

**STUDY OF THE PROPERTIES OF THE EMULSIONS  
BASED ON PEA PROTEIN ISOLATE ENZYMATICALLY  
MODIFIED WITH MICROBIAL TRANSGLUTAMINASE ♦**

**L'ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS DES ÉMULSIONS À BASE  
D'ISOLAT PROTÉIQUE DE POIS MODIFIÉ  
ENZYMATIQUEMENT AVEC TRANSGLUTAMINASE  
MICROBIENNE**

**Aurelia Ionescu<sup>1</sup>, Margareta Zara<sup>1\*</sup>, Iuliana Aprodu<sup>1</sup>,  
Aida Vasile<sup>1</sup>, Gabriela Gurău<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Universit e «Dun area de Jos» Galaţi; Facult e de Science et G enie  
d'Alimentes, Galaţi, Roumanie*

*<sup>2</sup>L'h opital des enfants, Galaţi, Roumanie*

\*Corresponding author: [margareta.zara@ugal.ro](mailto:margareta.zara@ugal.ro)

Received: 13/05/2008

Accepted after revision: 15/07/2008

**Abstract:** The oil-in-water emulsions based on pea protein isolate enzymatically modified with bacterial transglutaminase (MTGase) were obtained and characterized by assessing their functional and rheological properties. Our results showed that during shearing flow process, the protein emulsions behave like non-Newtonian fluids. The apparent viscosity decreased by increasing the shearing rate in the range  $0.1667 - 148.5 \text{ s}^{-1}$ . A direct correlation was found between the rheological characteristics of the

---

♦ Paper presented at the fifth edition of: "Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliqu e – COFrRoCA 2008", 25 – 29 June 2008, Bac u, Romania.

studied emulsions and the level of added MTGase, temperature and enzyme reaction time.

The present study was aimed by the evaluation of the effect of MTGase interaction with pea proteins on functional and rheological characteristics of their emulsions. In order to find out the optimal parameters to be used for obtaining emulsions with enhanced functional and rheological properties, different levels of added enzyme, reaction time and temperature of reaction were tested.

**Keywords:** *pea protein isolate, bacterial transglutaminase, apparent viscosity, emulsion, rheological properties*

## INTRODUCTION

A présent, trouver de nouvelles sources de protéines à utiliser comme des ingrédients fonctionnels dans de divers systèmes alimentaires, en particulier pour les produits alimentaires végétariens, apparaissent comme une grande nécessité.

Les protéines végétales sont utilisées avec un grand succès dans la diète humaine grâce à leur effet de réducteur du cholestérol [2, 35] et du risque cardiovasculaire. Les protéines végétales ont de diverses applications alimentaires pour: (i) l'amélioration du comportement des produits à base de viande pendant leur production et/ou pendant le processus de bouillir; (ii) l'amélioration de la valeur nutritionnelle des produits finis; (iii) l'amélioration des caractéristiques mécaniques et de texture [3, 29] et (iv) la réduction des prix.

Les protéines de petits pois sont une alternative aux protéines de soja, comme d'importants composants de la chaîne des produits alimentaires pro cessées. Le petits pois est riche en protéines qui ont un excellent profil amino acidique. Ils contiennent plus d'aminoacides branchés (leucine, isoleucine et valine) et arginine que d'autres protéines disponibles commercial. L'arginine est impliquée dans la réponse du système immunitaire et, à la fois, elle joue un rôle dans le contrôle du poids corporel. Les protéines de petits pois possèdent une bonne solubilité, d'importantes propriétés émulsionnantes et de formation des gels [19, 23, 28] elles ne possèdent pas des composés qui puissent générer des intolérances (comme le gluten, la lactose) et contiennent des niveaux réduits de facteurs anti-nutritionnels et ne sont pas des produits modifiés génétiquement.

Pendant les dernières trois décennies, la demande pour les protéines alimentaires de bonne qualité a enregistré un progrès considérable. Les méthodes de modifier les propriétés techno fonctionnelles des protéines pour développer des produits alimentaires convenables et sains sont très recherchées. Le traitement des protéines avec MTGase détermine la modification de leurs propriétés d'hydratation, gélification, émulsion et la stabilité aux traitements thermiques [25] à cause de l'incorporation d'amines, des réactions de cross-linking et de désamination [13, 25, 26]. Les applications spécifiques de la MTGase ont été publiées dans de nombreuses publications avec des références spéciales pour: la viande de poisson [9, 10, 14 - 16, 20, 21, 30, 34, 38], le pain et

produits de pâtisserie [6 - 8]; le lait et les produits de lait [11, 12, 24]; œufs [18], la procession des soja [27, 33, 37] et de la pois de mer (*Lathyrus maritimus L.*).

A présent il y a peu d'informations concernant l'effet de la MTGase sur les propriétés mécaniques des émulsions à base de protéines de petits pois.

Le but de cette étude a été l'investiguer (i) les propriétés fonctionnelles des protéines de petits pois; (ii) l'effet du supplément de MTGase sur les propriétés rhéologiques des émulsions à base de protéines de petits pois en corrélation avec le niveau d'enzyme ajouté, le temps et la température de "setting".

## MATERIAUX ET METHODES

### Matériaux

L'isolat de protéines de petits pois Pisane HD est un produit commercialisé par Cosucra S.A., Momalle en Belgique.

La MTGase du type Activa TG-T1 qu'on a utilisée a été procurée de Ajinomoto Inc. Teanec, N.J., S.U.A. Le préparé enzymatique, contenant de la maltodextrine 99% et de la transglutaminase 1%, présente une activité enzymatique déclarée d'environ 100 U/g, un domaine de *pH* entre 5 – 8 et une température entre 2 – 60 °C. Le préparé enzymatique Activa TG-T1 est destiné à l'amélioration de la texture des divers systèmes alimentaires qui contiennent des protéines dans une quantité adéquate. L'enzyme reste active même pendant les étapes ultérieures de bouillage, en devenant inactivée à une température suffisamment élevée, conditionnée par la composition du système alimentaire.

### Caractérisation de la protéine

#### *Composition chimique*

Les contenus d'humidité (Méthode No.925.1), azote total (Méthode No.920.87) et de cendre (Méthode No.923.03) ont été déterminés en utilisant les procédures AOAC, 1990. Le contenu total de graisses a été déterminé en utilisant la méthode AOAC, 1990. Pour toutes les analyses chimiques on a effectué des preuves doubles.

Le pH a été déterminé du point de vue potentiométrique à l'aide du ph-mètre type Hanna, en utilisant des dispersions protéiques ayant une concentration de 12 (m/V), à une température de 22±1°C.

#### *Propriétés fonctionnelles*

Les propriétés fonctionnelles de l'isolat de protéines de petits pois modifié ou non enzymatiques ont été déterminées en utilisant des méthodes spécifiques.

#### *Capacité d'émulsion et la stabilité de l'émulsion*

La capacité d'émulsion a été déterminée en fonction du pH et de la concentration de NaCl. L'influence du *pH* et de la concentration de NaCl sur la capacité d'émulsion a été observée par l'utilisation des dispersions protéiques 1 (m/V) obtenues à l'aide d'un agitateur magnétique; le *pH* a été ajusté dans le domaine 2 – 9 par un supplément de NaOH 2M ou HCl 2M. Les concentrations de NaCl dans les dispersions protéiques ont

été de 0; 0,5; 1,0; 1,5 et 2,0%. La capacité d'émulsion a été déterminée à l'aide de la méthode proposée par Beuchat [4]. 50g de dispersion protéique ont été transférés dans la cuve d'un blender de laboratoire dans laquelle, sous agitation continue, on a ajouté de l'huile de tournesol d'une burette jusqu'à la destruction de l'émulsion. La quantité d'huile ajoutée jusqu'au point d'inversion de l'émulsion a été considérée comme la capacité émulsionnante de la preuve, exprimée en ml d'huile utilisés pour émulsionner 100g de isolat de protéines de petits pois. Les mesures ont été effectuées à une température ambiante ( $22\pm 1^\circ\text{C}$ ), pendant plusieurs preuves triples.

#### ***Absorption de l'huile***

La capacité d'absorption de l'huile a été déterminée en utilisant la procédure de Lin et al. [22]. 0,5g de isolat de protéines de petits pois ont été pesés dans une cuve centrifuge de 15 mL. On y a ajouté 3 mL d'huile de tournesol qui ont été dispersés avec une baguette mince en verre pendant une minute. La preuve homogénéisée a été ensuite incubée à  $22^\circ\text{C}$  pour 30 minutes et, après, elle a été centrifugée à 3500 tpm, pendant 20 minutes. L'huile non-absorbée a été décantée dans un cylindre gradé de 10 mL et on a mesuré le volume d'huile. La capacité d'absorption de l'huile a été calculée par la division des millilitres d'huile absorbés à la masse de isolat de protéine utilisé (mL huile/100 g isolat). On a effectué des preuves triples.

#### **Préparation des émulsions avec/sans supplément de MTGase**

Les émulsions du type huile-dans-eau, ayant comme émulateur les protéines de petits pois, ont été réalisées en système modèle [31, avec quelques modifications] par l'homogénéisation de la solution protéique (2%) avec de l'huile de tournesol à un blender de haute vitesse pendant 3 minutes (60 mL solution protéique avec ou sans supplément de MTGase/100 mL huile) à la température de  $22\pm 1^\circ\text{C}$ . Le contrôle de la température au cours de l'émulsion a été réalisé en maintenant le récipient d'émulsion dans de l'eau froide en glace. Pour l'étude de l'effet de la concentration de MTGase sur les propriétés mécaniques des émulsion sur leur stabilité on a réalisé une série de preuves ayant des concentrations d'enzyme différentes (0; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 g MTGase/100 g émulsion) qui ont été à des températures différentes (22, 40 et  $50^\circ\text{C}$ ) et pour des durées de temps différentes (30, 60, 90 et 120 minutes). Toutes les études sur les émulsions ont été réalisées sans l'inactivation de la MTGase.

#### **Observation visuelle des émulsions**

L'aspect général et la texture des émulsions ont été appréciés par des observations visuelles qui ont permis leur encadrant comme des fluides à viscosité basse ou élevée, émulsions à viscosité basse ou élevée, ainsi comme avec/sans la présence du phénomène de synérèse [5].

#### **Stabilité des émulsions au stockage**

20 g d'émulsion ont été transférés dans des tubes test ayant un diamètre interne de 20 mm et une hauteur de 100 mm et stockage à  $22\pm 1^\circ\text{C}$  et à  $4^\circ\text{C}$  pour une semaine. La

hauteur totale de l'émulsion ( $H_E$ ) et la hauteur de la couche d'huile ou d'eau ( $H_S$ ) ont été mesurées chaque jour et ont été utilisées pour le calcul de l'index d'écémation (1):

$$I_E = 100 \cdot \frac{H_S}{H_E} \quad (1)$$

L'index d'écémation peut fournir des informations directes sur le degré de floculation des particules d'une émulsion: si la floculation est grande, les particules sont plus grandes et la vitesse d'écémation est plus accélérée.

### **Evaluation de la stabilité de l'émulsion par la méthode de centrifugation**

Une portion aliquote de 20 g de l'émulsion a été placée dans une cuve et centrifugée à 3200 tpm, 10 minutes. Après la centrifugation, on a mesuré la couche d'eau ou d'huile. La stabilité de l'émulsion  $S$  (%) a été calculée par la formule (2):

$$S_E = \left[ \left( \frac{H_E - H_S}{H_E} \right) \right] \cdot 100 \quad (2)$$

ou:  $H_E$  – la hauteur de l'émulsion avant la centrifugation, cm;

$H_S$  – la hauteur de la couche séparée, cm.

Les résultats ont été exprimés comme la moyenne de deux déterminations, ayant une déviation standard inférieure à 5 [17].

### **Mesures rhéologiques**

L'étude des propriétés des émulsions à base de protéines de petits pois avec/sans supplément de MTGase a été effectuée à une température de  $20 \pm 0,1$  °C, en utilisant un viscosimètre rotatif (Modèle RHEOTEST-2, VEB-MEDINGEN –Allemagne), équipé avec un dispositif à cylindre coaxial S pour des viscosités moyennes. La quantité de matériel introduite dans le cylindre a été de 50 g et la fréquence d'opération 50 Hz. Les vitesses de cisaillement ( $\dot{\gamma}$ ) ont varié dans le domaine  $0,16678 - 145,8$  s<sup>-1</sup>. En tenant compte des valeurs de lues sur l'échelle gradée de l'appareil pour les diverses valeurs de la vitesse de cisaillement on a calculé la tension de cisaillement avec la relation (3):

$$\tau_r = z \cdot \alpha \quad (\text{N.m}^{-2}) \quad (3)$$

$z$  étant la constante de l'appareil pour le domaine I ou II de travail et le cylindre  $S$ , dyn/cm<sup>2</sup> div. scale et la viscosité apparente basée sur la relation (4):

$$\eta = \frac{\tau_r}{\dot{\gamma}} \cdot 100, \quad (\text{Pa.s}) \quad (4).$$

Toutes les mesures rhéologiques en triple ont été réalisées immédiatement après la préparation et le "setting" des émulsions [14].

### Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats expérimentaux a été réalisée en utilisant Sigma Plot 2001/Statistiques Date Software. Pour chaque expérimenté on a réalisé trois groupes et les résultats ont été rapportés comme des valeurs moyennes. Les déviations standard sont inférieures à 5%. Les dates expérimentales ont été représentées en graphique par l'utilisation de Table Curve software et sur la base des équations de régression on a établi les critères statistiques ( $r^2$ , erreur standard et paramètres rhéologiques).

## RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

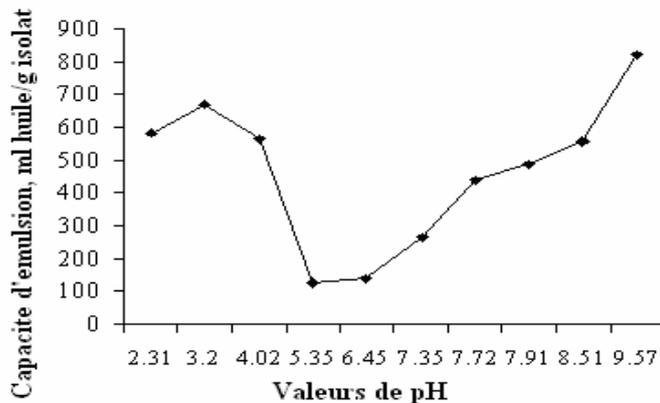
### La composition chimique et les propriétés d'émulsion

A cause du goût et de la couleur neutre, les isolats de protéines de petits pois sont incorporés dans une grande variété de produits alimentaires (pâtisserie, pain, pâtes, viande et poisson, aliments ayant un contenu réduit de graisses et boissons pour les sportifs, soupes, dressing, pudding, yaourt etc.) et pharmaceutiques. La composition chimique et les propriétés fonctionnelles des protéines isolats conditionnent leur utilisation en qualité d'ingrédients alimentaires.

L'isolat de protéines Pisane HD, utilisé chez nous aussi, a eu un contenu de protéines totales de  $86\pm 0,36\%$ , d'eau de  $9,03\pm 0,26\%$  et de cendre de  $4,82\pm 0,18\%$ . Le *pH* de la solution protéique à une concentration de 12, à une température de  $22\pm 1^\circ\text{C}$  a été de 7,33.

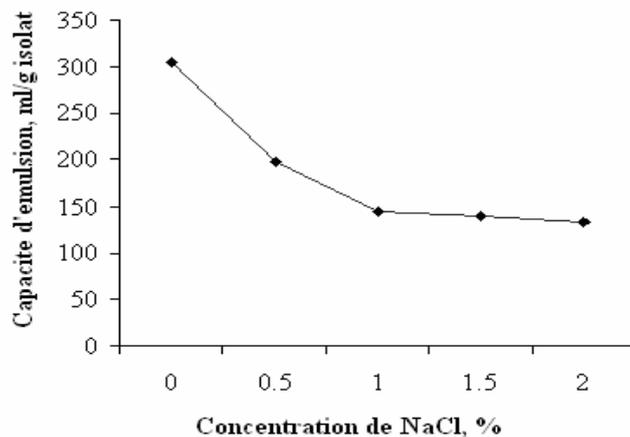
La capacité d'absorption de l'huile présente une importance spéciale pour les applications industrielles car elle reflète sa capacité d'émulsion, une caractéristique indispensable dans la production des mayonnaises et du dressing. Conformément à nos résultats, l'isolat de protéines de petits pois est caractérisée par la capacité d'absorption de l'huile – 1,45 mL/g, une valeur inférieure à l'isolat de soja – 3,2 mL/g, l'isolat de protéines de pois chiche – 1,70 mL/g. La capacité d'absorption de l'huile à un *pH* naturel de la protéine isolat relativement réduite suggère la présence d'un petit nombre de groupes hydrophobes à la surface des molécules de protéines. Ces résultats sont comparables avec les résultats obtenus par Sumner et al. [39], qui ont indiqué des valeurs entre 90 – 127 mL huile % pour l'absorption des graisses par l'isolat de protéines de petits pois de champ.

La capacité d'émulsion de la protéine isolat a été mesurée en tenant compte de la valeur du *pH* et de la concentration de NaCl dans la solution protéique. Les dates concernant la relation entre la capacité d'émulsion et *pH* sont indiquées dans la figure 1. La capacité d'émulsion a été influencée en principal par le *pH* de la solution protéique. La moindre valeur pour la capacité d'émulsion a été enregistrée pour *pH* 4,5 qui correspond au *pH* isoélectrique des protéines de petits pois. Dans les domaines de *pH* fortement acide et alcalin, charge nette des protéines accroît en même temps que les forces de rejet entre les chaînes protéiques. Les espaces entre celles-ci et la hydratation accrue influencent d'une manière positive l'activité d'émulsion. Ces valeurs extrêmes du *pH* ne sont pas, quand même, spécifiques pour les produits alimentaires.



*Figure 1. L'influence valeurs du pH sur capacité d'émulsion des protéines de petits pois*

L'effet de la concentration de NaCl sur la capacité d'émulsion est présenté dans la figure 2. L'accroissement de la concentration de NaCl a mené à une capacité d'émulsion inférieure et on a observé des différences significatives (P 0,05) en fonction du niveau du NaCl qu'on ajouté. Ces résultats peuvent être expliqués par l'effet du NaCl de diminuer la solubilité des protéines végétales, connu comme le procès «salting out» [36]. La concentration ionique et le pH de la solution protéique apparaissent comme des facteurs majeurs qui peuvent affecter la capacité d'émulsion des protéines de petits pois. Il est nécessaire de tenir compte de ces facteurs dans le développement des produits alimentaires du type émulsion. Au cas où on ajoute de l'isolat de protéines de petits pois sous forme d'émulsion préfabriquée, NaCl doit être ajouté après la réalisation d'émulsion pour ne pas empêcher l'hydratation des protéines de petits pois.



*Figure 2. L'effet de la concentration de NaCl sur la capacité d'émulsion des protéines de petits pois*

### **L'influence du supplément de transglutaminase sur les propriétés rhéologiques de l'isolat de protéines de petits pois**

L'influence de la MTGase sur les caractéristiques des émulsions à base de protéines de petits pois a été appréciée par des études rhéologiques.

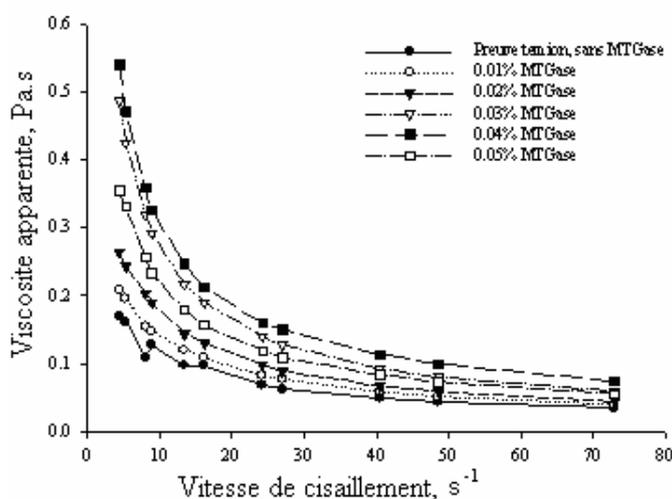
A présent, la rhéologie des émulsions connaît un grand intérêt, en principal grâce à la relation avec leur stabilité, un facteur important pour les technologies d'obtenir les émulsions. La rhéologie, comme la stabilité des émulsions, sont directement

conditionnées par une série de paramètres structuraux. Les émulsions réalisées par nous à base de isolat de protéines de petits pois sont des systèmes complexes constitués de plusieurs phases dispersées dans une phase continue aqueux.

Les mesures rhéologiques ont été effectués par l'application d'une procédure rhéologique non destructive et ont eu comme but d'évidence l'interaction des protéines de petits pois avec la MTGase et leur effet sur le comportement pendant le découlement L'influence du rapport substrat protéine/enzyme.

Les mesures rhéologiques ont été réalisés dans des conditions identiques: la concentration de la dispersion protéique, la concentration ionique, le *pH*, la température et la durée du "setting", le volume d'huile, la vitesse d'ajouter l'huile et d'agitation, la température d'émulsion. Conformément à nos résultats, les paramètres rhéologiques investigués, la tension de cisaillement et la viscosité apparente des émulsions varient en fonction de la vitesse de cisaillement et du rapport enzyme/substrat. Les émulsions obtenues avec de la protéine isolat de petits pois modifié enzymatiques avec de la MTGase ont été plus visqueuses, par comparaison avec des preuves sans supplément d'enzyme, leur viscosité apparente, mesurée à une vitesse de donnée étant en corrélation directe avec le niveau d'enzyme ajoutée jusqu'à 0,04% MTGase. Avec un supplément de 0,05% MTGase la viscosité de l'émulsion a été beaucoup plus réduite mais supérieure à la preuve témoin.

Les données expérimentales, présentées dans la figure 3 indiquent un accroissement de la viscosité apparente (vitesse de cisaillement  $4,5 \text{ s}^{-1}$ ) avec 23,5% pour l'échantillon avec un supplément de 0,01% MTGase, avec 55,3% dans le cas de l'échantillon avec 0,02% MTGase, avec 175,3% pour l'échantillon avec 0,03% MTGase, avec 217,6% dans le cas de l'échantillon avec 0,04% MTGase et respectivement avec 109,46% à l'échantillon avec un supplément de 0,05% MTGase, par comparaison à l'échantillon sans supplément d'enzyme.

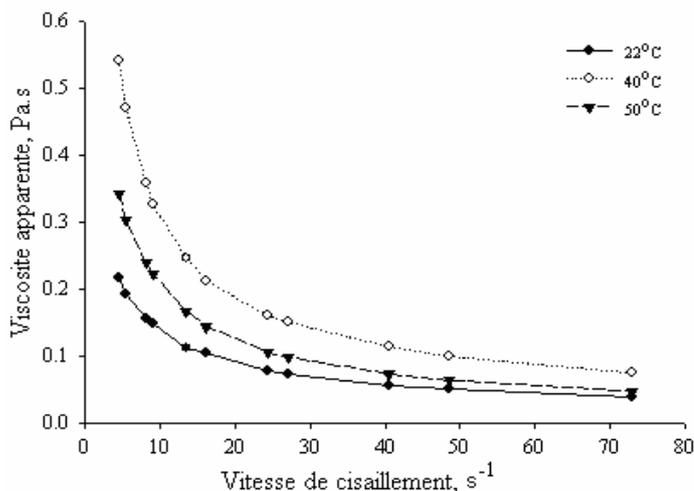


**Figure 3.** L'influence du niveau de MTGase sur la viscosité apparente des émulsions à base de isolat de protéines de petits pois (Température de "setting"  $40^{\circ}\text{C}$ , durée de "setting" 60 minutes)

### L'influence de la température de "setting"

L'incubation des suspensions des protéines avec/sans supplément de MTGase a été réalisée à des températures différentes: 22, 40 et  $50^{\circ}\text{C}$  pendant 60 minutes, à un niveau d'enzyme de 0,03g MTG/100 g d'émulsion. Par l'accroissement de la température, la

vitesse de réaction de la MTGase avec les protéines de petits pois accroît aussi en se formant ainsi un nombre plus grand de liaisons transversales (cross-links), méditées par la MTGase. La viscosité apparente des émulsions a été la plus haute dans le cas du traitement effectué à la température de 40 °C (figure 4). Par rapport à l'échantillon stockage à 22 °C, la viscosité apparente à la vitesse de cisaillement 4,5 s<sup>-1</sup> a été plus haute avec 150% à 40 °C et avec 58,3% quand la température de "setting" a été de 50 °C. Dans le cas des températures de 40 et 50 °C il est possible que la dénaturation thermique des protéines contribue à l'amélioration des caractéristiques des émulsions.

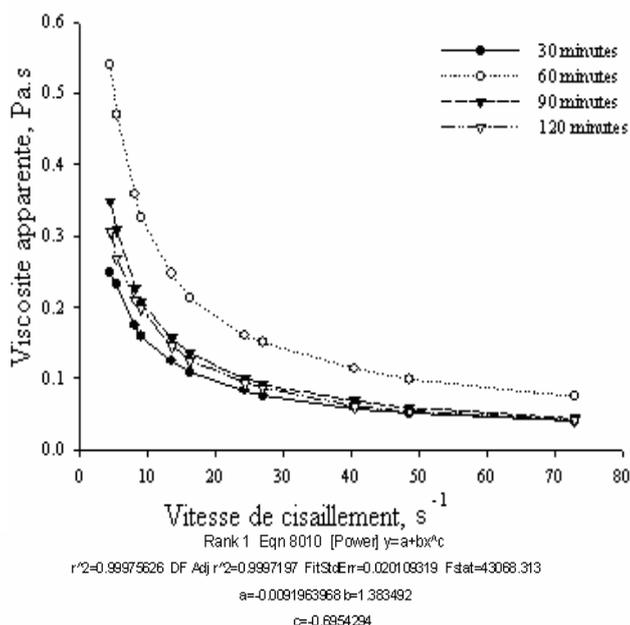


**Figure 4.** L'influence de la température de "setting" sur la viscosité apparente des émulsions à base de isolat de protéines de petits pois (0.03% MTGase, durée de "setting" 60 minutes)

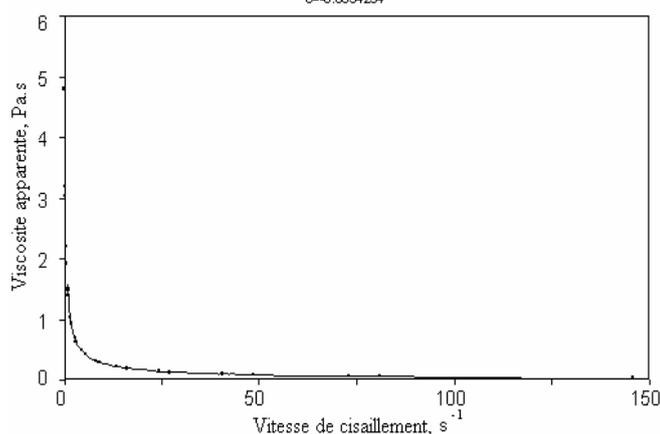
### L'influence de la durée de "setting"

L'influence de la durée de "setting" sur les propriétés des émulsions traitées avec la MTGase a été estimée par leur "setting" avec 0,03% MTGase à 40 °C, pour des durées différentes. L'analyse des données présentées dans la figure 5 montre que pendant une durée plus longue, de 30 à 60 minutes, on peut améliorer considérablement la viscosité apparente des émulsions et, après, on constate la fluidisation des émulsions par une durée de "setting" de plus de 60 minutes.

Par la transposition graphique de la variation de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement (figure 6) nous avons établi le modèle rhéologique pour la description des caractéristiques d'écoulement au cisaillement des émulsions. L'analyse de la régression non linéaire a été utilisée pour processeur les données expérimentales viscosimétriques. Le comportement des émulsions investiguées a répondu au modèle mathématique Herschel-Bulkley, avec l'équation générale suivante:  $\tau = a + b\gamma^c$ , ou  $a$ ,  $b$ ,  $c$  sont des paramètres qui caractérisent les différents comportements d'écoulement. Les valeurs de l'index de consistance ( $b$ ), de l'index de comportement à l'écoulement ( $c$ ) et de la tension seuil ( $a$ ), tout comme les coefficients de régression ( $r^2$ ), en fonction du niveau de la MTGase, de la durée et de la température de "setting" sont listées dans le tableau 1. L'index de consistance accroît en même temps que l'accroissement de la viscosité, tandis que l'index d'écoulement qui est plus petits que l'unité, est plus bas.



**Figure 5.** L'influence de la durée de "setting" sur la viscosité apparente des émulsions à base de isolat de protéines de petits pois (0,03% MTGase, température de "setting" 40°C)



**Figure 6.** Rheogramme: Viscosité apparente vs Vitesse de cisaillement (0,03 g MTGase/100 g l'émulsion, 60 minutes, 40°C)

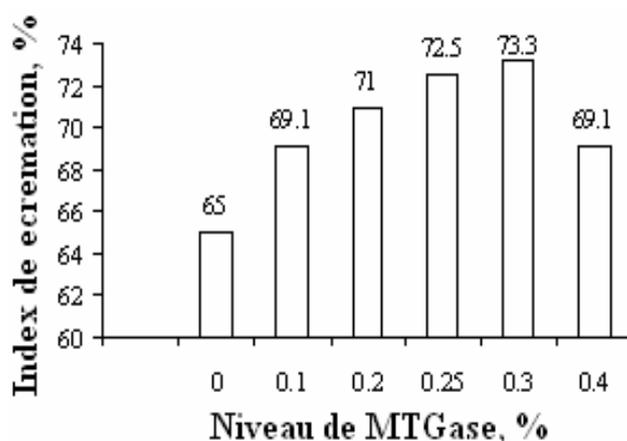
**Tableau 1.** L'effet de la concentration de MTGase, durée et température de "setting" sur rhéologiques paramètres des émulsions

Traitement	Paramètres rhéologiques			Coefficient de régression, $r^2$
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	
Emulsion témoin, 60 min, 40°C	-0,016	0,405	-0,488	0,993
0,01% MTGase/100 g, 60 min, 40°C	0,056	0,330	-0,696	0,988
0,02% MTGase /100 g, 60 min, 40°C	0,037	0,650	-0,747	0,998
0,03% MTGase/100 g, 60 min, 40°C	-0,009	1,384	-0,695	0,999
0,04% MTGase/100 g, 60 min, 40°C	-0,075	1,765	-0,658	0,995
0,05% MTGase/100 g, 60 min, 40°C	-0,065	0,907	-0,836	0,999
0,03% MTGase/100 g, 30 min, 40°C	-0,010	0,667	-0,619	0,999
0,03% MTGase/100 g, 90 min, 40°C	-0,022	1,088	-0,710	0,996
0,03% MTGase/100 g, 120 min, 40°C	-0,025	0,875	-0,654	0,991
0,03% MTGase/100 g, 60 min, 22°C	-0,103	0,627	-0,384	0,977
0,03% MTGase/100 g, 60 min, 50°C	0,051	0,751	-0,742	0,994

Toutes les émulsions se sont comportées comme des fluides non newtoniens pseudo-plastiques avec une viscosité de structure. Le comportement fluidifiant à l'écoulement de cisaillement est devenu plus prononcé avec l'accroissement de la concentration de MTGase, de la durée et de la température de "setting". La fluidification des émulsions apparaît comme une conséquence de la dégradation structurale provoquée par les forces de "setting". A des vitesses de cisaillement suffisamment élevées les gouttes d'émulsion deviennent plus ordonnées dans la direction d'écoulement et offrent une résistance réduite et le résultat étant une viscosité plus réduite [24].

### La stabilité des émulsions

Les émulsions huile-dans-eau sont des systèmes thermodynamiques instables. Elles sont susceptibles à la déstabilisation à cause de certains procès physiques, parmi lesquels la floculation coalescence, la maturation physique, la séparation gravitationnelle et l'inversion des phases. L'instabilité physique des émulsions réalisées a été conditionnée par la composition de l'émulsion et par les conditions de ou de centrifugation. Le profil d'écémation des émulsions à base de protéines de petits pois enzymatiques modifiées a dépendu des conditions de réaction: la concentration de la MTGase, la durée et la température de réaction (figure 7). En général, les particules d'huile ayant une densité inférieure à celle des gouttes d'eau qu'elles entourent, se déplacent pendant stockages et tendent à s'unifier et à conduire au phénomène d'écémation. L'écémation a été plus accentuée pour les preuves non traitées enzymatiques. Les échantillons avec supplément d'enzyme dans les limites 0,01 – 0,03% MTGase ont présenté un index d'écémation supérieur, ainsi que les échantillons établis à des températures entre 22 – 40 °C (0,03% MTGase, 60 minutes) et pour une durée entre 30 – 90 minutes (0,03% MTGase, 40 °C). Le comportement d'écémation des différentes émulsions peut être expliqué par la modification de la structure des protéines de petits pois par la formation des cross-links par catalyse enzymatique avec la MTGase. La génération d'un grand nombre de cross-links détermine l'accroissement de la masse moléculaire des agrégats protéiques et la diminution de la mobilité des protéines à l'interface huile/eau; le film protéique qui entoure les gouttes d'huile n'est pas uniforme et suffisamment résistant pour empêcher la tendance de floculation des gouttes d'huile.



*Figure 7. L'influence du niveau de MTGase sur l'index d'écémation*

Les émulsions avec supplément de MTGase ont présenté une stabilité de 100% à 4 °C pendant une semaine par comparaison aux échantillons sans supplément de MTGase pour lesquels on a constaté le phénomène de synérèse, par la séparation de la phase adipeuse. Un nombre plus grand de cross-links peut déterminer la modification de la balance hydrophile/hydrophobe de l'émulgateur et du stabilisateur par la réduction du nombre de groupes hydrophiles, en favorisant ainsi l'écartement du système d'une partie de la phase adipeuse.

## CONCLUSIONS

La fonctionnalité des protéines dérivés, principalement la capacité d'émulsion et la stabilité de l'émulsion sont des caractéristiques importantes qui déterminent leur utilisation comme ingrédients dans de divers systèmes alimentaires. La stabilité des émulsions et leurs caractéristiques mécaniques peut être améliorées par la modification des protéines globulaires du petits pois avec la MTGase microbienne. L'effet de la MTGase a été conditionné par le rapport enzyme/substrat, température et durée du "setting".

## RÉFÉRENCES

1. AOAC: *Official Methods of Analyses*, 15<sup>th</sup> ed., Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, **1990**;
2. Bakhit, R.M., Klein, B.P., Essex-Sorlie, D., Ham, J.O., Erdman Jr., J.W., Potter, S.M.: Intake of 25 g soybean protein reduces plasma cholesterol in men with elevated cholesterol concentrations, *J. Nutr.*, **1994**, 124, 213–222;
3. Barbut, S.: Importance of fat emulsification and protein matrix characteristics in meat batter stability, *Journal of Muscle Foods*, **1995**, 6, 161-167;
4. Beuchat, L.R.: Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1977**, 25(2), 258-261;
5. Demetriades, K., Coupland, J.N., McClements, D.J.: Physical properties of whey protein stabilized emulsions as related to pH and NaCl, *Journal of Food Science*, **1997**, 62, 342–347;
6. Gerrard, J.A., Fayle, S.E., Wilson, A.J., Newberry, M.P., Ross, M., Kavale, S.: *J. Food Sci.*, **1998**, 63, 472-475;
7. Gerrard, J.A., Newberry, M.P., Ross, M., Wilson, A.J., Fayle, S.E., Kavale, S.: *J. Food Sci.*, **2000**, 65, 312-314;
8. Gerrard, J.A., Fayle, S.E., Brown, P.A., Sutton, K.H., Simmons, L., Rasiah, I.: *J. Food Sci.*, **2001**, 66, 782-786;
9. Gómez-Guillén, M.C., Sarabia, A.I., Solas, M.T., Montero, P.: *J. Sci. Food Agric.*, **2001**, 81, 665–673;
10. Hammer, G.F.: Mikrobielle transglutaminase und diphosphat bei feinzerkleinerter Bruhwurst, *Fleischwirtschaft*, **1998**, 78, 1155-1162;

11. Han, X.Q., Damodaran, S.: Thermodynamic compatibility of substrate proteins affects their cross-linking by transglutaminase, *J. Agric Food Chem.*, **1996**, 44, 1211-1217;
12. Ikura, K., Yoshikawa, M., Sasaki, R., Chiba H.: Use of transglutaminase. Reversible blocking of amino groups in substrate proteins for a high yield of specific products, *Agric. Biol. Chem.*, **1984**, 48, 2347-2354;
13. Ikura, K., Sasaki, R., Motoki, M.: Use of transglutaminase in quality improvement and processing of food proteins, *Comments Agric. Food Chem.*, **1992**, 2, 389-487;
14. Ionescu, A., Aprodu, I., Gurau, G.: The effect of microbial transglutaminase on rheological behavior of the fish wet myofibrillar protein concentrate, Ed. Corson Iași, **2003**, 31-39;
15. Ionescu, A., Aprodu, I., Daraba, A., L., Porneala, L.: The effects of transglutaminase on the functional properties of the myofibrillar protein concentrate obtained from beef heart, *Meat Science*, **2008**, 79, 278-284;
16. Jiang, S.T.: Microbial transglutaminase affects gel properties of gold threadfin-bream and Pollack Surimi, *Journal of Food Science*, **2000**, 65 (4), 694-699;
17. Johnson, E.A., Brekke, C.J.: Functional properties of acetylated pea protein isolates, *J. Food Sci.* **1983**, 48, 722-725;
18. Kato, A., Wada, T., Kobayashi, K., Seguro, K., Motoki, M.: Ovomucin-food protein conjugates prepared through the transglutaminase reaction, *Agric. Biol. Chem.*, **1991**, 55, 1027-1031;
19. Kiosseoglou, A., Doxastakis, G., Alevisopoulos, S., Kasapis, S.: Physical characterization of thermally induced networks of lupin protein isolates prepared by isoelectric precipitation and dialysis, *International Journal of Food Science and Technology*, **1999**, 34, 253-263;
20. Kuraishi, C., Sakamoto, J., Yamazaki, K., Susa, Y., Kuhara, C., Soeda, T.: Production of restructured meat using microbial transglutaminase without salt or cooking, *J. Food Sci.*, **1997**, 62, 488-490, 515;
21. Kuraishi, C., Sakamoto, J., Soeda, T.: Application of transglutaminase for meat processing, *Fleischwirtschaft*, **1998**, 78, 657-660;
22. Lin, M.M., Humbert, T.S., Sosulski, F.W.: Certain in functional properties of sunflower meal products, *J. Food Science*, **1974**, 39, 368-374;
23. Mavrakis, C., Doxastakis, G., Kiosseoglou, V.: Large deformation properties of gels and model comminuted meat products containing lupin protein, *Journal of Food Science*, **2003**, 68 (4), 1371-1376;
24. McClements, D.J.: Emulsion rheology in *Foods emulsions-Principles, practice and techniques*, Ed. McClements, D.J., Washington, Dc: CRC Press, **1999**, 235-266;
25. Motoki, M., Segura, K.: Transglutaminase and its uses for food processing, *Trends Food Sci. Technol.*, **1998**, 9, 204-210;
26. Nielsen, P.M.: Reactions and potential industrial applications of transglutaminase. Review of literature and patents, *Food BioTechnol*, **1995**, 9, 119-156;
27. Nonaka, M., Toiguchi, S., Sakamoto, H., Kawajiri, H., Soeda, T., Motoki, M.: Changes caused by microbial transglutaminase on physical properties of thermally induced soy protein gels, *Food Hydrocoll*, **1994**, 8, 1-8;

28. Pozani, S., Doxastakis, G., Kiosseoglou, V.: Functionality of lupin seed protein isolate in relation to its interfacial behavior, *Food Hydrocolloids*, **2002**, 16, 241-247;
29. Rhee, K.C.: Functionality of soy proteins in *Protein functionality in food systems* (Eds. Hettiarachchy, N., Ziegler, G.), New York, **1994**, 311–324;
30. Sakamoto, H., Kumazawa, Y., Toiguchi, S., Seguro, K., Soeda, T., Motoki, M.: Gel strength enhancement by addition of microbial transglutaminase during onshore surimi manufacture, *J. Food Sci.*, **1995**, 60, 300-304;
31. Satterlee, L.D., Free, B., Levin, E.: Utilization of high protein tissue powders as a binder, extender in meat emulsions, *J. Food Sci.*, **1973**, 38-306;
32. Sathe, S.K., Salunkne, D.K.: Investigation on winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus L.*) proteins and antinutritional factors, *J. Food Science*, **1981**, 46, 1389;
33. Schäfer, C., Zacherl, C., Engel, K.H., Neidhart, S., Carle, R.: Enzymatic modification to boost vegetable protein gelling - Comparative study of gelation and cross-link formation during enzymatic texturisation of leguminous proteins, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* (Elsevier). Published on-line j.ifset. **2007**;
34. Seguro, K., Kumazawa, Y., Ohtsuka T., Toiguchi, S., Motoki, M.: Microbial transglutaminase and  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamyl) lysine cross-link effects on elastic properties of kamaboko gels, *J. Food Sci.*, **1995**, 60, 305-311;
35. Sirtori, C.R., Lovati, M.R., Manzoni, C., Gianazza, E., Bondioli, A., Staels, B., Auwerx, J.: Reduction of serum cholesterol by soybean protein's: clinical experience and potential molecular mechanisms, *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, **1998**, 8, 334–340;
36. Shen, J.L.: Solubility and viscosity In: *Protein Functionality of Foods*. ACS Symposium Series 147, Ed. J. P. Cherry. American Chemical Society, Washington, DC, **1981**, 89-109;
37. Soeda, T., Ishii, T., Yamazaki, K., Murase, K.: *Nihon-Shokuhin-Kagaku-Kogakkai-shi*, **1995**, 42, 254-261;
38. Soeda, T., Sakai, T., Toiguchi, S.: Effects of microbial transglutaminase on the texture of surimi gels prepared from various kinds of fish, *Nihon-Shokuhin-Kagaku-Kogakkai-shi*, **1996**, 43, 787-795;
39. Sumner, A.K., Nielsen, M.A., Youngs, C. G.: Production and evaluation of pea protein isolate, *Journal of Food Science*, **1981**, 46, 364-366, 372.