

C.E.E.M.A.T.

PARC DE TOURVOIE — 92160 ANTONY — France 668-61-02

UTILISATION D'ACIDES AMINES OU D'HYDROLYSATS DE PROTEINES
EN TANT QU'AGENTS DEPRESSEURS DE L'ACTIVITE DE L'EAU

COMMUNICATION AU SYMPOSIUM INTERNATIONAL
"LES ADDITIFS DANS LES INDUSTRIES AGRO-ALIMENTAIRES"

Madrid 15-16-17 Octobre 1986

S. GUILBERT

UTILISATION D'ACIDES AMINES OU D'HYDROLYSATS DE PROTEINES
EN TANT QU'AGENTS DEPRESSEURS DE L'ACTIVITE DE L'EAU



S. GUILBERT*

- * CIRAD (Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement) / CEEMAT (Centre d'Etudes et d'Expérimentation du Machinisme Agricole Tropical), Groupe Génie et Technologie Alimentaires. Domaine de Lavalette - Avenue du Val de Montferrand - 34033 MONTPELLIER CEDEX - FRANCE.
- * Enseignant associé à la Section IARC (Ingénieur Industries Alimentaires des Régions Chaudes) de l'ENSIA (Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires) au CNEARC - BP. 5098 - 34033 MONTPELLIER CEDEX - FRANCE

COMMUNICATION AU SYMPOSIUM INTERNATIONAL
"LES ADDITIFS DANS LES INDUSTRIES AGRO-ALIMENTAIRES"

Madrid 15-16-17 Octobre 1986

La réduction de l'activité de l'eau des aliments peut être pratiquée afin d'améliorer leur stabilité microbiologique et physicochimique. De nombreuses applications des techniques d'abaissement partiel de l'activité de l'eau (a_w) ont été proposées (GUILBERT, 1986). Outre la réalisation d'aliments à humidité intermédiaire (A.H.I.), pour lesquels l' a_w doit être portée à des valeurs inférieures à 0,84 - 0,85, (afin d'assurer la stabilité vis-à-vis des bactéries pathogènes ou toxigènes), la stabilisation de certains aliments ou ingrédients industriels peut être réalisée en abaissant l' a_w au-dessous de 0,92 - 0,93 (ce qui correspond à l' a_w minima pour la croissance des bactéries sporulées) et en faisant intervenir d'autres "obstacles" aux réactions de détérioration (LEISTNER et al., 1981).

L'utilisation d'agents ou d'additifs dépresseurs de l'activité de l'eau dans les aliments a pour objectif principaux :

1) - l'abaissement de l' a_w permettant une amélioration de la stabilité microbiologique

2) - le maintien d'une teneur en eau élevée assurant aux aliments, pour une a_w identique (et donc à priori pour une stabilité analogue) de meilleures qualités organoleptiques en particulier une plus grande plasticité.

Les agents dépresseurs de l' a_w doivent posséder certaines caractéristiques importantes (SINSKEY, 1976 ; TOME et BIZOT, 1978 ; GUILBERT, 1985) : faible coût, absence de saveur ou saveur acceptable, non toxicité pour l'homme mais, si possible, action bactériostatique et fongistatique, éventuellement, état liquide à la température ordinaire (pour assurer une plasticité supplémentaire à l'aliment) ; faible masse molaire, complète miscibilité ou très grande solubilité dans l'eau. Ces derniers points sont très importants puisque l'abaissement de l' a_w dépend de l'effet des solutés sur la structure de l'eau d'une solution ou d'un aliment.

L'utilisation d'agents dépresseurs de l' a_w pour réduire l'activité de l'eau des aliments a longtemps été limitée à l'emploi du sel pour les salaisons de viandes, pour les poissons et les fromages ou à l'emploi des sucres pour divers types de confitures et confiseries. Plus récemment, divers polyols (glycérol, propylène glycol, sorbitol) ont été utilisés pour l'abaissement de l' a_w , soit de pâtisseries industrielles, soit d'aliments pour animaux domestiques.

Les quantités d'additifs dépresseurs de l' a_w requises pour l'ajustement de l' a_w des aliments sont souvent très importantes, or il n'existe qu'un nombre restreint d'additifs dépresseurs qui soit efficace et sans effets défavorables sur les qualités des aliments. A cet égard, l'utilisation d'acides aminés ou d'hydrolysats de protéines apparaît particulièrement intéressante.

On peut ainsi indiquer que la protéolyse intervenant au cours de la fermentation de certains fromages entraîne un abaissement de l' a_w (RUEGG, 1985) probablement du fait de la libération d'acides aminés.

La présente étude a pour objectif l'évaluation des efficacités relatives de plusieurs acides aminés et hydrolysats protéiques par rapport à des agents dépresseurs de référence, soit dans des solutions types à base de glycérol de divers niveaux d' a_w , soit dans un aliment à humidité intermédiaire (A.H.I.). Pour des raisons pratiques de formulation, la comparaison des efficacités des agents dépresseurs de l' a_w a été faite sur la base de concentrations pondérales égales.

I - PREPARATIONS DES SOLUTIONS D'AGENTS DEPRESSEURS DE L' a_w ET DES ALIMENTS A HUMIDITE INTERMEDIAIRE.

L'efficacité des divers agents dépresseurs de l' a_w a été comparée à différentes teneurs en eau.

Les compositions des solutions types et des A.H.I. sont données dans les tableaux 1 et 2.

L'aliment à humidité intermédiaire choisi pour cette étude est un aliment salé à base de pâté de viandes, de texture gélifiée, pouvant être utilisé comme ration militaire de survie : il s'agit d'un aliment à apport calorifique élevé (supérieur à 3 calories/g.m.s.), contenant environ 32 % de protéines, 10 % de lipides et 45 % de glucides. La teneur en eau est de 24 % (a_w comprise entre 0,80 et 0,85), le pH est compris entre 5,0 et 5,6. L'étude de la stabilité microbiologique d'un aliment de composition très proche a montré qu'il n'y a pas de développement de microorganismes (même après ensemencement préalable). Il faut toutefois prendre la précaution d'ajouter 0,1 % de sorbate de potassium pour inhiber le développement de moisissures et de levures (GUILBERT, 1980 ; HANSEMANN et al. 1980)

Après 24 heures d'équilibre à 20°C, la mesure de l' a_w de solutions types ou des A.H.I. est effectuée à 20°C à l'aide d'hygromètres LUFFT (modèle 5803) comme indiqué par BOUSQUET-RICHARD et al. (1980). Pour chaque échantillon 8 mesures indépendantes avec 8 hygromètres distincts sont effectuées ; les a_w moyennes obtenues sont comparées entre elles par analyse de variance à un facteur contrôlé.

II - EFFICACITE COMPAREE DES ACIDES AMINES ET DES HYDROLYSATS PROTEIQUES EN SOLUTION ET DANS UN ALIMENT A HUMIDITE INTERMEDIAIRE

Les valeurs d' a_w mesurées (moyenne et écart-type) des différentes solutions d'agents dépresseurs sont indiquées dans les tableaux 3 à 6, qui correspondent aux solutions types 1, 2, 3 et 4. Les agents dépresseurs y sont classés selon une échelle d'efficacité décroissante ; les différences significatives d'efficacité sont indiquées au seuil de probabilité $P = 0,05$. Des agents dépresseurs couramment utilisés pour l'abaissement de l' a_w des aliments, tels que la NaCl, le sorbitol, le saccharose et le glycérol ont aussi été testés et peuvent servir de composés de référence.

L'ovalbumine et les hydrolysats protéiques "W.E.H. 80" et "Nestlé LAD" possèdent des effets dépresseurs de l' a_w analogues et proches de celui du saccharose (solutions types 2 et 3, tableaux 4 et 5). Le faible taux d'hydrolyse protéique du "W.E.H. 80" et du "Nestlé LAD" (7,5 et 12% d'acides aminés libres respectivement) explique sans doute cette relativement faible efficacité. Il est étonnant que l'ovalbumine, dont la masse moléculaire est de 45 000, possède un effet dépresseur analogue à celui du saccharose. Plusieurs investigateurs expliquent l'effet dépresseur des protéines sur l' a_w par la présence de groupements polaires et apolaires capables d'accroître le degré d'organisation de l'eau (ROSS, 1975 ; CHOU et MORR, 1979).

Les hydrolysats de caséine et de sérum albumine bovine (90 et 89% d'acides aminés libres respectivement) ont un effet dépresseur très marqué (solutions types 2 et 3, tableaux 4 et 5) voisin de celui de NaCl et supérieur ou égal à celui du glycérol.

Ces résultats soulignent le grand intérêt des hydrolysats protéiques à taux d'hydrolyse élevé préparés par voie enzymatique, et donc pauvres en sels minéraux. Ces ingrédients permettent à la fois d'abaisser l'activité de l'eau et d'enrichir l'aliment en protéines sans lui conférer une saveur salée ou sucrée ; leur emploi reste cependant limité par leur amertume.

L'efficacité remarquable des hydrolysats de soja et de gluten, "soynop" et "glutnop" (solution type 2, tableau 4) est certainement liée à leur très forte teneur en NaCl (44 % /m.s.) ; cette teneur réduit l'intérêt de leur étude, ainsi que leur utilisation dans des aliments à humidité intermédiaire.

Le mélange de 18 acides aminés (solutions types 1, 2 et 3 à pH 4,5 - 4,6), la L-arginine (mêmes solutions types à pH 4,3 - 4,5), la glycine (mêmes solutions types à pH 4,3 - 4,5), la L-proline (mêmes solutions types à pH 6,1 - 6,6), la L-lysine (solution type 1 à pH 4,5), ou L-valine (solution type 1 à pH 4,4), possèdent tous des effets dépresseurs de l' a_w marqués. Leur efficacité est analogue ou supérieure à celles du glycérol et du sorbitol et donc toujours très supérieure à celle du saccharose. CHEN et KARMAS (1980) soulignent aussi le pouvoir dépresseur élevé de la glycine en solution aqueuse à 5 ou 15 %. L'utilisation en tant qu'agent dépresseur de l' a_w de la valine, qui possède de bonnes propriétés d'absorption d'eau en dépit de sa chaîne latérale apolaire est compromise par la faible solubilité de cet acide aminé.

L'influence du pH final de la solution type sur l'effet dépresseur de l' a_w n'a pas été étudiée de manière systématique ; il semble cependant que l'arginine ait un effet dépresseur plus marqué à pH acide, contrairement à la proline. On a vérifié que les quantités d'HCl, nécessaires à l'ajustement du pH à 4,5 des solutions types contenant les acides aminés, n'entraînaient pas de modifications significatives de l' a_w des systèmes 1 à 3 contenant le glycérol comme agent dépresseur.

On peut constater que l'efficacité relative des acides aminés étudiés varie selon la solution type. Il semble donc que la teneur en eau (ou en glycérol) influence l'effet dépresseur de ces acides aminés.

En ce qui concerne l'étude de l'efficacité des acides aminés et des hydrolysats protéiques, dans l'aliment à humidité intermédiaire, les valeurs d' a_w mesurées (moyenne et écart type) portées dans le tableau 7, montrent que l'ordre d'efficacité observé dans l'aliment est identique à l'ordre d'efficacité global observé précédemment dans les solutions types.

L'influence des agents dépresseurs de l' a_w sur la texture, la couleur et la saveur des A.H.I. salés a été évaluée de manière subjective. En ce qui concerne la texture, qui est celle d'un gel pectique peu élastique, on observe un effet plastifiant marqué du glycérol, et à un moindre degré du saccharose, de la glycine, du mélange d'acides aminés et de l'hydrolysate de sérum albumine. La couleur de l'aliment reste la même quel que soit l'agent dépresseur utilisé. Les additions de glycérol, d'hydrolysate de sérum albumine bovine ou de saccharose se traduisent par un léger renforcement des saveurs respectivement amères et sucrées.

Dans l'ensemble, les acides aminés possèdent donc un effet dépresseur de l' a_w important ; ils sont facilement utilisables pour la préparation d'A.H.I., par formulation directe ou par infusion. Parmi les acides aminés étudiés ici, seule l'arginine possède une saveur amère désagréable. Il faut toutefois tenir compte aussi de la faible solubilité et du coût élevé de certains acides aminés. D'autre part, certains de ces composés, consommés en excès, peuvent entraîner un déséquilibre nutritionnel ; à cet égard, l'utilisation d'acides aminés non essentiels, ou d'un mélange équilibré d'acides aminés, serait préférable. Les résultats obtenus ici avec le mélange de 18 acides aminés et avec la glycine sont donc particulièrement intéressants.

REMERCIEMENTS

Je remercie vivement Monsieur le Professeur CHEFTEL J.C., Directeur du Laboratoire de Biochimie et Technologie Alimentaires (USTL - 34060 MONTPELLIER) où ces travaux ont été effectués ainsi que Monsieur CLEMENT O. pour sa participation à cette étude.

Une partie des résultats exposés a fait l'objet d'une publication :
GUILBERT S., CLEMENT O., CHEFTEL J.C. 1981 ; Lebensm. Wiss. U. Technol. -
14, 245-251.

BIBLIOGRAPHIE

BOUSQUET-RICARD, M., QUAYLE, G., PHAM, T., CHEFTEL, J.C. 1980. Lebensm. Wiss. u.-Technol., 13, 169-176

CHEN, C.C., KARMAS, E. 1980. Lebensm. Wiss. u.-Technol., 14, 101-104

CHOU, D.H., MORR, V. 1979. J. Am. Oil Chemists' Soc., 56, 53-62

GUILBERT, S. 1980. Aliments à humidité intermédiaire : mise au point, et étude d'agents dépresseurs de l'activité de l'eau. Thèse, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier

GUILBERT, S. 1985. Additifs et agents dépresseurs de l'activité de l'eau. Dans : MULTON, J.L. Additifs et auxiliaires de fabrication dans les I.A.A. Tec et Doc Lavoisier APRIA, 680 p.

GUILBERT, S. 1986. Les aliments à humidité intermédiaire. Dans : la qualité des aliments et l'évolution des technologies dans les I.A.A., APRIA, à paraître

HANSEMANN, J.Y., GUILBERT, S., RICHARD, N., CHEFTEL, J.C. 1980. Lebensm. Wiss. u.-Technol. 13, 269-270

LEISTNER, L., RODEL, W., KRISPIEN, K. 1981. Microbiology of meat and meat products in high and intermediate moisture range. Dans : ROCKLAND, L.B. and STEWART, G.F. Water activity. influences on food quality. Academic Press, New York, pp 855-916

ROSS, K.D. 1975. Food Technol., 29, 26-34

RUEGG, R. 1985. Water in dairy products related to quality with special reference to cheese. Dans : SIMATOS, D. and MULTON, J.L. Properties of water in foods. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, pp 603-625

SINSKEY, A. 1976. New developments in intermediates moisture foods : humectants. Dans : DAVIES, R. et al. intermediate moisture foods. Applied Science Publishers Ltd. London, pp 260-280

TOME, D., BIZOT, H. 1978. Les aliments à humidité intermédiaire. Physico-chimie, Technologie, Formulation. Série synthèse bibliographiques n° 16, APRIA, Paris.

Tableau 1 : - Composition des solutions d'agents dépresseurs de l' a_w .

Solution type (1)	Eau % (P:P)	Glycérol % (p/p)	Agent dépresseur (2) de l' a_w à étudier % (p. sec/p.total)
1	75	20	5
2	60	35	5
3	50	45	5
4	75	15	10

(1) Le pH de ces solutions est éventuellement ajusté à 4,5 ($\pm 0,2$) à l'aide d'HCl 0,5 à 12 N.

(2) Les agents dépresseurs suivants ont été étudiés :

- agents dépresseurs de référence : saccharose, sorbitol (ROQUETTE), glycérol, chlorure de sodium
- hydrolysats acides à 85 % d'acides aminés libres, de protéines de soja et de gluten de blé (LEVER INDUSTRIAL) contenant 44 % m.s. de NaCl
- hydrolysats enzymatiques de protéines de lactosérum "W.E.H. 80" (NUTRICA), de protéines de lactosérum "Nestlé LAD" (NESTLE), de caséine et de serum albumine bovine (SCIENTIFIC HOSPITAL) contenant respectivement 7,5 ; 12 ; 90 et 89,5 % d'acides aminés libres
- mélange de 18 acides aminés (SCIENTIFIC HOSPITAL)
- acides aminés (MERCK) : glycine, L-arginine, L-lysine, L-proline, L-valine
- protéine : ovalbumine (MERCK)

Tableau 2 : Compostion des aliments à humidité intermédiaire à base de pâté de viande

INGREDIENTS (1)	% (poids/poids)
- Pâté de campagne (OLIDA)	40
- Sirop de glucose 37 D.E. (ROQUETTE)	20
- Poudre de lactosérum à 80 % de protéines (BRIDEL)	17,7
- Saccharose	10
- Agent dépresseur de l' a_w (2)	5
- Pectine 325 NH 95 (UNIPECTINE)	5
- NaCl	1,5
- Ac. citrique	0,8

(1) les ingrédients sont mélangés sous forte agitation dans un "cutter" ménager pendant 2 minutes. Le mélange est ensuite réparti dans des pots de verre à fermeture étanche puis chauffé dans un bain d'eau bouillante pendant 30 minutes. Ce mode opératoire permet de réaliser des aliments de même teneur en eau et qui diffèrent uniquement par la nature de l'agent dépresseur de l' a_w .

(2) Les agents dépresseurs suivants ont été utilisés :

- Glycérol
- saccharose
- ovalbumine
- hydrolysate de protéines "W.E.H. 80"
- hydrolysate de sérum albumine bovine
- mélange de 18 acides aminés
- glycine

Tableau 3 : Efficacité comparée d'agents dépresseurs de l' a_w ; solution-type 1 (1)

Agent dépresseur de l' a_w	pH de la solution-type	a_w (LUFFT) (2)	
		Moyenne	σ
NaCl	4,3	0,901	0,0038
L-arginine	4,3	0,914 a	0,0045
Mélange de 18 acides aminés	4,5	0,919 a,b	0,0050
Glycine	4,3	0,920 b,c	0,0053
L-Proline	6,3	0,921 b,c	0,0040
L-Lysine	4,5	0,923 b,c	0,0044
L-arginine	10,7	0,923 b,c	0,0040
Glycérol	4,4	0,923 b,c	0,0037
L-Valine	4,4	0,925 c,d	0,0043
L-Lysine	9,3	0,925 c,d	0,0054
Ovlbumine	4,4	0,929 d,e	0,0054
Saccharose	4,4	0,930 d,e	0,0049
L-Proline	4,5	0,933 e	0,0037

(1) eau : 75 % (p/p), glycérol : 20 % (p/p), agent dépresseur de l' a_w : 5 % (p/p)

(2) Moyenne de 8 déterminations indépendantes (20°C)

Les valeurs moyennes d' a_w suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes (la plus petite différence significative entre 2 moyennes est égale à 0,0046 à P = 0,05).

Tableau 4 : Efficacité comparée d'agents dépresseurs de l' a_w : solution type 2 (1)

Agent dépresseur de l' a_w	pH de la solution-type	a_w (LUFFT) (2)	
		Moyenne	$\sqrt{\quad}$
NaCl	4,3	0,848	0,0046
Hydrolysate acide de protéines de soja	4,5	0,853 a	0,0038
Hydrolysate acide de gluten	4,5	0,854 a,b	0,0040
Hydrolysate de sébum albumine	4,5	0,858 b	0,0033
L-Proline	6,6	0,863 c	0,0034
Glycine	4,5	0,866 c,d	0,0032
Mélange de 18 acides aminés	4,5	0,868 d,e	0,0026
L-arginine	4,4	0,868 d,e	0,0028
Glycine	6,4	0,869 d,e,f	0,0030
Hydrolysate de caséine	4,5	0,870 d,e,f	0,0033
L-proline	4,5	0,871 e,f	0,0035
Glycérol	4,5	0,871 e,f	0,0040
L-arginine	11	0,873 f,g	0,0040
"W.E.H. 80"	4,5	0,876 g,h	0,0040
"Nestlé LAD"	4,5	0,878 h,i	0,0040
Ovalbumine	4,5	0,879 h,i	0,0032
Sorbitol	4,5	0,880 h,i	0,0030
saccharose	4,5	0,882 i	0,0034

(1) eau : 60 % (p/p), glycérol : 35 % (p/p), agent dépresseur de l' a_w : 5 % (p/p)

(2) moyenne de 8 déterminations indépendantes (20°C)

Les valeurs moyennes d' a_w suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes (la plus petite significative entre 2 moyennes est égale à 0,0036 à P = 0,05)

Tableau 5 : Efficacité comparée d'agents dépresseurs de l' a_w : solution-type 3 (1)

Agent dépresseur de l' a_w	pH de la solution-type	a_w (LUFFT) (2)	
		Moyenne	σ
NaCl	4,3	0,801 a	0,0036
Glycine	4,5	0,803 a	0,0048
Glycine	6,4	0,811 b	0,0030
Hydrolysat de caséine	4,6	0,813 b,c	0,0032
L-arginine	4,5	0,817 c,d	0,0033
L-proline	6,1	0,818 d,e	0,0045
Mélange de 18 acides aminés	4,6	0,820 d,e	0,0040
L-arginine	11	0,820 d,e	0,0050
Glycérol	4,4	0,821 d,e	0,0030
L-proline	4,5	0,822 e	0,0045
Sorbitol	4,3	0,822 e	0,0040
Ovalbumine	4,5	0,828 f	0,0033
"Nestlé LAD"	4,5	0,830 f	0,0049
Saccharose	4,5	0,830 f	0,0028
"W.E.H. 80"	4,5	0,831 f	0,0050

(1) eau : 50 % (p/p), glycérol : 45 % (p/p), agent dépresseur de l' a_w : 5 % (p/p)

(2) Moyenne de 8 déterminations indépendantes (20°C)

Les valeurs moyennes d' a_w suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (la plus petite différence significative entre deux moyennes est égale à 0,0040 à P = 0,05)

Tableau 6 : Efficacité comparée d'agents dépresseurs de l' a_w : solution-type 4 (1)

Agent dépresseur de l' a_w	pH de la solution-type	a_w (LUFFT) (2)	
		moyenne	
Glycine	4,4	0,919 a	0,0032
Glycérol	4,4	0,923 a	0,0037
Saccharose	4,4	0,939 b	0,0045
Ovalbumine	4,4	0,943 b	0,0040

(1) l'eau : 75 % (p/p), glycérol : 15 % (p/p), agent dépresseur de l' a_w : 10 % (p/p)

(2) moyenne de 8 déterminations indépendantes (20°C)

Les valeurs moyennes d' a_w suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (la plus petite différence significative entre deux moyennes est égale à 0,0039 à $P = 0,005$)

Tableau 7 : Efficacité comparée d'agents dépresseurs de l' a_w : aliment salé (1)

Agent dépresseur de l' a_w	pH de l'aliment- type (2)	a_w (LUFFT) (3) moyenne	Teneur en eau % (4) (déshydratation: à 70°C sous vide	
Glycérol	5,1	0,814 a	0,0070	25,2
Glycine	5,1	0,815 a	0,0074	25,1
Hydrolysate de sérum: albumine bovine	5,1	0,828 b	0,0075	25,1
Mélange de 18 acides aminés	5,2	0,834 b	0,0067	25,3
Hydrolysate de protéines de lacto- sérum "W.E.H. 80"	5,6	0,844 c	0,0067	25,0
Saccharose	5,2	0,844 c	0,0071	25,1
Ovalbumine	5,4	0,852	0,0055	25,4

(1) Pâté de campagne : 40 % (p/p), sirop de glucose 37 D.E. : 20 % (p/p), préparation de protéines de lactosérum à 80 % de protéines/m.s. : 17,7 % (p/p), saccharose : 10 % (p/p), agent dépresseur de l' a_w : 5 % (p. sec/p), NaCl : 1,5 % (p/p), acide citrique : 0,8 % (p/p).

(2) Détermination à l'aide d'une électrode pour milieu solide

(3) Moyenne de 8 déterminations indépendantes (20°C)

(4) Moyenne de 3 déterminations indépendantes

Les valeurs moyennes d' a_w suivies de la même lettre ne seront pas significativement différentes (la plus petite différence significative entre deux moyennes est égale à 0,0069 à P = 0,05)

