

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 674 865

②1 N° d'enregistrement national :

91 03945

⑤1 Int Cl⁵ : C 12 P 7/56; A 23 C 19/05

①2

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 02.04.91.

③0 Priorité :

④3 Date de la mise à disposition du public de la
demande : 09.10.92 Bulletin 92/41.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche : *Se reporter à la fin du présent fascicule.*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : *Société anonyme dite SOCIETE
ANGEVINE DE BIOTECHNOLOGIE BIOPROX — FR.*

⑦2 Inventeur(s) : *Ritzenthaler Gilbert, Alphonse, Albert et
Blanc Philippe.*

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire : *Cabinet de Boisse de Boisse L.A. -
Colas J.P.*

⑤4 Procédé de préparation d'un concentré liquide d'acide lactique concentré obtenu et son utilisation dans l'industrie alimentaire.

⑤7 L'invention concerne un procédé de production d'un concentré liquide contenant de l'acide lactique à partir d'une matière de départ d'origine laitière contenant du lactose selon lequel (a) on soumet la matière de départ à l'action de microorganismes producteurs d'acide lactique dans des conditions de température et pH appropriées, (b) on inactive les microorganismes, puis (c) on concentre la solution acide obtenue jusqu'à une concentration donnée en acide lactique, caractérisé en ce que, avant de soumettre la matière de départ à l'action des microorganismes, on effectue une protéolyse enzymatique de la matière de départ au moyen de protéases d'origine animale, végétale, microbienne ou fongique.

Utilisation du concentré obtenu dans l'industrie alimentaire.

FR 2 674 865 - A1



La présente invention concerne des concentrés acides liquides d'origine laitière, leur procédé de fabrication et leur utilisation dans l'industrie alimentaire et plus particulièrement dans l'industrie laitière.

5 Dans l'industrie fromagère, le lait est additionné de présure et de ferments lactiques produisant de l'acide lactique à partir du lactose, ce phénomène s'accompagnant d'un abaissement du pH du lait.

La texture des caillés obtenus et le rendement
10 fromager dépendent en partie du pH du lait lors de la coagulation par la présure. Il est généralement souhaitable de réaliser cette coagulation à un pH inférieur à celui d'un lait n'ayant subi aucune acidification lactique. Une des techniques actuellement
15 employées pour s'approcher du pH optimum pour la coagulation consiste à réaliser une prématuration du lait avant emprésurage, et une addition d'un levain lactique ou de ferments lactiques concentrés congelés ou lyophilisés lorsqu'il s'agit d'ensemencement direct.

20 Cette technique présente cependant l'inconvénient d'être génératrice d'une perte de temps, la prématuration devant durer au moins une nuit.

Il serait donc utile de disposer d'un moyen permettant d'éviter cette prématuration.

25 Par conséquent, un des objets de l'invention vise à fournir un procédé pour abaisser le pH du lait à une valeur désirée avant emprésurage, et cela d'une manière économique et acceptable du point de vue des réglementations auxquelles est soumise l'industrie
30 fromagère.

Selon l'invention, ce procédé consiste à ajouter au lait un concentré liquide d'acide lactique produit par culture de microorganismes producteurs d'acide lactique dans un milieu d'origine laitière.

35 Comme mentionné précédemment, on sait que des ferments lactiques sont capables de former de l'acide lactique à partir du lactose, par exemple du lactose

contenu dans le lait. Cependant, le produit ainsi obtenu est un produit contenant des solides (caillés) qui ne convient pas pour l'application sus-mentionnée.

Il serait donc utile de disposer d'un procédé
5 permettant d'obtenir un concentré liquide d'acide lactique, facile à manipuler et à utiliser.

Un autre objet de l'invention est donc de fournir un procédé pour former un concentré liquide d'acide lactique par action de microorganismes producteurs d'acide lactique
10 sur un milieu contenant du lactose.

D'autres objets de l'invention apparaîtront encore à l'homme de l'art à la lecture de ce qui suit.

L'invention concerne un procédé de production d'un concentré liquide d'acide lactique à partir d'une matière
15 de départ d'origine laitière contenant du lactose selon lequel (a) on soumet la matière de départ à l'action de microorganismes producteurs d'acide lactique dans des conditions de température et pH appropriées, (b) on inactive les microorganismes, puis (c) on concentre la
20 solution acide obtenue jusqu'à une concentration donnée en acide lactique, caractérisé en ce que, avant de soumettre la matière de départ à l'action des microorganismes, on effectue une protéolyse enzymatique de la matière de départ au moyen de protéases d'origine animale, végétale,
25 microbienne ou fongique.

L'opération de protéolyse, qui caractérise le procédé de l'invention, forme des peptides qui ont un effet activateur vis-à-vis des microorganismes producteurs d'acide lactique. Elle permet surtout, en outre, d'obtenir
30 un produit liquide facilement manipulable et d'emploi aisé.

La matière de départ d'origine laitière contenant du lactose peut être par exemple un lactosérum doux ou acide, un perméat d'ultrafiltration de lactosérum, du lactose,
35 des eaux-mères de cristallisation du lactose, ces matières de départ pouvant contenir, en outre, des protéines sériques ou de la caséine.

Des protéases convenant pour réaliser la protéolyse sont des protéases d'origine animale telles que la pancréatine (extrait brut de pancréas), des enzymes d'origine pancréatique telles que la trypsine, les
5 chymotrypsines, ou des enzymes d'origine gastrique telles que la pepsine, des protéases d'origine végétale telles que la papaïne (extraite de latex de papayes), la bromélaïne (extraite de l'ananas) ou la ficine (extraite de figes), ou des protéases d'origine microbienne telles
10 que celles extraites de *Bacillus subtilis*, *Bacillus Licheniformis*, *Pseudomonas fluorescens*, etc..., ou des protéases d'origine fongique, telles que celles extraites de champignons du genre *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, etc... Ces protéases sont bien connues et
15 disponibles dans le commerce.

Les conditions de température, de pH et de durée de la protéolyse dépendent des protéases particulières employées et de leur concentration, de sorte qu'il n'est pas possible de définir des conditions générales. Ces
20 conditions sont cependant connues de l'homme du métier ou aisément déterminables par de simples essais de routine.

Après la protéolyse, le milieu résultant est de préférence pasteurisé puis refroidi à une température comprise dans le domaine d'activité des microorganismes
25 producteurs d'acide lactique, avant d'êtreensemencé par lesdits microorganismes.

Comme microorganismes producteurs d'acide lactique, on peut citer les bactéries du genre *Lactobacillus* ou *Lactococcus*. On préfère utiliser des *Lactobacillus*.

30 La culture des microorganismes dans le milieu protéolysé peut être effectuée à titre indicatif à une température de 30 à 45°C environ, de préférence à 40-43°C lorsqu'on utilise des *Lactobacillus*, et de 15 à 40°C environ, selon les souches, lorsqu'on utilise des
35 *Lactococcus*. On peut soit laisser le pH évoluer naturellement depuis sa valeur initiale (habituellement 6,8 à 7,0) soit, de préférence, neutraliser partiellement

l'acide lactique au fur et à mesure de sa formation dans l'étape (a) par addition d'une base minérale acceptable dans l'industrie alimentaire, ce qui a pour effet de former un lactate du métal de la base. Des bases utilisables sont, par exemple, la chaux, la soude, etc...
5 On préfère tout particulièrement utiliser un lait de chaux pour réaliser cette neutralisation. A la fin de l'étape (a), ou postérieurement, on régénère l'acide lactique à partir du lactate en remplaçant les ions métalliques par des ions H^+ . Lorsque la base utilisée est de la chaux, ceci s'effectue facilement en précipitant un sel de calcium insoluble, par exemple par addition d'un acide tel que l'acide sulfurique puis en éliminant le précipité par filtration. En variante, les ions métalliques pourraient être éliminés par échange d'ions, électrodialyse, etc...
15 Ce mode de mise en oeuvre préféré permet d'éviter une acidification trop importante du milieu de culture, résultant de la formation d'acide lactique, qui limiterait l'activité des microorganismes. On peut donc ainsi améliorer le rendement final en acide lactique.
20

On laisse la fermentation se poursuivre jusqu'à obtention de la teneur désirée en acide lactique et/ou lactate. Habituellement, la durée de la fermentation est de l'ordre de quelques heures à 3 jours.

25 Une fois que la fermentation a atteint le degré désiré, on inactive les microorganismes, de préférence par pasteurisation puis on concentre le jus acide obtenu jusqu'à une concentration donnée en acide lactique, par exemple par distillation sous vide.

30 On obtient ainsi un concentré liquide aqueux d'acide lactique pouvant titrer, par exemple, 10 à 40% en poids d'acide lactique, qui peut se conserver sans addition d'agent conservateur.

L'invention concerne aussi le concentré liquide d'acide lactique obtenu par le procédé de l'invention.
35

L'invention concerne enfin l'utilisation du concentré liquide d'acide lactique obtenu par le procédé

de l'invention pour réaliser un ajustement de pH (acidification) dans un processus de fabrication de produits alimentaires.

Une application particulièrement importante du
5 concentré de l'invention est, comme mentionné précédemment, l'ajustement (acidification) du pH de lait devant être emprésuré en vue de la fabrication de fromages. A titre indicatif, des taux d'addition d'un
10 concentré selon l'invention de 0,1 à 5°/oo en poids, de préférence de 0,2 à 2°/oo, par rapport au poids du lait se sont révélés convenables.

Le concentré de l'invention peut aussi être ajouté à de la pâte à pain complet en panification, à de la mûlée de charcuterie, à de la saumure de salaisonnerie, à des
15 sauces, à des plats cuisinés, à des boissons, etc... pour réaliser une acidification de ceux-ci, ou pour stimuler des microorganismes devant réaliser une transformation quelconque, par exemple des ferments acidifiants.

L'invention est illustrée par les exemples non
20 limitatifs suivants.

EXEMPLE 1

13,65 g de lactosérum doux en poudre,
6,50 g de caséinate de sodium, et
12,35 g de protéines sériques concentrés à 35% en
25 poids,
sont mis en solution dans 217,50 g d'eau.

La solution est ajustée à pH 8,5 avec une solution de soude et chauffée à 45°C.

On ajoute alors 0,1 g de pancréatine et 0,1 g de
30 protéases microbiennes vendues sous la désignation ALCALASE 0.6 L par la Société NOVO.

On réalise l'hydrolyse des protéines par maintien de la solution à 45°C et à un pH compris entre 7,8 et 8,2 pendant 4 heures. On laisse ensuite le pH évoluer
35 librement pendant 2 heures, ce qui a pour effet d'abaisser le pH de la solution vers 6,8.

On inactive les protéases par chauffage (pasteurisation) à 90°C, puis on refroidit à 40-42°C.

On ensemence la solution avec un bouillon de culture de Lactobacillus et on poursuit la culture pendant 48
5 heures au bout desquelles on obtient une acidité de 2,6% en poids d'acide lactique.

On pasteurise alors la culture et on la concentre sous vide jusqu'à une teneur en acide lactique de 10 à 12% en poids.

10 EXEMPLE 2

25 g de lactosérum doux atomisé sont mis en solution dans 225 g d'eau.

La solution est ajustée à pH 7,5 avec de la soude, chauffée à 50°C et additionnée de 0,05 g d'un mélange de
15 protéases microbiennes constituées d'un mélange à parts égales d'ALCALASE 0.6 L et de NEUTRASE 0.5 L fournies par la Société NOVO.

La protéolyse est réalisée par maintien de la solution pendant 6 heures à 50°C et à pH compris entre 7,0
20 et 7,5 par addition de soude.

En fin d'hydrolyse la culture est acidifiée à pH 6,8 avec de l'acide sulfurique, chauffée à 90°C pour inactiver les protéases, refroidie vers 40-42°C et inoculée avec un
25 bouillon de culture de bactéries lactiques du genre Lactobacillus.

La culture est menée à 40-42°C en maintenant le pH entre 5,0 et 5,5 par addition d'un lait de chaux jusqu'à
addition de l'équivalent de 3 g de chaux. On laisse ensuite le pH de la culture évoluer librement pendant
30 encore 24 heures.

En fin de culture, les ions Ca⁺⁺ sont précipités par addition d'une quantité stoechiométrique d'acide sulfurique, en tenant compte de l'acide sulfurique déjà
introduit après la protéolyse pour ajuster le pH à 6,8. On
35 filtre la solution résultante pour éliminer le précipité formé.

On pasteurise la suspension à 90°C pour inactiver la culture de Lactobacillus et on la concentre d'un facteur 3 environ. Après repos et décantation des insolubles, le surnageant est filtré, puis concentré sous vide jusqu'à
5 une teneur en acide lactique de 20 à 25% en poids.

EXEMPLE 3 - Activité sur le lait

300 ml de lait reconstitué à 11% sont répartis dans 3 pots A, B et C à raison de 100 ml par pot et on ajoute aux pots B et C un concentré selon l'invention comme
10 spécifié ci-dessous :

A - lait reconstitué seul (témoin)

B - lait reconstitué + 0,2 g du produit de l'exemple

1

C - lait reconstitué + 0,1 g du produit de l'exemple

15 2.

Les trois pots sont pasteurisés pendant 40 minutes au bain marie à 85°C, refroidis à 30°C et inoculés avec une culture de Lactococcus mésophiles lyophilisés à une dose correspondant à 2,5 milliunités acidifiantes pour 100
20 ml de lait. Les pots sont placés en incubation à 30°C avec suivi de l'évolution du pH et de l'acidité au cours du temps. Les résultats sont récapitulés dans le tableau ci-après.

Pot	pH	Initialement		après 4 heures		après 6 heures		après 8 heures	
		Acidité*	pH	Acidité	pH	Acidité	pH	Acidité	
A	6,5	17	6,25	22	5,6	37	4,75	71	
B	6,4	19,5	6,0	27	5,35	48	4,68	82	
C	6,4	19,5	6,1	26	5,4	44	4,7	78	

* Les acidités sont exprimées en degrés DORNIC

On voit que les échantillons de lait B et C traités par un concentré selon l'invention permettent une production d'acide lactique plus rapide que l'échantillon non traité A.

- 5 Il va de soi que les modes de réalisation décrits ne sont que des exemples et qu'on pourrait les modifier, notamment par substitution d'équivalents techniques, sans sortir pour cela du cadre de l'invention.

REVENDICATIONS

1. Un procédé de production d'un concentré liquide contenant de l'acide lactique à partir d'une matière de départ d'origine laitière contenant du lactose selon
5 lequel (a) on soumet la matière de départ à l'action de microorganismes producteurs d'acide lactique dans des conditions de température et pH appropriées, (b) on inactive les microorganismes, puis (c) on concentre la solution acide obtenue jusqu'à une concentration donnée en
10 acide lactique, caractérisé en ce que, avant de soumettre la matière de départ à l'action des microorganismes, on effectue une protéolyse enzymatique de la matière de départ au moyen de protéases d'origine animale, végétale, microbienne ou fongique.

15 2. Un procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que, dans l'étape (a), on laisse le pH évoluer naturellement.

3. Un procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que, dans l'étape (a), on neutralise partiellement
20 l'acide lactique formé par les microorganismes à l'aide d'une base minérale acceptable dans l'industrie alimentaire avec formation d'un lactate, et en ce que, après achèvement de l'étape (a) ou ultérieurement, on régénère l'acide lactique à partir de ce lactate par
25 remplacement des ions métalliques du lactate par des ions H^+ .

4. Un procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que la base minérale est de la chaux et en ce qu'on régénère l'acide lactique par addition d'un acide formant
30 un sel de calcium insoluble.

5. Concentré liquide d'acide lactique produit par un procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4.

6. Utilisation d'un concentré liquide d'acide lactique selon la revendication 5, pour réaliser une
35 acidification dans un processus de fabrication de produits alimentaires ou pour stimuler des microorganismes devant

réaliser une transformation quelconque dans un processus de fabrication de produits alimentaires.

7. Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que le concentré est ajouté à du lait
5 avant emprésurage.

8. Utilisation selon la revendication 7, caractérisée en ce que le concentré est ajouté à raison de 0,1 à 5°/oo en poids par rapport au poids du lait.

9. Utilisation selon la revendication 8,
10 caractérisée en ce que le concentré est ajouté à raison de 0,2 à 2°/oo en poids par rapport au poids du lait.

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

R 9103945
FA 454973

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	US-A-4 698 303 (RICHARD B. BAILEY) 6 Octobre 1987 * revendications *	1-5
Y	* colonne 13 * ---	6-9
Y	FR-A-2 291 706 (DSO MLECHNA PROMISHLENOST) * revendications * -----	6-9
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
		C12P A23C
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur
19 NOVEMBRE 1991		DELANGHE L. L. M.
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>		