégories de dommages finaux (ou "endpoint"), ce qui permet de définir l'impact du système étudié sur les différents éléments de l'environnement : santé humaine, qualité de l'écosystème, épuisement des ressources, etc.

La charge environnementale du système étudiée a été évaluée par la méthode IMPACT 2002 + (avec le logiciel SIMAPRO 7.2), par rapport aux 14 catégories d'impact suivantes : toxicité humaine, effets respiratoires, radiations ionisantes, épuisement de la couche d'ozone, oxydation photochimique, écotoxicité aquatique, écotoxicité terrestre, acidification aquatique, eutrophisation aquatique, acidification terrestre, occupation de surfaces, réchauffement climatique, consommation d'énergies non-renouvelables et extraction de minéraux (Humbert et al., 2005). Les impacts environnementaux du système ont ensuite été normalisés par rapport à la charge environnementale annuelle d'un européen moyen pour ces mêmes catégories d'impacts.

Tableau 1 : Description du sous-système "Production"

| Fonctions accomplies                                                                  | Opérations unitaires étudiées <sup>a</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1- Maîtrise de la sécurité microbiologique des produits</b>                        | <b>Opérations unitaires communes aux 2 procédés :</b><br>Refroidissement du lait entier cru à 4°C ; Pasteurisation du lait écrémé cru à 72°C ; Refroidissement du lait écrémé pasteurisé à 4°C ; Refroidissement du sérum concentré à 4°C ; Refroidissement de la crème crue à 6°C ; Refroidissement du Lactose à 4°C ; Refroidissement du rétentat de micelles de caséine à 4°C ;                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>2- Transformation du lait pour la fabrication des co-produits</b>                  | <b>Opérations unitaires communes aux 2 procédés :</b><br>Ecrémage du lait entier cru ; Séparation protéines/ micelles de caséine (chauffage et microfiltration (MF) à 50°C) ; Refroidissement et séparation protéines sériques/ lactose (ultrafiltration (UF) à 15°C) ;                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>3- Purification et concentration de l'α-lactalbumine et de la β lactoglobuline</b> | <b>Options technologiques du procédé à membrane :</b> Séparation α-lactalbumine et β lactoglobuline (chauffage à 50°C, acidification, dilution, MF) ; Concentration α-lactalbumine (refroidissement, re-solubilisation et UF) ; Concentration bêta lactoglobuline (refroidissement et UF)<br><br><b>Options technologiques du procédé chromatographie :</b> Séparation α-lactalbumine et β lactoglobuline (chauffage à 10°C, chromatographie avec recyclage de la saumure par nanofiltration (NF) et OI) ; Concentration α-lactalbumine (UF redimensionnée) ; Concentration bêta lactoglobuline (UF redimensionnée) |
| <b>4- Formation de la poudre</b>                                                      | <b>Opérations unitaires communes aux 2 procédés :</b><br><br>Séchage α-lactalbumine ; séchage β lactoglobuline                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

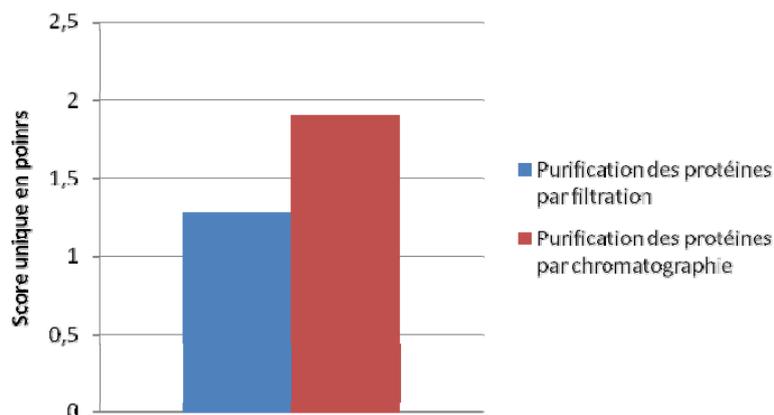
<sup>a</sup> Remarque : les stockages étant non réfrigérés ne figurent pas ici mais sont compris dans l'étude.

### 3.2.4. Interprétation

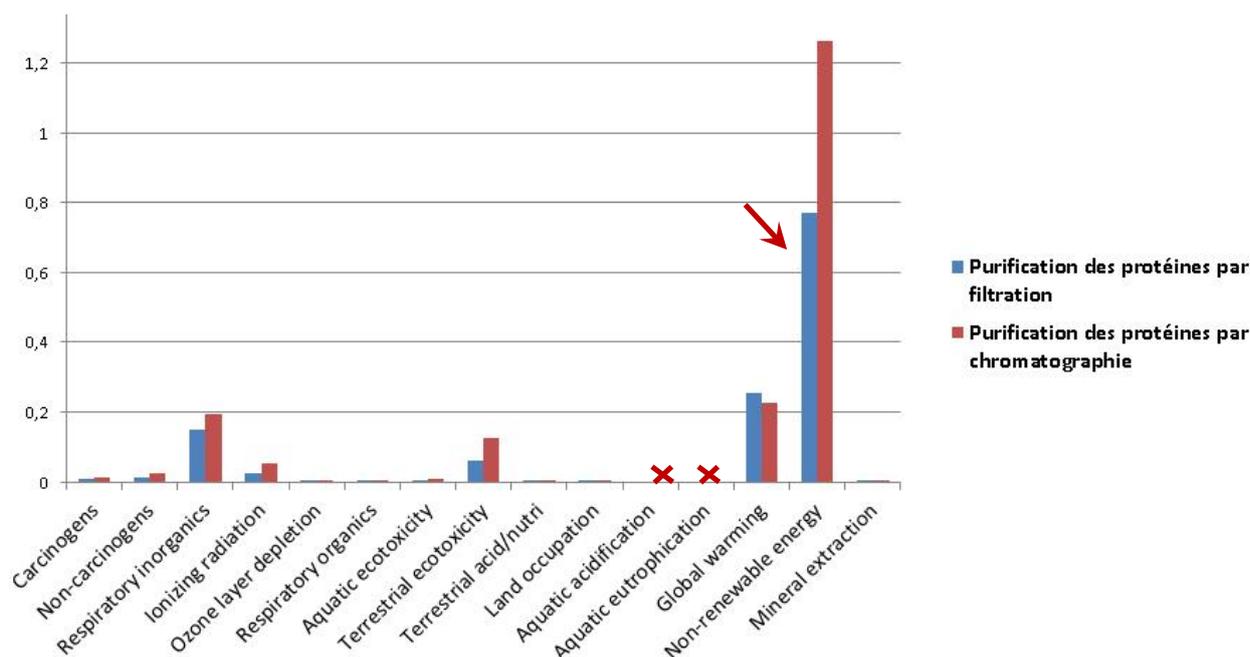
L'interprétation des résultats doit notamment permettre d'identifier les principaux enjeux de l'étude et de proposer des recommandations pour l'éco-conception. Dans le cadre de l'analyse comparative des procédés de fractionnement de protéines laitières, l'impact environnemental est défini pour un même volume initial traité et/ou une même quantité récoltée de protéines purifiées (les opérations ayant été dimensionnées pour conduire au même rendement de récupération et à la même pureté des fractions protéiques).

Suite à l'analyse, il ressort que :

- 1) la charge environnementale liée au procédé chromatographique est supérieure d'environ 33 % à celle du procédé de séparation membranaire (Figure 4),
- 2) les procédés de fractionnement ont un effet néfaste sur l'environnement principalement par le biais des catégories d'impact "réchauffement climatique" et "consommation d'énergies non renouvelables" (Figure 5) : ceci est lié à la présence de nombreux traitements thermiques, au chauffage des solutions de nettoyage, au fonctionnement des pompes, etc.,



**Figure 4 :** Charge environnementale de la purification des protéines : filtration vs chromatographie, méthode IMPACT 2002+, logiciel SIMAPRO7.2



**Figure 5 :** Comparaison environnementale de la purification des protéines : filtration vs chromatographie, méthode IMPACT 2002+, SIMAPRO7.2

3) le plus fort impact environnemental des procédés chromatographiques est principalement lié aux effluents générés et à leur traitement :

- les pertes importantes de demande chimique en oxygène, DCO, ici liées aux protéines non récupérées qui se retrouvent dans les effluents, doivent être traitées au niveau de la station d'épuration ; ceci se traduit par une augmentation des consommations électriques (consommations d'énergies non renouvelables et radiations ionisantes) et par une augmentation des émissions de substances nutritives dans le milieu aquatique (eutrophisation) ;
- l'utilisation de solutions de régénération pour le renouvellement de la résine provoque quant à elle un impact négatif sur la couche d'ozone stratosphérique ;
- enfin, les effluents de saumures non recyclées (4 % des saumures utilisées) participent à renforcer l'impact environnemental des procédés chromatographiques : néanmoins, l'impact de cette émission dans le milieu aquatique n'est pas évalué par la méthodologie

IMPACT 2002+ si bien que l'écart entre les procédés chromatographiques et les procédés membranaires est sous-estimé.

4) les pistes d'optimisation dégagées pour les procédés membranaires se situent au niveau de la conduite des opérations de production (conduite à froid) et de l'optimisation des séquences de nettoyage, qui sont encore réalisées par rejet systématique des solutions (pas de recyclage, usage unique des solutions détergentes).

## Conclusions et perspectives

Les opérations à membranes ont joué et vont continuer à jouer un rôle majeur dans le domaine du fractionnement des protéines laitières. Les travaux récents montrent, plus que jamais, la pertinence de ces opérations : dans la majorité des cas, elles maintiennent l'intégrité des protéines et conduisent à un impact environnemental qui peut être plus faible, et très "améliorable", par comparaison aux procédés chromatographiques qui font référence dans le domaine de l'extraction des protéines. Pour limiter cet impact, des travaux spécifiques devront être menés, d'une part sur la conduite des opérations à membrane, à froid (pour limiter les consommations énergétiques) et dans des conditions limitant les phénomènes de colmatage (pour faciliter le nettoyage) et d'autre part, sur l'optimisation du nettoyage (diminution du nombre de séquences, choix de détergents adaptés, ...).

Au-delà de cet exemple, l'éco-conception des procédés est devenu un enjeu primordial en industrie agro-alimentaire. Pour éco-concevoir des procédés alimentaires, il devra être nécessaire voire indispensable dans un futur proche :

- de faire évoluer les méthodes d'évaluation des impacts environnementaux (ACV) pour prendre en compte les spécificités de l'industrie agro-alimentaire (prise en compte d'un indicateur "eau", des variations saisonnières et journalières, etc.),
- d'enrichir les bases de données pour considérer le véritable impact des rejets (sels, produits détergents et désinfectants, etc.) sur l'environnement, constat qui rejoint celui de l'ADEME et de différents groupes de travail au plan international,
- de représenter, d'expliquer et de prédire les performances (qualité des produits obtenus, productibilité, nettoyabilité) des opérations unitaires et des procédés de transformation agro-alimentaires pour être à même de proposer une optimisation multi-critère et donc globale des procédés. Cette dernière démarche relève ici un véritable challenge du Génie des Procédés Alimentaires.

Une partie des résultats présentés est issue des travaux réalisés dans le cadre du projet ANR intitulé "Eco-conception de procédés à membranes visant l'obtention de protéines à fonction(s) cible(s)" (ANR-06-PNRA-15 ECOPROM, 2007-2010). Les partenaires du projet sont ici remerciés pour leur contribution à la réalisation de ce travail.

## Références bibliographiques

Belmejdoub J., 2010. Sur l'intégrité des protéines et la valorisation des effluents pour une production durable par membranes d'ultrafiltration. Applications à l'industrie laitière. Thèse de Doctorat, Université de Rennes I, France.

Bowen W.R., Gan Q., 1992. Properties of microfiltration membranes: the effects of adsorption and shear stress on the recovery of an enzyme. *Biotechnology Bioengineering* 56, 391-397.

Bramaud C., Aimar P., Daufin G., 1997. Whey protein fractionation : isoelectric precipitation of  $\alpha$ -lactalbumin under gentle heat treatment. *Biotechnology Bioengineering* 56, 391-397.

- Butel-Bellini B., Janin M., 1999. Eco-conception : état de l'art des outils disponibles. Techniques de l'ingénieur G 6010, 1-12
- C.N.I.E.L., 2009. L'économie laitière en chiffres, édition 2009.
- De Jongh H.H.J., Groneveld T., De Groot J., 2001. Mild isolation procedure discloses new protein structural properties of  $\beta$ -lactoglobulin. *Journal of Dairy Science* 84, 562-571.
- Denis S., Terré S., Bertheau Y., Boyaval P., 1990. Factors affecting pectate lyase activity during membrane filtration. *Biotechnology Techniques* 4, 127-132.
- Doultani S., Turhan K.N., Etzel M.R., 2004. Fractionation of proteins from whey using cation exchange chromatography. *Process Biochemistry* 39, 1737-1743.
- Etzel M.R., 1999. Isolating  $\beta$ -lactoglobulin and  $\alpha$ -lactalbumin by eluting from a cation exchanger without sodium chloride. US Patent, 5 986 063.
- Humbert S., Margni M., Jolliet O., 2005. IMPACT 2002+ User Guide Draft for version 2.1
- IDF, International Dairy Federation, 2009. Environmental / ecological impact of the dairy sector: literature review on dairy products for an inventory of key issues. List of environmental initiatives and influences on the dairy sector, Bulletin of the IDF, N°436
- ISO 14040, 2006. Management environnemental -- Analyse du cycle de vie -- Principes et cadre, Juillet 2006
- ISO 14044, 2006. Management environnemental -- Analyse du cycle de vie -- Exigences et lignes directrices, Juillet 2006
- JORF, Journal Officiel de la République Française, 1998. Arrêté du 02/02/98 relatif aux prélèvements et à la consommation d'eau ainsi qu'aux émissions de toute nature des installations classées pour la protection de l'environnement soumises à autorisation modifié, JORF n° 52 du 3 mars 1998
- JRC, Joint Research Center, 2006. Integrated Pollution Prevention and Control, Reference Document on Best Available Techniques in the Food, Drink and Milk Industries, European Commission
- Lemoine R., 2005. Le lait source de nouvelles promesses. *Revue Laitière Française* 657, 32-33.
- Maubois J.L., Ollivier G., 1998. Extraction of milk proteins. In: Food proteins and their applications. Eds Damodaran S. Paraf. A., Marcel Dekker, New York, 579-595.
- Maubois J.L., Fauquant J., Famelart M.H., Caussin F., 2001. Milk microfiltrate, a convenient starting material for fractionation of whey proteins and derivatives. Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Whey conference, "The importance of whey and whey components in food and nutrition", Munich 2001.
- Meireles M., Aimar P., Sanchez V., 1991. Albumin denaturation during ultrafiltration: effects of operating conditions and consequences on membrane fouling. *Biotechnology Bioengineering* 38, 528-534.
- Muller A., Chaufer B., Merin U., Daufin G., 2003. Purification of  $\alpha$ -lactalbumin from a prepurified acid whey: ultrafiltration or precipitation. *Lait* 83, 439-451.
- Narendranathan T.J., Dunnill P., 1982. The effect of shear on globular proteins during ultrafiltration: studies of alcohol dehydrogenase. *Biotechnology Bioengineering* 24, 2103-2107.
- Noppe W., Haezebrouck P., Hanssens I., De Cuyper M., 1998. A simplified purification procedure of  $\alpha$ -lactalbumin from milk using  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent adsorption in hydrophobic expanded bed chromatography. *Bioseparations* 8, 153-158.
- Pearce R.J., 1983. Thermal separation of  $\beta$ -lactoglobulin and  $\alpha$ -lactalbumin in bovine Cheddar cheese whey. *Australian Journal of Dairy Technology* 38, 144-149.
- Pierre A., Fauquant J., 1986. Principes pour un procédé industriel de fractionnement des protéines du lactosérum. *Lait* 66, 405-419.
- Portugal C.A.M., Lima J.C., Crespo J.G., 2006. Probing the change of enzymatic activity of horseradish peroxidase induced by membrane permeation using tryptophan fluorescence. *Journal of Membrane Science* 284, 180-192.

Portugal C.A.M., Crespo J.G., Lima J.C., 2007. Monitoring the structural alterations induced in  $\beta$ -lactoglobulin during ultrafiltration: learning from chemical and thermal denaturation phenomena. *Journal of Membrane Science* 300, 211-223.

Portugal C.A.M., Lima J.C., Crespo J.G., 2008. Effect of physicochemical conditions on the ultrafiltration of  $\beta$ -lactoglobulin: fluorescence probing of induced structural changes. *Journal of Membrane Science* 321, 69-80.

Roger L., Maubois J.L., Brulé G., Piot M., 1981. Process for obtaining an  $\alpha$ -lactalbumin enriched product from whey, and uses thereof. US Patent 4 485 040.

Roy P., Nei D., Orikasa T., Xu Q., Okadome H., Nakamura N., Shiina T., 2009. A review of life cycle assessment (LCA) on some food products. *Journal of Food Engineering* 90, 1-10

Tolkach A., Steinle S., Kulozik U., 2005. Optimization of thermal pretreatment conditions for the separation of native  $\alpha$ -lactalbumin from whey protein concentrates by means of selective denaturation of  $\beta$ -lactoglobulin. *Journal of Food Science* 70, E557-E566.

Truskey G.A., Gabler R., DiLeo A., Manter T., 1987. The effect of membrane filtration upon protein conformation. *Journal of Parenteral Science and Technology* 41, 180-193.

Van Audenhaege M., Belmejdoub J., Dupont D., Chalvin A., Pezennec S., Le Gouar Y., Garnier-Lambrouin F., Rabiller-Baudry M., Gésan-Guizieu G., 2010. A methodology for monitoring globular milk protein changes induced by ultrafiltration: A dual structural and functional approach. *Journal of Dairy Science* 93, 3910-3924.

Van Audenhaege M., 2011. Modifications structurales et fonctionnelles de protéines globulaires du lait lors de la filtration frontale. Thèse de Doctorat, AGROPARISTECH, Paris, France.

Vedantham G., Carothers S.L., Belfort G., Przybycien T.M., 2003. Structural response of bovine growth hormone to dead-end ultrafiltration. *Separations Science and Technology* 38, 251-270.