



# Étude de la co-encapsulation d'huiles alimentaires oxydables et d'antioxydants phénoliques

Lorine Le Priol

## ► To cite this version:

Lorine Le Priol. Étude de la co-encapsulation d'huiles alimentaires oxydables et d'antioxydants phénoliques. Génie des procédés. Université de Technologie de Compiègne, 2019. Français. NNT : 2019COMP2524 . tel-03100393

**HAL Id: tel-03100393**

**<https://theses.hal.science/tel-03100393>**

Submitted on 6 Jan 2021

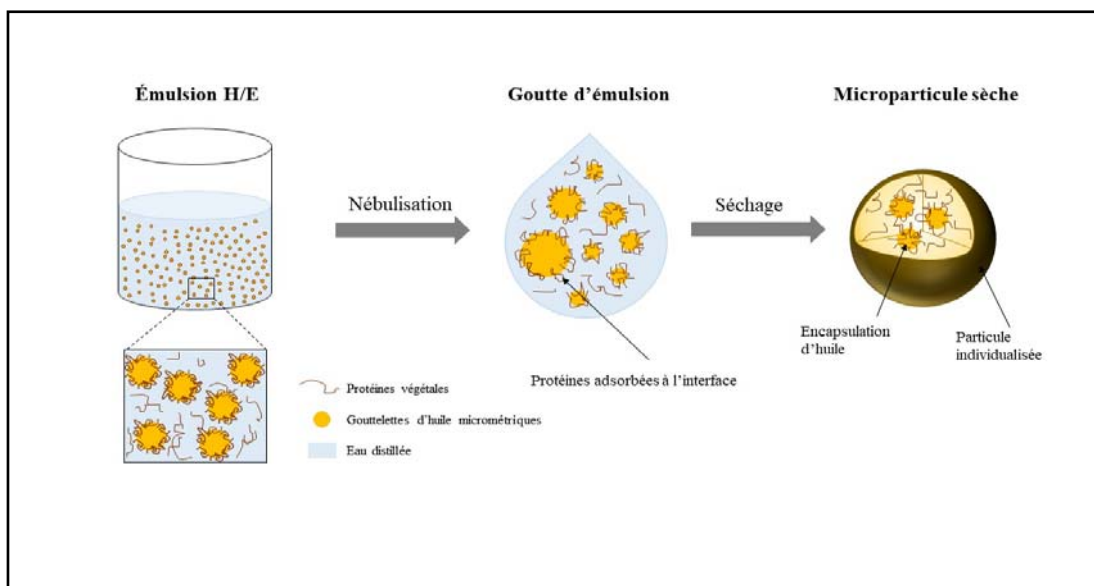
**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

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.

Par **Lorine LE PRIOL**

*Étude de la co-encapsulation d'huiles alimentaires oxydables et d'antioxydants phénoliques*

Thèse présentée  
pour l'obtention du grade  
de Docteur de l'UTC



Soutenue le 29 novembre 2019

**Spécialité** : Génie des Procédés Industriels : Transformations intégrées de la matière renouvelable (EA-4297)

D2524

THÈSE DE DOCTORAT  
DE  
L'UNIVERSITÉ DE TECHNOLOGIE DE COMPIÈGNE

---

Présentée par Lorine Le Priol

Le vendredi 29 novembre 2019 à Compiègne

**Étude de la co-encapsulation d'huiles alimentaires  
oxydables et d'antioxydants phénoliques**

École Doctorale - Sciences pour l'ingénieur

Spécialité de doctorat  
Génie des procédés industriels

---

Soutenue devant le jury composé de

|                                                                     |                      |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------|
| Pr. Denis Poncelet, EncapProcess, France                            | (Rapporteur)         |
| Pr. Maria Inês Ré, IMT Mines Albi, France                           | (Rapporteur)         |
| Dr. Alessandro Gianfrancesco, Nestlé, Suisse                        | (Examineur)          |
| Pr. Isabelle Pezron, Université de Technologie de Compiègne, France | (Examineur)          |
| Pr. Karim El Kirat, Université de Technologie de Compiègne, France  | (Directeur de thèse) |
| Pr. Khashayar Saleh, Université de Technologie de Compiègne, France | (Directeur de thèse) |
| Dr. Alla Nesterenko, Université de Technologie de Compiègne, France | (Invité)             |
| Dr. Nathalie Vouillon, SAS PIVERT, France                           | (Invité)             |



*“Tout obstacle renforce la détermination. Celui qui s’est fixé un but n’en change pas.”*

Léonard de Vinci



## Remerciements

*La réalisation de ce manuscrit a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude.*

*En premier lieu, je tiens à remercier mes directeurs de thèse, M. Karim EL KIRAT et M. Khashayar SALEH, pour la confiance qu'ils m'ont témoignée en me choisissant pour effectuer ces travaux de recherche. Je leur suis également très reconnaissante pour leurs conseils, leur bienveillance et leur rigueur qui m'ont permis d'avancer et d'évoluer durant ces trois années malgré leurs emplois du temps très chargés.*

*J'adresse mes sentiments les plus sincères à ma co-encadrante de thèse, Mme Alla NESTERENKO, pour ses conseils avisés et sa grande disponibilité qui m'ont permis d'atteindre les objectifs de cette thèse. J'ai pris un grand plaisir à travailler avec elle. J'aimerais également lui dire à quel point j'ai apprécié ses qualités humaines et son engagement. Elle a été à l'écoute et s'est toujours intéressée à l'avancée de mes travaux. Enfin, sa relecture en détail de ce manuscrit a été très appréciable. Cette thèse lui doit beaucoup. Pour tout cela merci.*

*Je voudrais également remercier l'ensemble des membres du jury de thèse, et plus particulièrement Mme Maria Inês RÉ et M. Denis PONCELET d'avoir accepté de relire ce manuscrit et d'en être rapporteurs. La version finale a bénéficié de leurs commentaires et de leurs précieuses remarques. Je tiens à remercier Mme Isabelle PEZRON d'avoir accepté d'être présidente de ce jury. Je remercie également les examinateurs et membres invités d'avoir accepté d'assister à la présentation de ce travail, en particulier M. Alessandro GIANFRANCESCO qui s'est déplacé depuis la Suisse.*

*La réalisation de cette thèse n'aurait pas été possible sans le soutien financier octroyé par la SAS PIVERT qui m'a permis de me consacrer sereinement à mes travaux de recherche et sans le suivi de Mme Nathalie VOUILLON tout au long de cette thèse.*

*Je souhaite également inclure dans mes remerciements les partenaires du projet CAPSOIL, Mme Sandrine MORANDAT, porteuse du projet, ainsi que le Service d'Analyses Physicochimiques de Université de Technologie de Compiègne, et plus particulièrement M. François OUDET, Mme Caroline LEFEBVRE et M. Frédéric NADAUD pour les analyses microscopiques de mes échantillons.*

*Ces remerciements seraient incomplets si je ne m'adressais pas à l'ensemble des membres des laboratoires TIMR et BMBI de l'UTC et en particulier à M. Hervé LECLERC, M. Michael LEFEBVRE et M. Bruno DAUZAT pour leur aide au quotidien.*

*Je remercie également Justine GMUR, stagiaire avec qui j'ai eu la chance de travailler. Malgré les nombreuses tentatives de mise au point du protocole d'extraction de l'huile libre*

*de surface, elle ne s'est pas découragée et a su rester positive. Je lui souhaite le meilleur pour la suite de sa carrière scientifique.*

*Je remercie également tous les doctorants de l'UTC pour la bonne ambiance de travail et les bons moments passés ensemble qui ont permis de rendre ces trois années plus légères. En autres Chunmei, Aurélien, Rémy, Zahra, Saker, Julio, Élodie, les Laurine(s), Nesrine, Qi, Somik, Cristina, Manel, Benjamin, Yancie, Augustin ...*

*Au terme de ce parcours, je remercie enfin celles et ceux qui me sont chers, famille et amis. La liste serait trop longue si je devais les citer un à un mais ma gratitude revient à chaque personne ayant contribué de près ou de loin à rendre cette période plus sereine.*

*Ces remerciements ne peuvent s'achever sans une pensée pour ma mère. Sa présence et ses encouragements sont pour moi le moteur qui me permet de me lancer dans toutes ces grandes aventures.*

*Merci à vous tous.*

## Avant-propos

Ce travail de thèse a été financé par la SAS PIVERT dans le cadre du projet de recherche GENESYS et effectué à l'Université de Technologie de Compiègne, au sein de deux laboratoires de recherche : le Laboratoire Transformations Intégrées de la Matière Renouvelable (EA 4297) et le Laboratoire de BioMécanique et BioIngénierie (UMR CNRS 7338).

## Publications & communications scientifiques

- Publications

Le Priol L., Dagmey A., Morandat S., Saleh K., El Kirat K., Nesterenko A.

*"Comparative study of plant protein extracts as wall materials for the improvement of the oxidative stability of sunflower oil by microencapsulation"*

Food Hydrocolloids 95 (1 octobre 2019): 105 15.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.026>.

- Communications orales

Le Priol L., Nesterenko A., El Kirat K., Saleh K.

*"Improvement of Oxidative Stability of Edible Oil by Microencapsulation Using Plant Proteins"*

20<sup>th</sup> International Conference on Food Science and Nutrition

27-28 Août 2018, Paris, France

Prix de la meilleure présentation orale

Le Priol L., Nesterenko A., El Kirat K., Saleh K.

*"Etude comparative de l'efficacité de différentes protéines végétales pour l'encapsulation d'huiles riches en acides gras polyinsaturés"*

Journée des doctorants

1<sup>er</sup> Mars 2019, Compiègne, France

Prix de la meilleure présentation orale

Le Priol L., Nesterenko A., El Kirat K., Saleh K.

*"Etude de la co-encapsulation d'huiles alimentaires oxydables et d'antioxydants phénoliques"*

17<sup>ème</sup> Congrès de la Société Française de Génie des Procédés (SFGP)

15-17 Octobre 2019, Nantes, France

Le Priol L., Nesterenko A., El Kirat K., Saleh K.

*"Plant Proteins as Wall Materials for the Improvement of Spray-Dried Sunflower Oil Oxidative Stability"*

17th Euro Fed Lipid Congress and Expo (EFL)

20-23 Octobre 2019, Séville, Espagne

- Communications par affiche

Le Priol L., Nesterenko A., Saleh K., El Kirat K.

*"Spray-drying & alginate gelation: two processes for the encapsulation of food oils rich in PUFAs"*

Séminaire PIVERT

21-22 Juin 2017, Bordeaux, France

Le Priol L., Nesterenko A., El Kirat K., Saleh K.

*"Microencapsulation of Sunflower Oil in Plant Protein Matrices by Spray-Drying"*

Journée des Doctorants

21 Février 2018, Compiègne, France

Elu meilleur poster

Le Priol L., Nesterenko A., El Kirat K., Saleh K.

*"Study of the co-encapsulation of oxidable food oils and phenolic antioxidants"*

9e Colloque sur les Sciences et Technologie des Poudres

3-5 Juillet 2018, Compiègne, France

Le Priol L., Nesterenko A., El Kirat K., Saleh K.

*"Microencapsulation of Edible Oil by Using Bio-based Complexes as Wall Materials against Lipid Oxidation"*

Formulation Days 2019

10-11 Janvier 2019, Lyon, France

# Table des matières

|                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Remerciements .....                                                                   | v   |
| Avant-propos .....                                                                    | vii |
| Publications & communications scientifiques .....                                     | vii |
| Table des matières .....                                                              | ix  |
| Liste des figures .....                                                               | xv  |
| Liste des tableaux .....                                                              | xxi |
| Introduction générale.....                                                            | 1   |
| Chapitre I. Étude bibliographique .....                                               | 2   |
| I.1.    Acides gras polyinsaturés (AGPI).....                                         | 8   |
| I.1.1.    Généralités.....                                                            | 8   |
| I.1.2.    Oxydation des AGPI .....                                                    | 10  |
| I.1.2.1.    Mécanismes.....                                                           | 10  |
| I.1.2.2.    Oxydation des produits alimentaires riches en AGPI .....                  | 12  |
| I.1.2.3.    Rôle des antioxydants dans la préservation des produits alimentaires .... | 12  |
| I.2.    Microencapsulation .....                                                      | 14  |
| I.2.1.    Généralités.....                                                            | 14  |
| I.2.2.    Matériaux d'enrobage biosourcés .....                                       | 17  |
| I.2.2.1.    Protéines.....                                                            | 17  |
| I.2.2.1.1.    Structures et propriétés physico-chimiques .....                        | 17  |
| I.2.2.1.2.    Protéines végétales.....                                                | 19  |
| I.2.2.2.    Polysaccharides et dérivés polysaccharidiques.....                        | 23  |
| I.2.2.3.    Lipides.....                                                              | 27  |
| I.2.3.    Microencapsulation de matières actives hydrophobes .....                    | 28  |
| I.2.3.1.    Formulation des émulsions .....                                           | 28  |
| I.2.3.1.1.    Constituants des émulsions .....                                        | 28  |
| I.2.3.1.2.    Techniques d'homogénéisation .....                                      | 29  |
| I.2.3.1.3.    Mécanismes de déstabilisation.....                                      | 31  |
| I.2.3.2.    Procédés d'encapsulation.....                                             | 33  |
| I.2.3.2.1.    Séchage par atomisation (spray-drying) .....                            | 34  |
| I.2.3.2.2.    Encapsulation par gélification ionotrope .....                          | 39  |
| I.2.3.2.3.    Lyophilisation (freeze-drying) .....                                    | 41  |
| I.2.3.2.4.    Enrobage en lit fluidisé .....                                          | 41  |
| I.2.3.2.5.    Extrusion et co-extrusion .....                                         | 42  |
| I.2.3.2.6.    Coacervation .....                                                      | 43  |
| I.2.3.2.7.    Évaporation/extraction de solvant.....                                  | 44  |

|                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| I.2.3.2.8. Polymérisation interfaciale .....                                                            | 45 |
| I.3. Utilisation des protéines végétales pour l'encapsulation d'huiles végétales par spray-drying ..... | 46 |
| I.3.1. Protéines de soja.....                                                                           | 46 |
| I.3.1.1. Production et caractérisations des émulsions.....                                              | 46 |
| I.3.1.2. Production et caractérisations des microparticules sèches.....                                 | 47 |
| I.3.2. Protéines de pois.....                                                                           | 50 |
| I.3.2.1. Production et caractérisations des émulsions.....                                              | 50 |
| I.3.2.2. Production et caractérisations des microparticules sèches.....                                 | 52 |
| I.3.3. Autres protéines végétales.....                                                                  | 53 |
| I.4. Conclusion et objectifs de l'étude .....                                                           | 54 |
| Chapitre II. Matériels & méthodes .....                                                                 | 56 |
| II.1. Matériels.....                                                                                    | 58 |
| II.1.1. Matières actives.....                                                                           | 58 |
| II.1.1.1. Huiles végétales .....                                                                        | 58 |
| II.1.1.2. Antioxydants.....                                                                             | 58 |
| II.1.2. Matières enrobantes.....                                                                        | 58 |
| II.1.2.1. Extraits protéiques .....                                                                     | 58 |
| II.1.2.2. Polysaccharides .....                                                                         | 59 |
| II.1.3. Solvants et réactifs .....                                                                      | 59 |
| II.2. Méthodes .....                                                                                    | 60 |
| II.2.1. Sphérification par gélification d'alginate de sodium .....                                      | 60 |
| II.2.1.1. Production de billes par gélification inverse .....                                           | 61 |
| II.2.1.2. Production de capsules par le procédé de co-extrusion par gélification externe .....          | 61 |
| II.2.1.3. Production de sphères par formulation d'émulsion H/E et gélification externe .....            | 63 |
| II.2.2. Encapsulation par séchage par atomisation.....                                                  | 64 |
| II.2.2.1. Caractérisations des extraits protéiques.....                                                 | 64 |
| II.2.2.1.1. Solubilité par la méthode de Bradford.....                                                  | 64 |
| II.2.2.1.2. Taux d'humidité et activité de l'eau .....                                                  | 65 |
| II.2.2.2. Préparation des émulsions.....                                                                | 67 |
| II.2.2.2.1. Emulsions formulées à partir des extraits protéiques .....                                  | 67 |
| II.2.2.2.2. Emulsions formulées à partir des mélanges extraits protéiques/polysaccharides.....          | 67 |
| II.2.2.2.3. Emulsions formulées avec ajout d'antioxydants.....                                          | 67 |
| II.2.2.3. Caractérisation des émulsions.....                                                            | 68 |
| II.2.2.3.1. Stabilité .....                                                                             | 68 |

|               |                                                                                      |     |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| II.2.2.3.2.   | Distribution de tailles des gouttelettes .....                                       | 68  |
| II.2.2.3.3.   | Morphologie.....                                                                     | 68  |
| II.2.2.3.4.   | Viscosité.....                                                                       | 69  |
| II.2.2.3.5.   | Tension interfaciale.....                                                            | 69  |
| II.2.2.4.     | Préparation des microparticules sèches .....                                         | 70  |
| II.2.2.4.1.   | Essais laboratoire .....                                                             | 70  |
| II.2.2.4.2.   | Essai pilote .....                                                                   | 71  |
| II.2.2.5.     | Caractérisations des microparticules sèches .....                                    | 72  |
| II.2.2.5.1.   | Profils thermiques des microparticules .....                                         | 72  |
| II.2.2.5.2.   | Distribution de tailles des microparticules.....                                     | 73  |
| II.2.2.5.3.   | Efficacité d'encapsulation.....                                                      | 75  |
| II.2.2.5.4.   | Taux d'humidité et activité de l'eau .....                                           | 75  |
| II.2.2.5.5.   | Stabilité oxydative en tests accélérés .....                                         | 75  |
| II.2.2.5.6.   | Morphologie.....                                                                     | 77  |
| II.2.3.       | Analyse statistique.....                                                             | 78  |
| Chapitre III. | Étude de différents procédés d'encapsulation .....                                   | 82  |
| III.1.        | Préambule.....                                                                       | 84  |
| III.2.        | Sphérification par gélification d'alginate de sodium .....                           | 85  |
| III.2.1.      | Production de billes par gélification inverse .....                                  | 85  |
| III.2.2.      | Production de capsules par le procédé de co-extrusion par gélification externe ..... | 86  |
| III.2.3.      | Production de sphères par formulation d'émulsion H/E et gélification externe .....   | 88  |
| III.2.4.      | Conclusion.....                                                                      | 90  |
| III.3.        | Encapsulation par séchage par atomisation.....                                       | 91  |
| III.3.1.      | Contexte.....                                                                        | 91  |
| III.3.2.      | Microencapsulation de l'huile oxydable.....                                          | 93  |
| III.3.2.1.    | Solubilisation des extraits protéiques .....                                         | 93  |
| III.3.2.2.    | Formulation et caractérisations des émulsions .....                                  | 95  |
| III.3.2.2.1.  | Stabilité des émulsions .....                                                        | 95  |
| III.3.2.2.2.  | Distribution de tailles et viscosité des émulsions .....                             | 98  |
| III.3.2.2.3.  | Caractérisation des propriétés interfaciales .....                                   | 101 |
| III.3.2.3.    | Sélection des paramètres d'atomisation .....                                         | 102 |
| III.3.3.      | Caractérisation des microparticules.....                                             | 104 |
| III.3.3.1.    | Taux d'humidité et activité de l'eau des microparticules .....                       | 105 |
| III.3.3.2.    | Distribution de tailles et morphologies des microparticules .....                    | 106 |
| III.3.3.3.    | Efficacité d'encapsulation et stabilité oxydative des microparticules.....           | 109 |
| III.3.3.4.    | Cinétiques de vieillissement .....                                                   | 110 |

|              |                                                                                          |     |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| III.3.4.     | Application à l'huile de lin .....                                                       | 111 |
| III.3.4.1.   | Caractérisations des émulsions .....                                                     | 112 |
| III.3.4.2.   | Caractérisations des microparticules .....                                               | 114 |
| III.4.       | Conclusions .....                                                                        | 118 |
| Chapitre IV. | Renforcement de la matrice enrobante par l'utilisation de polysaccharides .....          | 120 |
| IV.1.        | Préambule .....                                                                          | 122 |
| IV.2.        | Test préliminaire d'utilisation de la gomme arabique .....                               | 123 |
| IV.2.1.      | Caractérisations de l'émulsion .....                                                     | 123 |
| IV.2.2.      | Caractérisations des microparticules .....                                               | 124 |
| IV.3.        | Etude comparative de l'utilisation de quatre polysaccharides .....                       | 126 |
| IV.3.1.      | Caractérisations des émulsions .....                                                     | 126 |
| IV.3.1.1.    | Stabilité des émulsions .....                                                            | 126 |
| IV.3.1.2.    | Distribution de tailles et viscosité des émulsions .....                                 | 127 |
| IV.3.2.      | Caractérisation des microparticules .....                                                | 130 |
| IV.3.2.1.    | Taux d'humidité et activité de l'eau des microparticules .....                           | 130 |
| IV.3.2.2.    | Profils thermiques des microparticules .....                                             | 131 |
| IV.3.2.3.    | Distribution de tailles et morphologie des microparticules .....                         | 135 |
| IV.3.2.3.    | Stabilité oxydative et cinétiques de vieillissement des microparticules ..               | 136 |
| IV.3.2.4.    | Rendement du procédé .....                                                               | 139 |
| IV.4.        | Optimisation des conditions d'incorporation de la pectine .....                          | 140 |
| IV.4.1.      | Caractérisations des émulsions .....                                                     | 140 |
| IV.4.2.      | Caractérisation des microparticules .....                                                | 142 |
| IV.4.2.1.    | Taux d'humidité et activité de l'eau des microparticules .....                           | 142 |
| IV.4.2.2.    | Distribution de tailles et morphologie des microparticules .....                         | 143 |
| IV.4.2.3.    | Stabilité oxydative des microparticules .....                                            | 145 |
| IV.4.2.4.    | Cinétiques de vieillissement des microparticules .....                                   | 145 |
| IV.4.2.5.    | Rendement du procédé .....                                                               | 146 |
| IV.5.        | Conclusion .....                                                                         | 147 |
| Chapitre V.  | Co-encapsulation de molécules antioxydantes .....                                        | 148 |
| V.1.         | Préambule .....                                                                          | 150 |
| V.2.         | Etude de l'efficacité de l' $\alpha$ -tocophérol et du gallate de propyle .....          | 151 |
| V.2.1.       | Sélection des conditions d'incorporation .....                                           | 151 |
| V.2.2.       | Etude de la stabilité oxydative .....                                                    | 153 |
| V.2.2.1.     | Stabilité oxydative et cinétiques de vieillissement .....                                | 153 |
| V.2.2.2.     | Effet de la température de stockage sur la stabilité oxydative des microparticules ..... | 155 |
| V.2.2.3.     | Application au renforcement de la protection de l'huile de lin .....                     | 156 |

|                                          |     |
|------------------------------------------|-----|
| V.3. Essai à l'échelle pilote .....      | 157 |
| V.4. Conclusion.....                     | 159 |
| Conclusion générale & perspectives ..... | 162 |
| Annexe .....                             | I   |
| Références .....                         | V   |



# Liste des figures

|                                                                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 1-1</b> Comparaison entre la consommation réelle et la consommation recommandée par l'Anses en ALA et EPA+DHA en France en 2018.....                                                   | 9  |
| <b>Figure 1-2</b> Etape d'initiation du mécanisme d'auto-oxydation d'un AGPI.....                                                                                                                | 11 |
| <b>Figure 1-3</b> Mécanisme de réaction d'un oxygène singulet sur un AGPI.....                                                                                                                   | 11 |
| <b>Figure 1-4</b> Structure de la molécule d' $\alpha$ -tocophérol.....                                                                                                                          | 13 |
| <b>Figure 1-5</b> Structure de la molécule de gallate de propyle.....                                                                                                                            | 13 |
| <b>Figure 1-6</b> Evolution du nombre de documents scientifiques publiés dans le domaine de la microencapsulation figurant dans les bases de données bibliographiques de Scopus depuis 1990..... | 15 |
| <b>Figure 1-7</b> Mécanisme de stabilisation d'une gouttelette d'émulsion par adsorption de protéines.....                                                                                       | 18 |
| <b>Figure 1-8</b> Représentation schématique d'une molécule de glycine.....                                                                                                                      | 21 |
| <b>Figure 1-9</b> Illustration schématique de la structure de la gomme arabique.....                                                                                                             | 23 |
| <b>Figure 1-10</b> Représentation des segments MM, GG et MG des alginates.....                                                                                                                   | 24 |
| <b>Figure 1-11</b> Représentation schématique d'une structure typique d'une pectine.....                                                                                                         | 25 |
| <b>Figure 1-12</b> Structure des inulines.....                                                                                                                                                   | 26 |
| <b>Figure 1-13</b> Structure des maltodextrines.....                                                                                                                                             | 27 |
| <b>Figure 1-14</b> Interfaces H/E stabilisées par différents types d'agents émulsionnants.....                                                                                                   | 29 |
| <b>Figure 1-15</b> Représentation du principe de fonctionnement d'un homogénéisateur à haute pression.....                                                                                       | 30 |
| <b>Figure 1-16</b> Représentation schématique des mécanismes de déstabilisation d'émulsion.....                                                                                                  | 31 |
| <b>Figure 1-17</b> Représentation schématique d'un appareillage de séchage par atomisation.....                                                                                                  | 34 |
| <b>Figure 1-18</b> Représentation schématique des configurations co-courant (A) et contre-courant (B).....                                                                                       | 35 |
| <b>Figure 1-19</b> Diagramme représentant les variations de température d'une goutte et ses représentations schématiques durant les différentes phases de séchage.....                           | 36 |
| <b>Figure 1-20</b> Mécanismes de gélification inverse (A) et externe (B) pour la fabrication de billes d'alginate.....                                                                           | 40 |
| <b>Figure 1-21</b> Représentation schématique d'un appareil d'enrobage en lit fluidisé de type « top spray».....                                                                                 | 42 |
| <b>Figure 1-22</b> Représentation schématique du procédé de co-extrusion.....                                                                                                                    | 43 |

|                                                                                                                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 1-23</b> Représentation schématique des étapes de la microencapsulation par coacervation.....                                                                                                            | 44 |
| <b>Figure 1-24</b> Schéma des étapes principales du procédé de microencapsulation par extraction/évaporation de solvant.....                                                                                       | 45 |
| <b>Figure 1-25</b> Représentation schématique des étapes de la microencapsulation par polymérisation interfaciale.....                                                                                             | 46 |
| <b>Figure 1-26</b> Images obtenues par microscopie électronique de microparticules formulées à partir de protéines de soja (A), d'un mélange protéines de soja/maltodextrine pour un ratio 1:1 (B) et 1:3 (C)..... | 49 |
| <b>Figure 1-27</b> Indices d'hydroperoxyde (HPV) obtenus à différents temps de stockage.....                                                                                                                       | 50 |
| <b>Figure 1-28</b> Images obtenues en microscopie électronique de microparticules formulées à partir de protéines de pois.....                                                                                     | 52 |
| <b>Figure 2-1</b> Droite de correspondance entre les valeurs indiquées sur la pompe Minipuls 3 et les débits réels mesurés.....                                                                                    | 60 |
| <b>Figure 2-2</b> Montage expérimental permettant d'obtenir des capsules renfermant un cœur d'huile.....                                                                                                           | 61 |
| <b>Figure 2-3</b> Photo du tube en verre contenant les gouttelettes d'huile entourées de solution d'alginate de sodium.....                                                                                        | 62 |
| <b>Figure 2-4</b> Procédé d'obtention des sphères d'alginate à partir d'une émulsion H/E.....                                                                                                                      | 63 |
| <b>Figure 2-5</b> Courbe étalon du dosage protéique selon la méthode de Bradford.....                                                                                                                              | 65 |
| <b>Figure 2-6</b> Diagramme psychrométrique.....                                                                                                                                                                   | 66 |
| <b>Figure 2-7</b> Représentation du principe de mesure de la tension interfaciale pour la méthode de l'anneau de du Noüy.....                                                                                      | 69 |
| <b>Figure 2-8</b> Atomiseur de laboratoire Büchi B-290.....                                                                                                                                                        | 70 |
| <b>Figure 2-9</b> Sécheur-atomiseur MOBILE MINOR de GEA.....                                                                                                                                                       | 71 |
| <b>Figure 2-10</b> « Thermogramme » illustrant les différentes réactions de transformation observables en DSC.....                                                                                                 | 72 |
| <b>Figure 2-11</b> Principe de mesure de la convexité.....                                                                                                                                                         | 74 |
| <b>Figure 2-12</b> Principe de mesure de l'élongation.....                                                                                                                                                         | 74 |
| <b>Figure 2-13</b> Dispositif de mesure Rancimat pour la mesure de la stabilité à l'oxydation d'échantillons en conditions accélérées.....                                                                         | 76 |
| <b>Figure 2-14</b> Exemple de courbe obtenue par la méthode Rancimat pour la détermination de l'IP de l'huile d'olive pour un chauffage de 100°C.....                                                              | 76 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figure 3-1</b> Images acquises par microscopie optique des billes obtenues par gélification inverse.....                                                                                                                                                                                                                                                                         | 85  |
| <b>Figure 3-2</b> Morphologies des billes obtenues pour des ratios débit d'huile / débit d'alginate élevés.....                                                                                                                                                                                                                                                                     | 86  |
| <b>Figure 3-3</b> Morphologies des billes obtenues pour des ratios débit d'huile / débit d'alginate faibles.....                                                                                                                                                                                                                                                                    | 88  |
| <b>Figure 3-4</b> Images du film obtenu par pulvérisation et acquises par microscopie optique à faible (A) et fort (B) grossissements.....                                                                                                                                                                                                                                          | 89  |
| <b>Figure 3-5</b> Morphologies des billes obtenues à différentes conditions : débit 2,2 mL/min et goutte-à-goutte à 0,5 cm (A), débit 0,3 mL/min et goutte-à-goutte à 0,5 cm (B) et débit 0,3 mL/min et goutte-à-goutte à 19 cm (C).....                                                                                                                                            | 89  |
| <b>Figure 3-6</b> Morphologies des billes obtenues selon différents procédés de séchage.....                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 90  |
| <b>Figure 3-7</b> Représentation schématique des types de morphologies pouvant être obtenues avec des protéines possédant une bonne solubilité (gauche) et une faible solubilité (droite) dans la phase continue.....                                                                                                                                                               | 92  |
| <b>Figure 3-8</b> Courbes de solubilité des protéines de soja, pois, chanvre, riz brun et tournesol en fonction du pH déterminées par la méthode de Bradford.....                                                                                                                                                                                                                   | 93  |
| <b>Figure 3-9</b> Profils de solubilité des protéines de chanvre (HPI), de soja (SPI) (graphe A), de pois (PPI), de viciline (PV), de légumine (PL) (graphe B), de riz brun (BR), de riz brun germé (GBR) (graphe C), de soja (SoyP) et de tournesol (SunP) (graphe D).....                                                                                                         | 94  |
| <b>Figure 3-10</b> Représentation schématique des phénomènes de déstabilisation d'une émulsion H/E stabilisée par des protéines (A) ; émulsion formulée à partir d'extraits protéiques de riz brun sans optimisation des paramètres d'émulsification et après 24 h de repos (B) et images microscopiques des différentes phases issues de la déstabilisation de l'émulsion (C)..... | 96  |
| <b>Figure 3-11</b> Photos et ESI des émulsions stabilisées à partir des différents extraits protéiques. Pour chaque formulation, l'éprouvette de gauche représente l'émulsion formulée par agitation mécanique et l'éprouvette de droite représente la même émulsion mais dont le pH a été ajusté à 7,8 et stabilisée par deux passages à l'HHP à 400 bars.....                     | 97  |
| <b>Figure 3-12</b> Distributions de tailles des gouttelettes d'émulsion avant (courbes bleues) et après traitements d'optimisation (courbes rouges) des émulsions stabilisées par différents extraits protéiques végétaux.....                                                                                                                                                      | 98  |
| <b>Figure 3-13</b> Images microscopique des différentes émulsions obtenues avant (images du haut) et après traitements d'optimisation (images du bas).....                                                                                                                                                                                                                          | 100 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figure 3-14</b> Tensions de surface dynamiques obtenues en fonction du temps pour des interfaces huile de tournesol-eau contenant des extraits protéiques de pois ou de soja dans la phase aqueuse.....                                                                                                                                                                                                | 102 |
| <b>Figure 3-15</b> Images ESEM de microparticules obtenues avec les conditions de séchage 1 (gauche) et 2 (droite). Les flèches rouges indiquent la présence d'agglomérats de microparticules.....                                                                                                                                                                                                        | 104 |
| <b>Figure 3-16</b> Distributions volumiques de la taille des microparticules obtenues avec les différents extraits protéiques.....                                                                                                                                                                                                                                                                        | 106 |
| <b>Figure 3-17</b> Image de M-PS obtenue par microscopie confocale.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 107 |
| <b>Figure 3-18</b> Images obtenues par MEBE des différentes microparticules. La flèche rouge indique l'emplacement d'une gouttelette d'huile au sein de la structure microparticulaire et les flèches jaunes montrent les phénomènes de contraction ayant eu lieu lors du séchage.....                                                                                                                    | 108 |
| <b>Figure 3-19</b> Stabilités oxydatives de l'huile de tournesol encapsulée dans des extraits protéiques de soja (A) et dans des extraits protéiques de pois (B) (courbes noires) et comparées à la stabilité oxydative de l'huile de tournesol ayant servi à formuler les microparticules (courbes grises).....                                                                                          | 111 |
| <b>Figure 3-20</b> Photos et ESI des émulsions formulées à partir d'huile de lin et d'extraits protéiques de pois (E-PP(L)) et de soja (E-PS(L)). Pour chaque formulation, l'éprouvette de gauche représente l'émulsion formulée par agitation mécanique et l'éprouvette de droite représente la même émulsion mais dont le pH a été ajusté à 7,8 et stabilisée par deux passages à l'HHP à 400 bars..... | 112 |
| <b>Figure 3-21</b> Distributions de tailles des gouttelettes d'émulsion avant (courbes bleues) et après traitements d'optimisation (courbes rouges).....                                                                                                                                                                                                                                                  | 113 |
| <b>Figure 3-22</b> Images microscopique des émulsions obtenues avant (images du haut) et après traitements d'optimisation (images du bas).....                                                                                                                                                                                                                                                            | 114 |
| <b>Figure 3-23</b> Images obtenues par MEBE des différentes microparticules.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 114 |
| <b>Figure 3-24</b> Courbes d'oxydation obtenues par tests accélérés au Rancimat à 100 °C pour différents échantillons d'huile de lin encapsulée et comparés à de l'huile de lin pure.....                                                                                                                                                                                                                 | 116 |
| <b>Figure 3-25</b> Courbes d'oxydation obtenues par tests accélérés au Rancimat à 90 °C pour différents échantillons d'huile de lin encapsulée et comparés à de l'huile de lin pure.....                                                                                                                                                                                                                  | 116 |
| <b>Figure 3-26</b> Stabilités oxydatives de l'huile de lin encapsulée dans des extraits protéiques de soja (A) et dans des extraits protéiques de pois (B) (courbes noires) et comparées à la stabilité oxydative de l'huile de lin ayant servi à formuler les microparticules (courbes grises).....                                                                                                      | 117 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| <b>Figure 4-1</b> Distributions de tailles des gouttelettes d'émulsion de E-GA par homogénéisation à l'UT (courbe bleue) et après traitement à l'HHP (courbe rouge).....                                                                                                                                | 123     |
| <b>Figure 4-2</b> Distribution volumique de la taille des microparticules de M-GA.....                                                                                                                                                                                                                  | 125     |
| <b>Figure 4-3</b> Images obtenues en MEBE (250 × et 2500 ×) de M-GA.....                                                                                                                                                                                                                                | 125     |
| <b>Figure 4-4</b> Photos et ESI des émulsions H/E stabilisées à partir des extraits protéiques de pois et des différents polysaccharides après 24 h de repos.....                                                                                                                                       | 127     |
| <b>Figure 4-5</b> Distributions de tailles des gouttelettes d'émulsion avant (courbes bleues) et après traitements d'optimisation (courbes rouges).....                                                                                                                                                 | 128     |
| <b>Figure 4-6</b> Images acquises en microscopie optique des différentes émulsions obtenues avant (images du haut) et après traitements d'optimisation (images du bas).....                                                                                                                             | 129     |
| <b>Figure 4-7</b> Thermogrammes DSC de M-PP/A (A), M-PP/I (B), M-PP/M (C) et M-PP/P (D) et de leurs constituants.....                                                                                                                                                                                   | 132-133 |
| <b>Figure 4-8</b> Distributions volumiques de la taille des microparticules.....                                                                                                                                                                                                                        | 135     |
| <b>Figure 4-9</b> Images obtenues en MEBE (a : 250 × et b : 2500 ×) des microparticules formulées à partir des différentes matrices enrobantes.....                                                                                                                                                     | 137     |
| <b>Figure 4-10</b> Stabilités oxydatives l'huile de tournesol encapsulée (courbes noires) et comparées à la stabilité oxydative de l'huiles de tournesol ayant servi à formuler les microparticules (courbes grises). Les marques rouges représentent les dates de durabilité minimales des huiles..... | 138     |
| <b>Figure 4-11</b> Distributions de tailles des gouttelettes d'émulsion avant (courbes bleues) et après traitements d'optimisation (courbes rouges).....                                                                                                                                                | 141     |
| <b>Figure 4-12</b> Images microscopiques des différentes émulsions obtenues avant (images du haut) et après traitements d'optimisation (images du bas).....                                                                                                                                             | 142     |
| <b>Figure 4-13</b> Distributions volumiques de la taille des microparticules.....                                                                                                                                                                                                                       | 143     |
| <b>Figure 4-14</b> Distributions des paramètres de circularité, de convexité et d'élongation des microparticules. Les courbes grises, bleues et oranges respresentent les valeurs pour M-PP, M-PP/P et M-PP/P(0,1).....                                                                                 | 144     |
| <b>Figure 4-15</b> Stabilités oxydatives des huiles de tournesol encapsulées (courbes noires) et comparées aux stabilités oxydatives des huiles de tournesol ayant servi à formuler les microparticules (courbes grises).....                                                                           | 146     |
| <b>Figure 5-1</b> Stabilité oxydative de l'huile de tournesol enrichie en différents antioxydants et comparées à l'huile de tournesol seule (contrôle).....                                                                                                                                             | 152     |

|                                                                                                                                                                                                                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figure 5-2</b> Stabilité oxydative de l'huile de tournesol co-encapsulée avec différentes concentrations d'antioxydant (courbes noires) et comparée à la stabilité oxydative de l'huile de tournesol ayant servi à formuler les microparticules (courbes grises)..... | 154 |
| <b>Figure 5-3</b> Temps d'induction de l'huile de lin et de ses mélanges avec différents antioxydants obtenus à 110 °C par tests au Rancimat.....                                                                                                                        | 155 |
| <b>Figure 5-4</b> Stabilité oxydative de l'huile de tournesol co-encapsulée avec 0,004% w/v de PG et stockée à différentes températures.....                                                                                                                             | 156 |
| <b>Figure 5-5</b> Stabilité oxydative de l'huile de lin co-encapsulée avec 0,004% w/v de PG (courbe noire) et comparées à l'huile de lin ayant servi à formuler les microparticules (courbe grise).....                                                                  | 156 |
| <b>Figure 5-6</b> Distribution volumique de la taille des microparticules obtenues par l'atomiseur pilote.....                                                                                                                                                           | 158 |
| <b>Figure 5-7</b> Images obtenues en MEBE des microparticules obtenues par l'atomiseur pilote.....                                                                                                                                                                       | 158 |
| <b>Figure 5-8</b> Stabilité oxydative de l'huile de tournesol co-encapsulée avec 0,004% w/v de PG par l'appareillage pilote et comparée à l'huile seule.....                                                                                                             | 159 |

## Liste des tableaux

|                                                                                                                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tableau 1-1</b> Structures des AGPI des type oméga-3 et oméga-6.....                                                                                                                      | 8   |
| <b>Tableau 1-2</b> Exemples de morphologies de particules obtenues par microencapsulation.....                                                                                               | 15  |
| <b>Tableau 1-3</b> Classification des procédés de microencapsulation.....                                                                                                                    | 33  |
| <b>Tableau 1-4</b> Produits commerciaux obtenus par séchage par atomisation d'huiles riches en AGPI.....                                                                                     | 39  |
| <b>Tableau 1-5</b> Utilisation des protéines de soja pour l'encapsulation d'huiles végétales par séchage par atomisation.....                                                                | 47  |
| <b>Tableau 1-6</b> Utilisation des protéines de pois pour l'encapsulation d'huiles végétales par séchage par atomisation.....                                                                | 51  |
| <b>Tableau 1-7</b> Utilisation de protéines végétales (hors protéines de soja et de pois) pour l'encapsulation d'huiles végétales par séchage par atomisation.....                           | 53  |
| <b>Tableau 2-1</b> Compositions exprimées en g/100 g d'échantillon des principaux constituants des extraits protéiques.....                                                                  | 59  |
| <b>Tableau 2-2</b> Caractéristiques des polysaccharides utilisés comme matières enrobantes.....                                                                                              | 59  |
| <b>Tableau 3-1</b> Résultats obtenus en fonction des débits d'huile et de la solution d'alginate de sodium sélectionnés.....                                                                 | 87  |
| <b>Tableau 3-2</b> Récapitulatif des compositions en fractions protéiques des extraits utilisés pour cette étude.....                                                                        | 95  |
| <b>Tableau 3-3</b> Distributions de tailles en volume et viscosités des émulsions stabilisées à partir des différents extraits protéiques.....                                               | 99  |
| <b>Tableau 3-4</b> Paramètres d'atomisation testés pour l'optimisation des conditions de séchage.....                                                                                        | 102 |
| <b>Tableau 3-5</b> Résultats obtenus pour la caractérisation des poudres obtenues avec les conditions de séchage 1 et 2.....                                                                 | 103 |
| <b>Tableau 3-6</b> Taux d'humidité et activités de l'eau des extraits protéiques et des microparticules correspondantes.....                                                                 | 105 |
| <b>Tableau 3-7</b> Temps d'induction (IP), efficacités d'encapsulation (EE) et rendements (Y) d'obtention des microparticules comparés à l'huile de tournesol en batch (contrôle).....       | 109 |
| <b>Tableau 3-8</b> Distributions de tailles en volume et viscosités des émulsions stabilisées à partir d'huile de lin et des extraits protéiques de pois (E-PP(L)) et de soja (E-PS(L))..... | 113 |

|                                                                                                                                                                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tableau 3-9</b> Temps d'induction des microparticules comparées à l'huile de lin en batch (contrôle).....                                                                                                                    | 115 |
| <b>Tableau 3-10</b> Résumé de l'efficacité des extraits protéiques sur l'ensemble des paramètres évalués dans cette étude.....                                                                                                  | 118 |
| <b>Tableau 4-1</b> Distributions de tailles en volume et viscosités des émulsions H/E formulées à partir des mélanges de protéines et de polysaccharides et d'huile de tournesol, et comparées à E-PP.....                      | 128 |
| <b>Tableau 4-2</b> Taux d'humidité et activités de l'eau des microparticules.....                                                                                                                                               | 130 |
| <b>Tableau 4-3</b> Températures des principales modifications thermiques des microparticules et de leurs constituants.....                                                                                                      | 131 |
| <b>Tableau 4-4</b> Distributions de tailles en volume des microparticules.....                                                                                                                                                  | 135 |
| <b>Tableau 4-5</b> Temps d'induction des huiles encapsulées dans des matrices complexes et comparés à celui de l'huile de tournesol encapsulée par des extraits protéiques de pois seuls (contrôle).....                        | 138 |
| <b>Tableau 4-6</b> Distributions de tailles en volume et viscosités des émulsions.....                                                                                                                                          | 141 |
| <b>Tableau 4-7</b> Taux d'humidité et activités de l'eau des microparticules.....                                                                                                                                               | 142 |
| <b>Tableau 4-8</b> Valeurs des paramètres de circularité, de convexité et d'élongation des microparticules.....                                                                                                                 | 144 |
| <b>Tableau 4-9</b> Temps d'induction des huiles encapsulées dans des matrices complexes à base d'extraits protéiques de pois et de différentes concentrations de pectine.....                                                   | 145 |
| <b>Tableau 5-1</b> Concentrations limites autorisées pour différents antioxydants destinés à des usages alimentaires.....                                                                                                       | 152 |
| <b>Tableau 5-2</b> Temps d'induction normalisés ( $\Delta IP$ ) des huiles encapsulées et renforcées par ajout de molécules antioxydantes et comparés au $\Delta IP$ de la formulation sans ajout d'antioxydant (contrôle)..... | 153 |
| <b>Tableau 5-3</b> Comparatif des paramètres caractéristiques des poudres M-PG(0,004) obtenues avec les atomiseurs de laboratoire et pilote.....                                                                                | 159 |

# Introduction générale



Les fonctions biochimiques et les rôles physiologiques des aliments sont étudiés depuis de nombreuses années et permettent d'approfondir les connaissances sur les liens entre nutrition et santé. Ainsi, des études ont démontré que la consommation de certains aliments et nutriments pouvait augmenter le risque de développer certaines pathologies ; d'autres vont au contraire avoir une action préventive [1,2,3,4]. Parmi ces aliments préventifs, les acides gras polyinsaturés (AGPI) occupent une place importante. Les AGPI se divisent en deux familles principales, les oméga-3 ( $\omega$ -3) et les oméga-6 ( $\omega$ -6), se différenciant par le nombre et la position de leurs insaturations, ainsi que par la longueur de leurs chaînes carbonées. En raison de leur structure particulière, ces molécules vont jouer de nombreux rôles physiologiques au sein du corps humain et ainsi améliorer le développement et le fonctionnement du système nerveux central et avoir une action anti-inflammatoire et hypolipémiante, prévenant ainsi l'apparition de maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et inflammatoires, de certains cancers, de l'obésité ou encore du diabète de type II [5,6,7,8,9,10].

Cependant, les AGPI à courtes chaînes doivent être apportés par l'alimentation car ils ne peuvent être biosynthétisés. Toutefois, les français sont encore trop peu nombreux à en consommer en quantité suffisante, en particulier parmi les populations les moins favorisées, privilégiant les aliments d'origine animale et transformés riches en acides gras saturés et en acides gras *trans*, connus pour augmenter les risques de maladies cardiovasculaires. On estime que les consommations réelles d'AGPI de type oméga-3 à courtes et longues chaînes sont en moyenne 2,5 et 1,4 fois inférieures aux recommandations établies par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) [11,12].

\*

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes donc intéressés à un moyen de compléter des aliments en AGPI, tout en les protégeant des attaques environnementales durant les étapes de transformation industrielle, de cuisson ou encore de stockage. En effet, en raison de la présence d'insaturations sur leurs chaînes carbonées, les AGPI sont extrêmement sensibles aux attaques oxydatives. Ainsi, une fois oxydés, les AGPI contenus dans les aliments vont induire une modification des propriétés organoleptiques (arôme, odeur, couleur), l'altération des qualités nutritionnelles et des propriétés biochimiques citées précédemment ainsi que l'apparition de produits d'oxydation secondaires de type peroxydes hautement toxiques par leur effet cancérigène.

\*

Ainsi, le projet global dans lequel s'inscrit cette thèse, appelé projet CAPSOIL et financé par l'ITE PIVERT, vise à proposer un moyen de stabiliser des huiles alimentaires oxydables riches en AGPI par co-encapsulation de ces huiles avec des antioxydants dans des microparticules constituées de biopolymères de type protéines, polysaccharides ou dérivés saccharidiques. Cette co-encapsulation permettra non seulement de préserver ces huiles de l'oxydation mais également d'encapsuler des antioxydants afin de renforcer la protection face à l'oxydation, d'administrer ce principe actif via l'alimentation afin d'obtenir un bénéfice sur la santé du consommateur (nutraceutique) et de le stabiliser dans un système microparticulaire.

Malgré les nombreux brevets et publications concernant l'encapsulation d'huiles alimentaires sensibles, très peu de documents décrivent le moyen de les préserver de l'oxydation en combinant l'encapsulation, l'ajout d'antioxydants et le séchage. De la même manière, peu d'études ont porté sur l'utilisation de biopolymères végétaux en tant que matériaux enrobants. Pourtant, ces composés présentent de nombreux avantages faces aux matières premières animales (satisfaction des consommateurs privilégiant des produits végétaux pour des raisons de sécurité, religieuses, gustatives, écologiques, économiques ou autres). Ainsi, afin de valoriser les déchets du bioraffinage, certains matériaux enrobants et antioxydants choisis seront extraits de tourteaux/coques/pellicules de plantes oléagineuses et, d'une façon plus générale, des composants d'origine végétale seront privilégiés.

\*

L'objectif principal de ces travaux de thèse vise donc à étudier différents moyens d'encapsulation d'huiles alimentaires riches en AGPI (huiles de tournesol et de lin) dans des polymères naturels biodégradables afin de fournir deux nouveaux modes de consommation de ces composés. Ainsi, deux procédés d'encapsulation ont été retenus. Il s'agit de la sphérification par gélification d'alginate de sodium et de l'encapsulation par séchage par atomisation permettant de produire des particules de morphologies différentes et destinées à deux types d'applications distinctes. Dans le cadre de la gélification par alginate de sodium, la morphologie recherchée correspond à des particules de taille millimétrique pouvant être directement consommées sous une forme de type « caviar d'huile ». Ainsi, les différents objectifs de cette partie sont la mise au point d'un montage expérimental innovant basé sur l'utilisation de la gélification ionotropique d'alginate de sodium, l'optimisation des paramètres de formulation et de production des billes et leur caractérisation en terme de morphologie, d'efficacité d'encapsulation et de stabilité oxydative. La deuxième partie de cette étude concerne la production de particules micrométriques destinées à l'alimentation animale ou pouvant être incorporées à des préparations alimentaires. Ainsi, les différentes tâches de cette étude consistent à identifier les matières enrobantes les plus efficaces pour le ralentissement de la peroxydation des huiles encapsulées, de produire les microparticules et de les caractériser en termes de conservation, d'efficacité d'encapsulation, de morphologie et de stabilité oxydative. Après analyses de l'efficacité de différents antioxydants effectuées par un partenaire du projet, le laboratoire GEC de l'UTC avec les travaux du doctorant Aurélien Dagmey, ces derniers ont également été ajoutés aux formulations sélectionnées afin de les co-encapsuler avec les huiles végétales.

\*

Ce manuscrit s'articule donc autour de cinq chapitres :

Le premier chapitre de ce manuscrit est une étude bibliographique divisée en trois grandes parties. La première définit les différents éléments de théorie concernant les AGPI, notamment les principaux mécanismes d'oxydation. Une deuxième partie présente les notions nécessaires à la compréhension des différents procédés de microencapsulation, avec une section détaillée concernant le séchage par atomisation. Enfin, la dernière consiste en une synthèse des différentes études ayant porté sur l'utilisation des protéines végétales pour l'encapsulation d'huile par spray-drying.

Le deuxième chapitre présente les matériels, les protocoles expérimentaux ainsi que la description du fonctionnement des techniques d'analyse et des appareillages utilisés dans le cadre de cette étude.

Les trois chapitres suivants décrivent les résultats obtenus et les discussions associées. Le troisième chapitre propose une étude des deux procédés d'encapsulation pour la protection d'huiles végétales riches en AGPI. Concernant la partie sur la sphérification par gélification d'alginate de sodium, les travaux ont principalement porté sur la mise au point de montages expérimentaux. Dans le cadre de l'étude d'encapsulation par séchage par atomisation, une analyse comparative de l'utilisation de cinq extraits protéiques végétaux pour l'encapsulation d'huiles végétales issus du chanvre, du pois, de riz brun, de soja et de tournesol a été effectuée. A ce jour, aucune étude n'a réalisé d'analyse comparative sur une si grande quantité d'extraits protéiques végétaux, ni sur l'utilisation d'extraits protéiques de chanvre, de riz brun ou de tournesol pour l'encapsulation d'huiles végétales par spray-drying.

Le quatrième chapitre traite du renforcement de la formulation microparticulaire obtenue par spray-drying et sélectionnée précédemment par l'utilisation de différents polysaccharides en tant que matériaux enrobants secondaires : l'alginate de sodium, l'inuline, la maltodextrine et la pectine.

Le cinquième et dernier chapitre de cette section résultats/discussions présente l'impact de l'addition de deux molécules antioxydantes, l' $\alpha$ -tocophérol et le gallate de propyle, sur la stabilité oxydative des huiles végétales encapsulées. Une partie de transposition de l'échelle laboratoire à l'échelle pilote clôture ce chapitre.

Enfin, une conclusion générale présente les principaux résultats de ce travail de thèse et dressera les perspectives envisagées pour la suite de la recherche.



# Chapitre I.

## Étude bibliographique



## I.1. Acides gras polyinsaturés (AGPI)

## I.1.1. Généralités

Les acides gras (AG) sont des molécules constituées d'une chaîne hydrocarbonée porteuse d'un groupe carboxyle à une extrémité et d'un groupe méthyle à l'autre extrémité. La réactivité biologique des AG est déterminée par la longueur de cette chaîne carbonée ainsi que par le nombre et la position des doubles liaisons potentiellement présentes sur cette chaîne [13]. Les AG sont divisés en trois familles :

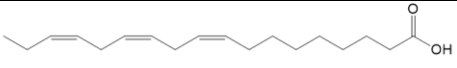
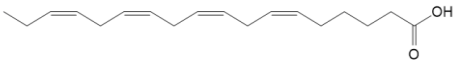
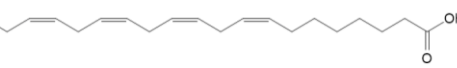
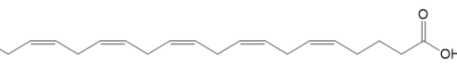
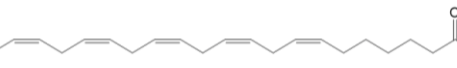
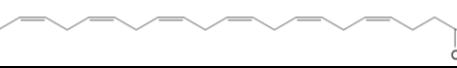
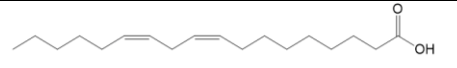
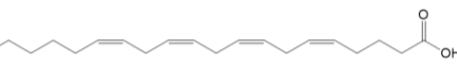
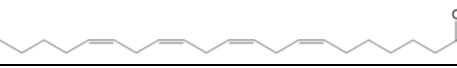
- Les acides gras saturés (AGS) ne possédant pas de double liaison ;
- Les acides gras monoinsaturés (AGMI) possédant une seule double liaison ;
- Les acides gras polyinsaturés (AGPI) possédant au moins deux doubles liaisons.

D'un point de vue physiologique, les AGPI sont appelés AG essentiels (ou indispensables). Ce sont des molécules nécessaires au développement et au fonctionnement du corps humain mais qui ne peuvent être fabriquées par les mammifères et qui doivent donc être apportées par l'alimentation. Les autres AG sont dits non essentiels (ou non indispensables).

Parmi les AG essentiels, on distingue deux familles (**Tableau 1-1**) :

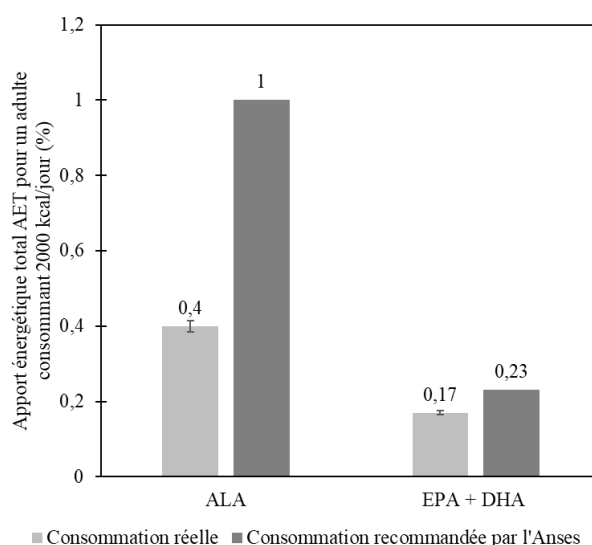
- Les acides gras polyinsaturés de type oméga-3 (AGPI  $\omega$ -3), dont le précurseur principal est l'acide  $\alpha$ -linoléique (ALA), à partir duquel sont synthétisés les acides eicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA) ;
- Les acides gras polyinsaturés oméga-6 (AGPI  $\omega$ -6), dont le représentant majoritaire est l'acide linoléique (LA) [14].

**Tableau 1-1** Structures des AGPI de type oméga-3 et oméga-6

| Famille | Dénomination                                 | Formule                                                                              |
|---------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Oméga-3 | Acide $\alpha$ -linoléique (ALA, C18:3)      |  |
|         | Acide stéaridonique (STA, C18:3)             |  |
|         | Acide éiosatétraénoïque (ETA, C20:4)         |  |
|         | Acide eicosapentaénoïque (EPA, C20:5)        |  |
|         | Acide docosapentaénoïque (DPA, C22:5)        |  |
|         | Acide docosahexaénoïque (DHA, C22:6)         |  |
| Oméga-6 | Acide linoléique (LA, C18:2)                 |  |
|         | Acide $\gamma$ -linoléique (GLA, C18:3)      |  |
|         | Acide dihomogamma-linoléique (DH-GLA, C18:3) |  |
|         | Acide arachidonique (AA, C20:4)              |  |
|         | Acide docotetraénoïque (DTA, C22:4)          |  |

Les graines céréalières et les huiles végétales constituent les principales sources d'oméga-6, majoritairement de type LA. On en retrouve en très grande quantité dans l'huile de ricin (75-88%), de carthame (75%), et de tournesol (69%). Les sources d'oméga-3 sont plus rares [5]. On peut néanmoins retrouver des molécules de type ALA dans les huiles de chia (63%), de chanvre (54-56%) et de lin (50-61%) [15] ainsi que dans les légumes feuillus verts [16]. Concernant les oméga-3 à longue chaîne de type EPA et DHA, on les retrouve principalement dans les poissons gras, tels que le hareng, le saumon, la truite, le thon et la morue.

Comme indiqué précédemment, les mammifères sont dépourvus du matériel biologique nécessaire à la synthèse des AGPI. Ils doivent donc être apportés par l'alimentation afin d'être assimilés par ces organismes [17]. Selon l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), la consommation en AGPI des français est bien inférieure aux valeurs recommandées, à la fois pour les AGPI à courtes et à longues chaînes (**Figure 1-1**). Cet écart s'explique en partie par les habitudes alimentaires des français. En effet, ce sont les produits animaux terrestres, tels que la viande, les œufs ou encore les produits laitiers, qui constituent la majorité des apports nutritionnels, au détriment d'aliments contenant davantage d'AGPI comme les huiles végétales, les poissons gras ou les arachides.



**Figure 1-1** Comparaison entre la consommation réelle et la consommation recommandée par l'Anses en ALA et EPA+DHA en France en 2018 [11,12]

Il a été prouvé qu'une consommation riche en AGPI a de nombreux effets positifs sur la santé. Les effets les plus décrits concernent la prévention des maladies cardiovasculaires avec des effets anti-arythmique, anti-inflammatoire, hypotenseur ou encore hypotriglycéridémique [18,19,20,21,22], le développement du cerveau et du système nerveux central [6], des effets neuroprotecteurs [23,24] et la prévention et la réduction de certains cancers, du diabète de type II et de l'obésité [7,8,9,10,25,26]. Ces effets ont été particulièrement significatifs dans le cas de consommations riches en AGPI de type oméga-3. En effet, ces molécules sont impliquées dans de nombreuses fonctions biologiques et physiologiques. Elles sont des constituants universels des membranes biologiques et participent à la modulation de leur

fluidité et de l'activité des protéines les constituant. De plus, elles peuvent être libérées sur demande par l'action de nombreuses phospholipases, en tant que précurseurs de médiateurs lipidiques, les eicosanoïdes [27]. Les eicosanoïdes sont des lipides participant à la signalisation cellulaire et jouent de nombreux rôles, notamment sur la régulation de la pression artérielle, des réponses inflammatoires et immunitaires, mais également sur la chimiotaxie, l'agrégation plaquettaire, le développement et la différenciation cellulaire. Enfin, des études ont montré leur implication dans la régulation de l'expression génique par l'activation de certains facteurs de transcription, leur conférant des propriétés hypolipidémiantes et de prévention du syndrome métabolique et de l'obésité [7].

Malheureusement, la présence d'insaturations conférant tous ces bienfaits aux AGPI les rendent également sensibles aux attaques environnementales, et plus particulièrement aux phénomènes d'oxydation.

### I.1.2. Oxydation des AGPI

#### I.1.2.1. Mécanismes

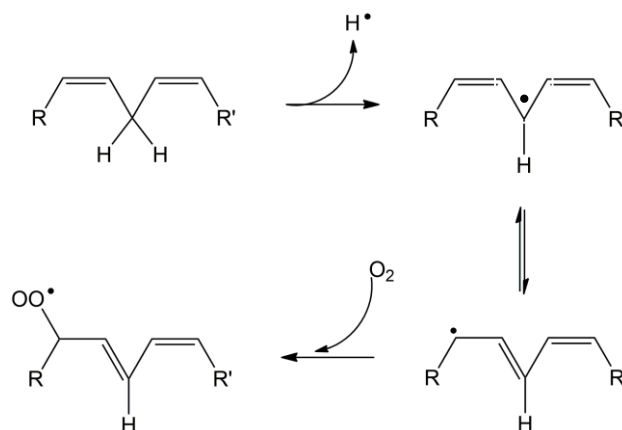
Les dégradations des AGPI par les phénomènes oxydatifs vont générer divers métabolites et dérivés réactifs de l'oxygène (DRO). Ceci va altérer à la fois la qualité des aliments en modifiant les propriétés organoleptiques, mais également les propriétés nutritionnelles et la sécurité liée à leur consommation (risques d'inflammation hépatique notamment) [28]. Ces attaques peuvent intervenir durant la transformation alimentaire, le stockage ou la cuisson ; on parlera alors d'oxydation non-enzymatique. Lorsque l'oxydation se produit après l'ingestion, on parlera d'oxydation enzymatique.

##### a) Oxydation non-enzymatique

L'oxydation non-enzymatique est divisée en deux catégories : l'auto-oxydation, effectuée par les radicaux libres, et la photo-oxydation, générée par les rayonnements ultraviolets ou les oxygènes singulets [29].

- **Auto-oxydation**

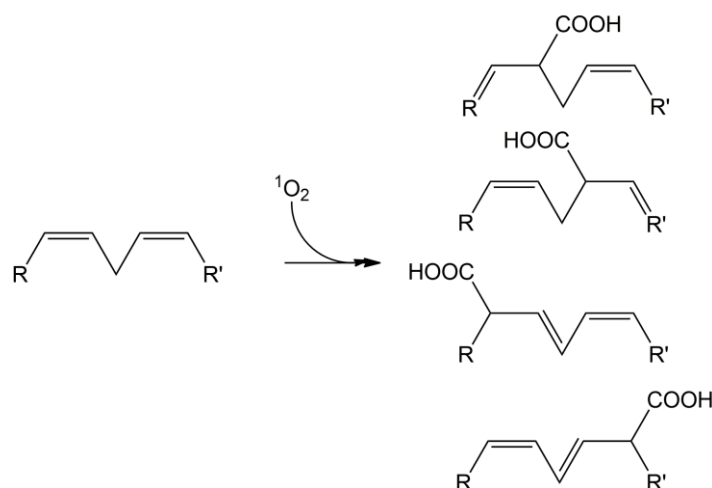
Ce phénomène oxydatif se déroule en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison. L'initiation correspond à l'étape de production des radicaux libres (**Figure 1-2**). Elle peut être amorcée par décomposition thermique, décomposition d'hydroperoxydes, catalyse métallique ou photolyse, avec ou sans l'intervention d'un photosensibilisateur. Lors de la propagation, le radical libre réagit avec une molécule de dioxygène atmosphérique pour former un radical peroxy. Cette réaction est suivie par le transfert d'un atome d'hydrogène provenant d'un autre lipide insaturé. La phase de terminaison se produit lorsque deux espèces radicalaires réagissent entre elles pour former une nouvelle espèce non-radicalaire.



**Figure 1-2** Etape d'initiation du mécanisme d'auto-oxydation d'un AGPI

### • Photo-oxydation

Dans son état triplet le plus stable, la molécule de dioxygène ne réagit pas fortement sur les composés insaturés. Elle a besoin d'être activée par une excitation électronique conduisant à sa transformation en oxygène singulet, forme très réactive. L'oxygène singulet peut être produit par de nombreux activateurs, mais le plus courant est l'exposition à la lumière en présence d'un photosensibilisateur. Le mécanisme de réaction de l'oxygène singulet sur les insaturations est différent de celui des radicaux libres en auto-oxydation. L'oxygène singulet réagit directement sur les doubles liaisons par une réaction concertée, aboutissant à la formation d'un mélange d'hydroperoxydes allyliques en configuration *trans* (**Figure 1-3**).



**Figure 1-3** Mécanisme de réaction d'un oxygène singulet sur un AGPI

### b) Oxydation enzymatique

Une fois ingérés, les AGPI peuvent subir des hydrolyses et estérifications conduisant à la production de composés qui peuvent être de type anti-inflammatoire, tels que des résolvines, les protectines ou les marésines, ou de type pro-inflammatoire avec les prostaglandines, les thromboxanes ou les leucotriènes selon la nature de l'AGPI [30].

### I.1.2.2. Oxydation des produits alimentaires riches en AGPI

L'oxydation des produits alimentaires riches en AGPI présente un problème lors de leur fabrication et de leur stockage. Tout d'abord, l'oxydation impacte négativement les propriétés organoleptiques des aliments par la production d'aldéhydes et de cétones, produits secondaires issus de l'oxydation des AGPI. C'est le mélange complexe de ces composés organiques volatils qui sera à l'origine d'une saveur anormale [31]. Par exemple, l'huile de soja peut subir une « réversion de flaveur » due à la dégradation de l'ALA en 2-pentylfurane et son isomère [32]. Cette altération va se traduire par un goût herbeux dans un premier temps, qui va ensuite se transformer en goût de poisson [28]. De plus, l'oxydation des lipides peut altérer les propriétés nutritionnelles des aliments en détruisant les AGPI et les vitamines liposolubles A, D, E et K, ainsi qu'en diminuant la teneur en calories [33].

En dépit d'avancées dans la compréhension des différents mécanismes d'oxydation des AGPI, l'impact réel de ces produits d'oxydation sur la santé humaine est encore mal compris. Cependant, certaines études ont montré qu'une consommation riche en AGPI oxydés entraînait une augmentation de la réponse inflammatoire et du stress oxydatif [34]. Un des produits d'oxydation des AGPI de type oméga-6, le 4-hydroxynonéal (4-HNE), a été incriminé dans l'apparition de nombreuses maladies telles que l'athérosclérose, les maladies neurodégénératives et certains types de cancer [35,36,37].

Néanmoins, des recommandations peuvent être appliquées lors de l'extraction et du conditionnement de l'huile afin de limiter l'exposition aux facteurs déclencheurs de l'oxydation (lumière, chaleur ou métaux). Par exemple, une phase de pré-refroidissement peut être appliquée aux graines avant leur pressage. Le broyage des graines peut également s'effectuer sous atmosphère inerte (argon) afin d'éviter les oxydations parasites. De plus, il peut être intéressant d'adapter la température lors des procédés d'extraction et de conditionnement.

### I.1.2.3. Rôle des antioxydants dans la préservation des produits alimentaires

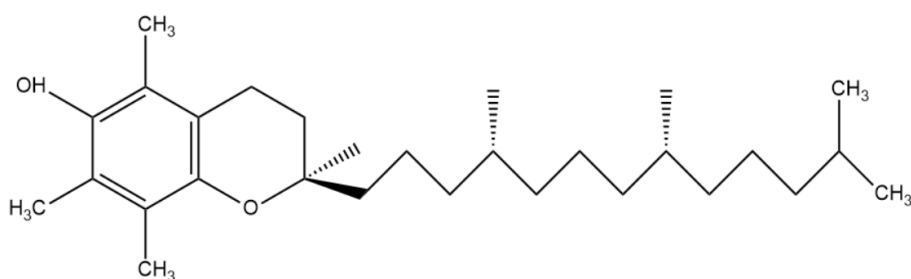
Lorsque les mesures préventives décrites précédemment ne suffisent pas, l'ajout de molécules possédant des activités antioxydantes peut être une solution pour contrer les oxydations parasites des AGPI [38].

Un antioxydant est défini comme « toute substance qui, présente à faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat » [39]. Les antioxydants sont donc une classe de composés de grand intérêt dans l'industrie agroalimentaire en raison de leur capacité à contrer l'activité des radicaux libres et donc à prévenir les dommages associés [40]. Une liste des principales molécules antioxydantes utilisées par l'industrie agroalimentaire est présentée en **Annexe**. Elles peuvent être classées en deux catégories. D'un côté, les antioxydants préventifs empêchant la formation de DRO ou neutralisant les espèces initiant l'oxydation lipidique et, de l'autre côté, les antioxydants dits « chain-breaking » ou « briseurs de chaîne » interceptant les radicaux propagateurs de la peroxydation lipidique [41].

Dans le cadre de cette étude, deux molécules antioxydantes ont été étudiées. Il s'agit de l' $\alpha$ -tocophérol et du gallate de propyle :

- **$\alpha$ -tocophérol**

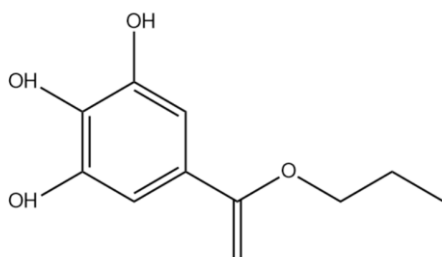
L' $\alpha$ -tocophérol est la forme biologiquement active de la vitamine E. Il est constitué d'un noyau de type chromanol et d'une chaîne latérale aliphatique saturée à seize atomes de carbone (**Figure 1-4**). Cette molécule lipophile naturellement présente dans les feuilles et les graines des plantes (principalement dans les huiles de ces graines) [42], peut également être ajoutée en tant qu'additif dans les produits alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques. Le mécanisme d'action antioxydant de l' $\alpha$ -tocophérol est principalement de type « chain-breaking » [43]. Il agit en tant que donneur d'hydrogène aux radicaux alcoyle et peroxy, interrompant ainsi la propagation de la peroxydation. Il possède également une faible activité préventive en tant que désactivateur de l'oxygène singulet [41].



**Figure 1-4** Structure de la molécule d' $\alpha$ -tocophérol

- **Gallate de propyle**

Le gallate de propyle est un antioxydant synthétique obtenu par réaction d'estérification entre l'acide gallique (présent naturellement dans certains végétaux) et de propanol (**Figure 1-5**). Il est utilisé depuis 1948 en tant d'antioxydant alimentaire mais on le retrouve également dans les matériaux d'emballage et les revêtements [44]. Tout comme l' $\alpha$ -tocophérol, son activité antioxydante principale provient de sa capacité à transférer ses hydrogènes aux radicaux [45].



**Figure 1-5** Structure de la molécule de gallate de propyle

D'autres solutions existent pour protéger les huiles riches en AGPI des phénomènes d'oxydation. Une des plus efficace est la microencapsulation qui consiste à protéger la

matière active au sein d'une matrice enrobante sous la forme de microparticules. Les antioxydants pourront également être mis en contact direct des huiles au sein de ces systèmes protecteurs afin d'améliorer leur absorption et leur biodisponibilité.

## I.2. Microencapsulation

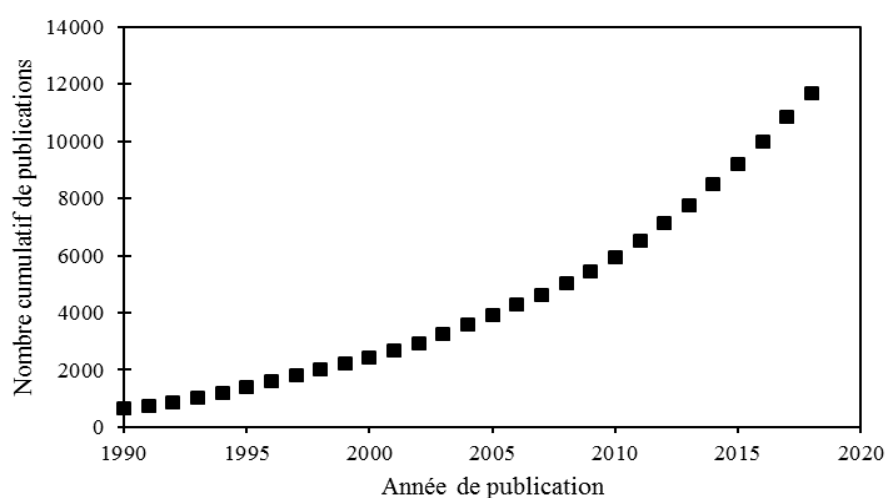
### I.2.1. Généralités

La microencapsulation regroupe l'ensemble des technologies qui permettent d'obtenir des particules individualisées de taille micrométrique, sous différentes formes, et dont le principe est de piéger une matière active, qui peut être sous forme solide, liquide ou gazeuse, au sein d'un matériau enrobant. Généralement, la taille de ces microparticules est comprise entre quelques microns et quelques millimètres. En deçà, on parle de nanoparticules ; au-delà de microgranules [46].

Ces dernières années, les techniques de microencapsulation ont permis de développer de nombreux produits destinés à des secteurs d'activité variables, allant de la pharmacie à l'électronique, en passant par l'industrie textile [47]. On peut citer par exemple les systèmes de libération d'agents médicamenteux ou de composés alimentaires tels que les arômes, les édulcorants ou les colorants [48]. Toutefois, le principe de l'encapsulation est utilisé depuis de nombreuses années. Les premiers essais sur la microencapsulation datent de 1931, avec Bungenburg de Jong et Kaas, deux chercheurs chimistes spécialistes des systèmes colloïdaux ayant découvert le phénomène de coacervation par la gélatine pour la microencapsulation de produits cosmétiques [49]. Mais c'est dans les années 1950, avec les laboratoires de la National Cash Register Corporation (NCR), que le concept de microencapsulation sera reconnu, grâce aux travaux de Green et Schleicher sur des colorants microencapsulés pour la production de papier autocopiant sans carbone [50]. Ces microcapsules obtenues par coacervation complexe sont constituées de complexes enrobants à base de gélatine et de gomme arabique. Le papier autocopiant sans carbone est toujours utilisé et permet de dupliquer un motif sous l'effet d'une faible pression sur les microcapsules, libérant ainsi les pigments encapsulés. Au milieu des années 1970, la microencapsulation devient très populaire, notamment dans le secteur pharmaceutique [47]. Au cours des années qui suivirent, l'accumulation des connaissances scientifiques a conduit à une augmentation du nombre d'articles scientifiques et de brevets publiés (**Figure 1-6**).

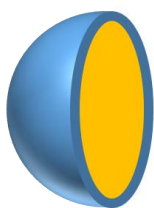
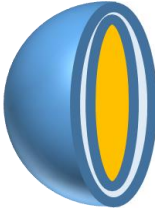
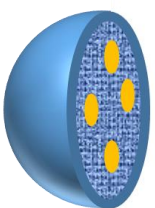
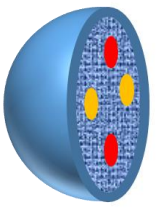
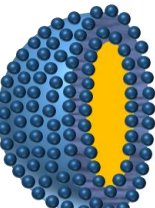
Les particules obtenues en microencapsulation peuvent prendre différentes formes en fonction du procédé utilisé, mais aussi des propriétés physico-chimiques du principe actif à protéger et de la matière enrobante. De façon simplifiée, elles peuvent être classées en trois catégories principales qui sont les microcapsules, les microsphères et les liposomes/niosomes. Ces structures principales ainsi que des variantes plus complexes sont présentées au **Tableau 1-2**. Il est important de noter qu'il ne s'agit que de représentations schématisées et que les microparticules obtenues ont rarement une forme parfaitement sphérique, celle-ci étant généralement plus irrégulière.

Ainsi, certains procédés d'encapsulation peuvent conduire à la production de microparticules de type microcapsule. Leur structure est constituée d'un noyau de matière active entouré d'une enveloppe continue de matière enrobante. Il s'agit de structures « réservoir ». D'autres techniques peuvent aboutir à la formation de microsphères. Dans ce cas, la matière enrobante forme un réseau macromoléculaire continu constituant une matrice poreuse dans laquelle les substances actives vont s'enchâsser sous la forme de fines inclusions de particules solides, de gouttelettes liquides ou de gaz. Enfin, les liposomes sont des structures plus rares. Ces vésicules sont composées d'une membrane de lipides et qui peut être unilamellaire (une seule couche lipidique) ou multilamellaire (plusieurs couches lipidiques). Les niosomes ont des structures similaires aux liposomes mais leurs membranes sont constituées de molécules synthétiques amphiphiles [49].



**Figure 1-6** Evolution du nombre de documents scientifiques publiés dans le domaine de la microencapsulation figurant dans les bases de données bibliographiques de Scopus depuis 1990

**Tableau 1-2** Exemples de morphologies de particules obtenues par microencapsulation

| Microcapsules                                                                       |                                                                                     | Microsphères                                                                        |                                                                                       | Liposomes                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Simple                                                                              | Multi-enveloppe                                                                     | Simple                                                                              | Double cœur actif                                                                     |                                                                                       |
|  |  |  |  |  |

Le recours à des procédés de microencapsulation pour l'encapsulation de matière active peut être justifié par différents objectifs.

- **Immobiliser ou isoler**

Ce premier objectif peut être vu comme une volonté de limiter le contact entre la matière active et son environnement. L'encapsulation peut servir par exemple à incorporer une matière active dans un système normalement non compatible. Elle permet également de maintenir la matière active dans un système confiné afin d'en masquer l'odeur, le goût ou l'activité ; ou bien de prolonger cette activité.

- **Protéger**

De nombreux composés sont sensibles à leur environnement et ont besoin d'une protection pour conserver leurs propriétés. On peut citer le cas des vitamines mais également des matières actives cibles de cette étude, les AGPI. De nombreuses cellules biologiques présentent également une sensibilité à l'environnement en réagissant de manière négative au cisaillement. Autre exemple, la destruction de certains médicaments au pH acide de l'estomac. Une fois protégés par encapsulation, ces composés verront ainsi leur durée de conservation augmenter.

- **Contrôler la libération**

Cet objectif regroupe deux grandes fonctions : le relargage contrôlé dans le temps et le relargage ciblé sur une zone spécifique.

Concernant le contrôle du relargage, le but peut être de retarder la cinétique de libération. C'est le cas par exemple des molécules odorantes d'un parfum dont la libération s'effectue par frottement des microparticules sur une surface ou encore d'agents médicamenteux nécessitant une libération prolongée. Le but peut également être d'accélérer cette cinétique, en favorisant la dispersion du principe actif. Dans le cas des arômes, le piégeage dans des microcapsules permet d'obtenir un effet aromatique prolongé ou un effet retardé si l'arôme est libéré lors de la rupture de la microparticule. Dans l'industrie pharmaceutique, des polymères biodégradables tels que l'acide polylactique (PLA) ou l'acide polyglycolique (PLGA) sont couramment fonctionnalisés afin de former des systèmes permettant le relargage ciblé de matières actives [51].

- **Structurer et fonctionnaliser**

Le mélange d'une faible quantité de liquide dans un plus gros volume peut être très complexe à réaliser industriellement. La modification de l'état physique de la matière active (conversion d'un liquide en solide par exemple) par encapsulation permet de s'affranchir de ce problème. A titre d'exemple, l'encapsulation du cacao difficilement dispersable par des matériaux enrobants appropriés permet d'obtenir une poudre très soluble. En effet, cette matière occupera un volume plus important qui sera plus facile à homogénéiser. L'encapsulation permet également d'apporter des fonctions nouvelles afin de créer des systèmes innovants [49].

## I.2.2. Matériaux d'enrobage biosourcés

Afin de fabriquer les microparticules, la formulation initiale doit contenir des matériaux enrobants constituant la matrice à l'intérieur de laquelle la matière active sera piégée. Ces composés peuvent être d'origine synthétique, telles que les copolymères acryliques et méthacryliques, les polyoléfines (polyéthylène, polypropylène), les copolymères vinyliques ou encore les homopolymères d'acide lactique et glycolique (PLA, PLGA) [49]. Ils peuvent également être semi-synthétiques, comme les dérivés de l'amidon et les dérivés cellulosiques (éthylcellulose, hydroxypropylméthylcellulose, hydroxyméthylcellulose, carboxyméthylcellulose) [46], très utilisées dans le secteur pharmaceutique [49]. Mais ces dernières années, ce sont les polymères issus de la biomasse, également appelés biopolymères, qui ont été très largement étudiés en microencapsulation [52]. La classification de ces matériaux biosourcés est décrite ci-dessous.

### I.2.2.1. Protéines

Les protéines sont des composés de choix pour l'enrobage de matières actives par microencapsulation. En effet, elles présentent de nombreux avantages tels que leur biodégradabilité et leur biocompatibilité. De plus, leur caractère amphiphile les rend très utiles pour l'encapsulation de matières actives lipophiles. En effet, elles sont capables de s'adsorber aux interfaces huile-eau et donc de stabiliser les émulsions [53] et de prévenir la coalescence des gouttelettes par formation d'un film viscoélastique autour de celles-ci. Les principales protéines utilisées en microencapsulation sont issues de produits animaux. On peut citer les protéines extraites du lait (caséine, protéines du lactosérum), des œufs (albumines), le collagène, ou encore la gélatine. L'utilisation des protéines végétales est beaucoup plus rare. Il existe néanmoins certaines études ayant porté sur l'utilisation d'isolats ou de concentrats extraits de graines de soja, de pois, de blé, ou encore de maïs [54, 55].

#### I.2.2.1.1. Structures et propriétés physico-chimiques

Les protéines sont des biopolymères azotés linéaires formés d'une ou plusieurs chaîne(s) polypeptidique(s). Ces chaînes polypeptidiques sont constituées d'un enchainement particulier d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. Les protéines présentent quatre niveaux d'organisation :

- la structure primaire correspond à la séquence en acides aminés ;
- la structure secondaire décrit l'arrangement des résidus d'acides aminés observable à l'échelle atomique. Stabilisés par des liaisons hydrogène, ces arrangements locaux peuvent prendre la forme d'hélices  $\alpha$ , de feuillets  $\beta$ , de tonneaux  $\beta$  ou de coudes ;
- la structure tertiaire correspond à la forme générale de la protéine observable à l'échelle de la molécule. Elle est également appelée structure tridimensionnelle ou structure 3D. Elle décrit les interactions entre les différents éléments de la structure secondaire. Elle est stabilisée par tout un ensemble d'interactions de faibles énergies, mais également des liaisons covalentes (ponts disulfures) ;

- la structure quaternaire n'existe que pour les protéines possédant plusieurs chaînes polypeptidiques. En effet, elle décrit la structure complexe résultant de l'assemblage de plusieurs molécules de protéines, appelées dans ce cas sous-unités protéiques, pour former un complexe protéique unique. Ce complexe est formé par un ensemble de liaisons non-covalentes (liaisons hydrogène, liaisons ioniques, interactions hydrophobes).

Ainsi, trois grands groupes de protéines peuvent être identifiés en fonction de leur structure tertiaire ou quaternaire : les protéines globulaires, les protéines fibreuses et les protéines membranaires [56].

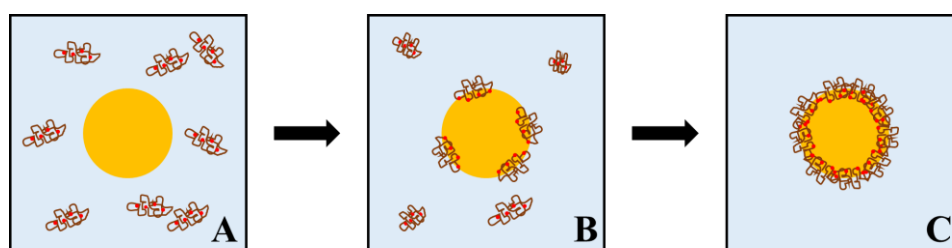
Ces niveaux d'organisation, ainsi que les caractéristiques structurales particulières des protéines (poids moléculaire, hydrophobicité de surface, interactions) vont leur conférer de nombreuses propriétés fonctionnelles de solubilité, d'absorption d'eau ou de corps gras, de viscosité, de gélification, de cohésion-adhésion, d'élasticité, d'émulsification, ou encore de stabilisation de mousses [57]. Certaines de ses caractéristiques physico-chimiques sont décrites ci-dessous.

- **Capacité à former des gels**

La formation de gels protéiques peut mettre en jeu différents mécanismes (variation de température, ajustement du pH ou réactions enzymatiques). Dans le cas des gels induit par une augmentation de température (cas le plus courant), c'est le dépliement des chaînes protéiques avec l'exposition des segments apolaires qui va entraîner une agglomération et donc la formation d'un réseau 3D [58].

- **Capacité émulsifiante**

Grâce à leur caractère amphiphile, c'est-à-dire à la coexistence de régions hydrophobes et hydrophiles dans leur structure, ainsi qu'à leurs propriétés filmogènes, les protéines possèdent des capacités émulsifiantes intéressantes [59] (**Figure 1-7**).



**Figure 1-7** Mécanisme de stabilisation d'une gouttelette d'émulsion par adsorption de protéines. Les marques rouges indiquent la position des régions hydrophobes

Cette capacité est étroitement liée à différentes propriétés telles que leur capacité de migration et d'absorption aux interfaces, leur flexibilité ou encore leurs propriétés filmogènes. Elle peut ainsi être prédite par différentes caractéristiques structurales. Par exemple, des protéines possédant un faible poids moléculaire auront une vitesse de diffusion importante mais une capacité filmogène peu efficace, et inversement. De même, lors de l'adsorption à l'interface, plus l'hydrophobicité de surface de la protéine sera importante, meilleure sera son affinité

avec la phase apolaire et donc sa capacité à stabiliser l'émulsion [54]. Contrairement aux émulsifiants de faible poids moléculaire, tels que les molécules tensioactives diffusant rapidement aux interfaces et possédant des capacités émulsifiantes très efficaces, les protéines, plus volumineuses, diffusent à une vitesse beaucoup plus lente [60] **(A)**. Une fois placées à l'interface, des phénomènes de dénaturation partielle ou de déploiement particulier sont souvent nécessaires pour exposer leurs régions hydrophobes non accessibles. Les protéines se réalignent ensuite afin de positionner leurs domaines hydrophobes au contact de la phase huileuse et leurs domaines hydrophiles au sein de la phase aqueuse [61] **(B)**. Ainsi, la capacité émulsifiante des protéines est généralement inférieure à celle des molécules de faible poids moléculaire [62]. Cependant, une fois placées à l'interface, les protéines forment des films viscoélastiques capables de résister à de forts stress mécaniques et d'apporter une très bonne stabilité électrostatique et stérique à l'émulsion **(C)**.

#### • Solubilité

Le pH, le solvant et la force ionique du milieu auront une incidence sur la solubilité de la protéine. A chaque protéine correspond un point isoélectrique ( $pH_i$ ), correspondant au pH pour lequel la protéine est électriquement neutre. En s'éloignant de ce point, la charge globale deviendra positive ( $pH < pH_i$ ) ou négative ( $pH > pH_i$ ), empêchant ainsi l'agrégation des chaînes et augmentant la solubilité. De la même manière, l'utilisation d'un solvant à faible force ionique empêchera la neutralisation des charges. Dans le cas de la stabilisation d'émulsions, une bonne solubilité des protéines dans la phase continue est indispensable pour leur permettre de migrer jusqu'aux interfaces. Cela permet également d'augmenter la viscosité et donc de stabiliser l'émulsion par limitation des phénomènes migratoires des gouttelettes de phase dispersée.

##### I.2.2.1.2. Protéines végétales

Actuellement, il existe une tendance consistant à privilégier l'utilisation de produits issus de la biomasse végétale aux produits animaux. En effet, ces molécules présentent de nombreux avantages d'un point de vue industriel. Leur utilisation permet notamment de répondre aux inquiétudes des consommateurs concernant la sécurité des produits animaliers (réponse à la crise de la « vache folle » en 1996, par exemple) mais également de satisfaire les consommateurs pratiquant un régime alimentaire particulier pour des questions d'allergies, de religion, gustatives, de souci de la condition animale ou encore de santé. De plus, les protéines végétales sont en moyenne moins chères et plus abondantes que les protéines animales [54].

D'un point de vue structurel, les protéines végétales sont divisées en quatre grandes fractions, dépendant de leur solubilité [55]:

- Les glutélines, solubles dans les solutions aqueuses à pH alcalin ;
- Les globulines, solubles dans les solutions salées ;
- Les albumines, solubles dans l'eau ;
- Les prolamines, solubles dans les solutions hydro-alcooliques.

En fonction de la composition en fractions protéiques des tourteaux végétaux, différents procédés d'extraction peuvent être mis en place :

- **Extraction chimique** : ce type d'extraction fait intervenir l'utilisation de solvants organiques (éthanol, isopropanol, chloroforme, hexane) permettant d'isoler certaines fractions protéiques et/ou la modification du pH du milieu afin d'induire leur précipitation ou, au contraire, de les solubiliser ;
- **Extraction biochimique par action d'enzymes** : lorsque le rendement d'extraction obtenu par les traitements chimiques n'est pas satisfaisant, l'utilisation de mélanges enzymatiques à base de carbohydrolases et de peptidases peut être employée pour solubiliser les protéines ;
- **Extractions physique et physico-chimique** : il s'agit des extractions assistées par ultrasons, par micro-ondes, par haute pression et des traitements thermiques, par exemple [63].

Dans le cadre de cette étude, cinq protéines végétales ont été testées en tant que matières enrobantes pour l'encapsulation d'huiles végétales. Leurs caractéristiques principales sont décrites ci-dessous.

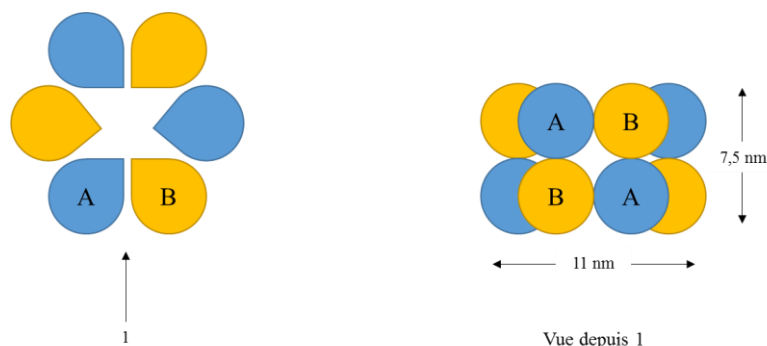
#### a) Protéines de soja

Environ 80% du soja cultivé est utilisé pour l'extraction d'huile, générant ainsi une grande quantité de sous-produits. Les protéines étant le composant majoritaire des graines de soja, représentant un pourcentage global compris entre 35 et 40% [64], ces résidus en contiennent en très grande quantité [65]. Les avantages des protéines de soja sont nombreux, justifiant leur utilisation pour l'alimentation humaine et animale:

- Bonne valeur nutritionnelle en raison de la présence de l'ensemble des acides aminés essentiels ;
- Effet hypoglycémiant, prévention du risque d'hyperlipidémie et de la survenue de maladies cardiovasculaires ;
- Bon marché ;
- Biodégradables ;
- Propriétés physico-chimiques et fonctionnelles intéressantes (capacités de gélification et d'émulsification).

Les fractions majoritaires des protéines de soja sont les globulines et les albumines, comptant pour 50 à 90% de l'ensemble des protéines issues des graines de soja. Les protéines de soja sont subdivisées en quatre fractions, caractérisées par leur coefficient de sédimentation : 2S, 7S, 11S et 15S [66]. Les albumines sont principalement sous la forme 2S alors que les fractions 7S, 11S et 15S correspondent majoritairement aux globulines. On observe toutefois deux fractions majoritaires de la globuline qui sont la glycinine, également appelée globuline 11S, et la  $\beta$ -conglycinine, ou globuline 7S, représentant à elles seules une grande majorité des protéines de soja [67]. Des variations sont cependant observées en fonction de la variété et de la méthode d'isolation. La globuline 7S est divisée en trois sous-unités,  $\alpha$  (67 kDa),  $\alpha'$  (71 kDa) et  $\beta$  (50 kDa). La globuline 11S est un hexamère constitué de cinq sous-unités comportant chacune une sous-unité acide A et une sous-unité basique B, reliées par des ponts disulfures. Il est suspecté que les sous-unités AB s'associent en deux cercles hexagonaux, formant ainsi un cylindre creux maintenu par des liaisons hydrogènes et des liaisons

électrostatiques [68]. Une représentation schématique d'une molécule de glycine est présentée à la **Figure 1-8**.



**Figure 1-8** Représentation schématique d'une molécule de glycine

Selon plusieurs études, les propriétés gélifiantes conférées aux protéines de soja proviendraient principalement de l'agrégation des glycinines [69], tandis que les propriétés émulsifiantes sont principalement dues au réseau dense des  $\beta$ -conglycinines, stabilisé par les ponts disulfures [70]. Une autre explication a été apportée par Maruyama *et al.* (2002) [71], démontrant la présence de chaînes saccharidiques attachées aux  $\beta$ -conglycinines, renforçant leur capacité à stabiliser les émulsions.

#### b) Protéines de pois

Le taux de protéines contenues dans les graines sèches de pois varie entre 20 et 30% en fonction de l'espèce, de la variété, de la maturité et des conditions de croissance de la plante [72]. Les protéines de pois possèdent également des valeurs nutritionnelles intéressantes. En effet, des études ont prouvé que la consommation de protéines de pois entraînait une diminution des risques de maladie cardiovasculaire [73] et d'hypertension artérielle [74].

Tout comme les protéines de soja, les fractions protéiques majoritaires sont les globulines 7S et 11S, respectivement nommées viciline et légumine, et représentent environ 70% de la totalité des protéines. Les albumines et les glutélines comptent, quant à elles, chacune pour 10 à 20% des protéines totales des graines [75]. De nombreuses études ont montré que les isolats de protéines de pois ont de relativement bonnes propriétés émulsifiantes, en terme d'activité et de stabilité, mais inférieures à celles des isolats protéiques de soja. Elles ont également montré des propriétés moussantes modérées et une faible capacité d'absorption d'eau et d'huile comparativement aux extraits protéiques de soja [76].

#### c) Protéines de chanvre

En plus de leur important contenu en fibres, les graines de chanvre contiennent environ 30% d'huile et 25% de protéines. Les protéines de chanvre ont montré des valeurs nutritionnelles encore plus intéressantes que celles des protéines de soja. En effet, le rapport entre la teneur en acides aminés essentiels et la teneur totale en acides aminés est supérieur pour les protéines

de chanvre (45,16%) comparativement aux protéines de soja (42,72%). Cette différence s'explique en partie par la haute teneur en acides aminés soufrés (méthionine et cystéine) des protéines de chanvre. Tout comme les protéines de soja et de pois, les fractions majoritaires des protéines de chanvre sont des 2S albumines et des globulines, dont le représentant majoritaire est une 11S, appelée édestine. En revanche, des caractérisations des propriétés physico-chimiques et fonctionnelles d'isolats de protéines de chanvre ont montré une faible activité émulsifiante ainsi qu'une faible capacité de rétention d'eau de ces protéines, comparativement aux protéines de soja [77,78,79].

### d) Protéines de tournesol

La culture du tournesol, tout comme celle du soja, fait partie des cinq plus importantes dans le monde [80]. Les graines de tournesol sont principalement cultivées pour leur huile mais les tourteaux dégraissés possèdent une composition intéressante, avec un taux de protéines compris entre 40 et 66%. En dépit d'une faible concentration en lysine, la composition en acides aminés des protéines de tournesol répond aux besoins nutritionnels [81]. Tout comme les protéines précédemment décrites, les fractions majoritaires des protéines de tournesol sont les albumines et les globulines [82]. Les globulines du tournesol sont appelées hélianthinines et comptent pour 50 à 70% des protéines totales, tandis que les albumines représentent 17 à 34% du contenu en protéines [83]. En raison de leur température de dénaturation élevée, de leur faible contenu en acides aminés soufrés et de leur solubilité grandement dépendante des variations de pH, les protéines de tournesol possèdent une faible capacité à former des gels. Concernant les propriétés émulsifiantes des protéines de tournesol, les résultats divergent en raison des différences compositionnelles des échantillons testés et des conditions appliquées [84]. Néanmoins, une étude a montré des capacités émulsifiantes de concentrats de protéines de tournesol similaires à celles de concentrats de protéines de soja [85].

### e) Protéines de riz

Les protéines de riz constituent un ingrédient très intéressant pour les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique en raison de leurs très bonnes valeurs nutritionnelles et de leurs propriétés hypoallergéniques comparées aux autres protéines céréalières et légumineuses [86]. C'est particulièrement le cas des protéines de riz brun qui sont riches en glutélines et en prolamines, et pauvres en globulines et albumines (fractions pouvant être responsables de réactions allergiques) [87]. Une étude récente effectuée sur les protéines issues d'un riz brun thaï a montré qu'elles contenaient environ 84% de glutéline, 10% de prolamine, 4% de globuline et 2% d'albumine [88]. Néanmoins, cette forte teneur en glutéline présente également un désavantage : la faible solubilité des protéines de riz dans les solutions aqueuses. De plus, leur structure globulaire rigide maintenue par des liaisons disulfides intermoléculaires et des interactions hydrophobes réduit leur flexibilité accentuant ainsi cette faible solubilité et leur conférant des propriétés tensioactives peu efficaces [89].

## I.2.2.2. Polysaccharides et dérivés polysaccharidiques

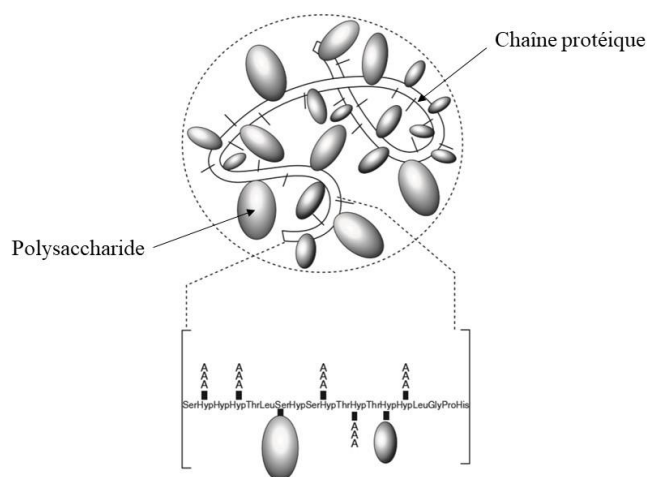
Les polysaccharides sont les polymères naturels les plus utilisés en microencapsulation en raison de leur diversité, de leur grande disponibilité et de leur moindre coût. Ils peuvent être issus de différentes sources : végétale (amidon, cellulose, maltodextrine, gommages et leurs dérivés), marine (carraghénane, alginate) ou animale/microbienne (gomme xanthane, chitosane) [90]. En dehors des composés possédant des propriétés gélifiantes, les polysaccharides peuvent être utilisés à des concentrations élevées tout en gardant une bonne solubilité dans l'eau et en maintenant une faible viscosité des formulations [91]. Les différents polysaccharides utilisés lors de ce projet sont décrits ci-dessous.

## a) Gomme arabique

Les trois-quarts de la production de gomme arabique, également appelée gomme d'acacia, provient d'une espèce d'arbre appelée *Acacia senegal*. La majeure partie de l'autre quart est issue de l'espèce *Acacia seyal* [92].

Les gommages sont couramment utilisées comme matériaux enrobants pour l'encapsulation de matières actives hydrophobes en raison de leurs bonnes propriétés filmogènes et émulsifiantes. Parmi toutes les gommages, la gomme arabique se démarque en raison de ses excellentes propriétés émulsifiantes et est donc couramment utilisée. Le produit brut se présente sous la forme de nodules de différentes tailles (de 5 à 40 mm), contaminés par des impuretés végétales (bois, graines, feuilles), minérales (sable) et d'origine bactériologique. La purification s'effectue par voie humide en dissolvant la gomme dans l'eau. Les impuretés insolubles sont éliminées par une cascade de filtrations et la qualité bactériologique maîtrisée par stérilisation. L'eau résiduelle est ensuite éliminée par séchage par atomisation aboutissant à un produit final sous forme d'une poudre blanche.

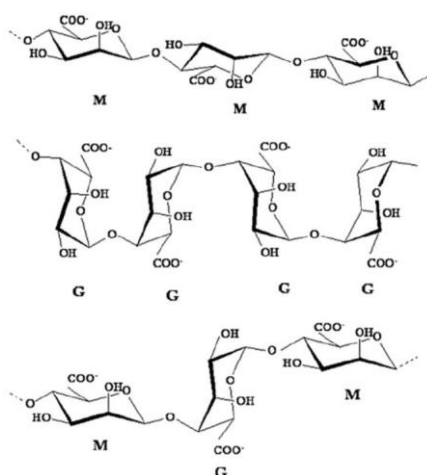
Le polymère obtenu est constitué d'un enchainement complexe et ramifié de différents monomères (acide D-glucuronique, L-rhamnose, D-galactose et L-arabinose) liés de façon covalente à une fraction protéique, représentant généralement 2% du poids total de la gomme (**Figure 1-9**). Ces propriétés émulsifiantes sont d'ailleurs attribuées à la présence de cette fraction protéique [94,95].



**Figure 1-9** Illustration schématique de la structure de la gomme arabique [95]

## b) Alginates

Les alginates sont obtenus à partir de deux sources, les algues et les bactéries. La majorité des alginates disponibles commercialement proviennent d'algues brunes et plus particulièrement de trois espèces, *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* et *Macrocystis pyrifera* [96]. Le procédé d'obtention du produit final consiste tout d'abord à collecter et rincer les algues à l'eau douce afin d'éliminer les plus grosses impuretés (sable, sel, autres algues). Elles sont ensuite broyées et mises à tremper dans une solution d'acide sulfurique afin d'en éliminer les minéraux (calcium, magnésium). L'acide alginique déminéralisé est alors immergé dans une solution de carbonate de sodium afin d'être transformé en alginate de sodium soluble qui sera finalement précipité, pressé, lavé, essoré, séché et moulu [97]. Les alginates sont composés de deux résidus isomères se différenciant par l'arrangement structural de leur cycle hexopyranose. Il s'agit de l'acide  $\alpha$ -L-guluronique (G) et de l'acide  $\beta$ -D-mannuronique (M), reliés linéairement par des liaisons 1-4 [98]. Ces résidus s'agencent en segments qui peuvent être de type MM, GG ou MG (**Figure 1-10**).



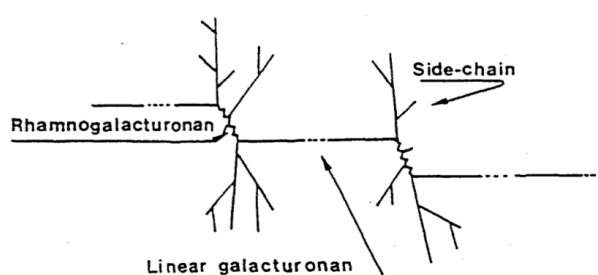
**Figure 1-10** Représentation des segments MM, GG et MG des alginates [99]

Les propriétés fonctionnelles des alginates sont principalement gouvernées par la composition et l'arrangement de ces résidus, du poids moléculaire du polymère et de la concentration du cation plurivalent permettant leur réticulation [100]. La viscosité des alginates de sodium provenant d'algues brunes dépend à la fois de la concentration de la solution mais également de la longueur et du nombre de segments monomériques sur les chaînes d'alginate. Pour une même concentration, une augmentation de la longueur des segments entraînera une augmentation de la viscosité de la solution [101]. Il est cependant intéressant de noter qu'une telle corrélation n'est pas retrouvée pour les alginates issues de bactéries [102]. En présence de cations plurivalents, les solutions d'alginate peuvent subir des transitions sol-gel en raison de leur nature anionique en solution aqueuse (voir **section I.2.3.2.2** sur l'encapsulation par gélification ionotropique). Les alginates possèdent d'autres propriétés physico-chimiques intéressantes, justifiant leur utilisation dans de nombreux secteurs industriels. Ils sont notamment utilisés dans l'industrie agroalimentaire comme agents stabilisants et épaississants

dans les confitures, les boissons ou les desserts et comme agents d'enrobage de cellules de levure dans les procédés de fermentation. On les retrouve également comme agents épaississants de pigments utilisés dans les encres d'impression ou d'agents adhésifs et de remplissage dans l'industrie papetière [96].

### c) Pectines

Les pectines sont une classe de polysaccharide complexe présente dans les membranes cellulaires. Elles y jouent le rôle d'agent hydratant et d'élément de consolidation du réseau cellulosique [103]. Bien que les pectines se situent dans la plupart des tissus cellulaires, seules quelques végétaux peuvent être utilisés pour leur extraction et leur utilisation industrielle. En effet, la formation de gels dépendant principalement de leur poids moléculaire et de leur degré de méthoxylation, les pectines provenant de différentes sources n'auront pas les mêmes propriétés gélifiantes. Ainsi, la grande quantité de pectine présente dans un fruit n'est pas une caractéristique suffisante pour faire de ce fruit une bonne source de pectine commercialisable [104]. Actuellement, le marc de pomme et les écorces d'agrumes sont les principales sources de pectine industrielle qui seront destinées à des applications spécifiques en raison de leurs différences structurelles. Concernant leur structure chimique, les pectines sont des  $\alpha$ -D-galacturonanes. Leurs chaînes polymériques sont constituées de deux unités, l'acide D-galacturonique (homopolymère de l'acide (1-4)- $\alpha$ -D-galactopyranosyluronic possédant des degrés variables de groupes carboxyles méthylestérifiés) et le rhamnogalacturonane (hétéropolymère de dissaccharides acides (1-2)- $\alpha$ -L-rhamnosyl-(1-2)- $\alpha$ -D-galactosyluronic répétitifs) [105]. Les cycles pyranose des unités d'acide D-galacturonique sont reliés par des liaisons L-(1,4)-glycosidique formant ainsi la molécule. Les pectines sont donc des copolymères à blocs dont la chaîne principale galacturonane est fréquemment interrompue par des unités rhamnose pouvant porter des chaînes latérales (**Figure 1-11**).



**Figure 1-11** Représentation schématique d'une structure typique d'une pectine [106]

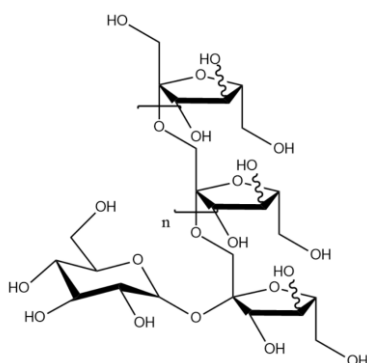
Comme indiqué précédemment, la composition des pectines varie selon la source, la localisation dans la membrane cellulaire et le procédé d'extraction [107].

Leur solubilité dépend du degré de polymérisation, du nombre et de la distribution des groupements méthoxyles. Tout comme les alginates, les pectines ont la capacité à former des gels. Selon leur degré de méthylation, ces dernières sont divisées en deux catégories qui formeront des gels de natures différentes. Les pectines « faiblement méthylées », comportant

un degré de méthylation compris entre 25 et 50%, forment un gel par création d'interactions hydrophobes lorsque le pH est inférieur à 3,6 et en présence d'un co-soluté (le sucrose, par exemple). Les pectines « hautement méthylées », dont le degré de méthylation est compris entre 50 et 80%, forment un gel en présence de cations plurivalents, qui jouent le rôle de ponts entre les chaînes polysaccharidiques [108].

#### d) Inulines

Les inulines sont des polysaccharides de stockage retrouvées dans certains végétaux, notamment l'asperge, la banane, l'ail et l'oignon. La première source commerciale est la racine de chicorée, contenant entre 16 et 18% d'inuline [109]. Après avoir rincé et découpé les racines, les inulines sont extraites avec de l'eau chaude. Ce jus est alors purifié par carbonatation. Afin d'obtenir la poudre d'inuline, la matière première est à nouveau purifiée par un système d'échange d'ions, puis séparée des chaînes courtes, stérilisée par filtration tangentielle et, enfin, séchée par le procédé d'atomisation [93,94]. Les inulines appartiennent à la famille des fructanes. Elles sont composées d'un enchainement linéaire d'unités de fructose reliées par des liaisons  $\beta$ -(2,1). Le degré de polymérisation (DP) des inulines est compris entre 2 et 60 et l'extrémité de leurs chaînes se termine par une unité de glucose (**Figure 1-12**) [110].

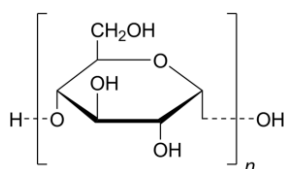


**Figure 1-12** Structure des inulines

Les inulines sont peu solubles dans l'eau et cette solubilité dépend principalement de la distribution de longueur des chaînes. Elle augmente lorsque la longueur des chaînes diminue et inversement. En raison de leur relativement faible longueur de chaîne, les inulines ne font pas partie de la famille des hydrocolloïdes, contrairement aux alginate et aux pectines. La formation de gels d'inuline est donc différente. Elle se produit à des concentrations d'inuline supérieures à 15% en chauffant puis en abaissant la température et selon une structure proche de celle de certains amidons [111]. Les inulines possèdent des propriétés nutritionnelles très intéressantes. N'étant pas digérées par les enzymes présentes dans l'estomac et le petit intestin, elles possèdent des activités contre l'obstruction intestinale, de réduction du pH du contenu du grand intestin et de diminution du taux de cholestérol et de triglycérides dans le sang. De plus, elles présentent un indice glycémique nul, ce qui signifie que leur ingestion n'induit pas d'augmentation des niveaux de glucose et d'insuline dans le sang. Enfin, les inulines possèdent des propriétés prébiotiques en servant de substrat aux bactéries coliques.

## e) Maltodextrines

Les maltodextrines sont des polysaccharides possédant un pouvoir sucrant très faible et sont donc couramment utilisées par les industries agroalimentaire et pharmaceutique comme support, agent de charge ou excipient. Ces polysaccharides sont obtenus par hydrolyse chimique ou enzymatique partielle d'amidon. L'utilisation d'acide chlorhydrique pour l'hydrolyse de l'amidon conduit à l'obtention de sirops de maltodextrine à l'aspect trouble. Pour pallier cette réaction, les hydrolyses acides sont souvent suivies d'une hydrolyse enzymatique par l'ajout d' $\alpha$ -amylases. Cette seconde étape permet également d'obtenir une plus grande population de taille de chaînes de maltodextrines. Une fois l'inactivation des enzymes effectuée, le sirop est filtré, purifié et concentré par évaporation [112]. La structure finale est constituée d'un enchainement linéaire d'unités de D-glucose reliées par des liaisons  $\alpha$ -(1,4) et possèdent un « dextrose équivalent » (D.E.) inférieur à 20 (**Figure 1-13**).



**Figure 1-13** Structure des maltodextrines

Ces macromolécules possèdent des propriétés physico-chimiques proches de celles des inulines. Leur solubilité dans les solutions aqueuses est également inversement proportionnelle à la longueur de leurs chaînes. Elles ont la capacité à former des gels thermoréversibles pour des concentrations supérieures à 12% et une température de refroidissement inférieure à 40°C [113].

## I.2.2.3. Lipides

L'utilisation de lipides en tant que matériaux d'enrobage pour la microencapsulation est récente. Les systèmes constitués de matières actives protégées par des matrices lipidiques sont appelés liposomes. Les liposomes sont définis comme des structures fermées dont la bicouche continue est constituée principalement de lipides et/ou phospholipides. Cette bicouche peut être simple ou multiple selon l'utilisation et renferme un cœur pouvant contenir des matières actives hydrophiles, hydrophobes ou amphiphiles. Les phospholipides et les AG sont les classes de lipides les plus utilisées comme matériaux enrobants hydrophobes. On peut également citer le glycérol et les cires. Le principal avantage de l'utilisation de ces systèmes est leur très bonne affinité avec les membranes cellulaires permettant d'améliorer la biodisponibilité de la matière active encapsulée [49,114,115].

### I.2.3. Microencapsulation de matières actives hydrophobes

Des matières actives de différentes natures peuvent être protégées par des procédés de microencapsulation. Dans cette partie, seule l'encapsulation de matières actives hydrophobes sera développée.

#### I.2.3.1. Formulation des émulsions

La production de ce type de système nécessite couramment la formulation d'émulsions. Une émulsion est définie comme un mélange d'au moins deux phases immiscibles, dont l'une est dispersée sous forme de gouttelettes dans l'autre et dont le temps de stabilité est plus au moins long. On distingue deux types d'émulsion :

- Les émulsions « huile dans eau » (H/E), également appelées émulsions directes, où la phase apolaire est dispersée dans la phase polaire ;
- Les émulsions « eau dans huile » (E/H), également appelées émulsions inverses, où la phase polaire est dispersée dans la phase apolaire [116].

##### I.2.3.1.1. Constituants des émulsions

L'instabilité des émulsions provient d'une insuffisance d'interactions à l'interface entre le liquide polaire et le liquide apolaire [117]. La phase aqueuse ne peut pas former suffisamment d'interaction avec la phase grasse.

Dans une émulsion, la phase polaire est généralement une phase aqueuse. La phase apolaire, quant à elle, peut-être une huile minérale, un solvant apolaire, un AG, un composé estérifié, une huile silicone ou une cire, par exemple. Ces deux phases sont mélangées à l'aide d'un dispositif capable de fournir une haute énergie nécessaire à la dispersion de la phase discontinue dans la phase continue sous forme de gouttelettes. La formation de ces gouttelettes s'accompagne donc d'une augmentation de la surface interfaciale entre les deux liquides, rendant ce phénomène thermodynamiquement défavorable [118]. Afin d'améliorer la stabilité thermodynamique de ces émulsions, l'utilisation d'agents émulsionnants est nécessaire. Ils agissent en abaissant la tension interfaciale ainsi qu'en formant un film viscoélastique à la surface des gouttelettes. Ces propriétés proviennent de leur nature amphiphile, c'est-à-dire de la coexistence de domaines hydrophiles et hydrophobes, leur permettant de s'adsorber aux interfaces eau/huile. En effet, c'est dans cette configuration que l'éloignement des domaines hydrophiles et hydrophobes est maximal et donc que la molécule est dans son état énergétique le plus faible, réduisant ainsi la tension de surface du système. De plus, cette configuration permet de former un film viscoélastique autour des gouttelettes de phase dispersée, entraînant une cohésion avec la phase dispersante et réduisant ainsi les phénomènes de déstabilisation (voir **section I.2.3.1.3**). Les agents émulsionnants peuvent être de différentes natures (**Figure 1-14**).

- **Tensioactifs**

Les tensioactifs, également appelés agents de surface, sont des molécules de petite taille possédant une partie polaire et une partie apolaire. La partie polaire, ou tête polaire, est

constituée d'un ou plusieurs groupement(s) polaire(s), pouvant être sous forme ionique ou non ionique. La partie lipophile est constituée d'une ou plusieurs chaîne(s) hydrocarbonée(s) aliphatique(s), pouvant prendre différentes formes (linéaire, ramifiée, aromatique) [119].

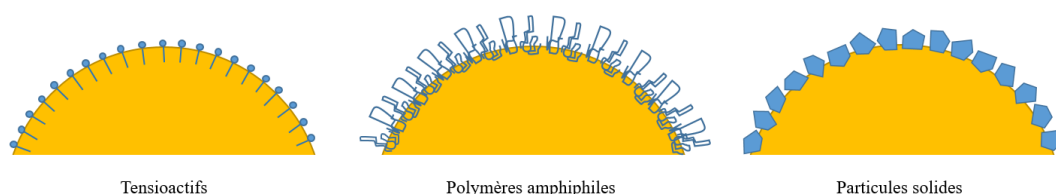
- **Polymères amphiphiles**

Les polymères sont des macromolécules de haut poids moléculaire constituées d'un enchainement de sous-unités, également appelées monomères. Ces monomères peuvent s'enchaîner de façon linéaire ou bien sous forme de ramifications, et peuvent adopter une configuration tridimensionnelle [120]. Certains peuvent s'adsorber aux interfaces. C'est le cas, par exemple, des copolymères amphiphiles formés par l'association de polymères aux propriétés antagonistes (hydrophobe et hydrophile), des protéines, ainsi que de certains dérivés polysaccharidiques.

- **Particules solides**

Les émulsions stabilisées par des particules solides sont appelées émulsions de Pickering [121]. L'utilisation de ces particules permet de former une barrière stérique par leur adsorption à l'interface huile-eau [122]. La capacité des particules à stabiliser une émulsion dépend donc principalement de leur mouillabilité à l'interface. Ces particules peuvent être de type inorganique (silice, argile, hydroxyapatite) ou organique (chitosane, cyclodextrine) [123].

Dans le cas de la formulation d'émulsions, et plus particulièrement de celles destinées à être utilisées pour l'encapsulation de principes actifs, l'utilisation d'additifs est courante. Il s'agit d'agents antimicrobiens qui vont limiter le développement de microorganismes ou encore d'agents réticulants qui vont renforcer le réseau polymérique autour de la matière active [116]. Certains polysaccharides peuvent également être utilisés comme additifs pour stabiliser les émulsions. En effet, leur ajout permet d'augmenter la viscosité de la phase aqueuse et donc de limiter les phénomènes de déstabilisation [117].



**Figure 1-14** Interfaces H/E stabilisées par différents types d'agents émulsionnants

#### I.2.3.1.2. Techniques d'homogénéisation

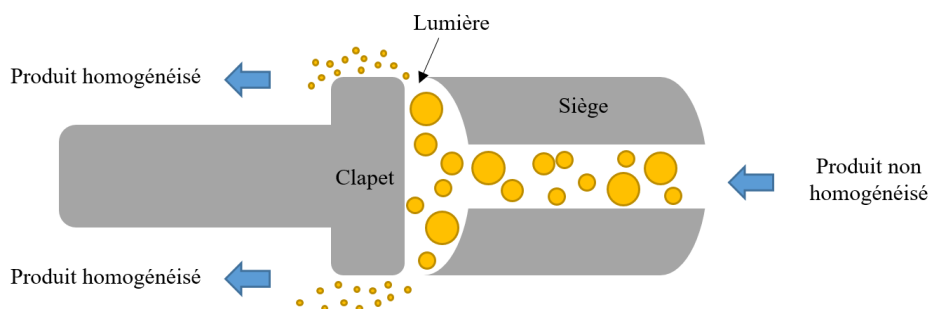
Comme indiqué précédemment, l'utilisation d'un dispositif capable de fournir une haute énergie est nécessaire à la dispersion de la phase discontinue dans la phase continue sous forme de gouttelettes. Il en existe de nombreux, listés ci-dessous.

- **Agitateurs mécaniques**

Les agitateurs mécaniques se divisent en disperseurs et systèmes rotor-stator. Pour les disperseurs, le mélange des deux phases s'effectue par des phénomènes de cisaillement et de recirculation des gouttelettes. Les mobiles utilisés pour réaliser ces mouvements sont les turbines, les hélices, les ancres ou encore les dilacérateurs. Les émulsions générées par ces disperseurs présentent une distribution de tailles relativement étroite avec une taille moyenne de gouttelettes relativement élevée, de l'ordre de 10 à 100  $\mu\text{m}$ . Les systèmes rotor-stator sont constitués d'un stator comportant des orifices ou fentes et d'un rotor capable de tourner à grande vitesse. Le produit est aspiré par la tête de travail puis expulsé après avoir traversé les lames du stator et du rotor. Il subit alors un très fort cisaillement du fait du faible entrefer entre le stator et le rotor et de la grande vitesse de rotation du rotor [124].

- **Homogénéisateur à haute pression**

L'homogénéisation à haute pression est un traitement physique au cours duquel le produit est projeté à forte pression, de 5 à 2000 bars, sur une tête d'homogénéisation à géométrie particulière. Cette opération permet ainsi de réduire la taille des gouttelettes de la phase dispersée. Le principe de l'homogénéisation à haute pression est présenté à la **Figure 1-15**. La tête de l'homogénéisateur à haute pression est constituée de trois parties : le siège, le clapet et l'anneau de choc. Le produit à homogénéiser entre le long de l'axe du siège à partir duquel il sera rejeté et laminé dans l'espace qui sépare le clapet du siège. Il est alors projeté sur l'anneau de choc puis refoulé à l'extérieur. Dans le cas des émulsions, la taille des éléments dispersés est de l'ordre de 0,1 à 5  $\mu\text{m}$  en fonction de la pression appliquée et de la nature de l'émulsion.



**Figure 1-15** Représentation du principe de fonctionnement d'un homogénéisateur à haute pression

- **Mélangeurs statiques**

Ce dispositif permet de mélanger des fluides en continu. L'appareil est constitué d'une succession d'éléments fixes placés à l'intérieur d'un tube. La structure particulière de ces éléments permet de diviser le flux puis de le recombinaire. Les fluides sont mis en circulation à l'aide de pompes puis mis en contact grâce au mouvement radial engendré. Les émulsions obtenues sont relativement fines, avec une taille de gouttelettes de l'ordre du micromètre.

- **Dispositif ultrasonore**

Les ultrasons sont produits par la vibration d'une surface plane à une fréquence particulière. En présence de ces ondes sonores, des instabilités à l'interface liquide-liquide vont se produire et conduire à la formation de gouttelettes. De plus, des bulles de cavitation seront formées et subiront des cycles de contractions-dilations permettant ainsi de casser ces gouttelettes et d'affiner leur taille au fur et à mesure du processus.

- **Dispositifs à membranes**

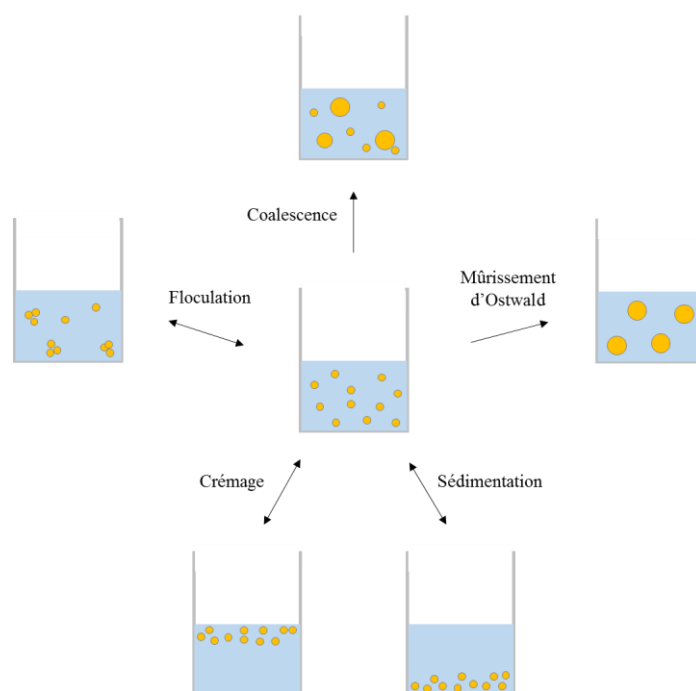
Il existe de nombreux procédés d'émulsification par membrane. Le plus courant est le procédé à courants croisés. La phase dispersée est mise en contact avec la phase continue d'une manière forcée, en la faisant passer au travers d'une membrane de microfiltration ou d'ultrafiltration. Les gouttelettes formées à la sortie de la membrane seront alors détachées par écoulement de la phase continue et stabilisées par des tensioactifs présents dans cette phase.

- **Autres**

D'autres procédés d'émulsification existent mais ne seront pas détaillés dans ce document. Il s'agit de l'émulsification par secousses, par jet ou injection, par condensation, par dispersion électrique ou encore de l'émulsification spontanée [124].

#### I.2.3.1.3. Mécanismes de déstabilisation

Les émulsions sont des systèmes qui ne sont pas dans leur état thermodynamique stable. Au cours du temps, une émulsion évolue vers la démixtion des phases polaire et apolaire non miscibles. Les principaux mécanismes de déstabilisation (**Figure 1-16**) sont décrits ci-dessous.



**Figure 1-16** Représentation schématique des mécanismes de déstabilisation d'émulsion

- **Mûrissement d'Ostwald**

Selon la technique d'homogénéisation utilisée pour produire l'émulsion, la distribution de tailles des gouttelettes peut être plus au moins monodisperse. Si l'émulsion est constituée de gouttelettes de différentes tailles, il existera une différence de potentiel chimique à l'intérieur de ces gouttelettes, créant ainsi une différence de pression, appelée surpression de Laplace. Pour atteindre l'équilibre thermodynamique, le système cherchera à diminuer cette différence de pression par un flux de matière, des petites gouttelettes vers les plus grosses par un phénomène appelé mûrissement d'Ostwald [116,125].

- **Floculation**

Le phénomène de floculation correspond au regroupement de gouttelettes pour former un réseau. Ces gouttelettes étant animées d'un mouvement brownien, des chocs peuvent avoir lieu. Si les forces d'adhésion surpassent l'agitation thermique, des associations peuvent se produire. On distingue quatre types de floculation :

- Floculation par interaction de Lifshitz-Van der Waals [126] ;
- Floculation par déplétion induite par la présence de micelles ou de polymères dans la phase continue [127] ;
- Floculation par pontage provoquée par l'adsorption de polymères de hauts poids moléculaires [128] ;
- Floculation par coalescence partielle ayant lieu pour des émulsions H/E dont les gouttelettes de phase grasse sont partiellement cristallisées (présence de cires, par exemple) [129].

- **Sédimentation et crémage**

Ces deux phénomènes sont regroupés dans la même partie car ils dépendent tous les deux du même facteur, le champ de pesanteur terrestre. Deux cas de figure peuvent se présenter:

- Les gouttelettes sont plus denses que la phase continue. Elles auront donc tendance à s'accumuler dans la partie inférieure du récipient pour former un culot de sédimentation. Ce phénomène de sédimentation se produit pour les émulsions E/H ;
- Les gouttelettes de phase dispersée sont moins denses que le milieu dispersant. L'effet de la pesanteur induira donc une accumulation dans la partie supérieure pour former une collerette de crémage. Le phénomène de crémage est visible dans les émulsions H/E.

Ces phénomènes de déstabilisation peuvent être réversibles au moyen d'une agitation douce s'ils n'ont pas encore atteint le stade de floculation qui compliquera la redispersion.

La vitesse de déplacement des gouttelettes étant dépendante de la viscosité de la phase continue, l'utilisation d'un agent de texture pourra ralentir ces phénomènes. De plus, la taille des gouttelettes étant proportionnelle à leur vitesse de migration, une émulsion comportant des éléments dispersés de plus petites tailles sera moins sensible à ces phénomènes.

- **Coalescence**

La coalescence est considérée comme le stade de déstabilisation ultime des émulsions. Son mécanisme est l'inverse de l'étape de dispersion. En effet, des gouttelettes vont fusionner

progressivement, aboutissant à un retour au système diphasique initial. Le phénomène de coalescence se produit en trois étapes successives [116] :

- Sous l'effet de différents facteurs (mouvement brownien, action de la pesanteur), des gouttelettes vont se rapprocher. Un film mince va alors se créer entre elles ;
- En réponse à une succion venue des bords du film et à la pression exercée sur les gouttelettes, le film va s'amincir progressivement ;
- Afin de minimiser la tension interfaciale, une relaxation de forme va s'opérer sur les gouttelettes qui finiront par fusionner en une gouttelette de plus grande taille par rupture du film.

Dans le cadre de cette étude, une étape de formulation d'émulsion a généralement été nécessaire à la production des particules et l'encapsulation des huiles végétales riches en AGPI. Ainsi, la prochaine partie de ce manuscrit décrit différents procédés permettant d'encapsuler des matières actives hydrophobes à partir d'émulsions ou d'autres types de système.

#### I.2.3.2. Procédés d'encapsulation

Il existe de nombreuses classifications des technologies de microencapsulation [46]. Elles peuvent être basées sur la nature du solvant utilisé, le coût énergétique ou encore les applications industrielles. Une des classifications les plus courantes consiste à diviser ces technologies selon la nature du procédé mis en jeu (**Tableau 1-3**).

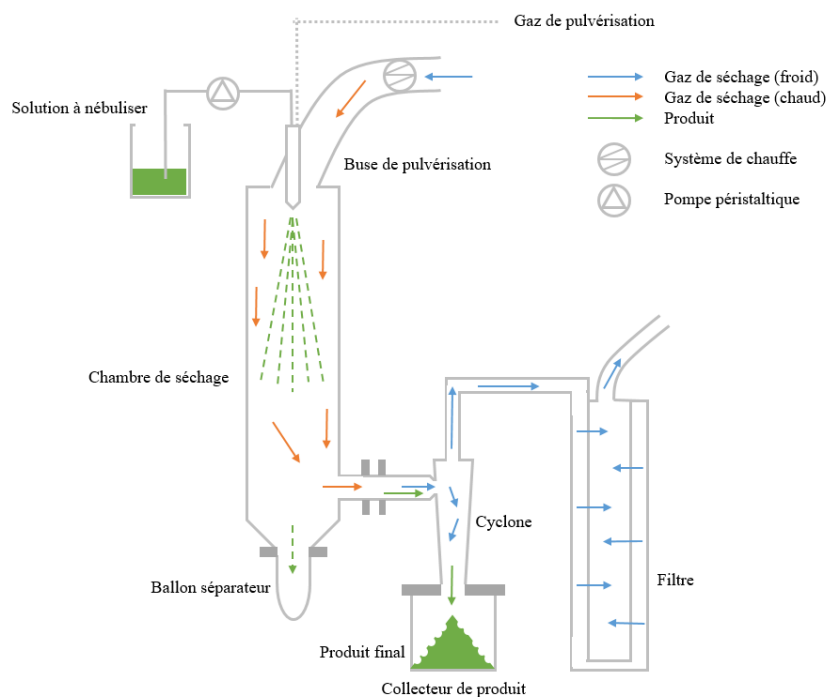
En raison de leur utilisation pour ce projet, le séchage par atomisation et l'encapsulation par gélification ionotropique seront détaillés de façon plus approfondie. D'autres procédés de microencapsulation couramment utilisés pour l'encapsulation de matières actives hydrophobes seront ensuite décrits de façon plus succincte.

**Tableau 1-3** Classification des procédés de microencapsulation

| Procédés physico-chimiques        | Procédés physico-mécaniques            | Procédés chimiques                |
|-----------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------|
| Coacervation (simple ou complexe) | Séchage par atomisation (spray-drying) | Polymérisation interfaciale       |
| Evaporation/extraction de solvant | Lyophilisation (freeze-drying)         | Polymérisation en milieu dispersé |
| Solidification thermique          | Enrobage en lit fluidisé               |                                   |
| Gélification de gouttes           | (Co) Extrusion                         |                                   |
|                                   | Utilisation de fluides supercritiques  |                                   |
|                                   | Déposition couche par couche           |                                   |
|                                   | Déposition par disque rotatif          |                                   |

## I.2.3.2.1. Séchage par atomisation (spray-drying)

Le séchage par atomisation, également appelé spray-drying, est un procédé continu permettant de transformer une formulation liquide initiale en une forme microparticulaire sèche. Il s'agit du procédé de microencapsulation le plus utilisé par l'industrie alimentaire en raison de sa simplicité, de son faible coût, de sa maîtrise industrielle et de son efficacité [46,130,131] (**Figure 1-17**).



**Figure 1-17** Représentation schématique d'un appareillage de séchage par atomisation

## a) Etapes du procédé

Le procédé de séchage par atomisation se divise en 4 étapes séquentielles : l'atomisation de la formulation liquide, la mise en contact de l'aérosol et du gaz de séchage, l'évaporation du solvant et la séparation du produit final.

## 1) Atomisation de la solution

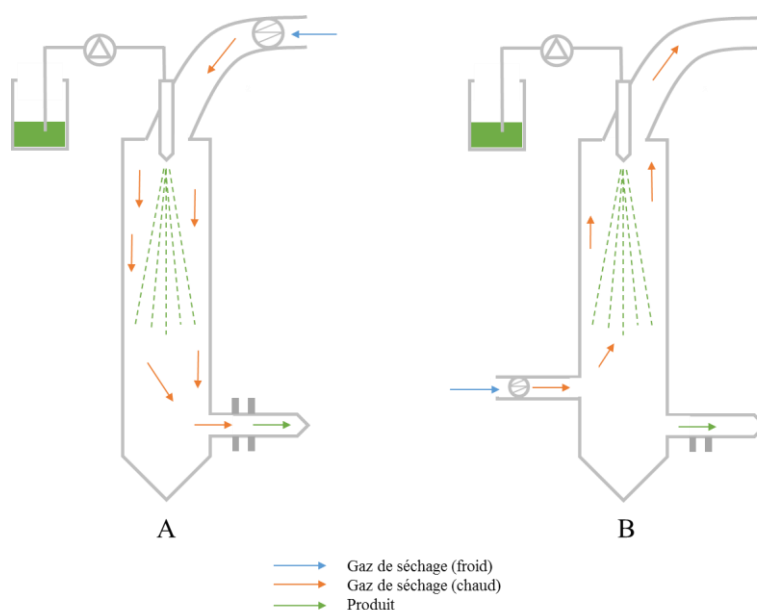
L'atomisation est la première transformation que subit la solution durant ce procédé. Cette étape permet de transformer la formulation liquide initiale en un aérosol. Ce phénomène va entraîner l'augmentation de la surface de contact entre le solvant et le milieu de séchage, diminuant ainsi la résistance au transfert du solvant des gouttes vers le milieu environnant. L'atomisation est une étape cruciale de ce procédé car elle impacte le volume, la distribution de tailles des gouttes et donc la forme et la taille des particules et les propriétés du produit final. L'appareillage comporte une chambre de dessiccation ou chambre de séchage, au sommet de laquelle la formulation liquide initiale est nébulisée à l'aide d'une buse de

pulvérisation. Le type de buse sélectionnée va impacter la qualité du produit final, l'uniformité des gouttes et l'homogénéité du spray [130]. Il existe différents systèmes de pulvérisation pour le séchage par atomisation : buse sous pression, buse de pulvérisation bi-fluide, disque tournant et buse ultrasonore.

Les pulvérisations réalisées pour les essais laboratoire de cette étude ont été effectuées sur une buse bi-fluide. Le principe de fonctionnement de ce type de buse repose sur l'impact d'un gaz de séchage à vitesse accélérée sur une formulation liquide. L'application d'un gaz comprimé entraîne un phénomène de cisaillement, transformant le liquide en fines gouttes. La taille moyenne des gouttes est directement proportionnelle au débit de pompage et à la viscosité et inversement proportionnelle à la pression d'atomisation [132].

## 2) Mise en contact de l'aérosol et du gaz de séchage

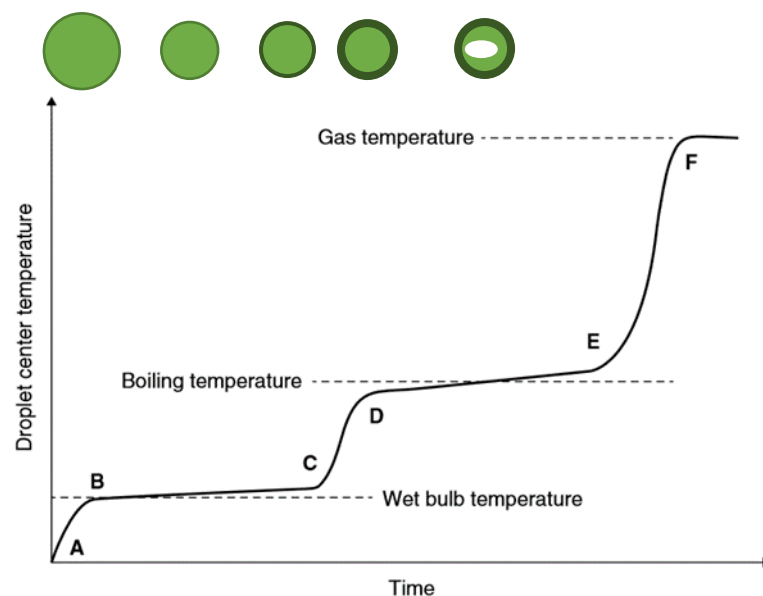
Une fois le liquide transformé en fines gouttes, l'étape suivante consiste à mettre en contact l'aérosol nouvellement formé avec un gaz chauffé. Cette étape va induire l'évaporation du solvant à la surface des gouttes de façon homogène. Ici, le paramètre critique est le maintien d'un flux de gaz homogène dans toute la chambre de séchage. Généralement, les gouttes entrent en contact avec le gaz dans la chambre de séchage, que ce soit pour une configuration à co-courant ou à contre-courant (**Figure 1-18**). Dans le cas de la configuration co-courant, la solution à sécher et le gaz arrivent dans la chambre de séchage selon la même direction. De cette manière, la température des gouttes reste faible en raison d'une vitesse d'évaporation élevée. Ce système est particulièrement adapté aux produits sensibles aux augmentations de température. En ce qui concerne la configuration contre-courant, la solution et le gaz sont introduits aux extrémités opposées de la chambre de séchage. La température du produit sera donc plus élevée. Cette configuration est donc plus adaptée aux matières actives possédant une bonne résistance thermique.



**Figure 1-18** Représentation schématique des configurations co-courant (A) et contre-courant (B)

## 3) Evaporation du solvant

Cette étape peut être divisée en plusieurs phases, caractérisées par la température et la morphologie des gouttes d'aérosol lors du séchage (**Figure 1-19**). Initialement, lorsque la goutte est soumise à un flux de gaz chaud, une évaporation rapide du solvant se produit. La température de la goutte passe donc de sa température initiale ( $T_0$ ) à une température d'évaporation à l'équilibre. Durant cette période, la cinétique d'évaporation du solvant est constante (**AB**). Ensuite, la surface de la goutte devient saturée en eau, stabilisant ainsi sa température. Cette température correspond à la température de bulbe humide, ou « wet bulb temperature » ( $T_{wb}$ ) (**BC**). Dans ce cas, la  $T_{wb}$  peut être définie comme la température du gaz de séchage lorsqu'il est saturé en vapeur de liquide [133]. C'est durant cette phase que la taille de la goutte va diminuer. Lorsque la matière sèche contenue dans la goutte atteint une concentration supérieure à la concentration saturante, elle forme une croûte sèche à la surface de la goutte. Une fois la croûte formée, la cinétique d'évaporation devient dépendante de la cinétique de diffusion de la vapeur de solvant au travers de la croûte. C'est durant cette étape que la particule recommence à chauffer (**CD**). Cependant, durant cette étape, la goutte se trouve au niveau le plus froid de la chambre de séchage, proche du capteur de température de sortie. Par conséquent, les gouttes ne seront jamais chauffées au-delà de la température de sortie. Durant cette phase, un phénomène peut se produire : il s'agit du développement de bulles d'air au sein de la goutte. En effet, lorsque la pression partielle de vapeur au centre de la goutte excède la pression ambiante, des bulles d'air peuvent se former. Enfin, lorsque la quantité restante de solvant est très faible, l'énergie nécessaire à son évaporation devient très importante, entraînant ainsi la stabilisation de la température des particules (**DE**). Une fois la totalité du solvant évaporé, la température de la particule augmentera jusqu'à atteindre la température du gaz de séchage (**EF**).



**Figure 1-19** Diagramme représentant les variations de température d'une goutte et ses représentations schématiques durant les différentes phases de séchage [91]

#### 4) Récupération du produit final

Lorsque la conversion des gouttes en particules est effectuée, il est nécessaire de récupérer le produit final. Pour cela, les particules sèches doivent être séparées du gaz de séchage. A l'échelle industrielle, cette étape s'effectue en deux temps. La séparation primaire consiste à récupérer les particules les plus denses à la base de la chambre de séchage ayant une forme conique prévue à cet effet [131]. Lors de la séparation secondaire, les particules les plus fines sont transférées vers des équipements secondaires. Les collecteurs de particules sèches les plus courants sont le cyclone et le filtre à manches.

Comme illustré sur la **Figure 1-17**, le cyclone est composé d'un tronc cylindrique dans sa partie supérieure et d'une partie conique à sa base. Dans un premier temps, le flux d'air provenant de la chambre de séchage et contenant les particules sèches arrive de façon tangentielle à l'entrée du cyclone. En descendant dans le cyclone, un premier vortex se forme. Sa haute vitesse crée une force centrifuge sur les particules entraînant leur séparation du flux de gaz. Lorsque le gaz arrive au niveau de la partie conique du cyclone, un nouveau vortex se crée dans la direction opposée au premier. Ceci a pour conséquence l'expulsion du gaz humide et des plus fines particules vers la partie supérieure du cyclone, en direction du filtre, tandis que les particules tomberont à la base de la partie conique.

Le filtre à manches est constitué d'une structure de base métallique dont la morphologie est étudiée pour effectuer des opérations continues et un nettoyage automatique. Il est recouvert d'un filtre en tissu. Le flux chargé en particules entre dans le dispositif par un phénomène d'aspiration ou de pression. En passant par le filtre en tissu, les particules sont retenues à sa surface. Le gaz seul est alors expulsé à la sortie du filtre. Les particules accumulées sont alors récupérées par des pulsions d'air comprimé à contre-courant [134].

##### b) Propriétés du produit final

Dans le cas du séchage par atomisation, la qualité du produit final, notamment son taux d'humidité, sa distribution de tailles et sa morphologie, dépendra très fortement des conditions opératoires appliquées. Les meilleures conditions de séchage seront celles permettant d'évaporer efficacement le solvant sans détériorer la matière active et facilitant la pulvérisation [135]. Les différents paramètres du procédé et leur influence sur le produit final sont listés ci-dessous :

- **Pression d'atomisation** lors de la transformation de la formulation liquide en aérosol : pour des conditions d'atomisation similaires, une augmentation de la pression entraînera une diminution de la taille des gouttes [136] ;
- **Débit du flux d'alimentation** de la solution à nébuliser : pour des conditions d'atomisation similaires, une augmentation du débit de pompage entraînera une augmentation de la taille des gouttes ;
- **Température d'entrée** du gaz de séchage : la température de séchage doit être suffisamment haute pour faciliter la formation de la croûte et la bonne évaporation du solvant mais pas trop élevée afin d'éviter la dégradation de la matière active pouvant être thermosensible ;

- **Débit du gaz de séchage** : un débit élevé améliorera l'efficacité de séparation du produit final dans le cyclone mais aura aussi pour conséquence d'augmenter le mouvement des particules dans la chambre de séchage et donc de diminuer le temps d'interaction avec le gaz.

La taille moyenne des microparticules obtenues en spray-drying est typiquement comprise entre 1 et 50  $\mu\text{m}$ , pour un séchage à co-courant. Le séchage à contre-courant permet d'obtenir des microparticules de taille plus élevée, comprise entre 50 et 200  $\mu\text{m}$ , correspondant à des agrégats de plus petites particules. Leur morphologie est de type microsphère, de forme généralement sphérique et pouvant présenter des irrégularités par la présence de défauts ou de déformations. La distribution de tailles est large [137].

Le procédé de séchage par atomisation est facilement industrialisable, malgré la nécessité de prendre en compte certains facteurs de transposition d'échelle du laboratoire à la production. Il s'agit de facteurs liés à la formulation tels que la concentration en matière sèche ou la viscosité de la formulation initiale, mais également des paramètres du procédé tels que la température d'entrée d'air ou le débit de pompage, passant de quelques millilitres par minute à l'échelle du laboratoire à plusieurs litres par minute pour la production industrielle. Ces facteurs vont avoir une influence sur les caractéristiques des microparticules (morphologie, distribution de tailles, taux d'encapsulation) mais également sur le rendement de production [46]. Ce procédé est également rentable. En effet, le rendement de production (rapport entre la masse de microparticules recueillies et la masse de matière sèche dans la formulation initiale) est généralement élevé, les principales pertes provenant de l'adhésion des microparticules sur les parois de l'appareillage. De plus, en raison de l'évaporation rapide du solvant, la température des gouttes d'aérosol reste nettement inférieure à la température d'entrée d'air. Pour cette raison, cette technique peut aussi bien s'appliquer à l'encapsulation de matières actives thermostables qu'à l'encapsulation de matières thermolabiles. Ainsi, le séchage par atomisation est très utilisé pour la production de poudres alimentaires.

- c) Application à l'encapsulation de matières actives hydrophobes destinées à des applications alimentaires

- **Huiles essentielles**

Certaines huiles essentielles présentent des propriétés gustatives, antioxydantes et antimicrobiennes intéressantes. L'encapsulation de ces composés volatiles les protège de l'oxydation, de la lumière et de la chaleur. Le séchage par atomisation est le procédé le plus utilisé pour l'encapsulation de ces matières actives [138]. En effet, son utilisation a notamment permis d'obtenir des huiles essentielles de romarin [139], d'origan [140] ou de gingembre [141] sous forme de microparticules.

- **Vitamines**

L'encapsulation de ces composés permet de s'affranchir de facteurs limitants liés à leur solubilité, leur stabilité et leur biodisponibilité. Le séchage par atomisation a notamment été utilisé pour encapsuler de la vitamine B12 dans des matrices de chitosane et d'alginate de sodium. Des laits en poudre enrichis en vitamines ont également été produits en utilisant des

matières enrobantes composées d'un mélange de gomme arabique, de maltodextrine et d'amidon modifié [142].

- **Huiles riches en AGPI**

Les huiles riches en AGPI possèdent des qualités nutritionnelles très intéressantes (voir **section I.1.1**), elles sont donc très prisées par les industries alimentaire et pharmaceutique. Cependant, la nature des AG qui les constituent les rendent sensibles à l'oxydation et aux dégradations thermiques. Dans ce contexte, des poudres contenant des huiles riches en AGPI et obtenues par séchage par atomisation sont apparues sur le marché (**Tableau 1-4**).

**Tableau 1-4** Produits commerciaux obtenus par séchage par atomisation d'huiles riches en AGPI

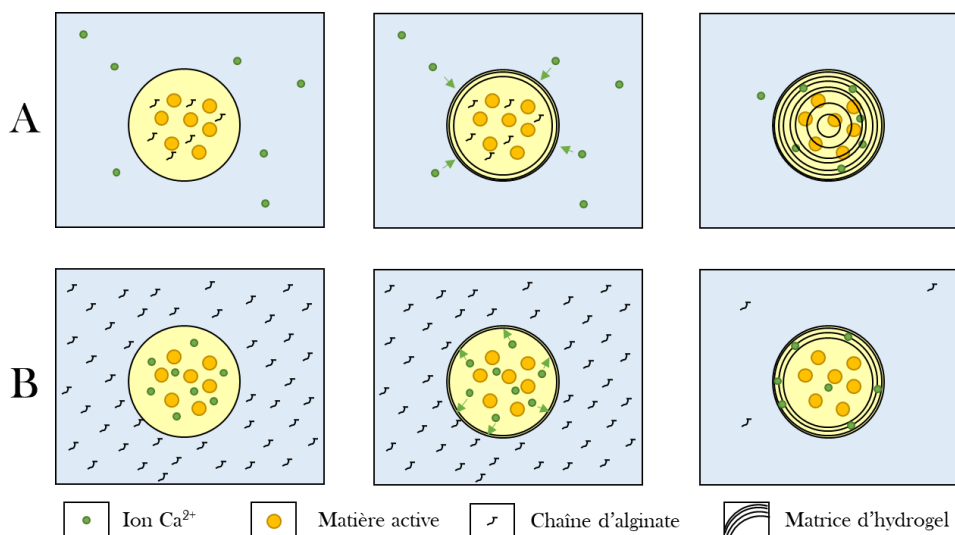
| Société                      | Produit                  | Matière active                                     | Matrice enrobante                                                | Source                |
|------------------------------|--------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Arjuna Natural Ltd           | Omega-3 Powder ZP        | Huile de poisson                                   | -                                                                | arjunanatural.com     |
| BASF                         | Dry n-3® omega-3 powders | Huile de poisson                                   | Sucrose, amidon                                                  | products.basf.com     |
| DSM                          | MEG-3®                   | Huile de poisson                                   | Amidon de maïs, gélatine, sucrose                                | meg-3.com             |
| Evonik                       | AvailOm®                 | -                                                  | -                                                                | healthcare.evonik.com |
| Novotech Nutraceuticals Inc. | NovoOmega®               | Huile de poisson<br>Huile d'algues<br>Huile de lin | -                                                                | novotechnutra.com     |
| Stepan - Lipid nutrition     | Clarinol®                | Huile de carthame                                  | Sirop de glucose, caséinate                                      | stepan.com            |
| Socius Ingredients LLC       | Nu-Mega Driphorm®        | Huile de poisson                                   | Produits de la réaction de Maillard                              | sociusingredients.com |
| The Wright Group             | Supercoat Omega-3        | Huile de poisson                                   | Amidon modifié, sirop de maïs, protéines de lait, gomme arabique | thewrightgroup.net    |

D'autres procédés d'encapsulation permettent également de protéger des matières actives lipophiles sensibles.

#### I.2.3.2.2. Encapsulation par gélification ionotropique

L'encapsulation par gélification ionotropique consiste à utiliser un composé capable de former des hydrogels en présence d'ions divalents pour former la matière enrobante. Le procédé le plus courant est la gélification par l'alginate de sodium. En effet, l'alginate de sodium est couramment utilisé pour sa bonne résistance mécanique et la stabilité des gels qu'elle forme (voir **section I.2.2.2** sur les alginates). Dans ce cas, des ions divalents sont utilisés (il s'agit généralement d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  en raison de leur non-toxicité comparativement aux autres ions divalents) afin de s'associer aux blocs G de l'alginate de sodium pour former une structure de type « boîte à œufs » (« egg-box »). La production de particules par gélification d'alginate de sodium comprend généralement deux grandes étapes. La première étape consiste

à disperser la solution contenant l'alginate de sodium ou les ions  $\text{Ca}^{2+}$ . Il existe une multitude de techniques permettant d'effectuer ces dispersions. La deuxième étape est la gélification de l'alginate de sodium. Cette gélification peut se produire selon quatre mécanismes principaux qui sont les gélifications externe, inverse, interne, et interfaciale. Dans le cadre de ce projet, les gélifications externe et inverse ont été utilisées et seront décrites dans cette partie (**Figure 1-20**).



**Figure 1-20** Mécanismes de gélification externe (A) et inverse (B) pour la fabrication de billes d'alginate

La gélification externe est le mécanisme le plus couramment utilisé (**A**). Dans ce cas, des gouttes contenant la matière active et la solution d'alginate sont plongées dans un bain contenant des ions  $\text{Ca}^{2+}$ . Ces ions vont alors réticuler avec les chaînes d'alginate situées en périphérie. Cette première étape va créer une membrane semi-solide enrobant un cœur encore liquide. Les ions  $\text{Ca}^{2+}$  vont ensuite diffuser à travers les interstices pour initier la gélification à l'intérieur de la goutte. Le produit final obtenu se présentera sous la forme d'une bille d'alginate à l'intérieur de laquelle la matière active sera enrobée de façon aléatoire entre les chaînes réticulées d'alginate.

Dans le cas de la gélification inverse (**B**), une solution contenant la matière active et les ions  $\text{Ca}^{2+}$  est plongée au goutte-à-goutte dans un bain de solution d'alginate. Lors du contact de la goutte avec le bain, les ions  $\text{Ca}^{2+}$  vont diffuser en périphérie de la goutte, et réticuler avec les chaînes d'alginate situées à l'interface entre la goutte et le bain. Le procédé se poursuit jusqu'à épuisement du stock d'ions divalents. Les billes obtenues sont ainsi constituées d'un cœur liquide entouré d'une membrane semi-perméable d'hydrogel d'alginate [143].

En fonction du procédé utilisé, les billes d'alginate pourront prendre différentes morphologies. Les morphologies les plus classiques sont les structures de type « sphère », possédant un diamètre supérieur à 1 mm. On parlera de capsules lorsqu'elles sont constituées d'une membrane continue d'alginate réticulé entourant un cœur liquide contenant la matière active. Ce type de morphologie est notamment obtenu par co-extrusion (voir

**section I.2.3.2.5).** La taille moyenne des billes est déterminée par le diamètre de l'orifice au travers duquel les gouttes sont extrudées, de la viscosité et de la concentration de la solution d'alginate. L'utilisation d'une buse avec un large orifice et la formulation d'une solution visqueuse vont conduire à l'obtention de billes de grand diamètre [130]. Une augmentation de la concentration en alginate conduit à des billes de forme plus sphérique mais rend la préparation des solutions plus difficile en raison de l'augmentation du temps de solubilité [131]. La technique utilisée pour former les gouttes aura également une influence sur la taille de ces dernières. Par exemple, l'utilisation ou non d'un système permettant de rompre le flux de solution à réticuler, le débit de la pompe permettant d'introduire la solution dans la buse ou encore la distance entre l'orifice et le bain contenant les ions seront autant de paramètres à prendre en compte [78]. Le mécanisme de gélification d'alginate de sodium est utilisé dans de nombreux secteurs industriels pour l'encapsulation de cellules biologiques, de principes actifs pharmaceutiques, d'enzymes, de composés alimentaires, de composés volatils ou encore de catalyseurs [143].

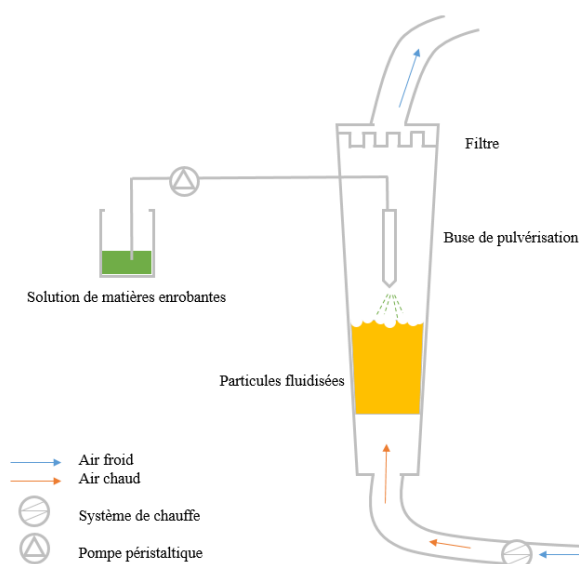
#### I.2.3.2.3. Lyophilisation (freeze-drying)

La lyophilisation est une opération de déshydratation à basse température qui consiste à éliminer, par sublimation, la majeure partie de l'eau contenue dans un produit initialement congelé [49]. Ce procédé est réalisé en trois grandes étapes. La première étape, appelée congélation, consiste à refroidir l'échantillon à faible température afin d'y former des cristaux de glace. L'enceinte dans laquelle se situe l'échantillon est ensuite mise sous vide et les cristaux sont sublimés en vapeur d'eau lors d'un séchage primaire [144]. Le reste d'eau emprisonné dans la matrice sera ensuite réduit par désorption lors du séchage secondaire. La lyophilisation est un procédé particulièrement adapté pour l'encapsulation de molécules thermosensibles et instables en solution aqueuse. Quelques études ont exploré l'utilisation de la lyophilisation pour l'encapsulation de composés riches en AGPI [145,146,147,148]. Généralement, les microparticules obtenues par lyophilisation sont plus poreuses que les produits issus du séchage par atomisation [146]. Cette structure poreuse est formée lors de la sublimation des cristaux de glace. A l'échelle industrielle, la limitation de ce procédé porte principalement sur ses coûts d'investissement et de fonctionnement. En effet, la durée de l'opération (de quelques heures à plusieurs jours), la mise sous vide, le fonctionnement discontinu et la descente en température sont autant de facteurs augmentant le coût du procédé [149]. A titre de comparaison, le coût de fonctionnement est en moyenne cinquante fois plus élevé que celui du séchage par atomisation [49].

#### I.2.3.2.4. Enrobage en lit fluidisé

Le procédé d'enrobage en lit fluidisé consiste à réaliser un enrobage continu sur la surface de particules afin de produire des microcapsules. Il s'applique majoritairement à l'encapsulation des matières actives présentes sous forme solide (granulés, cristaux). Des matières liquides peuvent néanmoins être incorporées par absorption sur des supports solides poreux. Le procédé se déroule de façon cyclique en trois temps. La poudre de matière active est d'abord fluidisée. La matière enrobante est alors pulvérisée sur cette poudre grâce à une buse de

pulvérisation soit par le haut (mode « top spray ») comme représenté à la **Figure 1-21**, soit par le bas (mode « bottom spray »), ou avec l'aide d'un disque rotationnel (« tangential spray »). Après contact entre la microparticule de matière active et la gouttelette de matière enrobante, cette dernière mouille et s'étale sur la microparticule. Enfin la poudre est séchée par évaporation du solvant afin de former un film continu autour de la matière active [150,151,152].



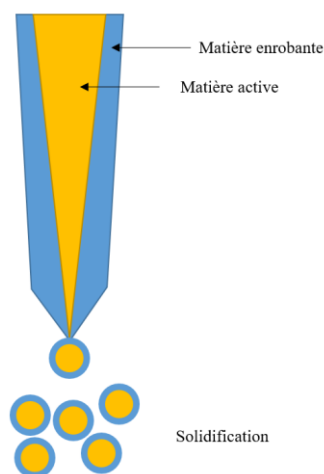
**Figure 1-21** Représentation schématique d'un appareil d'enrobage en lit fluidisé de type « top spray »

Les particules obtenues sont de type microcapsule. Il s'agit de structures réservoirs où la matière active est simplement recouverte d'une ou plusieurs couche(s) de matière enrobante. Procédé coûteux, l'enrobage en lit fluidisé est essentiellement utilisé pour la fabrication de produits à forte valeur ajoutée. Cependant, l'apparition récente de lits fluidisés à fonctionnement continu a permis de réduire les coûts de production [49]. Dans le secteur alimentaire, l'enrobage en lit fluidisé est couramment utilisé pour ajouter une couche d'enrobage supplémentaire ou entraîner une agglomération sur des matières actives préalablement microencapsulées par séchage par atomisation [153]. La technique d'enrobage en lit fluidisé présente deux limitations principales dues à la morphologie initiale des particules à enrober. Tout d'abord, la taille des particules doit être généralement supérieure à 100  $\mu\text{m}$  afin d'éviter leur agglomération lors de l'enrobage et la réduction du rendement par entraînement des fines particules dans le filtre. De plus, la distribution de tailles doit être étroite afin d'assurer un enrobage homogène [46].

#### I.2.3.2.5. Extrusion et co-extrusion

Le procédé d'extrusion consiste à disperser une matière active dans une substance matricielle puis à extruder sous haute pression le mélange dans un milieu où la matrice se solidifie. La

co-extrusion est un type d'extrusion et repose sur l'utilisation de buses présentant des orifices concentriques (**Figure 1-22**).



**Figure 1-22** Représentation schématique du procédé de co-extrusion

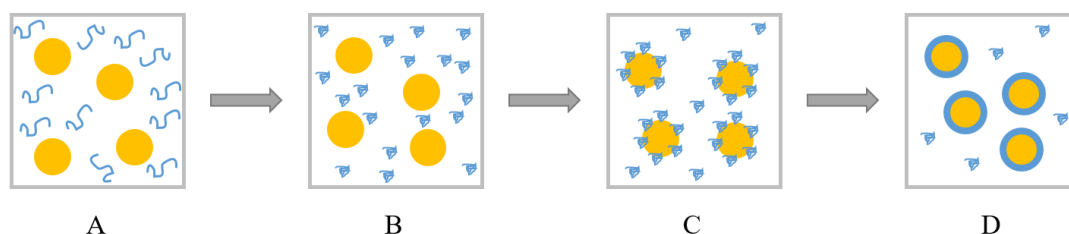
La matière enrobante circule dans l'orifice extérieur et la matière active dans l'orifice interne. A la sortie de la buse, des gouttes constituées d'un cœur de matière active entouré d'une couche de matière enrobante seront formées, généralement par l'action de vibrations, et tomberont dans un milieu où la matière enrobante pourra se solidifier, par réticulation, refroidissement ou évaporation de solvant. Généralement, cette technologie permet d'obtenir des particules de plusieurs centaines de microns. L'utilisation de ce type de procédé est majoritairement destinée à l'encapsulation de composés volatils et instables, comme les arômes. Les matériaux enrobants principalement utilisés en extrusion sont des cires ou des matrices de polysaccharide dans leur état vitreux. Cela permet de créer une barrière semi-imperméable à l'oxygène et donc d'augmenter significativement la durée de vie des composés sensibles. Les particules obtenues par extrusion sont moins poreuses que celles obtenues par séchage par atomisation, mais le coût de production est également deux fois plus important en raison de la faible capacité de chargement des microcapsules en matière active [47,50,154].

#### I.2.3.2.6. Coacervation

La coacervation est définie comme la précipitation d'un ou plusieurs polymère(s) par un phénomène de séparation de phase. Lorsque la précipitation fait intervenir un seul polymère, on parle de coacervation simple. Lorsqu'elle se fait sur au moins deux polymères, on parle de coacervation complexe. La phase riche en polymère sera appelée coacervat et la phase riche en solvant sera appelée surnageant. Si, dans le même temps, une matière active est dispersée sous forme de gouttelettes dans le surnageant, un changement approprié des conditions du milieu pourra entraîner l'encapsulation de cette matière active par le coacervat. D'une façon générale, le procédé de coacervation se déroule en quatre étapes (**Figure 1-23**). Dans un premier temps, la matière active est dispersée dans une solution contenant la ou les matière(s) enrobante(s) (**A**). L'initiation de la coacervation est provoquée par un changement des

conditions physico-chimiques du milieu (pH, salinité, température), par l'addition d'un non-solvant ou d'un polymère incompatible (**B**). Dans le cas de la coacervation complexe, la désolvatation a lieu entre deux polyélectrolytes de charges opposées par modification du pH du milieu. Les particules de coacervat viennent alors s'adsorber à la surface de la matière active pour former un enrobage continu (**C**). Enfin, la dernière étape correspond à la consolidation de l'enrobage par réticulation (**D**).

Les particules obtenues sont de type microcapsule dont la taille peut varier de quelques micromètres à quelques centaines de micromètres en fonction de la taille des gouttelettes de matière active. La coacervation est utilisée par les industries pharmaceutique et alimentaire pour l'encapsulation de composés hydrophobes et dans l'industrie cosmétique pour l'encapsulation de parfums. La limitation principale de ce procédé repose sur le choix des matières enrobantes : il doit s'agir de polyélectrolytes de charges opposées et l'utilisation de la gélatine comme polycation est pratiquement incontournable en raison de ses propriétés gélifiantes [46,50,90,152,155].

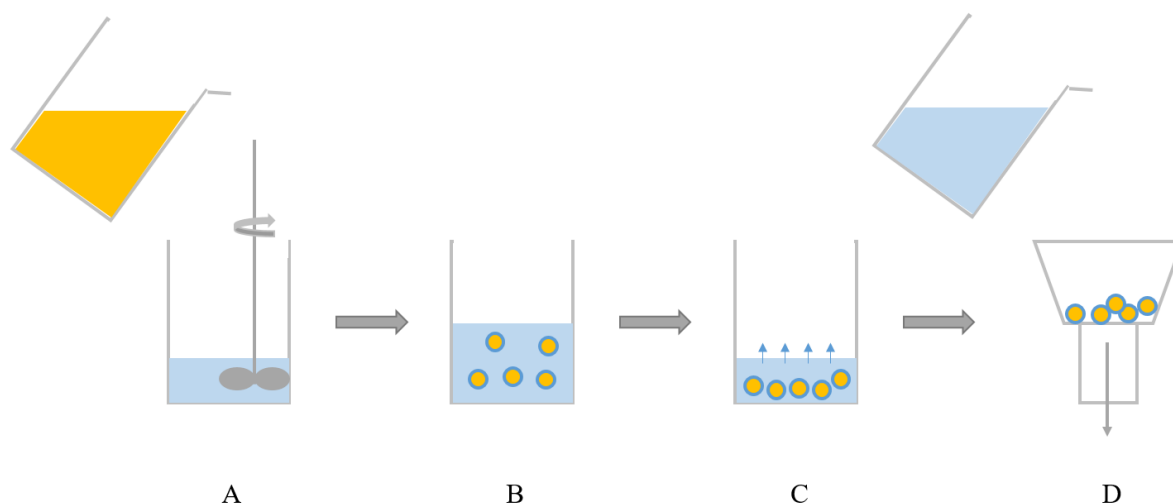


**Figure 1-23** Représentation schématique des étapes de la microencapsulation par coacervation

#### I.2.3.2.7. Évaporation/extraction de solvant

La microencapsulation par évaporation/extraction de solvant consiste à évaporer la phase interne d'une émulsion sous agitation. Elle se déroule en quatre étapes successives (**Figure 1-24**). Tout d'abord, la matière active est solubilisée ou dispersée dans un solvant organique contenant la matière enrobante (**A**). Ensuite, la phase organique est émulsifiée dans une phase continue, généralement aqueuse (**B**). L'évaporation du solvant se produit ensuite par augmentation de la température du milieu, par application d'une pression réduite ou par extraction en ajoutant un troisième liquide miscible dans le solvant organique et l'eau et induisant la précipitation du polymère enrobant (**C**). Enfin, les microparticules sont rincées, solidifiées et séchées (**D**).

La taille des microparticules varie généralement entre 0,5 et 200  $\mu\text{m}$  et dépendra de différents paramètres tels que la vitesse d'agitation lors de l'émulsification ou de la viscosité des phases en présence. Ce procédé est principalement utilisé par l'industrie pharmaceutique. Il est facile à mettre en œuvre car il ne demande pas d'équipement sophistiqué. Toutefois, les solvants organiques à évaporer, bien qu'en faibles quantités, doivent être recyclés au stade industriel. La principale limitation de ce procédé est qu'il ne s'applique qu'à l'encapsulation de matières actives lipophiles [46,156].



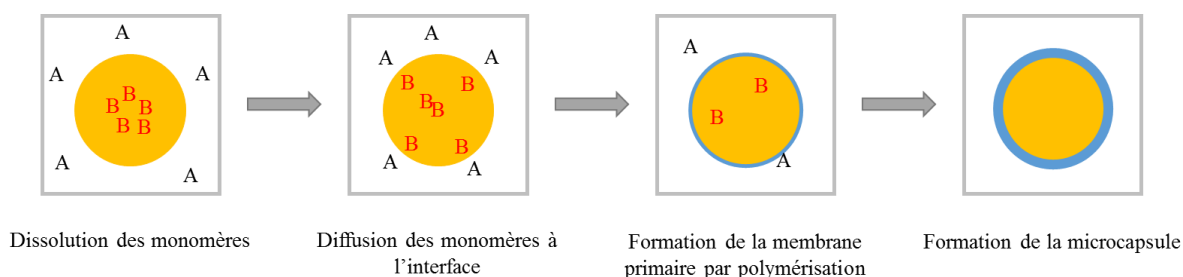
**Figure 1-24** Schéma des étapes principales du procédé de microencapsulation par extraction/évaporation de solvant

#### I.2.3.2.8. Polymérisation interfaciale

La microencapsulation par polymérisation est définie comme la polymérisation de monomères autour de gouttelettes dispersées contenant une matière active pour former une membrane solide autour de celles-ci. Elle est divisée en deux sous-catégories. D'un côté, la polymérisation in situ où les monomères sont ajoutés à la phase continue et, de l'autre côté, la polymérisation interfaciale où l'un des monomères est solubilisé dans la phase continue et l'autre dans la phase dispersée. Comme son nom l'indique, la réaction de polymérisation interfaciale a lieu à l'interface entre les deux phases en présence. Le procédé de microencapsulation par polymérisation interfaciale se déroule en quatre étapes (**Figure 1-25**). La première est l'étape de formation de l'émulsion. Elle consiste à disperser la phase contenant la matière active et le monomère B dans une phase continue contenant le monomère A. Cette première étape détermine la distribution de tailles des futures microcapsules. La deuxième étape est la formation des microcapsules. Les monomères de chaque phase diffusent à l'interface. Leur contact initie la polymérisation et un noyau de polymère de faible poids moléculaire se crée. Au fur et à mesure de la réaction de polymérisation, ce noyau va s'agrandir en se déposant à la surface des gouttelettes contenant la matière active, formant ainsi une membrane protectrice autour de celles-ci.

La polymérisation interfaciale fait partie des méthodes de microencapsulation les plus utilisées en raison de la haute résistance et de la bonne stabilité des microparticules produites. De plus, la perméabilité membranaire peut être ajustée en sélectionnant des monomères ou des agents réticulants appropriés ainsi qu'en contrôlant la durée de la réaction. En général, les particules ont un diamètre compris entre 1 et 30  $\mu\text{m}$  et une concentration en monomères correspondant à 5-15% du poids total de la capsule. Les principaux désavantages de cette technique sont sa complexité de mise en œuvre, la lenteur de la réaction de polymérisation, la survenue possible de réactions parasites ou secondaires pouvant perturber le système (entre la matière active et les monomères, par exemple) et l'utilisation de solvants organiques (cyclohexane, chloroforme, éthylènediamine, dichlorométhane). Les exemples d'applications

industrielles de cette technique se retrouvent dans le domaine phytosanitaire, pour la production de microcapsules d'insecticides et de fongicides avec des membranes de polyurée, ainsi que dans les industries cosmétique et pharmaceutique [46,152,157,158].



**Figure 1-25** Représentation schématique des étapes de la microencapsulation par polymérisation interfaciale

### I.3. Utilisation des protéines végétales pour l'encapsulation d'huiles végétales par spray-drying

Dans le cadre de cette étude, en plus du procédé de gélification par l'alginate de sodium, le séchage par atomisation a été sélectionné pour réaliser l'encapsulation d'huiles riches en AGPI en raison de ses avantages face aux autres procédés (coût, efficacité, non-toxicité, morphologie des microparticules pouvant être obtenues). De plus, afin de garantir la sécurité des poudres produites et de valoriser les sous-produits issus des cultures, des protéines d'origine végétale ont été utilisées comme agents émulsionnants et matières enrobantes. La partie suivante décrit donc les différentes études ayant portées sur l'encapsulation d'huiles végétales riches en AGPI par spray-drying par l'utilisation de protéines végétales.

#### I.3.1. Protéines de soja

L'utilisation des protéines de soja comme matière enrobante pour l'encapsulation d'huiles végétales par séchage par atomisation a été étudiée par différents auteurs (**Tableau 1-5**). Ces protéines peuvent être utilisées seules ou associées à des polysaccharides. Les matrices enrobantes constituées d'un mélange protéines/polysaccharides permettent généralement une meilleure protection de la matière active, notamment contre l'oxydation [159].

##### I.3.1.1. Production et caractérisations des émulsions

Dans le cas de l'encapsulation d'huiles végétales par séchage par atomisation, une étape de production d'émulsion est nécessaire.

Pour cela, la première étape consiste à solubiliser au mieux les matières enrobantes en solution aqueuse. Le pH de la solution peut donc être ajusté afin de s'éloigner du pHi des protéines et ainsi augmenter leur solubilité. Dans le cas des protéines de soja, le pH est généralement ajusté à 7,0 par l'ajout de NaOH [164,166,168]. Certains auteurs ont également effectué un traitement aux ultrasons à 80 MHz durant 10 min afin d'augmenter cette solubilité

[162]. Lorsque les protéines sont utilisées en mélange avec des polysaccharides, différentes méthodes peuvent être appliquées pour créer des interactions entre les deux composés. A titre d'exemple, González *et al.* (2016) [160] ont chauffé un mélange de protéines de soja et de maltodextrine à 95 °C durant 1 h pour effectuer une réaction de Maillard et ainsi créer des liaisons covalentes entre les deux matières enrobantes.

**Tableau 1-5** Utilisation des protéines de soja pour l'encapsulation d'huiles végétales par séchage par atomisation

| Formulation liquide initiale                |                                       | Conditions d'émulsification              | Conditions de séchage |                          |                          | Référence |
|---------------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------|--------------------------|--------------------------|-----------|
| Matière active                              | Matière enrobante                     |                                          | Débit de pompage      | T <sub>entrée</sub> (°C) | T <sub>sortie</sub> (°C) |           |
| Huile de chia                               | Protéines de soja / maltodextrine     | UT* : 18000 rpm / 15 min                 | 10%                   | 130                      | 80 ± 1                   | [160]     |
| Huile de noix                               | Protéines de soja / maltodextrine     | UT : 10000 rpm / 5 min<br>HHP** : 50 MPa | 5 mL/min              | 190                      | 75                       | [163]     |
| Huile d'olive enrichie en CoQ <sub>10</sub> | Protéines de soja / maltodextrine     | UT : 7000 rpm<br>HHP : 40 MPa            | 6 mL/min              | 160                      | 85                       | [164]     |
| Huile d'orange                              | Protéines de soja                     | -                                        | -                     | 120                      | 80-84                    | [165]     |
| Huile de riz                                | Protéines de soja / amidon de tapioca | UT : 10000 rpm / 3 min                   | 2,5 mL/min            | 140 - 160                | 68-84                    | [166]     |
| Huile de soja                               | Protéines de soja                     | UT : 8000 rpm / 2 min<br>HHP : 40-80 MPa | 6 mL/min              | 160-200                  | 80                       | [161]     |
| Huile de tournesol / huile de palme         | Protéines de soja                     | UT : 16000 rpm / 5 min                   | 2-4 kg/h              | 180                      | 80                       | [162]     |

\* Disperseur Ultra-Turrax

\*\* Homogénéisateur à haute pression

La deuxième étape de préparation de l'émulsion consiste à disperser l'huile dans la solution contenant la ou les matière(s) enrobante(s) afin de former une émulsion H/E. Pour cela, différentes techniques d'homogénéisation ont été retrouvées dans la littérature. Les plus courantes sont les mélanges à l'Ultra-Turrax (UT) et à l'homogénéisateur à haute pression (HHP). Ces techniques vont avoir un impact sur la stabilité et la distribution de tailles des gouttelettes des émulsions formulées. L'énergie supplémentaire apportée par l'homogénéisateur à haute pression permet ainsi d'obtenir de très fines gouttelettes d'émulsions, de taille inférieure au micron [164,168].

### I.3.1.2. Production et caractérisations des microparticules sèches

Une fois les émulsions formulées, elles sont atomisées pour produire des microparticules sèches. Différents paramètres de séchage pourront alors être appliqués (**Tableau 1-5**). En fonction du type d'appareil utilisé (échelle laboratoire ou pilote), les débits de pompage des émulsions initiales vont fortement varier. Tavernier *et al.* (2019) [162] ont utilisé un débit de 2 à 4 kg/min pour leur étude d'encapsulation d'huile de tournesol et d'huile de palme à l'échelle pilote. Concernant les températures de séchage, les variations sont également très importantes (de 120 à 200 °C), l'essentiel étant de garder une température de sortie inférieure

à la température de dégradation thermique de la matière active. Dans le cas des huiles riches en AGPI, une température de 90 °C est généralement considérée comme la valeur seuil au-delà de laquelle la matière active commencera à se détériorer.

La température d'entrée aura également une influence sur la qualité du produit final, notamment en terme de taux d'humidité. En effet, on retrouve un taux d'humidité plus important pour les poudres ayant été séchées à plus faibles températures. En séchant une émulsion à 120 °C, Kim et Morr (1996) [165] ont obtenu des poudres possédant un taux d'humidité de 4%. Le séchage à 130 °C de González *et al.* (2016) [160] a permis de récupérer des poudres avec un taux d'humidité compris entre 3,1 et 3,9%. Enfin, l'application de températures de séchage comprises entre 160 et 200 °C par Tang et Li (2013) [161] a conduit à recueillir des particules possédant des taux d'humidité compris entre 1,09 et 2,93%. Ces derniers ont attribué ces variations au taux de matière enrobante utilisé pour leurs différents échantillons. En effet, les protéines de soja ayant la capacité à créer des liaisons avec les molécules d'eau, les échantillons en contenant en plus grande quantité sont apparus comme les plus humides.

Afin d'évaluer l'efficacité du procédé, certains auteurs ont déterminé l'efficacité d'encapsulation de leur procédé (EE), correspondant au pourcentage d'huile encapsulée à l'intérieur des microparticules. Pour cela, l'huile à la surface des microparticules doit être extraite. Pour réaliser cette extraction, une certaine quantité de poudre est généralement mélangée avec un solvant apolaire (hexane [166] ou éther de pétrole [161], par exemple) par agitation douce à l'aide d'un barreau aimanté ou à l'aide d'un extracteur de Soxhlet. Ensuite, le mélange est filtré, rincé et évaporé jusqu'à obtenir une masse constante. L'EE est alors calculée comme suit :

$$EE = \left( \frac{m_{\text{huile totale}} - m_{\text{huile surface}}}{m_{\text{huile totale}}} \right) \times 100$$

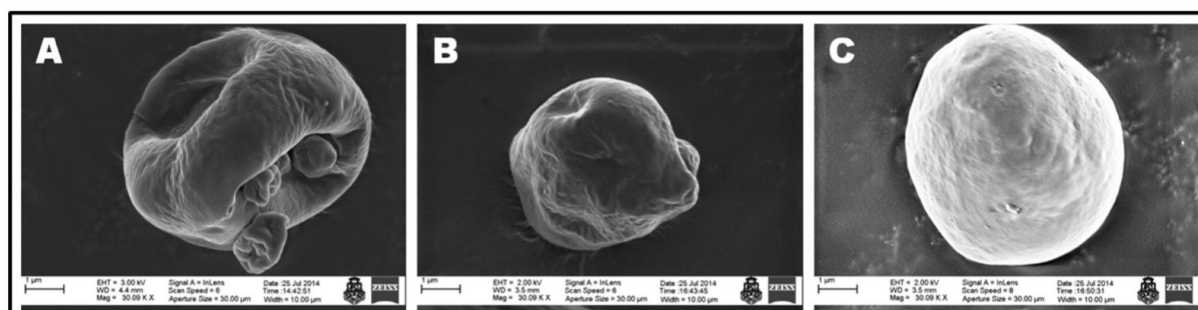
Avec *EE* l'efficacité d'encapsulation (%),  $m_{\text{huile totale}}$  la quantité d'huile ayant été utilisée initialement pour produire 1 g de microparticules (g) et  $m_{\text{huile surface}}$  la quantité d'huile libre extraite sur 1 g de microparticules (g)

Tang et Li (2013) [161] ont obtenu des EE comprises entre 33,1 et 51,4%, ce qui est relativement faible comparé aux 85,7% de Kim et Morr (1996) [165]. Ils ont attribué ces faibles valeurs à la nature de la matière active. De plus, ils n'ont pas trouvé de corrélation entre ces valeurs et la température de séchage appliquée. Cette conclusion est en contradiction avec les résultats observés par Murali *et al.* (2016) [166] montrant un effet positif de l'augmentation de la température de séchage sur l'EE. Ils justifient ce résultat par une accélération de la formation de la croûte et donc une meilleure rétention de l'huile à l'intérieur des microparticules.

Concernant la distribution de tailles des microparticules, elle dépend principalement de la viscosité de l'émulsion initiale et du diamètre de la buse d'atomisation. Pour un diamètre de buse de 1 mm, Zhou *et al.* (2017) [165] ont obtenu une distribution de tailles unimodale comprise entre 2 et 20 µm avec une taille moyenne de 11 µm pour les microparticules formulées à partir de protéines de soja et d'huile d'orange. Avec un diamètre de buse de 0,5 mm, Tang et Li (2013) [161] ont observé une augmentation de l'inhomogénéité de la distribution, avec une taille moyenne comprise entre 2 et 15 µm, ainsi qu'une amélioration de

l'aspect de surface des microparticules en augmentant la proportion de protéines de soja par rapport à la quantité d'huile de soja. Cet effet pourrait également contribuer à une meilleure rétention de l'huile à l'intérieur des microparticules, limitant les phénomènes d'agglomération.

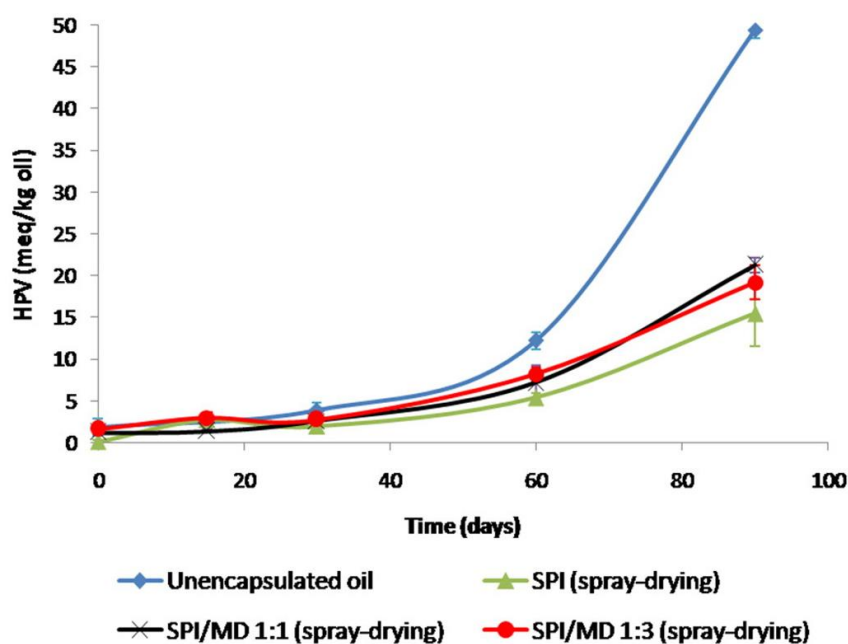
Les microparticules formulées exclusivement à partir de matrices protéiques présentent couramment des morphologies de « ballons dégonflés », comme visible sur l'image **A** de la **Figure 1-26**. Ce phénomène peut être limité par l'addition de polysaccharides dans la formulation initiale. En effet, González *et al.* (2016) [160] ont observé que le phénomène de contraction des microparticules avait tendance à diminuer en augmentant le taux de maltodextrine dans leur mélange de matières enrobantes avec des microparticules de forme plus sphérique (images **B** et **C**). Cette observation a également été faite par Zhou *et al.* (2017) [165] par comparaison des morphologies des microparticules produites à partir de protéines de soja, de maltodextrine ou d'un mélange de ces deux polymères.



**Figure 1-26** Images obtenues par microscopie électronique de microparticules formulées à partir de protéines de soja (A), d'un mélange protéines de soja/maltodextrine pour un ratio 1:1 (B) et 1:3 (C) [160]

Le but de l'encapsulation de matières actives sensibles à l'oxygène étant de les protéger de cette oxydation, il est important d'évaluer son efficacité. Pour cela, deux méthodes sont principalement utilisées. Il s'agit de l'analyse sous conditions accélérées au Rancimat et de la mesure de l'indice de peroxyde. Ces tests peuvent être réalisés directement après la production de la poudre sèche ou par prélèvements sur des poudres stockées selon des temps variables et à différentes températures. L'analyse au Rancimat consiste à chauffer l'échantillon (généralement autour de 100 °C pour les huiles sensibles) afin d'induire son oxydation et de produire des composés volatils entraînant une augmentation de la conductivité de l'eau dans laquelle ils seront injectés et qui sera mesurée. Cette mesure permet d'obtenir un temps de stabilité oxydative (IP), également appelé indice de stabilité oxydative (OSI). La mesure de l'indice de peroxyde, quant à elle, nécessite une première étape d'extraction de l'huile contenue dans les poudres qui peut se faire à l'aide de différents solvants. La mesure de l'indice de peroxyde, noté PV (ou HPV), et correspondant à des milliéquivalents d'hydroperoxyde par kilogramme d'huile (meq O<sub>2</sub>/kg d'huile), est ensuite effectuée par détermination spectrophotométrique ou titrage. González *et al.* (2016) [160] ont utilisé ces deux méthodes pour l'analyse de la stabilité oxydative de poudres formulées à partir de protéines de soja et de mélanges protéines de soja/maltodextrine pour la protection d'huile de

chia. Concernant leur analyse au Rancimat, ils ont obtenu des temps d'induction deux à trois fois supérieurs pour leur huile encapsulée (de 5,96 à 6,40 h) comparativement à l'huile non-encapsulée (2,40 h), sans différence significative entre les échantillons formulés avec les différents matériaux d'enrobage. Ils ont également effectué des mesures de PV en stockage à 20 °C et 60% d'humidité relative. Ils ont obtenu des courbes suivant une cinétique de premier ordre avec une augmentation plus rapide pour l'huile non-encapsulée que pour les huiles encapsulées (**Figure 1-27**). La limite d'acceptabilité du PV pour les huiles végétales étant fixée à 15 meq O<sub>2</sub>/kg d'huile, l'encapsulation de l'huile de chia a permis de retarder son oxydation de 20 à 30 jours. Ces résultats montrent donc l'efficacité de l'encapsulation de l'huile de chia par les protéines de soja et les mélanges protéines de soja/maltodextrine.



**Figure 1-27** Indices d'hydroperoxyde (HPV) obtenus à différents temps de stockage [160]

### I.3.2. Protéines de pois

L'utilisation des protéines de pois comme matière enrobante pour l'encapsulation d'huiles végétales par spray-drying a été moins étudiée que celle des protéines de soja (**Tableau 1-6**). Les études répertoriées dans ce tableau ont utilisé les protéines de pois seules ou associées à des composés polysaccharidiques (maltodextrine, sirop de glucose) comme éléments constitutifs des matrices enrobantes.

#### I.3.2.1. Production et caractérisations des émulsions

Tout comme pour les protéines de soja, une étape de modification du pH peut être nécessaire pour augmenter la solubilité des protéines avant la formulation de l'émulsion. Zhao et Tang (2016) [164] ont ajusté à 7,0 le pH d'une solution de protéines de pois et Tam *et al.* (2016) [167] à 8,0. Des modifications structurelles des protéines peuvent également être réalisées

afin d'améliorer leurs propriétés fonctionnelles. Tam *et al.* (2016) [167] ont effectué des hydrolyses enzymatiques sur les protéines de pois en utilisant deux protéases de spécificités de clivage différentes. Une fois les paramètres de solubilité des protéines optimisés, les émulsions peuvent être produites. Les conditions d'émulsification sont également présentées au **Tableau 1-6**.

**Tableau 1-6** Utilisation des protéines de pois pour l'encapsulation d'huiles végétales par séchage par atomisation

| Formulation liquide initiale                |                                                                       | Conditions d'émulsification                              | Conditions de séchage     |                          |                          | Référence |
|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------|
| Matière active                              | Matière enrobante                                                     |                                                          | Débit de pompage (mL/min) | T <sub>entrée</sub> (°C) | T <sub>sortie</sub> (°C) |           |
| Huile d'olive enrichie en CoQ <sub>10</sub> | Protéines de pois / maltodextrine                                     | UT : 7000 rpm<br>HHP : 40 MPa                            | 6                         | 160                      | 85                       | [164]     |
| Huile de colza                              | Protéines de pois ou protéines de pois hydrolysées / sirop de glucose | UT : 21500 rpm / 90 sec<br>HHP : 250 bars                | -                         | 180                      | 70                       | [167]     |
| Huile de lin                                | Protéines de pois                                                     | UT : 15000 rpm / 5 min<br>HHP : 30000 psi puis 10000 psi | 15-16                     | 150                      | 80                       | [168]     |

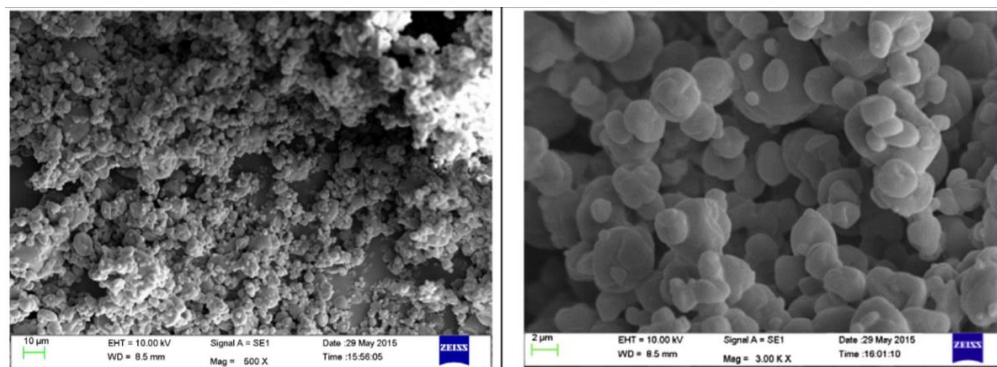
Après l'étape d'émulsification, la stabilité des émulsions a été étudiée en conditions de stockage. Bajaj *et al.* (2015) [168] ont étudié trois extraits protéiques de pois de compositions variables. Ils ont obtenu des émulsions visuellement stables au bout de 24 h. Lors de mesures de distribution de tailles de leurs gouttelettes d'émulsion, ils ont cependant remarqué une augmentation de la taille moyenne pour certaines émulsions formulées. Zhao et Tang (2016) [164] n'ont pas obtenu d'émulsions stables avec une augmentation du diamètre moyen de 0,874 à 8,71  $\mu\text{m}$  au bout de 24 h. D'un autre côté, les émulsions stabilisées à partir de protéines de lait ayant été utilisées comme modèle de comparaison n'ont pas montré de floculation. Les auteurs ont rapporté ce résultat à la différence de potentiel zêta des deux émulsions (-30,6 avec les protéines de lait contre -23,3 avec les protéines de pois). En ajoutant 1% d'une molécule tensioactive, le dodécylsulfate de sodium (SDS), l'émulsion formulée avec les protéines de pois était parfaitement stable, sans changement de taille du diamètre moyen des gouttelettes (autour de 0,2  $\mu\text{m}$ ). Concernant la distribution de tailles des gouttelettes, Zhao et Tang (2016) [164] ainsi que Bajaj *et al.* (2015) [168] ont obtenu des profils bimodaux pour les émulsions à base de protéines de pois.

Les hydrolyses enzymatiques effectuées par Tam *et al.* (2016) [167] sur les protéines de pois ont induit une diminution du diamètre moyen des gouttelettes avec une amélioration de la stabilité des émulsions. L'augmentation du degré d'hydrolyse a montré une légère tendance de diminution du potentiel zêta, expliqué par la libération de groupes carboxyliques lors de l'hydrolyse, augmentant ainsi la charge nette négative des peptides. Ainsi, l'augmentation de la charge a limité les phénomènes de déstabilisation en raison de répulsions électrostatiques entre les gouttelettes d'émulsion.

## I.3.2.2. Production et caractérisations des microparticules sèches

Les différents paramètres d'atomisation utilisés pour le séchage des émulsions des études précédemment décrites sont présentés au **Tableau 1-6**.

Concernant les caractérisations des microparticules produites, Bajaj *et al.* (2015) [168] ont effectué des mesures de taux d'humidité et d'activité de l'eau. Ils n'ont pas trouvé de différence significative pour les taux d'humidité (compris entre 3,5 et 4,25%) et des activités de l'eau similaires (égales à 0,18). Ces résultats ont été reliés à des conditions de séchage identiques pour l'obtention des trois types de poudres. Tam *et al.* (2016) [167] ont obtenu de meilleures EE pour les microparticules produites à partir de protéines hydrolysées (95,4-95,6%) que pour celles produites avec des protéines de pois natives (94,5%). Les auteurs ont justifié ce résultat par l'augmentation de la taille de gouttelettes formulée à partir de protéines natives, entraînant une plus grande quantité d'huile à la surface des poudres lors du séchage. Enfin, Zhao et Tang (2016) [164] ont observé des EE comprises entre 77 et 88,5% pour leurs différents échantillons. Les différents auteurs ont également observé la morphologie de leurs microparticules par microscopie électronique et ont trouvé des particules de forme irrégulière, avec la présence d'agglomérats, expliqué par la floculation observée de l'émulsion correspondante (**Figure 1-28**). Cependant, leur surface était lisse. Bajaj *et al.* (2015) [168] ont obtenu des particules « contractées » mais sans fissures, morphologie caractéristique des poudres formulées à partir de matières enrobantes protéiques pures.



**Figure 1-28** Images obtenues en microscopie électronique de microparticules formulées à partir de protéines de pois [164]

Tam *et al.* (2016) [167] ont également mesuré les PV de l'huile de colza encapsulée. Juste après la production des poudres, ils ont observé une augmentation du taux d'hydroperoxyde par rapport à l'huile non encapsulée (passant de 0 à 2,6 mmol/kg d'huile) et justifiée par une légère détérioration de l'huile lors du procédé. Concernant les tests en stockage, ils ont obtenu une augmentation plus importante du taux d'hydroperoxyde mesuré pour la poudre formulée à partir des protéines natives comparativement aux protéines hydrolysées. Ce résultat a été corrélé aux propriétés fonctionnelles et antioxydantes des protéines sous leur forme hydroxylée.

## I.3.3. Autres protéines végétales

L'utilisation d'autres protéines végétales a également été étudiée pour l'encapsulation d'huiles végétales (**Tableau 1-7**).

**Tableau 1-7** Utilisation de protéines végétales (hors protéines de soja et de pois) pour l'encapsulation d'huiles végétales par séchage par atomisation

| <b>Matière active</b>               | <b>Matière enrobante</b>          | <b>Référence</b> |
|-------------------------------------|-----------------------------------|------------------|
| Huile de chia                       | Protéines de chia / gomme de chia | [169]            |
| Huile de lin                        | Protéines de lin / gomme de lin   | [170]            |
| Huile de lin                        | Zéines de maïs                    | [147]            |
| Acide linoléique                    | Gliadines de blé / zéines de maïs | [171]            |
| Acide linoléique / acide palmitique | Gliadines de blé                  | [172]            |

Parmi ces études, certaines se sont intéressées à l'utilisation de protéines extraites de céréales. Il s'agit des gliadines de blé [169,170], fractions protéiques majoritaires du blé (avec le gluten) et appartenant à la famille des prolamines, ainsi que des zéines de maïs [147,170], appartenant également à la famille des prolamines et possédant des propriétés filmogènes [173]. On peut également citer les protéines issues des graines oléagineuses avec les protéines de chia [169] et de lin [170]. Parmi ces études, certaines ont étudié l'utilisation de complexes protéine-polysaccharide obtenus par coacervation pour la microencapsulation d'huile végétale [172,173]. Des complexes à base d'isolats de protéines de chia et de gomme de chia ont été réalisés par l'encapsulation d'huile de chia [169]. Les microparticules obtenues avec ces complexes ont montré une augmentation de l'EE (93,9%), une diminution de l'huile de surface (2,1%) et une augmentation de la stabilité oxydative (12,8 h) comparativement aux microparticules formulées à partir des extraits protéiques ou des polysaccharides purs. De même, des complexes à base d'isolats de protéines de lin et de gomme de lin ont été utilisés pour l'encapsulation d'huile de lin [170]. Les microparticules ont été formulées par spray-drying et freeze-drying. Les résultats ont montré une meilleure EE, une diminution de la quantité d'huile de surface, une surface plus lisse et une meilleure stabilité oxydative pour les microparticules obtenues par spray-drying, avec des paramètres optimaux atteints pour un ratio matière active/matière enrobante de 1:4 et un chargement d'huile de 20%. Cette formulation a permis de doubler le temps de stabilité oxydative comparativement à l'huile non encapsulée.

Aucune étude n'a porté sur l'utilisation des protéines de chanvre ou de riz pour effectuer des encapsulations par séchage par atomisation.

De même, aucune étude n'a été réalisée sur l'utilisation de protéines de tournesol pour l'encapsulation d'huiles végétales. Cependant, une étude a évalué l'efficacité de protéines de tournesol natives et de protéines ayant subi des modifications structurales, par hydrolyse enzymatique et/ou acylation, pour l'encapsulation d' $\alpha$ -tocophérol par séchage par atomisation

[174]. Dans le cas des émulsions stabilisées par les protéines de tournesol modifiées, la taille des gouttelettes était inférieure à celle des émulsions formulées à partir des protéines natives. Pour les protéines ayant subi une hydrolyse, ce changement a été justifié par la présence de protéines à chaînes plus courtes, augmentant ainsi les propriétés émulsifiantes et la dispersion de l' $\alpha$ -tocophérol. Pour les protéines acylées, le greffage de chaînes hydrophobes a permis d'augmenter leur caractère amphiphile. Concernant la caractérisation des microparticules, la nature de la matière enrobante a montré un impact sur l'EE de l' $\alpha$ -tocophérol à l'intérieur des microparticules. L'augmentation du degré d'hydrolyse a entraîné une diminution de l'EE (passant de 92,6 à 61,8%) en raison de la moins bonne efficacité des petites chaînes protéiques à retenir la matière active. Cette modification a aussi eu pour conséquence une augmentation de la quantité d' $\alpha$ -tocophérol à la surface des microparticules et une agglomération avec une augmentation du diamètre moyen (passant de 6,9 à 27,3  $\mu\text{m}$ ). En revanche, l'augmentation du caractère hydrophobe apporté par les acylations a entraîné une augmentation de l'EE, passant de 97 à 100,8%.

#### I.4. Conclusion et objectifs de l'étude

Les composés contenant des AGPI sont très prisés par l'industrie agroalimentaire en raison de leurs nombreux effets bénéfiques sur la santé. Cependant, la présence d'insaturations sur leurs chaînes aliphatiques les rend sensibles à l'oxydation et aux dégradations thermiques, conduisant à la perte de leurs valeurs nutritionnelles, à l'altération de leurs propriétés organoleptiques et de leur sécurité. Ainsi, l'enjeu est de permettre aux consommateurs de consommer davantage d'AGPI tout en préservant leurs qualités nutritionnelles durant les étapes de transformation industrielle, de cuisson et de stockage. L'objectif général du projet dans lequel s'inscrit cette thèse vise donc à proposer différents moyens de consommer ces huiles tout en préservant leurs propriétés par leur encapsulation dans des matériaux enrobants d'origine naturelle (protéines, polysaccharides, dérivés polysaccharidiques). Des antioxydants sélectionnés seront également co-encapsulés afin d'augmenter leur absorption et leur biodisponibilité. Afin de valoriser les sous-produits de différentes cultures, l'utilisation de matières enrobantes et d'antioxydants d'origine végétale sera privilégiée. L'objectif de cette thèse consiste plus particulièrement à réaliser les encapsulations des huiles végétales selon les paramètres optimisés, puis d'incorporer des antioxydants dans les formulations. Les différentes tâches destinées à atteindre cet objectif sont d'identifier les différents procédés d'encapsulation permettant de répondre au cahier des charges, d'identifier les matières enrobantes les plus efficaces pour le ralentissement de la peroxydation des huiles encapsulées, de produire les microparticules et de les caractériser en termes de conservation, d'efficacité d'encapsulation, de morphologie et de stabilité oxydative.

Afin d'apporter des éléments de théorie nécessaires à la compréhension de cette étude, trois parties ont été développées dans ce chapitre bibliographique. La première partie est consacrée à la description des AGPI et plus particulièrement à leurs bienfaits sur la santé, aux risques d'oxydation liés à leur structure et au rôle des molécules antioxydantes sur la prévention ou l'arrêt de la propagation de ces réactions oxydatives.

La deuxième partie traite de la microencapsulation et fournit une brève description des principaux matériaux enrobants et des différents procédés avec une description plus détaillée des différentes étapes de formulation aboutissant à l'encapsulation de matières actives hydrophobes.

La dernière partie présente les travaux ayant traité de l'utilisation de protéines végétales comme matières enrobantes pour l'encapsulation d'huiles végétales oxydables par séchage par atomisation. En effet, la totalité des produits disponibles sur le marché (**Tableau 1-4**) sont formulés à partir de protéines animales, ce qui présente un intérêt supplémentaire d'étudier leur remplacement par des protéines végétales. Cette partie montre notamment que les protéines de soja et de pois ont démontré leur efficacité pour protéger les huiles végétales de l'oxydation, elles seront donc utilisées comme matières enrobantes modèles pour ce travail. De plus, trois nouvelles protéines végétales non étudiées seront testées : les protéines de chanvre, de tournesol et de riz brun. Les protéines ayant montrées les meilleures efficacités pour cette étude seront ensuite associées à différents polysaccharides et dérivés polysaccharidiques afin de renforcer la protection des huiles encapsulées. En effet, plusieurs études bibliographiques préalablement citées ont montré que l'association de protéines avec des polysaccharides adaptés permettaient d'améliorer l'efficacité d'encapsulation et de modifier la morphologie des microparticules produites. Enfin, aucune étude n'ayant porté sur la co-encapsulation par séchage par atomisation d'huiles végétales et d'antioxydants au sein de matrices enrobantes végétales, cette nouvelle piste sera étudiée par incorporation de molécules antioxydantes.

# Chapitre II.

## Matériels & méthodes



### II.1. Matériels

#### II.1.1. Matières actives

##### II.1.1.1. Huiles végétales

L'huile de tournesol utilisée est une huile du commerce (Carrefour, France). Elle a été sélectionnée comme matière active principale à la fois pour les travaux de sphérification par gélification d'alginate et d'encapsulation par séchage par atomisation. Elle a été choisie comme composé modèle pour cette étude en raison de sa haute teneur en AGPI (57% w/w). Elle est également composée de 10% w/w d'acides gras saturés, de 25% w/w d'acides gras monoinsaturés et de 0,55% w/w de vitamine E (données indiquées par le fournisseur). Elle se présente sous la forme d'un liquide de couleur jaune pâle.

L'huile de lin est également une huile du commerce (Bio Planète, France). Contrairement à l'huile de tournesol, sa teneur en acides gras polyinsaturés de type  $\omega$ -3 est très élevée. Elle est composée de 11% w/w d'acides gras saturés, de 18% w/w d'acides gras monoinsaturés, de 64% w/w d'AGPI, dont 47% w/w d'ALA, et de 0,05% de vitamine E (données indiquées par le fournisseur). Elle se présente sous la forme d'un liquide de couleur jaune-orangé.

Ces huiles ont été stockées à 20°C à l'abri de la lumière.

##### II.1.1.2. Antioxydants

L' $\alpha$ -tocophérol (pureté  $\geq 95,5\%$ ) a été acheté chez Sigma-Aldrich (France). Ce liquide visqueux de couleur jaune-brun est inodore, non toxique et soluble dans les solvants apolaires. Le gallate de propyle (pureté  $\geq 98,0\%$ ) a également été acheté chez Sigma-Aldrich (France). Cette poudre cristalline de couleur blanc-beige est inodore, soluble dans les solvants polaires et peut provoquer des allergies cutanées.

#### II.1.2. Matières enrobantes

Des extraits protéiques végétaux ainsi que des polysaccharides ont été utilisés en tant de matières enrobantes pour cette étude.

##### II.1.2.1. Extraits protéiques

Cinq extraits protéiques ont été testés. Il s'agit d'isolats de protéines de soja (poudre de couleur beige), de pois (poudre de couleur beige), de concentrats de protéines de chanvre (poudre de couleur verte) et de protéines de riz brun (poudre de couleur beige) achetés chez MyProtein (Royaume-Uni) et de concentrats de protéines de tournesol (poudre de couleur gris-beige) achetés chez SaludViva (Espagne).

Les compositions des extraits protéiques apportées par les fournisseurs sont décrites au **Tableau 2-1**.

**Tableau 2-1** Compositions exprimées en g/100 g d'échantillon des principaux constituants des extraits protéiques

| Extrait protéique | Protéines (%) | Glucides (%) | Fibres alimentaires (%) | Matières grasses (%) |
|-------------------|---------------|--------------|-------------------------|----------------------|
| Soja              | 90            | 5            | 1                       | 0,5                  |
| Pois              | 75            | 3            | 0                       | 5                    |
| Chanvre           | 54            | 10           | 24                      | 12                   |
| Tournesol         | 56,1          | 6,5          | 18,2                    | 2                    |
| Riz brun          | 78            | 3,8          | 8                       | 2,1                  |

### II.1.2.2. Polysaccharides

Cinq polysaccharides ont été testés : la gomme arabique, l'alginate de sodium, la maltodextrine (Sigma-Aldrich, France), l'inuline (Louis François, France) et la pectine (Moià, Espagne). Leurs caractéristiques sont présentées dans le **Tableau 2-2**.

**Tableau 2-2** Caractéristiques des polysaccharides utilisés comme matières enrobantes

| Polysaccharide           | Caractéristique                                 | Origine           | Apparence                       | Solubilité                       | Toxicité    |
|--------------------------|-------------------------------------------------|-------------------|---------------------------------|----------------------------------|-------------|
| Gomme arabique           | Polysaccharide ramifié                          | Acacia            | Poudre blanche                  | Soluble dans les phases polaires | Non toxique |
| Sel d'alginate de sodium | Faible viscosité                                | Algues brunes     | Poudre de couleur beige inodore | Soluble dans les phases polaires | Non toxique |
| Inuline                  | -                                               | -                 | Poudre blanche inodore          | Soluble dans les phases polaires | Non toxique |
| Maltodextrine            | « Dextrose équivalent » de 4,0 - 7,0            | -                 | Poudre blanche inodore          | Soluble dans les phases polaires | Non toxique |
| Pectine                  | Contient une part de glucose en tant qu'additif | Ecorces d'agrumes | Poudre blanche inodore          | Soluble dans les phases polaires | Non toxique |

### II.1.3. Solvants et réactifs

De l'eau distillée a été utilisée pour réaliser toutes les formulations.

Concernant la sphérification par gélification d'alginate de sodium, toutes les réticulations calciques ont été réalisées en présence de chlorure de calcium (Sigma-Aldrich, France).

Dans le cadre du séchage par atomisation, le NaOH (pureté  $\geq 98\%$ ) ayant servi à la modification du pH des solutions d'extraits protéiques a été acheté chez Fisher Scientific-Honeywell Fluka (Buchs, Suisse). Il se présente sous la forme de pastilles de couleur blanche, inodores, solubles et pouvant provoquer des corrosions ou irritations cutanées.

Le n-hexane (pureté  $\geq 95\%$ ) utilisé pour extraire l'huile de surface des microparticules a été acheté chez Fisher Scientific-ACROS Organics (Geel, Belgique). Ce solvant apolaire se présente sous la forme d'un liquide non visqueux, incolore, à l'odeur caractéristique et toxique pour les voies respiratoires ainsi que pour la barrière cutanée. Il est également inflammable et agit comme un perturbateur endocrinien.

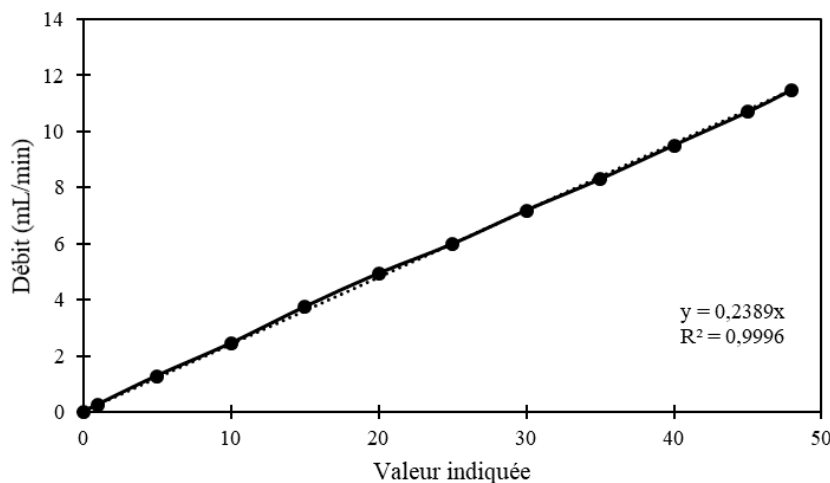
Le réactif ayant été utilisé pour marquer les protéines lors des mesures de solubilité est le bleu de coomassie (Coomassie Brilliant Blue G) acheté chez Sigma-Aldrich (France). Cette poudre de couleur violet foncé est inodore, soluble et non toxique. Le Sérum Albumine Bovine (BSA) ayant servi à produire la gamme étalon provient de Fisher Scientific-ACROS Organics et se présente sous la forme d'une poudre de couleur jaune-beige, inodore, soluble et non toxique.

Le Nile Red (pureté  $\geq 98\%$ ) utilisé pour colorer l'huile pour l'imagerie en microscopie confocale à balayage laser provient de chez Sigma-Aldrich (France). Il se présente sous la forme d'une poudre cristalline de couleur brun-rouge, inodore, soluble dans les solvants apolaires et non toxique.

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Sphérification par gélification d'alginate de sodium

Dans le cadre de cette étude, trois montages expérimentaux ont été mis au point afin de produire les particules. Ces montages ont tous nécessité l'utilisation d'une ou de plusieurs pompe(s) péristaltique(s) Minipuls 3 (Gilson, Etats-Unis). La droite de correspondance entre les valeurs de débit indiquées par ces pompes et leurs équivalents en mL/min est présentée à la **Figure 2-1**.



**Figure 2-1** Droite de correspondance entre les valeurs indiquées sur la pompe Minipuls 3 et les débits réels mesurés

## II.2.1.1. Production de billes par gélification inverse

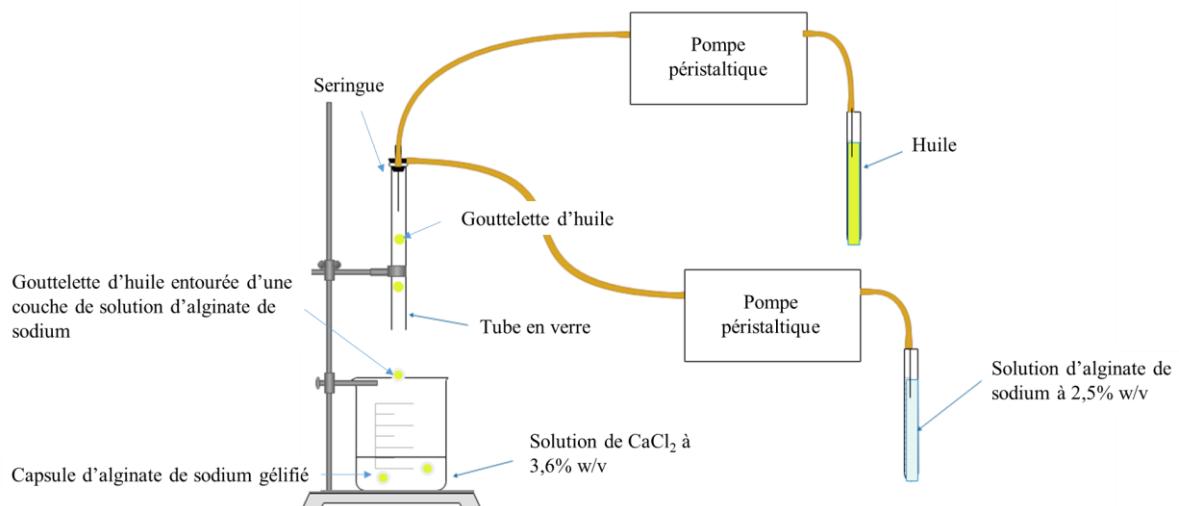
La production des billes selon cette technique nécessite une préparation en deux étapes principales.

La première étape consiste à préparer les différentes solutions nécessaires au processus de gélification. Pour cela, une solution d'alginate de sodium à 2,5% w/v est préparée par dissolution des sels d'acide alginique dans l'eau distillée à 500 rpm à température ambiante durant une nuit. Cette solution servira de bain réticulant. La préparation de la solution comprenant l'huile et les ions  $\text{Ca}^{2+}$  nécessite tout d'abord de dissoudre le chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) dans de l'éthanol absolu à une concentration de 18% w/v, afin de se rapprocher de la solubilité maximale (25,8% w/v à 20 °C). Cette solution est agitée à 600 rpm durant 6 h. Une fois la solubilisation terminée, 400  $\mu\text{L}$  sont prélevés et ajoutés à 4,6 mL d'huile de tournesol. Ce mélange est ensuite homogénéisé au vortex durant 5 min. Ces différents paramètres ont été sélectionnés à la suite de tests préliminaires.

La deuxième étape concerne la production des billes. Pour cela, l'huile enrichie en  $\text{CaCl}_2$  est amenée jusqu'à une aiguille de calibre 1,1  $\times$  50 mm par l'intermédiaire d'une pompe péristaltique. Cette aiguille est plongée dans la solution d'alginate de sodium et son extrémité est placée à proximité du barreau magnétique afin de faciliter le détachement des gouttes lors de l'extrusion et de limiter le colmatage des billes nouvellement formées. Ces billes sont ensuite agitées dans le bain réticulant durant 5 min à 250 rpm puis rincées à l'eau distillée.

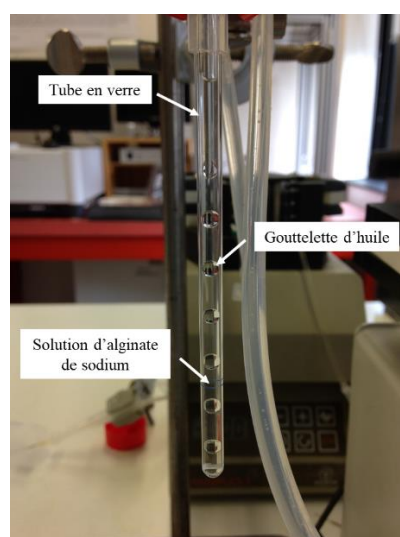
## II.2.1.2. Production de capsules par le procédé de co-extrusion par gélification externe

Le montage réalisé est présenté à la **Figure 2-2**.



**Figure 2-2** Montage expérimental permettant d'obtenir des capsules d'alginate renfermant un cœur d'huile

Ce montage comprend deux tubes à centrifuger coniques Falcon™ de 50 mL contenant l'huile de tournesol d'un côté et la solution d'alginate de sodium de l'autre côté. Une concentration de 2,5% w/v d'alginate de sodium a été sélectionnée afin d'obtenir une solution liquide concentrée parfaitement soluble au bout d'une nuit d'agitation à température ambiante, tout en maintenant une viscosité relativement faible permettant au système de le pomper sans difficulté. Chacun de ces tubes est relié à une pompe péristaltique permettant d'amener les deux solutions jusqu'à un tube en verre. A l'extrémité du tuyau raccordant la pompe péristaltique transportant l'huile et le tube en verre est installé l'aiguille permettant de réaliser un goutte-à-goutte d'huile à l'intérieur du tube en verre. La distance entre la sortie du tube en verre et le bain de  $\text{CaCl}_2$  a été fixée à 4 cm afin d'obtenir des billes de morphologie parfaitement sphérique. Le choix du verre en tant que matériau constitutif du tube permet d'éviter le contact de l'huile à sa surface et ainsi d'induire la formation de gouttelettes de matière active au cœur de la solution d'alginate de sodium (**Figure 2-3**).



**Figure 2-3** Photo du tube en verre contenant les gouttelettes d'huile entourées de solution d'alginate de sodium

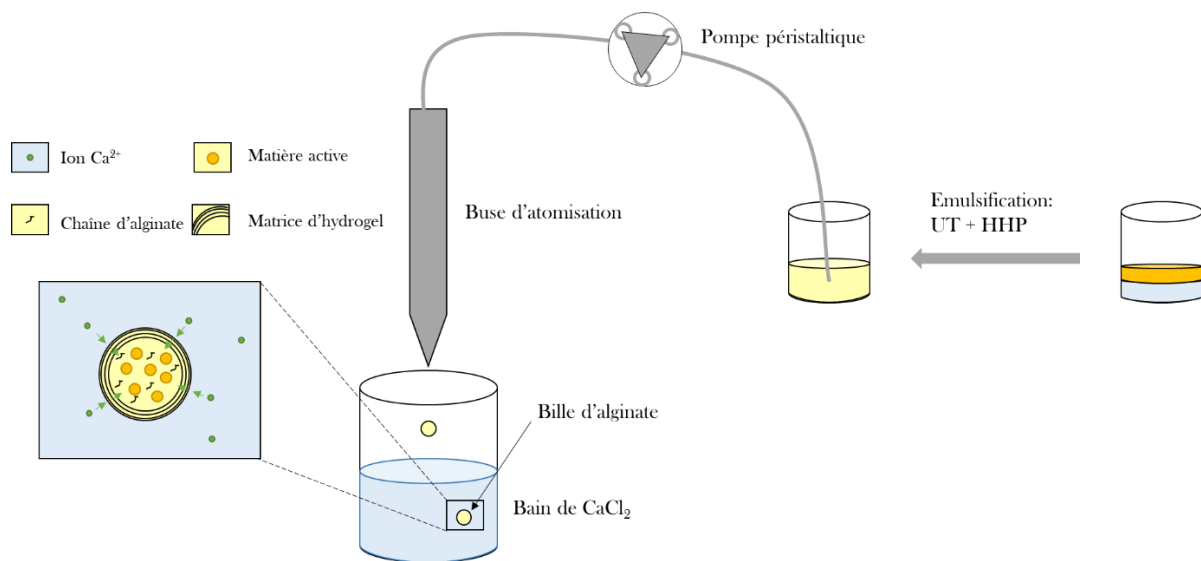
A la sortie de ce tube se trouve un bécher contenant un bain de  $\text{CaCl}_2$  concentré à 3,6% w/v à l'intérieur duquel est placé un agitateur magnétique tournant à une vitesse de 350 rpm. Ainsi, l'application de débits adaptés et suffisamment faibles permet ensuite de former un goutte-à-goutte à la sortie du tube où, idéalement, chaque goutte sera constituée d'un cœur d'huile, entouré d'une couche homogène de solution d'alginate de sodium.

Au contact du bain, l'alginate situé en périphérie de la goutte réticulera par contact avec les ions calcium présents en solution puis, la migration de ces ions au sein du réseau d'alginate induira la gélification de l'intégralité de la couche de matière enrobante. Les capsules nouvellement formées seront agitées dans le bain réticulant durant 15 min afin de permettre à l'ensemble des chaînes d'alginate de réticuler. L'agitation permet également d'éviter l'accumulation des capsules néoformées au même endroit et donc l'apparition de phénomènes de colmatage. Enfin, les billes seront rincées à l'eau distillée.

### II.2.1.3. Production de sphères par formulation d'émulsion H/E et gélification externe

Afin de former des billes de type sphère, le procédé suivant a nécessité la formulation d'une émulsion H/E comportant à la fois l'huile de tournesol dans la phase dispersée et la solution d'alginate en phase continue. Afin de stabiliser l'émulsion, de l'extrait protéique de soja a été utilisé. Pour cela, une solution à 1% w/v d'alginate de sodium a été préparée par agitation à température ambiante durant une nuit. 3% w/v d'extraits protéiques de soja ont ensuite été ajoutés afin d'obtenir une solution à 4% w/v de matières sèches. Enfin, l'huile de tournesol a été additionnée à ce mélange afin de produire l'émulsion concentrée à 25% w/v. Les paramètres suivants ont été sélectionnés à la suite d'un plan d'expérience non décrit dans ce document. De la même façon que pour la préparation des émulsions destinées au séchage par atomisation, cette émulsion a été pré-mélangée à l'Ultra-Turrax puis homogénéisée par deux passages à l'HHP à 400 bars afin d'obtenir une émulsion stable présentant de fines gouttelettes de phase dispersée.

Le montage réalisé pour cette étude est présenté à la **Figure 2-4**.



**Figure 2-4** Procédé d'obtention des sphères d'alginate à partir d'une émulsion H/E

Ce montage est constitué d'une pompe péristaltique permettant de transporter l'émulsion nouvellement formulée jusqu'à une buse d'atomisation similaire à celle utilisée dans le cadre du séchage par atomisation. Deux conditions ont ensuite été testées. De l'air comprimé a pu être connecté à la buse d'atomisation afin de former un spray de gouttes d'émulsion qui tomberont dans le bain de  $\text{CaCl}_2$  agité à 350 rpm. L'autre condition a consisté à utiliser cette même buse sans application de pression afin de réaliser un goutte-à-goutte dont le diamètre des éléments extrudés sera calibré. De la même manière que pour la partie précédente, le contact entre les chaînes d'alginate situées en périphérie et les ions calcium permettra de former rapidement une couche d'alginate réticulé, puis la migration de ces ions  $\text{Ca}^{2+}$  au cœur

de la goutte entrainera la formation d'une bille d'alginate de type sphère où les gouttelettes d'huile seront enchâssées dans un réseau d'hydrogel d'alginate. Les billes seront ensuite agitées dans le bain réticulant durant 15 min afin de s'assurer de l'homogénéité de formation de l'hydrogel d'alginate. Une fois cette agitation terminée, les billes sont récupérées à l'aide d'une passoire puis rincées à l'eau distillée.

Deux protocoles de séchage ont ensuite été testés afin d'éliminer l'eau résiduelle contenue dans les billes. Le premier protocole a consisté à sécher les billes à l'étuve à 120 °C durant une nuit. Le deuxième protocole est un séchage au lyophilisateur également appliqué durant une nuit.

## II.2.2. Encapsulation par séchage par atomisation

### II.2.2.1 Caractérisations des extraits protéiques

#### II.2.2.1.1. Solubilité par la méthode de Bradford

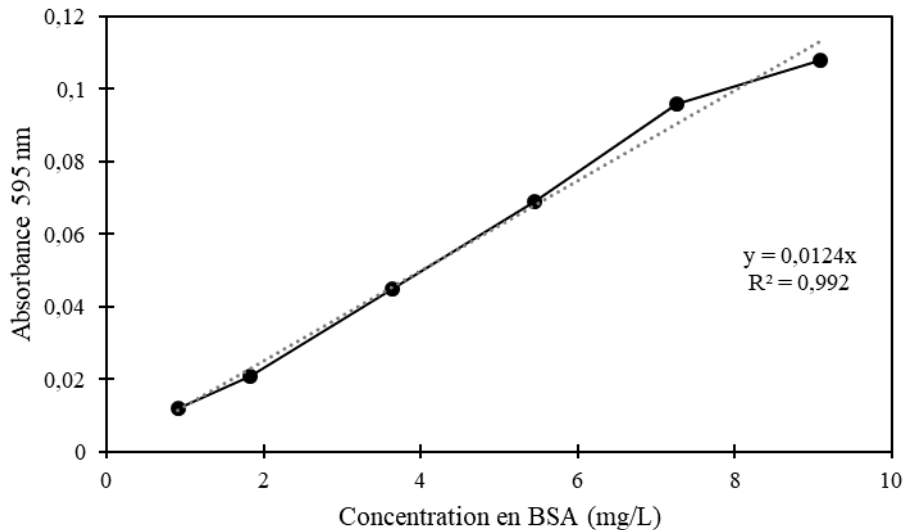
La méthode de Bradford [175] est un dosage colorimétrique utilisé pour mesurer la concentration de protéines en solution. Cette méthode a pour principe la formation de complexes entre le réactif (bleu de Coomassie) et les acides aminés basiques (arginine, histidine, lysine) et aromatiques (phénylalanine, tryptophane, tyrosine) constitutifs des protéines. Elle se caractérise par un changement d'absorbance de l'extrait, se manifestant par une modification de la couleur du bleu de Coomassie par fixation sur les liaisons peptidiques. La solution initialement marron-brun vire au bleu en présence de protéines, déplaçant la bande d'absorption de 465 à 595 nm. Le changement d'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant lié, indiquant ainsi la concentration en protéines dans l'échantillon.

Les mesures de solubilité des protéines végétales sélectionnées ont été effectuées selon le protocole de Guimarães *et al.* (2012) [176]. Dans un premier temps, une gamme étalon a été réalisée à partir de BSA pour un domaine de concentration compris entre 0 et 10 mg/L. 1 mL d'une solution de bleu de Coomassie a ensuite été ajouté à chaque solution de BSA dans des cuves de spectrophotométrie et les mélanges ont été laissés à l'obscurité pendant 5 min. L'absorbance de chaque solution a ensuite été mesurée à 595 nm (**Figure 2-5**).

Dans un deuxième temps, des suspensions protéiques ont été préparées à 1% w/w dans l'eau distillée. Le pH de chaque solution a ensuite été ajusté afin d'obtenir une gamme comprise entre 1 et 13, par ajout de solutions de NaOH ou HCl. Elles ont été soumises à une agitation magnétique à 500 rpm à température ambiante pendant 1 h. Les parties solubles et non solubles ont ensuite été séparées par centrifugation (MR1812 centrifuge, Jouan, Saint-Nazaire, France) à 6000 rpm pendant 20 min à 20 °C. Les surnageants ont été récupérés, dilués afin de rentrer dans la gamme de détection établie par la gamme étalon, puis leurs absorbances ont été mesurées à 595 nm. La solubilité pour chaque valeur de pH a alors été calculée de la façon suivante :

$$S = \left( \frac{m_{\text{protéines surnageant}}}{m_{\text{protéines solution initiale}}} \right) \times 100$$

Avec  $S$  le pourcentage de solubilité (%),  $m_{\text{protéines surnageant}}$  la quantité de protéines dans le surnageant (g) et  $m_{\text{protéines solution initiale}}$  la quantité de protéines dans la solution de départ (g)



**Figure 2-5** Courbe étalon du dosage protéique selon la méthode de Bradford

#### II.2.2.1.2. Taux d'humidité et activité de l'eau

- **Taux d'humidité**

Le taux d'humidité correspond à la teneur en eau totale d'un échantillon. Il a été mesuré par gravimétrie. 1 g d'extrait protéique a été placé dans une coupelle en aluminium et pesé précisément avant d'être placé dans une étuve chauffée à 120 °C durant 6 h, temps de séchage nécessaire pour évaporer l'eau et obtenir une masse finale constante. Le taux d'humidité a été calculé selon la relation suivante :

$$\text{Taux d'humidité} = \left( \frac{m_0 - m_1}{m_0} \right) \times 100$$

Avec  $m_0$  la masse de l'échantillon avant séchage (g) et  $m_1$  la masse de l'échantillon après séchage (g)

- **Activité de l'eau**

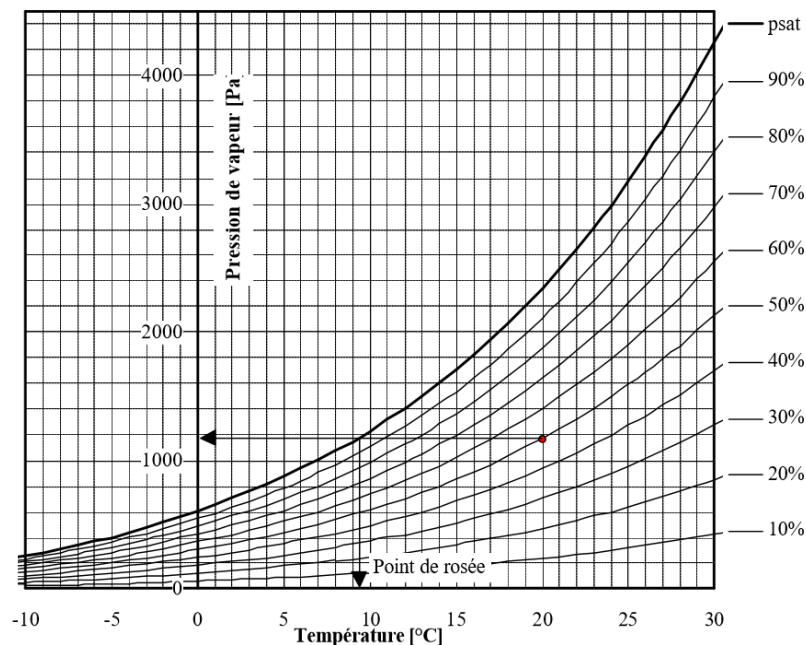
L'activité de l'eau  $a_w$  d'un corps est définie comme le rapport entre la pression partielle de vapeur d'eau d'un échantillon ( $P$ ) et la pression de vapeur saturante de l'eau pure ( $P_0$ ) à la même température:

$$a_w = \frac{P}{P_0}$$

Avec  $a_w$  l'activité de l'eau de l'échantillon,  $P$  sa pression partielle de vapeur d'eau (Pa) et  $P_0$  la pression de vapeur saturante de l'eau pure (Pa)

Elle représente la disponibilité de l'eau au sein d'un matériau en prenant en compte les interactions entre l'eau et les autres constituants de l'échantillon. Ainsi, elle permet de prédire la conservation (possibilité d'un développement microbactérien) et la texture de cet échantillon.

L'instrument utilisé pour cette mesure est un Aw-mètre. Dans le cadre de cette étude, l'activité de l'eau a été déterminée par la technique du point de rosée. L'échantillon est placé dans une enceinte fermée dont la température est maintenue constante et contenant un miroir muni d'un système de détection de la condensation. Le miroir est refroidi jusqu'à ce que de la condensation se produise à sa surface. Cette mesure repose sur le fait que l'air peut être refroidi jusqu'au point de saturation sans modification de la teneur en eau. Lorsque l'équilibre est atteint entre l'échantillon et l'enceinte, l'humidité relative de l'air dans la chambre est la même que l'activité de l'eau de l'échantillon. L'appareil mesure alors la température à laquelle la condensation se produit, correspondant à la température de rosée ou point de rosée, c'est-à-dire à la température pour laquelle la pression partielle de vapeur d'eau est égale à la pression de vapeur saturante ainsi que la température à la surface de l'échantillon. A partir de ces deux températures, il est possible de déterminer les pressions de vapeur saturantes correspondantes (**Figure 2-6**) et donc de déterminer  $a_w$ .



**Figure 2-6** Diagramme psychrométrique [177]

Dans un premier temps, les poudres d'extraits protéiques ont été placées dans un récipient d'analyse en plastique afin d'en couvrir totalement la surface. Le récipient a ensuite été

introduit dans l'enceinte de l'Aqualab 3TE instrument (Decagon) dont la température a été maintenue à  $25 \pm 2$  °C. Les résultats ont été recueillis après des temps d'analyse variables dépendant de l'activité de l'eau des échantillons (de 10 à 30 min).

### II.2.2.2. Préparation des émulsions

#### II.2.2.2.1. Emulsions formulées à partir des extraits protéiques

Dans un premier temps, les extraits protéiques de soja, de pois, de chanvre, de tournesol ou de riz brun ont été solubilisés dans l'eau distillée à 10% w/v à l'aide d'un disperseur à haute vitesse Ultra-Turrax T25 (IKA-Labortechnik) à 5000 rpm pendant 5 min à température ambiante. Cette concentration a été choisie à la suite de tests préliminaires effectués sur les extraits protéiques. En effet, la concentration ne doit pas être trop élevée pour ne pas obtenir une émulsion de viscosité trop importante qui rendra la nébulisation difficile. Elle ne doit pas non plus être trop faible afin d'avoir une bonne stabilisation de l'émulsion et ne pas augmenter la durée et le coût du procédé. Le pH des différentes solutions a ensuite été ajusté à 7,8 par ajout de quelques gouttes d'une solution de NaOH afin d'augmenter la solubilité des protéines. Cette valeur de pH a été sélectionnée afin de s'éloigner du pHi des protéines tout en restant dans une gamme adéquate pour des applications alimentaires. Pour la formulation des émulsions, 10% w/v d'huile végétale (de tournesol ou de lin) ont été ajoutés aux solutions d'extraits protéiques (ratio matière enrobante/matière active à 1:1) et pré-mélangés à nouveau à l'aide du disperseur à 10000 rpm pendant 5 min à température ambiante. L'étape d'émulsification a ensuite été finalisée par deux passages à l'homogénéisateur à haute pression Panda Plus 2000 (GEA Niro) à 400 bars.

#### II.2.2.2.2. Emulsions formulées à partir des mélanges extraits protéiques/polysaccharides

Dans le cas des tests réalisés avec des matrices enrobantes complexes, 2% w/v de polysaccharide (alginate de sodium, inuline, maltodextrine ou pectine) ont été solubilisés par agitation magnétique en amont pendant des temps variables dépendant de la solubilité de chaque polysaccharide (de 4 h à 1 nuit). Dans le cas de l'utilisation de la pectine, des tests d'optimisation ont été réalisés et ont conduit à la formulation de solutions à 2, 0,5 et 0,1% w/v. Une fois les polysaccharides parfaitement solubilisés, les extraits protéiques ont été ajoutés à ces solutions. Le protocole de production des émulsions décrit en **section II.2.2.2.1** a ensuite été appliqué.

#### II.2.2.2.3. Emulsions formulées avec ajout d'antioxydants

Pour cette partie de l'étude, deux protocoles ont été réalisés en raison de la différence de solubilité des deux molécules antioxydantes sélectionnées : l' $\alpha$ -tocophérol et le gallate de propyle.

En raison de son hydrophobicité, l' $\alpha$ -tocophérol a été mélangé directement dans l'huile (de tournesol ou de lin) à deux concentrations (0,04 et 0,01% w/w) par agitation magnétique pendant 1 h à température ambiante. Ces concentrations ont été sélectionnées en rapport aux

normes établies par le Codex Alimentarius [178]. L'huile enrichie en antioxydant a ensuite été ajoutée aux solutions de matières enrobantes (simples ou complexes) pour former les émulsions, comme décrit à la **section II.2.2.2.1**.

Dans le cas du gallate de propyle, sa meilleure solubilité dans les solvants polaires a conduit à sa solubilisation dans l'eau distillée pendant 1 h à température ambiante. Deux concentrations ont également été testées (0,02 et 0,004% w/w) en rapport aux normes établies par le Codex Alimentarius [178]. Les émulsions constituées de solutions de matières enrobantes préparées à partir d'extraits protéiques seuls (**section II.2.2.2.1**) ou de mélanges extraits protéiques-polysaccharides (**section II.2.2.2.2**) ont ensuite été formulées.

### II.2.2.3. Caractérisation des émulsions

#### II.2.2.3.1. Stabilité

Immédiatement après la formulation, une quantité fixe d'émulsion fraîchement préparée a été versée dans une éprouvette graduée et laissée au repos pendant 24 h à température ambiante afin de mesurer le possible déphasage et d'en déduire l'indice de stabilité de l'émulsion ou « emulsion stability index » (ESI) [179] calculé comme suit :

$$ESI = \left( 1 - \frac{V_{phase\ séparée}}{V_{total\ émulsion}} \right) \times 100$$

Avec  $V_{phase\ séparée}$  le volume de la phase séparée (mL) et  $V_{total\ émulsion}$  le volume total de l'émulsion (mL)

#### II.2.2.3.2. Distribution de tailles des gouttelettes

Les distributions de tailles des gouttelettes d'huile dans les émulsions ont été évaluées par un granulomètre à diffraction laser Malvern MasterSizer 2000 équipé d'un module en voie humide Hydro 2000 (Malvern Instruments Ltd). Cet appareil fonctionne sur le principe de la diffraction multi-angulaire d'un faisceau laser lorsque celui-ci passe au travers d'un échantillon contenant des gouttes ou des particules dispersées. La distribution de tailles est déterminée par mesure de l'indice de diffraction. Les indices de diffraction ayant été appliqués pour cette étude sont de 1,467 et de 1,33, correspondant respectivement à la phase dispersée (huile de tournesol) et à la phase dispersante (eau). La vitesse de rotation de la pompe a été fixée à 2800 rpm et 10 mesures ont été prises pour chaque échantillon avec un délai de 5 sec entre chaque mesure (12000 balayages).

Le traitement des données a permis d'obtenir la distribution en volume des gouttelettes ainsi que le diamètre moyen en volume ( $d_{4,3}$ ) pour les distributions monodisperses.

#### II.2.2.3.3. Morphologie

Les morphologies des émulsions ont été observées en microscopie optique. Une goutte d'émulsion préalablement diluée dans de l'eau distillée a été placée entre lame et lamelle en verre afin d'obtenir une fine couche d'émulsion. La morphologie a été visualisée par un

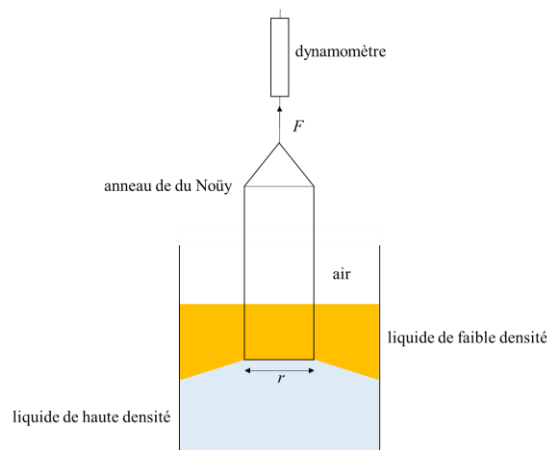
microscope optique Leica DM2700M (Leica Microsystems) connecté à une caméra Leica DM120 et contrôlé par un ordinateur en utilisant le logiciel LAS v4.8 permettant de récupérer les images. Le traitement des images a uniquement consisté à changer la couleur, la luminosité et à ajouter les barres d'échelle. Les observations microscopiques ont permis d'estimer la taille des gouttelettes d'huile afin de confirmer les résultats obtenus en granulométrie par diffraction laser, d'observer les éventuels phénomènes de déstabilisation, la présence d'agglomérats ou de fractions insolubles présentes dans les émulsions.

#### II.2.2.3.4. Viscosité

Le comportement rhéologique des émulsions avant et après l'étape d'homogénéisation à haute pression a été étudié grâce à un rhéomètre Physica MCR301 (AntonPaar) selon un gradient de cisaillement compris entre 0,1 et 100  $s^{-1}$ . Les mesures ont été effectuées avec une géométrie plan-plan d'un diamètre de 50 mm avec un entrefer de 1 mm. La viscosité apparente est obtenue pour un cisaillement de 100  $s^{-1}$ .

#### II.2.2.3.5. Tension interfaciale

Afin d'évaluer l'influence de l'ajout des protéines végétales sur la tension interfaciale entre la phase polaire (eau) et la phase apolaire (huile de tournesol), des mesures ont été effectuées en utilisant la méthode de du Noüy [180] (**Figure 2-7**).



**Figure 2-7** Représentation du principe de mesure de la tension interfaciale pour la méthode de l'anneau de du Noüy

Cette méthode consiste à placer un anneau de géométrie parfaitement connue à la surface d'un liquide ou à l'interface entre deux liquides afin d'en mesurer la tension interfaciale. L'anneau, suspendu à une balance de précision, va être tiré vers le haut en entraînant une partie du liquide avec lui. La balance va alors mesurer la force exercée sur l'anneau jusqu'à atteindre une force maximale, juste avant la rupture du ménisque. En ce point, les forces capillaires sont verticales et l'angle de contact est égal à  $0^\circ$ . Cette force maximale peut alors être directement reliée à la tension interfaciale par la relation suivante :

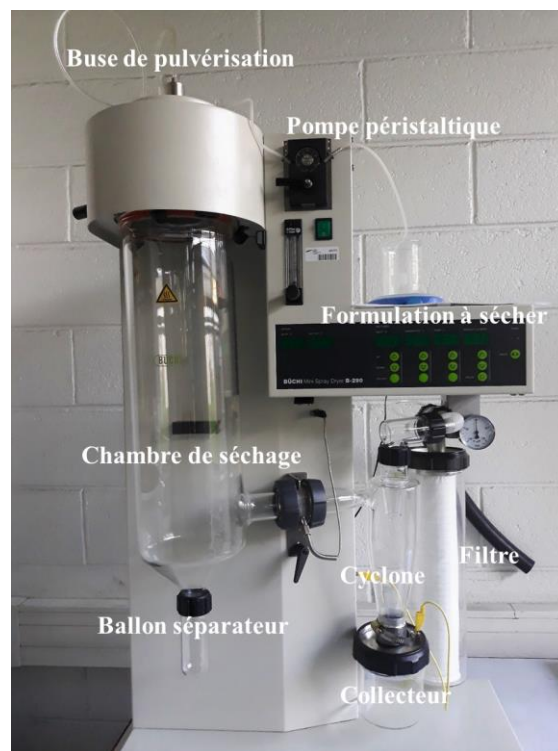
$$\gamma = \frac{F_{max} - F_v}{L \times \cos\theta}$$

Avec  $\gamma$  la tension interfaciale (N.m<sup>-2</sup>);  $F_{max}$  la force maximale exercée sur l'anneau (N);  $F_v$  le poids du film liquide soulevé par l'anneau (N);  $L$  le périmètre de mouillage de l'anneau (m<sup>2</sup>) et  $\theta$  l'angle de contact entre le film liquide et l'anneau

#### II.2.2.4. Préparation des microparticules sèches

##### II.2.2.4.1. Essais laboratoire

Les émulsions fraîchement préparées ont ensuite été séchées par atomisation pour obtenir des microparticules sèches. En fonction des tests, entre 300 et 500 g d'émulsions ont été préparées et pesées juste avant l'atomisation pour en connaître la masse exacte. Les séchages ont été effectués sur un atomiseur de laboratoire Büchi, B-290 (Büchi Labortechnik) grâce à une buse bi-fluide dont la pointe possède un diamètre de 0,7 mm (**Figure 2-8**).



**Figure 2-8** Atomiseur de laboratoire Büchi B-290

Deux conditions d'atomisation ont été testées. Les paramètres appliqués pour la condition 1 sont une température d'entrée ( $T_{in}$ ) de 120 °C, une température de sortie ( $T_{out}$ ) de  $70 \pm 2$  °C et un débit de pompage de 20% (correspondant à 6 mL/min pour de l'eau distillée). La condition 2 correspond à une  $T_{in}$  de 160 °C, une  $T_{out}$  de  $90 \pm 2$  °C et un débit de la pompe est de 30% (9 mL/min). Le débit d'aspiration est imposé à 100% (environ 35 m<sup>3</sup>/h). Une fois l'appareil refroidi en dessous de 60 °C, la poudre fraîchement formulée est récupérée au niveau du

cyclone et du collecteur final, pesée, placée dans un flacon ambré fermé hermétiquement avec du parafilm puis stockée à 4 °C ou 25 °C à l'abri de la lumière. Le rendement du procédé d'atomisation est calculé comme suit :

$$Y = \frac{m_{\text{microparticules}}}{m_{\text{masse sèche}}} \times 100$$

Avec  $Y$  le rendement du procédé d'atomisation (%),  $m_{\text{microparticules}}$  la masse de poudre obtenue après le séchage (g) et  $m_{\text{masse sèche}}$  la masse de matière sèche présente initialement dans l'émulsion (g)

#### II.2.2.4.2. Essai pilote

Un essai à l'échelle pilote a été effectué sur la formulation optimisée ayant donnée les meilleurs résultats lors des essais effectués à l'aide de l'atomiseur de laboratoire. Le séchage de l'émulsion a été réalisé par le sécheur-atomiseur MOBILE MINOR à l'aide d'un atomiseur rotatif F01A (GEA Niro) (**Figure 2-9**).



**Figure 2-9** Sécheur-atomiseur MOBILE MINOR de GEA

Une pompe péristaltique 530 S (Watson-Marlow) a été utilisée pour pomper l'émulsion fraîchement formulée. Les conditions d'atomisation appliquées sont les suivantes : débit de la pompe péristaltique de 71 mL/min, une rotation de la turbine de l'atomiseur de  $30000 \pm 5000$  rpm, un débit d'air à 85% correspondant à 82 kg/h, une température d'entrée ( $T_{\text{in}}$ ) de  $160 \pm 2$  °C et une température de sortie ( $T_{\text{out}}$ ) de  $85 \pm 5$  °C.

Une fois l'appareil refroidi en dessous de 60 °C, la poudre fraîchement formulée est récupérée au niveau du cyclone et du collecteur final, pesée, placée dans un flacon ambré fermé hermétiquement avec du parafilm puis stockée à 25 °C à l'abri de la lumière.

Le rendement d'atomisation a été calculé comme décrit dans la **section II.2.2.4.1**.

## II.2.2.5. Caractérisations des microparticules sèches

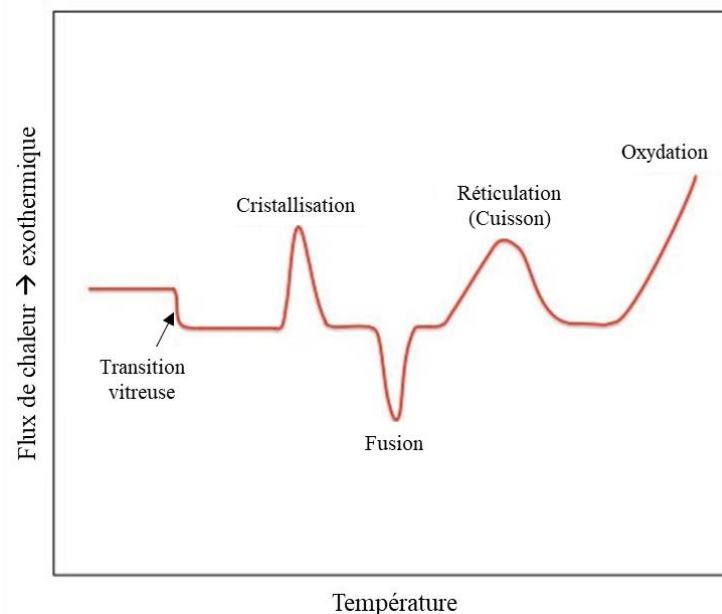
### II.2.2.5.1. Profils thermiques des microparticules

Les changements d'état, de structure ou de phase de matériaux peuvent être étudiés par analyse calorimétrique différentielle (ou Differential Scanning Calorimetry, DSC). Le principe de l'analyse par DSC repose sur l'application d'un programme de chauffage ou de refroidissement afin de faire subir des réactions de transformations à un système. En calorimétrie différentielle, la différence de température entre l'échantillon et la référence est mesurée et permet de déterminer la chaleur échangée au cours de la réaction :

$$Q = mC_p\Delta T$$

Avec  $Q$  la quantité de chaleur échangée (J),  $m$  la masse de l'échantillon ou de la référence (g),  $\Delta T$  la différence de température (K) et  $C_p$  la capacité thermique massique ( $J.K^{-1}.g^{-1}$ )

Les réactions de transformation de l'échantillon s'accompagnent d'échanges de chaleur qui peuvent être endothermiques ou exothermiques. L'enregistrement de ces flux de chaleur en fonction de la température (ou du temps) fournit un enregistrement appelé « thermogramme » (**Figure 2-10**) [181].



**Figure 2-10** « Thermogramme » illustrant les différentes réactions de transformation observables en DSC

Les analyses ont été réalisées par le calorimètre DSC Q100 (TA Instruments) contrôlé par le logiciel QSeries. Environ 15 mg d'échantillon ont été pesés dans un creuset en aluminium de 120  $\mu$ L. Un creuset vide a été utilisé comme référence.

Dans un premier temps, l'échantillon et la référence ont été refroidi jusqu'à -20 °C à une vitesse de 10 °C.min<sup>-1</sup>. La température a ensuite été stabilisée à -20 °C durant 5 min. Enfin, le programme de chauffe a été appliqué selon une augmentation linéaire de 10 °C.min<sup>-1</sup> de -20 à 200 ou 300 °C.

Dans le cas de l'analyse des polysaccharides, un premier cycle de chauffe de -20 à 120 °C à une vitesse de 10 °C/min a été appliqué afin d'évaporer l'eau résiduelle contenue dans ces échantillons. Le programme précédemment décrit a ensuite été appliqué.

Les « thermogrammes » obtenus ont permis de déterminer des modifications thermiques telles que la dénaturation, la transition vitreuse, la fusion ou encore la décomposition des microparticules et de leurs éléments constitutifs.

#### II.2.2.5.2. Distribution de tailles des microparticules

- **Granulométrie à diffusion de lumière**

La distribution de tailles des microparticules a été obtenue par un granulomètre à diffraction laser Malvern Mastersizer 2000 équipé d'un module en voie sèche Scirocco 2000 (Malvern Instruments Ltd). Cet équipement permet d'analyser des tailles de particules comprises entre 0,2 et 2000  $\mu$ m en fonction du modèle choisi (Mie ou Fraunhofer). La taille moyenne des microparticules obtenues durant cette étude étant proche de 10  $\mu$ m, le modèle de Mie a été appliqué, avec un indice de diffraction de 1,589, une absorption de 0,1, un taux de vibration de 85%, une pression d'air dispersive de 2,5 bars et un délai de 10 sec entre chaque mesure (12000 balayages).

Le traitement des données a permis d'obtenir la distribution en volume des microparticules ainsi que le diamètre moyen en volume ( $d_{4,3}$ ) pour les distributions monodisperses.

- **Morphogranulométrie**

L'analyse au morphogranulomètre permet d'obtenir des informations précises sur la taille et la forme de particules ou d'agrégats dans des poudres ou des suspensions de tailles comprises entre 0,5  $\mu$ m à quelques millimètres. Il est souvent combiné à l'analyse par granulométrie laser pour approfondir la caractérisation des échantillons. Pour ce faire, le Morphologi G3 (Malvern Instruments) a été utilisé dans le cadre de cette étude. Il est constitué d'un microscope optique (couplé à une caméra CDD) et d'un plateau mobile permettant de faire défiler l'échantillon sous les objectifs du microscope, afin d'obtenir une image de chaque particule. Le logiciel Morphologi pilote cette analyse automatique et traite l'ensemble des données collectées.

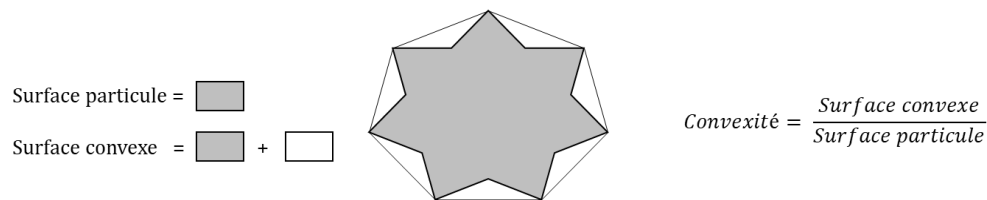
Pour la caractérisation des poudres sèches obtenues par atomisation, les échantillons ont subi une première étape de dispersion afin d'isoler les différentes microparticules et de défaire les possibles agglomérats. L'acquisition des images a ensuite été effectuée à l'aide d'un objectif réalisant un grossissement  $\times 20$ . Ces analyses ont permis d'obtenir des valeurs de circularité, de convexité et d'élongation par analyse des images de chaque microparticule. Les définitions de ces paramètres sont décrites ci-dessous :

La circularité permet d'estimer à quel point la forme se rapproche d'un cercle parfait. Elle est définie comme le rapport du périmètre d'un cercle parfait de même aire que celle de la particule, divisé par le périmètre vrai de la particule :

$$\text{Circularité} = \frac{2\sqrt{\pi * \text{Aire}}}{\text{Périmètre}}$$

La circularité d'une particule peut être comprise entre 0 et 1. Ainsi, plus l'image d'un élément se rapproche du cercle parfait, plus sa circularité sera proche de 1, et inversement.

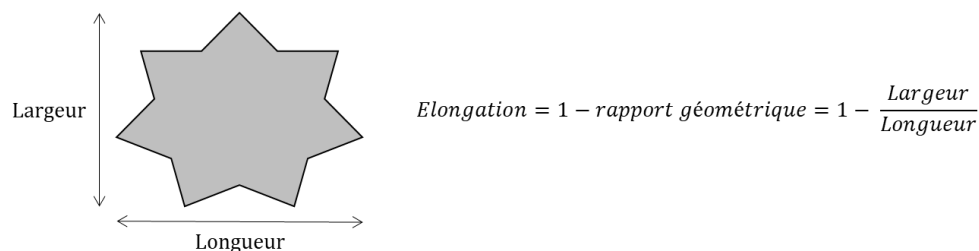
La convexité (ou rugosité) est une mesure de la rugosité de surface et de la régularité de forme d'une particule. Elle est définie comme le rapport entre la surface convexe de Hull divisée par la surface réelle de la particule (**Figure 2-11**).



**Figure 2-11** Principe de mesure de la convexité

Les valeurs de convexité sont également comprises entre 0 et 1. Plus la surface d'une particule sera lisse, plus sa convexité sera proche de 1.

Comme son nom l'indique, le facteur d'élongation donne une indication sur l'élongation d'une particule (**Figure 2-12**).



**Figure 2-12** Principe de mesure de l'élongation

Les valeurs de l'élongation sont également comprises sur une plage comprise entre 0 et 1. Une forme présentant des longueur et largeur identiques, telle qu'un cercle ou un carré, aura une valeur d'élongation de 0, tandis que des formes présentant de grands rapports

géométriques auront une élongation proche de 1. Ainsi, la rugosité extérieure n'altèrera pas l'élongation : une ellipse lisse aura une élongation similaire à une ellipse pointue de rapport géométrique identique.

#### II.2.2.5.3. Efficacité d'encapsulation

Afin d'évaluer l'efficacité d'encapsulation, c'est-à-dire le pourcentage d'huile réellement présente à l'intérieur des microparticules, l'huile libre présente à la surface des microparticules a été extraite. Pour cela, un protocole adapté des travaux de Kim *et al.* (2005) [182] a été utilisé. 1 g de poudre sèche a été pesé sur un papier filtre Whatman n°1 (Maidstone) et placé sur un entonnoir Buchner en porcelaine Fisherbrand (Fisher Scientific). Les microparticules précédemment pesées ont ensuite été rincées trois fois avec 6 mL de n-hexane. L'hexane contenu dans la phase organique récupérée à la sortie de l'entonnoir a ensuite été évaporé sous hotte jusqu'à l'obtention d'une masse constante d'huile.

Le pourcentage d'huile totale a été considéré comme équivalent au pourcentage d'huile sur la totalité de masse sèche incorporée dans l'émulsion initiale.

L'efficacité d'encapsulation a alors été calculée à partir de l'équation suivante :

$$EE = \left( \frac{m_{\text{huile totale}} - m_{\text{huile surface}}}{m_{\text{huile totale}}} \right) \times 100$$

Avec *EE* l'efficacité d'encapsulation (%), *m<sub>huile totale</sub>* la quantité d'huile ayant été utilisée initialement pour produire 1 g de microparticules (g) et *m<sub>huile surface</sub>* la quantité d'huile libre extraite sur 1 g de microparticules (g)

#### II.2.2.5.4. Taux d'humidité et activité de l'eau

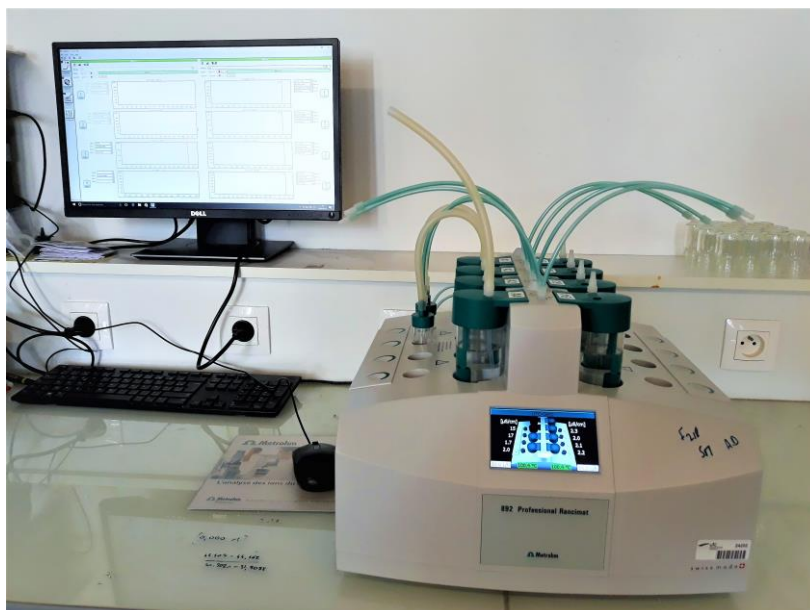
Les protocoles utilisés pour la mesure du taux d'humidité et de l'activité de l'eau décrits à la **section II.2.2.1.2** ont été repris pour la caractérisation des microparticules sèches.

#### II.2.2.5.5. Stabilité oxydative en tests accélérés

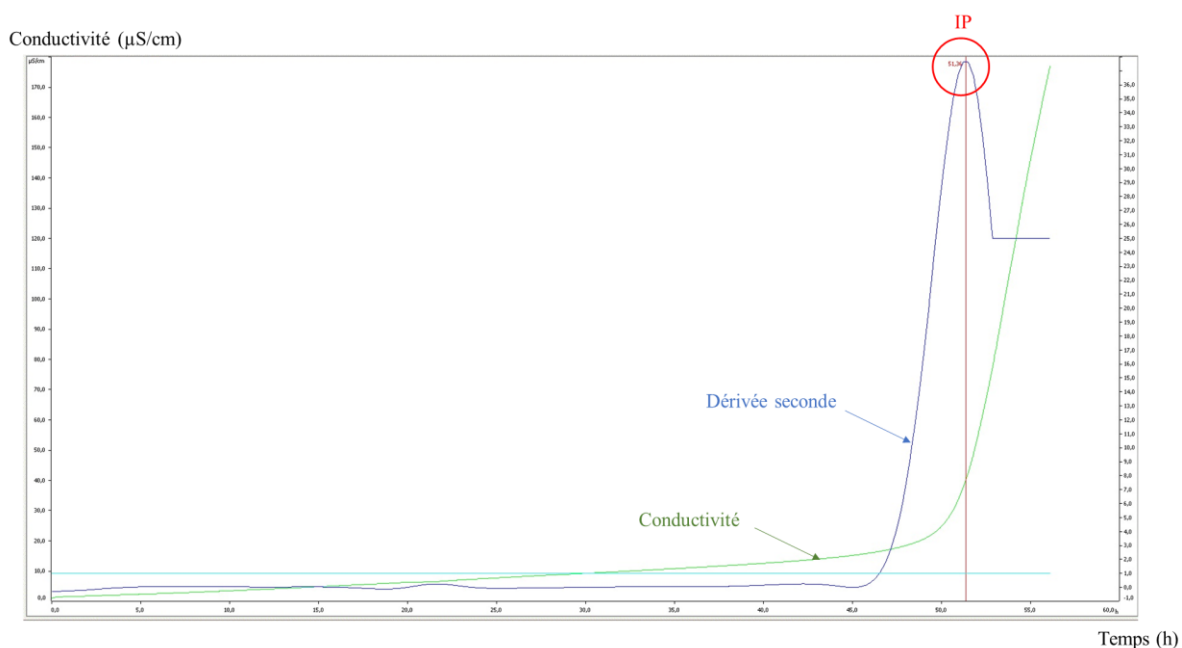
Les tests d'oxydation en conditions accélérées ont été réalisés sur les huiles pures (contrôles) et sur les microparticules en utilisant un Rancimat 892 Professional (Rancimat METROHM) relié au logiciel StabNet (**Figure 2-13**).

Cet équipement permet de déterminer la stabilité à l'oxydation d'huiles et de graisses présentes sous leur forme pure ou dans des composés plus complexes. L'induction de l'oxydation est effectuée par vieillissement accéléré de l'échantillon en l'exposant à une haute température à l'intérieur d'un bloc de chauffage en aluminium, tout en faisant passer une grande quantité d'air par l'intermédiaire d'un tube à air. Les composés volatils libérés lors de cette oxydation sont ensuite emportés dans des béchers de mesure remplis d'eau distillée. La conductivité de cette eau est alors mesurée par un dispositif de mesure et d'enregistrement afin d'en déduire un temps d'induction (IP), également appelé temps de stabilité à l'oxydation (OSI). Ce temps est défini comme le point d'inflexion de la courbe de mesure de la

conductivité en fonction du temps. Il correspond également au point maximal de la dérivée seconde de la conductivité en fonction du temps (**Figure 2-14**).



**Figure 2-13** Dispositif de mesure Rancimat pour la mesure de la stabilité à l'oxydation d'échantillons en conditions accélérées



**Figure 2-14** Exemple de courbe obtenue par la méthode Rancimat pour la détermination de l'IP de l'huile d'olive pour un chauffage de 100 °C

Ainsi, plus le temps d'induction est grand, plus l'échantillon met du temps à s'oxyder et donc plus il est stable.

Ainsi, les IP ont été mesurés directement sur les poudres produites (2,5 g de poudre pour chaque analyse) et comparés aux IP des huiles ayant servies à produire les microparticules (2,5 g d'huile). Dans le cadre de cette étude, les échantillons ont été chauffés à 100 °C, avec un flux d'air de 10 L/h.

Les résultats sont présentés par l'IP et/ou le  $\Delta IP$ , correspondant à la valeur de normalisée de l'IP:

$$\Delta IP = IP_{\text{échantillon}} - IP_{\text{référence}}$$

Avec  $IP_{\text{échantillon}}$  le temps d'induction de l'huile encapsulée (h) et  $IP_{\text{référence}}$  le temps d'induction de l'huile non encapsulée ayant servi à produire l'émulsion (h)

Différentes huiles pures d'IP variables ayant servi à formuler les échantillons, la présentation des résultats par le  $\Delta IP$  permet de s'affranchir de ces variations et de présenter un gain de temps d'oxydation obtenu par le procédé d'encapsulation.

#### II.2.2.5.6. Morphologie

- **Microscopie électronique à balayage environnemental**

La microscopie électronique à balayage (MEB) permet d'accéder à la topographie de surface d'un échantillon. Pour ce faire, un très fin faisceau d'électrons primaires fortement accélérés balaie la surface en induisant l'excitation du matériau à sa surface et la production d'électrons secondaires qui seront détectés pour produire l'image.

Les morphologies de la surface et de la structure interne des microparticules ont été observées à l'aide d'un microscope électronique à balayage environnemental (MEBE) Quanta 250 FEG (FEI Co.). Les échantillons ont été préparés par fixation d'une faible quantité de poudre sur une pastille de carbone. Afin d'améliorer le contraste, une métallisation par pulvérisation d'or a été effectuée afin de déposer une couche sur l'échantillon. Une tension d'accélération de 20 kV a été appliquée et les images ont été obtenues à différents grossissements.

- **Microscopie confocale à balayage laser**

Le microscope confocal à balayage laser est un microscope optique dont la source lumineuse est un laser, balayant point par point l'objet à analyser. Ainsi, les échantillons qui peuvent être analysés doivent posséder naturellement des composés capables de fluorescer ou, dans le cas contraire, doivent être préalablement marqués par des fluorochromes. En fonction de la longueur d'onde choisie, ces éléments pourront être excités et émettre des rayons lumineux dont l'intensité sera mesurée en chaque point. L'avantage principal de la microscopie confocale à balayage laser est qu'elle permet de fournir une image 3D reconstituée en traitant couche par couche l'intensité lumineuse de l'objet. Cette opération est effectuée grâce à un diaphragme variable qui permet de sélectionner les rayons émis dans un seul plan et d'éliminer ceux provenant des autres plans. Les signaux lumineux provenant des différents plans sont ensuite convertis en signal numérique afin d'obtenir une image reconstituée en 3D de l'objet.

Dans le cadre de cette étude, la microscopie confocale à balayage laser a été utilisée pour observer l'huile libre à la surface des microparticules formulées à partir des extraits protéiques

de soja et de pois. Ainsi, l'huile de tournesol utilisée pour produire ces microparticules a été préalablement mélangée avec de la poudre de Nile Red. Le Nile Red un fluorochrome hydrophobe capable d'absorber la lumière verte et d'émettre une lumière rouge. En s'inspirant du protocole de Ziani *et al.* (2011) [183], une concentration de 0,1 mg de Nile Red par millilitre d'huile a été utilisée. Le mélange a été homogénéisé par agitation magnétique puis couvert par du papier aluminium afin d'empêcher des phénomènes de photo-blanchissement, pour ensuite être utilisé comme matière active pour la préparation des émulsions. Les microparticules correspondantes ont ensuite été analysées par un microscope confocal LSM 410 invert (Carl Zeiss). Un objectif plan apochromatique de grossissement  $\times 63$  (Carl Zeiss) à immersion dans l'huile a été utilisé. Les longueurs d'onde d'excitation et d'émission appliquées sont de 514 et 646 nm, respectivement.

### II.2.3. Analyse statistique

Toutes les caractérisations des extraits protéiques, des émulsions et des microparticules sèches ont été réalisées en triplicata. Les résultats présentés correspondent à la moyenne des trois tests, suivie de la valeur de l'écart-type. Les analyses des résultats ont été réalisées statistiquement par analyse de la variance (ANOVA). La comparaison des moyennes s'est faite par test de Tukey avec des différences significatives pour une p-valeur inférieure à 0,05.



# Résultats & discussions



# Chapitre III.

## Étude de différents procédés d'encapsulation



### III.1. Préambule

Ce troisième chapitre est agencé en deux parties principales correspondant chacune à un procédé d'encapsulation particulier pour la protection d'huiles végétales riches en AGPI: la sphérification par gélification d'alginate de sodium dans un premier temps et l'encapsulation par séchage par atomisation dans un deuxième temps.

Ainsi, une première partie de ce chapitre est destinée à la description des résultats obtenus et des discussions associées concernant la production de billes d'alginate contenant la matière active. Cette partie est divisée en trois sections correspondant chacune à un mode d'obtention particulier des billes. Des observations morphologiques des particules obtenues ont été réalisées pour chaque section. Elle apporte ainsi des résultats préliminaires pour la production de particules de taille millimétrique.

La deuxième et principale partie de ce chapitre concerne l'obtention de poudre par séchage par atomisation en utilisant des extraits protéiques végétaux en tant que matériaux enrobants. Selon l'état de l'art réalisé au Chapitre I, les auteurs cités ont formulé et caractérisé leurs émulsions et microparticules selon des méthodes variables, rendant difficile la comparaison de l'efficacité réelle des différentes protéines végétales pour l'encapsulation de matières actives hydrophobes oxydables. Cette partie propose donc une comparaison directe de l'utilisation de cinq extraits protéiques végétaux (issus des graines de soja, de pois, de chanvre, de tournesol, et de riz brun), formulés et caractérisés selon les mêmes procédés, pour l'encapsulation d'huile de tournesol et d'huile de lin. L'objectif est d'identifier le ou les extrait(s) protéique(s) le(s) plus efficace(s) pour protéger ces huiles alimentaires de l'oxydation. En raison de son efficacité prouvée pour la microencapsulation de matières actives hydrophobes [60], l'extrait protéique de soja a été utilisé comme composé de référence. Les extraits protéiques de pois ont également été sélectionnés en raison de leur efficacité avérée pour l'encapsulation d'huiles végétales (voir **section I.3.2**). De plus, trois nouvelles protéines végétales disponibles commercialement ont été testées en raison de leurs valeurs nutritionnelles intéressantes et de leurs propriétés physico-chimiques peu étudiées ; il s'agit des protéines de chanvre, de tournesol et de riz brun.

Dans un premier temps, les différentes étapes d'obtention des microparticules ont été décrites. Tout d'abord, la solubilité des cinq extraits protéiques a été déterminée afin d'obtenir une indication sur la quantité de protéines disponibles pour la stabilisation des émulsions. Ensuite, la stabilité, la distribution de tailles, la viscosité et la tension interfaciale des émulsions stabilisées à partir de ces cinq extraits protéiques ont été évaluées. Ces informations ont permis d'estimer si les gouttelettes de matière active seront bien retenues au sein des microparticules lors du procédé de séchage. Enfin, deux conditions d'atomisation ont été testées afin de sélectionner les paramètres de séchage les plus adaptés à cette étude.

A partir des conditions retenues, les microparticules ont été formulées puis caractérisées selon différents paramètres. Les mesures des taux d'humidité et d'activités de l'eau ont permis d'évaluer la pertinence des conditions de séchage sur la quantité d'eau résiduelle après évaporation et donc sur la conservation des poudres lors du stockage. La mesure des distributions de tailles et les observations morphologiques ont permis d'observer la structure

externe des particules (rugosité de surface, présence de fentes ou fissures, circularité) et la possible présence d'agglomérats. Les efficacités d'encapsulation ont également été déterminées afin de quantifier l'huile ayant été efficacement retenue au sein des microparticules durant le séchage. Enfin, la stabilité oxydative de l'huile encapsulée a été évaluée par la méthode Rancimat immédiatement après la production des poudres et à différents temps de stockage. Une partie des résultats concernant les efficacités d'encapsulation, les observations morphologiques et les stabilités oxydatives a été obtenue lors d'un stage de Master 2 de Justine Gmur, étudiante de l'Université de Lille 1, ayant réalisé son stage de fin d'étude sur ce projet.

Dans une dernière partie, les différentes étapes de formulation et de caractérisation ont été appliquées à l'encapsulation d'une huile alimentaire riche en AGPI de type  $\omega$ -3, l'huile de lin.

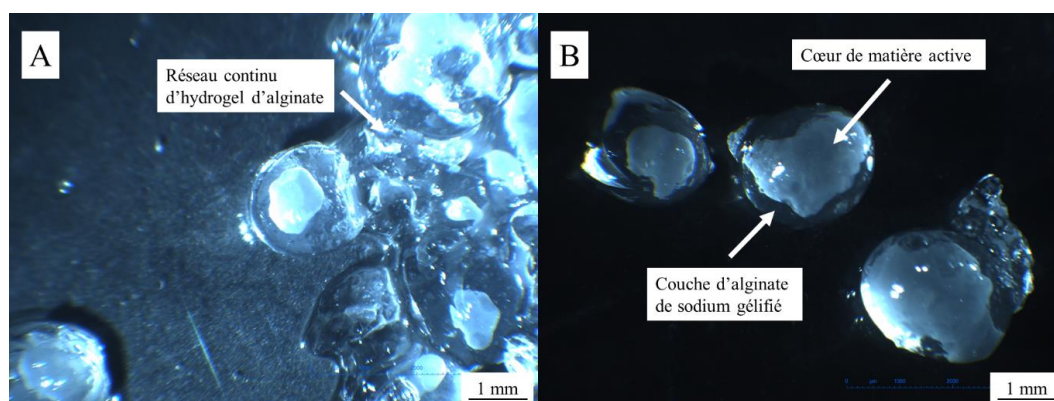
#### III.2. Sphérification par gélification d'alginate de sodium

L'objectif de cette partie est de proposer des méthodes alternatives pour la protection et l'encapsulation d'huiles végétales riches en AGPI. Ainsi, l'alginate de sodium a été utilisé pour produire des particules par le procédé de gélification ionotropique. Cette molécule naturelle présente l'avantage de former des hydrogels dans des conditions particulières et d'être relativement imperméable aux gaz [184]. Cette propriété peut ainsi être utilisée afin d'encapsuler des principes actifs (voir **section I.2.3.2.2** sur l'encapsulation par gélification ionotropique). Deux types de particules de morphologies différentes ont été développées : les capsules et les sphères (voir définitions à la **section I.2.1**).

##### III.2.1. Production de billes par gélification inverse

Dans un premier temps, il a été décidé d'effectuer une encapsulation par sphérification inverse d'alginate (**section II.2.1.1**). Cette méthode consiste à mélanger la matière active avec une solution contenant des ions divalents puis de faire tomber ce mélange au goutte-à-goutte dans un bain d'alginate de sodium afin d'effectuer la réticulation et ainsi d'encapsuler la matière active au sein de particules solidifiées.

Les photos des billes obtenues en microscopie optique sont présentées à la **Figure 3-1**.



**Figure 3-1** Images acquises par microscopie optique des billes obtenues par gélification inverse

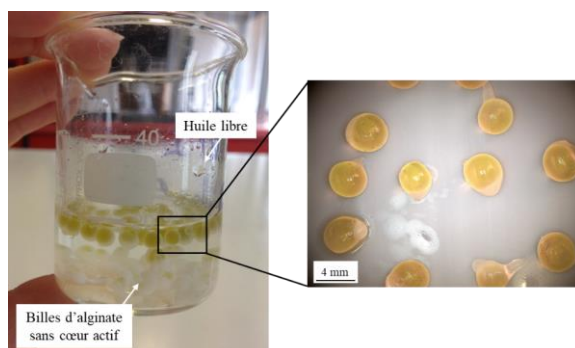
L'image **A** montre l'obtention d'un réseau continu d'alginate de sodium à l'intérieur duquel sont enchâssées plusieurs billes. En séparant les billes de ce réseau (**B**) nous pouvons observer une structure particulière comportant un cœur actif constitué d'huile de tournesol et entouré par une couche inhomogène d'alginate réticulé ayant été formée par migration des ions  $\text{Ca}^{2+}$  à la périphérie de la goutte. Cependant, il n'a pas été possible de limiter la migration de ces ions au-delà d'une certaine distance, conduisant ainsi à la gélification des chaînes d'alginate situées entre les gouttes et donc à la formation d'un réseau unique.

En raison de la difficulté rencontrée dans le cadre du processus de gélification inverse, de nouveaux procédés ont été mis au point afin d'effectuer une gélification directe (ou externe).

#### III.2.2. Production de capsules par le procédé de co-extrusion par gélification externe

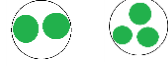
L'objectif de cette partie était d'obtenir des capsules d'alginate possédant une morphologie bien précise, c'est-à-dire renfermant un cœur unique de matière active entouré par une couche homogène d'hydrogel d'alginate assurant la protection de l'huile au sein de la bille (**section II.2.1.2**). Pour cela, nous avons fait varier les débits de pompage de l'huile et de la solution d'alginate afin d'observer l'apparence des flux à l'intérieur du tube en verre, la morphologie des capsules produites ainsi que la quantité d'huile présente à la surface du bain de  $\text{CaCl}_2$ , c'est-à-dire la quantité d'huile non encapsulée (**Tableau 3-1**).

Les résultats présentés dans ce tableau montrent qu'un débit de solution d'alginate de sodium au moins deux fois supérieur à celui de l'huile (essais n°2, 3, 4, 8, 9, 15 et 16) est nécessaire pour rompre le flux à l'intérieur du tube en verre et ainsi former des gouttelettes d'huile. Cependant, pour les ratios débit d'huile/débit d'alginate les plus élevés parmi ceux sélectionnés (essais n°1, 2, 14 et 15), des capsules possédant la morphologie recherchée sont produites mais les efficacités d'encapsulation obtenues sont très faibles avec une importante quantité d'huile retrouvée à la surface du bain et la présence de billes d'alginate dépourvues de cœur actif, notamment en raison du flux d'huile présent à l'intérieur du tube en verre (**Figure 3-2**).



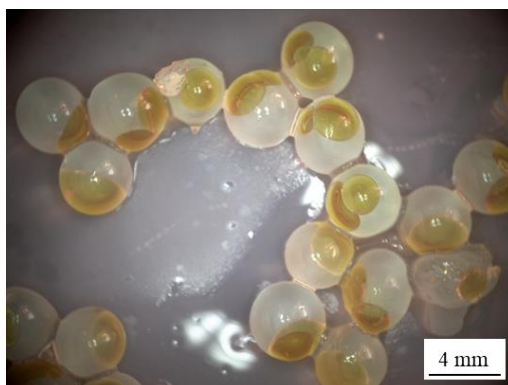
**Figure 3-2** Morphologies des billes obtenues pour des ratios débit d'huile/débit d'alginate élevés (essai n°2)

**Tableau 3-1** Résultats obtenus en fonction des débits d'huile et de la solution d'alginate sélectionnés pour la production des billes

| Essai | Débit d'huile (mL/min) | Débit de la solution d'alginate de sodium (mL/min) | Observations dans le tube en verre | Morphologie des capsules                                                              | Présence d'huile en surface* |
|-------|------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| 1     | 1,3                    | 1,3                                                | Flux continu d'huile               |    | xxx                          |
| 2     | 1,3                    | 2,5                                                | Gouttelettes d'huile formées       |    | xx                           |
| 3     | 1,3                    | 3,6                                                | Gouttelettes d'huile formées       |    | x                            |
| 4     | 1,3                    | 4,8                                                | Gouttelettes d'huile formées       |    | ∅                            |
| 5     | 2,5                    | 1,3                                                | Flux continu d'huile               | Pas de capsules                                                                       | xxx                          |
| 6     | 2,5                    | 2,5                                                | Flux continu d'huile               | Pas de capsules                                                                       | xxx                          |
| 7     | 2,5                    | 3,6                                                | Flux continu très fin              | Pas de capsules                                                                       | xxx                          |
| 8     | 2,5                    | 4,8                                                | Gouttelettes d'huile formées       |  | xx                           |
| 9     | 2,5                    | 6,0                                                | Gouttelettes d'huile formées       |  | x                            |
| 10    | 3,6                    | 1,3                                                | Flux continu d'huile               | Pas de capsules                                                                       | xxx                          |
| 11    | 3,6                    | 2,5                                                | Flux continu d'huile               | Pas de capsules                                                                       | xxx                          |
| 12    | 3,6                    | 3,6                                                | Flux continu d'huile               | Pas de capsules                                                                       | xxx                          |
| 13    | 3,6                    | 4,8                                                | Flux continu d'huile               | Pas de capsules                                                                       | xxx                          |
| 14    | 3,6                    | 6,0                                                | Flux continu très fin              |  | xxx                          |
| 15    | 3,6                    | 7,2                                                | Gouttelettes d'huile formées       |  | xx                           |
| 16    | 3,6                    | 8,4                                                | Gouttelettes d'huile formées       |  | x                            |

\*xxx : la quasi-totalité de l'huile se retrouve à la surface du bain / xx : une quantité non négligeable d'huile se retrouve à la surface / x : très peu d'huile en surface / ∅ : absence d'huile en surface

En augmentant le débit d'alginate de sodium, la quantité d'huile non encapsulée est réduite mais la morphologie des capsules produites est modifiée avec l'apparition de billes à multiples cœurs (**Figure 3-3**). En revanche, les billes produites présentent des morphologies sphériques de tailles relativement homogènes avec des diamètres compris entre 4,5 et 5 mm.



**Figure 3-3** Morphologies des billes obtenues pour des ratios débit d'huile / débit d'alginate faibles (essai n°9)

En dehors des différences morphologiques observées, la principale limitation de ce procédé réside dans la difficulté d'obtenir un ou plusieurs cœur(s) liquide(s) parfaitement centré(s) au sein de la bille (visible à la **Figure 3-3**). Ce phénomène peut s'expliquer par deux facteurs. Tout d'abord, l'utilisation de pompes péristaltiques entraîne la formation de flux irréguliers en raison du système de pompage « par à-coups » et non pas continu. Ainsi, en raison de leur plus faible densité, les gouttelettes d'huile ont tendance à remonter le long du tube en verre et donc à décaler leur positionnement lors de la formation de la goutte à la sortie du tube. Ce phénomène permet également d'expliquer la présence de grandes quantités d'huile à la surface du bain. De plus, cette différence de densité entre les deux fluides entraîne également une remontée de la gouttelette d'huile lors de la chute de la goutte et du contact avec le bain de chlorure de calcium.

Ces résultats montrent la fiabilité du procédé mis en place pour produire des capsules contenant un cœur actif d'huile. Cependant, la présence d'eau dans ses billes et la difficulté rencontrée lors de leur séchage (billes cassantes) a rendu impossible l'analyse de la stabilité oxydative de l'huile encapsulée par la méthode Rancimat.

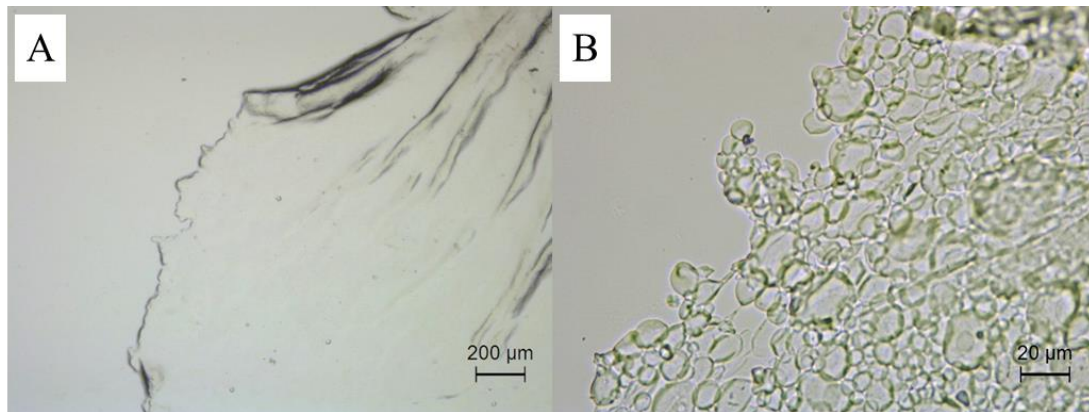
Ainsi, afin de s'affranchir des différentes difficultés rencontrées pour ce procédé, une nouvelle approche a été mise au point afin de produire des particules sous forme de sphères, et non plus de capsules.

#### III.2.3. Production de sphères par formulation d'émulsion H/E et gélification externe

Dans un premier temps, une émulsion H/E a été formulée selon le protocole décrit à la **section II.2.1.3**. Les caractéristiques de cette émulsion sont les suivantes : viscosité apparente

à  $100 \text{ s}^{-1}$  de  $45,7 \pm 2,1 \text{ mPa.s}$  et distribution de tailles des gouttelettes présentant un diamètre moyen en volume ( $d_{4,3}$ ) de  $10,92 \pm 0,3 \text{ }\mu\text{m}$ .

Une fois l'émulsion préparée, de l'air comprimé a été appliqué à la buse de pulvérisation afin de former un spray de gouttes d'émulsion. L'objectif initial de cet essai était de former des microparticules par contact des gouttes de spray avec le bain de  $\text{CaCl}_2$ . Le résultat obtenu est présenté à la **Figure 3-4**.



**Figure 3-4** Images du film obtenu par pulvérisation et acquises par microscopie optique à faible (A) et fort (B) grossissements

Ces images montrent que la proximité des gouttes lors de la nébulisation ainsi que leur taille micrométrique a entraîné la formation d'un film continu d'alginate de sodium réticulé (A). En observant ce film à un plus fort grossissement (B), nous pouvons constater qu'il est en fait formé de l'assemblage de plusieurs microparticules, reliées entre elles par un réseau continu d'hydrogel d'alginate.

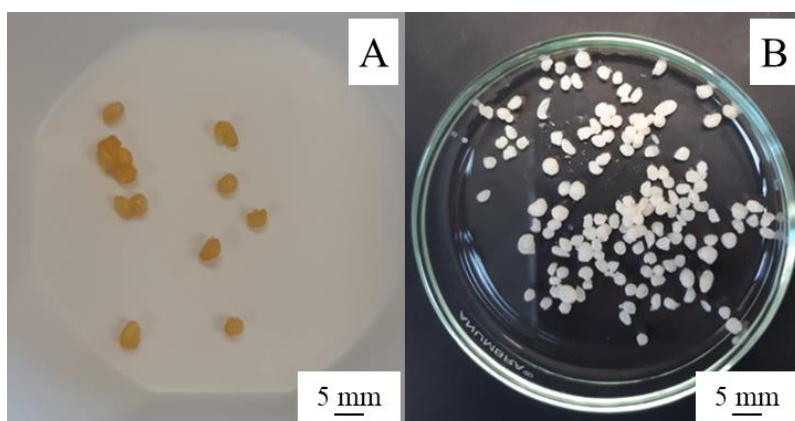
Afin de pallier ce problème, il a été décidé d'utiliser la buse d'atomisation sans air comprimé. Elle permet ainsi la formation de gouttes de plus grande taille (de quelques millimètres) dont le diamètre est parfaitement calibré. Ainsi, la production de billes selon différents débits et pour différentes hauteurs de goutte-à-goutte a été effectuée. Quelques exemples de morphologies obtenues par variation de ces conditions sont présentés à la **Figure 3-5**.



**Figure 3-5** Morphologies des billes obtenues à différentes conditions : débit 2,2 mL/min et goutte-à-goutte à 0,5 cm (A), débit 0,3 mL/min et goutte-à-goutte à 0,5 cm (B) et débit 0,3 mL/min et goutte-à-goutte à 19 cm (C)

Ces images montrent qu'une morphologie sphérique peut être obtenue avec un faible débit et une distance suffisante entre l'extrémité de la buse et le bain de chlorure de calcium (C). En effet, l'application de ces deux paramètres permet aux gouttes de prendre une forme sphérique avant d'atteindre le bain réticulant. Au contraire, lorsque l'extrémité de la buse est placée trop près du bain et/ou que le débit est trop important (A et B), les billes formées adoptent une forme allongée. On peut également voir que la taille des billes produites varie entre 1,7 et 3 mm.

Afin d'évaporer l'eau emprisonnée dans l'hydrogel, deux procédés de séchage ont ensuite été mis en place (**Figure 3-6**). Le premier a consisté à sécher les billes à 120 °C durant une nuit. Malheureusement, une détérioration des billes a été observée avec l'apparition d'une coloration brune et une adhésion des billes au support (A). Ainsi, un deuxième procédé ne nécessitant pas de chauffe a été testé : la lyophilisation. Cependant, la formation de cristaux de glace lors de ce procédé a entraîné l'apparition de micropores au sein des billes et la libération de l'huile au cours du séchage (B).



**Figure 3-6** Morphologies des billes obtenues selon différents procédés de séchage : séchage à l'étuve à 120 °C (A) et par lyophilisation (B)

#### III.2.4. Conclusion

Cette partie d'utilisation de la gélification d'alginate de sodium pour l'encapsulation d'huiles végétales oxydables n'est qu'une ouverture à l'ensemble des possibilités envisagées par ce procédé. En effet, les différentes étapes d'optimisation ont permis d'obtenir des billes de taille calibrée. Cependant, des problématiques ont été rencontrées. La principale concerne le séchage de ces billes. En effet, afin de garantir une bonne conservation des échantillons, une évaporation d'une grande quantité d'eau est nécessaire. De plus, les analyses de stabilité oxydative effectuées par la méthode Rancimat nécessitent l'utilisation d'échantillons contenant un faible taux d'humidité afin de ne pas interférer sur les mesures de conductivité. La deuxième grande limitation concerne la production des billes possédant une morphologie de type capsule. En effet, des difficultés ont été rencontrées pour centrer parfaitement la gouttelette de matière active au sein de la bille en raison de l'utilisation de pompes

péristaltiques déstabilisant les flux d'huile et de solution d'alginate de sodium, mais également en raison de la différence de densité entre ces deux solutions.

Ainsi, de nombreuses perspectives s'ouvrent à ces travaux et quelques pistes sont évoquées dans la **Conclusion Générale** de ce manuscrit.

La majeure partie de la première année de thèse ayant été consacrée à l'étude du procédé de sphérification par gélification d'alginate de sodium ainsi qu'aux différentes optimisations associées, et, au vu des difficultés rencontrées, il a été décidé de focaliser le reste de l'étude sur une autre voie d'encapsulation, le séchage par atomisation.

### III.3. Encapsulation par séchage par atomisation

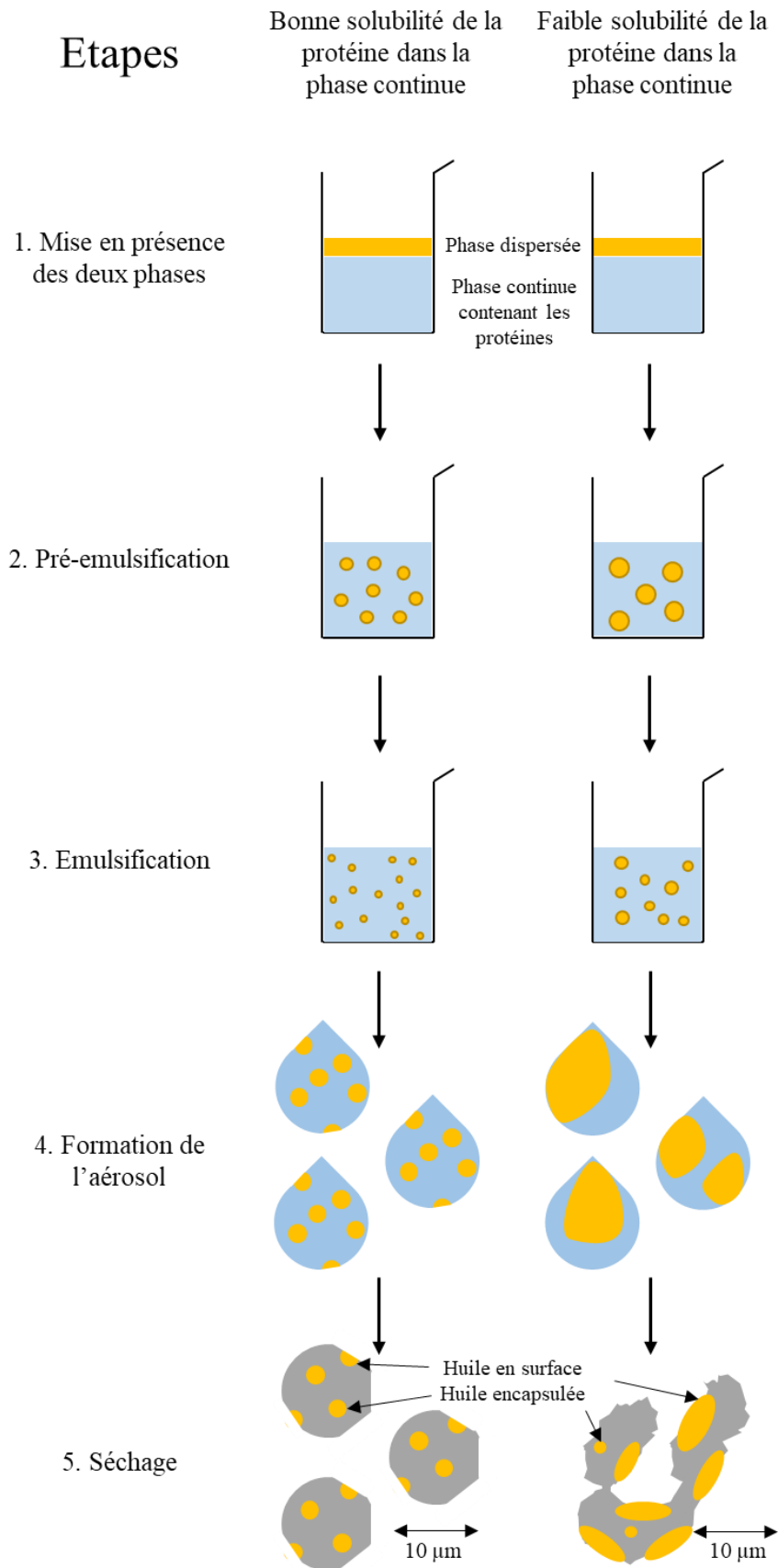
#### III.3.1. Contexte

Comme énoncé précédemment, la protection d'huile sous forme de microparticules nécessite une préparation en trois étapes. La première étape consiste à solubiliser les extraits protéiques selon des conditions permettant d'améliorer leur solubilité et de permettre leur diffusion jusqu'aux interfaces. La deuxième étape concerne la formulation des émulsions par ajout de la matière active à la solution de matières enrobantes selon un procédé conduisant à la formation de fines gouttelettes stables. Enfin, la dernière étape consiste à produire les microparticules à partir des émulsions précédemment formulées.

Dans un premier temps, une bonne solubilité des protéines est donc nécessaire pour permettre une diffusion efficace à l'interface H/E. En s'adsorbant, les protéines pourront alors stabiliser des gouttelettes de faible volume en formant un film viscoélastique autour de celles-ci, garantissant la bonne stabilité de l'émulsion. Ensuite, lorsque cette émulsion sera transformée en un aérosol durant le procédé de nébulisation, les petites gouttelettes seront bien distribuées au sein de la goutte d'aérosol et seront efficacement retenues à l'intérieur de la microparticule formée durant le séchage. Le produit final sera alors constitué de microparticules individualisées possédant une faible quantité d'huile libre en surface.

Dans le cas des protéines possédant une faible solubilité dans la phase continue, une très faible quantité de protéines sera capable de stabiliser l'émulsion et les gouttelettes d'huile auront un plus gros volume. Lors du séchage, l'huile ne sera pas efficacement retenue et le produit final obtenu sera constitué de particules agglomérées en raison de la grande quantité d'huile présente à la surface des microparticules.

Ces deux cas de figure sont détaillés schématiquement sur la **Figure 3-7**.

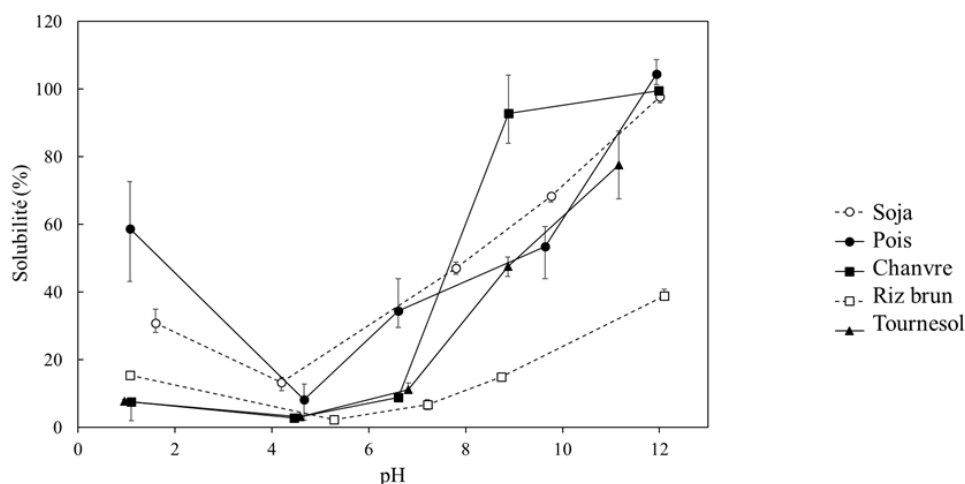


**Figure 3-7** Représentation schématique des types de morphologies pouvant être obtenues avec des protéines possédant une bonne solubilité (gauche) et une faible solubilité (droite) dans la phase continue

## III.3.2. Microencapsulation de l'huile oxydable

## III.3.2.1. Solubilisation des extraits protéiques

L'évaluation de la solubilité des extraits protéiques est un indicateur nécessaire à l'évaluation de leur efficacité en tant que matériaux enrobants pour la microencapsulation des huiles. Pour cette étude, l'effet de la variation du pH sur la solubilité a été étudiée à température ambiante comme décrit à la **section II.2.2.1.1 (Figure 3-8)**.



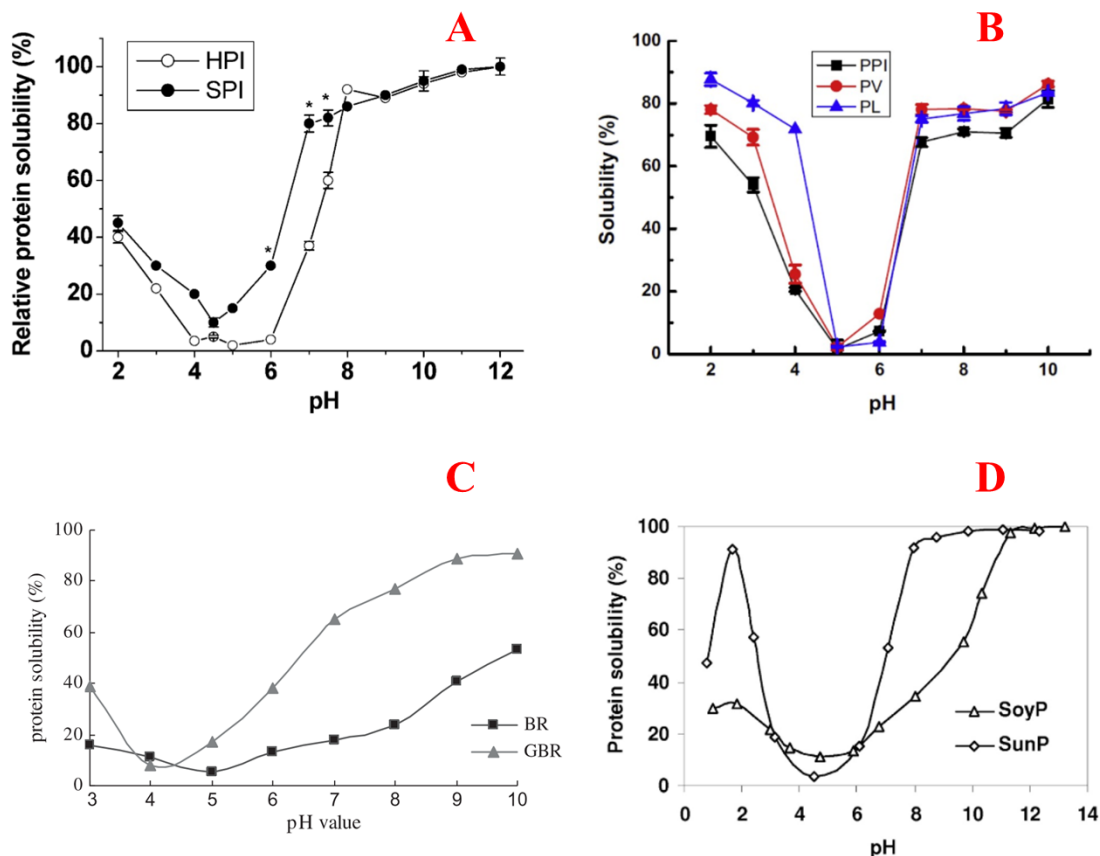
**Figure 3-8** Courbes de solubilité relative en pourcentage massique des protéines de soja, pois, chanvre, riz brun et tournesol en fonction du pH déterminées par la méthode de Bradford

Les courbes de solubilité obtenues (**Figure 3-8**) présentent une allure similaire aux données de la littérature (**Figure 3-9**).

La zone où les solubilités sont minimales (pH 4-5) correspond aux points isoélectriques des protéines, c'est-à-dire au pH pour lequel le nombre de charges positives portées par la molécule est égal à celui des charges négatives. En s'éloignant de ce point, la charge nette des protéines augmente par exposition des groupements chargés, conduisant à une amélioration de la solubilité de la protéine. A pH alcalin, la solubilité des extraits protéiques est très nettement améliorée en raison de l'apparition de charges négatives ( $\text{COO}^-$ ) à leur surface, provoquant des répulsions entre chaînes. Ce changement entraîne une diminution des interactions protéines/protéines et une augmentation des interactions protéines/solvant.

Malgré des allures générales similaires, des différences sont visibles entre les différents extraits (**Figure 3-8**). Tout d'abord, on peut observer une plus faible solubilité des protéines de riz brun comparativement aux autres protéines. En effet, lorsque l'on regarde les solubilités relatives en pourcentage massique des protéines dans des conditions fortement basiques (pH 12), toutes les courbes tendent à se rapprocher d'une valeur proche de 100%, sauf pour les protéines de riz brun. Concernant les profils observés pour les quatre autres protéines

végétales (pois, soja, chanvre, tournesol), les protéines de chanvre, de pois et de soja apparaissent comme les macromolécules présentant le pourcentage de solubilité le plus important au pH sélectionné pour cette étude (pH = 7,8).



**Figure 3-9** Profils de solubilité des protéines de chanvre (HPI), de soja (SPI) (graphe A) [79], de pois (PPI), de viciline (PV), de légumine (PL) (graphe B) [185], de riz brun (BR), de riz brun germé (GBR) (graphe C) [186], de soja (SoyP) et de tournesol (SunP) (graphe D) [64]

Les différences observées peuvent s'expliquer par la composition en fractions protéiques des différents extraits. En effet, les protéines végétales sont divisées en quatre fractions majoritaires se différenciant par leurs solubilités : il s'agit des albumines, des globulines, des prolamines et des glutélines. Les fractions les plus solubles en milieu aqueux sont les albumines. Les globulines possèdent également une bonne solubilité aqueuse, plus particulièrement dans les solutions salines diluées. Les prolamines, quant à elle, sont solubles dans les solutions hydro-alcooliques (70-80% w/v) et les glutélines dans les solution aqueuses fortement basiques (pH>10) [187]. Une indication de la composition en fractions protéiques des extraits utilisés pour cette étude est présentée au **Tableau 3-2**.

**Tableau 3-2** Récapitulatif des compositions en fractions protéiques des extraits utilisés pour cette étude [79,188]

| <i>Espèce</i>               | <i>Albumines 2S</i>         | <i>Globulines 7S</i><br><i>“Vicilines”</i> | <i>Globulines 11S</i><br><i>“Légumine”</i> | <i>Prolamines</i> | <i>Glutélines</i> |
|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------|-------------------|
| <b>Céréales</b>             |                             |                                            |                                            |                   |                   |
| Riz brun                    | -                           | -                                          | -                                          | ++                | ++                |
| <b>Légumineuses</b>         |                             |                                            |                                            |                   |                   |
| Pois                        | + (PA1)                     | ++                                         | ++                                         | -                 | +                 |
| Soja                        | + ( $\alpha$ -conglycinine) | ++ ( $\beta$ -conglycinine)                | ++ (glycinine)                             | -                 | +                 |
| <b>Graines oléagineuses</b> |                             |                                            |                                            |                   |                   |
| Tournesol                   | + (SFA)                     | -                                          | ++ (hélianthinine)                         | -                 | -                 |
| Chenvre                     | +                           | +                                          | ++ (édestine)                              | -                 | -                 |

++ composé majoritaire, + composé minoritaire, - composé très rare ou absent

Les globulines sont les fractions majoritaires des graines issues de plantes dicotylédones (légumineuses, graines oléagineuses), tandis que les glutélines et les prolamines sont les fractions majoritaires des céréales (80-90% w/w) [189]. Cette caractéristique peut donc expliquer la plus faible solubilité des protéines de riz brun comparativement aux autres protéines.

Concernant les profils observés pour les quatre autres protéines végétales (pois, soja, chanvre, tournesol), les différences peuvent être justifiées par leur proportion en fractions solubles. Au pH sélectionné pour cette étude (pH = 7,8), les protéines de chanvre, de pois et de soja apparaissent comme les macromolécules présentant le pourcentage de solubilité le plus important. Selon les résultats obtenus par Tang *et al.* (2006) [79], les protéines de chanvre sont presque exclusivement constituées de fractions solubles (87% de globulines divisées en 82% d'édestines et 5% de vicilines, plus 13% d'albumines). La plus grande solubilité observée pour les protéines de chanvre est donc en accord avec cette étude.

L'ensemble de ces résultats montre donc que les extraits protéiques de pois, de soja et de chanvre sont les macromolécules les plus solubles au pH de cette étude en raison de leur composition en fraction protéique.

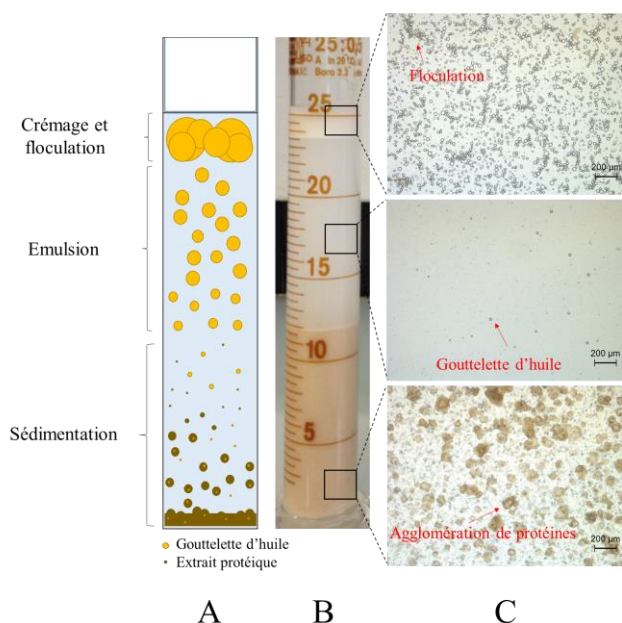
### III.3.2.2. Formulation et caractérisations des émulsions

Dans cette partie, les émulsions formulées à partir des extraits protéiques de riz brun, chanvre, pois, soja et tournesol seront notées E-PR, E-PC, E-PP, E-PS et E-PT, respectivement.

#### III.3.2.2.1. Stabilité des émulsions

La seconde étape du procédé consiste à formuler une émulsion H/E contenant la matière enrobante dans la phase continue et la matière active dans la phase dispersée. Ainsi, des émulsions H/E stabilisées à partir des cinq extraits protéiques caractérisés précédemment ont été formulées.

Obtenir une émulsion stable permet d'assurer une bonne encapsulation de la matière active durant le séchage et donc une protection efficace face à l'oxydation. En effet, si l'émulsion se déstabilise durant le procédé de séchage, l'huile ne sera pas efficacement retenue au sein des microparticules et sa protection face aux phénomènes oxydatifs en sera réduite. Une description des phénomènes de déphasage pouvant avoir lieu pour une émulsion instable est présentée **Figure 3-10**.



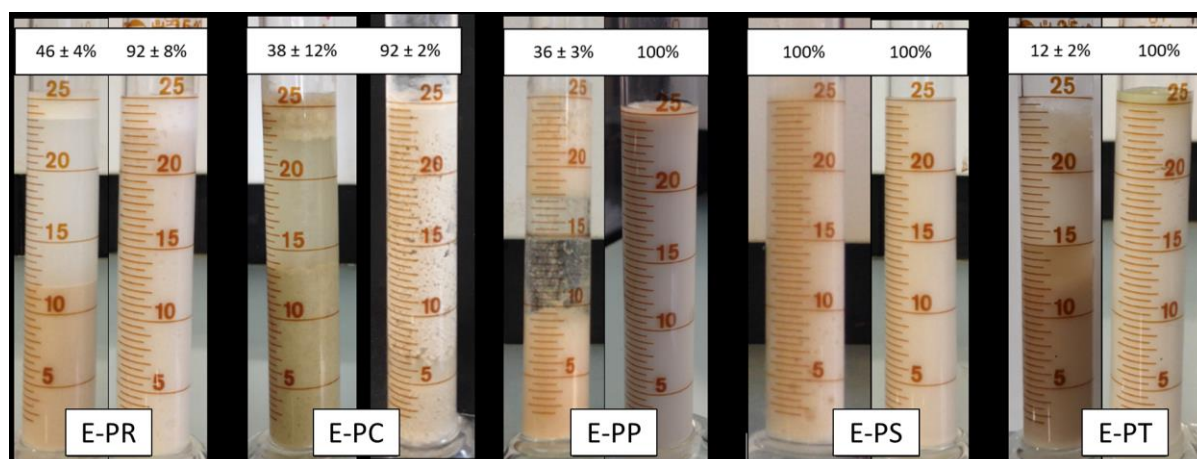
**Figure 3-10** Représentation schématique des phénomènes de déstabilisation d'une émulsion H/E stabilisée par des protéines (A) ; émulsion formulée à partir d'extraits protéiques de riz brun sans optimisation des paramètres d'émulsification et après 24 h de repos (B) et images microscopiques des différentes phases issues de la déstabilisation de l'émulsion (C)

Le premier phénomène de déstabilisation visible concerne la phase dispersée. Sous l'action de la gravité, les gouttelettes de phase huileuse, moins denses que la phase aqueuse, vont avoir tendance à migrer vers le haut si les conditions permettant leur stabilité au sein de l'émulsion ne sont pas respectées (**A** et **B**). Ce phénomène est appelé crémage. En s'accumulant dans la partie supérieure, des contacts entre les différentes gouttelettes vont avoir lieu. L'intervention de forces d'adhésion va entraîner un phénomène de floculation, c'est-à-dire la création d'amas de gouttelettes. Ce phénomène est visible sur l'image microscopique supérieure **C**. En allongeant le temps de repos de l'émulsion, on peut s'attendre à voir apparaître des stades de déstabilisation plus avancés, tels que le mûrissement d'Ostwald ou la coalescence.

Le deuxième phénomène de déstabilisation concerne les protéines. Si les conditions appliquées ne permettent pas de solubiliser l'ensemble des protéines (pH, concentration, conditions de dispersion), les agglomérats vont sédimenter et s'accumuler dans la partie

inférieure de l'éprouvette sous l'influence de la gravité. Ce phénomène est visible sur l'image microscopique inférieure C.

Dans cette étude, la stabilité des émulsions formulées a été évaluée par mesure de l'indice de stabilité de l'émulsion (ESI) (voir description **section II.2.2.3.1**). L'ESI dépend principalement des concentrations des constituants de l'émulsion, des agents émulsifiants utilisés et de la technique d'émulsification appliquée [15]. Afin de valider le protocole d'émulsification, une comparaison de deux procédés a été réalisée. Dans un premier temps, les émulsions ont été préparées par agitation mécanique à l'Ultra-Turrax sans modification du pH des solutions natives. Des valeurs de pH de 5,5, 6,3, 4,9, 7,8 et 6,3 ont été mesurées pour E-PR, E-PC, E-PP, E-PS et E-PT, respectivement. Le deuxième protocole a consisté à effectuer une première agitation mécanique à l'Ultra-Turrax, suivie par deux passages à l'HHP à 400 bars afin de favoriser la dispersion de la phase huileuse. Une modification du pH à 7,8 a également été réalisée afin d'augmenter la solubilité des protéines. Les résultats des ESI des différentes émulsions sont présentés sur la **Figure 3-11**.



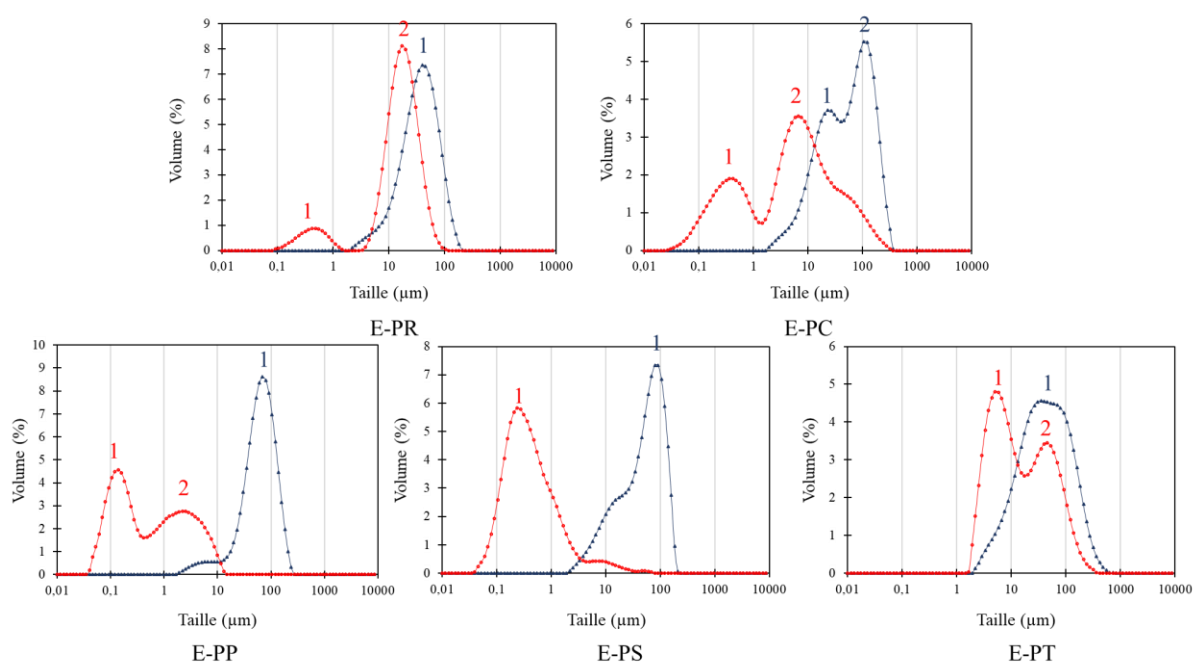
**Figure 3-11** Photos et ESI des émulsions stabilisées à partir des différents extraits protéiques après 24 h de repos. Pour chaque formulation, l'éprouvette de gauche représente l'émulsion formulée par agitation mécanique et l'éprouvette de droite représente la même émulsion mais dont le pH a été ajusté à 7,8 et stabilisée par deux passages à l'HHP à 400 bars

Les résultats montrent une déstabilisation de la quasi-totalité des émulsions formulées par agitation mécanique sans ajustement du pH. Seule E-PS reste parfaitement stable après 24 h de repos. Ce phénomène peut s'expliquer en partie par la plus grande quantité de protéines dans l'extrait (90% w/w) comparativement aux autres échantillons (54-78% w/w) et leur bonne solubilité peut également induire une meilleure stabilisation des gouttelettes d'huile au sein de l'émulsion.

Concernant les émulsions obtenues après optimisation, les ESI mesurées sont comprises entre 92 et 100% après 24 h de repos à température ambiante, démontrant ainsi l'efficacité de ces conditions pour la stabilisation des émulsions. Ainsi, les paramètres d'ajustement (modification du pH et stabilisation par deux passages à l'HHP à 400 bars) ont été appliqués à l'ensemble des émulsions étudiées.

## III.3.2.2.2. Distribution de tailles et viscosité des émulsions

La distribution de tailles des gouttelettes est un paramètre important permettant également de prédire la stabilité d'une émulsion. En effet, des gouttelettes de petite taille seront moins affectées par des phénomènes de déstabilisation. De plus, elles se retrouveront plus efficacement encapsulées au sein des microparticules lors du séchage. Les distributions de tailles des éléments dispersés présents dans les émulsions avant et après traitements d'optimisation sont présentées à la **Figure 3-12**.



**Figure 3-12** Distributions de tailles des éléments dispersés avant (courbes bleues) et après traitements d'optimisation (courbes rouges) des émulsions stabilisées par différents extraits protéiques végétaux

Globalement, on peut constater que l'émulsification par passage à l'HPH et ajustement du pH a permis de réduire significativement la taille des gouttelettes d'huile. Une observation similaire a également été faite par Wang *et al.* (2018) [190] lors de l'étude de l'impact du traitement à l'HPH et de la variation du pH sur la stabilité de lait obtenu à partir de graines de chanvre. En effet, comme expliqué précédemment, la modification du pH permet de s'éloigner du point isoélectrique des protéines et d'augmenter leur solubilité. De plus, la force mécanique intense exercée par le traitement à l'HPH augmente la flexibilité des protéines. Ainsi, lorsque les macromolécules vont atteindre l'interface H/E, elles vont être capables de se déployer en exposant leurs régions hydrophobes au contact de la phase huileuse et de stabiliser l'interface en formant un film autour des gouttelettes. Cependant, dans notre cas, le traitement à l'HPH a également entraîné la formation de distributions polydisperses, à l'exception de E-PS. En plus de la technique d'émulsification utilisée, le type de matériau enrobant a également montré une influence sur la taille des éléments dispersés obtenus. En

effet, le diamètre moyen des populations majoritaires varie entre 0,2 et 22,6  $\mu\text{m}$  pour les différentes émulsions formulées selon les paramètres d'ajustement précédemment sélectionnés (**Tableau 3-3**).

**Tableau 3-3** Distributions de tailles en volume et viscosités des émulsions stabilisées à partir des différents extraits protéiques

| Échantillon | Distribution de tailles ( $\mu\text{m}$ ) |                 |                             |                             | Viscosité apparente à 100 $\text{s}^{-1}$ (mPa.s) |                             |
|-------------|-------------------------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------|
|             | UT*                                       |                 | pH + HHP**                  |                             | UT                                                | pH + HHP                    |
|             | Population 1                              | Population 2    | Population 1                | Population 2                |                                                   |                             |
| E-PR        | 47,3 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>               | -               | 0,5 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>  | 22,6 $\pm$ 0,6 <sup>c</sup> | 10,2 $\pm$ 0,1 <sup>d</sup>                       | 25,0 $\pm$ 1,4 <sup>d</sup> |
| E-PC        | 23,4 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>               | 126,6 $\pm$ 0,8 | 0,5 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>  | 7,6 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>  | 2,0 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>                        | 6,1 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>  |
| E-PP        | 66,0 $\pm$ 1,0 <sup>c</sup>               | -               | 0,2 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>  | 3,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>  | 1,3 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>                        | 3,3 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>  |
| E-PS        | 91,2 $\pm$ 13,5 <sup>d</sup>              | -               | 0,3 $\pm$ 0,1 <sup>ab</sup> | -                           | 210,6 $\pm$ 24,0 <sup>e</sup>                     | 3,3 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>  |
| E-PT        | 67,9 $\pm$ 1,0 <sup>c</sup>               | -               | 7,9 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>  | 67,6 $\pm$ 0,6 <sup>d</sup> | 8,6 $\pm$ 0,8 <sup>c</sup>                        | 12,3 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup> |

<sup>a-d</sup> les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

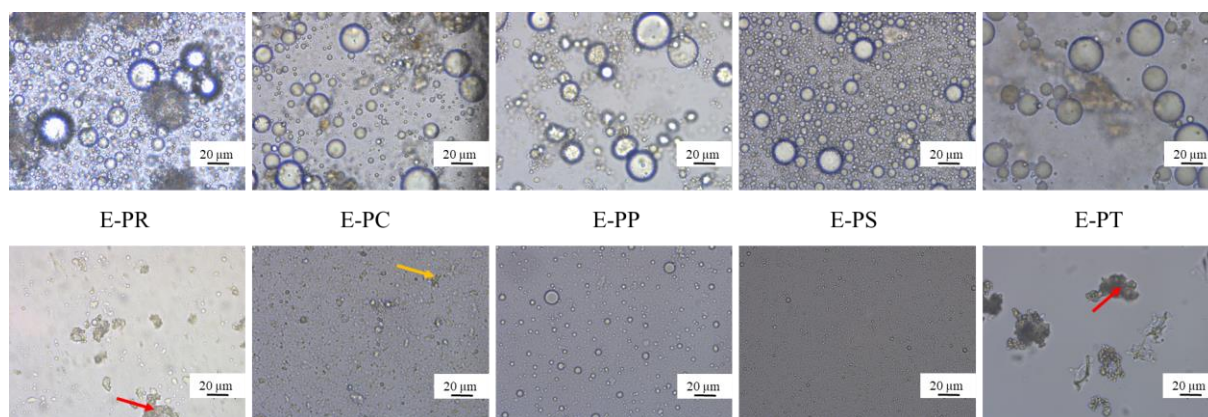
\*UT: émulsions préparées par pré-émulsification à l'Ultra-Turrax

\*\*pH+HHP: émulsions stabilisées par ajustement du pH et passages à l'homogénéisateur à haute pression

Les traitements d'optimisation de l'étape d'émulsification ont été particulièrement efficaces pour la production de E-PS et E-PP. En effet, les diamètres moyens des populations majoritaires sont passés de 91,2 à 0,3  $\mu\text{m}$  et de 66,0 à 0,2  $\mu\text{m}$ , respectivement. Ces résultats sont en accord avec les caractérisations précédentes des extraits protéiques, ayant montré que les protéines de soja et de pois sont les macromolécules les plus solubles à pH 7,8, avec les protéines de chanvre. Lorsque les protéines sont solubilisées dans la phase continue, leur diffusion à l'interface H/E est facilitée. Ainsi, une large surface peut être stabilisée et la taille des gouttelettes est réduite [191]. De plus, la composition en fractions protéiques a également une influence sur les propriétés émulsifiantes des macromolécules. Comme indiqué par le **Tableau 3-3**, les protéines de pois et de soja possèdent une grande quantité de globulines 7S, également appelées vicilines, comparativement aux autres protéines. En effet, les protéines de pois en contiennent environ 30% [192] et les protéines de soja sont constituées de plus de 80% de globulines avec un ratio globulines 7S/11S de 0,5:1,3 dépendant de la variété [70]. Des études ont montré de meilleures propriétés émulsifiantes des globulines 7S comparativement aux globulines 11S en raison de leur plus faible poids moléculaire et de leur meilleure flexibilité [193]. Les globulines 11S possèdent également une structure compacte due à la présence de ponts disulfures la structurant, expliquant ainsi leur moins bonne capacité émulsifiante [70].

Concernant l'émulsion stabilisée à partir de l'extrait protéique de chanvre, le diamètre moyen de la population majoritaire a également été réduit après l'étape d'optimisation, passant de 126,6 à 7,6  $\mu\text{m}$  mais reste significativement plus important que ceux obtenus pour E-PS et E-PP. Cette différence peut s'expliquer par une plus faible quantité de protéines dans l'extrait (54% w/w) malgré leur bonne solubilité à pH 7,8. D'après les données fournisseurs (voir **Tableau 2-1**), l'extrait protéique de chanvre contient une grande quantité de matières grasses (12% w/w), de polysaccharides et de fibres potentiellement insolubles. Ces résidus sont

probablement responsables de la formation d'agrégats visibles sur la **Figure 3-13** (flèche jaune) et de la population 2 du **Tableau 3-3**.



**Figure 3-13** Images microscopiques des différentes émulsions obtenues avant (images du haut) et après traitements d'optimisation (images du bas)

Pour E-PR et E-PT, les traitements d'optimisation ont induit la réduction de la taille des gouttelettes, mais ont également conduit à la formation d'agrégats de gouttelettes (flèches rouges de la **Figure 3-13**). En effet, le traitement à l'HHP entraînant un déploiement des chaînes protéiques, les régions hydrophobes vont se retrouver exposées et augmenter l'hydrophobicité de surface totale de la protéine. Des interactions seront alors possibles entre ces régions, aboutissant à des phénomènes d'agrégation [194]. Etant donné que les protéines de riz brun et de tournesol sont les macromolécules les moins solubles de cette étude, il peut être supposé que leurs chaînes protéiques comportent globalement davantage de régions hydrophobes que les autres protéines. Cette caractéristique pourrait ainsi expliquer pourquoi les phénomènes d'agrégation ne sont visibles que pour les émulsions stabilisées à partir de ces deux extraits protéiques.

La viscosité est également un paramètre important à évaluer pour les formulations destinées à être séchées par le procédé de spray-drying. De faibles viscosités assurent la bonne formation de l'aérosol et donc un séchage efficace des gouttes. Selon les données techniques fournies pour le Mini Spray Dryer Büchi B-290, une nébulisation adéquate est assurée pour des solutions dont la viscosité ne dépasse pas 300 mPa.s [195]. Les viscosités des différentes émulsions sont présentées au **Tableau 3-3**.

Ces résultats nous permettent d'observer deux types de comportements, dépendant des caractéristiques physico-chimiques des protéines utilisées. Pour les macromolécules n'ayant pas entraîné d'importante augmentation de la viscosité lors de leur solubilisation à l'Ultra-Turrax (protéines de riz brun, chanvre, pois et tournesol), le traitement à l'HHP a entraîné une augmentation de la viscosité apparente. En effet, l'apport d'importantes forces mécaniques a conduit à une modification de la structure des protéines avec un déploiement des chaînes, aboutissant à une amélioration de la solubilité et donc à une augmentation de la viscosité de l'émulsion. L'apparition d'agrégats pour E-PR et E-PT permet également d'expliquer pourquoi les viscosités de ces émulsions sont supérieures aux autres formulations.

En effet, leur présence tend à augmenter la résistance à l'écoulement, augmentant ainsi la viscosité apparente des émulsions.

En raison des propriétés structurales des protéines de soja, le comportement de E-PS est différent [196]. Avant les traitements d'optimisation, la viscosité de E-PS était significativement supérieure à celle des autres émulsions. En effet, comme expliqué précédemment, les protéines de soja ont la capacité à former des gels avec une importante capacité de rétention d'eau et sont d'ailleurs souvent utilisées dans l'industrie alimentaire pour cette propriété fonctionnelle [197]. Lors des traitements d'optimisation de l'émulsification, cette viscosité a diminué de façon très importante, passant de 210,6 à 3,3 mPa.s. Song *et al.* (2013) [198] ont également observé que la viscosité de leur solution d'isolats de protéines de soja non homogénéisés était bien supérieure à celle de leur échantillon homogénéisé. Comme expliqué précédemment, l'HHP fournit une énergie supplémentaire au système. Lorsque cette énergie est appliquée à un système gélifié, elle peut entraîner une rupture des interactions faibles de type hydrogène, de Van der Waals et électrostatiques formant le réseau. Ainsi, ce phénomène a conduit à la dégradation de la structure en réseau de l'hydrogel formé par les protéines de soja et donc à l'abaissement de la viscosité de l'émulsion.

Le **Tableau 3-3** montre également une corrélation positive entre la viscosité apparente et la taille des gouttelettes pour les émulsions formulées selon les traitements d'optimisation. E-PP et E-PS ont montré une plus faible viscosité apparente, suivies par E-PC, E-PT et E-PT. Cette corrélation entre viscosité et distribution de tailles des émulsions a également été observée dans d'autres travaux [199,200].

#### III.3.2.2.3. Caractérisation des propriétés interfaciales

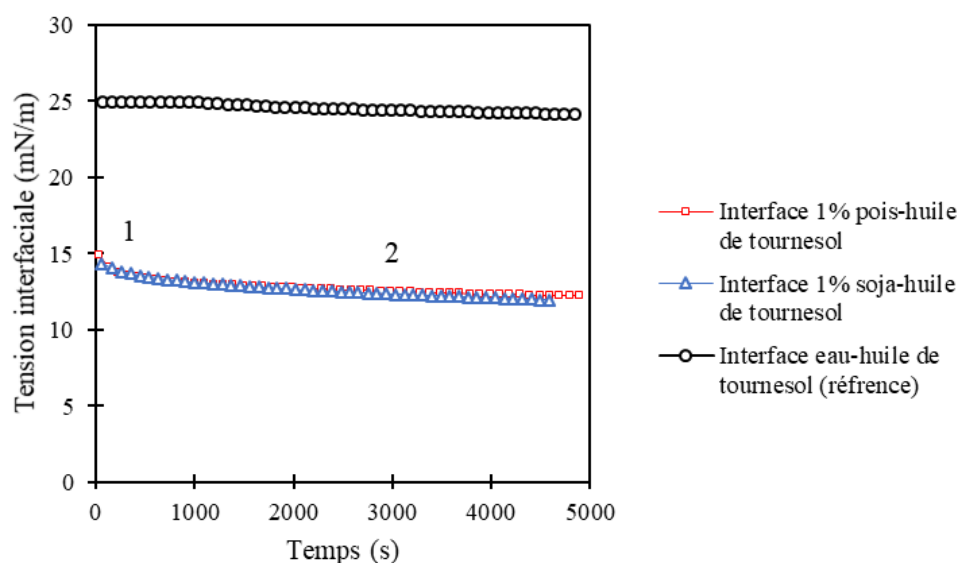
L'étude des propriétés interfaciales permet d'évaluer l'efficacité de diffusion et d'adsorption des protéines aux interfaces H/E, phénomènes intervenant lors de l'étape de séchage par spray-drying.

Les mesures des tensions de surface ont été réalisées selon le protocole décrit à la **section II.2.2.3.5** pour les interfaces stabilisées à partir des macromolécules ayant montré des meilleures propriétés pour la formation des émulsions, les extraits protéiques de pois et de soja.

Les résultats présentés à la **Figure 3-14** montrent une décroissance de la tension de surface en fonction du temps pour les deux courbes. Cette allure est caractéristique des interfaces stabilisées par des protéines. Des études ayant porté sur des mesures de tensions interfaciales pour des interfaces huile végétale/eau stabilisées par des protéines ont montré que le délai d'équilibration de la tension interfaciale était attribué au temps nécessaire des molécules amphiphiles à s'adsorber à l'interface [201,202]. L'équilibration s'effectue alors en deux phases : une décroissance rapide due à la diffusion rapide des protéines à l'interface et une décroissance lente en raison du ralentissement de l'adsorption par la présence d'interactions électrostatiques et stériques à l'interface.

Les courbes de mesure des tensions interfaciales sont très similaires pour les deux échantillons. Cependant, la tension interfaciale légèrement inférieure obtenue avec les extraits protéiques de soja peut être reliée à la plus grande concentration en protéines des extraits de soja (90% w/w) comparativement aux extraits de pois (75% w/w).

Ainsi, l'utilisation d'extraits protéiques de pois et de soja permet de diminuer significativement la tension interface entre l'huile de tournesol et l'eau (24,2 mN/m) à 12,2 et 12,0 mN/m, respectivement. Les protéines de soja et de pois possèdent donc de bonnes propriétés émulsifiantes aux interface H/E expliquant en partie leur bonne efficacité pour la stabilisation des émulsions.



**Figure 3-14** Tensions de surface obtenues en fonction du temps pour des interfaces huile de tournesol-eau contenant des extraits protéiques de pois ou de soja dans la phase aqueuse

### III.3.2.3. Sélection des paramètres d'atomisation

Avant d'effectuer les séchages des différentes émulsions formulées précédemment, la sélection des paramètres de séchage a été réalisée par comparaison de deux conditions. L'émulsion stabilisée par des extraits protéiques de soja (E-PS) a été utilisée pour effectuer cette optimisation, selon le protocole décrit à la **section II.2.2.2.1**.

Les deux conditions d'atomisation sélectionnées sont présentées au **Tableau 3-4**.

**Tableau 3-4** Paramètres d'atomisation testés pour l'optimisation des conditions de séchage

| Condition | Débit de pompage (mL/min) | Température d'entrée (°C) | Température de sortie (°C) |
|-----------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 1         | 6                         | 120                       | 70 ± 2                     |
| 2         | 9                         | 160                       | 90 ± 2                     |

La condition de séchage 1 correspond à des conditions de séchage douces. La température d'entrée choisie (120 °C) est la température minimale permettant d'évaporer efficacement l'eau ( $T_{\text{vap}} = 100$  °C). Elle a été sélectionnée dans un premier temps afin de limiter au maximum les phénomènes de dégradation thermique de la matière active. Afin d'effectuer une évaporation efficace durant le processus, le débit de pompage de l'émulsion initiale a été fixé à 20%, correspondant à 6 mL/min pour l'émulsion utilisée. La condition de séchage 2 correspond à des paramètres fréquemment utilisés dans la littérature pour l'encapsulation d'huiles oxydables par séchage par atomisation [203]. La température d'entrée de 160 °C est plus élevée que pour la condition 1. L'évaporation plus efficace réalisée à cette température permet ainsi d'utiliser un débit de pompage plus important, 30%, correspondant à 9 mL/min pour l'émulsion formulée.

Les résultats issus des caractérisations effectuées sur les poudres obtenues avec les deux conditions sont présentés au **Tableau 3-5**. Ces caractérisations concernent le diamètre moyen en volume des particules ( $d_{4,3}$ ), le taux d'humidité, l'activité de l'eau ( $a_w$ ), l'efficacité d'encapsulation (EE) et le temps d'induction (ou temps de stabilité oxydative) normalisé ( $\Delta IP$ ).

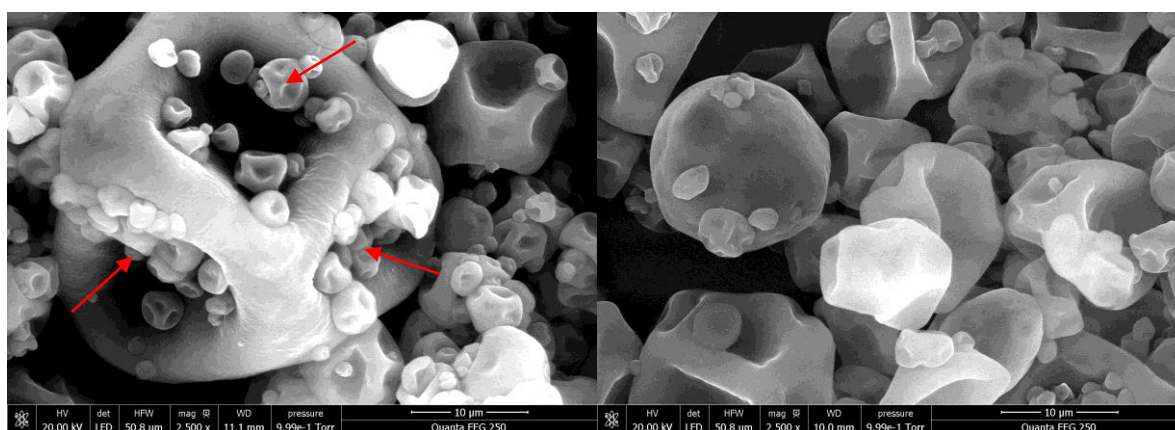
**Tableau 3-5** Résultats obtenus pour la caractérisation des poudres constituées des extraits protéiques de soja et d'huile de tournesol et obtenues avec les conditions de séchage 1 et 2

| Condition | $d_{4,3}$ ( $\mu\text{m}$ ) | Taux d'humidité (%) | $a_w$               | EE (%)       | $\Delta IP$ (h)   |
|-----------|-----------------------------|---------------------|---------------------|--------------|-------------------|
| 1         | $14,6 \pm 0,5^b$            | $3,6 \pm 0,1^b$     | $0,281 \pm 0,015^a$ | $52 \pm 3^a$ | $1,63 \pm 0,45^a$ |
| 2         | $8,9 \pm 0,1^a$             | $1,5 \pm 1,1^a$     | $0,269 \pm 0,008^a$ | $91 \pm 1^b$ | $2,46 \pm 0,44^a$ |

Tout d'abord, les résultats montrent un taux d'humidité inférieur pour les poudres obtenues selon la condition 2. Le taux d'humidité, correspondant à la quantité totale d'eau dans un échantillon, est un paramètre essentiel à la caractérisation des poudres formulées pour des applications alimentaires. Si le taux d'humidité de l'échantillon est élevé, des modifications des propriétés du matériau d'enrobage pourront se produire [204]. Ces changements vont concerner l'augmentation de l'adhésion des microparticules entre elles, pouvant entraîner la formation de ponts entre particules aboutissant à des phénomènes de mottage, de rupture, de relargage et donc d'oxydation de la matière active durant le stockage [205,206,207,208]. Ainsi, malgré l'ajustement du débit de pompage, le séchage effectué selon la condition 1 n'a pas permis d'évaporer l'eau aussi efficacement qu'avec la condition 2.

La valeur du taux d'humidité seule ne suffit pas à prédire la stabilité d'une poudre sèche alimentaire. En effet, des produits possédant le même taux d'humidité ne présenteront pas nécessairement la même périssabilité [209]. L'activité de l'eau ( $a_w$ ) dépend également du taux d'humidité d'un échantillon mais fournit des informations supplémentaires sur l'association de cette eau avec les autres constituants de l'échantillon. Elle rend compte de l'eau libre accessible. C'est cette eau qui sera disponible pour un possible développement microbactérien. En effet, lorsque l'eau est liée aux protéines, par exemple, elle est moins

disponible pour effectuer des réactions chimiques et servir de support au développement de microorganismes. Un extrait protéique similaire ayant été utilisé pour la production de poudres selon les deux conditions de séchage, aucune différence significative n'a été observée pour l' $a_w$  des deux échantillons. En revanche, la meilleure efficacité de séchage réalisée dans les conditions 2 a permis d'augmenter significativement l'EE (passant de 52 à 91%) en raison de l'accélération de la formation de la croûte à la périphérie des gouttes entraînant une meilleure rétention de l'huile à l'intérieur des microparticules. En effet, dans le cas des microparticules comportant un ratio huile/matière enrobante important, comme c'est le cas pour nos formulations, une température de séchage inférieure à 140°C n'est pas recommandée car elle induit des faibles EE [210]. La plus grande quantité d'huile libre en surface ainsi que la plus grande teneur en eau des poudres obtenues avec la condition 1 a également entraîné un diamètre moyen en volume ( $d_{4,3}$ ) plus grand que celui des poudres obtenues avec la condition 2 (14,6 contre 8,9  $\mu\text{m}$ ) en raison de l'agglomération des microparticules de plus petite taille sur les éléments de plus grand diamètre. Ce phénomène est illustré par les flèches rouges de la **Figure 3-15**. De plus, les mesures des  $\Delta\text{IP}$  n'ont pas montré de détérioration thermique de l'huile encapsulée par l'application de la condition 2, comparativement à la condition 1.



**Figure 3-15** Images ESEM de microparticules constituées d'extrait protéique de soja et d'huile de tournesol et obtenues avec les conditions de séchage 1 (gauche) et 2 (droite). Les flèches rouges indiquent la présence d'agglomérats de microparticules.

En raison de l'ensemble des résultats de caractérisation obtenus sur les deux échantillons, la condition 2 (température de séchage de 160 °C et débit de pompage de 9 mL/min) a été retenue pour effectuer les séchages par atomisation de cette étude.

### III.3.3. Caractérisation des microparticules

Dans cette partie, les extraits protéiques de riz brun, chanvre, pois, soja et tournesol seront notés PR, PC, PP, PS et PT, respectivement. Les microparticules formulées à partir de ces mêmes seront notées M-PR, M-PC, M-PP, M-PS et M-PT, respectivement.

## III.3.3.1. Taux d'humidité et activité de l'eau des microparticules

Les taux d'humidité et les  $a_w$  des extraits protéiques végétaux et des microparticules formulées à partir de ces extraits sont présentés dans le **Tableau 3-6**.

**Tableau 3-6** Taux d'humidité et activités de l'eau des extraits protéiques et des microparticules correspondantes

| Echantillons | Taux d'humidité (%) | Activité de l'eau      |
|--------------|---------------------|------------------------|
| PR           | $5,2 \pm 0,8^d$     | $0,240 \pm 0,001^d$    |
| M-PR         | $2,3 \pm 0,1^c$     | $0,142 \pm 0,011^{ab}$ |
| PC           | $8,2 \pm 0,8^e$     | $0,440 \pm 0,076^g$    |
| M-PC         | $2,1 \pm 0,3^{bc}$  | $0,202 \pm 0,022^c$    |
| PP           | $5,8 \pm 0,7^d$     | $0,316 \pm 0,003^f$    |
| M-PP         | $1,4 \pm 0,1^a$     | $0,118 \pm 0,019^a$    |
| PS           | $7,2 \pm 0,7^e$     | $0,272 \pm 0,005^e$    |
| M-PS         | $1,6 \pm 0,1^a$     | $0,269 \pm 0,008^e$    |
| PT           | $7,5 \pm 0,5^e$     | $0,358 \pm 0,004^g$    |
| M-PT         | $2,0 \pm 0,1^b$     | $0,175 \pm 0,028^{bc}$ |

<sup>a-g</sup> les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

Ce tableau nous montre une diminution des taux d'humidité et des activités de l'eau des microparticules, comparativement aux extraits protéiques natifs. Ainsi, le procédé de séchage a permis d'évaporer efficacement l'eau résiduelle contenue dans les matières premières.

De plus, les taux d'eau résiduelle des cinq types de microparticules produites sont faibles (1,5-2,3% w/w). A ce jour, il n'existe pas de spécification du taux d'humidité pour les formulations alimentaires sèches produites à partir de protéines végétales mais il pourrait être intéressant d'étudier les isothermes de sorption de ces poudres afin de déterminer des valeurs seuil garantissant une bonne conservation des échantillons. Les microparticules ayant été obtenues avec les mêmes conditions de séchage, les légères différences observées parmi ces taux d'humidité sont probablement dues à l'affinité des matériaux enrobants pour l'eau et la capacité de diffusivité de cette eau au sein des matrices polymériques. D'autres auteurs [168] ont obtenu des taux d'humidité compris entre 3,90 et 4,25% pour leurs microparticules formulées à partir d'isolats de protéines de pois et d'huile de lin et séchées à 150 °C, montrant ainsi l'influence de la température de séchage sur le taux d'humidité du produit final.

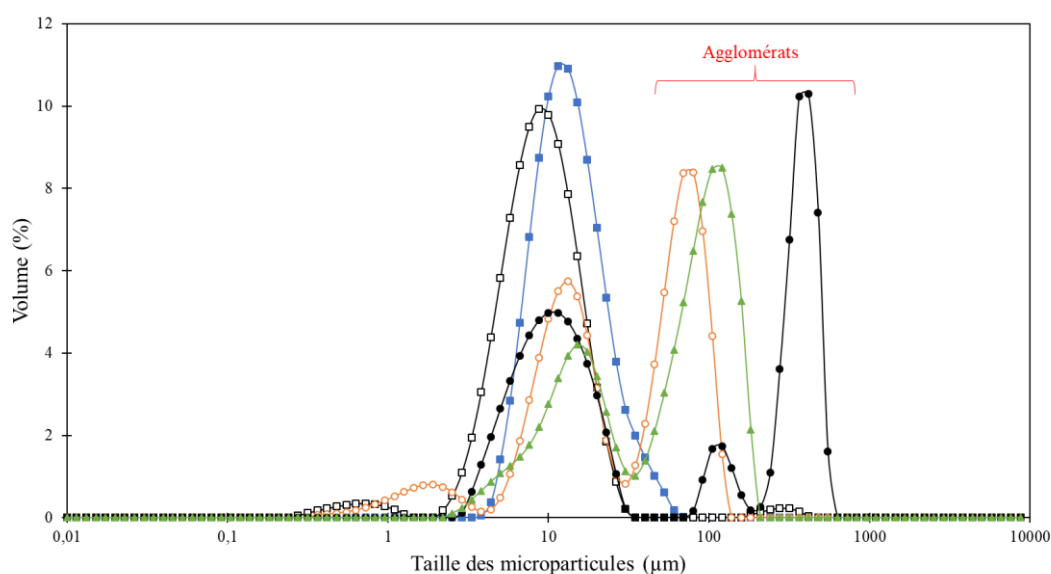
Concernant les mesures d' $a_w$ , les valeurs sont toutes comprises entre 0,118 et 0,269, confirmant l'efficacité de l'évaporation de l'eau durant l'étape de séchage. De plus, ces valeurs permettent d'assurer une bonne conservation des poudres puisqu'elles sont inférieures à la valeur de référence de 0,6 garantissant une stabilité microbiologique [211].

Ces analyses confirment donc que les conditions de séchage appliquées ont permis d'évaporer efficacement le solvant, garantissant ainsi une bonne conservation des microparticules durant le stockage.

## III.3.3.2. Distribution de tailles et morphologies des microparticules

L'évaluation de la taille et de la morphologie générale des poudres est un paramètre fondamental pour l'évaluation de l'efficacité de rétention de la matière active au sein des microparticules.

La **Figure 3-16** montre les distributions de tailles des poudres formulées avec les différents matériaux enrobants.



**Figure 3-16** Distributions volumiques de la taille des microparticules obtenues avec les différents extraits protéiques

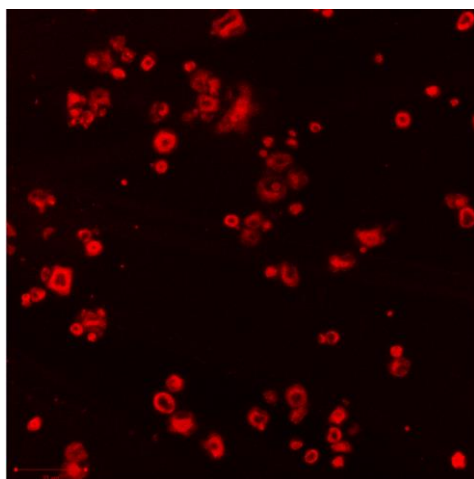
Cette figure montre des variations des profils de distribution entre les différents échantillons. M-PS et M-PP possèdent des populations monodisperses avec des  $d_{4,3}$  de  $8,9 \pm 0,1$  et  $16,3 \pm 3,2$   $\mu\text{m}$ , respectivement, tandis que M-PR, M-PC et M-PT présentent des distributions polydisperses. Les premières populations, apparaissant aux alentours de 10  $\mu\text{m}$ , sont principalement déterminées par le diamètre de la buse d'atomisation utilisée et des gouttes d'aérosol produites [212]. Les autres populations visibles pour M-PR, M-PC et M-PT correspondent à des agglomérats de plusieurs microparticules. La mauvaise solubilité des extraits protéiques de riz brun et de tournesol ainsi que la faible quantité de protéines présentes dans l'extrait protéique de chanvre n'ont pas permis d'encapsuler efficacement l'huile de tournesol au sein des microparticules, aboutissant ainsi à une forte quantité d'huile libre à la surface des microparticules et à l'apparition d'agglomérats.

Des images obtenues par MEBE des poudres produites sont présentées sur la **Figure 3-18**. D'importantes différences morphologiques sont visibles sur cette figure. Ces différences concernent principalement les formes et les structures de surface. Les agglomérations de M-PR, M-PC et M-PT, visibles sur les distributions de tailles présentées **Figure 3-16**, sont

également observables sur les images de MEBE. Les images de M-PR montrent des amas de microparticules possédant des surfaces à forte rugosité. Cette agglomération ne permet pas de distinguer de microparticule individualisée. M-PT possède une surface plus lisse que M-PR mais les microparticules apparaissent également fortement agglomérées. Concernant M-PC, les images montrent une agglomération et la présence de pores à la surface des particules.

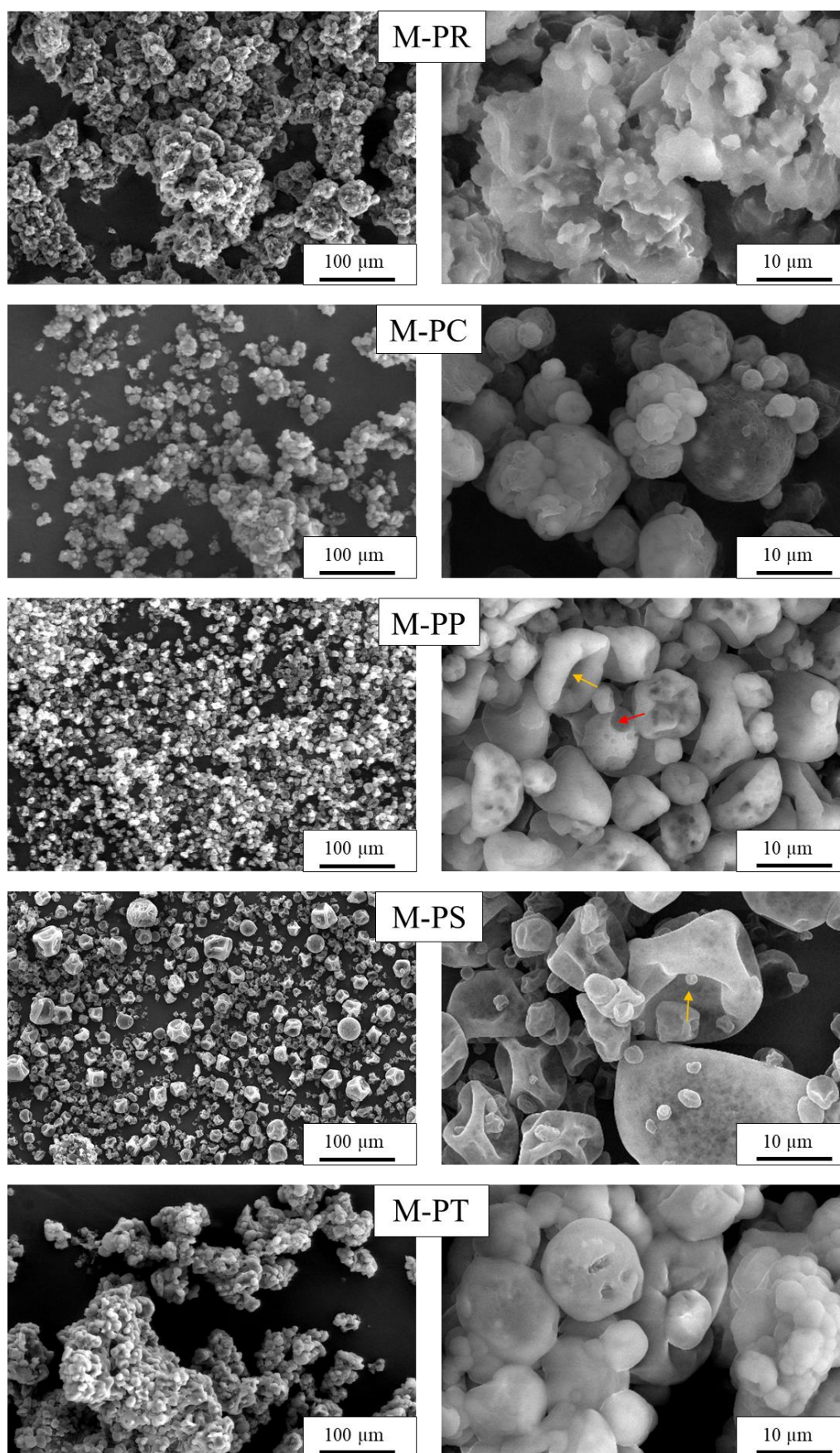
A l'inverse, M-PP et M-PS sont constituées de microparticules bien individualisées dont la taille semble se situer aux alentours des 10  $\mu\text{m}$ , comme observé à la **Figure 3-18**. De plus, leurs surfaces sont lisses, sans fentes ni fissures, observation pouvant prédire une faible perméabilité au gaz et donc d'une bonne protection de l'huile encapsulée au sein des microparticules. Les phénomènes de contraction des microparticules observables pour M-PS et M-PP (flèches jaunes sur la **Figure 3-18**) ont également été décrits par Tang et Li (2013) [161] sur leurs travaux d'encapsulation d'huile de soja dans des matrices d'isolats de protéines de soja. Cette caractéristique proviendrait des propriétés élastiques de la matière enrobante lors du séchage. Selon Gong *et al.* (2016) [213], la formation rapide de la croûte en périphérie de la goutte serait à l'origine de ce phénomène. Une croûte solide se formant rapidement avant l'évaporation de l'eau emprisonnée au sein de la matrice, les microparticules résultantes prendraient la forme de structures « dégonflées ».

Cette structure a également été observée lors des analyses par microscopie confocale (**Figure 3-17**). En effet, le Nile Red, colorant fluorescent marquant des constituants hydrophobes ayant été utilisé initialement pour marquer l'huile en surface, a également entraîné une coloration des régions hydrophobes des extraits protéiques permettant ainsi une observation complète de la surface des microparticules.



**Figure 3-17** Image de M-PS obtenue par microscopie confocale

La rupture d'une microparticule de M-PP permet également d'observer la structure interne des échantillons produits. Il s'agit d'une structure poreuse typique de type microsphère où la matière active est encastrée dans un réseau de matière enrobante sous la forme de gouttelettes. La flèche rouge visible sur la **Figure 3-18** indique la localisation d'une gouttelette d'huile au sein de la matrice enrobante.



**Figure 3-18** Images obtenues par MEBE des différentes microparticules. La flèche rouge indique l'emplacement d'une gouttelette d'huile au sein de la structure microparticulaire et les flèches jaunes montrent les phénomènes de contraction ayant eu lieu lors du séchage

### III.3.3.3. Efficacité d'encapsulation et stabilité oxydative des microparticules

Afin d'évaluer l'efficacité de protection des matières enrobantes sur la stabilité oxydative de l'huile de tournesol, des tests d'oxydation en conditions accélérées à 100 °C ont été réalisés grâce à la méthode Rancimat juste après récupération des poudres. Les temps d'induction (IP) des microparticules ont été comparés à celui de l'huile de tournesol pure (**Tableau 3-7**).

**Tableau 3-7** Temps d'induction (IP), efficacités d'encapsulation (EE) et rendements (Y) d'obtention des microparticules comparés à l'huile de tournesol en batch (contrôle)

| Echantillon                        | IP (h)                    | EE (%)              | Y (%)                |
|------------------------------------|---------------------------|---------------------|----------------------|
| Huile de tournesol pure (contrôle) | 9,50 ± 0,10 <sup>b</sup>  | -                   | -                    |
| M-PP                               | 21,36 ± 0,44 <sup>d</sup> | 88 ± 2 <sup>b</sup> | 57 ± 14 <sup>a</sup> |
| M-PS                               | 12,49 ± 0,38 <sup>c</sup> | 91 ± 1 <sup>b</sup> | 52 ± 17 <sup>a</sup> |
| M-PC                               | 9,72 ± 0,13 <sup>b</sup>  | 89 ± 3 <sup>b</sup> | 56 ± 17 <sup>a</sup> |
| M-PT                               | 7,20 ± 0,28 <sup>a</sup>  | 79 ± 4 <sup>a</sup> | 54 ± 3 <sup>a</sup>  |
| M-PR                               | 6,97 ± 0,07 <sup>a</sup>  | 69 ± 7 <sup>a</sup> | 50 ± 14 <sup>a</sup> |

<sup>a-d</sup> les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes (p < 0,05)

Les résultats obtenus grâce à ces tests montrent un IP de 9,50 h pour le contrôle. Les IP de M-PS et M-PP sont significativement supérieurs à celui de l'huile non-encapsulée. Ils présentent des valeurs de 12,49 et 21,36 h, respectivement. Ces résultats sont donc en accord avec les précédentes observations effectuées sur la solubilité des extraits protéiques, la distribution de tailles des gouttelettes d'émulsion ou encore la morphologie des microparticules. A titre comparatif, des auteurs ayant formulé des microparticules constituées d'un mélange de dextrine et d'isolats de protéines de lait pour la protection d'huile de tournesol, concentrée à 33,2% w/w et enrichies en molécules antioxydantes d'origine végétale, ont obtenu un IP de 16,26 h pour leurs microparticules, contre 7,03 h pour le contrôle, c'est-à-dire un gain de 9,23 h [214]. Ce gain de stabilité oxydative est donc inférieur à celui obtenu avec M-PP (11,86 h), microparticules ayant été formulées sans l'addition de molécules oxydantes ou de polysaccharides et dont la matière active a été concentrée à 50% w/w dans la poudre.

Dans le cas de l'utilisation d'extraits protéiques de chanvre, l'encapsulation n'a pas montré d'amélioration significative sur la stabilité oxydative de l'huile de tournesol, avec un IP de 9,72 h.

Les microparticules formulées à partir des extraits protéiques de tournesol et de riz brun montrent des IP significativement inférieurs à celui de l'huile non encapsulée. Cette diminution de la stabilité oxydative comparativement à l'huile de tournesol pure peut s'expliquer par différents facteurs. Tout d'abord, la transformation de l'huile sous forme de gouttelettes va entraîner une augmentation de la surface de contact et donc une plus grande sensibilité à l'oxydation. De plus, la mauvaise encapsulation réalisée à partir de ces extraits protéiques a conduit à une grande quantité d'huile en surface des microparticules, huile

directement en contact avec le milieu extérieur et ayant subi une chauffe lors du procédé de séchage par atomisation.

Les valeurs d'EE sont en accord avec les observations microscopiques (**Tableau 3-7**). En effet, M-PT et M-PR possèdent des EE significativement inférieures (79 et 69%, respectivement) à celles de M-PP, M-PS et M-PC (93, 91 et 89%, respectivement). La bonne rétention de l'huile de tournesol à l'intérieur de M-PC, M-PS et M-PC permet donc d'expliquer en partie la meilleure stabilité oxydative de ces échantillons.

Concernant les valeurs des rendements d'obtention des différentes microparticules, aucune différence significative n'a été observée. En effet, le mode de récupération étant manuel (la poudre est récupérée par raclage des parois du cyclone et du collecteur), d'importants écarts-types ont été obtenus. Les valeurs moyennes se situent toutes autour des 50%, les importantes pertes étant dues au caractère collant des poudres contenant une forte proportion de matière active hydrophobe.

#### III.3.3.4. Cinétiques de vieillissement

Toutes les huiles et tous les corps gras subissent des phénomènes d'oxydation dans le temps. L'un des objectifs de cette thèse est donc d'augmenter la stabilité oxydative des huiles oxydables lors de l'étape de stockage.

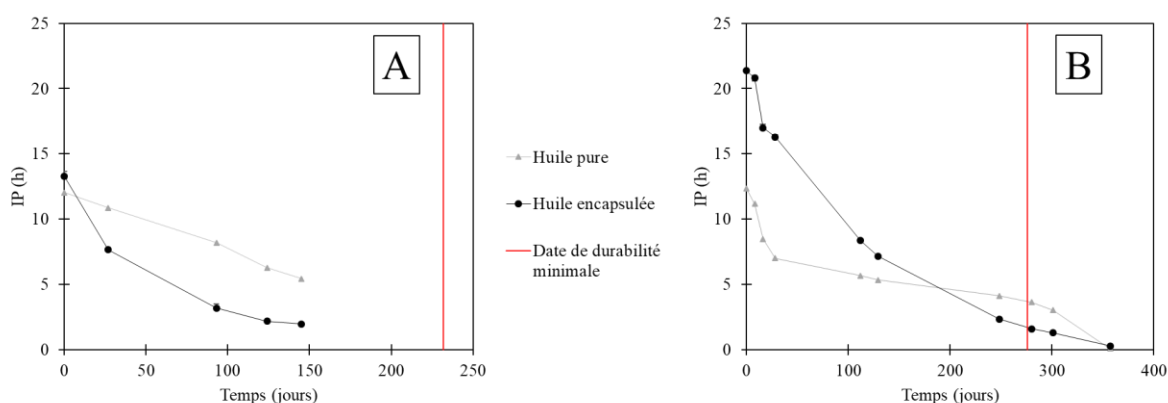
La cinétique de l'oxydation dépend, dans un premier temps, de facteurs intrinsèques, c'est-à-dire du profil en acides gras, de la présence de constituants minoritaires et de la qualité du procédé ayant permis d'obtenir le produit. Dans un second temps, ce sont les facteurs externes qui vont intervenir, tels que la température de stockage, le contact avec l'oxygène atmosphérique et la lumière. L'analyse au Rancimat permet d'obtenir des informations sur le temps de stabilité d'un corps gras. Afin de mesurer les IP à différents temps de stockage, les poudres ayant montré les meilleurs résultats, M-PP et M-PS, ainsi que les huiles pures ayant servi à les formuler, ont été placées à 25 °C pour effectuer les cinétiques de vieillissement par mesure des indices de stabilité oxydative à différents temps. Ainsi, les cinétiques de stabilité oxydative de M-PS et M-PP ont été analysées par prélèvement d'une quantité de poudre à différents temps de stockage (**Figure 3-19**).

Ces résultats montrent une décroissance plus rapide des IP pour les huiles encapsulées, comparativement aux huiles pures. Deux hypothèses permettraient d'expliquer ce phénomène. La première hypothèse consiste à considérer que l'huile est relarguée au cours du stockage, la rendant plus accessible pour les attaques oxydatives. Ainsi la stabilité oxydative aurait tendance à décroître plus rapidement que celle de l'huile de contrôle. La deuxième hypothèse suppose un effet synergique de l'oxydation des extraits protéiques et de l'huile de tournesol, accélérant ainsi l'oxydation de la matière active encapsulée.

L'huile de tournesol encapsulée dans des extraits protéiques de soja ayant montré un IP plus faible que celui de l'huile encapsulée dans des extraits protéiques de pois à  $t_0$ , cette décroissance accélérée a conduit à un croisement des courbes plus précoce pour cet

échantillon. En effet, au bout d'environ 10 jours de stockage, l'huile encapsulée retenue dans M-PS a montré un IP inférieur à celui de l'huile de tournesol pure. Ce croisement se produit au bout d'environ 190 jours de stockage pour l'huile encapsulée dans M-PP, montrant une protection et une rétention de l'huile nettement améliorée par l'utilisation des extraits protéiques de pois, contrairement aux extraits protéiques de soja.

Cependant, on peut voir que, même dans le cas de M-PP, ce croisement se produit avant la date de durabilité minimale indiquée sur la bouteille d'huile (marque rouge de la **Figure 3-19**), ce qui montre que les encapsulations n'améliorent pas suffisamment la stabilité oxydative de l'huile de tournesol sur le long terme.



**Figure 3-19** Stabilités oxydatives de l'huile de tournesol encapsulée dans des extraits protéiques de soja (A) et dans des extraits protéiques de pois (B) (courbes noires) et comparées à la stabilité oxydative de l'huile de tournesol ayant servi à formuler les microparticules (courbes grises)

De plus, malgré une bonne répétabilité des résultats obtenus et la facilité d'utilisation de la méthode Rancimat, les études en vieillissement nous ont amené à remettre en question la fiabilité de cette technique pour la prédiction de la stabilité oxydative à  $t_0$  de corps gras présents dans des systèmes complexes. En effet, cette analyse ne prend pas en compte certains phénomènes tels que le relargage lors du stockage et son influence sur le temps de stabilité. Elle semble donc davantage adaptée à l'étude et à la comparaison de composés sous leur forme pure. En effet, une fois le corps gras introduit dans des formulations alimentaires, cette relation n'est plus linéaire [215]. Cependant, contrairement aux méthodes de mesure de l'indice de peroxyde, l'analyse au Rancimat ne nécessite pas d'extraction de l'huile encapsulée, étape pouvant entraîner des risques de détérioration de la matière active et permet ainsi de tester la stabilité oxydative du composé directement sur la poudre. Ainsi, il a été décidé de continuer l'analyse au Rancimat pour la suite des tests, en complétant les mesures à  $t_0$  ainsi par des analyses après différents temps de stockage.

#### III.3.4. Application à l'huile de lin

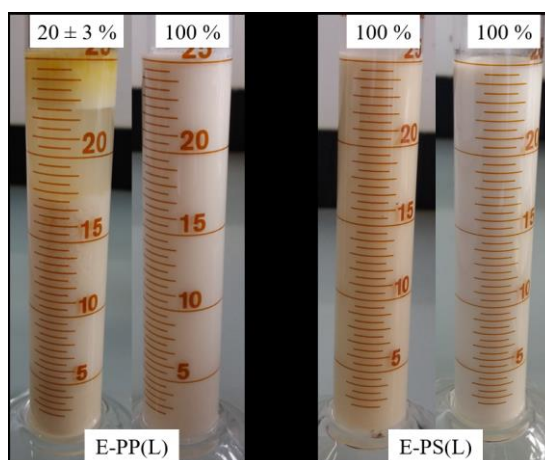
L'huile de tournesol est une huile végétale riche en AGPI de type  $\omega$ -6. La quasi-totalité des AGPI la constituant sont des acides linoléiques (LA). Afin d'évaluer l'effet de l'encapsulation

sur une matière active riche en AGPI de type  $\omega$ -3, de l'huile de lin a été utilisée pour réaliser des microencapsulations similaires à celle de l'huile de tournesol, c'est-à-dire en utilisant des matrices enrobantes constituées d'extraits protéiques de pois et de soja.

#### III.3.4.1. Caractérisations des émulsions

Dans cette partie, les émulsions formulées à partir d'huile de lin et d'extraits protéiques de pois et de soja seront notées E-PP(L) et E-PS(L), respectivement.

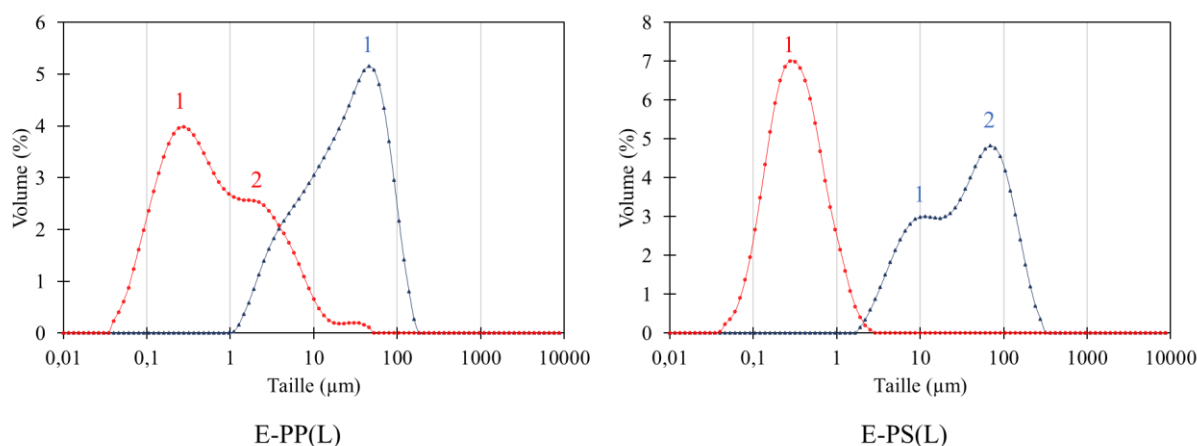
Les résultats des ESI de E-PP(L) et E-PS(L) sont présentés sur la **Figure 3-20**.



**Figure 3-20** Photos et ESI des émulsions formulées à partir d'huile de lin et d'extraits protéiques de pois (E-PP(L)) et de soja (E-PS(L)). Pour chaque formulation, l'éprouvette de gauche représente l'émulsion formulée par agitation mécanique et l'éprouvette de droite représente la même émulsion mais dont le pH a été ajusté à 7,8 et stabilisée par deux passages à l'HHP à 400 bars

Concernant les émulsions formulées par agitation mécanique à l'Ultra-Turrax, les résultats montrent une déstabilisation de E-PP(L) et une parfaite stabilité de E-PS(L) après 24 h de repos. Ces résultats sont donc en accord avec ceux obtenus pour les émulsions formulées à partir d'huile de tournesol. Dans le cas des émulsions obtenues après traitements d'optimisation, les ESI mesurées sont égales à 100% après 24 h de repos à température ambiante, démontrant ainsi l'efficacité des conditions préalablement définies pour l'émulsification d'huile de tournesol. Cette figure nous permet également d'observer un éclaircissement des émulsions obtenues après traitements d'optimisation, phénomène typique d'une diminution de la taille des gouttelettes dispersées.

Le changement de distribution de tailles des gouttelettes entre les deux procédés est présenté à la **Figure 3-21**.



**Figure 3-21** Distributions de tailles des éléments dispersés présents dans les émulsions avant (courbes bleues) et après traitements d'optimisation (courbes rouges)

De la même manière que pour les émulsions formulées à partir d'huile de tournesol, l'émulsification par passage à l'HHP a permis de réduire significativement la taille des populations de E-PP(L) et E-PS(L). Les distributions sont similaires à celles obtenues pour E-PP et E-PS (**Figure 3-13**). En effet, les diamètres des populations majoritaires sont passées de 36,5 à 0,3  $\mu\text{m}$  et de 84,3 à 0,5  $\mu\text{m}$  pour E-PP(L) et E-PS(L), respectivement (**Tableau-3-8**).

La réduction de la taille des gouttelettes est également visible sur la **Figure 3-22**.

Les viscosités des émulsions sont également présentées au **Tableau 3-8**. Tout comme les émulsions formulées à partir d'huile de tournesol, les traitements d'optimisation ont permis d'obtenir des émulsions de très faibles viscosités comprises 2 et 5 mPa.s garantissant une bonne formation de l'aérosol lors du procédé de séchage. Ces traitements ont été particulièrement efficaces pour la réduction de la viscosité de E-PS(L), passant de 281,0 à 2,3 mPa.s.

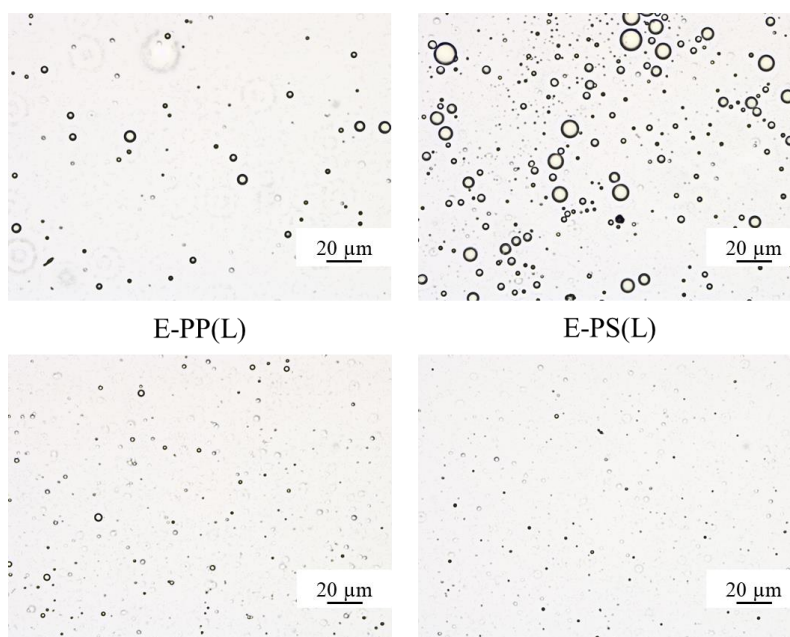
**Tableau 3-8** Distributions de tailles en volume et viscosités des émulsions stabilisées à partir d'huile de lin et des extraits protéiques de pois (E-PP(L)) et de soja (E-PS(L))

| Echantillon | Distribution de tailles ( $\mu\text{m}$ ) |              |                            |               | Viscosité apparente à 100 s <sup>-1</sup> (mPa.s) |                            |
|-------------|-------------------------------------------|--------------|----------------------------|---------------|---------------------------------------------------|----------------------------|
|             | UT*                                       |              | pH + HHP**                 |               | UT                                                | pH + HPH                   |
|             | Population 1                              | Population 2 | Population 1               | Population 2  |                                                   |                            |
| E-PP(L)     | 36,5 $\pm$ 1,7 <sup>b</sup>               | -            | 0,3 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup> | 3,2 $\pm$ 0,3 | 6,0 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>                        | 4,2 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup> |
| E-PS(L)     | 10,1 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>               | 84,3         | 0,5 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup> | -             | 281,0 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>                      | 2,3 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup> |

<sup>a-d</sup> les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

\*UT: émulsions préparées par pré-émulsification à l'Ultra-Turrax

\*\*pH+HPH: émulsions stabilisées par ajustement du pH et passages à l'homogénéisateur à haute pression

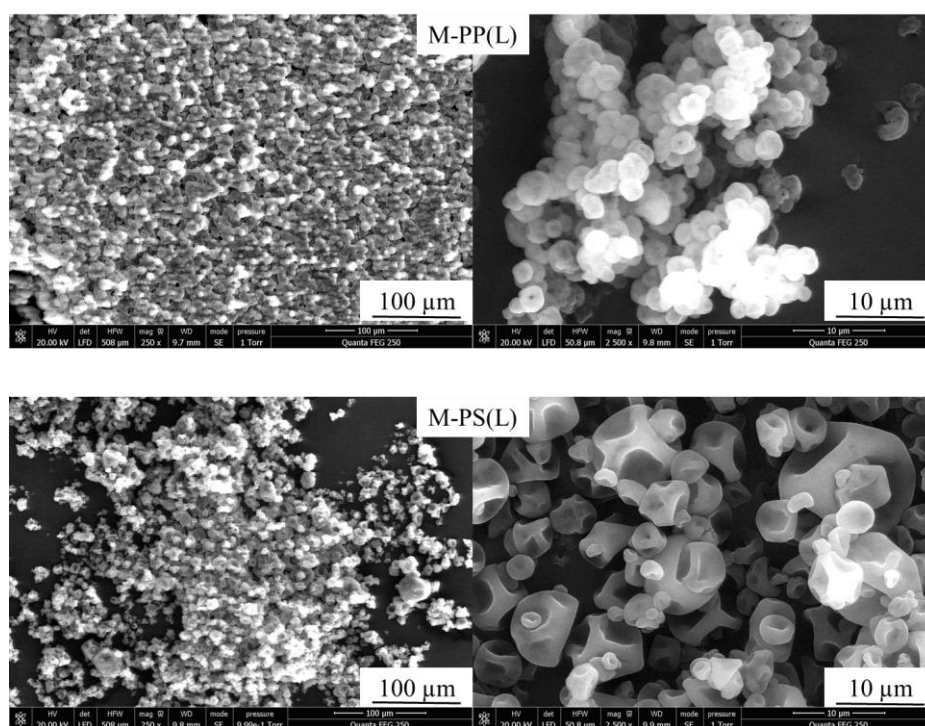


**Figure 3-22** Images microscopiques des émulsions obtenues avant (images du haut) et après traitements d'optimisation (images du bas)

#### III.3.4.2. Caractérisations des microparticules

Dans cette partie, les microparticules formulées à partir d'huile de lin et d'extraits protéiques de pois et de soja seront notées M-PP(L) et M-PS(L), respectivement.

Des images obtenues par MEBE sont présentées à la **Figure 3-23**.



**Figure 3-23** Images obtenues par MEBE des différentes microparticules

Les structures externes de M-PP(L) et M-PS(L) sont très similaires à celles observées pour M-PP et M-PS (**Figure 3-18**). En effet, elles sont constituées de microparticules dont les surfaces sont lisses, sans fentes ni fissures, observation pouvant prédire une faible perméabilité au gaz et donc d'une bonne protection de l'huile encapsulée au sein des microparticules. La contraction de M-PS(L) est également visible sur cette image. En revanche, un phénomène d'agglomération est visible pour M-PP(L). En effet, l'analyse MEBE ayant été effectuée plusieurs semaines après la formulation de la poudre, un relargage d'huile a eu lieu et a entraîné l'apparition d'amas de microparticules.

Afin d'évaluer l'efficacité de protection des matières enrobantes sur la stabilité oxydative de l'huile de lin, des tests d'oxydation en conditions accélérées à 100 °C ont également été réalisés grâce à la méthode Rancimat juste après la récupération des poudres. Les temps d'induction (IP) des microparticules ont été comparés à celui de l'huile de lin pure (**Tableau 3-9**).

**Tableau 3-9** Temps d'induction des microparticules comparées à l'huile de lin en batch (contrôle)

| Echantillon                  | IP (h)                    |
|------------------------------|---------------------------|
| Huile de lin pure (contrôle) | 3,83 ± 0,01 <sup>a</sup>  |
| M-PP(L)                      | 18,79 ± 0,36 <sup>c</sup> |
| M-PS(L)                      | 17,38 ± 0,14 <sup>b</sup> |

<sup>a-c</sup> les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

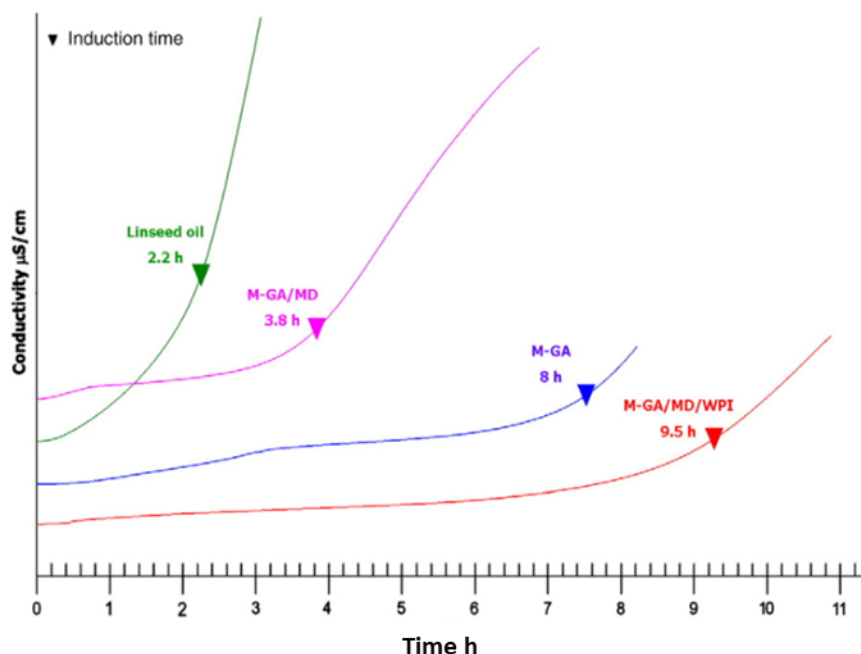
Les résultats obtenus grâce à ces tests montrent un IP de 3,83 h pour le contrôle. La valeur du temps d'induction de l'huile de lin pure est donc nettement inférieure à celle de l'huile de tournesol ( $9,50 \pm 0,10$  h). En effet, l'AGPI majoritaire de l'huile de lin est de type  $\omega$ -3, l'acide  $\alpha$ -linoléinique (ALA), elle en contient environ 50% w/w. Hors, la position et le nombre d'insaturations présentes sur la chaîne aliphatique de cet acide gras rendent l'huile de lin plus sensible aux attaques oxydatives, ce qui explique pourquoi son IP est nettement inférieur à celui de l'huile de tournesol.

Concernant les microparticules, la protection par les extraits protéiques de pois et de soja a permis d'augmenter significativement l'IP de l'huile de lin, avec des valeurs de 18,79 et 17,38 h, respectivement. De la même manière que pour l'encapsulation d'huile de tournesol, l'utilisation des extraits protéiques de pois a montré une meilleure efficacité que celles des extraits protéiques de soja.

Ces valeurs d'IP sont nettement supérieures à celles retrouvées dans la littérature pour l'encapsulation d'huile de lin par séchage par atomisation.

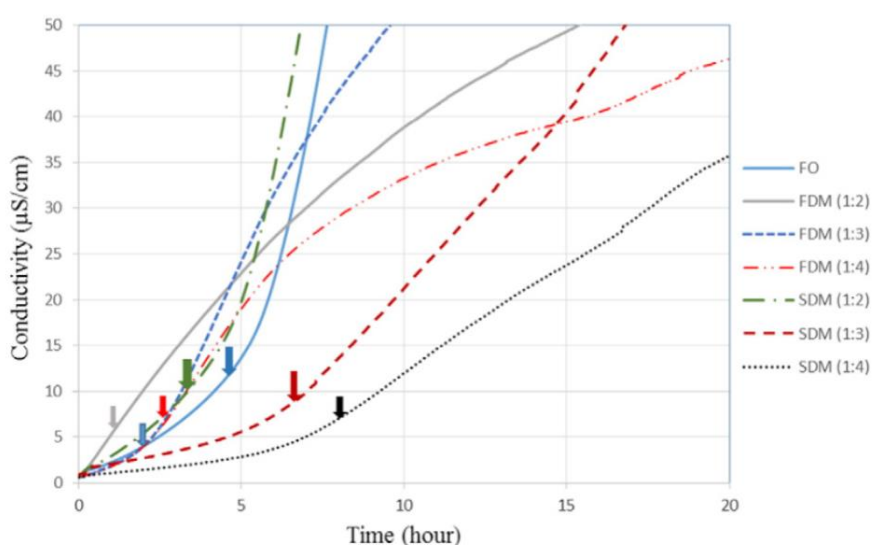
Les résultats obtenus au Rancimat par Gallardo *et al.* (2013) [216] pour les microparticules formulées à partir d'huile de lin (linseed oil) et de gomme arabique (M-GA), d'un mélange de gomme arabique et de maltodextrine (M-GA/MD) ou d'un mélange de gomme arabique, de maltodextrine et d'isolat de protéines de blé (M-GA/MD/WPI) sont présentés à la **Figure 3-24**. Cette figure montre que l'ensemble des microparticules formulées présentent

des IP inférieurs à ceux obtenus pour nos formulations. En calculant les valeurs normalisées d'IP par rapport à la valeur de référence ( $\Delta IP$ ), on obtient 1,6, 5,8 et 7,3 h pour les trois formulations, contre 13,55 et 14,96 h pour M-PS(L) et M-PP(L), respectivement.



**Figure 3-24** Courbes d'oxydation obtenues par tests accélérés au Rancimat à 100 °C pour différents échantillons d'huile de lin encapsulée et comparés à de l'huile de lin pure [216]

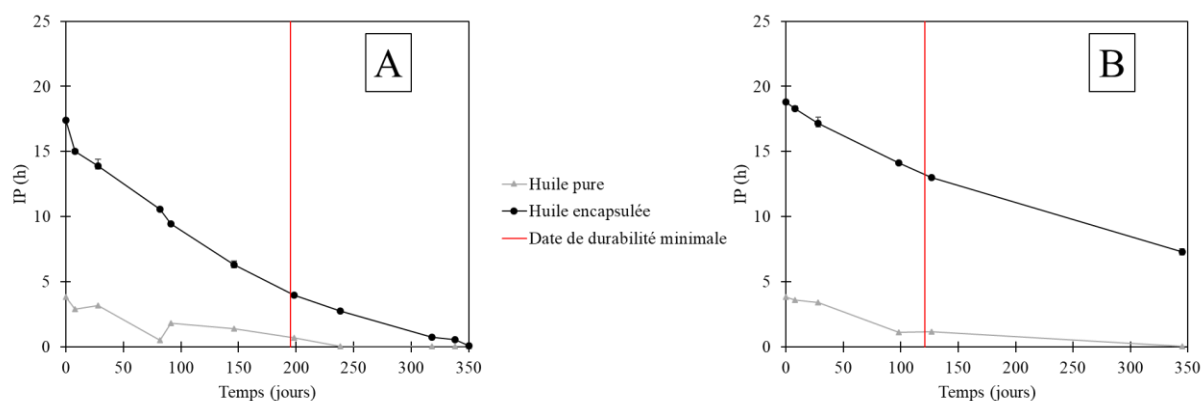
Une autre étude a testé l'encapsulation par freeze-drying (FDM) et spray-drying (SDM) d'huile de lin dans différents ratios de protéine et de gomme de lin (**Figure 3-25**) [170].



**Figure 3-25** Courbes d'oxydation obtenues par tests accélérés au Rancimat à 90 °C pour différents échantillons d'huile de lin encapsulée et comparés à de l'huile de lin pure [170]

Cette figure montre que l'ensemble des microparticules possède des IP inférieurs à 10 h, avec un contrôle (FO) d'environ 4,5 h. Quatre poudres formulées sur les six présentent même des IP inférieurs à ceux du contrôle. Ces valeurs sont donc également nettement inférieures à celles que nous avons obtenues dans cette étude.

Par la suite, les échantillons ont été placés en stockage afin de réaliser les tests en vieillissement. Les stabilités oxydatives de ces deux poudres sont présentées à la **Figure 3-26**.



**Figure 3-26** Stabilités oxydatives de l'huile de lin encapsulée dans des extraits protéiques de soja (A) et dans des extraits protéiques de pois (B) (courbes noires) et comparées à la stabilité oxydative de l'huile de lin ayant servi à formuler les microparticules (courbes grises)

A partir de ces graphes, on peut voir que l'huile de lin est totalement oxydée au bout de 100 jours environ, contrairement à l'huile de tournesol qui s'oxyde de façon beaucoup plus tardive. Cette différence se traduit également par une date de durabilité minimale plus précoce (droites rouges).

Concernant l'huile encapsulée, on observe une décroissance moins rapide du temps de stabilité oxydative de l'huile de lin comparativement à l'huile de tournesol.

En comparant les deux échantillons, on peut également observer une décroissance ralentie de la production de composés volatiles issus de l'oxydation de l'huile encapsulée dans des extraits protéiques de pois, comparativement à l'huile protégée par les extraits protéiques de soja. Une observation similaire avait été faite dans la cadre de l'encapsulation d'huile de tournesol.

Les résultats obtenus montrent donc une meilleure stabilité oxydative de l'huile de lin encapsulée, comparativement à l'huile de tournesol. Le procédé développé semble donc particulièrement adapté à la protection d'huiles très sensibles à l'oxydation. Concernant la comparaison de l'efficacité des deux extraits protéiques, les extraits protéiques de pois ont montré une meilleure protection à  $t_0$  ainsi qu'en stockage, à la fois pour l'huile de tournesol et pour l'huile de lin.

## III.4. Conclusions

Ce premier chapitre de résultats et discussion avait pour objectif d'étudier deux procédés d'encapsulation pour la protection d'huiles végétales riches en AGPI.

Dans un premier temps, des sphérifications par gélification d'alginate de sodium ont été réalisées afin de produire des billes micrométriques. L'utilisation de ce procédé innovant a nécessité la mise en place de différents montages expérimentaux ayant conduit à la production des billes de morphologies variables. Malgré des premiers résultats prometteurs, les difficultés rencontrées ainsi que le manque de temps ont conduit à la focalisation de cette étude sur un autre procédé d'encapsulation, le séchage par atomisation.

Ainsi, la première partie de cette étude avait pour objectif de fournir une analyse comparative de l'utilisation de cinq extraits protéiques végétaux pour l'encapsulation d'huiles végétales riches en AGPI par séchage par atomisation afin d'en améliorer la stabilité oxydative. Les microparticules obtenues ont montré de faibles taux d'humidité et de faibles activités de l'eau, validant les conditions de séchage appliquées pour leur obtention et garantissant leur bonne conservation. Ces résultats ont également montré que la nature de l'extrait protéique utilisé avait une grande influence sur la stabilité oxydative de l'huile encapsulée. Un récapitulatif de l'efficacité de ces cinq extraits protéiques sur les différents paramètres évalués dans cette partie est présenté au **Tableau 3-10**.

**Tableau 3-10** Résumé de l'efficacité des extraits protéiques sur l'ensemble des paramètres évalués dans cette étude

| Paramètres                                  | Extraits protéiques issus des graines de |         |      |      |           |
|---------------------------------------------|------------------------------------------|---------|------|------|-----------|
|                                             | Riz brun                                 | Chanvre | Pois | Soja | Tournesol |
| <b>Caractérisations des extraits purs</b>   |                                          |         |      |      |           |
| Composition en fractions protéiques         | -                                        | ±       | +    | +    | ±         |
| Solubilité                                  | -                                        | +       | +    | +    | -         |
| <b>Caractérisations des émulsions</b>       |                                          |         |      |      |           |
| Stabilité                                   | ±                                        | +       | +    | +    | +         |
| Distribution de tailles                     | -                                        | -       | +    | +    | -         |
| <b>Caractérisations des microparticules</b> |                                          |         |      |      |           |
| Taux d'humidité et activité de l'eau        | +                                        | +       | +    | +    | +         |
| Morphologie                                 | -                                        | ±       | +    | +    | -         |
| Stabilité oxydative                         | -                                        | ±       | +    | +    | -         |

Note: + effet positif sur le paramètre, - effet négatif sur le paramètre, ± effet acceptable sur le paramètre

Les informations apportées par ce tableau montrent que les extraits protéiques de pois et de soja sont des matériaux adaptés à l'encapsulation et à la protection d'huiles oxydables. Grâce à l'étude des cinétiques de vieillissement, l'utilisation des extraits protéiques de pois a montré une efficacité nettement supérieure à celle des extraits protéiques de soja pour l'encapsulation d'huiles alimentaires oxydables. C'est donc cet extrait qui a été retenu pour effectuer la suite des essais. En effet, son utilisation a montré une protection particulièrement efficace pour l'encapsulation d'huile hautement sensible à l'oxydation, telle que l'huile de lin. Concernant la protection d'huile de tournesol, des résultats très prometteurs ont été obtenus, nécessitant néanmoins un renforcement de la matrice protectrice par l'addition d'un composé d'enrobage secondaire afin de ralentir les phénomènes de relargage et de maintenir une bonne protection lors du stockage. Ainsi, l'étude de l'addition de différents polysaccharides en tant que matière enrobante secondaire fera donc l'objet du prochain chapitre de ce manuscrit.

# Chapitre IV.

## Renforcement de la matrice enrobante par l'utilisation de polysaccharides



### IV.1. Préambule

Dans le cas de l'encapsulation de matières actives hydrophobes par le procédé de séchage par atomisation, un matériau enrobant efficace doit posséder des propriétés émulsifiantes et de formation de film performantes. De plus, il ne doit pas induire d'augmentation trop importante de la viscosité afin que l'émulsion initiale puisse être correctement séchée. Des matériaux possédant l'ensemble de ces caractéristiques sont rares.

Dans le chapitre précédent, nous avons vu que les protéines de pois (et dans une moindre mesure les protéines de soja) sont des matériaux efficaces pour l'encapsulation d'huiles végétales riches en AGPI, et plus particulièrement pour les huiles riches en AG de type  $\omega$ -3, telle que l'huile de lin. Ces performances ont été reliées aux propriétés émulsifiantes efficaces de ces biopolymères. Cependant, leur capacité de formation de films mériterait d'être améliorées dans le cas de l'encapsulation d'huiles riches en AGPI de type  $\omega$ -6. En effet, une perte d'efficacité a été observée lors du stockage, en raison d'une croûte relativement perméable ayant probablement entraîné au relargage de la matière active au fil du temps. D'après la littérature, les polysaccharides ne peuvent pas être utilisés sans l'ajout d'additifs en raison de leurs faibles propriétés interfaciales, mais leur combinaison avec d'autres biopolymères ou molécules tensioactives permet de modifier les propriétés de formation de la croûte et d'augmenter la concentration en matière solide sans trop augmenter la viscosité des émulsions, conduisant ainsi à une meilleure protection de la matière active [210]. De plus, l'utilisation de certains polysaccharides à faibles poids moléculaires peut conduire à une modification de la température de transition vitreuse de la matrice enrobante et une accélération de la formation de la croûte en périphérie des gouttes produites lors du procédé de séchage par atomisation [203,218]. En effet, l'efficacité de la combinaison entre protéines et polysaccharides a été démontrée et l'utilisation de certaines combinaisons a parfois permis d'améliorer les performances de protection de matières actives par le procédé de séchage par atomisation [203].

Ainsi, dans la première partie de ce chapitre, un essai préliminaire a été réalisé en utilisant un biopolymère possédant à la fois une structure polysaccharidique et une fraction protéique liées de façon covalente, la gomme arabique (GA), comme matériau enrobant pour l'encapsulation d'huile de tournesol. En effet, les gommes, et plus particulièrement la GA, sont très utilisées pour la microencapsulation de matières actives hydrophobes en raison de leur structure particulière leur conférant des propriétés de formation de films et de stabilisation d'émulsions.

Dans une deuxième partie, l'extrait protéique le plus efficace, c'est-à-dire l'extrait protéique de pois, a été utilisé en association avec différents polysaccharides afin de renforcer les propriétés filmogènes de la matrice enrobante. Ainsi, quatre polysaccharides possédant des propriétés variées ont été étudiés : il s'agit de l'alginate de sodium, de l'inuline, de la maltodextrine et de la pectine.

La dernière partie de ce chapitre concerne l'optimisation des conditions d'incorporation du polysaccharide ayant montré les meilleurs effets sur l'amélioration de la stabilité oxydative de l'huile de tournesol.

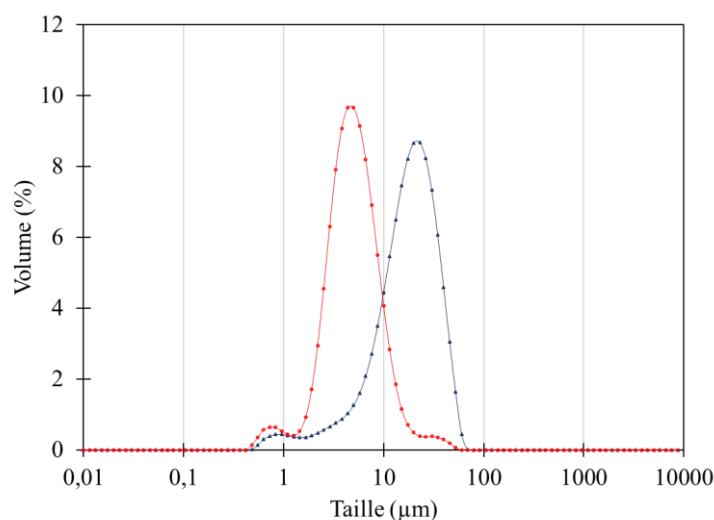
### IV.2. Test préliminaire d'utilisation de la gomme arabique

L'émulsion et la poudre formulées à partir de gomme arabique (GA) et d'huile de tournesol seront notées E-GA et M-GA, respectivement.

#### IV.2.1. Caractérisations de l'émulsion

Dans cette partie, des concentrations de 10% w/v de GA et d'huile de tournesol ont été utilisées afin d'obtenir un ratio matière enrobante/matière active de 1:1 identique à celui retenu pour les émulsions formulées à partir des extraits protéiques purs.

Des conditions d'homogénéisation similaires à celles réalisées dans le cadre du précédent chapitre ont été utilisées pour produire les émulsions. Ainsi, une pré-émulsion a été réalisée par mélange des deux phases à l'UT, suivie par une homogénéisation à l'HHP sur deux passages à 400 bars. Ici, le pH de la solution de matière enrobante n'a pas été modifié. En effet, la GA étant un dérivé polysaccharidique, elle possède une bonne solubilité sur une large gamme de pH, contrairement aux protéines. Le pH obtenu pour cette solution était donc de 4,79. Les distributions de tailles des émulsions sont présentées à la **Figure 4-1**.



**Figure 4-1** Distributions de tailles des gouttelettes d'émulsion de E-GA par homogénéisation à l'UT (courbe bleue) et après traitement à l'HHP (courbe rouge)

Les résultats obtenus nous montrent des distributions de tailles relativement unimodales. De plus, le traitement à l'HHP semble être efficace pour réduire la taille des gouttelettes d'huile dispersée stabilisées par de la GA. En effet, le  $d_{4,3}$  passe de  $21,5 \pm 0,7$  à  $6,5 \pm 0,1$  µm. En revanche, la taille des gouttelettes obtenues après traitement à l'HHP est significativement

supérieure à la population majoritaire obtenue pour E-PP ( $0,2\ \mu\text{m}$ ), suggérant des propriétés émulsifiantes moins efficaces pour la GA, comparativement aux protéines de pois.

Concernant les données rhéologiques, E-GA a montré une faible viscosité apparente à  $100\ \text{s}^{-1}$ , pouvant prédire une bonne formation de l'aérosol durant le procédé de séchage. Le traitement à l'HHP a également conduit à une diminution de cette viscosité, passant de  $2,2 \pm 0,1$  à  $1,5 \pm 0,1\ \text{mPa.s}$ .

En réponse à ces résultats, le traitement à l'HHP a été appliqué à l'émulsion destinée à être séchée afin de réduire la taille des gouttelettes dispersées et ainsi améliorer l'efficacité de rétention de l'huile au sein des microparticules.

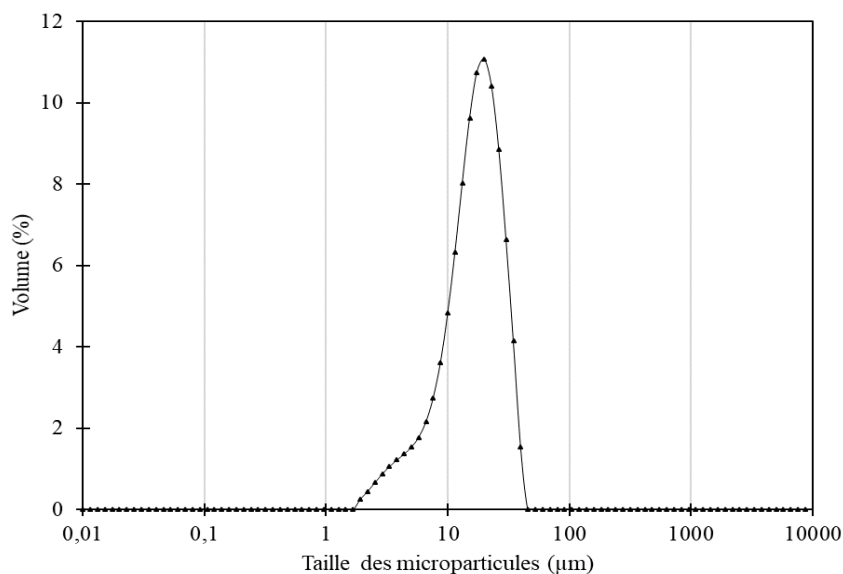
### IV.2.2. Caractérisations des microparticules

Les valeurs de rendement, de taux d'humidité, de distribution de tailles, d'efficacité d'encapsulation (EE) et de temps de stabilité oxydative normalisé ( $\Delta\text{IP}$ ) pour la production de M-GA ont été obtenues lors des caractérisations.

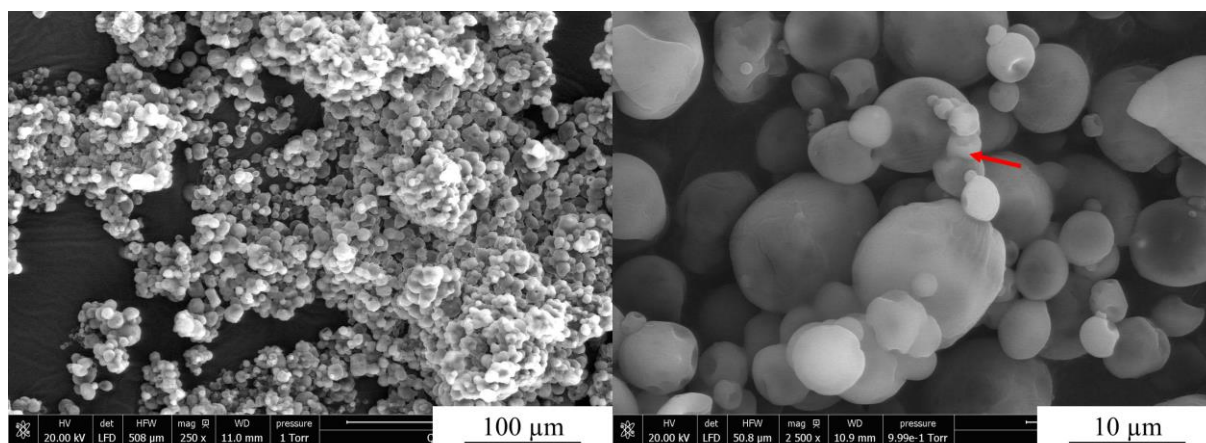
L'EE de M-GA ( $69 \pm 5\%$ ) est significativement inférieure à celle de M-PP ( $88 \pm 2\%$ ). Cette différence d'EE est principalement liée à l'utilisation de matrices enrobantes de natures différentes, c'est-à-dire à la taille de chaînes des biopolymères ou encore à leur affinité avec l'huile. Nous pouvons également regrouper ce résultat avec des gouttelettes d'émulsion de plus grande taille pour E-GA, ayant conduit à une encapsulation moindre et une plus grande quantité d'huile à la surface des microparticules. Cette plus grande quantité d'huile en surface permettrait également d'expliquer un moins bon rendement ( $49\%$  contre  $57\%$  pour M-PP) en raison d'une plus grande adhésion des microparticules sur les parois de l'atomiseur, ainsi qu'une diminution de la stabilité oxydative de l'huile encapsulée comparativement à l'huile en batch ( $\Delta\text{IP}$  de  $-1,16 \pm 0,23\ \text{h}$ ).

La distribution de tailles de M-GA est visible sur la **Figure 4-2**. La valeur de  $d_{4,3}$  mesurée est égale à  $18,7 \pm 0,3\ \mu\text{m}$ .

Des images obtenues par MEBE de M-GA sous deux grossissements sont présentées à la **Figure 4-3**. Ces images nous permettent d'observer que la poudre est majoritairement constituée d'agglomérats de microparticules (image de gauche). En observant les structures à un plus fort grossissement, la présence de fines microparticules adhérant à la surface de microsphères de plus grande taille (flèche rouge) est visible. En dépit de la présence d'agglomérats, ces images nous montrent un réel changement de la structure de surface de M-GA comparativement à celles des microparticules formulées à partir d'extraits protéiques (voir la **Figure 3-18**). En effet, la croûte apparaît plus lisse et sans pores visibles et les microparticules semblent posséder une forme plus sphérique, indiquant des propriétés filmogènes plus efficaces pour GA comparativement aux protéines. Une structure sphérique similaire a été observée par Sittipummongkol et Pechyen (2018) [218] pour leurs microparticules formulées à partir d'huile de neem et de gomme arabique.



**Figure 4-2** Distribution volumique de la taille des microparticules de M-GA



**Figure 4-3** Images obtenues en MEBE (250 × et 2500 ×) de M-GA

Ainsi, malgré la présence d'une fraction protéique dans la structure de la GA, son utilisation, en tant qu'agent émulsifiant et matière enrobante pour l'encapsulation par séchage par atomisation, n'a pas permis d'atteindre des efficacités similaires à celles des extraits protéiques de pois (et de soja) pour l'amélioration de la stabilité oxydative de l'huile de tournesol dans les conditions sélectionnées pour cette étude. Ces résultats sont en adéquation avec les études retrouvées dans la littérature sur l'utilisation de gomme arabique pour l'encapsulation d'huiles sensibles à l'oxydation. En effet, malgré sa spécificité structurale, la gomme arabique est couramment utilisée en association avec d'autres biopolymères. Ainsi, des études ont porté sur l'encapsulation d'huiles sensibles par l'utilisation de différents complexes :  $\beta$ -cyclodextrine/gomme arabique/caséinate de sodium [219], gomme arabique/caséinate de sodium [220] ou encore maltodextrine/protéines du lactosérum/gomme arabique [221], par exemple. En revanche, son utilisation a montré une modification des propriétés de surface des microparticules produites, pouvant suggérer une amélioration des propriétés de formation de films.

Ainsi, ces tests préliminaires nous ont amené à étudier l'impact de l'addition de différents polysaccharides, en association avec les extraits protéiques de pois, afin d'améliorer la qualité de la croûte formée à la surface des microparticules et de limiter les phénomènes de relargage d'huile au cours du stockage.

### IV.3. Etude comparative de l'utilisation de quatre polysaccharides

Dans cette partie, les protéines de pois ont été combinées avec quatre polysaccharides afin de renforcer les propriétés filmogènes de la matrice enrobante : il s'agit de l'alginate de sodium, de l'inuline, de la maltodextrine et de la pectine.

Les alginates ont la capacité à réticuler et à former des gels en présence de cations divalents. Cette caractéristique en fait des matrices efficaces pour l'immobilisation de matières actives par le procédé de gélification externe (voir **section I.2.3.2.2**). Cependant, à notre connaissance, très peu d'études ont évalué l'utilisation d'alginate pour le renforcement de matrice enrobante pour l'encapsulation de matières actives par spray-drying.

Les inulines possèdent des propriétés nutritionnelles très intéressantes (voir **section I.2.2.2**). Cependant, leur utilisation pour la protection de matières actives par séchage par atomisation a été très peu étudiée [222].

Les maltodextrines ont été davantage étudiées pour l'encapsulation par spray-drying. L'utilisation de molécules à hauts « dextrose équivalent » (D.E.), c'est-à-dire compris entre 10 et 20, est davantage retrouvée dans la littérature car elles présentent une meilleure solubilité dans les solutions aqueuses et n'entraînent pas de forte augmentation de la viscosité lorsqu'elles sont ajoutées [222]. Cependant, des études ont montré que leur faible poids moléculaire ne leur permet pas de retenir efficacement les composés organiques volatils [223]. Les maltodextrines sélectionnées pour cette étude possèdent donc un D.E. compris entre 4 et 7 afin de maintenir une relativement faible viscosité, tout en améliorant leur propriété de barrière face au passage de composés volatils.

Enfin, les pectines sont des polysaccharides non dégradés par les enzymes intestinales. Ainsi, elles sont couramment utilisées pour l'encapsulation de matières actives pharmaceutiques destinées à être relarguées dans le tractus gastro-intestinal [224]. Néanmoins, elles ont été très peu étudiées pour la microencapsulation de principes actifs alimentaires.

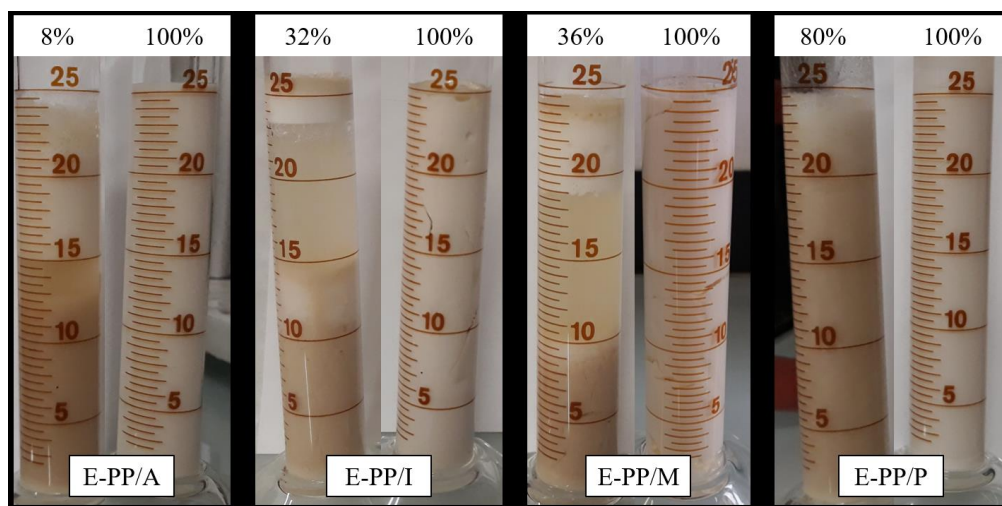
#### IV.3.1. Caractérisations des émulsions

Les émulsions formulées à partir des extraits protéiques de pois seuls ou en association avec de l'alginate de sodium, de l'inuline, de la maltodextrine ou de la pectine seront notées E-PP, E-PP/A, E-PP/I, E-PP/M et E-PP/P, respectivement.

##### IV.3.1.1. Stabilité des émulsions

Afin d'évaluer la validité des conditions d'émulsification retenues au chapitre précédent, les émulsions formulées à partir de 12% w/v de matière enrobante (10% w/v d'extraits protéiques de pois et 2% w/v de polysaccharides) et de 10% w/v d'huile de tournesol ont été préparées en appliquant les traitements d'optimisation (modification du pH à 7,8 et deux passages à

l'HHP à 400 bars), versées dans des éprouvettes graduées et mises au repos durant 24 h à température ambiante afin d'en évaluer les ESI et de les comparer aux émulsions préparées par homogénéisation à l'Ultra-Turrax (**Figure 4-4**).



**Figure 4-4** Photos et ESI des émulsions H/E stabilisées à partir des extraits protéiques de pois et des différents polysaccharides après 24 h de repos. Pour chaque formulation, l'éprouvette de gauche représente l'émulsion formulée par agitation mécanique et l'éprouvette de droite représente la même émulsion mais dont le pH a été ajusté à 7,8 et stabilisée par deux passages à l'HHP à 400 bars

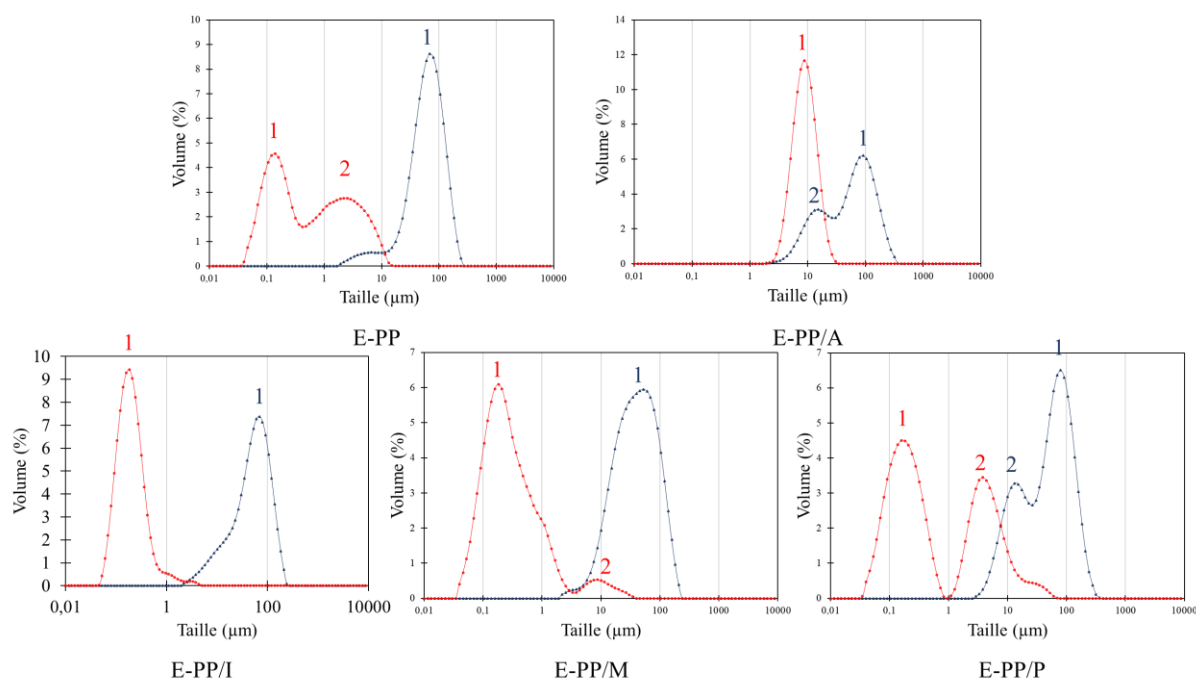
Cette figure montre que les émulsions obtenues montrent une bonne stabilité avec des ESI de 100%, validant ainsi les conditions d'émulsification préalablement déterminées. Ainsi, ces conditions ont également été appliquées pour la production d'émulsions H/E composées d'huile de tournesol et de matières enrobantes constituées d'un mélange d'extraits protéiques de pois et de polysaccharides.

#### IV.3.1.2. Distribution de tailles et viscosité des émulsions

Les distributions de tailles des éléments dispersés contenus dans les émulsions avant et après traitements d'optimisation sont présentées sur la **Figure 4-5**.

Ces résultats montrent que, de la même manière que pour les émulsions stabilisées par des extraits protéiques purs, l'émulsification par passage à l'HHP a permis de réduire significativement la taille des gouttelettes d'huile. En plus de la technique d'émulsification utilisée, la nature du polysaccharide utilisé a également montré un impact sur ces distributions de tailles. En effet, un  $d_{4,3}$  de  $10,25 \pm 0,1 \mu\text{m}$  pour E-PP/A et des populations majoritaires de gouttelettes dont la distribution de tailles varie autour  $0,2 \pm 0,1 \mu\text{m}$  pour les autres émulsions ont été obtenus après les traitements d'optimisation (**Tableau 4-1**). Cette dernière valeur correspond à la population majoritaire obtenue pour E-PP. Ainsi, l'addition d'inuline, de maltodextrine ou de pectine n'a pas entraîné de modification de la taille des gouttelettes d'émulsion de la population majoritaire obtenue. Ces résultats sont cohérents avec les propriétés des polysaccharides utilisés pour cette étude. En effet, ces biopolymères possèdent des propriétés émulsifiantes négligeables ne leur permettant pas de stabiliser les interfaces

H/E. La taille des gouttelettes d'émulsion se retrouve donc inchangée par l'ajout de ces polysaccharides. De plus, l'obtention de distributions monodisperses peut être observée par l'ajout d'inuline ou de maltodextrine.



**Figure 4-5** Distributions de tailles avant (courbes bleues) et après traitements d'optimisation (courbes rouges)

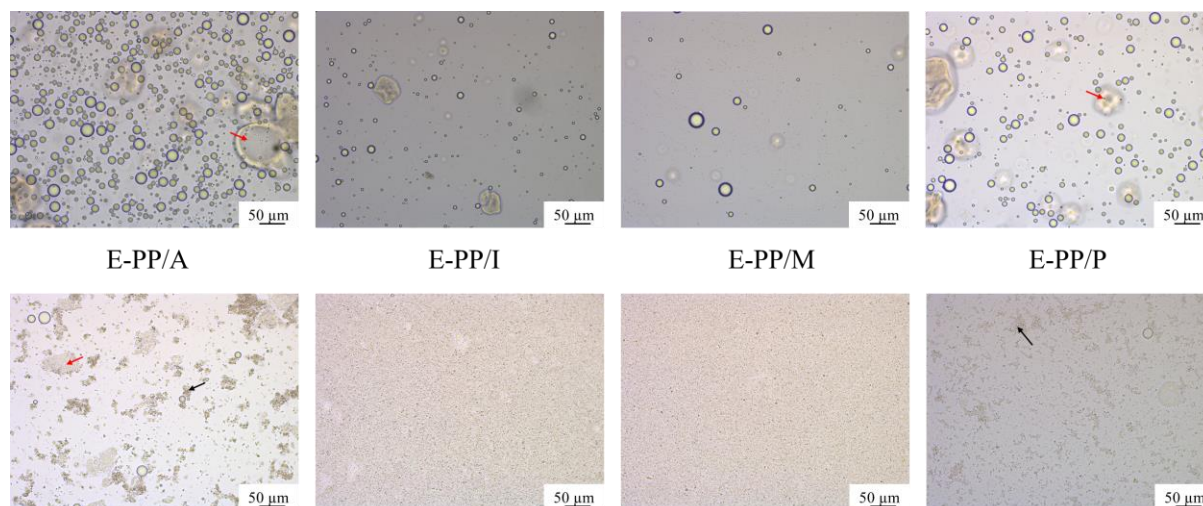
**Tableau 4-1** Distributions de tailles en volume et viscosités des émulsions H/E formulées à partir des mélanges de protéines et de polysaccharides et d'huile de tournesol, et comparées à E-PP

| Echantillon        | Distribution de tailles (μm) |                         |                          |                        | Viscosité apparente à 100 s <sup>-1</sup> (mPa.s) |                           |
|--------------------|------------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------|
|                    | UT                           |                         | pH + HHP                 |                        | UT                                                | pH + HHP                  |
|                    | Population 1                 | Population 2            | Population 1             | Population 2           |                                                   |                           |
| E-PP<br>(contrôle) | 66,0 ± 1,0 <sup>b</sup>      | -                       | 0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>   | 3,2 ± 0,2 <sup>a</sup> | 1,3 ± 0,1 <sup>a</sup>                            | 1,3 ± 0,1 <sup>a</sup>    |
| E-PP/A             | 106,8 ± 5,2 <sup>d</sup>     | 14,9 ± 0,3 <sup>b</sup> | 10,25 ± 0,1 <sup>b</sup> | -                      | 211,5 ± 22,3 <sup>d</sup>                         | 181,0 ± 16,9 <sup>d</sup> |
| E-PP/I             | 65,6 ± 0,2 <sup>b</sup>      | -                       | 0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>   | -                      | 16,0 ± 0,7 <sup>c</sup>                           | 21,2 ± 0,8 <sup>b</sup>   |
| E-PP/M             | 54,6 ± 0,3 <sup>a</sup>      | -                       | 0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>   | -                      | 2,1 ± 0,1 <sup>b</sup>                            | 26,1 ± 0,8 <sup>c</sup>   |
| E-PP/P             | 97,3 ± 4,7 <sup>c</sup>      | 12,4 ± 0,3 <sup>a</sup> | 0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>   | 7,3 ± 0,2 <sup>b</sup> | 275,8 ± 26,2 <sup>e</sup>                         | 256,9 ± 20,2 <sup>e</sup> |

<sup>a-e</sup> les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes (p < 0,05)

Concernant E-PP/A, les traitements d'optimisation ont conduit à la production d'éléments de plus grande taille, avec un diamètre moyen en volume de 10,25 ± 0,1 μm. L'origine de cette population pourrait provenir de résidus d'alginate non solubilisés. Cette hypothèse semble confirmée par les images microscopiques présentées à la **Figure 4-6** (observables en gris clair et indiqués par les flèches rouges). De plus, des amas de gouttelettes sont également visibles

(éléments gris foncé et indiqués par les flèches noires). On retrouve également la présence d'amas pour E-PP/P, qui pourraient correspondre à la population 2 de cet échantillon, visible sur le **Tableau 4-1**.



**Figure 4-6** Images acquises en microscopie optique des différentes émulsions obtenues avant (images du haut) et après traitements d'optimisation (images du bas)

L'apparition de ces amas pourrait s'expliquer par la présence des résidus insolubles pour E-PP/A et E-PP/P. En effet, les intenses forces mécaniques apportés par le traitement à l'HP ont pu conduire à la destruction de ces résidus sous forme de fines particules, formant ainsi des interactions avec les domaines hydrophobes des protéines de pois, aboutissant à des phénomènes d'agrégation. Cette hypothèse pourrait ainsi expliquer pourquoi les phénomènes d'agrégation ne sont visibles que pour E-PP/A et E-PP/P. Une étude de Fioramonti *et al.* (2018) [210] sur l'utilisation d'un complexe de protéines de lactosérum et d'alginate pour la microencapsulation d'huile de lin a également montré un décalage de leur distribution de tailles vers des gouttelettes de plus grande taille par l'addition d'alginate. Ce résultat a également été rapporté à une agglomération partielle des gouttelettes produites.

Comme expliqué au chapitre précédent, la viscosité est également un paramètre important à évaluer pour les formulations destinées à être séchées par le procédé de spray-drying car de faibles viscosités garantissent une bonne formation de l'aérosol et donc un séchage efficace des gouttes. Les viscosités des différentes émulsions sont également présentées au **Tableau 4-1**.

La sélection de la concentration de polysaccharide incorporé dans les formulations (2% w/v) a permis de ne pas dépasser la valeur limite de 300 mPa.s pour l'ensemble des formulations. Cette concentration a ensuite été appliquée à l'ensemble des polysaccharides dans un but comparatif.

De la même manière que pour les émulsions stabilisées exclusivement par des extraits protéiques, deux types de comportement sont visibles, dépendant des caractéristiques physico-chimiques des polysaccharides utilisés. Pour les macromolécules dont l'ajout n'a entraîné qu'une très faible augmentation de la viscosité lors de leur solubilisation à

l'Ultra-Turrax (inuline et maltodextrine), le traitement à l'HHP a conduit à une augmentation de la viscosité apparente des émulsions, passant de 16,0 à 21,2 mPa.s et de 2,1 à 26,1 mPa.s pour E-PP/I et E-PP/M, respectivement. En effet, les importantes forces mécaniques apportées par le traitement à l'HHP ont conduit à une amélioration de la solubilisation de ces polysaccharides et donc à une augmentation de la viscosité de l'émulsion.

En raison de la nature des sucres composant les longues chaînes d'alginate de sodium et de pectine et de la présence de ramifications, ces polysaccharides possèdent des propriétés gélifiantes. Ces propriétés ont conduit à l'obtention d'émulsions de viscosités supérieures à celle de E-PP/I et E-PP/M lors de leur ajout. Lors des passages à l'HHP, les viscosités de E-PP/A et E-PP/P ont légèrement diminué, passant de 211,5 à 181,0 mPa.s et de 275,8 à 256,9 mPa.s, respectivement. Comme expliqué précédemment, l'HHP fournit une énergie supplémentaire au système. Lorsque cette énergie est appliquée à un système gélifié, elle peut entraîner une rupture des interactions faibles de type liaisons hydrogène, de Van der Waals et électrostatiques formant le réseau. Ainsi, ce phénomène a conduit à la dégradation de la structure en réseau des hydrogels formés par l'alginate de sodium et la pectine et donc à l'abaissement de la viscosité des émulsions correspondantes.

#### IV.3.2. Caractérisation des microparticules

Les microparticules formulées à partir des extraits protéiques de pois seuls ou en association avec de l'alginate de sodium, de l'inuline, de la maltodextrine ou de la pectine seront notées M-PP, M-PP/A, M-PP/I, M-PP/M et M-PP/P, respectivement.

##### IV.3.2.1. Taux d'humidité et activité de l'eau des microparticules

Les valeurs des taux d'humidité et des activités de l'eau pour les différentes microparticules sont présentées au **Tableau 4-2**.

**Tableau 4-2** Taux d'humidité et activités de l'eau des microparticules

| Echantillons    | Taux d'humidité (%)    | Activité de l'eau           |
|-----------------|------------------------|-----------------------------|
| M-PP (contrôle) | 1,4 ± 0,1 <sup>a</sup> | 0,118 ± 0,019 <sup>a</sup>  |
| M-PP/A          | 4,6 ± 0,9 <sup>b</sup> | 0,256 ± 0,020 <sup>c</sup>  |
| M-PP/I          | 3,5 ± 0,5 <sup>b</sup> | 0,238 ± 0,020 <sup>bc</sup> |
| M-PP/M          | 3,4 ± 0,9 <sup>b</sup> | 0,205 ± 0,016 <sup>b</sup>  |
| M-PP/P          | 4,1 ± 0,3 <sup>b</sup> | 0,211 ± 0,014 <sup>b</sup>  |

<sup>a-c</sup> les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes (p < 0,05)

L'ajout de polysaccharides a eu pour effet d'augmenter significativement les taux d'humidité (passant de 1,4 à 3,4-4,6 %) ainsi que les activités de l'eau (passant de 0,118 à 0,211-0,256) des microparticules comparativement à M-PP (échantillon contrôle).

Comme expliqué précédemment, l'ajout de polysaccharide impacte la formation de la croûte lors du procédé de séchage. Le renforcement de cette structure en périphérie agit comme une barrière contre l'évaporation de l'eau. Ce phénomène est accentué par l'accélération de sa

formation, entraînant un emprisonnement de l'eau au sein des microparticules. De plus, l'ajout de polysaccharides limite la diffusion du solvant à travers la microparticule en raison de l'augmentation de la nature hydrophile du réseau et de la concentration totale en matière enrobante [225].

Ces résultats peuvent également être mis en relation avec les viscosités apparentes des émulsions correspondantes (**Tableau 4-1**). En effet, la nébulisation d'émulsions visqueuses induit généralement la formation de gouttes de plus grande taille, plus difficiles à sécher et donc la formation de microparticules à plus fort taux d'humidité [226].

Néanmoins, l'ensemble des microparticules présente des activités de l'eau inférieures à 0,6, garantissant une bonne stabilité microbienne durant le stockage.

#### IV.3.2.2. Profils thermiques des microparticules

La calorimétrie différentielle à balayage (DSC) fournit des informations sur le comportement physique de matériaux en détectant des phénomènes tels que la transition vitreuse, la cristallisation, la fusion, la réticulation, la dénaturation ou encore l'oxydation, pouvant avoir une influence sur le comportement des formulations.

Les profils thermiques des microparticules et de leurs constituants sont présentés au **Tableau 4-3** et à la **Figure 4-7**.

**Tableau 4-3** Températures des principales modifications thermiques des microparticules et de leurs constituants

|                           | T <sub>d</sub> <sup>*</sup> (°C) | T <sub>g</sub> <sup>**</sup> (°C) | T <sub>f</sub> <sup>***</sup> (°C) | T <sub>de</sub> <sup>****</sup> (°C) |
|---------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| Huile de tournesol        | -                                | -                                 | -7                                 | -                                    |
| Extrait protéique de pois | 92                               | -                                 | -                                  | -                                    |
| Alginate de sodium        | -                                | 132                               | -                                  | 248                                  |
| M-PP/A                    | 67                               | -                                 | -9                                 | 134                                  |
| Inuline                   | -                                | 126                               | -                                  | -                                    |
| M-PP/I                    | 82                               | -                                 | -9                                 | 193                                  |
| Maltodextrine             | -                                | 117                               | -                                  | -                                    |
| M-PP/M                    | 83                               | -                                 | -8                                 | 195                                  |
| Pectine                   | -                                | -                                 | 154 et 208                         | -                                    |
| M-PP/P                    | 83                               | -                                 | -10                                | 197                                  |

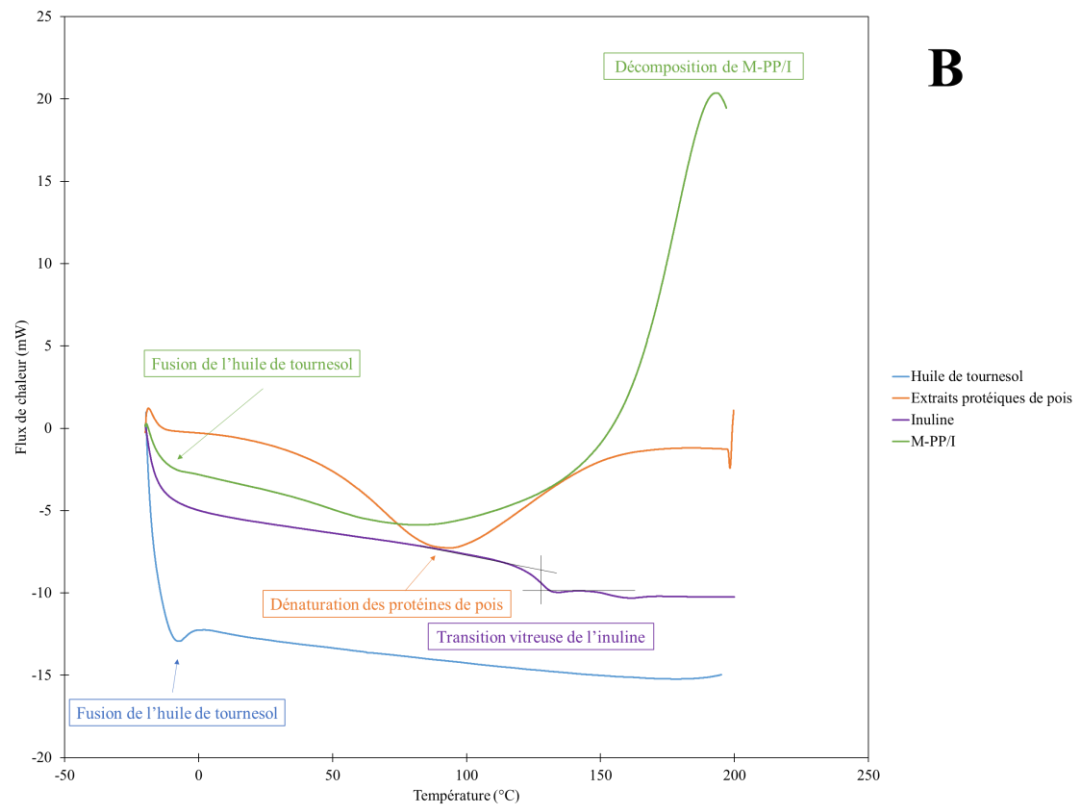
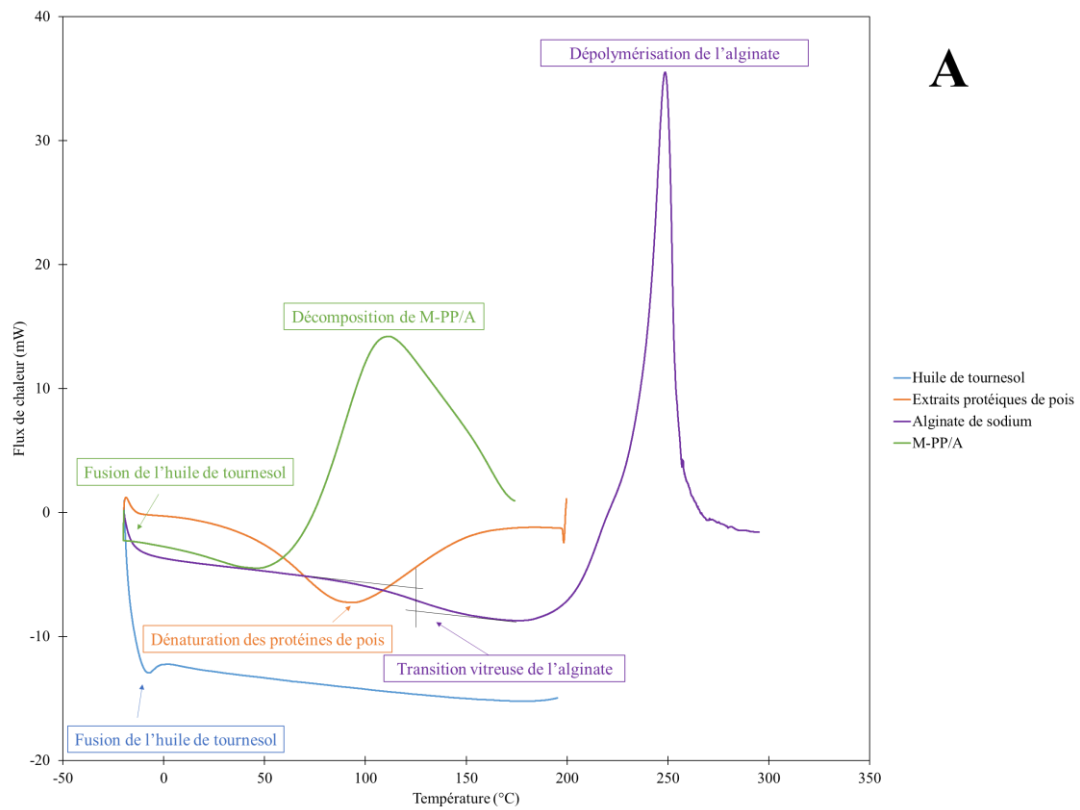
\* T<sub>d</sub> : Température de dénaturation

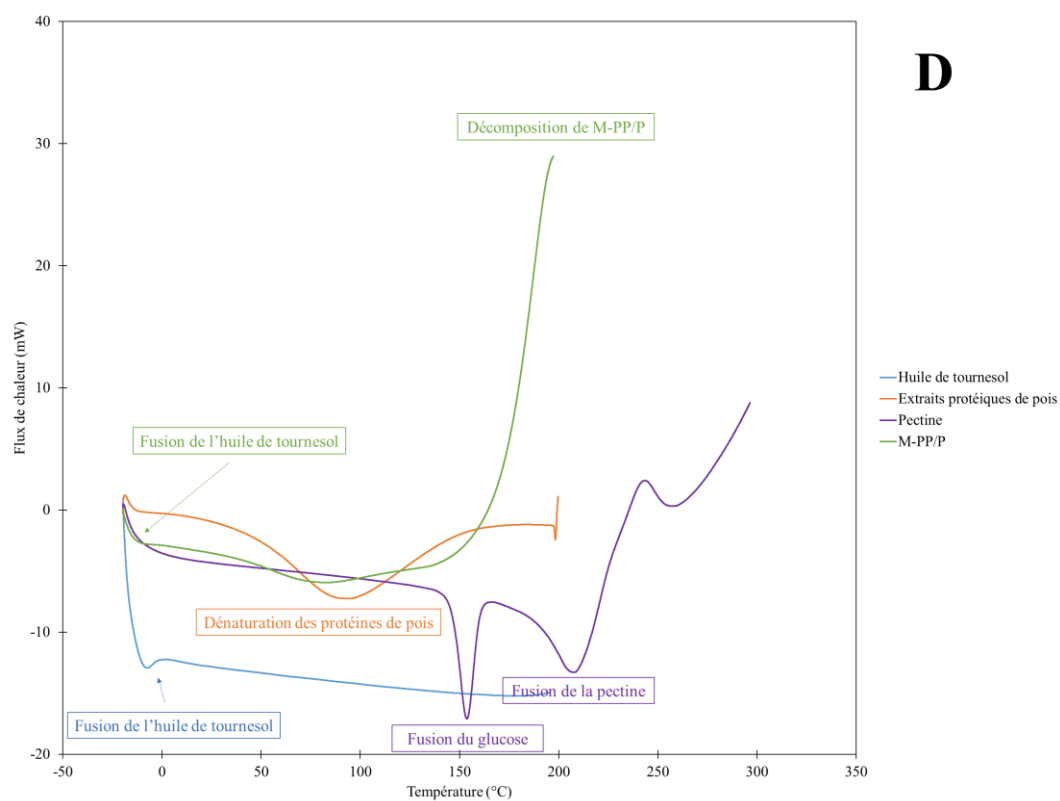
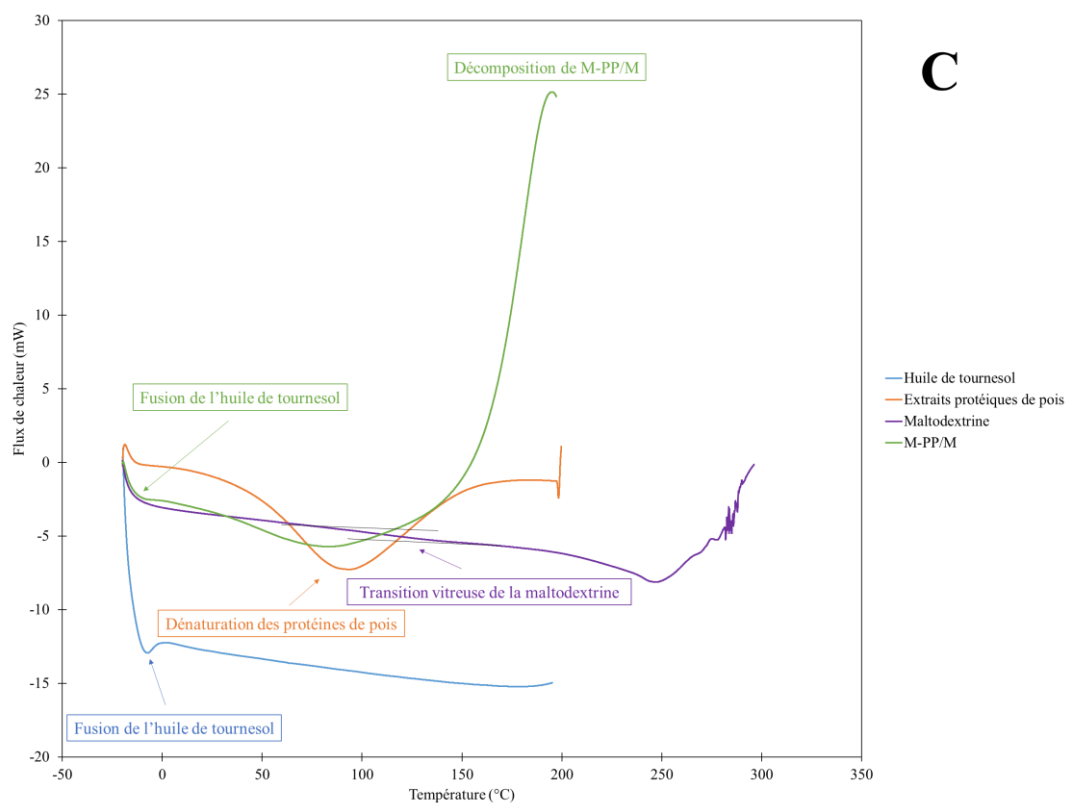
\*\* T<sub>g</sub> : Température de transition vitreuse

\*\*\* T<sub>f</sub> : Température de fusion

\*\*\*\* T<sub>de</sub> : Température de décomposition/dépolymérisation

## Chapitre IV. Renforcement de la matrice enrobante par l'utilisation de polysaccharides





**Figure 4-7** Thermogrammes DSC de M-PP/A (A), M-PP/I (B), M-PP/M (C) et M-PP/P (D) et de leurs constituants

La mesure de la température de dénaturation ( $T_d$ ) des protéines globulaires est très importante car elle permet d'obtenir une indication sur la stabilité thermique de la macromolécule [227]. En effet, cette température reflète la rupture des liaisons hydrogène maintenant les structures tertiaires et quaternaires des protéines. Ainsi, une  $T_d$  élevée suggère que le polypeptide possède une structure tertiaire compacte. Les résultats de la **Figure 4-7** et du **Tableau 4-3** nous montrent une  $T_d$  de 92 °C pour l'extrait protéique de pois initial, en accord avec les données de la littérature [228]. Cette valeur, légèrement supérieure à la température de sortie opérée lors du séchage (90 °C), suggère une faible dénaturation des protéines de pois durant ce procédé. Cette hypothèse est confirmée par la présence de pics endothermiques à 82-83 °C pour M-PP/I, M-PP/M et M-PP/P. Un pic est également présent à 67 °C pour M-PP/A, correspondant probablement à la  $T_d$  des protéines de pois. Ce décalage vers les plus faibles températures peut s'expliquer par la quantité d'eau résiduelle plus importante dans l'échantillon.

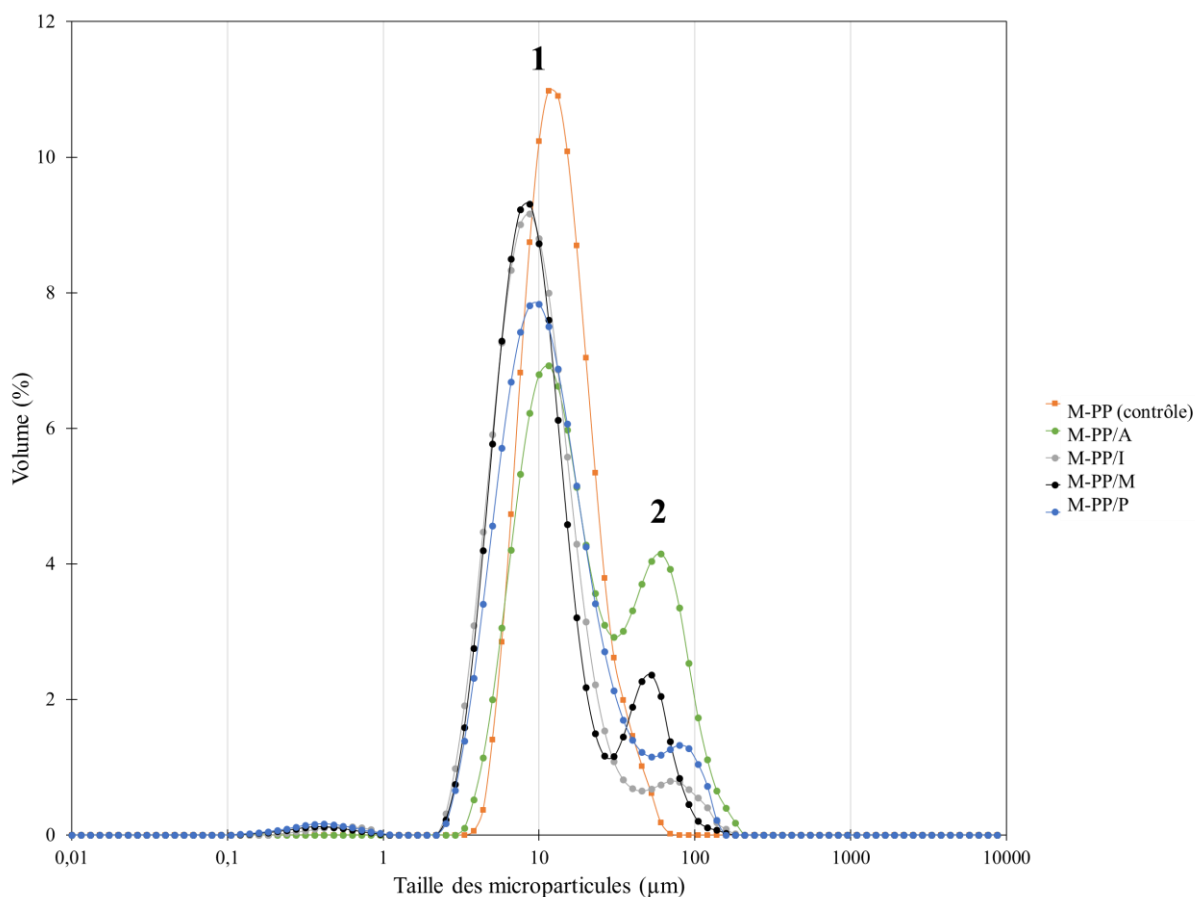
Concernant le thermogramme de l'huile de tournesol, un pic endothermique est visible à -7 °C, correspondant à sa température de fusion ( $T_f$ ). Des pics de fusion similaires sont observables pour l'ensemble des microparticules, indiquant la présence d'huile de tournesol sous sa forme initiale au sein de ces matériaux. Ainsi, ces résultats confirment qu'aucune réaction chimique ou modification d'état n'a eu lieu entre la matière active et les matières enrobantes durant le procédé de séchage.

La  $T_g$  est un intervalle de température à travers lequel la matière passe d'un état vitreux à un état caoutchouteux. Dans le cas d'un polymère, cette transition se caractérise par des mouvements de segments de chaînes macromoléculaires situées dans les domaines amorphes. Cette température influence grandement le comportement de séchage des gouttes. Les  $T_g$  des différents polysaccharides sont données au **Tableau 4-3**. Malheureusement, la  $T_g$  de la pectine n'a pas pu être déterminée en raison de son chevauchement avec le pic de fusion du glucose, additif contenu dans cet échantillon. Ces macromolécules possèdent des  $T_g$  élevées, suggérant la présence de chaînes de hauts poids moléculaires dans ces échantillons. En effet, les polymères de faible poids moléculaire possèdent des  $T_g$  inférieures aux molécules de plus longues chaînes. De plus, l'évaluation de la  $T_g$  peut être utilisée comme un indicateur de la stabilité physique des poudres durant le procédé et le stockage. En effet, une température de stockage supérieure à la  $T_g$  peut entraîner des changements structuraux de la poudre ainsi qu'une détérioration par augmentation de la vitesse d'oxydation par diffusion d'oxygène au travers de la matrice [229]. Les poudres ayant été stockées à une température bien inférieure à la  $T_g$  de ces composants (25 °C), aucun changement structurel n'a dû se produire.

Les températures de décomposition ( $T_{de}$ ) des microparticules sont également présentées sur la **Figure 4-7** et au **Tableau 4-3**. Ces valeurs sont toutes comprises entre 134 et 197 °C, pouvant garantir une bonne stabilité lors du stockage et des cuissons inférieures à ces températures. La plus faible  $T_{de}$  de M-PP/A peut également être liée à la plus grande teneur en eau de l'échantillon.

## IV.3.2.3. Distribution de tailles et morphologie des microparticules

La **Figure 4-8** et le **Tableau 4-4** montrent les distributions de tailles et les diamètres moyens des poudres formulées avec les différents matériaux enrobants.



**Figure 4-8** Distributions volumiques de la taille des microparticules

**Tableau 4-4** Distributions de tailles en volume des microparticules

| Echantillons    | Distribution de tailles (μm) |                          |
|-----------------|------------------------------|--------------------------|
|                 | Population 1                 | Population 2             |
| M-PP (contrôle) | 16,3 ± 3,2 <sup>b</sup>      | -                        |
| M-PP/A          | 11,4 ± 0,4 <sup>a</sup>      | 67,7 ± 13,6 <sup>a</sup> |
| M-PP/I          | 11,8 ± 0,7 <sup>ab</sup>     | 92,3 ± 17,6 <sup>a</sup> |
| M-PP/M          | 10,2 ± 1 <sup>a</sup>        | 61,3 ± 10,0 <sup>a</sup> |
| M-PP/P          | 12,6 ± 0,4 <sup>b</sup>      | 76,6 ± 3,2 <sup>a</sup>  |

<sup>a-b</sup> les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

La **Figure 4-8** montre des variations des profils de distribution entre les différents échantillons. Les microparticules produites à partir de matières enrobantes complexes présentent des distributions polydisperses. Les premières populations, apparaissant aux

alentours de 10  $\mu\text{m}$ , sont principalement déterminées par le diamètre de la buse d'atomisation utilisée et donc des gouttes d'aérosol produites [212]. Les populations 2 visibles pour l'ensemble des échantillons produits à partir d'un mélange de protéines et de polysaccharides correspondent probablement à des agglomérats de microparticules. Le volume de microparticules agglomérées est largement plus important pour M-PP/A. En effet, en raison d'une viscosité apparente relativement élevée de l'émulsion correspondante (181,02 mPa.s), l'aérosol s'est formé plus difficilement et a conduit à un séchage moins efficace du solvant (voir les valeurs de taux d'humidité et d'activité de l'eau du **Tableau 4-2**). Les valeurs des viscosités apparentes des différentes émulsions ont aussi influencé la taille des microparticules produites. En effet, la nébulisation de l'émulsion la plus visqueuse (E-PP/P) a conduit à la production de microparticules de diamètres significativement supérieurs à ceux de M-PP.

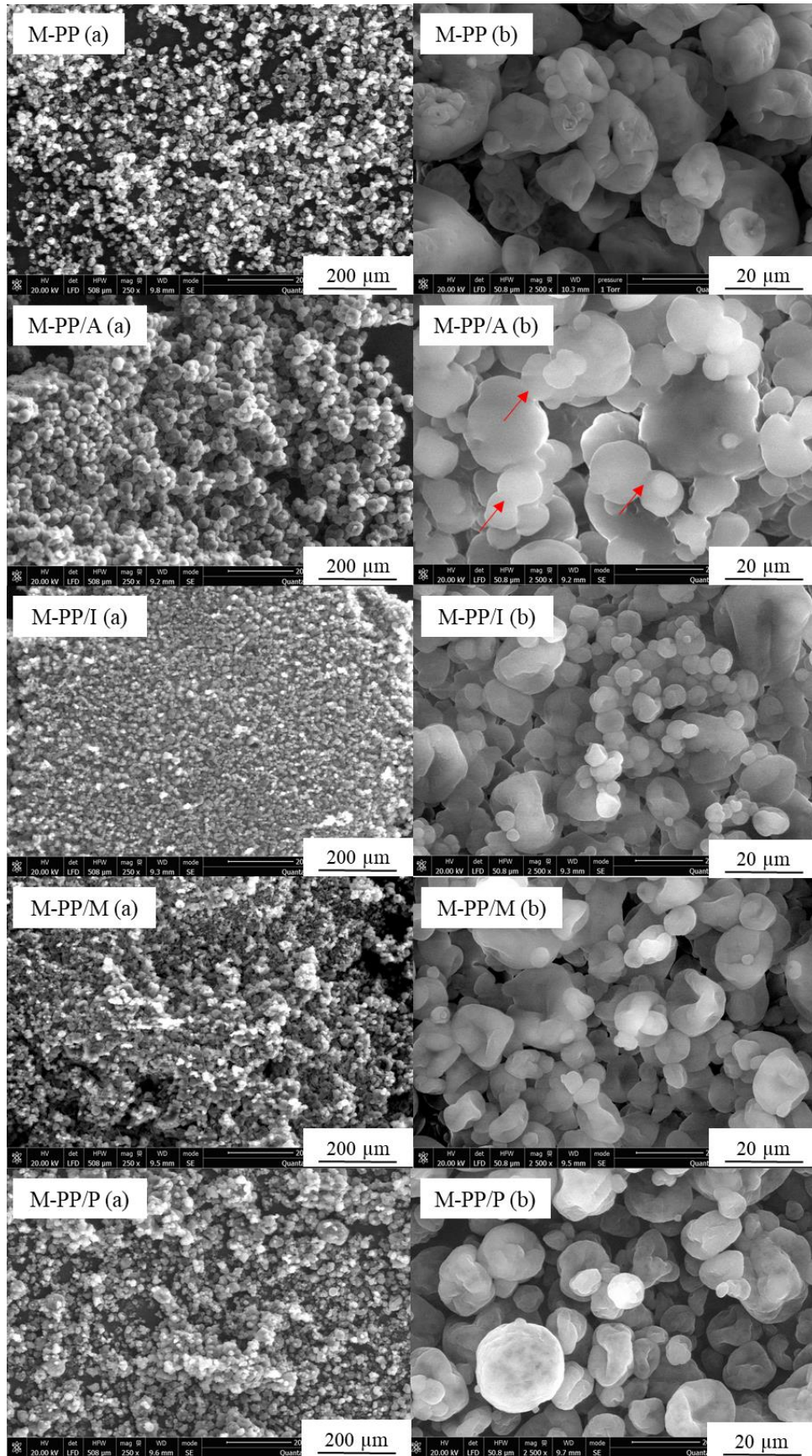
Les morphologies de l'ensemble des microparticules formulées à partir des extraits protéiques de pois et des polysaccharides, ainsi que des extraits protéiques de pois purs (M-PP contrôle) sont présentées à la **Figure 4-9**.

Tout d'abord, ces images montrent une amélioration de la sphéricité des microparticules par l'addition de polysaccharides dans la formulation. En effet, comme expliqué au chapitre précédent, les microparticules formulées à partir de matrices enrobantes protéiques pures présentent un affaissement de leur structure avec l'apparition de morphologies « dégonflées » lors du séchage en raison des propriétés viscoélastiques des protéines. De plus, la finesse des croûtes obtenues pour M-PP, laissant apercevoir la structure interne par transparence, semble s'être épaissie par l'ajout des polysaccharides. Cette observation peut suggérer une meilleure intégrité structurale garantissant une plus faible perméabilité à l'air et une meilleure protection de l'huile. Fioramonti *et al.* (2018) [210] ont également observé une amélioration de la morphologie de surface de leur microparticules par addition de maltodextrine (surface lisse avec peu de plis). Selon Gharsallaoui *et al.* (2012) [230] les polysaccharides de faibles poids moléculaires constitutifs de la maltodextrine joueraient le rôle de plastifiant et préviendraient les phénomènes de « contraction » lors du séchage avec l'obtention de particules sphériques à surface lisse.

Néanmoins, il existe d'importantes différences structurales entre les différents échantillons. Tout d'abord, les images de M-PP/A montrent la présence de ponts inter-particulaires, indiqué par les flèches rouges de la **Figure 4-9**. Ce résultat peut être corrélé à la distribution volumique de M-PP/A visible **Figure 4-8** et à la population 2 du **Tableau 4-4**.

### IV.3.2.3. Stabilité oxydative et cinétiques de vieillissement des microparticules

Afin d'évaluer l'impact de l'ajout de ces polysaccharides en tant que matières enrobantes sur la stabilité oxydative de l'huile de tournesol, des tests d'oxydation en conditions accélérées à 100 °C ont été réalisés grâce à la méthode Rancimat juste après la récupération des poudres. Les temps d'induction normalisés ( $\Delta\text{IP}$ ) des microparticules ont été comparés à celui de M-PP (**Tableau 4-5**).



**Figure 4-9** Images obtenues en MEBE (a : 250 × et b : 2500 ×) des microparticules formulées à partir des différentes matrices enrobantes

**Tableau 4-5** Temps d'induction des huiles encapsulées dans des matrices complexes et comparés à celui de l'huile de tournesol encapsulée par des extraits protéiques de pois seuls (contrôle)

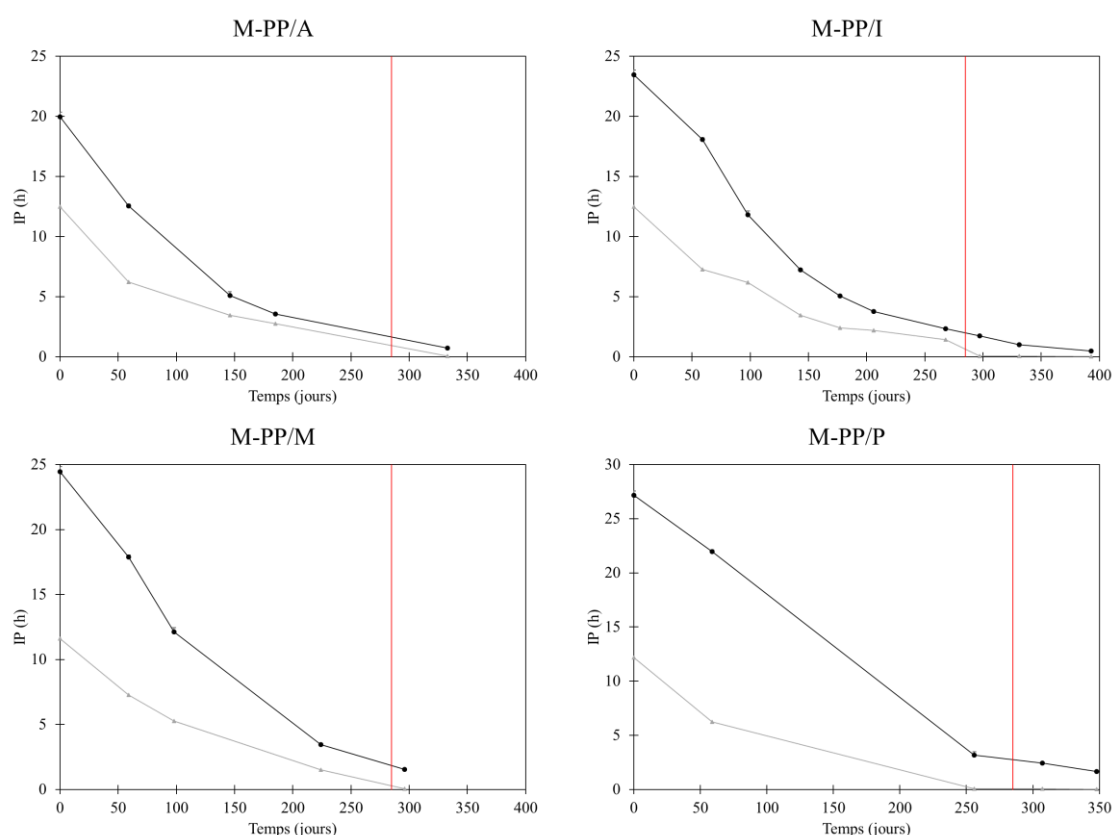
| Echantillon     | $\Delta IP$ (h)    |
|-----------------|--------------------|
| M-PP (contrôle) | $9,01 \pm 0,44^b$  |
| M-PP/A          | $7,50 \pm 0,12^a$  |
| M-PP/I          | $10,98 \pm 0,20^c$ |
| M-PP/M          | $12,85 \pm 0,10^d$ |
| M-PP/P          | $15,01 \pm 0,28^e$ |

<sup>a-e</sup> les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

Les résultats obtenus grâce à ces tests montrent que les  $\Delta IP$  de M-PP/I, M-PP/M et M-PP/P sont significativement supérieurs à celui de M-PP. Ces résultats sont donc en accord avec les précédentes observations de la morphologie des microparticules.

Concernant M-PP/A, l'ajout d'alginate de sodium a entraîné un  $\Delta IP$  significativement inférieur à celui de M-PP. Ce résultat peut être mis en relation avec les images de la structure externe des microparticules. En effet, la formation de ponts entre microparticules apparu lors du stockage des poudres a pu entraîner un relargage de l'huile.

Afin d'étudier l'impact de l'ajout de polysaccharides sur la stabilité oxydative de l'huile de tournesol en stockage, les cinétiques de M-PP/A, M-PP/I, M-PP/M et M-PP/P ont été réalisées et sont présentées à la **Figure 4-10**.



**Figure 4-10** Stabilités oxydatives de l'huile de tournesol encapsulée (courbes noires) et comparées aux stabilités oxydatives des huiles de tournesol ayant servi à formuler les microparticules (courbes grises). Les marques rouges représentent les dates de durabilité minimales des huiles

Ces résultats nous montrent que, quelle que soit la valeur du  $\Delta IP$  mesuré à  $t_0$ , la totalité des formulations permettent d'améliorer la stabilité oxydative de l'huile de tournesol encapsulée sur des temps de stockage supérieurs à la date de durabilité minimale de consommation de l'huile indiquée par le fournisseur. En effet, l'huile en batch s'oxyde complètement au bout de 250–300 jours de stockage à 25 °C, alors que l'huile encapsulée semble se conserver sur une durée supérieure à 400 jours. Malheureusement, en raison des quantités limitées de poudres produites, les temps de stabilité oxydative n'ont pas pu être évalués sur la totalité du temps de conservation du produit.

Ces résultats prouvent donc que le renforcement de la matrice enrobante par l'utilisation de différents polysaccharides permet d'allonger le temps de conservation de l'huile de tournesol. De plus, l'huile consommée avant cette date contient moins de composés volatils, garantissant ainsi sa sécurité, ses qualités nutritionnelles et ses propriétés organoleptiques.

Cette amélioration peut s'expliquer par différents facteurs. En effet, les observations en MEBE ont montré une modification de la structure externe avec des formes globalement plus sphériques sans fissures ou pores apparents, montrant ainsi le rôle direct des polysaccharides dans la formation de la croûte lors du procédé de séchage. De plus, l'ajout de 2% w/v de polysaccharides a entraîné l'augmentation de la concentration totale de matière enrobante avec une augmentation du ratio entre matière enrobante et matière active (6:5), améliorant ainsi la protection de l'huile de tournesol.

Ainsi, les quatre polysaccharides utilisés sont de bons candidats pour l'amélioration de la stabilité oxydative de matières actives sensibles à l'oxydation au cours du stockage, avec une réserve concernant la concentration d'incorporation d'alginate de sodium qui mériterait d'être diminuée afin de faciliter la formation de l'aérosol lors du séchage et d'obtenir un produit final plus sec et moins collant.

### IV.3.2.4. Rendement du procédé

Le rendement est un paramètre clé rendant compte de l'efficacité économique et technique d'un procédé.

Les rendements obtenus sont de 19, 40, 35 et 23% pour M-PP/A, M-PP/I, M-PP/M et M-PP/P, respectivement. Ils sont donc relativement faibles. En effet, l'encapsulation de produits huileux par séchage par atomisation conduit à la production de poudres relativement collantes, adhérant à la paroi de l'atomiseur et diminuant ainsi le rendement final. De plus, les formulations choisies sont très concentrées en matière active, accentuant ainsi ce phénomène.

Ces résultats nous montrent également que le rendement du procédé d'atomisation est fortement impacté par la nature du polysaccharide utilisé. Plus l'émulsion initiale est visqueuse (cas de E-PP/P et E-PP/A), plus les rendements sont faibles, et inversement. Il est effectivement plus difficile de correctement nébuliser une formulation liquide lorsque cette dernière est visqueuse. D'une manière générale, et quelle que soit la viscosité de l'émulsion initiale, l'ajout de polysaccharide a entraîné une diminution du rendement du procédé. En

effet, la nature collante d'une poudre est accentuée par différents facteurs : l'hygroscopicité, un faible point de fusion, une bonne solubilité dans l'eau et une faible  $T_g$  du matériau enrobant [231]. Hors, la nature des polysaccharides (structure et faible poids moléculaire comparativement aux protéines) va contribuer positivement à l'ensemble de ces facteurs, rendant ainsi la poudre microparticulaire plus collante. En revanche, l'atomisation de solutions très peu visqueuses, telle que E-PP, a permis d'atteindre un rendement moyen de  $57 \pm 14\%$  avec un rendement maximal obtenu de 71%.

Ainsi, des tests d'optimisation de la viscosité de l'émulsion initiale ont été effectués. L'incorporation de pectine ayant montré les meilleurs résultats sur l'amélioration de la stabilité oxydative de l'huile de tournesol, une étude d'optimisation de la concentration de ce polysaccharide a été réalisée afin d'augmenter le rendement du procédé.

### IV.4. Optimisation des conditions d'incorporation de la pectine

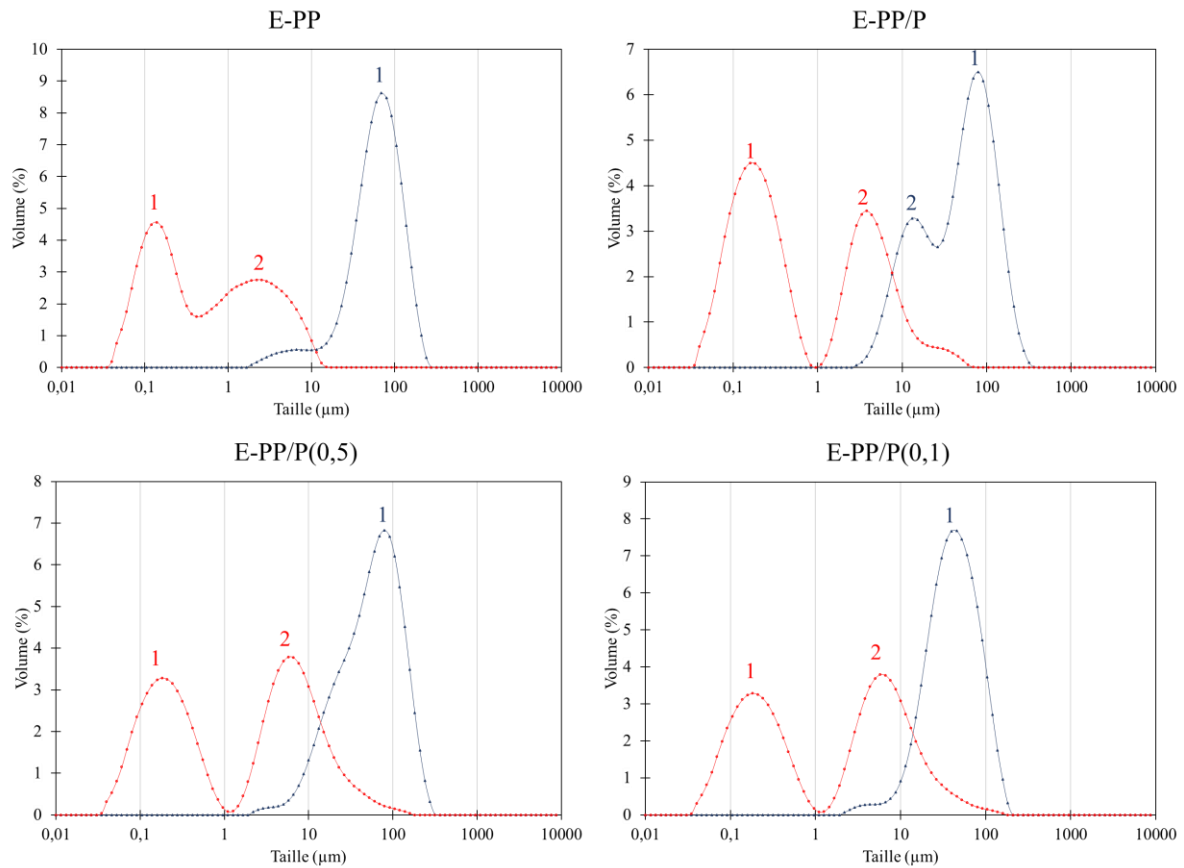
#### IV.4.1. Caractérisations des émulsions

Les émulsions formulées à partir des extraits protéiques de pois seuls ou en association avec 0,5 ou 0,1% w/v de pectine seront notées E-PP, E-PP/P(0,5) et E-PP/P(0,1), respectivement. Afin de conserver la même dénomination que dans la partie précédente, l'émulsion formulée à partir de 2% w/v de pectine sera appelée E-PP/P, et non pas E-PP/P(2).

Les distributions de tailles des gouttelettes des différentes émulsions sont présentées sur la **Figure 4-11**.

Après traitements d'optimisation (homogénéisation à l'HHP et ajustement du pH à 7,8), E-PP/P(0,5) et E-PP/P(0,1) ont montré des distributions bimodales, similaires à la distribution de E-PP/P. La population 1 correspond à la distribution de tailles des gouttelettes d'émulsion, dont le diamètre est déterminé par le traitement d'émulsification appliqué et la quantité d'agent émulsionnant introduit dans la formulation. La quantité d'extrait protéique étant la même pour l'ensemble de ces émulsions, les distributions de tailles de cette population sont identiques, avec un diamètre moyen en volume de  $0,2 \mu\text{m}$  (**Tableau 4-6**). Concernant la population 2, elle semble correspondre à la présence d'agglomérats de gouttelettes visibles à la **Figure 4-12** (flèches rouges).

Concernant les valeurs des viscosités apparentes de ces émulsions, nous pouvons voir une diminution lors de la réduction du taux de pectine incorporée. Le traitement à l'HHP a permis d'obtenir une viscosité très faible de E-PP/P(0,1), pouvant suggérer une nébulisation efficace lors du procédé de séchage.

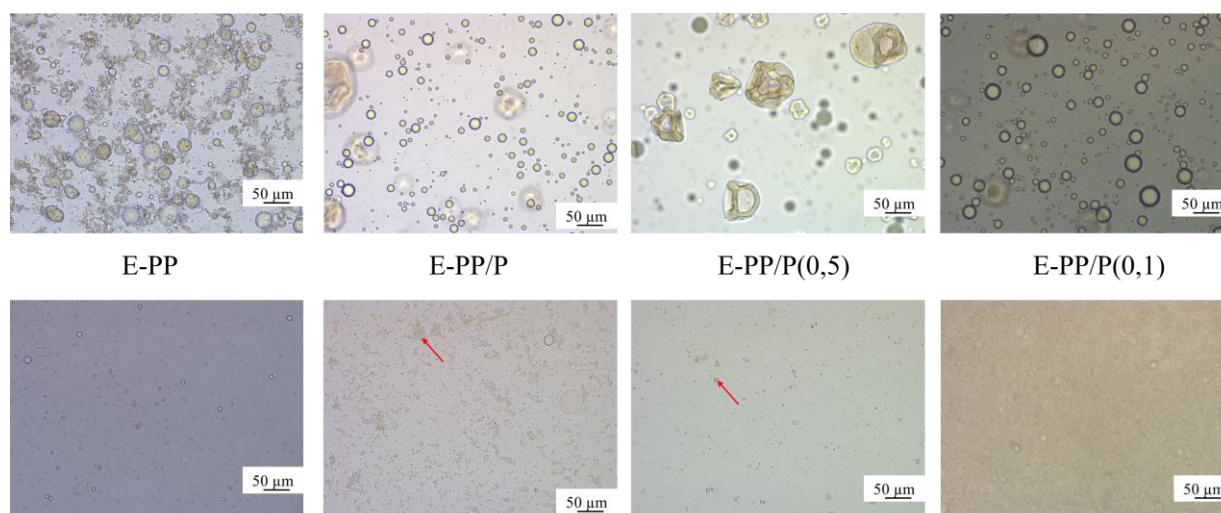


**Figure 4-11** Distributions de tailles avant (courbes bleues) et après traitements d'optimisation (courbes rouges)

**Tableau 4-6** Distributions de tailles en volume et viscosités des émulsions

| Echantillon     | Distribution de tailles (μm) |              |                        |                        | Viscosité apparente à 100 s <sup>-1</sup> (mPa.s) |                           |
|-----------------|------------------------------|--------------|------------------------|------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------|
|                 | UT                           |              | pH + HHP               |                        | UT                                                | pH + HHP                  |
|                 | Population 1                 | Population 2 | Population 1           | Population 2           |                                                   |                           |
| E-PP (contrôle) | 66,0 ± 1,0 <sup>b</sup>      | -            | 0,2 ± 0,1 <sup>a</sup> | 3,2 ± 0,2 <sup>a</sup> | 1,3 ± 0,1 <sup>a</sup>                            | 1,3 ± 0,1 <sup>a</sup>    |
| E-PP/P          | 97,3 ± 4,7 <sup>d</sup>      | 12,4 ± 0,3   | 0,2 ± 0,1 <sup>a</sup> | 7,3 ± 0,2 <sup>b</sup> | 275,8 ± 26,2 <sup>d</sup>                         | 256,9 ± 20,2 <sup>d</sup> |
| E-PP/P(0,5)     | 74,6 ± 0,1 <sup>c</sup>      | -            | 0,2 ± 0,1 <sup>a</sup> | 7,6 ± 0,1 <sup>b</sup> | 40,0 ± 0,1 <sup>c</sup>                           | 136,6 ± 10,1 <sup>c</sup> |
| E-PP/P(0,1)     | 53,3 ± 0,1 <sup>a</sup>      | -            | 0,2 ± 0,1 <sup>a</sup> | 7,6 ± 0,1 <sup>b</sup> | 1,9 ± 0,1 <sup>b</sup>                            | 7,6 ± 0,2 <sup>b</sup>    |

<sup>a-d</sup> les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes (p < 0,05)



**Figure 4-12** Images microscopiques des différentes émulsions obtenues avant (images du haut) et après traitements d'optimisation (images du bas)

#### IV.4.2. Caractérisation des microparticules

Les microparticules formulées à partir des extraits protéiques de pois seuls ou en association avec 0,5 ou 0,1% w/v de pectine seront notées M-PP, M-PP/P(0,5) et M-PP/P(0,1), respectivement. Afin de conserver la même dénomination que dans la partie précédente, la poudre formulée à partir de 2% w/v de pectine sera appelée M-PP/P, et non pas M-PP/P(2).

##### IV.4.2.1. Taux d'humidité et activité de l'eau des microparticules

Les taux d'humidité et les activités de l'eau des microparticules sont présentés sur le **Tableau 4-7**.

**Tableau 4-7** Taux d'humidité et activités de l'eau des microparticules

| Echantillons    | Taux d'humidité (%)    | Activité de l'eau          |
|-----------------|------------------------|----------------------------|
| M-PP (contrôle) | 1,4 ± 0,1 <sup>a</sup> | 0,118 ± 0,019 <sup>a</sup> |
| M-PP/P          | 4,1 ± 0,3 <sup>d</sup> | 0,211 ± 0,014 <sup>b</sup> |
| M-PP/P(0,5)     | 3,0 ± 0,1 <sup>c</sup> | 0,117 ± 0,030 <sup>a</sup> |
| M-PP/P(0,1)     | 1,9 ± 0,1 <sup>b</sup> | 0,144 ± 0,017 <sup>a</sup> |

<sup>a-d</sup> les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

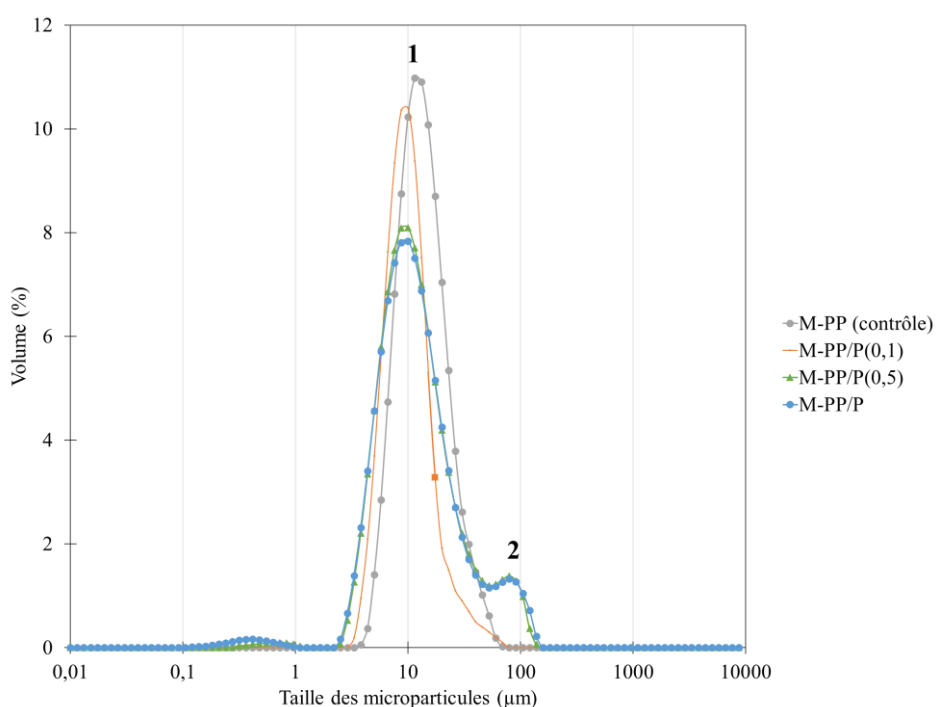
Ces résultats montrent une diminution significative des taux d'humidité des microparticules produites lors de la réduction du taux de pectine incorporée dans les émulsions, avec des valeurs de 4,1, 3,0 et 1,9 % pour M-PP/P, M-PP/P(0,5) et M-PP/P(0,1), respectivement. De plus, les activités de l'eau de M-PP/P(0,5) et M-PP/P(0,1) sont significativement inférieures à celle de M-PP/P.

Ces résultats sont en accord avec les valeurs de rendements présentées précédemment. L'augmentation de la concentration de pectine a entraîné des difficultés de séchage de l'émulsion et donc une augmentation de l'eau résiduelle au sein des microparticules.

Cependant, l'ajout de pectine à hauteur de 0,1 et 0,5 % w/v n'a pas entraîné d'augmentation de l' $a_w$  des microparticules, comparativement à M-PP. Ce résultat peut être relié à la capacité de rétention d'eau de la pectine par formation de liaisons hydrogène avec ses groupes hydroxyles, diminuant ainsi la quantité d'eau disponible. Une augmentation a néanmoins été observée par l'ajout de 2% w/v de pectine, avec une hausse de  $a_w$  de 0,118 à 0,211.

#### IV.4.2.2. Distribution de tailles et morphologie des microparticules

Les distributions volumiques des microparticules formulées à partir de différentes concentrations de pectine, et comparées à celle de M-PP, sont présentées sur la **Figure 4-13**.

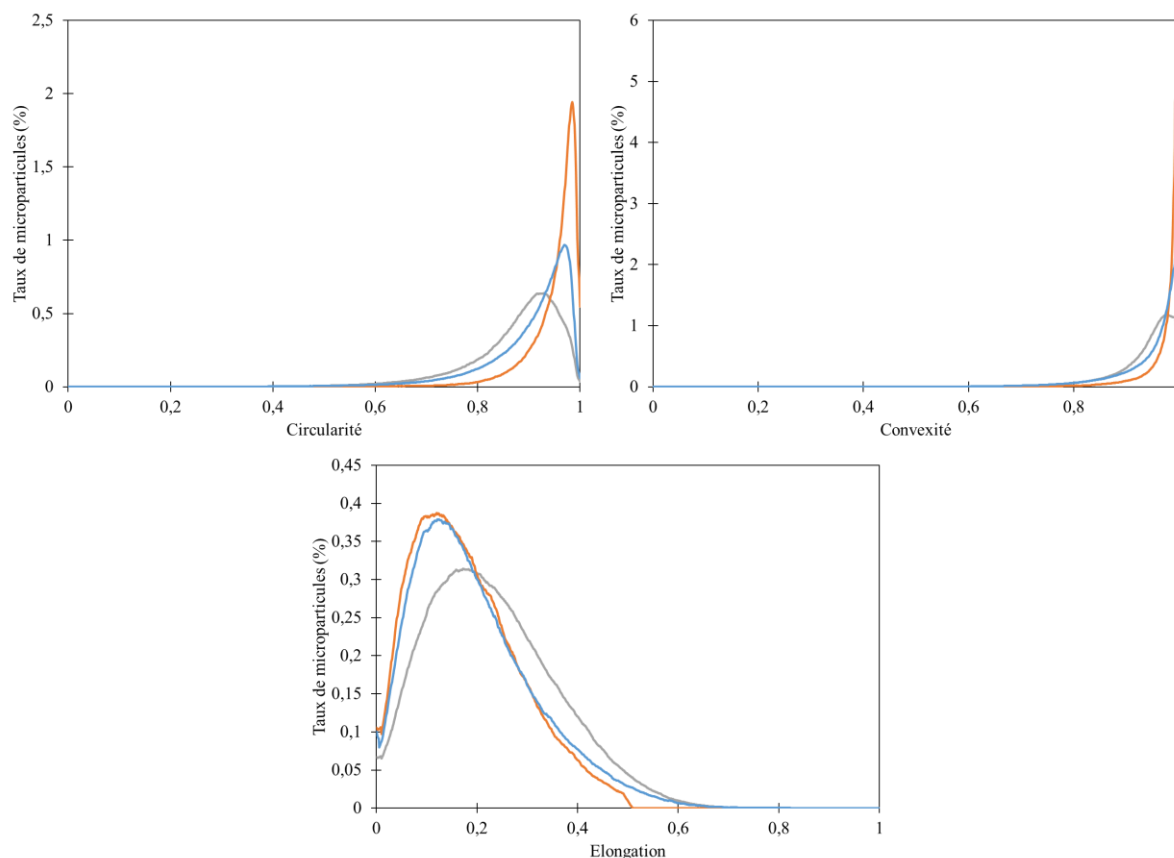


**Figure 4-13** Distributions volumiques de la taille des microparticules

Malgré l'augmentation des taux d'humidité des microparticules formulées à partir de pectine, la taille moyenne en volume des populations majoritaires pour ces microparticules (population 1) n'a pas augmenté par rapport à la taille moyenne obtenue pour M-PP. En revanche, une deuxième population est visible pour M-PP/P et M-PP/P(0,5), correspondant probablement à la présence d'agglomérats créés en raison de la quantité d'eau résiduelle présente dans ces échantillons.

Pour cette partie, trois paramètres morphologiques, la convexité, l'élongation et la circularité, ont également été évalués pour caractériser M-PP/P et M-PP/P(0,1) et les comparer aux

résultats de M-PP. La définition de ces paramètres est décrite à la **section II.2.2.5.2**. Les distributions et les valeurs de ces trois paramètres sont présentées à la **Figure 4-14** et au **Tableau 4-8**.



**Figure 4-14** Distributions des paramètres de circularité, de convexité et d'élongation des microparticules. Les courbes grises, bleues et oranges représentent les valeurs pour M-PP, M-PP/P et M-PP/P(0,1)

**Tableau 4-8** Valeurs des paramètres de circularité, de convexité et d'élongation des microparticules

| Paramètre morphologique | Circularité D[n,50] | Elongation D[n,50] | Convexité D[n,50] |
|-------------------------|---------------------|--------------------|-------------------|
| M-PP                    | 0,896               | 0,215              | 0,954             |
| M-PP/P(0,1)             | 0,966               | 0,163              | 0,989             |
| M-PP/P                  | 0,929               | 0,173              | 0,967             |

Ces résultats nous montrent que les trois échantillons présentent des circularités et des convexités proches de 1 et des élongations tendant vers 0, suggérant la présence de microparticules de forme sphérique et peu rugueuses. Ces résultats sont donc en accord avec les observations effectuées en MEBE de M-PP et M-PP/P (**Figure 4-9**). Néanmoins, l'ajout de pectine a entraîné une augmentation des paramètres de circularité et de convexité et une diminution du facteur d'élongation, comparativement aux microparticules produites exclusivement à partir d'extraits protéiques de pois.

Ces modifications peuvent être expliquées par un changement des propriétés physico-chimiques de la croûte à la périphérie des microparticules en raison de la présence de pectine. Ainsi, une augmentation de la circularité peut suggérer une limitation des phénomènes de « contraction », phénomène typique des microparticules formulées exclusivement à partir de matrices protéiques et donc une meilleure homogénéité de la croûte située à la périphérie des microparticules. L'obtention de microparticules possédant une surface lisse présente de nombreux avantages. En effet, des particules présentant une forte rugosité ont une plus grande surface de contact, comparativement aux surfaces lisses, les rendant plus sensibles aux réactions de dégradation, tels que les phénomènes d'oxydation [190]. De plus, les propriétés d'écoulement sont améliorées lorsque les microparticules présentent peu d'irrégularité à leur surface [232].

#### IV.4.2.3. Stabilité oxydative des microparticules

Les valeurs des temps d'induction normalisés ( $\Delta IP$ ) des microparticules formulées à partir de différentes concentrations de pectine sont présentées au **Tableau 4-9**.

**Tableau 4-9** Temps d'induction des huiles encapsulées dans des matrices complexes à base d'extraits protéiques de pois et de différentes concentrations de pectine

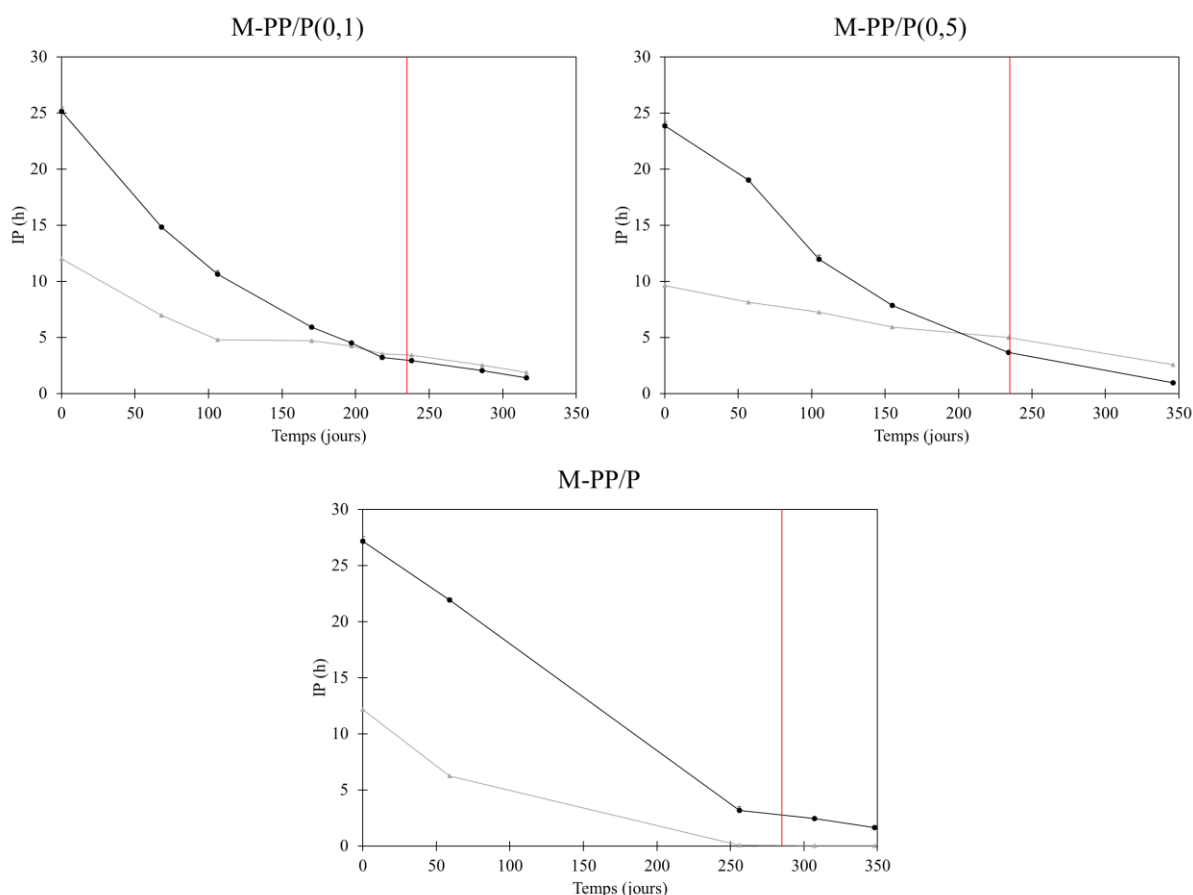
| Echantillon | $\Delta IP$ (h)    |
|-------------|--------------------|
| M-PP/P      | $15,01 \pm 0,28^c$ |
| M-PP/P(0,5) | $14,23 \pm 0,33^b$ |
| M-PP/P(0,1) | $13,12 \pm 0,17^a$ |

<sup>a-c</sup> les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

Ces résultats nous montrent une augmentation du  $\Delta IP$  avec une augmentation de la concentration de pectine avec des valeurs de 13,12, 14,23 et 15,01 pour M-PP/P(0,1), M-PP/P(0,5) et M-PP/P, respectivement. Ainsi, malgré l'amélioration du rendement (**Figure 4-17**), la diminution de la quantité de pectine utilisée a entraîné une réduction de la protection de l'huile face aux attaques oxydatives. En revanche, l'utilisation d'une très faible concentration de pectine (0,1 % w/w) montre tout de même une amélioration du temps de stabilité face à M-PP, avec un  $\Delta IP$  passant de 11,86 à 13,12 h pour les tests à  $t_0$ .

#### IV.4.2.4. Cinétiques de vieillissement des microparticules

M-PP/P(0,5) et M-PP(0,1), ainsi que les huiles pures ayant servi à les formuler, ont été placées en stockage pour effectuer les cinétiques de vieillissement par mesure des indices de stabilité oxydative à différents temps. Ces cinétiques ont été comparées à celle de M-PP/P (**Figure 4-15**).



**Figure 4-15** Stabilités oxydatives des huiles de tournesol encapsulées (courbes noires) et comparées aux stabilités oxydatives des huiles de tournesol ayant servi à formuler les microparticules (courbes grises). Les marques rouges représentent les dates de durabilité minimales des huiles

Ces résultats nous montrent un croisement plus précoce du temps de stabilité des huiles encapsulées dans M-PP/P(0,5) et M-PP/P(0,1) avec celui des huiles pures, comparativement à l'huile contenue dans M-PP/P. Il ne semble pas y avoir de différence significative entre les temps de croisement pour ces deux échantillons (autour des 200 jours). Une date de croisement similaire a été observée pour M-PP (**Figure 3-20**). Ainsi, malgré une amélioration des IP à  $t_0$ , l'addition de pectine à des concentrations de 0,1 et 0,5% w/v ne semble pas allonger le temps de conservation de l'huile de tournesol, comparativement à une encapsulation dans des extraits protéiques de pois purs. Ainsi, ces concentrations ne semblent pas suffisantes pour ralentir le phénomène de relargage de l'huile contenue dans les microparticules. Cependant, la quantité de composés volatils issus de l'oxydation de cette huile apparaît diminuée par l'utilisation de pectine à ces concentrations sur une durée de stockage inférieure à 200 jours.

#### IV.4.2.5. Rendement du procédé

Les rendements obtenus pour M-PP/P, M-PP/P(0,5) M-PP/P(0,1) sont de 23, 35 et 56%, respectivement. Ces résultats montrent une augmentation du rendement du procédé lors de la

diminution du taux de pectine incorporée dans les émulsions initiales. Le rendement de production de M-PP/P(0,1) atteint une valeur similaire à celui obtenu pour M-PP.

Ces résultats peuvent être mis en relation directe avec la viscosité des émulsions initiales.

### IV.5. Conclusion

Cette partie a pour objectif d'évaluer l'impact de l'addition de polysaccharides en tant que matières enrobantes complémentaires aux extraits protéiques de pois pour l'encapsulation d'huile de tournesol par séchage par atomisation afin d'en améliorer la stabilité oxydative.

Dans une première partie, la production de microparticules formulées à partir de gomme arabique pure pour l'encapsulation d'huile de tournesol a montré une diminution du temps de stabilité oxydative de l'huile, comparativement à l'utilisation des extraits protéiques de pois et de soja, en raison de propriétés de stabilité interfaciale insuffisantes. En revanche, les observations en MEBE ont montré une amélioration de la structure de surface des microparticules produites, pouvant prédire des capacités filmogènes performantes pour les polysaccharides.

Ainsi, la deuxième partie de ce chapitre a montré que l'addition de quatre polysaccharides possédant des propriétés variables, l'alginate de sodium, l'inuline, la maltodextrine et la pectine, a permis d'améliorer la stabilité oxydative de l'huile de tournesol lors du stockage, comparativement à l'encapsulation effectuée dans une matrice d'extraits protéiques de pois purs. En effet, leur utilisation a conduit à un allongement du temps de conservation de l'huile encapsulée, avec une amélioration des temps de stabilité sur toute la durée du stockage, pouvant ainsi prédire une diminution de la production de composés organiques volatils (COV). Malheureusement, l'addition de ces enrobants secondaires a également entraîné une diminution du rendement du procédé en raison de l'augmentation de la viscosité des émulsions initiales et de la nature collante des microparticules.

Ainsi, la dernière partie a consisté à diminuer la concentration d'incorporation du polysaccharide ayant montré les meilleures performances, la pectine. L'utilisation d'une concentration à 0,1% w/v a permis d'obtenir un rendement similaire à celui obtenu pour M-PP, de diminuer la quantité d'eau contenue dans l'échantillon et de limiter les phénomènes d'agglomération. En revanche, malgré une amélioration significative de l'IP de l'huile à  $t_0$ , cette concentration est apparue comme insuffisante pour ralentir les phénomènes de relargage d'huile et allonger le temps de conservation de l'huile de tournesol.

# Chapitre V.

## Co-encapsulation de molécules antioxydantes



### V.1. Préambule

Dans les précédents chapitres, nous avons vu que la microencapsulation est un moyen efficace pour protéger des huiles végétales riches en AGPI de l'oxydation. Afin d'allonger davantage la durée de préservation de ces huiles, des molécules antioxydantes ont également été co-encapsulées dans ces microparticules. Leur encapsulation permettra aussi d'améliorer leur absorption et leur biodisponibilité. Ainsi, dans le cadre de ce chapitre, l'effet de l'addition de deux molécules antioxydantes, l' $\alpha$ -tocophérol et le gallate de propyle, a été étudié sur la stabilité oxydative des huiles de tournesol et de lin encapsulées. L' $\alpha$ -tocophérol, molécule antioxydante la plus active de la vitamine E, a été choisi comme composé de référence pour cette étude. En effet, cette molécule est naturellement présente dans les huiles végétales et de nombreuses études ont montré son efficacité contre l'oxydation de matières actives hydrophobes sensibles [42,235]. A la suite d'essais réalisés par un membre partenaire du projet CAPSOIL, Aurélien Dagmey, sur la comparaison de l'addition de différentes molécules antioxydantes pour le ralentissement de la peroxydation lipidique d'huiles végétales, le gallate de propyle, antioxydant synthétique formé par la réaction d'estérification entre l'acide gallique et le propanol, a été sélectionné pour cette étude.

Ce travail est une contribution originale à la protection de matières actives par séchage par atomisation. En effet, à notre connaissance, quelques travaux ont évalué l'addition d'antioxydants à des huiles végétales sensibles [38], et aucune étude n'a porté sur leur co-encapsulation au sein de microparticules constituées de protéines végétales et produites par le procédé de séchage par atomisation.

Ainsi, ce chapitre se divise en deux parties principales.

Dans une première partie, l'effet de l'addition de différentes concentrations d' $\alpha$ -tocophérol et de gallate de propyle a été évalué sur la stabilité oxydative de l'huile de tournesol encapsulée par analyse des cinétiques de vieillissement réalisées en conditions accélérées au Rancimat. L'effet de la température de stockage a ensuite été étudiée par comparaison des temps d'induction à deux températures de conservation, 4 et 25 °C. Puis, les conditions d'incorporation retenues pour l'antioxydant sélectionné ont été appliquées à la microencapsulation de l'huile de lin.

La deuxième partie de ce chapitre a traité de la transposition des conditions de séchage par atomisation pour la production des microparticules à l'échelle pilote. Un essai préliminaire a ainsi été réalisé sur un appareil de séchage possédant une importante puissance de séchage pour la production de microparticules contenant à la fois de l'huile de tournesol et du gallate de propyle. Les poudres ont été caractérisées en termes de taux d'humidité, d'activité de l'eau, de distribution de tailles, de morphologie, de stabilité oxydative et de rendement.

## V.2. Etude de l'efficacité de l' $\alpha$ -tocophérol et du gallate de propyle

### V.2.1. Sélection des conditions d'incorporation

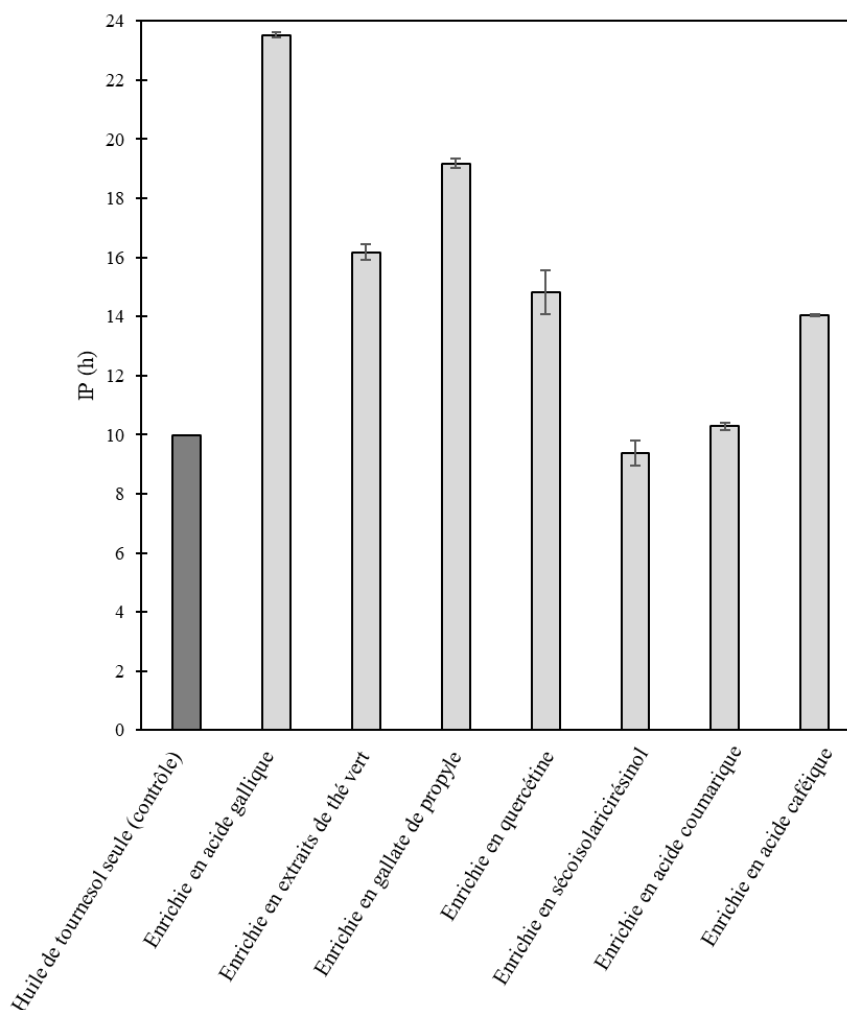
Dans le chapitre précédent, nous avons vu que l'addition de pectine en tant que matière enrobante pour une formulation constituée d'extraits protéiques de pois et d'huile végétale permettait d'augmenter le temps de conservation de cette matière active sensible en améliorant les propriétés filmogènes lors du procédé de séchage et en limitant ainsi le relargage de l'huile lors du stockage. En raison de l'augmentation de la viscosité de l'émulsion par l'ajout de 2% w/v de pectine, deux concentrations plus faibles ont ensuite été testées afin d'améliorer le rendement du procédé. A  $t_0$ , l'ensemble des échantillons formulés avec les différentes concentrations de ce polysaccharide ont montré une amélioration de l'IP de l'huile encapsulée. Néanmoins, les tests en stockage ont permis d'observer que l'utilisation de concentrations à 0,1 et 0,5% w/v de pectine n'a pas permis d'améliorer le temps de conservation de l'huile, comparativement à celui de l'huile encapsulée dans une matrice d'extraits protéiques de pois purs. Cependant, les résultats obtenus lors du stockage ayant été observés bien après la suite des essais, c'est donc l'échantillon composé de 0,1% w/v de pectine, de 10% w/v d'extraits protéiques de pois et de 10% w/v d'huile qui a été retenu comme formulation finale pour les tests d'incorporation des antioxydants phénoliques en raison de l'amélioration de l'IP de l'huile à  $t_0$  et de l'obtention d'un rendement satisfaisant.

Différentes molécules antioxydantes ont été sélectionnées et incorporées dans des huiles végétales selon diverses méthodes. La **Figure 5-1** montre les IP de l'huile de tournesol enrichie par l'ajout de 200 mg d'antioxydants solubilisés dans l'éthanol (acide gallique, extraits de thé vert, gallate de propyle, quercétine, sécoisolaricirésinol, acide coumarique ou acide caféique) et comparés à l'IP de l'huile de tournesol pure.

Ces résultats montrent que plusieurs antioxydants ont permis d'augmenter significativement l'IP de l'huile à  $t_0$ . Cette amélioration a été particulièrement efficace dans le cadre de l'utilisation d'acide gallique et de gallate de propyle. Cependant, l'utilisation de l'acide gallique n'étant pas autorisée pour des applications alimentaires, c'est le gallate de propyle qui a été sélectionné pour cette étude.

Afin d'effectuer un test comparatif, l' $\alpha$ -tocophérol a également été retenu pour cette analyse. En effet, cette molécule hydrophobe est naturellement retrouvée dans les huiles végétales et son activité antioxydante a été démontrée dans de nombreuses études. Il sera donc utilisé comme composé de référence dans ce chapitre.

Afin de déterminer les conditions d'incorporation optimales d'antioxydant permettant de réduire la peroxydation lipidique des huiles sélectionnées, deux concentrations ont été testées pour chaque molécule antioxydante, basées sur les recommandations du Codex Alimentarius [178] (**Tableau 5-1**).



**Figure 5-1** Stabilités oxydatives de l’huile de tournesol enrichie en différents antioxydants et comparées à l’huile de tournesol seule (contrôle)

**Tableau 5-1** Concentrations limites autorisées pour différents antioxydants destinés à des usages alimentaires [178]

| INS No.  | Additive                      | Maximum Use Level                                      |
|----------|-------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 304, 305 | Ascorbyl esters               | 500 mg/kg (as ascorbyl stearate)                       |
| 307a     | Tocopherol, d- <i>alpha</i> - | 500 mg/kg (Singly or in combination)                   |
| 307b     | Tocopherol concentrate, mixed |                                                        |
| 307c     | Tocopherol, dl- <i>alpha</i>  |                                                        |
| 310      | Propyl gallate                | 200 mg/kg (fat or oil basis) singly or in combination. |
| 319      | Tertiary butylhydroquinone    |                                                        |
| 320      | Butylated hydroxyanisole      |                                                        |
| 321      | Butylated hydroxytoluene      | 100 mg/kg                                              |
| 384      | Isopropyl citrates            |                                                        |
| 385, 386 | EDTAs                         |                                                        |
| 388, 389 | Thiodipropionates             | 200 mg/kg (as thiodipropionic acid)                    |

Ainsi, en tenant compte de ces recommandations, des concentrations de 0,01 et 0,004% w/v d' $\alpha$ -tocophérol et de gallate de propyle dans l'émulsion initiale, respectivement, ont été sélectionnées afin d'obtenir des concentrations de 500 et 200 mg/kg de poudre pour ces deux composés. Pour évaluer l'effet de la concentration sur l'activité antioxydante de ces deux molécules, deux concentrations plus importantes ont également été testées : 0,04 et 0,02% w/v pour l' $\alpha$ -tocophérol et le gallate de propyle, respectivement.

Les émulsions destinées à être séchées ont donc été formulées selon le protocole décrit à la **section II.2.2.2.3** puis séchées par le procédé d'atomisation comme décrit à la **section II.2.2.4.1**. Nous avons considéré que l'ajout de ces faibles quantités d'antioxydant n'allait pas entraîner de modification majeure de la nature des émulsions et des microparticules produites. Ainsi, seule la stabilité oxydative des huiles encapsulées a été évaluée à  $t_0$  et après différents temps de stockage.

### V.2.2. Etude de la stabilité oxydative

Les microparticules formulées à partir de 10% w/v d'extraits protéiques de pois, de 0,1% w/v de pectine, de 10% w/v d'huile de tournesol, de 0,01 ou 0,04% w/v d' $\alpha$ -tocophérol seront notées M- $\alpha$ T(0,01) et M- $\alpha$ T(0,04), respectivement. Celles formulées à partir de 0,004 ou 0,02% w/v de gallate de propyle seront notées M-PG(0,004) et M-PG(0,02), respectivement.

#### V.2.2.1. Stabilité oxydative et cinétiques de vieillissement

De la même manière que pour les essais précédents, les tests d'efficacité des antioxydants ont été réalisés par analyse au Rancimat en déterminant les IP immédiatement après production des microparticules (**Tableau 5-2**), puis après différents temps de stockage à 25 °C afin d'établir les cinétiques d'oxydation (**Figure 5-2**).

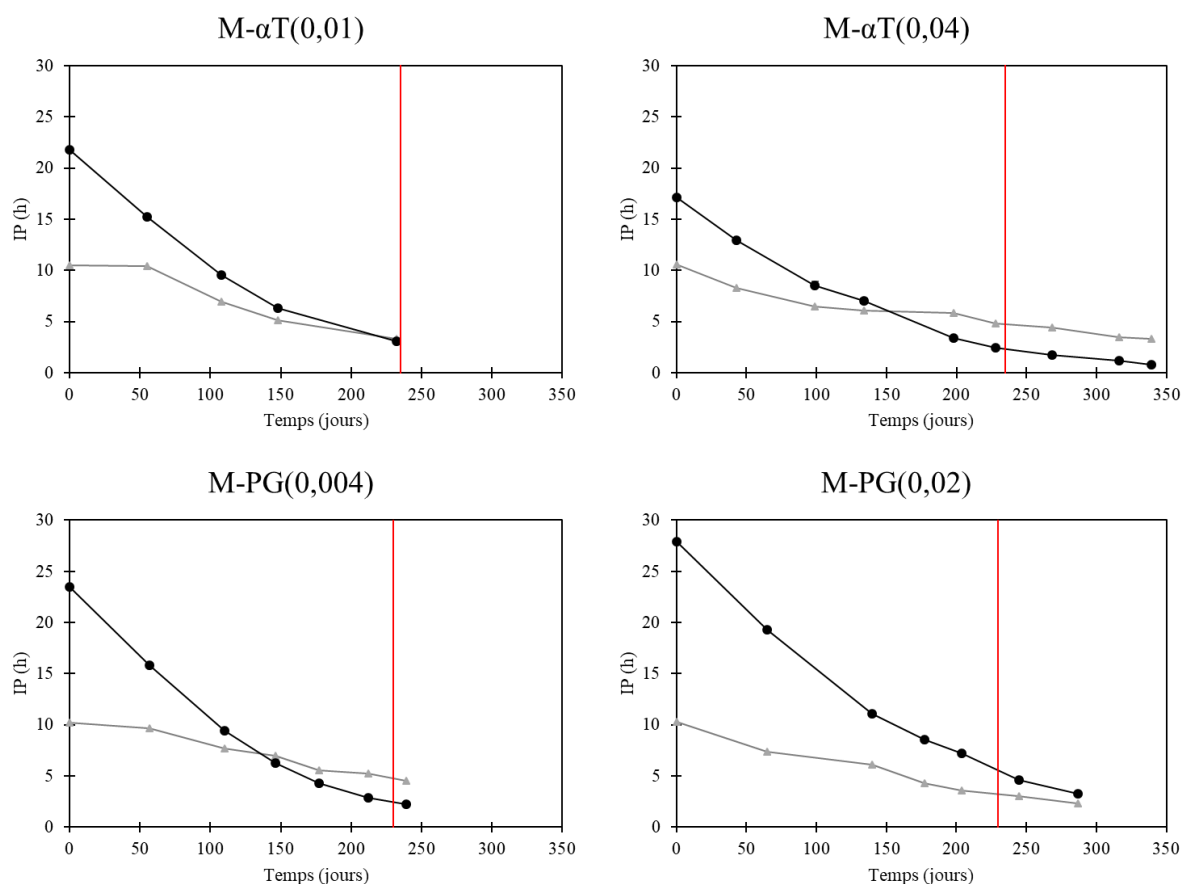
**Tableau 5-2** Temps d'induction normalisés ( $\Delta$ IP) des huiles encapsulées et renforcées par ajout de molécules antioxydantes et comparés au  $\Delta$ IP de la formulation sans ajout d'antioxydant (contrôle)

| Echantillon            | $\Delta$ IP (h)    |
|------------------------|--------------------|
| M-PP/P(0,1) (contrôle) | $13,12 \pm 0,17^c$ |
| M- $\alpha$ T(0,01)    | $11,27 \pm 0,11^b$ |
| M- $\alpha$ T(0,04)    | $6,55 \pm 0,23^a$  |
| M-PG(0,004)            | $13,55 \pm 0,35^c$ |
| M-PG(0,02)             | $17,58 \pm 0,21^d$ |

<sup>a-d</sup> les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

Les résultats du **Tableau 5-2** montrent des effets antagonistes entre l' $\alpha$ -tocophérol et le gallate de propyle. En effet, d'un côté, les mesures des  $\Delta$ IP montrent une diminution significative de la stabilité oxydative de l'huile de tournesol encapsulée par augmentation de la concentration d' $\alpha$ -tocophérol utilisée. En effet, des chutes de 1,85 et 6,57 h du  $\Delta$ IP de M-PP/P(0,1) ont été observées pour M- $\alpha$ T(0,01) et M- $\alpha$ T(0,04), respectivement. Ainsi, plus la concentration d' $\alpha$ -tocophérol apportée est importante, moins le temps de stabilité de l'huile

est long. Ce résultat suggère donc un effet pro-oxydant de l' $\alpha$ -tocophérol dans le cadre de cette étude.

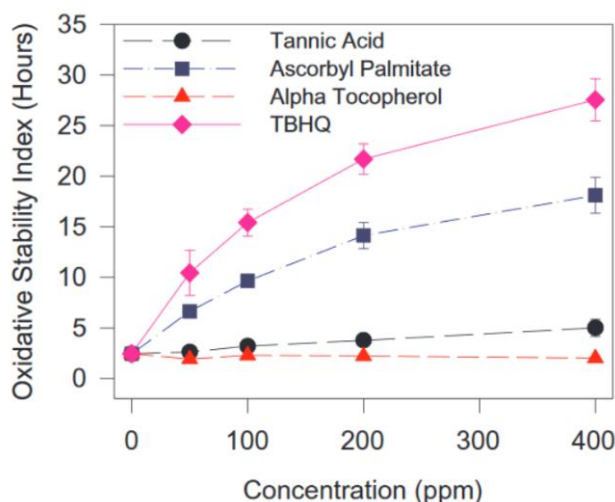


**Figure 5-2** Stabilité oxydative de l'huile de tournesol co-encapsulée avec différentes concentrations d'antioxydant (courbes noires) et comparée à la stabilité oxydative de l'huile de tournesol ayant servi à formuler les microparticules (courbes grises). Les marques rouges indiquent les dates de durabilités minimales des huiles pures

Ce constat peut sembler surprenant compte-tenu des nombreuses études ayant prouvé l'efficacité antioxydante de l' $\alpha$ -tocophérol. Néanmoins, des résultats similaires ont été observés sur une étude traitant de l'effet de différents antioxydants sur la stabilité oxydative de l'huile de lin (**Figure 5-3**) [234]. Les auteurs ont observé une augmentation des IP (ou OSI) après ajout de différents antioxydants, à l'exception de l' $\alpha$ -tocophérol, où les IP ont chuté avec l'augmentation de sa concentration. L'huile de lin enrichie de 400 ppm d' $\alpha$ -tocophérol a montré un IP de seulement 1,98 h, contre 2,40 h pour l'huile de lin pure.

Une autre étude ayant porté sur l'effet de l'addition l' $\alpha$ -tocophérol sur la stabilité oxydative de l'huile de soja en conditions accélérées, a montré que l'utilisation de cette molécule pouvait entraîner une initiation plus précoce de l'oxydation, réduisant la stabilité de l'huile et prouvant ainsi un effet pro-oxydant de l' $\alpha$ -tocophérol [235]. Ces résultats ont été expliqués par une modification des réactions de formation des produits d'oxydation par l'ajout d' $\alpha$ -tocophérol. En effet, ajouté en fortes concentrations, il induirait la génération de produits

d'oxydation de configuration (*Z,E*) normalement non détectés lors de l'oxydation des huiles végétales et formés à des stades précoces.



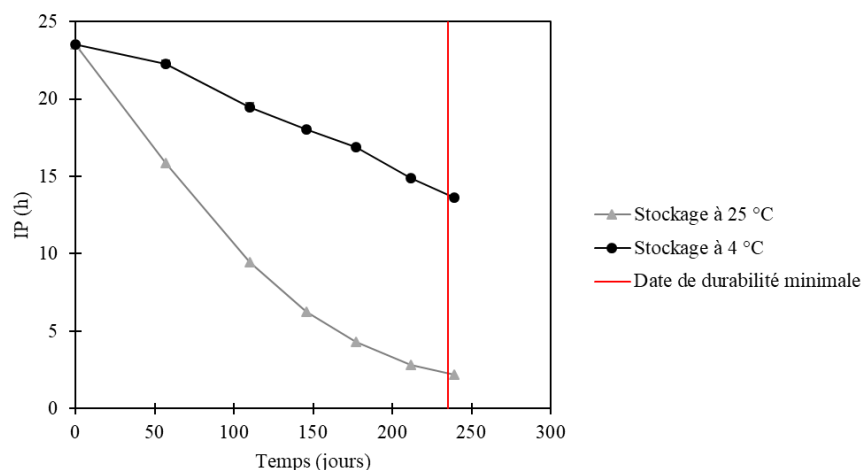
**Figure 5-3** Temps d'induction de l'huile de lin et de ses mélanges avec différents antioxydants obtenus à 110 °C par tests au Rancimat [234]

A contrario, malgré une amélioration non significative du  $\Delta IP$  de M-PG(0,004) comparativement au  $\Delta IP$  de M-PP/P(0,1), une augmentation de la concentration en gallate de propyle à 0,02% w/v a permis d'observer une amélioration significative de ce temps de stabilité oxydative à  $t_0$  (**Tableau 5-2**). Une amélioration est également visible sur les essais en stockage (**Figure 5-2**). En effet, un croisement des courbes entre l'huile encapsulée et l'huile pure plus précoce est observé pour M-PG(0,004), comparativement à M-PG(0,02). Ces résultats confirment donc l'efficacité antioxydante du gallate de propyle sur la stabilité oxydative de l'huile de tournesol ayant été précédemment observée (**Figure 5-1**).

#### V.2.2.2. Effet de la température de stockage sur la stabilité oxydative des microparticules

Afin d'évaluer l'effet de la température de stockage sur la stabilité oxydative de l'huile, immédiatement après la production de la poudre, l'échantillon M-PG(0,004) a été stocké à différentes températures et la stabilité oxydative de l'huile encapsulée a été mesurée à différents temps de stockage. La **Figure 5-4** montre les temps d'induction (IP) des microparticules stockées à 4 et 25 °C.

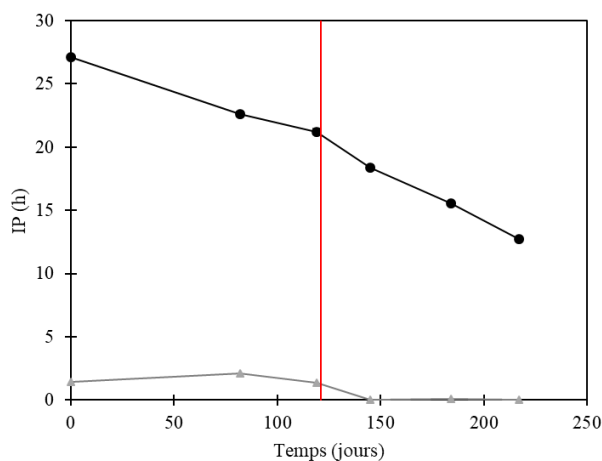
Il peut être observé que le stockage à basse température (4 °C) permet de ralentir significativement l'oxydation de l'huile encapsulée, comparativement à un stockage à température ambiante (25 °C). Des résultats similaires ont été observés dans le cadre d'une étude visant à ralentir les phénomènes d'oxydation de l'huile de lin par encapsulation dans une matrice complexe de protéines de lait et d'alginate [210]. Cet effet peut être attribué au fait que des vitesses d'oxydation supérieures sont obtenues à plus haute température, hypothèse également proposée par d'autres auteurs [238,239].



**Figure 5-4** Stabilité oxydative de l'huile de tournesol co-encapsulée avec 0,004% w/v de PG et stockée à différentes températures

#### V.2.2.3. Application au renforcement de la protection de l'huile de lin

La formulation effectuée à partir de 10% w/v d'extraits protéiques de pois, de 0,1% w/v de pectine et de 0,004% w/v de gallate de propyle a été appliquée à l'encapsulation d'huile de lin. Cet échantillon sera nommé M-PG(0,004)(L) dans cette partie. Les cinétiques de vieillissement de l'huile encapsulée et de l'huile de lin pure sont présentées à la **Figure 5-5**.



**Figure 5-5** Stabilité oxydative de l'huile de lin co-encapsulée avec 0,004% w/v de PG (courbe noire) et comparée à l'huile de lin ayant servi à formuler les microparticules (courbe grise). La marque rouge représente la date de durabilité minimale de l'huile pure

Comme observé dans les deux chapitres précédents, les conditions d'encapsulation validées par cette étude semblent particulièrement efficaces pour la protection de l'huile de lin contre l'oxydation. Dans ce cas, l'utilisation de 0,1% w/v de pectine et de 0,004% w/v de gallate de propyle permet d'améliorer significativement l'IP de l'huile encapsulée (voir les résultats de

M-PP(L) du **Tableau 3-9** et de la **Figure 3-27**). En effet, à  $t_0$ , le  $\Delta IP$  est passé de 14,96 à 25,69 h.

Cette poudre ayant été formulée au mois de février 2019, les analyses en vieillissement ne permettent pour l'instant pas d'obtenir le gain total de temps de stockage de l'huile de lin encapsulée. En revanche, ces résultats montrent que l'huile pure s'oxyde complètement autour de 150 jours à 25 °C et que l'huile encapsulée n'est toujours pas oxydée après 217 jours de stockage.

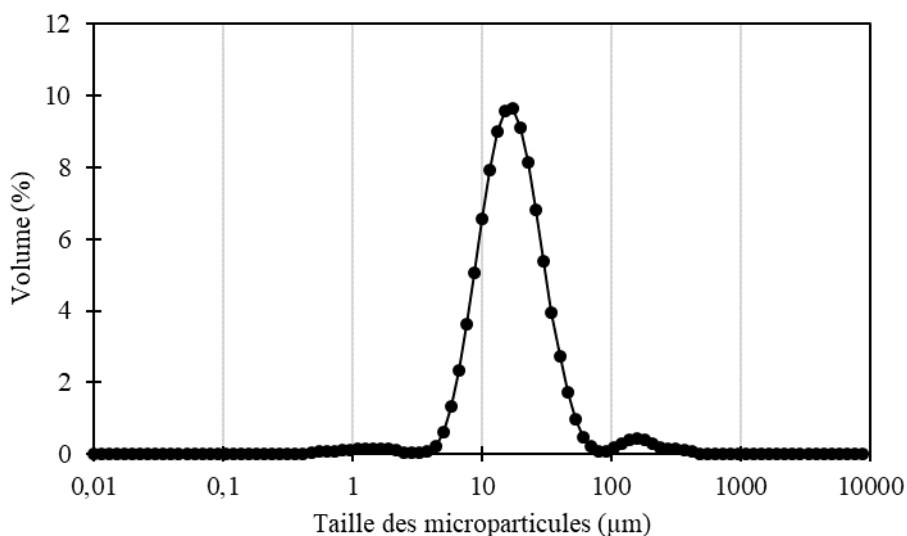
### V.3. Essai à l'échelle pilote

Cette partie présente des résultats préliminaires pour la production de nos microparticules en utilisant un atomiseur pilote. L'objectif de cette étude est de vérifier la faisabilité du procédé développé à l'échelle laboratoire à la production à plus grande échelle. Ainsi, la formulation de M-PG(0,004) a été utilisée pour la production de poudre sur l'appareil MOBILE MINOR. Les paramètres d'atomisation sont décrits à la **section II.2.2.4.2**. Les microparticules ainsi produites ont été caractérisées en terme de taux d'humidité et d'activité de l'eau, de distribution de tailles (**Figure 5-6**), de morphologie (**Figure 5-7**), d'efficacité d'encapsulation (EE), de stabilité oxydative (**Figure 5-8**) et de rendement d'atomisation.

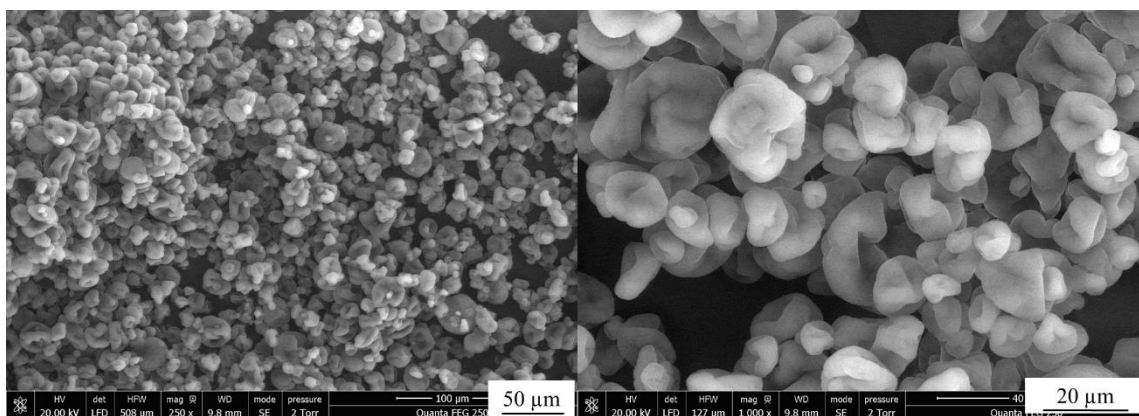
Les analyses du taux d'humidité et de l'activité de l'eau ( $a_w$ ) de l'échantillon ont montré des valeurs de  $7,4 \pm 0,2\%$  et  $0,433 \pm 0,019$ , respectivement. La poudre obtenue est donc significativement plus humide que celles obtenues par l'utilisation de l'atomiseur de laboratoire. La formulation liquide initiale étant strictement identique à celle produite précédemment, cette différence provient de l'appareillage utilisé. En effet, l'utilisation d'un type de buse différent (turbine contre buse bi-fluide), d'un débit possiblement trop élevé et l'obtention d'une température de sortie légèrement inférieure (85 contre 90 °C) sont autant de facteurs pouvant expliquer cette différence.

Concernant la distribution de tailles des microparticules (**Figure 5-6**), la population apparaît relativement monomodale avec un  $d_{4,3}$  de  $25,5 \pm 1,4 \mu m$ . Les microparticules obtenues présentent donc une taille supérieure à celles produites par l'appareil de laboratoire, s'expliquant principalement par le changement de type de buse. Cette augmentation de taille est également visible sur les images MEBE de la **Figure 5-7**.

La morphologie obtenue correspond bien à celle observée pour les microparticules formulées à partir d'extraits protéiques de pois et de pectine. Néanmoins, un phénomène de « contraction » des microparticules plus prononcé peut être observé, confirmant l'application de conditions de séchage différentes.



**Figure 5-6** Distribution volumique de la taille des microparticules M-PG(0,004) obtenues par l'atomiseur pilote



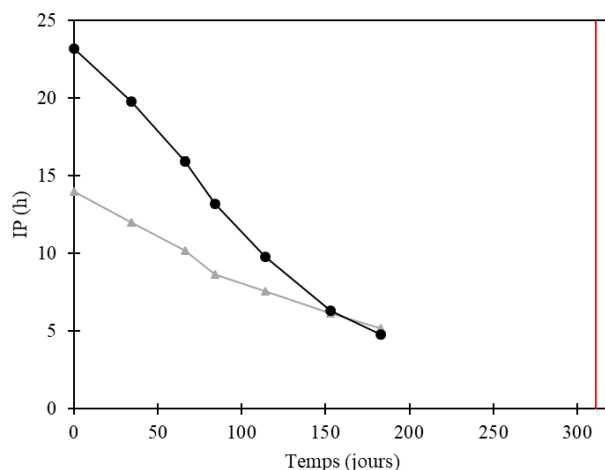
**Figure 5-7** Images obtenues en MEBE des microparticules M-PG(0,004) obtenues par l'atomiseur pilote

La poudre obtenue présente un  $\Delta IP$  de  $9,22 \pm 0,04$  h, valeur significativement inférieure à celle de M-PG(0,004) ( $13,55 \pm 0,35$  h).

La cinétique de stabilité oxydative de cet échantillon est également présentée à la **Figure 5-8**.

Malgré un  $\Delta IP$  inférieur à  $t_0$ , les analyses en vieillissement montrent un croisement des deux courbes au bout d'environ 150 jours de stockage, résultats sensiblement similaire à celui de la poudre M-PG(0,004) formulée à l'échelle laboratoire (**Figure 5-2**).

L'EE du procédé est de  $53 \pm 13\%$ . Concernant la rentabilité économique du procédé, l'utilisation de cet appareil a permis d'obtenir un rendement élevé de 64%.



**Figure 5-8** Stabilité oxydative de l'huile de tournesol co-encapsulée avec 0,004% w/v de PG (courbe noire) par l'appareillage pilote et comparée à l'huile seule (courbe grise). La marque rouge indique la date de durabilité minimale de l'huile pure

Un récapitulatif des caractéristiques des poudres formulées avec l'atomiseur de laboratoire et l'atomiseur pilote est présenté au **Tableau 5-3**.

**Tableau 5-3** Comparatif des paramètres caractéristiques des poudres M-PG(0,004) obtenues avec les atomiseurs de laboratoire et pilote

| Caractérisations des microparticules                             | Echelle laboratoire | Echelle pilote    |
|------------------------------------------------------------------|---------------------|-------------------|
| Taux d'humidité (%)                                              | $1,9 \pm 0,1$       | $7,4 \pm 0,2$     |
| Activité de l'eau ( $a_w$ )                                      | $0,144 \pm 0,017$   | $0,433 \pm 0,019$ |
| Diamètre moyen en volume ( $d_{4,3}$ ) ( $\mu\text{m}$ )         | $18,0 \pm 3,0$      | $25,5 \pm 1,4$    |
| Efficacité d'encapsulation (EE) (%)                              | -                   | $53 \pm 13$       |
| Temps de stabilité oxydative normalisé ( $\Delta\text{IP}$ ) (h) | $13,12 \pm 0,17$    | $9,22 \pm 0,04$   |
| Rendement (%)                                                    | 56                  | 64                |

Ainsi, malgré la nécessité d'effectuer des tests complémentaires permettant de se rapprocher des conditions de séchage appliquées pour les essais au laboratoire, ce premier résultat de transposition d'échelle permet de confirmer la faisabilité de production de poudre microparticulaire protégeant efficacement l'huile de tournesol de l'oxydation et dont le rendement est parfaitement satisfaisant pour l'encapsulation d'une matière active hydrophobe.

#### V.4. Conclusion

L'objectif principal de ce chapitre était d'étudier l'effet de la co-encapsulation de deux molécules antioxydantes, l' $\alpha$ -tocophérol et le gallate de propyle, sur la stabilité oxydative de l'huile de tournesol et de l'huile de lin par mesure de la variation du temps d'induction des huiles encapsulées par mesure au Rancimat en conditions accélérées.

Dans une première partie, des microparticules formulées avec différentes concentrations d'antioxydants ont été produites et analysées. Cette étude a démontré l'efficacité du gallate de propyle en tant que ralentisseur de l'oxydation d'huiles riches en AGPI encapsulées. En effet, l'oxydation lipidique de ces composés a été notablement réduite lors des analyses en conditions accélérées en présence de 0,02% w/v de gallate de propyle. Les IP des huiles de tournesol et de lin ont été significativement allongés en présence de gallate de propyle lors de l'analyse au Rancimat. A contrario, l' $\alpha$ -tocophérol a montré un effet pro-oxydant, confirmé par une diminution de l'IP de l'huile lors de l'augmentation de la concentration d' $\alpha$ -tocophérol ajouté.

Dans une deuxième partie, un essai préliminaire de production de poudre à l'échelle pilote a été réalisé. Malgré des résultats démontrant la nécessité d'optimiser les paramètres du procédé afin de se rapprocher des conditions obtenues au laboratoire, ces premières analyses ont montré des résultats prometteurs permettant de prédire la faisabilité du procédé à plus grande échelle.



# Conclusion générale & perspectives



Ce travail de thèse avait pour objectif principal d'étudier différents moyens de stabilisation d'huiles végétales oxydables par co-encapsulation de ces huiles avec des antioxydants au sein de matrices constituées de biopolymères (protéines, polysaccharides et dérivés polysaccharidiques). Cette encapsulation avait plusieurs objectifs : s'assurer de la bonne conservation et de la stabilité des huiles lors des différentes étapes de transformation, de cuisson ou de stockage ; fournir un support aux huiles et aux antioxydants afin de les incorporer à des préparations alimentaires et permettre un contact direct entre ces huiles et les antioxydants sélectionnés. Ainsi, deux procédés ont été retenus à cette fin : le séchage par atomisation (spray-drying) et la sphérification par gélification externe d'alginate. Malgré des premiers résultats prometteurs obtenus par l'utilisation d'alginate de sodium, la partie du séchage par atomisation a été sélectionnée pour faire l'objet du corps de ce manuscrit. L'axe de recherche suivi pour cette étude a consisté à améliorer progressivement la formulation, en partant du facteur le plus impactant (la sélection du matériau d'enrobage principal) vers des apports liés aux problématiques précédemment rencontrées (l'ajout de matières enrobantes secondaires puis d'antioxydants), dont voici les principales conclusions.

\*

La première grande partie de cette thèse a consisté à sélectionner un matériau d'enrobage permettant de réaliser une protection efficace des huiles oxydables. Ainsi, ce matériau devait posséder de bonnes propriétés émulsifiantes afin de stabiliser la matière active au sein d'émulsions, mais également une bonne imperméabilité afin de protéger les huiles lors du stockage. Des composants d'origine végétale ayant été privilégiés, des protéines végétales ont tout naturellement été sélectionnées à cet effet. Dans un premier temps, les cinq extraits protéiques végétaux disponibles commercialement (issus des graines de chanvre, de pois, de riz brun, de soja et de tournesol) ont été solubilisés en solutions aqueuses à différents pH afin de sélectionner les conditions les plus appropriées et de différencier ces extraits. Les résultats suivants sont apparus :

- Les protéines de riz brun ont montré une solubilité significativement inférieure à celles des autres extraits, en raison de sa composition en fractions protéiques, riche en fractions moins solubles, les prolamines et les glutélines, retrouvées principalement dans les céréales. Les quatre autres protéines, issues de plantes dicotylédones et riches fractions solubles de type globulines et albumines, ont montré des pourcentages de solubilité supérieurs, particulièrement sur les gammes de pH les plus basiques ;
- Au pH sélectionné pour cette étude (pH = 7,8) et adapté aux applications alimentaires, les protéines de chanvre, de soja et de pois ont montré les pourcentages de solubilité les plus importants.

Les cinq extraits protéiques ont ensuite été utilisés pour stabiliser des émulsions H/E. Les constats suivants ont été observés :

- Malgré l'absence de molécules tensioactives dans les formulations, l'utilisation de protéines végétales seules a permis de former des émulsions stables grâce à l'application de conditions d'émulsifications particulières (modification du pH et traitement à l'homogénéisateur à haute pression) ;

- L'utilisation des extraits protéiques de pois et de soja a permis d'obtenir des distributions de gouttelettes d'émulsions inférieures à 1  $\mu\text{m}$  et des émulsions de faibles viscosités.

La dernière étape de la formulation a consisté à sécher les émulsions précédemment formulées. Pour cela, deux conditions de séchage ont été appliquées :

- Un séchage à plus haute température (160 contre 120 °C) a entraîné une meilleure évaporation de l'eau contenue dans les gouttes d'émulsions et donc une meilleure efficacité d'encapsulation de l'huile au sein des microparticules produites, sans pour autant dégrader la matière active. Un séchage à 160 °C avec un débit de pompage de l'émulsion initiale à 9 mL/min a donc été retenu pour effectuer l'ensemble des séchages de cette étude ;
- Les extraits protéiques de pois et de soja sont des matériaux enrobants efficaces permettant d'augmenter significativement les temps de stabilité oxydative (IP) des huiles de tournesol et de lin ;
- L'encapsulation d'huile de tournesol par l'extrait protéique de chanvre n'a pas permis d'améliorer l'IP de la matière active. Malgré une composition intéressante et une bonne solubilité des protéines de chanvre, leur présence en faible proportion dans l'extrait (54% w/v) n'a pas permis de stabiliser des gouttelettes d'émulsions suffisamment petites, entraînant ainsi une importante quantité d'huile libre à la surface des microparticules ;
- Concernant les extraits protéiques de tournesol et de riz brun, leur utilisation a entraîné une diminution de l'IP de l'huile encapsulée en raison d'une encapsulation inefficace et d'une importante quantité d'huile de surface. Ces résultats ont pu être reliés à la mauvaise solubilité et la composition en fractions protéiques de ces extraits.

L'extrait protéique de pois, et dans une moindre mesure l'extrait protéique de soja, est donc un matériau particulièrement efficace pour l'encapsulation et la protection d'huiles oxydables par le procédé de séchage par atomisation. Ces résultats sont donc en accord avec les analyses des extraits protéiques et des émulsions correspondantes. Cette encapsulation est apparue comme particulièrement efficace pour l'encapsulation de composés riches en AGPI de type  $\omega$ -3, tels que l'huile de lin. Cependant, les analyses en vieillissement ont montré une perte d'efficacité des extraits protéiques de pois et de soja lors du stockage pour l'encapsulation d'huile de tournesol, nécessitant l'utilisation de matériaux enrobants secondaires permettant de limiter le relargage de l'huile au cours du temps.

\*

La deuxième partie de cette thèse a donc consisté à renforcer la matrice enrobante constituée d'extraits protéiques de pois par l'utilisation de différents polysaccharides, l'alginate de sodium, l'inuline, la maltodextrine et la pectine. Les résultats obtenus nous ont permis de conclure que :

- L'utilisation de l'ensemble de ces polysaccharides à hauteur de 2% w/v a permis d'améliorer significativement la stabilité oxydative de l'huile encapsulée sur l'ensemble de la durée de stockage de la poudre (plus d'une année) en raison de l'amélioration des propriétés filmogènes de la matrice enrobante lors du stockage, limitant ainsi les phénomènes de relargage de la matière active au cours du temps ;
- Cependant, afin d'améliorer ces propriétés, les polysaccharides doivent être apportés en quantité suffisante. En effet, dans le cas de l'addition de pectine, des concentrations de 0,1 et 0,5 % w/v n'ont pas permis d'améliorer la durée de conservation de l'huile, comparativement à l'huile encapsulée dans une matrice constituée d'extraits protéiques de pois purs.

\*

Enfin, la dernière grande partie a traité de la co-encapsulation d'huiles oxydables avec deux molécules antioxydantes, l' $\alpha$ -tocophérol et le gallate de propyle, afin de renforcer la protection de l'huile et de fournir un support à ces antioxydants pour améliorer leur absorption et leur biodisponibilité. Ainsi, les phénomènes suivants ont été observés :

- L'impact de ces antioxydants sur la stabilité oxydative de la matière active est dose-dépendant ;
- L' $\alpha$ -tocophérol et le gallate de propyle possèdent des effets antagonistes sur l'oxydation des huiles oxydables. En effet, l' $\alpha$ -tocophérol a montré une activité pro-oxydante tandis que l'utilisation du gallate de propyle en concentration suffisante a montré une amélioration de la stabilité oxydative des huiles encapsulées.

\*

Ce travail de thèse a donc permis de développer une nouvelle formulation pour la protection d'huiles végétales oxydables par spray-drying. En effet, grâce à l'utilisation de matériaux enrobants adéquats, la production de poudre contenant une importante proportion de matière active (plus de 45% w/v) a pu être réalisée sans l'utilisation de molécules tensioactives ou de solvants potentiellement toxiques. Ainsi, l'utilisation d'extrait protéique de pois a montré une efficacité significativement supérieure à celles des autres extraits testés, augmentant les temps de stabilité des huiles de tournesol et de lin de 12 et 15 h, respectivement. De plus, la combinaison de ces extraits protéiques avec différents polysaccharides a montré une amélioration des propriétés filmogènes de la matrice lors du séchage, limitant ainsi les phénomènes de relargage de la matière active lors du stockage. Enfin, les résultats obtenus ont montré que le gallate de propyle est un antioxydant particulièrement efficace contre la dégradation d'huiles riches en AGPI.

\*

Les perspectives qui s'offrent à ces travaux sont nombreuses. Tout d'abord, comme décrit à la fin de ce manuscrit, le premier essai de transposition à l'échelle pilote a montré des résultats prometteurs. Cependant, il semble nécessaire d'effectuer des tests complémentaires de modification des paramètres de séchage afin de se rapprocher des caractéristiques de la poudre obtenue à l'échelle laboratoire (diminution de la taille des microparticules produites, augmentation de l'efficacité d'encapsulation, amélioration de la stabilité oxydative de l'huile encapsulée). Ensuite, des études d'intervention nutritionnelle sur le modèle murin pourront

être envisagées afin de mesurer et de comparer les effets nutritionnels de la consommation des huiles encapsulées. En effet, l'administration de lipides plus ou moins oxydés et d'antioxydants est susceptible d'affecter certains paramètres de santé (croissance, souffrance hépatique, inflammation) et de statut nutritionnel (niveau d'acides gras circulants).

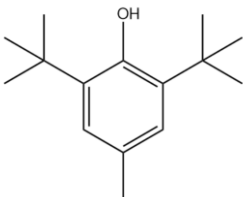
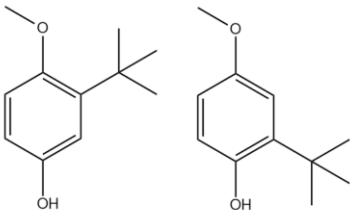
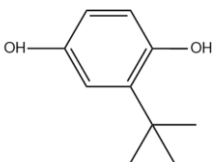
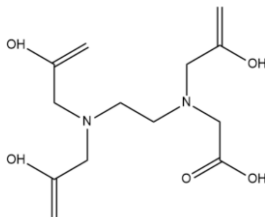
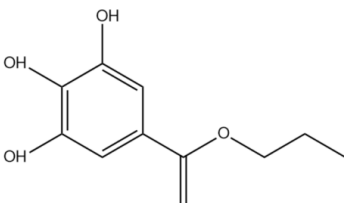
Concernant l'utilisation des différents extraits protéiques végétaux, il pourrait être intéressant d'étudier l'efficacité des protéines pures ou d'effectuer leur extraction dans les extraits utilisés. A titre d'exemple, l'extrait protéique de chanvre a montré des résultats très intéressants malgré la faible quantité de protéines présentes dans cet échantillon (54% w/v). De plus, à notre connaissance, aucune référence n'a relaté l'utilisation de ce biopolymère pour des applications d'encapsulation de matières actives sensibles. Il est néanmoins important de noter que ces protéines présentent une couleur verte vive pouvant empêcher leur utilisation pour certaines applications. Ainsi, il pourrait également être intéressant d'effectuer l'extraction des composés phénoliques responsables de cette coloration (acides chlorogéniques).

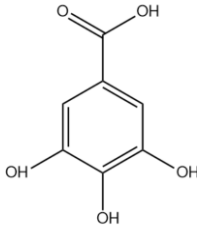
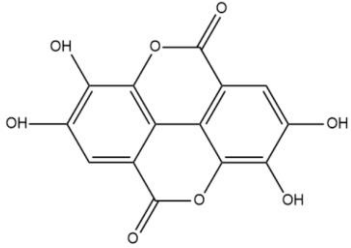
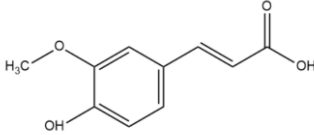
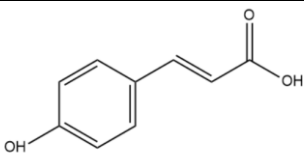
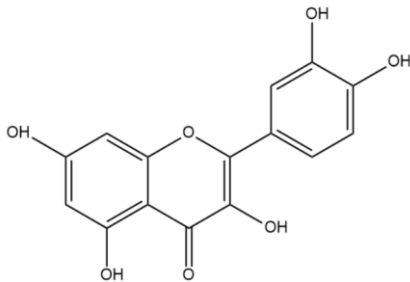
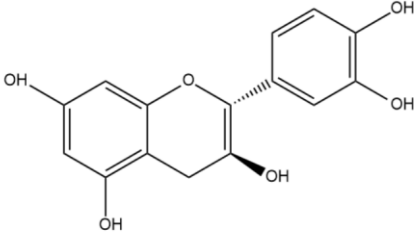
Enfin, la partie d'encapsulation par gélification d'alginate de sodium n'est qu'une première ébauche des possibilités envisagées. Concernant la fabrication de ces billes, la principale limitation repose sur la difficulté de les sécher en raison de la modification structurale de l'hydrogel d'alginate, entraînant un relargage de l'huile encapsulée lors de l'évaporation de l'eau. L'analyse de la stabilité oxydative au Rancimat ne pouvant être effectuée que sur des échantillons contenant une très faible quantité d'eau, d'autres méthodes de mesure pourraient être envisagées, par extraction d'huile, par exemple. L'utilisation de conservateurs adaptés pourraient également être envisagée afin de trouver une nouvelle application alimentaire à ces billes riches en eau, dans des formulations de type « caviar d'huile ». De plus, lors de la production des capsules d'alginate renfermant un cœur composé d'huile, des difficultés ont été rencontrées pour centrer parfaitement cette gouttelette de matière active au sein de la bille en raison du type de pompe utilisée (pompe péristaltique), déstabilisant le flux, mais également en raison de la différence de densité entre l'huile végétale et la solution d'alginate de sodium. Ainsi, des essais d'optimisation pourraient être réalisés en utilisant, par exemple, un autre type de pompe et des additifs dans la formulation afin de pallier cette différence de densité entre les deux fluides.

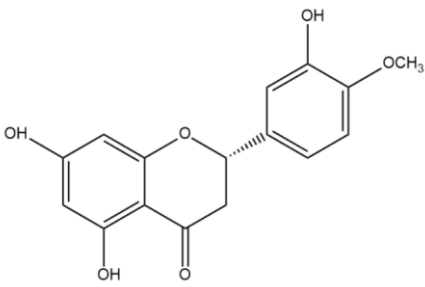
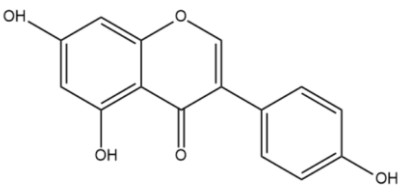
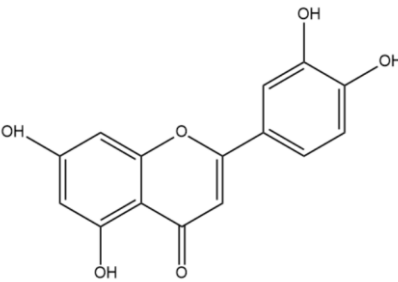
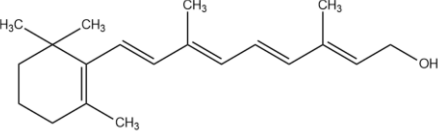
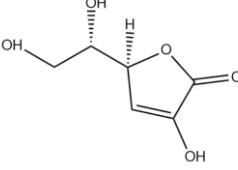
# Annexe

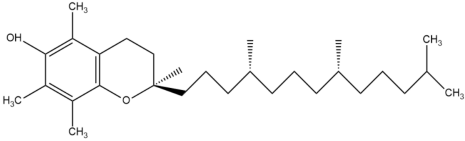
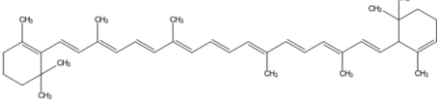
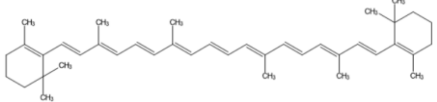
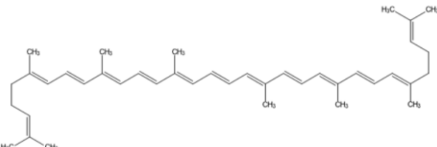
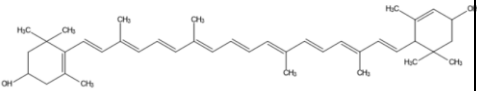
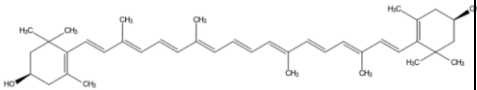
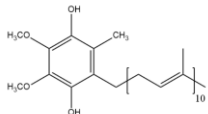
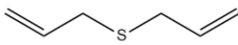


**Annexe** Liste des principaux antioxydants alimentaires avec leurs mécanismes d'action  
[41,44,240,241]

| Classification            |              |           | Nom                                         | Formule                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Mécanisme d'action                |
|---------------------------|--------------|-----------|---------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Antioxydants synthétiques |              |           | Hydroxytoluène butylé (BHT)                 |                                                                                                                                                                                                                                            | Donneur d'hydrogène               |
|                           |              |           | Hydroxyanisole butylé (BHA)                 |                                                                                                                                                                                                                                            | Donneur d'hydrogène               |
|                           |              |           | Butylhydroquinone tertiaire (TBHQ)          |                                                                                                                                                                                                                                            | Donneur d'hydrogène               |
|                           |              |           | Acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) |                                                                                                                                                                                                                                          | Chélation de métaux de transition |
|                           |              |           | Gallate de propyle                          |                                                                                                                                                                                                                                          | Donneur d'hydrogène               |
| Antioxydants naturels     | Enzymatiques | Primaires | Superoxyde dismutase (SOD)                  | Il existe trois formes de SOD dans l'organisme. La SOD1 est un homodimère contenant une liaison disulfure intramoléculaire et un site cuivre/zinc sur chaque sous-unité.<br>La SOD2 est un homotétramère possédant un ion manganèse sur chaque sous-unité.<br>La SOD3 est un tétramère complexé par des ions cuivre et zinc. | Elimination des hydroperoxydes    |
|                           |              |           | Catalase (CAT)                              | La catalase CAT est un tétramère dont chaque sous-unité contient une molécule d'hème.                                                                                                                                                                                                                                        | Elimination des hydroperoxydes    |
|                           |              |           | Glutathion peroxydase (GPx)                 | La GPx est un tétramère dont chaque sous-unité contient un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine.                                                                                                                                                                                                  | Elimination des hydroperoxydes    |

|  |                  |                    |                                            |                                                                                      |                                                                                          |
|--|------------------|--------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |                  | Secondaires        | Glutathion réductase (GR)                  | La GR est un homodimère dont chaque sous-unité contient trois domaines.              | Donneur d'hydrogène                                                                      |
|  |                  |                    | Glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) | La G6PDH est un homodimère.                                                          | Donneur d'hydrogène                                                                      |
|  | Non-enzymatiques | Acides phénoliques | Acide gallique                             |    | Donneur d'hydrogène                                                                      |
|  |                  |                    | Acide ellagique                            |    | Donneur d'hydrogène                                                                      |
|  |                  |                    | Acide férulique                            |   | Donneur d'hydrogène                                                                      |
|  |                  |                    | Acide paracoumarique                       |  | Donneur d'hydrogène                                                                      |
|  |                  | Flavonoïdes        | Quercétine                                 |  | Chélation de métaux de transition<br>Donneur d'hydrogène<br>Piégeurs d'anions superoxyde |
|  |                  |                    | Catéchine                                  |  | Chélation de métaux de transition<br>Donneur d'hydrogène<br>Piégeurs d'anions superoxyde |

|  |           |            |                                                                                                  |                                                                                                            |                                                                                                                 |
|--|-----------|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |           |            | Hespéritine                                                                                      |                          | Chélation de métaux de transition<br><br>Donneur d'hydrogène<br><br>Piégeurs d'anions superoxyde                |
|  |           |            | Génistéine                                                                                       |                          | Chélation de métaux de transition<br><br>Donneur d'hydrogène<br><br>Piégeurs d'anions superoxyde                |
|  |           |            | Lutéoline                                                                                        |                         | Chélation de métaux de transition<br><br>Donneur d'hydrogène<br><br>Piégeurs d'anions superoxyde                |
|  | Vitamines | Vitamine A | La vitamine A est constituée du tout-trans-rétinol et de l'ensemble de ses métabolites naturels. | <br>Rétinol            | Désactivation (quencher) de l'oxygène singlet                                                                   |
|  |           | Vitamine C | La vitamine C est constituée d'acide L-ascorbique et de ses sels, les ascorbates.                | <br>Acide L-ascorbique | Piégeur d'oxygène<br><br>Désactivation (quencher) de l'oxygène singlet<br><br>Chélateur de métaux de transition |
|  |           | Vitamine E | La vitamine E recouvre un ensemble de                                                            |                                                                                                            | Donneur                                                                                                         |

|  |              |                  |                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                 |
|--|--------------|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
|  |              |                  | <p>quatre tocophérols et quatre tocotriénols.<br/>La forme la plus active biologiquement est l'<math>\alpha</math>-tocophérol.</p>  <p><math>\alpha</math>-tocophérol</p> | <p>d'hydrogène</p> <p>Désactivation<br/>(quencher) de<br/>l'oxygène singlet</p> |
|  | Caroténoïdes | Carotènes        |  <p><math>\alpha</math>-carotène</p>  <p><math>\beta</math>-carotène</p>                | <p>Désactivation<br/>(quencher) de<br/>l'oxygène singlet</p>                    |
|  |              | Lycopène         |                                                                                                                                                                          | <p>Désactivation<br/>(quencher) de<br/>l'oxygène singlet</p>                    |
|  |              | Lutéine          |                                                                                                                                                                         | <p>Désactivation<br/>(quencher) de<br/>l'oxygène singlet</p>                    |
|  |              | Zéaxanthine      |                                                                                                                                                                         | <p>Désactivation<br/>(quencher) de<br/>l'oxygène singlet</p>                    |
|  | Co-facteur   | Ubiquinol        |                                                                                                                                                                         | <p>Donneur<br/>d'hydrogène</p>                                                  |
|  | Autre        | Sulfure d'allyle |                                                                                                                                                                         | <p>Piégeur d'oxygène</p>                                                        |

# Références



- [1] E. Yu, V. S. Malik, et F. B. Hu, « Cardiovascular Disease Prevention by Diet Modification: JACC Health Promotion Series », *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 72, n° 8, p. 914-926, août 2018.
- [2] F. Morisco, P. Vitaglione, D. Amoruso, B. Russo, V. Fogliano, et N. Caporaso, « Foods and liver health », *Mol. Aspects Med.*, vol. 29, n° 1, p. 144-150, févr. 2008.
- [3] R. Larsen, K.-E. Eilertsen, et E. O. Elvevoll, « Health benefits of marine foods and ingredients », *Biotechnol. Adv.*, vol. 29, n° 5, p. 508-518, sept. 2011.
- [4] K. W. Lange *et al.*, « Diet and medical foods in Parkinson's disease », *Food Sci. Hum. Wellness*, vol. 8, n° 2, p. 83-95, juin 2019.
- [5] M. H. Moghadasian, « Advances in dietary enrichment with n-3 fatty acids », *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 48, n° 5, p. 402-410, mai 2008.
- [6] M. Singh, « Essential fatty acids, DHA and human brain », *Indian J. Pediatr.*, vol. 72, n° 3, p. 239-242, mars 2005.
- [7] K. Albracht-Schulte *et al.*, « Omega-3 fatty acids in obesity and metabolic syndrome: a mechanistic update », *J. Nutr. Biochem.*, vol. 58, p. 1-16, août 2018.
- [8] C. C. Curioni, N. N. R. Alves, et L. Zago, « Omega-3 supplementation in the treatment of overweight and obese children and adolescents: A systematic review », *J. Funct. Foods*, vol. 52, p. 340-347, janv. 2019.
- [9] S. Huerta-Yépez, A. B. Tirado-Rodriguez, et O. Hankinson, « Role of diets rich in omega-3 and omega-6 in the development of cancer », *Bol. Méd. Hosp. Infant. México Engl. Ed.*, vol. 73, n° 6, p. 446-456, nov. 2016.
- [10] C. Itsiopoulos *et al.*, « The role of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in the management of type 2 diabetes mellitus: A narrative review », *J. Nutr. Intermed. Metab.*, vol. 14, p. 42-51, déc. 2018.
- [11] Anses, « Actualisation des Apports Nutritionnels Conseillés pour les acides gras - rapport d'expertise collective (mai 2011) », 2011.
- [12] P. Astorg *et al.*, « Plasma n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids as biomarkers of their dietary intakes: a cross-sectional study within a cohort of middle-aged French men and women », *Eur. J. Clin. Nutr.*, vol. 62, n° 10, p. 1155-1161, oct. 2008.
- [13] E. Patterson, R. Wall, G. F. Fitzgerald, R. P. Ross, et C. Stanton, « Health Implications of High Dietary Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids », *J. Nutr. Metab.*, vol. 2012, p. 1-16, 2012.
- [14] Anses, « Les lipides », *Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail*, 2017. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/les-lipides>. [Consulté le: 01-déc-2017].
- [15] N. Karak, « 3 - Vegetable oils and their derivatives », in *Vegetable Oil-Based Polymers*, N. Karak, Éd. Woodhead Publishing, 2012, p. 54-95.
- [16] D.-E. Kim, X. Shang, A. D. Assefa, Y.-S. Keum, et R. K. Saini, « Metabolite profiling of green, green/red, and red lettuce cultivars: Variation in health beneficial compounds and antioxidant potential », *Food Res. Int.*, vol. 105, p. 361-370, mars 2018.
- [17] G. Barceló-Coblijn et E. J. Murphy, « Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels », *Prog. Lipid Res.*, vol. 48, n° 6, p. 355-374, nov. 2009.
- [18] B. S. Dunbar, R. V. Bosire, et R. J. Deckelbaum, « Omega 3 and omega 6 fatty acids in human and animal health: An African perspective », *Mol. Cell. Endocrinol.*, vol. 398, n° 1-2, p. 69-77, déc. 2014.
- [19] S. Devarajan, R. Singh, B. Chatterjee, B. Zhang, et A. Ali, « A blend of sesame oil and rice bran oil lowers blood pressure and improves the lipid profile in mild-to-moderate hypertensive patients », *J. Clin. Lipidol.*, vol. 10, n° 2, p. 339-349, avr. 2016.

- [20] M. Arca *et al.*, « Hypertriglyceridemia and omega-3 fatty acids: their often overlooked role in cardiovascular disease prevention », *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, nov. 2017.
- [21] G. Zuliani, M. Galvani, E. Leitersdorf, S. Volpato, M. Cavalieri, et R. Fellin, « The role of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in the treatment of dyslipidemias », *Curr. Pharm. Des.*, vol. 15, n° 36, p. 4087-4093, 2009.
- [22] R. Gorjão *et al.*, « Comparative effects of DHA and EPA on cell function », *Pharmacol. Ther.*, vol. 122, n° 1, p. 56-64, avr. 2009.
- [23] C. S. Thesing, M. Bot, Y. Milaneschi, E. J. Giltay, et B. W. J. H. Penninx, « Omega-3 and omega-6 fatty acid levels in depressive and anxiety disorders », *Psychoneuroendocrinology*, vol. 87, p. 53-62, janv. 2018.
- [24] N. Parletta *et al.*, « People with schizophrenia and depression have a low omega-3 index », *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, vol. 110, p. 42-47, juill. 2016.
- [25] S. C. Larsson, M. Kumlin, M. Ingelman-Sundberg, et A. Wolk, « Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms », *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 79, n° 6, p. 935-945, juin 2004.
- [26] R. K. Saini et Y.-S. Keum, « Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance — A review », *Life Sci.*, vol. 203, p. 255-267, juin 2018.
- [27] W. M. N. Ratnayake et C. Galli, « Fat and fatty acid terminology, methods of analysis and fat digestion and metabolism: a background review paper », *Ann. Nutr. Metab.*, vol. 55, n° 1-3, p. 8-43, 2009.
- [28] E. N. Frankel, « Lipid oxidation », *Prog. Lipid Res.*, vol. 19, n° 1-2, p. 1-22, janv. 1980.
- [29] L. Tao, « Oxidation of Polyunsaturated Fatty Acids and its Impact on Food Quality and Human Health », *Adv. Food Technol. Nutr. Sci. - Open J.*, vol. 1, n° 6, p. 135-142, déc. 2015.
- [30] G. Schmitz et J. Ecker, « The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids », *Prog. Lipid Res.*, vol. 47, n° 2, p. 147-155, mars 2008.
- [31] M. B. Let, C. Jacobsen, et A. S. Meyer, « Sensory stability and oxidation of fish oil enriched milk is affected by milk storage temperature and oil quality », *Int. Dairy J.*, vol. 15, n° 2, p. 173-182, févr. 2005.
- [32] D. B. Min, A. L. Callison, et H. O. Lee, « Singulet Oxygen Oxidation for 2-Pentylfuran and 2-Pentenylfuran Formation in Soybean Oil », *J. Food Sci.*, vol. 68, n° 4, p. 1175-1178, mai 2003.
- [33] E. Arab-Tehrany, M. Jacquot, C. Gaiani, M. Imran, S. Desobry, et M. Linder, « Beneficial effects and oxidative stability of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 25, n° 1, p. 24-33, mai 2012.
- [34] M. Awada *et al.*, « Dietary oxidized n-3 PUFA induce oxidative stress and inflammation: role of intestinal absorption of 4-HHE and reactivity in intestinal cells », *J. Lipid Res.*, vol. 53, n° 10, p. 2069-2080, oct. 2012.
- [35] H. Zhong et H. Yin, « Role of lipid peroxidation derived 4-hydroxynonenal (4-HNE) in cancer: focusing on mitochondria », *Redox Biol.*, vol. 4, p. 193-199, 2015.
- [36] W. Palinski *et al.*, « Antisera and monoclonal antibodies specific for epitopes generated during oxidative modification of low density lipoprotein », *Arterioscler. Dallas Tex*, vol. 10, n° 3, p. 325-335, juin 1990.
- [37] M. E. Rosenfeld, W. Palinski, S. Ylä-Herttuala, S. Butler, et J. L. Witztum, « Distribution of oxidation specific lipid-protein adducts and apolipoprotein B in atherosclerotic lesions of varying severity from WHHL rabbits », *Arterioscler. Dallas Tex*, vol. 10, n° 3, p. 336-349, juin 1990.
- [38] S. Grosshagauer, R. Steinschaden, et M. Pignitter, « Strategies to increase the oxidative stability of cold pressed oils », *LWT*, vol. 106, p. 72-77, juin 2019.

- [39] B. Halliwell, « How to characterize a biological antioxidant », *Free Radic. Res. Commun.*, vol. 9, n° 1, p. 1-32, 1990.
- [40] A. A. Bunaciu, H. Y. Aboul-Enein, et S. Fleschin, « FTIR Spectrophotometric Methods Used for Antioxidant Activity Assay in Medicinal Plants », *Appl. Spectrosc. Rev.*, vol. 47, n° 4, p. 245-255, mai 2012.
- [41] J. Cillard et P. Cillard, « Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations », *Ol. Corps Gras Lipides*, vol. 13, n° 1, p. 24-29, janv. 2006.
- [42] A. Azzi, « Many tocopherols, one vitamin E », *Mol. Aspects Med.*, vol. 61, p. 92-103, juin 2018.
- [43] A. P. T. R. Pierucci, L. R. Andrade, M. Farina, C. Pedrosa, et M. H. M. Rocha-Leão, « Comparison of  $\alpha$ -tocopherol microparticles produced with different wall materials: pea protein a new interesting alternative », *J. Microencapsul.*, vol. 24, n° 3, p. 201-213, janv. 2007.
- [44] M. Carocho, P. Morales, et I. C. F. R. Ferreira, « Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 71, p. 107-120, janv. 2018.
- [45] M. E. Medina, C. Iuga, et J. R. Alvarez-Idaboy, « Antioxidant activity of propyl gallate in aqueous and lipid media: a theoretical study », *Phys. Chem. Chem. Phys. PCCP*, vol. 15, n° 31, p. 13137-13146, août 2013.
- [46] J.-P. Benoît, J. Richard, et M.-C. Venier-Julienne, « Microencapsulation », *Techniques de l'Ingénieur*, 2013. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/cosmetiques-42634210/microencapsulation-j2210/>. [Consulté le: 12-janv-2018].
- [47] R. Dubey, « Microencapsulation Technology and Applications », *Def. Sci. J.*, vol. 59, n° 1, p. 82-95, janv. 2009.
- [48] F. Paulo et L. Santos, « Design of experiments for microencapsulation applications: A review », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 77, p. 1327-1340, août 2017.
- [49] Vandamme, D. Poncelet, et Subra-Paternault, *Microencapsulation*. Lavoisier, 2007.
- [50] B. Tylkowski *et al.*, « Microencapsulation in Food Chemistry », *J. Membr. Sci. Res.*, vol. 3, n° 4, p. 265-271, oct. 2017.
- [51] I. M. Martins, M. F. Barreiro, M. Coelho, et A. E. Rodrigues, « Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications », *Chem. Eng. J.*, vol. 245, p. 191-200, juin 2014.
- [52] R. Arshady et B. Boh, *Microcapsule Patents and Products*, vol. 6. Citrus Books, 2003.
- [53] M. Evans, I. Ratcliffe, et P. A. Williams, « Emulsion stabilisation using polysaccharide–protein complexes », *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 18, n° 4, p. 272-282, août 2013.
- [54] A. Can Karaca, N. H. Low, et M. T. Nickerson, « Potential use of plant proteins in the microencapsulation of lipophilic materials in foods », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 42, n° 1, p. 5-12, mars 2015.
- [55] A. Nesterenko, I. Alric, F. Silvestre, et V. Durrieu, « Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness », *Ind. Crops Prod.*, vol. 42, p. 469-479, mars 2013.
- [56] D. Vallery-Masson, *Protéines végétales*. Paris, France: Technique et Documentation, 1985.
- [57] V. Cabra, Arreguin, Roberto, et Farres, Amelia, « Emulsifying properties of proteins », 2008.
- [58] C. D. Munialo, S. R. Euston, et H. H. J. de Jongh, « 19 - Protein gels », in *Proteins in Food Processing (Second Edition)*, R. Y. Yada, Éd. Woodhead Publishing, 2018, p. 501-521.

- [59] E. A. Foegeding et J. P. Davis, « Food protein functionality: A comprehensive approach », *Food Hydrocoll.*, vol. 25, n° 8, p. 1853-1864, déc. 2011.
- [60] D. J. McClements, *Food Emulsions : Principles, Practices, and Techniques, Second Edition*. CRC Press, 2004.
- [61] P. Walstra, *Physical chemistry of foods*. New York [etc.]: Marcel Dekker, 2003.
- [62] J. Surh, E. A. Decker, et D. J. McClements, « Properties and stability of oil-in-water emulsions stabilized by fish gelatin », *Food Hydrocoll.*, 2006.
- [63] M. del M. Contreras, A. Lama-Muñoz, J. Manuel Gutiérrez-Pérez, F. Espínola, M. Moya, et E. Castro, « Protein extraction from agri-food residues for integration in biorefinery: Potential techniques and current status », *Bioresour. Technol.*, vol. 280, p. 459-477, mai 2019.
- [64] A. Nesterenko, I. Alric, F. Violleau, F. Silvestre, et V. Durrieu, « The effect of vegetable protein modifications on the microencapsulation process », *Food Hydrocoll.*, vol. 41, p. 95-102, déc. 2014.
- [65] I. Debruyne, « Soja : transformation et aspects industriels », *Ref: TIP700WEB - « Agroalimentaire »*, 10-mars-2001. [En ligne]. Disponible sur: <https://www-techniques-ingenieur-fr.ezproxy.utc.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/filiere-de-production-produits-d-origine-vegetale-42433210/soja-transformation-et-aspects-industriels-f6030/>. [Consulté le: 20-nov-2018].
- [66] S. Utsumi, N. Maruyama, R. Satoh, et M. Adachi, « Structure-function relationships of soybean proteins revealed by using recombinant systems », *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 30, n° 3, p. 284-288, mars 2002.
- [67] K. Saio, M. Kamiya, et T. Watanabe, « Food Processing Characteristics of Soybean 11S and 7S Proteins: Part I. Effect of Difference of Protein Components among Soybean Varieties on Formation of Tofu-gel », *Agric. Biol. Chem.*, vol. 33, n° 9, p. 1301-1308, sept. 1969.
- [68] I. C. Peng, D. W. Quass, W. R. Dayton, et C. E. Allen, « The physicochemical and functional properties of soybean 11S globulin - A review », *Cereal Chem.*, vol. 61, n° 6, p. 480-490, 1984.
- [69] Y. Liu, Y. Cui, G. Wu, et M. Liao, « Preparation and properties of fast temperature-responsive soy protein/PNIPAAm IPN hydrogels », *J. Serbian Chem. Soc.*, vol. 79, n° 2, p. 211-224, 2014.
- [70] K. Nishinari, Y. Fang, S. Guo, et G. O. Phillips, « Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification », *Food Hydrocoll.*, vol. 39, p. 301-318, août 2014.
- [71] N. Maruyama *et al.*, « The effect of the N-linked glycans on structural features and physicochemical functions of soybean  $\beta$ -conglycinin homotrimers », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 79, n° 2, p. 139-144, févr. 2002.
- [72] F. Roy, J. I. Boye, et B. K. Simpson, « Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil », *Food Res. Int.*, vol. 43, n° 2, p. 432-442, mars 2010.
- [73] E. Rigamonti *et al.*, « Hypolipidemic effect of dietary pea proteins: Impact on genes regulating hepatic lipid metabolism », *Mol. Nutr. Food Res.*, vol. 54, n° S1, p. S24-S30, mai 2010.
- [74] H. Li *et al.*, « Blood Pressure Lowering Effect of a Pea Protein Hydrolysate in Hypertensive Rats and Humans », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 59, n° 18, p. 9854-9860, sept. 2011.
- [75] M. C. Tulbek, R. S. H. Lam, Y. (C.) Wang, P. Asavajaru, et A. Lam, « Chapter 9 - Pea: A Sustainable Vegetable Protein Crop », in *Sustainable Protein Sources*, S. R. Nadathur, J. P. D. Wanasundara, et L. Scanlin, Éd. San Diego: Academic Press, 2017, p. 145-164.

- [76] S. Tömösközi, R. Lásztity, R. Haraszi, et O. Baticz, « Isolation and study of the functional properties of pea proteins », *Nahrung/Food*, vol. 45, n° 6, p. 399, oct. 2001.
- [77] X.-S. Wang, C.-H. Tang, X.-Q. Yang, et W.-R. Gao, « Characterization, amino acid composition and in vitro digestibility of hemp (*Cannabis sativa* L.) proteins », *Food Chem.*, vol. 107, n° 1, p. 11-18, mars 2008.
- [78] J. C. Callaway, « Hempseed as a nutritional resource: An overview », *Euphytica*, vol. 140, n° 1, p. 65-72, janv. 2004.
- [79] C.-H. Tang, Z. Ten, X.-S. Wang, et X.-Q. Yang, « Physicochemical and Functional Properties of Hemp ( *Cannabis sativa* L.) Protein Isolate », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, n° 23, p. 8945-8950, nov. 2006.
- [80] FAO, « Food Outlook Global Market Analysis », nov. 2012.
- [81] B. Gassmann, « Preparation and application of vegetable proteins, especially proteins from sunflower seed, for human consumption. An approach », *Food Nahr.*, vol. 27, n° 4, p. 351-369, 1983.
- [82] S. González-Pérez, J. M. Vereijken, K. B. Merck, G. A. van Koningsveld, H. Gruppen, et A. G. J. Voragen, « Conformational states of sunflower (*Helianthus annuus*) Helianthinin: effect of heat and pH », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, n° 22, p. 6770-6778, nov. 2004.
- [83] S. González-Pérez, « 12 - Sunflower Proteins », in *Sunflower*, E. Martínez-Force, N. T. Dunford, et J. J. Salas, Éd. AOCS Press, 2015, p. 331-393.
- [84] J. Pedroche, « 13 - Utilization of Sunflower Proteins », in *Sunflower*, E. Martínez-Force, N. T. Dunford, et J. J. Salas, Éd. AOCS Press, 2015, p. 395-439.
- [85] J. Brückner, G. Mieth, et G. Muschiolik, « Functional properties of plant proteins in selected foods », *Food Nahr.*, vol. 30, n° 3-4, p. 428-429, 1986.
- [86] « Cereal Grains: Properties, Processing, and Nutritional Attributes », *CRC Press*. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.crcpress.com/Cereal-Grains-Properties-Processing-and-Nutritional-Attributes/Serna-Saldivar/p/book/9781439815601>. [Consulté le: 14-févr-2019].
- [87] G. G. Limas, M. Salinas, I. Moneo, S. Fischer, B. Wittmann-Liebold, et E. Méndez, « Purification and characterization of ten new rice NaCl-soluble proteins: identification of four protein-synthesis inhibitors and two immunoglobulin-binding proteins », *Planta*, vol. 181, n° 1, p. 1-9, avr. 1990.
- [88] O. Selamassakul, N. Laohakunjit, O. Kerdchoechuen, L. Yang, et C. S. Maier, « Isolation and characterisation of antioxidative peptides from bromelain-hydrolysed brown rice protein by proteomic technique », *Process Biochem.*, vol. 70, p. 179-187, juill. 2018.
- [89] E. M. S. Tecson, B. V. Esmama, L. P. Lontok, et B. O Juliano, « Studies on the Extraction and Composition of Rice Endosperm Glutelin and Prolamin », *Cereal Chem.*, vol. 48, p. 168-181, 1971.
- [90] B. N. Estevinho et F. Rocha, « Chapter 7 - Application of Biopolymers in Microencapsulation Processes », in *Biopolymers for Food Design*, A. M. Grumezescu et A. M. Holban, Éd. Academic Press, 2018, p. 191-222.
- [91] C. Anandharamakrishnan et S. P. Ishwarya, *Spray Drying Techniques for Food Ingredient Encapsulation*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2015.
- [92] F. Thevenet, « Acacia Gums », in *Flavor Encapsulation*, vol. 370, 0 vol., American Chemical Society, 1988, p. 37-44.
- [93] E. Dickinson, « Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems », *Food Hydrocoll.*, vol. 17, n° 1, p. 25-39, janv. 2003.

- [94] A. Taheri et S. M. Jafari, « Gum-based nanocarriers for the protection and delivery of food bioactive compounds », *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 269, p. 277-295, juill. 2019.
- [95] P. A. Williams, « Polysaccharide Ingredients: Gum Arabic », in *Reference Module in Food Science*, Elsevier, 2016.
- [96] C. H. Goh, P. W. S. Heng, et L. W. Chan, « Alginates as a useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications », *Carbohydr. Polym.*, vol. 88, n° 1, p. 1-12, mars 2012.
- [97] C. Sinquin et S. Collic-Jouault, « Les polysaccharides marins et leurs applications dans le domaine de la santé », *Ref: TIPI40WEB - « Bioprocédés »*, 10-mai-2014. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/42834210-ressources-marines-et-biotechnologies-bleues/download/bio6250/les-polysaccharides-marins-et-leurs-applications-dans-le-domaine-de-la-sante.html>. [Consulté le: 30-oct-2018].
- [98] V. J. Chapman et D. J. Chapman, « Algin and Alginates », in *Seaweeds and their Uses*, V. J. Chapman et D. J. Chapman, Éd. Dordrecht: Springer Netherlands, 1980, p. 194-225.
- [99] A. N. da Silva et C. H. Garcia-Cruz, « Biopolymers by Azotobacter Vinelandii », *Biopolymers*, 2010.
- [100] K. Ingar Draget, K. Østgaard, et O. Smidsrød, « Homogeneous alginate gels: A technical approach », *Carbohydr. Polym.*, vol. 14, n° 2, p. 159-178, janv. 1990.
- [101] G. Berth, « Methodical aspects of characterization of alginate and pectate by light scattering and viscometry coupled with GPC », *Carbohydr. Polym.*, vol. 19, n° 1, p. 1-9, janv. 1992.
- [102] B. H. Rehm et S. Valla, « Bacterial alginates: biosynthesis and applications », *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 48, n° 3, p. 281-288, sept. 1997.
- [103] G. Mualikrishna et R. N. Tharanathan, « Characterization of pectic polysaccharides from pulse husks », *Food Chem.*, vol. 50, n° 1, p. 87-89, janv. 1994.
- [104] B. K. Simpson, K. B. Egyankor, et A. M. Martin, « Extraction, purification and determination of pectin in tropical fruits », *J. Food Process. Preserv. USA*, 1984.
- [105] J. M. Lau, M. McNeil, A. G. Darvill, et P. Albersheim, « Structure of the backbone of rhamnogalacturonan I, a pectic polysaccharide in the primary cell walls of plants », *Carbohydr. Res.*, vol. 137, p. 111-125, mars 1985.
- [106] B. R. Thakur, R. K. Singh, et A. K. Handa, « Chemistry and uses of pectin--a review », *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 37, n° 1, p. 47-73, févr. 1997.
- [107] T. Sakai, T. Sakamoto, J. Hallaert, et E. J. Vandamme, « Pectin, pectinase and protopectinase: production, properties, and applications », *Adv. Appl. Microbiol.*, vol. 39, p. 213-294, 1993.
- [108] P. G. Crandall et L. Wicker, « Pectin Internal Gel Strength: Theory, Measurement, and Methodology », in *Chemistry and Function of Pectins*, vol. 310, 0 vol., American Chemical Society, 1986, p. 88-102.
- [109] J. N. BeMiller, « 10 - Inulin and Konjac Glucomannan », in *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists (Third Edition)*, J. N. BeMiller, Éd. AACC International Press, 2019, p. 253-259.
- [110] J.-L. Boutonniere, « Glucides et alimentation: aspects physicochimiques », *Ref: TIP700WEB - « Agroalimentaire »*, 10-sept-2014. [En ligne]. Disponible sur: <https://www-techniques-ingenieur-fr.ezproxy.utc.fr/base-documentaire/42433210-filiere-de-production-produits-d-origine-vegetale/download/f6152/glucides-et-alimentation-aspects-physicochimiques.html>. [Consulté le: 14-févr-2019].

- [111] D. Meyer et J.-P. Blaauwwhoed, « 30 - Inulin », in *Handbook of Hydrocolloids (Second Edition)*, G. O. Phillips et P. A. Williams, Éd. Woodhead Publishing, 2009, p. 829-848.
- [112] S. Helstad, « Chapter 20 - Corn Sweeteners », in *Corn (Third Edition)*, S. O. Serna-Saldivar, Éd. Oxford: AACC International Press, 2019, p. 551-591.
- [113] F. Schierbaum, S. Radosta, W. Vorwerg, V. P. Yuriev, B. B. Braudo, et M. L. German, « Characterisation of maltodextrin gelling by low-resolution NMR », in *Plant Polymeric Carbohydrates*, F. Meuser, D. J. Manners, et W. Seibel, Éd. Woodhead Publishing, 1993, p. 278-290.
- [114] M. R. Mozafari, C. J. Reed, C. Rostron, C. Kocum, et E. Piskin, « Formation and characterisation of non-toxic anionic liposomes for delivery of therapeutic agents to the pulmonary airways », *Cell. Mol. Biol. Lett.*, vol. 7, n° 2, p. 243-244, 2002.
- [115] S. Gouin, « Microencapsulation », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 15, n° 7-8, p. 330-347, juill. 2004.
- [116] P. Brochette, « Émulsification - Élaboration et étude des émulsions », *Ref: TIP453WEB - « Formulation »*, 10-déc-2013. [En ligne]. Disponible sur: <https://www-techniques-ingenieur-fr.ezproxy.utc.fr/base-documentaire/42634210-cosmetiques-procedes-de-formulation/download/j2150/emulsification.html>. [Consulté le: 10-déc-2018].
- [117] C. J. van Oss, « Acid—base interfacial interactions in aqueous media », *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 78, p. 1-49, oct. 1993.
- [118] A. Sullo et I. T. Norton, « Food Colloids and Emulsions », in *Encyclopedia of Food and Health*, B. Caballero, P. M. Finglas, et F. Toldrá, Éd. Oxford: Academic Press, 2016, p. 7-15.
- [119] C. Larpent, « Tensioactifs », *Ref: TIP591WEB - « Métier: responsable risque chimique »*, 10-juin-1995. [En ligne]. Disponible sur: <https://www-techniques-ingenieur-fr.ezproxy.utc.fr/base-documentaire/42337210-constantes-chimiques-des-solvants-et-produits/download/k342/tensioactifs.html>. [Consulté le: 12-déc-2018].
- [120] L. S. Hirst, « Fundamentals of soft matter science », *Liq. Cryst. Today*, vol. 23, n° 2, p. 45-46, avr. 2014.
- [121] S. U. Pickering, « CXCVI.—Emulsions », *J. Chem. Soc. Trans.*, vol. 91, n° 0, p. 2001-2021, janv. 1907.
- [122] Q. Monégier du Sorbier, A. Aimable, et C. Pagnoux, « Influence of the electrostatic interactions in a Pickering emulsion polymerization for the synthesis of silica-polystyrene hybrid nanoparticles », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 448, p. 306-314, juin 2015.
- [123] Y. Yang *et al.*, « An Overview of Pickering Emulsions: Solid-Particle Materials, Classification, Morphology, and Applications », *Front. Pharmacol.*, vol. 8, mai 2017.
- [124] « Procédés d'émulsification - Techniques et appareillage - 42489210-j2153.pdf ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www.techniques-ingenieur.fr/res/pdf/encyclopedia/42489210-j2153.pdf>. [Consulté le: 14-nov-2017].
- [125] A. S. Kabalnov, A. V. Pertzov, et E. D. Shchukin, « Ostwald ripening in emulsions: I. Direct observations of Ostwald ripening in emulsions », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 118, n° 2, p. 590-597, août 1987.
- [126] L. Boinovich, « DLVO forces in thin liquid films beyond the conventional DLVO theory », *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 15, n° 5, p. 297-302, oct. 2010.
- [127] E. Dickinson, « Structure, stability and rheology of flocculated emulsions », *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 3, n° 6, p. 633-638, déc. 1998.
- [128] F. Van Voorst Vader et H. Dekker, « Measurement of polymer bridging forces in liquid/liquid systems », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 83, n° 2, p. 377-383, oct. 1981.

- [129] A. B. Pawar, M. Caggioni, R. W. Hartel, et P. T. Spicer, « Arrested coalescence of viscoelastic droplets with internal microstructure », *Faraday Discuss.*, vol. 158, n° 0, p. 341-350, sept. 2012.
- [130] M. I. Ré, « Microencapsulation by Spray Drying », *Dry. Technol.*, vol. 16, n° 6, p. 1195-1236, janv. 1998.
- [131] D. Santos, A. C. Maurício, V. Sencadas, J. D. Santos, M. H. Fernandes, et P. S. Gomes, « Spray Drying: An Overview », *Biomater. - Phys. Chem. - New Ed.*, 2018.
- [132] P. C. Sewell, « Low pressure atomization nozzle », EP0244204A1, 04-nov-1987.
- [133] P. Seydel, J. Blömer, et J. Bertling, « Modeling Particle Formation at Spray Drying Using Population Balances », *Dry. Technol.*, vol. 24, n° 2, p. 137-146, mars 2006.
- [134] B. Bhandari, « Handbook of Industrial Drying, Fourth Edition Edited by A. S. Mujumdar », *Dry. Technol.*, vol. 33, n° 1, p. 128-129, janv. 2015.
- [135] A. Gharsallaoui, G. Roudaut, O. Chambin, A. Voilley, et R. Saurel, « Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview », *Food Res. Int.*, vol. 40, n° 9, p. 1107-1121, nov. 2007.
- [136] K. Cal et K. Sollohub, « Spray drying technique. I: Hardware and process parameters », *J. Pharm. Sci.*, vol. 99, n° 2, p. 575-586, févr. 2010.
- [137] M. R. I. Shishir et W. Chen, « Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 65, p. 49-67, juill. 2017.
- [138] D. A. Botrel, R. V. de B. Fernandes, et S. V. Borges, « Chapter 12 - Microencapsulation of Essential Oils Using Spray Drying Technology », in *Microencapsulation and Microspheres for Food Applications*, L. M. C. Sagis, Éd. San Diego: Academic Press, 2015, p. 235-251.
- [139] R. V. de B. Fernandes, S. V. Borges, et D. A. Botrel, « Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil », *Carbohydr. Polym.*, vol. 101, p. 524-532, janv. 2014.
- [140] J. M. G. da Costa *et al.*, « Matrix structure selection in the microparticles of essential oil oregano produced by spray dryer », *J. Microencapsul.*, vol. 30, n° 8, p. 717-727, déc. 2013.
- [141] R. V. de B. Fernandes *et al.*, « Cashew gum and inulin: New alternative for ginger essential oil microencapsulation », *Carbohydr. Polym.*, vol. 153, p. 133-142, nov. 2016.
- [142] D. R. Dias, D. A. Botrel, R. V. D. B. Fernandes, et S. V. Borges, « Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods », *Curr. Opin. Food Sci.*, vol. 13, p. 31-37, févr. 2017.
- [143] J.-Y. Leong *et al.*, « Advances in fabricating spherical alginate hydrogels with controlled particle designs by ionotropic gelation as encapsulation systems », *Particuology*, vol. 24, p. 44-60, févr. 2016.
- [144] Y. Liu, Y. Zhao, et X. Feng, « Energy analysis for a freeze-drying process », *Appl. Therm. Eng.*, vol. 28, n° 7, p. 675-690, mai 2008.
- [145] A. C. Karaca, M. Nickerson, et N. H. Low, « Microcapsule production employing chickpea or lentil protein isolates and maltodextrin: physicochemical properties and oxidative protection of encapsulated flaxseed oil », *Food Chem.*, vol. 139, n° 1-4, p. 448-457, août 2013.
- [146] K. Heinzelmann, K. Franke, B. Jensen, et A.-M. Haahr, « Protection of fish oil from oxidation by microencapsulation using freeze-drying techniques », *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, vol. 102, n° 2, p. 114-121, 2000.
- [147] S. Quispe-Condori, M. D. A. Saldaña, et F. Temelli, « Microencapsulation of flax oil with zein using spray and freeze drying », *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 44, n° 9, p. 1880-1887, nov. 2011.

- [148] S. H. Anwar et B. Kunz, « The influence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules: Comparison of spray granulation, spray drying, and freeze drying », *J. Food Eng.*, vol. 105, n° 2, p. 367-378, juill. 2011.
- [149] S. P. Ishwarya, C. Anandharamakrishnan, et A. G. F. Stapley, « Spray-freeze-drying: A novel process for the drying of foods and bioproducts », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 41, n° 2, p. 161-181, févr. 2015.
- [150] E. Teunou et D. Poncelet, « Batch and continuous fluid bed coating – review and state of the art », *J. Food Eng.*, vol. 53, n° 4, p. 325-340, août 2002.
- [151] C. Frey, « Chapter 7 - Fluid Bed Coating-Based Microencapsulation », in *Microencapsulation in the Food Industry*, A. G. Gaonkar, N. Vasisht, A. R. Khare, et R. Sobel, Éd. San Diego: Academic Press, 2014, p. 65-79.
- [152] C. Thies, « Microencapsulation », in *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, American Cancer Society, 2005.
- [153] M. Fuchs *et al.*, « Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration », *J. Food Eng.*, vol. 75, n° 1, p. 27-35, juill. 2006.
- [154] P. Kaushik, K. Dowling, C. J. Barrow, et B. Adhikari, « Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods », *J. Funct. Foods*, vol. 19, p. 868-881, déc. 2015.
- [155] Y. P. Timilsena, B. Wang, R. Adhikari, et B. Adhikari, « Advances in microencapsulation of polyunsaturated fatty acids (PUFAs)-rich plant oils using complex coacervation: A review », *Food Hydrocoll.*, vol. 69, p. 369-381, août 2017.
- [156] S. Freitas, H. P. Merkle, et B. Gander, « Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology », *J. Controlled Release*, vol. 102, n° 2, p. 313-332, févr. 2005.
- [157] C. Perignon, G. Ongmayeb, R. Neufeld, Y. Frere, et D. Poncelet, « Microencapsulation by interfacial polymerisation: membrane formation and structure », *J. Microencapsul.*, vol. 32, n° 1, p. 1-15, 2015.
- [158] F. Salaön, « Microencapsulation by Interfacial Polymerization », in *Encapsulation Nanotechnologies*, Wiley-Blackwell, 2013, p. 137-173.
- [159] K. Li, M. W. Woo, H. Patel, et C. Selomulya, « Enhancing the stability of protein-polysaccharides emulsions via Maillard reaction for better oil encapsulation in spray-dried powders by pH adjustment », *Food Hydrocoll.*, vol. 69, p. 121-131, août 2017.
- [160] A. González, M. L. Martínez, A. J. Paredes, A. E. León, et P. D. Ribotta, « Study of the preparation process and variation of wall components in chia (*Salvia hispanica* L.) oil microencapsulation », *Powder Technol.*, vol. 301, p. 868-875, nov. 2016.
- [161] C.-H. Tang et X.-R. Li, « Microencapsulation properties of soy protein isolate and storage stability of the correspondingly spray-dried emulsions », *Food Res. Int.*, vol. 52, n° 1, p. 419-428, juin 2013.
- [162] I. Tavernier, B. Heyman, P. Van der Meeren, T. Ruysen, et K. Dewettinck, « Oil powders stabilized with soy protein used to prepare oil-in-fat dispersions », *J. Food Eng.*, vol. 244, p. 136-141, mars 2019.
- [163] D. Zhou, Y. Pan, J. Ye, J. Jia, J. Ma, et F. Ge, « Preparation of walnut oil microcapsules employing soybean protein isolate and maltodextrin with enhanced oxidation stability of walnut oil », *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 83, p. 292-297, sept. 2017.
- [164] X.-H. Zhao et C.-H. Tang, « Spray-drying microencapsulation of CoQ10 in olive oil for enhanced water dispersion, stability and bioaccessibility: Influence of type of emulsifiers and/or wall materials », *Food Hydrocoll.*, vol. 61, p. 20-30, déc. 2016.

- [165] Y. D. Kim et C. V. Morr, « Microencapsulation Properties of Gum Arabic and Several Food Proteins: Spray-Dried Orange Oil Emulsion Particles », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 44, n° 5, p. 1314-1320, janv. 1996.
- [166] S. Murali, A. Kar, A. S. Patel, J. Kumar, D. Mohapatra, et S. K. Dash, « Encapsulation of rice bran oil in tapioca starch-soya protein isolate complex using spray drying », *Indian J. Agric. Sci.*, vol. 86, n° 8, 2016.
- [167] F. Tamm, S. Herbst, A. Brodkorb, et S. Drusch, « Functional properties of pea protein hydrolysates in emulsions and spray-dried microcapsules », *Food Hydrocoll.*, vol. 58, p. 204-214, juill. 2016.
- [168] P. R. Bajaj, J. Tang, et S. S. Sablani, « Pea Protein Isolates: Novel Wall Materials for Microencapsulating Flaxseed Oil », *Food Bioprocess Technol.*, vol. 8, n° 12, p. 2418-2428, déc. 2015.
- [169] Y. P. Timilsena, R. Adhikari, C. J. Barrow, et B. Adhikari, « Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates », *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 91, p. 347-357, oct. 2016.
- [170] P. Kaushik, K. Dowling, S. McKnight, Colin. J. Barrow, et B. Adhikari, « Microencapsulation of flaxseed oil in flaxseed protein and flaxseed gum complex coacervates », *Food Res. Int.*, vol. 86, p. 1-8, août 2016.
- [171] K. Iwami, M. Hattori, S. Nakatani, et F. Ibuki, « Spray-Dried Gliadin Powders Inclusive of Linoleic Acid (Microcapsules): Their Preservability, Digestibility and Application to Bread Making », *Agric. Biol. Chem.*, vol. 51, n° 12, p. 3301-3307, déc. 1987.
- [172] K. Iwami, M. Hattori, T. Yasumi, et F. Ibuki, « Stability of gliadin-encapsulated unsaturated fatty acids against autoxidation », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 36, n° 1, p. 160-164, janv. 1988.
- [173] M. I. Beck, I. Tomka, et E. Waysek, « Physico-chemical characterization of zein as a film coating polymer: A direct comparison with ethyl cellulose », *Int. J. Pharm.*, vol. 141, n° 1, p. 137-150, sept. 1996.
- [174] A. Nesterenko, I. Alric, F. Violleau, F. Silvestre, et V. Durrieu, « A new way of valorizing biomaterials: The use of sunflower protein for  $\alpha$ -tocopherol microencapsulation », *Food Res. Int.*, vol. 53, n° 1, p. 115-124, août 2013.
- [175] M. M. Bradford, « A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding », *Anal. Biochem.*, vol. 72, n° 1-2, p. 248-254, mai 1976.
- [176] R. de C. A. Guimarães, S. P. Favaro, A. C. A. Viana, J. A. Braga Neto, V. A. Neves, et M. R. Honer, « Study of the proteins in the defatted flour and protein concentrate of baru nuts (*Dipteryx alata* Vog) », *Food Sci. Technol. Camp.*, vol. 32, n° 3, p. 464-470, sept. 2012.
- [177] Jean-Claude Roulet, « Isolation thermique, ventilation et pare-vapeur », Lausanne, France, janv-2001.
- [178] World Health Organization, *Codex Alimentarius*. International Food Standards, 2017.
- [179] S. Sarkar et R. S. Singhal, « Esterification of guar gum hydrolysate and gum Arabic with n-octenyl succinic anhydride and oleic acid and its evaluation as wall material in microencapsulation », *Carbohydr. Polym.*, vol. 86, n° 4, p. 1723-1731, oct. 2011.
- [180] P. L. du Noüy, « An interfacial tensiometer for universal use », *J. Gen. Physiol.*, vol. 7, n° 5, p. 625-631, mai 1925.
- [181] P. Relkin, « Microcalorimétrie à balayage DSC - Application agroalimentaire », *Ref: TIP630WEB - « Techniques d'analyse »*, 10-déc-2006. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.techniques.ingenieur.fr/base-documentaire/42384210-methodes-thermiques->

- d-analyse/download/p1270/microcalorimetrie-a-balayage-dsc.html. [Consulté le: 25-juin-2019].
- [182] E. H. Kim, X. D. Chen, et D. Pearce, « Melting characteristics of fat present on the surface of industrial spray-dried dairy powders », *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 42, n° 1, p. 1-8, avr. 2005.
- [183] K. Ziani, J. A. Barish, D. J. McClements, et J. M. Goddard, « Manipulating interactions between functional colloidal particles and polyethylene surfaces using interfacial engineering », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 360, n° 1, p. 31-38, août 2011.
- [184] M. Embuscado et K. C. Huber, Éd., *Edible Films and Coatings for Food Applications*. New York: Springer-Verlag, 2009.
- [185] T. G. Burger et Y. Zhang, « Recent progress in the utilization of pea protein as an emulsifier for food applications », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 86, p. 25-33, avr. 2019.
- [186] X. Cao, C. Li, H. Wen, et Z. Gu, « Extraction Technique and Characteristics of Soluble Protein in Germinated Brown Rice », *Int. J. Food Prop.*, vol. 13, n° 4, p. 810-820, juin 2010.
- [187] T. B. Osborne, *The vegetable proteins*, by Thomas B. Osborne. London,: Longmans, Green, 1909.
- [188] T. Kawakatsu et F. Takaiwa, « Proteins », in *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, Elsevier, 2017, p. 100-105.
- [189] J. Guéguen, S. Walrand, et O. Bourgeois, « Les protéines végétales : contexte et potentiels en alimentation humaine », *Cah. Nutr. Diététique*, vol. 51, n° 4, p. 177-185, sept. 2016.
- [190] B. Wang, B. Adhikari, M. Mathesh, W. Yang, et C. J. Barrow, « Anchovy oil microcapsule powders prepared using two-step complex coacervation between gelatin and sodium hexametaphosphate followed by spray drying », *Powder Technol.*, juill. 2018.
- [191] H. Hoffmann et M. Reger, « Emulsions with unique properties from proteins as emulsifiers », *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 205, p. 94-104, mars 2014.
- [192] M. Chen *et al.*, « Study on the emulsifying stability and interfacial adsorption of pea proteins », *Food Hydrocoll.*, vol. 88, p. 247-255, mars 2019.
- [193] C. Dagorn-Scaviner, J. Gueguen, et J. Lefebvre, « Emulsifying Properties of Pea Globulins as Related to Their Adsorption Behaviors », *J. Food Sci.*, vol. 52, n° 2, p. 335-341, mars 1987.
- [194] S.-H. Lee, T. Lefèvre, M. Subirade, et P. Paquin, « Effects of ultra-high pressure homogenization on the properties and structure of interfacial protein layer in whey protein-stabilized emulsion », *Food Chem.*, vol. 113, n° 1, p. 191-195, mars 2009.
- [195] C. A. Di Battista, D. Constenla, M. V. Ramirez-Rigo, et J. Pina, « The use of arabic gum, maltodextrin and surfactants in the microencapsulation of phytosterols by spray drying », p. 193-201, 2015.
- [196] B. Hu *et al.*, « Gelation of soybean protein and polysaccharides delays digestion », *Food Chem.*, vol. 221, p. 1598-1605, avr. 2017.
- [197] S. Utsumi, S. Damodaran, et J. E. Kinsella, « Heat-induced interactions between soybean proteins: preferential association of 11S basic subunits and .beta. subunits of 7S », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 32, n° 6, p. 1406-1412, nov. 1984.
- [198] X. Song, C. Zhou, F. Fu, Z. Chen, et Q. Wu, « Effect of high-pressure homogenization on particle size and film properties of soy protein isolate », *Ind. Crops Prod.*, vol. 43, p. 538-544, mai 2013.

- [199] C. Turchiuli, N. Lemarié, M.-E. Cuvelier, et E. Dumoulin, « Production of fine emulsions at pilot scale for oil compounds encapsulation », *J. Food Eng.*, vol. 115, n° 4, p. 452-458, avr. 2013.
- [200] B. C. Tatar, G. Sumnu, et S. Sahin, « Rheology of Emulsions », in *Advances in Food Rheology and Its Applications*, Elsevier, 2017, p. 437-457.
- [201] W. Zhang, P. R. Waghmare, L. Chen, Z. Xu, et S. K. Mitra, « Interfacial rheological and wetting properties of deamidated barley proteins », *Food Hydrocoll.*, vol. 43, p. 400-409, janv. 2015.
- [202] C. Dicharry, D. Arla, A. Siquin, A. Graciaa, et P. Bouriat, « Stability of water/crude oil emulsions based on interfacial dilatational rheology », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 297, n° 2, p. 785-791, mai 2006.
- [203] C. Encina, C. Vergara, B. Giménez, F. Oyarzún-Ampuero, et P. Robert, « Conventional spray-drying and future trends for the microencapsulation of fish oil », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 56, p. 46-60, oct. 2016.
- [204] J. Velasco, C. Dobarganes, et G. Márquez-Ruiz, « Variables affecting lipid oxidation in dried microencapsulated oils », *Grasas Aceites*, vol. 54, n° 3, sept. 2003.
- [205] C. I. Beristain, E. Azuara, et E. J. Vernon-Carter, « Effect of Water Activity on the Stability to Oxidation of Spray-Dried Encapsulated Orange Peel Oil Using Mesquite Gum (*Prosopis Juliflora*) as Wall Material », *J. Food Sci.*, vol. 67, n° 1, p. 206-211, janv. 2002.
- [206] S. Drusch, Y. Serfert, A. Van Den Heuvel, et K. Schwarz, « Physicochemical characterization and oxidative stability of fish oil encapsulated in an amorphous matrix containing trehalose », *Food Res. Int.*, vol. 39, n° 7, p. 807-815, août 2006.
- [207] N. Harnkarnsujarit, « Glass-Transition and Non-equilibrium States of Edible Films and Barriers », in *Non-Equilibrium States and Glass Transitions in Foods*, Elsevier, 2017, p. 349-377.
- [208] R. Partanen, J. Raula, R. Seppänen, J. Buchert, E. Kauppinen, et P. Forssell, « Effect of Relative Humidity on Oxidation of Flaxseed Oil in Spray Dried Whey Protein Emulsions », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, n° 14, p. 5717-5722, juill. 2008.
- [209] S. S. Nielsen, « Introduction to Food Analysis », in *Food Analysis*, S. S. Nielsen, Éd. Boston, MA: Springer US, 2010, p. 3-14.
- [210] S. A. Fioramonti, E. M. Stepanic, A. M. Tibaldo, Y. L. Pavón, et L. G. Santiago, « Spray dried flaxseed oil powdered microcapsules obtained using milk whey proteins-alginate double layer emulsions », *Food Res. Int.*, oct. 2018.
- [211] S. Y. Quek, N. K. Chok, et P. Swedlund, « The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders », *Chem. Eng. Process. Process Intensif.*, vol. 46, n° 5, p. 386-392, mai 2007.
- [212] L. Di Giorgio, P. R. Salgado, et A. N. Mauri, « Encapsulation of fish oil in soybean protein particles by emulsification and spray drying », *Food Hydrocoll.*, vol. 87, p. 891-901, févr. 2019.
- [213] K.-J. Gong *et al.*, « Emulsifying properties and structure changes of spray and freeze-dried peanut protein isolate », *J. Food Eng.*, vol. 170, p. 33-40, févr. 2016.
- [214] J.-H. Ahn, Y.-P. Kim, E.-M. Seo, Y.-K. Choi, et H.-S. Kim, « Antioxidant effect of natural plant extracts on the microencapsulated high oleic sunflower oil », *J. Food Eng.*, vol. 84, n° 2, p. 327-334, janv. 2008.
- [215] A. Syed, « Chapter 4 - Oxidative Stability and Shelf Life of Vegetable Oils », in *Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats*, M. Hu et C. Jacobsen, Éd. AOCS Press, 2016, p. 187-207.
- [216] G. Gallardo *et al.*, « Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application », *Food Res. Int.*, vol. 52, n° 2, p. 473-482, juill. 2013.

- [217] M. Aghbashlo, H. Mobli, A. Madadlou, et S. Rafiee, « The correlation of wall material composition with flow characteristics and encapsulation behavior of fish oil emulsion », *Food Res. Int.*, vol. 49, n° 1, p. 379-388, nov. 2012.
- [218] K. Sittipummongkol et C. Pechyen, « Production, characterization and controlled release studies of biodegradable polymer microcapsules incorporating neem seed oil by spray drying », *Food Packag. Shelf Life*, vol. 18, p. 131-139, déc. 2018.
- [219] S. C. Chew, C. P. Tan, et K. L. Nyam, « Microencapsulation of refined kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed oil by spray drying using  $\beta$ -cyclodextrin/gum arabic/sodium caseinate », *J. Food Eng.*, vol. 237, p. 78-85, nov. 2018.
- [220] P. K. Binsi *et al.*, « Structural and oxidative stabilization of spray dried fish oil microencapsulates with gum arabic and sage polyphenols: Characterization and release kinetics », *Food Chem.*, vol. 219, p. 158-168, mars 2017.
- [221] M. A. Alcântara *et al.*, « Influence of the emulsion homogenization method on the stability of chia oil microencapsulated by spray drying », *Powder Technol.*, vol. 354, p. 877-885, sept. 2019.
- [222] L. Šturm *et al.*, « Encapsulation of non-dewaxed propolis by freeze-drying and spray-drying using gum Arabic, maltodextrin and inulin as coating materials », *Food Bioprod. Process.*, vol. 116, p. 196-211, juill. 2019.
- [223] R. B. and G. Reineccius, « Optimization of Gum Acacia/ Modified Starch/Maltodextrin Blends for the Spray Drying of Flavors », *Perfumer & Flavorist*. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.perfumerflavorist.com/flavor/application/multiuse/Optimization-of-Gum-Acacia-Modified-StarchMaltodextrin-Blends-for-the-Spray-Drying-of-Flavors-369151031.html>. [Consulté le: 29-juin-2019].
- [224] S. Berg, M. Bretz, E. M. Hubbermann, et K. Schwarz, « Influence of different pectins on powder characteristics of microencapsulated anthocyanins and their impact on drug retention of shellac coated granulate », *J. Food Eng.*, vol. 108, n° 1, p. 158-165, janv. 2012.
- [225] D. L. Moreau et M. Rosenberg, « Oxidative Stability of Anhydrous Milkfat Microencapsulated in Whey Proteins », *J. Food Sci.*, vol. 61, n° 1, p. 39-43, janv. 1996.
- [226] C. Turchiuli, M. T. Jimenez Munguia, M. Hernandez Sanchez, H. Cortes Ferre, et E. Dumoulin, « Use of different supports for oil encapsulation in powder by spray drying », *Powder Technol.*, vol. 255, p. 103-108, mars 2014.
- [227] C.-H. Tang et X. Sun, « Physicochemical and Structural Properties of 8S and/or 11S Globulins from Mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] with Various Polypeptide Constituents », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 58, n° 10, p. 6395-6402, mai 2010.
- [228] X. D. Sun et S. D. Arntfield, « Gelation properties of salt-extracted pea protein isolate induced by heat treatment: Effect of heating and cooling rate », *Food Chem.*, vol. 124, n° 3, p. 1011-1016, févr. 2011.
- [229] B. R. Bhandari et T. Howes, « Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods », *J. Food Eng.*, vol. 40, n° 1, p. 71-79, mai 1999.
- [230] A. Gharsallaoui, R. Saurel, O. Chambin, et A. Voilley, « Pea (*Pisum sativum*, L.) Protein Isolate Stabilized Emulsions: A Novel System for Microencapsulation of Lipophilic Ingredients by Spray Drying », *Food Bioprocess Technol.*, vol. 5, n° 6, p. 2211-2221.
- [231] M. Jayasundera, B. Adhikari, P. Aldred, et A. Ghandi, « Surface modification of spray dried food and emulsion powders with surface-active proteins: A review », *J. Food Eng.*, vol. 93, n° 3, p. 266-277, août 2009.
- [232] P. I. Silva, P. C. Stringheta, R. F. Teófilo, et I. R. N. de Oliveira, « Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*)

- peel extracts using simultaneous analysis of responses », *J. Food Eng.*, vol. 117, n° 4, p. 538-544, août 2013.
- [233] Y. Ohkatsu, T. Kajiyama, et Y. Arai, « Antioxidant activities of tocopherols », *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 72, n° 2, p. 303-311, mai 2001.
- [234] A. Mohanan, M. T. Nickerson, et S. Ghosh, « Oxidative stability of flaxseed oil: Effect of hydrophilic, hydrophobic and intermediate polarity antioxidants », *Food Chem.*, vol. 266, p. 524-533, nov. 2018.
- [235] A. S. Martin-Rubio, P. Sopelana, M. L. Ibargoitia, et M. D. Guillén, « Prooxidant effect of  $\alpha$ -tocopherol on soybean oil. Global monitoring of its oxidation process under accelerated storage conditions by  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance », *Food Chem.*, vol. 245, p. 312-323, avr. 2018.
- [236] P. C. Zuta, B. K. Simpson, X. Zhao, et L. Leclerc, « The effect of  $\alpha$ -tocopherol on the oxidation of mackerel oil », *Food Chem.*, vol. 100, n° 2, p. 800-807, janv. 2007.
- [237] S. A. Hogan, E. D. O’Riordan, et M. O’Sullivan, « Microencapsulation and oxidative stability of spray-dried fish oil emulsions », *J. Microencapsul.*, vol. 20, n° 5, p. 675-688, oct. 2003.
- [238] B. Halliwell, « Antioxidant characterization: Methodology and mechanism », *Biochem. Pharmacol.*, vol. 49, n° 10, p. 1341-1348, mai 1995.
- [239] X. Fernandez, F. Merck, et A. Kerdudo, « Conservateurs pour cosmétiques - Antioxydants et anti-UV », *Ref: TIP453WEB - « Formulation »*, 10-déc-2012. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.techniques.ingenieur.fr/base-documentaire/42335210-elaboration-des-formulations/download/j2285/conservateurs-pour-cosmetiques.html>. [Consulté le: 14-juin-2019].