

De la coquille au jaune : une étude infrarouge d'un œuf

Résumé Grâce à ses propriétés nutritives exceptionnelles, l'œuf de poule est un acteur majeur de notre alimentation quotidienne, présent dans nos plats, nos desserts et nos pâtisseries. Au travers d'activités expérimentales pouvant être menées à différents niveaux, du lycée au premier cycle universitaire, cet article propose une étude par spectroscopie infrarouge (IR) de la composition des principaux compartiments d'un œuf, en réalisant notamment des rapports d'absorbance de bandes IR pour estimer le caractère plus ou moins lipidique des jaune et blanc d'œuf.

Mots-clés Spectroscopie IR, modes de vibration, œuf, composition chimique, protéines, lipides.

Abstract From the shell to the yolk: an infrared investigation into an egg

Chicken egg, as a very nutritive food, is a major component of our courses. Through experimental activities that can be led at different levels, from high school to undergraduate degree, this paper presents an infrared (IR) study of the compartments of an egg. IR band ratios are carried out to estimate the lipid/protein content of albumen and yolk.

Keywords IR spectroscopy, vibration mode, egg, chemical composition, proteins, lipids.

Spectres IR des différents compartiments d'un œuf

Le principe de la spectroscopie infrarouge (IR) est présentée en annexe*.

Matériels et méthodes

• Préparation de l'œuf

Un œuf frais est cassé, le blanc (albumen) et le jaune sont séparés et placés chacun dans un bécher. La membrane coquillère est détachée de la coquille (figure 1). Cette dernière est placée dans un mortier et réduite en poudre à l'aide d'un pilon. Pour les mesures sur échantillons secs, du blanc et du jaune d'œuf liquides sont placés à l'étuve (50 °C) pendant 24 h. Les spectres des solides obtenus sont réalisés le lendemain.

• Paramètres d'acquisition des spectres IR

Les spectres présentés sont acquis par réflexion totale atténuée (ou « attenuated total reflectance », ATR) (figure 2). Cette technique permet l'acquisition rapide du spectre de solides ou de liquides, directement déposés sur un cristal ATR (généralement une fenêtre en diamant). Pour les liquides étudiés – blanc d'œuf (ie albumen), jaune d'œuf, eau –, une goutte est déposée sur la fenêtre. Pour les solides (coquille réduite en poudre et membrane coquillère), le matériau est déposé puis écrasé par une enclume, assurant un

contact appuyé avec la fenêtre. Un spectre de référence (« background ») est réalisé sur le cristal ATR sec et propre, nettoyé à l'éthanol entre chaque nouvelle mesure. Les spectres présentés sont le résultat de quatre scans (balayages) d'accumulation entre 400 et 4 000 cm^{-1} ; leur résolution spectrale est de 4 cm^{-1} . Le cristal diamant étant à fort indice de réfraction (environ 2,4), le guidage de l'onde par réflexion totale permet de sonder l'échantillon déposé sur quelques micromètres d'épaisseur (profondeur de pénétration de l'onde évanescente) [1].

La coquille : une protection en carbonate de calcium

Le spectre IR de coquille d'œuf comporte les signaux caractéristiques du carbonate de calcium $\text{CaCO}_3(\text{s})$ (figure 3). L'ion carbonate CO_3^{2-} , de géométrie trigonale plane (symétrie D_{3h} en théorie des groupes), présente six modes de vibration : élongation antisymétrique (ν_3 , doublement dégénérée), déformation hors plan (ν_2), déformation dans le plan (ν_4 , doublement dégénérée).

À noter que le mode de vibration d'élongation symétrique (ν_1) n'est pas actif en IR car il n'entraîne pas de variation du moment dipolaire global de la molécule [2] (voir l'annexe* pour davantage de détails).

Les valeurs des nombres d'onde relevés pour les bandes ν_2 , ν_3 et ν_4 sont caractéristiques de la structure cristalline rhomboédrique « calcite » du carbonate de calcium [3]. Cette variété

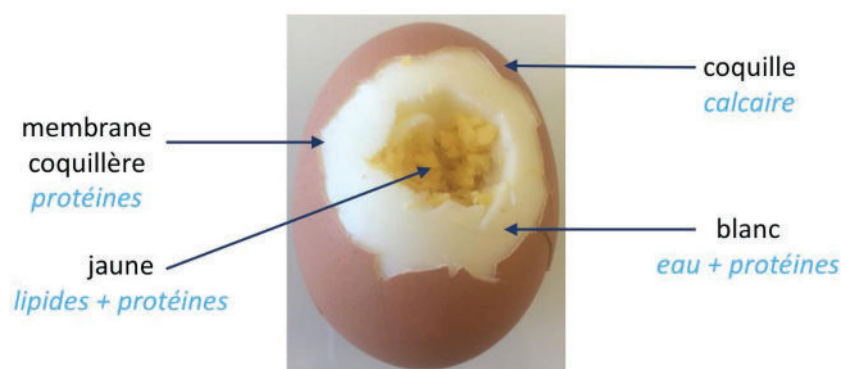


Figure 1 - Les différentes parties d'un œuf et leurs composants majoritaires.

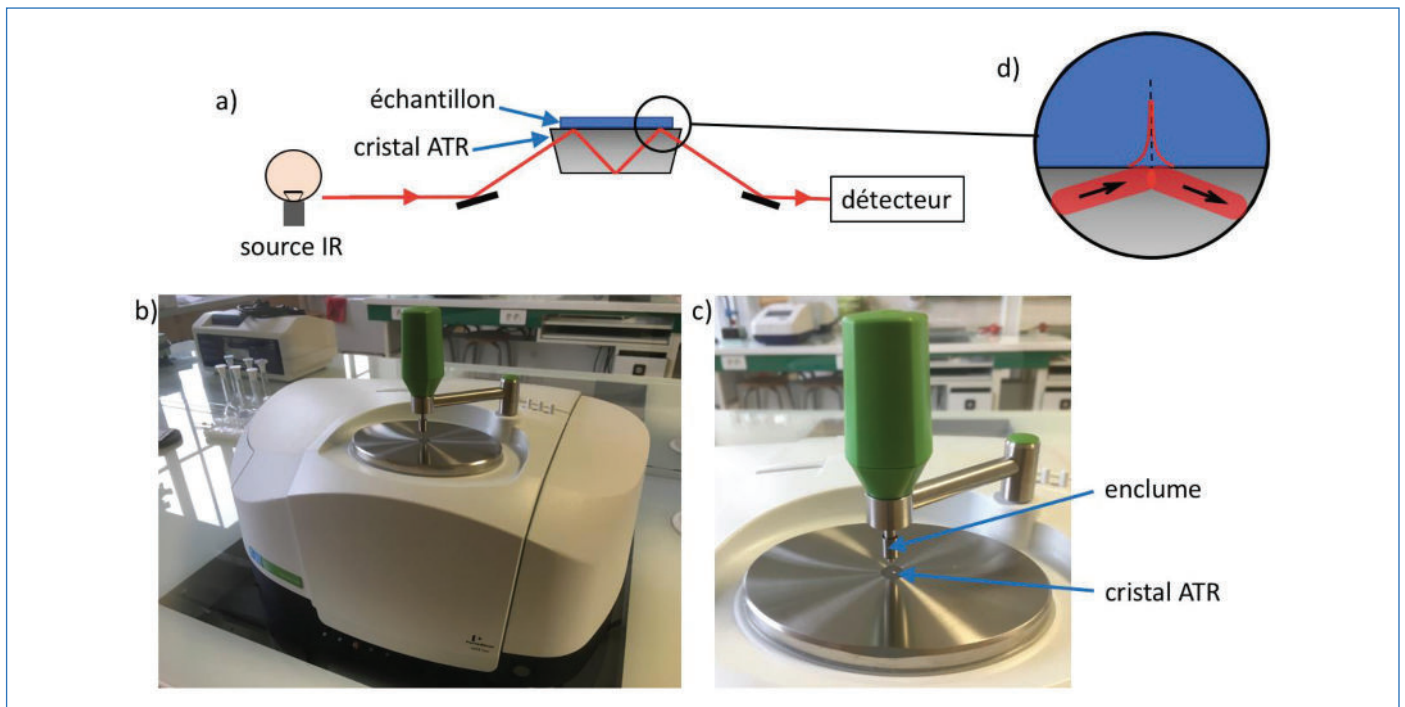


Figure 2 - a) Schéma du montage par ATR ; b) spectrophotomètre avec le module ATR (modèle « Spectrum 2 » de Perkin Elmer) ; c) détail sur le cristal ATR et l'enclume ; d) détail du champ électromagnétique au point de réflexion : une onde stationnaire existe à l'intérieur du cristal tandis qu'une onde évanescente se propage à l'extérieur, diminuant exponentiellement.

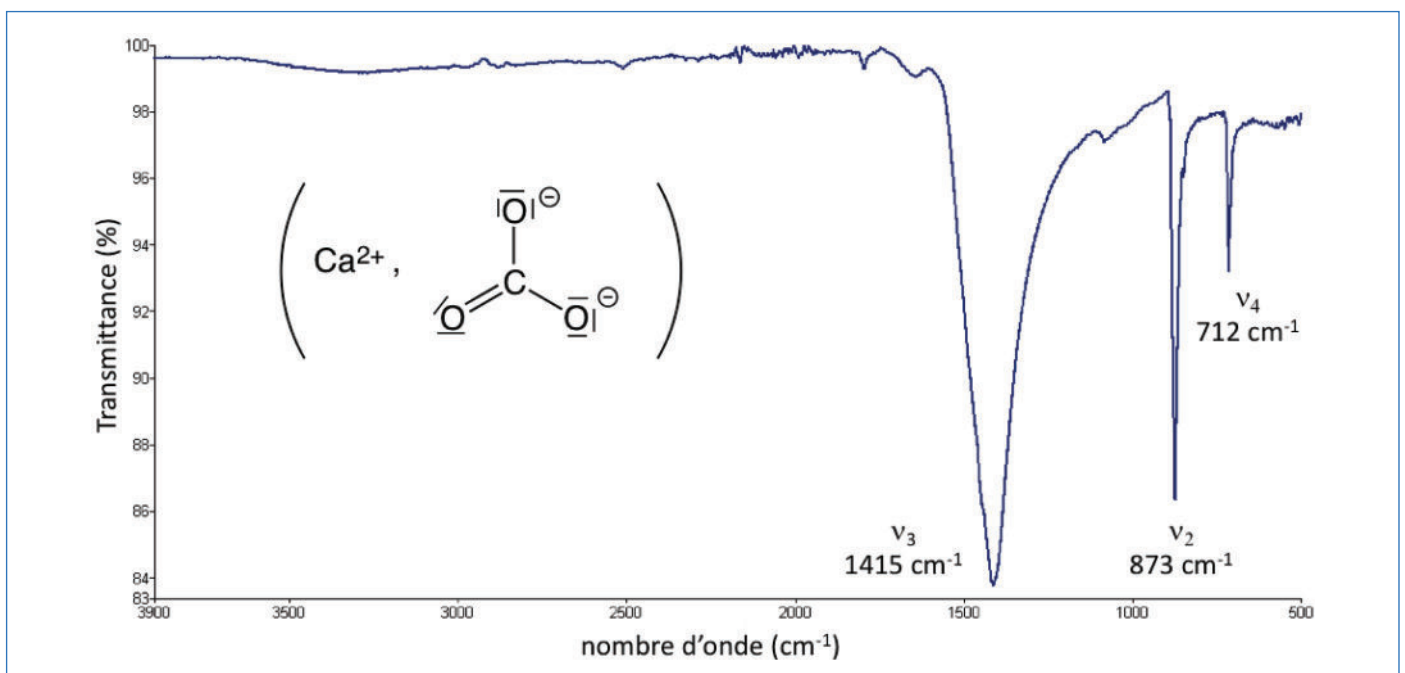


Figure 3 - Spectre IR de coquille d'œuf broyée et structure du carbonate de calcium CaCO_3 .

allotropique du carbonate de calcium est effectivement celle décrite usuellement comme le composant majoritaire des coquilles d'œufs [4]. Elle assure à l'œuf une résistance remarquable – il ne casse pas sous une masse de 3 kg malgré ses 0,3 mm d'épaisseur – tout en étant suffisamment fragile pour permettre l'éclosion du poussin.

La membrane coquillère : une séparation en fibres protéiques

Le blanc de l'œuf (*ie* l'albumen) est séparé de la coquille par la membrane coquillère, constituée de fibres protéiques entrelacées (dont le collagène) qui limitent la diffusion du blanc. La partie externe de cette membrane présente les sites de

nucléation des premiers cristaux de calcite et joue donc un rôle-clé dans la minéralisation de la coquille [4].

La structure protéique de la membrane est retrouvée dans son spectre IR (*figure 4*), où les signatures spécifiques des protéines ont été relevées (*tableau I*). Les signaux relatifs aux motifs CH_2 et CH_3 rencontrés sur les squelettes carbonés sont également observés vers $2\,900\text{ cm}^{-1}$.

L'albumen (ou blanc d'œuf) : de l'eau et des protéines

L'eau représente environ 90 % de la composition de l'albumen pour environ 10 % de protéines [6], les représentants protéiques principaux étant l'ovalbumine, l'ovotransferrine et l'ovomucine [7].

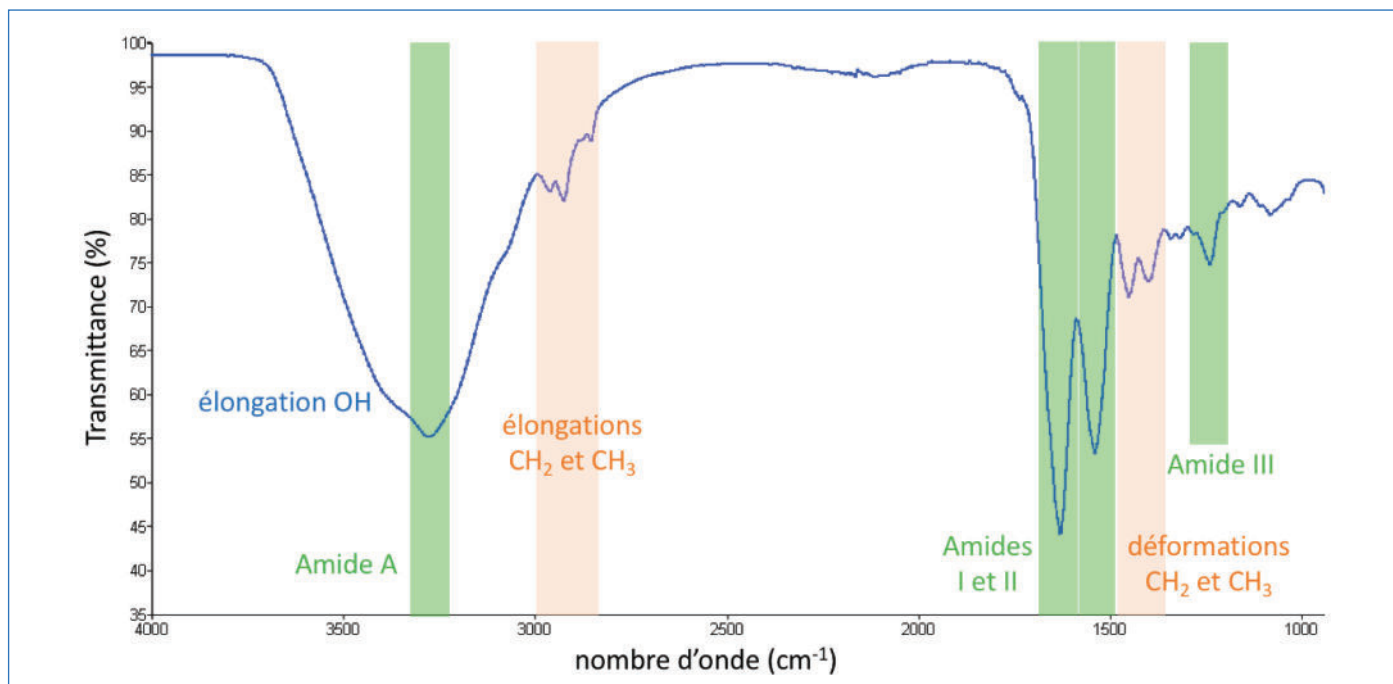


Figure 4 - Spectre IR de la membrane coquillère.

Nom de la bande	Nombres d'onde relevés (cm ⁻¹)	Origine principale du mode de vibration (d'après [5])
Amide I	1 632	Élongation C=O
Amide II	1 539	Combinaison en opposition de phase entre élongation C-N et déformation C-N-H
Amide III	1 240	Combinaison en phase entre élongation C-N et déformation C-N-H
Amide A	3 280	Élongation N-H

Tableau I - Bandes IR caractéristiques des protéines, associées notamment au collagène de la membrane coquillère.

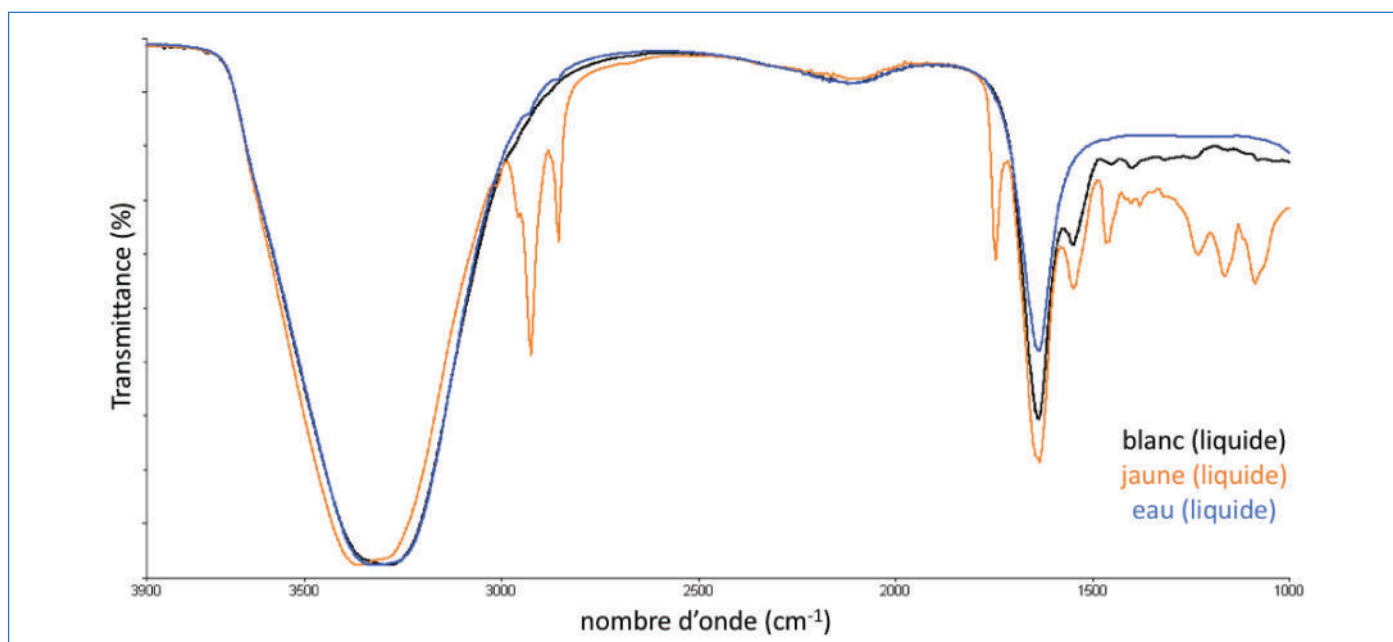


Figure 5 - Superposition des spectres IR de l'eau, de l'albumen (blanc) et du jaune d'œuf.

La superposition des spectres IR de l'eau liquide et du blanc d'œuf liquide montre effectivement cette prédominance de l'eau, qui présente deux principales bandes IR (figure 5). L'absorption due à la déformation H-O-H à 1 640 cm⁻¹

recouvre la bande amide I des protéines mais la bande amide II (vers 1 540 cm⁻¹) reste observable (figures 5 et 6). Les vibrations d'élongation symétrique et antisymétrique de l'eau entraînent une absorption intense vers 3 300 cm⁻¹ qui masque

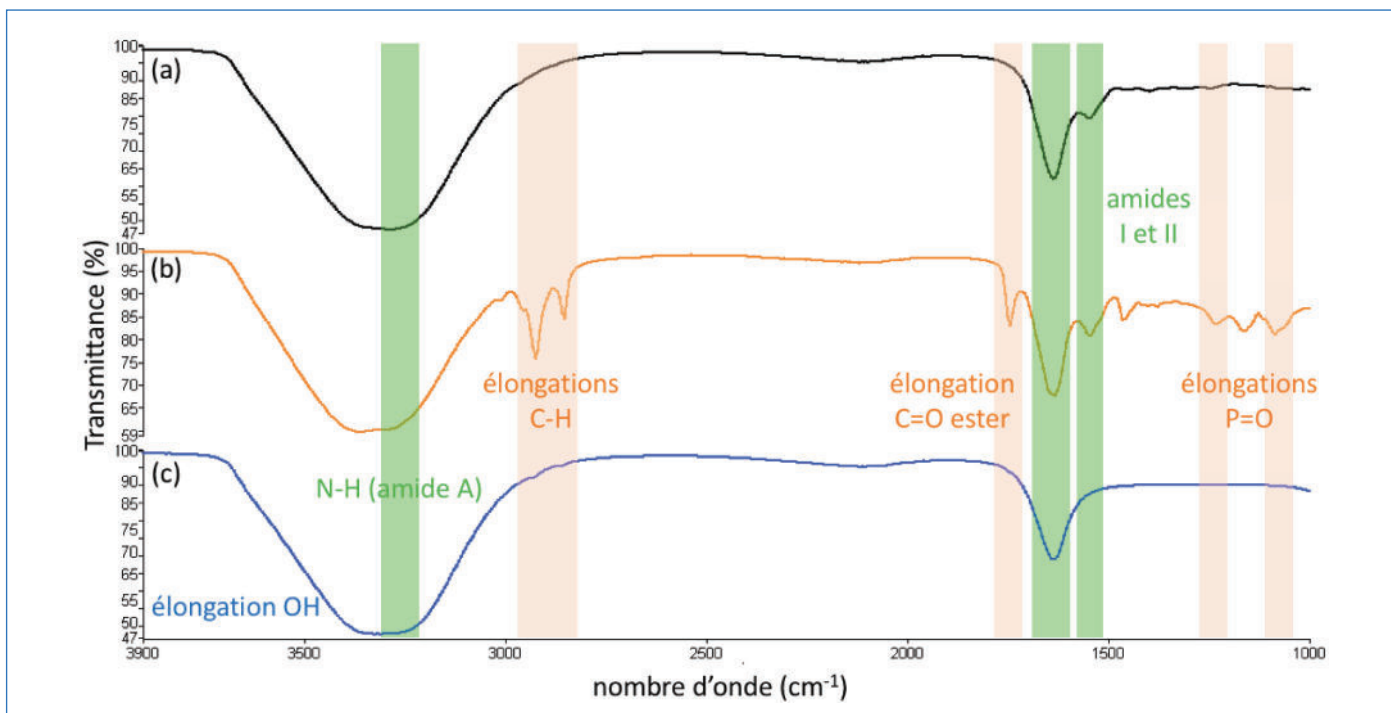


Figure 6 - Comparaison des spectres IR de l'albumen (a), du jaune d'œuf (b) et de l'eau (c) avec mention des bandes IR d'intérêt. Spectres séparés pour faciliter la comparaison.

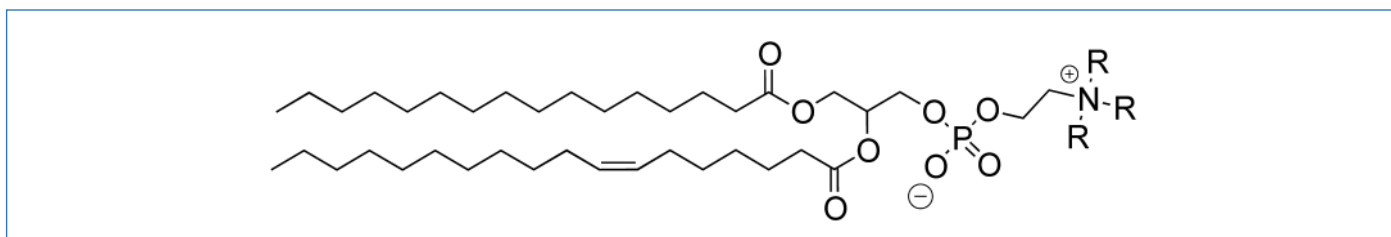


Figure 7 - Structures de la phosphatidylcholine (R = CH₃) et de la phosphatidyléthanolamine (R = H).

en partie la bande amide A (élongation N-H) et les O-H endogènes. Une troisième bande de l'eau vers 2 125 cm⁻¹ reste faible et associée à une combinaison entre le mode déformation et les « librations » des molécules d'eau (ie les rotations restreintes en raison des liaisons hydrogène) [8].

Le jaune d'œuf : le compartiment le plus riche en lipides

Zone associée à la future croissance du fœtus si l'œuf est fécondé, le jaune de l'œuf est constitué à environ 50 % d'eau, 32 % de lipides et 16 % de protéines [6]. Les spectres IR (figure 6) illustrent de façon assez remarquable la présence de lipides dans le jaune d'œuf, avec des bandes C-H intenses vers 2 900 cm⁻¹ (en pied de la bande O-H de l'eau) et une bande vers 1 745 cm⁻¹ associée à la vibration d'élongation C=O des motifs esters des phospholipides. La phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine (figure 7) sont effectivement décrites comme les lipides majoritaires de la lécithine, mélanges complexes de lipides du jaune d'œuf [9]. On relève ainsi également deux bandes associées aux motifs PO₂, vers 1 080 cm⁻¹ et 1 235 cm⁻¹ [10].

Spectres d'échantillons secs : une baisse drastique des signaux de l'eau

• Préparation

Suite à l'acquisition des spectres des liquides, les jaune et blanc d'œuf sont placés à l'étuve et maintenus à 50 °C pendant 24 h afin de les sécher. Après une référence acquise sur le

cristal ATR propre, les échantillons solides obtenus sont placés sur la fenêtre diamant pour collecter leurs spectres, dans les mêmes conditions d'acquisition que précédemment, en pressant l'échantillon avec l'enclume.

• Résultats

Le placement à l'étuve entraîne une évaporation importante de l'eau contenue dans les échantillons liquides et donc une diminution importante des signaux IR dus à l'eau (figure 8). Les signaux des jaune et blanc d'œuf ne se trouvent plus en partie superposés à ceux de l'eau, ce qui facilite leur caractérisation. On notera entre autres que la bande N-H (amide A) est nettement visible de même que les élongations C-H, ces deux zones ne subissant plus la bande intense et large de la vibration O-H de l'eau. La bande amide I (1 650 cm⁻¹) se trouve également clairement révélée, sans contribution de la bande de déformation H-O-H de l'eau.

La comparaison directe des spectres des jaune et blanc séchés (figure 9) confirme que ces deux compartiments sont constitués de protéines (bandes amide A, I, II et II repérées) et que le jaune est de plus très riche en lipides (bandes C-H et C=O ester intenses). On repère également de façon claire la bande de vibration d'élongation C-H des groupes oléfiniques H-C=C (3 010 cm⁻¹), retrouvée notamment sur une des deux chaînes carbonées des phospholipides (figure 7). Les bandes associées aux motifs PO₂ y sont également très intenses (1 080 et 1 235 cm⁻¹), tout comme la bande C-O des esters (1 170 cm⁻¹).

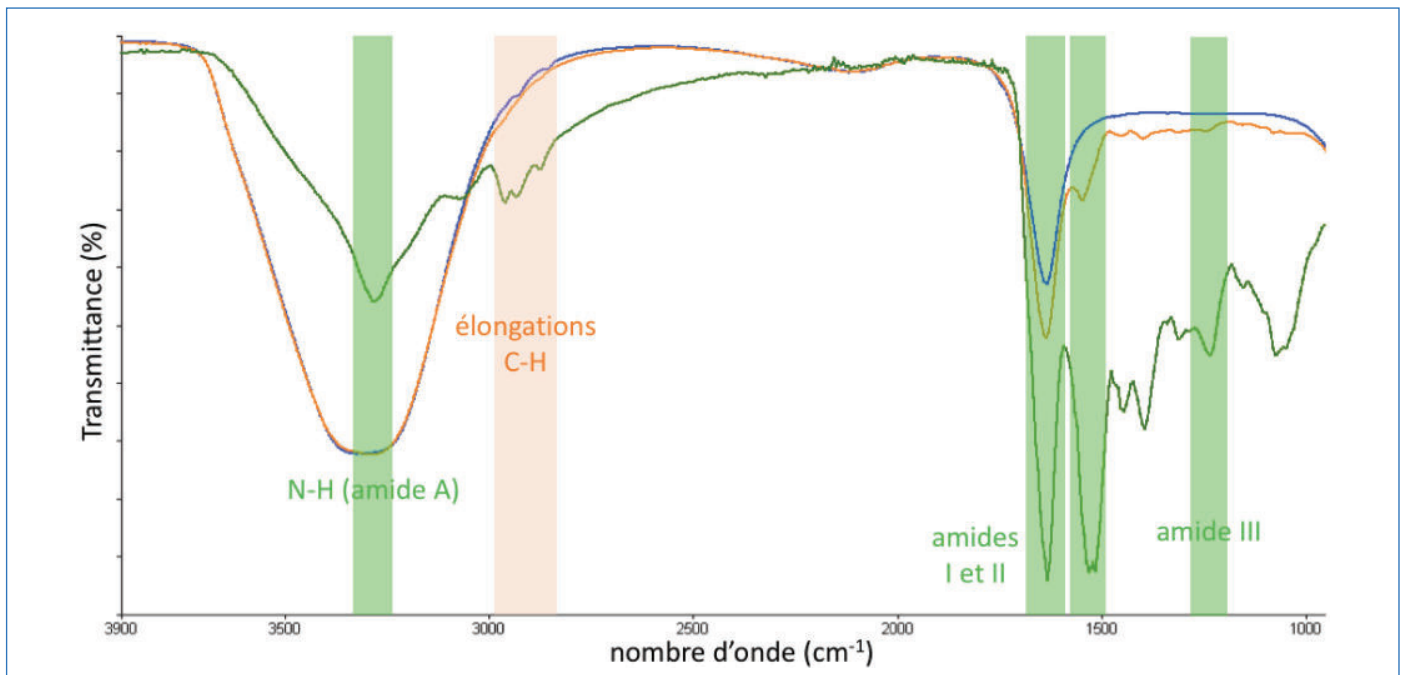


Figure 8 - Superposition des spectres IR de l'eau (bleu), de l'albumen liquide (orange) et séché (vert).

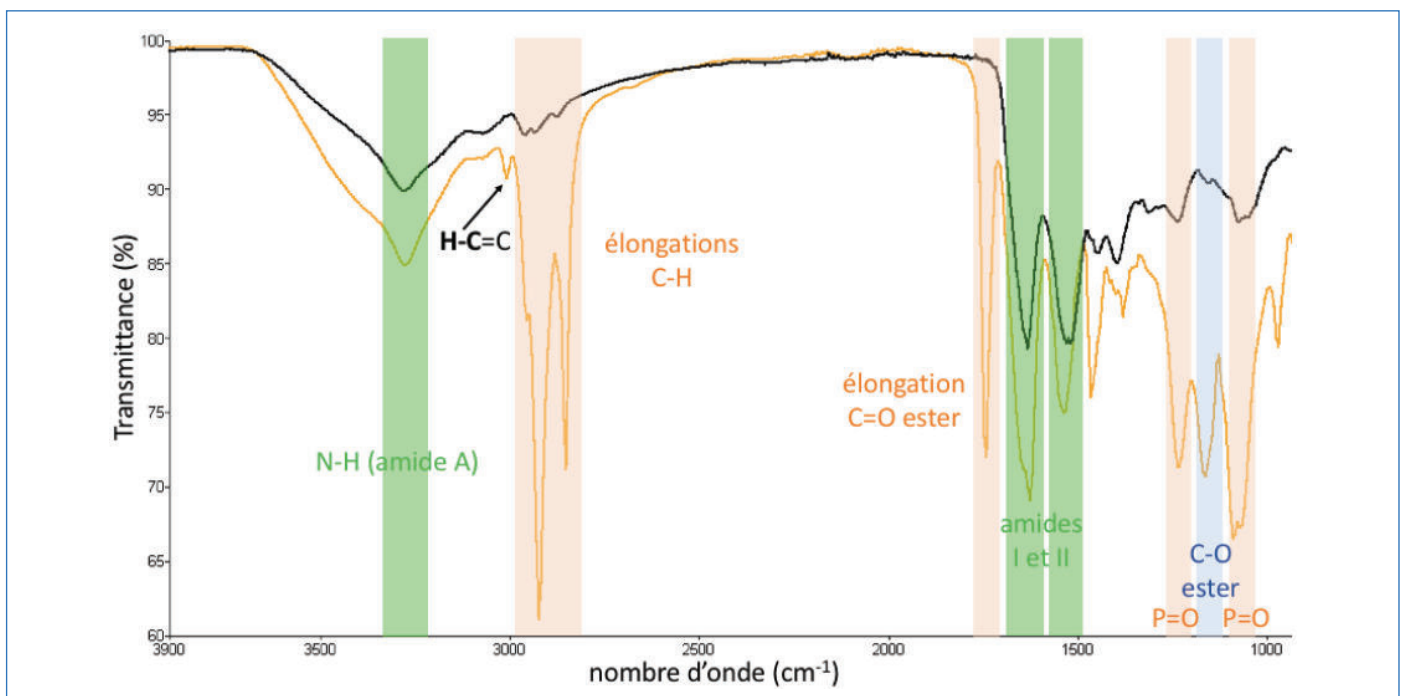


Figure 9 - Superposition des spectres IR du jaune séché (orange) et du blanc séché (noir).

Rapport d'absorbances de bandes IR

Bandes CH₂ et CH₃

Traditionnellement représentés en échelle de transmittance, les spectres IR peuvent aussi être établis en absorbance, ce qui permet de faire un lien direct avec la loi de Beer-Lambert [1, 11]. Il est possible d'estimer la plus grande teneur en protéines ou en lipides par des rapports d'absorbance de bandes [12]. Contrairement au motif CH₂ essentiellement associé aux chaînes carbonées lipidiques, le fragment CH₃ est quant à lui principalement dû aux groupements méthyles des acides aminés (alanine, thréonine, leucine, isoleucine, valine, méthionine), donc le plus souvent présent sur les protéines. Les deux bandes associées au fragment CH₂ prédominent sur

les bandes CH₃ dans le jaune d'œuf et sont à peu près du même ordre de grandeur dans le blanc d'œuf (figure 10), confirmant le caractère lipidique du jaune.

Quantitativement, on mesure les hauteurs de bande en absorbance par rapport à une ligne de base et les rapports des absorbances de la bande CH₂ antisymétrique par la bande CH₃ antisymétrique sont déterminés pour le jaune et le blanc d'œuf (tableau II). L'environnement en termes de polarité et proticité diffère entre ces deux compartiments mais cela influence relativement peu sur les fréquences de vibration IR [13], donc les maxima de ces bandes ne sont que légèrement déplacés. Le rapport « lipides/protéines » est plus de trois fois plus élevé dans le jaune que dans le blanc, ce qui confirme que le jaune est bien plus riche en lipides que l'albumen.

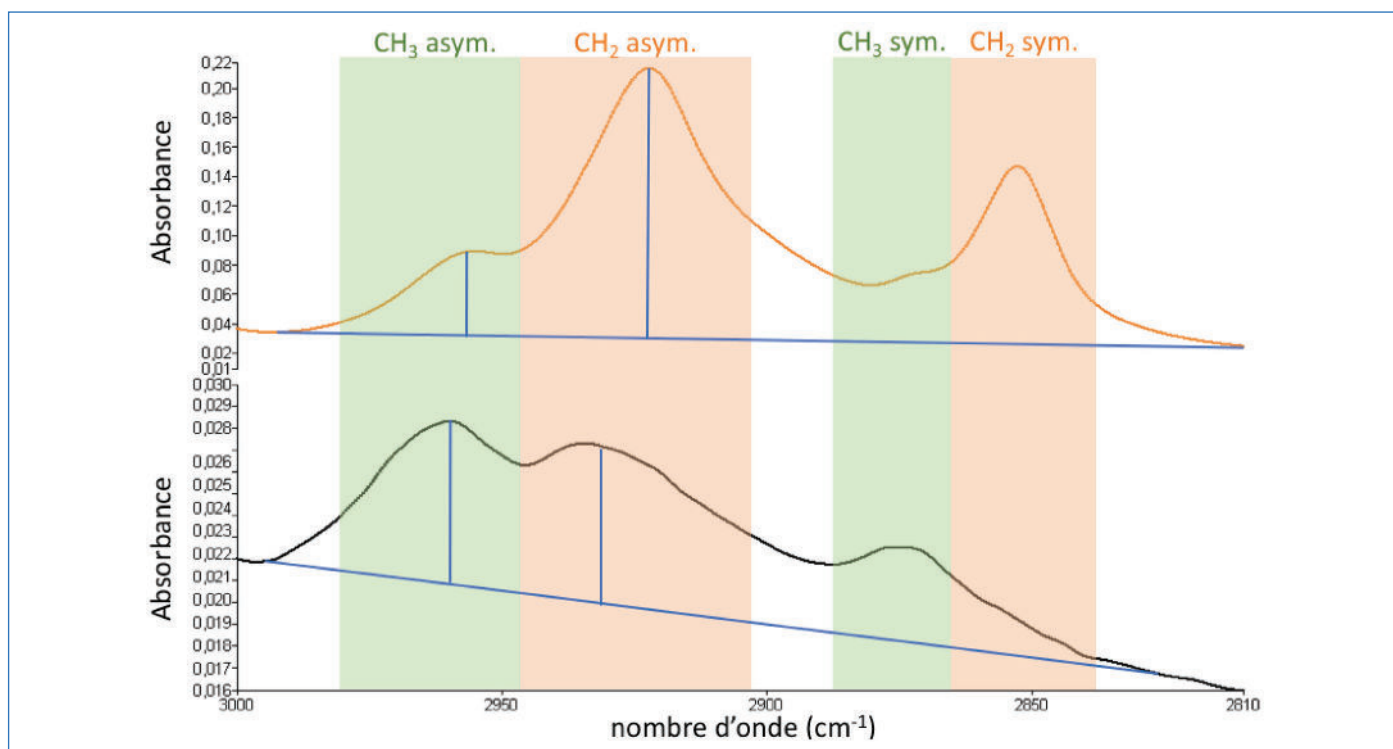


Figure 10 - Mesure des hauteurs en absorbance des bandes CH₂ et CH₃ asymétriques, pour du jaune séché (orange) et du blanc séché (noir).

Nom de la bande	Hauteurs en absorbance du jaune d'œuf séché (nombre d'onde du maximum)	Hauteurs en absorbance du blanc d'œuf séché (nombre d'onde du maximum)
CH ₂ antisymétrique	0,18 (2 922 cm ⁻¹)	0,0065 (2 933 cm ⁻¹)
CH ₃ antisymétrique	0,054 (2 956 cm ⁻¹)	0,0064 (2 960 cm ⁻¹)
Rapport « CH₂/CH₃ »	3,3	1,0

Tableau II - Hauteurs en absorbance des bandes CH₂ et CH₃ et détermination du rapport « CH₂/CH₃ ».

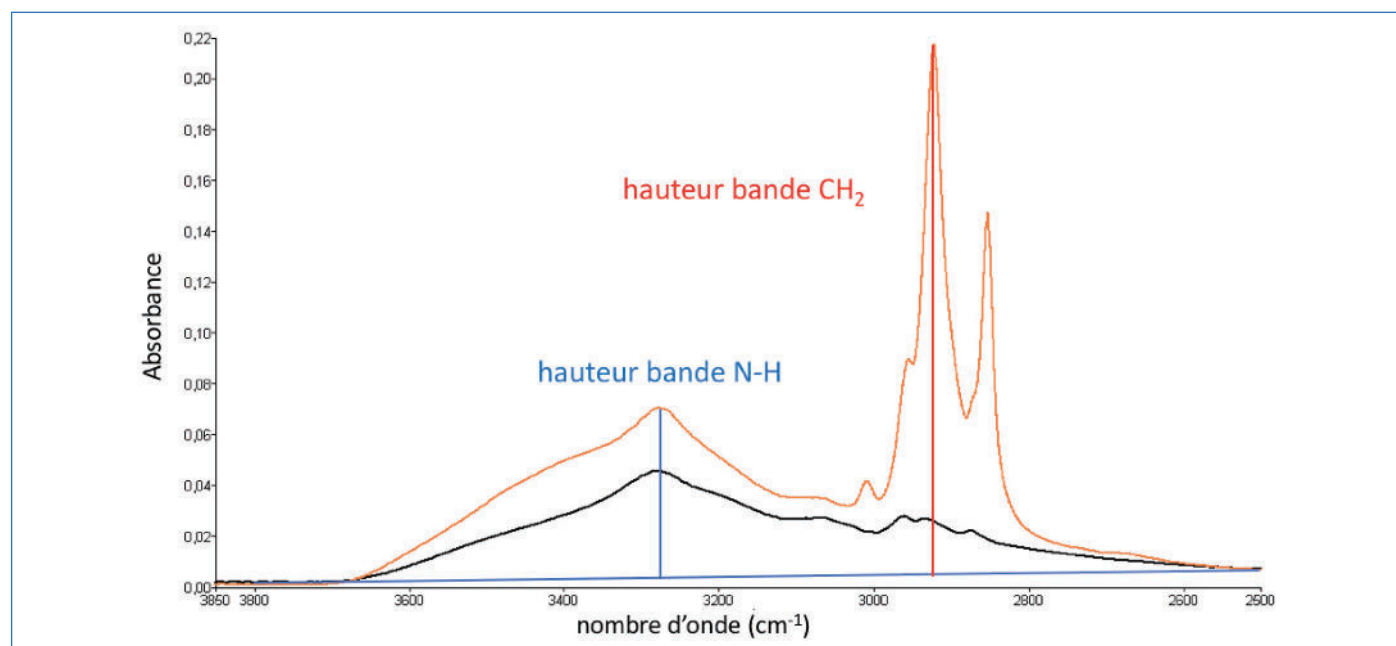


Figure 11 - Mesure des hauteurs en absorbance des bandes N-H et CH₂, pour du jaune séché (orange) et du blanc séché (noir).

Bandes CH₂ et N-H

Considérant que le fragment CH₂ est essentiellement dû aux longues chaînes carbonées des lipides et la liaison N-H est principalement retrouvée dans les protéines, le rapport de

l'absorbance de la bande CH₂ antisymétrique par celle de la bande N-H reflète aussi la proportion « lipides/protéines » (figure 11 et tableau III). Dans ce cas, la définition d'une ligne de base commune aux deux spectres est adaptée. Le rapport

Nom de la bande	Hauteurs en absorbance du jaune d'œuf séché (nombre d'onde du maximum)	Hauteurs en absorbance du blanc d'œuf séché (nombre d'onde du maximum)
CH ₂ antisymétrique	0,22 (2 922 cm ⁻¹)	0,027 (2 933 cm ⁻¹)
N-H (amide A)	0,071 (3 277 cm ⁻¹)	0,043 (3 277 cm ⁻¹)
Rapport « CH₂/N-H »	3,1	0,63

Tableau III - Hauteurs en absorbance des bandes NH et CH₂ et détermination du rapport « CH₂/N-H ».

« lipides/protéines » apparaît toujours largement en faveur du jaune d'œuf. À noter que l'absorbance due à la bande N-H est surestimée en raison de la superposition à la bande O-H, ce qui rend le rapport « CH₂/N-H » certainement moins fiable que celui « CH₂/CH₃ » pour estimer la teneur lipidique ou protéique d'un compartiment.

Les différents compartiments de l'œuf (coquille, membrane coquillière, blanc, jaune) ont été analysés par spectroscopie IR, mettant en lumière des signatures spécifiques très différentes. La proportion « lipides/protéines » a été estimée par des rapports d'absorbances de bandes caractéristiques de ces deux types de biomolécules, illustrant le caractère très riche en lipides du jaune d'œuf. La relative simplicité de la préparation des échantillons et de l'acquisition/exploitation des spectres se prête à une mise en œuvre par des élèves au cours de séances expérimentales ou peut faire l'objet d'un projet de TIPE.

L'auteur remercie vivement Christophe Sandt, scientifique sur la ligne SMIS (synchrotron SOLEIL), pour sa relecture avisée et les précieux échanges concernant la signature IR des biomolécules.

* L'annexe est téléchargeable librement sur www.lactualitechimique.org (page liée à cet article).

[1] S. Clède, Dosage par spectroscopie infrarouge - Méthodologie pour établir une courbe d'étalonnage - Application à la détermination d'un coefficient de partage, *Bull. Un. Prof. Phys. Chim.*, **2021**, 115, p. 219-232.

[2] A.R. Davis, B.G. Oliver, A vibrational-spectroscopic study of the species present in the CO₂-H₂O system, *J. Sol. Chem.*, **1972**, 1(4), p. 329-339.

[3] F. Farcas, P. Touzé, La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) : une méthode intéressante pour la caractérisation des ciments, *Bull. Lab. Ponts et Chaussées*, **2001**, 230, p. 77-88.

[4] Y. Nis *et al.*, Structure, propriétés et minéralisation de la coquille de l'œuf : rôle de la matrice organique dans le contrôle de sa fabrication, *INRA Prod. Anim.*, **2010**, 23(2), p. 143-154.

[5] A. Barth, Infrared spectroscopy of proteins, *Biochim. Biophys. Acta*, **2007**, 1767(9), p. 1073-1101.

[6] K. Cluff *et al.*, Determination of yolk contamination in liquid egg white using Raman spectroscopy, *Poultry Science*, **2016**, 95, p. 1702-1707.

[7] T. G. Kudre *et al.*, Comparative study on physicochemical and functional properties of egg powders from Japanese quail and white Leghorn chicken, *Inter. Journ. Food Prop.*, **2018**, 21(1), p. 957-972.

[8] J.J. Max, C. Chapados, Isotope effects in liquid water by infrared spectroscopy. III. H₂O and D₂O spectra from 6000 to 0 cm⁻¹, *J. Chem. Phys.*, **2009**, 131, p. 42-47.

[9] M.H. Latif *et al.*, Quantification of the components of the Iraqi chicken wet egg yolk, and characterization of lecithin, *Chem. Mater. Res.*, **2014**, 6, p. 42-47.

[10] F.M. Goni, J.L.R. Arrondo, A study of phospholipid phosphate groups in model membranes by Fourier transform infrared spectroscopy, *Faraday Discuss. Chem. Soc.*, **1986**, 81, p. 117-126.

[11] C. Génin, Présentation des spectres infrarouges, *Bull. Un. Prof. Phys. Chim.*, **2019**, 113, p. 185-190.

[12] S. Clède, C. Policar, C. Sandt, Fourier transform infrared (FT-IR) spectromicroscopy to identify cell organelles: correlation with fluorescence staining in MCF-7 breast cancer cells, *Appl. Spectr.*, **2014**, 68, p. 113-117.

[13] S. Clède *et al.*, Influence of the side-chain length on the cellular uptake and the cytotoxicity of rhenium tricarbonyl derivatives: a bimodal infrared and luminescence quantitative study, *Chem. Eur. J.*, **2014**, 20, p. 8714-22.

Sylvain CLÈDE,

Docteur en chimie biophysique, professeur agrégé de chimie en classes préparatoires, Lycée Stanislas (Paris).

* sylvain.clede@ac-paris.fr

45
Sc
21
Culture
sciences
Chimie

1794
ENS
MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

Site de ressources en **Chimie** pour les enseignants

Thèmes en lien avec les **PROGRAMMES D'ENSEIGNEMENT**

Contenu validé par des **CHERCHEURS**

Articles, Vidéos, Diaporamas

AGENDA, ACTUALITÉS

événements, conférences, parutions scientifiques...

http://culturesciences.chimie.ens.fr

Complément à l'article « De la coquille au jaune : une étude infrarouge d'un œuf », par S. Clède (*L'Act. Chim.*, 2022, 478, p. 40)

La spectroscopie infrarouge : une technique analytique puissante

Principe

La gamme du rayonnement infrarouge (IR) correspond à des fréquences proches de 10^{14} Hz, soit de l'ordre de grandeur des fréquences de vibration des liaisons moléculaires. Ces fréquences correspondent à des nombres d'onde σ ($= 1/\lambda$) compris entre $400\text{-}4\,000\text{ cm}^{-1}$. Par analogie avec la mécanique classique, une liaison covalente A-B est assimilée à un ressort dont le nombre d'onde de résonance est relié aux paramètres du ressort par la loi de Hooke (figure 1).

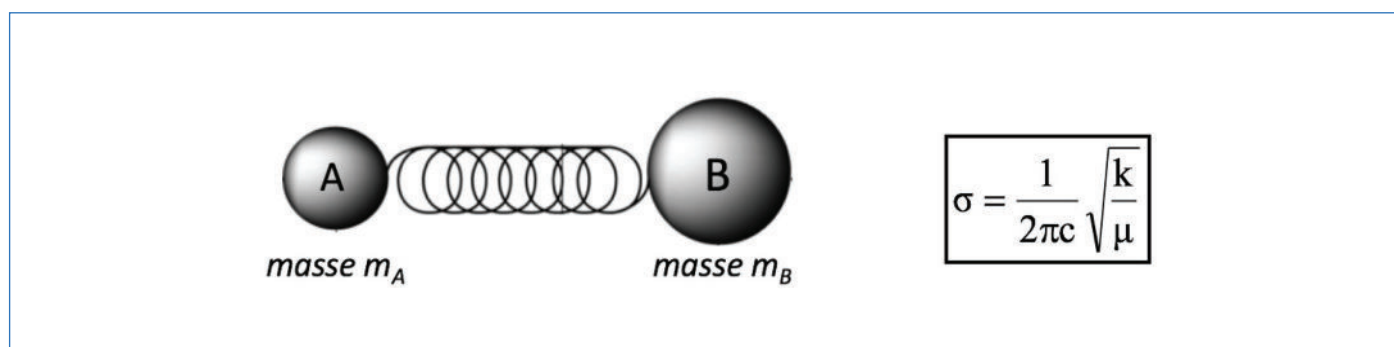


Figure 1 - Liaison covalente modélisée par un ressort et loi de Hooke (nombre d'onde σ/m^{-1} , masse réduite μ/kg ($\mu = m_A m_B / (m_A + m_B)$), célérité de la lumière dans le vide $c/\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, constante de raideur de la liaison $k/\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$).

Chaque liaison présente un nombre d'onde de résonance σ qui lui est propre, l'énergie correspondante étant $E = h\nu = h.c/\lambda = h.c.\sigma$. La spectroscopie IR est une spectroscopie d'absorption : si un rayonnement d'énergie adaptée E est envoyé sur l'échantillon, il sera absorbé, témoignant de la présence de cette liaison dans le milieu étudié. Pour être actif en IR, un mode de vibration doit également engendrer une variation du moment dipolaire de la molécule [1-2].

La spectroscopie IR est ainsi largement utilisée à des fins de reconnaissance de fonctions, permettant notamment de valider des structures obtenues en chimie organique.

Spectre IR

La figure 2(a) présente le spectre IR de l'éthanol, mettant en évidence la bande de vibration d'élongation de la liaison O-H vers $3\,300\text{ cm}^{-1}$ et les bandes de vibration d'élongation symétriques et antisymétriques des fragments CH_2 et CH_3 vers $2\,900\text{ cm}^{-1}$. En figure 2(b), le spectre IR de l'acétone présente notamment la bande de vibration d'élongation de la liaison C=O vers $1\,710\text{ cm}^{-1}$. Les bandes relevées pour des nombres d'onde inférieurs à $1\,500\text{ cm}^{-1}$ constituent l'« empreinte digitale » de la molécule. Cette zone est souvent non exploitée en chimie organique car l'attention est généralement portée sur les modes d'élongation des liaisons introduites ou converties au cours d'une étape de synthèse, comme les liaisons C=C, C=O ou O-H. L'empreinte digitale est cependant riche d'informations et peut s'avérer très utile pour une caractérisation précise de structures complexes du vivant. On y relève des signaux associés aux modes de vibration de déformation du squelette carboné et de nombreux modes d'élongation de liaisons simples (C-O, C-N, N-O...) ou doubles (S=O, P=O...). Certains sont analysés dans la présente étude d'un œuf (voir l'article).

Le spectrophotomètre IR utilisé dans cette étude est le modèle « Spectrum 2 » commercialisé par Perkin Elmer, en acquisition par réflexion totale atténuée (ou « attenuated total reflectance », ATR).

[1] R. Poilblanc, F. Crasnier, *Spectroscopies infrarouge et Raman*, EDP Sciences, Collection Grenoble Sciences, 2006.

[2] L. Servant, G. Le Bourdon, T. Buffeteau, *Comprendre la spectroscopie IR : principes et mise en œuvre*, Photoniques, mai-juin 2011, 53.

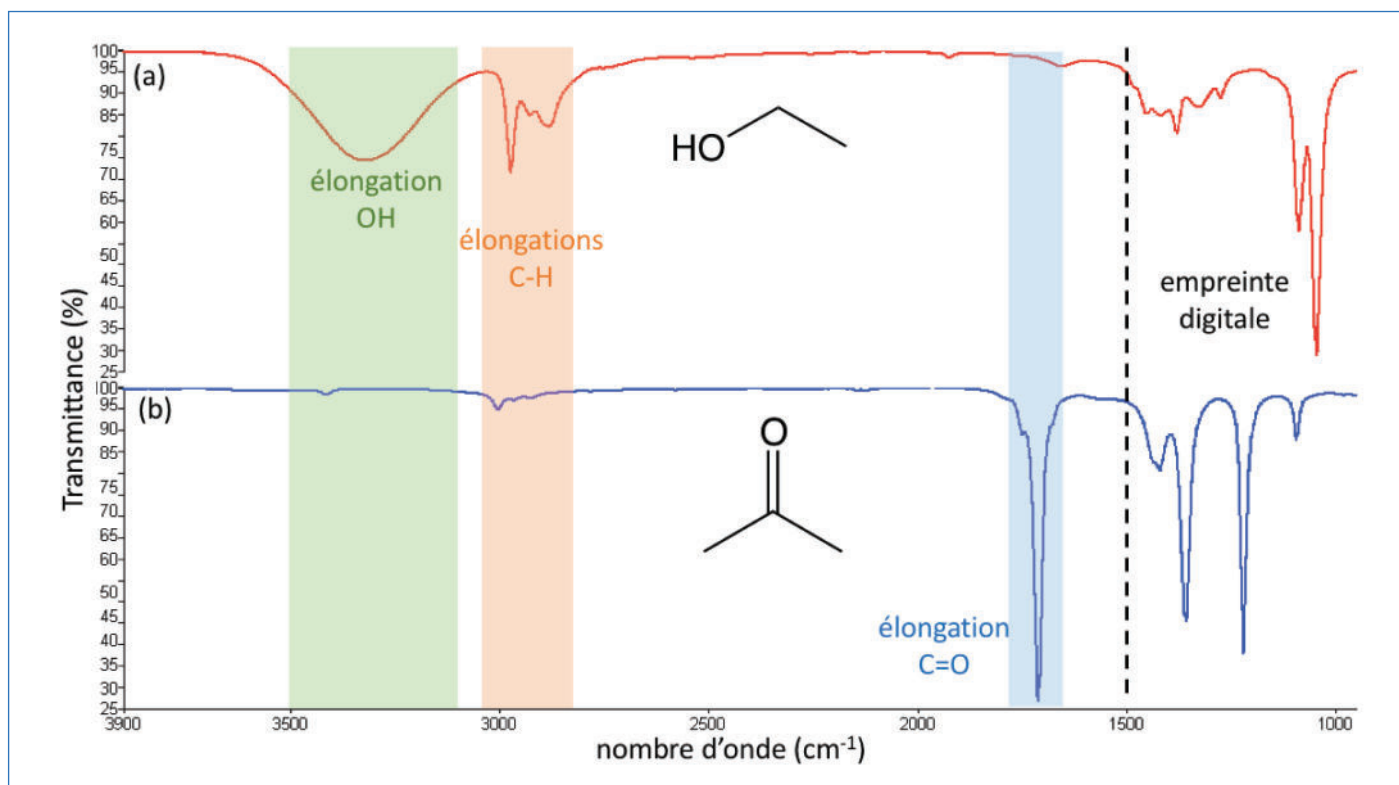


Figure 2- Spectres IR de l'éthanol (a) et de l'acétone (b).