



Les mélanges huile/eau à la base des émulsions, crèmes ou mousses sont instables car leurs composants ont des densités différentes et ne réagissent pas de la même façon aux procédés physiques ou thermiques. Mieux comprendre les échanges à l'intérieur et entre les phases en présence, ainsi que la nature des interfaces formées autour des gouttelettes d'eau ou d'huile est un enjeu majeur.

Nous étudions la réactivité des lipides qui structurent ces systèmes dispersés, en fonction des différents procédés qu'ils subissent, et ce tout au long du cycle de vie du produit, de la conception à l'ingestion.

Nous maîtrisons ainsi leur stabilité, leur capacité à se structurer c'est-à-dire à produire des assemblages à grande et petite échelles et leur aptitude à véhiculer des nutriments (vitamines, antioxydants). Les résultats des recherches permettent aussi de proposer des tensioactifs « verts » à base d'acides gras d'origine végétale ou encore des systèmes préservant ou améliorant la bioaccessibilité des micronutriments, la vectorisation.

Les émulsions constituent un des principaux systèmes dispersés de la famille des colloïdes.

Elles présentent des phases aqueuse et huileuse dispersées l'une dans l'autre. Les lipides sont des composés structurants de ces systèmes qui font l'objet de recherches pour mieux maîtriser leur stabilité, leur réactivité, leur capacité à se structurer (assemblages) à différentes échelles, et leur aptitude à véhiculer des nutriments. Ce document reprend en détails les objectifs et la démarche proposés par le département CEPIA concernant cette thématique.

Les systèmes dispersés appartiennent à la famille des colloïdes car ils consistent en une phase de particules de quelques nm à quelques μm de diamètre, dispersées dans une seconde phase appelée phase continue. Lorsque les deux phases sont liquides, on parle d'émulsions huile-dans-eau (gouttelettes d'huile dispersées dans une phase aqueuse continue) ou à l'inverse eau-dans-huile. Ainsi, les lipides sont des éléments structurants des émulsions alimentaires ou non (cosmétique, pharmacie, pétrole).

En raison de l'incompatibilité thermodynamique entre les phases aqueuses et lipidiques, ces systèmes dispersés sont instables. Ainsi, un des enjeux majeurs des industriels producteurs d'émulsions et de produits dérivés (crèmes, ...) est de leur assurer une stabilité cinétique en maîtrisant les interactions entre gouttelettes, la nature de l'interface et les échanges entre les phases aqueuse et huileuse.

Par ailleurs, la composition en lipides, et notamment la teneur en acides gras insaturés et la présence éventuelle d'antioxydants, influence considérablement leur réactivité avec des conséquences sur leur stabilité chimique tout au long de leur cycle de vie : fabrication, conservation, digestion. La compréhension et la maîtrise de l'organisation et réactivité des lipides dans les systèmes dispersés est ainsi un des enjeux majeurs de cette filière.

L'impact des procédés thermomécaniques de fabrication doit être pris en compte quel que soit l'enjeu considéré dans la mesure où ils mettent en jeu une combinaison d'effets de cisaillement et de traitements thermiques ayant un impact sur les lipides en termes de structuration (systèmes émulsionnés multiphasiques de type crèmes fouettées ou crèmes glacées contenant des bulles de gaz ou des cristaux) ou de réactivité.

Enfin, la structure compartimentée des systèmes dispersés leur confère des propriétés de protection et de transport des micronutriments d'origine lipidique (vitamines, antioxydants, acides gras ω 3, ...) qu'il faut prendre en compte pour maîtriser leur biodisponibilité après ingestion.

L'objectif général de nos recherches dans ce domaine est d'atteindre une meilleure maîtrise de divers paramètres technologiques susceptibles d'être à la base de la stabilité physique et chimique des systèmes dispersés lipidiques au cours de leur cycle de vie (conception, conservation, digestion *in vitro*).

En ce qui concerne plus particulièrement les lipides nos objectifs sont de :

- comprendre le rôle de l'état physique et des structures à différentes échelles des phases dispersées, continues ou des interfaces en lien avec la composition des lipides, les traitements thermomécaniques appliqués et les propriétés recherchées, notamment dans des systèmes dispersés

- appréhender l'impact des interactions lipides-protéines et/ou tensioactifs sur les propriétés des interfaces, en lien avec les traitements thermomécaniques de transformation et conservation des systèmes dispersés
- expliquer la réactivité et la bioaccessibilité des lipides en lien avec la structure de ces systèmes au cours du tractus gastro-intestinal

Nous pouvons ainsi envisager les applications suivantes :

- générer des tensioactifs verts lipidiques par assemblage d'acides gras d'origine végétale
- contrôler la stabilité physique des structures, la réactivité chimique et la protection par des antioxydants des lipides dans ces systèmes dispersés
- améliorer la bioaccessibilité des micronutriments d'origine lipidique par la conception de systèmes de vectorisation

Notre démarche intègre la physico-chimie des lipides, les propriétés de partage et d'activité des antioxydants entre phases continues et dispersées, les interactions entre lipides et tensioactifs aux interfaces, les études structurales à différentes échelles afin de relier les caractéristiques physico-chimiques de divers ingrédients en interactions et la stabilité chimique et physique des systèmes dispersés en prenant en compte le rôle de toutes les phases et interfaces en présence.

Méthodes et outils

- Production des systèmes dispersés : Homogénéisateurs haute pression, ultrasons, rotor-stator, membrane, pilote continu de traitement thermique et homogénéisation, foisonneurs
- Caractérisation des systèmes :
 - rhéologie des émulsions et des interfaces,
 - tensiométrie, balance de Langmuir,
 - microscopie optique, confocale, électronique (cryo TEM), microscopie à l'angle de Brewster (BAM) et à force atomique (AFM),
 - granulométrie, diffusion de rayonnement (lumière, RX, neutron), spectroscopie FTIR et IRRAS, zétamétrie
- Caractérisation des lipides : HPLC, GC/MS, oxydation, antioxydation, ...
- Caractérisation et propriétés des molécules transportées, transport de particules à travers des couches monocellulaires

Quelques exemples de résultats :

- Contribution à une meilleure compréhension du rôle de différents constituants sur les propriétés structurales et la stabilité de systèmes lipidiques dispersés simples (émulsions huile-dans-eau), ou multiphasiques (mousse laitière, crème glacée) :
 - importance de la composition en protéines et leur état de dénaturation-agrégation pour la stabilisation-destabilisation des interfaces huile-eau et eau-air (Relkin & Sourdet, 2005).
 - importance de la composition des lipides, notamment le niveau de saturation-insaturation des acides gras, en lien avec l'état de cristallinité des gouttelettes lipidiques dans la stabilisation des émulsions lors du vieillissement, ou suite à leur foisonnement (Bazmi et al., 2007).
 - importance des micro et nano-structures des gouttelettes lipidiques pour leur propriété de protection de molécules sensibles (Relkin et al., 2009)
 - rôle de la cristallisation des lipides (quantité et types de cristaux) et de leur organisation supramoléculaire (taille des gouttelettes d'émulsion, composition de leur surface) sur les propriétés fonctionnelles et nutritionnelles des produits laitiers (Lopez et al., 2008 & 2009).L'approche mise en oeuvre dans cette contribution fait l'objet de demandes d'utilisation de rayonnement synchrotron.
- Les émulsions laitières aérées sont des produits multiphasiques dont la structure est difficile à maîtriser en raison de la complexité des interactions moléculaires aux interfaces et au sein des différentes phases. Ainsi les ingrédients utilisés : matière grasse, protéines, hydrocolloïdes et émulsifiants jouent un rôle fondamental dans ces interactions et influencent largement la qualité et la stabilité de ces produits. Les procédés de fabrication/conservation : homogénéisation, foisonnement, traitement thermique, maturation, maîtrisés à des niveaux différents selon les entreprises, conduisent

à une variabilité de la qualité des produits. Dans ce cadre l'objectif général était d'apporter les connaissances et les outils nécessaires à une plus grande maîtrise de la stabilité physique des émulsions laitières aérées, nous avons identifié les paramètres de procédés les plus pertinents et apporté les connaissances indispensables sur les ingrédients pour améliorer la maîtrise de ces systèmes foisonnés. De plus, nous avons mis au point différentes méthodes de mesure et des techniques alternatives de fabrication des émulsions laitières foisonnées. Enfin, ce programme a donné lieu à la constitution d'un réseau multidisciplinaire permettant l'accès à des techniques « fines » pour l'acquisition de connaissances fondamentales, mais aussi à des niveaux d'étude (pilote) en lien avec les problématiques industrielles (programme CANAL-SEA, coordination CEPIA, Anton M., Relkin P. 2005).

- Mise en évidence du potentiel des acides gras (AG) et de leurs dérivés hydroxylés (AGOH) issus d'organismes végétaux comme nouvelle source de bio-tensioactifs respectueux de l'environnement pour étudier leurs propriétés aux interfaces et la formation de nano-objets. Les dispersions d'AG et d'AGOH possèdent un très large polymorphisme ainsi que des propriétés moussantes et émulsifiantes fortement dépendantes de la nature des systèmes étudiés. La possibilité de varier les conditions physico-chimiques, d'ajouter des co-tensioactifs ou des contre-ions, ou de modifier les AG permet l'obtention d'une large gamme de systèmes dispersés pour des utilisations alimentaires et non alimentaires (Unité BIA).

- Il est possible de préparer par homogénéisation à haute pression (UHPH ou haute pression dynamique) des nanoparticules (agrégats ou des gouttelettes) à finalité alimentaire, cosmétique ou pharmaceutique, et capables d'immobiliser des molécules d'intérêt et/ou servir d'éléments de base à la structuration de matrices (approche « bottom up »). La compréhension du procédé qui résulte des forces mécaniques mises en œuvre (forces de cisaillement élongationnelles dans l'entrefer de la valve HP, phénomènes de cavitation, turbulence, impacts et chocs en sortie de valve HP, rôle de la viscosité du fluide qui alimente la valve HP) et sa maîtrise (contrôle de l'échauffement qui prend place en sortie de valve HP) permet de sélectionner/optimiser les paramètres physiques de traitement pour produire ces particules submicroniques sans dénaturer les constituants transportés. En parallèle, le développement d'outils biologiques, notamment la culture de monocouches cellulaires, permet d'appréhender le comportement de ces objets de taille submicronique vis-à-vis des barrières épithéliales. Cette thématique est développée dans le cadre du Projet NANOLIA du Programme ALIA (2009-2011).

Principaux partenaires :

Laboratoire U.870 INSERM / INRA 1235 : Régulations métaboliques, Nutrition et diabète (RMND) de la Faculté de Médecine de Lyon

INRA-Université d'Auvergne : Unité de nutrition humaine (UNH)

Enilia, Surgères

Cemagref, Rennes

CNRS Chatenay Malabry (DSC/DRX)

ISTAB, Bordeaux

EBI, Ecole de Biologie Industrielle, Cergy-Pontoise (émulsions cosmétiques)

Unités impliquées, mots-clefs et contacts :

UR Biopolymères, Interactions, Assemblages (BIA) INRA Nantes : équipe « Interfaces et Systèmes Dispersés » émulsion, lipides, antioxydants, oxydation, réactivité, structure multi-échelle – *Marc Anton, Claude Genot, Anne Meynier, Alain Riaublanc, Jean-Paul Douliez*
contact : anton@nantes.inra.fr

UMR Ingénierie, Procédés, Aliments (IPA GENIAL) AgroParisTech-INRA-CNAM Massy.

Mots-clés : gouttelettes lipidiques, émulsion, crème fouettée, crème glacée, nano-microencapsulation, antioxydants – *Perla Relkin, Marie-Elisabeth Cuvelier*

contact : perla.relkin@agroparistech.fr

UMR Sciences et Technologie du Lait et de l'œuf (STLO), INRA-AgroCampus Ouest, Rennes.

Mots-clés : Lipides du lait, émulsions, globules gras, cristallisation, structure.

contact : Christelle.Lopez@rennes.inra.fr

UMR Ingenierie des Agropolymères et Technologie Emergentes (IATE), INRA-CIRAD-Université Montpellier 2. Mots-clés homogénéisation, haute pression, particules submicroniques

contact : Eliane Dumay : eliane.dumay@univ-montp2.fr

Pour en savoir plus :

Références techniques (brevets, ouvrages)

- Relkin P. Using DSC for monitoring protein conformation stability and effect of fat droplets crystallinity in complex food emulsions (2004). *In: The nature of biological systems as revealed by thermal analysis*, (D. Lőrincz (Ed), Kluwer Academic Publishers, Londres, p99-126.
- Cuvelier M-E et Latino-Martel P (2008) Additifs antioxygènes. *In: B de Reynal coord, Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries alimentaires*, 4^e édition, Lavoisier, Paris, pp. 183-214.
- Anton M., Relkin P. 2005. Emulsions alimentaires foisonnées. Edition Spéciale Sciences des Aliments. 25 (5-6), Relkin P. & Anton M. (Ed.), Lavoisier, Paris.

Publications internationales

- Anton M., Vaslin S., Valentini C., Breard C., Georges C., Riaublanc A., Axelos M. (2005) Stabilisation of whipped dairy emulsion: substitution of gelatin by polysaccharide mixtures. *Sciences des Aliments*, 25 (5-6), 443-453.
- Bazmi A., Duquenoy A., Relkin P. (2007) Aeration of low fat dairy emulsions: effects of saturated-unsaturated triglycerides. *International Dairy Journal*, 17, 1021-1027
- Bonnet M., Cansell M., Berkaoui A., Ropers M.H., Anton M., Leal-Calderon F. 2009. Release rate profiles of magnesium from multiple W/O/W emulsions. *Food Hydrocolloids*, 23, 92-101.
- Cortés-Muñoz M., Chevalier-Lucia D., Dumay E. (2009). Characteristics of nanoemulsions prepared by ultra - high pressure homogenisation. Effect of chilled or frozen storage. *Food Hydrocolloids*, 23, 640-654.
- Cuvelier M-E., Lagunes-Galvez L., Berset C. (2003). Do Antioxidants improve the oxidative stability of o/w emulsions ? *Journal of American Oil Chemical Society*, 80, 1101-1105.
- Lopez C., Ollivon M. (2009) Crystallisation of triacylglycerols in nanoparticles: effect of dispersion and polar lipids. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, sous presse.
- Lopez C., Briard-Bion V., Beaucher E., Ollivon M. (2008) Multiscale characterization of the organization of triglycerides and phospholipids in Emmental cheese: from the microscopic to the molecular level. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2406-2414.
- Gràcia-Julà A., René M., Cortés-Muñoz M., Picart L., Lopez-Pedemonte T., Chevalier D., Dumay E. (2008). Effect of dynamic high pressure on whey protein aggregation. A comparison with the effect of continuous short-time thermal treatments. *Food Hydrocolloids*, 22, 1014-1032.
- Novales B., Navailles L., Axelos M., Nallet, F., Douliez J.-P. Self-Assembly of Fatty Acids and Hydroxyl Derivative Salts. *Langmuir* 2008, 24 (1), 62-68.
- Ollivon M , P. Relkin, D Kalnin , C. Michon, F. Mariette, (2005). Cristallisation de la matière grasse laitière anhydre à 4°C: influence d'un émulsifiant. *Science des Aliments*, 25,413-425.
- Relkin P, Jung J-M, Ollivon M. Factors affecting vitamin degradation in oil-in-water nano-emulsions, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, sous presse.
- Relkin P., Mariette F., Kalnin D., Michon C., Ollivon M. (2005). Cristallisation de la matière grasse dans une émulsion de MGLA dans l'eau: apport de différentes techniques physiques combinées. *Science des Aliments*, 25, 397-412.
- Relkin P., Sourdets S. (2005), Factors affecting fat droplet aggregation in whipped frozen protein-stabilized emulsions, *Food Hydrocolloids*, 19, 503-511.
- Riaublanc A, Anton M., Mariette F., Georges C., Gravier E., Drelon N., Omari A., Leal-Calderon. (2005) Impact of fat crystals on the foaming capacity and stability of whipped creams. *Sciences des Aliments* 25 (5-6), 427-441.