



HAL
open science

Emulsions de Pickering stabilisées par des poudres végétales : propriétés et rôle des paramètres de composition et de formulation

Cécile Joseph

► **To cite this version:**

Cécile Joseph. Emulsions de Pickering stabilisées par des poudres végétales : propriétés et rôle des paramètres de composition et de formulation. Chimie-Physique [physics.chem-ph]. Université de Bordeaux, 2018. Français. NNT : 2018BORD0313 . tel-02078469

HAL Id: tel-02078469

<https://theses.hal.science/tel-02078469>

Submitted on 25 Mar 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Physico-Chimie de la Matière Condensée

Par Cécile JOSEPH

**Emulsions de Pickering stabilisées par des poudres
végétales : propriétés et rôle des paramètres de
composition et de formulation**

Sous la direction de Chrystel FAURE et Fernando LEAL-CALDERON

Soutenue le 7 Décembre 2018

Membres du jury :

Mme. Isabelle CAPRON
Mme. Isabelle PEZRON
M. Hervé DELEUZE
M. Aris XENAKIS
Mme. Chrystel FAURE
M. Fernando LEAL-CALDERON
M. Didier PINTORI
Mme. Nathalie VOUILLON

Directeur de Recherche, INRA
Professeur, UTC
Maître de Conférence, Université de Bordeaux
Directeur de Recherche, IBMCB, Athènes, Grèce
Professeure, Bordeaux INP
Professeur, Bordeaux INP
Docteur-Ingénieur, ITERG
Docteur, SAS PIVERT

Rapporteur
Rapporteur
Examinateur
Président du jury
Directrice de thèse
Directeur de thèse
Invité
Invitée

Remerciements

Ce mémoire décrit les résultats d'un travail de thèse effectué à l'Institut de chimie et de biologie des membranes et des nano-objets (CBMN) au sein de l'équipe CLIP'IN et sous la direction de Mme Chrystel Faure et Mr Fernando Leal-Calderon.

Je souhaite dans un premier temps remercier les membres du jury : Mr Aris Xenakis, qui m'a fait l'honneur de présider le jury, Mme Isabelle Capron et Mme Isabelle Pezron, qui ont accepté le rôle de rapporteur, Mr Hervé Deleuze, examinateur, ainsi que Mme Nathalie Vouillon et Mr Didier Pintori qui étaient présents en tant que membres invités. Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail et d'avoir initié de pertinentes discussions.

Je tiens à remercier très chaleureusement Mme Chrystel Faure et Mr Fernando Leal-Calderon. Merci pour votre disponibilité, vos encouragements et votre encadrement toujours bienveillant qui m'a permis d'évoluer tout au long de ces trois années de thèse. Ce sujet nous a conduits vers des échanges passionnants et ce fut un plaisir de travailler avec vous.

Je remercie l'institut PIVERT qui a financé ce travail, ainsi que Mr Jérôme Le Nôtre, coordinateur du programme de recherche Genesys et du projet VALCEM.

Merci à l'ITERG, Institut des Corps Gras, partenaire du projet. Je suis particulièrement reconnaissante envers Mr Didier Pintori, Mme Karine De Sousa et Mme Emilie Dupas pour leur disponibilité et leurs précieuses et nombreuses contributions concernant les tourteaux, les huiles utilisées ainsi que leurs analyses.

Ce projet a également impliqué plusieurs membres de l'équipe CLIP'IN. Un grand merci à Mme Maud Cansell, Mme Raphaëlle Savoie, Mme Christelle Harscoat-Schiavo et Mme Pascale Subra-Paternault pour leur aide, leur temps et leur accompagnement tout au long du projet, que ce soit en terme de discussions et/ou de travaux au laboratoire. Merci de m'avoir permis de bénéficier de vos expertises respectives et de vos précieux conseils. Un grand merci également à Mr Julien Monteil, qui ne compte jamais son temps pour résoudre tous les problèmes imaginables (et inimaginables), quelle que soit leur nature. Merci aux stagiaires que j'ai eu la chance d'encadrer et qui ont activement participé à ce travail : Mlle Emeline Tillemont et Mlle Elsa Samson.

Merci également à l'ensemble des membres de l'équipe CLIP'IN et, plus largement du laboratoire, que j'ai plus ou moins longtemps croisés avec grand plaisir : Christine, Laurence, Dimitri, Marie, Pilar, Faber, Anthony, Vanessa, Christelle... Je tiens également à remercier les membres de l'équipe administrative du CBMN.

Lucie, Rita et Mathilde, merci pour ces trois années à vos côtés, pour ces moments inoubliables dans l'open-space, en congrès, derrière une raclette ou dans un escape game ! Votre soutien et vos encouragements au jour le jour ont été précieux et indispensables, tout comme nos moments en dehors du laboratoire.

Merci à Christelle pour ces heures partagées sur la rocade, sur les petites routes de campagne et parfois même sur la bande d'arrêt d'urgence ... ! Merci pour ta bonne humeur qui rend tout plus facile, même le réveil du matin !

Merci à Ophélie, Stéphanie et Elodie pour ces années à l'école d'ingénieur et pour la suite, et merci à Audrey et Anne pour ces midis entre doctorantes bordelaises.

Je voudrais également remercier toutes celles avec qui je partage ces heures de danse, en particulier Pascale, qui me permet depuis toutes ces années de m'épanouir en dehors du cadre professionnel et de m'apporter un équilibre indispensable.

Un grand merci à toute ma famille ainsi qu'à ma belle-famille pour leurs encouragements et leur écoute. Merci à mes parents et mes sœurs adorées qui ont toujours été là et sans qui la vie serait bien triste.

Enfin, bien qu'il soit difficile de rendre compte de toute ma reconnaissance, je remercie Quentin pour ces années de soutien inconditionnel.

Table des matières

Introduction.....	1
I. Concepts généraux.....	7
1. Physico-chimie des interfaces.....	7
1.1. Les émulsions.....	7
1.2. Mécanismes de déstabilisation des émulsions	8
1.2. a) Le mûrissement d'Ostwald.....	8
1.2. b) La coalescence	9
1.3. Rapprochement des gouttes	9
1.3. a) Le mouvement brownien.....	10
1.3. b) Les forces gravitationnelles.....	10
1.3. c) La floculation.....	11
1.4. Stratégies de stabilisation.....	14
1.4. a) Diminution de la mobilité des gouttes.....	14
1.4. b) Augmentation de la répulsion entre les gouttes : protection électrostatique.....	15
1.4. c) Augmentation de la répulsion entre les gouttes : protection stérique.....	16
1.4. d) Adsorption de composés amphiphiles.....	16
1.4. e) Adsorption de particules colloïdales	25
2. Les émulsions stabilisées par des particules colloïdales– état de l'art.....	31
2.1. Règles empiriques de formulation	31
2.2. Emulsions stabilisées par des particules d'origine naturelle.....	33
2.2. a) Particules dérivées de lipides ou de composés liposolubles.....	35
2.2. b) Particules dérivées de polysaccharides	35
2.2. c) Particules dérivées de protéines.....	36
2.2. d) Particules complexes, non modifiées et/ou non purifiées	37
2.3. Applications et matériaux accessibles.....	37
2.3. a) Emulsions de Pickering comme intermédiaires	38
2.3. b) Capsules et vecteurs de molécules	38
2.3. c) Les polyHIPEs.....	39
2.3. d) Les Bijels.....	39
2.3. e) Les gouttes sèches	40
3. Les émulsions sèches	41
3.1. Les différents états de l'eau	41
3.2. La déshydratation.....	41
3.2. a) Déshydratation par sublimation : lyophilisation	42
3.2. b) Déshydratation par évaporation et entraînement à l'aide d'un courant de gaz chaud et sec : atomisation.....	43

3.3.	Propriétés des poudres obtenues par déshydratation.....	45
3.3. a)	Morphologies.....	45
3.3. b)	Forces interparticulaires.....	46
3.3. c)	Réhydratation.....	47
3.4.	Additifs de séchage.....	49
3.4. a)	Matériaux de paroi.....	49
3.4. b)	Sucres : cas du lactose.....	49
4.	L'oxydation des lipides.....	51
4.1.	Initiation.....	52
4.2.	Propagation.....	53
4.3.	Terminaison.....	55
4.4.	Cinétique globale de l'oxydation des lipides.....	56
4.5.	Les antioxydants.....	57
4.5. a)	Mécanismes généraux des antioxydants.....	57
4.5. b)	Les antioxydants naturels.....	58
4.6.	Oxydation des lipides en émulsion huile-dans-eau.....	60
4.6. a)	Rôle des deux phases et de leur composition.....	60
4.6. b)	Rôle de l'interface.....	62
4.7.	Oxydation des lipides dans des émulsions sèches.....	64
5.	Questions abordées et objectifs.....	66
II.	Matériels et méthodes.....	81
1.	Préparation et caractérisation des poudres végétales.....	81
1.1.	Origine et préparation des poudres végétales.....	81
1.2.	Broyage.....	83
1.3.	Quantification et caractérisation de la fraction soluble.....	84
1.3. a)	Quantification.....	84
1.3. b)	Dosages de composés hydrosolubles.....	84
1.4.	Distribution des tailles de particules dans les poudres végétales.....	88
1.5.	Taux de cendres.....	91
2.	Fabrication des émulsions.....	91
2.1.	Rotor-stator (Ultra-Turrax® - UT).....	92
2.2.	Ultrasons (US).....	93
2.3.	Homogénéisation haute pression (HHP).....	95
3.	Techniques d'observation et de caractérisation des émulsions.....	96
3.1.	Observations microscopiques.....	96
3.1. a)	Microscopie optique.....	96
3.1. b)	Microscopie de fluorescence.....	97
3.2.	Granulométrie laser.....	98

3.3.	Taux d'ancrage.....	101
3.4.	Composition de la phase aqueuse	102
4.	Séchage des émulsions.....	102
4.1.	Lyophilisation	102
4.2.	Atomisation.....	103
5.	Caractérisations du séchage des émulsions.....	104
5.1.	Caractérisations des émulsions sèches.....	104
5.1. a)	Teneur en eau résiduelle.....	104
5.1. b)	Masse volumique apparente.....	104
5.1. c)	Microscopie	104
5.1. d)	Taux de matières grasses.....	104
5.2.	Caractérisations des émulsions sèches réhydratées	104
5.2. a)	Réhydratation des émulsions sèches	104
5.2. b)	Caractérisations des émulsions sèches réhydratées.....	105
6.	Caractérisation de l'oxydation des lipides dans les émulsions et émulsions sèches	105
6.1.	Vieillessement accéléré	105
6.2.	Extraction de l'huile.....	106
6.3.	Mesure de l'absorbance des diènes conjugués.....	106
6.4.	Corrélation indice de peroxyde-diènes conjugués	107
6.5.	Influence de la présence des particules végétales sur l'absorbance à 233 nm.....	108
6.6.	Dosages des composés antioxydants.....	109
6.6. a)	Dosages dans les phases aqueuses.....	109
6.6. b)	Dosage dans l'huile.....	110
III.	Emulsions stabilisées par de la poudre de cacao.....	113
1.	Introduction	113
2.	La poudre de cacao	115
3.	Influence du procédé.....	118
3.1.	Influence de la technique d'émulsification sur les particules	118
3.2.	Influence de la technique d'émulsification sur les propriétés des émulsions	123
3.3.	Effet de la pression d'homogénéisation	129
3.4.	Influence d'un pré-broyage du cacao.....	132
3.4. a)	Caractéristiques des particules de cacao broyées	132
3.4. b)	Impact d'un pré-broyage du cacao sur les propriétés des émulsions fabriquées par homogénéisation à haute pression	133
3.4. c)	Impact d'un pré-broyage du cacao sur les propriétés des émulsions fabriquées par Ultra-Turrax®	134
4.	Rôle de la fraction soluble dans la stabilisation.....	135
5.	Rôle des particules fines dans la stabilisation.....	137

6. Influence de la quantité de cacao et d'huile : coalescence limitée	140
6.1. Evolution du diamètre des gouttes en fonction de la masse de particules, à fraction d'huile constante	141
6.2. Evolution du diamètre des gouttes en fonction du volume d'huile, à masse de particules constante	145
7. Etude du pouvoir antioxydant de la poudre de cacao	147
7.1. Cinétique d'oxydation de l'huile de lin.....	148
7.2. Influence du procédé d'émulsification sur l'oxydation de l'huile de lin et la composition en antioxydants.....	150
7.3. Cinétique d'oxydation de l'huile de lin dans l'émulsion stabilisée par le cacao	150
8. Résumé des résultats du chapitre III.....	154
Annexe.....	159
IV. Emulsions stabilisées par des poudres végétales : influence de la nature des poudres.....	161
1. Introduction	161
2. Composition des poudres végétales	162
3. Influence de la technique d'émulsification	165
3.1. Influence de la technique d'émulsification sur les particules	165
3.2. Influence de la technique d'émulsification sur les propriétés des émulsions	167
3.3. Influence de la pression d'homogénéisation.....	172
4. Rôle de la fraction soluble	174
5. Régime de coalescence limitée.....	177
5.1. Cas du tourteau de colza	178
5.2. Cas des coques de lupin	181
6. Etude du pouvoir antioxydant du tourteau de colza.....	182
6.1. Cinétiques d'oxydation de l'huile de lin en phase continue en présence de colza	183
6.1. Influence du procédé d'émulsification sur l'oxydation de l'huile de lin et la composition en antioxydants.....	185
6.2. Cinétique d'oxydation de l'huile de lin dans l'émulsion stabilisée par le colza.....	187
7. Résumé des résultats du chapitre IV	190
Annexe.....	193
V. Déshydratation d'émulsions stabilisées par des particules végétales : fabrication d'émulsions sèches redispersables	195
1. Introduction	195
2. Emulsions mères.....	196
2.1. Montée en échelle du procédé de fabrication : caractéristiques des émulsions.....	196

2.2.	Implication de la fraction soluble.....	198
2.3.	Choix des paramètres et influences sur les émulsions mères.....	199
2.3. a)	Proportion huile / matériel stabilisant	199
2.3. b)	Lactose	200
2.3. c)	Origine de la poudre végétale.....	203
3.	Emulsions déshydratées : caractérisation des poudres.....	204
3.1.	Influence de la technique de déshydratation.....	206
3.2.	Influence du lactose	208
3.3.	Influence de la nature de la poudre végétale stabilisant l'émulsion mère	209
4.	Emulsions sèches réhydratées : comparaison avec les émulsions mères.....	210
4.1.	Influence de la technique de déshydratation.....	211
4.2.	Influence de la teneur en lactose	213
4.3.	Proportion huile / matériel stabilisant.....	215
4.4.	Influence de l'origine de la poudre végétale.....	216
5.	Nature de l'huile : huile de lin et beurre de cacao	218
6.	Stabilité des formulations	220
6.1.	Stabilité physique des émulsions sèches et des émulsions réhydratées.....	220
6.2.	Stabilité des émulsions sèches vis-à-vis de l'oxydation	223
7.	Résumé des résultats du chapitre V	228
	Annexe.....	232
	Conclusion générale	233

Valorisation des travaux de thèse

Article publié :

Joseph, C., Savoire, R., Harscoat-Schiavo, C., Pintori, D., Monteil, J., Leal-Calderon, F., Faure, C. (2018). O/W Pickering emulsions stabilized by cocoa powder: Role of the emulsification process and of composition parameters. Food Research International.

Article soumis :

Joseph, C., Savoire, R., Harscoat-Schiavo, C., Pintori, D., Monteil, J., Faure, C., Leal-Calderon, F. Preparation of redispersable dry emulsions stabilized by plant material. Journal of Food Engineering.

Brevets :

Procédé de préparation d'émulsions de Pickering à partir de particules biosourcées.

Date dépôt : 07/07/2017 - FR1756459 / EP2018068397

Procédé de préparation d'émulsions sèches à partir de particules biosourcées.

Date dépôt : 07/07/2017 - FR1756451 / EP2018068400

Communications orales :

05/03/2017 : Journée de l'Ecole Doctorale des Sciences Chimiques – Bordeaux - Poster

30/07/2018 : Journées scientifiques du CBMN –Bordeaux - Poster

9-10/10/2018 : Club Emulsion – Nantes – Présentation orale

Introduction

Les émulsions sont des mélanges homogènes de deux phases liquides non miscibles telles que l'eau et l'huile. L'une d'elles, la phase dispersée, est finement divisée sous forme de gouttes dans la seconde, la phase continue. Le diamètre de ces gouttes varie de 0,1 à quelques dizaines de micromètres selon les conditions de fabrication. Les émulsions peuvent être de type huile-dans-eau (H/E), eau-dans-huile (E/H) ou multiples (ex : E/H/E). L'état le plus stable d'un point de vue thermodynamique n'est cependant pas cet état dispersé mais l'état démixé dans lequel les deux phases sont macroscopiquement séparées. Ces systèmes sont dits « métastables » de par leur aptitude à exister durablement dans un état de non-équilibre. Le retour vers l'état démixé, bien qu'inéluctable, est retardé par la présence d'additifs amphiphiles, c'est-à-dire des espèces ayant une affinité pour les deux milieux non miscibles. En s'adsorbant aux interfaces entre les 2 phases, ces espèces encore appelées « émulsifiants » ou « tensioactifs », facilitent la fabrication et stabilisent les émulsions d'un point de vue cinétique. Les molécules amphiphiles sont largement employées dans les industries agroalimentaires (mayonnaises, vinaigrettes, crèmes glacées etc.), cosmétique (crèmes, laits, mousses, etc.) et du revêtement (peintures, bitumes etc.). La gamme d'émulsifiants disponibles est large quel que soit le secteur applicatif, et permet de multiples améliorations des produits. La préparation est facilitée, la stabilité physique prolongée et les textures accessibles sont nombreuses (gels, mousses etc.).

Ces additifs amphiphiles peuvent être d'origine naturelle ou synthétique, de taille moléculaire ou macromoléculaire (polymères, protéines). Des particules solides amphiphiles, nano ou micrométriques, peuvent également stabiliser des émulsions. Les systèmes qui en résultent portent le nom du chercheur les ayant mentionnées pour l'une des premières fois au début du XX^{ème} siècle : les émulsions de Pickering (Pickering, 1907). Ramsden avait également observé ce type de stabilisation quelques années plus tôt (Pickering, 1907; Ramsden, 1903). Ces émulsions ont peu été étudiées et exploitées par la suite mais ont fait l'objet d'un regain d'intérêt considérable depuis quelques dizaines d'années en raison de leurs propriétés singulières. L'adsorption irréversible des particules aux interfaces des gouttes et la rigidité des couches adsorbées rendent ces émulsions très stables et donnent accès à des matériaux et des textures inédits (Leal-Calderon and Schmitt, 2008). Par exemple, les gouttes

étant recouvertes par une couche de particules solide, il est possible d'éliminer la phase continue pour obtenir des gouttes sèches de phase dispersée (« capsules » d'huile ou d'eau). Les systèmes contenant de l'huile doivent être stabilisés d'un point de vue physique ainsi que chimique. Certaines huiles peuvent en effet subir des phénomènes oxydatifs qui dégradent leur qualité et les rendent impropres à la consommation, notamment dans les domaines de l'alimentation humaine ou animale. Les additifs antioxydants, naturels ou de synthèse, représentent un enjeu au même titre que les émulsifiants. Ils font depuis peu l'objet de nombreuses études relatives à leur toxicité. S'ils ne sont pas tous nocifs, les techniques utilisées pour les synthétiser, les extraire ou les purifier peuvent être coûteuses et impliquer l'utilisation de solvants organiques. Ils sont donc souvent controversés. Le développement de nouvelles stratégies permettant de préparer des émulsions à partir d'additifs 100 % naturels, non toxiques et peu coûteux est un enjeu qui préoccupe de plus en plus les consommateurs et les industriels, quel que soit le secteur applicatif des émulsions. De nombreuses sources végétales contiennent des composés amphiphiles et/ou antioxydants et plusieurs stratégies ont été explorées dans ce sens. Les procédés d'extraction et de purification nécessaires à leur utilisation peuvent cependant limiter leur fonctionnalité, être peu rentables et surtout peu écoresponsables (Carciochi et al., 2017; Naziri et al., 2014; Taarji et al., 2018).

Les huiles végétales sont extraites des graines oléagineuses, comme les graines de tournesol, à l'aide de procédés physiques (pressage) et/ou chimiques (solubilisation de l'huile dans un solvant tel que l'hexane). La matière solide restante est un coproduit appelé « tourteau ». La quantité de tourteau produite par rapport à la quantité d'huile extraite varie en fonction de la graine mais elle est souvent considérable. Par exemple, à partir d'une tonne de graines de soja, 180 kg d'huile sont récupérés pour 800 kg de tourteaux produits (Terres Univia). Dans le cas du colza, cette proportion est de 560 kg de tourteau générés pour l'obtention de 420 kg d'huile de colza. Ces résidus constituent une source végétale valorisable puisqu'ils contiennent, entre autres, des protéines, des antioxydants et des fibres. Mais le fractionnement de ces produits complexes peut s'avérer techniquement complexe et coûteux (Barakat et al., 2015; Carciochi et al., 2017).

Une stratégie alternative consiste à valoriser le tourteau entier. Cette pratique est déjà très courante dans l'alimentation animale. Les tourteaux massivement produits en France (tournesol, colza) ne sont pas les plus intéressants d'un point de vue nutritionnel car ils sont riches en composés indésirables comme les glucosinolates et l'acide érucique (toxiques à hautes teneurs) ou la lignine (ne favorise pas la digestion), et relativement pauvres en

composés nutritionnels comme les protéines. Le tourteau de soja, dont la production en France est relativement limitée, présente une composition plus adaptée. Ce tourteau est donc largement importé et l'utilisation de tourteaux français est comparativement minoritaire (Peyronnet et al., 2014). Les graines protéagineuses comme le pois, la féverole ou le lupin peuvent être données en complément mais la présence de tannins limite leur utilisation en tant que source végétale non fractionnée. Les protéines en sont donc extraites, générant des coproduits riches en fibres très peu valorisés. Très peu de tourteaux sont entièrement réutilisés. Par exemple, après extraction du beurre de cacao, le reste des fèves subit quelques traitements pour devenir la poudre de cacao que nous connaissons et consommons dans les boissons instantanées.

Qu'ils soient valorisés ou non, ces coproduits constituent une source végétale peu chère et riche en composés amphiphiles et antioxydants. L'objectif de ce travail de thèse est de valoriser des poudres végétales entières et très peu transformées pour stabiliser des émulsions huile-dans-eau (H/E) et ralentir l'oxydation de l'huile. La réinsertion des coproduits dans des filières à plus haute valeur ajoutée mettant en œuvre des émulsions pourrait ainsi offrir une alternative biosourcée et économiquement viable aux additifs émulsifiants et/ou antioxydants. Le potentiel applicatif se situe au niveau des systèmes émulsionnés pour l'alimentation humaine ou animale ainsi que la cosmétique. La stabilisation par de telles poudres, généralement hydrophiles et dispersables en phase aqueuse, pourrait de surcroît permettre d'accéder aux multiples avantages des émulsions de Pickering.

Sur le plan scientifique, la stabilisation d'émulsions par des poudres végétales soulève de nombreuses questions quant à leur mode d'adsorption aux interfaces et aux mécanismes de stabilisation physique et chimique. Ces poudres contiennent des fractions solubles et insolubles dans la phase aqueuse. Les éventuels effets synergiques ou compétitifs de ces 2 fractions devront être évalués. Contrairement aux émulsions de Pickering majoritairement étudiées dans la littérature, les particules végétales sont des objets de taille et de forme irrégulière et potentiellement fragmentables sous l'effet d'un cisaillement. Il faut donc s'attendre à un couplage entre la morphologie et/ou la taille des particules et le procédé d'émulsification mis en œuvre.

Ce mémoire est divisé en 5 chapitres.

Le **chapitre I** décrit les concepts généraux utiles dans la suite du manuscrit. Ces concepts concernent la physico-chimie des interfaces, et plus particulièrement les notions relatives à l'adsorption de particules. Une revue des particules d'origine naturelle utilisées

pour stabiliser des émulsions est également proposée ainsi que les limites liées à leur emploi. Quelques travaux et concepts relatifs à la déshydratation des émulsions H/E et à l'oxydation des lipides sont également présentés dans ce chapitre.

Les matériels et méthodes utilisés sont développés au **chapitre II**. Les origines et traitements des poudres végétales utilisées ainsi que les procédés de fabrication et de séchage des émulsions y sont décrits. Les techniques expérimentales mises en œuvre pour la caractérisation de l'oxydation de l'huile sont également précisées.

Les résultats expérimentaux sont présentés dans trois chapitres. Le **chapitre III** décrit la fabrication d'émulsions stabilisées par de la poudre de cacao. Nous proposons dans un premier temps d'évaluer sur une seule poudre végétale l'impact des différents paramètres de formulation et de procédé sur les propriétés des émulsions (taille moyenne des gouttes et stabilité physique). Il s'agit ici de savoir si ces propriétés peuvent être contrôlées et de quelle manière, d'évaluer l'implication des différentes fractions de la poudre et ainsi de proposer des mécanismes de stabilisation. Nous nous attachons notamment à décrire le lien entre la morphologie des particules et la performance des poudres en tant qu'agents émulsionnants et stabilisants et le lien entre la masse totale de particules et le diamètre moyen des gouttes d'émulsion. La cinétique d'oxydation des lipides au sein d'une émulsion à base de cacao est également étudiée.

Le **chapitre IV** évalue l'influence de la nature végétale en comparant des émulsions stabilisées par des poudres d'origines différentes (colza et lupin). L'objectif est d'établir des liens entre les caractéristiques des poudres (notamment fraction soluble et insoluble dans l'eau, taux de protéines) et les propriétés des émulsions au regard des paramètres étudiés au chapitre III. Le caractère antioxydant du tourteau de colza est évalué.

Le **chapitre V** traite du séchage des émulsions dans le but d'obtenir des poudres riches en huile stables, non mottées et redispersables. Les émulsions stabilisées par les poudres végétales sont séchées par lyophilisation ou atomisation, en présence ou non de lactose. Les conditions optimales de séchage sont explorées en comparant l'émulsion mère et l'émulsion séchée réhydratée. Enfin, la stabilité d'une émulsion sèche vis-à-vis de l'oxydation est évaluée dans le cas de formulations à base de poudre de cacao et de tourteau de colza.

La **conclusion** présente un bilan des principaux résultats ainsi que les perspectives d'études relatives aux questions non résolues et aux approfondissements envisageables.

Références :

- Barakat, A., Jérôme, F., Rouau, X. (2015). A Dry Platform for Separation of Proteins from Biomass-Containing Polysaccharides, Lignin, and Polyphenols. *ChemSusChem* 8, 1161–1166.
- Carciochi, R.A., D’Alessandro, L.G., Vauchel, P., Rodriguez, M.M., Nolasco, S.M., Dimitrov, K. (2017). Valorization of Agrifood By-Products by Extracting Valuable Bioactive Compounds Using Green Processes. In *Ingredients Extraction by Physicochemical Methods in Food*, (Elsevier), pp. 191–228.
- Leal-Calderon, F., Schmitt, V. (2008). Solid-stabilized emulsions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 13, 217–227.
- Naziri, E., Nenadis, N., Mantzouridou, F.T., Tsimidou, M.Z. (2014). Valorization of the major agrifood industrial by-products and waste from Central Macedonia (Greece) for the recovery of compounds for food applications. *Food Res. Int.* 65, 350–358.
- Peyronnet, C., Lacampagne, J.-P., Le Cadre, P., Pressenda, F. (2014). Les sources de protéines dans l’alimentation du bétail en France : la place des oléoprotéagineux. *OCL* 21, D402.
- Pickering, S.U. (1907). CXCVI.—Emulsions. *J. Chem. Soc. Trans.* 91, 2001–2021.
- Ramsden, W. (1903). Separation of Solids in the Surface-Layers of Solutions and “Suspensions” (Observations on Surface-Membranes, Bubbles, Emulsions, and Mechanical Coagulation). -- Preliminary Account. *Proc. R. Soc. Lond.* 72, 156–164.
- Taarji, N., Rabelo da Silva, C.A., Khalid, N., Gadhi, C., Hafidi, A., Kobayashi, I., Neves, M.A., Isoda, H., Nakajima, M. (2018). Formulation and stabilization of oil-in-water nanoemulsions using a saponins-rich extract from argan oil press-cake. *Food Chem.* 246, 457–463.
- Terres Univia Tourteaux d’oléagineux - Alimentation animale - Produits/Débouchés - <http://www.terresunivia.fr/produitsdebouches/alimentation-animale/tourteaux-d-oleagineux>.

I. Concepts généraux

1. Physico-chimie des interfaces

1.1. Les émulsions

De nombreux produits alimentaires, cosmétiques ou de revêtements sont des mélanges complexes de plusieurs phases fluides. Elles sont souvent non miscibles, comme l'eau et l'huile dans le cas des émulsions ou l'eau et l'air dans le cas des mousses. Les milieux non miscibles peuvent coexister si la frontière entre les deux, c'est-à-dire l'interface, est stable. L'incompatibilité moléculaire des deux milieux augmente l'énergie libre du système, ΔG (Gibbs, 1931), et cet incrément d'énergie est logiquement proportionnel à la surface de contact entre les deux phases, ΔA , (I-1) :

$$\Delta G = \gamma \cdot \Delta A \quad \text{(I-1)}$$

où γ est la tension interfaciale entre les deux milieux.

La tension interfaciale γ dépend de la nature des deux milieux mis en contact et représente la variation d'énergie induite par une variation de surface. Elle peut être définie indifféremment comme une énergie par unité de surface (J.m^{-2}), ou comme une force par unité de longueur (N.m^{-1}).

La fabrication d'une émulsion implique la dispersion de l'une des phases dans l'autre et la création d'une quantité d'interface importante entre les deux liquides. La sphère étant la géométrie minimisant la surface, la phase dispersée est sous forme de gouttes sphériques dans la phase continue. Leur diamètre caractéristique se situe en général entre une centaine de nanomètres et quelques dizaines de micromètres. Par exemple, la quantité d'interface dans 1 L d'émulsion à 30% en volume de phase dispersée et dont les gouttes ont un diamètre moyen de $1 \mu\text{m}$ est de $1\,800 \text{ m}^2$. Les émulsions ne sont pas à l'équilibre thermodynamique. En effet, dans la majorité des cas (à l'exception des microémulsions), la variation d'entropie qui accompagne le processus de dispersion d'une phase est insuffisante pour compenser

l'énergie de surface. La séparation macroscopique des deux phases, ou démixtion, est donc inévitable et passe par l'augmentation de la taille des gouttes. Les émulsions peuvent toutefois exister durablement, de plusieurs heures à plusieurs dizaines d'années, à l'état dispersé. De tels systèmes sont qualifiés de « métastables ».

1.2. Mécanismes de déstabilisation des émulsions

L'augmentation de la taille des gouttes d'une émulsion induisant le retour vers l'état démixé d'énergie plus faible se produit via deux mécanismes limites : la coalescence et le mûrissement d'Ostwald.

1.2. a) Le mûrissement d'Ostwald

Le mûrissement d'Ostwald survient lorsque la phase dispersée présente une légère solubilité dans la phase continue (Taylor, 1998). L'existence de la tension interfaciale, γ , augmente la pression du liquide confiné dans les gouttes. D'après l'équation de Laplace (I-2), cette surpression est inversement proportionnelle au rayon de la goutte, r . La pression de Laplace est donc plus forte à l'intérieur des petites gouttes.

$$\Delta P = \frac{2\gamma}{r} \quad (\text{I-2})$$

Dans une émulsion au sein de laquelle la taille des gouttes n'est pas homogène, le potentiel chimique dans les petites gouttes est alors plus élevé que celui dans les grosses gouttes. Un transfert de matière a donc lieu des petites vers les grosses gouttes à travers la phase continue. La taille des plus petites gouttes tend à diminuer jusqu'à leur disparition complète au profit des grosses qui deviennent encore plus volumineuses. Dans ce processus, le nombre de gouttes tend à diminuer et leur diamètre moyen à augmenter en fonction du temps selon une loi en $t^{1/3}$ (Kabalnov et al., 1987, 1990). Cette loi de puissance reflète un auto-ralentissement progressif du phénomène. Par ailleurs, en régime asymptotique, la distribution granulométrique devient relativement étroite et auto similaire (les courbes normalisées sont superposables).

1.2. b) La coalescence

Plusieurs modèles sont proposés pour caractériser la coalescence entre deux gouttes (Liao, Lucas, 2010). Cette instabilité se produit lorsque les surfaces des gouttes sont suffisamment proches. Pour cela, le fluide qui sépare les gouttes (la phase continue) doit être évacué par drainage jusqu'à former un film liquide fin de quelques nanomètres d'épaisseur et délimité par les deux interfaces. Le phénomène de drainage met en jeu non seulement les propriétés rhéologiques de la phase continue mais aussi les propriétés des interfaces. En effet, les conditions de glissement de la phase continue sur les interfaces influencent considérablement la vitesse d'évacuation du fluide. Les espèces tensioactives adsorbées peuvent également modifier l'écoulement par le biais d'un effet hydrodynamique appelé effet Marangoni (voir paragraphe 1.4. d)(iv)). Les différentes pressions qui s'exercent à l'intérieur et à l'extérieur du film peuvent évoluer et conduire à son amincissement puis à sa rupture. Un canal est alors formé entre les deux gouttes. Si la relaxation de forme est possible, les gouttes fusionnent sous l'effet de la tension interfaciale. Tout comme le mûrissement d'Ostwald, la coalescence est un processus destructif conduisant à une diminution du nombre de gouttes et à une augmentation de leur diamètre moyen. Par contre, les caractéristiques principales de ces deux instabilités sont opposées : contrairement au mûrissement d'Ostwald, la coalescence s'auto-accélère et la distribution granulométrique des gouttes tend à s'élargir (Leal-Calderon et al., 2007). Les gouttes de gros diamètre coalescent plus rapidement car elles exposent plus de surface de contact avec leurs voisines. En règle générale, la coalescence favorise la croissance de grosses gouttes au détriment des plus petites.

1.3. Rapprochement des gouttes

La coalescence et le mûrissement d'Ostwald sont des processus d'autant plus rapides que la phase dispersée est concentrée. Dans les émulsions dont la fraction volumique de phase dispersée dépasse 64%, les gouttes sont en contact permanent. Dans les émulsions diluées, plusieurs phénomènes peuvent provoquer le rapprochement des gouttes de façon transitoire ou permanente : le mouvement brownien, le crémage ou sédimentation et la floculation.

1.3. a) Le mouvement brownien

Le mouvement brownien est dû à l'agitation thermique des molécules, dont l'énergie est de l'ordre de $k_B T$, où k_B est la constante de Maxwell-Boltzmann et T est la température absolue. Les molécules de la phase continue sont en mouvement permanent et heurtent la surface des gouttes d'émulsion. Ces collisions confèrent aux gouttes un mouvement aléatoire discernable à l'aide d'un microscope optique. Le déplacement quadratique moyen des gouttes évolue proportionnellement à \sqrt{Dt} , où D est le coefficient de diffusion des gouttes, défini à partir de l'équation d'Einstein :

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta_c r} \quad (1-3)$$

où η_c est la viscosité de la phase continue et r est le rayon des gouttes. Le mouvement brownien est d'autant plus intense que les gouttes sont de petite taille et il est généralement admis que ce phénomène est significatif quand leur rayon est inférieur à environ 1 μm . Le mouvement brownien contribue à maintenir l'homogénéité du système, de par sa nature isotrope et aléatoire, ne favorisant aucune direction en particulier. En revanche, ce phénomène contribue à rapprocher et à provoquer la collision des gouttes d'émulsion avec une fréquence d'autant plus importante que leur fraction volumique est élevée.

1.3. b) Les forces gravitationnelles

Les phases dispersée et continue ont généralement des densités différentes. Les forces gravitationnelles peuvent donc avoir une influence sur le système. Si la phase dispersée est plus dense que la phase continue, les gouttes tendent à se concentrer au fond du récipient : c'est la sédimentation. Dans le cas contraire, les gouttes remontent vers la surface et le phénomène correspondant est appelé crémage. Pour une goutte isolée, la vitesse de crémage/sédimentation, v , est donnée par l'équation de Stokes :

$$v = \pm \frac{2r^2(\rho_d - \rho_c)g}{9\eta_c} \quad (1-4)$$

où ρ_d et ρ_c sont les masses volumiques des phases dispersée et continue, respectivement, et g est l'accélération de la pesanteur. L'équation est valable dans la limite d'une goutte infiniment diluée dans la phase continue et dont la trajectoire est rectiligne. Cette dernière hypothèse n'est valable que pour les gouttes peu sensibles au mouvement brownien, de diamètre

nettement supérieur à $1 \mu\text{m}$. Dans les émulsions dont les gouttes ne sont pas agrégées, les interactions hydrodynamiques tendent à réduire la vitesse de crémage/sédimentation. En revanche, dans les émulsions agrégées, les amas se comportent comme des objets de diamètre effectif très supérieur au diamètre de gouttes individuelles et le crémage/sédimentation est alors considérablement accéléré en raison de la dépendance de la vitesse en r^2 .

1.3. c) La floculation

La floculation correspond à un état du système tel que les gouttes ne restent pas dispersées dans la phase continue de manière individuelle mais se regroupent sous forme de grappes ou de réseaux. Les gouttes sont toujours mises en mouvement par l'agitation thermique du système. La persistance des amas dépend donc de l'énergie attractive, U_a , mise en jeu, comparativement à l'énergie thermique. Trois situations sont à considérer :

- $U_a \ll k_B T$: l'énergie attractive est négligeable devant l'énergie thermique ; les gouttes restent à l'état dispersé et il n'y a pas de floculation
- $U_a \approx k_B T$: l'énergie attractive est comparable à l'énergie thermique ; dans ce cas, une goutte piégée dans un amas peut se détacher de cet amas à un instant ultérieur. Autrement dit, l'agrégation est réversible. Il s'instaure une situation d'équilibre avec un échange permanent des gouttes entre la surface des amas et la phase continue.
- $U_a \gg k_B T$: l'énergie attractive est trop forte pour que les gouttes puissent se détacher des amas et l'agrégation est donc irréversible. Les gouttes peuvent le cas échéant former un réseau connecté tridimensionnel (gel colloïdal).

Nous allons à présent décrire les interactions colloïdales généralement responsables des phénomènes de floculation dans les émulsions.

(i) Les forces de Van Der Waals

Les interactions de Van der Waals sont toujours présentes et sont attractives dans le cas de deux corps de même nature. Elles sont dues aux interactions entre dipôles des atomes et molécules qui constituent toute matière. Ces dipôles peuvent être permanents (interaction de Keesom) ou induits, soit par une molécule polaire (interaction de Debye), soit par la fluctuation des nuages électroniques (interactions de London). L'énergie attractive de Van der Waals entre deux objets dispersés peut être calculée en réalisant l'intégrale de toutes les

contributions à l'échelle moléculaire. Pour des sphères de rayon r , séparées d'une distance h de surface à surface, l'énergie est donnée par l'équation suivante (Findenegg, 1986) :

$$U_{vdw} = -\frac{Ar}{12h} \quad (I-5)$$

où A est la constante dite de Hamaker ($10^{-21}\text{J} \ll A \ll 10^{-19}\text{J}$) caractéristique du couple phase dispersante/phase dispersée. La portée caractéristique de cette interaction est de l'ordre de quelques nanomètres. On notera que l'interaction devient infiniment attractive au contact des objets ($h=0$). Pour éviter leur agrégation irréversible, il est nécessaire de générer entre les surfaces une interaction répulsive dont la portée est plus importante que celle de l'interaction de Van der Waals. Ce point sera évoqué au niveau du paragraphe 1.4.

(ii) *Les forces de déplétion*

Les forces de déplétion sont dues à la coexistence des gouttes d'émulsion de rayon r avec des petits objets non adsorbés tels que des polymères, des protéines ou des micelles de tensioactif de rayon a , en excès dans la phase continue (voir le paragraphe 1.4. d). Ces objets uniformément répartis dans le système sont non seulement plus petits que les gouttes d'émulsion ($a \ll r$) mais également bien plus nombreux. Ainsi, les petits objets exercent sur les gouttes une pression osmotique. Cette pression est isotrope lorsque les gouttes sont suffisamment éloignées. En revanche, lorsque celles-ci s'approchent à une distance inférieure à $2a$, il se crée alors une zone de volume exclu dans laquelle les petits objets ne peuvent plus pénétrer. Il en résulte une zone de pression non compensée, dite zone de déplétion, qui tend à coller les gouttes d'autant plus fortement que les petits objets sont nombreux (Figure I-1). Le potentiel attractif au contact dépend du rapport de tailles entre les deux populations et s'écrit (Asakura, Oosawa, 1958; Bibette, 1990):

$$U_{déplétion} = -\frac{3}{2}k_B T \phi_p \frac{r}{a} \quad (I-6)$$

où ϕ_p est la fraction volumique des petits objets. Cette expression est une approximation valable dans la limite $a \ll r$.

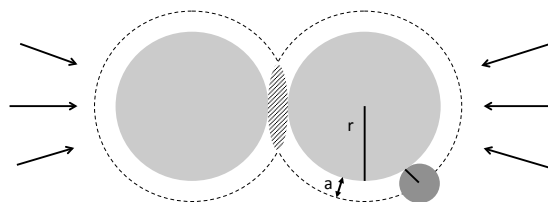


Figure I-1 Flocculation par déplétion

(iii) Les interactions de pontage

Les interactions de pontage apparaissent lorsque des composés pouvant s'adsorber aux interfaces sont présents à faible concentration dans le système. Si ces composés présentent plusieurs sites d'adsorption et si la surface n'est pas saturée, une seule molécule peut s'adsorber sur plusieurs gouttes (Figure I-2) et provoquer une situation de pontage qui maintient les gouttes au contact.

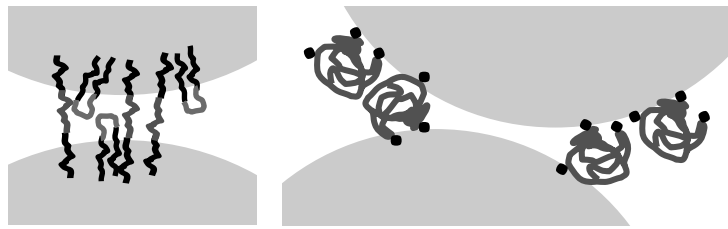


Figure I-2 Floculation par pontage

Les phénomènes conduisant à l'augmentation de la taille moyenne des gouttes et à la déstabilisation de l'émulsion sont résumés par la Figure I-3.

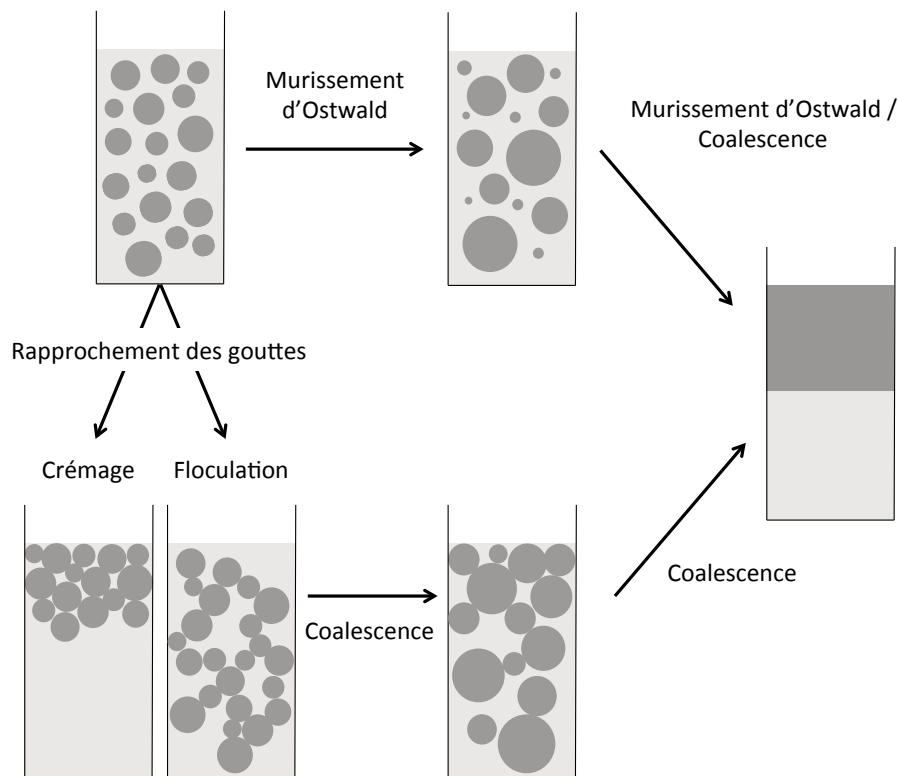


Figure I-3 Phénomènes de déstabilisation d'une émulsion H/E, adapté de (Taylor, 1998)

1.4. Stratégies de stabilisation

Le mûrissement d'Ostwald est négligeable lorsque la phase dispersée est très peu soluble dans la phase continue. Cela est par exemple le cas des émulsions à base de triglycérides dispersés dans l'eau. Dans les situations où le mûrissement d'Ostwald est susceptible de se produire, il convient pour l'éviter d'enrichir la phase dispersée en un composé insoluble dans la phase continue (Kabal'nov et al., 1987). Le transfert par diffusion à travers la phase continue de molécules « solubles » concentre les petites gouttes en molécules « insolubles » et au contraire dilue les grosses gouttes en ces mêmes molécules. Cette situation génère un déséquilibre osmotique et donc un contre-courant de molécules solubles des grosses gouttes vers les plus petites qui s'oppose au mûrissement d'Ostwald.

En ce qui concerne la coalescence, plusieurs stratégies peuvent être mises en œuvre pour la ralentir :

- adsorber aux interfaces des molécules capables de ralentir le drainage des films liquides qui séparent les gouttes
- diminuer la mobilité des gouttes en épaississant ou gélifiant la phase continue
- prévenir le rapprochement des gouttes en induisant des répulsions à longue portée

1.4. a) Diminution de la mobilité des gouttes

L'ajout d'un agent épaississant dans la phase continue augmente sa viscosité et permet de considérablement ralentir les mouvements des gouttes. En effet, selon l'équation (I.4), la vitesse de crémage ou de sédimentation évolue comme l'inverse de la viscosité de la phase continue. Dans les émulsions H/E, des macromolécules telles que les polysaccharides (xanthane, guar, caroube, carraghénane, alginate, pectine, gélatine, etc.) sont souvent utilisées à cet effet. A des concentrations suffisamment élevées, ces mêmes molécules peuvent gélifier la phase et ainsi bloquer définitivement toute dynamique.

1.4. b) Augmentation de la répulsion entre les gouttes : protection électrostatique

Dans un milieu polaire comme l'eau, les paires d'ions se dissocient et forment des couches électrochimiques d'ions et de contre-ions autour des interfaces (Figure I-4).

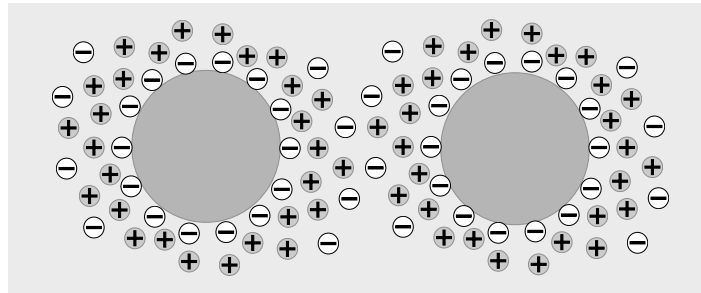


Figure I-4 Interaction entre deux particules chargées dans une solution aqueuse

La force entre deux particules de même charge est répulsive. Si les gouttes d'une émulsion sont naturellement chargées, ou que des espèces chargées sont capables de s'y adsorber, il est possible d'obtenir des émulsions cinétiquement stables tant que les répulsions électrostatiques dominent l'attraction de Van der Waals.

La portée de la répulsion est caractérisée par la longueur de Debye, κ^{-1} , qui est inversement proportionnelle à la racine carrée de la concentration en électrolyte. Donc, plus la force ionique est élevée et plus la portée de la répulsion est courte (effet d'écran des contre-ions). L'intensité de cette force dépend principalement de la charge à la surface des objets et de la distance les séparant (Findenegg, 1986).

La théorie DLVO, pour Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (Derjaguin et al., 1987), décrit l'interaction entre deux particules de faible charge et séparées par des distances grandes devant la taille des ions en solution. Cette théorie prend en compte les forces attractives de Van der Waals et les forces répulsives issues de la double couche ionique. La répulsion électrostatique engendre une barrière d'énergie susceptible d'empêcher le rapprochement des particules. Cela permet d'éviter d'atteindre la distance inter-particulaire en dessous de laquelle les attractions de Van der Waals dominent et ainsi d'éviter la floculation irréversible. Une augmentation de la concentration en électrolytes diminue cette barrière d'énergie et fait évoluer le système vers une situation où l'attraction de Van der Waals domine (écrantage) (Figure I-5).

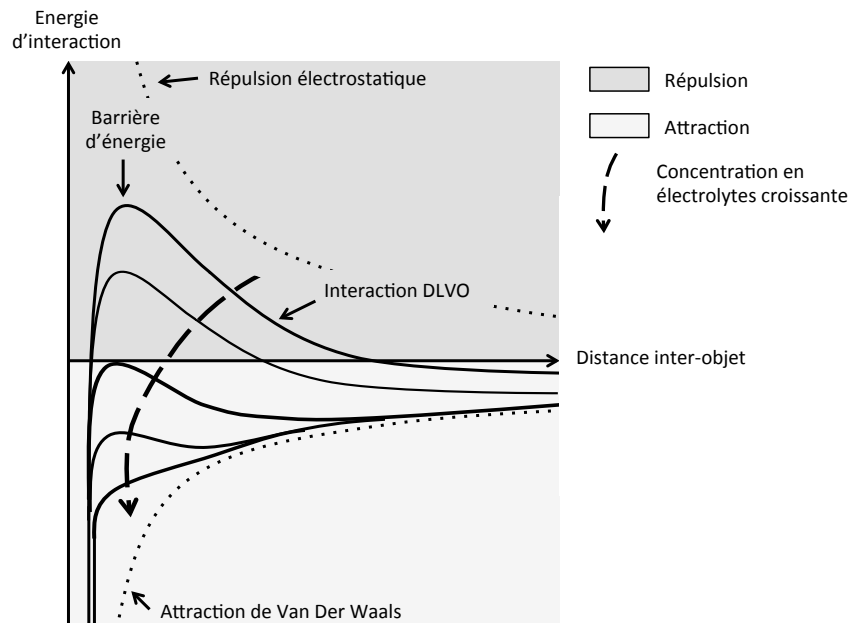


Figure 1-5 Potentiel d'interaction DLVO pour différentes concentrations en électrolytes d'après (Israelachvili, 2011).

1.4. c) Augmentation de la répulsion entre les gouttes : protection stérique

Lorsque des polymères sont adsorbés aux interfaces (voir paragraphe 1.4. d)), certaines conditions peuvent aboutir à une répulsion des objets. Cette répulsion dépend de la densité des chaînes de polymères sur les surfaces et de la nature de la phase continue (qui peut alors être vue comme le solvant des polymères). Si la densité de chaînes est élevée, les interactions latérales entre elles jouent sur la conformation et l'extension des chaînes, et donc sur les interactions entre les gouttes. En situation de bon solvant, les interactions chaînes-solvant sont privilégiées par rapport aux interactions chaînes-chaînes. Lorsque les gouttes s'approchent, il en résulte une répulsion d'origine entropique (Findenegg, 1986).

1.4. d) Adsorption de composés amphiphiles

Les composés amphiphiles sont des molécules comportant dans leur structure chimique des parties hydrophiles et lipophiles bien différenciées. De ce fait, ces molécules ont tendance à se positionner préférentiellement aux interfaces entre l'huile et l'eau (cas des émulsions) ou entre l'air et l'eau (cas des mousses). L'adsorption des composés amphiphiles permet de modifier la tension interfaciale et de prévenir la rupture des films. Il s'agit de la stratégie la plus utilisée pour stabiliser les émulsions.

Les composés amphiphiles peuvent être synthétiques ou naturels et peuvent être classés en fonction de leur masse molaire :

- les tensioactifs de faible poids moléculaire ($\leq 1\ 000\ \text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) tels que les acides gras, les alkyls sulfonates, les lécithines ou encore les glycérides partiels (mono et diglycérides). Ce sont des petites molécules généralement constituées d'une tête polaire hydrophile et d'une ou deux queues aliphatiques hydrophobes. La tête polaire peut-être ionique ou non ionique (Figure I-6.a).

- les protéines ou les polymères de haut poids moléculaire ($\gg 1\ 000\ \text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) dont les chaînes contiennent des groupements d'affinités différentes pour l'eau et l'huile. Leurs différentes configurations (pelote, dépliée) ont une importance sur l'accessibilité des différents groupes (Figure I-6.b).

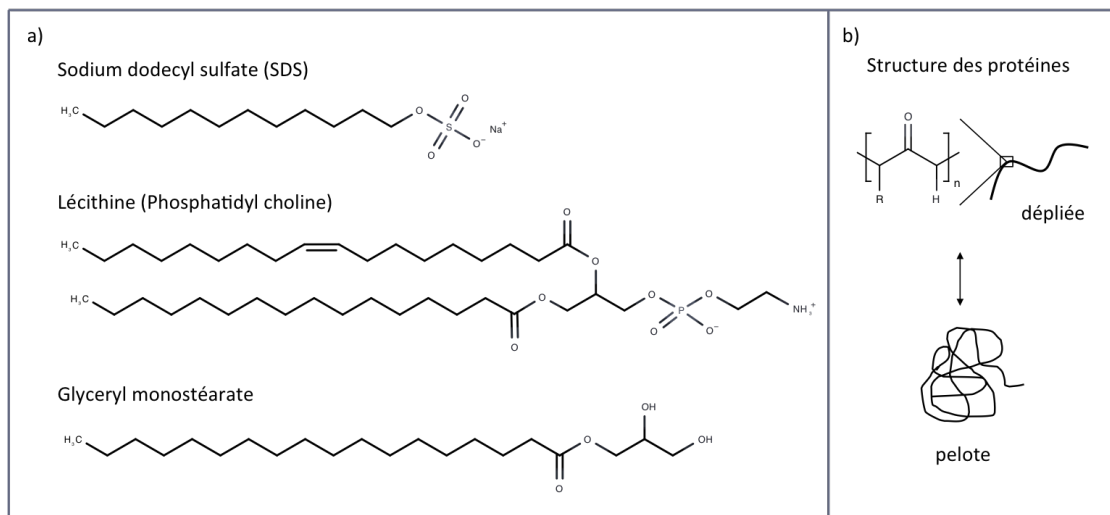


Figure I-6 Exemples de molécules amphiphiles a) de faible poids moléculaire et b) de haut poids moléculaire

(i) *Evolution de la tension interfaciale avec la concentration en tensioactifs*

L'énergie d'adsorption d'un tensioactif est de l'ordre de l'énergie thermique, $k_B T$, de sorte qu'il existe un équilibre d'adsorption/désorption. L'adsorption de ces molécules modifie considérablement les propriétés des interfaces et la stabilité des films entre deux gouttes.

L'équation (I-7) (Gibbs, 1931) décrit la variation de la tension interfaciale $d\gamma$, en fonction de la concentration en tensioactifs, c_{TA} , dans la phase continue (dans le cas d'un régime dilué). La capacité du tensioactif à effectivement s'adsorber à l'interface est un

paramètre important et est caractérisée par la concentration surfacique du tensioactif à l'interface, Γ_{TA} .

$$\frac{d\gamma}{d \ln c_{TA}} = -\Gamma_{TA}RT \quad (I-7)$$

où R est la constante des gaz parfaits.

En s'adsorbant, un tensioactif diminue l'énergie interfaciale. Les molécules adsorbées sont soumises à l'agitation thermique et de ce fait exercent une pression « bidimensionnelle » Π , au niveau de l'interface. C'est précisément cette pression qui est à l'origine de la baisse de la tension interfaciale :

$$\gamma = \gamma_0 - \Pi \quad (I-8)$$

Dans l'équation (I-8), γ_0 représente la tension interfaciale en l'absence de tensioactif. La pression bidimensionnelle est une fonction croissante de la concentration surfacique. En régime dilué, la pression est donnée par l'équation du gaz parfait à deux dimensions :

$$\Pi = \Gamma_{TA}RT \quad (I-9)$$

La Figure I-7.a) représente l'évolution caractéristique de γ en fonction de la concentration volumique en tensioactifs, c_{TA} .

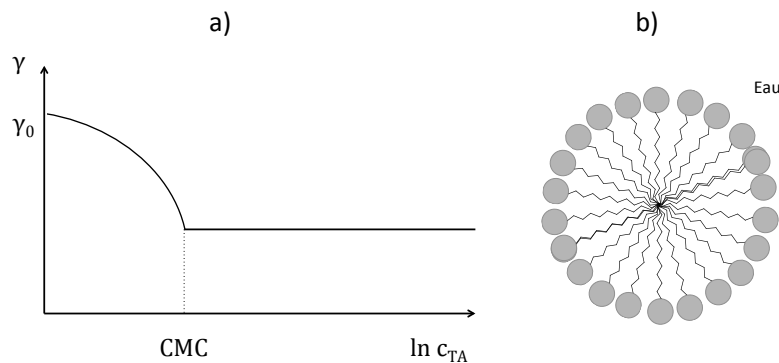


Figure I-7 a) Evolution de la tension interfaciale en fonction de la concentration volumique en tensioactifs dans la phase continue et b) représentation schématique d'une micelle en phase aqueuse

Il existe une concentration volumique à partir de laquelle l'ajout de tensioactifs n'abaisse plus la tension interfaciale : la concentration micellaire critique ou CMC. En effet, les tensioactifs peuvent s'auto-organiser en objets parfois sphériques, les micelles : les parties insolubles dans la phase continue sont alors protégées au cœur de la micelle. La Figure I-7.b) donne l'exemple d'une micelle formée en phase aqueuse par des tensioactifs solubles dans

l'eau. Au-delà de la CMC, les tensioactifs sont consommés pour former les micelles et la tension interfaciale ne diminue plus. L'équation de Gibbs (I-3) ne s'applique donc plus.

(ii) Evolution de la tension interfaciale avec la concentration en polymères/protéines

L'adsorption des polymères ou des protéines aux interfaces a lieu selon un temps caractéristique beaucoup plus long que celui des tensioactifs. En effet, les polymères et les protéines ont un poids moléculaire important, ce qui réduit leur mobilité (A. Bos, van Vliet, 2001; Miller et al., 2004). De plus, leur adsorption aux interfaces est généralement irréversible en raison du nombre important de points d'ancrage par molécules aux interfaces. L'adsorption des protéines est associée à une barrière d'énergie et implique un changement conformationnel, aussi appelé dénaturation, puisque les protéines vont se déplier progressivement.

L'adsorption des macromolécules amphiphiles aux interfaces entraîne une diminution de la tension interfaciale, comme dans le cas des tensioactifs de faible poids moléculaire. Comme le montre l'équation (I-9), la tension interfaciale dépend de la concentration surfacique définie comme le nombre de molécules amphiphiles adsorbées par unité de surface. En raison de leur poids moléculaire élevé, les macromolécules amphiphiles sont nécessairement moins nombreuses aux interfaces que les tensioactifs et abaissent donc de façon moins significative la tension interfaciale.

(iii) Auto-assemblages en solution

Les micelles sphériques ne sont pas les seules structures auto-organisées formées par les tensioactifs en solution. D'après Tanford (Tanford, 1980) et Israelachvili (Israelachvili et al., 1976), le volume de la molécule, v , la longueur de sa chaîne hydrophobe, l_c , et la surface qu'occupe la tête hydrophile à l'interface, a_0 , conditionnent la forme de l'auto-assemblage du tensioactif en solution. À partir de ces paramètres, Israelachvili détermine alors un « paramètre de forme » égal à $\frac{v}{a_0 l_c}$ dont la valeur est liée au volume occupé par la molécule tensioactive en solution. Ce paramètre de forme conditionne le type de phase formée (Figure I-8). Par exemple, si la partie hydrophile est plus volumineuse que la queue hydrophobe, les queues hydrophobes convergent vers un même point central pour former les micelles dites

« directes ». Au contraire, si la partie hydrophobe est plus volumineuse que la partie hydrophile, le tensioactif forme des micelles « inverses ».

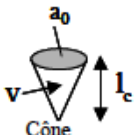




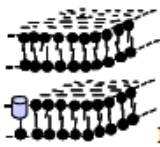


$\frac{v}{a_0 l_c}$	Forme de la molécule de tensioactif	Structures formées
$< 1/3$	 Cône	 Micelles sphériques
$1/3 - 1/2$	 Cône tronqué	 Micelles cylindriques
~ 1	 Cylindre	 Bicouche plane
> 1	 Cône tronqué inversé	 Micelles inverses

Figure I-8 Relation entre le paramètre de forme, la forme du tensioactif et les auto-assemblages en solution (Israelachvili et al., 1976).

(iv) L'effet Marangoni

Lorsqu'une interface est étirée sous l'effet d'une contrainte tangentielle, les tensioactifs adsorbés se répartissent de façon non uniforme. La différence locale de concentration en tensioactifs entraîne un gradient de tension interfaciale (Figure I-9.a). En raison de leur faible poids moléculaire, les molécules tensioactives sont mobiles et migrent alors des zones fortement concentrées vers les zones plus faiblement concentrées, entraînant les molécules de la phase continue par effet de friction. Cet entraînement hydrodynamique est appelé effet Gibbs-Marangoni. Il favorise la stabilisation des films liquides confinés entre deux interfaces car le flux central de phase continue contribue à séparer les surfaces ou à retarder leur rapprochement.

Lors de la formation d'une émulsion par fragmentation d'un tube de liquide étiré, la concentration surfacique des tensioactifs est initialement plus faible dans la zone interfaciale nouvellement formée (Figure I-9.b)). L'effet Marangoni facilite donc l'émulsification puisqu'il empêche les gouttes de se recombinaison par coalescence pendant la phase critique où la concentration surfacique en tensioactifs est faible. Ce phénomène aide également à la stabilité des émulsions puisqu'il protège les gouttes de la recombinaison (coalescence) lors des collisions dues à l'agitation thermique ou à une agitation mécanique provoquant un étirement des interfaces.

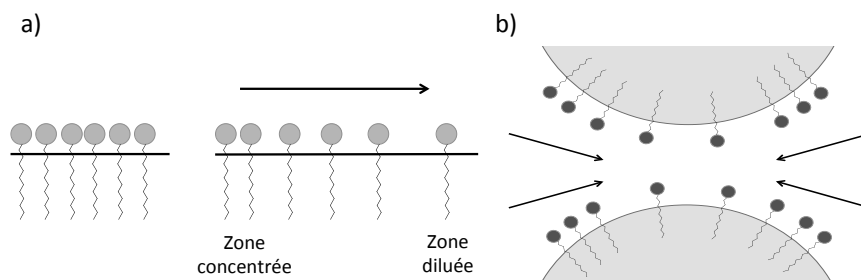


Figure I-9 Effet Gibbs-Marangoni a) gradient de tension de surface et b) effet hydrodynamique dans un film d'émulsion

(v) Règles empiriques de formulation et notion de HLB

Dans tous les secteurs utilisant les émulsions, il est important de savoir anticiper le type d'émulsion, eau-dans-huile (E/H) ou huile-dans-eau (H/E), qui sera obtenu après émulsification en présence de molécules amphiphiles. Bancroft fut le premier à proposer un guide empirique de formulation permettant de prévoir la nature de l'émulsion en fonction du tensioactif utilisé. Ainsi, d'après le modèle de Bancroft, le type d'émulsion est fixé, en tout premier lieu, par la solubilité préférentielle du tensioactif dans l'une ou l'autre des phases (Bancroft, 1913). Ainsi, en présence d'un tensioactif hydrosoluble, l'émulsion obtenue sera préférentiellement de type H/E, alors qu'en présence d'un tensioactif liposoluble, l'émulsion sera préférentiellement de type E/H. Cette règle est valable aussi bien pour les tensioactifs que pour les macromolécules amphiphiles. Ainsi, les protéines étant généralement hydrosolubles, les émulsions qui en résultent sont préférentiellement de type H/E.

En 1949, le concept de balance hydrophile-lipophile (HLB) a été introduit par Griffin pour caractériser la solubilité des tensioactifs dans l'eau ou dans l'huile (Griffin, 1949). Davies et Rideal proposent en 1961 une formule empirique permettant de calculer la HLB en

attribuant différentes valeurs aux groupes caractéristiques des tensioactifs selon leurs affinités avec l'eau ou l'huile (équation (I-10) et Tableau I-1). D'après cette définition, un tensioactif de faible HLB est davantage soluble dans l'huile et stabilise préférentiellement une émulsion E/H.

$$HLB = 7 + \sum \text{valeurs associées aux groupes hydrophiles} + \sum \text{valeurs associées aux groupes hydrophobes} \quad (\text{I-10})$$

Tableau I-1 Valeurs associées aux groupements chimiques d'un tensioactif pour le calcul de sa HLB (Davies, Rideal, 1961)

Groupes	Valeurs
-SO ₄ Na	38,7
-COONa(K)	19,1 (21,1)
=N-	9,4
-COOR	2,4
-COOH	2,1
-OH	1,9
-O-	1,3
=CH-	
-CH ₂ -	-0,475
-CH ₃	
-CH ₂ -CH ₂ -O-	0,33
-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -O-	-0,15

Si ces caractérisations empiriques des tensioactifs présentent des limites (pas de prise en compte de l'environnement chimique des groupements, de la conformation à l'interface, de la température etc.), elles sont auto-cohérentes et donnent une bonne indication du sens préférentiel de l'émulsion. La Figure I-10 établit le lien entre la solubilité des tensioactifs, la courbure spontanée, le concept empirique de HLB et le type d'émulsion préférentielle.

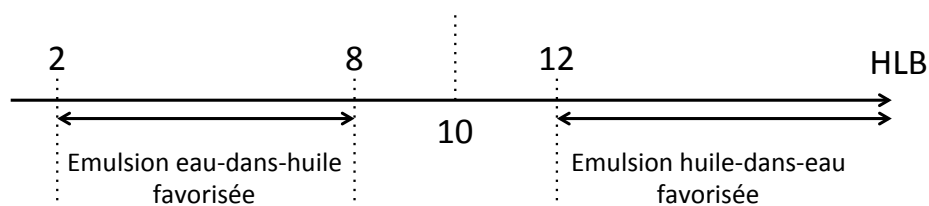


Figure I-10 Correspondance entre le sens d'une émulsion et la courbure spontanée, la solubilité et la HLB du tensioactif utilisé.

(vi) *Influence de la solubilité d'un tensioactif sur l'énergie d'activation du phénomène de coalescence*

Malgré l'énoncé très simple de la règle empirique de Bancroft et sa découverte il y a plus d'un siècle, sa justification soulève encore de nombreuses questions. Il est toutefois admis que cette règle reflète l'aptitude du système à résister à la coalescence. Ainsi, lorsqu'un mélange de phase aqueuse, d'huile et de molécules amphiphiles est agité, le système explorerait les 2 configurations limites possibles, E/H et H/E. L'émulsion résultante serait celle qui opposerait la meilleure résistance à la coalescence.

La coalescence est un phénomène thermiquement activé qui consiste en la nucléation d'un canal dans le film liquide qui sépare les gouttes. Si le canal atteint une taille critique r^* , il devient instable et croît jusqu'à la fusion complète des gouttes (Kabalnov, 1998). L'énergie $E(r)$ nécessaire pour former un canal de rayon r est une fonction qui passe par un maximum $E(r^*) = E_a$ pour un rayon critique r^* ; l'énergie E_a associée à r^* est appelée énergie d'activation de coalescence (Figure I-11).

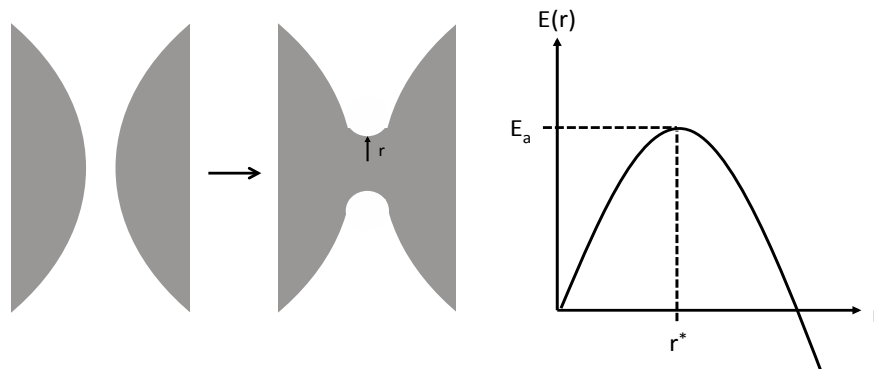


Figure I-11 Processus de nucléation d'un canal, évolution de l'énergie du canal en fonction de son rayon r . Adapté de (Leal-Calderon et al., 2007)

La fréquence de coalescence par unité de surface ω suit une loi d'Arrhenius

$$\omega = \omega_0 \exp\left(-\frac{E_a}{k_B T}\right) \quad (\text{I-11})$$

où ω_0 est la fréquence propre de nucléation d'un canal, c'est-à-dire le nombre total de canaux formés dans le film par unité de temps et de surface (Pays et al., 2001). Le factor pré-exponentiel ω_0 dépend de la contribution hydrodynamique associée au drainage de la phase continue et de la contribution entropique caractérisant la possibilité de former un pore dans le

film. L'origine de l'énergie d'activation dans les émulsions reste encore très controversée. Il n'existe à ce jour, aucun modèle « universel » permettant d'expliquer toute la diversité des comportements lorsque les émulsions se détruisent par coalescence. Il est vraisemblable que cette instabilité mette en jeu plusieurs phénomènes dont la prédominance dépend de la nature des espèces tensioactives et des propriétés thermodynamiques et mécaniques des interfaces. L'énergie d'activation E_a dépend de la tension de surface entre les deux phases. En effet, la création d'un canal entre deux gouttes entraîne en premier lieu une augmentation de l'interface (de Vries, 2010). Ainsi, la coalescence est facilitée lorsque la tension interfaciale est faible.

L'énergie d'activation pourrait dépendre également de la courbure naturelle du tensioactif adsorbé à l'interface (Figure I-12) (Kabalnov, Wennerström, 1996). En effet, la nucléation d'un canal dans les films minces qui séparent les gouttes, dont l'épaisseur est de l'ordre de quelques nanomètres, génère des zones fortement courbées au niveau des parties latérales du canal (Figure I-12). Ces courbures sont en valeur absolue comparables à celles que forment spontanément les tensioactifs en s'auto-associant sous la forme de micelles (notion de courbure spontanée). Dans le cas d'une émulsion H/E, un film aqueux sépare deux gouttes d'huile. Le bord du canal adopte alors une courbure locale de type E/H. Lorsque le tensioactif possède une courbure spontanée de même type, E/H, l'énergie d'activation E_a est faible. Par conséquent, en présence de tensioactifs liposolubles qui forment spontanément des micelles de type E/H dans l'huile, la coalescence est favorisée. Au contraire, la coalescence est inhibée pour les tensioactifs hydrosolubles possédant une courbure naturelle de type H/E, opposée à la courbure adoptée par le bord du canal. Cette explication fondée sur la notion de courbure spontanée préférentielle justifie la règle empirique de Bancroft énoncée précédemment.

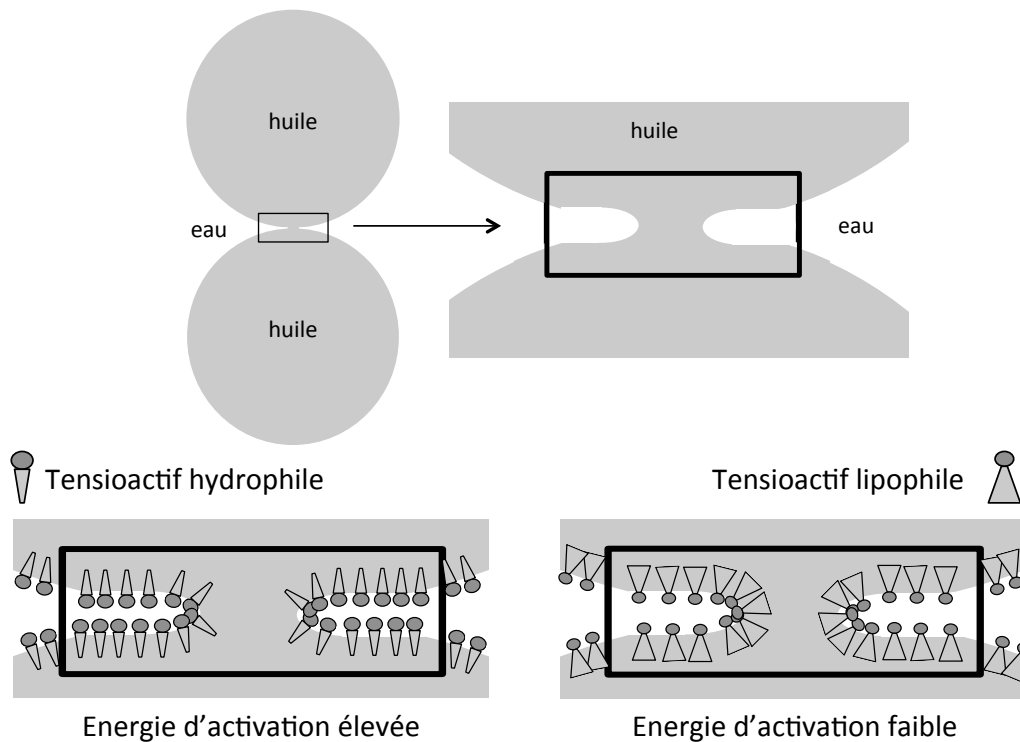


Figure I-12 Influence de la courbure spontanée sur l'énergie d'activation pour un évènement de coalescence dans une émulsion huile-dans-eau

1.4. e) Adsorption de particules colloïdales

Le caractère amphiphile n'est pas réservé aux composés solubles : des composés solides peuvent également s'adsorber aux interfaces. La stabilisation d'une émulsion huile-dans-eau par des particules solides a été décrite pour la première fois en 1903 et 1907 par Ramsden et Pickering (Pickering, 1907; Ramsden, 1903). Pickering mentionne clairement la couverture des gouttes d'huile par les particules et le caractère très stable de ces émulsions : « [...] it is possible under a microscope to see the coating of solid particles which envelop the oil globules. Emulsions made with an insoluble emulsifier are in every respect similar to those made with soap, except that they never seem to de-emulsify spontaneously » (Pickering, 1907).

Ces émulsions appelées depuis « émulsions de Pickering » ont dans un premier temps suscité peu de publications mais ont connu net un regain d'intérêt depuis quelques décennies. Elles offrent de nouvelles alternatives aux tensioactifs de synthèse de plus en plus controversés.

(i) *Angle de contact*

De façon analogue au concept de HLB défini pour les tensioactifs, le caractère hydrophobe / hydrophile d'une particule peut être caractérisé par une valeur : l'angle de contact défini sur la Figure I-13. Ainsi, une particule hydrophile (respectivement hydrophobe) est préférentiellement mouillée par l'eau si son angle de contact est inférieur (respectivement supérieur) à 90° .

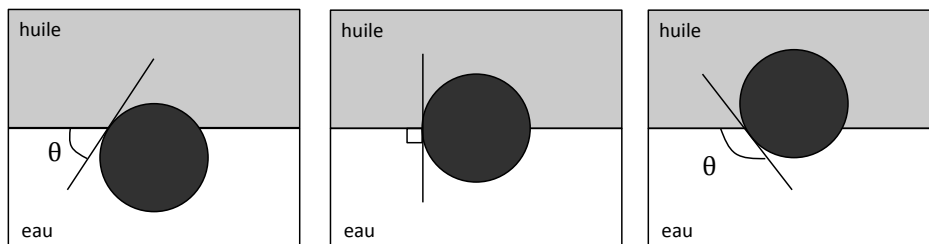


Figure I-13 Configuration d'une particule sphérique adsorbée à une interface eau/huile plane pour un angle de contact θ inférieur à 90° (à gauche), égal à 90° (au centre) et supérieur à 90° (à droite).

(ii) *Barrière énergétique à l'adsorption*

L'adsorption d'une particule à une interface requiert le franchissement d'une barrière d'énergie (Binks, 2002). L'énergie électrostatique répulsive entre la particule et la goutte doit être compensée par l'énergie qui pousse la particule vers l'interface, c'est-à-dire par l'énergie hydrodynamique apportée par le procédé d'émulsification et le mouvement brownien. Quand le diamètre de la goutte est grand devant celui de la particule, la force répulsive est proportionnelle au diamètre de la particule (Tcholakova et al., 2008). La barrière énergétique à franchir est donc plus élevée pour les particules solides que pour les tensioactifs ou les protéines. Elle peut être réduite en écrantant les charges répulsives par ajout d'électrolytes, en ajustant le pH ou en neutralisant les charges des particules. Dans ce cas, en l'absence de répulsion électrostatique à longue portée, les particules flocculent (voire paragraphe 1.3.c). Il s'agit ici d'une première hypothèse pour expliquer une règle empirique de formulation très souvent observée : les émulsions de Pickering sont plus stables quand les particules sont initialement agrégées dans la phase continue (Aveyard et al., 2003; Leal-Calderon, Schmitt, 2008).

Un autre paramètre propre à l'adsorption des particules contribue à augmenter la barrière énergétique d'adsorption : la tension de ligne. Lorsque que la particule est ancrée à l'interface, une ligne est en contact avec les 3 phases : particule, phase continue et phase dispersée. La tension de ligne est le résultat des forces qui existent entre l'interface et la surface solide de la particule au niveau de la ligne triple de contact. Sa valeur est difficile à mesurer expérimentalement mais des valeurs entre 10^{-11} et 10^{-10} N sont souvent admises (Aveyard et al., 1999; Rowlinson, Widom, 1982). Elle contribue à l'énergie d'activation et même de faibles tensions de ligne peuvent retarder ou empêcher l'adsorption des particules.

(iii) *Interactions entre particules à l'interface*

Interactions dipôle-dipôle répulsives

La particule est à l'interface de deux milieux totalement différents en termes de polarisabilité : les charges autour de la particule sont bien moins nombreuses dans le milieu apolaire. Cette dissymétrie des charges autour de la particule produit un dipôle perpendiculaire à l'interface (Figure I-14). Les dipôles voisins se repoussent alors le long de l'interface et des particules monodisperses adoptent une organisation cristalline à deux dimensions (Aveyard et al., 2002). Pieranski a montré à partir d'un modèle simple (dans lequel la longueur de Debye est petite devant la distance inter-dipôle), que l'interaction résultante est une répulsion à longue portée inversement proportionnelle au cube de la distance inter-dipôle (Pieranski, 1980).

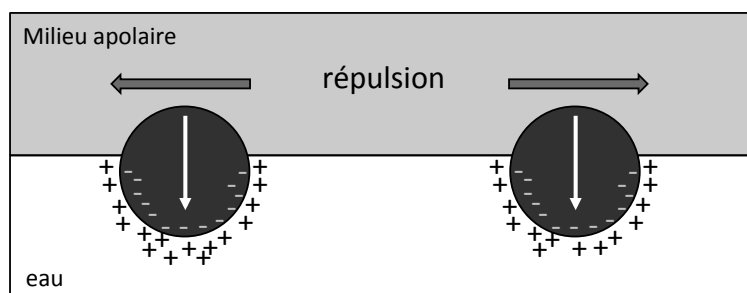


Figure I-14 Représentation du dipôle créé par la dissymétrie des charges autour d'une particule à une interface eau/milieu apolaire

Déformation de l'interface et interactions capillaires attractives

L'adsorption d'une particule solide déforme beaucoup plus l'interface que l'adsorption d'une molécule. En effet, sous l'effet de la gravité, du mouillage et de la surface du solide, l'interface est modifiée (Figure I-15). La déformation de l'interface engendre des forces spécifiques, appelées forces capillaires. Ces forces sont attractives et dépendent de la taille des particules. Si ces dernières sont assez grosses pour déformer l'interface sous l'effet de la gravité (de rayon supérieur à 5 μm), l'attraction résultante est proportionnelle au rayon à la puissance 6. En revanche, la déformation de l'interface par le mouillage a lieu même pour les petites particules et les forces capillaires résultantes sont proportionnelles au carré du rayon de la particule. Les irrégularités de la ligne de contact engendrent des interactions attractives très supérieures à $k_B T$ (Kralchevsky, Nagayama, 2000; Stamou et al., 2000).

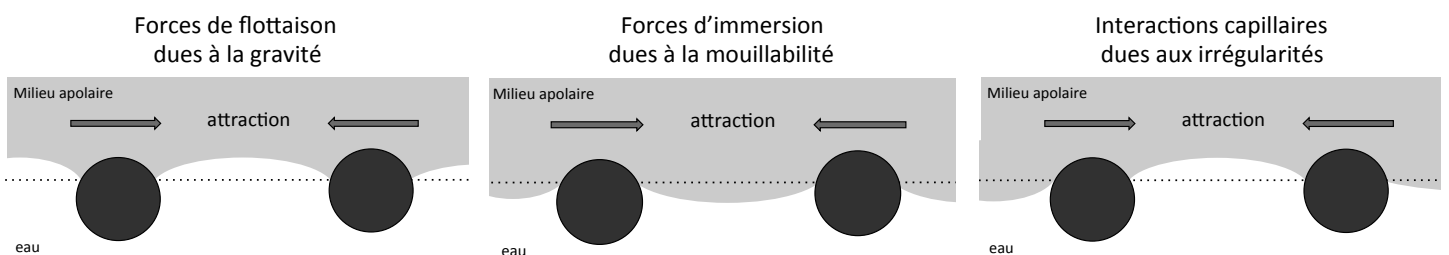


Figure I-15 Interactions capillaires entre particules à l'interface d'après (Kralchevsky, Nagayama, 2000)

(iv) *Energie d'ancrage ou énergie de désorption*

L'ancrage des particules solides aux interfaces est en règle générale irréversible (Aveyard et al., 2003). Leur désorption n'est donc pas spontanée comme dans le cas des tensioactifs. L'énergie nécessaire pour désorber une particule de rayon r , ancrée à une interface de tension γ , avec un angle de contact θ , est (Binks, 2002) :

$$\Delta E = \pi r^2 \gamma (1 - |\cos \theta|)^2 \quad (\text{I-12})$$

L'équation (I-12) est valable pour les particules suffisamment petites pour négliger les effets de la pesanteur ($r < 1 \mu\text{m}$) et ne prend pas en compte la tension de ligne (définie en section I.1.4. e)(ii)). Cette énergie est toujours positive et proportionnelle au carré du rayon de la particule. Pour une particule de 50 nm ancrée à une interface eau/huile de tension interfaciale

égale à 25 mN.m^{-1} , et avec un angle de contact de 90° , l'énergie à fournir pour sa désorption est d'environ $50\,000k_B T$!

(v) *Coalescence limitée*

Les interactions entre les particules ancrées aux interfaces et leur adsorption irréversible confèrent aux émulsions de Pickering des propriétés spécifiques en termes de distribution granulométrique de gouttes et de stabilité, par rapport aux émulsions classiques stabilisées par des molécules amphiphiles.

Un phénomène singulier se produit lorsque les émulsions sont formulées avec une faible teneur en particules. Dans ce cas, le procédé d'émulsification génère une quantité d'interface huile/eau supérieure à celle que les particules peuvent recouvrir. Lorsque le cisaillement cesse, les gouttes insuffisamment recouvertes coalescent. A mesure que la coalescence se produit, la quantité d'interface diminue et donc la concentration surfacique en particules augmente, car celles-ci sont irréversiblement adsorbées. La coalescence finit donc par s'interrompre lorsque la concentration surfacique en particules devient suffisante pour stabiliser les gouttes. Ce phénomène, décrit pour la première fois en 1954 (Wiley, 1954) est appelé coalescence limitée et est schématisé sur la Figure I-16.

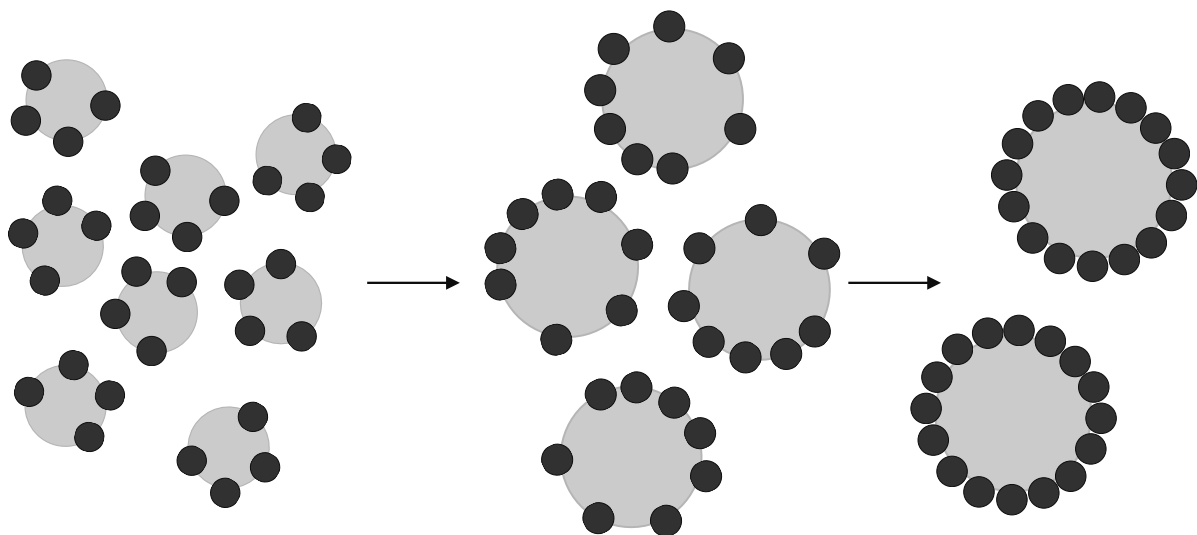


Figure I-16 Représentation schématique du phénomène de coalescence limitée

En supposant que la totalité des particules est ancrée aux interfaces et que la concentration surfacique finale est constante, la relation suivante peut être établie (Leal-Calderon, Schmitt, 2008) :

$$\frac{6V_d}{D} = s_f m_p \quad (\text{I-13})$$

où m_p est la masse de particules initialement introduites dans le système, V_d est le volume de phase dispersée et s_f est la surface spécifique (en $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), c'est-à-dire la quantité d'interface recouverte par gramme de particules. Le terme de gauche représente la quantité totale d'interface. L'équation (I-13) stipule que la quantité d'interface stabilisée par les gouttes est simplement proportionnelle à la quantité de particules. De ce fait, à volume d'huile constant, le diamètre moyen des gouttes est d'autant plus faible que la concentration en particules est élevée. Il est possible de calculer s_f pour une monocouche compacte de particules sphériques dont les propriétés sont connues (masse volumique, rayon). Expérimentalement, elle peut être déterminée en mesurant les diamètres moyens d'émulsions de même fraction volumique de phase dispersée, contenant des masses de particules variables. Le paramètre s_f se déduit alors de la pente de la droite $\frac{1}{D} = f(m_p)$.

Le phénomène de coalescence limitée permet d'obtenir des émulsions dont la distribution granulométrique est très étroite (dites monodisperses). Ce résultat peut paraître surprenant dans la mesure où la coalescence est en règle générale un processus inhomogène et catastrophique, favorisant la polydispersité. Des simulations numériques ont été effectuées sur des systèmes concentrés à 2 dimensions (objets en contact), en considérant une fréquence de coalescence unique, indépendante de la taille des objets (Hasmy et al., 1999). La distribution des tailles est très large et il se forme de très gros objets. Comme indiqué précédemment, les gros objets développent une aire de contact plus importante que les objets voisins et de ce fait croissent plus rapidement. Ce modèle décrit assez bien la destruction des émulsions stabilisées par des tensioactifs. En effet, dans ces systèmes, l'hypothèse d'une fréquence unique est *a priori* pertinente car l'adsorption du tensioactif à l'interface est réversible et la composition de la monocouche reste inchangée au cours du temps.

Dans le cas des émulsions de Pickering et notamment du phénomène de coalescence limitée, l'hypothèse d'une fréquence unique n'est plus valide puisque l'état de couverture des interfaces évolue au cours du temps. Whitesides et Ross (Whitesides, Ross, 1995) ont proposé

une approche théorique du phénomène de coalescence limitée en régime diffusionnel et turbulent. Dans leur modèle, la probabilité de coalescence au cours d'une collision entre deux gouttes est proportionnelle à $(1 - \tau_1)(1 - \tau_2)$ où τ_1 et τ_2 sont les taux de couverture des surfaces de chacune des gouttes. Les simulations donnent des distributions de tailles beaucoup plus resserrées que celles obtenues à partir d'une fréquence unique de coalescence, en accord avec les résultats expérimentaux. Ces simulations montrent également que le mécanisme à l'origine des collisions (diffusion ou turbulence) ainsi que les caractéristiques de la distribution de tailles initiale du système ont très peu d'influence sur la distribution obtenue finale. La monodispersité peut s'expliquer simplement. D'une part, la coalescence favorise l'émergence de gouttes de diamètre supérieur à la moyenne pour les raisons expliquées précédemment. D'autre part, une fois formées ces mêmes gouttes seront mieux protégées de la coalescence que la moyenne. En effet, elles résultent de la fusion d'un nombre plus important de gouttes et ont de ce fait accumulé à leur surface une concentration plus élevée de particules solides pour les protéger. Ainsi, il faut s'attendre à ce que des gouttes de grande taille croissent à des vitesses plus faibles que la moyenne et soient rapidement « rattrapées ». Ainsi, la diminution de la fréquence de coalescence avec le taux de couverture atténue toute fluctuation par le haut de la distribution granulométrique.

2. *Les émulsions stabilisées par des particules colloïdales – état de l'art*

2.1. *Règles empiriques de formulation*

Les nombreuses études réalisées sur des émulsions de Pickering modèles ont permis de faire émerger des observations générales et des règles empiriques.

La loi de Bancroft permet de prédire le type d'une émulsion (E/H ou H/E) stabilisée par des tensioactifs à partir de leur HLB : la phase continue est celle qui solubilise le tensioactif. Dans le cas des particules, Finkle *et al.* ont établi une règle empirique analogue : la phase qui mouille préférentiellement la particule est généralement la phase continue (Finkle *et al.*, 1923). Les particules ancrées avec un angle de contact inférieur à 90° stabilisent donc préférentiellement des émulsions H/E et celles caractérisées par un angle de contact supérieur à 90° stabilisent préférentiellement des émulsions E/H. Cette règle empirique a depuis été largement consolidée et précisée par de nombreuses études faisant varier précisément l'angle

de contact d'adsorption d'une particule, en la modifiant chimiquement par exemple (Binks, Clint, 2002; Binks, Lumsdon, 2000; Destribats et al., 2014).

Le milieu dans lequel les particules sont préalablement dispersées a une importance sur leur mobilité et donc sur leur adsorption. Dans le cas où les particules peuvent indifféremment être dispersées dans l'une ou l'autre des phases, des études ont montré qu'à volumes d'eau et d'huile égaux, l'émulsion stabilisée a pour phase continue la phase dans laquelle les particules sont dispersées initialement (Binks, Lumsdon, 2000).

Comme évoqué précédemment, les émulsions stabilisées par des particules sont souvent plus stables quand les particules sont initialement floculées dans la phase continue (Arditty et al., 2004). Plusieurs explications ont été avancées. La première est que les particules s'adsorbent alors sous forme d'agrégats, et que la couche de particules est alors plus épaisse et plus difficile à déstabiliser. La deuxième est que les agrégats dans la phase continue structurent l'émulsion et diminuent la mobilité des gouttes, contribuant ainsi à ralentir la coalescence.

Les émulsions de Pickering sont souvent floculées. Les gouttes sont en contact mais ne coalescent pas. En effet, si les particules ont une affinité entre elles et s'agrègent, elles ont le même comportement lorsqu'elles recouvrent les gouttes. On observe alors des « grappes » de gouttes. De plus, il n'est pas rare d'observer des gouttes non sphériques puisque l'interface a un caractère rigide marqué, contrairement aux interfaces recouvertes par des tensioactifs moléculaires (Figure I-17).

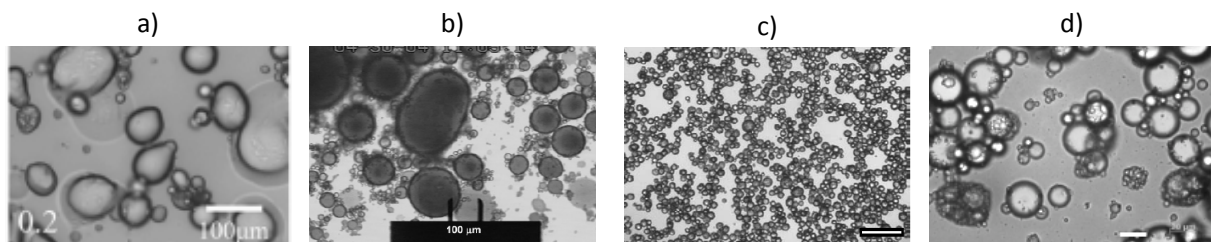


Figure I-17 Observations microscopiques d'émulsions de Pickering. Gouttes non sphériques : a) émulsion directe stabilisée par des particules d'hydroxydes Mg_2Al-Cl (Zhang et al., 2015) et b) émulsion stabilisée par des particules de latex (Golemanov et al., 2006) – Emulsions floculées : c) émulsion stabilisée par des particules de silice modifiées (Destribats et al., 2010) et d) émulsion stabilisée par des particules de gliadines (Hu et al., 2016).

2.2. *Emulsions stabilisées par des particules d'origine naturelle*

La majorité des recherches sur les émulsions de Pickering porte sur des émulsions stabilisées par des particules de synthèse comme des polymères (Han et al., 2017; Hooghten et al., 2017; Laredj-Bourezg et al., 2017; Leclercq et al., 2012), des particules de latex ou des particules de silice fonctionnalisées (Binks, Lumsdon, 2001; Chen et al., 2017; Destribats et al., 2012; Frelichowska et al., 2009; Golemanov et al., 2006; Hou et al., 2018). Ces particules ont l'avantage d'être synthétisées sous différentes formes et tailles et d'être caractérisées précisément. L'un des enjeux dans ce domaine est l'utilisation de particules d'origine naturelle, biodégradables et issues de ressources renouvelables. Depuis quelques années, les études en ce sens se sont multipliées (Berton-Carabin, Schroën, 2015).

Les particules d'origine naturelle peuvent être catégorisées :

- les particules dérivées de lipides ou de composés liposolubles
- les particules dérivées de polysaccharides
- les particules dérivées de protéines
- les particules complexes combinant plusieurs types, non modifiées et/ou non purifiées

Le Tableau I-2 fournit quelques exemples récents d'émulsions stabilisées par chacune des catégories de particules citées.

Tableau I-2 Exemples de particules d'origine naturelle utilisées pour stabiliser des émulsions et tailles de gouttes caractéristiques obtenues

Particules	Quantité et type d'huile	Emulsification	Taille de gouttes	Références
Phytostérols	Soja, 20 – 60 %	Rotor-stator (Ultra-Turrax®)	50 – 250 µm	(Liu, Tang, 2014a)
Flavonoïdes	n-tétradécane, 20%	Homogénéisation à haute pression (300 bars)	5 – 35 µm ou > 50 µm	(Luo et al., 2011)
Nanocristaux de chitine	Maïs, 10 %	Sonication	10 – 100 µm	(Tzoumaki et al., 2011)
Nanocristaux de cellulose issue de nata de coco	Hexadécane, 30 %	Sonication	4 – 30 µm	(Kalashnikova et al., 2011)
Amidon modifié	Colza, 30 %	Rotor-stator (Ultra-Turrax®)	7 – 40 µm	(J. Leal-Castañeda et al., 2018)
Amidon modifié	Colza, 20 – 80 %	Homogénéisation à haute pression (50 – 250 bars)	0,5 – 10 µm	(Tesch et al., 2002)
Méthylcellulose	Tournesol, 10 – 60 %	Homogénéisation à haute pression (200 - 2000 bars)	1 – 50 µm	(Floury et al., 2003)
Particules de zéines	Soja, 50 %	Rotor-stator (Ultra-Turrax®)	100 µm	(de Folter et al., 2012)
Particules de protéines de soja	Soja, 20 – 60 %	Homogénéisation à haute pression (200 - 2000 bars)	< 1 µm	(Liu, Tang, 2013, 2014b)
Nanoparticules de protéines de soja	Maïs, 10%	Homogénéisation à haute pression (500 bars)	< 1 µm	(Gao et al., 2013)
Complexes Méthylcellulose – acide tannique	Tournesol, 50 %	Rotor-stator (Ultra-Turrax®)	20 µm	(Patel et al., 2012a)
Produits issus du cacao (fibres, poudres, tourteaux)	Tournesol, 20 %	Rotor-stator (Ultra-Turrax®)	20 µm	(Gould et al., 2013)
Graines de moutarde – Poudre de cannelle	Olive, 5 %	Robot mixeur ménager (15 secondes)	65 – 78 µm	(Nushtaeva, 2016)
Complexes protéine - polysaccharide	Tournesol, 20 – 40 %	Homogénéisation à haute pression (350 bars)	8 – 70 µm	(Sarkar et al., 2018a)
Complexe caséine – gomme d'acacia	Colza, 10 %	Homogénéisation à haute pression (350 bars)	1 – 5 µm	(Hou et al., 2017)
Fibres d'orange	Tournesol, 15 %	Homogénéisation à haute pression (30 - 700 bars)	2 – 30 µm	(Wallecan et al., 2015)
Feuilles de betterave broyées	Tournesol, 10 %	Homogénéisation à haute pression (150 bars)	1 et 100 µm	(Tamayo Tenorio et al., 2017)

2.2. a) *Particules dérivées de lipides ou de composés liposolubles*

Les huiles cristallisables ont été largement utilisées pour stabiliser des émulsions. En effet, en cristallisant, les lipides constituent des particules capables de s'adsorber aux interfaces Huile/Eau. Leur nature lipophile fait que l'angle de contact avec lequel les cristaux s'adsorbent est supérieur à 90° et les émulsions stabilisées sont préférentiellement de type E/H. Ces cristaux peuvent être initialement formés dans la phase continue pour être ensuite ancrés aux interfaces lors de l'émulsification ou ils peuvent directement cristalliser à l'interface (Lucassen-Reynders, Tempel, 1963; Rousseau, 2000, 2013). Les cristaux structurant la phase continue peuvent également contribuer à la stabilisation de l'émulsion mais cette voie, qui n'est plus une stabilisation de Pickering, est moins efficace qu'une stabilisation interfaciale par les cristaux (Ghosh, Rousseau, 2011). Les propriétés des émulsions stabilisées dépendent des caractéristiques des cristaux : de leur taille, forme, microstructure et donc de leur polymorphisme et de leur vitesse de cristallisation.

Des composés liposolubles constitués d'un ou plusieurs segments polaires ont également été évalués pour stabiliser des émulsions. Les flavonoïdes sont par exemple majoritairement solubles dans des solvants apolaires mais ceux avec une légère solubilité dans les milieux polaires comme la rutine ou le tiliroside ont montré une bonne capacité à stabiliser des émulsions (Luo et al., 2011). Certains phytostérols peuvent également stabiliser des émulsions (Chen et al., 2016; Liu, Tang, 2014a). La principale limite est leur dispersion initiale dans la phase continue qui nécessite le plus souvent une étape de chauffage (plusieurs heures au-delà de 90°C) ou une pré-homogénéisation de la phase continue. De plus, les émulsions stabilisées par ces particules sont sensibles à la température lorsque leur stabilité n'est assurée que par des cristaux lipidiques, susceptibles de fondre.

2.2. b) *Particules dérivées de polysaccharides*

Les particules à base d'amidon ont été étudiées pour stabiliser des émulsions (Domian et al., 2018; J. Leal-Castañeda et al., 2018; Sweedman et al., 2013; Tesch et al., 2002; Yusoff, Murray, 2011). L'amidon étant très hydrophile, une modification est donc nécessaire afin de le rendre plus hydrophobe, et donc amphiphile. Le plus souvent, il s'agit d'une modification à l'acide succinique anhydre (OSA) qui est simple et permet de contrôler les propriétés des

particules. L'amidon-OSA est autorisé dans l'alimentation si moins de 3% de sa masse sèche est modifiée et il doit alors être déclaré sous le code E1450. Cependant, l'amidon peut être rendu plus hydrophobe par un simple traitement thermique et dans ce cas, l'amidon modifié n'est pas soumis à la réglementation E (Tavernier et al., 2016).

Les particules issues de la cellulose sont également très largement employées (Angkuratipakorn et al., 2017; Flourey et al., 2003; Gong et al., 2017; Kalashnikova et al., 2011; Kasiri, Fathi, 2018; Li et al., 2018). La cellulose est un biopolymère semi-cristallin et le principal constituant des parois des cellules végétales. Les segments amorphes peuvent être éliminés par hydrolyse acide permettant d'obtenir des micro- ou nanocristaux de cellulose suivant la durée de l'hydrolyse. Des émulsions très stables et de taille de gouttes variables sont stabilisées par ces différentes formes de cellulose (Tableau I-2). La chitine, biopolymère retrouvé dans les carapaces des crustacés peut également être utilisée après le même traitement hydrolytique (Tzoumaki et al., 2011).

Les émulsions obtenues présentent de bonnes performances, mais requièrent préalablement l'extraction, la purification et/ou la fonctionnalisation des particules.

2.2. c) Particules dérivées de protéines

Les protéines sont connues pour être d'excellents agents stabilisants (Tcholakova et al., 2008) mais des « particules de protéines agrégées » peuvent être obtenues en faisant varier la salinité du milieu, le pH, ou en faisant intervenir différents traitements thermiques ou ultrasonores (Tavernier et al., 2016; Torres et al., 2017). La réticulation chimique ou la précipitation par solvant sont également des méthodes décrites pour obtenir des particules dérivées de protéines capables de stabiliser des émulsions (de Folter et al., 2012). Ces traitements sont nécessaires pour rendre davantage hydrophobes des protéines principalement hydrophiles mais des émulsions ont également été stabilisées par des protéines hydrophobes comme la zéine, les isolats de protéines de soja ou de pois (Tableau I-2). L'utilisation des protéines en tant que particules insolubles est limitée par la maîtrise de leur état d'agrégation ainsi que par les étapes d'extraction, de purification et de modification. Cependant, les protéines sont très souvent associées à d'autres composés naturels.

2.2. d) *Particules complexes, non modifiées et/ou non purifiées*

Les différents types de particules précédemment cités peuvent bien entendu être combinés. Par exemple, des émulsions ont été stabilisées par des complexes méthylcellulose - acide tannique (Patel et al., 2012a), protéines - polyphénols (Karefyllakis et al., 2017; Patel et al., 2012b) ou protéine - nanocellulose (Sarkar et al., 2017, 2018b). L'association peut être induite par un changement de température ou de pH par exemple et la liaison peut-être ionique ou covalente, notamment *via* la réaction de Maillard (Hou et al., 2017). Les possibilités de combinaison des propriétés émulsifiantes et autres (antioxydantes, antimicrobiennes, etc.) sont alors multiples.

Enfin, certaines particules naturelles très peu ou non modifiées ont montré des capacités à stabiliser plus ou moins efficacement des émulsions. On peut citer par exemple des fibres et poudres de cacao et de café éventuellement traitées mécaniquement (Gould et al., 2013, 2016), des graines de moutarde et de cannelle (Nushtaeva, 2016) ou encore des feuilles broyées de betteraves et de la fibre d'orange (Tamayo Tenorio et al., 2017; Wallecan et al., 2015). Dans ces conditions, les pouvoirs émulsifiants sont attribués aux différents constituants des particules : protéines et polysaccharides.

Cette catégorie de particules a l'avantage d'être utilisables sans nécessiter d'extraction, de purification et de traitements lourds mais les phénomènes de stabilisation mis en jeu n'étant pas explicites, les propriétés des émulsions sont difficiles à prédire et à contrôler.

2.3. *Applications et matériaux accessibles*

L'association d'huile, d'eau et de particules est intéressante d'un point de vu applicatif et les utilisations des émulsions classiques dans l'alimentation, la cosmétique ou les revêtements (bitumes, peintures, adhésifs ...) peuvent également être visées dans le cas des émulsions stabilisées par des particules. En revanche, ces dernières offrent de nouvelles propriétés et possibilités, que les émulsions soient les produits finaux ou utilisés comme intermédiaires.

2.3. a) *Emulsions de Pickering comme intermédiaires*

Des émulsions stabilisées par des oxydes de graphène et traitées thermiquement ont permis d'obtenir un réseau tridimensionnel interconnecté et conducteur au sein de gommés composites. Ce procédé constitue une alternative intéressante et plus respectueuse de l'environnement à la synthèse de ce type d'élastomères conducteurs (Yang et al., 2018). Des émulsions E/H stabilisées par des particules de silice fonctionnalisées ont également été adoptées comme support de biocatalyse (Heyse et al., 2018). Plus inédit, des émulsions stabilisées par un complexe chitosane/zéine ont été combinées à un film d'acide polylactique (PLA). Le film de PLA présente alors une meilleure barrière à l'oxygène. Un agent antibactérien et antioxydant, le thymol, initialement encapsulé dans l'émulsion est progressivement relargué dans le film. Ce film de PLA amélioré est avantageux pour les emballages alimentaires biodégradables (Zhu et al., 2018a). Un dernier exemple original est celui de l'utilisation d'émulsions stabilisées par des particules de silice ou d'argile pour dépolluer la peau après une contamination par des agents chimiques toxiques. Selon leur état de charge, les particules ont la capacité de lier l'agent chimique et d'améliorer sa solubilité dans l'huile (Salerno et al., 2016). Ces quelques exemples dans lesquels les émulsions stabilisées par des particules servent d'intermédiaires ne sont pas les seuls et mettent en évidence leurs multiples applications et l'intérêt grandissant pour ces matériaux.

2.3. b) *Capsules et vecteurs de molécules*

Les émulsions de Pickering constituent une excellente base pour fabriquer des microsphères utilisables pour encapsuler et libérer des actifs lipo- ou hydrosolubles. Plusieurs procédés permettent d'aboutir à des capsules. Une fois les particules aux interfaces, il est possible de les réticuler ou de les piéger en formant un film (Biggs, Cayre, 2014). Dans le premier cas, les particules sont connectées et forment un réseau plus ou moins fin qui détermine la porosité de la coque. Si l'interface est supprimée en remplaçant la phase continue par la phase interne, la libération de l'actif n'est alors contrôlée que par la porosité de la coque (Dinsmore et al., 2002; Hsu et al., 2005). Pour la seconde catégorie, la polymérisation à l'interface nécessite la présence du monomère dans l'une des phases et de l'initiateur dans l'autre phase (Bon et al., 2007; Cauvin et al., 2005). A partir d'émulsions stabilisées par des particules de silice (20 nm), Wang *et al.* ont réussi à fabriquer des

microsphères contenant plusieurs cœurs, c'est-à-dire des microbilles dans une microsphère (Figure I-19.a). Le procédé repose sur les différentes localisations de composés initiateurs et supports de la polymérisation (Figure I-18) (Wang et al., 2018).

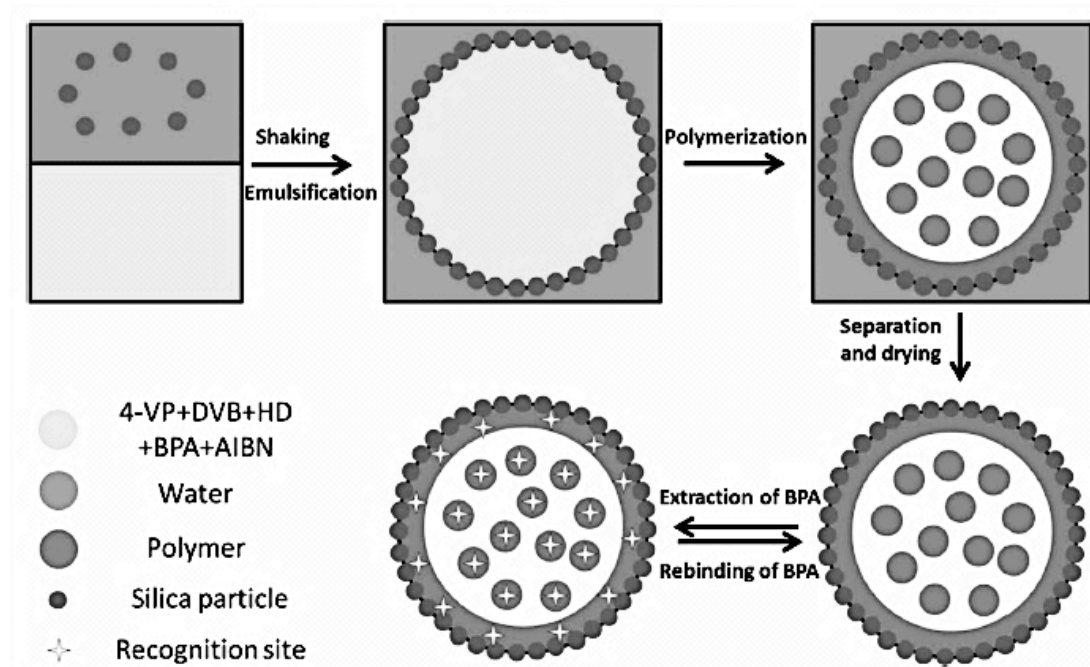


Figure I-18 Procédé d'obtention de microsphères à plusieurs cœurs par (Wang et al., 2018).

2.3. c) Les polyHIPes

Les polyHIPes, pour « polymerized High Internal Phase volume ratio Emulsions », sont obtenues à partir d'émulsions concentrées en huile et stabilisées par des particules. Les gouttes étant concentrées, la solidification de la phase continue (par frittage des particules dans la phase continue ou polymérisation par exemple) crée des connections entre les gouttes. L'élimination du solvant résiduel par lavage ou évaporation laisse un matériau solide de forte porosité (exemple sur la Figure I-19.b)) qui peut être utilisé comme membrane de filtration ou support de catalyse (Ikem et al., 2010).

2.3. d) Les Bijels

Les matériaux bi-continus découlent de la décomposition spinodale d'un mélange binaire initialement homogène. Contrairement à la nucléation, la séparation de phase a lieu dans tout le système, aboutissant à un matériau bi-phasé métastable évoluant sous l'effet de la

pesanteur et de la tension interfaciale entre les deux phases. Ces matériaux initialement fabriqués à partir de microémulsions stabilisées par des tensioactifs trouvent des applications dans les domaines des cellules solaires, des batteries, ou encore de la catalyse. Lorsque les interfaces entre les deux phases sont stabilisées par des particules, les phases s'apparentent davantage à des gels partageant une couche de particules colloïdales : « bijels ». Les bijels sont statiques, présentent un module élastique et sont préférentiellement formés si les particules sont ancrées aux interfaces avec un angle de contact proche de 90° (Cai, Clegg, 2015). Un exemple de bijel est montré sur la Figure I-19.c).

2.3. e) Les gouttes sèches

Des systèmes de Pickering eau-dans-air peuvent être fabriqués avec des particules peu mouillées par l'eau. Une poudre sèche, très riche en eau est alors obtenue. Ces gouttes « sèches » sont protégées par une couche de particules solides et s'écoulent comme une poudre classique (Aussillous, Quéré, 2001; Binks, Murakami, 2006). Murakami *et al.* (2012) sont allés plus loin en produisant une poudre d'émulsion sèche : les gouttes sèches contiennent de l'eau et des globules d'huile. Il s'agit d'un matériau huile-dans-eau-dans-air (Figure I-19.d)). Ces poudres sèches sont intéressantes comme vecteurs de molécules ou comme moyen de stockage et de transport de liquides dangereux.

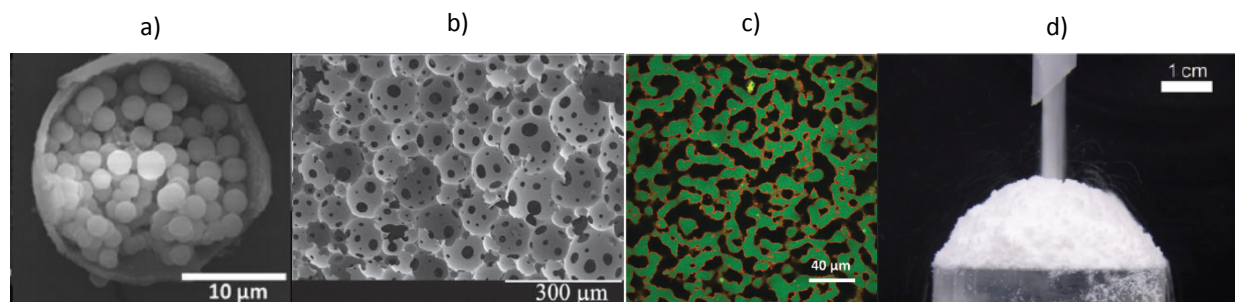


Figure I-19 a) Microsphères obtenues par Wang et al. (2018) à partir d'une émulsion stabilisée par des particules de silice de 20 nm ; b) polyHIPEs : Matériau obtenu par Ikem et al. (2010) après polymérisation de la phase continue d'une émulsion stabilisée par des particules de silice modifiées contenant 85% de phase dispersée ; c) Bijel constitué de polybutène (en noir) et de polystyrène (en vert) stabilisé par des nanoparticules de silice (en rouge), extrait de (Bai et al., 2015) ; d) Matériau sec huile-dans-eau-dans-air obtenu à partir d'une émulsion dodécane-dans-eau stabilisée par des particules de silice partiellement hydrophobes (37% SiOH) et dispersé dans l'air en présence de particules de silice très hydrophobes (20% SiOH), extrait de (Murakami et al., 2012).

3. Les émulsions sèches

Les poudres sèches huile-dans-air sont plus difficiles à obtenir que les poudres eau-dans-air à cause du caractère hydrophobe commun à l'huile et à l'air. Pour encapsuler de l'huile et ainsi la protéger de l'oxydation, faciliter son transport ou améliorer sa manipulation, il est plus aisé de passer par une émulsion huile-dans-eau puis d'éliminer la phase continue aqueuse. La couche rigide apportée par la stabilisation de Pickering apparaît alors comme une bonne solution pour conserver la structure des gouttes d'huile pendant l'élimination de l'eau.

3.1. Les différents états de l'eau

Dans un système humide complexe (contenant par exemple des protéines), l'eau interagit avec les composés de différentes manières. L'activité de l'eau a_w , comprise entre 0 et 1, caractérise la disponibilité de l'eau d'un système. Elle dépend notamment de sa teneur en soluté et de la température. On distingue alors l'eau liée de l'eau libre (Gomez, Saleh, 2012):

- L'eau libre est totalement disponible et est caractérisée par une activité proche de 1. Sans eau libre, les microorganismes ne peuvent pas se développer. Dans un milieu solide, l'eau est retenue par capillarité et l'énergie de liaison est faible (de l'ordre de 0,3 kJ.mol⁻¹). Elle peut donc facilement migrer et être éliminée. D'un point de vue pratique, elle est facilement congelable.
- L'eau liée est peu disponible et difficilement congelable. Elle est caractérisée par une activité entre 0,25 et 0,75. Elle est retenue dans le système par des liaisons faibles, de types hydrogène ou de Van der Waals, d'énergie comprises entre 1 et 3 kJ.mol⁻¹.
- L'eau fortement liée n'est ni disponible et ni congelable. Son activité est inférieure à 0,25 et les liaisons faibles qui la retiennent dans le système sont de l'ordre de 4 à 6 kJ.mol⁻¹.

3.2. La déshydratation

Pour déshydrater un système, l'eau liquide est transformée en vapeur d'eau en jouant sur le couple pression/température du système. La Figure I-20 représente le diagramme d'état de l'eau pure et d'une solution aqueuse. Plusieurs procédés permettent de déshydrater des systèmes humides. Les deux principales techniques utilisées industriellement sont la

lyophilisation et l'atomisation. Elles reposent sur deux changements d'état de l'eau : la sublimation et l'évaporation.

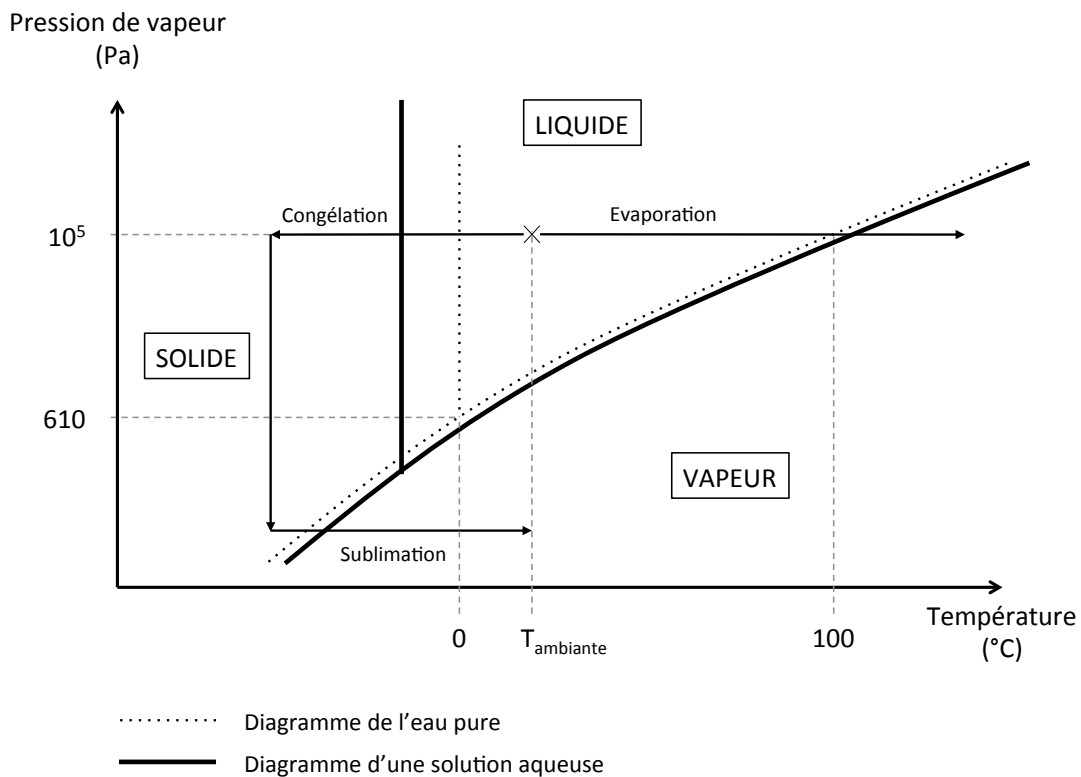


Figure I-20 Diagramme d'état de l'eau pure et d'une solution contenant un soluté adapté de (Marin, René, 2000)

3.2. a) Déshydratation par sublimation : lyophilisation

La lyophilisation nécessite deux opérations. L'échantillon doit dans un premier temps être congelé pour ensuite être déshydraté. La déshydratation a ensuite lieu en deux étapes :

- la déshydratation primaire : il s'agit de la sublimation de l'eau libre, seule partie de l'eau congelable et donc solide. Elle est provoquée en abaissant la pression puis en réchauffant l'échantillon, soit à l'aide de plaque chauffante soit à température ambiante. La présence de solutés dans l'eau abaisse la pression à atteindre pour être dans les conditions de sublimation (Figure I-20).
- la déshydratation secondaire : il s'agit de la désorption de l'eau résiduelle non cristallisée. Elle permet d'atteindre une activité d'eau finale proche de 0,2. Si besoin, la température de l'échantillon peut être augmentée au delà du point triple sans craindre la fusion de cristaux.

Un lyophilisateur est composé d'une enceinte hermétique reliée à une pompe à vide et à un piège de récupération de la vapeur d'eau. Une source de chaleur peut également être présente sous forme de plaque pour augmenter la température de l'échantillon.

3.2. b) Déshydratation par évaporation et entraînement à l'aide d'un courant de gaz chaud et sec : atomisation

L'atomisation (ou pulvérisation) consiste à pulvériser sous forme de gouttelettes très fines un système liquide dans un flux de gaz chaud et sec. La grande surface d'échange entre les gouttelettes pulvérisées en brouillard et le gaz chaud permet une évaporation très rapide de l'eau. Le séchage dépend alors :

- de la capacité du gaz à assimiler l'eau. L'activité de l'eau au sein du gaz doit être faible.
- de la disponibilité de l'eau à l'interface d'échange. L'activité de l'eau à la surface des gouttes pulvérisées doit être élevée.

Lorsque la goutte entre en contact avec le gaz, leur écart de température induit une augmentation de la température de la goutte. La différence d'activité de l'eau entre l'interface et le gaz provoque simultanément son évaporation. Le gaz est à la fois la source de chaleur et le vecteur d'élimination de l'eau : il entre chaud (200°C) et sec pour ressortir humide et refroidi (90°C). Les systèmes d'atomisation sont nombreux et apportent l'énergie nécessaire à la pulvérisation sous différentes formes (cinétique, centrifuge, hydraulique etc.). Le système à sécher et le gaz peuvent également être mis en contact à l'intérieur du système d'atomisation. La séparation du produit séché et du gaz se fait à l'aide de cyclones ou de filtres (Figure I-21).

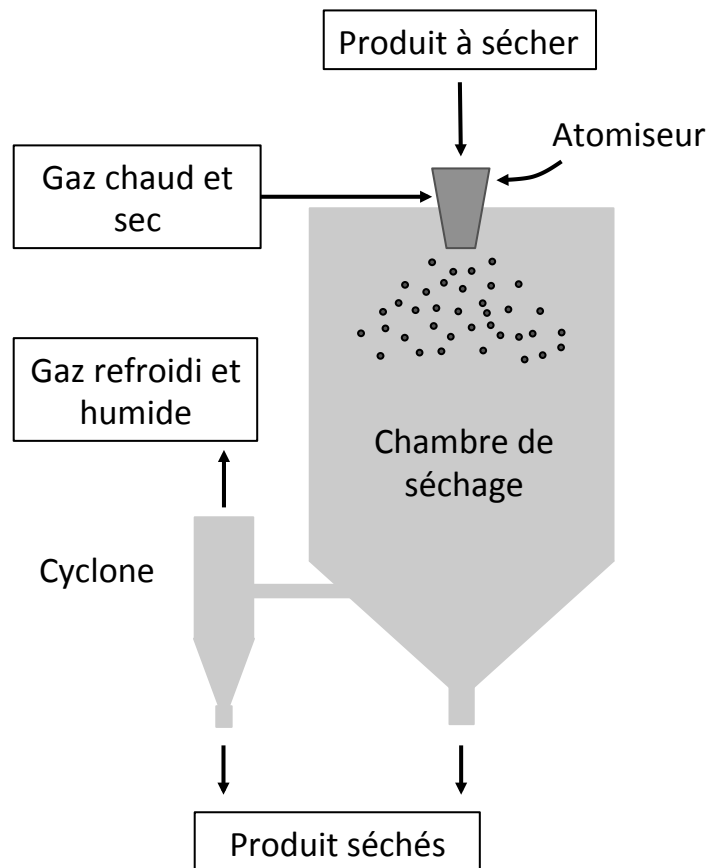


Figure I-21 Principe du séchage par atomisation d'après (Littringer et al., 2013).

L'évaporation peut être décrite d'après la théorie de la couche limite (Ranz et al., 1952). Soit la goutte à sécher, de température T^i dans laquelle l'eau a une activité a_w^i . Le gaz de séchage est à une température T^∞ supérieure à T^i et l'activité de l'eau a_w^∞ est très faible, voire nulle si le gaz est totalement sec. A leur mise en contact, il se forme une couche quasi-stagnante dans laquelle l'activité de l'eau et la température varient linéairement de T^i et a_w^i vers T^∞ et a_w^∞ (Figure I-22). La vapeur d'eau migre des zones de forte activité vers les zones de faible activité et la chaleur est transférée des zones chaudes vers les zones plus froides. Au cours du séchage, la température de la goutte augmente donc et son activité de l'eau diminue. Le débit spécifique surfacique d'évaporation est d'autant plus grand que la différence d'activités de l'eau entre la goutte et le gaz est grande. L'activité de l'eau étant dépendante de la température, cette différence est accentuée par l'écart de température. Le produit à sécher est généralement introduit à température ambiante et le gaz est souvent aux alentours de 200°C (Tableau I-3), ce qui provoque une évaporation très rapide.

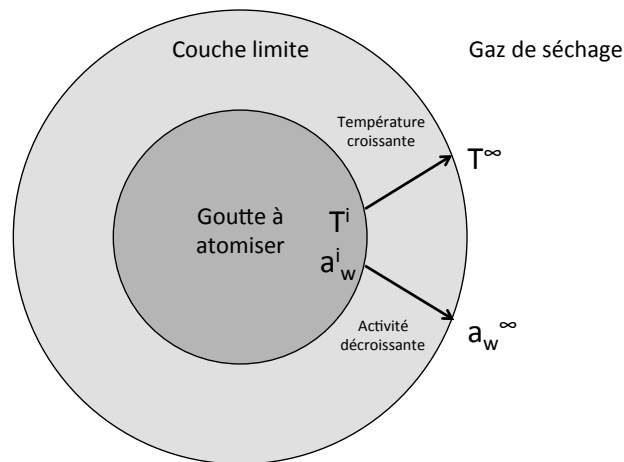


Figure I-22 Phénomène d'évaporation de l'eau selon la théorie de la couche limite d'après (Gomez, Saleh, 2012).

3.3. Propriétés des poudres obtenues par déshydratation

Le comportement des poudres après séchage est essentiel pour leur application. Leur morphologie ainsi que leur état d'agrégation conditionnent notamment leur capacité à s'écouler.

3.3. a) Morphologies

En lyophilisation, les produits secs obtenus sont très facilement redispersables (Marin, René, 2000). Ils forment un réseau interstitiel plus ou moins poreux en fonction de la taille et de l'organisation des cristaux formés lors de la congélation. La vitesse de congélation a donc une influence sur la morphologie des poudres obtenues (Schoof et al., 2001).

En atomisation, les morphologies des poudres sont dépendantes de la cinétique d'évaporation, des conditions de mise en contact goutte/gaz et de la composition de la goutte. Le passage par une pulvérisation sous forme de gouttelettes permet généralement d'obtenir des particules plus sphériques qu'en lyophilisation mais ce n'est pas toujours le cas. Des particules creuses, non sphériques, voire en forme de champignons, peuvent par exemple être obtenues (Walton, Mumford, 1999) (Figure I-23).

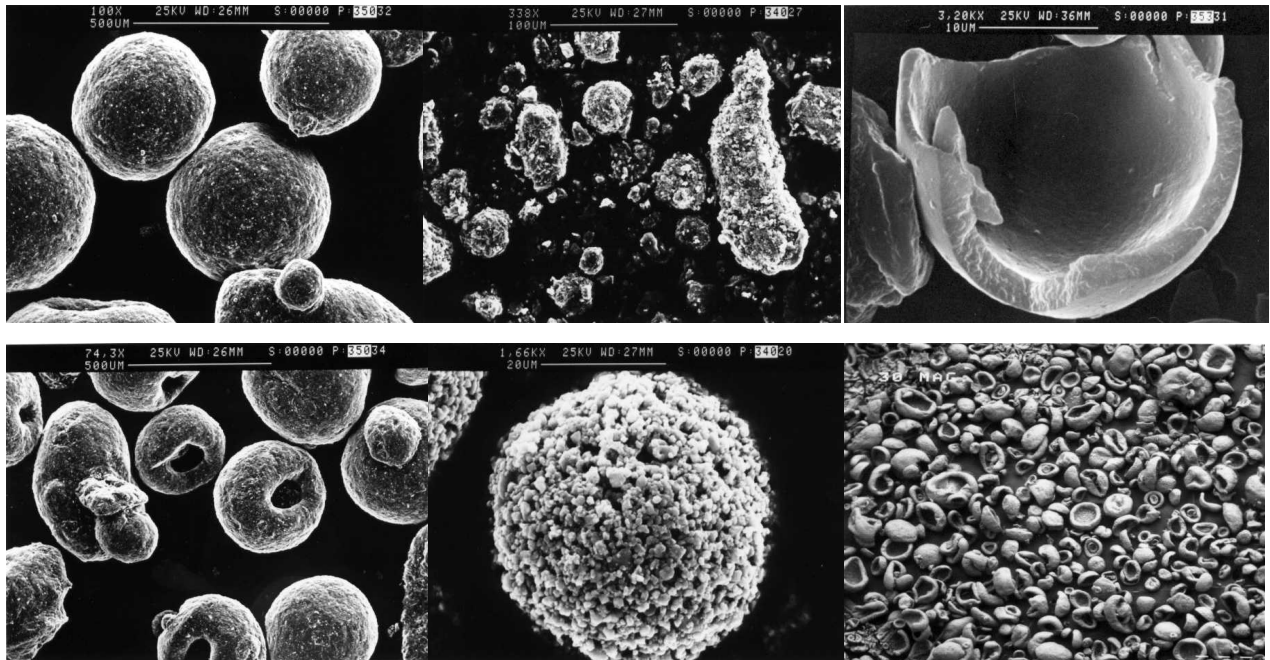


Figure I-23 Exemples de particules obtenues par atomisation d'après (Walton, Mumford, 1999)

L'eau résiduelle peut former des agglomérats et les températures appliquées peuvent conduire à la formation d'agrégats. Dans le domaine des poudres, un agrégat est un assemblage de particules élémentaires reliées entre elles par des liaisons dites rigides, par frittage par exemple. Ils sont indivisibles. En revanche, les agglomérats sont divisibles car assemblés via des liaisons faibles (Leturia, Saleh, 2016).

3.3. b) Forces interparticulaires

Les forces d'interaction entre les particules solides sont de nature et d'ordre de grandeur différents :

Les forces de Van der Waals attractives (voir paragraphe 1.3. c)(i) proviennent de l'interaction entre les moments dipolaires des atomes. Elles sont toujours présentes et agissent sur les particules sèches proches les unes des autres. Seville *et al.* (2000) ont montré que les interactions de Van der Waals sont plus faibles lorsque les objets en interaction sont plus rugueux que des sphères lisses.

Les forces électrostatiques répulsives (voir paragraphe 1.4. b) proviennent des charges qui peuvent apparaître au sein des particules, par frottement par exemple. Elles sont de manière générale faibles mais ont une action sur les plus longues portées. Aux faibles distances interparticulaires, elles sont négligeables devant les forces de Van der Waals.

Les forces capillaires sont le résultat de ponts liquides entre les particules. La tension superficielle du liquide génère une force attractive pouvant être nettement supérieure aux forces électrostatiques et de Van der Waals (Leturia, Saleh, 2016). Ces ponts liquides peuvent provenir de l'eau résiduelle contenue dans le produit, de la présence d'huile mal encapsulée ou de la condensation de la vapeur d'eau de l'air pendant un stockage à l'air ambiant.

Les évolutions de la poudre au cours du stockage peuvent favoriser la formation de ponts solides entre les particules. En effet, les phases formées dans les conditions de déshydratation (éloignées des conditions ambiantes) peuvent évoluer lors du stockage. La cristallisation d'une phase amorphe par exemple modifie la surface des particules et les cristaux formés peuvent ponter plusieurs particules.

3.3. c) Réhydratation

Les poudres sèches obtenues après élimination de la phase continue peuvent être dispersées à nouveau dans de l'eau afin de reconstituer les produits de départ. Dans le cas du séchage d'une émulsion, la différence de taille de gouttes indique alors la qualité du séchage et la capacité de l'émulsion à conserver sa structure. Le Tableau I-3 donne quelques exemples de séchage d'émulsions mis en œuvre pour encapsuler des huiles. Compte tenu de l'objet de ce travail de thèse, l'accent a été mis sur les émulsions stabilisées par des protéines et des particules. Ces émulsions sèches sont stables, ne collent pas et s'écoulent facilement. En revanche, lorsqu'elle est mesurée, la taille moyenne des gouttes est rarement conservée lorsque l'émulsion sèche est redispersée, même en présence d'additifs de séchage.

Tableau I-3 Exemples d'émulsions séchées par atomisation et principales caractéristiques

Emulsion			Additifs(s) de séchage	Température de l'air		Emulsion sèche		Références
Huile	Stabilisée par	Diamètre moyen		Entrée	Sortie	Diamètre moyen après redispersion	% m huile	
Lin	/	2 – 5 µm	Gomme arabique	140-200°C	/	10 µm (dispersion dans l'éthanol)	> 33%	(Tonon et al., 2011)
Miglyol	/	1-3 µm	Hydroxyméthyl cellulose	/	/	1-7 µm	40%	(Christensen et al., 2001)
Lin	Amidon modifié (OSA)	non mesuré	Tréhalose	150°C	75°C	Non mesuré	50%	(Domian et al., 2018)
Chia	Caséinates de sodium	0,2 µm	Lactose	135°C	90°C	0,5 µm (1,1 µm après 180 jours)	33%	(Ixtaina et al., 2015)
Tournesol	Caséinates de sodium	0,2 – 1,1 µm	Lactose	185°C	80°C	0,2 – 1,1 µm	30%	(Maher et al., 2015)
Miglyol	Caséinates de sodium	0,2 µm	Maltodextrine	110°C	75-85°C	0,4 µm - davantage polydisperse	35%	(Dollo et al., 2003)
Soja	Caséinates de sodium	5 – 15 µm	Maltodextrine	140-165°C	65°C	5 – 20 µm	63%	(Taneja et al., 2013)
Lin	Protéines de lactosérum et amidon modifié	1 µm	Maltodextrine et gomme arabique	180°C	110°C	10 µm	20%	(Carneiro et al., 2013)
Soja	Protéines de lactosérum	0,2 - 2 µm	Réticulation des protéines à 82°C	105°C	65°C	40 µm (dispersion dans l'huile)	95%	(Sarkar et al., 2016)
Miglyol	Protéines de pois	1,7 µm	Pectine	180°C	90°C	2,4 µm - davantage polydisperse	30%	(Gharsallaoui et al., 2010)
Tournesol	Protéines de pois hydrolysées	1-4 µm	Sirop de glucose (DE38)	180°C	70°C	1-4 µm	22%	(Tamm et al., 2016)
Soja	Protéines de soja	0,2 – 0,8 µm	/	160-200°C	80°C	1,2 – 10,5 µm	< 50%	(Tang, Li, 2013)
Tournesol	Tween 20	2 µm	Maltodextrine – Inuline d'agave	200°C	95-110°C	Non mesuré	10%	(Hernandez Sanchez et al., 2015)

3.4. Additifs de séchage

Ces additifs sont ajoutés aux formulations pour améliorer l'encapsulation et la stabilité de la poudre lors du stockage.

3.4. a) Matériaux de paroi

Dans le cas particulier d'encapsulation d'huile, l'émulsion de départ peut contenir un matériau dit « de paroi » qui va protéger les gouttes d'huile lors de la déshydratation. L'objectif est de former une membrane protectrice autour des gouttes d'huile et/ou de constituer un réseau fin et dense pour prévenir la fuite d'huile. Ces additifs sont généralement (Dumoulin, Bimbenet, 1998; Gharsallaoui et al., 2007) :

- des polysaccharides : maltodextrines, amidons, pectines, celluloses, gommés arabique ou d'acacia. Ils sont efficaces mais leurs proportions finales dans les poudres sont élevées.
- des protéines comme les protéines de lait ou de pois. Elles peuvent se dénaturer au cours du processus et ne pas stabiliser le système. Leur dénaturation dépend de la température et de l'activité de l'eau, deux variables difficiles à contrôler au sein du système pour chaque étape du séchage.

3.4. b) Sucres : cas du lactose

A l'état solide, de nombreux composés comme les protéines ou les sucres peuvent se trouver sous une forme amorphe (désorganisée) ou cristallisée (organisée). Lors de la déshydratation rapide, ces composés n'ont pas le temps de s'organiser et sont majoritairement dans leur état amorphe à la fin du séchage. Cet état présente plusieurs inconvénients :

- l'état amorphe est plus collant que l'état cristallisé
- dans les conditions de température et d'humidité courantes de stockage, les phases amorphes peuvent cristalliser et particulièrement perturber l'organisation du système séché. En plus de produire de ponts entre les particules comme décrit au paragraphe précédent, la cristallisation libère également des molécules d'eau. Les forces capillaires attractives et l'activité de l'eau globale du système augmentent et altèrent la stabilité de la poudre. La cristallisation peut également générer des microfissures au sein de la particule et libérer l'huile qu'elle contient.

L'objectif est donc de diminuer la proportion de phase amorphe et de favoriser la cristallisation dès les premières étapes de la déshydratation. Pour cela il est possible d'ajouter des cristaux qui joueront le rôle de nuclei ou de volontairement (sur)saturer la solution en lactose (Bhandari, Howes, 1999; Senoussi et al., 1995). Le lactose est un composé dont les propriétés et les conditions de changement d'état ont largement été étudiées (Chidavaenzi et al., 1997; Haque, Roos, 2005; Jeantet et al., 2007; Maher et al., 2015; Schuck et al., 2004). Il existe sous deux formes isomères, α et β . A l'état solide, chacune des formes peut être amorphe ou cristalline. Le lactose amorphe, qu'il soit, α ou β , est très hygroscopique, c'est-à-dire capable de capter des molécules d'eau de l'air ambiant. Le lactose cristallin α peut être monohydrate ou anhydre. Ce dernier est constitué de deux types, le lactose α anhydre dit « stable » car peu hygroscopique et le lactose α anhydre dit « instable », très hygroscopique. Le lactose cristallin α monohydrate contient environ 5 % d'eau piégée dans son réseau. Cette eau commence à être éliminée à partir d'une température de 100°C environ. La forme cristalline α monohydrate est par ailleurs peu hygroscopique. Le lactose cristallin β est plus cassant que la forme cristalline α , il se solubilise dans l'eau plus rapidement et il est peu hygroscopique. Les cristaux de lactose β sont plus petits que les cristaux α . Une cristallisation sous forme β est souvent recherchée (Chiou et al., 2008; Haque, Roos, 2006; Listiohadi et al., 2008). La Figure I-24 résume les différentes formes accessible au lactose à l'état solide.

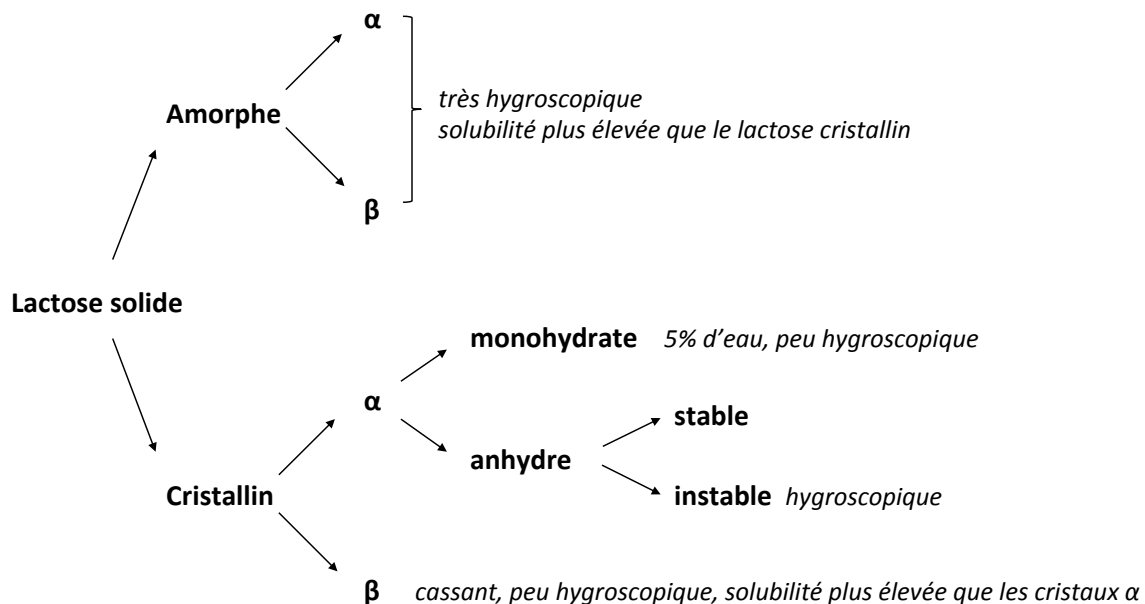


Figure I-24 Les différentes formes du lactose à l'état solide

4. L'oxydation des lipides

L'oxydation des lipides (dont les huiles alimentaires composées principalement de triglycérides), ou rancissement oxydatif, est un processus chimique spontané, évolutif et irréversible. Les acides gras insaturés des triglycérides sont attaqués par l'oxygène atmosphérique. Ce rancissement altère les qualités nutritionnelles et sensorielles du produit car il diminue la proportion d'acides gras d'intérêt ou génère l'apparition de composés indésirables voire toxiques. Dans le cas de produits alimentaires, de graves pathologies peuvent être développées si le produit oxydé est consommé régulièrement (Esterbauer, 1993).

L'oxydation des lipides est un ensemble de réactions radicalaires en chaîne qui nécessite :

- un substrat : les acides gras insaturés, estérifiés au sein des triglycérides et des phospholipides
- un réactif : l'oxygène de l'air
- un initiateur dont dépendent les voies réactionnelles de l'oxydation :
 - des radicaux libres initialement présents dans la matrice ou des éléments capables de générer des radicaux libres comme les ions métalliques (auto-oxydation)
 - une radiation photochimique en présence d'un photo-sensibilisateur (photo-oxydation)
 - une enzyme comme la lipoxygénase (oxydation enzymatique)

Bien que l'oxydation des lipides soit un phénomène complexe, il est généralement décrit comme la succession de 3 principales étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison. Ces étapes sont présentées dans cet ordre mais il est probable que les phénomènes réellement impliqués soient plus complexes (Figure I-25) (Schaich, 2012). Dans ce travail de thèse, nous ne nous placerons que dans les conditions d'auto-oxydation. Ce sont donc uniquement ces voies réactionnelles qui sont décrites par la suite.

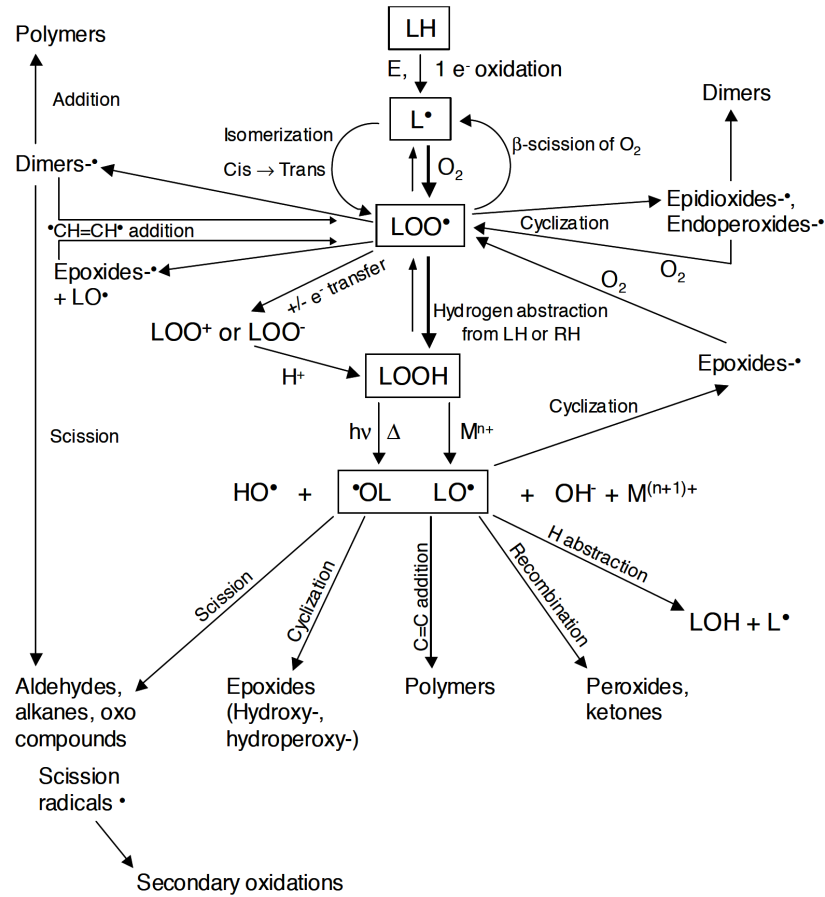


Figure I-25 Schéma général de l'oxydation des lipides impliquant des réactions multiples et simultanées proposé par (Schaich, 2005)

4.1. Initiation

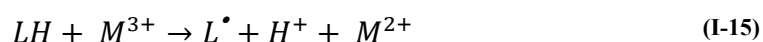
L'auto-oxydation des lipides est la réaction entre les acides gras insaturés et l'oxygène moléculaire. À l'état fondamental, le dioxygène est dans un état de spin triplet, c'est-à-dire que deux électrons non appariés sont dans un état de spin parallèle ($\uparrow\uparrow$ ou $\downarrow\downarrow$). Parce que l'oxygène triplet, 3O_2 , a une direction de spin opposée à celle des acides gras insaturés, l'énergie d'activation de la réaction directe entre les deux espèces chimiques est trop élevée (entre 35 et 65 kcal.mol⁻¹ (Labuza, Dugan, 1971)). Des initiateurs sont nécessaires pour transformer les acides gras en radicaux (réaction beaucoup plus favorable entre un radical et 3O_2) ou pour transformer l'état triplet en un état singulet (OH^\bullet ou 1O_2 dans le cas d'une photo-oxydation).

La rupture homolytique d'une liaison $C - H$ d'un acide gras (LH) produit un radical et permet d'initier la réaction radicalaire (I-14). L'énergie de dissociation de cette liaison est

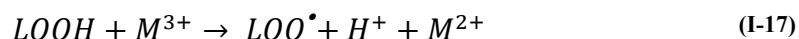
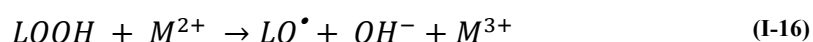
d'environ 100 kcal.mol⁻¹. Cette énergie est abaissée à 74 kcal.mol⁻¹ lorsque que le carbone est adjacent à une double liaison, (carbone allylique). En revanche, dans le cas d'un acide gras polyinsaturé, l'énergie de dissociation d'un carbone bis-allylique n'est plus que de 65 kcal.mol⁻¹ (Berton-Carabin et al., 2014). Les acides gras polyinsaturés (AGPI) sont donc plus susceptibles d'être oxydés que les mono-insaturés et les huiles riches en AGPI comme l'huile de lin ou les huiles de poisson sont très sensibles à l'oxydation.



Les conditions de cette rupture dépendent de l'initiateur présent. S'il s'agit d'ions métalliques, M^{n+} , l'acide gras peut directement réagir avec l'ion (réaction (I-15)) ou avec un oxygène radical issu de l'auto-oxydation du métal (le fer par exemple).



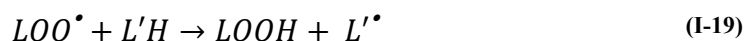
Les métaux peuvent également réagir avec les hydroperoxydes ($LOOH$) initialement présents à l'état de traces dans la matrice et former des radicaux LOO^{\bullet} et LO^{\bullet} (réactions (I-16) et (I-17)). Ces mécanismes sont fréquemment mis en jeu compte-tenu de la difficulté à éliminer toutes traces de métaux dans les lipides (Frankel, 2014; Ingold, 1969).



4.2. Propagation

La propagation de l'oxydation s'effectue par les réactions successives des radicaux formés lors de l'initiation avec l'oxygène triplet, d'autres acides gras et les nouveaux radicaux formés.

Le produit radicalaire de la réaction (I-14) réagit très rapidement (énergie d'activation très basse, voire nulle, (Ingold, 1969; Labuza, Dugan, 1971)) avec l'oxygène triplet pour former des radicaux peroxydes LOO^{\bullet} (I-18). Ces derniers, également produits de la réaction (I-17), peuvent ensuite réagir avec une autre chaîne insaturée pour former des hydroperoxydes $LOOH$ (I-19). La délocalisation électronique au sein des hydroperoxydes (et de leurs dérivés) ayant tendance à les stabiliser, la liaison à former ($LOO-H$) est plus stable que la liaison à rompre ($L'-H$) (Ingold, 1969) et l'énergie d'activation de cette réaction est faible, de l'ordre de 3 à 5 kcal.mol⁻¹ (Labuza, Dugan, 1971).



La réaction (I-18) est plus rapide que la réaction (I-19), mais cette dernière est accélérée par la température (Frankel, 2012a). A température ambiante, la constante de vitesse de réaction entre un radical peroxyde LOO^{\bullet} et un hydrogène d'un autre acide gras insaturé est inférieure ou de l'ordre de $10^1 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, alors qu'à 65°C elle est égale à $10^3\text{-}10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (Frankel, 2012b; Ingold, 1969).

A ce stade, il est intéressant de noter que la concentration en hydroperoxydes ($LOOH$) augmente lors de la propagation de l'oxydation. Comme précisé plus haut, ils peuvent être initialement présents dans l'huile à l'état de trace mais l'augmentation de leur concentration indique que l'oxydation a débuté. Les hydroperoxydes sont considérés comme les produits primaires d'oxydation et comme un facteur de « fraîcheur » de l'huile. Si plusieurs hydroperoxydes peuvent être formés à partir d'une même chaîne polyinsaturée, leur formation s'accompagne toujours d'un réarrangement des doubles liaisons et l'apparition d'une conjugaison (Figure I-26). Deux hydroperoxydes peuvent être formés à partir d'un hydrogène bis-allylique. Si une chaîne d'acide gras en possède 2, comme l'acide α -linoléique, 4 hydroperoxydes différents peuvent être formés.

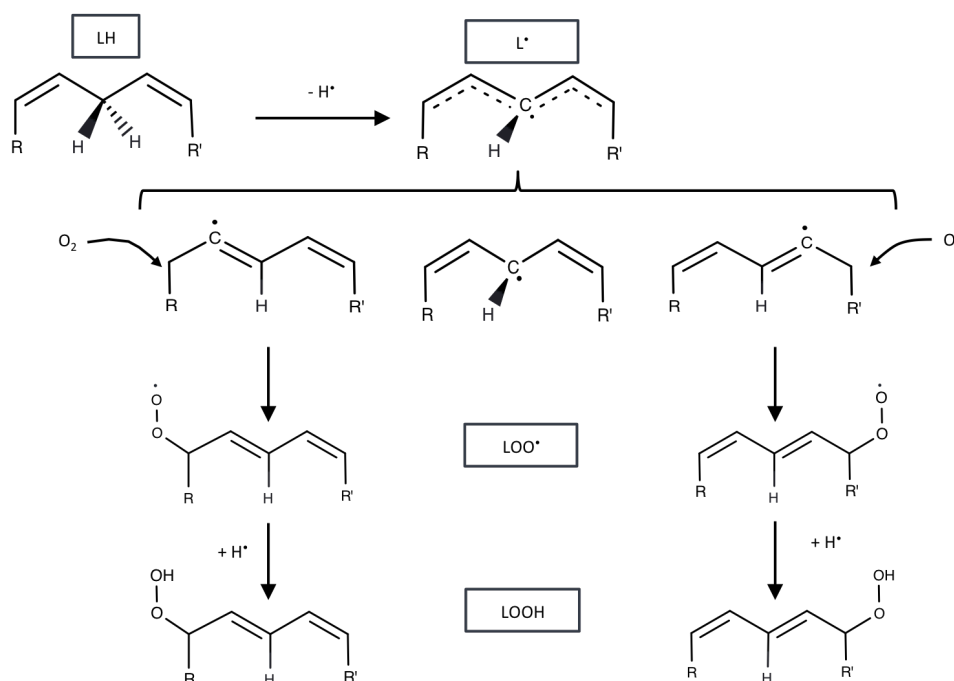


Figure I-26 Mécanismes de formation d'hydroperoxydes à partir d'une liaison C-H bis-allylique d'un acide gras polyinsaturé

4.3. Terminaison

La phase de terminaison est la phase dans laquelle les différents composés radicalaires réagissent entre eux pour former des composés non radicalaires plus stables. Ces composés sortent alors du cycle des réactions en chaîne et ne participent plus à l'oxydation. Les énergies d'activation de ces réactions sont d'environ 5 à 8 kcal.mol⁻¹ et la probabilité pour que 2 radicaux se rencontrent augmente avec leur concentration (Labuza, Dugan, 1971). Ce sont ces produits secondaires d'oxydation qui conduisent à une baisse de la qualité de l'huile.

Bien que les hydroperoxydes soient assez stables, ils peuvent subir de nombreuses réactions au cours de l'oxydation. La liaison O – O peut être rompue par une scission homolytique et former davantage de composés radicalaires LOO^\bullet et LO^\bullet . Ces radicaux étant très réactifs, ils subissent des réarrangements lorsque que les atomes d'hydrogène sont moins disponibles pour immédiatement réagir avec eux. C'est le cas lorsque l'oxydation atteint un stade plus avancé et que les acides gras ont majoritairement réagi, d'où un réarrangement plus marqué dans le deuxième temps de l'oxydation. Des époxydes peuvent également se former à partir du radical alkoxy LO^\bullet (Figure I-27). La rupture de la liaison C-C adjacente au radical LO^\bullet forme des composés non radicalaires tels que des cétones, des alcools et des aldéhydes. Les produits formés dépendent de la structure de la chaîne, de la scission et des composés radicalaires environnants qui réagissent avec les produits formés (Figure I-28). Certains de ces composés secondaires comme par exemple le *trans,trans*-2,4-heptadienal sont volatils et responsables de l'odeur de rance d'une huile oxydée.

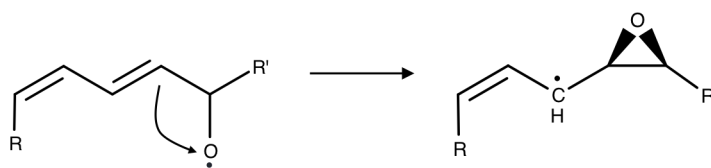


Figure I-27 Formation d'un époxyde à partir d'un radical alkoxy

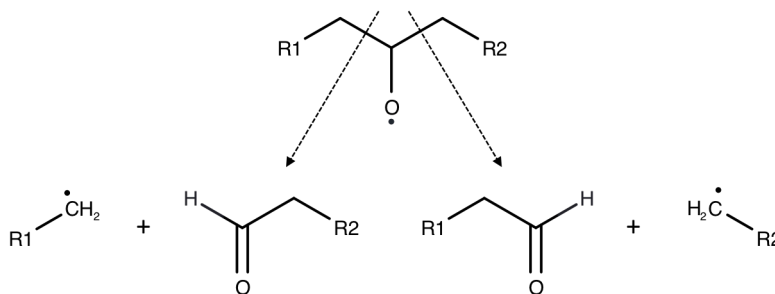


Figure I-28 Scission des radicaux alkoxy

4.4. Cinétique globale de l'oxydation des lipides

L'oxydation des lipides est donc un phénomène complexe, en plusieurs phases, et dans lequel de multiples réactions simultanées font apparaître et disparaître différents composés. La Figure I-29 représente l'évolution cinétique des marqueurs de l'oxydation des lipides telle qu'elle est le plus souvent représentée. Elle permet une bonne appréhension globale du phénomène, bien que celui-ci puisse, nous le rappelons à nouveau, être plus complexe.

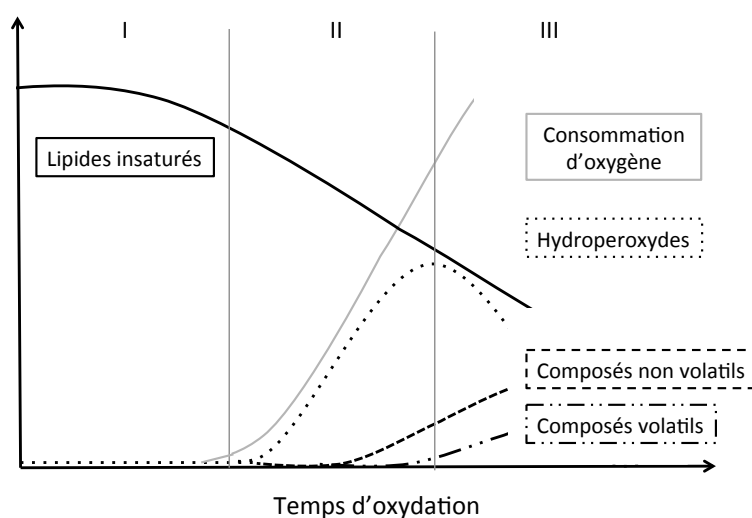


Figure I-29 Représentation schématique de l'évolution cinétique des marqueurs de l'oxydation des lipides adapté de (Labuza, Dugan, 1971). I : Phase d'initiation ; II : Phase de propagation ; III : Phase de terminaison

La cinétique peut être décrite en 3 étapes :

- La phase d'initiation ou d'induction : les acides gras insaturés commencent à être consommés mais aucune apparition de composés d'oxydation n'est détectée. L'étendue de cette phase dépend de plusieurs facteurs notamment de la quantité d'antioxydants, de catalyseurs, de la disponibilité de l'oxygène, etc.
- La détection du début de l'oxydation : les hydroperoxydes apparaissent après une diminution de la quantité des acides gras insaturés et augmentation de la consommation d'oxygène. Leur concentration augmente et les premiers composés d'oxydation secondaire commencent à apparaître, indiquant la décomposition des hydroperoxydes.
- Les hydroperoxydes disparaissent plus rapidement qu'ils n'apparaissent, leur concentration diminue, alors que celle des composés d'oxydation secondaire volatils et non volatils augmente. Les lipides ont alors une odeur et/ou un goût de rance.

4.5. Les antioxydants

Nous venons de voir que l'oxydation est un phénomène spontané et évolutif. Les antioxydants sont des molécules capables d'agir à faible dose (quelques centaines de ppm) permettant de ralentir le phénomène oxydatif en bloquant les réactions en chaîne de formation des radicaux libres. Leur présence conduit à un allongement de la période d'induction.

4.5. a) Mécanismes généraux des antioxydants

Une molécule peut donc jouer un rôle antioxydant par rupture de la chaîne de réaction en réagissant avec les radicaux de l'initiation ou de la propagation. L'antioxydant, AH , est capable de donner un hydrogène pour réagir avec un radical (réaction (I-20)). Le radical formé, A^\bullet , est soit stabilisé par délocalisation des électrons (Figure I-30), soit plus réactif envers un autre radical qu'envers une chaîne insaturée (réactions (I-21) et (I-22)). Dans le cas contraire, ou si il est présent en grande quantité, le composé favorise la propagation et est alors pro-oxydant (Cillard et al., 1980).

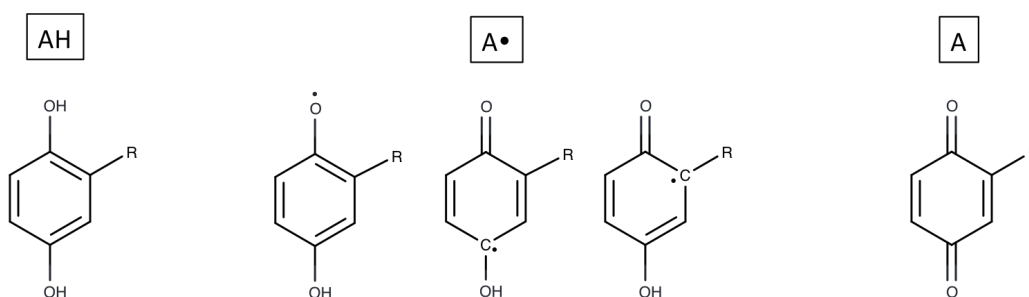
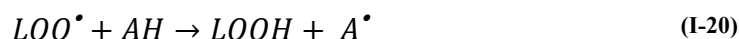
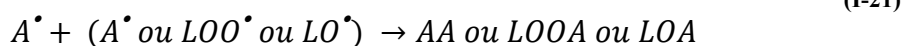


Figure I-30 Stabilisation par délocalisation des électrons du radical issu d'une hydroquinone substituée (d'après (Frankel, 2012b))



A favoriser :



Notons que certains antioxydants peuvent agir sur d'autres molécules que les acides gras en étant capables de former des complexes avec les métaux (acide citrique) ou d'inhiber

l'oxygène singulet (caroténoïdes). Ils empêchent ainsi ces autres espèces de participer aux réactions d'oxydation (Laguerre et al., 2007).

La première catégorie (antioxydants phénoliques) décale le début de l'oxydation ; le substrat n'est pas modifié tant que l'antioxydant est présent. Lorsqu'il est entièrement consommé, l'oxydation démarre. La deuxième catégorie n'induit pas de décalage de la phase d'induction mais diminue la vitesse d'oxydation (Figure I-31).

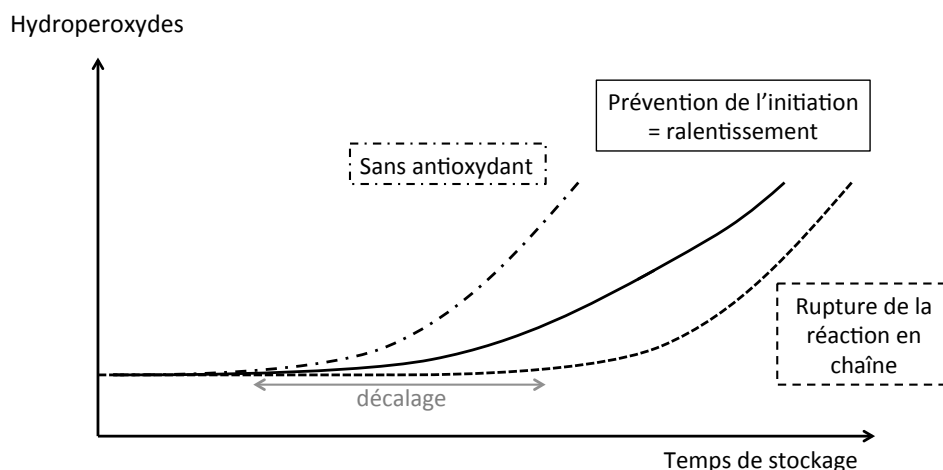


Figure I-31 Influence des différents types d'antioxydants sur la cinétique d'oxydation, adapté de (Laguerre et al., 2007).

4.5. b) Les antioxydants naturels

Les antioxydants jouent un rôle crucial dans la cinétique d'oxydation et permettent de la ralentir ou de la décaler, de manière significative. De nombreux antioxydants naturels ou synthétiques existent et sont à la disposition des industriels de l'agroalimentaire ou de la cosmétique. Compte-tenu de la tendance actuelle vers des molécules d'origine naturelle et du sujet de cette thèse, seuls quelques antioxydants seront abordés : les tocophérols, les acides phénoliques et les flavonoïdes.

Les tocophérols sont des antioxydants naturels que l'on trouve en grande quantité dans les huiles végétales. Ils sont constitués d'un noyau chromanol plus ou moins substitué par des groupements méthyle et d'une chaîne apolaire (Figure I-32.a)). Ils sont capables de donner un hydrogène et d'être en compétition avec les acides gras insaturés dans la réaction (I-19), les protégeant ainsi de l'oxydation. Ils réagissent beaucoup plus rapidement que les acides gras insaturés (constante de vitesse de réaction de l'ordre de $10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ contre $10^1 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ pour la réaction (I-19), (Frankel, 2012b)) et leurs radicaux sont stables par délocalisation des électrons. Les tocophérols peuvent également réagir avec l'oxygène singulet (Shahidi, Ambigaipalan, 2015).

Les acides phénoliques sont présents dans une majorité de fruits et plantes comme le raisin ou le colza. Ils possèdent au moins un groupe carboxyle et un groupe phénolique et dérivent majoritairement des acides hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique, les dérivés de ce dernier étant plus répandus (Figure I-32.b). Leur pouvoir antioxydant est principalement dû au groupe hydroxyle du cycle aromatique qui peut donner un hydrogène et être stabilisé par délocalisation des électrons.

Les flavonoïdes représentent deux tiers des phénols alimentaires (Shahidi, Ambigaipalan, 2015). Ils sont constitués de deux cycles aromatiques à 6 carbones plus ou moins substitués et reliés par une chaîne propane. Un troisième cycle est souvent formé par la liaison entre un oxygène et cette chaîne. Suivant la nature des substituants (hydroxyle, éther, carbonyle) les flavonoïdes sont classés en flavanols, flavones, flavonols, flavanones etc (Figure I-32.c). Les flavonoïdes peuvent également se condenser et former les procyanidines. Les deux modes d'action antioxydante, la rupture des réactions en chaîne et la prévention de l'initiation, sont attribués aux flavonoïdes.

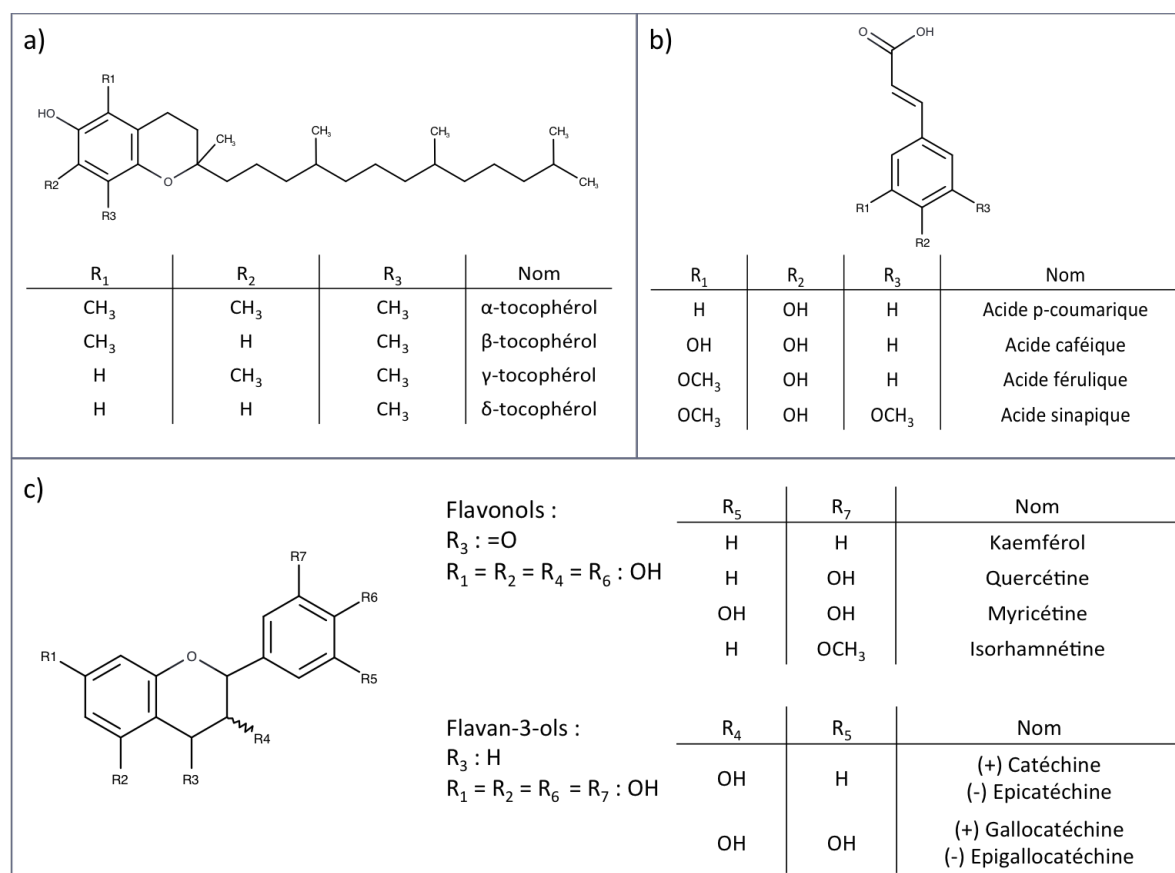


Figure I-32 Structures de quelques antioxydants naturels : a) tocophérols b) acides phénoliques dérivant de l'acide hydroxycinnamique et c) flavonols et flavan-3-ols (flavonoïdes)

4.6. Oxydation des lipides en émulsion huile-dans-eau

Quelle que soit l'application finale, les lipides sont très souvent formulés au sein de systèmes complexes pour apporter d'autres fonctionnalités au produit ou en améliorer les propriétés (sensorielles, nutritives etc.). L'oxydation des lipides fait alors intervenir des facteurs de formulation rendant les phénomènes plus complexes dans ces systèmes. Ainsi, entrent en jeu la composition des deux phases, mais également la nature de l'interface, zone d'échange entre les deux milieux. De plus, la création de l'interface elle-même par le procédé d'émulsification peut générer des conditions pro-oxydantes par l'incorporation d'oxygène, l'augmentation de la température ou la formation de radicaux libres par cavitation par exemple.

4.6. a) Rôle des deux phases et de leur composition

(i) La phase grasse

Les paramètres de l'huile qui influencent les réactions d'oxydation sont :

- la proportion d'acides gras insaturés. Une étude montre, par exemple, une relation directe entre l'oxydabilité d'une huile végétale et sa teneur en acide α -linoléique (Dridi et al., 2016).
- la position des acides gras sur le squelette glycérol. Il a été montré dans plusieurs études qu'un acide gras en position 1 ou 3 est davantage oxydé que ce même acide gras en position interne (Figure I-33) (Raghuveer, Hammond, 1967). Par exemple, des triglycérides de synthèse contenant un acide docosahexaénoïque, (ou DHA, un acide gras polyinsaturé très sensible à l'oxydation) en position 2 sont plus stables à l'auto-oxydation que si le DHA est estérifié en position 1 (ou 3) (Wijesundera et al., 2008). L'hypothèse avancée est que les acides gras en positions externes sont plus disponibles pour la propagation de l'oxydation. Cette règle n'est plus toujours valable si deux AGPI sont estérifiés au sein de la même molécule de triglycéride.

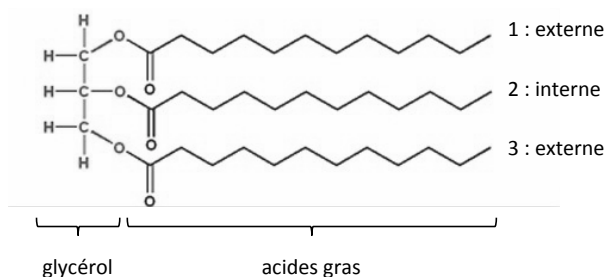


Figure I-33 Structure d'un triglycéride.

- la présence de composés mineurs dans l'huile qui peuvent jouer des rôles pro- ou antioxydants. Les tocophérols ont déjà été cités dans la catégorie des antioxydants mais plusieurs études montrent que les phospholipides présentent également un bon pouvoir antioxydant ainsi qu'un effet synergique avec les tocophérols (Judde et al., 2003; Kashima et al., 1991; Saito, Ishihara, 1997). En revanche les acides gras libres favorisent l'oxydation (Waraho et al., 2011).

Au niveau de la formulation de l'émulsion, Kargar *et al.* ont étudié l'influence de la quantité d'huile sur l'oxydation dans des émulsions d'huile de tournesol stabilisées par du tween 20 ou du caséinate de sodium. Ils ont montré qu'une augmentation de la fraction en huile diminue l'oxydation des lipides. Cette tendance est accentuée lorsque la concentration en hydroperoxydes est normalisée par la quantité d'interface pour prendre en considération la différence de taille de gouttes (Kargar et al., 2011).

(ii) *La phase aqueuse*

Les composés hydrosolubles en phase aqueuse peuvent influencer l'oxydation des lipides au sein des émulsions :

- les protéines non adsorbées : de nombreuses études ont montré que selon leur charge (et donc le pH), les protéines peuvent chélater les ions métalliques et retarder l'oxydation (McClements, Decker, 2000). Ces mécanismes antioxydants se font par interaction avec certains acides aminés comme les groupes sulfhydryles ou phosphoryles (Berton-Carabin et al., 2014; Elias et al., 2008). Le caractère antioxydant peut être accentué si les protéines sont initialement prétraitées thermiquement. A partir d'une certaine température de prétraitement (inférieure à 90°C pour des protéines de lait par exemple), elles se déplient et les groupes impliqués dans les mécanismes antioxydants sont davantage accessibles (Tong et al., 2000). Des émulsions lavées de leurs protéines en excès s'oxydent plus rapidement que leur homologues non lavées (Ries et al., 2010).
- les micelles de tensioactifs peuvent piéger certains composés pro-oxydants (acides gras libres, hydroperoxydes) ou antioxydants (composés phénoliques) davantage liposolubles qu'hydrosolubles. Leur solubilisation partielle dans la phase aqueuse modifie leur répartition au sein du système et donc leur influence sur l'oxydation. Par exemple, Nuchi *et al.* ont montré que des micelles de tensioactifs (Brij 76) sont

capables de solubiliser des hydroperoxydes d'acide linoléique. Ces derniers sont transférés de l'interface vers la phase aqueuse. Ils participent alors moins à la propagation de l'oxydation au sein des gouttes de l'émulsion et l'oxydation est ralentie (Nuchi et al., 2002).

- les polysaccharides comme la gomme arabique, le xanthane ou la pectine qui ont la capacité d'interagir avec les métaux (McClements, Decker, 2018; Sirendi et al., 1998).
- les complexes protéines/carbohydrates ou protéines/polyphénols naturels ou de synthèse. Le caractère antioxydant de ces complexes est généralement associé aux polyphénols ou aux protéines qui les constituent et dont les pouvoirs antioxydants (interactions avec les métaux et don d'un hydrogène) semblent être conservés au sein de ces structures (Foegeding et al., 2017; Jakobek, 2015; McClements, Decker, 2018; Williams et al., 2005).

L'influence de ces composés est très liée à leur concentration. Ries *et al.* ont étudié l'influence de la concentration en protéines dans la phase aqueuse sur l'oxydation d'émulsions d'acide linoléique. Les émulsions ont des tailles de gouttes identiques (0,6 μm), afin qu'une augmentation de la concentration totale en protéines augmente la quantité de protéines non adsorbées dans la phase aqueuse. Les hydroperoxydes sont dosés après 4 h à 50°C. L'augmentation de la quantité de protéines diminue la formation des hydroperoxydes. Par exemple, 500 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ d'hydroperoxydes sont mesurés pour une émulsion à 2 % de caséinate de sodium contre 50 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ pour une émulsion à 7 % (Ries et al., 2010).

4.6. b) Rôle de l'interface

L'interface est une zone de quelques nanomètres typiquement, entourant chaque goutte d'huile. Elle contient principalement les composés amphiphiles mais également de l'huile, de l'eau et toutes les entités susceptibles d'être attirées vers elle comme des ions (McClements, Decker, 2000). Les molécules présentes dans le système se répartissent entre la phase grasse, la phase aqueuse et l'interface suivant leur polarité et leur activité tensioactive. Non seulement cette répartition a un fort impact sur l'oxydation, mais elle est aussi évolutive en fonction de la formation et de la disparition des nombreux composés impliqués dans l'oxydation. Les hydroperoxydes ont par exemple un plus fort pouvoir tensioactif que les acides gras dont ils dérivent (Nuchi et al., 2002). Ils migrent donc du cœur de la goutte d'huile

vers l'interface où ils sont beaucoup plus exposés aux composés hydrosolubles, anti- ou pro-oxydants. Ils peuvent également chasser, voir désorber d'autres composés et participer à la déstabilisation physique du système.

Il a été montré dans plusieurs études que ce n'est pas nécessairement l'épaisseur de l'interface qui a le plus d'influence sur la protection contre l'oxydation mais plutôt l'arrangement et la densité des espèces qui la composent. Des chaînes de tensioactifs plus longues et capables d'adopter un arrangement très compact vont ralentir la diffusion des radicaux libres jusqu'aux acides gras intacts au cœur de la goutte (Chaiyasit et al., 2000). En raison des boucles formées dans la phase aqueuse, une interface composée de protéines est plus épaisse (de l'ordre de 1 à 13 nm (Dalglish, 1993)) et plus viscoélastique qu'une interface fluide composée de tensioactifs (épaisseur inférieure à 1 nm) mais elle protège moins de la diffusion des radicaux et espèces pro-oxydantes hydrosolubles (Berton-Carabin et al., 2014).

Les protéines n'ont pas la même influence qu'elles soient libres dans la phase aqueuse comme décrit précédemment ou adsorbées à l'interface. Plusieurs études ont même montré leur double rôle : elles sont antioxydantes si elles sont présentes en excès dans la phase aqueuse, mais n'ont pas d'effet voir sont pro-oxydantes quand elles sont adsorbées aux interfaces (Berton et al., 2012; Gumus et al., 2017; Zhu et al., 2018b). En s'oxydant, les protéines s'agrègent et deviennent moins solubles. Les groupements impliqués dans les mécanismes antioxydants comme les groupes sulfhydryles disparaissent. Des groupements carbonyles peuvent également se former sur les chaînes latérales, notamment en présence de métaux. L'évolution de ces caractéristiques a été étudiée par Berton *et al.* pour des émulsions à différents stades de l'oxydation et en différenciant les protéines de l'interface de celles en excès dans la phase aqueuse. Il est apparu que ces modifications ont lieu au tout début de l'oxydation, dès les premières réactions, et principalement au niveau des protéines de l'interface. Leur oxydation précoce peut alors induire l'oxydation des lipides proches de l'interface.

Très peu d'études ont évalué le cas où seules des particules sont à l'interface. Kargar *et al.* (2011, 2012) ont étudié l'évolution de l'oxydation pour des émulsions d'huile de tournesol stabilisées uniquement par de la cellulose microcristalline, des particules d'amidon modifié ou des particules de silice (de grade alimentaire). Les émulsions obtenues par

homogénéisation à haute pression sont de l'ordre de 5 à 20 μm (diamètres moyens en surface, $D_{3,2}$) et leur stabilité physique a été vérifiée sur 40 jours. Elles ont été vieilles pendant 7 jours à 40°C. Les quantités d'hydroperoxydes et de composés d'oxydation secondaire non volatils sont dosées après 7 jours de stockage à 40°C. Les résultats concernant la cellulose et les particules d'amidon modifié ne sont pas comparés à ceux d'une émulsion sans particules mais l'augmentation de la quantité de particules au sein des émulsions ralentit la formation des composés d'oxydation primaire et secondaire. Ce résultat est attribué à la couche de particules plus épaisse à la surface des gouttes. La cellulose microcristalline s'avère plus efficace que l'amidon modifié en raison de sa capacité supplémentaire à piéger les radicaux libres avec ses charges négatives (Kargar et al., 2012). A pH 2, les particules de silice protègent davantage de l'oxydation que des émulsions stabilisées par du Tween 20 (Kargar et al., 2011).

Xiao *et al.* ont évalué l'oxydation pour des émulsions d'huile de soja stabilisées par des nanoparticules de kafirines, des protéines prolamines issues des graines de sorgo (une plante graminée). Les émulsions ont été fabriquées avec un agitateur de type rotor-stator (Ultra-Turrax[®]), la taille des gouttes n'est pas caractérisée mais les images de microscopie optique montrent des gouttes dont le diamètre est de l'ordre de 50 μm . La quantité d'hydroperoxydes est déterminée sur 15 jours de stockage à température ambiante pour des émulsions stabilisées par des particules de kafirines, par du Tween 80 ainsi que pour l'huile non émulsionnée. L'émulsion stabilisée par les kafirines s'oxyde un peu moins que celle stabilisée par le Tween 80 (0,20 contre 0,26 μg d'hydroperoxydes par gramme d'huile après 15 jours de stockage) mais autant que l'huile seule non formulée au sein d'une émulsion.

4.7. Oxydation des lipides dans des émulsions sèches

De nombreuses études portent sur le séchage d'émulsions H/E par atomisation (voir section I.3) et sur l'influence du séchage sur la vitesse d'oxydation des lipides. Les méthodes de séchage, de caractérisation de l'oxydation et les huiles choisies sont variées. Le Tableau I-4 donne les principaux résultats de quelques études. De manière générale, si les étapes d'émulsification et de séchage n'induisent pas d'oxydation, l'huile au sein des émulsions sèches s'oxyde moins ou plus tard que l'huile seule. Mais les cinétiques d'oxydation des émulsions avant séchage n'étant généralement pas étudiées, il est difficile de déterminer le rôle du séchage dans ces résultats.

Tableau I-4 Exemples d'émulsions séchées et évaluées vis-à-vis de leur capacité à protéger l'huile de l'oxydation

Huile	Stabilisation et/ou support de séchage	Marqueur(s) de l'oxydation dosé(s)	Oxydation de l'huile des émulsions sèches par rapport à la référence (huile non encapsulée)	Références
Chia	Caséinate de sodium et lactose	Hydroperoxydes	Inférieure	(Ixtaina et al., 2015)
Soja	Protéines réticulées	Hydroperoxydes et hexanal	Inférieure	(Sarkar et al., 2016)
Poisson / Olive	Caséinate de sodium, PGPR, lactose (émulsion multiple)	Substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique et 28 composés volatils	Inférieure	(Jiménez-Martín et al., 2015)
Maïs	Gliadine/chitosan	Hydroperoxydes et substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique	Inférieure (légèrement)	(Zeng et al., 2017)
Noisette	Protéines de soja et maltodextrine	Hydroperoxydes	Inférieure (légèrement)	(Zhou et al., 2017)
Chia	Protéines de lactosérum-pectine, amidon modifié-maltodextrine	Volatils	Inférieure (temps d'induction augmentés)	(Noello et al., 2016)
Lin	Protéines de lactosérum et maltodextrine	Hydroperoxydes, hexanal et propanal	Similaire	(Carneiro et al., 2013)
Lin	Amidon modifié et tréhalose	Lipides insaturés et hydroperoxydes	Supérieure	(Domian et al., 2018)
Tournesol	Maltodextrine et Tween 20	Diènes conjugués et volatils	Supérieure	(Hernández Sánchez et al., 2016)
Tournesol	Protéines de pois hydrolysées et sirop de glucose	Hydroperoxydes	Supérieure (mais évolue peu)	(Tamm et al., 2016)

5. Questions abordées et objectifs

Il ressort de cette étude bibliographique que les émulsions stabilisées par des particules solides offrent de nombreux avantages par rapport aux émulsions classiques. Leur fabrication et le contrôle des propriétés sont maîtrisés dans le cas de particules sphériques, rigides et monodisperses. Les caractéristiques particulières de ces émulsions offrent des applications intéressantes comme le séchage. Le récent intérêt pour les particules d'origine naturelle montre cependant que le contrôle et la prédiction des propriétés finales difficile en présence de particules complexes. De surcroît, ces particules d'origine naturelle sont généralement obtenues après des traitements chimiques et physiques et/ou des étapes de purification.

L'objectif de cette thèse est d'étudier des émulsions huile-dans-eau stabilisées par des poudres végétales non fractionnées issues du cacao, du colza et du lupin, pas ou très peu modifiées. Les particules de ces poudres présentent des différences majeures par rapport aux particules modèles : elles sont non sphériques, polydisperses et fragmentables. Elles sont de plus constituées d'une fraction soluble et leurs compositions sont complexes. Nous essaierons de mettre en relation différents paramètres de formulation et les propriétés finales des émulsions. Pour cela, nous chercherons à caractériser au mieux l'ancrage des particules et la taille des gouttes en développant des méthodes spécifiques. Nous espérons ainsi être en mesure de mieux comprendre les phénomènes de stabilisation mis en jeu, de mieux contrôler les propriétés finales des émulsions et d'aboutir à des émulsions fines et stables dans le temps, en limitant le nombre d'étapes dans le procédé.

Nous évaluerons ensuite la stabilité des émulsions au séchage et évaluerons l'impact de la technique de déshydratation (lyophilisation versus atomisation) et du lactose utilisé en tant qu'additif de séchage.

Enfin, les particules végétales étant riches en antioxydants, la stabilité oxydative d'une huile polyinsaturée au sein des émulsions et des émulsions sèches sera caractérisée.

Références :

- A. Bos, M., van Vliet, T. (2001). Interfacial rheological properties of adsorbed protein layers and surfactants: a review. *Adv. Colloid Interface Sci.* *91*, 437–471.
- Angkuratipakorn, T., Sripai, A., Tantrawong, S., Chaiyasit, W., Singkhonrat, J. (2017). Fabrication and characterization of rice bran oil-in-water Pickering emulsion stabilized by cellulose nanocrystals. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* *522*, 310–319.
- Arditty, S., Schmitt, V., Giermanska-Kahn, J., Leal-Calderon, F. (2004). Materials based on solid-stabilized emulsions. *J. Colloid Interface Sci.* *275*, 659–664.
- Asakura, S., Oosawa, F. (1958). Interaction between particles suspended in solutions of macromolecules. *J. Polym. Sci.* *33*, 183–192.
- Aussillous, P., Quéré, D. (2001). Liquid marbles. *Nature* *411*, 924.
- Aveyard, R., Clint, J.H., Nees, D., Paunov, V. (1999). Size-dependent lens angles for small oil lenses on water. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* *146*, 95–111.
- Aveyard, R., Binks, B.P., Clint, J.H., Fletcher, P.D.I., Horozov, T.S., Neumann, B., Paunov, V.N., Annesley, J., Botchway, S.W., Nees, D., et al. (2002). Measurement of Long-Range Repulsive Forces between Charged Particles at an Oil-Water Interface. *Phys. Rev. Lett.* *88*.
- Aveyard, R., Binks, B.P., Clint, J.H. (2003). Emulsions stabilised solely by colloidal particles. *Adv. Colloid Interface Sci.* *100*, 503–546.
- Bai, L., Fruehwirth, J.W., Cheng, X., Macosko, C.W. (2015). Dynamics and rheology of nonpolar bijels. *Soft Matter* *11*, 5282–5293.
- Bancroft, W.D. (1913). The theory of emulsification, V. *J. Phys. Chem.* *17*, 501–519.
- Berton, C., Ropers, M.-H., Guibert, D., Solé, V., Genot, C. (2012). Modifications of interfacial proteins in oil-in-water emulsions prior to and during lipid oxidation. *J. Agric. Food Chem.* *60*, 8659–8671.
- Berton-Carabin, C.C., Schroën, K. (2015). Pickering Emulsions for Food Applications: Background, Trends, and Challenges. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* *6*, 263–297.
- Berton-Carabin, C.C., Ropers, M.-H., Genot, C. (2014). Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Involvement of the Interfacial Layer. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* *13*, 945–977.
- Bhandari, B., Howes, T. (1999). Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. *J. Food Eng.* *40*, 71–79.

- Bibette, J. (1990). Interactions de déplétion et équilibre fluide-solide des émulsions. Theses. Université Sciences et Technologies - Bordeaux I.
- Biggs, S., Cayre, O. (2014). CHAPTER 9. Particle-Stabilized Emulsions as Templates for Hollow Spheres and Microcapsules. In RSC Soft Matter Series, T. Ngai, S. Bon, eds. (Cambridge: Royal Society of Chemistry), pp. 228–246.
- Binks, B.P. (2002). Particles as surfactants—similarities and differences. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 7, 21–41.
- Binks, B.P., Clint, J.H. (2002). Solid Wettability from Surface Energy Components: Relevance to Pickering Emulsions. *Langmuir* 18, 1270–1273.
- Binks, B.P., Lumsdon, S.O. (2000). Influence of Particle Wettability on the Type and Stability of Surfactant-Free Emulsions. *Langmuir* 16, 8622–8631.
- Binks, B.P., Lumsdon, S.O. (2001). Pickering Emulsions Stabilized by Monodisperse Latex Particles: Effects of Particle Size. *Langmuir* 17, 4540–4547.
- Binks, B.P., Murakami, R. (2006). Phase inversion of particle-stabilized materials from foams to dry water. *Nat. Mater.* 5, 865–869.
- Bon, S.A.F., Cauvin, S., Colver, P.J. (2007). Colloidosomes as micron-sized polymerisation vessels to create supracolloidal interpenetrating polymer network reinforced capsules. *Soft Matter* 3, 194–199.
- Cai, D., Clegg, P.S. (2015). Stabilizing bijels using a mixture of fumed silica nanoparticles. *Chem. Commun.* 51, 16984–16987.
- Carneiro, H.C.F., Tonon, R.V., Grosso, C.R.F., Hubinger, M.D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *J. Food Eng.* 115, 443–451.
- Cauvin, S., Colver, P.J., Bon, S.A.F. (2005). Pickering Stabilized Miniemulsion Polymerization: Preparation of Clay Armored Latexes. *Macromolecules* 38, 7887–7889.
- Chaiyasit, W., Silvestre, M., McClements, D.J., Decker, E.A. (2000). Ability of surfactant hydrophobic tail group size to alter lipid oxidation in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3077–3080.
- Chen, K., Chen, M., Feng, Y., Yu, G., Zhang, L., Li, J. (2017). Application and rheology of anisotropic particle stabilized emulsions: Effects of particle hydrophobicity and fractal structure. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 524, 8–16.

- Chen, X.-W., Guo, J., Wang, J.-M., Yin, S.-W., Yang, X.-Q. (2016). Controlled volatile release of structured emulsions based on phytosterols crystallization. *Food Hydrocoll.* 56, 170–179.
- Chidavaenzi, O.C., Buckton, G., Koosha, F., Pathak, R. (1997). The use of thermal techniques to assess the impact of feed concentration on the amorphous content and polymorphic forms present in spray dried lactose. *Int. J. Pharm.* 159, 67–74.
- Chiou, D., Langrish, T.A.G., Braham, R. (2008). The effect of temperature on the crystallinity of lactose powders produced by spray drying. *J. Food Eng.* 86, 288–293.
- Christensen, K., Pedersen, G., Kristensen, H. (2001). Preparation of redispersible dry emulsions by spray drying. *Int. J. Pharm.* 212, 187–194.
- Cillard, J., Cillard, P., Cormier, M., Girre, L. (1980). α -Tocopherol prooxidant effect in aqueous media: Increased autoxidation rate of linoleic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 57, 252.
- Dalgleish, D. (1993). The sizes and conformations of the proteins in adsorbed layers of individual caseins on latices and in oil-in-water emulsions. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 1, 1–8.
- Davies, J., Rideal, E. (1961). *Interfacial Phenomena*. Google Sch. 360–366.
- Derjaguin, B.V., Churaev, N.V., Muller, V.M. (1987). The Derjaguin—Landau—Verwey—Overbeek (DLVO) Theory of Stability of Lyophobic Colloids. In *Surface Forces*, (Boston, MA: Springer US), pp. 293–310.
- Destribats, M., Schmitt, V., Backov, R. (2010). Thermostimulable Wax@SiO₂ Core–Shell Particles. *Langmuir* 26, 1734–1742.
- Destribats, M., Faure, B., Birot, M., Babot, O., Schmitt, V., Backov, R. (2012). Tailored Silica Macrocellular Foams: Combining Limited Coalescence-Based Pickering Emulsion and Sol–Gel Process. *Adv. Funct. Mater.* 22, 2642–2654.
- Destribats, M., Gineste, S., Laurichesse, E., Tanner, H., Leal-Calderon, F., Héroguez, V., Schmitt, V. (2014). Pickering emulsions: what are the main parameters determining the emulsion type and interfacial properties? *Langmuir* 30, 9313–9326.
- Dinsmore, A.D., Hsu, M.F., Nikolaidis, M.G., Marquez, M., Bausch, A.R., Weitz, D.A. (2002). Colloidosomes: Selectively Permeable Capsules Composed of Colloidal Particles. *Science* 298, 1006–1009.
- Dollo, G., Le Corre, P., Guérin, A., Chevanne, F., Burgot, J.L., Leverge, R. (2003). Spray-dried redispersible oil-in-water emulsion to improve oral bioavailability of poorly soluble drugs. *Eur. J. Pharm. Sci.* 19, 273–280.

- Domian, E., Cenkier, J., Górska, A., Brynda-Kopytowska, A. (2018). Effect of oil content and drying method on bulk properties and stability of powdered emulsions with OSA starch and linseed oil. *LWT* 88, 95–102.
- Dridi, W., Essafi, W., Gargouri, M., Leal-Calderon, F., Cansell, M. (2016). Influence of formulation on the oxidative stability of water-in-oil emulsions. *Food Chem.* 202, 205–211.
- Dumoulin, E., Bimbenet, J.J. (1998). Spray drying and quality changes. In *The Properties of Water in Foods ISOPOW 6*, D.S. Reid, ed. (Boston, MA: Springer US), pp. 209–232.
- Elias, R.J., Kellerby, S.S., Decker, E.A. (2008). Antioxidant Activity of Proteins and Peptides. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 48, 430–441.
- Esterbauer, H. (1993). Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *Am. J. Clin. Nutr.* 57, 779S – 786S.
- Findenegg, G.H. (1986). *J. N. Israelachvili: Intermolecular and Surface Forces (With Applications to Colloidal and Biological Systems)*. Academic Press, London, Orlando, San Diego, New York, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo 1985. 296 Seiten, Preis: \$ 65.00. *Berichte Bunsenges. Für Phys. Chem.* 90, 1241–1242.
- Finkle, P., Draper, H.D., Hildebrand, J.H. (1923). The theory of emulsification. *J. Am. Chem. Soc.* 45, 2780–2788.
- Floury, J., Desrumaux, A., Axelos, M.A.V., Legrand, J. (2003). Effect of high pressure homogenisation on methylcellulose as food emulsifier. *J. Food Eng.* 58, 227–238.
- Foegeding, E.A., Plundrich, N., Schneider, M., Campbell, C., Lila, M.A. (2017). Protein-polyphenol particles for delivering structural and health functionality. *Food Hydrocoll.* 72, 163–173.
- de Folter, J.W.J., van Ruijven, M.W.M., Velikov, K.P. (2012). Oil-in-water Pickering emulsions stabilized by colloidal particles from the water-insoluble protein zein. *Soft Matter* 8, 6807.
- Frankel, E.N. (2012a). Hydroperoxide formation. In *Lipid Oxidation*, (Elsevier), pp. 25–50.
- Frankel, E.N. (2012b). Antioxidants. In *Lipid Oxidation*, (Elsevier), pp. 209–258.
- Frankel, E.N. (2014). *Lipid oxidation* (Elsevier).
- Frelichowska, J., Bolzinger, M.-A., Chevalier, Y. (2009). Pickering emulsions with bare silica. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 343, 70–74.
- Gao, Z.-M., Wang, J.-M., Wu, N.-N., Wan, Z., Guo, J., Yang, X.-Q., Yin, S. (2013). Formation of Complex Interface and Stability of Oil-in-Water (O/W) Emulsion

- Prepared by Soy Lipophilic Protein Nanoparticles. *J. Agric. Food Chem.* *61*, 7838–7847.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res. Int.* *40*, 1107–1121.
- Gharsallaoui, A., Saurel, R., Chambin, O., Cases, E., Voilley, A., Cayot, P. (2010). Utilisation of pectin coating to enhance spray-dry stability of pea protein-stabilised oil-in-water emulsions. *Food Chem.* *122*, 447–454.
- Ghosh, S., Rousseau, D. (2011). Fat crystals and water-in-oil emulsion stability. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* *16*, 421–431.
- Gibbs, J. (1931). The collected work of JW Gibbs. Vol I 54–371.
- Golemanov, K., Tcholakova, S., Kralchevsky, P.A., Ananthapadmanabhan, K.P., Lips, A. (2006). Latex-Particle-Stabilized Emulsions of Anti-Bancroft Type. *Langmuir* *22*, 4968–4977.
- Gomez, F., Saleh, K. (2012). Mise en œuvre des poudres Séchage par atomisation. Procédé. Tech. Ing. Mise En Forme Médicam. *base documentaire : TIB611DUO*.
- Gong, X., Wang, Y., Chen, L. (2017). Enhanced emulsifying properties of wood-based cellulose nanocrystals as Pickering emulsion stabilizer. *Carbohydr. Polym.* *169*, 295–303.
- Gould, J., Vieira, J., Wolf, B. (2013). Cocoa particles for food emulsion stabilisation. *Food Funct.* *4*, 1369–1375.
- Gould, J., Garcia-Garcia, G., Wolf, B. (2016). Pickering Particles Prepared from Food Waste. *Materials* *9*.
- Griffin, W.C. (1949). Classification of surface-active agents by“ HLB.” *J Soc Cosmet Chem* *1*, 311–326.
- Gumus, C.E., Decker, E.A., McClements, D.J. (2017). Impact of legume protein type and location on lipid oxidation in fish oil-in-water emulsions: Lentil, pea, and faba bean proteins. *Food Res. Int.* *100*, 175–185.
- Han, W.J., Piao, S.H., Choi, H.J. (2017). Synthesis and electrorheological characteristics of polyaniline@attapulgate nanoparticles via Pickering emulsion polymerization. *Mater. Lett.* *204*, 42–44.
- Haque, M.K., Roos, Y.H. (2005). Crystallization and X-ray diffraction of spray-dried and freeze-dried amorphous lactose. *Carbohydr. Res.* *340*, 293–301.

- Haque, M.K., Roos, Y.H. (2006). Differences in the physical state and thermal behavior of spray-dried and freeze-dried lactose and lactose/protein mixtures. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 7, 62–73.
- Hasmy, A., Paredes, R., Sonnevile-Aubrun, O., Cabane, B., Botet, R. (1999). Dynamical transition in a model for dry foams. *Phys. Rev. Lett.* 82, 3368.
- Hernandez Sanchez, M. del R., Cuvelier, M.-E., Turchiuli, C. (2015). Design of liquid emulsions to structure spray dried particles. *J. Food Eng.* 167, 99–105.
- Hernández Sánchez, M. del R., Cuvelier, M.-E., Turchiuli, C. (2016). Effect of α -tocopherol on oxidative stability of oil during spray drying and storage of dried emulsions. *Food Res. Int.* 88, 32–41.
- Heyse, A., Plikat, C., Grün, M., Delaval, S., Ansorge-Schumacher, M., Drews, A. (2018). Impact of enzyme properties on drop size distribution and filtration of water-in-oil Pickering emulsions for application in continuous biocatalysis. *Process Biochem.*
- Hooghten, R.V., Blair, V.E., Vananroye, A., Schofield, A.B., Vermant, J., Thijssen, J.H.J. (2017). Interfacial Rheology of Sterically Stabilized Colloids at Liquid Interfaces and Its Effect on the Stability of Pickering Emulsions. *Langmuir.*
- Hou, C., Wu, S., Xia, Y., Phillips, G.O., Cui, S.W. (2017). A novel emulsifier prepared from Acacia seyal polysaccharide through Maillard reaction with casein peptides. *Food Hydrocoll.* 69, 236–241.
- Hou, H., Zhang, L., Liu, T., Cheng, J., Sun, L., Wang, C., Jin, M., Song, Z., Cheng, J., Wang, Q., et al. (2018). A facile approach to preparation of silica double-shell hollow particles, and their application in gel composite electrolytes. *J. Colloid Interface Sci.* 529, 130–138.
- Hsu, M.F., Nikolaidis, M.G., Dinsmore, A.D., Bausch, A.R., Gordon, V.D., Chen, X., Hutchinson, J.W., Weitz, D.A., Marquez, M. (2005). Self-assembled Shells Composed of Colloidal Particles: Fabrication and Characterization. *Langmuir* 21, 2963–2970.
- Hu, Y.-Q., Yin, S.-W., Zhu, J.-H., Qi, J.-R., Guo, J., Wu, L.-Y., Tang, C.-H., Yang, X.-Q. (2016). Fabrication and characterization of novel Pickering emulsions and Pickering high internal emulsions stabilized by gliadin colloidal particles. *Food Hydrocoll.* 61, 300–310.
- Ikem, V.O., Menner, A., Horozov, T.S., Bismarck, A. (2010). Highly Permeable Macroporous Polymers Synthesized from Pickering Medium and High Internal Phase Emulsion Templates. *Adv. Mater.* 22, 3588–3592.
- Ingold, K.U. (1969). Peroxy radicals. *Acc. Chem. Res.* 2, 1–9.

- Israelachvili, J.N. (2011). Electrostatic Forces between Surfaces in Liquids. In *Intermolecular and Surface Forces*, (Elsevier), pp. 291–340.
- Israelachvili, J.N., Mitchell, D.J., Ninham, B.W. (1976). Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* 72, 1525.
- Ixtaina, V.Y., Julio, L.M., Wagner, J.R., Nolasco, S.M., Tomás, M.C. (2015). Physicochemical characterization and stability of chia oil microencapsulated with sodium caseinate and lactose by spray-drying. *Powder Technol.* 271, 26–34.
- Jakobek, L. (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chem.* 175, 556–567.
- Jeantet, R., Croguennec, T., Mahaut, M., Schuck, P., Brulé, G. (2007). *Les produits laitiers - Chapitre 8 : Lactose* (Editions Tec & Doc Lavoisier).
- Jiménez-Martín, E., Gharsallaoui, A., Pérez-Palacios, T., Ruiz Carrascal, J., Antequera Rojas, T. (2015). Volatile compounds and physicochemical characteristics during storage of microcapsules from different fish oil emulsions. *Food Bioprod. Process.* 96, 52–64.
- J. Leal-Castañeda, E., García Tejeda, Y., Hernandez, H., Beltran, L., I. Tellez-Medina, D., Calderón-Domínguez, G., S. García-Galindo, H., F. Gutiérrez-López, G. (2018). Pickering emulsions stabilized with native and lauroylated amaranth starch. *Food Hydrocoll.*
- Judde, A., Villeneuve, P., Rossignol-Castera, A., Le Guillou, A. (2003). Antioxidant effect of soy lecithins on vegetable oil stability and their synergism with tocopherols. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 80, 1209–1215.
- Kabalnov, A. (1998). Thermodynamic and theoretical aspects of emulsions and their stability. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 3, 270–275.
- Kabalnov, A., Wennerström, H. (1996). Macroemulsion Stability: The Oriented Wedge Theory Revisited. *Langmuir* 12, 276–292.
- Kabalnov, A.S., Pertzov, A.V., Shchukin, E.D. (1987). Ostwald ripening in emulsions: I. Direct observations of Ostwald ripening in emulsions. *J. Colloid Interface Sci.* 118, 590–597.
- Kabal'nov, A.S., Pertzov, A.V., Shchukin, E.D. (1987). Ostwald ripening in two-component disperse phase systems: Application to emulsion stability. *Colloids Surf.* 24, 19–32.
- Kabalnov, A.S., Makarov, K.N., Pertzov, A.V., Shchukin, E.D. (1990). Ostwald ripening in emulsions: 2. Ostwald ripening in hydrocarbon emulsions: Experimental verification of equation for absolute rates. *J. Colloid Interface Sci.* 138, 98–104.

- Kalashnikova, I., Bizot, H., Cathala, B., Capron, I. (2011). New Pickering emulsions stabilized by bacterial cellulose nanocrystals. *Langmuir* 27, 7471–7479.
- Karefyllakis, D., Altunkaya, S., Berton-Carabin, C.C., van der Goot, A.J., Nikiforidis, C.V. (2017). Physical bonding between sunflower proteins and phenols: Impact on interfacial properties. *Food Hydrocoll.* 73, 326–334.
- Kargar, M., Spyropoulos, F., Norton, I.T. (2011). The effect of interfacial microstructure on the lipid oxidation stability of oil-in-water emulsions. *J. Colloid Interface Sci.* 357, 527–533.
- Kargar, M., Fayazmanesh, K., Alavi, M., Spyropoulos, F., Norton, I.T. (2012). Investigation into the potential ability of Pickering emulsions (food-grade particles) to enhance the oxidative stability of oil-in-water emulsions. *J. Colloid Interface Sci.* 366, 209–215.
- Kashima, M., Cha, G.-S., Isoda, Y., Hirano, J., Miyazawa, T. (1991). The antioxidant effects of phospholipids on perilla oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68, 119–122.
- Kasiri, N., Fathi, M. (2018). Production of cellulose nanocrystals from pistachio shells and their application for stabilizing Pickering emulsions. *Int. J. Biol. Macromol.* 106, 1023–1031.
- Kralchevsky, P.A., Nagayama, K. (2000). Capillary interactions between particles bound to interfaces, liquid films and biomembranes. *Adv. Colloid Interface Sci.* 85, 145–192.
- Labuza, T.P., Dugan, L. (1971). Kinetics of lipid oxidation in foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2, 355–405.
- Laguerre, M., Lecomte, J., Villeneuve, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Prog. Lipid Res.* 46, 244–282.
- Laredj-Bouezg, F., Bolzinger, M.-A., Pelletier, J., Chevalier, Y. (2017). Pickering emulsions stabilized by biodegradable block copolymer micelles for controlled topical drug delivery. *Int. J. Pharm.* 531, 134–142.
- Leal-Calderon, F., Schmitt, V. (2008). Solid-stabilized emulsions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 13, 217–227.
- Leal-Calderon, F., Schmitt, V., Bibette, J. (2007). *Emulsion science: basic principles* (Springer Science & Business Media).
- Leclercq, L., Mouret, A., Proust, A., Schmitt, V., Bauduin, P., Aubry, J.-M., Nardello-Rataj, V. (2012). Pickering Emulsion Stabilized by Catalytic Polyoxometalate Nanoparticles: A New Effective Medium for Oxidation Reactions. *Chem. – Eur. J.* 18, 14352–14358.

- Leturia, M., Saleh, K. (2016). Fluidisation gaz-solide Particules fines et nanoparticules. Tech. Ing. Réact. Chim. *base documentaire : TIB330DUO*.
- Li, X., Li, J., Gong, J., Kuang, Y., Mo, L., Song, T. (2018). Cellulose nanocrystals (CNCs) with different crystalline allomorph for oil in water Pickering emulsions. *Carbohydr. Polym.* *183*, 303–310.
- Liao, Y., Lucas, D. (2010). A literature review on mechanisms and models for the coalescence process of fluid particles. *Chem. Eng. Sci.* *65*, 2851–2864.
- Listiohadi, Y., Hourigan, J., Sleight, R., Steele, R. (2008). Moisture sorption, compressibility and caking of lactose polymorphs. *Int. J. Pharm.* *359*, 123–134.
- Littringer, E., Paus, R., Mescher, A., Schroettner, H., Walzel, P., Urbanetz, N. (2013). The morphology of spray dried mannitol particles—The vital importance of droplet size. *Powder Technol.* *239*, 162–174.
- Liu, F., Tang, C.-H. (2013). Soy protein nanoparticle aggregates as Pickering stabilizers for oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* *61*, 8888–8898.
- Liu, F., Tang, C.-H. (2014a). Phytosterol Colloidal Particles as Pickering Stabilizers for Emulsions. *J. Agric. Food Chem.* *62*, 5133–5141.
- Liu, F., Tang, C.-H. (2014b). Emulsifying Properties of Soy Protein Nanoparticles: Influence of the Protein Concentration and/or Emulsification Process. *J. Agric. Food Chem.* *62*, 2644–2654.
- Lucassen-Reynders, E.H., Tempel, M.V.D. (1963). Stabilization of water-in-oil emulsions by solid particles. *J. Phys. Chem.* *67*, 731–734.
- Luo, Z., Murray, B.S., Yusoff, A., Morgan, M.R.A., Povey, M.J.W., Day, A.J. (2011). Particle-Stabilizing Effects of Flavonoids at the Oil–Water Interface. *J. Agric. Food Chem.* *59*, 2636–2645.
- Maher, P.G., Auty, M.A.E., Roos, Y.H., Zychowski, L.M., Fenelon, M.A. (2015). Microstructure and lactose crystallization properties in spray dried nanoemulsions. *Food Struct.* *3*, 1–11.
- Marin, M., René, F. (2000). Lyophilisation. Tech. Ing. Opérations Unit. Génie Ind. Aliment. *base documentaire : TIB430DUO*.
- McClements, D.J., Decker, E. (2018). Interfacial Antioxidants: A Review of Natural and Synthetic Emulsifiers and Coemulsifiers That Can Inhibit Lipid Oxidation. *J. Agric. Food Chem.* *66*, 20–35.

- McClements, D.J., Decker, E.A. (2000). Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Impact of Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems. *J. Food Sci.* *65*, 1270–1282.
- Miller, R., Fainerman, V., Leser, M., Michel, M. (2004). Kinetics of adsorption of proteins and surfactants. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* *9*, 350–356.
- Murakami, R., Moriyama, H., Yamamoto, M., Binks, B.P., Rocher, A. (2012). Particle Stabilization of Oil-in-Water-in-Air Materials: Powdered Emulsions. *Adv. Mater.* *24*, 767–771.
- Noello, C., Carvalho, A.G.S., Silva, V.M., Hubinger, M.D. (2016). Spray dried microparticles of chia oil using emulsion stabilized by whey protein concentrate and pectin by electrostatic deposition. *Food Res. Int.* *89*, 549–557.
- Nuchi, C.D., Hernandez, P., McClements, D.J., Decker, E.A. (2002). Ability of lipid hydroperoxides to partition into surfactant micelles and alter lipid oxidation rates in emulsions. *J. Agric. Food Chem.* *50*, 5445–5449.
- Nushtaeva, A.V. (2016). Natural food-grade solid particles for emulsion stabilization. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* *504*, 449–457.
- Patel, A.R., Drost, E., Blijdenstein, T.B.J., Velikov, K.P. (2012a). Stable and Temperature-Responsive Surfactant-Free Foamulsions with High Oil-Volume Fraction. *ChemPhysChem* *13*, 3777–3781.
- Patel, A.R., Heussen, P.C.M., Hazekamp, J., Drost, E., Velikov, K.P. (2012b). Quercetin loaded biopolymeric colloidal particles prepared by simultaneous precipitation of quercetin with hydrophobic protein in aqueous medium. *Food Chem.* *133*, 423–429.
- Pays, K., Giermanska-Kahn, J., Pouligny, B., Bibette, J., Leal-Calderon, F. (2001). Coalescence in Surfactant-Stabilized Double Emulsions. *Langmuir* *17*, 7758–7769.
- Pickering, S.U. (1907). CXCVI.—Emulsions. *J. Chem. Soc. Trans.* *91*, 2001–2021.
- Pieranski, P. (1980). Two-Dimensional Interfacial Colloidal Crystals. *Phys. Rev. Lett.* *45*, 569–572.
- Raghuveer, K.G., Hammond, E.G. (1967). The influence of glyceride structure on the rate of autoxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* *44*, 239–243.
- Ramsden, W. (1903). Separation of Solids in the Surface-Layers of Solutions and “Suspensions” (Observations on Surface-Membranes, Bubbles, Emulsions, and Mechanical Coagulation). -- Preliminary Account. *Proc. R. Soc. Lond.* *72*, 156–164.
- Ranz, W., Marshall, W.R., others (1952). Evaporation from drops. *Chem Eng Prog* *48*, 141–146.

- Ries, D., Ye, A., Haisman, D., Singh, H. (2010). Antioxidant properties of caseins and whey proteins in model oil-in-water emulsions. *Int. Dairy J.* 20, 72–78.
- Rousseau, D. (2000). Fat crystals and emulsion stability — a review. *Food Res. Int.* 33, 3–14.
- Rousseau, D. (2013). Trends in structuring edible emulsions with Pickering fat crystals. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 18, 283–291.
- Rowlinson, J.S., Widom, B. (1982). *Molecular theory of capillarity* (Courier Corporation).
- Saito, H., Ishihara, K. (1997). Antioxidant activity and active sites of phospholipids as antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74, 1531–1536.
- Salerno, A., Bolzinger, M.-A., Rolland, P., Chevalier, Y., Josse, D., Briançon, S. (2016). Pickering emulsions for skin decontamination. *Toxicol. In Vitro* 34, 45–54.
- Sarkar, A., Arfsten, J., Golay, P.-A., Acquistapace, S., Heinrich, E. (2016). Microstructure and long-term stability of spray dried emulsions with ultra-high oil content. *Food Hydrocoll.* 52, 857–867.
- Sarkar, A., Zhang, S., Murray, B., Russell, J.A., Boxal, S. (2017). Modulating in vitro gastric digestion of emulsions using composite whey protein-cellulose nanocrystal interfaces. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 158, 137–146.
- Sarkar, A., Ademuyiwa, V., Stublely, S., Esa, N.H., Goycoolea, F.M., Qin, X., Gonzalez, F., Olvera, C. (2018a). Pickering emulsions co-stabilized by composite protein/polysaccharide particle-particle interfaces: Impact on in vitro gastric stability. *Food Hydrocoll.* 84, 282–291.
- Sarkar, A., Li, H., Cray, D., Boxall, S. (2018b). Composite whey protein–cellulose nanocrystals at oil-water interface: Towards delaying lipid digestion. *Food Hydrocoll.* 77, 436–444.
- Schaich, K.M. (2005). Lipid Oxidation: Theoretical Aspects. In *Bailey’s Industrial Oil and Fat Products*, F. Shahidi, ed. (Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.),.
- Schaich, K.M. (2012). Thinking outside the classical chain reaction box of lipid oxidation. *Lipid Technol.* 24, 55–58.
- Schoof, H., Apel, J., Heschel, I., Rau, G. (2001). Control of pore structure and size in freeze-dried collagen sponges. *J. Biomed. Mater. Res.* 58, 352–357.
- Schuck, P., Bouhallab, S., Durupt, D., Vareille, P., Humbert, J.-P., Marin, M. (2004). Séchage des lactosérums et dérivés : rôle du lactose et de la dynamique de l’eau. *Le Lait* 84, 243–268.
- Senoussi, A., Dumoulin, E.D., Berk, Z. (1995). Retention of Diacetyl in Milk during Spray-Drying and Storage. *J. Food Sci.* 60, 894–897.

- Seville, J.P.K., Willett, C.D., Knight, P.C. (2000). Interparticle forces in fluidisation: a review. *Powder Technol.* *113*, 261–268.
- Shahidi, F., Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *J. Funct. Foods* *18*, 820–897.
- Sirendi, M., Gohtani, S., Yamano, Y. (1998). Effect of some polysaccharides on oxidative stability of methyl linoleate in emulsion. *J. Dispers. Sci. Technol.* *19*, 679–694.
- Stamou, D., Duschl, C., Johannsmann, D. (2000). Long-range attraction between colloidal spheres at the air-water interface: The consequence of an irregular meniscus. *Phys. Rev. E* *62*, 5263.
- Sweedman, M.C., Tizzotti, M.J., Schäfer, C., Gilbert, R.G. (2013). Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: A review. *Carbohydr. Polym.* *92*, 905–920.
- Tamayo Tenorio, A., Gieteling, J., Nikiforidis, C.V., Boom, R.M., van der Goot, A.J. (2017). Interfacial properties of green leaf cellulosic particles. *Food Hydrocoll.* *71*, 8–16.
- Tamm, F., Herbst, S., Brodkorb, A., Drusch, S. (2016). Functional properties of pea protein hydrolysates in emulsions and spray-dried microcapsules. *Food Hydrocoll.* *58*, 204–214.
- Taneja, A., Ye, A., Jones, J.R., Archer, R., Singh, H. (2013). Behaviour of oil droplets during spray drying of milk-protein-stabilised oil-in-water emulsions. *Int. Dairy J.* *28*, 15–23.
- Tanford, C. (1980). *The hydrophobic effect: formation of micelles and biological membranes* 2d ed (J. Wiley.).
- Tang, C.-H., Li, X.-R. (2013). Microencapsulation properties of soy protein isolate and storage stability of the correspondingly spray-dried emulsions. *Food Res. Int.* *52*, 419–428.
- Tavernier, I., Wijaya, W., Van der Meeren, P., Dewettinck, K., Patel, A.R. (2016). Food-grade particles for emulsion stabilization. *Trends Food Sci. Technol.* *50*, 159–174.
- Taylor, P. (1998). Ostwald ripening in emulsions. *Adv. Colloid Interface Sci.* *75*, 107–163.
- Tcholakova, S., D. Denkov, N., Lips, A. (2008). Comparison of solid particles, globular proteins and surfactants as emulsifiers. *Phys. Chem. Chem. Phys.* *10*, 1608–1627.
- Tesch, S., Gerhards, C., Schubert, H. (2002). Stabilization of emulsions by OSA starches. *J. Food Eng.* *54*, 167–174.
- Tong, L.M., Sasaki, S., McClements, D.J., Decker, E.A. (2000). Antioxidant Activity of Whey in a Salmon Oil Emulsion. *J. Food Sci.* *65*, 1325–1329.

- Tonon, R.V., Grosso, C.R., Hubinger, M.D. (2011). Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. *Food Res. Int.* *44*, 282–289.
- Torres, O., Murray, B., Sarkar, A. (2017). Design of novel emulsion microgel particles of tuneable size. *Food Hydrocoll.* *71*, 47–59.
- Tzoumaki, M., Moschakis, T., Kiosseoglou, V., Biliaderis, C. (2011). Oil-in-water emulsion stabilized by chitin nanocrystal particles. *Food Hydrocoll.* *25*, 1521–1529.
- de Vries, A.J. (2010). Foam stability: Part V. Mechanism of film rupture. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* *77*, 441–461.
- Wallecan, J., McCrae, C., Debon, S.J.J., Dong, J., Mazoyer, J. (2015). Emulsifying and stabilizing properties of functionalized orange pulp fibers. *Food Hydrocoll.* *47*, 115–123.
- Walton, D., Mumford, C. (1999). Spray dried products—characterization of particle morphology. *Chem. Eng. Res. Des.* *77*, 21–38.
- Wang, Z., Qiu, T., Guo, L., Ye, J., He, L., Li, X. (2018). Polymerization induced shaping of Pickering emulsion droplets: From simple hollow microspheres to molecularly imprinted multicore microrattles. *Chem. Eng. J.* *332*, 409–418.
- Waraho, T., McClements, D.J., Decker, E.A. (2011). Impact of free fatty acid concentration and structure on lipid oxidation in oil-in-water emulsions. *Food Chem.* *129*, 854–859.
- Whitesides, T.H., Ross, D.S. (1995). Experimental and theoretical analysis of the limited coalescence process: stepwise limited coalescence. *J. Colloid Interface Sci.* *169*, 48–59.
- Wijesundera, C., Ceccato, C., Watkins, P., Fagan, P., Fraser, B., Thienthong, N., Perlmutter, P. (2008). Docosahexaenoic Acid is More Stable to Oxidation when Located at the sn-2 Position of Triacylglycerol Compared to sn-1(3). *J. Am. Oil Chem. Soc.* *85*, 543–548.
- Wiley, R.M. (1954). Limited coalescence of oil droplets in coarse oil-in-water emulsions. *J. Colloid Sci.* *9*, 427–437.
- Williams, P.A., Sayers, C., Viebke, C., Senan, C., Mazoyer, J., Boulenger, P. (2005). Elucidation of the Emulsification Properties of Sugar Beet Pectin. *J. Agric. Food Chem.* *53*, 3592–3597.
- Yang, Z., Liu, H., Wu, S., Tang, Z., Guo, B., Zhang, L. (2018). A green method for preparing conductive elastomer composites with interconnected graphene network via Pickering emulsion templating. *Chem. Eng. J.* *342*, 112–119.

- Yusoff, A., Murray, B.S. (2011). Modified starch granules as particle-stabilizers of oil-in-water emulsions. *Food Hydrocoll.* 25, 42–55.
- Zeng, T., Wu, Z., Zhu, J.-Y., Yin, S.-W., Tang, C.-H., Wu, L.-Y., Yang, X.-Q. (2017). Development of antioxidant Pickering high internal phase emulsions (HIPes) stabilized by protein/polysaccharide hybrid particles as potential alternative for PHOs. *Food Chem.* 231, 122–130.
- Zhang, N., Zhang, L., Sun, D. (2015). Influence of Emulsification Process on the Properties of Pickering Emulsions Stabilized by Layered Double Hydroxide Particles. *Langmuir* 31, 4619–4626.
- Zhou, D., Pan, Y., Ye, J., Jia, J., Ma, J., Ge, F. (2017). Preparation of walnut oil microcapsules employing soybean protein isolate and maltodextrin with enhanced oxidation stability of walnut oil. *LWT - Food Sci. Technol.* 83, 292–297.
- Zhu, J.-Y., Tang, C.-H., Yin, S.-W., Yang, X.-Q. (2018a). Development and characterization of novel antimicrobial bilayer films based on Polylactic acid (PLA)/Pickering emulsions. *Carbohydr. Polym.* 181, 727–735.
- Zhu, Z., Zhao, C., Yi, J., Liu, N., Cao, Y., Decker, E.A., McClements, D.J. (2018b). Impact of Interfacial Composition on Lipid and Protein Co-Oxidation in Oil-in-Water Emulsions Containing Mixed Emulsifiers. *J. Agric. Food Chem.* 66, 4458–4468.

II. Matériels et méthodes

1. Préparation et caractérisation des poudres végétales

1.1. Origine et préparation des poudres végétales

Le cacao, le tourteau de colza non dépelliculé et les coques de lupin ont été fournis tamisés/broyés et délipidés par l'ITERG (Institut des Corps Gras, Pessac) et proviennent du même lot pour tous les travaux de cette thèse :

- le cacao de marque VanHouten (« l'original, 100% pur cacao, non sucré ») a été acheté dans un supermarché local.
- le colza non dépelliculé (variété trezzor -RAGT), a été récolté en 2016 dans la commune de St Seine l'Abbaye (département de la Côte-d'Or, région Bourgogne-Franche-Comté, France). Les graines ont été pressées à 60°C, pour en extraire l'huile. A ce stade, le tourteau est dit « gras » et contient encore 13,8 % d'huile de colza.
- les coques de lupin proviennent de la société Inveja et sont issues de l'extraction du lupéol.

Ces poudres ont ensuite été délipidées à l'hexane suivant la norme NF EN ISO 734-1 (AFNOR, 2016a) pour plusieurs raisons :

- Maîtriser la quantité et le type d'huile des formulations : l'huile résiduelle au sein des tourteaux s'ajouterait à l'huile utilisée pour la fabrication des émulsions.
- Améliorer la stabilité au stockage des poudres : l'huile résiduelle peut s'oxyder au cours du temps.
- Améliorer la manipulation des poudres : la présence d'huile entraîne un mottage « gras ».

Un broyage en voie sèche et un tamisage à 120 µm (ZM-200, Retsch) ont préalablement été effectués pour améliorer la délipidation.

Le colza non dépelliculé doit subir une dernière étape de séparation afin d'éliminer les pellicules qui pourraient obstruer les appareils utilisés pour fabriquer les émulsions. Pour cela

une dispersion de colza à 10 % massique dans l'eau est centrifugée pendant 10 min à 54 g, g étant l'accélération de la pesanteur. Les pellicules forment un culot alors que les autres particules restent en suspension dans la phase supérieure. Cette phase supérieure est récupérée et séchée par lyophilisation afin d'obtenir le tourteau de colza dépourvu de pellicules (environ 40 %m du tourteau entier).

Le colza dépelliculé est fourni par OLEAD (Plateforme technologique des oléoprotéagineux, Pessac). Ce colza est issu de la récolte 2015 de la coopérative agricole Arterris en Haute Garonne. Après dépelliculage des graines, celles-ci sont extraites à l'hexane à 50°C puis désolvantées sous vide sans injection de vapeur. Ce tourteau contient à ce stade 2 % d'huile résiduelle et n'est pas davantage délipidé.

La Figure II-1 résume les différents traitements des poudres végétales. Une poudre est désignée par la suite comme étant « broyée » uniquement lorsqu'elle a subi un broyage supplémentaire comme décrit dans la section suivante.

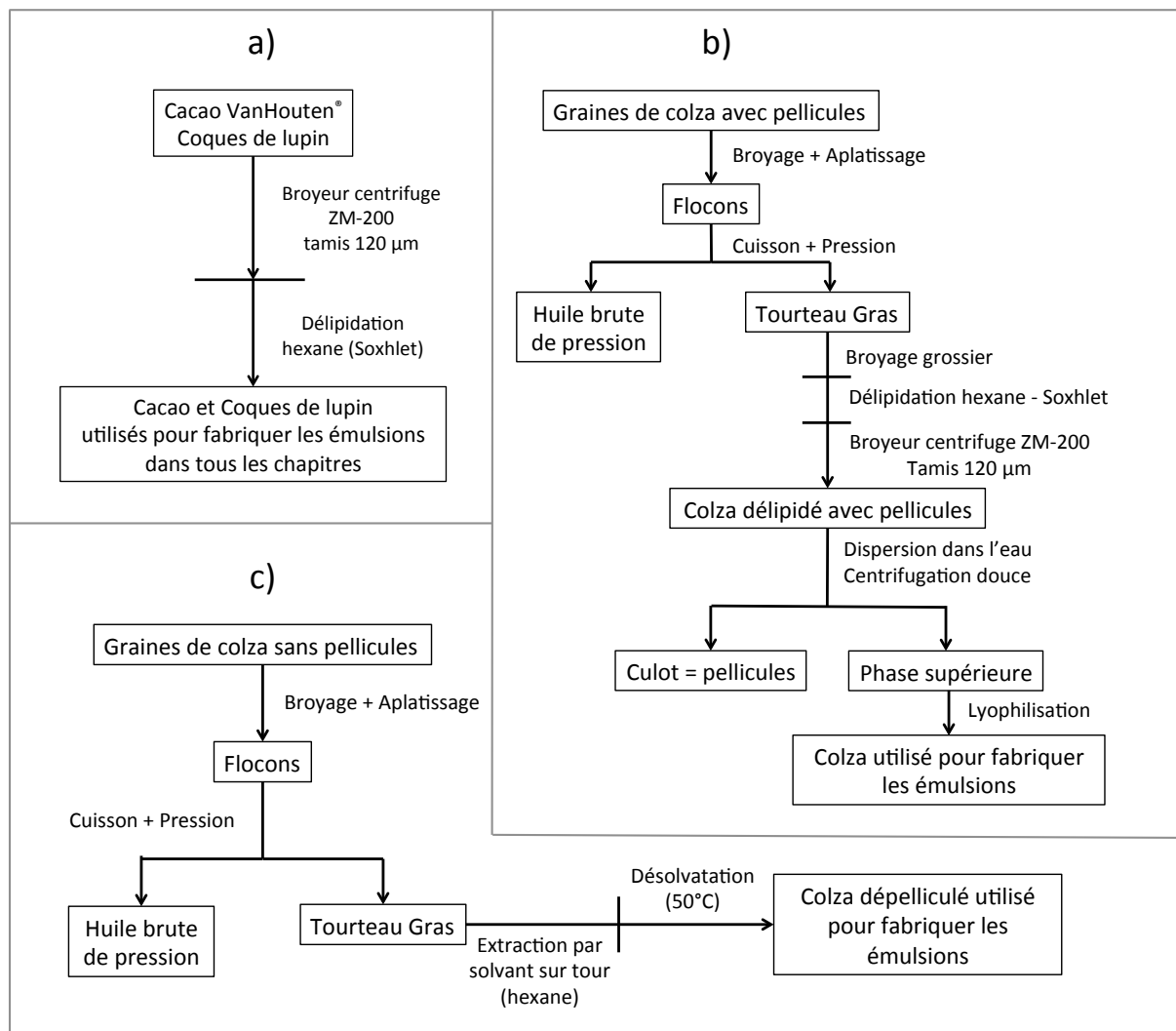


Figure II-1 Traitement des poudres végétales : a) Cacao et Coques de lupin, b) Tourteau de colza (utilisé dans le chapitre IV) c) Tourteau de colza dépelliculé (majoritairement utilisé dans le chapitre V).

1.2. Broyage

Certaines poudres végétales ont été broyées à l'aide d'un broyeur à billes (Dyno®-Mill Multi Lab, Willy A Bachofen-WAB) en phase humide. Les broyeurs à billes rentrent dans la catégorie des broyeurs à corps broyants libres : un cylindre rempli de billes tourne autour d'un axe horizontal. Lorsque la vitesse de rotation est assez élevée (marche en cataracte), les billes tournent et retombent les unes contre les autres et contre le produit à fragmenter. Les multiples impacts, compressions et cisaillements successifs génèrent une grande quantité de nouvelle surface. Le broyeur utilisé est constitué d'une chambre de broyage contenant les billes de broyage et un arbre central. Celui-ci entraîne par rotation des disques accélérateurs en chrome (Figure II-2). L'intensité du broyage peut être contrôlée par la vitesse de rotation de l'arbre, le type de billes et le rapport volumique entre le produit et les billes.

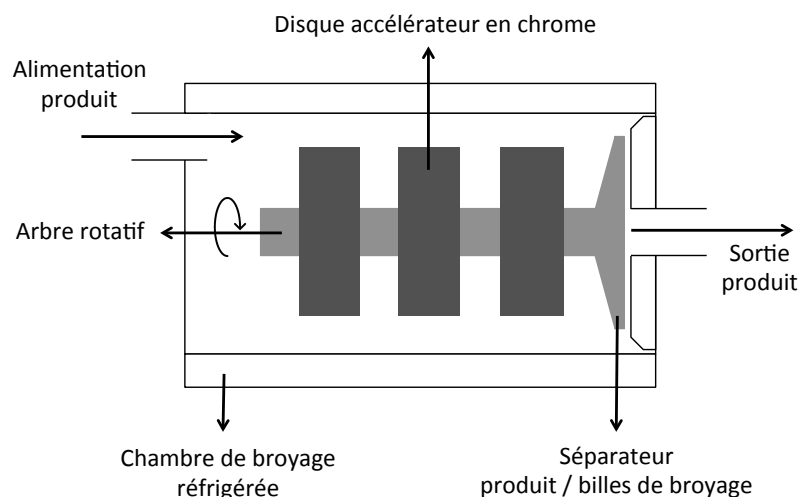


Figure II-2 Configuration du broyeur à billes utilisé pour broyer les tourteaux en dispersion

La poudre est préalablement dispersée à la concentration souhaitée dans la phase aqueuse. Cette dispersion est injectée dans le broyeur en mode continu à un débit de $0,1 \text{ kg}\cdot\text{min}^{-1}$. La chambre de broyage est remplie à 65 % de billes en zirconium de 0,8 mm de diamètre (Zyrmill Y, Willy A Bachofen-WAB) et des accélérateurs (DYNO-Accelerators, Willy A Bachofen-WAB) en chrome sont montés sur l'arbre, en rotation à 2986 min^{-1} (vitesse périphérique de $10 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$). La chambre de broyage est refroidie par un flux d'eau froide circulant dans son enveloppe. La dispersion de tourteau broyé est utilisée telle quelle pour la fabrication des émulsions ou séchée par lyophilisation afin de disposer du tourteau broyé sec.

1.3. Quantification et caractérisation de la fraction soluble

Les émulsions de Pickering sont stabilisées par des particules solides. Or, les poudres végétales ne sont pas totalement insolubles dans l'eau. Elles contiennent des composés solubles qui sont de plus susceptibles de s'adsorber aux interfaces. Afin d'évaluer les mécanismes de stabilisation mis en jeu dans les émulsions stabilisées par les poudres, les fractions solubles et insolubles ont été quantifiées et caractérisées.

1.3. a) Quantification

La quantité de composés solubles des poudres est estimée en centrifugeant une dispersion de tourteau à 10% massique (1 h à 100 000 g). Le surnageant, parfois coloré mais toujours limpide, est ensuite en partie lyophilisé. Connaissant la masse de surnageant lyophilisé et la masse de son extrait sec, il est possible de mesurer la proportion massique de composés solubles par rapport à la quantité de poudre initialement introduite.

La fraction non lyophilisée du surnageant est utilisée pour doser les composés hydrosolubles. La poudre dépourvue de sa fraction soluble, c'est-à-dire le culot, sera également lyophilisée et utilisée dans ce travail de thèse. Les fractions solubles ont été étudiées à la fois dans l'eau pure et dans un tampon pH 7. Dans ce dernier cas, la dispersion est réalisée dans le tampon et l'extrait sec du tampon est soustrait de celui du surnageant.

1.3. b) Dosages de composés hydrosolubles

(i) Protéines

La méthode de Bradford décrite en 1976 (Bradford, 1976) est utilisée pour doser les protéines dans les phases aqueuses. Le bleu de Coomassie G-250, ou réactif de Bradford, est un complexe dont la couleur change en fonction du pH et de sa forme ionique. Trois formes ioniques principales sont présentes en solution : la forme anionique, bleue (maximum d'absorbance à 590 nm), la forme neutre, verte (maximum d'absorbance à 650 nm) et la forme cationique, rouge (maximum d'absorbance à 470 nm). Le réactif de Bradford est une solution de bleu de Coomassie G-250, de méthanol et d'acide phosphorique de pH 0,8. Les pKa des couples [Rouge]/[Vert] et [Vert]/[Bleu] étant respectivement de 1,15 et 1,82, la

forme cationique est majoritaire à ce pH (Chial et al., 1993). Le réactif de Bradford absorbe donc majoritairement à 470 nm et la solution apparaît rouge-marron (Compton, Jones, 1985). Seule la forme anionique bleue est capable de se lier avec les protéines (Bradford, 1976; Kruger, 2002). Elle est donc favorisée en présence de protéines et forme avec elles un complexe. L'absorbance maximale de ce complexe, une fois isolé, se trouve entre celle de la forme bleue (590 nm) et celle de la forme verte (650 nm) : à 620 nm (Chial et al., 1993). Mais une mesure de l'absorbance à 620 nm ne mesure pas uniquement l'absorbance du complexe car la forme verte est alors présente en quantité non négligeable. Le meilleur compromis entre une bonne détection du complexe et une minimisation de la participation de la forme neutre verte dans cette détection est une mesure de l'absorbance à 595 nm, soit très proche du maximum d'absorbance de la forme anionique bleue (Kruger, 2002).

L'absorbance à 595 nm est proportionnelle à la concentration en complexes réactif/protéine et permet donc de déterminer la concentration en protéines de manière rapide, précise et reproductible (Ernst, Zor, 2010). Les interactions protéines/réactif se font principalement au niveau des chaînes latérales de certains acides aminés basiques et/ou hydrophobes, principalement l'arginine (Kruger, 2002). Comme toutes les protéines n'ont pas la même composition en acides aminés, les mesures ne sont absolument pas comparables d'une protéine à l'autre. L'idéal est donc de connaître la protéine à doser, de réaliser une courbe étalon et d'exprimer les résultats en équivalent de la protéine utilisée pour la gamme. Dans le cas d'un mélange complexe de protéines végétales non purifiées comme le notre, il est difficile d'exprimer les résultats en fonction d'une seule des protéines certainement présentes. L'albumine de sérum bovin (ou BSA pour « bovin serum albumin ») est très largement utilisée dans la littérature pour doser des mélanges complexes de protéines car elle est peu chère et disponible à l'état pur.

Chaque analyse est réalisée en ajoutant 250 μL de réactif de Bradford (VWR, commercial non dilué, composé de bleu de Coomassie G-250, à 5 μL d'échantillon dilué pour être dans la gamme étalon. Après 30 secondes d'agitation, 5 min de repos et 30 secondes d'agitation supplémentaires, la densité optique à 595 nm est lue sur microplaque par un spectrophotomètre (UH3500, Hitachi). Les résultats sont ensuite exprimés en équivalent BSA (Sigma-Aldrich) par litre (gBSA.L^{-1}) à l'aide d'une gamme étalon entre 0 et 500 mg.L^{-1} .

(ii) Polyphénols totaux

Les polyphénols totaux sont dosés par le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Il s'agit d'un mélange d'acides phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui sont réduits en oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Ces oxydes sont bleus avec un maximum d'absorbance à 750 nm et leur concentration est directement proportionnelle à la quantité de composés réducteurs ayant réagi. Ces composés ne sont donc pas uniquement des phénols (le réactif réagit notamment avec la tyrosine et le tryptophane des protéines) et les résultats sont exprimés en équivalent d'un standard, souvent l'acide gallique, *via* une courbe étalon. Le milieu est alcalinisé avec une solution de carbonate de sodium ou potassium afin de limiter la formation de précipités. La présence de sucres réducteurs comme le glucose et le fructose peut également interférer avec les mesures. Il convient donc de vérifier que l'absorbance mesurée des sucres seuls dans les proportions dans lesquelles ils sont présents dans les échantillons est négligeable par rapport à l'absorbance des échantillons à doser.

Chaque analyse consiste à ajouter 100 μ L de réactif de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich), commercial non dilué) à 20 μ L d'échantillon dilué pour être dans la gamme étalon. Après 30 secondes d'agitation et 5 min de repos, 80 μ L d'une solution de carbonate de sodium (Sigma-Aldrich) à 75 $g.L^{-1}$ sont ajoutés. La densité optique à 750 nm est lue sur microplaque (UH3500, Hitachi) après 30 secondes d'agitation, 2 heures de repos à l'obscurité et 30 secondes d'agitation supplémentaires. Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide gallique (Sigma-Aldrich), de catéchine (Sigma-Aldrich) ou d'acide sinapique (Sigma-Aldrich) par litre ($gAcGallique.L^{-1}$, $gCatéchine.L^{-1}$, $gAcSinapique.L^{-1}$) à l'aide d'une gamme étalon allant de 0 à 100 $mg.L^{-1}$.

(iii) Carbohydrates

Les carbohydrates sont des composés constitués de carbone, d'hydrogène et d'oxygène uniquement. L'exemple le plus répandu dans les matériaux naturels est l'amidon. Les carbohydrates (également appelés glucides, sucres ou polysaccharides) sont donc des polymères d'oses qui diffèrent selon la structure répétée (glucose, fructose etc.), le degré de polymérisation (nombre d'oses soit mono-, oligo- ou polysaccharides) et la configuration de

la chaîne (linéaire, avec des branches etc.). Le dosage des carbohydrates repose sur l'hydrolyse à chaud de la chaîne en présence d'un acide fort. La chaîne est déstructurée et c'est la quantité des motifs primaires, les oses, qui est déterminée. Comme les très longues chaînes ne sont pas systématiquement entièrement hydrolysées, le temps de réaction entre l'acide fort et l'échantillon doit toujours être le même, pour que l'hydrolyse soit identique pour chaque échantillon et ainsi pouvoir mener une étude comparative. Plusieurs méthodes existent pour doser les oses générés par l'hydrolyse. L'une d'entre elles repose sur la réaction de condensation entre des dérivés furfuraliques, *i.e.* les produits de l'hydrolyse des oses par l'acide sulfurique, avec l'antrone et plus précisément son tautomère l'antranol. Le produit formé bleu-vert présente un maximum d'absorbance à 620 nm (Figure II-3).

Chaque analyse est réalisée en ajoutant 150 μL d'une solution d'antrone sulfurique (à 1 g.L^{-1} d'antrone dans l'acide sulfurique, Sigma-Aldrich) à 50 μL d'échantillon dilué pour être dans la gamme étalon. Après 30 secondes d'agitation, 20 min à 100 $^{\circ}\text{C}$, 20 min de refroidissement à température ambiante et 20 secondes d'agitation supplémentaires, la densité optique à 620 nm est déterminée par spectrophotométrie sur microplaque (UH3500, Hitachi). Les résultats sont exprimés en équivalent de glucose (Sigma-Aldrich) par litre (gGlucose.L^{-1}) à l'aide d'une gamme étalon allant de 0 à 100 mg.L^{-1} .

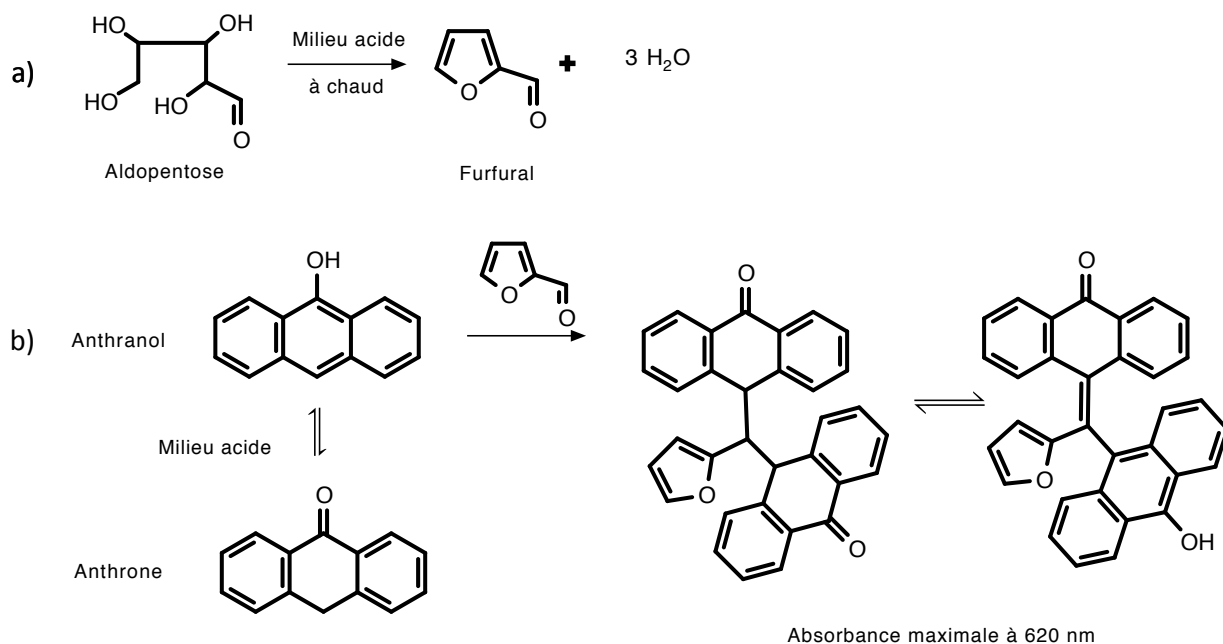


Figure II-3 a) Exemple de formation de dérivé furfuralique avec l'aldopentose et b) exemple de réaction entre l'antranol et les dérivés furfuraliques issus de l'hydrolyse des carbohydrates

1.4. Distribution des tailles de particules dans les poudres végétales

La taille des particules a été mesurée par granulométrie laser. Cette technique repose sur l'interaction entre la lumière et les particules pour renseigner sur les caractéristiques des particules. Lorsque qu'un faisceau laser traverse un échantillon dans lequel des objets sont dispersés, la lumière va être diffusée, diffractée et réfléchiée par ses objets. La lumière est une onde électromagnétique qui se propage dans le milieu jusqu'à la rencontre avec un objet dont l'indice de réfraction est différent. Les charges électriques de l'objet entrent alors en vibration et oscillent, formant des moments dipolaires. Ces moments dipolaires excités émettent à leur tour des ondes électromagnétiques qui se propagent dans toutes les directions. Les ondes électromagnétiques émises se propagent soit en phase, soit en décalage de phase, créant des interférences constructives et destructives (Figure II-4.a). L'intensité et la déviation de la lumière dépendent des propriétés des particules, et notamment de leur taille. Pour une grosse particule, les angles de déviations, θ , sont faibles mais l'intensité varie beaucoup en fonction de l'angle. En revanche, les ondes sont majoritairement en phase pour une plus petite particule et l'intensité (plus faible que dans le cas d'une grosse particule) varie peu en fonction de l'angle de déviation, alors que la lumière est déviée plus loin de l'axe de propagation (Figure II-4.b).

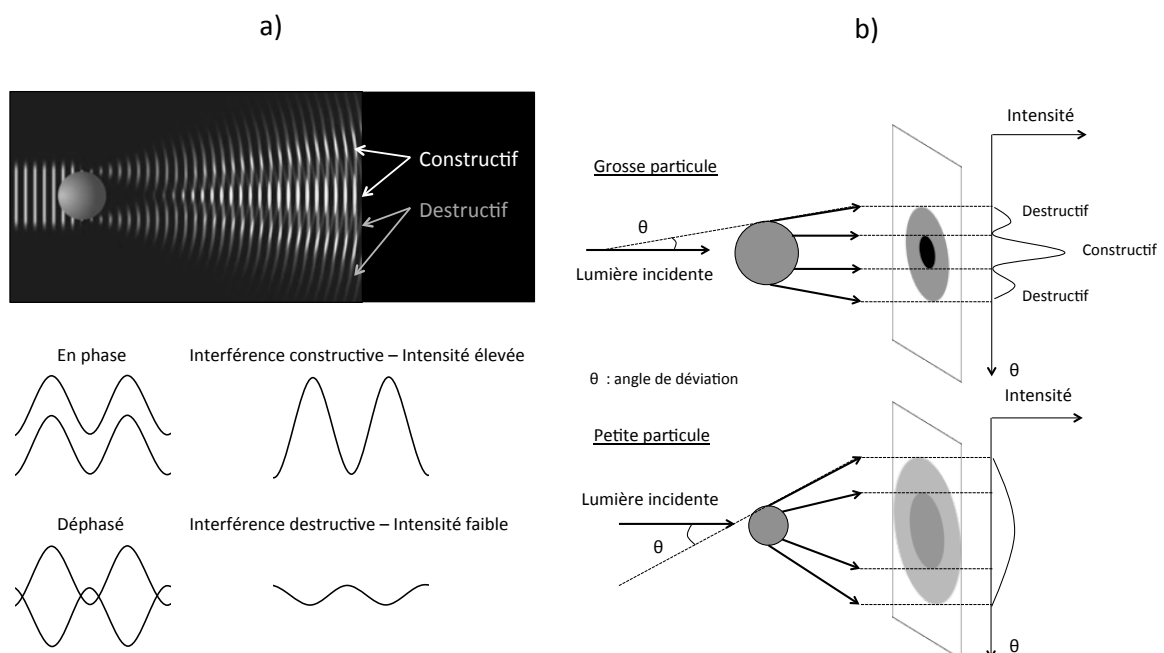


Figure II-4 a) Interférences constructives et destructives créées par la rencontre entre un objet sphérique et une onde incidente et b) Intensité et déviation de la lumière par une grosse et une petite particule.

Plusieurs modèles optiques permettent de remonter aux diamètres moyens des objets mesurés et à leur distribution en tailles, le plus utilisé étant celui qui repose sur la théorie de Mie. Ce modèle est le plus fiable car il résout de façon rigoureuse les équations de Maxwell (Mie, 1908) en considérant les 3 modes d'interaction lumière/particules : diffusion, diffraction et réfraction. Mais son emploi nécessite de connaître les propriétés optiques des objets : leur indice de réfraction et leur indice d'absorption. Lorsqu'il est difficile d'avoir cette information, le modèle de Fraunhofer peut être utilisé. Ce modèle, plus simple, ne prend en compte que la diffraction de la lumière. Cette approximation n'est justifiée que dans le cas où la longueur d'onde du laser est supérieure au diamètre de la particule et plus particulièrement lorsque la taille des particules adimensionnée α (équation (II-1)) est supérieure à 30 (Bayle et al., 2005). La longueur d'onde utilisée en granulométrie laser étant de l'ordre de 750 nm, l'approximation est justifiée dans le cas de particules de diamètre supérieur à 7 μm .

$$\alpha = \frac{\pi d}{\lambda} \quad (\text{II-1})$$

où d est le diamètre de la particule et λ est la longueur d'onde de l'onde incidente.

La granulométrie laser est généralement utilisée pour des gouttes ou des particules de forme sphérique. Or, les particules utilisées dans cette thèse ont des formes irrégulières. La taille des particules, dans le sens utilisé couramment, est une mesure de longueur. En ce sens, elle ne peut être définie de manière univoque que pour les sphères, où il s'agit du diamètre. Pour toutes les autres formes, la taille des particules doit être clairement définie via la procédure de mesure. Les diamètres dérivés sont déterminés en mesurant une propriété dépendante de la taille de la particule et la reliant à une seule dimension linéaire. Les plus utilisés sont les diamètres "équivalents", en particulier les diamètres sphériques équivalents. En diffraction laser, le diamètre équivalent est le diamètre d'une sphère donnant sur les détecteurs la même réponse optique, c'est-à-dire le même diagramme de diffraction que la particule réelle. Lorsque l'approximation de Fraunhofer est valide, le diamètre équivalent correspond au diamètre de la surface projetée de la particule dans une orientation aléatoire. Les résultats sont donc représentés sous forme d'histogramme en volume, la fréquence d'une classe D_i indiquant le volume qu'occupent les objets de diamètre D_i par rapport au volume total. La distribution en taille des particules est également caractérisée par le diamètre moyen en volume, $D_{4,3}$ défini par l'équation (II-2).

$$D_{4,3} = \frac{\sum N_i D_i^4}{\sum N_i D_i^3} \quad (\text{II-2})$$

où N_i est le nombre de gouttes de diamètre D_i .

Compte tenu de la complexité de nos particules végétales et ne connaissant pas leurs indices optiques, le modèle de Fraunhofer a été utilisé pour comparer les distributions de taille des particules avec et sans les différents traitements mécaniques. Cette mesure est toujours accompagnée d'une observation microscopique afin de contrôler la validité de la mesure granulométrique.

Les mesures ont été réalisées sur une dispersion à 10 %m de poudre dans l'eau avec un Mastersizer 2000 (Malvern). La cuve dispersante est remplie d'eau distillée et sa vitesse d'agitation est de 1 600 rpm. Le modèle de Fraunhofer a été adopté, ainsi que le mode de calcul considérant les objets non sphériques (« *irregular* »). Chaque échantillon est analysé 3 fois et la moyenne des trois mesures est prise en compte.

Pour les particules dont la taille caractéristique est de l'ordre du micron ou submicronique, nous avons utilisé la technique de diffusion dynamique de la lumière, ou DLS en anglais. Cette technique permet de mesurer le diamètre hydrodynamique, D_h , de particules en suspension dans un solvant de viscosité connue, η . Elles ne sont pas soumises à la gravité et le mouvement brownien est à l'origine de fluctuations temporelles de l'intensité diffusée. Le déplacement aléatoire des particules est contrôlé par le coefficient de diffusion D_{diff} , défini par l'équation de Stokes-Einstein (II-3) :

$$D_{diff} = \frac{k_B T}{6\pi\eta D_h} \quad (\text{II-3})$$

Les corrélations entre l'intensité diffusée par ces particules à un instant pris pour origine et celle diffusée à un instant τ voisin peuvent être évaluées à l'aide de la fonction d'autocorrélation. Cette fonction traduit la « ressemblance » des signaux à l'instant t et $t + \tau$ et décroît de façon exponentielle avec τ . L'argument de l'exponentielle est proportionnel au coefficient de diffusion et permet d'évaluer le diamètre hydrodynamique des particules. Lorsque que la dispersion est polydisperse, la fonction d'autocorrélation peut être considérée comme une somme d'exponentielles. La distribution peut être calculée par déconvolution de ce signal en utilisant une transformée de Laplace inverse.

Les mesures ont été réalisées sur une dispersion à 1 %m dans l'eau avec un appareil Vasco Particle Size Analyser (Cordouan Technologies), dont l'angle de détection est de 135°. Les résultats sont la moyenne de 6 acquisitions de 180 s à 20°C. La distribution est calculée par la méthode « Pade-Laplace » à l'aide du logiciel fourni par le constructeur.

1.5. Taux de cendres

Le taux de cendres des poudres végétales est déterminé par incinération suivant la norme NF ISO 6884 (AFNOR, 2012).

2. Fabrication des émulsions

Pour fabriquer les émulsions, les poudres sont préalablement dispersées dans la phase aqueuse. Celle-ci peut contenir un agent bactéricide, l'azide de sodium (Sigma-Aldrich) à 0,1 %m. Le pH sera fixé par une solution de tampon phosphate à 0,1 M. Dans les émulsions contenant du lactose, celui-ci est solubilisé dans la phase aqueuse préalablement à l'étape d'émulsification. L'huile utilisée est de l'huile de tournesol issue du commerce (Rustica®).

Les émulsions stabilisées par les particules végétales ont été fabriquées avec trois procédés : agitateur rotor-stator, ultrasons et homogénéisation haute pression. Ils impliquent des mécanismes de rupture de gouttes différents. Les « énergies de mélange » déployées peuvent être caractérisées par la puissance cédée aux fluides ($W.m^{-3}$) pendant l'émulsification. Cette grandeur dépend aussi des paramètres de formulations et notamment des proportions, compositions et viscosités des phases en présence. Afin de comparer ces techniques et à titre indicatif, le Tableau II-1 indique les ordres de grandeur de la puissance volumique ainsi que les tailles moyennes de gouttes généralement obtenues avec les trois techniques d'émulsification utilisées (Canselier et al., 2002; Canselier, Poux, 2004; Hall et al., 2011; Hielscher, 2007; Vimal Patel, 2016)

Tableau II-1 : Tableau comparatif des différents systèmes d'émulsification (Canselier et al., 2002; Canselier, Poux, 2004; Hall et al., 2011; Hielscher, 2007; Vimal Patel, 2016)

Technique d'émulsification	P_v (W.m ⁻³)	Diamètre moyen des gouttes (μm)
Rotor-Stator	$10^4 - 10^8$	1 - 20
Ultrasons	$10^6 - 10^8$	≤ 1
Homogénéisation haute pression	$10^7 - 10^{12}$	≤ 1

2.1. Rotor-stator (Ultra-Turrax® - UT)

L'émulsification par un agitateur de type rotor-stator consiste à cisailer le mélange entre deux cylindres concentriques constitués de fentes carrées. Le cylindre extérieur - le stator – restant fixe et le cylindre intérieur - le rotor – étant en mouvement de rotation à grande vitesse, le mélange est aspiré dans le sens axial puis comprimé dans le sens radial lorsqu'il est expulsé au travers des fentes du rotor et du stator (Figure II-5). Les gouttes fragmentées peuvent se recombinaison mais le mouvement de recirculation permet d'atteindre à partir d'un certain temps d'agitation, un équilibre entre la fragmentation et la recombinaison des gouttes. L'espace entre les deux cylindres (différence entre les diamètres), la vitesse et le temps de rotation du rotor déterminent les forces de cisaillement et la distribution granulométrique finale des gouttes.

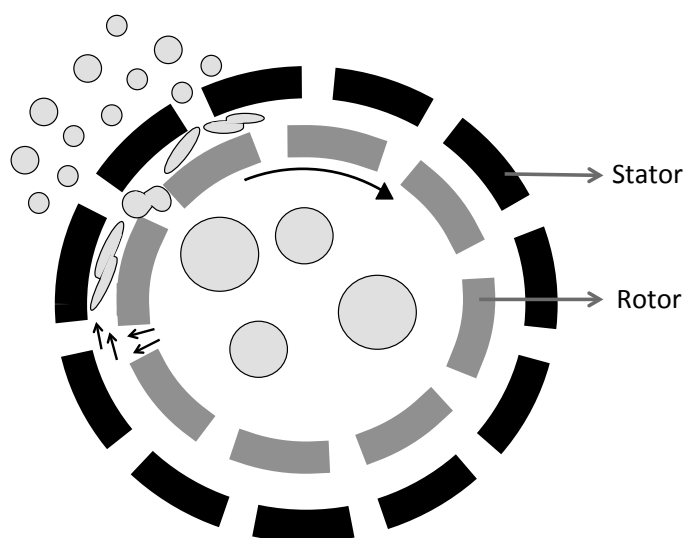


Figure II-5 Principe de fragmentation des gouttes à l'Ultra-Turrax®

La phase aqueuse, contenant la poudre et les éventuels autres composés hydrosolubles est dans un premier temps dispersée pendant 20 min à l'aide d'un barreau aimanté, puis pendant 2 min avec un agitateur de type rotor-stator dont l'entrefer est de 0,5 mm (Ultra-

Turrax[®], T25 Digital, S25 N-25F, IKA) à 6 000 rpm. La vitesse d'agitation est ensuite augmentée à 8 000 rpm et l'huile est progressivement ajoutée (~2 min suivant la quantité d'huile). Le mélange est émulsionné pendant 10 min supplémentaires à 10 000 rpm.

2.2. Ultrasons (US)

Les ultrasons sont des ondes vibratoires qui peuvent être classées en fonction de leur fréquence (basses fréquences entre 18 et 100 kHz, hautes fréquences entre 100 kHz et 1 MHz et très hautes fréquences au delà) ou de leur puissance. Si la puissance de l'onde est inférieure à 1 W, les interactions avec la matière ne sont que vibratoires et aucune transformation physique ou chimique de la matière n'est possible. Ce sont les ultrasons de puissance et de basses fréquences qui sont utilisés pour fabriquer des émulsions. La génération des ondes et leur conversion en onde mécanique se fait par un transducteur. Il est composé de céramiques Plomb-Zirconate-Titanate (PZT) qui ont la propriété de générer une différence de potentiel lorsqu'elles sont déformées. L'effet inverse est alors utilisé, pour que l'application d'une différence de potentiel génère une succession de compressions et de dilatations mécaniques des matériaux de l'ordre du micromètre. En plus d'un générateur de fréquence, il faut associer un amplificateur afin d'élargir l'amplitude de la vibration mécanique. La vibration mécanique est enfin transmise au milieu par une sonde. Lorsque qu'une onde se propage dans un liquide, la pression statique du liquide varie spatialement et temporellement, de façon cyclique, en alternant des phases de compression et de dépression (Figure II-6.a).

Quand la pression devient localement inférieure à la pression de vapeur du liquide (à la température considérée), le liquide se vaporise et une bulle de cavitation se forme. Ces bulles peuvent également apparaître à partir d'inclusion de gaz, de particules ou d'impuretés initialement présentes dans le milieu. Lorsque ces bulles sont soumises à la phase de compression, leur volume diminue et le gaz se dissout dans le milieu. Mais lorsque qu'elles subissent la phase de dépression, le liquide est vaporisé et le volume des bulles de cavitation augmente considérablement. Les vitesses de dissolution et de vaporisation n'étant pas équilibrées, ce volume augmente à chaque cycle de dépression et peut atteindre jusqu'à 100 fois sa taille initiale. Lorsque que la bulle de cavitation est dans une zone de trop forte pression, la différence de pression est telle que la bulle implose. Il en résulte des conditions de pressions et de températures particulières et extrêmes qui fragmentent les gouttes d'huile

environnantes (Figure II-6.b). L'intensité de cavitation dépend de plusieurs paramètres : la vitesse de propagation de l'onde (et donc les propriétés du milieu comme sa viscosité), l'intensité de l'onde, la pression et la température. Des gouttes d'huile peuvent également se former suite à la déformation de l'interface par la propagation de l'onde. Mais ce phénomène se produit aux temps courts et les gouttes formées, plus grosses, sont ensuite fragmentées par cavitation.

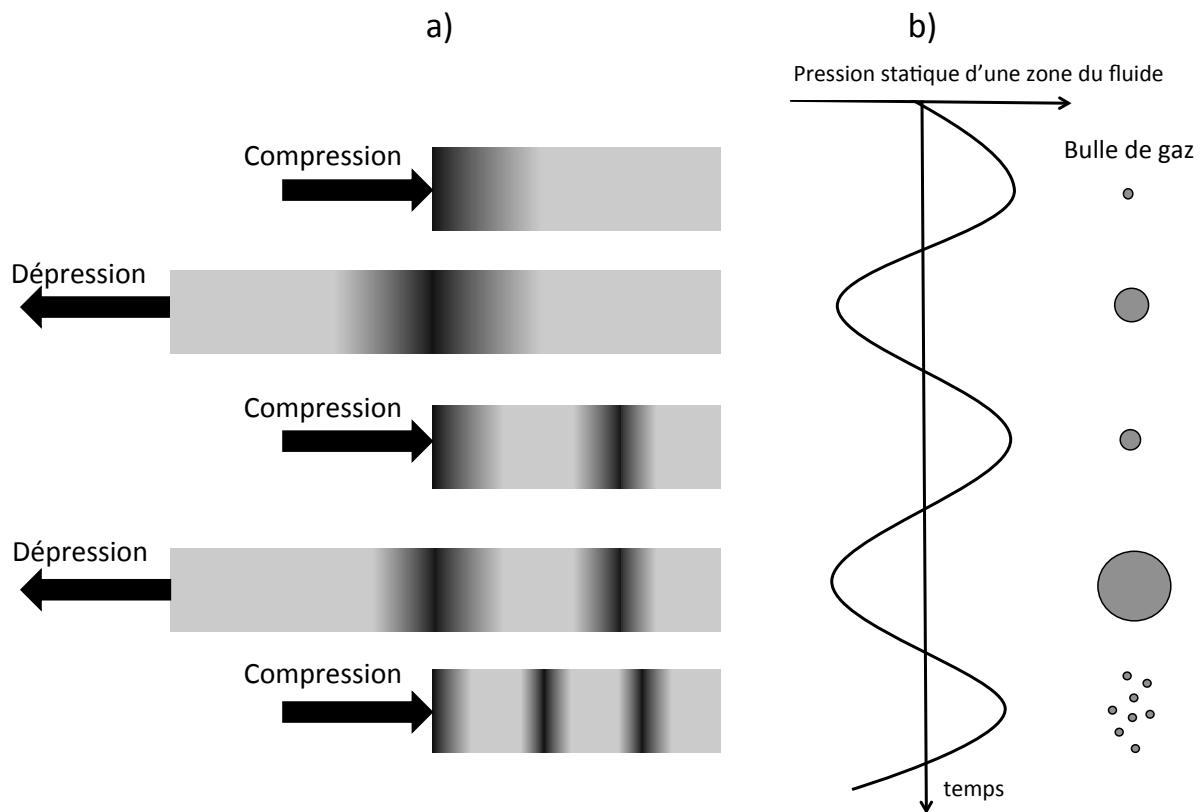


Figure II-6 a) Transmission et propagation de l'onde b) Principe de la cavitation

Les émulsions fabriquées par ultrasons ont été réalisées avec 10 g de matière. La phase aqueuse, contenant la poudre et les éventuels autres composés hydrosolubles, et l'huile sont mélangées par agitation manuelle. Des ultrasons d'une puissance de 10 W sont générés (Sonifier 250, Branson), amplifiés (Converter 102C, Branson) et transmis par une sonde cylindrique de diamètre 5 mm immergée dans le mélange (Tapered Microtip, Branson). Ils sont appliqués pendant 5 min avec un duty cycle de 80 % : les impulsions ne sont appliquées que pendant 80 % de chaque cycle, permettant d'avoir des phases de repos pour ainsi éviter un trop fort échauffement du milieu.

2.3. Homogénéisation haute pression (HHP)

L'homogénéisation à haute pression repose sur le principe de la pompe à piston. Le mélange à homogénéiser est poussé dans un entrefer très étroit sous l'effet d'une forte pression. A la sortie de l'entrefer, la différence de pression induit un phénomène de cavitation et les gouttes sont fragmentées. La fragmentation des gouttes est également induite par les collisions au sein du mélange ainsi que par les forces de cisaillement entre les parois des canaux et le mélange circulant à très grande vitesse (Figure II-7). L'homogénéisation haute pression permet généralement d'obtenir des gouttes de taille inférieure, voire très inférieure, au micron.

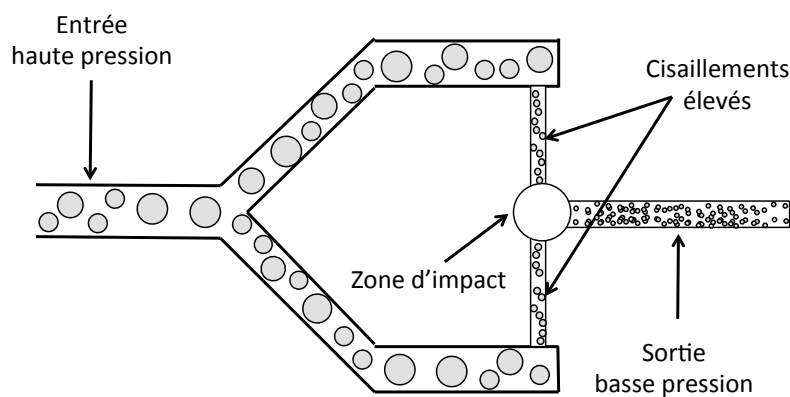


Figure II-7 Principe de fragmentation des gouttes par homogénéisation à haute pression (géométrie en « Y »)

Deux protocoles et deux appareils ont été utilisés lors de ce travail de thèse :

- Un microfluidiseur (Microfluidizer MS-110, Microfluidics) permettant d'atteindre de très hautes pressions (de 240 bars à 1 800 bars) mais avec une capacité volumique limitée, d'une vingtaine de millilitres. Un moteur à air entraîne un large piston qui va pousser un deuxième piston de section plus faible. La pression appliquée par le premier piston est considérablement amplifiée lorsqu'elle est transmise au petit piston. Elle est 233 fois plus grande que la pression de l'air appliquée à l'entrée. Le mélange à émulsionner est forcé à s'écouler dans la chambre d'homogénéisation au sein de laquelle se trouve un canal microfluidique en géométrie Y, d'une section de $75 \times 75 \mu\text{m}^2$. Le dispositif permet de fonctionner en boucle (circuit fermé) et de ce fait l'émulsion peut circuler plusieurs fois à travers la chambre d'homogénéisation. Les variables permettant de contrôler la taille des gouttes sont la pression appliquée et le nombre de passages. Une pré-émulsion de 20 mL obtenue par Ultra-Turrax[®] (dans les conditions précédemment décrites) est introduite dans le

réservoir. Elle subit ensuite 6 passages dans la chambre d'homogénéisation à des pressions d'homogénéisation équivalentes à 240, 500 et 800 bars.

- Un homogénéisateur haute pression simple effet (ALM, Pierre Guérin) pouvant émulsionner plusieurs litres, dont la pression d'homogénéisation maximale est de 265 bars. La pression d'homogénéisation est ici réglée par la taille d'un entrefer au travers duquel le mélange est poussé à pression constante. Dans ce cas, une pré-émulsion de 2 L est fabriquée par Ultra-Turrax[®] en adaptant les vitesses de rotation : la phase aqueuse contenant les particules végétales est dispersée à 12 000 rpm ; l'huile est introduite progressivement à 16 000 rpm pendant 5 min ; l'émulsion est ensuite cisailée pendant 10 min supplémentaires à 20 000 rpm. La pré-émulsion subit finalement 2 passages à 265 bars dans l'homogénéisateur haute pression.

3. Techniques d'observation et de caractérisation des émulsions

3.1. Observations microscopiques

3.1. a) Microscopie optique

Les émulsions et les dispersions de particules végétales ont été observées avec un microscope optique à contraste de phase (Olympus BX51, Olympus) équipé d'une caméra digitale (ColorView, Olympus). Les échantillons sont dilués pour mieux distinguer les objets (environ 200 μ L d'échantillon dans 1 500 μ L d'eau distillée) et déposés entre lame et lamelle avant observation. La pression exercée par la lamelle sur l'échantillon peut être à l'origine d'une agrégation des particules ou induire la coalescence des gouttes d'huile. Une configuration spécifique en lame creuse (Marienfeld Superior) a donc été adoptée pour pallier ce problème. Cette lame est recouverte d'un masque de quelques micromètres d'épaisseur présentant une cavité en son centre. L'échantillon étant déposé dans la cavité, la lamelle y exerce moins de pression car elle repose sur le film (Figure II-8).

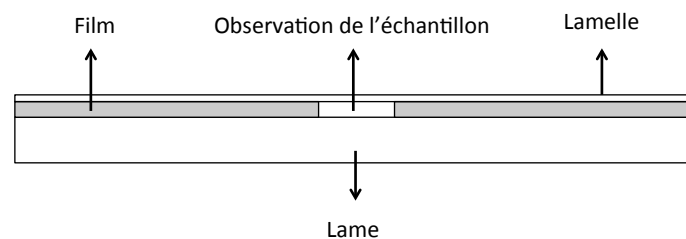


Figure II-8 Représentation de la lame creuse utilisée pour les observations en microscopie optique

3.1. b) Microscopie de fluorescence

Les émulsions (et les dispersions) ont également été observées en microscopie de fluorescence sans aucun marquage préalable. En effet, les particules végétales, et plus particulièrement certains de leurs composés comme les protéines ou les polyphénols, sont auto-fluorescents (McCarthy, 2007). Ils sont capables d'absorber une certaine quantité d'énergie lumineuse (à une certaine longueur d'onde) et de la restituer sous forme de lumière fluorescente (Figure II-9). Les lumière absorbée et restituée sont différentes car, après absorption de l'énergie du photon incident, l'électron excité perd un peu de cette énergie, par radiation ou conversion interne par exemple. Il libère ensuite un photon, moins énergétique que le photon incident. La longueur d'onde étant inversement proportionnelle à l'énergie du photon, la lumière émise est décalée vers les hautes longueurs d'ondes (vers le rouge).

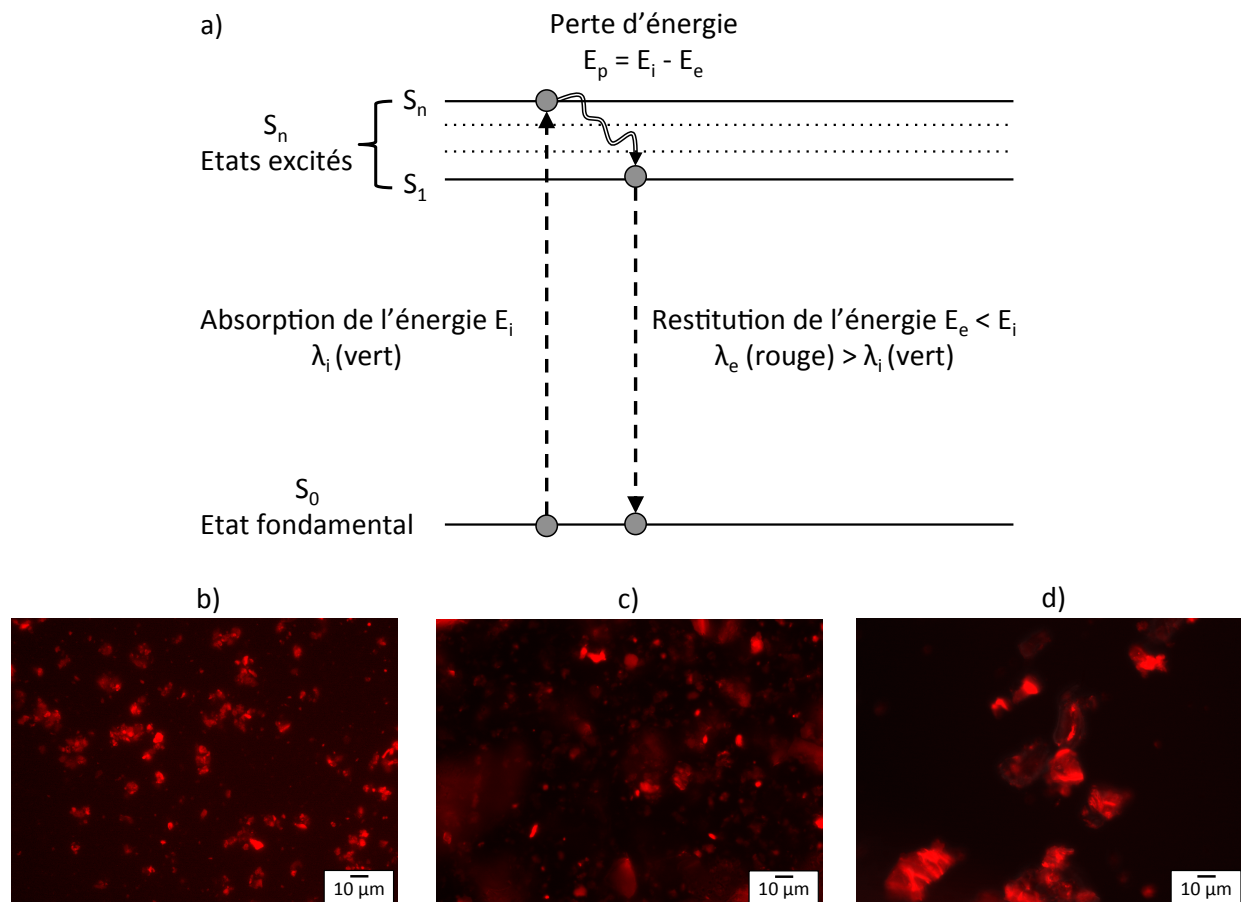


Figure II-9 a) Principe de la fluorescence et observations des particules végétales en microscopie de fluorescence : b) cacao, c) colza et d) coques de lupin

Afin d'observer les gouttes d'huile sans les particules libres de la phase aqueuse, les émulsions sont « lavées » : elles sont centrifugées (2 min à 2 000 g), la crème constituée des gouttes est prélevée et diluée dans de l'eau. Cette opération est réalisée une seconde fois, puis

la crème est diluée dans les mêmes conditions qu'en microscopie optique (environ 200 μL d'échantillon dans 1 500 μL d'eau distillée) avant le dépôt sur une lame classique pour l'observation avec un microscope MI 600B (Leica) équipé d'une caméra DFC 350 FX (Leica). La fluorescence est générée par un laser passant au travers d'un filtre (Filter Cube N3, Leica) qui permet d'obtenir une longueur d'onde d'excitation à 546 nm (vert) et une longueur d'émission à 600 nm (rouge).

3.2. Granulométrie laser

Les tailles des gouttes d'huile dans les émulsions ont été déterminées par granulométrie laser (principe décrit au paragraphe 1.4). Le modèle reposant sur la théorie de Mie a été adopté dans ce cas. En plus du diamètre moyen en volume, $D_{4,3}$ défini par l'équation (II-3), le diamètre moyen en surface, $D_{3,2}$ (équation (II-4)), et l'uniformité, U (équation (II-5)), ont été utilisés pour caractériser la distribution des tailles des gouttes d'huile :

$$D_{3,2} = \frac{\sum N_i D_i^3}{\sum N_i D_i^2} \quad (\text{II-4})$$

$$U = \frac{1}{\bar{D}} \frac{\sum N_i D_i^3 (\bar{D} - D_i)}{\sum N_i D_i^3} \quad (\text{II-5})$$

où \bar{D} est le diamètre médian.

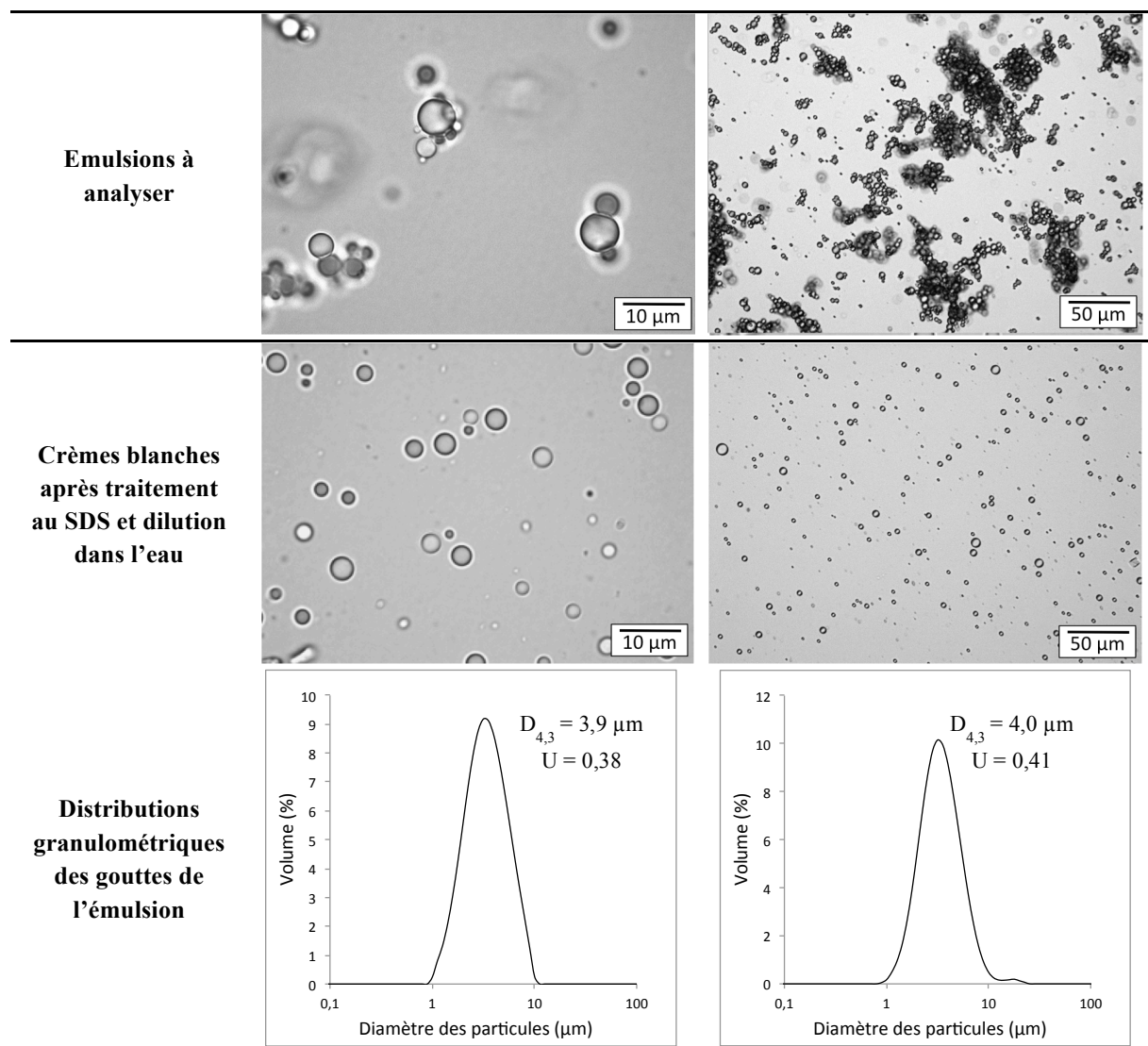
L'uniformité U caractérise la largeur de la distribution granulométrique : sa valeur est d'autant plus élevée que la distribution est large. La mesure granulométrique des émulsions à base de particules végétales est problématique pour deux raisons :

- Les particules, qu'elles soient aux interfaces des gouttes ou libres dans la phase aqueuse, diffusent la lumière tout comme les gouttes d'huile. Le signal mesuré est donc inexploitable car il résulte de la superposition du signal émis par les deux types de diffuseurs.
- Les gouttes sont généralement agrégées. Le diamètre mesuré est donc celui des agrégats et non celui des gouttes individuelles.

Un protocole spécifique a donc été mis en place afin de désorber les particules végétales des gouttes, tout en conservant leur taille. L'émulsion à analyser est diluée 4 fois avec une solution de Sodium Dodécyl Sulfate (SDS, Sigma-Aldrich) à 10 %m. Le SDS est un

tensioactif capable de désorber des espèces ancrées aux interfaces, telles que les protéines, même lorsque leur énergie d'adsorption est élevée (Mackie et al., 2000). Le mélange est laissé sous agitation avec un barreau aimanté pendant 12 h, puis centrifugé pendant 5 min à 220 g. Après centrifugation, les particules végétales plus denses que la phase aqueuse sédimentent et constituent un culot, alors que les gouttes d'huile remontent à la surface pour former une crème d'aspect blanchâtre, dépourvue de particules. Cette crème est ensuite diluée et analysée par granulométrie laser. La conservation de la taille des gouttes avant et après traitement, l'absence de particules végétales et l'état non agrégé après traitement sont systématiquement vérifiés par microscopie optique (Tableau II-2). L'absence de particules est également confirmée par l'absence de fluorescence (Figure II-10). La méthode est schématisée sur la Figure II-11.

Tableau II-2 Exemples d'émulsions avant et après traitement au SDS



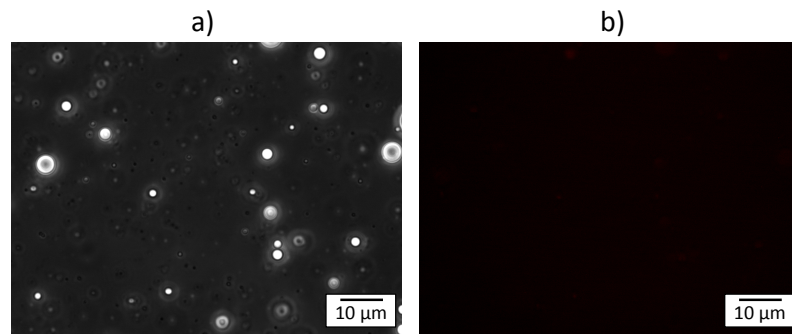


Figure II-10 Observation d'une émulsion après traitement au SDS : a) microscopie à contraste de phase et b) microscopie de fluorescence

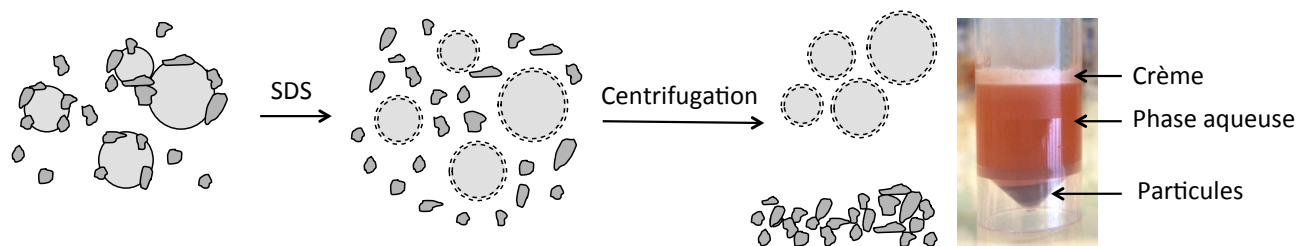


Figure II-11 Principe de l'échantillonnage des émulsions pour leur caractérisation par granulométrie laser

La crème blanche est diluée 45 fois avec de l'eau distillée et introduite dans la cellule dispersante en rotation à 1 600 rpm, remplie par une solution de SDS à la CMC ($8 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$). Le modèle de Mie est utilisé avec des indices de réfraction de 1,47 et de 1,33 pour les milieux dispersé (l'huile de tournesol) et dispersant (l'eau), respectivement. Chaque échantillon est analysé 3 fois et la moyenne des trois mesures est prise en compte.

La répétabilité de la mesure est évaluée en échantillonnant ainsi 3 fois la même émulsion. Les résultats sont présentés dans le Tableau II-3. Les écart-types sont suffisamment faibles pour considérer la méthode répétable.

Tableau II-3 : Caractérisation d'une émulsion fabriquée par HHP, contenant 4% de cacao et 20% d'huile de tournesol. Chaque échantillon a été analysé séparément et chaque valeur est la moyenne de 3 mesures.

	$D_{4,3}(\mu\text{m})$	$D_{3,2}(\mu\text{m})$	U
Echantillon 1	3,89	3,18	0,39
Echantillon 2	3,88	3,19	0,37
Echantillon 3	3,96	3,23	0,39
Moyenne	3,91	3,20	0,38
Ecart-type	0,05	0,03	0,01

3.3. Taux d'ancrage

Les particules peuvent être ancrées aux interfaces des gouttes d'huile ou libres dans la phase aqueuse. Afin de déterminer la proportion de particules ancrées par rapport à la totalité des particules introduites, un protocole spécifique a été mis en place. La séparation des gouttes d'huile décorées par les particules ancrées des particules restées dans la phase aqueuse repose sur leur différence de densité. Mais comme une centrifugation peut apporter l'énergie nécessaire à la désorption d'une partie des particules (Leclercq et al., 2012), les émulsions sont diluées 10 fois et laissées à décanter au repos pendant 24 h. Les crèmes résultantes sont prélevées et de nouveau diluées 10 fois et laissées au repos pendant 24 h. Les sous-phases sont réunies. Elles contiennent les particules non adsorbées, la fraction soluble des particules et les gouttes d'huile trop petites pour crémier naturellement. Afin d'éliminer les composés autres que les particules non adsorbées, les sous-phases sont « lavées ». Elles sont plusieurs fois centrifugées pendant 5 min à des vitesses croissantes (de 20 à 17 000 g). Après chaque étape de centrifugation, la crème est prélevée et remplacée par de l'eau distillée. Lorsqu'aucune crème résiduelle ne se forme après centrifugation, la phase aqueuse ne contient plus que les composés solubles. Elle est prélevée et remplacée par de l'eau distillée. Une dernière centrifugation pendant 10 min à 17 000 g est réalisée. La phase supérieure est éliminée et le culot est séché par lyophilisation.

Les particules non adsorbées sèches sont ensuite pesées (m_p^l). Le taux d'ancrage, défini comme la proportion de particules ancrées aux interfaces par rapport aux particules insolubles totales, est déterminé d'après l'équation (II-6) :

$$\text{Taux d'ancrage (\%)} = \frac{m_p^i - m_p^l}{m_p^i} \times 100 \quad (\text{II-6})$$

où m_p^l est la masse de particules libres et m_p^i la masse totale de particules insolubles, déterminée d'après la fraction soluble de la poudre végétale par l'équation (II-7) :

$$m_p^i = \frac{m_p \times \text{Fraction soluble}}{100} \quad (\text{II-7})$$

où m_p est la quantité totale de poudre introduite dans la formulation. La fraction soluble est déterminée d'après la méthode présentée au paragraphe 1.3.a.

3.4. Composition de la phase aqueuse

Afin de déterminer l'influence de l'émulsification sur la teneur en composés hydrosolubles issus des poudres végétales et d'évaluer leur rôle dans la stabilisation, les phases aqueuses des émulsions ont été analysées et comparées aux phases aqueuses des simples dispersions. Les émulsions sont ultra-centrifugées (1 h à 100 000 g) afin de séparer la phase aqueuse, l'huile (ou les gouttes d'huile lorsque l'ultracentrifugation ne permet pas la déstabilisation) et les particules. La phase aqueuse intermédiaire est prélevée avec précaution à l'aide d'une seringue pourvue d'une aiguille fine. Comme la phase supérieure est une crème très dense, la phase aqueuse prélevée contient toujours quelques résidus de crème. Elle est donc centrifugée à nouveau (20 min à 4 600 g) pour éliminer l'huile. Une partie de la phase aqueuse est ensuite congelée pour conservation avant les dosages des composés hydrosolubles et le reste est séché par lyophilisation pour quantifier l'extrait sec. Les dosages et l'expression des résultats sont décrits dans les paragraphes 1.3.a) et 1.3.b).

4. Séchage des émulsions

Les émulsions, avec ou sans lactose (Sigma-Aldrich), étudiées pour leur capacité à résister au séchage ont été fabriquées par homogénéisation haute pression comme décrit au paragraphe 2.3.

4.1. Lyophilisation

La lyophilisation est un processus d'élimination de l'eau par sublimation permettant de sécher les échantillons à froid. L'échantillon à sécher est congelé à -80 °C pendant au minimum 12 h, puis placé dans une enceinte étanche reliée à une pompe. L'ouverture du conduit reliant l'enceinte à la pompe permet de descendre très rapidement en pression et d'atteindre un vide poussé de 0,1 mbar (FTS Systems, Dura-Dry). L'eau sous forme solide est sublimée et passe donc directement de son état solide à son état de vapeur d'eau. La vapeur d'eau est ensuite condensée au contact d'un piège à froid porté à -92 °C.

4.2. Atomisation

Le séchage par atomisation repose sur la pulvérisation du fluide que l'on veut sécher au contact d'un gaz très chaud, jusqu'à 400 °C. Différentes technologies sont disponibles pour pulvériser le système, pour la mise en contact avec l'air chaud et pour récupérer le solide sec. Le système de pulvérisation peut être une buse ou un pulvérisateur rotatif, ce dernier étant plus souvent utilisé car il permet d'atomiser à des débits plus importants et d'obtenir des gouttes plus fines. Le gaz de séchage, souvent de l'air atmosphérique chauffé par une résistance électrique, peut-être introduit dans l'enceinte dans la même direction que le produit, à co-courant, ou à contre-courant. La première configuration est plus répandue car l'échantillon chauffe moins grâce à une évaporation plus rapide. Au contact de l'air très chaud, l'évaporation commence instantanément à la surface des gouttelettes du brouillard pulvérisé. Le solvant diffuse vers la surface de contact pour maintenir une vitesse d'évaporation et une température constante dans l'échantillon jusqu'à ce que la diffusion ne suffise plus, que la vitesse d'évaporation diminue et que la température au sein de l'échantillon augmente. Les conditions et la vitesse d'évaporation conditionnent donc directement les morphologies finales des poudres atomisées, tout comme la viscosité du système initial. Plus le fluide est visqueux et plus les gouttelettes pulvérisées sont grosses, donc plus les particules solides seront denses et grosses également (Walton, Mumford, 1999). Les températures d'entrée et de sortie du gaz de séchage sont aussi des paramètres très importants qui déterminent, entre autres, la teneur en eau finale et l'état d'agglomération des particules solides (Birchal et al., 2005).

Toutes les atomisations ont été réalisées avec un atomiseur à l'échelle pilote de marque Niro Mobile Minor (GEA). Les émulsions (minimum 500 mL) sont pompées juste après leur fabrication et pulvérisées sous forme de très fines gouttelettes par une tête à rotation pneumatique tournant à 25 000 rpm. L'air est introduit à co-courant à une température de 220°C et sa température de sortie est fixée à 90°C. Le débit d'alimentation en émulsion est de 1,5 L.h⁻¹ en moyenne, mais il peut être adapté en fonction de la viscosité des émulsions afin de maintenir l'équilibre thermique au sein de la cuve de séchage.

5. *Caractérisations du séchage des émulsions*

5.1. *Caractérisations des émulsions sèches*

5.1. a) *Teneur en eau résiduelle*

La quantité d'eau résiduelle des émulsions après séchage par lyophilisation ou atomisation est déterminée par gravimétrie avec un analyseur d'humidité (Moisture Series, Fisher Scientific). L'échantillon est pesé et chauffé à 90 °C jusqu'à la stabilisation de la masse de l'échantillon. La différence de masse indique la quantité d'eau initialement présente.

5.1. b) *Masse volumique apparente*

La masse volumique apparente des émulsions sèches est déterminée en pesant un volume donné de poudre. Pour cela, un tube de verre de 1 cm de diamètre et de 6 mL de volume est totalement rempli et tapoté pour limiter les espaces vides.

5.1. c) *Microscopie*

Les poudres d'émulsions sèches sont observées par microscopie optique (microscope Olympus BX51 et caméra ColorView, Olympus) directement sous forme sèche et sans lamelle.

5.1. d) *Taux de matières grasses*

Le taux de matières grasses dans les émulsions sèches est déterminée par extraction à l'hexane suivant la norme NF EN ISO 734 (AFNOR, 2016a).

5.2. *Caractérisations des émulsions sèches réhydratées*

5.2. a) *Réhydratation des émulsions sèches*

La réhydratation des émulsions sèches est simplement réalisée en ajoutant la quantité d'eau distillée équivalente à la quantité évaporée et en mélangeant avec une spatule jusqu'à l'homogénéisation du mélange.

5.2. b) Caractérisations des émulsions sèches réhydratées

Les émulsions obtenues par réhydratation des émulsions sèches sont caractérisées par granulométrie laser et microscopie optique comme leurs émulsions mères (voir paragraphe 3).

6. Caractérisation de l'oxydation des lipides dans les émulsions et émulsions sèches

Afin d'étudier l'influence de la mise en émulsion d'une huile sur son comportement oxydatif, une huile riche en acides gras polyinsaturés, est utilisée pour fabriquer les émulsions et les émulsions sèches : une huile vierge de lin, première pression à froid bio (Huilerie Philippe Vigean). Sa composition en acides gras a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse. L'huile est composée à 57,3% d'acide α -linoléique (18:3 ω 3), à 19,2% d'acide oléique (18 :1 ω 9) et à 13,0% d'acide linoléique (18:2 ω 6). Les acides gras saturés sont faiblement représentés (5% d'acide stéarique (18:0) et 5% d'acide palmitique (16:0)). Les émulsions et émulsions sèches sont obtenues comme décrit au paragraphe 4 ; elles ne sont pas en milieu tamponné, contiennent du lactose et sont stabilisées par des poudres broyées (paragraphe 1.2).

6.1. Vieillesse accélérée

Afin d'accélérer l'oxydation de l'huile de lin et limiter ainsi le temps d'analyse, les échantillons sont placés au repos dans une étuve ventilée à 60 °C. L'état d'avancement de l'oxydation est évalué à différents temps de stockage et jusqu'à 25 jours. L'oxydation étant dépendante de la surface d'échange avec l'air et de la quantité d'huile, il est important de maintenir ces paramètres constants au cours du vieillissement. C'est pourquoi, un même volume d'échantillon est réparti dans plusieurs flacons, chacun étant prélevé de l'étuve au temps choisi pour être analysé. Les flacons, de diamètre 2,5 cm et de volume 22,7 mL, sont fermés afin d'éviter l'évaporation de l'eau dans le cas des émulsions. Différentes formulations ont été étudiées : l'huile brute, l'huile au sein des émulsions et l'huile au sein des émulsions sèches. Le choix a été fait de se placer à quantité d'huile constante égale à 0,5 g. Les huiles brutes ont donc été vieilles dans des flacons contenant 0,5 g d'huile, et les formulations dans des flacons contenant 3,3 g d'émulsion à 15% d'huile ou 1 g d'émulsion sèche à 50% d'huile. Le rapport volume d'air/volume d'échantillon est de 41 pour l'huile seule et de 5,5 dans les émulsions. L'excès d'air est suffisant pour que l'oxydation ne soit pas limitée par la quantité

d'oxygène (Dridi et al., 2016). Néanmoins, pour le vérifier, l'oxydation de l'huile des flacons ouverts (couvercles percés dans le cas des émulsions afin de limiter l'évaporation de l'eau et la déstabilisation de l'émulsion) a été comparée à celle des flacons fermés pour un temps de stockage de 4 jours.

6.2. Extraction de l'huile

L'extraction consiste à ajouter environ 10 g de solvant par gramme d'huile à extraire, soit 5 g de solvant par échantillon (huile brute, émulsion ou émulsion sèche). Le solvant utilisé est un mélange hexane : isopropanol (3:1, v : v), soit 8 mL de solvant par échantillon. Le mélange solvant/échantillon est agité au vortex (30 secondes) pour que le solvant solubilise toute l'huile des formulations, puis centrifugé pendant 10 min à 4 500 g. La phase supérieure contenant l'huile est prélevée et le solvant est évaporé sous flux d'azote (minimum 3 h). L'huile extraite est congelée à -80 °C pour conservation avant analyse.

6.3. Mesure de l'absorbance des diènes conjugués

La formation des hydroperoxydes, composés d'oxydation primaire, s'accompagne d'un réarrangement de doubles liaisons et la formation de diènes conjugués, qui ont la propriété d'absorber à 233 nm (NF EN ISO 3656 (AFNOR, 2011)). L'huile extraite est diluée dans de l'hexane (environ 50 mg dans 10 mL) pour la mesure d'absorbance à 233 nm. La concentration en huile en mg.mL^{-1} doit être exactement connue car l'absorbance mesurée est ensuite normalisée par cette concentration en huile (Absorbance Spécifique). La mesure de l'absorbance à 233 nm est réalisée avec un spectrophotomètre à double faisceau (UH3500, Hitachi) et les cuves en quartz de référence contiennent de l'hexane.

L'évolution de l'absorbance spécifique (*i.e.* absorbance à 233 nm normalisée par la concentration en huile en mg.mL^{-1}) est tracée en fonction du temps de stockage à 60 °C pour chaque formulation.

Afin d'étudier l'influence d'éventuelles traces d'isopropanol sur l'absorbance, 2 mL d'isopropanol sont dilués dans 10 mL d'hexane (cas extrême où l'isopropanol introduit ne s'est pas évaporé). Cette solution a une absorbance de 0,024. Sachant que seulement 1/10 de la totalité de l'huile extraite est analysée (50 mg d'échantillon sur les 0,5 g d'huile extraite), l'influence sur l'absorbance mesurée est de 0,0024. Cet impact est considéré comme négligeable.

6.4. Corrélation indice de peroxyde-diènes conjugués

L'indice de peroxyde (IP) caractérise la quantité d'oxygène actif (sous forme d'époxydes, d'hydroperoxydes, etc) dans le chaînes des acides gras et renseigne sur l'état d'oxydation d'une huile. De nombreuses études font état d'une très bonne corrélation entre la mesure des diènes conjugués et l'indice de peroxyde (Marmesat et al., 2009; Wanasundara, Shahidi, 1994). L'indice de peroxyde est déterminé par réaction des ions iodures et des hydroperoxydes. L'iode libéré est ensuite titré par le thiosulfate de sodium. Ce dosage présente l'inconvénient de nécessiter une quantité d'échantillon beaucoup plus importante (plusieurs grammes) que pour une mesure spectroscopique et d'utiliser des solvants organiques toxiques (chloroforme) potentiellement toxiques pour l'homme. Néanmoins, c'est un indice normalisé et reconnu. Il renseigne sur la limite d'oxydation acceptable d'une huile, puisqu'au-delà de $15 \text{ meq O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ d'huile, une huile végétale non raffinée est considérée comme impropre à la consommation (Codex Alimentarius, 1981).

La corrélation entre l'absorbance spécifique à 233 nm et l'IP étant dépendante de la nature de l'huile et des conditions expérimentales, nous avons réalisé un vieillissement accéléré sur l'huile de lin répartie dans 11 flacons contenant chacun 0,5 g d'huile ; 5 temps de stockage à 60°C sont considérés : t0, 24 h, 48 h, 72 h et 96 h. Afin de disposer d'une quantité suffisante d'huile pour la mesure de l'IP, le contenu de 10 flacons est réuni : 5 g sont utilisés pour le dosage de l'IP. Les dosages d'IP sont réalisés par l'ITERG (NF EN ISO 27107 (AFNOR, 2010)) et la mesure des absorbances spécifiques à 233 nm a été effectuée en parallèle conformément au protocole décrit précédemment. La corrélation suivante est obtenue : équation (II-8) et Figure II-12.

$$IP (m_{eq} O_2 \cdot kg^{-1}) = 133,12 \times Abs_{spécifique}^{233} - 26,321 \quad \text{(II-8)}$$

où $Abs_{spécifique}^{233}$ est l'absorbance spécifique, *i.e* la densité optique à 233 nm divisée par la concentration en huile en $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ de l'échantillon, et IP est l'indice de peroxyde en milliéquivalent d'oxygène par kilogramme d'huile. D'après cette corrélation, l'huile de lin utilisée ne peut plus être considérée comme consommable si son absorbance spécifique à 233 nm dépasse la valeur de 0,31.

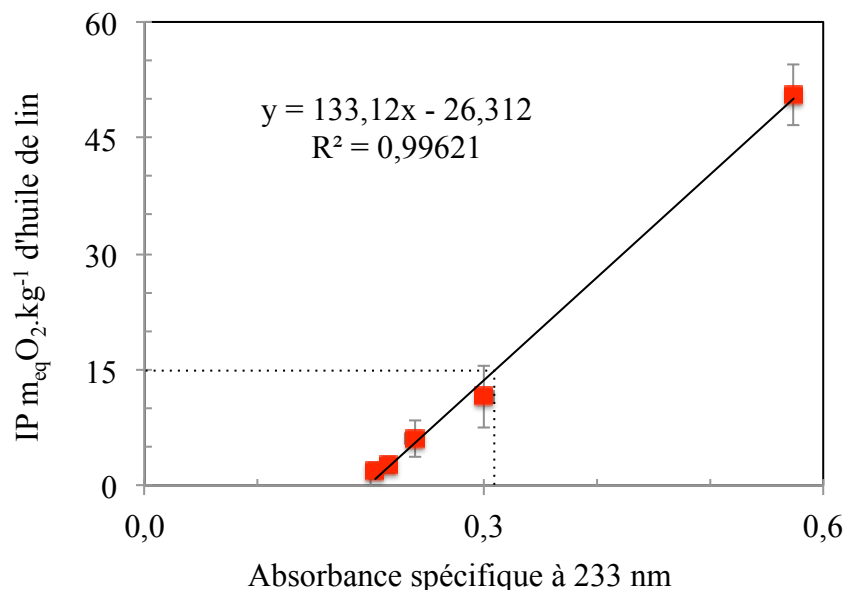


Figure II-12 Courbe de corrélation entre l'indice de peroxyde et l'absorbance spécifique des diènes conjugués à 233 nm pour l'huile de lin, stockée à 60°C

6.5. Influence de la présence des particules végétales sur l'absorbance à 233 nm

Lorsque les formulations sont mises en contact avec le mélange hexane : isopropanol pour en extraire l'huile, des composés provenant des particules végétales peuvent être solubilisés et fausser la mesure des diènes conjugués à 233 nm. Le procédé d'extraction a donc été réalisé sur les formulations sans huile (eau / poudre végétale / lactose pour les émulsions et poudre végétale / lactose pour les émulsions sèches) dans les mêmes conditions et proportions que celles appliquées pour l'étude, c'est-à-dire les proportions pour être à 0,5 g d'huile. La totalité de chaque extrait a été diluée dans 10 mL d'hexane et l'absorbance à 233 nm mesurée. En tenant compte des facteurs de dilution utilisés pour les formulations avec huile, les absorbances spécifiques dues à la présence de composés extraits des tourteaux à soustraire aux mesures à 233 nm sont les suivantes :

- Emulsion stabilisée par le tourteau de colza : 0,024 (soit une différence d'IP d'environ $3,2 m_{eq} O_2 \cdot kg^{-1}$).
- Emulsion stabilisée par le cacao : 0,012 (soit une différence d'IP d'environ $1,6 m_{eq} O_2 \cdot kg^{-1}$).
- Emulsion sèche stabilisée par le tourteau de colza : 0,005 (négligeable)
- Emulsion sèche stabilisée par le cacao : 0,009 (négligeable)

La valeur plus importante à soustraire pour le tourteau de colza peut s'expliquer en partie par la présence d'huile résiduelle dans le tourteau (2,2 %) qui n'a pas été totalement délipidé chez OLEAD (alors que le cacao a subi une délipidation quasi-totale). La présence de cette huile résiduelle correspond à une absorbance spécifique de 0,012, soit la moitié du facteur correctif déterminé pour le tourteau de colza.

Ces valeurs correspondant aux composés extraits des tourteaux (colza et cacao) et à l'huile résiduelle pour le tourteau de colza sont systématiquement soustraites aux absorbances spécifiques mesurées des formulations correspondantes.

6.6. *Dosages des composés antioxydants*

Différents composés aux propriétés antioxydantes (polyphénols, protéines, (Amarowicz et al., 2001; Maleyki, Ismail, 2008; Zhou et al., 2017)) ont été dosés dans les phases aqueuses et dans l'huile de lin des formulations après plusieurs temps de stockage à 60 °C. Dans le cas des émulsions, la phase aqueuse est prélevée après centrifugation de l'émulsion (1 h à 17 000 g). L'huile est ensuite extraite avec un mélange hexane : isopropanol (3 : 1, v : v) (voir paragraphe 6.2). Les émulsions sèches sont redispersées dans la quantité d'eau nécessaire pour être dans les mêmes proportions que les émulsions parentes.

6.6. a) *Dosages dans les phases aqueuses*

La théobromine et la caféine (méthylxanthines) pour le cacao, et l'acide sinapique et le canolol pour le colza, sont dosés par chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC). Les analyses sont réalisées sur une chaîne Agilent Infinity équipée d'un dégazeur, d'une pompe quaternaire, d'un injecteur automatique et d'un détecteur à barrette de diodes. Les composés sont séparés sur une colonne Spherisorb ODS2 C18 (250 x 4,6 mm 5 µm) par gradient d'élution. Les solvants (A) et (B) correspondent respectivement aux solutions eau/acide formique 95/5 (v/v) et méthanol (qualité HPLC). Les échantillons sont dilués 10 fois (100 µL d'extrait + 900 µL du mélange eau : méthanol 50 : 50 (v) puis filtrés à 0,2 µm avant injection. L'élution se fait à 25 °C à un débit de 1 ml.min⁻¹ suivant le gradient : 10 à 30% B en 20 min ; 30 à 50% B en 15 min ; 50 à 90% B en 5 min ; 90 à 10% B en 4 min et stabilisation à 10% B pendant 16 min. Le chromatogramme a été enregistré à 280, 320, 360 et 520 nm avec une bande passante de 2 nm.

Les spectres d'absorption sont enregistrés en continu. Des échantillons standard de théobromine, de caféine, d'acide sinapique et de canolol (Sigma-Aldrich) sont utilisés pour réaliser une courbe de calibration et déterminer les quantités de ses composés dans les échantillons.

Les protéines et les polyphénols totaux sont dosés dans les phases aqueuses par les dosages de Bradford et Folin-Ciocalteu comme décrit aux paragraphes 1.3.b (i) et (ii).

6.6. b) Dosage dans l'huile

Les 4 tocophérols dans l'huile de lin ont été dosés par HPLC suivant la norme NF EN ISO 9936 (AFNOR, 2016b) par l'ITERG. L'huile est diluée dans de l'hexane et les tocophérols sont séparés puis quantifiés à partir de solutions étalons. Les résultats sont exprimés en g.kg^{-1} d'huile.

Références :

- AFNOR (2010). Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de l'indice de peroxyde - Détermination avec point d'arrêt potentiométrique - NF EN ISO 27107 - www.afnor.org.
- AFNOR (2011). Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de l'absorbance dans l'ultraviolet, exprimée sous la forme d'extinction spécifique en lumière ultraviolette - NF EN ISO 3656 - www.afnor.org.
- AFNOR (2012). Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination du taux de cendres - NF ISO 6884 - www.afnor.org.
- AFNOR (2016a). Tourteaux de graines oléagineuses - Détermination de la teneur en huile - Partie 1 : méthode par extraction à l'hexane (ou à l'éther de pétrole) - NF EN ISO 734 - www.afnor.org.
- AFNOR (2016b). Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination des teneurs en tocophérols et en tocotriénols par chromatographie en phase liquide à haute performance - NF EN ISO 9936 - www.afnor.org.
- Amarowicz, R., Fornal, J., Karamac, M., Shahidi, F. (2001). Antioxidant activity of extracts of phenolic compounds from rapeseed oil cakes. *J. Food Lipids* 8, 65–74.

- Bayle, S., Azéma, N., Berho, C., Pouet, M.-F., Lopez-Cuesta, J.-M., Thomas, O. (2005). Study of heterogeneous suspensions: A new quantitative approach coupling laser granulometry and UV–vis spectrophotometry. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 262, 242–250.
- Birchal, V.S., Passos, M.L., Wildhagen, G.R.S., Mujumdar, A.S. (2005). Effect of Spray-Dryer Operating Variables on the Whole Milk Powder Quality. *Dry. Technol.* 23, 611–636.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.
- Canselier, J.-P., Poux, M. (2004). Procédés d'émulsification Mécanismes de formation des émulsions. *Tech. Ing. Principes Formul. base documentaire : TIB489DUO*.
- Canselier, J., Delmas, H., Wilhelm, A., Abismail, B. (2002). Ultrasound emulsification—an overview. *J. Dispers. Sci. Technol.* 23, 333–349.
- Chial, H.J., Thompson, H.B., Splittgerber, A.G. (1993). A Spectral Study of the Charge Forms of Coomassie Blue G. *Anal. Biochem.* 209, 258–266.
- Codex Alimentarius (1981). Codex standard for named vegetable oils - CODEX STAN 19-1981.
- Compton, S.J., Jones, C.G. (1985). Mechanism of dye response and interference in the Bradford protein assay. *Anal. Biochem.* 151, 369–374.
- Dridi, W., Essafi, W., Gargouri, M., Leal-Calderon, F., Cansell, M. (2016). Influence of formulation on the oxidative stability of water-in-oil emulsions. *Food Chem.* 202, 205–211.
- Ernst, O., Zor, T. (2010). Linearization of the Bradford Protein Assay. *J. Vis. Exp.*
- Hall, S., Cooke, M., El-Hamouz, A., Kowalski, A.J. (2011). Droplet break-up by in-line Silverson rotor–stator mixer. *Chem. Eng. Sci.* 66, 2068–2079.
- Hielscher, T. (2007). Ultrasonic production of nano-size dispersions and emulsions. *ArXiv Prepr. ArXiv07081831*.
- Kruger, N.J. (2002). The Bradford method for protein quantitation. In *The Protein Protocols Handbook*, (Springer), pp. 15–21.
- Leclercq, L., Mouret, A., Proust, A., Schmitt, V., Bauduin, P., Aubry, J.-M., Nardello-Rataj, V. (2012). Pickering Emulsion Stabilized by Catalytic Polyoxometalate Nanoparticles: A New Effective Medium for Oxidation Reactions. *Chem. – Eur. J.* 18, 14352–14358.

- Mackie, A.R., Gunning, A.P., Wilde, P.J., Morris, V.J. (2000). Competitive displacement of β -lactoglobulin from the air/water interface by sodium dodecyl sulfate. *Langmuir* *16*, 8176–8181.
- Maleyki, M.J.A., Ismail, A. (2008). Antioxydant properties of cocoa powder. *J. Food Biochem.* *34*, 111–128.
- Marmesat, S., Morales, A., Velasco, J., Ruiz-Méndez, M.V., Dobarganes, M.C. (2009). Relationship between changes in peroxide value and conjugated dienes during oxidation of sunflower oils with different degree of unsaturation. *Grasas Aceites* *60*, 155–160.
- McCarthy, D.A. (2007). Fluorochromes and Fluorescence. In *Flow Cytometry: Principles and Applications*, M.G. Macey, ed. (Totowa, NJ: Humana Press), pp. 59–112.
- Mie, G. (1908). Contributions to the optics of turbid media, particularly colloidal metal solutions. *Ann. Phys.* *330*, 377–445.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Oxidants and Antioxidants Part A*, (Academic Press), pp. 152–178.
- Vimal Patel (2016). “Numerical and Experimental Study of Droplet Generation and Coalescence using Microcapillaries in an Emulsification Process.”
- Walton, D., Mumford, C. (1999). Spray dried products—characterization of particle morphology. *Chem. Eng. Res. Des.* *77*, 21–38.
- Wanasundara, U.N., Shahidi, F. (1994). Canola extract as an alternative natural antioxidant for canola oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* *71*, 817–822.
- Zhou, D., Pan, Y., Ye, J., Jia, J., Ma, J., Ge, F. (2017). Preparation of walnut oil microcapsules employing soybean protein isolate and maltodextrin with enhanced oxidation stability of walnut oil. *LWT - Food Sci. Technol.* *83*, 292–297.

III. *Emulsions stabilisées par de la poudre de cacao*

1. *Introduction*

Dans ce chapitre, nous étudions la fabrication d'émulsions H/E stabilisées par un produit dérivé de l'industrie chocolatière : la poudre de cacao. Il s'agit d'un produit complexe issu de la transformation des fèves de cacao, comprenant des polyphénols, des fibres, des lipides, des sucres et des protéines dont une partie est soluble dans l'eau. Les particules sont également de formes et de tailles très variées. Nous avons choisi de présenter ce système en premier car il est représentatif de toute la complexité de composition et de forme des poudres végétales. Il existe de plus un art antérieur. Gould *et al.* ont en effet exploré la capacité du cacao à stabiliser des émulsions fabriquées à l'aide d'un agitateur de type rotor-stator (Ultra-Turrax[®]) (Gould *et al.*, 2013). Ces auteurs ont testé plusieurs concentrations et plusieurs sources, parmi lesquelles une poudre de cacao, un tourteau de cacao ainsi que des fibres issues du broyage des enveloppes de fèves. Les diamètres moyens des émulsions obtenues étaient compris entre 10 et 50 μm . L'émulsion la moins stable cinétiquement a été obtenue avec la source la moins riche en solide, c'est à dire le tourteau de cacao non délipidé. La stabilisation des émulsions H/E par la poudre et la fibre de cacao a été attribuée à l'adsorption des particules fines aux interfaces, combinée à la structuration de la phase aqueuse par les plus grosses particules. Toutefois, les preuves directes de ces mécanismes de stabilisation n'ont pas été apportées. Notre objectif dans ce chapitre est de proposer une meilleure compréhension de l'influence de plusieurs paramètres sur les caractéristiques des émulsions stabilisées par la poudre de cacao.

La stabilité physique des émulsions sera dans un premier temps évaluée. Les paramètres étudiés sont liés au procédé de fabrication, à la composition de la poudre et à la composition de l'émulsion. Ainsi, nous étudierons l'impact de la technique d'émulsification parmi l'Ultra-Turrax[®] (UT), les ultrasons (US) et l'homogénéisation haute pression (HHP), ainsi que l'influence d'un pré-broyage de la poudre. Nous espérons ensuite clarifier le rôle de la fraction soluble et des particules fines de la poudre dans la stabilisation. Enfin, l'influence des quantités de poudre et d'huile sera étudiée. Ces paramètres seront évalués au regard de trois principales caractéristiques des émulsions :

- La taille moyenne et la distribution granulométrique des gouttes de l'émulsion formée. La caractérisation précise des gouttes par granulométrie laser n'est pas évidente en raison de la présence des particules. La plupart des études s'appuient donc sur des observations microscopiques et ne procurent pas d'informations précises. Nous avons donc développé une méthode pour désorber les particules sans modifier la taille des gouttes, décrite au chapitre II, paragraphe 3.2. Les émulsions pourront alors être comparées en fonction de leur diamètre moyen (en volume ou en surface) et de leur polydispersité.
- La proportion de particules ancrées aux interfaces, que nous appelons « taux d'ancrage ». La totalité des particules introduites n'est pas obligatoirement aux interfaces et n'est donc pas directement impliquée dans la stabilisation. Ce taux d'ancrage apporte une information importante concernant les performances des poudres végétales. Le protocole pour le déterminer repose sur la quantification des particules restées libres dans la phase aqueuse (chapitre II, paragraphe 3.3).
- L'évolution cinétique des émulsions stockées à 4°C. La distribution granulométrique des gouttes sera évaluée au cours du temps.

Les phases aqueuses ont un pH fixé à 7 (le chapitre V traitera des émulsions en milieu non tamponné) et contiennent un agent bactéricide, l'azide de sodium. Les teneurs des constituants sont exprimées en pourcentage massique. Sauf indication contraire, les émulsions contiennent 20 % d'huile de tournesol (Rustica[®]) et le pourcentage de particules est exprimé relativement à la phase aqueuse. Dans ce chapitre, l'homogénéisation haute pression est réalisée avec un microfluidiseur (Microfluidizer MS-110, Microfluidics), selon le protocole décrit au chapitre II, paragraphe 2.3.

La dernière partie de ce chapitre évaluera la stabilité chimique d'une émulsion stabilisée par de la poudre de cacao en étudiant la cinétique d'oxydation d'une huile de lin (Huilerie Philippe Vigeon).

2. La poudre de cacao

La poudre de cacao résulte d'un processus de transformation des fèves contenues dans la cabosse, le fruit du cacaoyer. De la récolte des cabosses à la poudre commerciale, le cacao subit de très nombreux traitements qui affectent sa composition. La Figure III-1 illustre les différentes étapes mises en œuvre pour obtenir le beurre et la poudre de cacao à partir des fèves. Parmi les différents traitements, nous soulignons (Pépin, 2002):

- la fermentation : après l'élimination des enveloppes des cabosses, les fèves subissent une fermentation naturelle alcoolique puis acétique pendant lesquelles certains composés sont hydrolysés (protéines, polysaccharides, anthocyanes) ou oxydés (polyphénols). La fermentation diminue l'amertume et l'astringence et forme les précurseurs d'arômes. Après fermentation et séchage, les graines sont appelées fèves de cacao.
- l'alcalinisation : les fèves de cacao sont trempées dans une solution alcaline afin d'améliorer la mouillabilité, la couleur et la flaveur de la poudre. L'alcalinisation entraîne, entre autres, la modification des polyphénols, des méthylxanthines et des composés volatils (Li et al., 2012).
- la torréfaction : les fèves sont chauffées à 100 – 150°C pendant 20 – 40 min. Si la torréfaction a un impact physique sur la poudre, c'est surtout son action chimique qui est recherchée. En effet, c'est pendant cette étape que les arômes se développent par réaction de Maillard, caramélisation des sucres, dégradation des protéines et synthèse de composés soufrés (de Brito et al., 2001).
- le broyage : les fèves torréfiées sont broyées pour obtenir une pâte visqueuse, appelée pâte de cacao. Elle contient le beurre de cacao, la matière grasse des fèves.
- le pressage : le beurre est retiré de la pâte de cacao par pressage. Il reste alors le « tourteau », qui est broyé puis tamisé. Il contient généralement entre 10 et 22 % de lipides résiduels et constitue la poudre de cacao.

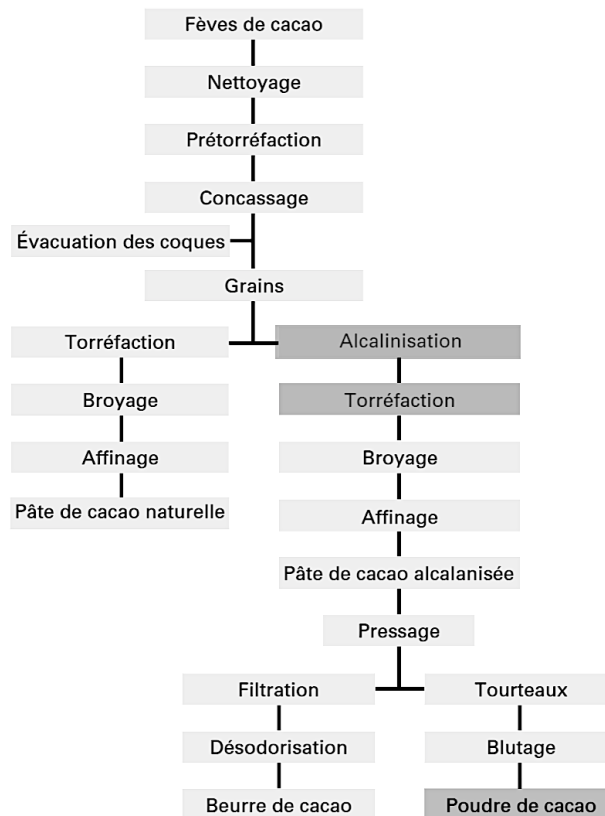


Figure III-1 Schéma de fabrication des semi-produits du cacao extrait de (Pépin, 2002).

La poudre de cacao utilisée dans cette étude est un produit commercial de marque VanHouten[®]. D'après l'étiquette nutritionnelle, 100 g de poudre contiennent 21 g de matières grasses, 8,7 g de glucides, 28 g de fibres alimentaires et 20 g de protéines. Une délipidation à l'hexane (voir Chapitre II) après broyage de cette poudre permet effectivement d'extraire environ 22 % de matière. C'est cette poudre délipidée qui a été utilisée pour fabriquer nos émulsions.

La fraction hydrosoluble de la poudre a été caractérisée et quantifiée. Pour cela, une dispersion de poudre de cacao à 10 %m a été ultra-centrifugée (100 000 g où g est l'accélération de la pesanteur) de façon à séparer la fraction solide (sédiment), de la phase aqueuse contenant la fraction solubilisée (surnageant). Une partie du surnageant est lyophilisée puis pesée, et l'autre partie est utilisée pour réaliser les dosages de certains composés (voir Chapitre II). La fraction soluble représente $23,6 \pm 0,5$ % de la poudre. La phase aqueuse d'une dispersion à 10 % contient :

- $7,3 \pm 0,3$ $g.L^{-1}$ équivalent Glucose de carbohydrates, soit $6,6 \pm 0,3$ % de la poudre.
- $1,2 \pm 0,1$ $g.L^{-1}$ équivalent BSA de protéines, soit $1,4 \pm 0,3$ % de la poudre. D'après l'étiquetage et après délipidation, la teneur en protéines totales (solubles et

insolubles) est de 25 %. Le point de précipitation isoélectrique des protéines de cacao étant de 4,5 (Abecia-Soria et al., 2006), la solubilité des protéines dans notre cas à pH 7 apparaît faible. Cette faible proportion peut être attribuée aux nombreux traitements subis par le cacao, notamment aux traitements thermiques et à la torréfaction. En effet, les protéines sont des composés pouvant être dénaturés avec la température (Arntfield, Murray, 1981). Or, une protéine dénaturée subit une modification de sa structure qui entraîne des changements de propriétés. Il a notamment été montré que la solubilité des protéines de fèves de cacao diminue avec le temps de torréfaction (150°C) (Abecia-Soria et al., 2006). Il est également envisageable que des couplages covalents se soient formés par réaction de Maillard entre les protéines et les carbohydrates constitutifs de la fraction insoluble.

- $1,3 \pm 0,1 \text{ g.L}^{-1}$ équivalent acide gallique de polyphénols totaux, soit $1,1 \pm 0,1 \%$ de la poudre. Les teneurs en polyphénols totaux de la poudre de cacao reportées dans la littérature varient en fonction du procédé d'extraction et du dosage mais sont généralement comprises entre 4 et 7 % de la poudre (Carrillo et al., 2014; Hii et al., 2009). Ils sont peu solubles dans l'eau et les traitements de la poudre comme l'alcalinisation, diminuent leur solubilité. Ils peuvent également former des complexes avec les carbohydrates.

Le taux de cendres du cacao est de 10,5 %. La fraction soluble de ces cendres a été déterminée dans les mêmes conditions que précédemment. Elle est de 67 %. Les cendres solubles représentent donc 7 % de la poudre. La Figure III-2 résume la composition de la poudre de cacao utilisée dans ce chapitre.

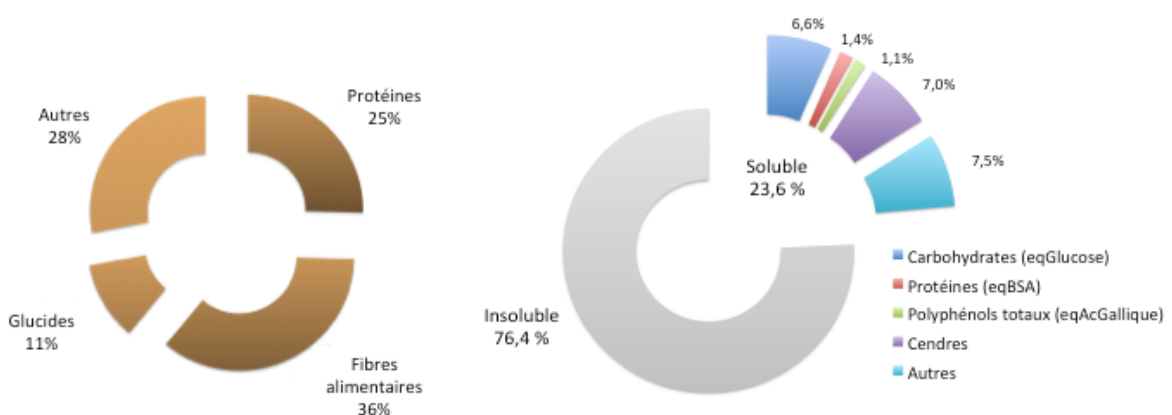


Figure III-2 a) Composition du cacao VanHouten® après délipidation d'après le fournisseur - b) Composition de la fraction soluble du cacao délipidé établie par dosages.

Dans les 23,6 % de composés solubles, 16,1 % sont donc identifiés (protéines, polyphénols totaux, carbohydrates et cendres solubles). La différence peut s'expliquer par le fait que ces quantités ne sont pas absolues mais exprimées en équivalent de molécules de référence : le glucose, l'albumine de sérum bovin (BSA) et l'acide gallique. En effet, le choix de la molécule de référence induit une variabilité des résultats. Par exemple, pour un échantillon dont la concentration en polyphénols totaux est de $610 \pm 43 \text{ mg.L}^{-1}$ équivalent acide gallique, le même dosage exprimé par rapport à une courbe étalon de catéchine donne la valeur de $1\,043 \pm 57 \text{ mg.L}^{-1}$ équivalent catéchine. Dans le cas des carbohydrates, le dosage repose sur l'hydrolyse à chaud de la chaîne et sur la quantification des motifs primaires (voir chapitre II). Si l'hydrolyse n'est pas complète, comme dans le cas de très longues chaînes, la teneur peut être sous-estimée. Il est difficile de justifier l'emploi d'une seule molécule de référence dans le cas de matrices complexes comme la nôtre. Ces dosages nous permettront surtout de suivre l'évolution des composés solubles à chaque étape de l'émulsification. Les résultats de ces dosages seront donc uniquement exploités à des fins comparatives.

Le caractère émulsifiant/amphiphile de la poudre peut émaner à la fois des protéines solubles, des complexes carbohydrates/polyphénols éventuellement formés et surtout de la fraction insoluble des protéines éventuellement liées par réaction de Maillard à des carbohydrates. Des phospholipides peuvent également être présents dans la poudre de cacao mais en très faible quantité après délipidation ($\ll 0,1 \%$) (Parsons et al., 1969).

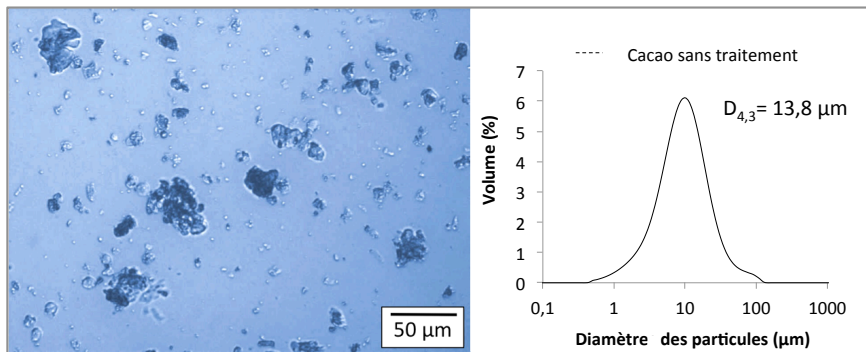
3. *Influence du procédé*

Cette partie porte sur l'influence de la technique d'émulsification et du prétraitement de la poudre sur les émulsions.

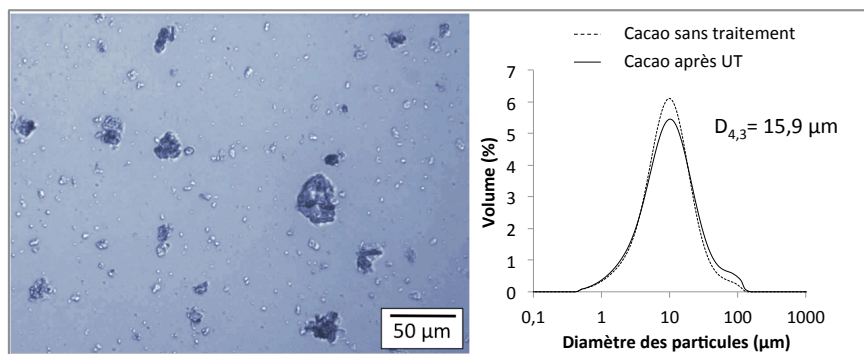
3.1. *Influence de la technique d'émulsification sur les particules*

Avant de s'intéresser aux émulsions, l'impact de chacune des techniques, UT, US et HHP, est évalué sur les particules seules. Les procédés d'émulsification décrits dans le chapitre II, paragraphe 2 sont appliqués sur des dispersions aqueuses de poudre de cacao en l'absence d'huile. Dans le cas de l'HHP, la pression appliquée est de 800 bars. Les particules sont caractérisées par microscopie optique et granulométrie laser (chapitre I, paragraphe 1.4) (Figure III-3).

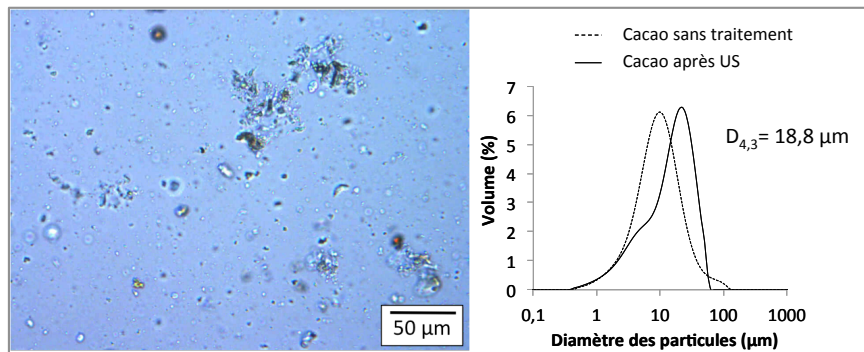
Cacao sans traitement



Cacao après UT



Cacao après US



Cacao après HHP

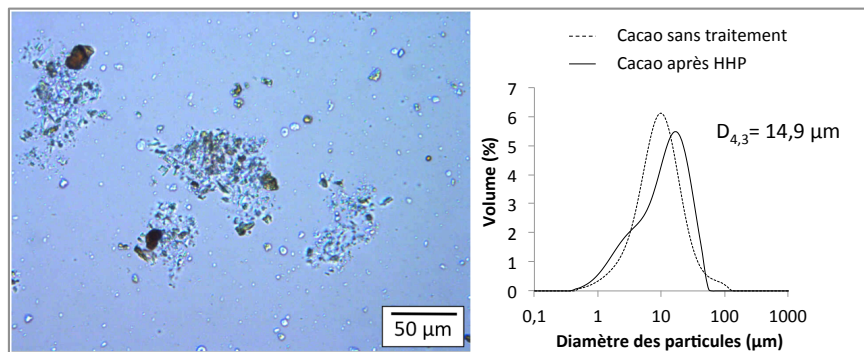


Figure III-3 Images de microscopie optique et distributions des tailles de particules de cacao sans traitement et après avoir subi les conditions d'émulsification

Les particules de cacao n'ayant subi aucun traitement sont non sphériques et de formes variées. Nous observons en microscopie optique des particules dont la taille varie entre 0,5 et 100 μm environ. Ces observations sont confirmées par les mesures granulométriques obtenues par diffusion statique de la lumière. Les plus grosses particules ($> 10 \mu\text{m}$) absorbent la lumière et apparaissent comme des objets sombres et compacts. Le diamètre moyen en volume, $D_{4,3}$, des particules non traitées mécaniquement est d'environ 14 μm . Leur granulométrie évolue peu après le traitement à l'UT, les grosses particules étant toujours présentes et le diamètre $D_{4,3}$ étant similaire.

En revanche, les US et l'HHP ont un impact significatif sur les particules. D'une part, le pic granulométrique principal se décale vers les plus grandes tailles. D'autre part, en microscopie, les plus grosses particules apparaissent moins denses, moins épaisses et plus « étalées ». Elles sont devenues nettement plus anisotropes. En diffusion statique de la lumière, ces particules « dépliées » sont détectées comme des objets de diamètre apparent plus important que les particules denses/compactes dont elles dérivent. Nous avons réalisé plusieurs tests visant à caractériser ces particules et surtout à savoir si elles résultent de l'agglomération de particules plus fines :

- Des mesures granulométriques ont été réalisées à différentes vitesses d'agitation dans la cuve, jusqu'au maximum de l'appareil (3 500 rpm). Aucune évolution de la distribution des tailles n'a été observée.
- Dispersion en présence de Sodium Dodécyl Sulfate (SDS) : le SDS est un tensioactif anionique susceptible de désagréger des amas protéiques (Demetriades, Julian McClements, 2000). La dispersion après HHP a été diluée dans une solution de SDS à la CMC ($8 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) et laissée sous agitation au barreau magnétique pendant 24 h. Pour les mesures granulométriques, la solution introduite dans la cuve dispersante est également une solution de SDS à la CMC. Les observations microscopiques et les mesures granulométriques n'ont montré aucune évolution.
- Dispersion en présence d'alginate de sodium: un milieu de dispersion plus visqueux augmente la contrainte exercée sur les particules (Vankova et al., 2007). Les dispersions ont été diluées dans une solution d'alginate de sodium et laissées sous agitation au barreau magnétique pendant 24 h. Plusieurs concentrations en alginate de sodium ont été testées, de 0,15 à 2 %. Pour les mesures granulométriques, la solution introduite dans la cuve dispersante contenait

également de l'alginate de sodium. Les observations microscopiques et les mesures granulométriques n'ont révélé aucune évolution.

- Dispersion dans une huile de silicone (viscosité : 20 cSt). La dispersion après traitement par HHP a été séchée par lyophilisation puis redispersée dans de l'huile de silicone par agitation au barreau magnétique pendant 24 h. La mesure granulométrique et les observations microscopiques ont été réalisées dans l'huile également. Aucune différence significative n'a été observée.
- Lorsque ces particules étalées sont manuellement cisailées entre lame et lamelle, elles se déforment et s'enroulent quasi-instantanément en s'orientant perpendiculairement à la direction du cisaillement (Figure III-4).

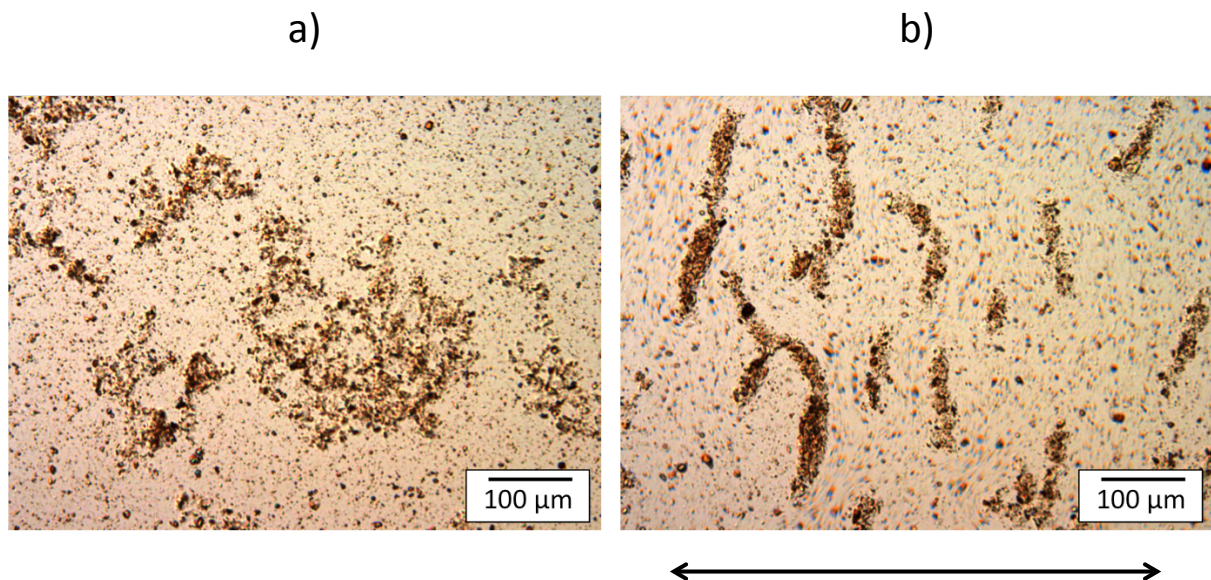


Figure III-4 Images de microscopie optique d'une dispersion de particules de cacao passée à l'HHP (a) avant et (b) après cisaillement entre lame et lamelle. La flèche indique la direction du cisaillement.

Si nous ne pouvons exclure que ces structures soient le résultat de l'agrégation de particules fines, toutes les expériences évoquées précédemment prouvent qu'elles sont très cohésives. Elles ont la capacité de se déformer sous la contrainte et se comportent comme des « membranes » élastiques. Il apparaît que le cisaillement intense permet de briser des liens internes et de déplier les particules sans toutefois détruire leur intégrité : une transition s'est produite entre un état « froissé » et un état « déplié ». La surface potentiellement accessible aux gouttes d'huile augmente donc sous l'effet des traitements US et HHP, ce qui pourrait être avantageux lors de l'émulsification.

Après les traitements US et HHP, les plus fines particules ($\leq 2 - 3 \mu\text{m}$) sont toujours observées en microscopie optique, mais il est difficile de conclure quant à une évolution de leur proportion. Par ailleurs, le modèle de Fraunhofer dont les limites ont été décrites au chapitre II, paragraphe 1.4, est peu fiable pour les particules de taille inférieure à quelques microns. Les procédés peuvent donc avoir généré de plus fines particules sans qu'elles ne soient détectées de manière fiable. Nous les avons quantifiées en laissant sédimenter pendant 24 h des dispersions en phase aqueuse à 10 % de poudre sans traitement et après traitement par HHP. Les phases supérieures contiennent la fraction soluble (~24 % de la poudre) et les particules n'ayant pas sédimenter, que nous appellerons « particules fines ». Après 24 h, les phases supérieures sont prélevées, remplacées par de l'eau pure, le système est agité puis laissé au repos pendant 24 h supplémentaires. Les phases supérieures sont collectées et réunies, lyophilisées puis pesées. Avec ou sans traitement, la masse sèche issue des surnageants représente ~30 % de la poudre introduite. Comme la fraction soluble est du même ordre de grandeur dans les deux cas, la proportion de particules n'ayant pas sédimenter est similaire avec ou sans traitement (Tableau III-1). Les tailles moyennes mesurées par DLS sont également très proches.

Tableau III-1 Caractérisation de la fraction fine des particules de cacao sans traitement et après traitement par HHP

	Sans traitement	Après HHP
Masse sèche dans le surnageant (% de la poudre)	32,6	30,5
Fraction soluble (% de la poudre)	23,6	22
Fraction de particules fines déduite (% de la poudre)	9,0	8,5
Taille moyenne des particules fines mesurée par DLS (μm)	1,6	1,3

Les particules fines (de taille inférieure à quelques microns) représentent ~10 % de la poudre de cacao et cette proportion massique varie peu avec le traitement mécanique. Il peut donc être conclu que si les procédés US et HHP génèrent des petites particules, leur proportion massique est négligeable. Le principal impact concerne donc les plus grosses particules, dont la taille est supérieure à 10 μm .

3.2. Influence de la technique d'émulsification sur les propriétés des émulsions

La capacité des particules de cacao à s'ancrer aux interfaces et à stabiliser les émulsions a été dans un premier temps évaluée en comparant une émulsion contenant 15% de poudre de cacao à une émulsion sans particules, fabriquées à l'UT. Sans poudre de cacao, l'émulsion se déstabilise très rapidement, avec la formation d'une couche d'huile en surface du récipient au bout de quelques heures. En revanche, l'émulsion contenant les particules peut être conservée pendant plusieurs jours sans formation d'une couche d'huile en surface. Les observations microscopiques sur lame creuse mettent en évidence des particules ancrées aux interfaces et d'autres restées libres dans la phase aqueuse (Figure III-5). Aucune particule n'est par contre décelée à l'intérieur des gouttes d'huile. Cette observation reflète une mouillabilité préférentielle des particules à l'eau par rapport à l'huile. La règle empirique de Finkle (Finkle et al., 1923) est donc respectée. Cette règle stipule que dans une émulsion de Pickering, la phase qui mouille préférentiellement les particules solides sera la phase continue. Dans notre cas, il s'agit de la phase aqueuse et l'émulsion est donc de type H/E.

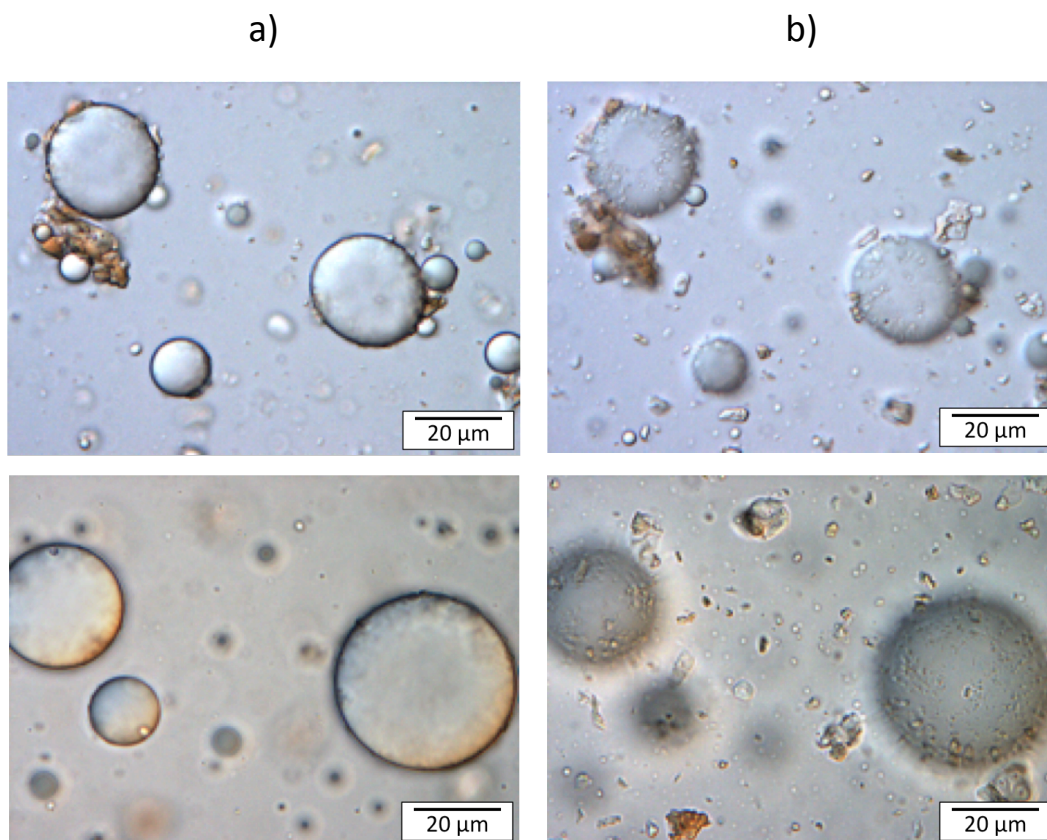


Figure III-5 Emulsion contenant 15 % de poudre de cacao dans sa phase aqueuse fabriquée à l'UT (20 % d'huile) - Observations en microscopie optique : a) focalisation sur les gouttes pour mettre en évidence les particules ancrées aux interfaces, b) focalisation sur les particules libres dans la même zone qu'en a).

L'influence de la technique d'émulsification a été étudiée en comparant des émulsions dont la phase aqueuse contient 2,5 % de poudre de cacao. Les trois procédés sont décrits au chapitre II et la pression d'homogénéisation est de 800 bars pour l'émulsification fabriquée à l'HHP. Pour chaque émulsion, le taux d'ancrage (c'est-à-dire la proportion de particules ancrées aux interfaces par rapport à la quantité totale de particules insolubles introduites) et les distributions des tailles de gouttes ont été déterminées. Les résultats sont présentés sur la Figure III-6.

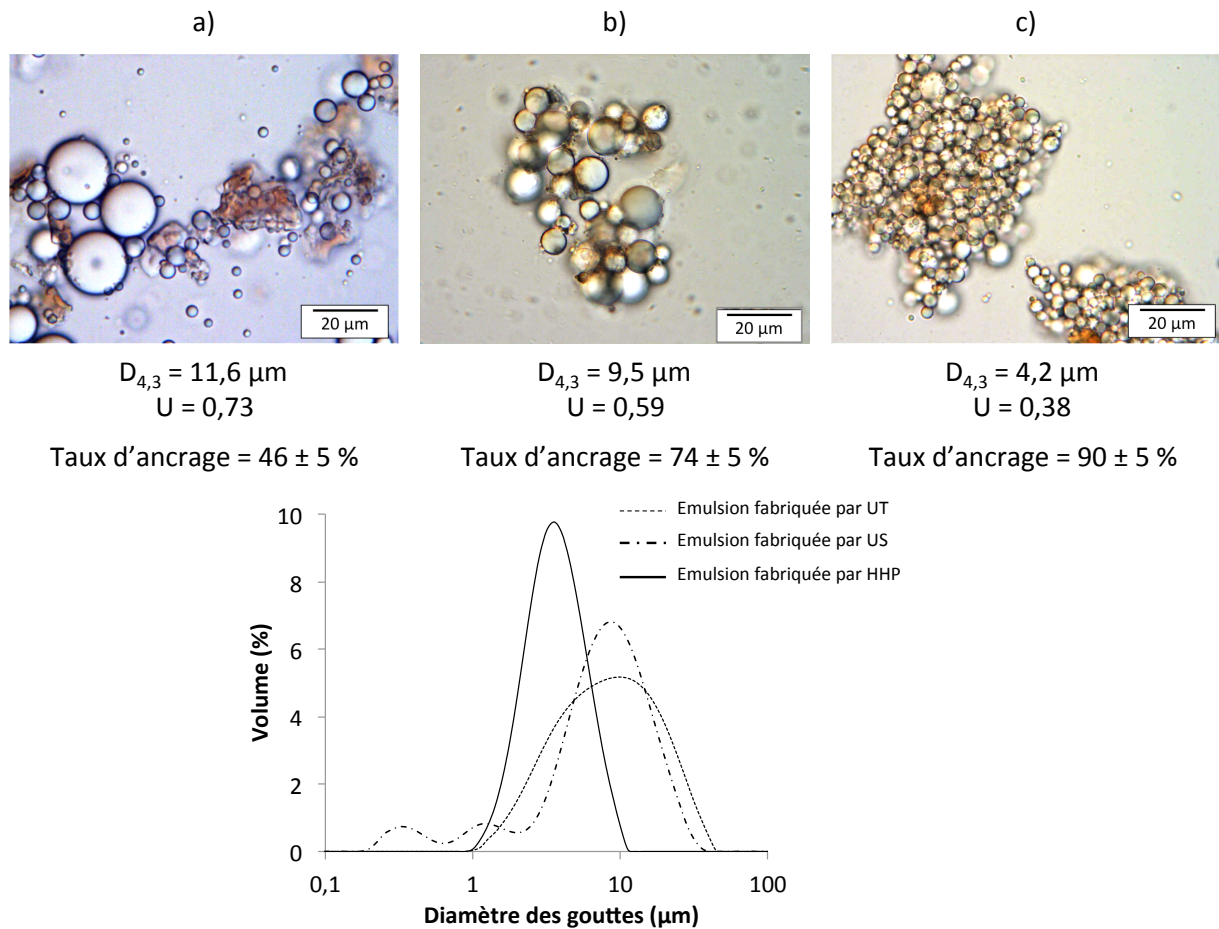


Figure III-6 Caractéristiques des émulsions à 20 % d'huile de tournesol et 2,5 % de poudre de cacao fabriquées par a) Ultra-Turrax®, b) ultrasons et c) homogénéisation haute pression (800 bars) et superposition des distributions granulométriques.

Il apparaît que les procédés permettant d'atteindre les taux d'ancrage les plus élevés sont aussi ceux qui conduisent aux émulsions les plus fines et aux distributions les plus resserrées (illustrées par la valeur de l'uniformité, U définie par l'équation (II-5) au chapitre II). Ces résultats sont en adéquation avec les observations du paragraphe précédent concernant l'influence du procédé sur les particules seules. Les procédés US et HHP conduisent à des émulsions plus fines en permettant d'ancrer une plus grande proportion de

particules aux interfaces. Les particules « dépliées » par ces procédés exposent une plus grande surface avec vraisemblablement davantage de points d'ancrage disponibles. Les meilleures performances sont obtenues avec l'HHP, suivi des US et enfin de l'UT. Ce classement est à corrélérer avec les puissances volumiques déployées lors de l'émulsification. Les US et surtout l'HHP mettent en jeu des puissances volumiques plus élevées (Sadeghpour Galooyak, Dabir, 2015; Tcholakova et al., 2011). Les forces hydrodynamiques assurent à la fois le dépliage des particules et le franchissement de la barrière d'adsorption à l'interface huile/eau.

Les émulsions obtenues sont floculées (Figure III-6) et présentent des tailles caractéristiques de gouttes inférieures à la taille moyenne des particules, (nous avons vu au paragraphe précédent que leur taille moyenne est supérieure à 10 μm). Ce résultat peut paraître surprenant car, dans les émulsions de Pickering, les particules sont généralement bien plus petites que les gouttes qu'elles stabilisent (Leal-Calderon, Schmitt, 2008). Les images microscopiques de la Figure III-6 suggèrent que les particules peuvent ponter plusieurs gouttes. Nous pouvons deviner sur l'image de l'émulsion fabriquée aux US les particules dépliées entre les gouttes. Afin de clarifier ce point, les émulsions ont été observées en microscopie de fluorescence. Les propriétés auto-fluorescentes des particules (McCarthy, 2007) permettent de les discerner au sein des émulsions. Seules les particules ancrées aux interfaces sont présentes car les émulsions ont été préalablement lavées pour éliminer les particules libres (voir chapitre II). Les images de la Figure III-7 confirment que plusieurs gouttes sont généralement adsorbées sur une seule particule. Dans le cas de l'émulsion fabriquée avec l'UT, la surface de ces particules étant limitée, seules quelques gouttes peuvent s'adsorber sur les particules. La majorité de l'interface n'est pas protégée et la fluorescence est très localisée. Dans le cas des émulsions obtenues par US et HHP, les particules présentent beaucoup plus de points d'ancrage ; un grand nombre de gouttes peuvent s'adsorber sur ces « membranes » déformables et les gouttes se retrouvent sous forme de grappes. La fluorescence est diffuse et répartie sur l'ensemble des gouttes, suggérant l'adsorption de particules moins épaisses.

D'un point de vue macroscopique, toutes les émulsions présentent un crémage après quelques jours. Ce phénomène est plus rapide et plus prononcé pour l'émulsion réalisée à l'UT (Figure III-8). Les particules libres sédimentent et la phase intermédiaire devient de plus en plus limpide, tout en conservant une teinte foncée en raison de la présence de molécules

solubilisées absorbantes dans le domaine visible. Ces émulsions ont été suivies dans le temps (stockage à 4°C) en analysant la taille des gouttes par granulométrie laser jusqu'à l'observation d'une couche d'huile en surface (Figure III-9).

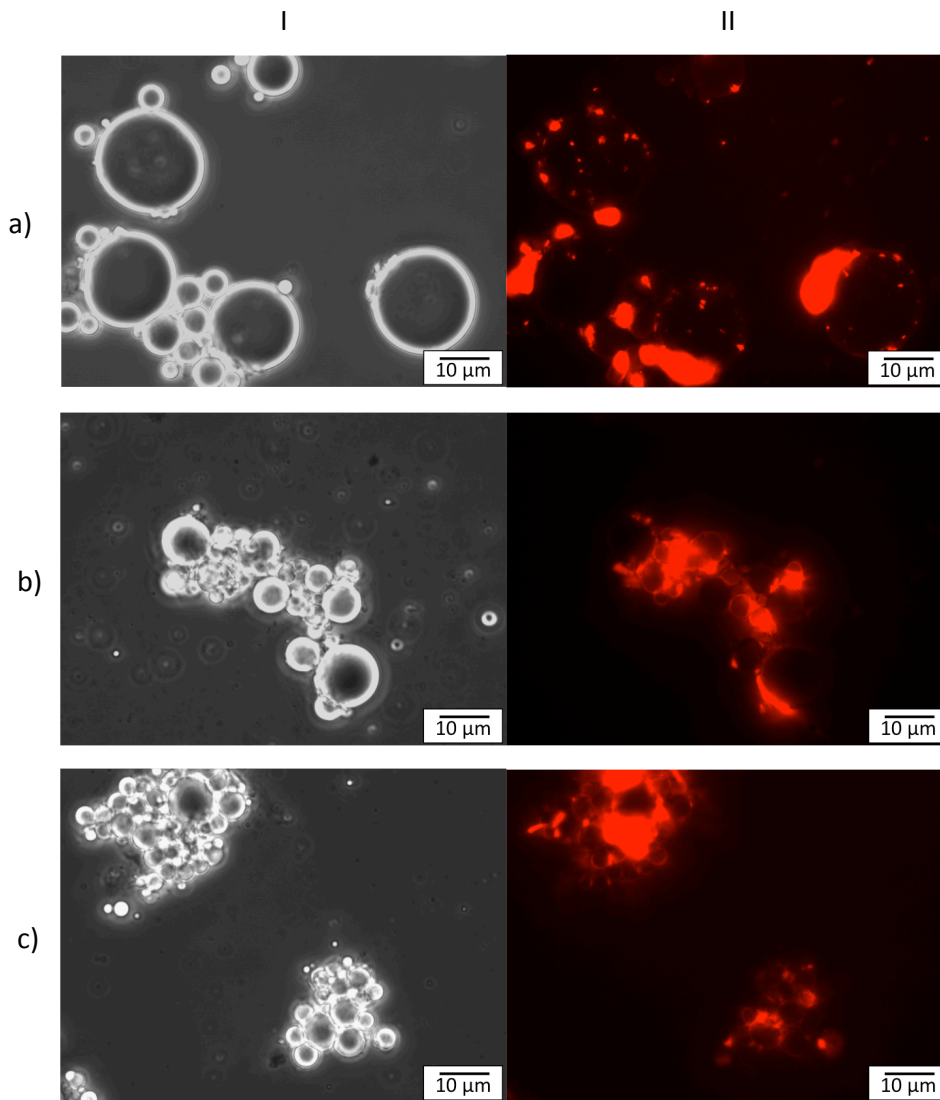


Figure III-7 Observation des émulsions (2,5 % de poudre de cacao et 20 % d'huile) fabriquées par a) Ultra-Turrax[®], b) ultrasons et c) homogénéisation haute pression en microscopie à contraste de phase (I) et de fluorescence (II).

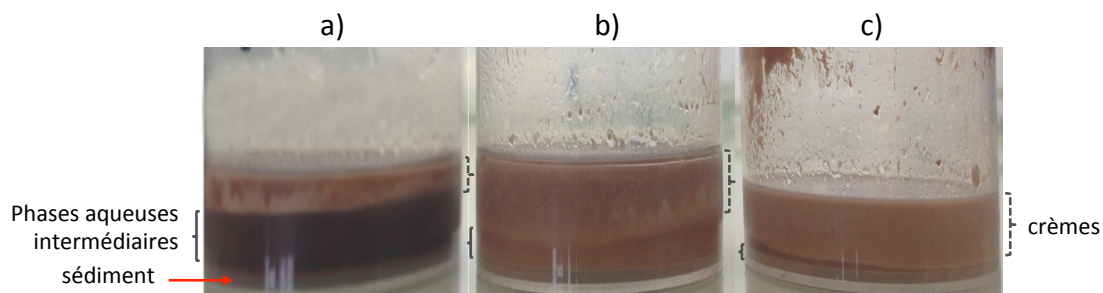


Figure III-8 Aspect macroscopique après 45 jours de stockage des émulsions à 2,5 % de cacao fabriquées par a) Ultra-Turrax[®], b) ultrasons et c) homogénéisation haute pression

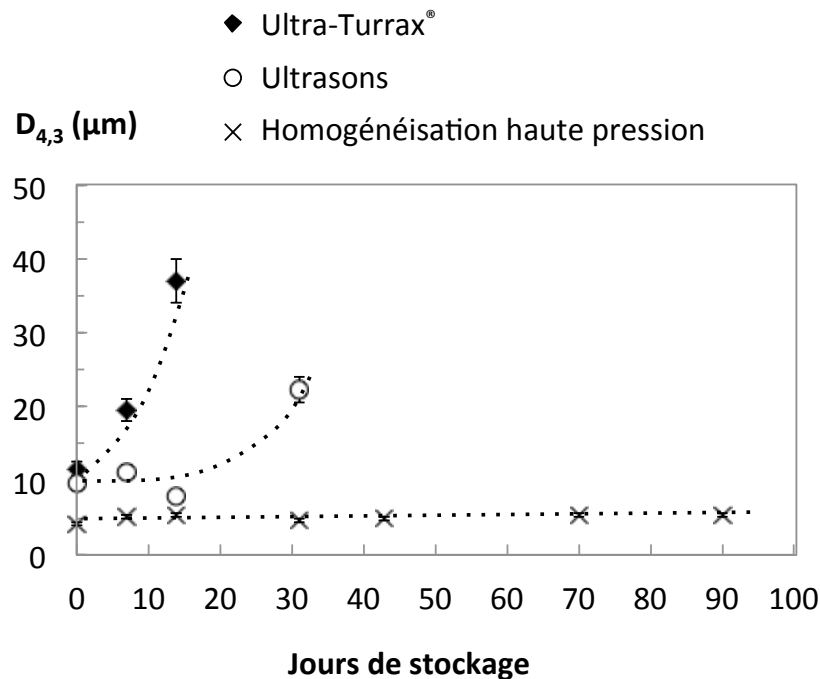


Figure III-9 Evolution du diamètre moyen en volume des émulsions fabriquées par Ultra-Turrax®, ultrasons et homogénéisation haute pression (2,5 % de cacao et 20 % d'huile). Les lignes pointillées sont des guides visuels.

Les stabilités sont totalement corrélées aux vitesses de crémage, aux taux d'ancrage et à la taille des gouttes. L'émulsion obtenue par UT, dont le taux d'ancrage est faible, subit un crémage après quelques heures et se déstabilise dès 14 jours. Moins de la moitié des particules introduites sont effectivement ancrées et les zones interfaciales sans particules sont clairement visibles en microscopie de fluorescence. La quantité de particules ancrées aux interfaces est insuffisante pour garantir la stabilisation des gouttes à moyen ou long terme. L'émulsion fabriquée par HHP est au contraire très stable. Elle crême peu et lentement, et conserve une taille de gouttes moyenne de 4 μm et une uniformité de 0,4 après 3 mois de stockage. La majorité des particules introduites (90 %) sont aux interfaces. L'émulsion réalisée aux US correspond à une situation intermédiaire. Son crémage est modéré mais plus rapide que celui de l'émulsion fabriquée à l'HHP. Elle n'évolue pas pendant 14 jours. La mesure après 30 jours de stockage indique une augmentation de la taille des gouttes initiée entre 14 et 30 jours de stockage. Ces tendances sont également attribuables aux différences de viscosités (mesures rhéologiques non réalisées). En effet, l'émulsion fabriquée à l'UT apparaît fluide alors que celle obtenue par HHP est beaucoup plus visqueuse. La mobilité des gouttes est donc réduite dans ce dernier cas.

Pour résumer, il a été démontré que la technique d'émulsification employée en présence des particules de cacao a une forte influence sur les caractéristiques de l'émulsion. En effet, un procédé conduisant à une proportion élevée de particules ancrées aux interfaces mène à des gouttes plus fines et à une émulsion moins exposée au crémage. L'état de surface des particules et le taux d'ancrage sont parallèlement influencés par la puissance volumique déployée lors du processus d'émulsification. Les taux d'ancrage les plus élevés sont en effet obtenus lorsque le procédé est suffisamment énergétique pour modifier les particules en les dépliant et en « les étalant ». La surface des particules ainsi déployées offre certainement de nouveaux points d'ancrage. La question suivante peut alors être posée : est-ce la modification des particules, indépendamment des énergies de mélange, qui permet d'obtenir un taux d'ancrage élevé ? Cette question sera abordée au paragraphe 3.4 de ce chapitre. Par ailleurs, les observations microscopiques, l'état d'agrégation des émulsions ainsi que le rapport des tailles entre les gouttes et les particules reflètent la formation d'un réseau interconnecté constitué de particules et de gouttes. En raison de leurs dimensions, les grosses particules se comportent comme des collecteurs capables de « capturer » plusieurs gouttes et ainsi de les ponter. La Figure III-10 résume de façon schématique l'ensemble des observations.

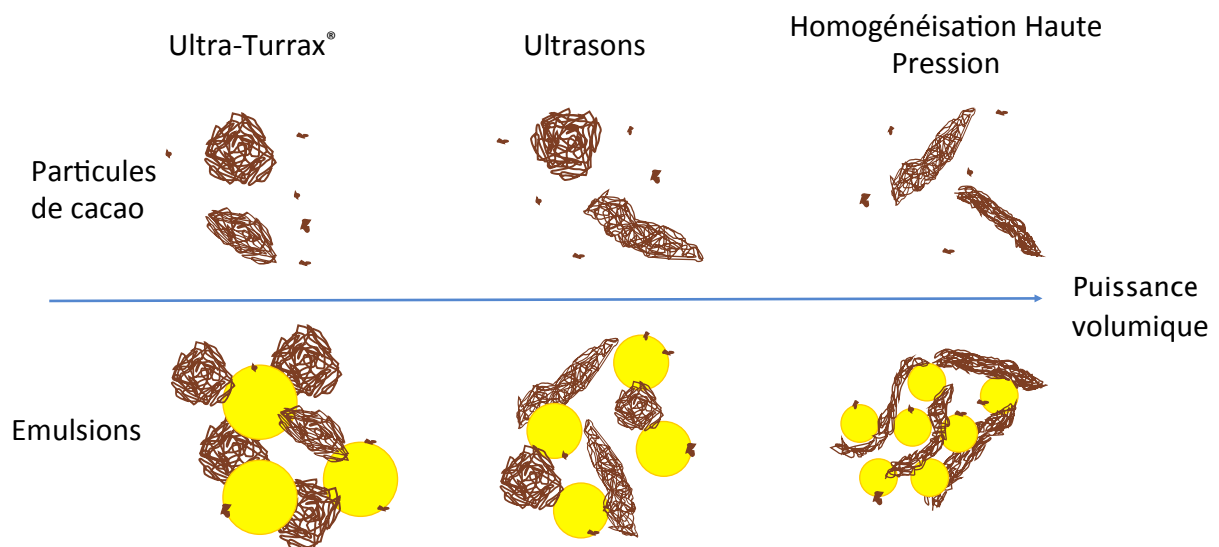


Figure III-10 Évolution schématique de la structure des particules et de la taille moyenne des gouttes d'émulsion selon la technique d'émulsification mise en œuvre.

Chacun de ces procédés peut être modifié et les paramètres propres à chaque technique d'émulsification peuvent également avoir une influence sur les émulsions (et les particules). Pour l'UT, il s'agit du temps et de la vitesse d'agitation. Dans le cas des US, le temps

d'application, la puissance des ondes ultrasonores et le volume d'échantillon soumis à l'émulsification ont une incidence sur la propagation des ondes. Pour l'émulsification à l'HHP, les deux principaux paramètres sont le nombre de passages et la pression d'homogénéisation. Le procédé d'émulsification par HHP étant le plus performant en termes de finesse des gouttes et de stabilité physique des émulsions, nous avons fait le choix d'approfondir l'influence de la pression d'homogénéisation.

3.3. Effet de la pression d'homogénéisation

Trois émulsions ont été homogénéisées à 240, 500 et 800 bars dans les mêmes conditions que précédemment, à savoir 2,5 % de cacao dans la phase aqueuse et 20 % d'huile de tournesol. Le nombre de passages dans la chambre d'homogénéisation est resté constant et égal à 6. La Figure III-11 montre clairement que la taille moyenne des gouttes et leur polydispersité diminuent lorsque la pression d'homogénéisation augmente. Cette tendance n'est *a priori* pas surprenante et a souvent été reportée dans la littérature. Nous pouvons toutefois nous interroger quant à l'origine de la décroissance. En effet deux régimes limites sont généralement observés :

- Régime 1 à forte teneur en espèces tensioactives. Si la concentration en espèces tensioactives est suffisante pour rapidement recouvrir les interfaces créées par le cisaillement appliqué, alors le diamètre moyen des gouttes en surface, $D_{3,2}$, dépend essentiellement des conditions hydrodynamiques et évolue avec la pression d'homogénéisation, P , selon une loi du type : $D_{3,2} \propto P^{-m}$ où m est un exposant constant positif, fonction de la nature de l'espèce tensioactive (Robin et al., 1993).
- Régime 2 à faible teneur en espèces tensioactives. Le cisaillement appliqué génère davantage d'interface que les agents tensioactifs ne peuvent recouvrir. De ce fait, les gouttes coalescent et la taille finale dépend essentiellement de la quantité de tensioactif. Pour des émulsions stabilisées par des particules irréversiblement ancrées, les gouttes coalescent tant que leur taux de couverture reste inférieur à un seuil permettant de les stabiliser. Ce phénomène appelé coalescence limitée a été décrit au chapitre I, paragraphe 1.4.e. Par exemple, Arditty *et al.* (2004) ont étudié l'influence de la pression d'homogénéisation sur les diamètres moyens d'émulsions stabilisées par une quantité constante et faible de particules de silice de 25 nm. Dans les conditions d'émulsification étudiées, les particules de silice ne

sont pas modifiées et les auteurs ont montré que la taille des gouttes est gouvernée par le phénomène de coalescence limitée et ne dépend donc quasiment pas de la pression d'homogénéisation.

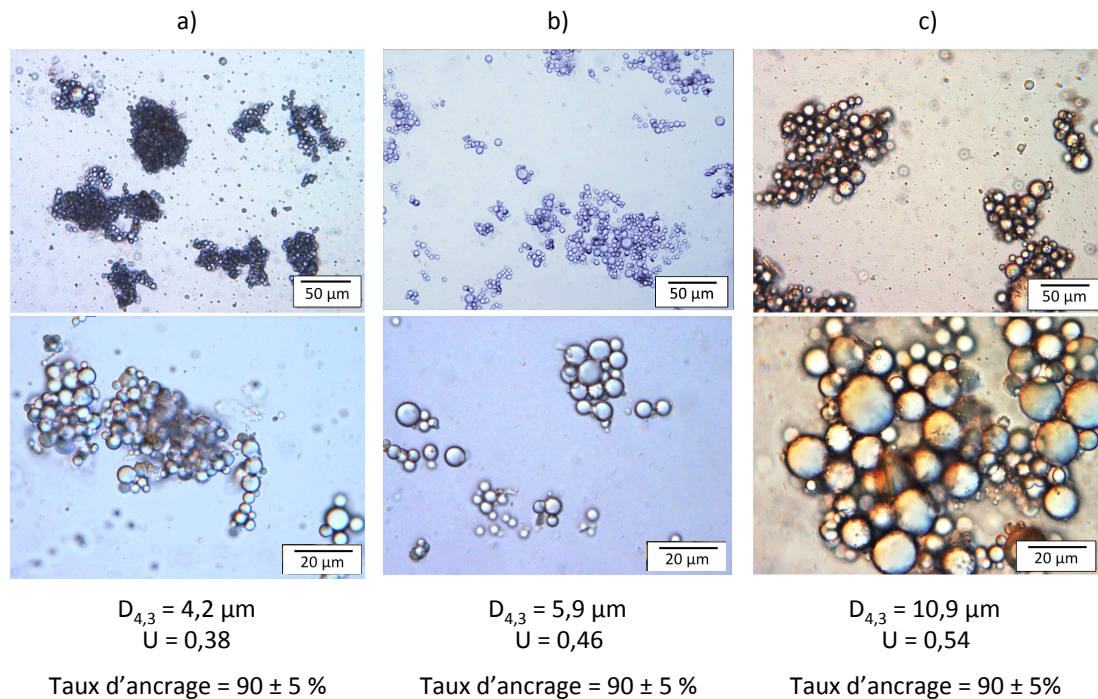


Figure III-11 Observations microscopiques et principales caractéristiques des émulsions fabriquées par homogénéisation haute pression (2,5 % cacao et 20 % d'huile) à différentes pressions d'homogénéisation : a) 800 bars, b) 500 bars et c) 240 bars.

Dans nos expériences menées à teneur en particules constante, la taille des gouttes diminue avec la pression d'homogénéisation. Nous pourrions donc en conclure que les conditions d'émulsification se situent dans le Régime 1. Nous pensons toutefois que les conditions se situent plutôt dans le Régime 2, pour au moins 3 raisons :

- la taille des particules est importante et leur concentration est modérée (2,5 %), leur capacité de couverture est donc relativement faible.
- les tailles moyennes des gouttes sont plutôt élevées ($D_{4,3} > 4 \mu\text{m}$). Il est improbable que le procédé HHP ne soit pas en capacité de fragmenter les gouttes à des niveaux de tailles inférieurs compte tenu des pressions d'homogénéisation appliquées.
- nous montrerons au paragraphe 6 de ce chapitre qu'il existe une relation linéaire entre la surface spécifique des gouttes et la masse de particules adsorbées. Or, cette linéarité est précisément la principale signature de la coalescence limitée.

Dans le Régime 2, il n'est pas attendu une dépendance du rayon moyen des gouttes avec la pression d'homogénéisation (Tcholakova et al., 2002). Dans notre cas, la dépendance observée peut s'expliquer par la modification des particules. Le phénomène de dépliement précédemment décrit serait d'autant plus prononcé que la pression est élevée, augmentant ainsi la capacité de couverture des particules. Dans leurs travaux sur les émulsions stabilisés par des fibres de cellulose ou d'orange, (Floury et al., 2003; Wallecan et al., 2015), ont également avancé cette hypothèse.

Nous avons réalisé un prétraitement par HHP à 800 bars d'une poudre de cacao dispersée à 5 % massique en phase aqueuse. Ce traitement conduit au dépliement des particules de grande taille, comme indiqué au paragraphe 3.1. Des émulsions ont ensuite été fabriquées à 240 et 800 bars à partir de cette poudre prétraitée et leurs caractéristiques sont très proches (Figure III-12). Ce résultat confirme notre hypothèse selon laquelle l'émulsification s'effectue dans le Régime 2. Les particules prétraitées ne subissent plus d'évolution structurale significative lors de l'émulsification et le diamètre moyen final des gouttes est alors peu influencé par la pression d'homogénéisation.

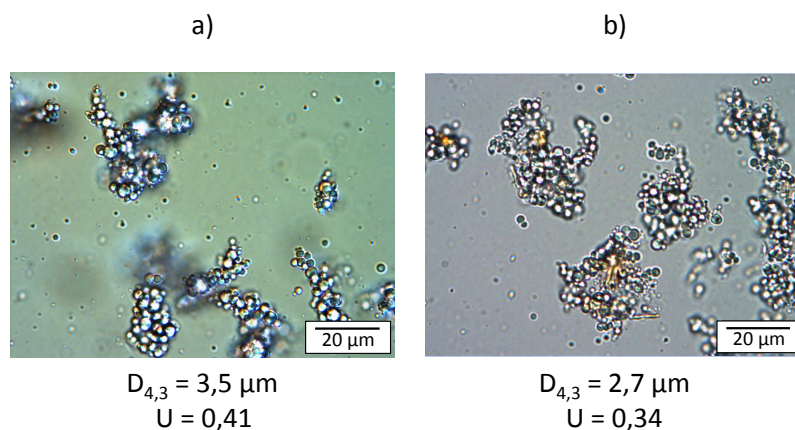


Figure III-12 Observations microscopiques et principales caractéristiques des émulsions stabilisées par 5 % de poudre de cacao prétraitée à l'homogénéisation haute pression (800 bars) et fabriquées par homogénéisation haute pression à a) 800 bars et b) 240 bars.

Sur la Figure III-11, nous observons également que le taux d'ancrage est élevé et que les gouttes sont floclées quelle que soit la pression appliquée. Les énergies déployées semblent dans tous les cas suffisantes pour favoriser l'adsorption des particules aux

interfaces. Cela conduit à des taux d'ancrage de l'ordre de 90 % et à des émulsions cinétiquement stables, indépendamment de la taille moyenne des gouttes (Figure III-13).

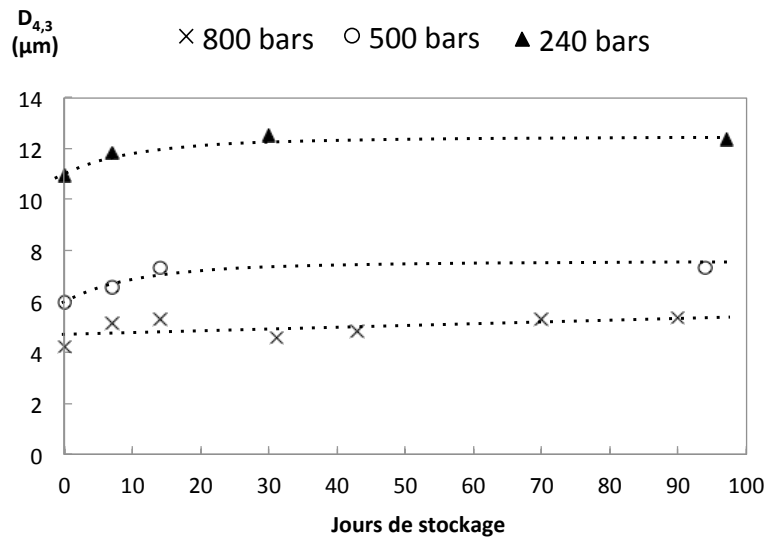


Figure III-13 Evolution du diamètre moyen en volume des émulsions (2,5 % de cacao et 20 % d'huile) fabriquées par homogénéisation à haute pression à différentes pressions d'homogénéisation. Les lignes pointillées sont des guides visuels.

3.4. Influence d'un pré-broyage du cacao

Les pressions d'homogénéisation requises pour « déplier » les particules et obtenir des émulsions fines se situent dans une limite haute (> 500 bars) et ne sont pas toujours atteignables à l'échelle industrielle. Il serait donc intéressant de pouvoir disposer de particules préalablement fonctionnalisées et capables de produire des émulsions fines à des pressions d'homogénéisation plus faibles, de l'ordre de 250 bars. Pour cela, nous avons broyé la poudre de cacao en phase humide à l'aide d'un broyeur à billes (voir chapitre II, paragraphe 1.2).

3.4. a) Caractéristiques des particules de cacao broyées

Les observations microscopiques et la distribution des tailles des particules de cacao broyé dispersé dans la phase aqueuse sont présentées sur la Figure III-14. Il apparaît que le broyage a un impact similaire au procédé HHP : il n'affine pas mais modifie la structure des particules. Les grosses particules denses et compactes ont disparu au profit de particules déployées et moins épaisses, de diamètre apparent plus élevé.

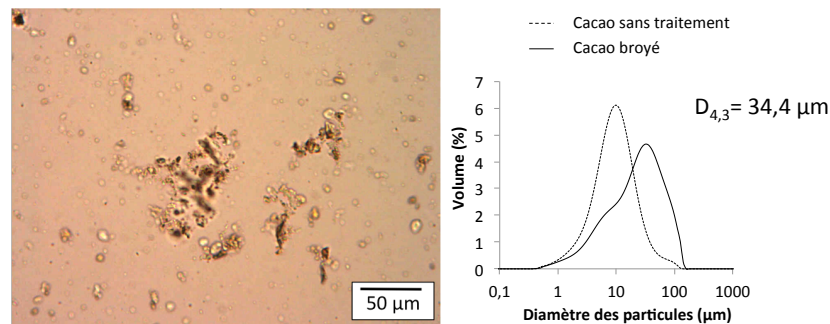


Figure III-14 Microscopie optique et distribution des tailles de particules de cacao broyé

3.4. b) Impact d'un pré-broyage du cacao sur les propriétés des émulsions fabriquées par homogénéisation à haute pression

Nous avons fabriqué une émulsion à l'HHP à 240 bars à partir de ces particules broyées (2,5 % de cacao et 20 % d'huile). L'émulsion obtenue à 240 bars avec pré-broyage est similaire à celle obtenue à 800 bars sans pré-broyage (Figure III-15). Le taux d'ancrage est élevé, de l'ordre de 90 % et l'émulsion est stable pendant au moins 90 jours. Par rapport à l'émulsion fabriquée à 240 bars sans pré-broyage, le diamètre moyen en volume des gouttes diminue de plus de moitié (de 11 à 5 µm). La pression d'homogénéisation peut donc être réduite si les particules subissent un traitement préalable leur permettant d'augmenter leur surface et de découvrir leurs sites d'adsorption.

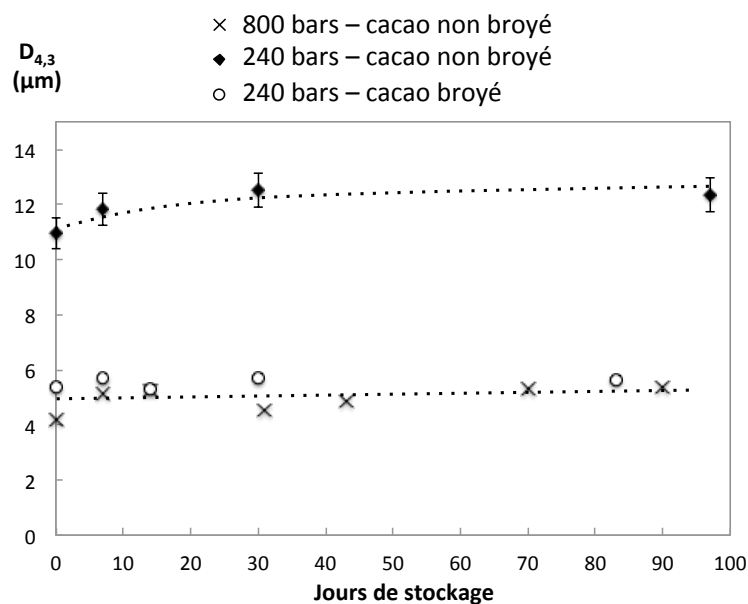


Figure III-15 Evolution du diamètre moyen en volume des émulsions (2,5 % cacao et 20 % d'huile) fabriquées par HHP à 800 bars et 240 bars avec ou sans une étape de pré-broyage du cacao. Les lignes pointillées sont des guides visuels.

3.4. c) *Impact d'un pré-broyage du cacao sur les propriétés des émulsions fabriquées par Ultra-Turrax®*

Nous avons également fabriqué une émulsion à l'UT avec 2,5 % de cacao pré-broyé. Cette émulsion crême rapidement et après 14 jours de stockage, le diamètre moyen en volume des gouttes est de l'ordre 30 μm . L'émulsion est ensuite déstabilisée (apparition d'huile en surface), comme l'émulsion analogue sans pré-broyage du cacao. Son taux d'ancrage est également faible, de $54 \pm 5 \%$. Les observations microscopiques révèlent la présence de particules dépliées, mais peu de gouttes y sont accrochées (Figure III-16). Ce résultat montre que le prétraitement de la poudre a un effet bénéfique sur la stabilité de l'émulsion seulement si les particules peuvent s'ancrer massivement aux interfaces, c'est-à-dire si le taux d'ancrage est élevé. Dans ce cas, les gouttes sont plus fines, agrégées et le système est moins affecté par le crémage.

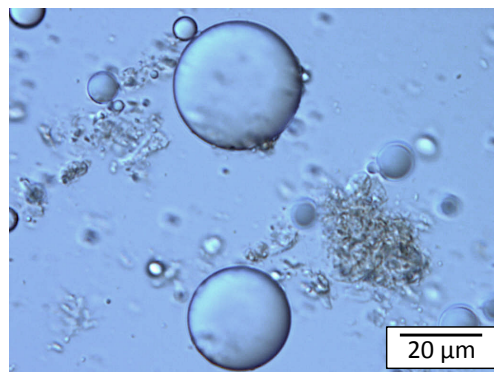


Figure III-16 Image microscopique de l'émulsion fabriquée à l'UT avec 2,5 % de cacao broyé

Parmi toutes les émulsions fabriquées, nous constatons que le taux d'ancrage ne varie qu'en fonction du procédé. En effet, une même structure (particules dépliées par le broyage) a conduit à deux taux d'ancrage différents (54 et 90 %) pour les deux techniques d'émulsification utilisées (UT et HHP, respectivement). En parallèle, une même technique d'émulsification (UT) a conduit à un seul taux d'ancrage (environ 50 %) pour deux structures différentes (particules non modifiées et broyées). Ces observations suggèrent que l'ancrage des particules aux interfaces est également déterminé par la puissance volumique d'énergie déployée lors du procédé d'émulsification.

Le dépliement des particules n'est pas le seul facteur potentiellement impliqué dans la stabilisation des émulsions. La fraction soluble de la poudre ainsi que les particules dites « fines » pourraient également être à l'origine des performances observées. Nous avons donc évalué plus précisément leur rôle dans la stabilisation d'une émulsion fabriquée à l'HHP, contenant 2,5 % de poudre de cacao, 20 % d'huile et tamponnée à pH 7.

4. *Rôle de la fraction soluble dans la stabilisation*

La fraction soluble représente environ 24 % de la poudre de cacao. Cette fraction peut jouer un rôle dans l'émulsification d'autant plus qu'elle contient des composés amphiphiles (Figure III-2). Nous avons montré au paragraphe 3.1, que le procédé d'émulsification par HHP réalisé sur une dispersion de poudre de cacao sans huile n'engendre pas une augmentation de la quantité de composés solubles. Nous allons à présent mesurer la fraction soluble au sein d'émulsions traitées par l'UT, puis par HHP. Ainsi, nous disposerons d'une caractérisation au niveau des trois étapes de fabrication: la dispersion de la poudre dans la phase aqueuse, la pré-émulsification à l'UT et l'homogénéisation à 800 bars. Les émulsions sont fabriquées avec 10 % de poudre de cacao dans la phase aqueuse afin d'être comparables aux dispersions à 10 % et de réduire les incertitudes liées aux pesées. Les gouttes sont séparées de la phase aqueuse suite à leur crémage induit par centrifugation. Une partie de la phase aqueuse est séchée par lyophilisation et l'autre partie est utilisée pour les dosages de protéines, carbohydrates et polyphénols totaux (voir chapitre II).

Les résultats sont présentés dans le Tableau III-2. La proportion de carbohydrates solubles reste constante à chaque étape. Les proportions en protéines et polyphénols totaux solubles évoluent peu après l'émulsification à l'UT. En revanche, la proportion de fraction soluble est abaissée à $19,5 \pm 1,4$ % après émulsification à l'HHP. La proportion de protéines solubles est presque divisée par 2 et celle des polyphénols diminue également. Cette diminution peut s'expliquer par l'adsorption de protéines, par la formation de complexes insolubles protéines/polyphénols (Foegeding et al., 2017) et/ou par la solubilisation de certains composés dans l'huile.

Tableau III-2 Proportion et composition de la fraction soluble de la poudre de cacao au sein d'une dispersion à 10 % de poudre et d'émulsions fabriquées par Ultra-Turrax® et homogénéisation à haute pressions (800 bars). Les résultats sont exprimés en pourcentages massiques de la poudre de cacao introduite dans la phase aqueuse.

Phase aqueuse de	% de fraction soluble	Protéines (eqBSA)	Polyphénols totaux (eq AcGallique)	Carbohydrates (eqGlucose)
Dispersion	23,6 ± 0,5 %	1,0 ± 0,3 %	1,2 ± 0,1 %	6,6 ± 0,3 %
Emulsion UT	25,9 ± 0,8 %	1,1 ± 0,1 %	0,9 ± 0,1 %	6,3 ± 0,3 %
Emulsion HHP	19,5 ± 1,4 %	0,6 ± 0,1 %	0,7 ± 0,1 %	6,3 ± 0,4 %

Si ces composés s'adsorbent aux interfaces, leur quantité est-elle suffisante pour jouer un rôle dans la stabilisation d'une émulsion fabriquée par HHP ? Pour répondre à cette question, nous avons fabriqué à l'HHP et à la pression de 800 bars une émulsion à partir de poudre de cacao dépourvue des composés solubles, ainsi qu'une émulsion à partir des composés solubles uniquement. Même s'il a été montré que le procédé HHP influence peu la fraction soluble, cette étude a été réalisée avec une poudre de cacao ayant déjà subi le procédé HHP (sans huile). Ainsi, la fraction soluble éliminée se rapproche davantage de celle présente dans l'émulsion après le procédé. L'émulsion de référence est fabriquée avec une poudre de cacao entière préalablement traitée à l'HHP également. La poudre de cacao dépourvue de sa fraction soluble correspond au sédiment obtenu lors de la quantification de cette fraction (voir chapitre II). Il s'agit du culot lyophilisé d'une dispersion (passée à l'HHP) centrifugée pendant 1 h à 100 000 g.

L'émulsion de référence est fabriquée à l'HHP à 800 bars et sa phase aqueuse contient 2,5 % de poudre de cacao entière. La fraction soluble est donc présente à hauteur de 0,5 % ($\approx 20 \% \times 2,5 \%$) dans la phase aqueuse ; la fraction insoluble est quant à elle à 2,0 % ($\approx 2,5 \% - 0,5 \%$). L'émulsion de référence à 2,5 % de poudre de cacao entière est donc comparée à :

- une émulsion stabilisée par 2,0 % de cacao sans fraction soluble
- une émulsion stabilisée par 0,5 % de fraction soluble uniquement

La Figure III-17 montre que les poudres de cacao avec ou sans fraction soluble permettent de fabriquer des émulsions identiques en tous points. Les taux d'ancrage sont dans les deux cas de l'ordre de 90 % et les diamètres moyens sont proches de 5 μm . Nous pouvons conclure que les composés solubles n'ont pas d'influence sur l'émulsification dans les conditions adoptées. L'émulsion fabriquée avec la fraction soluble uniquement présente un

diamètre moyen très supérieur qui a tendance à augmenter au cours du temps. Ainsi, bien que la fraction soluble soit capable de stabiliser des émulsions, son influence n'est pas significative dans la poudre entière. Il est également à souligner qu'étant dépourvue de particules, cette dernière émulsion ne présente aucun signal de fluorescence et l'image correspondante obtenue est totalement sombre (Figure III-17.b).

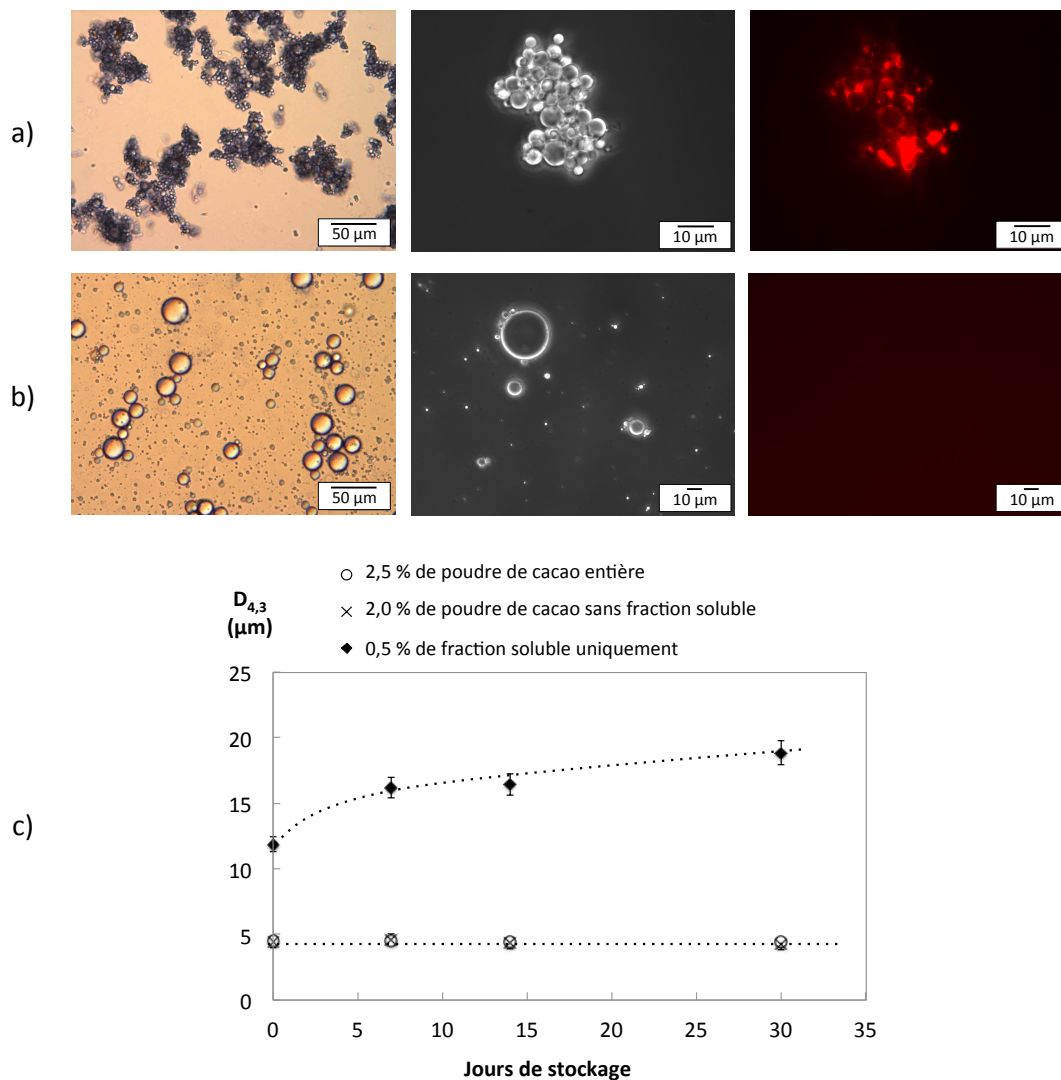


Figure III-17 Observations en microscopies optique et de fluorescence des émulsions fabriquées par homogénéisation haute pression (800 bars, 20 % d'huile) avec a) 2,0 % de poudre de cacao sans sa fraction soluble et b) 0,5 % de fraction soluble de poudre de cacao uniquement - c) Évolution du diamètre moyen en volume de ces émulsions et de l'émulsion avec 2,5 % de poudre de cacao entière. Les lignes pointillées sont des guides visuels.

5. Rôle des particules fines dans la stabilisation

Il a été montré au paragraphe 3.1 que les procédés ne modifient pas la proportion massique de particules fines. Toutefois, celles-ci représentent une fraction significative,

environ 10 % massique de la poudre, quel que soit le procédé. Il est donc intéressant d'évaluer leur rôle dans l'émulsification à l'HHP à 800 bars. Pour cela, nous avons réalisé une émulsion avec les particules de cacao dépourvues de ces particules fines ainsi qu'une émulsion ne contenant que des particules fines. Même si nous avons montré que la quantité de particules fines n'évolue pas après le passage à l'HHP, nous réalisons cette étude à partir de poudre de cacao ayant subi ce procédé (sans huile). Les particules fines se rapprochent alors davantage des particules présentes dans les émulsions. L'émulsion de référence est fabriquée avec une poudre de cacao entière préalablement traitée à l'HHP également.

Une dispersion de cacao ayant subi le procédé est laissée à sédimenter pendant 24 h. La phase supérieure est prélevée et remplacée par de l'eau distillée. Après 24 h de sédimentation, la phase supérieure est prélevée et réunie avec la première. Le sédiment est séché par lyophilisation pour obtenir les particules sans fraction fine. Ce sédiment est donc également dépourvu de la fraction soluble du cacao (nous avons montré au paragraphe précédent qu'elle n'a pas d'influence sur la taille des gouttes et sur la stabilité des émulsions). Les phases supérieures (fractions fine et soluble) sont ultra-centrifugées pendant 1 h à 100 000 g afin de séparer la fraction soluble de la fraction fine et le culot est séché par lyophilisation. Nous cherchons à déterminer le rôle des particules fines dans les performances de l'émulsion de référence contenant 2,5 % de poudre de cacao entière. Dans la phase aqueuse de cette formulation, la fraction fine est présente à hauteur de 0,25 % ($\approx 10 \% \times 2,5 \%$) et la fraction soluble à hauteur de 0,5 % ($\approx 20 \% \times 2,5 \%$). Les particules sans fraction fine et sans fraction soluble sont donc à 1,75 % ($\approx 2,5 \% - 0,25 \% - 0,5 \%$) dans la phase aqueuse. Nous comparons donc une émulsion stabilisée par 2,5 % de poudre de cacao entière à :

- une émulsion stabilisée par 1,75 % de poudre sans sa fraction fine et sans sa fraction soluble
- une émulsion stabilisée par 0,25 % de fraction fine seule (sans fraction soluble).

L'émulsion sans fraction fine ni fraction soluble est strictement identique au système de référence (Figure III-18). Les observations microscopiques mettent en évidence les particules dépliées au sein des « grappes » de gouttes. Cela indique que dans les proportions dans lesquelles elles sont présentes, les particules fines jouent un rôle négligeable dans la fabrication et la stabilisation. En dépit d'une concentration très faible en matériel stabilisant, l'émulsion fabriquée avec la fraction fine seule évolue lentement. Son diamètre moyen est élevé mais la microscopie de fluorescence indique que les particules fines s'adsorbent aux

interfaces (Figure III-18.b). Il est intéressant d'augmenter leur concentration pour mieux apprécier leur fonctionnalité. Nous avons donc fabriqué une émulsion à 2,5 % de particules fines uniquement. Les observations en microscopie de fluorescence mettent en évidence de nombreux points brillants, souvent localisés dans les zones de contact entre deux gouttes (Figure III-19). L'émulsion obtenue est stable pendant au moins 30 jours : son uniformité est de 0,37 et son diamètre moyen en volume est de 7 μm . Ce diamètre moyen est supérieur à celui de l'émulsion stabilisée par 2,5 % de particules dépliées qui est de 4,5 μm . Toutes choses égales par ailleurs, les grosses particules dépliées sont donc plus performantes puisqu'elles conduisent à des émulsions plus fines. Cela suggère qu'elles exposent davantage de surface et de points d'ancrage par gramme de particules.

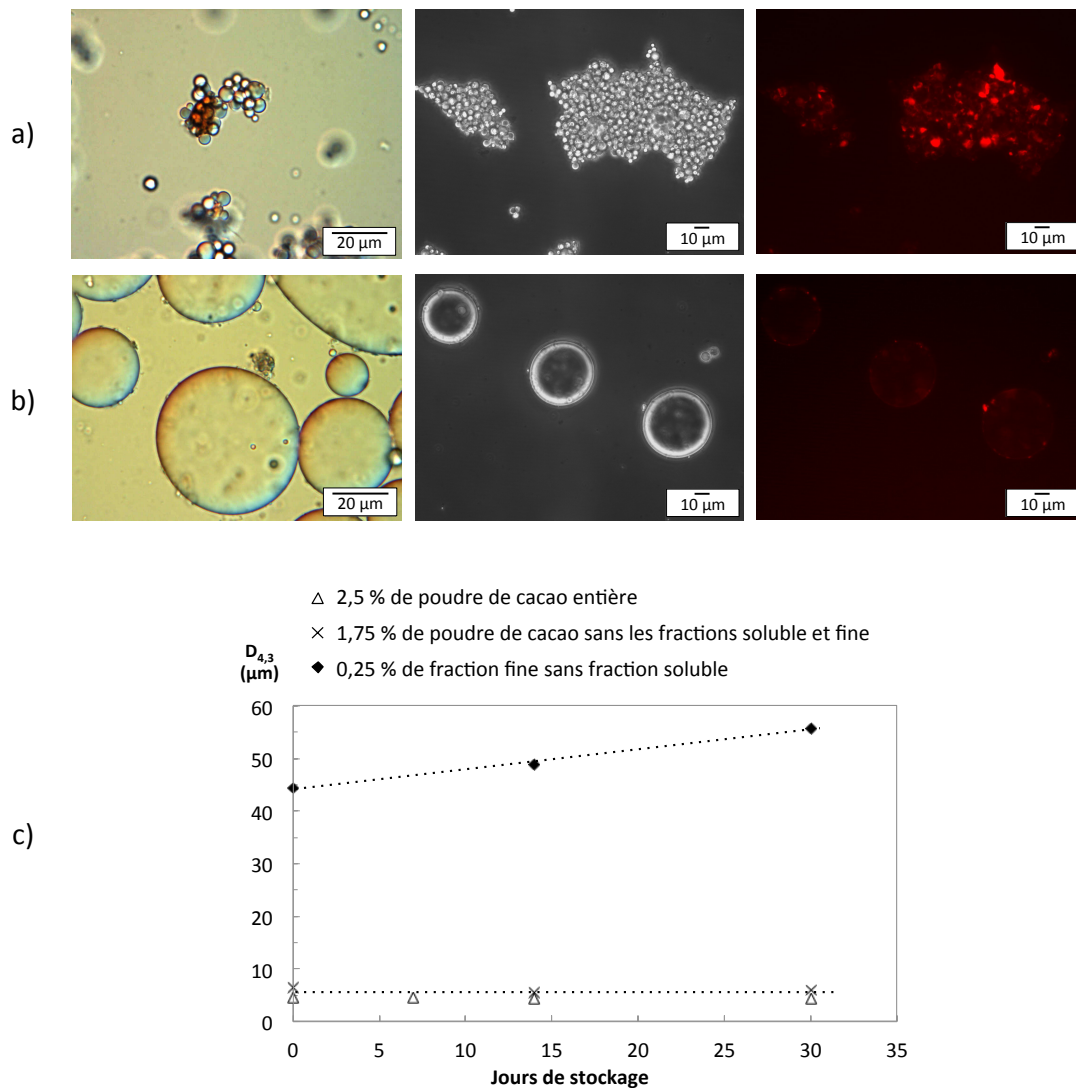


Figure III-18 Observation en microscopies optique et de fluorescence des émulsions fabriquées par homogénéisation haute pression (800 bars, 20 % d'huile) avec a) 1,75 % de poudre de cacao sans ses fractions soluble et fine et b) 0,25 % de fraction fine de poudre de cacao uniquement - c) Evolution du diamètre moyen en volume de ces émulsions et de l'émulsion avec 2,5 % de poudre de cacao entière. Les lignes pointillées sont des guides visuels.

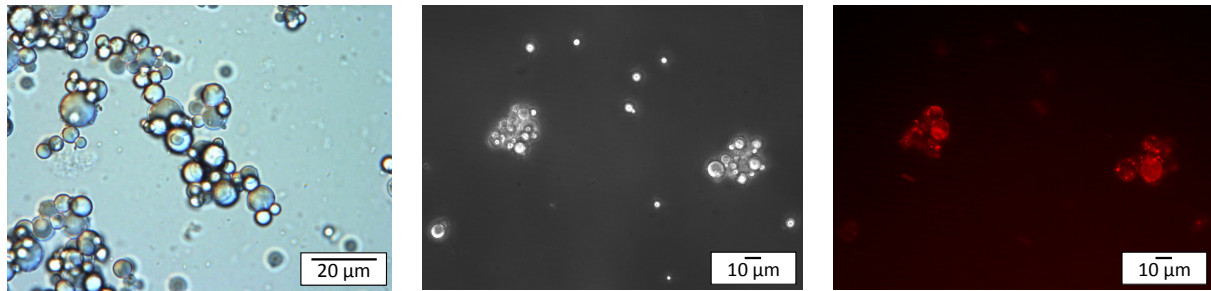


Figure III-19 Observation en microscopies optique et de fluorescence de l'émulsion fabriquée par homogénéisation haute pression (800 bars, 20 % d'huile) avec 2,5 % de particules fines uniquement

La fraction soluble étant peu impliquée, nos systèmes sont bien stabilisés par des particules solides et rentrent à ce titre dans la catégorie des émulsions de Pickering. Il nous reste à comprendre comment les paramètres de formulation tels que la quantité d'huile ou de poudre de cacao influencent la granulométrie initiale des émulsions. Il est en effet connu que la taille moyenne des émulsions de Pickering peut être dans certaines limites contrôlée par le phénomène de coalescence limitée (Arditty, 2004).

6. Influence de la quantité de cacao et d'huile : coalescence limitée

La coalescence limitée se produit au sein d'émulsions stabilisées par des composés irréversiblement ancrés aux interfaces des gouttes (particules, protéines), en régime de faible concentration (Arditty, 2004; Dridi et al., 2018). Dans des conditions précises déjà évoquées dans ce chapitre ainsi que dans le chapitre I, la taille finale des gouttes est déterminée par la quantité de particules aux interfaces. Le système vérifie alors l'équation :

$$S = \frac{6V_d}{D_{3,2}} = s_f m_a \quad \text{(III-1)}$$

où V_d est le volume d'huile (en m^3), $D_{3,2}$ le diamètre moyen en surface des gouttes de l'émulsion (en m), m_a la masse de particules adsorbées aux interfaces (en g) et s_f la surface spécifique (en $m^2 \cdot g^{-1}$), c'est-à-dire la quantité d'interface recouverte par un gramme de particules. Le terme de gauche dans l'équation (III.1) représente la quantité totale d'interface S (en m^2). La masse de particules adsorbées est calculée à partir de la masse totale de poudre, m_p , du taux d'ancrage et de la fraction hydrosoluble. La fraction hydrosoluble de la poudre de cacao étant de 20 % environ, la masse de particules adsorbées m_a est calculée d'après l'équation (III-2). Il est fait l'hypothèse, raisonnable au regard des données précédentes, que la fraction de poudre solubilisée dans l'huile est négligeable.

$$m_a \approx \frac{\text{taux d'ancrage} \times 0,8 \times m_p}{100} \quad (\text{III-2})$$

L'équation (III-1) fait intervenir la masse adsorbée, le volume d'huile et le diamètre moyen des particules. L'évolution du $D_{3,2}$ en fonction de m_a et de V_d nous permettra donc d'évaluer si le phénomène de coalescence limitée détermine la taille finale des gouttes des émulsions stabilisées par du cacao. Si tel est le cas, la relation entre les variables précédentes fera intervenir une valeur unique du paramètre s_f .

6.1. Evolution du diamètre des gouttes en fonction de la masse de particules, à fraction d'huile constante

Plusieurs émulsions de masse totale 20 g ont été fabriquées à l'HHP à une pression d'homogénéisation de 800 bars. Le pourcentage massique de poudre de cacao dans la phase aqueuse varie de 1 à 15 % (m_p de 0,15 à 2,5 g) à quantité d'huile constante, et cela, pour trois fractions d'huile différentes : 10, 20 et 30 %. Le diamètre moyen en surface $D_{3,2}$ est mesuré par granulométrie laser le jour même de la fabrication pour chaque émulsion. La surface totale des gouttes, S , est tracée en fonction de m_a pour chacune des fractions d'huile sur la Figure III-20.

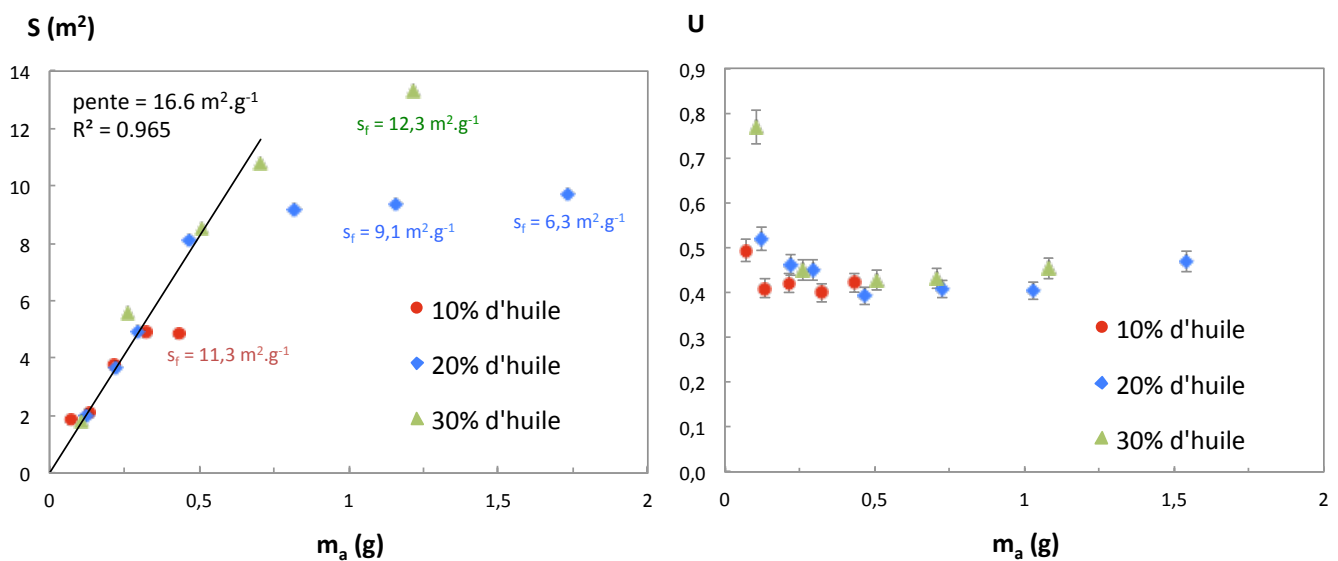


Figure III-20 Evolution de la surface totale des gouttes (à gauche) et de l'uniformité (à droite) en fonction de la masse de particules de cacao aux interfaces pour trois fractions d'huile différentes (émulsification à l'HHP à 800 bars).

Comme attendu, la surface totale des gouttes augmente avec la quantité de particules adsorbées et deux régimes sont mis en évidence :

- aux faibles concentrations en particules : un régime linéaire commun aux trois fractions d'huile.
- aux fortes concentrations en particules : un régime qui s'écarte de la linéarité, dans lequel la quantité d'interface évolue peu avec la masse de particules adsorbées.

Le régime linéaire est commun aux trois courbes et reflète l'existence d'un paramètre de couverture s_f unique caractéristique du phénomène de coalescence limitée. L'uniformité, U , reste proche de 40% pour la majorité des systèmes à l'exception de ceux obtenus à très faible teneur en particules. La faible valeur de l'uniformité est également une signature attendue de la coalescence limitée (Whitesides, Ross, 1995). Les émulsions dans ce régime ont toutes un taux d'ancrage d'environ $90 \pm 5 \%$. La pente de la droite donne directement accès à la valeur de s_f : $16,6 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. A titre de comparaison, la surface spécifique des protéines est généralement comprise entre 500 et $1\,000 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ (Dimitrova et al., 2004; Tcholakova et al., 2002). Les protéines disposent de beaucoup plus de sites d'adsorption par unité de masse, leur taille étant très inférieure à celle des particules. Quelques études reportent la mesure de la surface spécifique dans le cas d'émulsions de Pickering. Cette valeur dépend du matériel stabilisant ainsi que du procédé d'émulsification et de l'état d'agrégation des particules. Par exemple, pour une émulsification à l'HHP à une pression de 1 600 bars, Arditty *et al.* ont déterminé que la surface spécifique de particules de silice de 25 nm est d'environ $40 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ (Arditty, 2004). Pour les mêmes particules et la même formulation agitée à la main, la surface spécifique est de $4 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Cette différence a pour origine l'état d'agrégation des particules. Contrairement à l'émulsification par HHP, l'agitation manuelle ne désagrège pas les particules et les sites d'adsorption sont masqués et moins nombreux. La surface spécifique dépend également de l'état de surface des particules. Wallecan *et al.* (2015) ont utilisé des fibres d'orange pour fabriquer des émulsions à l'HHP à une pression de 420 bars. La surface spécifique de ces fibres sans traitement est d'environ $3 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ alors qu'elle est d'environ $9 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ lorsque ces fibres sont préalablement soumises à l'HHP (Wallecan et al., 2015).

Au delà du régime linéaire, nous observons que :

a) Les diamètres des gouttes sont supérieurs à ceux prédits par le régime linéaire. Quelle que soit la fraction d'huile, le diamètre est supérieur à $2,7 \mu\text{m}$.

b) Les taux d'ancrage sont toujours inférieurs à 80 %.

c) La surface spécifique effective est inférieure à $16 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ (la plus faible calculée est d'environ $6 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$; les valeurs sont reportées sur la Figure III-20). Dans ce régime, s_f diminue au fur et à mesure que m_a (identiquement m_p) augmente. La poudre devient de moins en moins fonctionnelle.

d) Les émulsions sont plus visqueuses que dans le régime linéaire et sont même parfois gélifiées (Figure III-21).

e) La quantité de particules adsorbées à partir de laquelle ce régime apparaît augmente avec la fraction d'huile. Pour une même taille de goutte, la quantité d'interface augmente avec la fraction d'huile, car les gouttes sont plus nombreuses. La saturation des interfaces intervient donc nécessairement pour des quantités de particules plus élevées quand la fraction d'huile augmente.

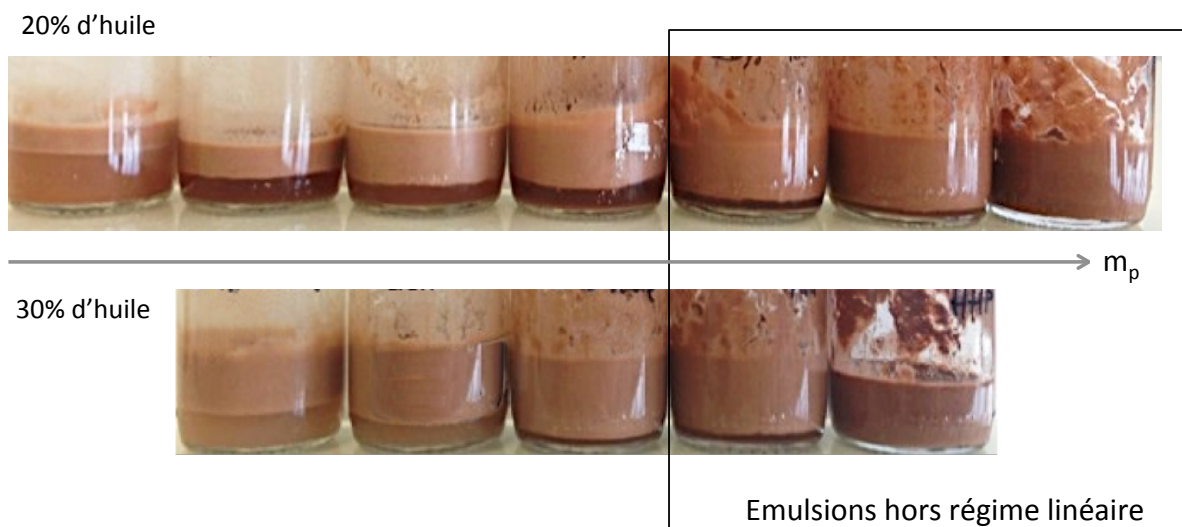


Figure III-21 Aspects macroscopiques des émulsions à quantité de particules croissante pour 20 et 30 % d'huile après 30 jours de stockage.

Plusieurs hypothèses sont *a priori* envisageables pour expliquer cet écart à la linéarité :

- Les conditions requises pour un contrôle par la coalescence limitée ne sont pas remplies ; en particulier, la formulation comporterait plus de particules qu'il n'en faut pour recouvrir la quantité de surface créée. Ainsi la taille serait contrôlée non

plus par la masse des particules adsorbées mais par les conditions hydrodynamiques. Cette hypothèse est en accord avec les observations b) et d). Les particules en excès ne pouvant pas s'adsorber, la proportion de particules ancrées deviendrait plus faible. Les particules en excès contribueraient alors à augmenter la viscosité du système, voire même à le gélifier. Cependant, pour être en adéquation avec l'observation a), cette hypothèse suppose que la technique d'émulsification employée ne soit pas en capacité de créer des gouttes de diamètre inférieur à 2,7 μm , ce qui est très peu crédible dans le cas d'une émulsification menée avec un HHP à 800 bars. Nous ne retiendrons donc pas cette hypothèse pour justifier l'écart à la linéarité.

- La quantité de surface créée au départ serait bien supérieure à celle que les particules peuvent recouvrir, mais à cause de la viscosité élevée ou de l'état gélifié, la dynamique du système serait partiellement bloquée et les gouttes peu décorées seraient moins mobiles pour coalescer. Cette hypothèse découle de l'observation d). Elle est toutefois incompatible avec l'observation a). En effet, un phénomène de coalescence ralenti ou interrompu plus tôt conduit obligatoirement à des gouttes plus fines que dans le cas où la coalescence peut avoir lieu librement.
- Les particules formeraient des amas compacts à partir d'une certaine teneur dans la phase aqueuse, avec plusieurs conséquences. La probabilité d'adsorption des particules serait réduite car les points d'ancrage seraient moins disponibles, puisque masqués dans les amas (la coalescence limitée se déploie principalement lorsque l'agitation cesse). En conséquence, le taux d'ancrage diminuerait (observation b), les sites de fixation aux interfaces étant moins accessibles (observation c). Le réseau d'amas compacts de particules et de gouttes participe à la gélification du système (observations d). Cette hypothèse nous semble la plus vraisemblable.

Un régime dans lequel nos systèmes vérifient l'équation (III-1) a été mis en évidence. Le phénomène de coalescence limitée a donc bien lieu lors de l'émulsification. Il est intéressant de préciser à ce stade que la formulation ayant fait l'objet des études précédentes (20 % d'huile, 2,5 % de particules dans la phase aqueuse, fabrication à l'HHP à 800 bars) était située dans le régime linéaire.

6.2. Evolution du diamètre des gouttes en fonction du volume d'huile, à masse de particules constante

L'équation (III-1) a été remaniée pour mettre en évidence la pente de la droite $D_{3,2}m_a = f(V_d)$. La pente est alors inversement proportionnelle à s_f (III-3).

$$\frac{6V_d}{D_{3,2}} = s_f m_a \Leftrightarrow D_{3,2} m_a = \frac{6}{s_f} V_d \quad (\text{III-3})$$

Plusieurs émulsions de même masse totale (20 g) ont été fabriquées avec l'HHP à une pression de 800 bars. La fraction d'huile varie de 10 à 50 %. La masse de poudre m_p est fixée à 1,5 % de l'émulsion totale (et non plus de la phase aqueuse, la proportion de celle-ci étant variable) et m_a est déduite de l'équation (III-2). La droite obtenue en traçant le produit $D_{3,2}m_a$ en fonction de V_d est présentée sur la Figure III-22.

Comme attendu, la taille moyenne des gouttes d'huile augmente avec la fraction d'huile. Pour les faibles fractions, de 10 à 30 % d'huile, l'équation (III-3) est vérifiée et la surface spécifique déduite de la pente est $16,9 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, très proche de celle déterminée au paragraphe précédent ($16,6 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$). Au delà, on observe un écart à la linéarité, avec un diamètre des gouttes inférieur à celui prédit par le premier régime. Lorsque que la concentration en huile augmente, la distance moyenne entre les gouttes diminue et cette situation favorise la formation de ponts entre elles *via* les particules. Les émulsions en question sont plus visqueuses et/ou s'apparentent à des gels (mesures rhéologiques non réalisées). Elles crèment alors plus lentement que les émulsions du régime linéaire (Figure III-23). La dynamique étant partiellement bloquée, le phénomène de coalescence limitée est interrompu à un stade plus précoce et les gouttes sont donc plus fines.

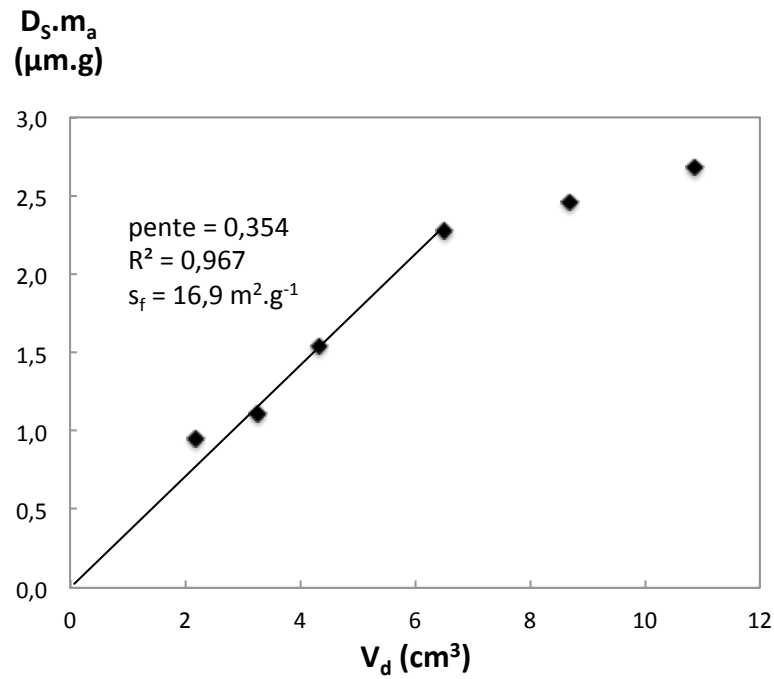


Figure III-22 Evolution du diamètre moyen en surface en fonction de la fraction d'huile à masse de particules de cacao constante (émulsification à l'HHP à 800 bars, 1,5 % de poudre de cacao par rapport à l'émulsion totale)

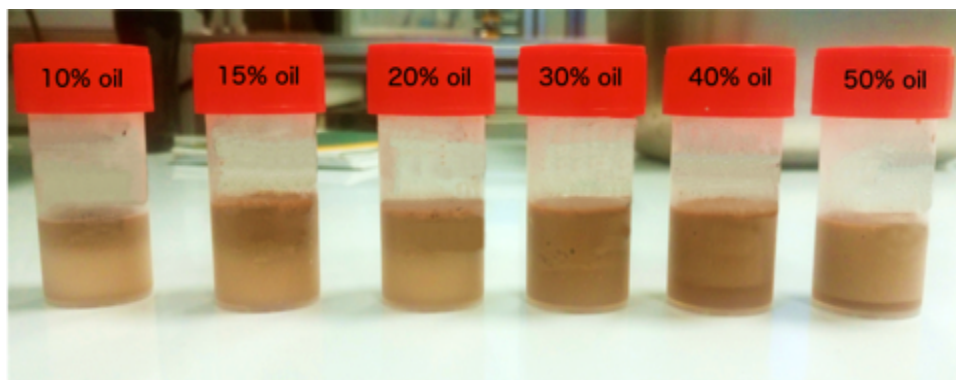


Figure III-23 Emulsions de fractions d'huile croissantes après 30 jours de stockage.

En résumé, la poudre de cacao permet de stabiliser des émulsions de taille contrôlée grâce au phénomène de coalescence limitée. Les émulsions obtenues sont cinétiquement stables d'un point de vue physique. Nous allons à présent évaluer leur stabilité chimique en caractérisant l'oxydation de l'huile.

7. Etude du pouvoir antioxydant de la poudre de cacao

Le cacao contient de nombreux composés phénoliques et ses propriétés antioxydantes ont largement été étudiées (Carrillo et al., 2014; Gu et al., 2006; Lecumberri et al., 2007; Leite et al., 2013; Miller et al., 2006). Ces composés phénoliques sont majoritairement la catéchine et l'épicatéchine, qui appartiennent à la famille des flavanols (voir chapitre I, paragraphe 4.5.b). Le cacao contient également des procyanidines, des tannins condensés antioxydants qui sont des polymères de catéchine et d'épicatéchine. La catéchine et l'épicatéchine sont peu solubles dans l'eau et les procyanidines le sont donc encore moins. Cette solubilité peut néanmoins être augmentée par la température (Cuevas-Valenzuela et al., 2014). Comme évoqué au début de ce chapitre, les teneurs en polyphénols totaux du cacao varient en fonction des techniques d'extraction et de caractérisation mais sont généralement comprises entre 40 et 70 mg.g⁻¹ de cacao (Carrillo et al., 2014; Hii et al., 2009). Le cacao contient également entre 24 et 36 mg.g⁻¹ de méthylxanthines, qui regroupent la théobromine et la caféine (Plaza et al., 2017). Bien que les mécanismes ne soient pas démontrés, les méthylxanthines peuvent interagir avec les composés phénoliques (Azam et al., 2003; Maleyki, Ismail, 2008).

La poudre de cacao peut donc avoir un rôle antioxydant au sein de nos émulsions. Cette hypothèse a été évaluée sur une émulsion contenant une huile polyinsaturée, plus sensible à l'oxydation que l'huile de tournesol (Dridi et al., 2016). Le pouvoir antioxydant de cette poudre dans une émulsion est étudiée dans ce chapitre et nous l'évaluerons dans une poudre sèche obtenue par déshydratation de l'émulsion au chapitre V. La formulation a dû être adaptée pour faciliter le séchage. L'émulsion mère (avant déshydratation) est composée :

- de poudre de cacao : 8,8 % relativement à la phase aqueuse (soit 7,5 % de l'émulsion totale)
- d'huile : 15 % (la proportion huile/poudre dans l'émulsion est donc de 2/1)
- d'un additif de séchage, le lactose : 20 % relativement à la phase aqueuse (soit 15,5 % de l'émulsion totale)

Cette émulsion a été fabriquée selon un procédé adapté pour produire un volume d'émulsion supérieur à 20 mL avec un homogénéisateur haute pression (ALM, Pierre Guérin). La poudre de cacao est préalablement broyée et la pression d'homogénéisation est de 265 bars (2 passages). Nous montrerons au chapitre V que cette adaptation a peu d'impact sur les propriétés physiques de l'émulsion. Avant d'évaluer l'oxydation de l'huile au sein de cette

émulsion, nous nous intéressons dans un premier temps à l'oxydation de l'huile en phase continue, non formulée.

7.1. Cinétique d'oxydation de l'huile de lin

Dans le but d'observer des évolutions dans un temps raisonnable, une huile oxydable, contenant une forte proportion d'acides gras polyinsaturés, a été choisie. Il s'agit d'une huile de lin contenant 57,3 % d'acide α -linoléinique (18 : 3 n-3) (voir chapitre II, paragraphe 6). L'oxydation des lipides est un processus chimique spontané, évolutif et irréversible dont les mécanismes sont détaillés au chapitre I, paragraphe 4. Afin d'accélérer les réactions d'oxydation, les formulations ont été chauffées à 60°C (le protocole précis est détaillé au chapitre II, paragraphe 6). Les formulations étant stockées dans des flacons fermés pour éviter toute évaporation, il faudra vérifier que l'oxygène est en excès pour ne pas limiter les réactions d'oxydation. La cinétique d'oxydation d'une formulation est dépendante du volume d'échantillon ainsi que de la surface d'échange avec l'air. Les formulations doivent donc être réparties dans des flacons identiques et contenant la même quantité d'échantillon (0,5 g d'huile). Chaque flacon est analysé après le temps de stockage souhaité. Le nombre de points analysés est donc déterminé dès le début du vieillissement accéléré.

La cinétique d'oxydation de l'huile de lin en phase continue obtenue pendant ce vieillissement accéléré sera notre référence. Les cinétiques d'oxydation sont obtenues en mesurant l'absorbance spécifique à 233 nm des huiles extraites des formulations après différents temps de stockage à 60°C. L'absorbance spécifique à 233 nm caractérise les diènes conjugués, issus des hydroperoxydes, produits primaires d'oxydation (voir chapitre I, paragraphe 4). Cette absorbance spécifique est directement corrélée à l'indice de peroxyde (IP). Cela permettra de situer l'huile par rapport à l'oxydation maximale autorisée dans le cadre d'une consommation humaine. Cette limite est de 15 $m_{eq.O_2}.kg^{-1}$ d'huile pour une huile non raffinée. Nous avons montré que cette valeur limite correspond à une absorbance spécifique de 0,31 dans nos conditions expérimentales.

Avant toute expérience, nous avons vérifié que l'oxygène de l'air n'est pas limitant : l'oxydation de l'huile en flacon ouvert est semblable à celle de l'huile en flacon fermé après 4 jours de stockage (absorbances spécifiques de $0,64 \pm 0,01$ et $0,60 \pm 0,03$, respectivement).

En plus de l'huile de lin de référence, une huile de lin traitée à l'HHP dans les mêmes conditions que lors de l'émulsification et un mélange d'huile de lin et de cacao broyé (réalisé à la spatule) dans les proportions de l'émulsion (2 pour 1) sont soumises au vieillissement accéléré. Les cinétiques d'oxydation à 60°C de ces trois formulations sont comparées sur la Figure III-24. La ligne horizontale représente la limite autorisée en alimentation humaine.

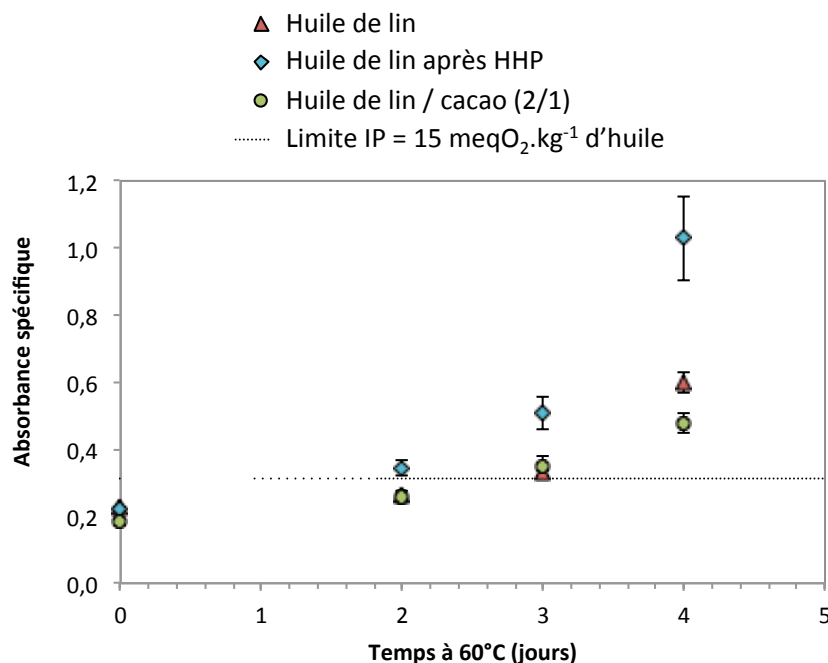


Figure III-24 Evolution de l'absorbance spécifique à 233 nm de l'huile de lin brute, de l'huile de lin après HHP et d'un mélange huile de lin / cacao lors d'un stockage à 60°C, à l'obscurité.

L'huile de lin de référence devient impropre à la consommation à partir de 3 jours à 60°C. L'huile en présence de poudre de cacao présente une cinétique d'oxydation similaire. Le cacao n'a donc pas d'effet antioxydant sur l'huile en phase continue. L'huile ayant subi le procédé d'émulsification, sans eau ni poudre végétale, présente la même absorbance spécifique au début du stockage que les autres échantillons. Néanmoins, elle s'oxyde plus rapidement que l'huile non traitée et atteint la valeur limite de l'absorbance spécifique dès 2 jours. Cette observation suggère que le traitement HHP favorise les réactions d'oxydation (vraisemblablement par introduction d'oxygène) mais que les antioxydants initialement présents réagissent avec les radicaux libres avant leur transformation en hydroperoxydes. Ainsi, la même valeur d'absorbance spécifique est observée pour les trois échantillons en

début de cinétique bien que le statut oxydatif de l'huile soit différent. Au cours du stockage, l'huile traitée à l'HHP est moins protégée par les antioxydants et apparaît donc moins stable.

7.2. Influence du procédé d'émulsification sur l'oxydation de l'huile de lin et la composition en antioxydants

Avant de soumettre l'émulsion au vieillissement accéléré, il convient de vérifier l'influence de l'émulsification sur l'état d'oxydation de l'huile ainsi que sur la concentration de certains antioxydants. Nous avons dosé les diènes conjugués dans l'huile à chaque étape de fabrication de l'émulsion (pré-émulsification à l'UT et homogénéisation haute pression) et plusieurs composés susceptibles d'être impliqués dans les réactions d'oxydation :

- les tocophérols dans l'huile de lin (structure et propriétés au chapitre I, paragraphe 4.5.b)
- les polyphénols totaux dans la phase aqueuse (après avoir vérifié que le lactose n'interfère pas dans le dosage). Ils sont ici exprimés en équivalent catéchine
- les méthylxanthines dans la phase aqueuse

Les concentrations en protéines ne sont pas reportées car le réactif de Bradford réagit identiquement avec une protéine oxydée ou non et ne renseigne donc pas sur leur dénaturation (les méthodes de dosages de chacun de ces composés ont été décrites au chapitre II, paragraphe 6.6).

Les résultats sont présentés en Annexe de ce chapitre. Aucune évolution significative des concentrations en composés antioxydants n'a été mesurée dans la limite de sensibilité des méthodes utilisées. Le procédé d'émulsification n'a pas d'effet sur les composés dosés. L'émulsion est ensuite soumise au protocole de vieillissement accéléré.

7.3. Cinétique d'oxydation de l'huile de lin dans l'émulsion stabilisée par la poudre de cacao

Nous avons dans un premier temps évalué la cinétique d'oxydation de l'huile dans l'émulsion stabilisée par le cacao sur un temps de stockage court (4 jours) à 60°C. Les résultats sont présentés sur la Figure III-25.a et la stabilité physique de l'émulsion pendant ce vieillissement est reportée dans le Tableau III-3. Bien que les mesures granulométriques à t_0

et après 4 jours révèlent une légère augmentation du diamètre par coalescence, aucun déphasage n'est observé pendant la durée de stockage. Contrairement aux huiles en phase continue (brute, traitée à l'HHP ou mélangée à la poudre), l'huile en émulsion ne présente aucun signe d'oxydation après 4 jours en étuve à 60°C.

Tableau III-3 Stabilité physique de l'émulsion après 4 jours de stockage à 60°C.

	D _{4,3} (µm)	D _{3,2} (µm)	U
t ₀	4,1	1,4	0,85
4 jours	5,7	1,6	0,94

Nous avons alors prolongé l'étude du vieillissement accéléré à 21 jours. Le diamètre moyen des gouttes n'a pas été déterminé après ce temps de stockage mais aucun déphasage n'a été observé, indiquant une bonne stabilité physique du système. La Figure III-25.b montre que l'huile de lin en émulsion est conforme à la réglementation jusqu'à 14 jours de stockage à 60°C. Par rapport au mélange 2 :1 d'huile de lin et de poudre de cacao non émulsionné, le gain de stabilité chimique est significatif.

La forme émulsionnée se différencie du simple mélange huile/poudre par la présence de phase aqueuse et la création d'une interface. Afin de différencier l'influence de ces deux paramètres sur le gain de stabilité, des dosages des polyphénols totaux et méthylxanthines dans la phase aqueuse ont été réalisés à différents temps de stockage. Les résultats sont présentés en Annexe et il apparaît qu'aucun de ces composés n'est consommé. Cela suggère qu'aucun de ces composés hydrosolubles n'intervient de façon significative dans les mécanismes antioxydants. Pour renforcer cette hypothèse et l'étendre à tous les composés hydrosolubles, notamment les protéines, nous avons fabriqué une émulsion de même composition à partir d'une poudre de cacao dépourvue de sa fraction hydrosoluble. Cette émulsion a été stockée à 60°C. Les cinétiques d'oxydation des émulsions avec et sans fraction soluble sont parfaitement superposables (Figure III-25-b). Parallèlement, les tocophérols dans l'huile ont été analysés au cours du stockage. Les résultats sont présentés en Annexe et il apparaît que ces antioxydants liposolubles ne sont pas consommés non plus.

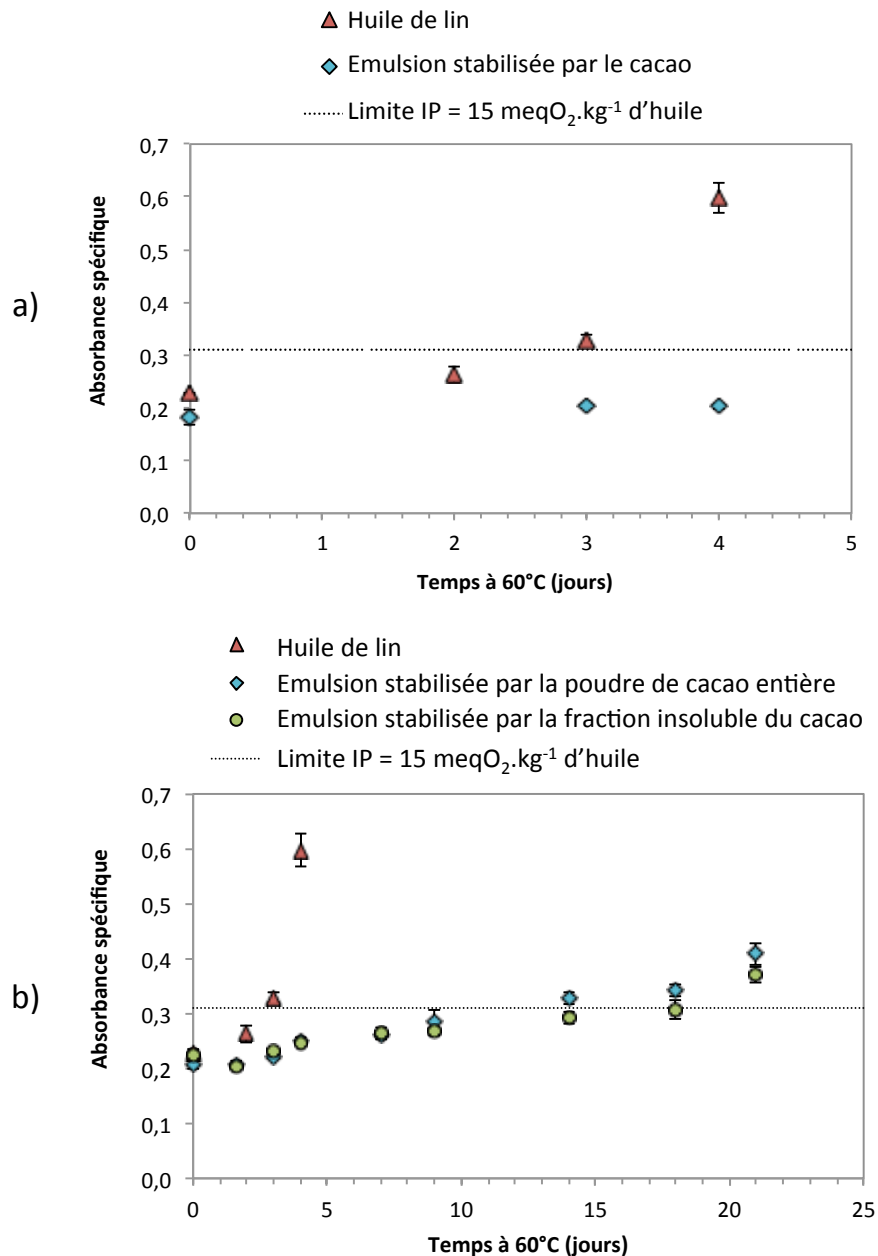


Figure III-25 Evolution de l'absorbance spécifique à 233 nm lors d'un stockage à 60°C à l'obscurité a) d'une huile de lin en phase continue et d'une huile dans une émulsion stabilisée par la poudre de cacao et b) du mélange huile de lin / cacao, d'une huile dans une émulsion stabilisée par la poudre de cacao entière ou dépourvue de sa fraction hydrosoluble

Les observations peuvent être résumées comme suit :

- l'ajout de cacao brut dans l'huile ne ralentit pas l'oxydation
- la formulation en émulsion ralentit l'oxydation de l'huile
 - sans consommer les antioxydants dosés (tocophérols dans l'huile, polyphénols hydrosolubles)
 - sans implication de la fraction soluble de la poudre de cacao (notamment des protéines hydrosolubles)

Les particules de cacao à l'interface peuvent constituer une barrière physique à la diffusion des molécules induisant et/ou propageant l'oxydation. Cette hypothèse a été avancée pour plusieurs systèmes (Carneiro et al., 2013; Kargar et al., 2011, 2012). Dans notre cas, cette hypothèse n'est pas retenue au regard des résultats obtenus pour la stabilité chimique de l'émulsion déshydratée et qui seront présentés au chapitre V. En effet, l'émulsion sèche n'est pas protégée de l'oxydation bien que les gouttes soient identiquement décorées par les particules.

Nos résultats montrent que l'huile de lin est protégée par la fraction insoluble mais que la protection s'exerce seulement en présence de phase aqueuse. Lorsque l'huile est simplement mélangée à la poudre, son oxydation n'est pas ralentie. Ce résultat pourrait s'expliquer par l'absence de mouillabilité à l'huile de la plupart des constituants de la poudre et/ou par leur solubilité très faible. Les composés antioxydants seraient « masqués » et de ce fait inopérants dans ces conditions.

La poudre de cacao est riche en ions métalliques pro-oxydants tels que le fer et le cuivre (respectivement 14 mg et 4 mg pour 100 g de poudre de cacao (Paoletti et al., 2012)). Les ions pro-oxydants étant hydrosolubles, l'oxydation pourrait être favorisée en présence d'eau. Il a été cependant montré que l'adsorption de métaux par des coproduits végétaux est favorisée par une augmentation du pH, autour de 6-7 dans le cas du cuivre (Al-Asheh, Duvnjak, 1999; Nguyen et al., 2013). En effet, les groupes fonctionnels susceptibles de complexer des ions métalliques (groupe hydroxyle, carboxylique etc.) se trouvant à la surface des coproduits, sont d'autant plus nombreux à porter des charges négatives que le pH augmente. Ils sont donc en capacité de complexer les ions métalliques. Le pKa des acides carboxyliques étant inférieur à 5, il est probable qu'à pH 7 les fonctions localisées à la surface des particules de cacao soient majoritairement déprotonées et qu'elles complexent ces ions, protégeant l'huile en émulsion de l'oxydation. Il serait donc intéressant de mener des expériences sur les émulsions à pH acide pour tester cette hypothèse. Indépendamment de cette possible complexation, l'huile émulsionnée s'oxyde moins rapidement que l'huile brute, ce qui révèle un effet antioxydant de la fraction insoluble de la poudre en présence d'eau, dont l'origine n'a pas pu être déterminée.

8. *Résumé des résultats du chapitre III*

Dans ce chapitre, nous avons fabriqué des émulsions relativement fines (jusqu'à 2,7 μm) et très stables physiquement (pendant au moins 90 jours) en utilisant de la poudre de cacao comme seul matériel stabilisant. Nous avons montré que les propriétés finales des émulsions peuvent être contrôlées par plusieurs paramètres :

- la technique d'émulsification : les énergies de mélange déployées conditionnent le franchissement de la barrière énergétique d'adsorption des particules. Le taux d'ancrage a une grande influence sur la stabilité et la finesse des émulsions.
- l'état de surface des particules de cacao : le broyage ou la technique d'émulsification elle-même modifie la structure des particules et améliore leur aptitude à s'adsorber.
- la quantité de poudre : son augmentation permet de diminuer la taille des gouttes. A volume d'huile constant, il existe une relation linéaire entre l'inverse du diamètre moyen et la quantité de particules, ce qui permet un excellent contrôle de la taille.
- la quantité d'huile : réduire la fraction d'huile contribue à diminuer la taille des gouttes

La fraction soluble de la poudre de cacao et les particules fines n'ont pas de rôle dans l'émulsification et la stabilisation. C'est le réseau de larges particules dépliées et offrant donc de nombreux sites d'ancrage aux gouttes, qui conditionne les propriétés finales des émulsions.

L'oxydation d'une huile insaturée dans une émulsion stabilisée par la poudre de cacao peut être significativement retardée par rapport à l'oxydation de la même huile en phase continue. L'origine du caractère antioxydant de la poudre n'a cependant pas pu être élucidée.

Références :

- Abecia-Soria, L., Pezoa-García, N.H., Amaya-Farfan, J. (2006). Soluble Albumin and Biological Value of Protein in Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Beans as a Function of Roasting Time. *J. Food Sci.* 70, S294–S298.
- Al-Asheh, S., Duvnjak, Z. (1999). Sorption of heavy metals by canola meal. *Water. Air. Soil Pollut.* 114, 251–276.
- Arditty, S. (2004). Fabrication, stabilité et propriétés rhéologiques des émulsions stabilisées par des particules colloïdales. PhD Thesis.
- Arntfield, S.D., Murray, E.D. (1981). The Influence of Processing Parameters on Food Protein Functionality I. Differential Scanning Calorimetry as an Indicator of Protein Denaturation. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 14, 289–294.
- Azam, S., Hadi, N., Khan, N.U., Hadi, S.M. (2003). Antioxidant and prooxidant properties of caffeine, theobromine and xanthine. *Med. Sci. Monit.* 9, BR325–BR330.
- de Brito, E.S., Garcia, N.H.P., Gallao, M., Cortelazzo, A.L., Fevereiro, P.S., Braga, M.R. (2001). Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L) during fermentation, drying and roasting. *J. Sci. Food Agric.* 81, 281–288.
- Carneiro, H.C.F., Tonon, R.V., Grosso, C.R.F., Hubinger, M.D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *J. Food Eng.* 115, 443–451.
- Carrillo, L.C., Londoño-Londoño, J., Gil, A. (2014). Comparison of polyphenol, methylxanthines and antioxidant activity in *Theobroma cacao* beans from different cocoa-growing areas in Colombia. *Food Res. Int.* 60, 273–280.
- Cuevas-Valenzuela, J., González-Rojas, Á., Wisniak, J., Apelblat, A., Pérez-Correa, J.R. (2014). Solubility of (+)-catechin in water and water-ethanol mixtures within the temperature range 277.6–331.2K: Fundamental data to design polyphenol extraction processes. *Fluid Phase Equilibria* 382, 279–285.
- Demetriades, K., Julian McClements, D. (2000). Influence of sodium dodecyl sulfate on the physicochemical properties of whey protein-stabilized emulsions. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 161, 391–400.
- Dimitrova, T.D., Leal-Calderon, F., Gurkov, T.D., Campbell, B. (2004). Surface forces in model oil-in-water emulsions stabilized by proteins. *Adv. Colloid Interface Sci.* 108-109, 73–86.

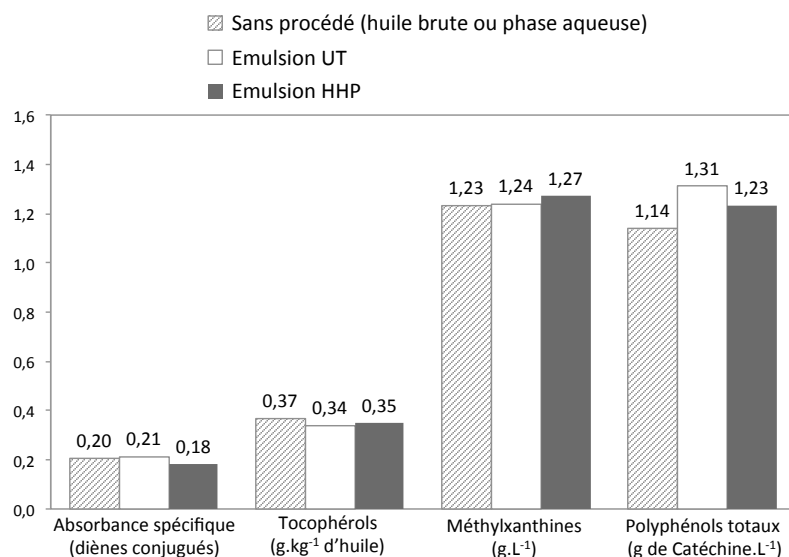
- Dridi, W., Essafi, W., Gargouri, M., Leal-Calderon, F., Cansell, M. (2016). Influence of formulation on the oxidative stability of water-in-oil emulsions. *Food Chem.* *202*, 205–211.
- Dridi, W., Harscoat-Schiavo, C., Monteil, J., Faure, C., Leal-Calderon, F. (2018). Monodisperse Oil-in-Water Emulsions Stabilized by Proteins: How To Master the Average Droplet Size and Stability, While Minimizing the Amount of Proteins. *Langmuir* *34*, 9228–9237.
- Finkle, P., Draper, H.D., Hildebrand, J.H. (1923). The theory of emulsification. *J. Am. Chem. Soc.* *45*, 2780–2788.
- Floury, J., Desrumaux, A., Axelos, M.A.V., Legrand, J. (2003). Effect of high pressure homogenisation on methylcellulose as food emulsifier. *J. Food Eng.* *58*, 227–238.
- Foegeding, E.A., Plundrich, N., Schneider, M., Campbell, C., Lila, M.A. (2017). Protein-polyphenol particles for delivering structural and health functionality. *Food Hydrocoll.* *72*, 163–173.
- Gould, J., Vieira, J., Wolf, B. (2013). Cocoa particles for food emulsion stabilisation. *Food Funct.* *4*, 1369–1375.
- Gu, L., House, S.E., Wu, X., Ou, B., Prior, R.L. (2006). Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products. *J. Agric. Food Chem.* *54*, 4057–4061.
- Hii, C., Law, C., Sharif, S., Jati, M., Cloke, M. (2009). Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Asian J. Food Agro-Ind.* *2*, 702–722.
- Kargar, M., Spyropoulos, F., Norton, I.T. (2011). The effect of interfacial microstructure on the lipid oxidation stability of oil-in-water emulsions. *J. Colloid Interface Sci.* *357*, 527–533.
- Kargar, M., Fayazmanesh, K., Alavi, M., Spyropoulos, F., Norton, I.T. (2012). Investigation into the potential ability of Pickering emulsions (food-grade particles) to enhance the oxidative stability of oil-in-water emulsions. *J. Colloid Interface Sci.* *366*, 209–215.
- Leal-Calderon, F., Schmitt, V. (2008). Solid-stabilized emulsions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* *13*, 217–227.
- Lecumberri, E., Mateos, R., Izquierdo-Pulido, M., Rupérez, P., Goya, L., Bravo, L. (2007). Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physico-chemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Food Chem.* *104*, 948–954.
- Leite, P.B., Maciel, L.F., Opretzka, L.C.F., Soares, S.E., Bispo, E. da S. (2013). Phenolic compounds, methylxanthines and antioxidant activity in cocoa mass and chocolates

- produced from “witch broom disease” resistant and non resistant cocoa cultivars. *Ci&Atextordfemeninencia E Agrotecnologia* 37, 244–250.
- Li, Y., Feng, Y., Zhu, S., Luo, C., Ma, J., Zhong, F. (2012). The effect of alkalization on the bioactive and flavor related components in commercial cocoa powder. *J. Food Compos. Anal.* 25, 17–23.
- Maleyki, M.J.A., Ismail, A. (2008). Antioxydant properties of cocoa powder. *J. Food Biochem.* 34, 111–128.
- McCarthy, D.A. (2007). Fluorochromes and Fluorescence. In *Flow Cytometry: Principles and Applications*, M.G. Macey, ed. (Totowa, NJ: Humana Press), pp. 59–112.
- Miller, K.B., Stuart, D.A., Smith, N.L., Lee, C.Y., McHale, N.L., Flanagan, J.A., Ou, B., Hurst, W.J. (2006). Antioxidant Activity and Polyphenol and Procyanidin Contents of Selected Commercially Available Cocoa-Containing and Chocolate Products in the United States. *J. Agric. Food Chem.* 54, 4062–4068.
- Nguyen, T.A.H., Ngo, H.H., Guo, W.S., Zhang, J., Liang, S., Yue, Q.Y., Li, Q., Nguyen, T.V. (2013). Applicability of agricultural waste and by-products for adsorptive removal of heavy metals from wastewater. *Bioresour. Technol.* 148, 574–585.
- Paoletti, R., Poli, A., Conti, A., Visioli, F. (2012). *Chocolate and health* (Springer).
- Parsons, J., Keeney, P., Patton, S. (1969). Identification and quantitative analysis of phospholipids in cocoa beans. *J. Food Sci.* 34, 497–499.
- Pépin, V. (2002). *Cacaos et chocolats : traitement et fabrication*. Tech. Ing. Filière Prod. Prod. Orig. Végétale *base documentaire : TIB433DUO*.
- Plaza, M., Oliveira, D., Nilsson, A., Turner, C. (2017). Green and Efficient Extraction Method to Determine Polyphenols in Cocoa and Cocoa Products. *Food Anal. Methods* 10, 2677–2691.
- Robin, O., Remillard, N., Paquin, P. (1993). Influence of major process and formulation parameters On microfluidized fat globule size distribution and example of a practical consequences. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 80, 211–222.
- Sadeghpour Galooyak, S., Dabir, B. (2015). Three-factor response surface optimization of nano-emulsion formation using a microfluidizer. *J. Food Sci. Technol.* 52, 2558–2571.
- Tcholakova, S., Denkov, N.D., Ivanov, I.B., Campbell, B. (2002). Coalescence in β -Lactoglobulin-Stabilized Emulsions: Effects of Protein Adsorption and Drop Size. *Langmuir* 18, 8960–8971.

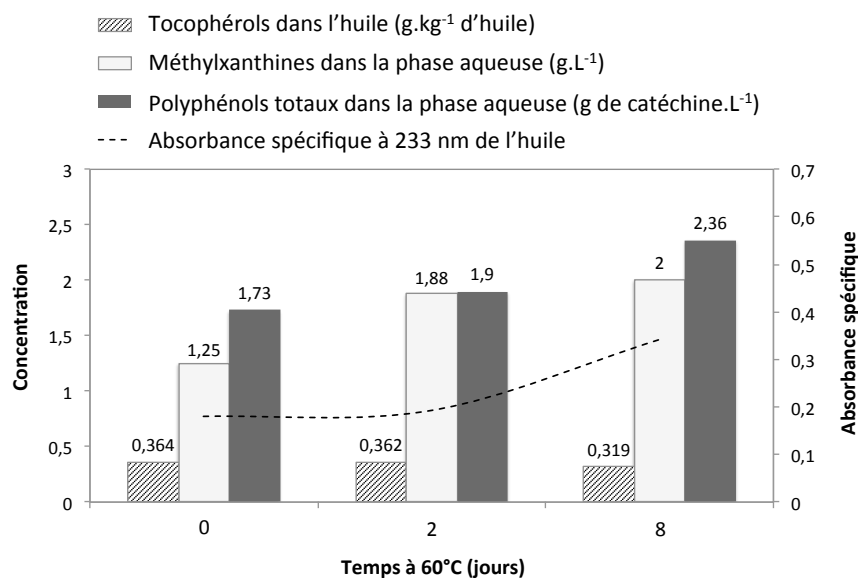
- Tcholakova, S., Lesov, I., Golemanov, K., Denkov, N.D., Judat, S., Engel, R., Danner, T. (2011). Efficient Emulsification of Viscous Oils at High Drop Volume Fraction. *Langmuir* 27, 14783–14796.
- Vankova, N., Tcholakova, S., Denkov, N.D., Ivanov, I.B., Vulchev, V.D., Danner, T. (2007). Emulsification in turbulent flow: 1. Mean and maximum drop diameters in inertial and viscous regimes. *J. Colloid Interface Sci.* 312, 363–380.
- Wallecan, J., McCrae, C., Debon, S.J.J., Dong, J., Mazoyer, J. (2015). Emulsifying and stabilizing properties of functionalized orange pulp fibers. *Food Hydrocoll.* 47, 115–123.
- Whitesides, T.H., Ross, D.S. (1995). Experimental and theoretical analysis of the limited coalescence process: stepwise limited coalescence. *J. Colloid Interface Sci.* 169, 48–59.

Annexe

Absorbances spécifiques de l'huile à 233 nm et concentrations en tocophérols (dans l'huile), méthylxanthines et polyphénols totaux (dans la phase aqueuse) à chaque étape de fabrication de l'émulsion stabilisée par la poudre de cacao :



Les tocophérols sont dosés dans l'huile de l'émulsion à différents temps de stockage à 60°C. Les polyphénols totaux et les méthylxanthines sont dosés dans les phases aqueuses après différents temps de stockage à 60°C. Les concentrations de ces composés sont tracées au regard de l'état d'oxydation de l'huile, soit de l'absorbance spécifique à 233 nm :



Remarque : Les valeurs pour l'émulsion HHP sur le premier graphique et pour l'émulsion à t₀ sur le second sont proches mais non identiques car elles ne sont pas issues des mêmes émulsions (bien qu'elles soient de même composition).

IV. Emulsions stabilisées par des poudres végétales : influence de la nature des poudres

1. Introduction

Notre objectif dans ce chapitre est d'établir des liens entre la nature des poudres végétales et les propriétés des émulsions qu'elles stabilisent. Le tourteau de colza et les coques de lupin seront ici évalués en tant que stabilisants d'émulsions au même titre que la poudre de cacao au précédent chapitre. Le tourteau de colza est un coproduit de la filière agricole, issu de l'extraction d'huile des graines de colza. Il contient des protéines, de la cellulose, des lipides ainsi que des molécules antioxydantes (Amarowicz et al., 2001; Leming, Lember, 2005; Thiyam et al., 2004). Suivant sa composition, il peut être valorisé en alimentation animale (Terres Univia, 2016a). Le lupin est une graine davantage valorisée pour ses protéines, (Terres Univia, 2016b) et ses coques sont généralement considérées comme un déchet. Nous avons choisi ces deux sources végétales pour leurs teneurs très différentes en composés solubles et en protéines. La gamme de composition des poudres végétales représentée par le tourteau de colza, la poudre de cacao et les coques de lupin est alors relativement large. Tous les paramètres étudiés au chapitre III ne seront pas évalués et nous nous focaliserons sur les différences apportées par la morphologie et la composition des poudres. Ces différences concernent principalement la taille moyenne des gouttes, la stabilité physique des émulsions ainsi que l'implication de la fraction hydrosoluble. L'impact de la technique d'émulsification sera également considéré. Pour ces nouvelles particules végétales, nous essaierons d'identifier l'existence d'un régime gouverné par la coalescence limitée afin de mesurer et de comparer les valeurs des surfaces spécifiques. Enfin, nous évaluerons la stabilité chimique d'une émulsion stabilisée par le tourteau de colza en étudiant la cinétique d'oxydation d'une huile de lin.

Les phases aqueuses ont un pH fixé à 7 et contiennent un agent bactéricide, l'azide de sodium. Les teneurs des constituants sont exprimés en pourcentage massique. Sauf indication contraire, les émulsions contiennent 20 % d'huile de tournesol, le pourcentage de poudre est exprimé relativement à la phase aqueuse et l'homogénéisation haute pression est réalisée avec un microfluidiseur à une pression de 800 bars (Microfluidizer MS-110, Microfluidics), selon le protocole décrit au chapitre II, paragraphe 2.3.

Ce chapitre peut être lu indépendamment du précédent. Pour cela, certaines définitions ont été reprises, de même que les principales conclusions émanant de l'étude sur les émulsions à base de poudre de cacao. La fonctionnalité des 3 poudres végétales sera comparée et, dans la mesure du possible, nous essaierons d'établir des règles génériques pour la formulation d'émulsions à base de tourteaux végétaux entiers.

2. *Composition des poudres végétales*

Les compositions moyennes d'un tourteau de colza (Terres Univia, 2016a) et de coques de lupin (Bailey et al., 1974; Górecka et al., 2000) sont présentées sur la Figure IV-1-I et comparées à la composition de la poudre de cacao (d'après l'étiquette nutritionnelle). La teneur moyenne en protéines du tourteau de colza est de 34 %, mais elle peut atteindre jusqu'à 43 % après délipidation complète à l'hexane selon les tourteaux et la méthode de mesure (Kjeldahl ou Dumas par exemple) (Terres Inovia, Terres Univia, 2018). La cellulose est au contraire majoritaire dans les coques de lupin puisqu'elle représente plus de 60 % de la poudre (contre 13 % dans le tourteau de colza). Les coques de lupin ne contiennent que 8 % de protéines. Le tourteau de colza est donc le plus riche en protéines, suivi par la poudre de cacao puis par les coques de lupin. Le classement inverse peut être établi pour les carbohydrates. Les origines et traitements du tourteau de colza et des coques de lupin utilisés pour fabriquer nos émulsions sont décrits au chapitre II, paragraphe 1.1. Comme pour la poudre de cacao, les fractions hydrosolubles des poudres ont été caractérisées et quantifiées dans des dispersions de poudre à 10 % (les protocoles sont décrits aux chapitres II, paragraphe 1.3 et III, paragraphe 2). Les compositions de ces fractions sont présentées et comparées sur la Figure IV-1-II.

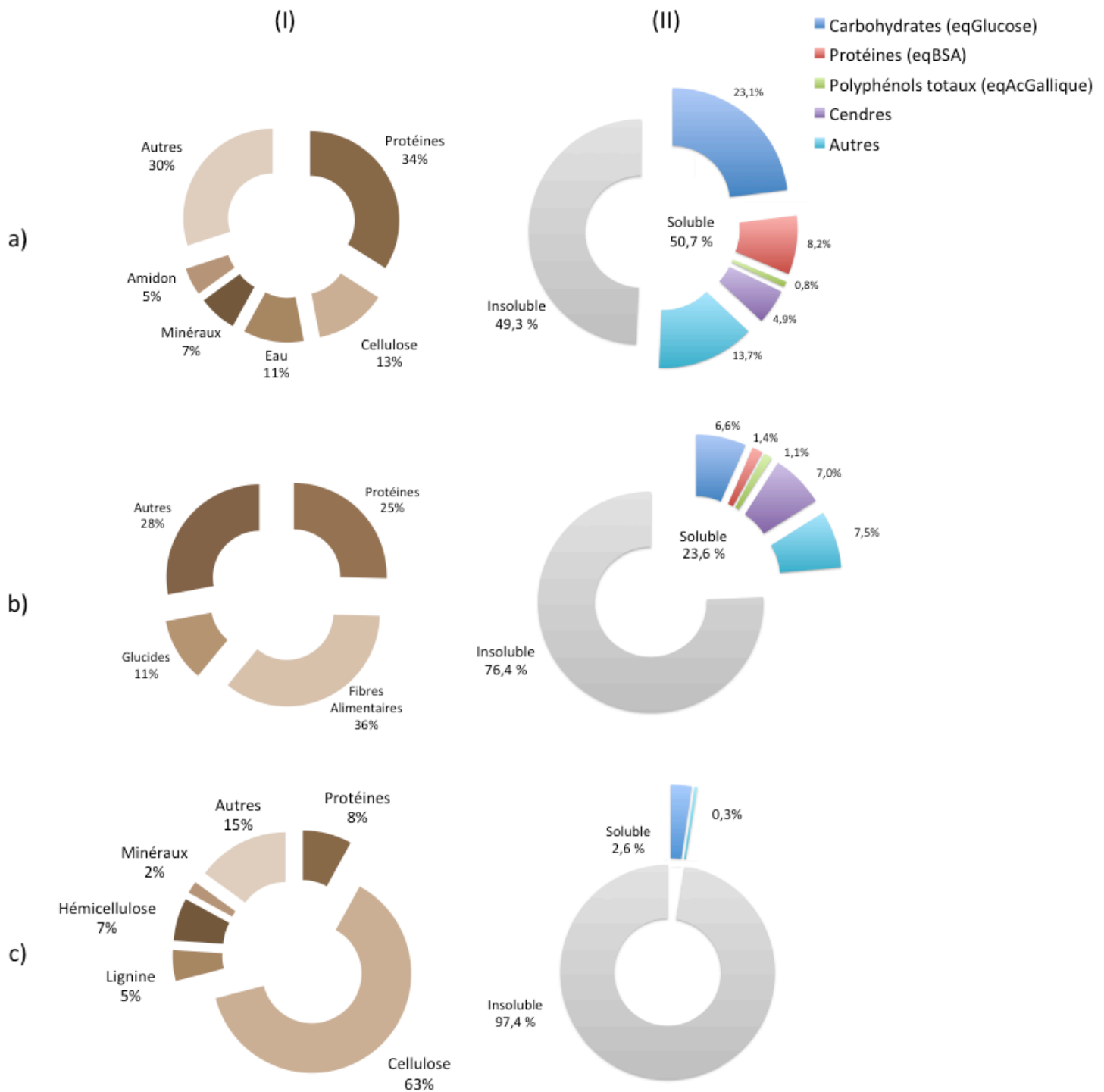


Figure IV-1 (I) Composition moyenne de la poudre végétale et (II) Proportion et composition de la fraction soluble pour a) le tourteau de colza, b) la poudre de cacao et c) les coques de lupin

Le tourteau de colza contient plus de 50 % de fraction hydrosoluble, majoritairement constituée de carbohydrates. La fraction soluble du colza est plus riche en protéines que celle du cacao mais elle apparaît relativement pauvre au regard de la teneur du tourteau en protéines totales (solubles et insolubles). Même si le tourteau de colza est exposé à des températures plus basses que le cacao (pas de torréfaction à des températures supérieures à 100°C), les protéines peuvent être dénaturées. En effet, l'huile est extraite à 60°C et l'étape de broyage peut également chauffer le tourteau. Les protéines du colza sont à 40-55 % des cruciférines (point isoélectrique à 7,5) et à 30-40 % des napines (point isoélectrique à 11) (Nioi et al., 2012). Les conditions optimales d'extraction se situent à pH basique compris entre 11 et 14 (Nioi et al., 2012; Qu et al., 2018). Un pH de 7 ne permet donc pas une solubilisation optimale des protéines. Les teneurs en polyphénols totaux reportées dans la littérature varient en fonction du tourteau, des méthodes d'extraction et de dosage ainsi que de la molécule de référence adoptée (majoritairement l'acide gallique ou sinapique). Elles sont généralement comprises entre 1,5 et 3,5 % de la poudre (Liu et al., 2012). Dans nos conditions, les polyphénols hydrosolubles représentent 1 % de la poudre, confirmant la solubilité dans l'eau relativement faible des polyphénols majoritaires du colza, les composés sinapiques (Zago et al., 2015). Le taux de cendres mesuré dans notre tourteau de colza est de 7,7 %, dont 63 % sont hydrosolubles (les protocoles sont décrits au chapitre II). Les cendres solubles représentent donc 4,9 % de la poudre.

Dans les 50,7 % de composés hydrosolubles, 37 % sont donc identifiés comme étant, par ordre décroissant : des carbohydrates, des protéines, des cendres et des polyphénols. La différence peut s'expliquer comme au chapitre III par le choix des molécules de référence concernant l'expression des dosages. La différence semble cependant plus marquée dans le cas du tourteau de colza. Il est envisageable que les molécules de référence soient plus adaptées aux composés du cacao (les protéines du cacao sont majoritairement des albumines et des globulines, vs cruciférines et napines pour le colza, alors que la molécule de référence est une albumine). Ces dosages ne permettent donc pas de doser précisément des mélanges complexes mais seulement de comparer des teneurs lorsqu'elles sont exprimées en fonction des mêmes références. Comme au chapitre précédent, les résultats de ces dosages seront donc exploités uniquement à des fins comparatives. Qu'ils soient hydrosolubles ou insolubles, les composés amphiphiles du tourteau de colza potentiellement impliqués dans la stabilisation d'une émulsion, peuvent principalement être les protéines, les complexes polyphénols/protéines et les complexes protéines/carbohydrates (Karefyllakis et al., 2017; Qu

et al., 2018). Des phospholipides peuvent également être présents mais vraisemblablement en très faible quantité (Bardeau, 2015).

Les coques de lupin contiennent très peu de composés hydrosolubles, environ 3 %, qui sont majoritairement des carbohydrates. Les coques de lupin sont donc le parfait exemple de poudre végétale très peu hydrosoluble et dont l'éventuelle fonctionnalité proviendra de la fraction insoluble. Comme cette poudre est pauvre en protéines, nous pouvons de plus supposer que les particules insolubles présentent *a priori* peu de sites d'ancrage amphiphiles.

3. Influence de la technique d'émulsification

3.1. Influence de la technique d'émulsification sur les particules

Nous avons montré au précédent chapitre que la technique d'émulsification employée pour fabriquer l'émulsion impacte la structure des particules de cacao. Parmi l'Ultra-Turrax[®] (UT), les ultrasons (US) et l'homogénéisation haute pression à 800 bars (HHP), les US et l'HHP déplient les particules de cacao initialement denses et compactes et les transforment en des membranes étalées et fines, offrant une large surface d'ancrage aux gouttes d'huile. Plus que les fines particules, ce sont ces particules dépliées déformables qui déterminent les propriétés finales des émulsions.

Les procédés d'émulsification ont été appliqués sur des dispersions aqueuses de tourteau de colza et de coques de lupin en l'absence d'huile. Les caractéristiques des particules avant et après traitement sont présentées sur la Figure IV-2 et la Figure IV-3. Le traitement à l'UT n'est pas présenté car il n'a pas d'influence sur les particules.

Avant traitement, les particules de colza sont polydisperses, non sphériques et de formes variées. Leur diamètre moyen en volume égal à 53 μm est très supérieur à celui des particules de cacao (14 μm). La raison principale est que la poudre de cacao utilisée est un produit commercial ayant subi de nombreux traitements mécaniques, notamment des étapes de broyage (voir chapitre III). Les coques de lupin sont beaucoup plus volumineuses encore, avec un diamètre moyen effectif d'environ 240 μm . Cette valeur peut paraître surprenante puisque la poudre a été tamisée à 120 μm (voir chapitre II, paragraphe 1). Les particules sont très anisotropes et leur forme longiligne (en « aiguille ») leur permet de passer au travers du tamis.

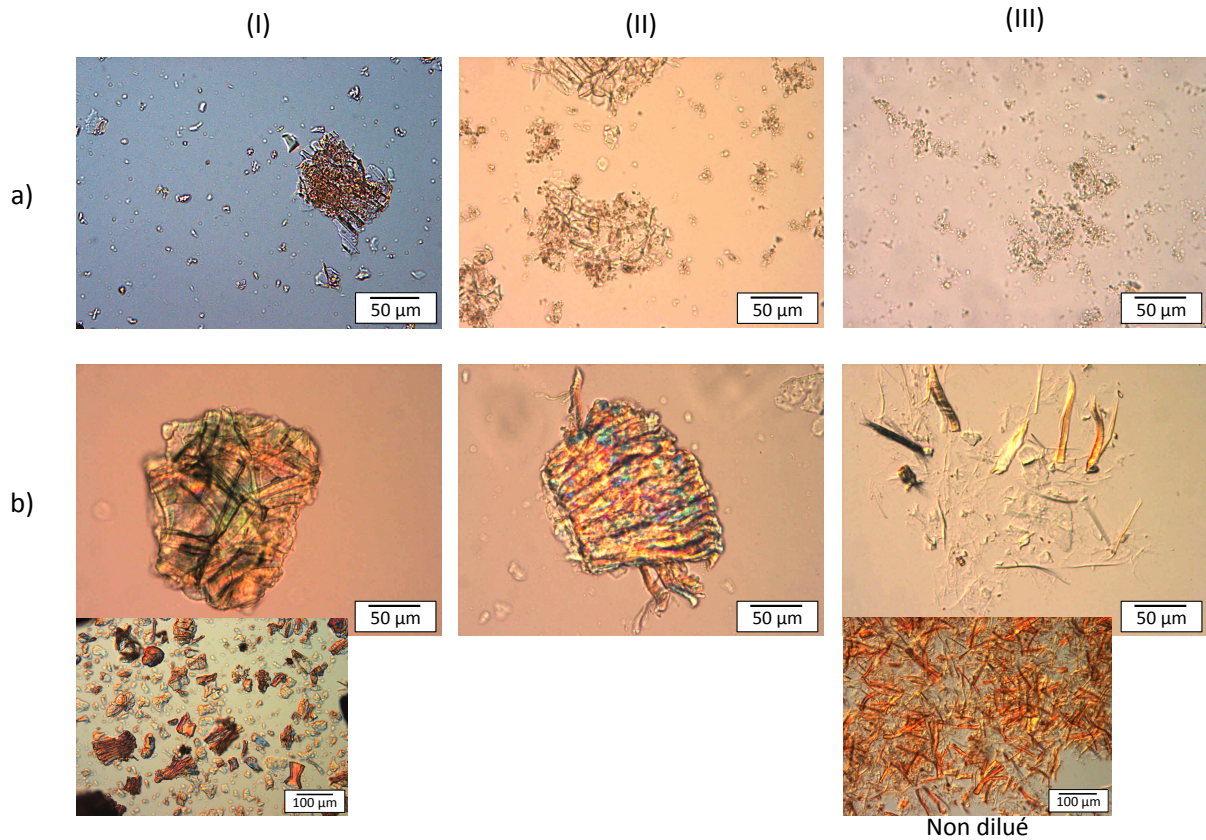
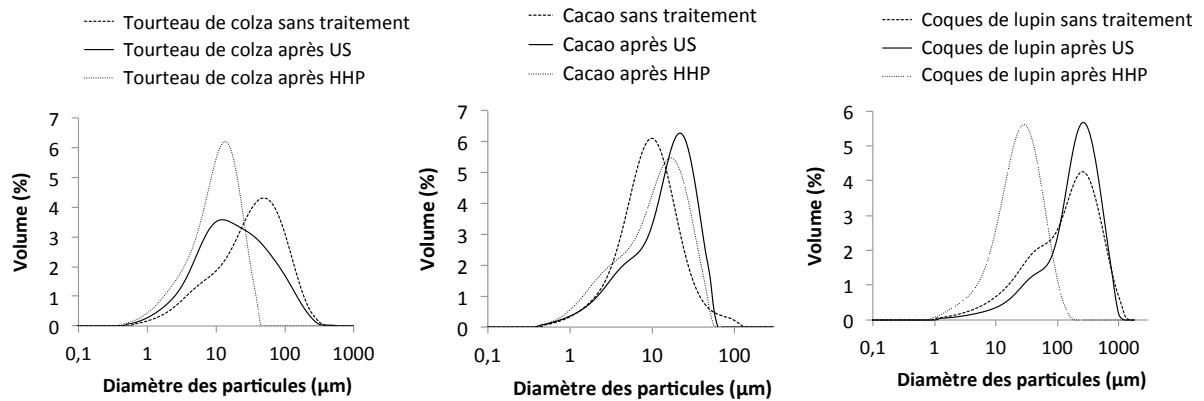


Figure IV-2 Images de microscopie optique des poudres végétales avant (I) et après traitement aux ultrasons (II) et à l'homogénéisation haute pression (III) pour a) le tourteau de colza et b) les coques de lupin.



D_{4,3} (μm) après traitement :

/	53,2	13,7	236,2
US	36,2	18,8	263,9
HHP	13,0	14,9	33,5
	a)	b)	c)

Figure IV-3 Distribution des tailles de particules avant et après ultrasons et homogénéisation haute pression (800 bars) pour a) le tourteau de colza, b) la poudre de cacao et c) les coques de lupin

Après avoir subi les conditions de cisaillement d'une émulsification aux US et à l'HHP, les particules de colza subissent le même type d'évolution que les particules de cacao : les particules denses et compactes ont disparu au profit de particules fines et étalées. Les distributions granulométriques sont significativement affectées. Ainsi les diamètres moyens en volume après US et HHP diminuent respectivement à 36 et 13 μm .

Après le traitement aux US, les coques de lupin ne sont visiblement pas affectées et la distribution des tailles après ce traitement est similaire à celle des particules sans traitement. En revanche, suite au traitement HHP, la dispersion de coques de lupin gélifie après quelques minutes au repos. Les observations microscopiques d'une dispersion à 2,5 % de poudre sans dilution préalable montrent effectivement un réseau dense de « fibres ». Après dilution pour faciliter l'observation, nous pouvons conclure que les particules ont effectivement été « dépliées » par le procédé et fractionnées sous la forme de fibres. Le diamètre moyen effectif en volume mesuré est d'environ 35 μm .

Après quelques heures au repos, toutes les dispersions sédimentent, excepté la dispersion de coques de lupin traitée par HHP (gel physique). Les surnageants sont limpides, indiquant l'absence de particules fines en suspension. Compte tenu des conclusions du précédent chapitre et de ces observations, les particules fines n'ont été ni quantifiées ni caractérisées. Certaines distributions granulométriques se décalent vers les faibles tailles après traitement. Ce résultat suggère que les grosses particules sont à la fois fragmentées et dépliées.

3.2. Influence de la technique d'émulsification sur les propriétés des émulsions

L'influence de la technique d'émulsification a été étudiée en comparant des émulsions dont la phase aqueuse contient 2,5 % de tourteau de colza ou de coques de lupin. Les trois techniques d'émulsification ont été utilisées et les 6 émulsions obtenues ont été caractérisées en termes de taux d'ancrage des particules aux interfaces (proportion de particules ancrées par rapport à la quantité totale de particules insolubles introduites) et de distribution granulométrique de gouttes. Les résultats sont présentés sur la Figure IV-4. Ces émulsions ont également été suivies dans le temps en analysant la taille moyenne des gouttes au cours du stockage à 4°C jusqu'à la formation d'une couche d'huile. Les évolutions des diamètres moyens en volume sont présentées sur la Figure IV-5. Afin de faciliter la comparaison, les

résultats obtenus avec la poudre de cacao sont reportés sur ces deux figures. Pour une même poudre végétale, les principales conclusions énoncées au chapitre précédent sont confirmées : les procédés modifiant les particules conduisent à des taux d'ancrage élevés, ainsi qu'à des émulsions fines et stables.

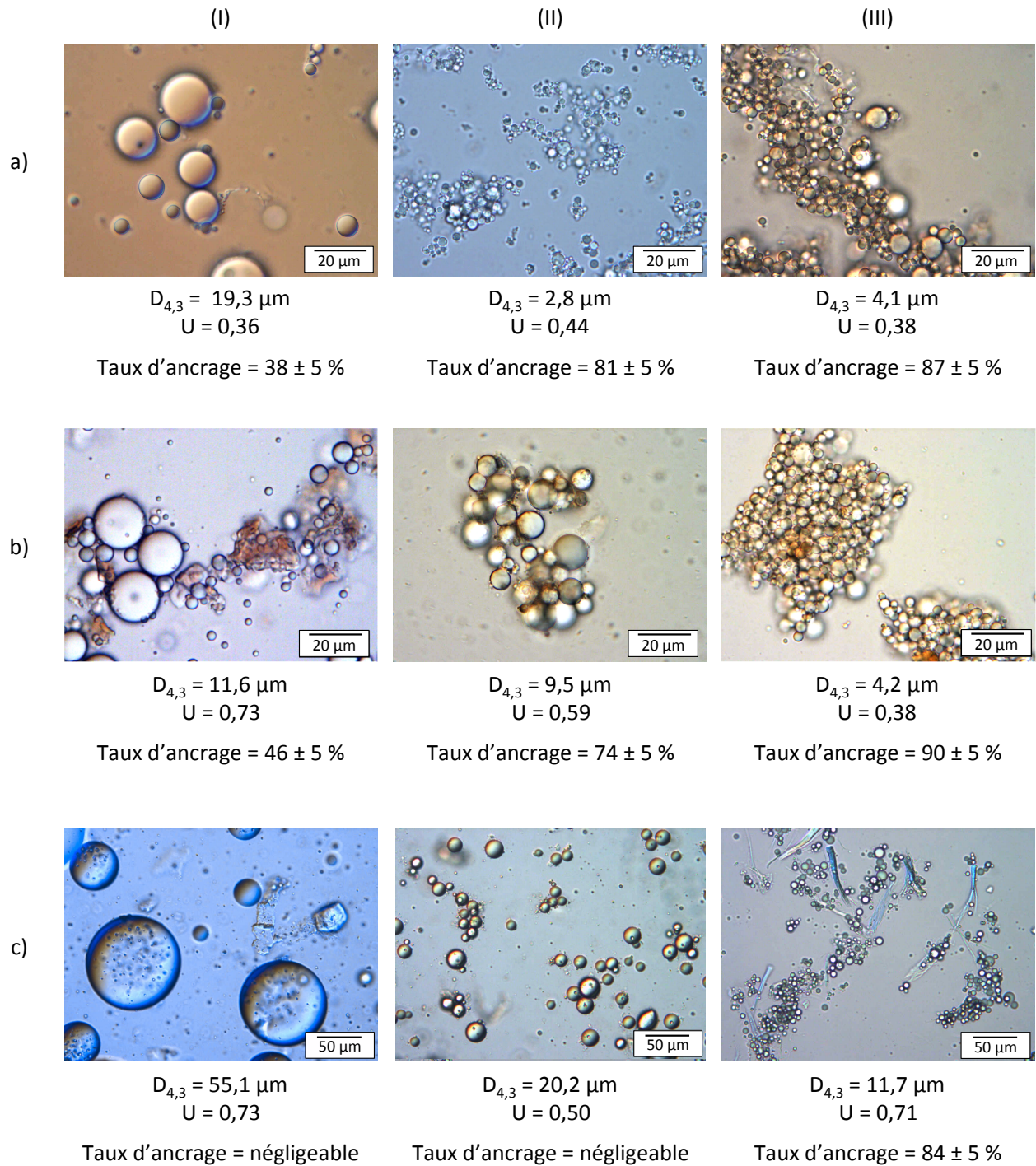


Figure IV-4 Caractéristiques des émulsions à 20 % d'huile de tournesol et 2,5 % de a) tourteau de colza, b) poudre de cacao et c) coques de lupin, fabriquées par (I) Ultra-Turrax®, (II) ultrasons et (III) homogénéisation haute pression (800 bars).

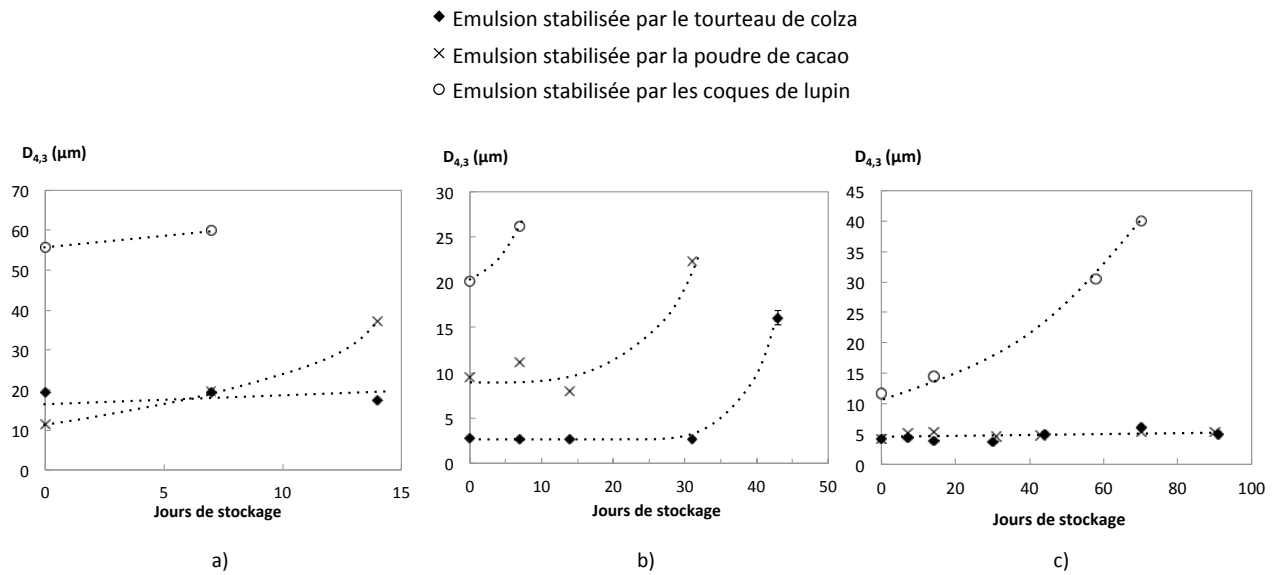


Figure IV-5 Evolution du diamètre moyen en volume des émulsions fabriquées pas a) Ultra-Turrax[®], b) ultrasons et c) homogénéisation haute pression (2,5 % de poudre végétale et 20 % d'huile). Les lignes pointillées sont des guides visuels.

L'émulsion stabilisée par le tourteau de colza fabriquée par UT est remarquablement monodisperse ($U = 0,36$) par rapport aux autres émulsions fabriquées avec cette technique (Figure IV-4-I). Ceci est caractéristique des émulsions de Pickering bien que le taux d'ancrage soit faible. Nous savons que la fraction soluble du tourteau de colza est la plus abondante et la plus riche en composés potentiellement émulsifiants. Contrairement à la poudre de cacao, il semble donc vraisemblable que la fraction soluble du tourteau de colza soit impliquée dans la stabilisation. Les protéines ayant des propriétés assimilables à celles des particules (Dridi et al., 2018), l'émulsion peut alors avoir les mêmes caractéristiques que les émulsions de Pickering bien que le taux d'ancrage des composés insolubles soit faible. En effet, il convient de rappeler que le taux d'ancrage est calculé relativement à la fraction insoluble. Il ne prend donc pas en compte l'éventuelle fraction soluble adsorbée aux interfaces (voir chapitre II, paragraphe 3.3). Les faibles puissances volumiques de mélange déployées par l'UT ne suffisent cependant pas à fabriquer une émulsion stable au stockage (Figure IV-5.a). Les gouttes crèment (Figure IV-6.a) puis coalescent et forment une couche macroscopique d'huile en surface à partir de 14 jours de stockage. En revanche, les émulsions fabriquées par US et HHP sont fines, stables et présentent des taux d'ancrage élevés. L'émulsion fabriquée à l'HHP est encore une fois la plus performante en termes de stabilité (Figure IV-5). Les énergies de mélanges permettent de franchir la barrière énergétique d'adsorption et de déplier les particules. La viscosité élevée de ces émulsions participe également à leur stabilité physique (Figure IV-6.a). Le rôle de la fraction soluble du colza dans l'émulsification à l'HHP sera détaillé au paragraphe 4 de ce chapitre.

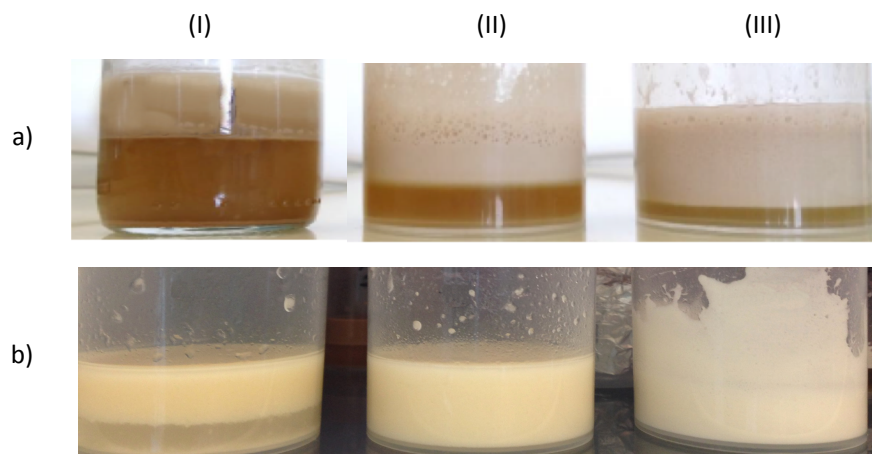


Figure IV-6 Aspect macroscopique après 7 jours de stockage des émulsions à 2,5 % de a) tourteau de colza et b) coques de lupin, fabriquées par (I) Ultra-Turrax®, (II) ultrasons et (III) homogénéisation haute pression

Les coques de lupin ne sont modifiées que par l'HHP et seule l'émulsion fabriquée avec cette technique présente un taux d'ancrage élevé. Le réseau de « fibres » observé en l'absence d'huile est retrouvé sur les images microscopiques de l'émulsion (Figure IV-4 III.c). Les gouttes sont piégées dans ce réseau. L'émulsion est gélifiée, tout comme la dispersion traitée par HHP (Figure IV-6.b). La Figure IV-5.c) montre que cette émulsion est moins stable que les autres émulsions fabriquées par HHP. Les émulsions fabriquées par UT et US sont encore moins stables et une couche d'huile apparaît en surface après seulement 7 jours de stockage à 4°C.

Les émulsions floculées de la Figure IV-4 sont celles stabilisées par des particules « dépliées » par le procédé. Comme indiqué précédemment, ces dernières présentent un plus grand nombre de sites d'ancrage et les « grappes » de gouttes observées sont constituées d'un réseau mixte de particules et de gouttes. Les observations en microscopie de fluorescence des émulsions fabriquées avec l'HHP présentées sur la Figure IV-7 confirment ces conclusions. Elles renforcent également l'hypothèse selon laquelle les mécanismes de stabilisation mis en jeu dans le cas des coques de lupin sont différents. En effet, la fluorescence est beaucoup plus localisée et inhomogène. Les gouttes ne semblent pas recouvertes par de fines membranes comme dans le cas du cacao et du colza. La fraction soluble étant quasiment inexistante, la stabilité de l'émulsion n'est assurée que par le gel physique dans lequel les gouttes restent piégées.

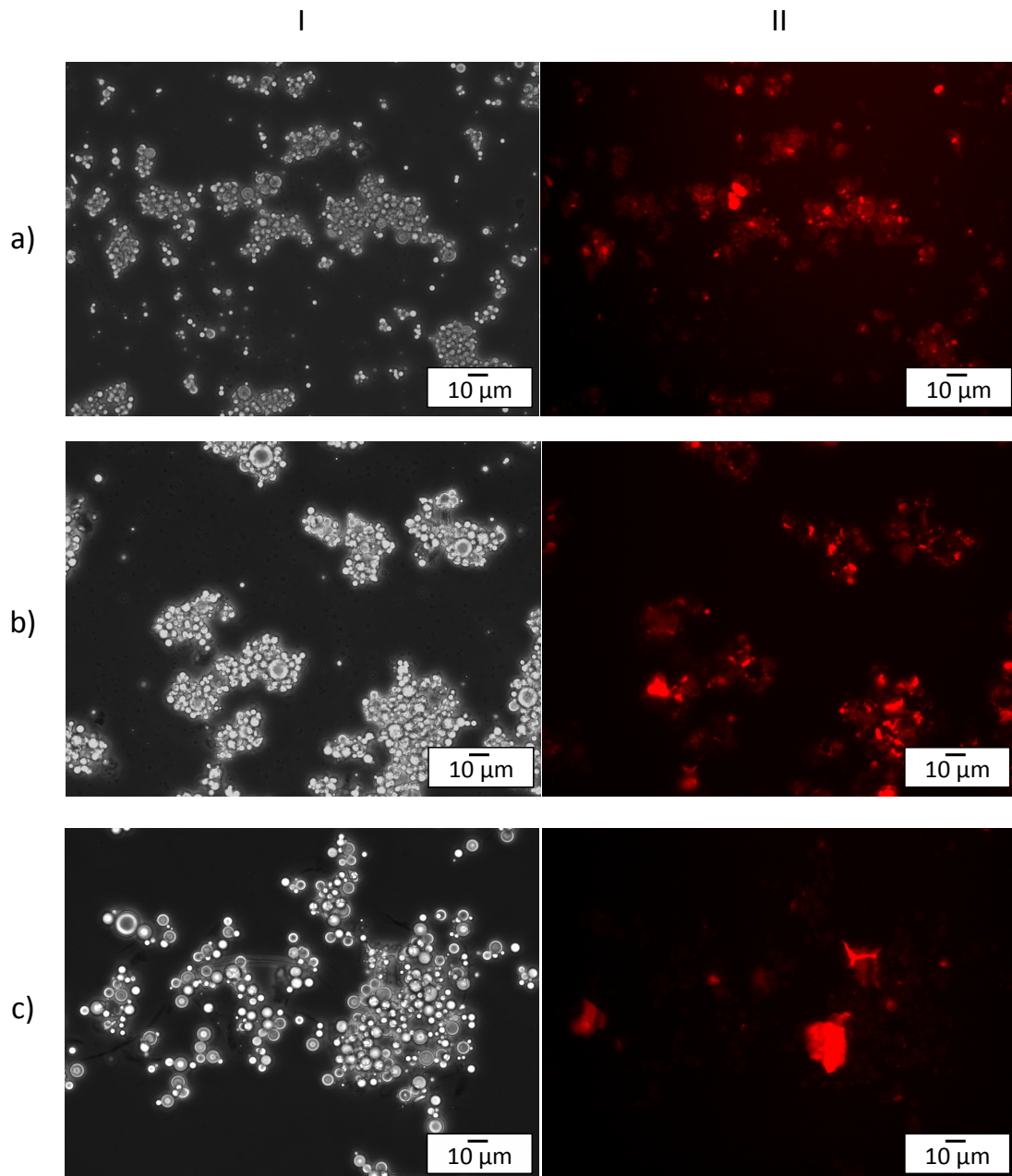


Figure IV-7 Observations en microscopie à contraste de phase (I) et de fluorescence (II), des émulsions fabriquées à l'homogénéisation haute pression avec 2,5 % de a) tourteau de colza, b) poudre de cacao et c) coques de lupin.

En résumé, les coques de lupin ne permettent pas de stabiliser efficacement des émulsions lorsqu'elles ne sont pas dépliées dans les conditions de l'émulsification. Cela peut s'expliquer par un nombre de point d'ancrage très limité en raison de la faible teneur en protéines de la poudre et de la taille initiale très élevée des particules. En revanche, ces particules sont déployées et fragmentées par HHP et semblent stabiliser les gouttes en les piégeant dans un gel fibreux et dense.

Les particules de colza se comportent comme les particules de cacao. Les émulsions fabriquées par HHP ont des caractéristiques similaires bien que le colza contienne proportionnellement moins de particules insolubles. Par ailleurs, le tourteau de colza est plus efficace que le cacao pour la fabrication d'émulsions par UT et US. A ce stade, nous pouvons formuler deux hypothèses :

- Les particules de colza exposent davantage de sites d'ancrage par unité de surface/masse. Cette hypothèse sera évaluée au paragraphe 5.1 en déterminant la surface spécifique, s_f ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) des particules de colza.
- La fraction soluble de la poudre, plus abondante et potentiellement plus fonctionnelle, est impliquée dans la stabilisation. Cette hypothèse sera examinée au paragraphe 4.

Bien que les différences de nature des poudres végétales induisent des nuances, les conclusions du chapitre III concernant l'influence du procédé d'émulsification sur les propriétés des émulsions sont extrapolables au tourteau de colza et aux coques de lupin. En effet, le même classement peut être établi en termes d'aptitude des techniques à affiner les gouttes et à stabiliser les émulsions : $\text{UT} < \text{US} < \text{HHP}$. Nous avons également montré au chapitre III, paragraphe 3.3, que la pression appliquée lors du procédé d'émulsification par HHP influence la taille moyenne des gouttes. Nous avons alors émis l'hypothèse que le dépliement des particules de cacao étant plus prononcé aux hautes pressions, la capacité de couverture des particules est augmentée. En est-il de même pour le tourteau de colza et les coques de lupin ?

3.3. Influence de la pression d'homogénéisation

Deux émulsions ont été homogénéisées à 240 et 800 bars dans les mêmes conditions que précédemment : 2,5 % de poudre dans la phase aqueuse et 20 % d'huile de tournesol. La Figure IV-8 présente les caractéristiques de ces émulsions. Afin de faciliter la comparaison, les résultats obtenus au chapitre III concernant la poudre de cacao sont également reportés. La tendance est la même quelle que soit la poudre végétale : plus la pression d'homogénéisation est élevée, plus l'émulsion est fine et plus sa distribution est étroite. Cette tendance est toutefois à nuancer en fonction la nature de la poudre. L'augmentation de la pression a davantage d'effet dans le cas des coques de lupin puisque le diamètre moyen en volume varie

d'un facteur 2 entre les 2 pressions. Dans le cas du tourteau de colza, le diamètre moyen en volume n'est que faiblement diminué. La capacité de couverture des particules est donc bien augmentée par la pression, même si le gain est plus significatif dans le cas des coques de lupin que dans le cas des particules de colza.

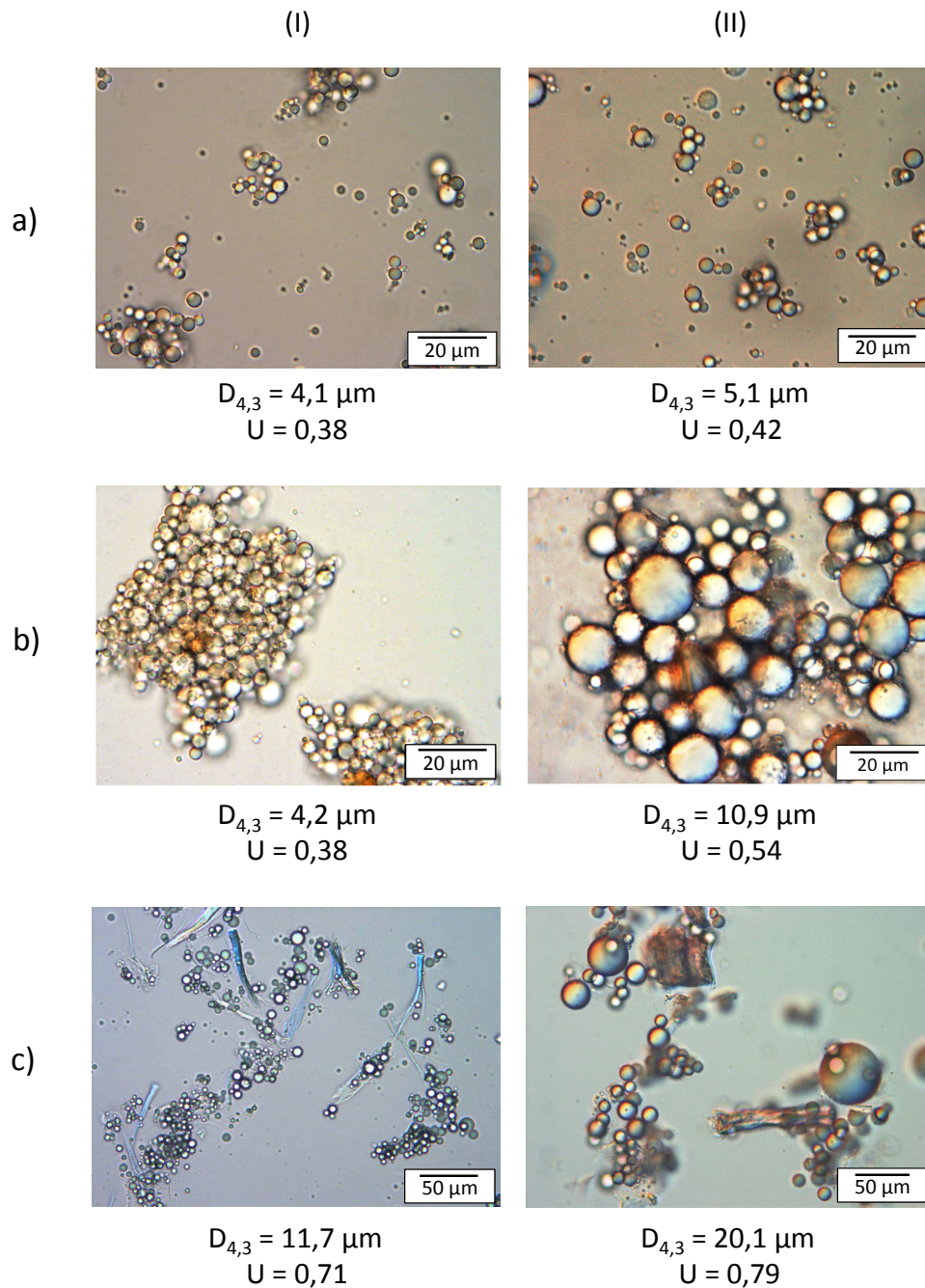


Figure IV-8 Observations microscopiques et principales caractéristiques des émulsions fabriquées par homogénéisation haute pression à (I) 800 bars et (II) 240 bars. Les émulsions contiennent 20 % d'huile et 2,5 % de a) tourteau de colza, b) poudre de cacao et c) coques de lupin.

4. Rôle de la fraction soluble

La fraction soluble du tourteau de colza représente environ 51 % de sa masse. Cette fraction a été quantifiée et caractérisée au sein d'émulsions traitées par UT, puis par HHP. Nous disposons donc d'une caractérisation au niveau des trois étapes de fabrication d'une émulsion par HHP : la dispersion de la poudre dans la phase aqueuse, la pré-émulsification à l'UT et l'homogénéisation à 800 bars. Comme au précédent chapitre, les émulsions sont fabriquées avec 10 % de poudre dans la phase aqueuse afin d'être comparables à la dispersion à 10 % et de réduire les incertitudes liées aux pesées. Les gouttes sont séparées de la phase aqueuse suite à leur crémage induit par centrifugation. Une partie de la phase aqueuse est séchée par lyophilisation et l'autre partie est utilisée pour les dosages de protéines, carbohydrates et polyphénols (voir chapitre II). Le Tableau IV-1 synthétise les résultats.

Tableau IV-1 Proportion et composition de la fraction soluble du tourteau de colza au sein d'une dispersion à 10 % de poudre et d'émulsions fabriquées par Ultra-Turrax[®] et homogénéisation haute pression (800 bars). Les résultats sont exprimés en pourcentages massiques de la poudre introduite dans la phase aqueuse.

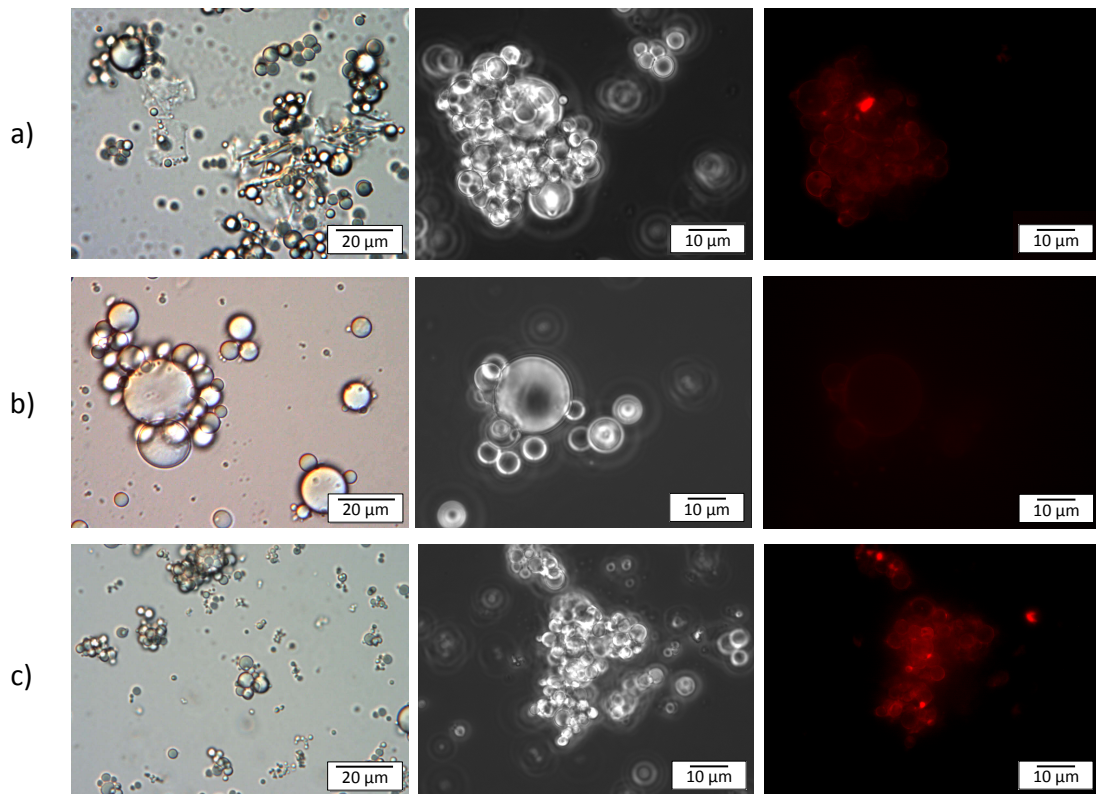
Phase aqueuse de	% de fraction soluble	Protéines (eqBSA)	Polyphénols totaux (eq AcGallique)	Carbohydrates (eqGlucose)
Dispersion	50,7 ± 0,8 %	8,2 ± 1,1 %	0,8 ± 0,1 %	23,1 ± 2,1 %
Emulsion UT	59,1 ± 1,2 %	6,0 ± 0,9 %	1,1 ± 0,1 %	29,3 ± 1,5 %
Emulsion HHP	32,2 ± 1,4 %	3,7 ± 0,3 %	0,8 ± 0,1 %	24,0 ± 3,4 %

L'émulsification par UT permet de solubiliser des composés supplémentaires, notamment des carbohydrates. La proportion de protéines solubles est cependant diminuée, renforçant l'hypothèse énoncée précédemment concernant l'implication des protéines solubles dans la stabilisation de l'émulsion fabriquée par UT. La diminution peut en effet s'expliquer par l'adsorption des protéines à l'interface des gouttes. Les proportions de polyphénols et carbohydrates solubles ne diminuant pas, nous pouvons *a priori* exclure l'hypothèse de la formation de complexes insolubles entre les protéines et ces composés. L'adsorption des protéines est encore plus marquée lorsque l'émulsification est réalisée par HHP. Les résultats indiquent en effet que près de la moitié des protéines ne sont plus dans la phase aqueuse.

Le rôle de la fraction soluble dans la stabilisation de l'émulsion a été évalué en fabriquant deux émulsions par HHP avec un tourteau de colza dépourvu de sa fraction soluble et avec la fraction soluble de ce tourteau uniquement. Ces émulsions sont comparées à l'émulsion de référence dont la phase aqueuse contient 2,5 % de tourteau de colza. Comme la fraction soluble représente près de 51 % de la poudre, elle est présente à hauteur de 1,3 % ($\approx 51 \% \times 2,5 \%$) dans la phase aqueuse de l'émulsion de référence ; la fraction insoluble est quant à elle à 1,2 % ($\approx 2,5 \% - 1,3 \%$). Ces deux fractions de la poudre sont séparées par ultracentrifugation (1 h à 100 000 g) d'une dispersion de tourteau de colza. Le surnageant (contenant la fraction soluble) et le culot (le tourteau de colza sans fraction soluble) sont lyophilisés. Contrairement au cacao, la fraction soluble est ici plus abondante et potentiellement plus fonctionnelle (paragraphe 2). Afin de s'assurer que les procédés de fractionnement de la poudre n'altèrent pas les éventuels pouvoirs émulsifiants des composés solubles (étape de lyophilisation par exemple), nous avons également fabriqué une émulsion à partir de la réunion de deux fractions de la poudre, soluble et insoluble. L'émulsion de référence à 2,5 % de tourteau de colza entier est donc comparée à (Figure IV-9) :

- une émulsion stabilisée par 1,2 % de tourteau de colza sans fraction soluble
- une émulsion stabilisée par 1,3 % de fraction soluble uniquement
- une émulsion stabilisée par 1,2 % de colza sans fraction soluble + 1,3 % de fraction soluble

La Figure IV-9 révèle un effet synergique entre les particules (fraction insoluble) et la fraction soluble du tourteau de colza. En effet, l'émulsion stabilisée par les particules sans fraction soluble est moins fine et moins resserrée que l'émulsion stabilisée par les deux fractions ($D_{4,3}$ de 7,5 et 4,1 μm et U de 0,60 et 0,36, respectivement). La fraction soluble seule, dans les proportions où elle est présente dans l'émulsion de référence, conduit à une émulsion encore plus grossière ($D_{4,3}$ de 17 μm et U de 0,83) et peu stable. Ses propriétés émulsifiantes n'ont pas été altérées par la lyophilisation puisque l'émulsion obtenue à partir de la réunion des deux fractions est totalement identique à l'émulsion stabilisée par le tourteau entier. L'émulsion stabilisée par la fraction soluble uniquement montre une faible fluorescence (Figure IV-9.b).



- × 2,5 % de tourteau de colza entier
- ◆ 1,2 % de tourteau de colza sans fraction soluble
- 1,3 % de fraction soluble uniquement
- △ 1,2 % de tourteau de colza sans fraction soluble et 1,3 % de fraction soluble

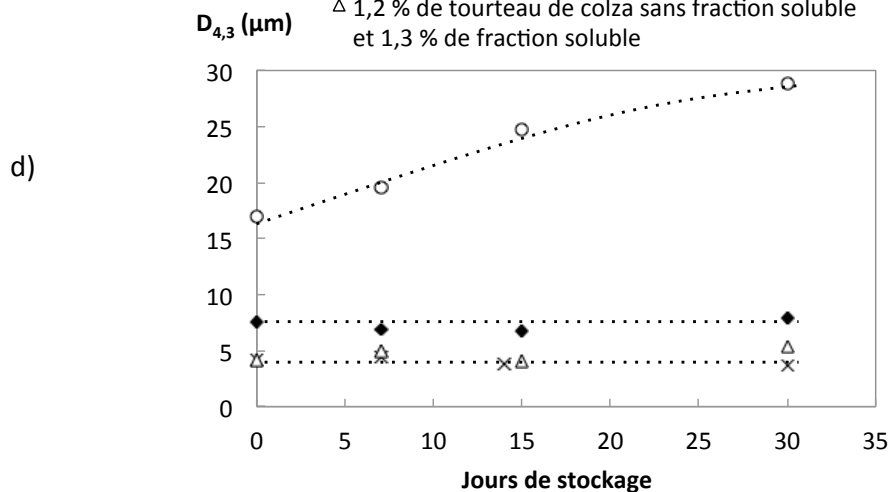


Figure IV-9 Observations en microscopie optique et de fluorescence des émulsions fabriquées par homogénéisation haute pression (800 bars, 20 % d'huile) avec a) 1,2 % de tourteau de colza sans sa fraction soluble, b) 1,3 % de fraction soluble du tourteau de colza et c) 1,2 % de tourteau de colza sans fraction soluble et 1,3 % de fraction soluble – d) Evolution du diamètre moyen en volume de ces émulsions et de l'émulsion à 2,5 % de tourteau de colza entier. Les lignes pointillées sont des guides visuels.

La même étude a été réalisée dans le cas des coques de lupin. Sans surprise, la fraction soluble n'a aucune influence compte tenu de sa faible proportion. Les résultats sont présentés en Annexe.

Nous pouvons conclure que la fraction soluble du tourteau de colza est impliquée dans la stabilisation des émulsions, particulièrement dans le cas d'une émulsification à l'HHP. Cependant, dans les conditions opératoires explorées, à pH 7 notamment, son pouvoir émulsifiant est faible et sa présence n'est pas indispensable à l'obtention d'une émulsion relativement fine et stable. Elle permet de resserrer la distribution granulométrique des gouttes et de diminuer leur diamètre moyen en volume. Elle doit probablement sa fonctionnalité aux protéines, seuls composés parmi ceux analysés dont la concentration diminue dans la phase aqueuse après émulsification. Ces protéines peuvent être sous forme de complexes ou agrégées. Leur faible capacité émulsifiante peut s'expliquer par les traitements subis par le tourteau et les conditions de pH, vraisemblablement non favorables à une stabilisation efficace (ancrage fragile, conformation non idéale).

La stabilisation de nos émulsions vient donc majoritairement de la fraction insoluble des poudres végétales. La fraction soluble est modérément impliquée dans le cas du colza, négligeable dans le cas du cacao et inexistante dans le cas des coques de lupin. Nous allons donc nous intéresser aux conditions de stabilisation par la fraction insoluble, et plus particulièrement au phénomène de coalescence limitée caractéristique des émulsions de Pickering.

5. Régime de coalescence limitée

Dans des conditions précises déjà évoquées dans les chapitres précédents, la taille finale des gouttes est déterminée par la quantité de particules aux interfaces. La quantité totale d'interface S (en m^2) vérifie alors l'équation (Arditty, 2004; Dridi et al., 2018) :

$$S = \frac{6V_d}{D_{3,2}} = s_f m_a \quad (\text{IV-1})$$

où V_d est le volume d'huile (en m^3), $D_{3,2}$ le diamètre moyen en surface des gouttes de l'émulsion (en m), m_a la masse de particules adsorbées aux interfaces (en g) et s_f la surface spécifique (en $m^2 \cdot g^{-1}$), c'est-à-dire la quantité d'interface recouverte par un gramme de particules.

La masse de particules adsorbées m_a est calculée à partir de la masse totale de poudre, m_p , du taux d'ancrage et de la fraction insoluble (49 % pour le tourteau de colza et 97 % pour les coques de lupin) d'après l'équation (IV-2). Il est fait l'hypothèse que la fraction de poudre solubilisée dans l'huile est négligeable.

$$m_a \approx \frac{\text{taux d'ancrage} \times \text{fraction insoluble} \times m_p}{100} \quad (\text{IV-2})$$

L'équation (IV-1) fait intervenir la masse adsorbée, le volume d'huile et le diamètre moyen des particules. L'évolution du diamètre $D_{3,2}$ en fonction de m_a et de V_d nous permettra donc d'évaluer si le phénomène de coalescence limitée détermine la taille finale des gouttes des émulsions stabilisées par le tourteau de colza et les coques de lupin. Si tel est le cas, la relation entre les variables précédentes fera intervenir une valeur unique du paramètre s_f . Cette valeur peut être mesurée en faisant varier m_a à volume d'huile V_d constant, la pente de la droite $S = f(m_a)$ étant alors égale à s_f (équation (IV-1)). Mais il est également possible de faire varier V_d à m_p constante, la pente de la droite $D_{3,2}m_a = f(V_d)$ est alors inversement proportionnelle à s_f d'après l'équation (IV-3) :

$$D_{3,2}m_a = \frac{6}{s_f}V_d \quad (\text{IV-3})$$

Pour chacune des poudres, nous avons cherché le régime de coalescence limitée et la valeur de la surface spécifique à V_d puis m_p constants.

5.1. Cas du tourteau de colza

Plusieurs émulsions de même masse totale (20 g) ont été fabriquées à l'HHP à une pression d'homogénéisation de 800 bars :

- la quantité de particules varie à quantité d'huile constante, pour trois fractions d'huile différentes : 10, 20 et 30 %. Le pourcentage massique de tourteau de colza dans la phase aqueuse varie de 1 à 15 % (m_p de 0,15 à 2,5 g).
- la fraction d'huile varie de 10 à 50 % à masse de poudre m_p constante, égale à 0,3 g soit 1,5 % de l'émulsion totale.

Le diamètre moyen en surface $D_{3,2}$ de chacune de ces émulsions est mesuré par granulométrie laser le jour même de la fabrication. Tous les taux d'ancrage sont de $90 \pm 5 \%$ et les uniformités, U , restent proches de 40 %. La surface totale des gouttes S , est tracée en fonction de m_a sur la Figure IV-10.a) et le produit $D_{3,2}m_a$ en fonction de V_d sur la Figure IV-10.b).

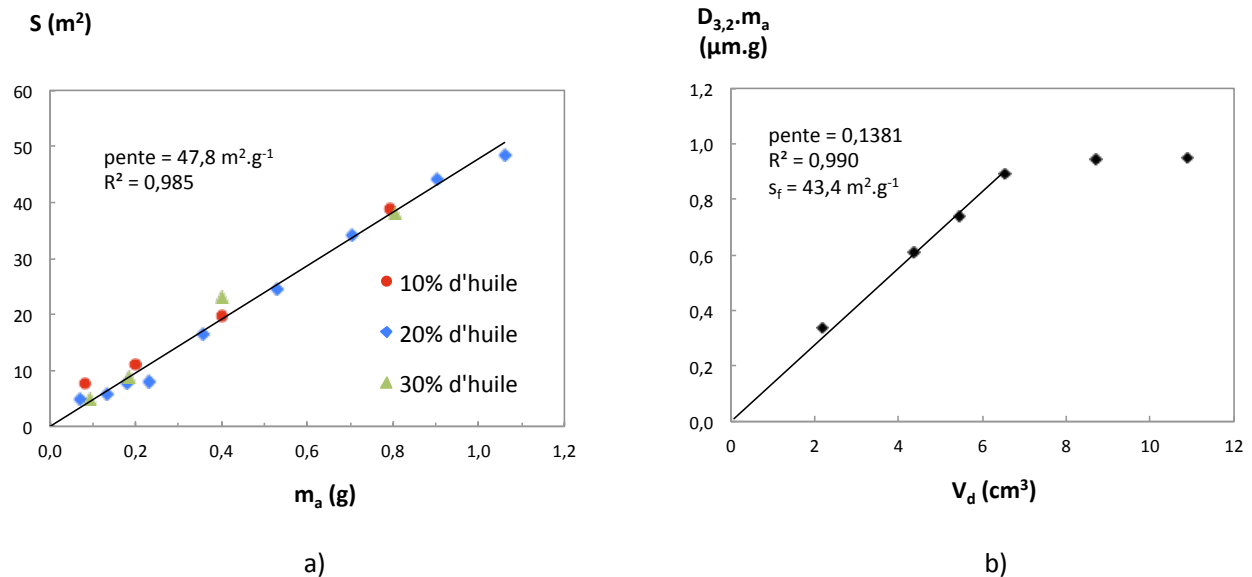


Figure IV-10 Emulsions fabriquées à l'homogénéisation haute pression (800 bars) stabilisées par le tourteau de colza : relation entre diamètre moyen en surface des gouttes, masse de particules adsorbées et volume d'huile lorsque a) le volume d'huile est constant et la masse de particules totales varie et b) la masse de particules totales est constante et le volume d'huile varie.

Le régime linéaire de la Figure IV-10.a) est commun aux trois fractions d'huile et reflète l'existence d'une valeur unique du paramètre de couverture s_f . Ce régime s'étend sur toute la gamme de concentrations en particules. La surface spécifique des particules de colza, $47,8 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, est très supérieure à celle du cacao, $16,9 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, mais nettement inférieure à celle généralement obtenue pour les protéines, entre 500 et 1 000 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ (Dimitrova et al., 2004; Dridi et al., 2018; Tcholakova et al., 2002). Ce résultat est en accord avec les données du paragraphe 4 où nous avons montré que la fraction hydrosoluble du tourteau de colza, bien qu'abondante, a une faible influence sur la stabilisation. La comparaison des valeurs de s_f nous amène à conclure que les particules insolubles du tourteau de colza contiennent davantage de sites d'ancrage que les particules de cacao, par unité de masse.

La Figure IV-10.b) révèle l'existence d'un domaine d'évolution linéaire de $D_{3,2}m_a$ en fonction de V_d , pour des fractions d'huile comprises entre 10 et 30 %. Bien que légèrement plus faible, la valeur de la surface spécifique établie précédemment est confirmée par la pente

de ce régime linéaire. Au-delà de 30 % d'huile, les diamètres moyens des gouttes sont inférieurs à ceux prédits par le premier régime et ils évoluent très peu avec la quantité d'huile. Nous avons observé la même tendance avec les particules de cacao. Les morphologies de ces particules après le traitement à l'HHP étant similaires, nous pouvons émettre la même hypothèse : la distance moyenne entre les gouttes diminue lorsque la concentration en huile augmente, favorisant la formation de ponts entre elles *via* les particules. La dynamique des gouttes étant bloquée, le phénomène de coalescence limitée est interrompu à un stade plus précoce et les gouttes sont plus fines.

Comme attendu, la taille moyenne des gouttes d'huile diminue avec la concentration en particules et augmente avec la fraction d'huile. La valeur de la surface spécifique des particules de colza est unique pour des fractions d'huile inférieures à 30 % et quelle que soit la concentration en poudre (dans la gamme étudiée). Les émulsions les plus concentrées en particules et/ou en huile s'apparentent à des gels (Figure IV-11). L'émulsion la plus fine de notre étude contient 10 % d'huile et 10 % de tourteau de colza dans la phase aqueuse. Son diamètre moyen en volume est de 0,40 μm et son uniformité est de 0,36.

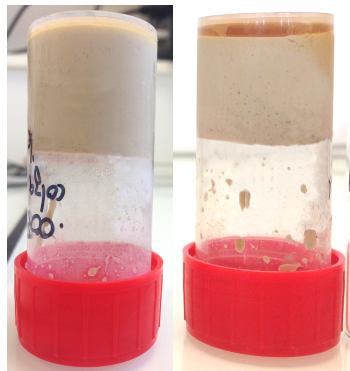


Figure IV-11 Emulsion à 20 % d'huile de tournesol et 15 % de tourteau de colza le jour de sa fabrication (à gauche) et après 7 jours de stockage (à droite).

La fraction soluble du tourteau de colza n'a pas été prise en compte dans la précédente analyse, compte tenu de la définition du taux d'ancrage. Cependant, les diamètres des gouttes mesurés sont bien issus d'une stabilisation par les deux fractions, même si leurs implications ne sont pas égales. L'émulsion stabilisée par 1,2 % de tourteau de colza dépourvu de sa fraction soluble présentée précédemment (paragraphe 4) peut nous donner une indication du paramètre de couverture des particules en absence de fraction soluble. Le diamètre moyen en surface est alors de 4,7 μm , contre 3,5 μm pour l'émulsion de référence stabilisée par le

tourteau entier. La masse de particules adsorbées est calculée à partir de l'équation (IV-2) en considérant la fraction soluble nulle et un taux d'ancrage de 90 %. La surface spécifique effective calculée d'après l'équation (IV-1) (20 % d'huile) est alors de $32,7 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, assez proche de la valeur estimée pour l'émulsion à base de tourteau entier, $41,4 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Ainsi, même si nous avons légèrement surestimé la valeur de la surface spécifique moyenne en négligeant l'adsorption d'une partie de la fraction soluble, la surface spécifique du tourteau de colza reste supérieure à celle du cacao et largement inférieure à celle des protéines.

5.2. Cas des coques de lupin

Le comportement rhéologique après HHP d'une dispersion et/ou d'une émulsion aux coques de lupin restreint la gamme de concentrations en poudre accessibles. A 20 % d'huile, au-delà de 3 % de coques de lupin dans la phase aqueuse (soit 2,4 % de l'émulsion totale), le système est très visqueux et il devient impossible de fabriquer une émulsion dans les mêmes conditions que précédemment (6 passages à 800 bars). En effet, le système se gélifie plus ou moins rapidement selon les formulations et l'appareil ne parvient plus à faire re-circuler ce gel dans la chambre d'homogénéisation. L'obstruction des canaux est également plus fréquente.

Plusieurs émulsions de même masse totale (20 g) ont été fabriquées à l'HHP à une pression d'homogénéisation de 800 bars. La fraction d'huile varie de 2,5 à 50 % à masse de poudre constante, égale à 0,15 g (0,75 % de l'émulsion totale, contre 1,5 % pour les études avec le cacao et le colza). La courbe obtenue en traçant le produit $D_{3,2}m_a$ en fonction de V_d est présentée sur la Figure IV-10.b). Le diamètre moyen en surface des gouttes augmente linéairement avec la fraction d'huile pour les fractions inférieures à 30 % ($V_d < 6 \text{ cm}^3$). La surface spécifique déduite de la pente est de $11,4 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Pour des fractions d'huile plus élevées, la tendance est inversée et le diamètre diminue avec la quantité d'huile. La coalescence limitée est donc interrompue à des stades de plus en plus précoces au fur et à mesure que le réseau de particules se densifie et que les gouttes perdent en mobilité. Bien que les mesures n'aient pas été réalisées, nous avons observé que la viscosité des émulsions augmente sensiblement avec la fraction d'huile dans le régime non linéaire. Sur la Figure IV-12.a) nous reportons l'évolution de la surface totale des gouttes, S , en fonction de m_a , à fraction d'huile constante (20 et 30 %). La relation linéaire entre le diamètre moyen des

gouttes et la masse de particules aux interfaces est confirmée, et la pente de $12 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ est conforme à la valeur obtenue précédemment.

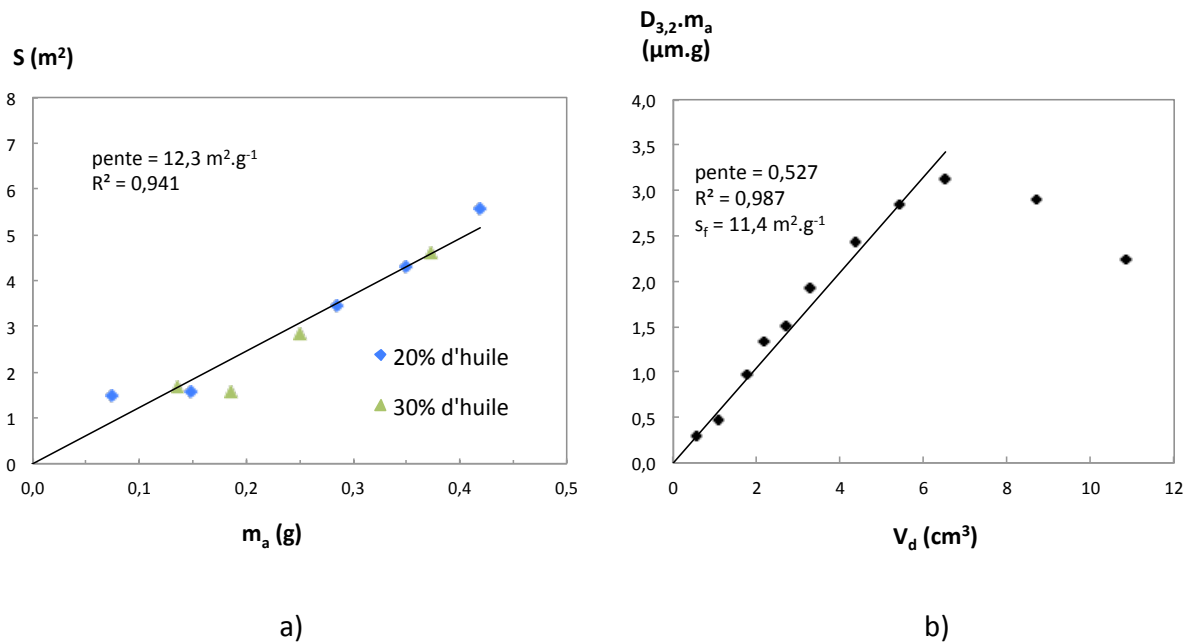


Figure IV-12 Emulsions fabriquées à l'homogénéisation haute pression (800 bars) stabilisées par les coques de lupin : relation entre diamètre moyen en surface des gouttes, masse de particules adsorbées et volume d'huile lorsque a) le volume d'huile est constant et la masse de particules totales varie et b) la masse de particules totales est constante et le volume d'huile varie.

Un régime dans lequel nos systèmes vérifient l'équation (IV-1) a donc été mis en évidence pour les 3 types de particules. Il existe pour chacune de ces poudres des conditions dans lesquelles la taille des gouttes peut être contrôlée grâce au phénomène de coalescence limitée. Si l'on se réfère aux valeurs des surfaces spécifiques, le tourteau de colza est la poudre végétale la plus performante pour stabiliser des émulsions, suivie par la poudre de cacao et enfin par les coques de lupin.

6. Etude du pouvoir antioxydant du tourteau de colza

Le colza contient de nombreux composés phénoliques : majoritairement la sinapine, l'acide sinapique et ses esters, ainsi que le canolol (Liu et al., 2012). La sinapine peut s'hydrolyser pour former l'acide sinapique, qui lui-même est décarboxylé en canolol sous l'effet de la température. Cette transformation a lieu dans les conditions de traitements habituels des tourteaux (Zago et al., 2015). Ces composés sont peu solubles dans l'eau (Siger et al., 2013; Thiyam-Holländer et al.). Comme évoqué au début de ce chapitre, les teneurs en

polyphénols totaux du tourteau de colza varient en fonction des techniques d'extraction et de caractérisation mais sont généralement comprises entre 10 et 35 mg.g⁻¹ de tourteau (Liu et al., 2012; Thiyam et al., 2004; Zago et al., 2015). Ces valeurs sont plus faibles que dans la poudre de cacao, qui varient entre 40 et 70 mg.g⁻¹ de cacao (Carrillo et al., 2014; Hii et al., 2009).

Pour le tourteau de colza, nous allons adopter la même démarche expérimentale que celle développée avec la poudre de cacao. Ainsi, nous étudierons le pouvoir antioxydant potentiel de ce tourteau en suspension dans de l'huile de lin en phase continue, dans une émulsion à base de cette même huile, puis au chapitre V dans une poudre sèche obtenue par déshydratation de cette émulsion. La formulation doit donc être adaptée pour faciliter le séchage. L'émulsion mère (avant déshydratation) est composée :

- de tourteau de colza dépelliculé : 8,8 % relativement à la phase aqueuse (soit 7,5 % de l'émulsion totale)
- d'huile de lin : 15 %
- d'un additif de séchage, le lactose : 10 % relativement à la phase aqueuse (soit 7,75 % de l'émulsion totale)

Cette émulsion a été préparée avec un homogénéisateur haute pression (ALM, Pierre Guérin).

6.1. Cinétiques d'oxydation de l'huile de lin en phase continue en présence du tourteau de colza

Les cinétiques d'oxydation sont obtenues en mesurant l'absorbance spécifique à 233 nm de l'huile de lin après différents temps de stockage à 60°C (vieillessement accéléré, voir chapitres II et III). Nous retiendrons que la valeur limite de l'absorbance spécifique pour une alimentation humaine est de 0,31. Elle sera systématiquement reportée sur les figures.

Les cinétiques d'oxydation de l'huile de lin non traitée a été déterminée au chapitre III et sera notre référence. La simple présence du tourteau de colza dans l'huile (dans les proportions 2 (huile) pour 1 (tourteau)) ralentit considérablement l'oxydation de l'huile de lin en phase continue puisque la limite haute d'oxydation de l'huile est atteinte, après plus de 10 jours à 60°C contre 3 jours sans colza (Figure IV-13).

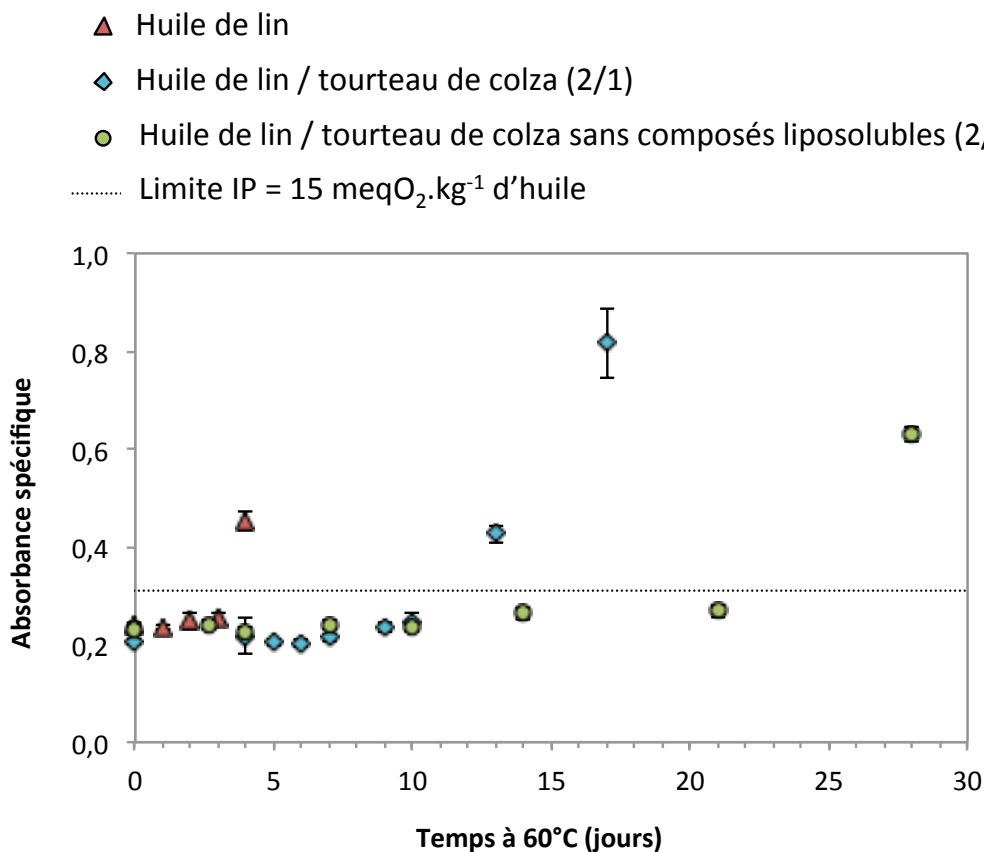


Figure IV-13 Evolution de l'absorbance spécifique à 233 nm de l'huile de lin brute, d'un mélange huile de lin / tourteau de colza et d'un mélange huile de lin / tourteau de colza lavé à l'huile, lors d'un stockage à 60°C, à l'obscurité.

Pour évaluer l'implication des composés liposolubles dans l'amélioration du statut oxydatif de l'huile, nous avons soumis au vieillissement accéléré un mélange d'huile de lin et de tourteau de colza dépourvu de sa fraction liposoluble (lavé avec la même huile de lin et/ou à l'hexane). La cinétique d'oxydation de ce mélange (Figure IV-13), montre que la stabilité de l'huile est améliorée. Ceci suggère qu'un lavage à l'huile éliminerait des composés liposolubles soit pro-oxydants, soit propagateurs des réactions d'oxydation. Des dosages dans les huiles de lavage permettraient d'évaluer ces hypothèses. Le tourteau de colza contenant encore 2 % d'huile de colza résiduelle (voir chapitre II, paragraphe 1) a été stocké sans précaution particulière vis-à-vis de l'oxydation. Les composés pro-oxydants et/ou propagateurs pourraient provenir de cette huile résiduelle dans le tourteau, éliminée grâce au lavage.

Ainsi, le tourteau de colza protège de manière très significative l'oxydation lorsqu'il est ajouté à une huile de lin en phase continue, et ce caractère antioxydant peut être optimisé par une « délipidation » du tourteau à 100 %. Nous savons que des composés lipophiles sont pro-oxydants et/ou propagent l'oxydation. Nous n'avons cependant pas d'indication sur les mécanismes et les composés antioxydants impliqués. Il serait par exemple intéressant de doser dans ces huiles au cours du stockage certains composés liposolubles antioxydants comme la sinapine ou l'acide sinapique car leur solubilisation pourrait être favorisée par la température élevée adoptée lors du vieillissement accéléré. Notons que la cinétique d'oxydation d'un mélange d'huile de lin et de tourteau de colza dépourvu de sa fraction hydrosoluble est identique à celle du mélange d'huile et de tourteau entier (cinétique non reportée).

6.1. Influence du procédé d'émulsification sur l'oxydation de l'huile de lin et la composition en antioxydants

Avant de soumettre l'émulsion au vieillissement accéléré, il convient de vérifier l'influence de l'émulsification sur l'état d'oxydation de l'huile ainsi que sur la concentration de certains antioxydants. Nous avons dosé les diènes conjugués dans l'huile à chaque étape de fabrication de l'émulsion (pré-émulsification à l'UT et HHP) et plusieurs composés susceptibles d'être impliqués dans les réactions d'oxydation :

- les tocophérols dans l'huile de lin (chapitre I, paragraphe 4.5.b)
- les polyphénols totaux dans la phase aqueuse (après avoir vérifié que le lactose n'interfère pas dans le dosage). Ils sont ici exprimés en équivalent acide sinapique
- L'acide sinapique dans la phase aqueuse

Les concentrations en protéines ne sont pas reportées car le réactif de Bradford réagit identiquement avec une protéine oxydée ou non et ne renseigne donc pas sur leur dénaturation (les méthodes de dosages ont été décrites au chapitre II, paragraphe 6.6). Les résultats sont présentés sur la Figure IV-14.

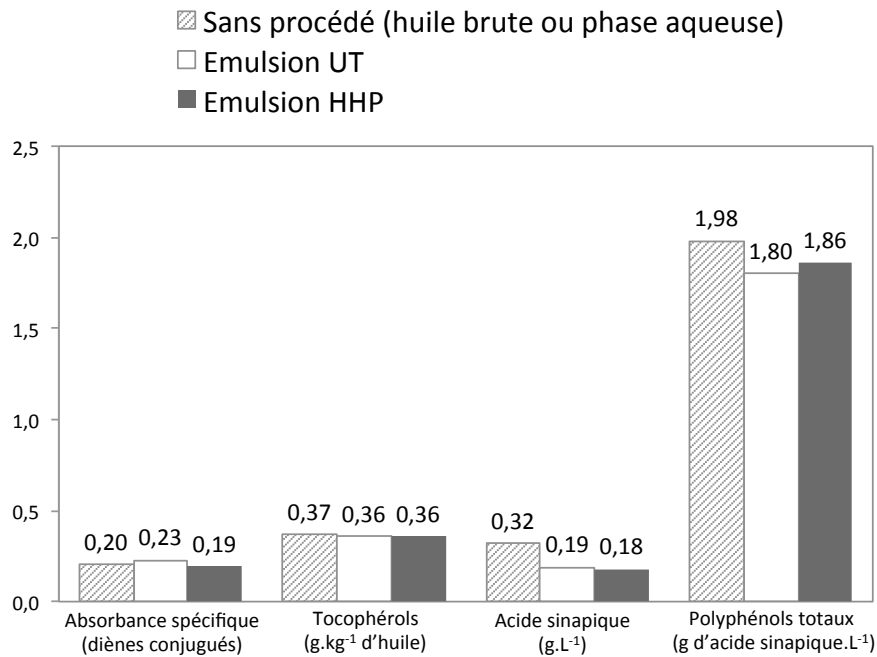


Figure IV-14 Absorbances spécifiques de l'huile à 233 nm et concentrations en tocophérols (dans l'huile), acide sinapique et polyphénols totaux (dans la phase aqueuse) à chaque étape de fabrication de l'émulsion stabilisée par le tourteau de colza

Dans la limite de sensibilité des méthodes utilisées, ni les tocophérols ni les diènes conjugués n'évoluent significativement au sein de l'huile de lin. Le procédé d'émulsification n'a donc pas d'effet sur ces composés. En revanche, une partie de l'acide sinapique hydrosoluble (et donc une partie des polyphénols totaux) n'est plus présente dans la phase aqueuse dès la pré-émulsification à l'UT. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer cette diminution : une réaction de l'acide sinapique avec les composés radicalaires et/ou une adsorption partielle de la fraction soluble du tourteau de colza aux interfaces des gouttes, cohérente avec l'implication de cette fraction dans la stabilisation physique de l'émulsion (voir paragraphe 4). Cette adsorption pourrait résulter de la formation de complexes avec les protéines (Shahidi, Naczki, 1992).

6.2. Cinétique d'oxydation de l'huile de lin dans l'émulsion stabilisée par le tourteau de colza

Nous avons, dans un premier temps, évalué la cinétique d'oxydation de l'huile dans l'émulsion stabilisée par le tourteau de colza pendant un temps de stockage court (4 jours) à 60°C. Aucun déphasage n'a été observé pendant la durée du stockage et les mesures granulométriques reportées dans le Tableau IV-2 confirment la bonne stabilité physique de l'émulsion à 60°C. Comme observé pour l'huile en présence de tourteau de colza et contrairement à l'huile de lin en phase continue, l'huile émulsionnée n'est pas oxydée après 4 jours de stockage : son absorbance spécifique est faible ($0,23 \pm 0,01$) et inférieure à la valeur limite de 0,31.

Tableau IV-2 Stabilité physique de l'émulsion après 4 jours de stockage, à 60°C.

	D _{4,3} (µm)	D _{3,2} (µm)	U
t ₀	2,4	1,9	0,39
4 jours	3,6	2,8	0,41

Nous avons prolongé l'étude du vieillissement accéléré pendant 21 jours. Le diamètre des gouttes n'a pas été mesuré mais aucun déphasage n'a été observé après ce temps de stockage. La Figure IV-15 montre que l'huile de lin en émulsion est conforme à la réglementation jusqu'à 10 jours de stockage à 60°C. Sa cinétique d'oxydation est plus lente que l'huile en phase continue et mélangée avec le tourteau de colza. Néanmoins, les teneurs en diènes conjugués restent supérieures à celles de l'huile en phase continue mélangée avec le tourteau de colza « délipidé » à 100 %. Dans la forme émulsionnée, les composés pro-oxydants ou propagateurs issus du tourteau de colza « partiellement » délipidé sont vraisemblablement dilués dans l'huile de lin, et par conséquent « confinés » dans les gouttes. Ceci qui pourrait inhiber la propagation des réactions.

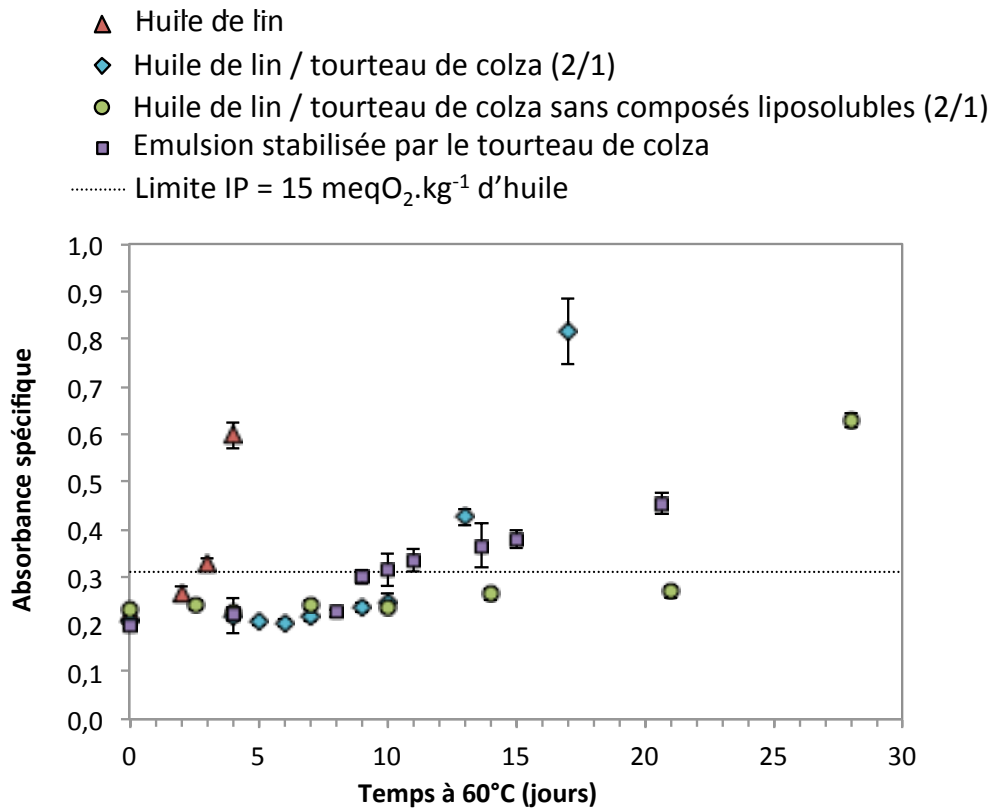


Figure IV-15 Evolution de l'absorbance spécifique à 233 nm d'une huile au sein d'une émulsion stabilisée par le tourteau de colza comparée aux huiles non formulées.

Les polyphénols totaux et l'acide sinapique hydrosolubles ont été dosés dans les phases aqueuses au cours du stockage. Les résultats sont présentés sur la Figure IV-16.

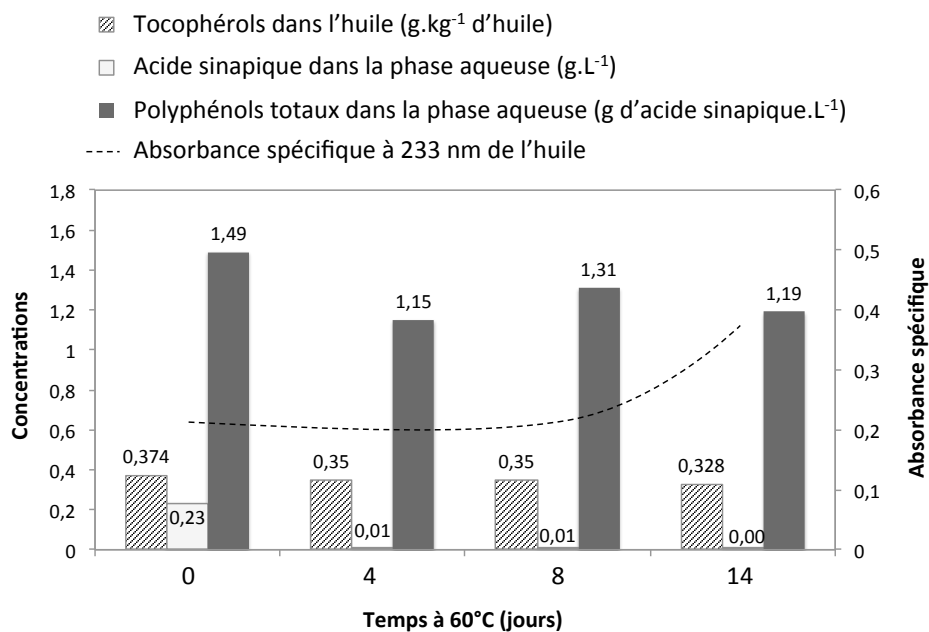


Figure IV-16 Evolution au cours du stockage à 60°C des tocophérols (dans l'huile), de l'acide sinapique et des polyphénols totaux (dans la phase aqueuse) au regard de l'évolution de l'absorbance spécifique à 233 nm.

La concentration d'acide sinapique hydrosoluble (et donc une partie des polyphénols totaux) est quasiment nulle après 4 jours de vieillissement. Cette diminution n'est pas liée à une décarboxylation de l'acide sinapique en canolol, ce dernier n'ayant pas été détecté dans la phase aqueuse. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées :

- à l'interface, l'acide sinapique réagit avec les composés radicalaires de l'huile. La diminution de sa concentration n'est pas corrélée à l'augmentation de la teneur en diènes conjugués mais l'acide sinapique n'est pas le seul composé antioxydant présent.
- une complexation accrue avec les protéines qui pourraient changer de conformation suite à l'augmentation de la température (ce processus pourrait avoir lieu soit à l'interface soit avec les protéines solubles)
- une augmentation de la solubilité de l'acide sinapique en phase huileuse à 60°C.

Ainsi, l'amélioration de la stabilité oxydative de l'huile de lin émulsionnée pourrait faire intervenir l'acide sinapique. Les tocophérols dans l'huile ont parallèlement été analysés au cours du stockage. La Figure IV-16 indique que, dans la limite de sensibilité des méthodes utilisées, ces composés ne sont pas consommés. Il aurait été intéressant d'analyser, dans l'huile, l'évolution au cours du stockage de l'acide sinapique et des polyphénols totaux liposolubles. Ce dosage nécessite l'adaptation du protocole (notamment l'ajout d'une étape d'extraction) ainsi qu'une quantité plus importante d'émulsion à soumettre au vieillissement pour extraire davantage d'huile.

Si les particules de colza à l'interface peuvent constituer une barrière physique et protéger de l'oxydation (Carneiro et al., 2013; Kargar et al., 2012), des études complémentaires seront donc nécessaires pour expliquer l'origine du caractère antioxydant des formulations contenant le tourteau de colza. Ces études pourraient notamment concerner les composés présents dans la phase grasse et être menées sur des formulations davantage oxydées pour observer plus facilement des évolutions significatives. En effet, l'huile la plus oxydée analysée a un IP relativement faible de 22 $m_{eq}\cdot O_2\cdot kg^{-1}$. L'implication des protéines, abondantes dans le tourteau de colza, est également à examiner.

7. *Résumé des résultats du chapitre IV*

Dans ce chapitre, nous avons fabriqué des émulsions en utilisant plusieurs poudres dont les compositions reflètent un large choix de sources végétales. Les conclusions et tendances du chapitre précédent énoncées pour la poudre de composition intermédiaire sont confirmées bien que nuancées. S'il apparaît qu'un tourteau riche en composés amphiphiles (protéines) conduit à des émulsions plus fines (jusqu'à 1 μm , voire de tailles inférieures) et plus stables (pendant au moins 90 jours), il est possible d'obtenir des émulsions performantes à partir d'une poudre pauvre en protéines en adaptant les procédés ou les quantités de particules.

La stabilisation est principalement déterminée par la fraction insoluble, même dans le cas d'une poudre riche en composés hydrosolubles telle que le tourteau de colza. L'état de surface et la morphologie des particules insolubles sont des paramètres clés pour la stabilisation.

Une relation linéaire entre quantité de particules aux interfaces et taille de gouttes a été mise en évidence pour chacune des poudres. L'étendue de ce régime linéaire varie avec la teneur en composés amphiphiles, tout comme le paramètre de couverture des gouttes (entre 12 et 48 m^2 d'interface recouverte par gramme de particules selon la poudre).

Quelle que soit l'origine de la poudre, il est possible de trouver des conditions pour lesquelles les émulsions de Pickering obtenues sont calibrées et stables d'un point de vue physique. De plus, les poudres végétales contenant des composés antioxydants améliorent la stabilité chimique des émulsions. Nous avons en effet montré que l'oxydation d'une huile de lin est nettement retardée dans le cas d'une stabilisation par un tourteau de colza. Si les mécanismes à l'origine de ce caractère antioxydant semblent varier avec la nature de la poudre, ils n'ont pas été élucidés de façon précise.

Il apparaît que la résistance de l'huile de lin à un vieillissement accéléré est très dépendante du tourteau de colza (natif ou « délipidé ») et de la formulation (huile en phase continue ou émulsionnée). Ceci suggère que le tourteau contient de nombreuses molécules au caractère anti ou pro-oxydant. En fonction des différents traitements appliqués, un type de molécules peut prévaloir sur l'autre.

Références :

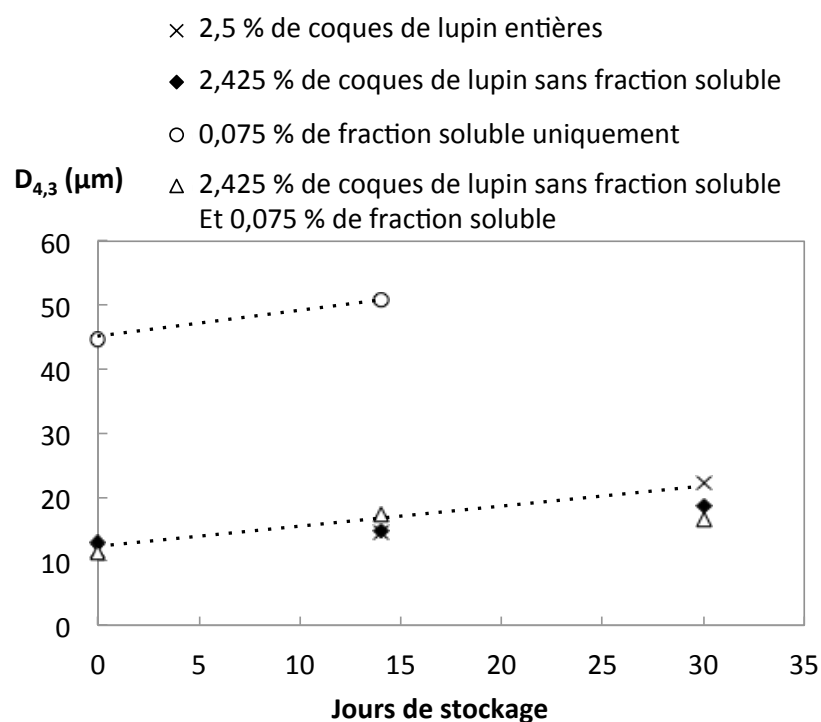
- Amarowicz, R., Fornal, J., Karamac, M., Shahidi, F. (2001). Antioxidant activity of extracts of phenolic compounds from rapeseed oil cakes. *J. Food Lipids* 8, 65–74.
- Arditty, S. (2004). Fabrication, stabilité et propriétés rhéologiques des émulsions stabilisées par des particules colloïdales. PhD Thesis.
- Bailey, R.W., Mills, S.E., Hove, E.L. (1974). Composition of sweet and bitter lupin seed hulls with observations on the apparent digestibility of sweet lupin seed hulls by young rats. *J. Sci. Food Agric.* 25, 955–961.
- Bardeau, T. (2015). Phospholipides bio-sourcés riches en acides gras oméga 3 pour la formulation de liposomes. PhD Thesis. Université de Bordeaux.
- Carneiro, H.C.F., Tonon, R.V., Grosso, C.R.F., Hubinger, M.D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *J. Food Eng.* 115, 443–451.
- Carrillo, L.C., Londoño-Londoño, J., Gil, A. (2014). Comparison of polyphenol, methylxanthines and antioxidant activity in *Theobroma cacao* beans from different cocoa-growing areas in Colombia. *Food Res. Int.* 60, 273–280.
- Dimitrova, T.D., Leal-Calderon, F., Gurkov, T.D., Campbell, B. (2004). Surface forces in model oil-in-water emulsions stabilized by proteins. *Adv. Colloid Interface Sci.* 108-109, 73–86.
- Dridi, W., Harscoat-Schiavo, C., Monteil, J., Faure, C., Leal-Calderon, F. (2018). Monodisperse Oil-in-Water Emulsions Stabilized by Proteins: How To Master the Average Droplet Size and Stability, While Minimizing the Amount of Proteins. *Langmuir* 34, 9228–9237.
- Górecka, D., Lampart-Szczapa, E., Janitz, W., Sokolowska, B. (2000). Composition of fractional and functional properties of dietary fiber of lupines (*L. luteus* and *L. albus*). *Nahrung/Food* 44, 229–232.
- Hii, C., Law, C., Sharif, S., Jati, M., Cloke, M. (2009). Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Asian J. Food Agro-Ind.* 2, 702–722.
- Karefyllakis, D., Altunkaya, S., Berton-Carabin, C.C., van der Goot, A.J., Nikiforidis, C.V. (2017). Physical bonding between sunflower proteins and phenols: Impact on interfacial properties. *Food Hydrocoll.* 73, 326–334.
- Kargar, M., Fayazmanesh, K., Alavi, M., Spyropoulos, F., Norton, I.T. (2012). Investigation into the potential ability of Pickering emulsions (food-grade particles) to enhance the oxidative stability of oil-in-water emulsions. *J. Colloid Interface Sci.* 366, 209–215.

- Leming, R., Lember, A. (2005). Chemical composition of expeller-extracted and cold-pressed rapeseed cake. *Agraarteadus 16*, 103–109.
- Liu, Q., Wu, L., Pu, H., Li, C., Hu, Q. (2012). Profile and distribution of soluble and insoluble phenolics in Chinese rapeseed (*Brassica napus*). *Food Chem. 135*, 616–622.
- Nioi, C., Kapel, R., Rondags, E., Marc, I. (2012). Selective extraction, structural characterisation and antifungal activity assessment of napins from an industrial rapeseed meal. *Food Chem. 134*, 2149–2155.
- Qu, W., Zhang, X., Han, X., Wang, Z., He, R., Ma, H. (2018). Structure and functional characteristics of rapeseed protein isolate-dextran conjugates. *Food Hydrocoll.*
- Shahidi, F., Naczk, M. (1992). An overview of the phenolics of canola and rapeseed: chemical, sensory and nutritional significance. *J. Am. Oil Chem. Soc. 69*, 917–924.
- Siger, A., Czubinski, J., Dwiecki, K., Kachlicki, P., Nogala-Kałucka, M. (2013). Identification and antioxidant activity of sinapic acid derivatives in *Brassica napus* L. seed meal extracts. *Eur. J. Lipid Sci. Technol. 115*, 1130–1138.
- Tcholakova, S., Denkov, N.D., Ivanov, I.B., Campbell, B. (2002). Coalescence in β -Lactoglobulin-Stabilized Emulsions: Effects of Protein Adsorption and Drop Size. *Langmuir 18*, 8960–8971.
- Terres Inovia, L.J., Terres Univia (2018). Qualité des graines - Colza récolte 2017 [en ligne : http://www.terresunivia.fr/sites/default/files/articles/publications/cultures_utilisations/qualite_graines/QG_colza_2017.pdf].
- Terres Univia (2016a). Les tourteaux d'oléagineux [en ligne : <http://www.terresunivia.fr/produitsdebouches/alimentation-animale/tourteaux-d-oleagineux>].
- Terres Univia (2016b). Les protéagineux [en ligne : <http://www.terresunivia.fr/produitsdebouches/alimentation-animale/peagineux>].
- Thiyam, U., Kuhlmann, A., Stöckmann, H., Schwarz, K. (2004). Prospects of rapeseed oil by-products with respect to antioxidative potential. *Comptes Rendus Chim. 7*, 611–616.
- Thiyam-Holländer, U., Aladedunye, F., Logan, A., Yang, H., Diehl, B.W.K. Identification and quantification of canolol and related sinapate precursors in Indian mustard oils and Canadian mustard products. *Eur. J. Lipid Sci. Technol. 116*, 1664–1674.
- Zago, E., Lecomte, J., Barouh, N., Aouf, C., Carré, P., Fine, F., Villeneuve, P. (2015). Influence of rapeseed meal treatments on its total phenolic content and composition in sinapine, sinapic acid and canolol. *Ind. Crops Prod. 76*, 1061–1070.

Annexe

Rôle de la fraction soluble du lupin dans la fabrication et la stabilisation d'une émulsion :
évolution du diamètre moyen en volume des gouttes d'émulsions stabilisées par :

- 2,425 % (97 % de 2,5 %) de coques de lupin sans fraction soluble
- 0,075 % (3 % de 2,5 %) de fraction soluble uniquement
- 2,425 % de coques de lupin sans fraction soluble + 0,075 % de fraction soluble



La proportion de fraction soluble dans les coques de lupin est très faible, de l'ordre de 3 % et elle n'a aucune influence sur l'émulsification et les propriétés des émulsions.

V. Déshydratation d'émulsions stabilisées par des particules végétales : fabrication d'émulsions sèches redispersables

1. Introduction

Ce chapitre traite de la déshydratation d'émulsions de type H/E stabilisées par les particules végétales étudiées aux chapitres précédents. Les émulsions stabilisées par des particules offrent une alternative intéressante pour encapsuler de l'huile. Un matériau sec, riche en lipides et non motté est très intéressant d'un point de vue technologique. Cette « poudre d'huile » peut être utilisée comme ingrédient fonctionnel dans toutes sortes de formulations (alimentaires, cosmétiques, etc.). Un stockage sous forme sèche facilite le conditionnement et permet de limiter le volume à transporter. L'absence d'eau contribue à prolonger la stabilité du système aux niveaux :

- physique
- chimique : l'oxydation de l'huile peut être ralentie (Hernandez Sanchez et al., 2015; Sarkar et al., 2016)
- microbiologique : les microorganismes ne peuvent se développer sans eau.

Le séchage de l'émulsion peut apporter de meilleures conditions de stockage en attendant de reformer l'émulsion par simple réhydratation. Or, les conditions de séchage ont un impact sur la conservation de la structure de l'émulsion mère. L'objectif ici est d'évaluer la capacité des émulsions stabilisées par du cacao, du tourteau de colza et des coques de lupin à être déshydratées en fonction de plusieurs paramètres. Les poudres résultant de la déshydratation seront analysées par microscopie optique afin d'observer leur morphologie. Leur masse volumique apparente, composition en huile et teneur en eau résiduelle seront mesurées. Les émulsions réhydratées à partir des émulsions sèches seront comparées aux émulsions mères. L'impact du stockage sous forme sèche sur la morphologie des poudres, leur caractère redispersable et sur l'oxydation de l'huile sera examiné. Deux techniques de déshydratation seront comparées : la lyophilisation qui repose sur la sublimation de l'eau ainsi que l'atomisation qui repose sur la nébulisation de l'émulsion et l'évaporation de la phase aqueuse en présence d'un courant d'air chaud (les principes ont été décrits au chapitre I,

paragraphe 3). Parmi les nombreuses variables de formulation qui conditionnent la qualité de la déshydratation d'une émulsion, nous explorerons le rôle de :

- la proportion d'huile dans l'émulsion mère
- la nature de la poudre végétale utilisée pour la stabilisation
- l'incorporation de lactose en tant que matériel de paroi

Dans le but de mettre en évidence le rapport entre quantité de particules végétales et quantité d'huile, contrairement aux deux précédents chapitres, les teneurs en constituants seront exprimées en pourcentage massique relativement à l'émulsion (ou émulsion sèche) totale. Sauf indication contraire, l'huile utilisée est une huile de tournesol (Rustica[®]).

L'atomiseur utilisé à l'échelle pilote (Niro Mobile Minor, GEA) requiert une quantité d'émulsion minimale d'environ 2 L (minimum 1 L). Cette montée en échelle implique une adaptation du procédé d'émulsification utilisé aux chapitres précédents. Toutes les émulsions de ce chapitre ont été fabriquées avec un homogénéisateur haute pression (HHP) simple effet (ALM, Pierre Guérin) de capacité supérieure à celle du microfluidiseur utilisé aux précédents chapitres. Les émulsions subissent 2 passages à la pression maximale accessible, 265 bars. Afin de palier cette pression d'homogénéisation relativement faible, les poudres ont été préalablement broyées dans l'eau à l'aide d'un broyeur à billes (Dyno[®]-Mill Multi Lab, Willy A Bachofen-WAB, conditions au chapitre II, paragraphe 1.2). Le tourteau de colza utilisé dans ce chapitre est le colza dépelliculé fourni par OLEAD (voir chapitre II, paragraphe 1.1). Les phases aqueuses ne contiennent ni azide de sodium, ni sels pour fixer le pH. Dans la première partie de ce chapitre, nous exposerons rapidement les caractéristiques des émulsions fabriquées dans ces nouvelles conditions.

2. *Emulsions mères*

2.1. *Montée en échelle du procédé de fabrication : caractéristiques des émulsions*

La fabrication de plus d'un litre d'émulsion implique l'adaptation du protocole développé sur 20 mL au laboratoire. Nous avons montré aux chapitres III et IV qu'une diminution de la pression d'homogénéisation conduit à des gouttes d'émulsion moins fines et à une distribution plus polydisperse. Cet effet peut être compensé par une étape de pré-

broyage de la poudre végétale. En revanche, les influences du nombre de passages de l'émulsion dans l'HHP, du pH et de la présence de sels dans la phase aqueuse n'ont pas été décrites au préalable. La Figure V-1 compare deux émulsions de même composition fabriquées d'après les deux protocoles, dans le cas d'une stabilisation par du tourteau de colza et par du cacao. Les émulsions contiennent 15 % d'huile, 7,5 % de poudre végétale (soit 8,8 % pour rapport à la phase aqueuse) et du lactose (7,75 % dans le cas du colza et 15,5 % dans le cas du cacao).

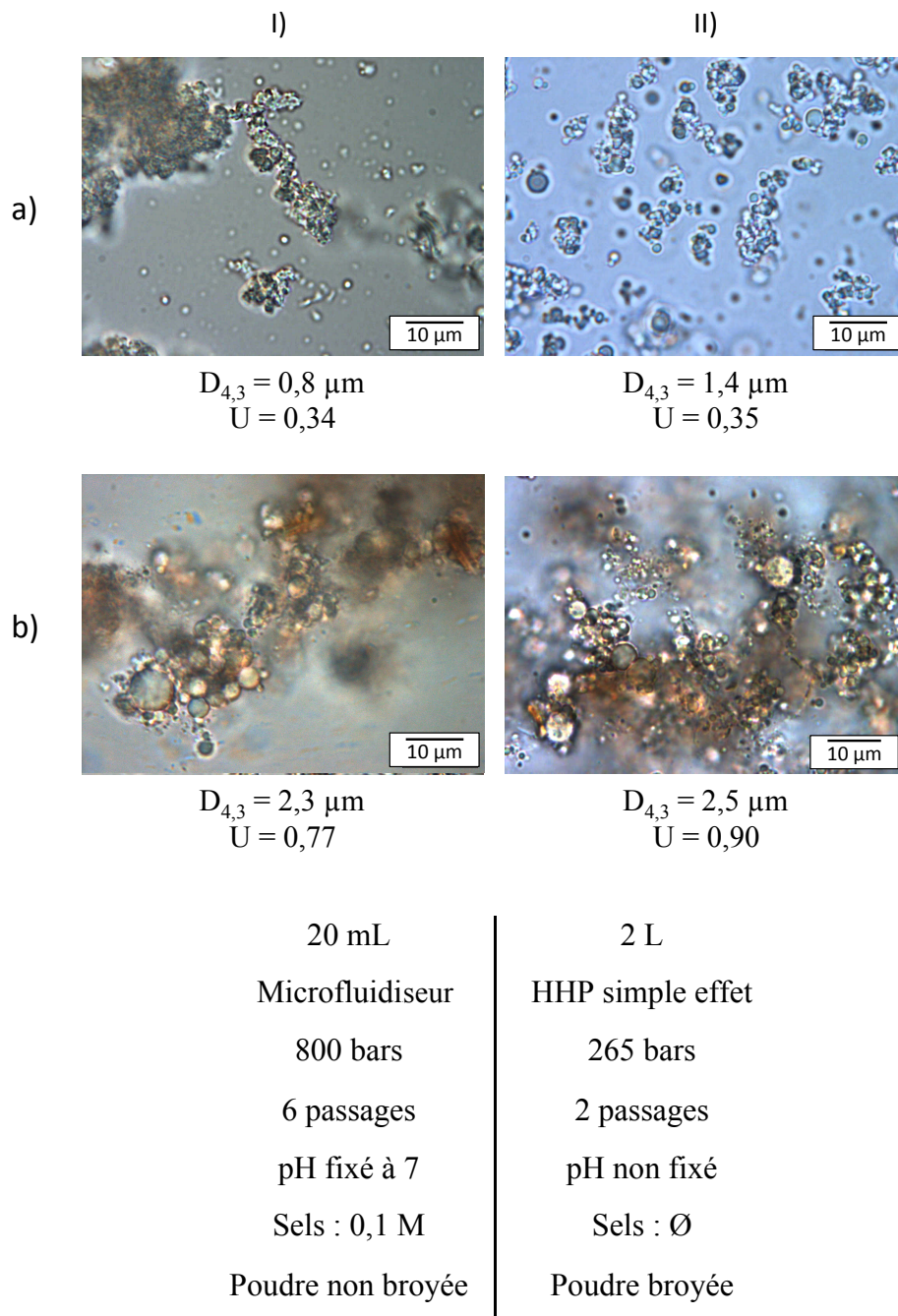


Figure V-1 Caractéristiques des émulsions contenant 15 % d'huile, 7,5 % de poudre et 7,75 (cas du colza) ou 15,5 % (cas du cacao) de lactose fabriquées d'après le procédé sur 20 ml (I) et sur 2 L (II) et stabilisées par a) le tourteau de colza et b) la poudre de cacao.

Dans le cas du colza, le nouveau protocole conduit à une émulsion dont la distribution est resserrée ($U < 0,35$) et dont les gouttes ont un diamètre moyen de l'ordre du micron, comme avec le protocole précédent. Dans le cas du cacao, les deux émulsions ont des distributions larges ($U > 0,75$) mais les diamètres moyens en volume sont comparables. Les gouttes sont agrégées et forment de gros amas dans les deux cas. Le pH de l'émulsion stabilisée par le tourteau de colza est de 5,8 alors que celui de l'émulsion stabilisée par le cacao est de 7. Le protocole de fabrication des émulsions a donc été adapté sans que les caractéristiques des émulsions ne soient significativement affectées.

2.2. Implication de la fraction soluble

La quantité et la composition des fractions solubles de chacune des poudres végétales utilisées ont été déterminées au chapitre précédent mais dans le cas d'une phase aqueuse de pH fixé à 7 par 0,1 M de tampon salin et pour des poudres non pré-broyées. Il a été montré que l'implication de ces fractions n'est généralement pas déterminante. Dans le cas du cacao, la fraction soluble représente environ 20 %m de la poudre et son implication dans la stabilisation est nulle (Chapitre III). Pour le tourteau de colza, elle représente environ 51 %. Elle est impliquée mais son impact est peu significatif. Pour les coques de lupin, elle ne représente que 3 % de la poudre et n'a pas de fonctionnalité (voir chapitre IV). Les conditions étant différentes dans ce chapitre, nous avons caractérisé les fractions solubles du cacao et du tourteau de colza dans le cadre du nouveau procédé afin de déterminer l'implication de cette fraction. Le Tableau V-1 montre que :

- pour le colza, les valeurs sont similaires à celles du chapitre IV. La fraction soluble du tourteau de colza n'est pas modifiée par le broyage dans l'eau distillée et une partie non négligeable des protéines solubles n'est plus détectable dans la phase aqueuse après émulsification.
- Pour le cacao, la proportion de fraction soluble est similaire à celle mesurée au chapitre III et les quantités de protéines et polyphénols solubles n'évoluent pas après émulsification.

Tableau V-1 Quantité et composition partielle de la fraction soluble de la poudre de cacao et du tourteau de colza au sein de dispersions à 8,8 % de poudre broyée et d'émulsions mères fabriquées d'après le nouveau protocole (15 % d'huile, 7,5 % de poudre et 7,75 % de lactose (colza) – 15,5 % de lactose (cacao)). Les résultats sont exprimés en pourcentages massiques de la poudre introduite dans la phase aqueuse.

	Fraction soluble	Protéines (équivalent BSA)	Polyphénols totaux (équivalent acide gallique)	Carbohydrates (équivalent glucose)
Dispersion de colza broyé	52,6 ± 0,9 %	8,7 ± 0,1 %	0,8 ± 0,1 %	19,8 ± 2,0 %
Emulsion mère colza	ND	4,0 ± 0,6 %	0,9 ± 0,1 %	ND
Dispersion de cacao broyé	23,3 ± 0,8 %	0,5 ± 0,1 %	0,6 ± 0,1 %	4,7 ± 0,5 %
Emulsion mère cacao	ND	0,7 ± 0,1 %	0,8 ± 0,1 %	ND

ND : non déterminé, méthode de mesure non adaptée en présence de lactose

Les conclusions des chapitres précédents s'appliquent donc également ici, bien que les émulsions soient stabilisées par des particules après broyage et que leur phase aqueuse ne contienne aucun sel. Les composés solubles qui vont nous intéresser dans ce chapitre sont les composés pouvant influencer la qualité de la déshydratation, à savoir les protéines et les carbohydrates (Haque, Roos, 2006; Millqvist-Fureby et al., 1999).

2.3. *Choix des paramètres et influences sur les émulsions mères*

Les paramètres de formulation pouvant impacter la qualité de la déshydratation sont nombreux et peuvent également modifier les propriétés des émulsions mères. Nous présentons ici les paramètres étudiés ainsi que leur influence sur les émulsions avant la déshydratation.

2.3. a) *Proportion huile / matériel stabilisant*

La proportion entre le matériel stabilisant et la quantité d'huile est importante dans la technologie du séchage des émulsions. L'augmentation de la quantité d'huile ne favorise généralement pas la résistance à la coalescence lorsque l'émulsion est séchée, réhydratée et/ou stockée (Sarkar et al., 2016; Tonon et al., 2011). Ce rapport conditionne également la composition finale de l'émulsion sèche. Nous avons choisi de travailler avec des systèmes deux fois plus concentrés en huile qu'en poudre végétale (indépendamment de la concentration en lactose). Un compromis doit donc être trouvé entre quantité d'huile et viscosité. En effet, une émulsion à 30 % d'huile devrait contenir 15 % de poudre végétale

pour respecter ce rapport. L'émulsion est alors très visqueuse et ressemble à un gel, ce qui peut compromettre son aptitude à la nébulisation (Gomez, Saleh, 2012). Inversement, une émulsion stabilisée par 2,5 % de poudre végétale ne contient que 5 % d'huile et la quantité d'eau à éliminer est élevée. Nous avons choisi comme compromis une émulsion à 7,5 % de particules végétales et 15 % d'huile. Cette composition sera adoptée dans la majorité des formules.

Il a été établi aux précédents chapitres (III et IV) qu'à masse de poudre végétale constante, le diamètre moyen des gouttes augmente avec la fraction d'huile. Par conséquent, les variables « proportion d'huile » et « taille moyenne des gouttes des émulsions mères » sont corrélées. Le Tableau V-2 indique que le diamètre moyen est quasiment multiplié par deux lorsque la quantité d'huile dans l'émulsion mère augmente de 15 à 30 %.

Tableau V-2 Caractéristiques granulométriques des gouttes d'émulsions mères contenant : 7,5 % de tourteau de colza, 7,75 % de lactose et 15 ou 30 % d'huile.

% d'huile	D _{4,3} (µm)	D _{3,2} (µm)	U
15	1,4	1,1	0,35
30	2,6	2,3	0,29

2.3. b) Lactose

La déshydratation de systèmes contenant un soluté tel que le lactose est un phénomène complexe. En effet, ce composé peut se trouver sous deux formes solides après déshydratation : une forme amorphe et une forme cristalline. Les conditions de formation de l'une ou de l'autre dépendent de la vitesse de séchage, de la température et de la teneur en eau (respectivement en solide). Ces deux états solides présentent des propriétés physiques très différentes et leur proportion conditionne les propriétés des systèmes séchés. Cette proportion évolue pendant la déshydratation ainsi qu'au cours du stockage (Descamps, 2017; Haque, Roos, 2005; Maher et al., 2015). Le passage d'une forme à l'autre peut avoir lieu :

- par variation de la température à teneur en eau constante (le température de transition est appelée température de transition vitreuse T_g)
- par variation de la teneur en eau (respectivement en solide) à température constante

Les phases amorphe et cristalline ont des effets négatifs ou positifs sur la déshydratation en fonction des caractéristiques observées et des propriétés recherchées. L'état cristallin est plus stable que l'état amorphe. Ce dernier est également plus collant, plus visqueux et plus hygroscopique. L'état amorphe peut cependant être recherché car plus poreux que l'état cristallin. Par ailleurs, il améliore la solubilité ou la stabilité de certains composés (Descamps, 2017). Lors de l'atomisation d'un système contenant des protéines et/ou des carbohydrates solubles, la précipitation de ces composés dès les premiers stades de l'évaporation est généralement recherchée pour améliorer la stabilité. L'ajout d'un composé permettant d'influer sur le début de la solidification est très utilisé en atomisation. Il convient alors de choisir un composé dont les conditions de changement d'état sont relativement connues et maîtrisées. Le lactose a largement été étudié dans ce sens (Chiou et al., 2008; Haque, Roos, 2006; Listiohadi et al., 2008).

Dans le cas de la lyophilisation, l'étape de congélation préalable à la sublimation entraîne une cryo-concentration du système. La structure de l'échantillon peut alors être altérée avant même l'étape de déshydratation. Il est possible d'ajouter un cryoprotecteur, c'est-à-dire un composé capable de former une monocouche protectrice autour des gouttes pendant cette cryo-concentration. Le lactose possède cette propriété (Patil et al., 2010; Shi et al., 2012). Ainsi, le choix de ce cet additif semble assez naturel compte tenu de sa fonctionnalité dans chacune des techniques de déshydratation étudiées.

Le lactose existe sous deux formes isomères, α et β . A l'état solide, chacune des formes peut être amorphe ou cristalline et leurs propriétés sont différentes (voir chapitre I, paragraphe 3.4.b). La proportion dans le produit final de chacune de ces formes a donc une grande influence sur les caractéristiques des systèmes déshydratés et dépend de nombreux paramètres. Par exemple, la cristallisation d'une solution concentrée en lactose à une température supérieure à 93,5°C conduit exclusivement à la formation de cristaux β peu hygroscopiques mais relativement hydrosolubles (Schuck et al., 2004). De plus, si les conditions (de température et/ou de teneur en eau) évoluent rapidement, le système ne dispose pas d'assez de temps pour adopter une configuration cristalline organisée et la forme amorphe domine dans le produit séché. L'ajout de lactose peut donc largement modifier les propriétés des émulsions déshydratées (hygroscopicité, morphologie etc.). Il peut également contribuer à figer le système rapidement et favoriser la conservation de la structure.

Sa solubilité dans l'eau est faible, elle est de 17 % à 20°C et elle augmente avec la température. Le lactose en solution peut donc précipiter suite à sa concentration par évaporation (atomisation) ou suite à la diminution de sa solubilité par refroidissement (congélation dans le cas de la lyophilisation). Une solution de lactose reste dans un état sursaturé avant de cristalliser. La vitesse de formation des cristaux de lactose dépend notamment de :

- la sursaturation : plus la solution est concentrée et plus les cristaux vont croître rapidement
- la présence d'impuretés : elles favorisent la nucléation et la croissance des cristaux.

Nous étudierons l'impact de la teneur en lactose pour les deux techniques de déshydratation en adoptant trois concentrations différentes dans l'eau : 0, 10 et 20 % (0 ; 7,75 et 15,5 % par rapport à l'émulsion totale). Le lactose n'a pas de propriétés tensioactives mais la viscosité d'une solution peut varier en fonction de sa concentration (Chirife, Buera, 1997). Il convient donc de vérifier l'influence de la teneur en lactose sur les émulsions mères.

La taille moyenne des gouttes des émulsions mères (en volume ou en surface) n'est pas significativement affectée par l'ajout de lactose (Tableau V-3). En revanche, les uniformités des émulsions stabilisées par du cacao en présence de lactose sont relativement élevées par rapport à celles obtenues au chapitre III, en l'absence de lactose. Cette tendance n'a toutefois pas été observée dans le cas du colza mais la plus haute concentration en lactose n'a pas été considérée pour cette poudre végétale (voir paragraphe 4.2).

Tableau V-3 Caractéristiques granulométriques des gouttes d'émulsions mères (15 % d'huile) contenant différentes concentrations en lactose

Emulsions mères	D _{4,3} (µm)	D _{3,2} (µm)	U
7,5 % colza – 0 % lactose	1,9	1,4	0,42
7,5 % colza – 7,75 % lactose	1,4	1,1	0,35
7,5 % cacao – 7,75 % lactose	2,0	1,2	0,56
7,5 % cacao – 15,5 % lactose	2,5	1,3	0,90

2.3. c) Origine de la poudre végétale

Les trois types de particules végétales seront comparés dans ce chapitre. Les coques de lupin étant moins performantes pour stabiliser les émulsions (voir chapitre IV), les effets des paramètres seront principalement étudiés dans des formulations à base de colza et de cacao. Les poudres végétales utilisées pour stabiliser les émulsions mères se distinguent par :

- leur composition globale (voir chapitre IV, notamment la Figure IV-1)
- la composition de leur fraction soluble (voir chapitre IV et paragraphe 2.2 de ce chapitre)
- les morphologies des particules insolubles après broyage, présentées sur la Figure V-2. On distingue clairement la configuration « déployée » de ces particules, suite au traitement mécanique.

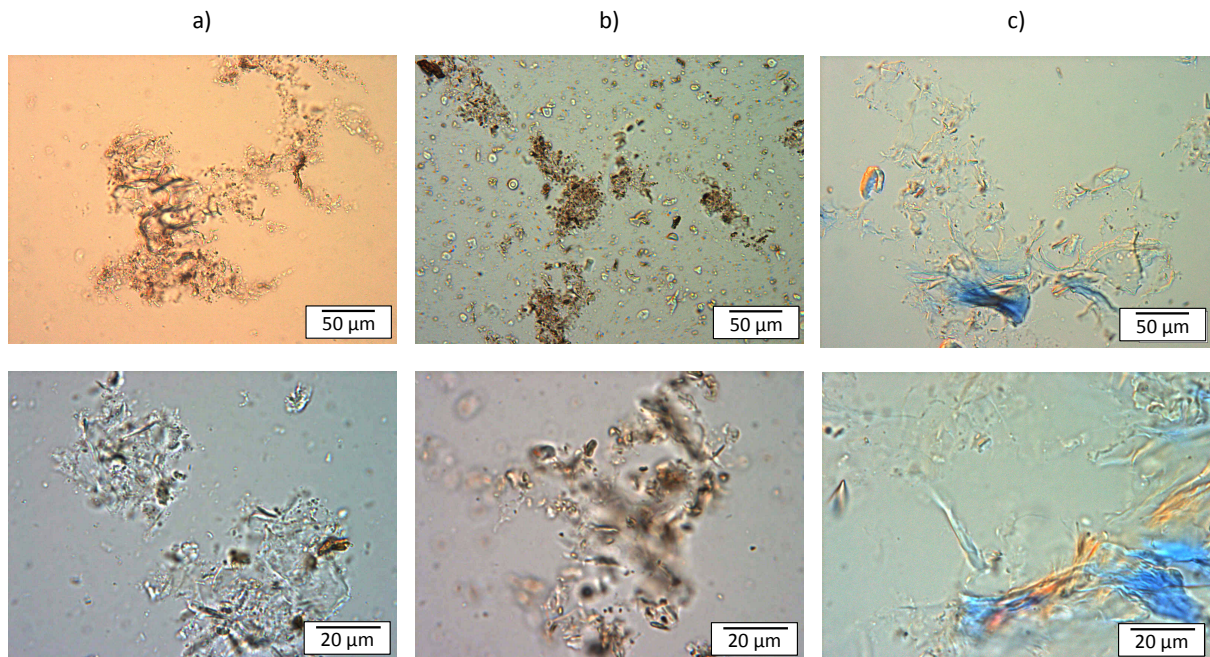


Figure V-2 Observations en microscopie optique des poudres végétales broyées a) tourteau de colza, b) cacao et c) coques de lupin

Le tourteau de colza est la poudre qui contient le plus de protéines totales, de fraction soluble, de protéines solubles et de carbohydrates solubles. Il est suivi par le cacao puis les coques de lupin. Les coques de lupin sont les plus riches en carbohydrates insolubles. Les émulsions stabilisées par ces poudres broyées sont présentées sur la Figure V-3 (images de microscopie caractéristiques, diamètre moyen en volume et uniformité). Les meilleures performances (émulsions les plus fines et distributions les plus resserrées) sont obtenues avec

le tourteau de colza, suivi par la poudre de cacao et enfin par les coques de lupin. Dans tous les cas, les gouttes sont fortement agrégées.

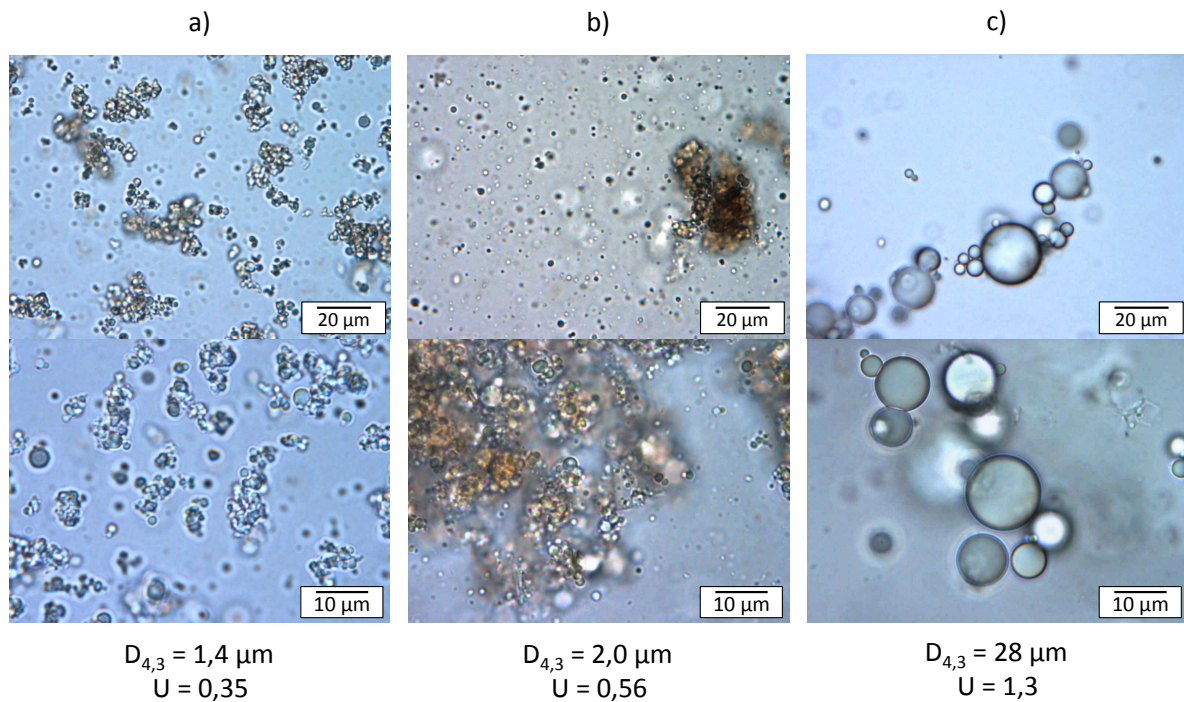


Figure V-3 Caractéristiques d'émulsions mères types (7,5 % de poudre et 15 % d'huile) stabilisées par a) le tourteau de colza, b) la poudre de cacao et c) les coques de lupin

Les émulsions fabriquées pour être déshydratées présentent des caractéristiques similaires aux émulsions étudiées dans les chapitres précédents. Les paramètres qui seront variés dans le cadre de l'optimisation du séchage ont soit une influence connue et maîtrisée sur les émulsions mères (cas de la proportion d'huile et de la nature des poudres végétales), soit une influence non significative (cas de la teneur en lactose). Nous allons à présent nous intéresser aux émulsions déshydratées, en évaluant quelques caractéristiques physiques des poudres obtenues par déshydratation des émulsions mères.

3. *Emulsions déshydratées : caractérisation des poudres*

Le Tableau V-4 indique les compositions « théoriques » des formulations étudiées en faisant l'hypothèse que la totalité de l'eau a été retirée et que les pertes sont nulles pour tous les autres ingrédients. Les émulsions sèches contiennent entre 40 % et 67 % d'huile. Les teneurs en matière grasse des poudres issues d'une atomisation ont été mesurées par

extraction à l'hexane (voir chapitre II, paragraphe 5.1.d). Elles sont reportées dans le Tableau V-5 et coïncident parfaitement avec les teneurs théoriques, quelle que soit la composition de l'émulsion mère. Les pertes d'huile pendant l'atomisation sont donc négligeables. Cela indique également que l'hexane extrait la totalité de l'huile, notamment l'huile « encapsulée ». Il est donc impossible dans notre cas de déterminer un taux d'encapsulation. Il faudrait pour cela être capable de n'extraire que l'huile dite « de surface » (Carneiro et al., 2013; Tonon et al., 2011). Nous évaluerons qualitativement la qualité de l'encapsulation de l'huile en réhydratant les émulsions sèches. L'huile non encapsulée devrait alors former une couche d'huile en surface.

Tableau V-4 Compositions finales « théoriques » des émulsions sèches en poudre végétale, huile et lactose en fonction de la composition des émulsions mères

Composition de l'émulsion mère			Composition théorique de l'émulsion sèche		
Poudre végétale (%)	Huile (%)	Lactose (%)	Poudre végétale (%)	Huile (%)	Lactose (%)
		0	33,3	66,7	0
7,5	15	7,75	24,8	49,6	25,6
		15,5	19,7	39,5	40,8
	30	7,75	16,6	66,3	17,1

Tableau V-5 Teneurs en matières grasses des poudres issues d'une atomisation

Composition de l'émulsion mère			Teneur en huile de l'émulsion atomisée (%)
Poudre végétale (%)	Huile (%)	Lactose (%)	
		0	67,5 ± 0,5
7,5	15	7,75	50,8 ± 1,2
		15,5	37,6 ± 0,5
	30	7,75	68,4 ± 1,6

Toutes les poudres sèches issues d'une atomisation ou d'une lyophilisation présentent un aspect non gras et non collant. L'huile est libérée lorsqu'une légère pression est appliquée manuellement. Les poudres sèches présentent des différences au niveau de leur aspect macroscopique, microscopique, de leur taux d'humidité et de leur masse volumique apparente. Ces différences sont présentées au regard des paramètres suivants : la technique de déshydratation, la teneur en lactose et la nature des poudres végétales utilisées. Les éventuelles évolutions au cours du stockage seront discutées au paragraphe 6.1.

3.1. Influence de la technique de déshydratation

La Figure V-4 présente les caractéristiques d'émulsions sèches obtenues par atomisation et lyophilisation, pour une émulsion mère de même composition stabilisée par du colza (I) et par du cacao (II). La teneur en lactose est de 7,75 %.

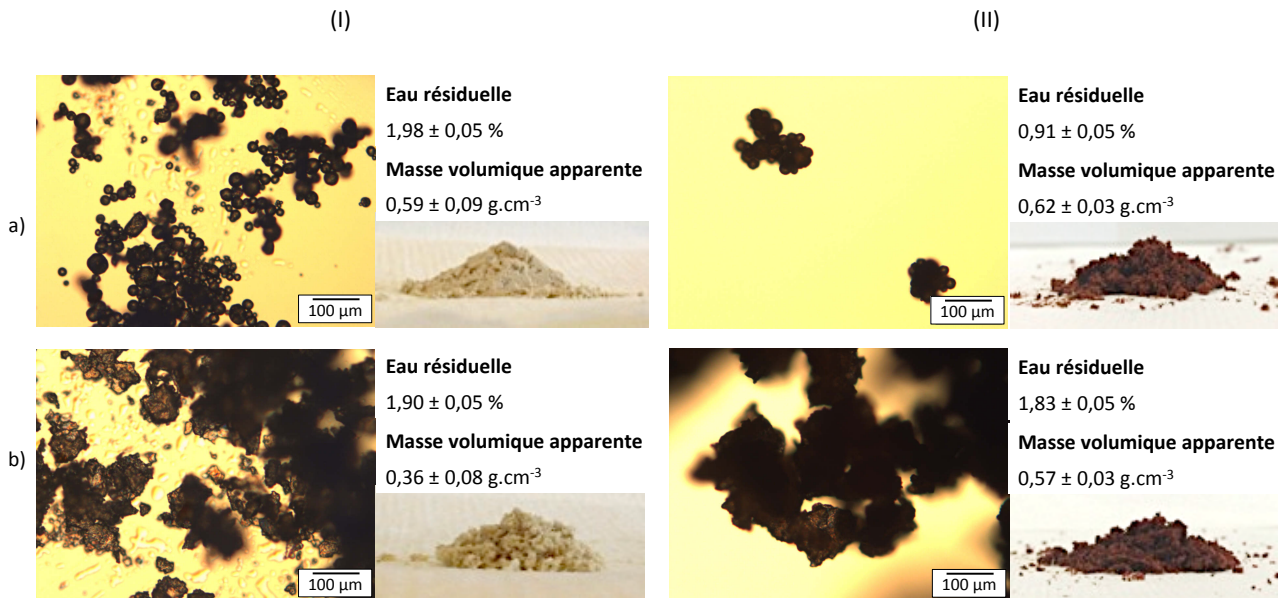


Figure V-4 Caractéristiques des poudres sèches obtenues par a) atomisation et b) lyophilisation de deux émulsions mères de même composition : 15 % d'huile, 7,75 % de lactose et 7,5 % de (I) tourteau de colza et (II) poudre de cacao

A l'échelle macroscopique, les émulsions atomisées sont fines, non collantes et s'étalent ou s'écoulent facilement bien qu'elles contiennent près de 50 % d'huile de tournesol (Tableau V-5). Les émulsions sèches lyophilisées sont plus agrégées et moins aptes à l'écoulement. Cette différence est corrélée aux observations microscopiques. La lyophilisation génère des grains grossiers, agrégés et de forme très irrégulière. Au contraire, les grains issus de l'atomisation sont beaucoup plus réguliers et de forme sphéroïdale. Leur diamètre caractéristique est de l'ordre d'une dizaine de microns et la distribution des tailles apparaît relativement resserrée (observation issue de la microscopie optique). La masse volumique apparente reflète la capacité d'une poudre à être compactée et à s'empiler. Cette grandeur dépend de la morphologie, de la taille moyenne, de la distribution des tailles et de l'état d'agrégation des grains (Goula et al., 2004). Elle est mesurée en pesant un volume défini de poudre tassée (voir chapitre II, paragraphe 5.1.b). Les poudres issues de l'atomisation présentent une densité apparente plus élevée. La morphologie régulière et lisse des grains permet une occupation optimale de l'espace alors que l'irrégularité et l'agrégation

des grains lyophilisés créent davantage d'espaces vides dans l'empilement (visible sur les photographies des émulsions sèches au colza).

Cette différence de morphologie s'explique par les processus physiques mis en jeu dans les deux techniques de déshydratation. L'atomisation passe par la pulvérisation de l'émulsion mère sous la forme d'objets sphériques (gouttelettes) dont la forme est imposée par la tension interfaciale. L'évaporation de l'eau a lieu à la surface de ces gouttes, concentrant ainsi les composés solubles et insolubles dans le volume de la sphère. La taille finale des grains est notamment déterminée par la taille des gouttelettes pulvérisées, leur extrait sec et la vitesse d'évaporation de l'eau. La taille des gouttelettes dépend elle-même des paramètres du procédé tels que les conditions de pulvérisation et le débit d'injection de l'émulsion mère. Nous n'avons pas fait varier ces paramètres et la taille caractéristique des grains obtenus par atomisation (uniquement observée par microscopie optique) est similaire pour tous nos essais, quelle que soit la formulation. Dans le cas de la lyophilisation, l'émulsion mère est préalablement congelée. L'organisation des composés au sein du système figé est aléatoire et dépend notamment de la taille des cristaux. Cette organisation sans forme propre n'est pas modifiée pendant la sublimation de l'eau (Marin, René, 2000). Le système déshydraté s'apparente à un réseau solide plus ou moins poreux. Ce réseau est mécaniquement fragmenté pour obtenir la poudre sèche et les particules n'ont alors pas de forme définie.

Les taux d'humidité des émulsions sèches sont inférieurs à la limite recommandée pour les poudres sèches alimentaires (3 – 4 % (Klinkesorn et al., 2005)). Cette eau résiduelle peut être à l'origine de l'agglomération des grains observée notamment dans les émulsions lyophilisées (Leturia, Saleh, 2016). Cette tendance est accentuée dans le cas du cacao. Les formulations présentées à la Figure V-4 contiennent la même quantité de lactose. Il a été montré que la forme amorphe du lactose est présente en quantité non négligeable après la déshydratation rapide d'une solution de lactose et que la proportion de phase amorphe est sensiblement la même après lyophilisation ou atomisation (Chiou et al., 2008; Haque, Roos, 2006). Chiou *et al.* (2008) ont cependant montré que dans le cas d'une atomisation, la température d'entrée du gaz de séchage influence la quantité de phase amorphe dans le produit séché. Une température élevée de 210°C (nous sommes à 220°C) diminue la proportion de phase amorphe dans le produit final, par rapport à une température de 170°C. De plus, les phases amorphes issues d'une atomisation cristallisent plus rapidement que les phases amorphes issues d'une lyophilisation (Haque, Roos, 2005). Il est alors raisonnable de considérer que la quantité de phase amorphe est plus élevée dans les poudres lyophilisées que

dans les poudres atomisées. Or, cette phase est plus hygroscopique et peut capter des molécules d'eau très rapidement car les solides amorphes lyophilisés exposent davantage de sites d'absorption aux molécules d'eau que les phases amorphes atomisées (Haque, Roos, 2006).

3.2. Influence du lactose

La Figure V-5 présente des émulsions sèches obtenues à partir de formulations contenant moins de lactose (cas du colza) ou plus de lactose (cas du cacao) par rapport aux émulsions sèches présentées sur la Figure V-4. Les morphologies et les masses volumiques apparentes des grains ne sont pas significativement affectées par la teneur en lactose. Pour une même technique de déshydratation, seule la teneur en eau résiduelle est affectée : elle augmente avec la concentration en lactose dans la formulation. Même si le lactose est moins hygroscopique que la plupart des autres sucres, sa capacité à absorber des molécules d'eau est non négligeable (Davis, 1995). Il est donc attendu qu'une augmentation de la teneur en lactose augmente l'hygroscopicité globale des poudres déshydratées. La poudre peut capter l'eau de l'air ambiant rapidement dès la sortie du séchage, quelle que soit la proportion de phase amorphe et cristalline. La quantité d'eau résiduelle est un paramètre essentiel pour la conservation d'une poudre. La présence d'eau a généralement un impact négatif car elle contribue au mottage. Cet inconvénient induit par la présence du lactose sera à mettre en regard avec les avantages qui seront identifiés dans les paragraphes suivants.

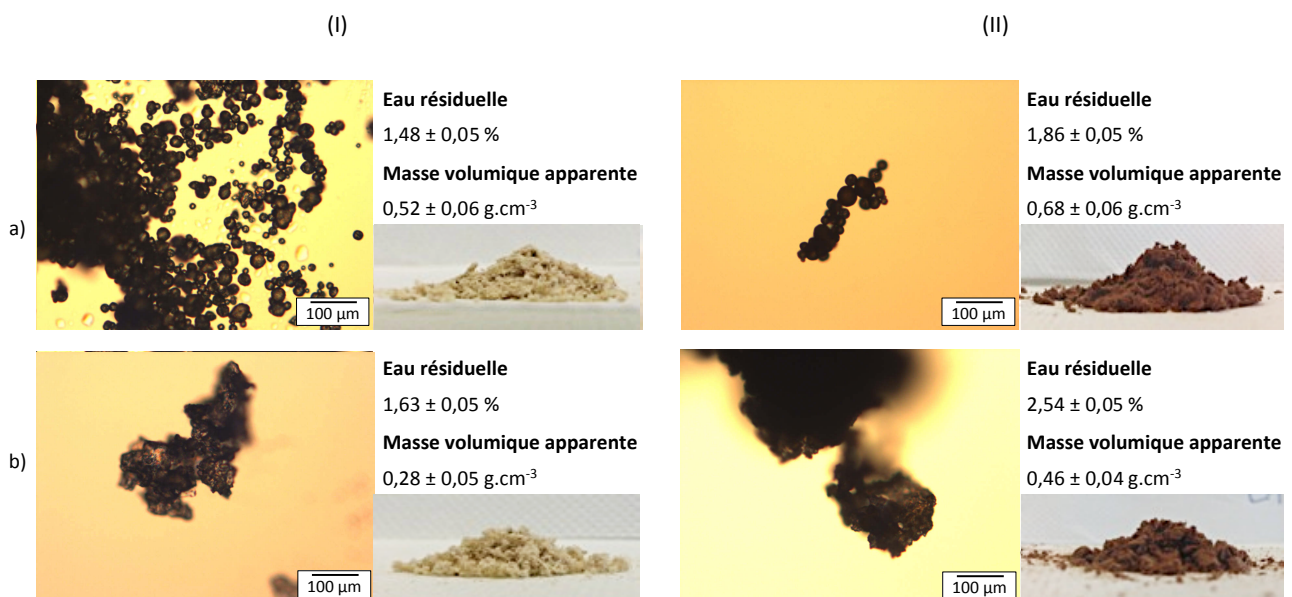


Figure V-5 Caractéristiques des poudres obtenues par a) atomisation et b) lyophilisation d'émulsions mères de composition : (I) 15 % d'huile, 0 % de lactose et 7,5 % de tourteau de colza et (II) 15 % d'huile, 15,5 % de lactose et 7,5 % de poudre de cacao. A comparer avec la Figure V-4.

3.3. Influence de la nature de la poudre végétale stabilisant l'émulsion mère

Les influences de la technique de déshydratation et de la teneur en lactose sont similaires dans le cas d'une stabilisation par le colza et le cacao (Figure V-4 et Figure V-5). En revanche, les poudres issues de l'atomisation ont une morphologie très différente dans le cas des coques de lupin (Figure V-6) : les particules sont très volumineuses et sans forme propre. Les teneurs en eau résiduelle ont été mesurées trop longtemps après le séchage et ne sont donc pas reportées ici.

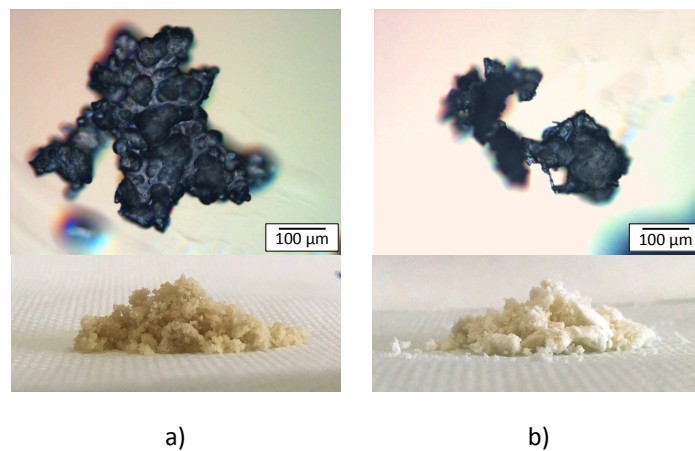


Figure V-6 Caractéristiques des poudres obtenues par a) atomisation et b) lyophilisation d'une émulsion mère de composition : 15 % d'huile, 15,5 % de lactose et 7,5 % de coques de lupin.

Les coques de lupin se différencient des deux autres poudres végétales par leur fraction soluble quasi-nulle et par leur aspect très fibreux, conduisant à des émulsions mères moins fines et polydisperses (Figure V-3). *A priori*, les constituants (solubles ou insolubles) des poudres pouvant avoir un effet sur la déshydratation et la congélation sont principalement les protéines et les carbohydrates. En effet, Haque *et al.* (2006) ont montré que la présence de protéines retarde la cristallisation du lactose et que cet effet est plus marqué en lyophilisation (Haque, Roos, 2006). Les carbohydrates peuvent quant à eux former une couche protectrice autour des gouttes ou induire et accélérer la cristallisation des phases amorphes au même titre que le lactose (Gharsallaoui *et al.*, 2007). Dans le cas des poudres végétales utilisées, les fractions insolubles sont largement impliquées dans la stabilisation physique de l'émulsion mère (voir chapitres précédents) et donc dans la conservation de la structure. Les fractions solubles sont déshydratées au même titre que le lactose et les formes solides qu'elles adoptent lors du séchage ont donc une influence sur les morphologies et la stabilité des grains.

La source végétale la plus pauvre en carbohydrates solubles, les coques de lupin (Tableau V-1), conduit à l'émulsion sèche la moins performante. Les émulsions mères stabilisées par les coques de lupin sont également plus visqueuses (mesures rhéologiques non réalisées). Or, une viscosité élevée modifie la forme des gouttes pulvérisées ainsi que la vitesse de diffusion de l'eau du cœur des gouttelettes vers leur surface (Gharsallaoui et al., 2007). La cinétique d'évaporation et donc la morphologie des grains atomisés sont alors impactées.

Pour conclure quant aux propriétés des émulsions sèches, les deux techniques de déshydratation permettent d'obtenir des poudres riches en huile (jusqu'à 67 %) et non collantes. L'atomisation conduit à des grains plus fins, sphériques et moins agglomérés que la lyophilisation. Les taux d'humidité sont également plus faibles pour les poudres issues de l'atomisation mais restent relativement faibles dans les deux cas. Si le lactose est *a priori* ajouté aux formulations pour améliorer leur stockage et leur capacité à conserver leur structure, il peut augmenter la teneur en eau résiduelle des émulsions sèches, notamment par la présence de sa phase amorphe hygroscopique. La morphologie des grains est également affectée par les propriétés de l'émulsion mère (structure, viscosité) qui sont liées aux caractéristiques des substrats végétaux utilisées pour les stabiliser. Pour obtenir des poudres fines, de morphologie contrôlée et à faible humidité résiduelle, la meilleure alternative est l'atomisation de formulations contenant peu de lactose et stabilisées par le tourteau de colza. Les performances ont aussi été évaluées au regard de la réhydratation des émulsions sèches. Au delà de l'aspect physique des grains, quelles techniques, poudres végétales, teneurs en lactose et teneurs en huile permettent de mieux conserver la structure de l'émulsion mère ?

4. *Emulsions sèches réhydratées : comparaison avec les émulsions mères*

La réhydratation des poudres sèches a été réalisée le jour du séchage en ajoutant la quantité d'eau distillée requise pour retrouver les proportions de l'émulsion mère. La redispersion est rapide, une simple agitation à l'aide d'une spatule permettant de reformer l'émulsion. Les émulsions issues d'une réhydratation sont caractérisées comme les émulsions mères, par microscopie optique et analyse granulométrique (après traitement au SDS comme décrit au chapitre II, paragraphe 3.2). Le rapport entre les diamètres moyens en volume (respectivement en surface) de l'émulsion sèche réhydratée et de l'émulsion mère est noté R_v

(respectivement R_s). Des rapports proches de 1 indiquent une bonne capacité de l'émulsion à résister à la déshydratation et à la redispersion. Le diamètre moyen en volume est statistiquement plus sensible à la présence de grosses gouttes que le diamètre en surface. La conservation de la structure globale de l'émulsion est donc caractérisée par R_s tandis que R_v renseigne davantage sur la présence de gouttes d'huile plus grosses, mêmes minoritaires en nombre, formées par coalescence.

4.1. Influence de la technique de déshydratation

La Figure V-7 compare les émulsions réhydratées après atomisation et lyophilisation d'une émulsion mère stabilisée par un tourteau de colza. La teneur en lactose est de 7,75 %.

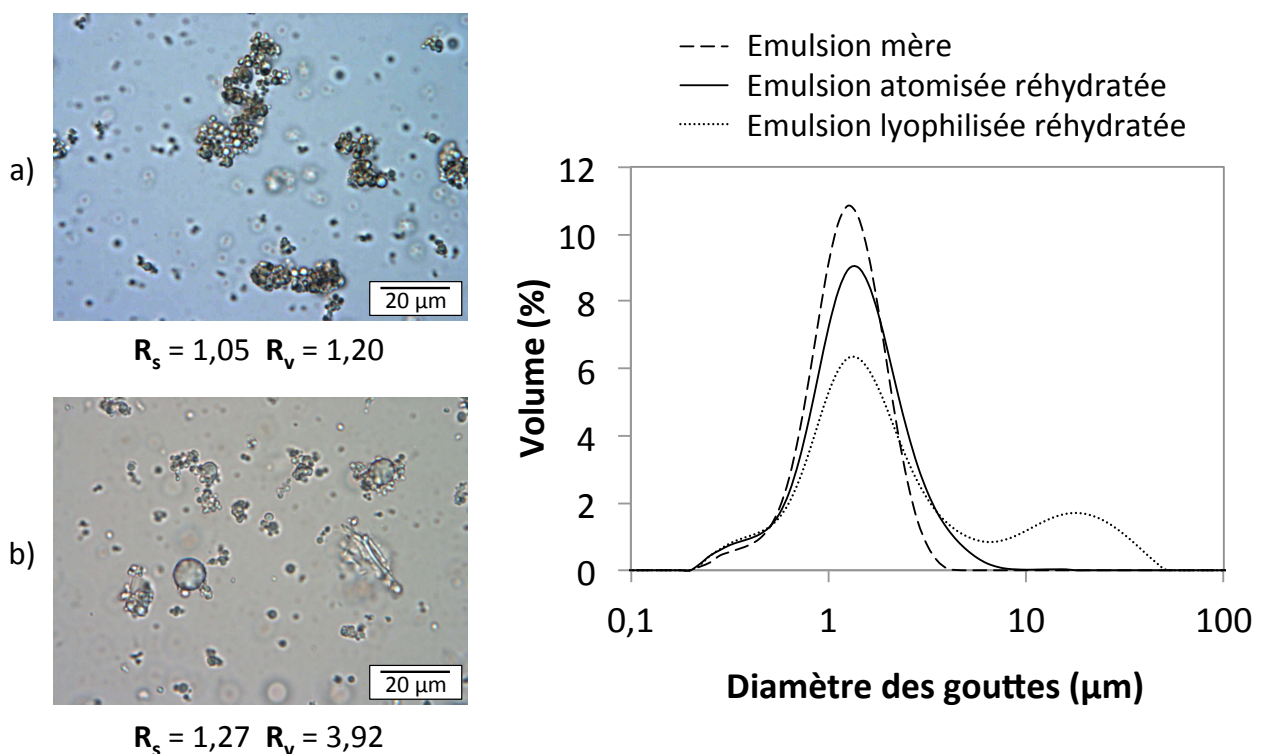


Figure V-7 Caractéristiques des émulsions réhydratées après a) atomisation et b) lyophilisation d'une émulsion mère de composition : 15 % d'huile, 7,75 % de lactose et 7,5 % de tourteau de colza

Les émulsions réhydratées ne présentent aucun signe macroscopique de destruction : nous ne décelons notamment aucune couche d'huile en surface. Les observations au microscope optique révèlent des gouttes fines et agrégées, comme dans l'émulsion mère (voir

Figure V-3.a). Seule l'émulsion lyophilisée et réhydratée présente quelques gouttes d'huile de diamètre plus élevé. Ces observations sont confirmées par les mesures granulométriques. Les rapports R_s et R_v sont proches de l'unité pour l'atomisation et la distribution des tailles de gouttes n'a quasiment pas évolué. En revanche, dans le cas de la lyophilisation, la valeur du rapport R_v proche de 4 et l'apparition d'un pic supplémentaire dans la distribution granulométrique révèlent une évolution de l'émulsion par coalescence.

Le même type de comparaison est présenté sur la Figure V-8 pour une émulsion mère stabilisée par la poudre de cacao. Celle-ci s'avère moins performante que le tourteau de colza pour protéger l'émulsion de la coalescence lors du séchage. L'atomisation permet une meilleure conservation que la lyophilisation.

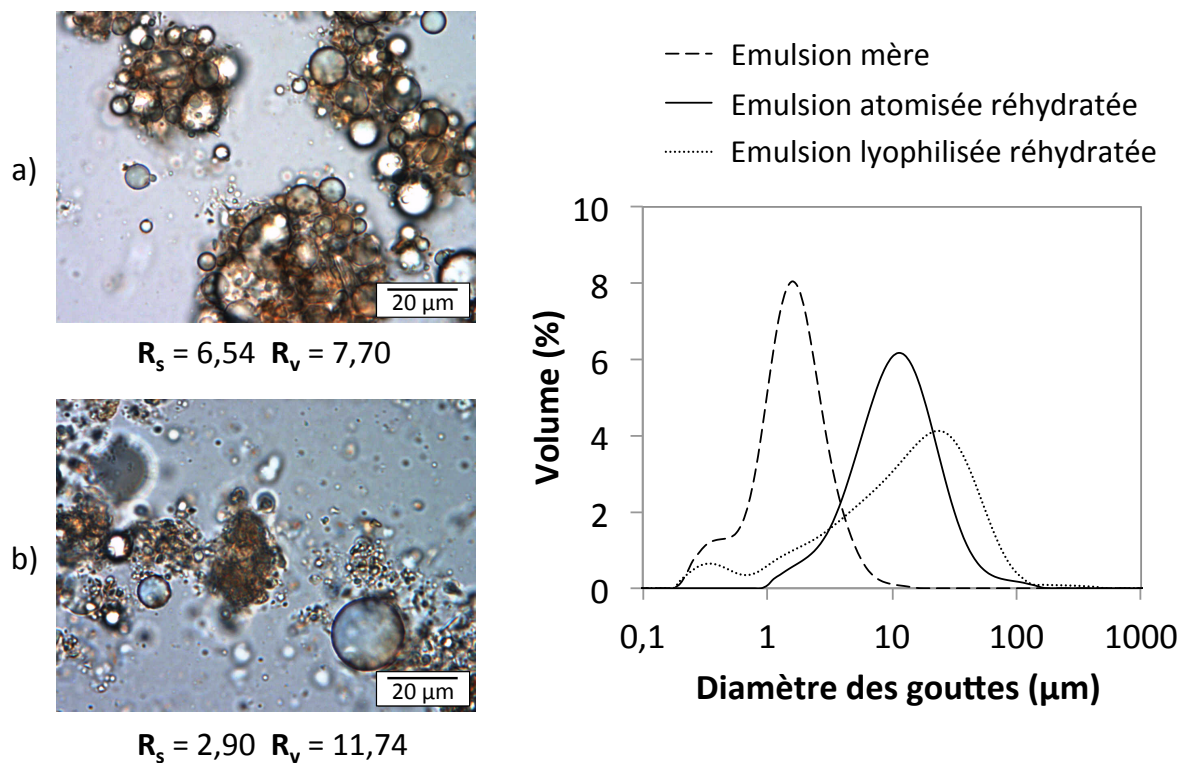


Figure V-8 Caractéristiques des émulsions réhydratées après a) atomisation et b) lyophilisation d'une émulsion mère de composition : 15 % d'huile, 7,75 % de lactose et 7,5 % de poudre de cacao

Ainsi, pour les 2 tourteaux analysés, l'atomisation permet une meilleure préservation de l'émulsion mère que la lyophilisation. La concentration par évaporation est donc moins délétère que la cryo-concentration.

4.2. Influence de la teneur en lactose

La teneur en lactose a été doublée afin d'améliorer la résistance au séchage de l'émulsion à base de poudre de cacao : elle passe de 7,75 à 15,5 %. La quantité de lactose impacte peu les propriétés de l'émulsion mère (paragraphe 2.3.b). Comme attendu, les rapports R_s et R_v , mesurés après déshydratation et redispersion sont diminués par rapport au paragraphe précédent, quelle que soit la technique (Figure V-9). Avec deux fois plus de lactose, les gouttes sont mieux préservées de la coalescence et cela est particulièrement flagrant lors de l'atomisation. Une teneur élevée en lactose permet d'atteindre la sursaturation dès les premiers stades de l'évaporation ou de la congélation. Les cristaux de lactose se forment donc plus tôt, plus rapidement et en grande quantité, formant une couche solide autour des gouttes d'autant plus protectrice.

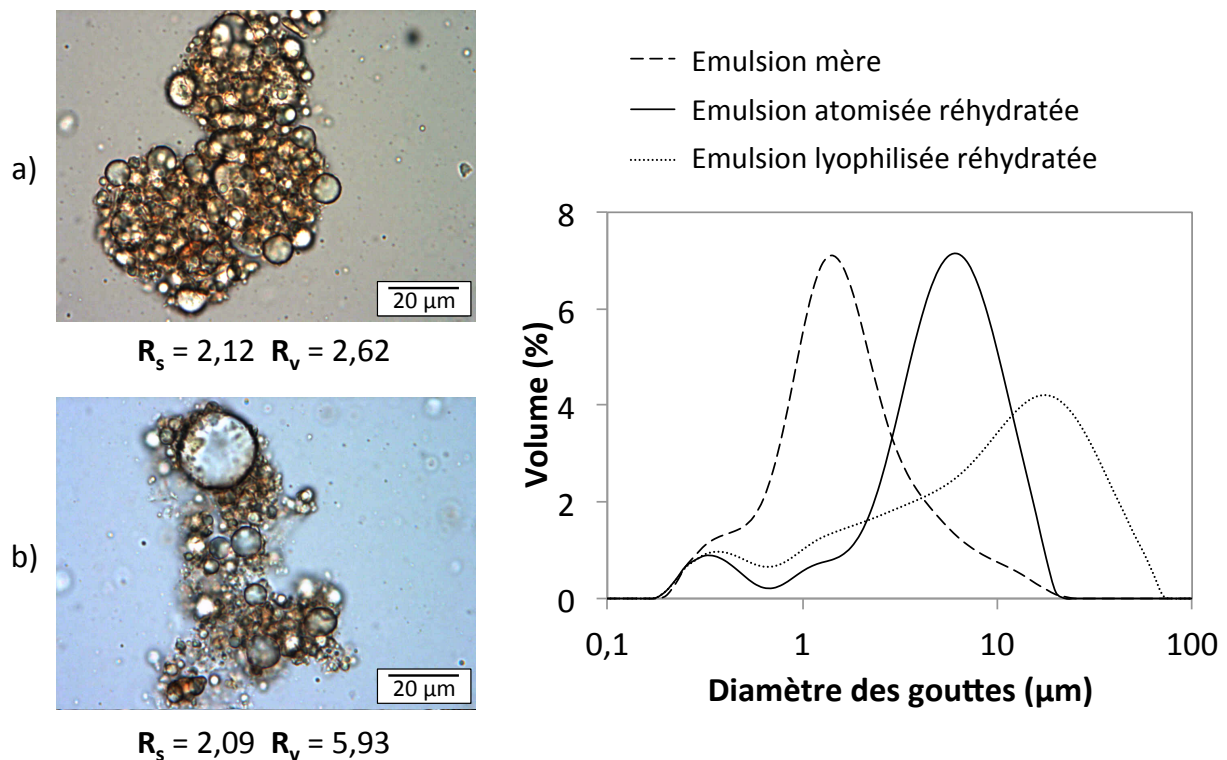


Figure V-9 Caractéristiques des émulsions réhydratées après a) atomisation et b) lyophilisation d'une émulsion mère de composition : 15 % d'huile, 15,5 % de lactose et 7,5 % de poudre de cacao. A comparer avec la Figure V-8.

L'émulsion stabilisée par le tourteau de colza contenant 7,75 % de lactose résiste bien à la déshydratation (notamment par atomisation) et à la redispersion (Figure V-7). Nous avons donc tenté de sécher la même émulsion mère sans lactose (Figure V-10). La tendance observée pour les émulsions stabilisées par le cacao est confirmée, bien qu'atténuée dans le

cas du colza : les rapports R_s et R_v sont supérieurs à ceux obtenus en présence de lactose. Il convient de rappeler que les mesures granulométriques sont menées après redispersion de la poudre dans une solution de SDS. La distribution des tailles est donc celle des gouttes d'huile individuelles.

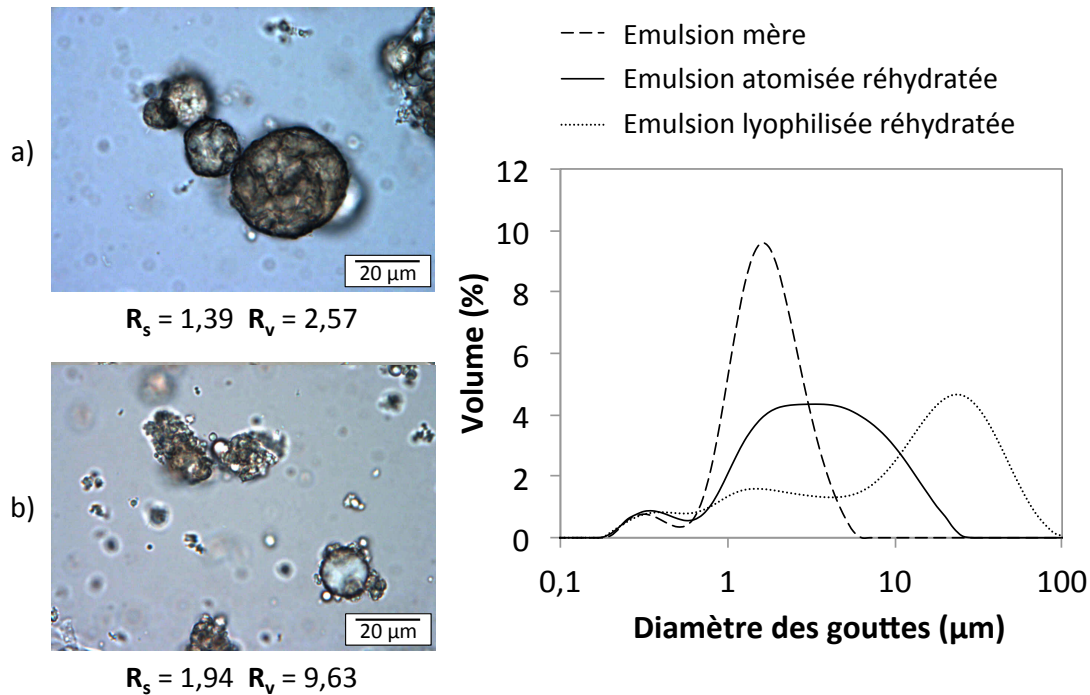


Figure V-10 Caractéristiques des émulsions réhydratées après a) atomisation et b) lyophilisation d'une émulsion mère de composition : 15 % d'huile, 0 % de lactose et 7,5 % de tourteau de colza. A comparer avec la Figure V-7.

Nous avons observé que la poudre sèche issue de l'atomisation se redispense moins bien dans l'eau en l'absence de lactose. La microscopie optique révèle des grains solides denses de poudre et non plus des gouttes d'émulsion agrégées. Lorsqu'il est présent, le lactose précipite sous sa forme amorphe lors d'un séchage rapide, facilitant ainsi la prise en eau et la dissolution lors de la réhydratation. Nous pouvons cependant considérer que le tourteau de colza seul protège efficacement l'émulsion pendant son atomisation puisque la coalescence reste modérée. Il serait intéressant d'envisager l'atomisation d'une émulsion mère sans lactose avec éventuellement une proportion plus importante de tourteau de colza. En revanche, la lyophilisation est plus destructrice en absence de lactose. La coalescence est largement favorisée et R_v augmente de 4 (Figure V-7) à 9,6 (Figure V-10). Certains composés solubles de la poudre comme les protéines et les carbohydrates sont des cryo-protecteurs, mais ils ne sont vraisemblablement pas présents en quantité suffisante.

4.3. Proportion huile / matériel stabilisant

La quantité d'additifs de séchage (encore appelés matériels de paroi) nécessaire à une bonne stabilité des poudres est généralement élevée et représente entre 30 à 80 % de la poudre finale (Gu et al., 2004; Jost et al., 1989; Klinkesorn et al., 2005). De ce fait, les poudres sont souvent assez pauvres en huile. Nous avons exploré l'impact de la proportion entre le matériel stabilisant et la quantité d'huile en déshydratant une émulsion mère contenant 30 % d'huile, 7,5 % de tourteau de colza et 7,75 % de lactose (Figure V-11), soit quatre fois plus d'huile que de poudre végétale (contre deux fois plus sur la Figure V-7.). La poudre obtenue après déshydratation contient alors plus de 65 % d'huile (Tableau V-5). L'émulsion lyophilisée et réhydratée présente une distribution granulométrique bien plus large que celle de l'émulsion mère. Un deuxième mode apparaît autour de 50 μm et le rapport R_v est de l'ordre de 8. Comparativement, la distribution issue de l'atomisation s'élargit beaucoup moins, reste monomodale (un seul pic) et les rapports R_s et R_v sont inférieurs à 2. L'atomisation d'une émulsion stabilisée par le tourteau de colza altère peu la structure de l'émulsion, même pour un rapport huile / matériel stabilisant élevé.

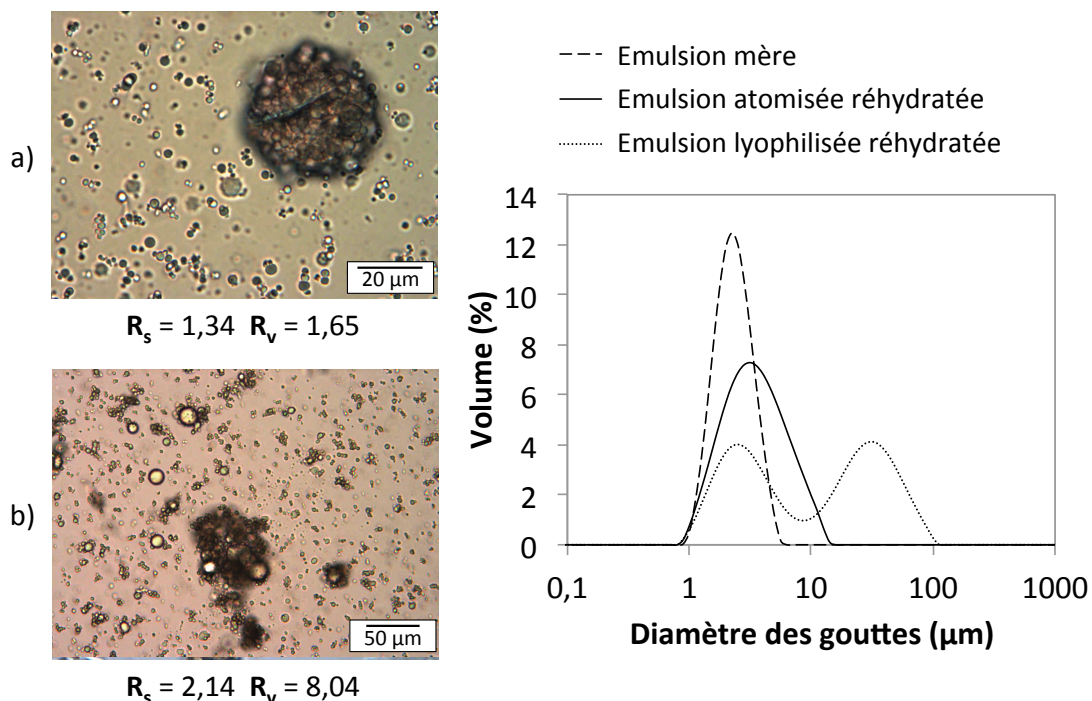


Figure V-11 Caractéristiques des émulsions réhydratées après a) atomisation et b) lyophilisation d'une émulsion mère de composition : 30 % d'huile, 7,75 % de lactose et 7,5 % de tourteau de colza. A comparer avec la Figure V-7.

4.4. Influence de l'origine de la poudre végétale

La Figure V-7 et la Figure V-8 montrent que, à formulation identique, le tourteau de colza permet une meilleure préservation de l'émulsion que le cacao, quelle que soit la technique de déshydratation. Les émulsions stabilisées par le tourteau de colza sont très résistantes au séchage et permettent d'obtenir des poudres sèches redispersables. Avec ce tourteau, le lactose permet d'améliorer la résistance à la lyophilisation mais sa valeur ajoutée est moindre dans le cas d'une atomisation. Les caractéristiques de l'émulsion sans lactose atomisée et réhydratée suggèrent en effet que les composés solubles de cette poudre végétale forment une couche protectrice lorsqu'ils sont précipités au sein de la goutte pulvérisée. D'après le Tableau V-1, ces composés sont majoritairement des carbohydrates et minoritairement des protéines (les dosages en équivalent de molécules de référence ne permettant pas d'être plus précis).

La Figure V-12 présente les caractéristiques des émulsions sèches réhydratées à base de coques de lupin. La teneur en lactose étant dans la limite haute de notre étude, cette formulation peut être comparée avec la formulation à base de cacao de la Figure V-9.

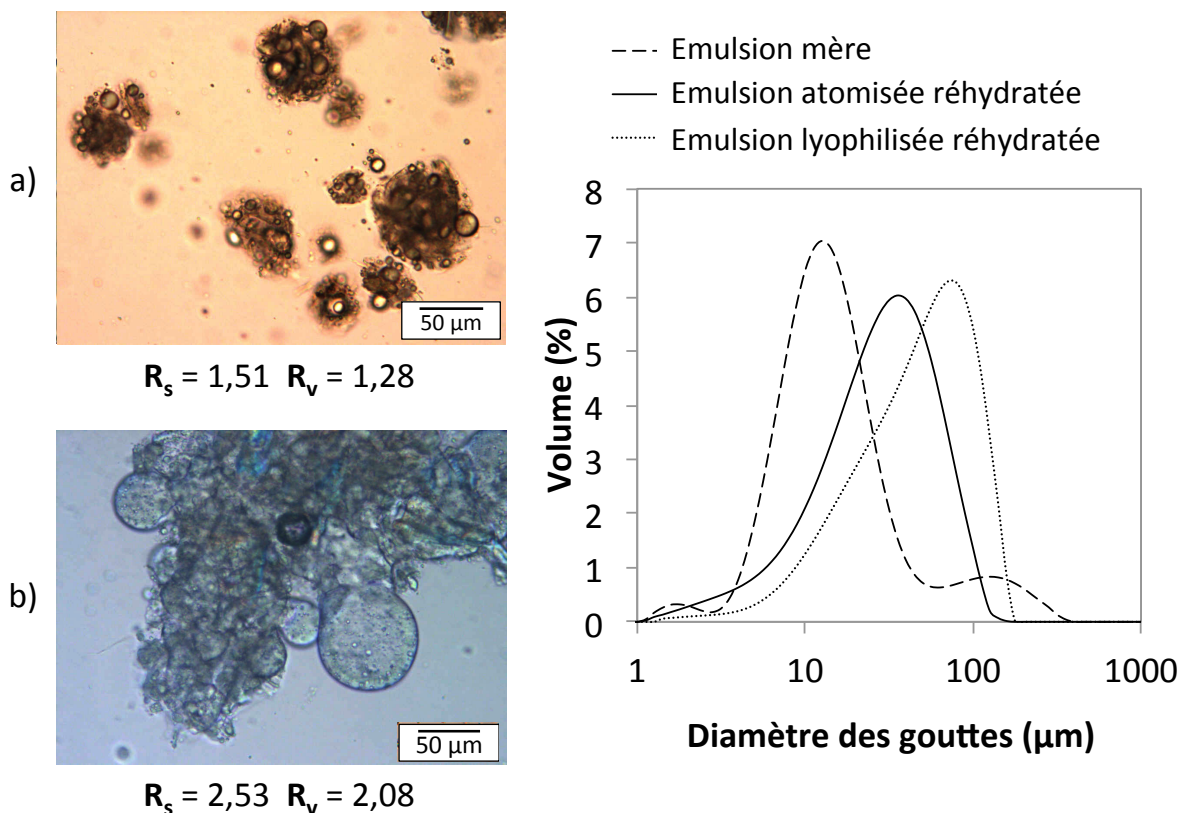


Figure V-12 Caractéristique des émulsions réhydratées après a) atomisation et b) lyophilisation d'une émulsion mère de composition : 15 % d'huile, 15,5 % de lactose et 7,5 % de coques de lupin. A comparer avec la Figure V-9.

Les rapports R_s et R_v sont inférieurs pour les coques de lupin par rapport au cacao, quelle que soit la technique de déshydratation (l'atomisation conduisant à des rapports inférieurs à ceux de la lyophilisation). Dans le cas de l'atomisation, les grains de la poudre (observés avant redispersion sur la Figure V-6) se dispersent mal et la microscopie confirme qu'ils sont peu modifiés par la réhydratation. Nous observons des grains de forme sphériques, constitués d'un réseau « fibreux » au sein duquel des gouttes piégées sont discernables. La stabilité d'un tel système sera évaluée au paragraphe 6. Les grains de l'émulsion lyophilisée sont grossiers, de taille importante et se redispersent mal dans l'eau. La faible pression exercée sur l'échantillon par la lamelle lors des observations microscopiques libère de l'huile. L'émulsion lyophilisée est par ailleurs la seule à avoir instantanément libéré de l'huile en surface lors de la réhydratation. La distribution granulométrique des gouttes (déterminée après traitement au SDS) ne représente donc pas la totalité de l'huile mais seulement l'huile « encapsulée ».

Ainsi, les coques de lupin permettent une meilleure conservation de l'émulsion mère que le cacao uniquement dans le cas d'une déshydratation par atomisation. Cette tendance est toutefois à relativiser sachant qu'une émulsion mère stabilisée par les coques de lupin est moins stable dans le temps qu'une émulsion stabilisée par le cacao et que les gouttes sont initialement plus grossières et polydisperses. Mais si nous évaluons uniquement la capacité d'une émulsion à résister à la déshydratation, les émulsions au colza sont largement plus performantes, suivies par celles stabilisées par les coques de lupin puis par le cacao.

Nous pouvons conclure que l'origine de la poudre végétale employée pour stabiliser les émulsions mères est un paramètre essentiel pour la conservation de l'émulsion. Si elle a une influence sur certaines caractéristiques physiques des poudres déshydratées, les différences sont plus critiques après réhydratation. Le colza reste de loin la source la plus intéressante, et l'atomisation la technique la plus performante. Comme attendu, le lactose présente un effet très positif et permet d'atténuer la déstructuration des systèmes, qu'ils soient atomisés ou lyophilisés. Le lactose comporte néanmoins un inconvénient en apportant à la poudre une hygroscopicité susceptible de provoquer son mottage.

5. Nature de l'huile : huile de lin et beurre de cacao

Nous avons étudié le comportement d'émulsions à base d'huile de lin (Huilerie Philippe Vigean). Cela nous permettra d'évaluer au paragraphe 6.2 la stabilité des émulsions déshydratées vis-à-vis de l'oxydation, tout comme dans les chapitres III et IV pour les émulsions mères. Avec l'huile de lin, les caractéristiques de l'émulsion mère, de l'émulsion atomisée et de l'émulsion réhydratée sont totalement identiques à celles obtenues avec l'huile de tournesol (Figure V-13). L'émulsion mère et l'émulsion atomisée réhydratée ont été observées en microscopie optique et ne présentent aucune différence significative. Les distributions granulométriques très proches et les rapports R_s et R_v proches de l'unité confirment ces observations.

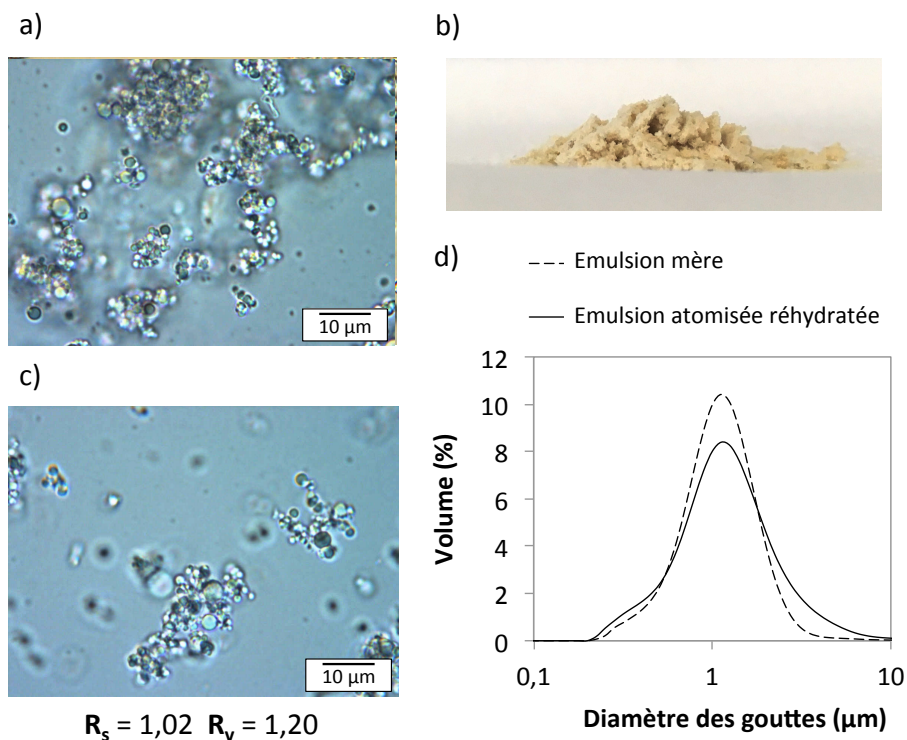


Figure V-13 a) Microscopie de l'émulsion mère composée de 15 % d'huile de lin, 7,75 % de lactose et 7,5 % de tourteau de colza, b) poudre obtenue par atomisation de l'émulsion mère, c) microscopie de la poudre réhydratée et d) comparaison des distributions granulométriques des émulsions mère et atomisée réhydratée.

Nous avons également évalué la possibilité d'utiliser une huile partiellement cristallisée à température ambiante : le beurre de cacao. La fabrication de l'émulsion est réalisée avec un beurre de cacao (Barry Callebaut) préalablement chauffé à 60°C, température à laquelle il est totalement liquide. L'atomisation est réalisée immédiatement après émulsification sans aucune modification du procédé ou des paramètres. Seul le protocole de

mesure granulométrique est adapté : la dispersion de l'émulsion dans la solution de SDS est réalisée dans une étuve à 60°C et les mesures granulométriques sont également réalisées à chaud. A température ambiante, la poudre obtenue par atomisation est comparable à celle constituée d'huile de tournesol (Figure V-14.b). Le beurre est libéré par une légère pression une fois la poudre réchauffée au contact des doigts. Comme toutes les autres émulsions atomisées, la détermination du taux de matière grasse par extraction à l'hexane coïncide parfaitement avec la teneur théorique en beurre de cacao puisqu'elle est de 49,7 % (voir Tableau V-4). Une coalescence est observée lorsque cette poudre est réhydratée mais les rapports R_s et R_v de l'ordre de 2 montrent qu'elle reste limitée. Les distributions granulométriques ont des allures similaires, mais celle de l'émulsion réhydratée présente un léger décalage vers les diamètres de gouttes plus élevés.

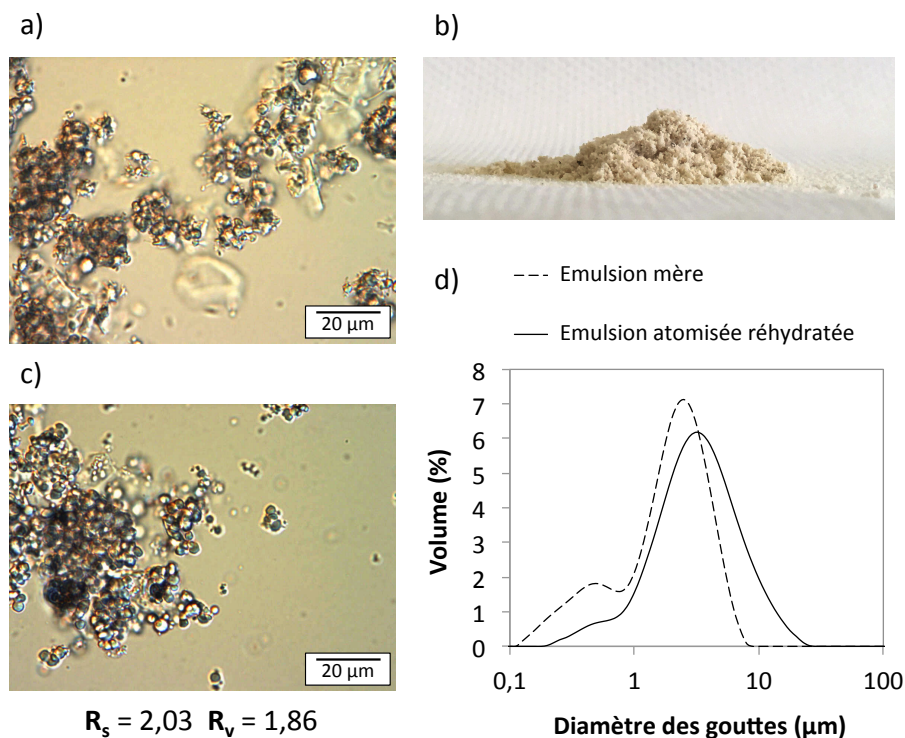


Figure V-14 a) Observation microscopique de l'émulsion mère composée de 15 % de beurre de cacao, 7,75 % de lactose et 7,5 % de tourteau de colza, b) poudre obtenue par atomisation de l'émulsion mère, c) observation microscopique de la poudre réhydratée et d) comparaison des distributions granulométriques des émulsions mère et atomisée réhydratée.

La nature de l'huile a peu d'influence sur les performances obtenues avec la formulation optimisée de notre étude. De nombreux matériaux aux propriétés intéressantes sont donc accessibles.

6. Stabilité des formulations

Les émulsions déshydratées ont jusqu'ici été caractérisées en sortie de séchage. Or la stabilité des poudres au stockage est essentielle. En effet, comme évoqué précédemment, l'évolution des phases amorphes peut considérablement modifier la structure des poudres, leurs propriétés physiques et leur caractère redispersable. L'atomisation étant plus performante que la lyophilisation, seule la stabilité des émulsions atomisées a été étudiée.

6.1. Stabilité physique des émulsions sèches et des émulsions réhydratées

Les poudres (environ 30 g) ont été stockées durablement à température ambiante dans des flacons fermés de 200 mL. Les taux d'humidité et les morphologies des grains ont été évalués après 8 mois de stockage. Les taux d'humidité des émulsions sèches ont tous augmenté, à l'exception de la formulation sans lactose (Tableau V-6).

Tableau V-6 Evolution des taux d'humidité d'émulsions atomisées au cours de 8 mois de stockage à conditions ambiantes (les émulsions mères contiennent toutes 15 % d'huile de tournesol et 7,5 % de poudre végétale).

Emulsion mère atomisée	Taux d'humidité initial	Taux d'humidité après 8 mois de stockage sous forme sèche
Colza – 0 % lactose	1,48 ± 0,05 %	1,42 ± 0,05 %
Colza – 7,75 % lactose	1,95 ± 0,05 %	2,85 ± 0,05 %
Cacao – 7,75 % lactose	0,91 ± 0,05 %	1,27 ± 0,05 %
Cacao – 15,5 % lactose	1,86 ± 0,05 %	4,31 ± 0,05 %
Lupin – 15,5 % lactose	ND	1,64 ± 0,05 %

ND : non déterminé

Ce résultat peut s'expliquer par l'absorption des molécules d'eau de l'air ambiant. Nous avons évoqué au paragraphe 3.2 le caractère hygroscopique du lactose, accentué lorsqu'il est présent sous forme amorphe. La reprise en eau des poudres peut entraîner le mottage des grains. Elle peut aussi favoriser la cristallisation des phases amorphes en cristaux α -monohydrate au cours du stockage. Le mottage peut alors être accentué car ce changement d'état libère l'eau d'hydratation du lactose (Jeantet et al., 2007; Jouppila, Roos, 1994) et crée des ponts solides entre les grains (phénomène de frittage).

Comme attendu, les poudres les plus riches en lactose sont celles qui ont adsorbé le plus d'humidité. La formulation issue de l'émulsion mère au cacao avec 15,5 % de lactose - teneur maximale- présente le taux d'humidité initial le plus élevé. C'est aussi la seule émulsion sèche dont l'évolution macroscopique est significative. En effet, la poudre a motté et est devenue plus cassante et friable (Figure V-15), suggérant une éventuelle cristallisation des phases amorphes. Il est cependant toujours aisé de la désagréger sans libérer d'huile et la morphologie des grains observée en microscopie optique ne semble pas affectée.

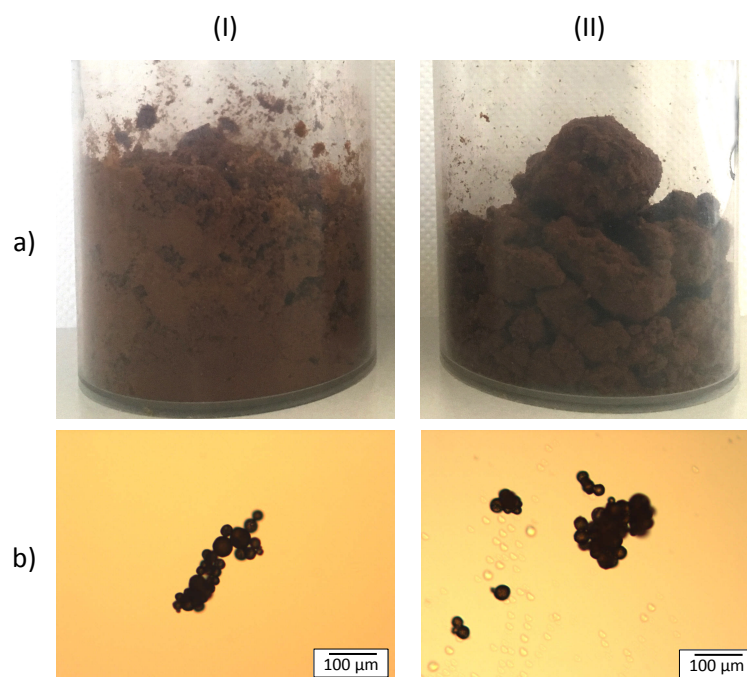


Figure V-15 Aspect a) macroscopique et b) microscopique de l'émulsion mère à 7,5 % de cacao, 15 % d'huile de tournesol et 15,5 % de lactose (I) après atomisation et (II) après atomisation et 8 mois de stockage

Nous avons évalué l'impact du temps de stockage sur la capacité des émulsions sèches à être redispersées. Même après 8 mois de stockage, les poudres se redispersent aisément dans l'eau par simple agitation à la spatule. Par ailleurs, les caractéristiques des émulsions formées sont comparables à celles des émulsions réhydratées en sortie d'atomisation (Figure V-16).

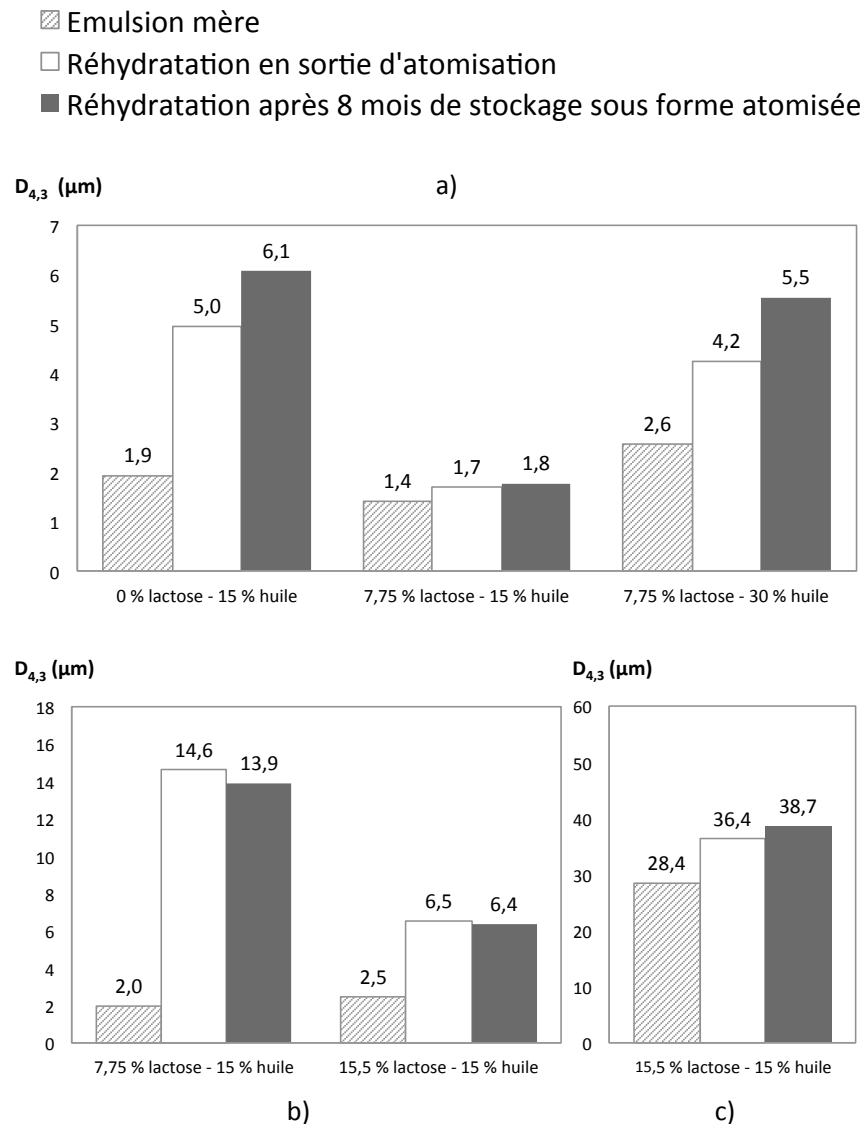


Figure V-16 Comparaison des diamètres moyens en volume de l'émulsion mère, de l'émulsion atomisée réhydratée en sortie de séchage et de l'émulsion atomisée réhydratée après 8 mois de stockage sous forme sèche. Les émulsions mères contiennent 7,5 % de a) tourteau de colza, b) cacao et c) coques de lupin.

Le lactose est un matériel de paroi avantageux. En effet, le stockage n'a aucune influence sur la redispersion des émulsions sèches riches en lactose. Même lorsque les poudres ont motté, le système n'est pas déstructuré. Ceci est particulièrement vrai pour la formulation au cacao à 15,5 % de lactose qui a pris en masse pendant le stockage (Figure V-16.b). Pour les formulations au colza, le stockage prolongé induit une coalescence modérée lorsque que la formulation ne contient pas de lactose ou qu'elle contient deux fois plus d'huile, donc comparativement moins de lactose dans sa forme sèche (Figure V-16.a). La formulation au lupin évolue également de façon modérée (Figure V-16.c).

Afin de savoir si cette augmentation de la taille moyenne des gouttes d'huile a un impact sur la stabilité ultérieure, les émulsions réhydratées après stockage ont été conservées à 4°C et les évolutions de leur diamètre moyen en volume ont été suivies. La Figure V-17.a) indique que seule l'émulsion à 30 % d'huile stabilisée par le tourteau de colza se déstabilise. Les émulsions à 15 % d'huile à base de colza et de cacao sont très stables, avec ou sans lactose. Les coques de lupin ne permettent pas de stabiliser l'émulsion réhydratée durablement. En effet, une couche d'huile est observée dès 7 jours à 4°C.

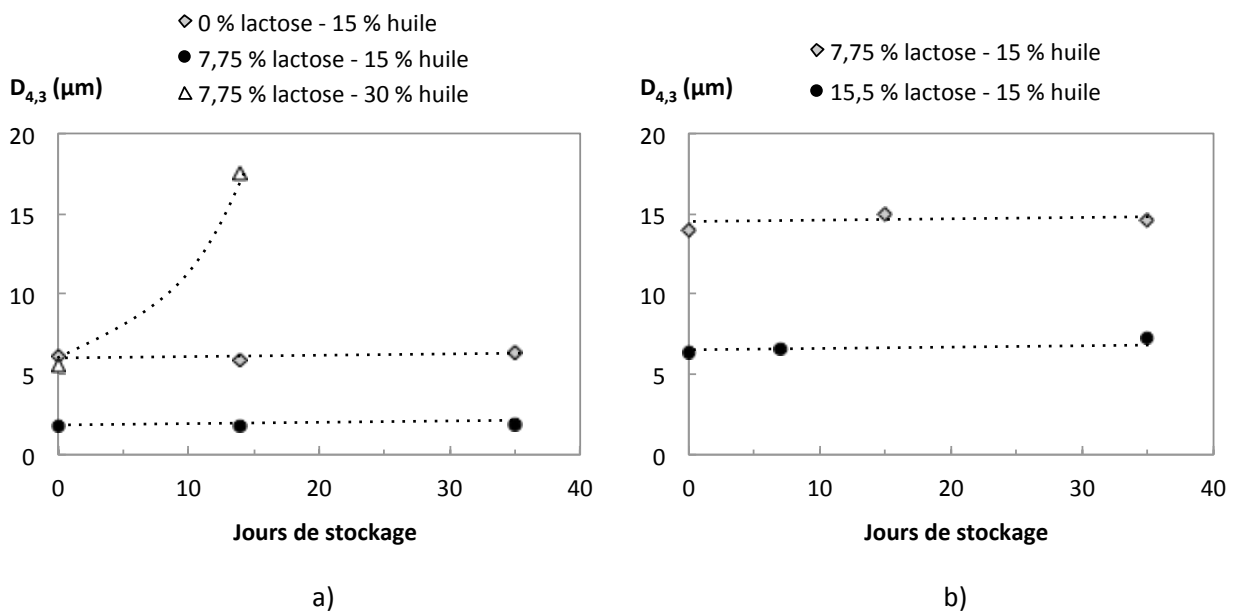


Figure V-17 Evolution des émulsions réhydratées après 8 mois de stockage sous forme atomisée. Les émulsions mères contiennent 7,5 % de a) tourteau de colza et b) cacao. Les lignes pointillées sont des guides visuels.

6.2. Stabilité des émulsions sèches vis-à-vis de l'oxydation

Nous présentons dans ce qui suit les résultats relatifs à la stabilité vis-à-vis de l'oxydation de deux émulsions atomisées à base de colza et de cacao. Dans le cas du colza, le système contient 7,5 % de tourteau, 15 % d'huile de lin et 7,75 % de lactose. La formulation à base de poudre de cacao contient 7,5 % de cacao, 15 % d'huile de lin et 15,5 % de lactose. Nous avons montré aux chapitres III et IV que l'huile de lin au sein de ces émulsions mères s'oxyde beaucoup plus tardivement qu'une huile en phase continue. Qu'en est-il dans la forme sèche ?

L'atomisation est un procédé pouvant influencer sur l'oxydation de l'huile et sur la quantité d'antioxydants avant même que les poudres ne soient stockées. Il convient donc de vérifier l'influence du procédé avant d'évaluer les stabilités au stockage. Nous avons pour cela dosé les diènes conjugués dans l'huile *via* l'absorbance spécifique à 233 nm avant et après séchage (protocole au chapitre II). L'augmentation de la teneur en diènes conjugués est en effet un indicateur du début de l'oxydation car elle traduit l'apparition des hydroperoxydes, composés primaires de l'oxydation. L'absorbance à 233 nm de l'huile n'est pas significativement augmentée après atomisation (Figure V-18). Ceci est valable aussi bien pour le colza que pour le cacao.

Cela ne signifie par pour autant le séchage ne favorise pas les réactions d'oxydation. Il est en effet possible que les antioxydants initialement présents réagissent avec les radicaux libres avant leur transformation en hydroperoxydes. Dans ce cas, l'huile s'oxyderait plus rapidement au cours du stockage car elle serait moins protégée. C'est pour cela que les tocophérols (antioxydants) de l'huile et certains antioxydants dans les phases aqueuses ont été dosés. Les dosages dans la « phase aqueuse » des émulsions sèches ont été réalisés après réhydratation dans les proportions de l'émulsion mère. Les antioxydants des poudres végétales sont majoritairement des polyphénols. Il s'agit plus particulièrement de flavonoïdes (catéchine et épicatechine) dans le cas du cacao et des acides phénoliques (acide sinapique) dans le cas du tourteau de colza (Carrillo et al., 2014; Zago et al., 2015). Les méthylxanthines (théobromine et caféine) sont des molécules abondantes dans la poudre de cacao pouvant interagir avec les polyphénols. Nous les avons également dosés bien que leur pouvoir antioxydant soit très faible (Maleyki, Ismail, 2008; Plaza et al., 2017).

Les résultats sont présentés sur la Figure V-18. Il apparaît qu'à l'exception de l'acide sinapique et dans les limites de sensibilité des méthodes d'analyses, ces composés ne sont pas consommés pendant le séchage.

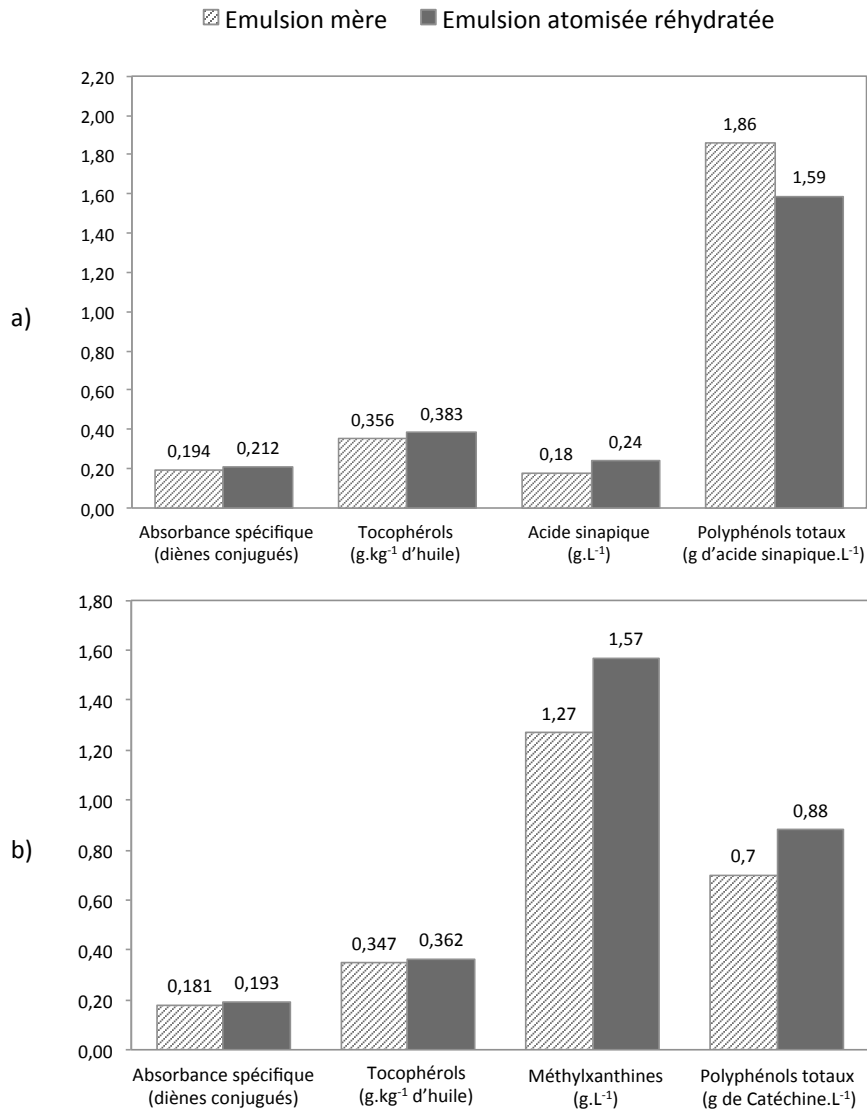


Figure V-18 Comparaison des absorbances spécifiques et des quantités de composés antioxydants avant et après atomisation des émulsions mères stabilisées par a) le tourteau de colza et b) le cacao.

Les émulsions sèches sont soumises au vieillissement accéléré directement en sortie d'atomisation. Les conditions du vieillissement accéléré sont identiques à celles adoptées aux chapitre III et IV et elles sont précisément décrites au chapitre II. Les évolutions de l'absorbance spécifique à 233 nm de l'huile au sein des émulsions sèches pendant le stockage à 60°C sont comparées à celle de l'huile de lin en phase continue sur la Figure V-19.

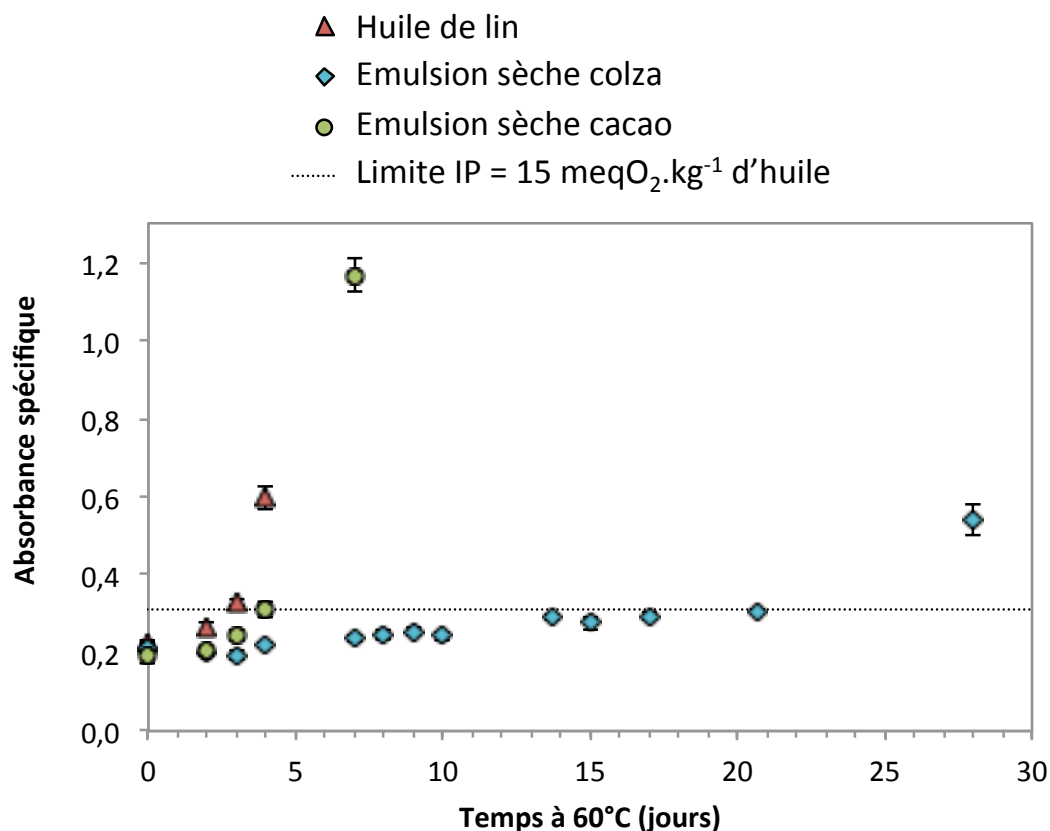


Figure V-19 Evolution de l'absorbance spécifique à 233 nm d'une huile de lin stockée sous forme d'émulsions sèches stabilisées par du tourteau de colza ou par du cacao, au cours du stockage à 60°C à l'obscurité.

L'huile en émulsion sèche à base de tourteau de colza est préservée de l'oxydation. Elle est conforme à la réglementation (absorbance spécifique < 0,31) jusqu'à 20 jours de stockage à 60°C, contre 3 jours pour l'huile en phase continue non formulée. La protection vis-à-vis de l'oxydation observée pour l'émulsion mère est donc conservée sous forme sèche. Elle est même améliorée puisque l'huile au sein de l'émulsion mère n'est plus conforme à partir de 10 jours de stockage à 60°C (chapitre III).

Les quantités de tocophérols (dans l'huile), de polyphénols totaux et d'acide sinapique (dans la phase aqueuse) ont été mesurés à différents jours de stockage à 60°C. Les résultats sont présentés en Annexe et il apparaît qu'aucun de ces composés n'est consommé. Cela suggère qu'aucun de ces composés n'intervient de façon significative dans les mécanismes antioxydants et/ou que l'oxydation n'est pas assez avancée pour qu'une évolution significative soit mesurée dans les limites de détection.

Contrairement à l'émulsion sèche stabilisée par le colza, l'émulsion sèche à base de cacao ne protège pas l'huile de l'oxydation (Figure V-19). Même si nous observons un léger

décalage, les cinétiques d'oxydation de l'huile en phase continue et de l'huile en émulsion sèche sont comparables. Cela paraît surprenant puisque l'émulsion mère protège très bien de l'oxydation (voir chapitre III).

Il est alors envisageable que les températures appliquées pendant l'atomisation affectent le caractère antioxydant. Nous avons donc cherché à évaluer l'influence du traitement thermique sur le système. Pour cela, une émulsion mère à base de cacao a été stockée pendant une heure à 90°C puis soumise à un vieillissement accéléré. Le temps et la température choisis sont *a priori* surestimés par rapport aux conditions subies par la poudre dans l'atomiseur. En effet, les temps de contact entre le produit et l'air de séchage sont très courts. Pour des températures d'entrée de l'air de séchage comprises entre 150 et 220°C, il est considéré que le produit est exposé à des températures comprises entre 50 et 80 °C (Gharsallaoui et al., 2007). L'évolution de l'absorbance spécifique de l'huile de cette émulsion « traitée thermiquement » est comparée à celle de l'émulsion mère sur la Figure V-20. Ce traitement n'a aucun impact sur la cinétique d'oxydation de l'huile au sein de l'émulsion mère. Même si cette étude a été réalisée sur les formulations non séchées, ce résultat nous conforte dans l'idée que les températures d'atomisation ne sont pas à l'origine de la perte du caractère antioxydant de l'émulsion sous forme sèche.

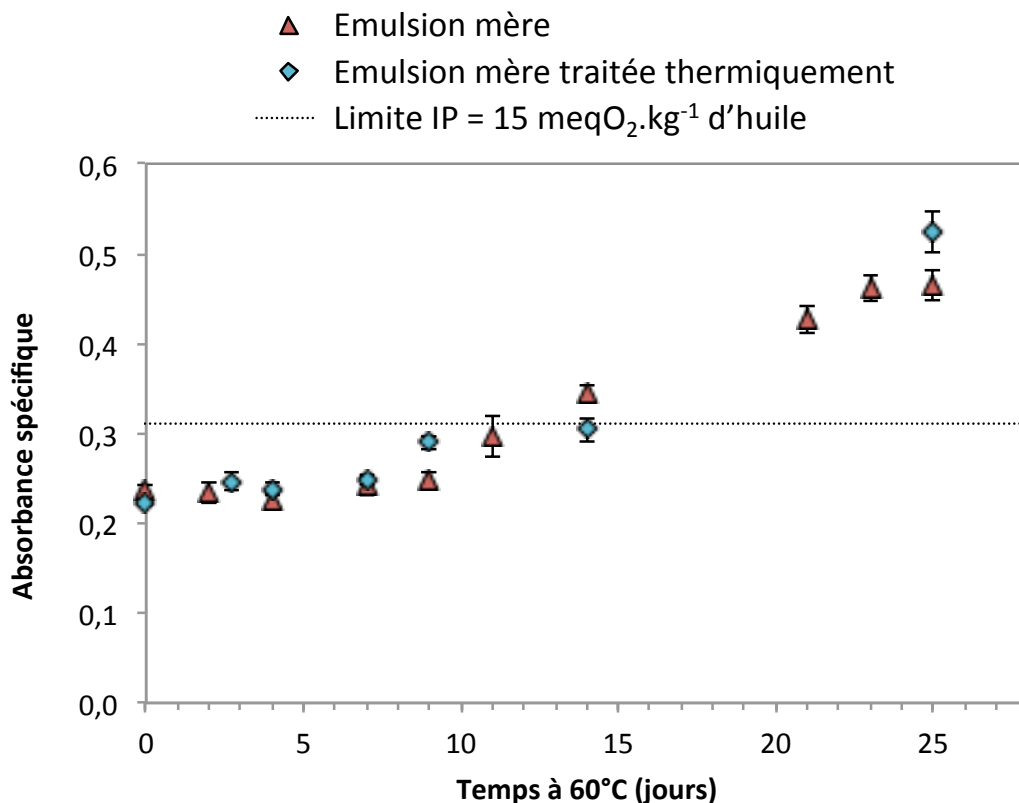


Figure V-20 Influence d'un traitement thermique d'une heure à 90°C sur la cinétique d'oxydation de l'huile de l'émulsion mère stabilisée par la poudre de cacao.

La libération d'huile au cours du stockage n'est pas à l'origine de son oxydation. Nous avons en effet réhydraté l'émulsion sèche après 9 jours de stockage à 60°C. Aucune huile en surface n'est observée et la taille moyenne des gouttes d'huile mesurée par granulométrie laser (après traitement SDS) et identique à celle de l'émulsion sèche réhydratée avant stockage, non oxydée ($D_{4,3}$ de 6,9 et 6,4 μm , respectivement).

L'absence de protection vis-à-vis de l'oxydation de l'émulsion sèche à base de cacao est en accord avec les observations du chapitre III, paragraphe 7.3 : le caractère antioxydant semble provenir de la fraction insoluble des particules, mais la protection s'exerce seulement en présence d'eau.

7. *Résumé des résultats du chapitre V*

Dans ce chapitre, nous avons fabriqué des poudres sèches, non collantes et riches en huile (jusqu'à 67 %) à partir d'émulsions stabilisées par des particules végétales. Cette forme sèche est redispersable dans l'eau.

Nous avons étudié plusieurs paramètres :

- la technique de séchage : l'atomisation conduit à de meilleurs résultats que la lyophilisation
- la nature des particules végétales : le tourteau de colza est de loin la source végétale la plus performante. L'oxydation de l'huile est de plus largement retardée dans l'émulsion sèche au colza. Les autres sources végétales, cacao et lupin, aboutissent cependant à des résultats satisfaisants pouvant être améliorés *via* d'autres paramètres.
- La teneur en lactose : le lactose permet une meilleure conservation des propriétés de l'émulsion mère. Il augmente cependant l'hygroscopicité des émulsions sèches et favorise le mottage des poudres. Bien que cette évolution n'altère pas les propriétés de réhydratation, elle modifie l'aspect physique des poudres.

Dans les émulsions à base de tourteau de colza, la forme sèche protège l'huile de l'oxydation.

Références :

- Carneiro, H.C.F., Tonon, R.V., Grosso, C.R.F., Hubinger, M.D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *J. Food Eng.* 115, 443–451.
- Carrillo, L.C., Londoño-Londoño, J., Gil, A. (2014). Comparison of polyphenol, methylxanthines and antioxidant activity in *Theobroma cacao* beans from different cocoa-growing areas in Colombia. *Food Res. Int.* 60, 273–280.
- Chiou, D., Langrish, T.A.G., Braham, R. (2008). The effect of temperature on the crystallinity of lactose powders produced by spray drying. *J. Food Eng.* 86, 288–293.
- Chirife, J., Buera, M.P. (1997). A simple model for predicting the viscosity of sugar and oligosaccharide solutions. *J. Food Eng.* 33, 221–226.
- Davis, E.A. (1995). Functionality of sugars: physicochemical interactions in foods. *Am. J. Clin. Nutr.* 62, 170S – 177S.
- Descamps, M. (2017). États amorphe et vitreux des composés moléculaires et pharmaceutiques Propriétés générales. *Tech. Ing. Mise En Forme Médicam. base documentaire : TIB611DUO.*
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res. Int.* 40, 1107–1121.
- Gomez, F., Saleh, K. (2012). Mise en œuvre des poudres Séchage par atomisation. Procédé. *Tech. Ing. Mise En Forme Médicam. base documentaire : TIB611DUO.*
- Goula, A.M., Adamopoulos, K.G., Kazakis, N.A. (2004). Influence of spray drying conditions on tomato powder properties. *Dry. Technol.* 22, 1129–1151.
- Gu, Y.S., Decker, E.A., McClements, D.J. (2004). Influence of pH and iota-carrageenan concentration on physicochemical properties and stability of beta-lactoglobulin-stabilized oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3626–3632.
- Haque, M.K., Roos, Y.H. (2005). Crystallization and X-ray diffraction of spray-dried and freeze-dried amorphous lactose. *Carbohydr. Res.* 340, 293–301.
- Haque, M.K., Roos, Y.H. (2006). Differences in the physical state and thermal behavior of spray-dried and freeze-dried lactose and lactose/protein mixtures. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 7, 62–73.
- Hernandez Sanchez, M. del R., Cuvelier, M.-E., Turchiuli, C. (2015). Design of liquid emulsions to structure spray dried particles. *J. Food Eng.* 167, 99–105.

- Jeantet, R., Croguennec, T., Mahaut, M., Schuck, P., Brulé, G. (2007). Les produits laitiers - Chapitre 8 : Lactose (Editions Tec & Doc Lavoisier).
- Jost, R., Dannenberg, F., Rosset, J. (1989). Heat-Set Gels Based on Oil/Water Emulsions: An Application of Whey Protein Functionality. *Food Struct.* 8.
- Jouppila, K., Roos, Y. (1994). Water sorption and time-dependent phenomena of milk powders. *J. Dairy Sci.* 77, 1798–1808.
- Klinkesorn, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., McClements, D.J., Decker, E.A. (2005). Stability of spray-dried tuna oil emulsions encapsulated with two-layered interfacial membranes. *J. Agric. Food Chem.* 53, 8365–8371.
- Leturia, M., Saleh, K. (2016). Fluidisation gaz-solide Particules fines et nanoparticules. *Tech. Ing. Réact. Chim. base documentaire : TIB330DUO*.
- Listiohadi, Y., Hourigan, J., Sleigh, R., Steele, R. (2008). Moisture sorption, compressibility and caking of lactose polymorphs. *Int. J. Pharm.* 359, 123–134.
- Maher, P.G., Auty, M.A.E., Roos, Y.H., Zychowski, L.M., Fenelon, M.A. (2015). Microstructure and lactose crystallization properties in spray dried nanoemulsions. *Food Struct.* 3, 1–11.
- Maleyki, M.J.A., Ismail, A. (2008). Antioxydant properties of cocoa powder. *J. Food Biochem.* 34, 111–128.
- Marin, M., René, F. (2000). Lyophilisation. *Tech. Ing. Opérations Unit. Génie Ind. Aliment. base documentaire : TIB430DUO*.
- Millqvist-Fureby, A., Malmsten, M., Bergenståhl, B. (1999). Surface characterisation of freeze-dried protein/carbohydrate mixtures. *Int. J. Pharm.* 191, 103–114.
- Patil, V.V., Dandekar, P.P., Patravale, V.B., Thorat, B.N. (2010). Freeze Drying: Potential for Powdered Nanoparticulate Product. *Dry. Technol.* 28, 624–635.
- Plaza, M., Oliveira, D., Nilsson, A., Turner, C. (2017). Green and Efficient Extraction Method to Determine Polyphenols in Cocoa and Cocoa Products. *Food Anal. Methods* 10, 2677–2691.
- Sarkar, A., Arfsten, J., Golay, P.-A., Acquistapace, S., Heinrich, E. (2016). Microstructure and long-term stability of spray dried emulsions with ultra-high oil content. *Food Hydrocoll.* 52, 857–867.
- Schuck, P., Bouhallab, S., Durupt, D., Varelle, P., Humbert, J.-P., Marin, M. (2004). Séchage des lactosérums et dérivés : rôle du lactose et de la dynamique de l'eau. *Le Lait* 84, 243–268.

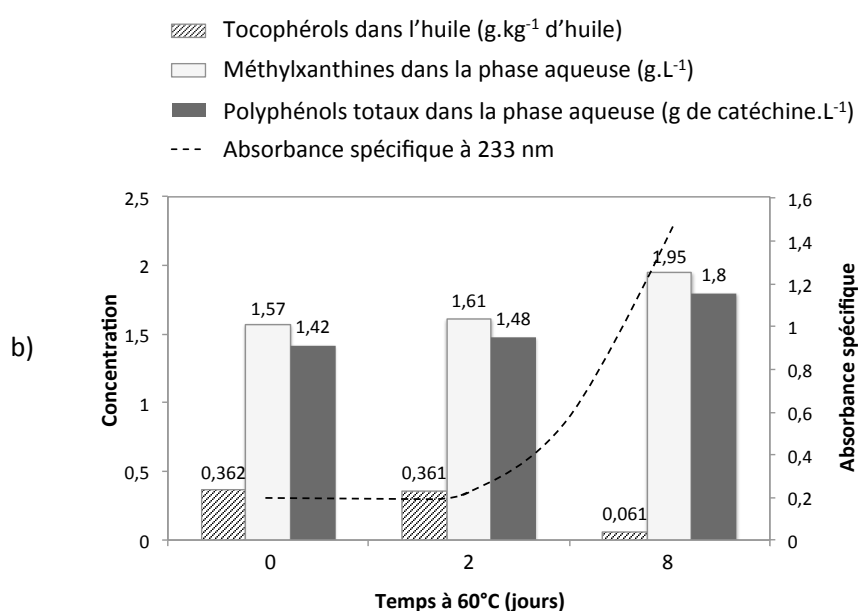
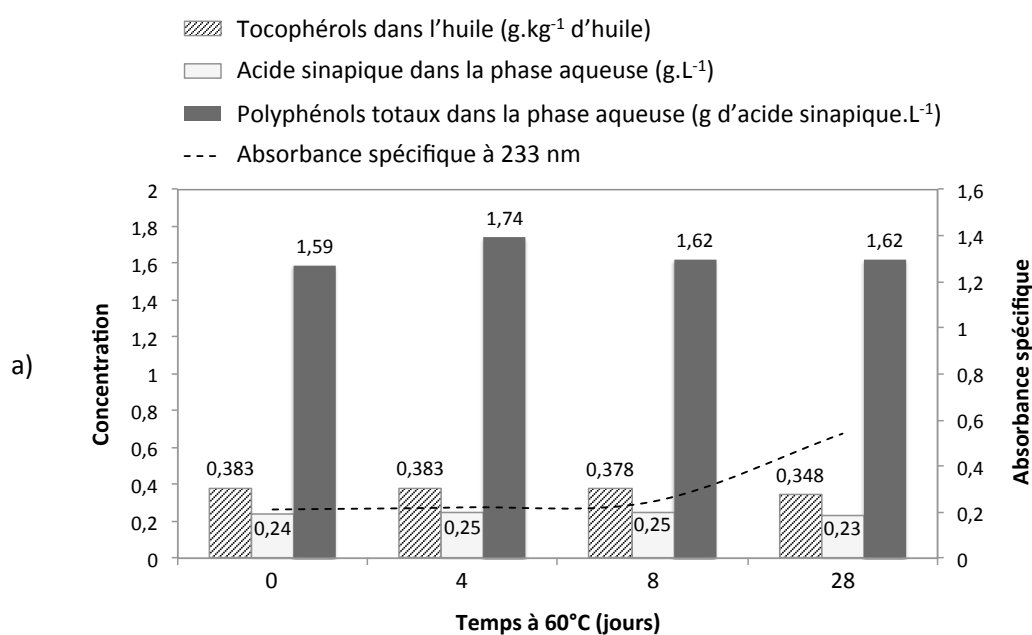
- Shi, A.-M., Wang, L.-J., Li, D., Adhikari, B. (2012). The effect of annealing and cryoprotectants on the properties of vacuum-freeze dried starch nanoparticles. *Carbohydr. Polym.* 88, 1334–1341.
- Tonon, R.V., Grosso, C.R., Hubinger, M.D. (2011). Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. *Food Res. Int.* 44, 282–289.
- Zago, E., Lecomte, J., Barouh, N., Aouf, C., Carré, P., Fine, F., Villeneuve, P. (2015). Influence of rapeseed meal treatments on its total phenolic content and composition in sinapine, sinapic acid and canolol. *Ind. Crops Prod.* 76, 1061–1070.

Annexe

Les tocophérols de l'huile de lin ont été dosés dans l'huile des émulsions sèches à différents temps de stockage à 60°C. Les polyphénols totaux, l'acide sinapique et les méthylxanthines ont été dosés dans les phases aqueuses des émulsions sèches réhydratées après différents temps de stockage à 60°C. Les concentrations de ces composés sont tracées au regard de l'état d'oxydation de l'huile, soit de l'absorbance spécifique de l'huile à 233 nm :

a) émulsion sèche stabilisée par le tourteau de colza : aucune évolution des concentrations

b) émulsion sèche stabilisée par le cacao : les tocophérols sont consommés entre 2 et 8 jours.



Conclusion générale

Dans ce mémoire, nous avons fabriqué et stabilisé des émulsions en valorisant une biomasse abondante : les tourteaux d'oléoprotéagineux. La bioraffinerie mise en œuvre est minimale, les poudres végétales ont simplement été délipidées et/ou broyées. La caractérisation des émulsions a mis en évidence la fonctionnalité multiple de ces poudres végétales. Elles peuvent à la fois jouer le rôle d'agent émulsifiant, épaississant et antioxydant. La protection des gouttes d'huile pendant le séchage des émulsions indique qu'elles constituent de plus un bon matériau de paroi.

Bien que les poudres soient de composition et de forme complexes, nous avons pu établir des règles génériques. Les particules sont préférentiellement mouillées par l'eau et les émulsions obtenues sont de type Huile-dans-Eau, conformément à la loi de Finkle (Finkle et al., 1923). La stabilisation et les propriétés des émulsions sont principalement déterminées par la fraction insoluble (dans l'eau) des poudres, permettant de qualifier ces systèmes d'émulsions de Pickering. Pour les trois poudres étudiées, la poudre de cacao, le tourteau de colza et les coques de lupin, nous avons mis en évidence la relation linéaire entre la taille moyenne des gouttes et la quantité de particules aux interfaces. La quantité d'huile entre en jeu dans cette relation et peut également conditionner la granulométrie de l'émulsion.

Outre ces paramètres de formulation, les conditions de fabrication des émulsions permettent de moduler leurs propriétés. La nature et l'intensité du cisaillement influencent l'ancrage des particules aux interfaces de deux façons concomitantes :

- Elles conditionnent la capacité des particules à franchir la barrière énergétique d'adsorption aux interfaces, relativement élevée par rapport à celle des tensioactifs (macro-)moléculaires.
- Elles peuvent modifier la structure des particules végétales et améliorer leur fonctionnalité. De façon originale, les procédés peuvent « déplier » ces particules compactes mais déformables. Cette transition irréversible peut être induite pendant le procédé ou par un prétraitement mécanique en amont de l'émulsification.

La nature des poudres végétales est la dernière variable explorée au regard des caractéristiques des émulsions. En terme de performance, il apparaît qu'une poudre riche en composés amphiphiles, notamment en protéines, est plus fonctionnelle. Si la diversité de la

biomasse donne accès à des compositions infiniment variables, la maîtrise des paramètres de formulation et de procédé offre la possibilité de fabriquer des émulsions performantes quelle que soit la nature de la poudre. Les caractéristiques physico-chimiques des émulsions dépendent de la nature des poudres mais les tendances globales sont généralisables. En revanche, la stabilité chimique (pouvoir antioxydant) est plus difficile à généraliser. En effet, les mécanismes antioxydants n'ont pas été élucidés, chaque poudre végétale étant un mélange complexe de composés pro- et antioxydants. Ces derniers diffèrent selon la poudre par leur nature, leur proportion et leur évolution avec les différents traitements (émulsification, degré de délipidation, déshydratation, traitements thermiques, etc.).

Ce travail dont l'objectif était d'identifier les mécanismes de stabilisation, a permis d'identifier trois principaux leviers de contrôle des propriétés physiques d'émulsions stabilisées par des poudres végétales :

- la nature la poudre et la morphologie de la fraction insoluble,
- le procédé d'émulsification mis en œuvre,
- la composition de l'émulsion en huile et en poudre végétale.

Ces leviers donnent accès à de multiples combinaisons de paramètres, ce qui permet d'adapter les conditions en fonction des contraintes et des objectifs.

D'un point de vue applicatif, des émulsions fines de type Huile-dans-Eau fines, cinétiquement stables, protégées de l'oxydation et de viscosité variable, peuvent aisément être obtenues. Des matrices alimentaires aux propriétés diverses et contrôlées peuvent donc être fabriquées sans additifs classiques. Il est également possible d'éliminer la phase continue aqueuse afin d'obtenir des émulsions sèches assimilables à des « poudres d'huile » redispersables. Les conditions de séchage peuvent être adaptées de manière à obtenir des émulsions sèches stables aux niveaux physique et chimique et dont la redispersion conduit à une émulsion identique à l'émulsion parente. Ces systèmes secs sont avantageux d'un point de vue technologique : ils sont facilement manipulables à l'état de poudre, aisément redispersables dans l'eau, riches en huile, en fibres et en protéines. Des applications peuvent être envisagées, par exemple, en alimentation humaine ou animale ou pour l'encapsulation d'actifs lipophiles.

Les perspectives de cette étude sont nombreuses:

- D'autres sources végétales peuvent être explorées comme le café, le tournesol, le soja, etc.

- Les mécanismes antioxydants n'ont pas été identifiés de façon précise. Des analyses plus approfondies des composés solubilisés dans l'huile pourraient apporter des compléments d'information utiles pour la compréhension de la fonctionnalité antioxydante.
- L'influence du pH sur les propriétés des émulsions, notamment sur l'implication des différentes fractions dans la stabilisation, constituerait une extension de l'étude intéressante.
- L'analyse des interfaces et de l'ancrage des particules est à affiner par des observations en microscopie électronique, par exemple, et par l'identification des groupes fonctionnels des particules permettant l'ancrage.
- Le rôle des phospholipides n'a pas été considéré dans cette étude. En effet, leur proportion dans un tourteau non délipidé est généralement faible, de l'ordre de 1 %m (Bardeau, 2015), mais ils peuvent présenter un caractère émulsifiant et antioxydant (McClements, Gumus, 2016; Saito, Ishihara, 1997).
- Enfin, il serait intéressant d'envisager la transposition de nos travaux à l'échelle industrielle. L'étude devra intégrer la totalité de la chaîne de transformation, du tourteau brut à l'émulsion ou émulsion sèche, en passant par la délipidation des tourteaux. Un traitement mécanique est aussi à considérer pour à la fois affiner les particules végétales et induire la configuration « dépliée » qui assure un meilleur ancrage aux interfaces.

Références :

- Bardeau, T. (2015). Phospholipides bio-sourcés riches en acides gras oméga 3 pour la formulation de liposomes. PhD Thesis. Université de Bordeaux.
- Finkle, P., Draper, H.D., Hildebrand, J.H. (1923). The theory of emulsification. *J. Am. Chem. Soc.* 45, 2780–2788.
- McClements, D.J., Gumus, C.E. (2016). Natural emulsifiers — Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance. *Adv. Colloid Interface Sci.* 234, 3–26.
- Saito, H., Ishihara, K. (1997). Antioxidant activity and active sites of phospholipids as antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74, 1531–1536.

Emulsions de Pickering stabilisées par des poudres végétales : propriétés et rôle des paramètres de composition et d'émulsification

L'objectif de cette étude est de valoriser des coproduits végétaux tout en proposant une alternative biosourcée, économique et performante aux tensioactifs classiques. Des émulsions de type huile-dans-eau sont fabriquées à partir de poudres végétales finement broyées comme seul matériel tensioactif. Les systèmes dispersés qui en résultent, stabilisés par des particules solides, sont des émulsions dites de Pickering. La première partie de ce manuscrit décrit l'influence du procédé d'émulsification (rotor-stator en régime turbulent, ultrasons et homogénéisation haute pression) et des paramètres de formulation sur les propriétés d'émulsions stabilisées par de la poudre de cacao. Le rôle des différentes fractions de la poudre est déterminé et le phénomène de coalescence limitée propre aux émulsions de Pickering est étudié. Nous mettons en évidence une évolution structurale des particules (« dépliement ») sous l'effet du cisaillement appliqué lors de l'émulsification, permettant d'augmenter leur performance en tant qu'agents stabilisants. L'influence de la nature végétale est explorée en élargissant l'étude à des poudres de compositions différentes issues de tourteaux de colza et de lupin. La stabilité de ces émulsions face à l'élimination de la phase continue est ensuite évaluée au regard de la technique de séchage, par lyophilisation et atomisation. Des émulsions sèches riches en huile et redispersables dans l'eau sont ainsi obtenues. Enfin, le pouvoir antioxydant des poudres végétales avant et après séchage des émulsions est caractérisé.

Mots clés : émulsions de Pickering, coproduits végétaux, cacao, colza, lupin, atomisation, lyophilisation, émulsion sèche, pouvoir antioxydant

Pickering emulsions stabilized by vegetal powders: properties and role of composition and emulsification parameters

This study aimed at valorizing vegetal byproducts while offering a bio-sourced, cheap and efficient alternative to conventional surfactants. Oil-in-water emulsions were obtained from finely ground plant powders as the only surfactant material. The resulting dispersed systems, stabilized by solid particles, are so-called Pickering emulsions. The first part of this manuscript describes the influence of the emulsification process (rotor-stator in turbulent regime, sonication and high-pressure homogenization) and of the formulation parameters on the properties of emulsions stabilized by cocoa powder. The role of the different fractions of the powder was determined and a phenomenon characteristic of Pickering emulsions, namely limited coalescence, was identified. We evidenced a structural evolution of the particles ("unwrapping") under the effect of the shear applied during the emulsification process, allowing to increase their performance as stabilizing agents. The influence of the vegetal origin was explored by extending the study to powders deriving from rapeseed and lupin oilcakes. The stability of these emulsions with respect to the elimination of the continuous phase was evaluated using 2 drying techniques, freeze-drying and spray-drying. Dry emulsions rich in oil and redispersable in water were obtained. Finally, the antioxidant properties of vegetable powders before and after the drying process were characterized.

Keywords : Pickering emulsions, vegetable byproducts, cocoa, rapeseed, lupin, atomization, lyophilization, dry emulsion, antioxidant power
