



Présentation de Chr. Hansen

CEFQ

Intro Chr-Hansen

15 Novembre 22

Chr. Hansen en un coup d'œil



1874

Fondée au Danemark par
Christian Hansen



+3 900

Collaborateurs



>1 milliard

d'euros (chiffre d'affaires en 2020/2021)



>1 milliard

de consommateurs utilisent un produit
contenant un ingrédient Chr. Hansen tous les
jours



40 000

souches microbiennes



+300

Partenariats académiques



3

Nos sites de production sont répartis à travers
3 continents



+30

Nous sommes
présents dans
+30 pays

Aperçu de l'activité

(2020/2021, opérations continues)



Cultures et enzymes alimentaires

65 %

Part des revenus
(701 M€)

35 %

Part des revenus
(377 M€)

Santé et nutrition



FROMAGE ET
LAIT
FERMENTÉ



VIN ET
VIANDE



PROBIOTIQUES



BASES
VÉGÉTALES
FERMENTÉES



BIO
PROTECTION



SANTÉ
HUMAINE



OLIGOSACCHARIDES
DU LAIT MATERNEL
(HMO)



SANTÉ
ANIMALE

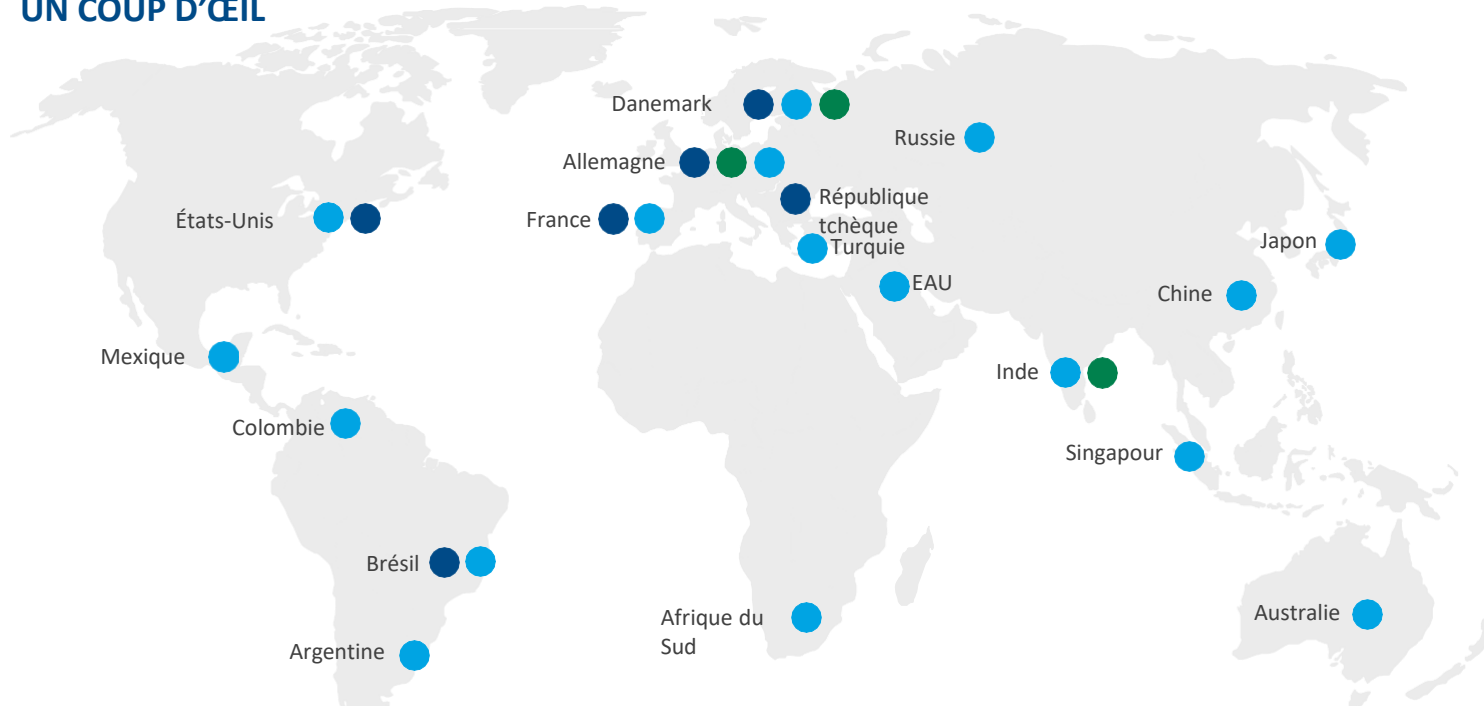


SANTÉ
VÉGÉTALE

Nous exerçons globalement

avec une installation de R&D et de production centralisée ainsi qu'un réseau global de centres d'application

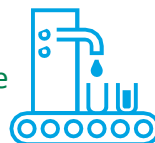
NOTRE EMPREINTE GLOBALE EN UN COUP D'ŒIL



Sites de **production** sur 3 continents

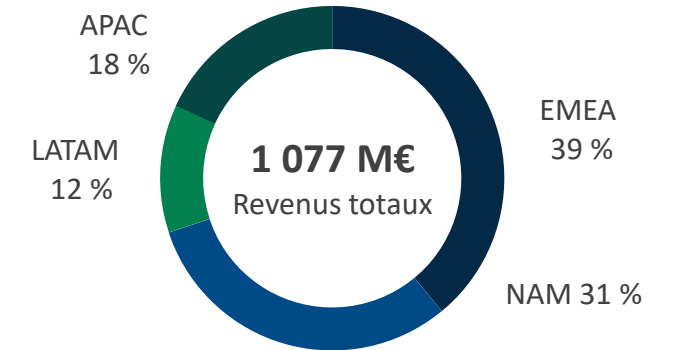


R&D regroupé au Danemark avec des plateformes en Allemagne et en Inde

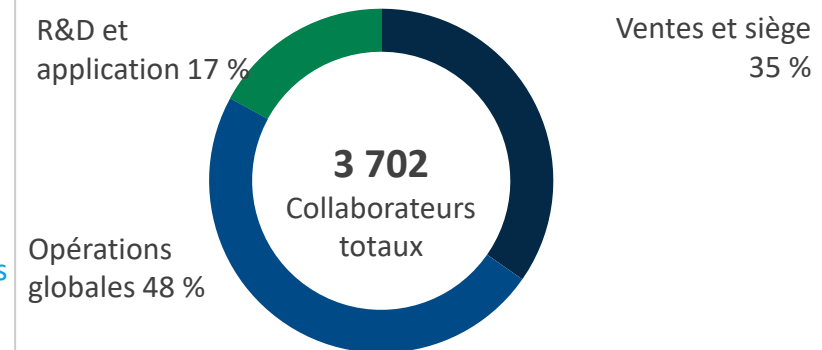


Centres d'application proches des clients sur tous les principaux marchés

REVENUS PAR RÉGION 2020/2021

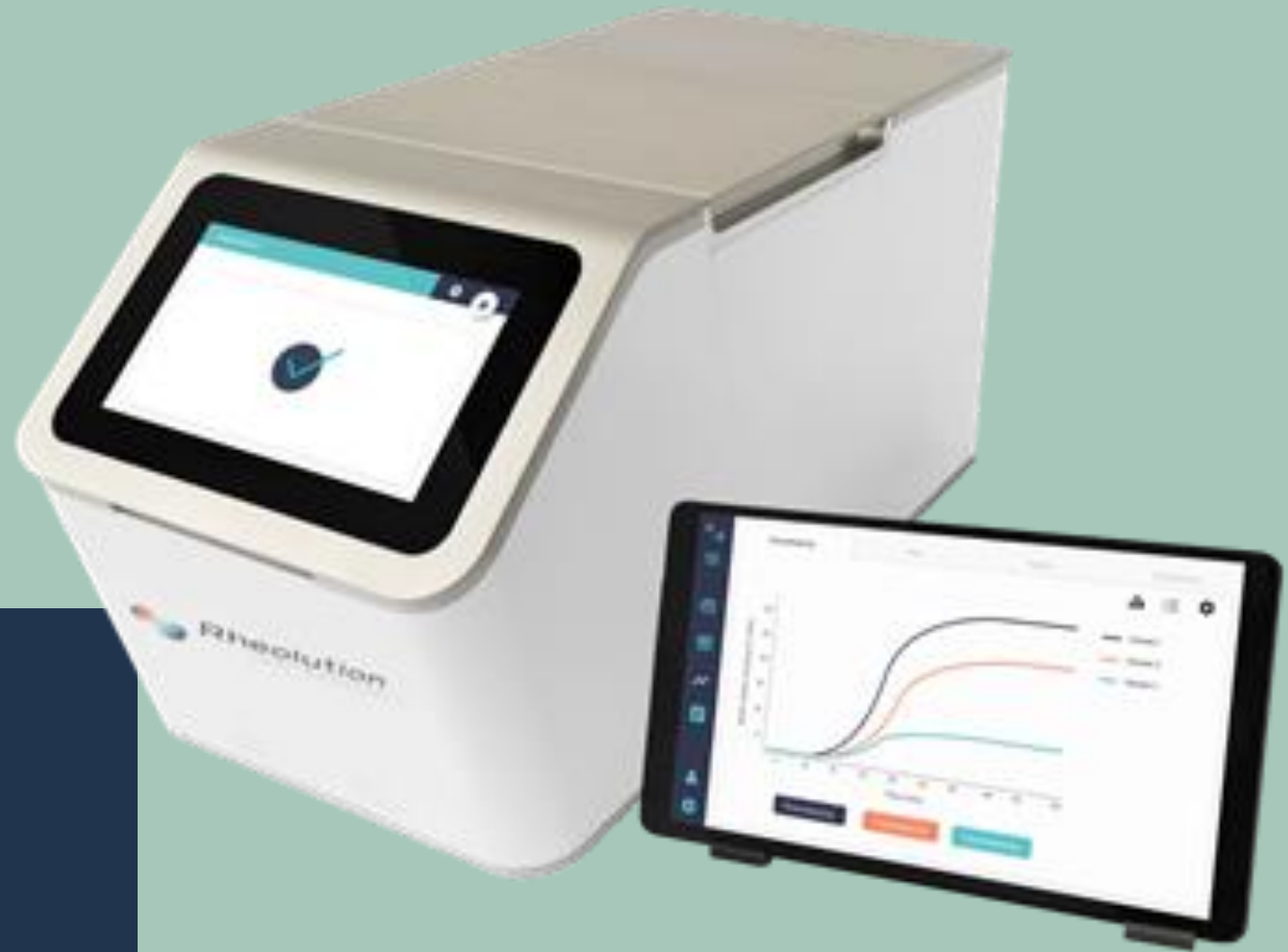


COLLABORATEURS PAR FONCTION 2020/2021



CHR HANSEN

Improving food & health



Impact de la coagulation sur les rendements fromagers : nouvelle approche par l'analyse rhéologique des gels laitiers

M.FAIVELEY- Senior Principal Scientist- Global Application

Introduction

COAGULANT



BIOCHIMIE



MESURE DE LA COAGULATION



Spécificité et mode d'action des coagulants

- Critères de choix d'un coagulant
- Impact du coagulant sur les rendements fromagers

Incidence de la préparation des laits

- Traitements thermiques
- Protéines sériques

Approche rhéologique

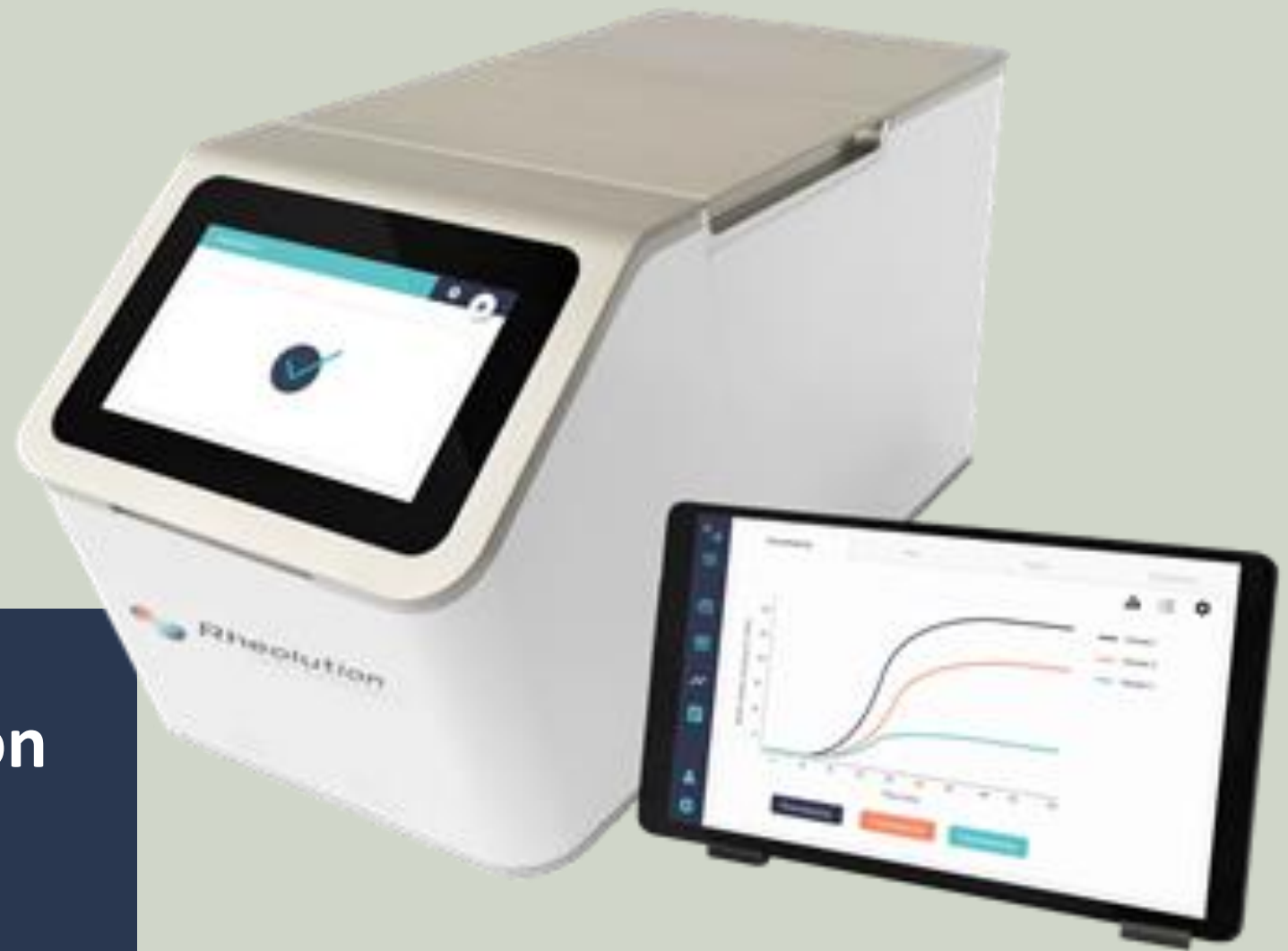
- Signification des descripteurs rhéologiques
- Optimisation

Définition des objectifs recherchés, choix du coagulant

Maîtrise de la préparation des laits

Suivi et optimisation du process

Spécificité et mode d'action des coagulants



Criteres de choix des coagulants

C/P RATIO¹

C Clotting activity²

CASÉINE

K

EFFET

- › Une spécificité plus élevée signifie des liaisons hydrophobes plus élevées et une meilleure capacité à former un réseau de caséine structuré

IMPACT

- › L'utilisation d'un coagulant avec un rapport C / P élevé entraîne un réseau de caséine plus fort avec une meilleure rétention des globules gras et protéines
- › limitation de la protéolyse

P General proteolytic activity³

α, β

- › L'activité protéolytique a un impact sur la vitesse de dégradation de la caséine

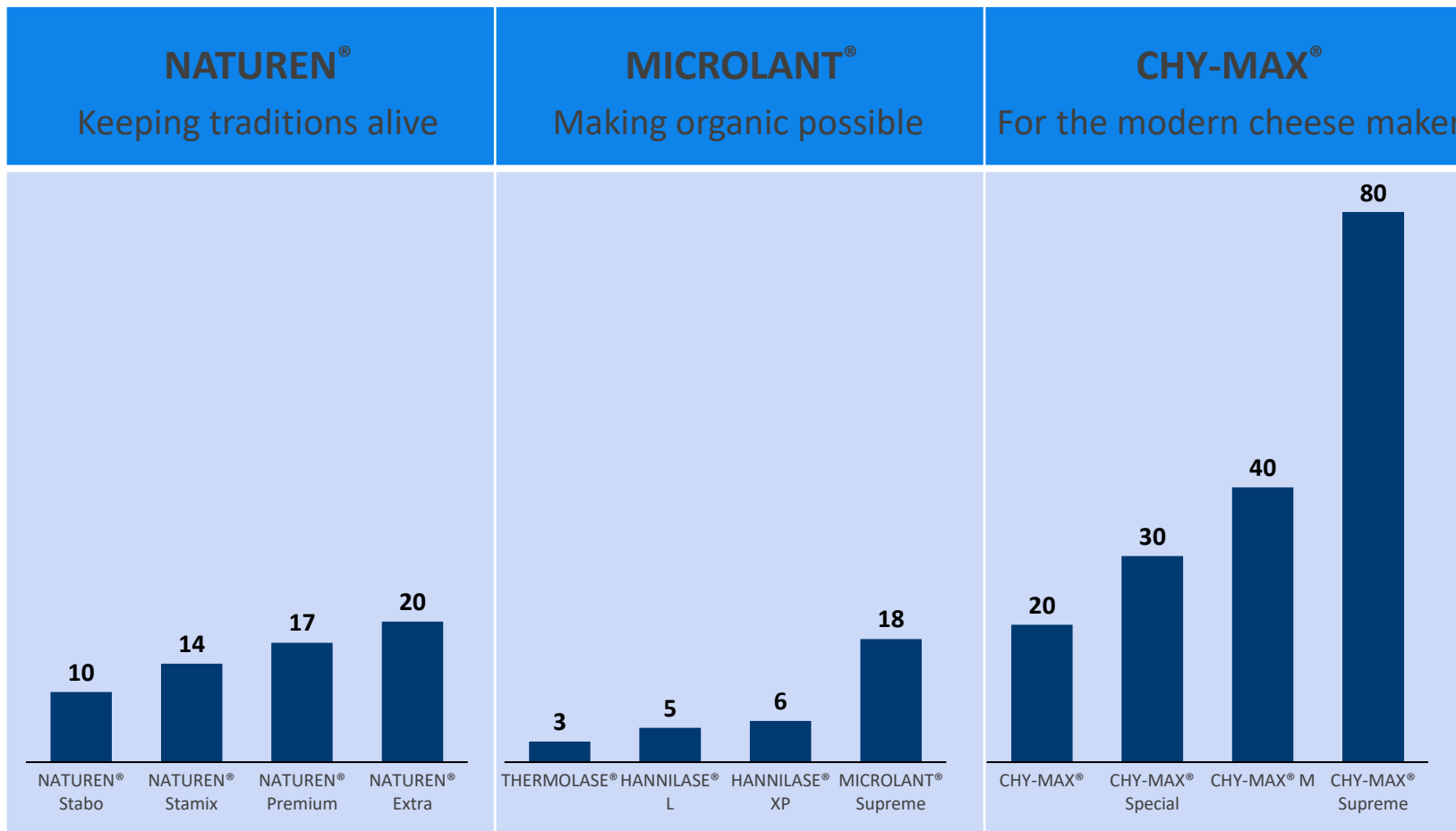
¹ C/P is the ratio between the specific clotting activity and general proteolytic activity. Reference method by E045

² Analysis method = 50 IMCU/L Milk, pH 6.5 at 32°C.

³ Internal analysis method = peptides extraction after 30 min of clotting

Performance du coagulant suivant REMCAT (test d'activité de coagulation relative du lait)

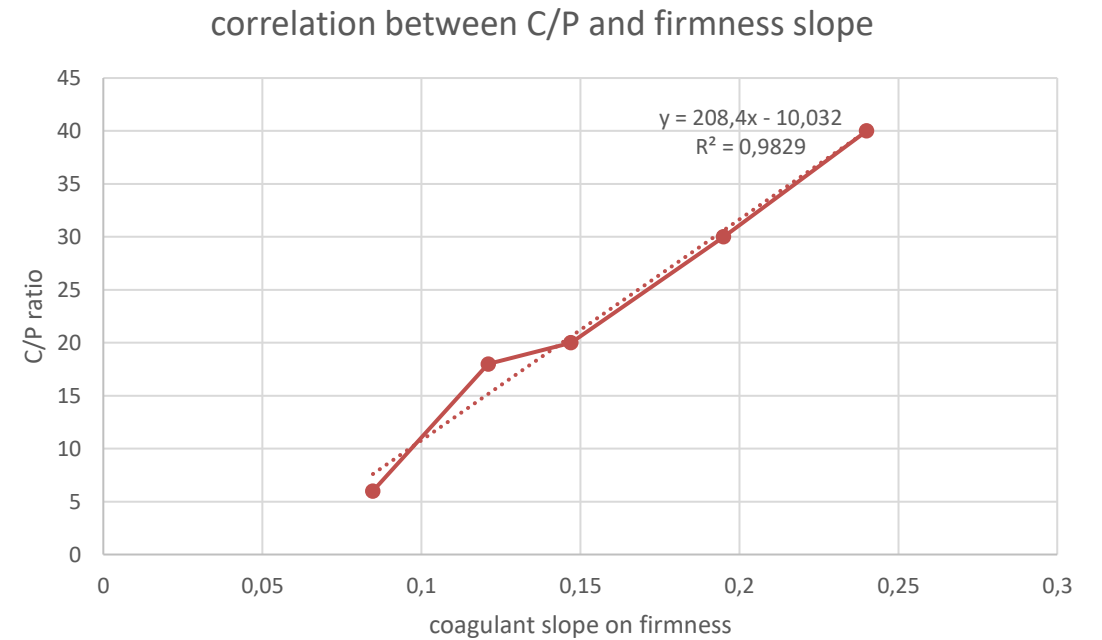
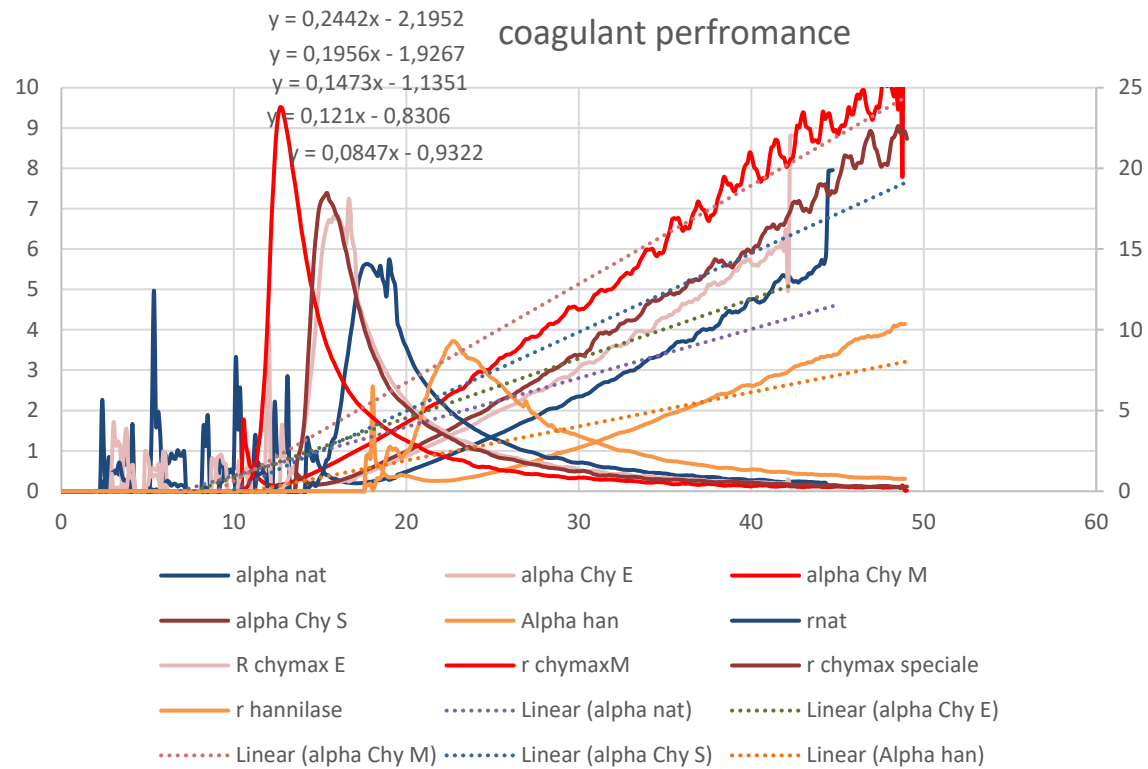
Criteres de choix des coagulants



Parameters to consider when selecting:

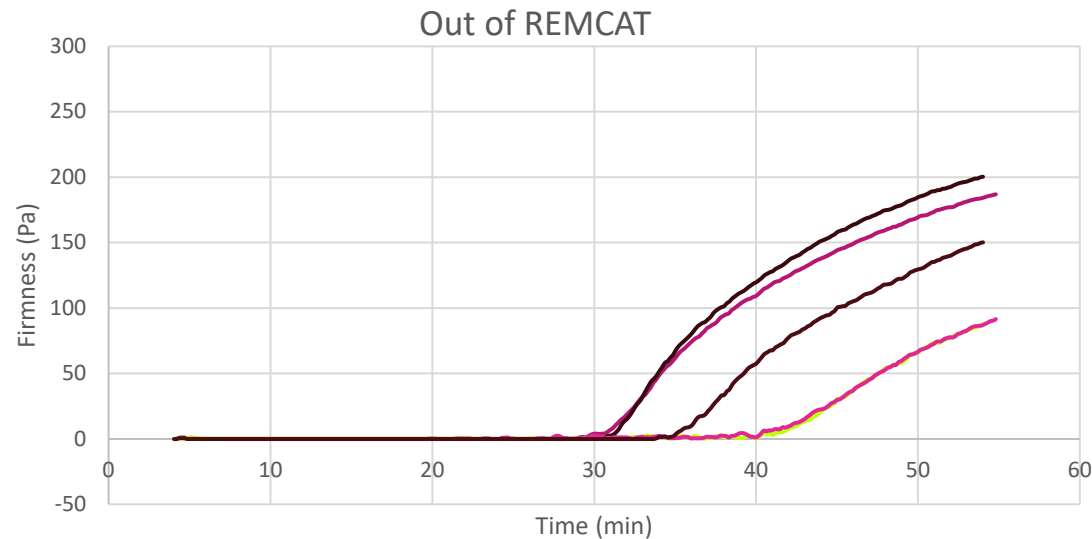
- › Plus de rendement par rapport au coût
- › Fort impact gustatif et amertume
- › Caséine intacte supérieure
- › Meilleure qualité de lactosérum

Criteres de choix des coagulants

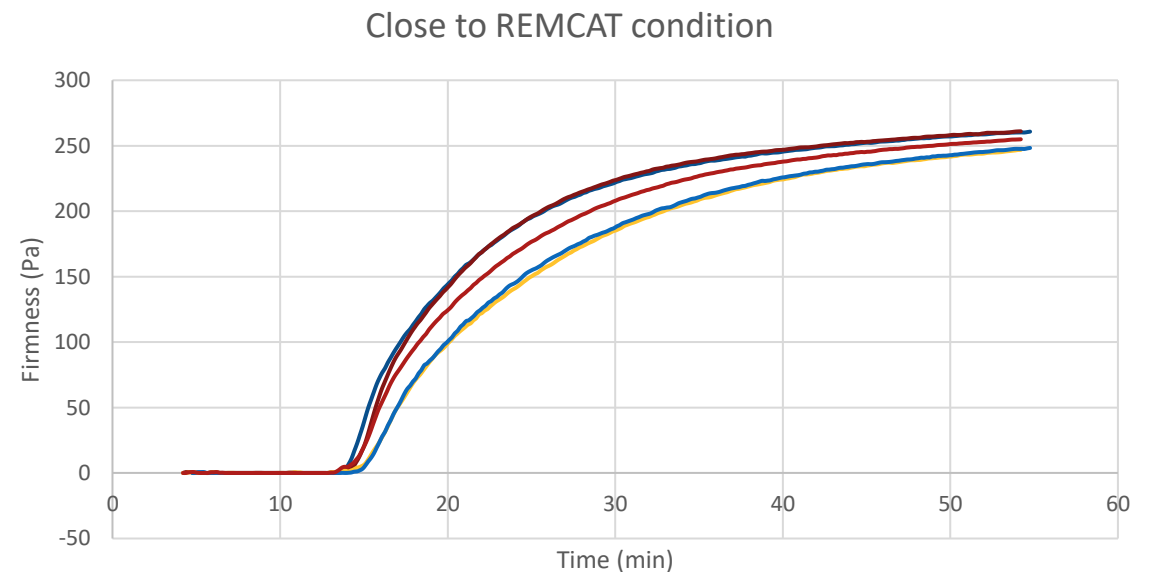


Corrélation intéressante entre le rapport C/P et la fermeté qui pourrait être liée à l'amélioration du rendement du fromage

Criteres de choix des coagulants



— Chymax MG' (Pa) — Chymax supreme G' (Pa) — Hannilase XP G' (Pa)
— Microlant supreme G' (Pa) — Naturen G' (Pa)

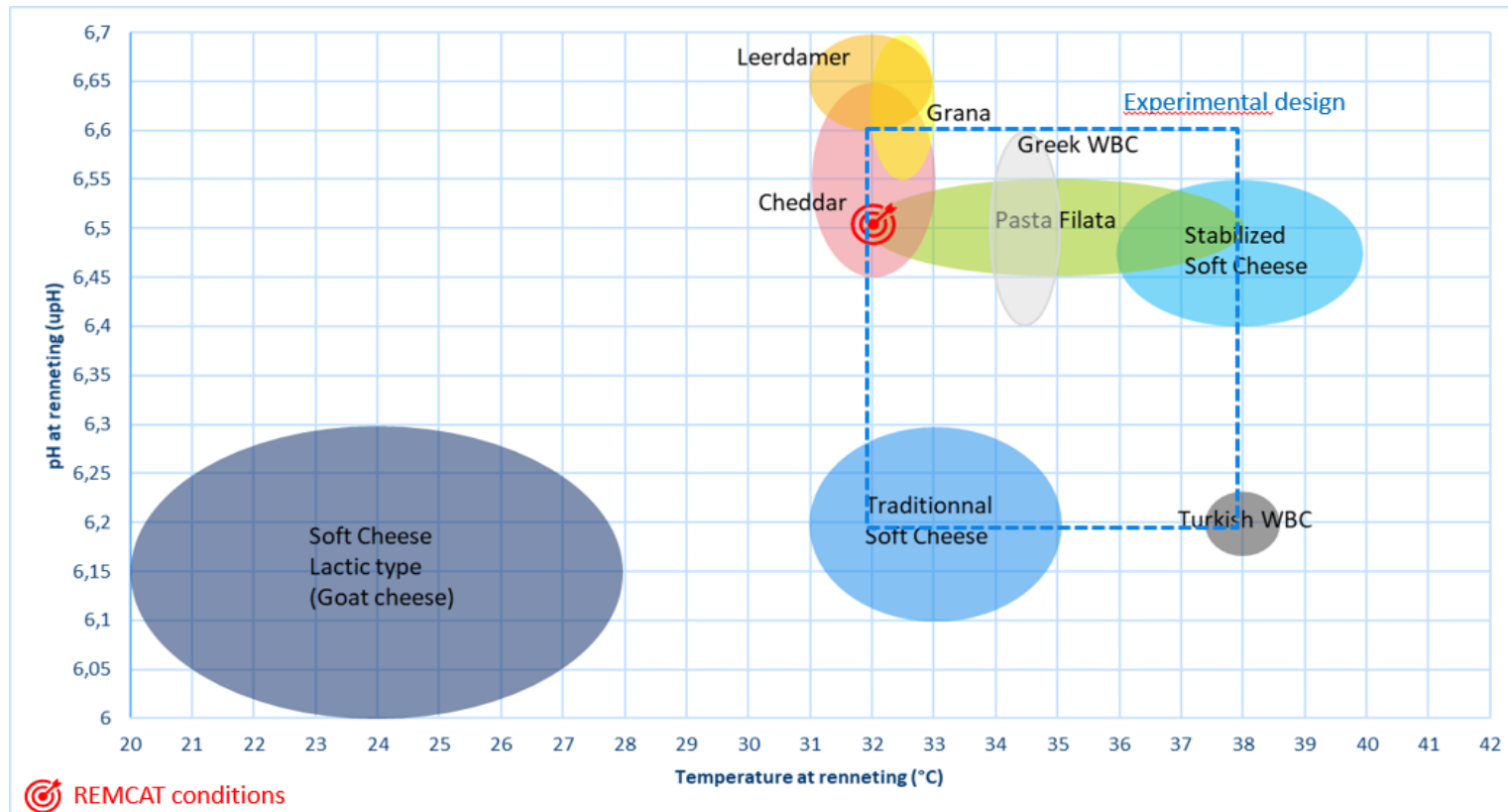


— Chymax M G' (Pa) — Chymax Supreme G' (Pa) — Hannilase G' (Pa)
— Microlant supreme G' (Pa) — Naturen G' (Pa)

La sensibilité au coagulant n'est pas la même selon le pH, le T°C, le calcium. L'activité protéolytique a été qualifiée par la REMCAT, mais en dehors de la REMCAT, la performance du coagulant peut être extrêmement différente.

Criteres de choix des coagulants

REMCAT et l'univers fromager



REMCAT (Relative Milk-Clotting Activity Test)

Rapport C/P calculé dans des conditions spécifiques

› Quelles sont les sensibilités des coagulants pour explorer de nouvelles opportunités...?

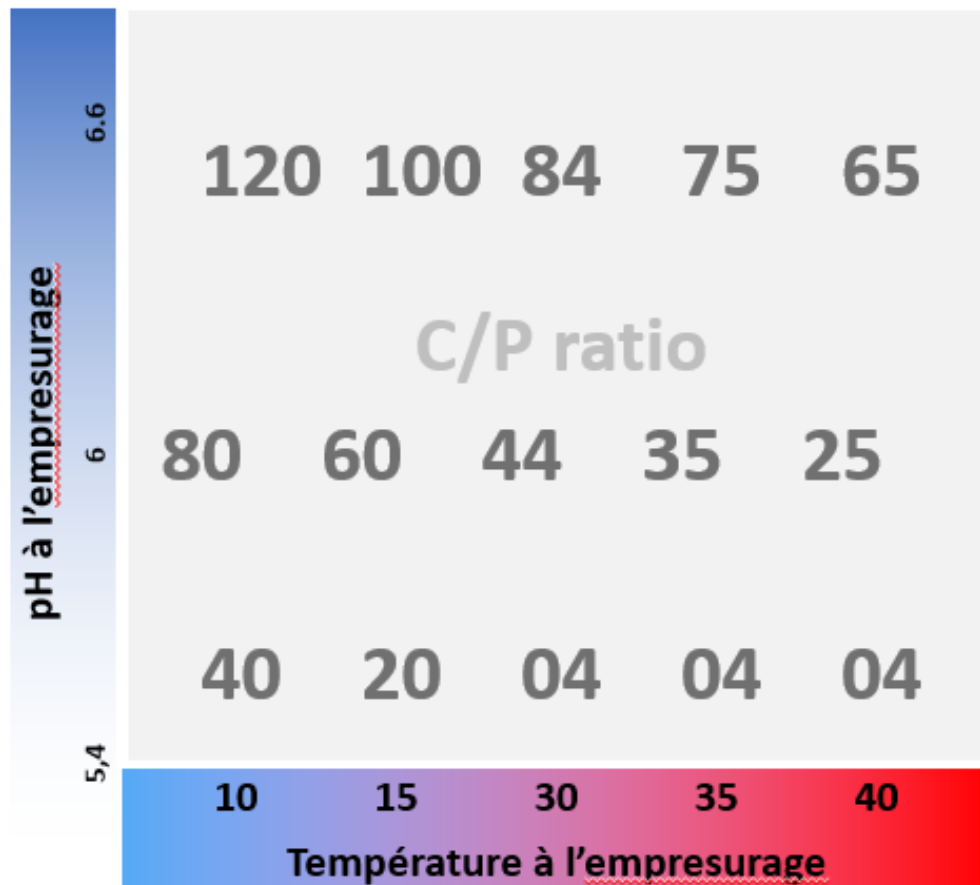
›

CHR HANSEN

Improving food & health

Criteres de choix des coagulants

Estimation dU C/P RATIO en fonction du pH et de la temperature

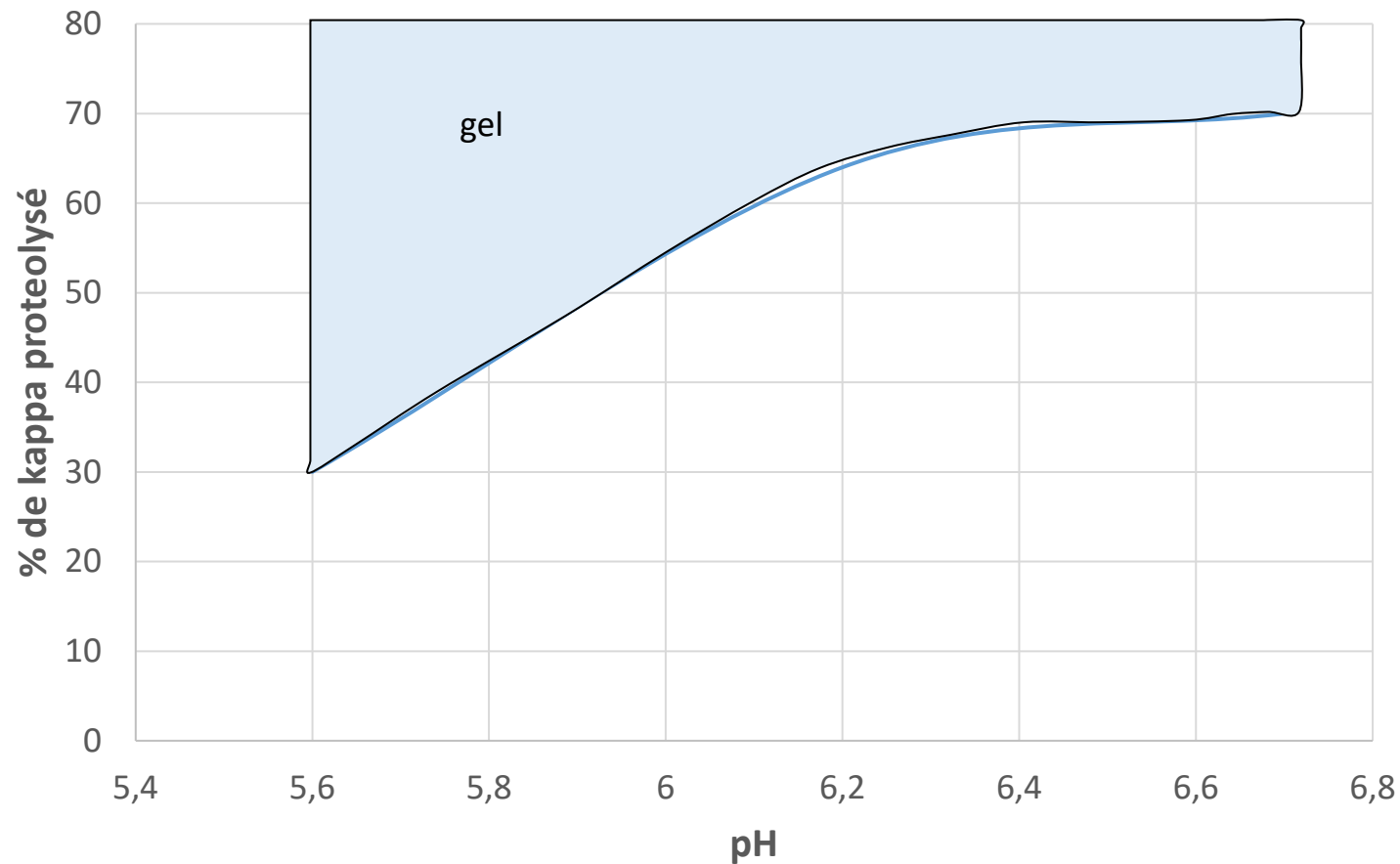


CHY-MAX[®] supreme extrêmement spécifique à T°C plus bas et pH plus élevé.

En général, plus nous utilisons un coagulant avec un rapport C/P élevé, plus nous avons un effet T°C et pH lorsque nous travaillons en dehors de la REMCAT.

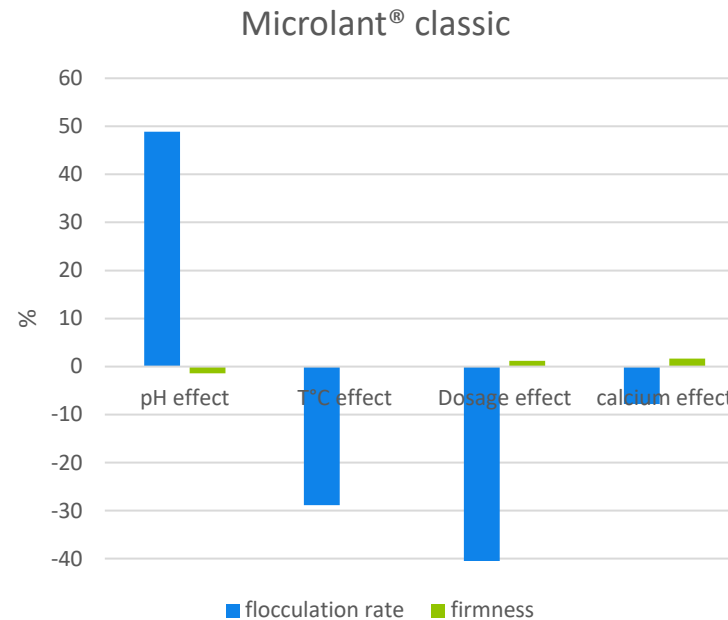
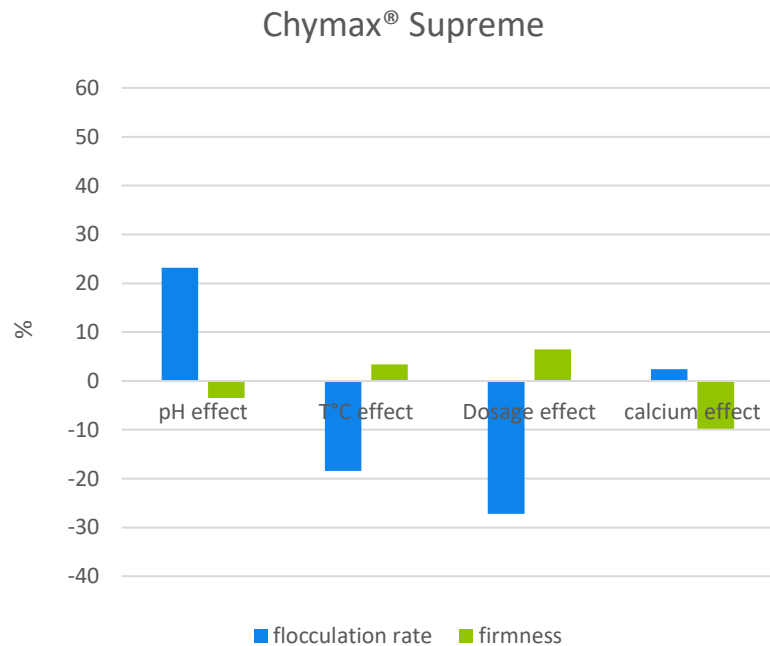
Cirteres de choix des coagulants

% de kappa proteolysé en fonction du pH



*La proteolyse de Kappa est impactée par le calcium soluble et le pH :
Le pH optimal est de 5,5 pour la chymosine
Le pH optimal est de 3 pour le coagulant microbien
La floculation est principalement entraînée par le potentiel zêta quel que soit le type de coagulant*

Criteres de choix des coagulants



Mode d'action différent en fonction du type de protéase (chymosine ou mucor protéase) et de la partie prosthétique de l'enzyme (hydrophobicité/conformation...)

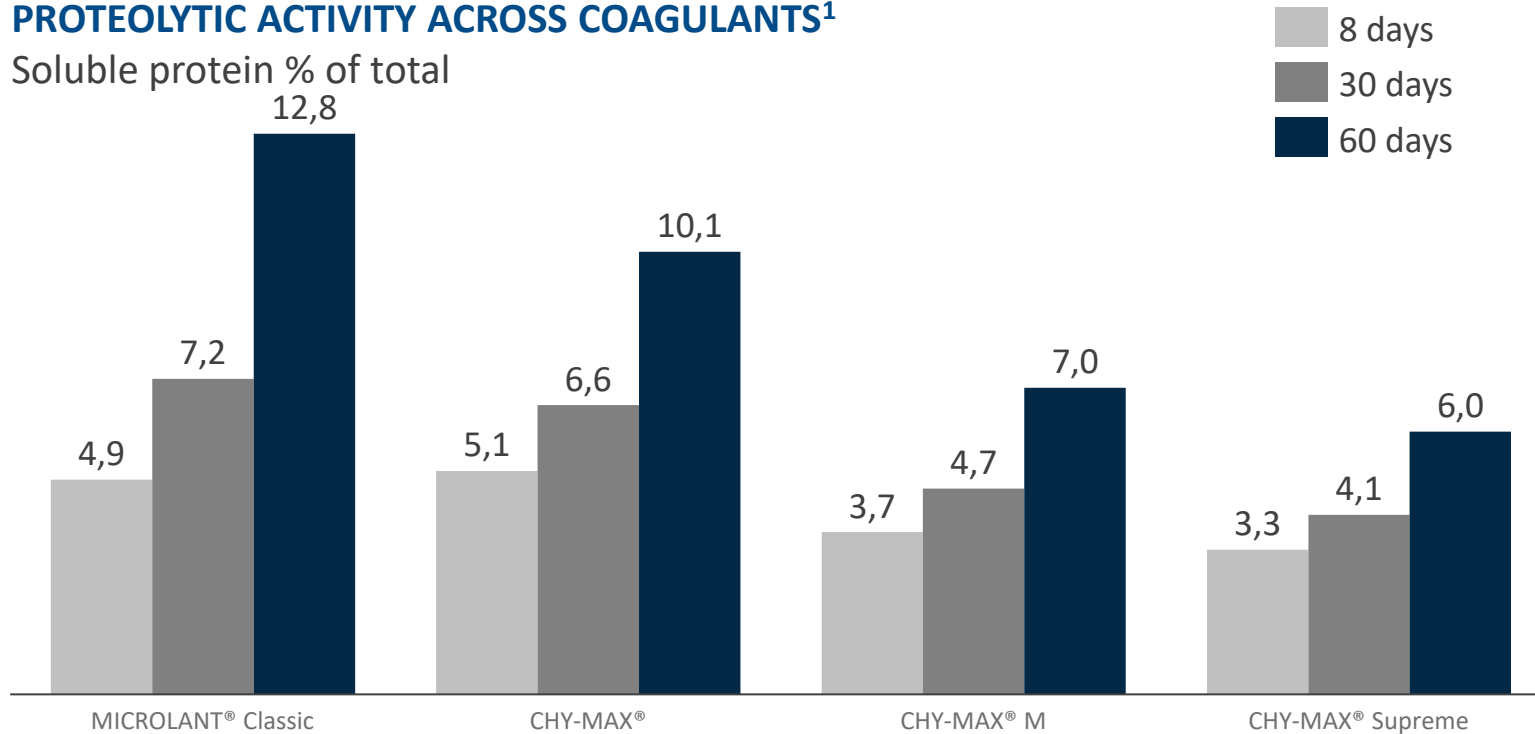
vue d'ensemble par coagulant- % de l'écart pour le pH de 6,6 à 6,2; pour T°C de 38°C à 32°C; pour une posologie de 1IMCU/g de protéines à 0,7 IMCU/g de protéines ; pour le chlorure de calcium de 75 ppm à 150 ppm

Criteres de choix des coagulants

Exemple pour le fromage Pasta Filata

PROTEOLYTIC ACTIVITY ACROSS COAGULANTS¹

Soluble protein % of total

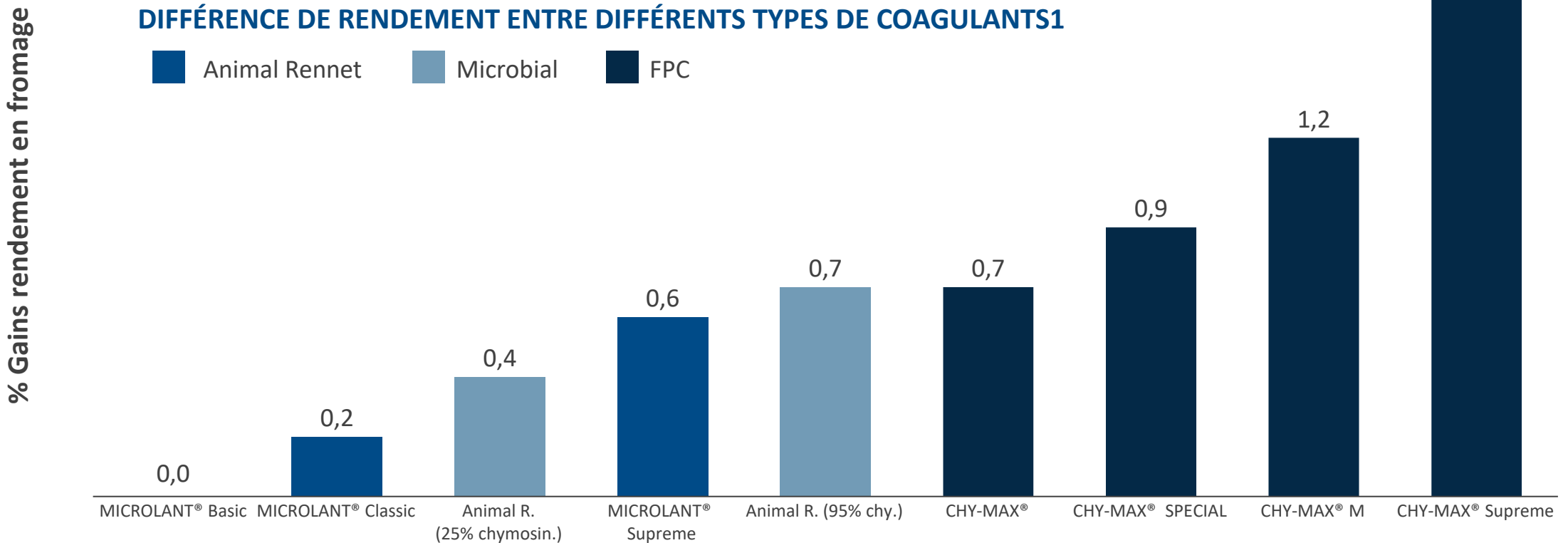


- Déterminez la fonctionnalité souhaitée du fromage final avant de choisir le coagulant, car cela a une influence sur la dégradation des caséines, c'est-à-dire la fonctionnalité, y compris la texture du fromage.
- Si par exemple. L'aptitude de tranchage et de râpage sont recherchés, il faut minimiser la protéolyse .

¹ Trials in Chr. Hansen's facility.

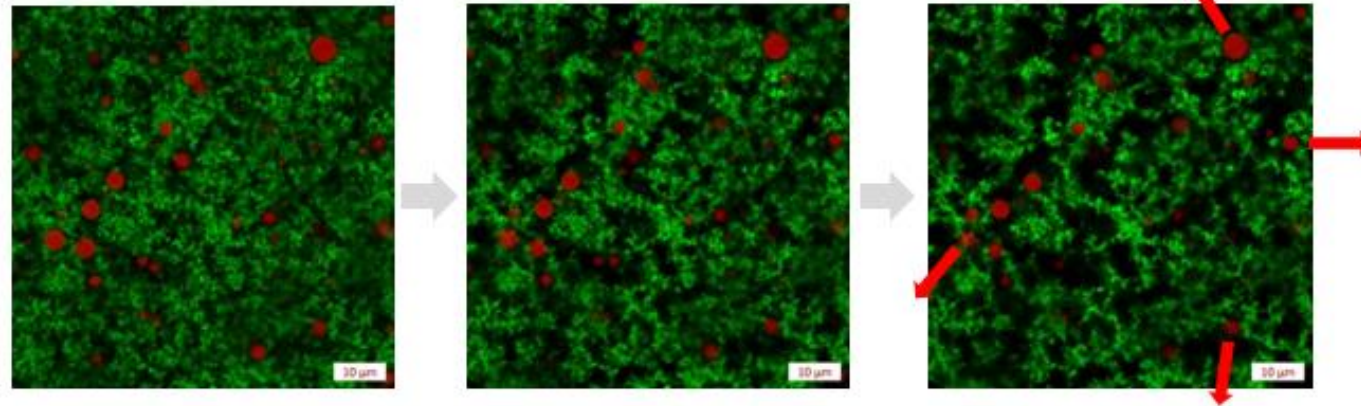
Impact des coagulants sur les rendements

CHY-MAX[®] Supreme surpasse tous les autres coagulants du le marché par rapport à l'amélioration des rendements



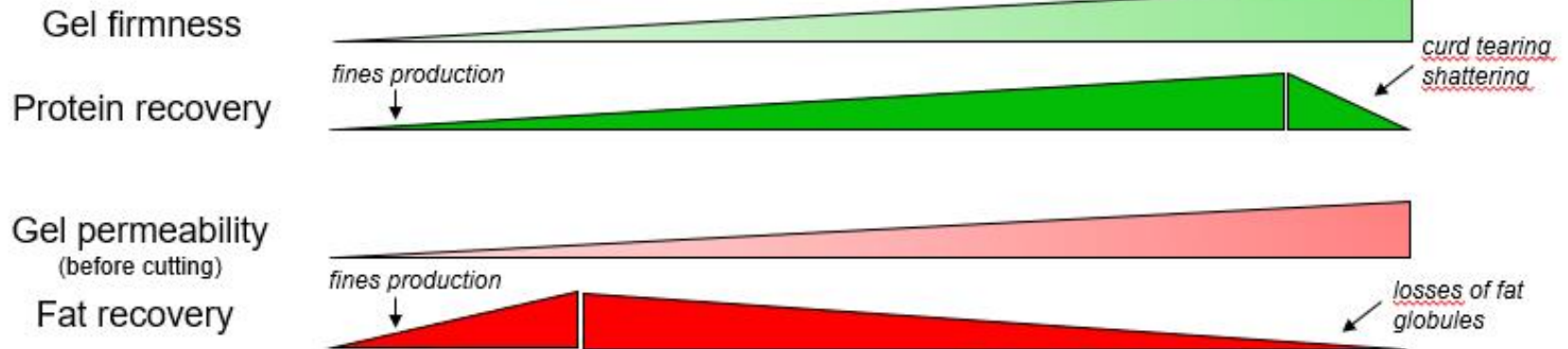
¹ Average moisture-adjusted cheese yield across coagulant ranges. Yield difference may vary between cheese types, processes, milk quality.

Impact des coagulants sur les rendements



- Enzymatic gel = filled gel
 - Fat = inert filler
 - Size distribution (x ~ 4 μm)

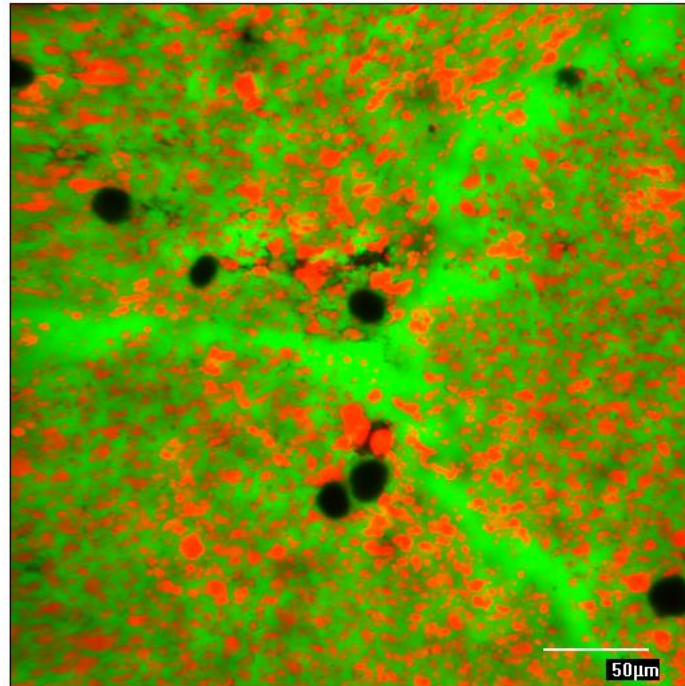
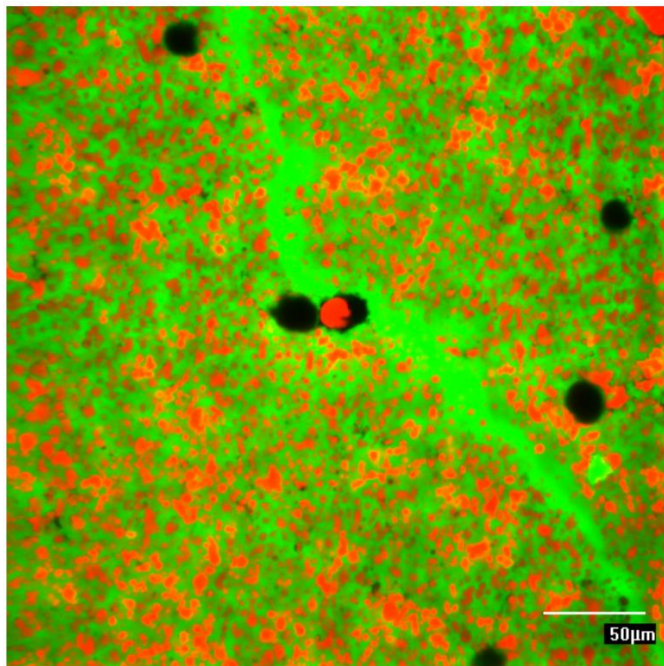
- Gel permeability ↔ Fat retention



Ona et al., 2015 Johnson et al., 2001

Impact des coagulants sur les rendements

Microscopie confocale



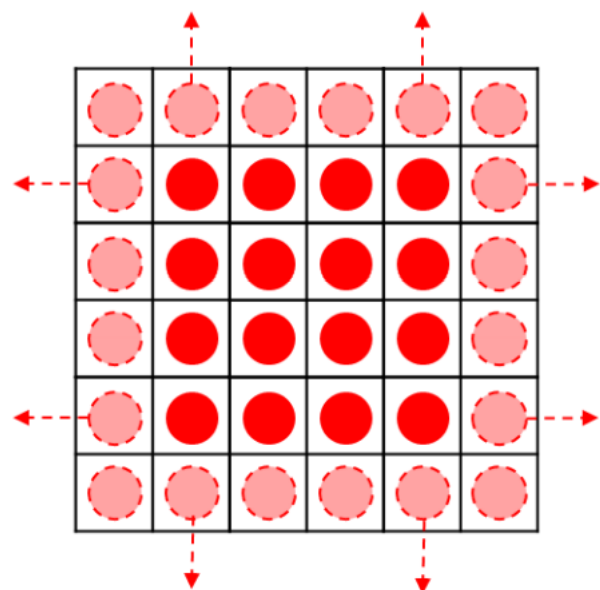
Notes:

- En rouge sont colorés les globules gras et le vert est des protéines de gauche à droite, nous pouvons voir la jonction de grains de caillé
-

Les fines ou l'hétérogénéité de la taille des grains sont des facteurs clés pour augmenter les pertes en matières grasses dans le lactosérum. La surface / volume augmente les pertes de graisse à la surface du grain.

Impact des coagulants sur les rendements

Consistance granulométrique



Pertes de graisse à la surface du grain

N	Grain size		
	1	2	5
5	0.17	0.08	0.03
10	0.33	0.17	0.07
30	1.00	0.50	0.20

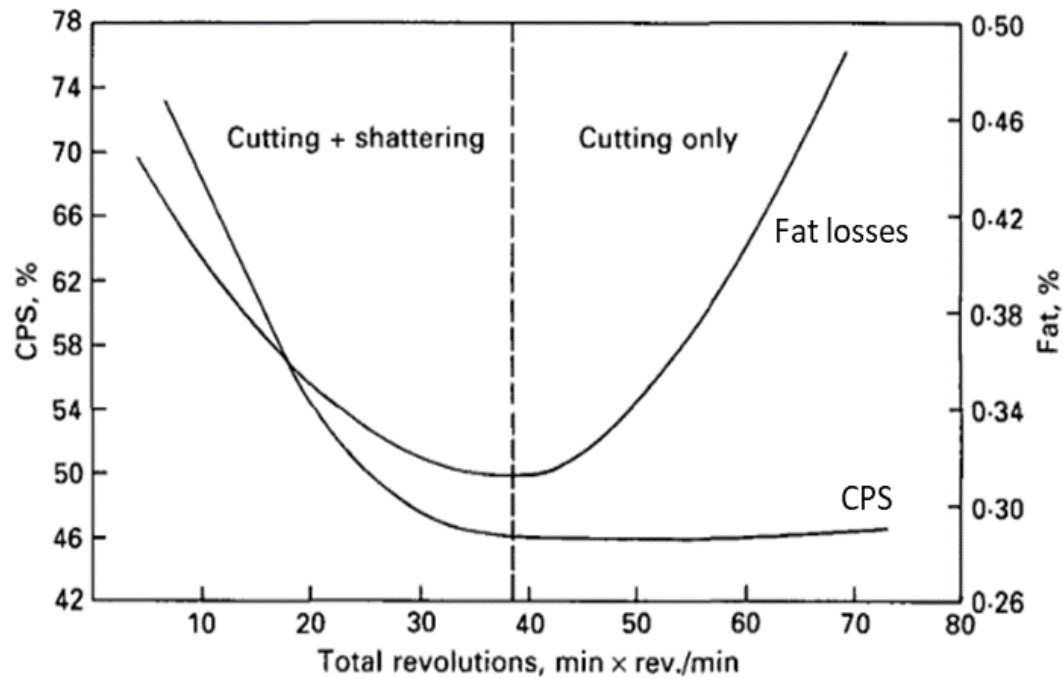
Teneur en matières grasses (g/kg) pour 110 kg de lactosérum

Notes:

- **Importance du T°C et des contraintes mécaniques lors de la fabrication du fromage**
-

Impact des coagulants sur les rendements

Contrainte mécanique



Notes:

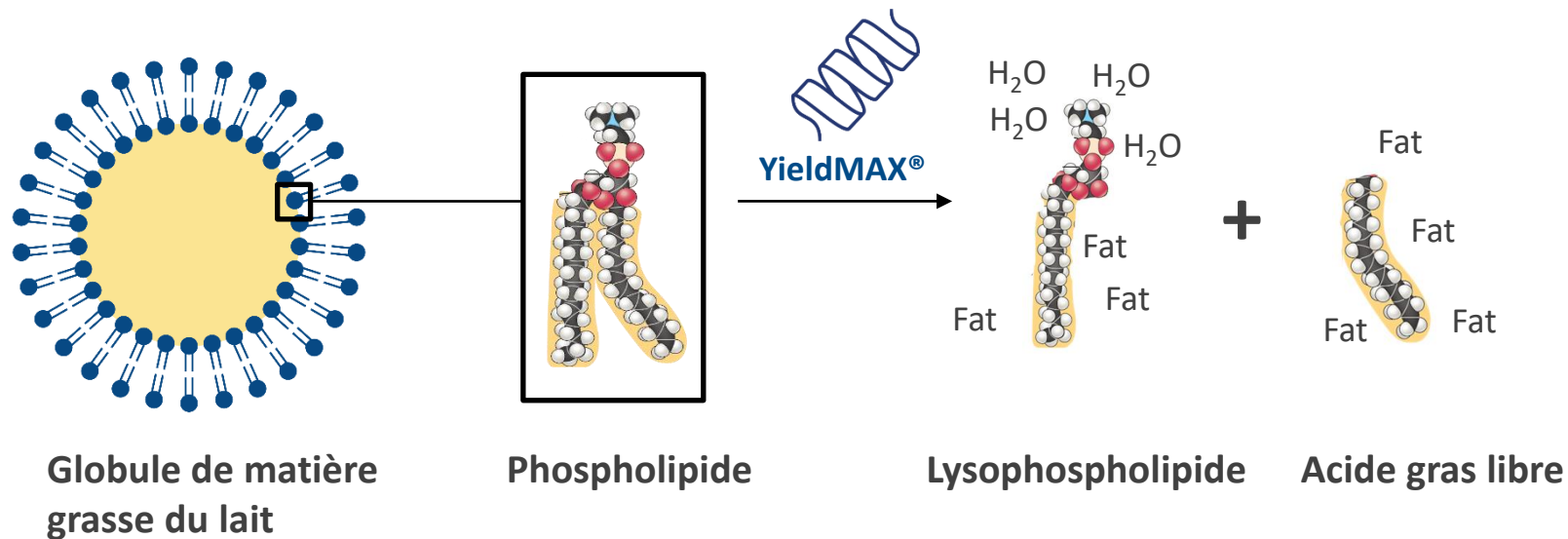
- Impact de la taille des grains de caillé sur les pertes de graisse
-

Effet de la vitesse et de la durée de coupe sur le pourcentage cumulé de particules de caillé de taille $< 7-5$ mm (% CPS) et les pertes de graisse (%) dans le lactosérum. D'après Johnston et coll. (1991)

Globules gras et rétention

YieldMAX[®] est une solution standardisée d'une Fusarium venenatum phospholipase A1 produite par fermentation submergée avec une souche d'Aspergillus oryzae.

Il agit en hydrolysant les liaisons esters en lysophospholipides et en acides gras libres



AUGMENTE LES PROPRIÉTÉS D'ÉMULSIFICATION

L'augmentation de la rétention d'eau et de graisse dans le caillé entraîne un rendement en fromage plus élevé

L'augmentation de l'humidité retenue dans le fromage n'affecte pas la durée de conservation

RÉDUIT LA COALESCENCE DES GLOBULES GRAS

Moins de pertes de MG pendant le lavage se traduit par une amélioration de la texture

Globules gras et rétention

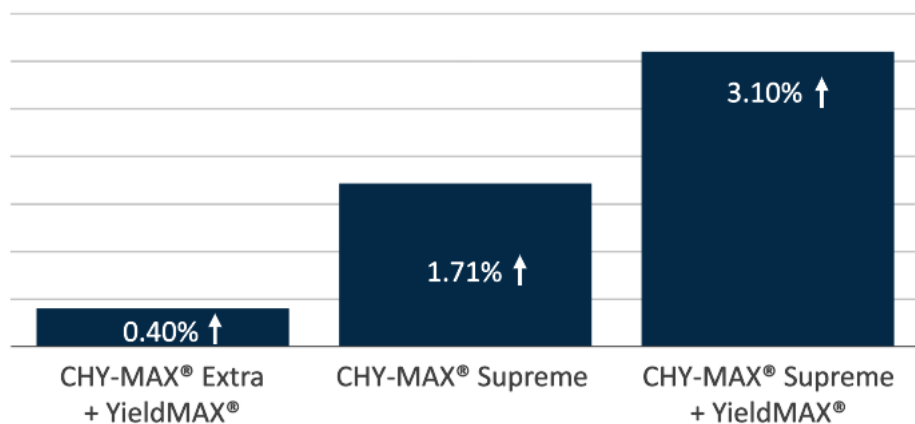
Yield max concept:

Combining YieldMAX® with CHY-MAX® Supreme is ideal for obtaining maximum yield performance in cheddar

The high C/P ratio of CHY-MAX® Supreme ensures the best performance of YieldMAX®

MACY/% FAT+ PROTEIN IN MILK (BASELINE CHY-MAX® EXTRA)

% extra yield

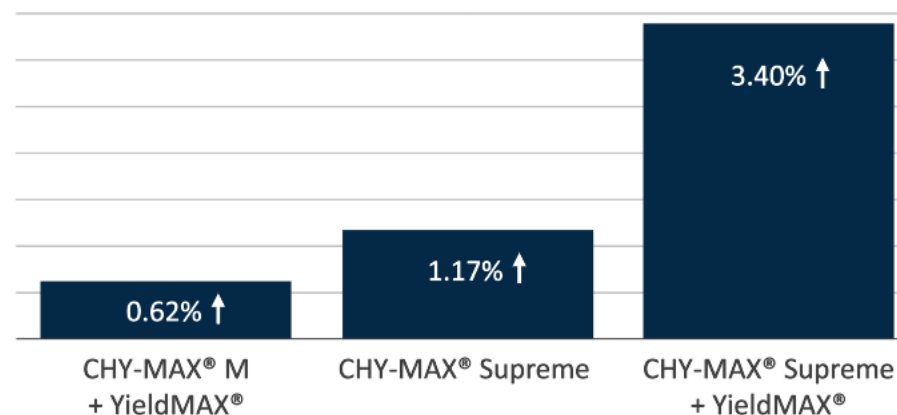


Combining YieldMAX® with CHY-MAX® Supreme is ideal for obtaining maximum yield performance in pasta filata

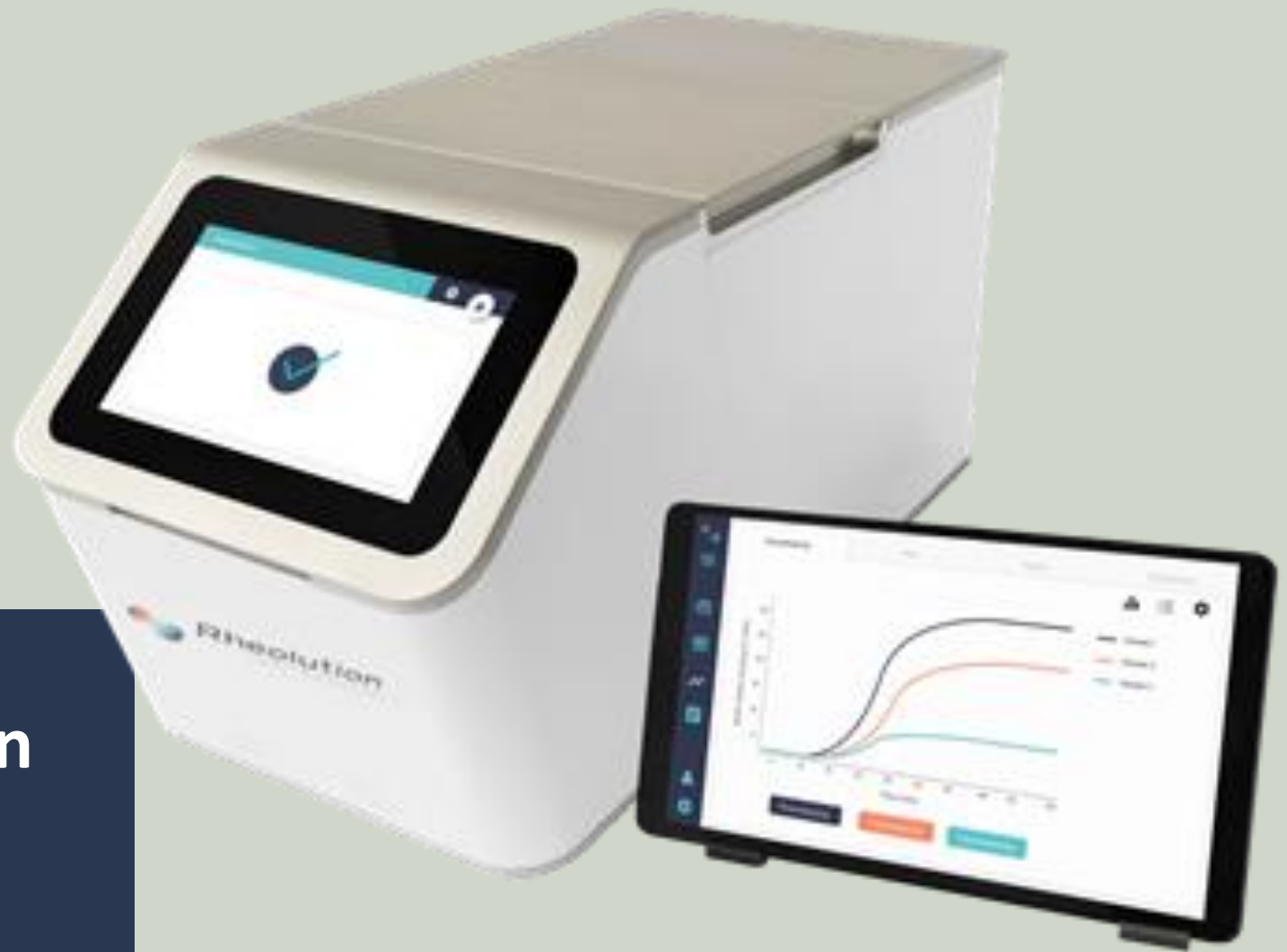
The high C/P ratio of CHY-MAX® Supreme ensures the best performance of YieldMAX®

MACY/% FAT+ PROTEIN IN MILK (BASELINE CHY-MAX® M)

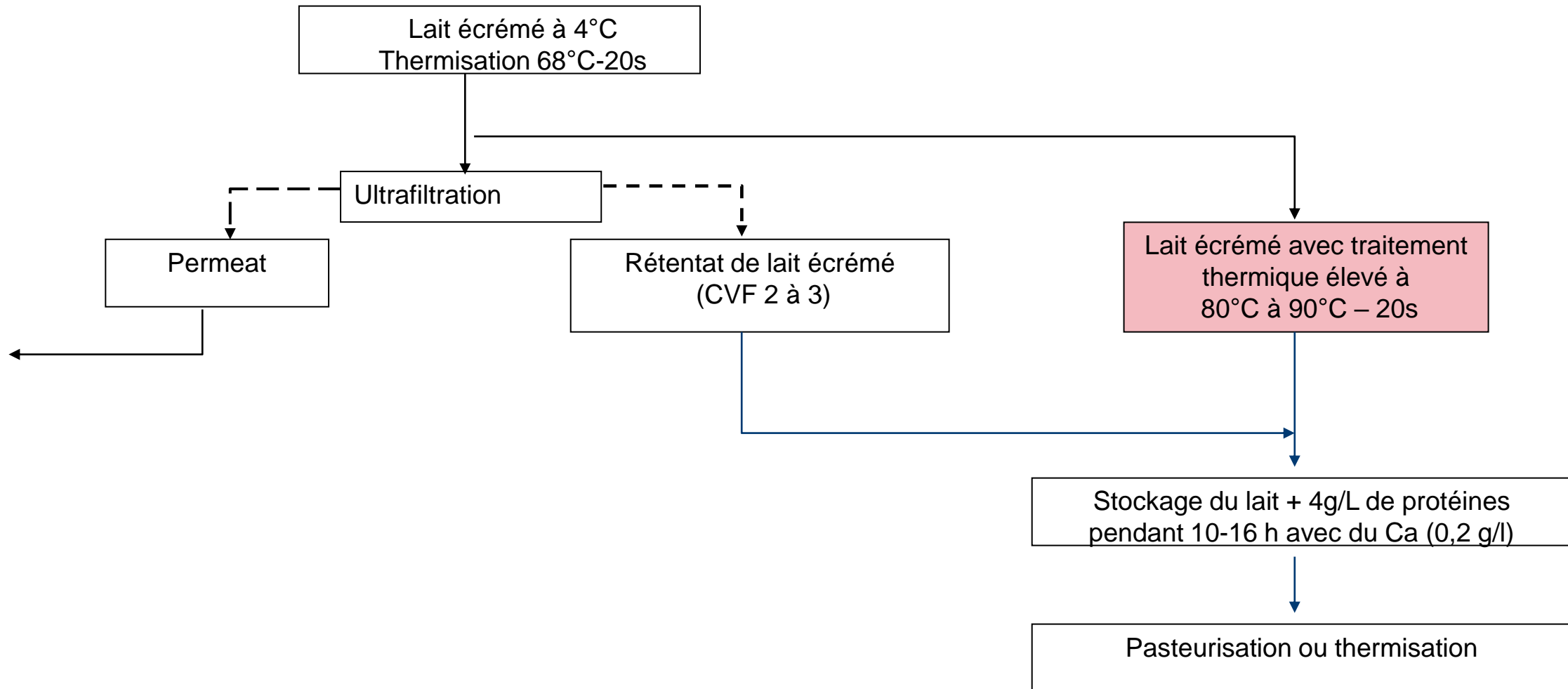
% extra yield



Incidence de la preparation des laits



Incidence de la préparation des laits



Incidence preparation des laits

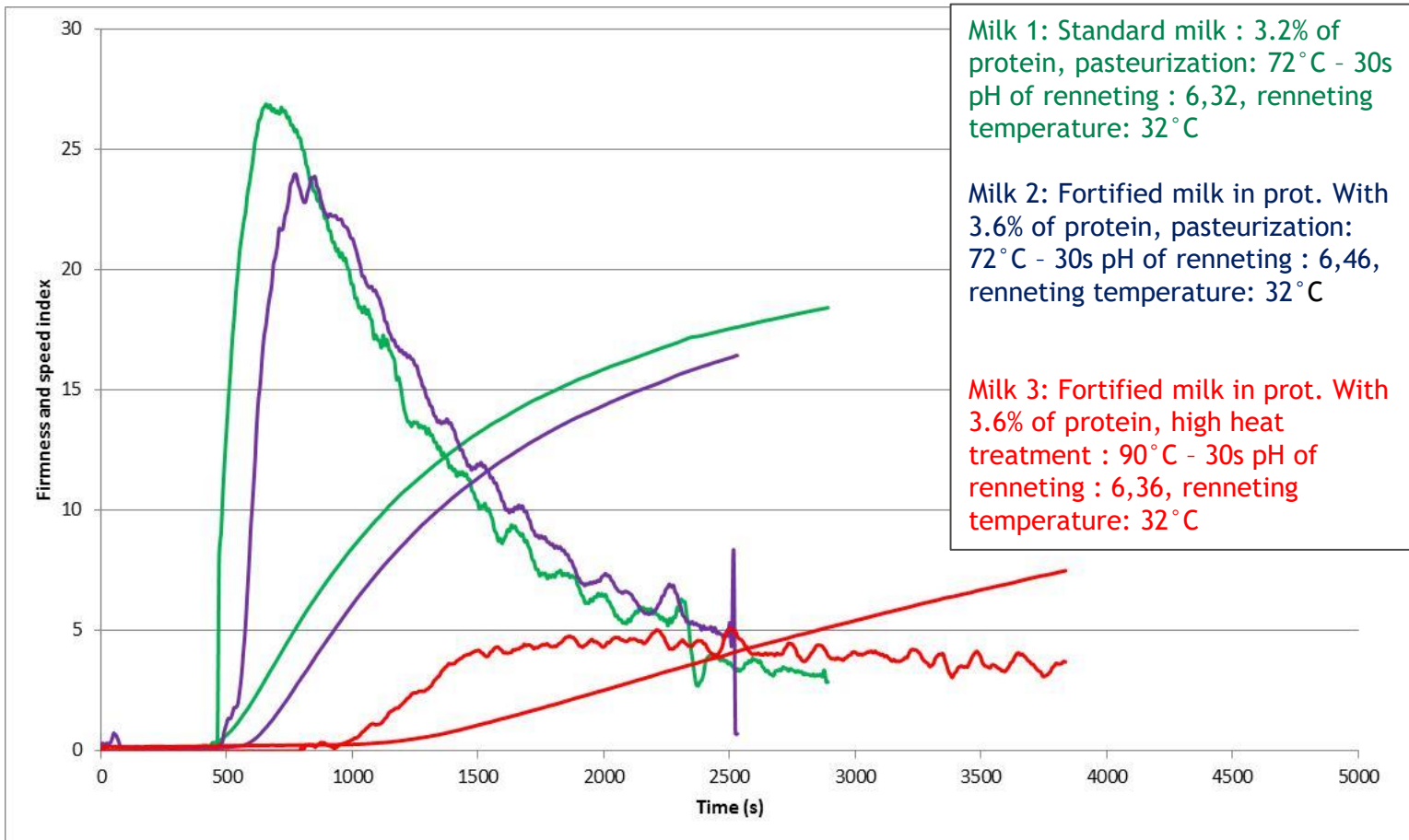
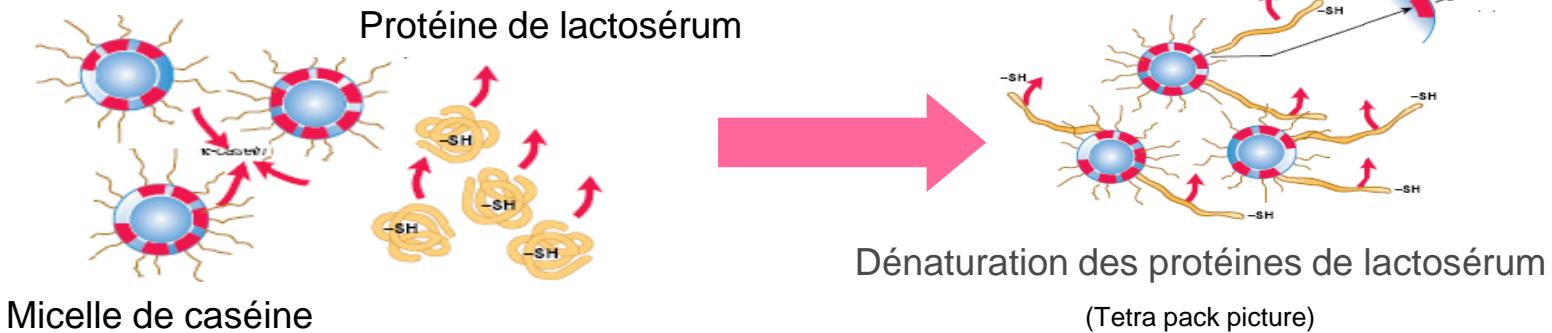


Table II. Key advantages and drawbacks of the three approaches presented in this review that use heat-denatured whey proteins in order to increase cheese yield. RCT: rennet coagulation time, WP: whey proteins, ○: casein micelles, ●: whey protein, ◊: κ-casein and * : "particulated" whey proteins.

Method applied to the milk	Representation of the dairy system	Advantages	Drawbacks
Heat-treatment at natural pH		<ul style="list-style-type: none"> – Increased cheese yield [10, 72, 93, 142] 	<ul style="list-style-type: none"> – Increased RCT and decreased curd fusion due to the coating of the casein micelles by WP [114, 120, 164] – Crumbly, soft texture of the curd [10, 12, 60, 102] – Poor melting properties [10, 12, 64] – Changes in proteolysis and flavour profile [14–16, 58, 74]
Addition of "particulated" whey protein		<ul style="list-style-type: none"> – Minimal increase of the RCT [48, 96] – Fat substitute [96, 125] – Increased cheese yield [96, 107] 	<ul style="list-style-type: none"> – Decreased gel firming rate and final strength due to the decrease of the concentration of casein [48, 149, 150] – Crumbly, soft texture of the curd [48, 96] – Poor melting properties [107]
Heat-treatment at alkaline pH		<ul style="list-style-type: none"> – Heat-denatured WP in the serum phase rather than on micelles [4–6, 57, 117, 139–141, 156] – Decreased RCT on combination with pH-cycling [71, 142] – Increased cheese yield [12, 72] – Reduced flavour and texture drawbacks of milk heated at natural pH [12] 	<ul style="list-style-type: none"> – Inhibited primary phase of renneting [89] and increased RCT [154] – Crumbly, soft texture of the curd [12]

Incidence preparation des laits

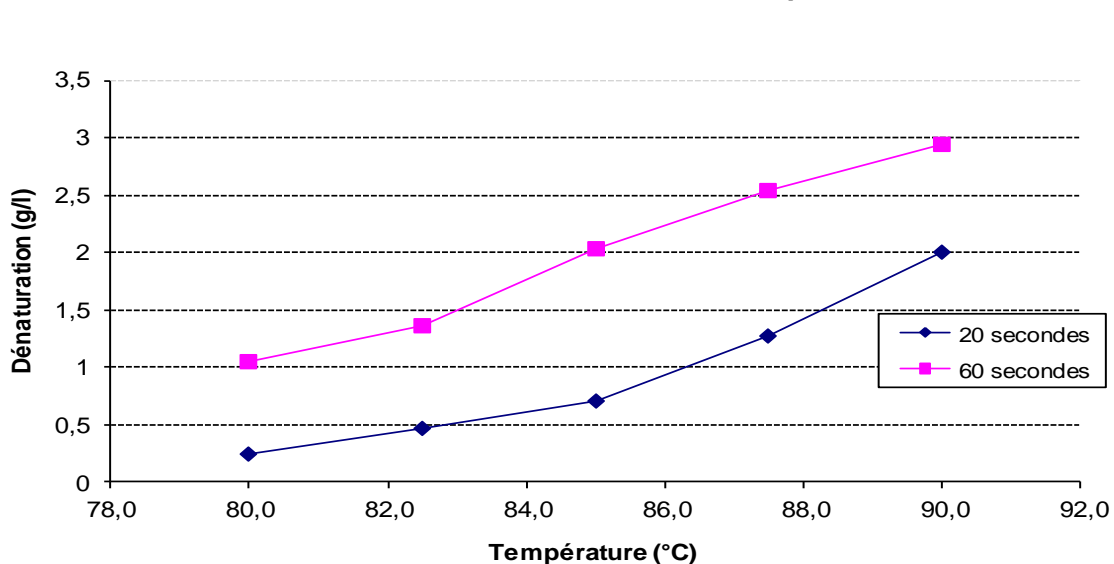
Sous effet de chaleur (au-dessus de 72°C), certaines protéines de lactosérum sont dénaturées :



Le traitement thermique dénature la protéine de lactosérum, mais pas seulement :

- Sécurité alimentaire
- Diminuer l'aptitude à la coagulation et la synérèse
- Réduire la quantité de calcium colloïdal
- Meilleure rétention d'eau dans le fromage (égouttage limité)

Dénaturation des protéines sériques sur lait (exprimée en g/l) en fonction du traitement thermique



Dénaturation : 1 à 3 g/l, mais avec des modifications technologiques :

- augmentation de la température et travail mécanique en cuve pour donner à la technologie un caractère plus présure,
- et pour 1 g de protéines de lactosérum dénaturées, une augmentation de 2 g de caséine par rétentat ou MPC peut aider à corriger le comportement de coagulation

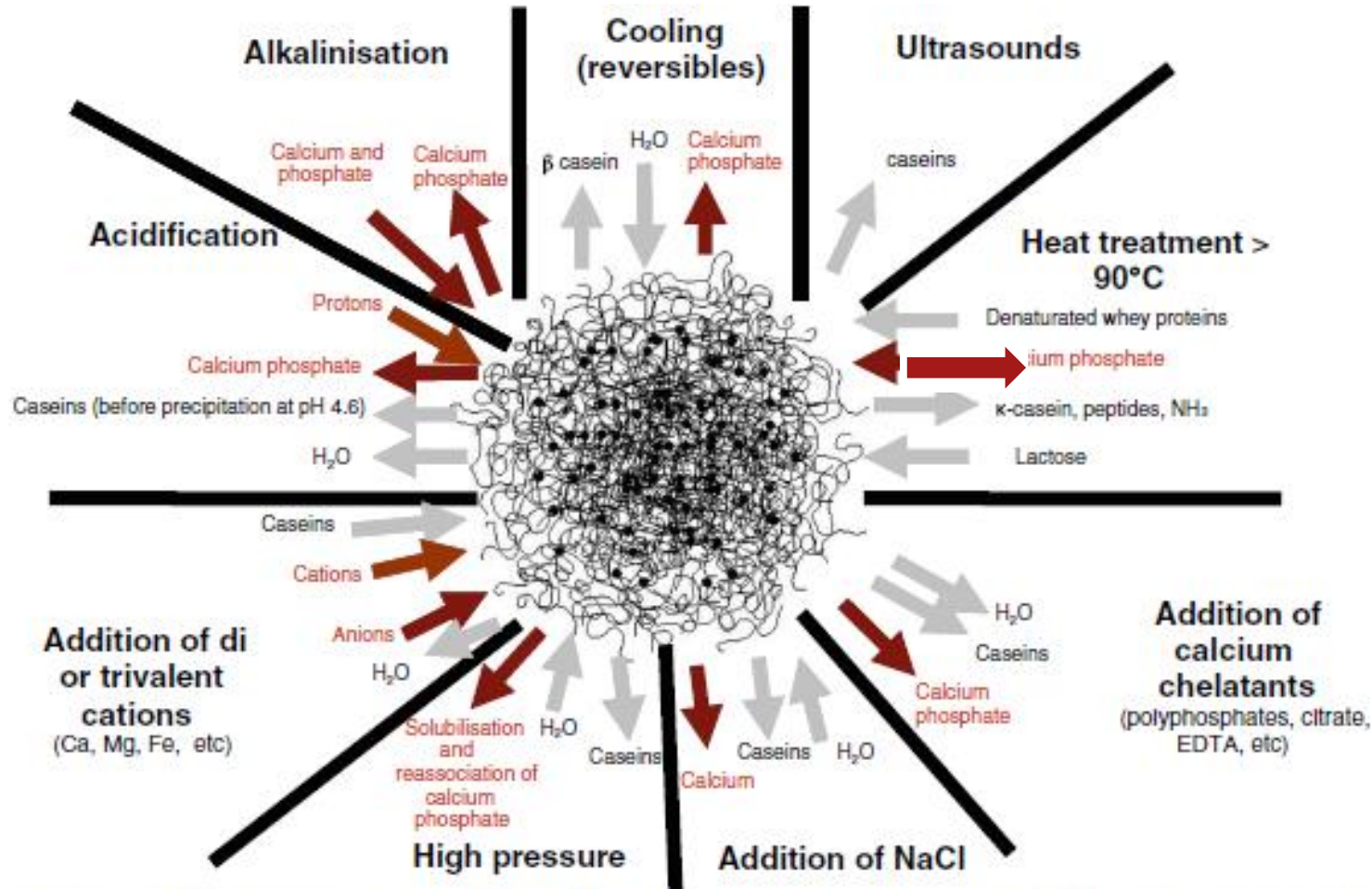
➔ Corrections techniques

CHR HANSEN

Improving food & health

Incidence de la preparation des laits

Les échanges minéraux avec la micelle de caséine est un mécanisme dynamique



Notes

Les minéraux sont influencés par les paramètres physiques, le pH, le T°C, le traitement thermique, l'ajout de calcium.

Cet aperçu général montre les échanges des minéraux

Traitement thermique	Quantité de $CaCl_2$ (g/l)
■ 74°C/20s	0.035
■ 80°C/20s	0.050
■ 82°C/60s	0.100
■ 85°C/60s	0.200

Fig. 1 Schematic exchanges of minerals, water, and casein molecules as a function of different physico-chemical conditions (from Gaucheron 2004b)

Préparation des laits protéines sériques

Deux concepts possibles pour standardiser la teneur en protéines :

Augmenter le taux protéique par ajout de caséines ou protéines sériques

- ➔ Affecte l'aptitude à la coagulation du lait et l'aptitude à l'égouttage
- ➔ Modifier le rapport minéral (soluble et colloïdal)

• Augmenter les protéines de lactosérum dénaturées

- ➔ Détérioration de l'aptitude du lait à la fabrication du fromage
- ➔ Les rendements augmentent par la récupération des protéines de lactosérum dans le fromage

Moyens technologiques :

- Utilisation de l'ultrafiltration, de la microfiltration, avec ou sans diafiltration sur le lait ou pour produire un rétentat
- et/ou ajout de poudre (lait écrémé, MPC, WPC...)
- avec des traitements physico-chimiques
 - Traitements thermiques
 - Homogénéisation
 - Optimisation des minéraux

Préparation des laits protéines seriques

Dénaturation sur lactosérum (lactosérum doux ou acide) : Microparticulation

L'objectif est d'obtenir un concentré de lactosérum avec un coefficient de récupération maximal dans le caillé

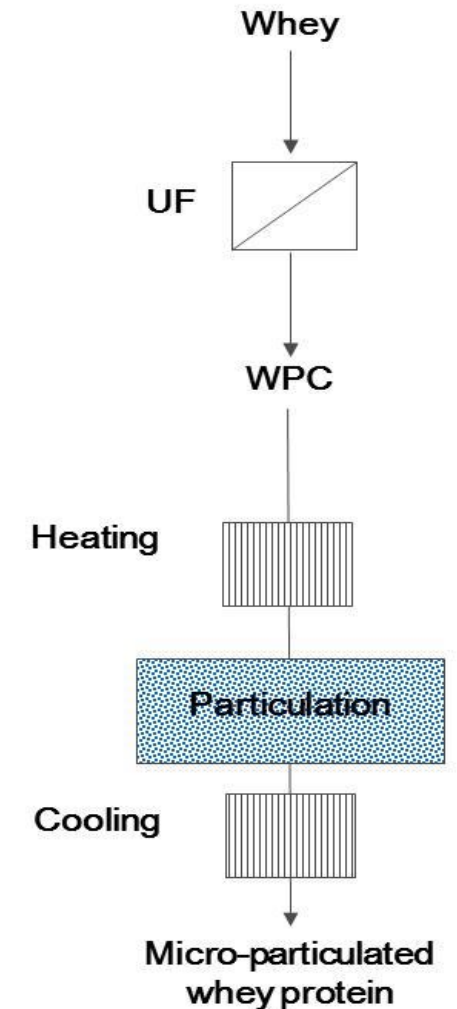
Le procédé utilise l'ultrafiltration du lactosérum

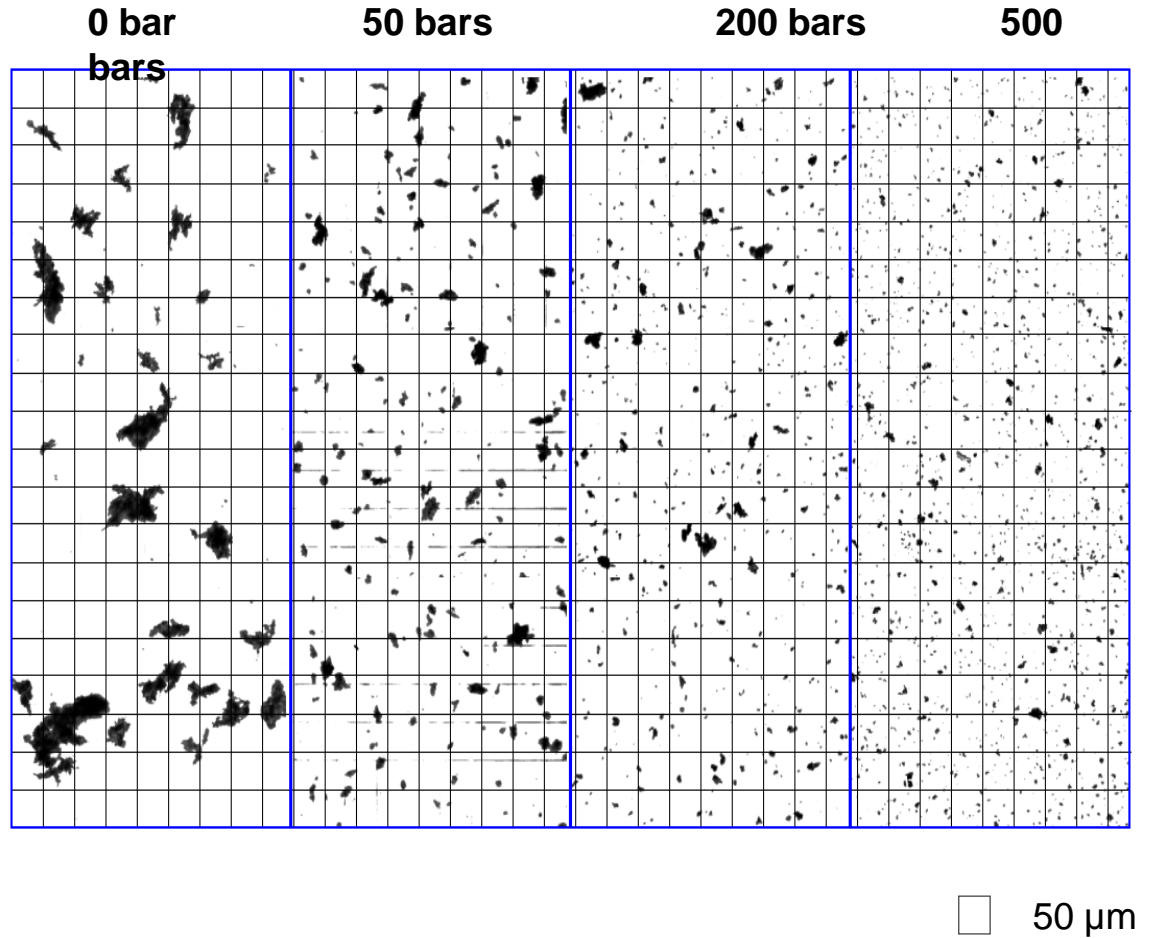
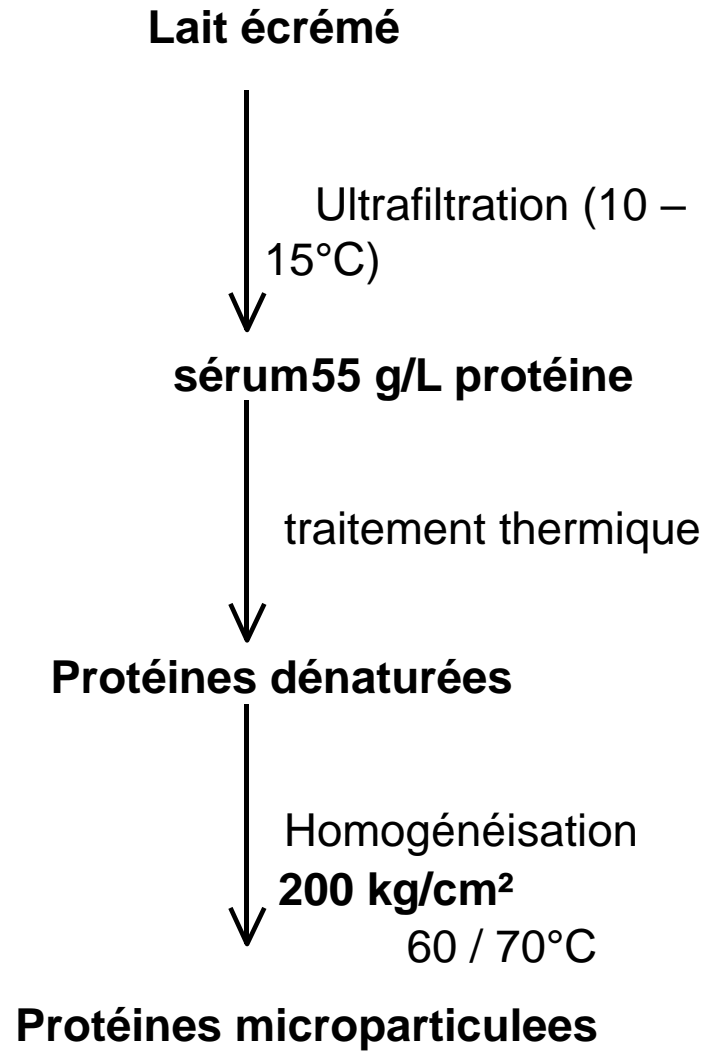
pH pour la dénaturation < 5 ou $> 6,20/6,30$ et température/temps de dénaturation sont de $85/95^{\circ}\text{C}$ pendant 2 à 5 minutes pour récupérer 65-75% de protéines sériques.

Conditions d'utilisation :

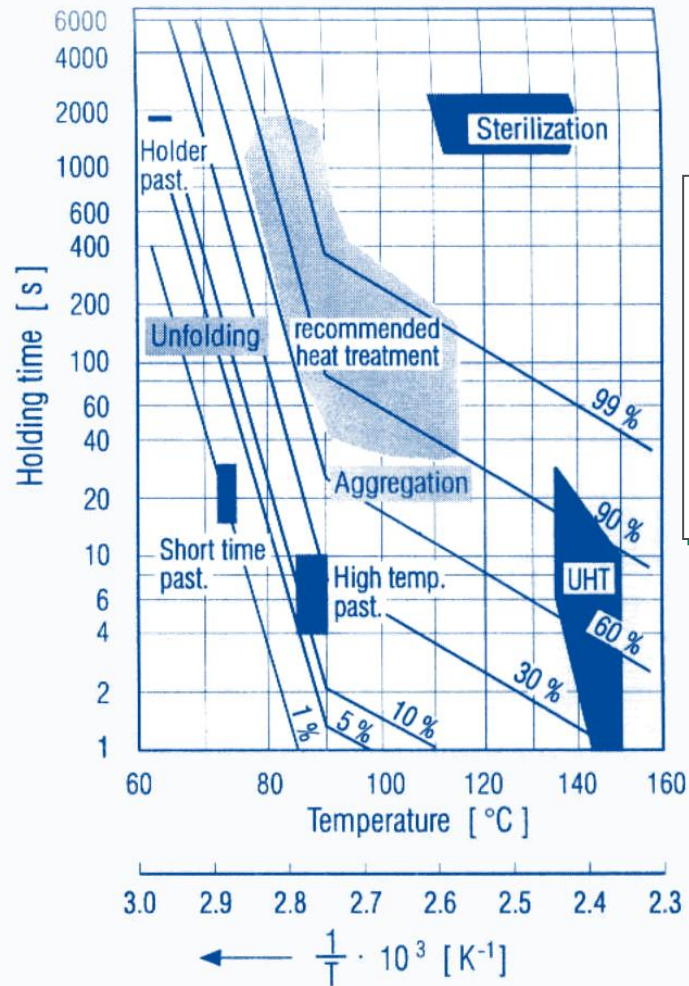
- La prématuration est difficile en raison de problèmes de sédimentation, le mélange requiert:
- Diminution de 0,1 à 0,2 unité de pH selon les volumes incorporés
- Les protéines de lactosérum dénaturées restent très hydrophiles
- comme les matières grasses; les PS diminuent l'aptitude à la synérèse des gels

Conséquences : Les risques post-acidification sont accrus, ce qui conduit à des produits ayant une texture friable et difficiles à affiner correctement.



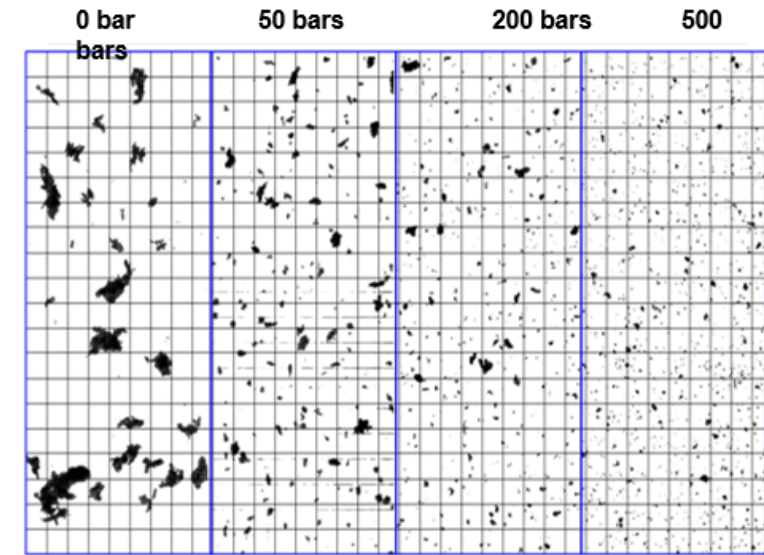
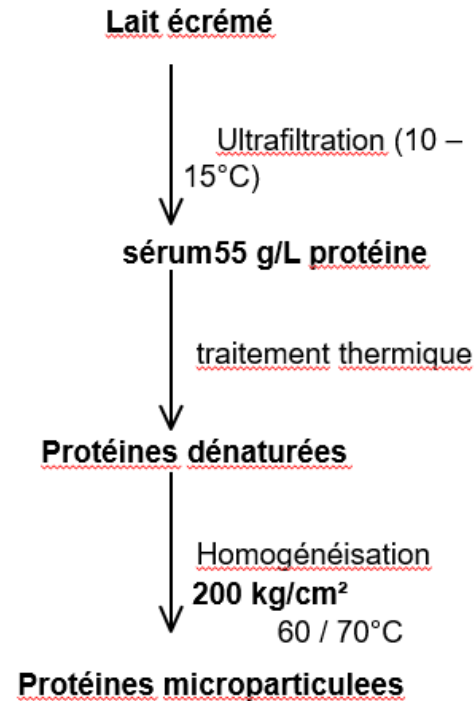


Preparation des laits protéines seriques



% d'insolubilisation des protéines sériques selon traitement thermique

72 °C / 15s	Despreciable
75 °C / 15s	10%
85 °C / 30s	20%
80 °C / 60s	25%
90 °C / 60s	42%
140 °C / 10s	56%



□ 50 µm

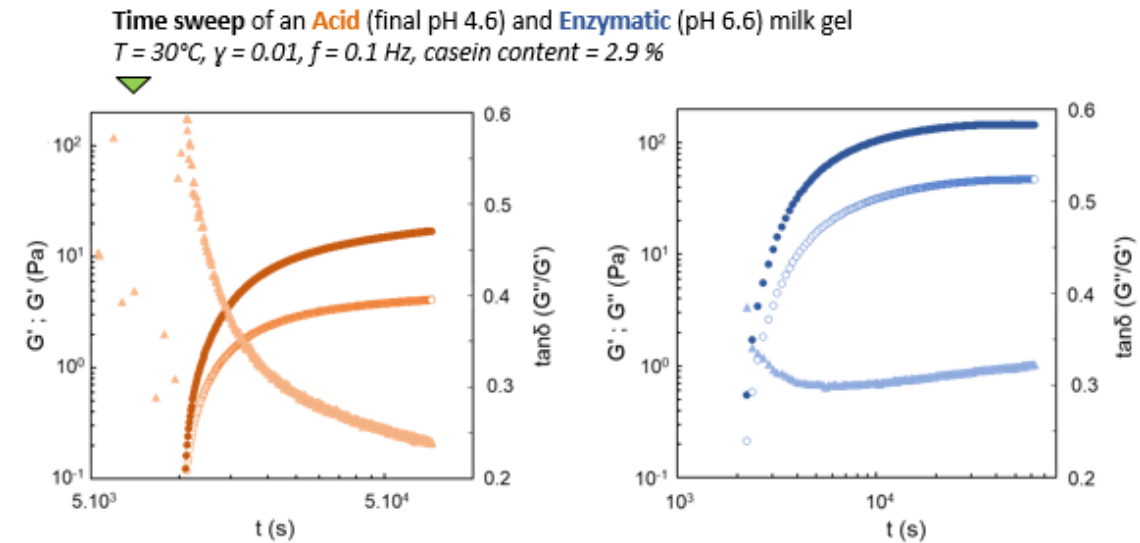
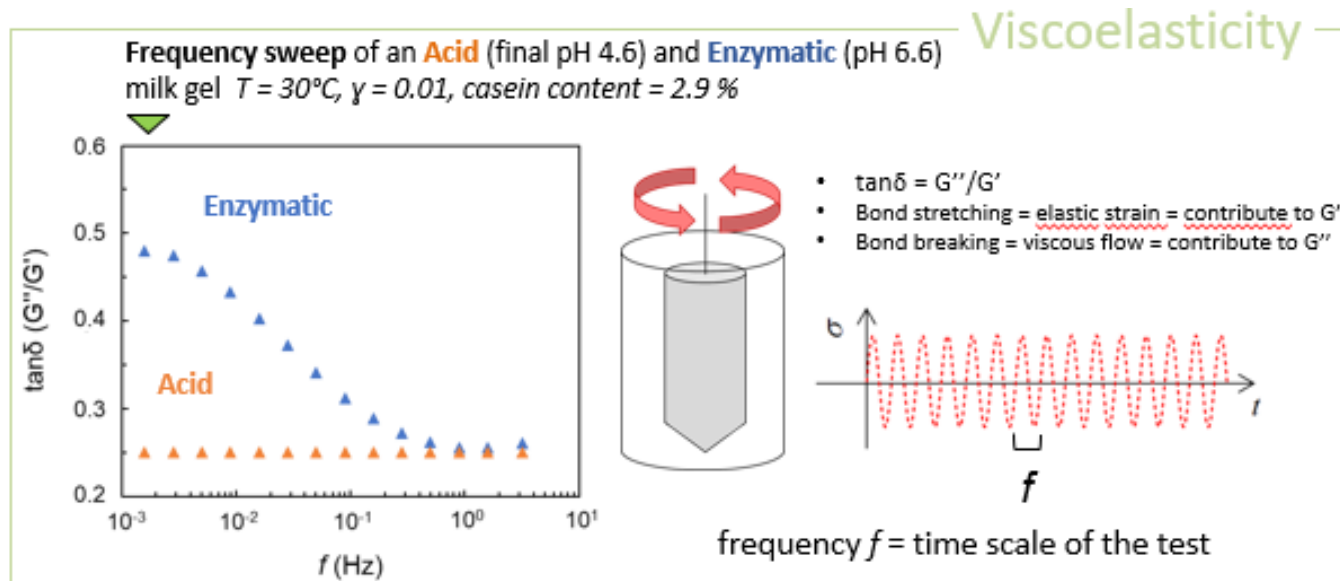
Pour chaque gramme de protéines dénaturées on ajoute par microfiltration 2 g de caséine



Approche rhéologique

Approche rheologique

Caractérisation d'un gel lactique & présure (thèse J.BAULAND 2022)



- Decrease of pH (\downarrow $[\text{H}^+]$ and $[\text{Ca}^{2+}]$)
- Increase of casein-casein interactions

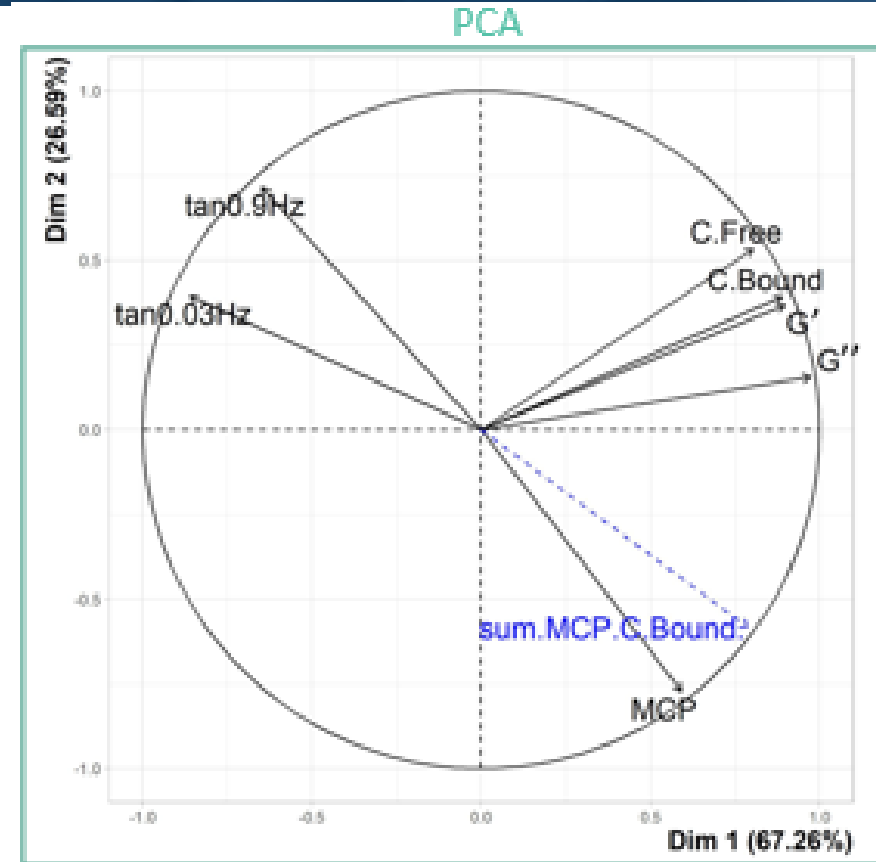
- Structure rearrangement
- Network compaction / coarsening

G' renseigne sur la fermeté du gel et non sur le type de gel (protéine-protéine, ou colloïde-colloïde)

Approche rhéologique

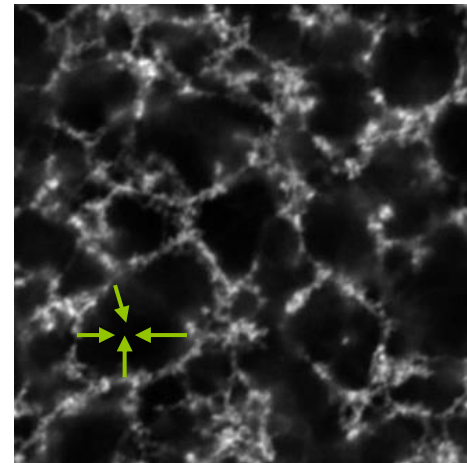
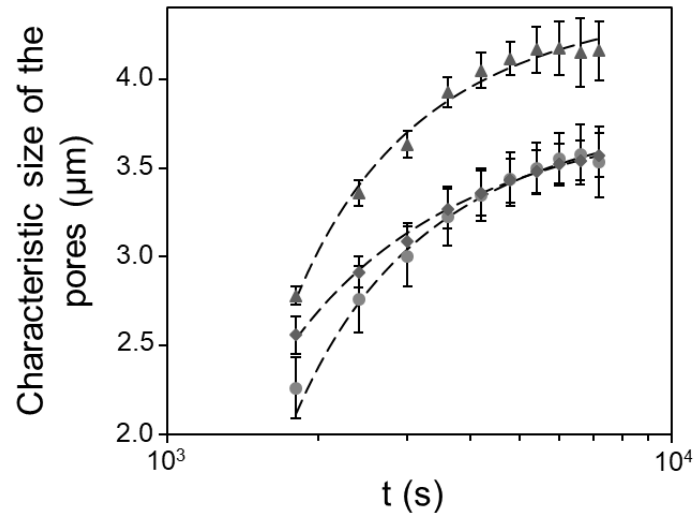
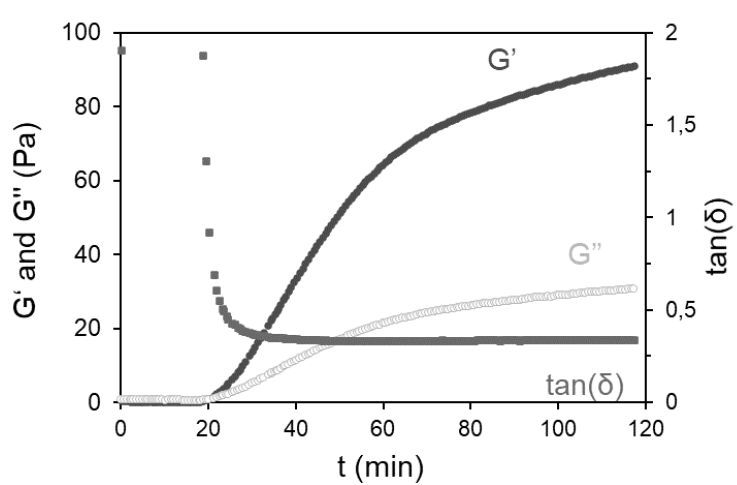
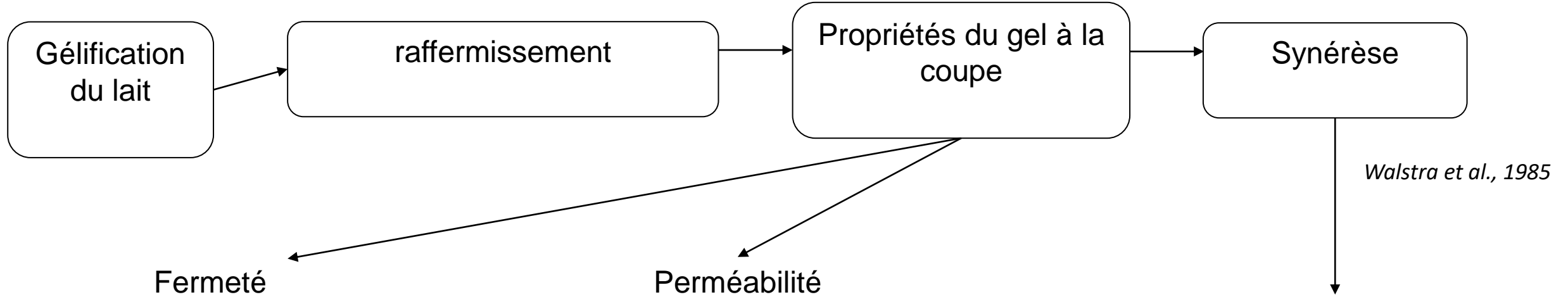
Property	Acid milk gel	Enzymatic milk gel
pH	4.6	6.6
[Ca ²⁺] (mM)	~15	1 - 2
tanδ at $f = 10^{-2}$ Hz	0.25	0.5
Permeability coefficient B (μm ²)	0.15	0.2
dB/dt (nm ² .s ⁻¹)	< 1	20
Endogenous pressure P_s	<< 1	1
Initial rate of syneresis (arbitrary units)	< 1	15

(Vliet, T. van, H. J.M. M. van Dijk, P. Zoon, and P. Walstra. 1991. Relation between Syneresis and Rheological Properties of Particle Gels." Colloid & Polymer Science)



these J.BAULAND 2022

Approche rhéologique



$$v = \frac{B \Delta P}{\eta \Delta x}$$

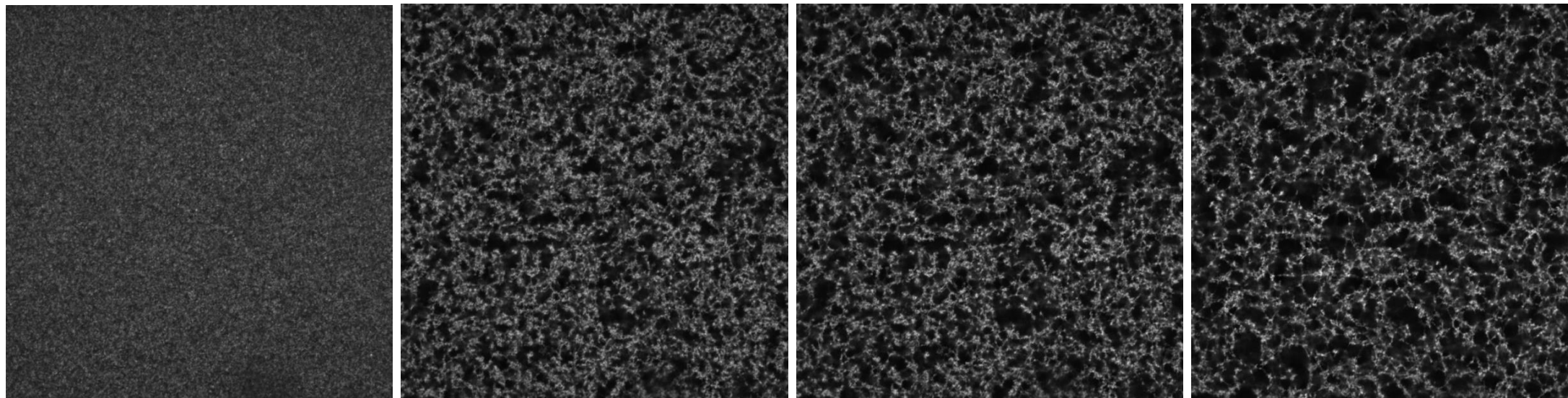
v (m.s⁻¹) linear flow rate
 B (m²) permeability coefficient
 ΔP (Pa) pressure on whey
 Δx (m) distance of whey flows
 η (Pa.s) whey viscosity

CHR HANSEN

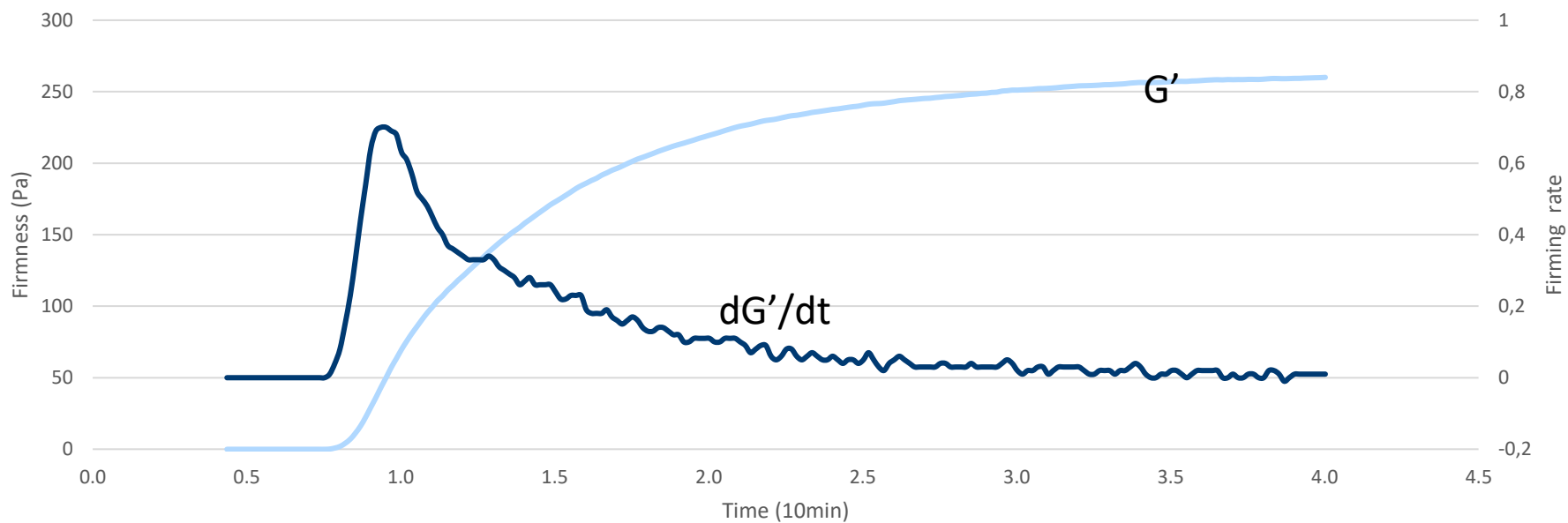
Improving food & health

Approche rhéologique

Temps après l'empresurage

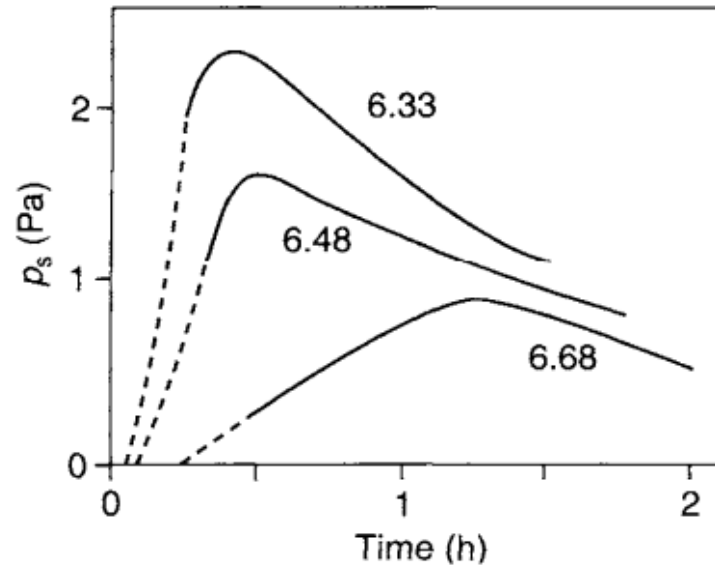


Rennet skim milk gel observed by confocal microscopy (fast green, 30°C, 5000 IMCU/100L)

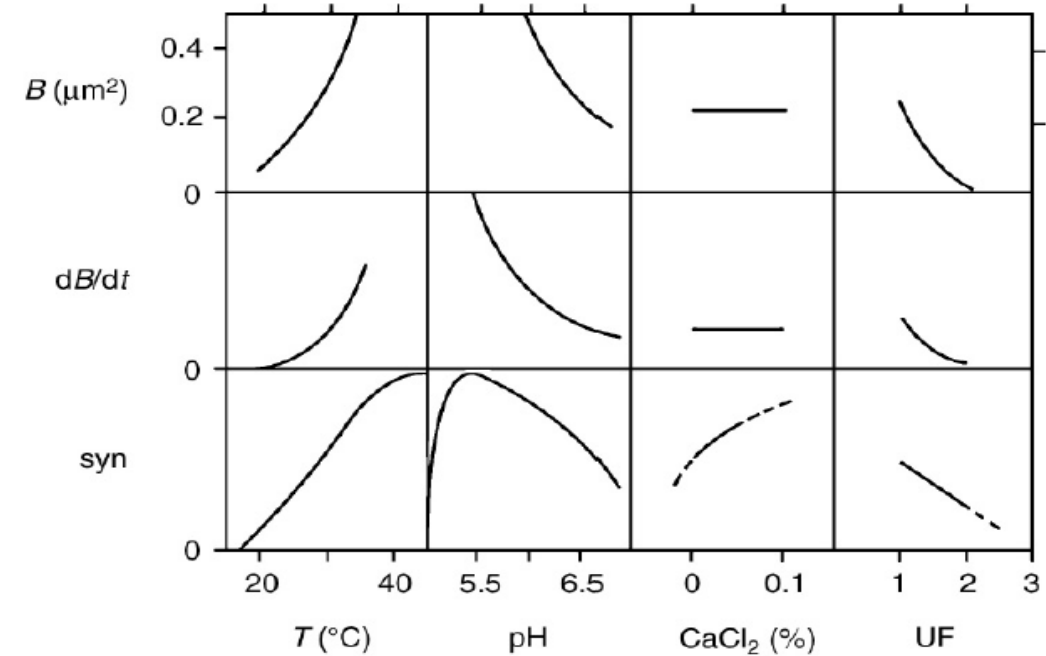


Approche rhéologique

Pression endogène du caillé



La pression de synérèse endogène (P_s) de la présure induite par les gels de lait écrémé en fonction du temps écoulé après l'enregistrement lors de l'initiation de la synérèse, à différents pH (indiqués près des courbes). Température 30°C. Les lignes brisées sont supposées. De Dejmek et Walstra (2004)



Perméabilité (B), taux de variation de la perméabilité (dB/dt) et taux de synérèse initial approximatif (syn , échelle arbitraire) en fonction de la température (T), du pH, de la quantité ajoutée de CaCl_2 et de la préconcentration par ultrafiltration (UF, degré de concentration).

$$v = \frac{B p}{\eta x}$$

v flow velocity of whey

B permeability coefficient of the gel

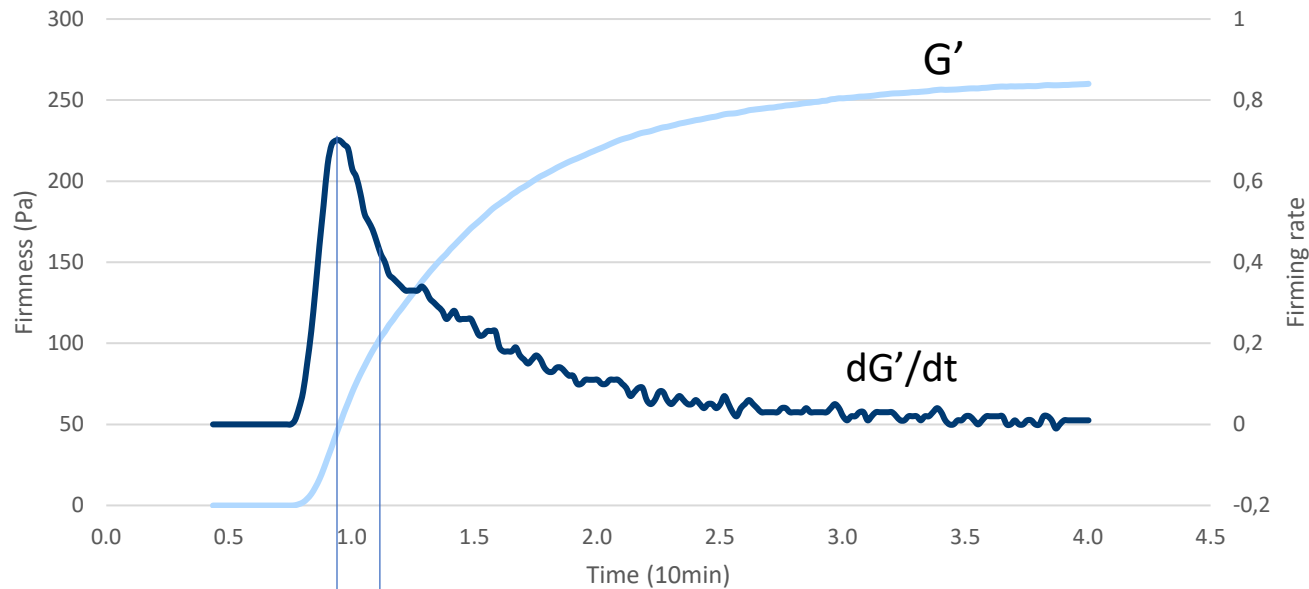
η whey viscosity

p pressure acting on the whey

x the distance over which whey must flow

Walstra&al 1985; Dejmek, Walstra 2004, Darcy law

Approche rhéologique



Décaillage recommandé pour augmenter la capacité de drainage

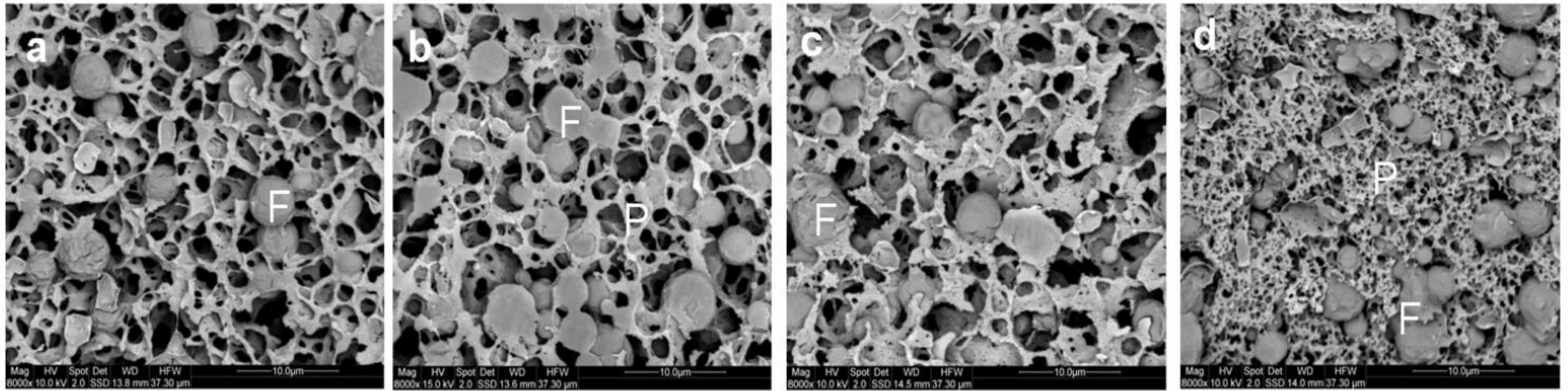
Notes:

Réglage du point de coupe au taux de fermeté max pour obtenir une meilleure capacité de drainage et réduire les contraintes mécaniques, selon le type de fromage.

La contraction du caillé est un maximum proche du taux de fermeté.

Approche rhéologique

Viscoélasticité du caillé



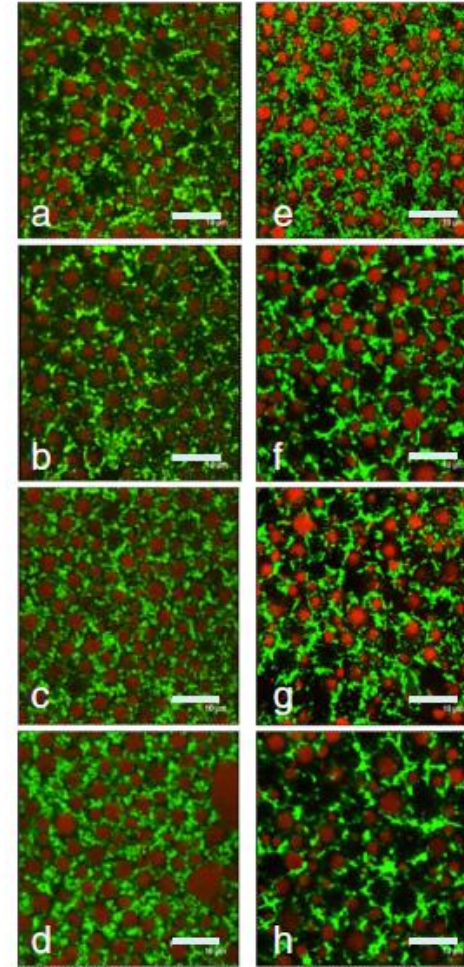
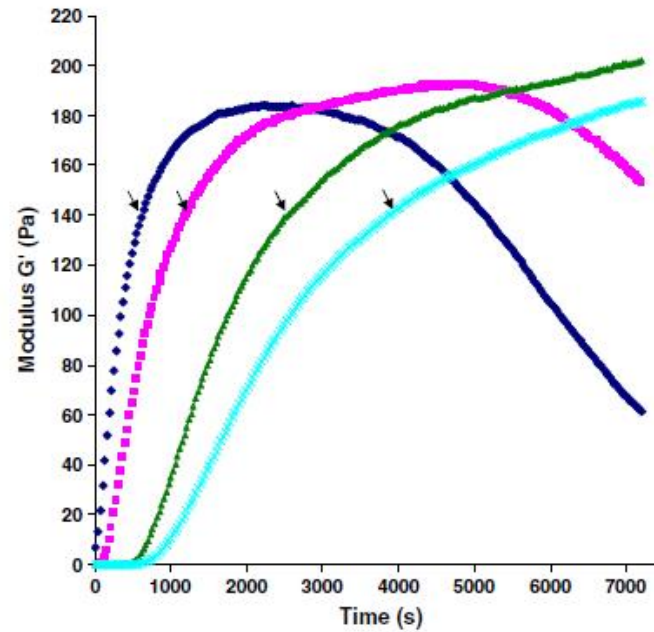
Cryo SEM micrographs of gels made using unconcentrated milk with (a) ~3.7% w/w protein or milk standardized with low concentration factor UF retentate to (b) 4% w/w, (c) 4.8% w/w or (d) 5.8% w/w protein, where F = fat, P = protein network. The gel samples were fixed in slushed liquid nitrogen when it reached the cutting time at 60 Pa. Scale bars within the images are 10 μm in length. From Ong et al. (2013)

Notes:

Impact élevé de la teneur en caséine sur la microstructure du gel avec une taille de pores plus petite en raison d'une plus grande résilience contre la pression endogène du caillé.

Approche rhéologique

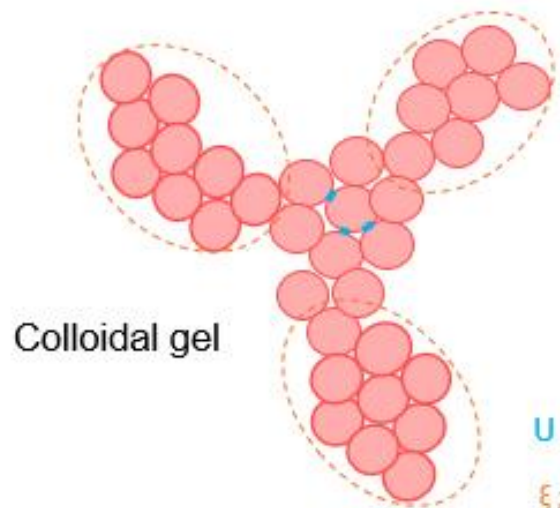
Effet du pH à l'empensurage sur les minéraux



From Lydia Ong, The effect of pH at renneting on the microstructure, composition and texture of Cheddar cheese

Fig. 1. Storage modulus (G') measured from the time of rennet addition for milk at pH 6.1 (\diamond), pH 6.3 (\blacksquare), pH 6.5 (\blacktriangle) or pH 6.7 (\times) (left). The arrows indicate the point determined for cutting. The microstructure of the gel observed using CLSM renneted at pH 6.7, pH 6.5, pH 6.3 or pH 6.1 after reaching a standardized gel firmness of 140 Pa for 70 min, 45 min, 18 min and 9 min, respectively (a–d) and after a prolonged incubation for 120 min (e–h) respectively at 33 °C. All images are representative 2D images. The Nile red stained fat appears red and the fast green FCF stained protein appears green in these images. The scale bars are 10 μm in length.

Approche rhéologique

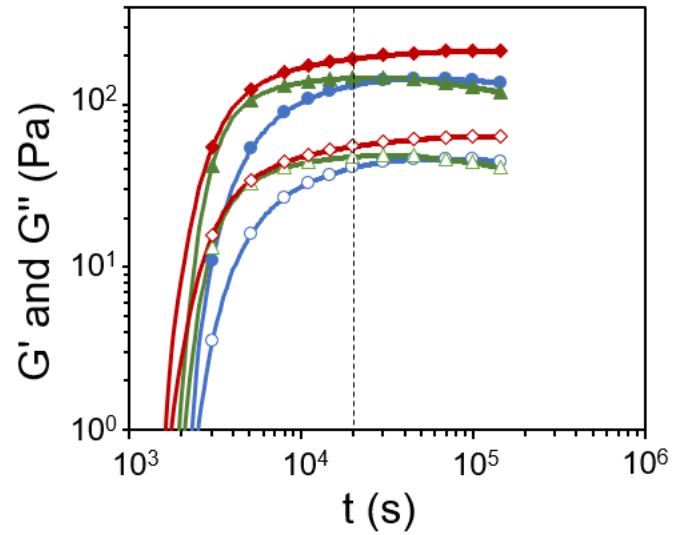
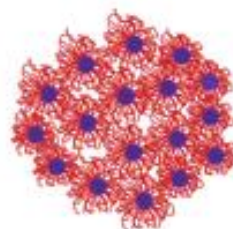
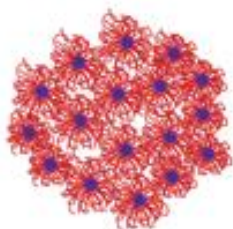
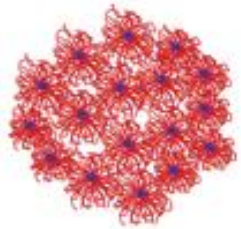


$U \sim$ interaction potential
 $\xi ; D_t \sim$ network structure
Gibaud et al., 2020

MCP-depleted

Control

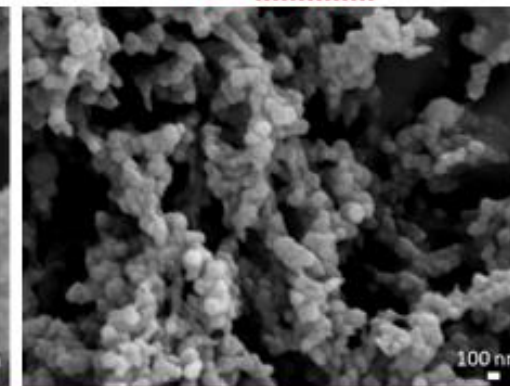
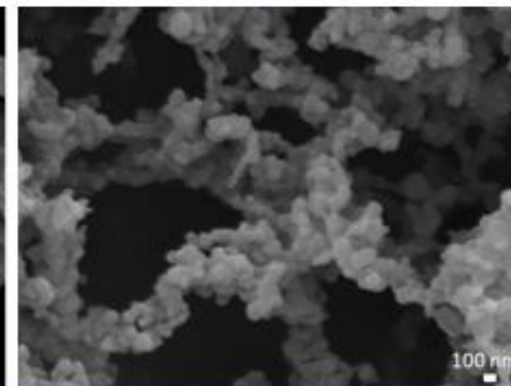
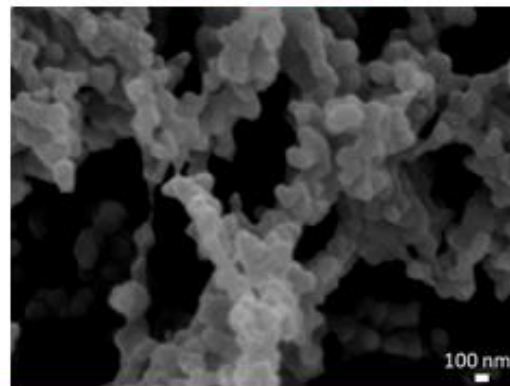
MCP-enriched



MCP-depleted

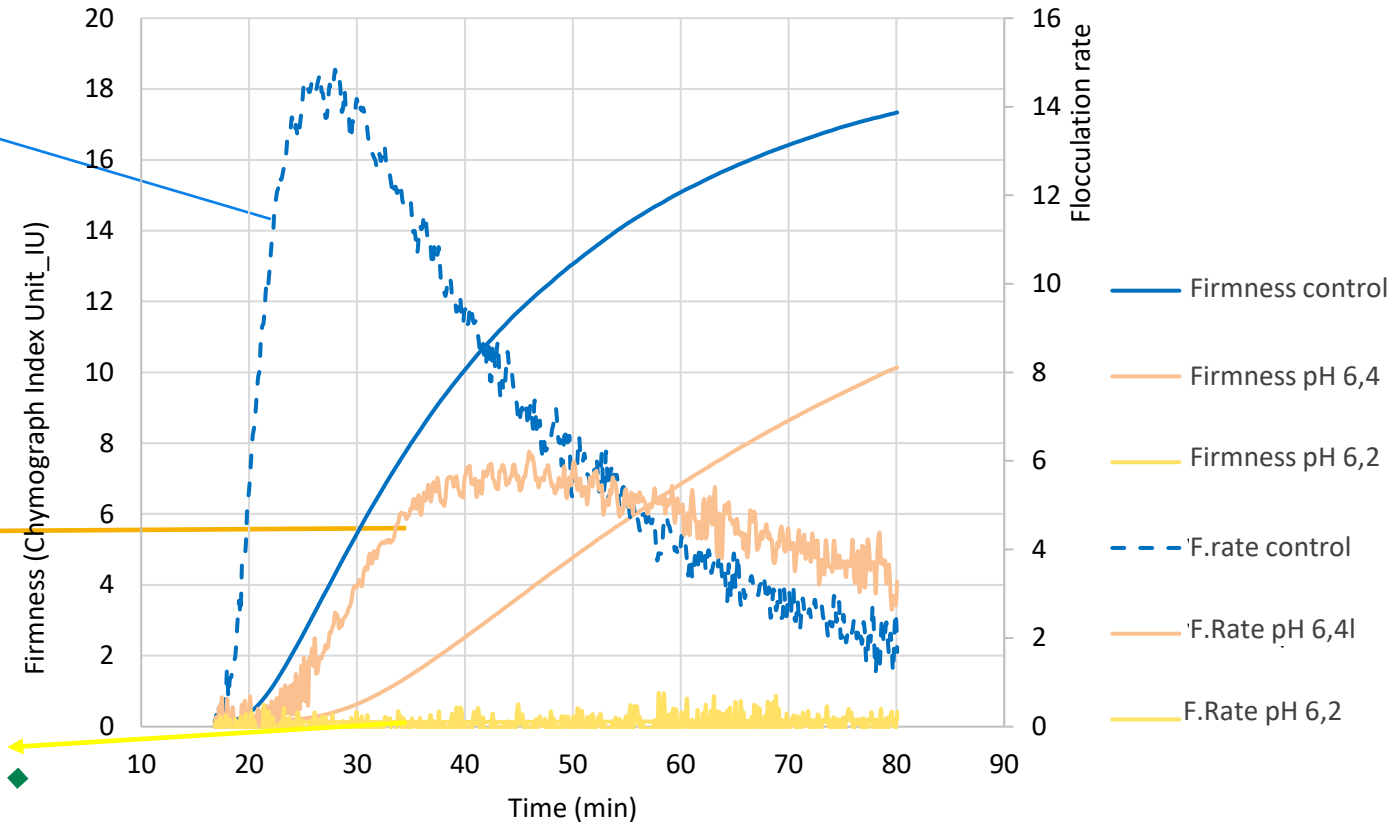
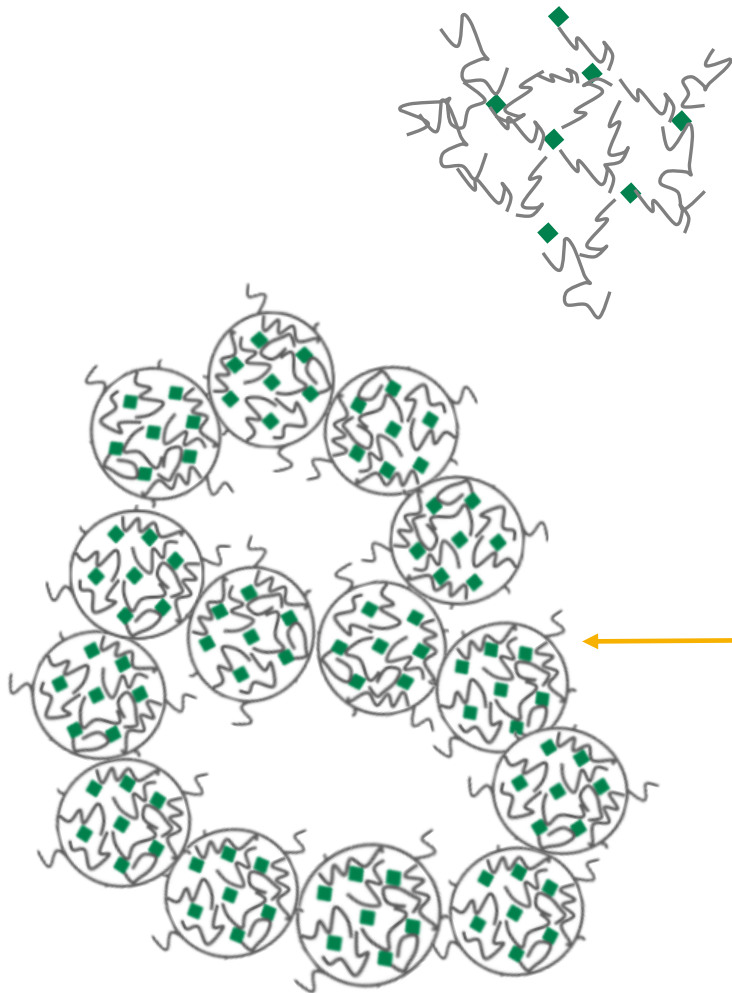
Control

MCP-enriched



Approche rhéologique

Type de gel

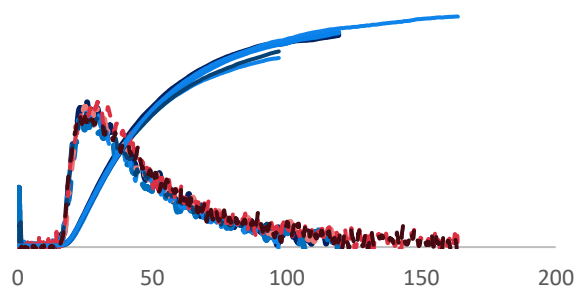
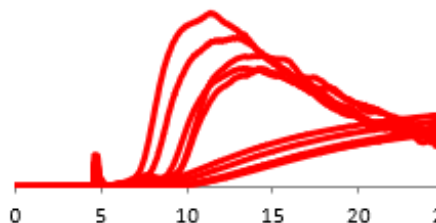


dG'/dt (dérivée de la fermeté) est en lien avec la nature du type gel, nulle si le gel est une interaction protéin-protéin, élevée si le gel est la résultante d'interaction colloïde colloïde

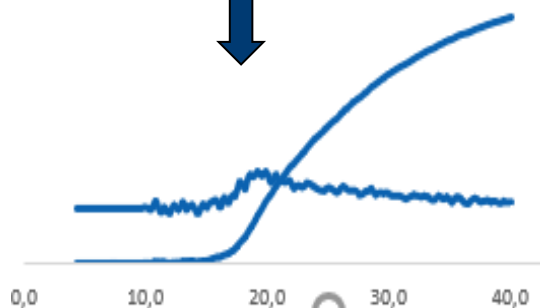
Approche rheologique

Signification des descripteurs

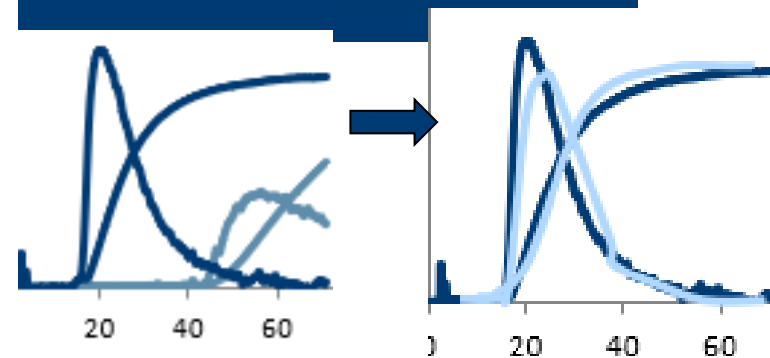
robustesse du procédé
: écart mesuré



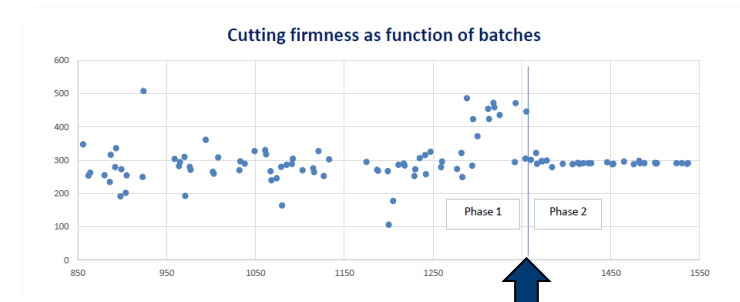
Rendement en
fromage
(optimisation)



changement de coagulant
(nouvelles
fonctionnalités:reglem;rendements)



Système de découpe
automatique



Approche rhéologique

Approche

Caractérisation technologique



Comparaison des données CoaguSens™ avec les données de référence



Hypothèse de travail



Process¹

Préparation du lait

Paramètres physiques²



Plan expérimental pour évaluer l'hypothèse



recommandation

Descripteur	Gamme	Facteur limitant
Temps de prise	<8 min soft <18 min pasta filata <25 min continental <35 min cheddar	Teneur en matières grasses plus élevée, traitement thermique élevé dose à revoir
Vitesse organisation du gel	>0,6 Pa/s soft >0,3 Pa/s pasta filata >0,4 Pa/S continental >0,25 Pa/s cheddar	Manque de calcium, traitement thermique, pH à l'empresurage, dosage du coagulant
Fermeté	>250 Pa soft >180 Pa pasta filata* >160 Pa continental >120 Pa cheddar	Teneur en caseines, minéraux
Stabilité de la fermeté		Tendance lactique

*uniquement si lait enrichi >3,8 % de protéines totales

¹. décaillage, taille du grain à la coupe...

². pH, T°C, ajout de calcium, type de coagulant et dosage

Thank you

FOLLOW CHR. HANSEN



DISCLAIMER. The information contained herein is presented in good faith and is, to the best of our knowledge and belief, true and reliable. It is offered solely for your consideration, testing and evaluation, and it is subject to change without prior and further notice unless otherwise required by law or agreed upon in writing. There is no warranty being extended as to its accuracy, completeness, correctness, non-infringement, merchantability or fitness for a particular purpose. To the best of our knowledge and belief, the product(s) mentioned herein do(es) not infringe the intellectual property rights of any third party. The product(s) may be covered by pending or issued patents, registered or unregistered trademarks or similar intellectual property rights. All rights reserved.