



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE DE LORRAINE

École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires (ENSAIA)

Laboratoire d'Ingénierie des Biomolécules (LIBio)

THESE

**Développement de matrices alimentaires permettant de protéger des
substances actives lors des traitements thermiques**

Présentée par

Yoana NIKOLOVA

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Lorraine

Spécialité : Procédés Biotechnologiques et Alimentaires

École Doctorale : Sciences et Ingénierie Ressources Procédés Produits Environnement (RP2E)

Présentée et soutenue le 11 juillet 2017

Pr. Sylvie AVALLONE	SupAgro, Montpellier	Rapporteur
Dr. Christelle TURCHIULI	AgroParisTech, Paris	Rapporteur
Dr. Maria-Ines RE	École des Mines d'Albi-Carmaux	Examineur
Dr. Sylvie DESOBRY-BANON	Université de Lorraine, Nancy	Dirécteur
Dr. Jeremy PETIT	Université de Lorraine, Nancy	Co-Dirécteur
Pr. Joël SCHER	Université de Lorraine, Nancy	Examineur
Dr. Léa PERTUSA	Labo3A	Invité
M. Jean-Marie BLANCHET	SVM	Invité
M. Steve BLANCHET	AIS Europe	Invité

Remerciements

Fruit de trois ans de recherches, d'échanges et même de découvertes parfois improbables, ce travail de thèse représente un chemin personnel et professionnel qui a pu être parcouru grâce à des soutiens nombreux et inconditionnels. Mes remerciements se voudront exhaustifs et sincères en s'adressant à l'ensemble des personnes ayant collaboré de près ou de loin à ce travail.

Je remercie particulièrement ma directrice de thèse Sylvie DESOBRY-BANON et mon co-directeur Jeremy PETIT ; merci pour votre disponibilité, vos conseils toujours avisés et votre patience à mon égard. Ce fut un réel plaisir de travailler avec vous. Je tiens à remercier aussi Pr Joël SCHER et Pr. Claire GAIANI pour avoir cru en moi et pour leur aide dans la réalisation de cette thèse.

Je tiens à remercier M. Steve BLANCHET et M. Jean-Marie BLANCHET de m'avoir confié ce projet de recherche. Je remercie également Dr. Léa PERTUSA et Dr. Lam LE pour le suivi de ce travail et pour les discussions pertinentes.

Je souhaite remercier l'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie d'avoir accepté de financer ce projet.

Je remercie Pr. Sylvie AVALLONE, Dr. Maria-Ines RE et Dr. Christelle TURCHIULI d'avoir accepté de juger mon travail.

Un grand merci à Aya, qui ne m'a pas laissé m'enfermer les derniers mois de rédaction et maintenait ma connection avec le monde extérieur, pour son sourire et sa joie de vivre (je ne peux qu'imaginer à quoi j'aurais rassemblé à la fin de cette épreuve sans toi - Mordicus « Oscar the Grouch » de Rue Sésame), à Marie-Celeste pour son soutien et son incroyable aptitude de me remonter le moral même dans les moments les plus durs (oui je me setais toujours « boostée à block » à la fin de nos conversations) tu sais comment déclencher le mode « superwoman ».

Merci à mes colocatrices de bureau Charlotte, Jenny, Magda, Justine pour avoir rendu la cohabitation à 9 plus qu'agréable, pour les discussions de la science et ... de la vie et pour les fous rires qui ont rendu le quotidien plus léger.

Je remercie l'ensemble des doctorants que j'ai eu l'occasion de croiser pendant ses années : Loïc, Marie, Smail, Nabila, Ingrid, Vanessa, Razza, Javeed, Christelle, Abdulhadi, Majid et

Remerciements

Behnoush, Chancelle, Nadia, Hongyuan, Ange, Adrien, Abdur, Alex, Mouna, Mohamed, Mahmoud, Hassan, Nadine, Mariam, Ghazi, Lamia, Sarah et tous ce qui j'oublie ...

Je remercie également l'ensemble des stagiaires, surtout mes petites bulgares préférées Nuray et Gergana. Un grand merci aussi au personnel du laboratoire, en particulier à Myriam, Sylvie et Arnaud pour leur bonne humeur.

Je tiens à remercier Carole P. notre « petite » technicienne extraordinaire qui rien et personne n'a jamais pu démoraliser et qui rendait nos jours de travail un peu plus ensoleillés. Merci d'avoir toujours trouvé le temps de m'écouter et surtout d'avoir toujours su quand rigoler à mes blagues (pouvoir surnaturel qui n'est pas donné à tout le monde).

A mes copines Yana, Desi, Ilyana, Toni, Cveti, Silva et Boki qui se demandent encore ce que c'est exactement la thèse et pourquoi j'ai choisi ce chemin « très scientifique » ... Merci me ne m'avoir jamais laissé tombé, merci pour votre amitié, compréhension et patience.

De tout mon coeur, j'adresse mille mercis à ma famille et à mes proches pour leur amour inconditionnel, pour avoir cru en moi pendant ces longues années d'études, pour m'avoir soutenue, encouragée et tout simplement pour avoir été toujours là pour moi. Je vous aime, je ne serais pas là sans vous !!!

A Karim, merci pour ta patience et ta compréhension pendant ces trois années qui n'étaient pas toujours faciles à vivre à mes cotés.

Enfin, un message pour ma mamie : « Grand-mère, ça y est, tu n'as plus de soucis à te faire : je ne serai plus « étudiante » et je pourrai enfin commencer à travailler ! »

*" On ne fait jamais attention à ce qui a été fait ; on ne voit que ce
qui reste à faire. "*
Marie Curie

Sommaire

<i>Remerciements</i>	<i>ii</i>
<i>Sommaire</i>	<i>v</i>
<i>Liste des figures</i>	<i>xi</i>
<i>Liste des tableaux</i>	<i>xv</i>
<i>Liste des abréviations</i>	<i>xviii</i>
<i>Introduction du sujet</i>	<i>1</i>
A. Contexte.....	1
B. Objectifs de la thèse.....	2
C. Structure du manuscrit.....	2
CHAPITRE 1 : Legislation et marché des compléments alimentaires	4
I. MARCHE DES ALIMENTS A EFFET SANTE	6
II. LEGISLATION ALIMENTAIRE	11
1. Institutions mondiales responsables de la sécurité des aliments et la législation alimentaire	11
2. Institutions européennes responsables de la sécurité des aliments et de la législation alimentaire	12
3. Institutions françaises responsables de la sécurité des aliments et de la législation alimentaire	13
4. Lois sur l'étiquetage.....	15
5. Législation des aliments santé.....	18
III. L'ALIMENTATION ENRICHIE ET LES GARANTIES NUTRITIONNELLES 20	
CHAPITRE 2 : Transformation des aliments : effet du traitement thermique sur la teneur en micronutriments	24
I. INTRODUCTION	26
II. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	27
1. Le four à micro-ondes	27
2. Comparaison des procédés de transformation de l'aliment.....	32
2.1. Comparaison générale des traitements conventionnels et micro-ondes.....	32
2.2. Risques du traitement thermique	34
2.2.1. Risques chimiques	34
2.2.2. Risques microbiologiques.....	36
3. Les vitamines	37
4. Effet des procédés de traitement thermique sur les vitamines.....	40
4.1. Vitamines hydrosolubles	40
4.2. Vitamines liposolubles	41
5. Cinétique de dégradation de la Vit C	45

6. Démarche expérimentale.....	47
III. MATERIEL ET METHODES	48
1. Mix industriel.....	48
2. Préparation des échantillons.....	49
2.1. Solutions aqueuses de vitamines hydrosolubles	49
2.2. Solutions de vitamines hydrosolubles dans le milieu salin du lait.....	50
2.3. Lait demi-écrémé.....	50
3. Traitement thermique	51
3.1. Traitement thermique au four à micro-ondes	51
3.1.1. Traitements thermiques micro-ondes qui miment le traitement thermique conventionnel (TTMO-C) 53	
3.1.2. Traitements thermiques micro-ondes qui miment les traitements thermiques au four à micro-ondes domestique (TTMO).....	53
3.2. Traitement thermique en bain d'huile.....	54
3.2.1. Traitement thermique conventionnel (TTC).....	54
3.2.2. Traitements thermiques conventionnels qui miment les fours à micro-ondes domestiques TTC-MO 55	
4. Intégration des pics de puissance	55
5. Dosage des vitamines par chromatographie liquide haute performance	57
5.1. Appareillage	58
5.2. Méthode d'extraction.....	58
5.3. Conditions analytiques de dosage.....	58
5.3.1. Dosage multi-vitamines hydrosolubles.....	58
5.3.2. Protocole adapté au dosage des vitamines C et B1	60
5.3.3. Protocole adapté au dosage de la vitamine B2.....	61
6. Cinétique de dégradation de la Vit C	61
7. Dosage du pouvoir antioxydant de la Vit C	63
7.1. Méthode ABTS.....	63
7.2. Méthode FRAP.....	63
7.2.1. Préparation des réactifs.....	64
7.2.2. Dosage FRAP	64
8. Analyse statistique	64
IV. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.....	65
1. Traitement thermique conventionnel des vitamines C et B1 dans de l'eau.....	66
1.1. Cinétique de la dégradation de la Vit C seule dans de l'eau pendant le traitement thermique conventionnel.....	68
1.2. Pouvoir antioxydant de la Vit C	71
2. Traitement thermique au four à micro-ondes des vitamines C et B1 dans de l'eau	72
2.1. Comparaison des profils thermiques	72

2.2.	Comparaison des pertes en vitamines B1 et C.....	76
2.3.	Pouvoir antioxydant de la Vit C.....	78
3.	Traitement thermique de la Vit C dans l'ultrafiltrat de lait modèle.....	80
4.	Traitement thermique des vitamines C et B1 dans du lait demi-écrémé.....	83
4.1.	Comparaison des profils de TTMO dans de l'eau et dans du lait ½.....	84
4.2.	Comparaison des pertes en vitamines B1 et C dans du lait.....	85
V.	PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE 2.....	88
	<i>CHAPITRE 3 : Choix de la méthode et de la matrice pour l'encapsulation de la vitamine C à l'échelle du laboratoire.....</i>	<i>90</i>
I.	INTRODUCTION.....	92
II.	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	93
1.	Types d'encapsulation.....	94
1.1.	Encapsulation cœur-couronne.....	96
1.1.1.	Enrobage en lit fluidisé.....	97
1.1.2.	Émulsification.....	98
1.1.3.	Coacervation.....	98
1.1.4.	Co-extrusion.....	99
1.2.	Encapsulation matricielle.....	99
1.2.1.	Séchage par atomisation.....	100
1.2.2.	Spray-chilling et spray-cooling.....	103
1.2.3.	Fusion par injection et par extrusion.....	103
1.2.4.	Préparation des microsphères par extrusion ou par émulsification.....	104
1.2.5.	Lyophilisation.....	104
1.3.	Autres modes d'encapsulation.....	105
1.3.1.	Liposomes.....	105
1.3.2.	Nanoparticules.....	106
1.3.3.	Encapsulation par inclusion.....	107
2.	Matériaux d'encapsulation.....	107
2.1.	Polymères glucidiques.....	108
2.1.1.	Amidon.....	108
2.1.2.	Dérivés de l'amidon.....	109
2.1.3.	Cellulose et dérivés de la cellulose.....	110
2.1.4.	Exsudats et extraits de plantes.....	111
2.1.5.	Extraits marins.....	111
2.1.6.	Polysaccharides d'origine microbienne ou animale.....	111
2.2.	Protéines.....	111
2.2.1.	Gluten.....	112
2.2.2.	Protéines laitières.....	112

2.2.2.1. Caséines.....	112
2.2.2.2. Protéines solubles du lait.....	113
2.2.2.3. Gélatine.....	113
3. Transition vitreuse.....	113
4. Démarche expérimentale.....	116
III. MATÉRIEL ET MÉTHODES	117
1. Fabrication des poudres par atomisation.....	117
1.1. Préparation des concentrés.....	117
1.2. Séchage.....	117
1.2.1. Détermination du débit de la pompe.....	119
2. Caractérisation des poudres.....	121
2.1. Teneur en eau.....	122
2.2. Activité d'eau.....	122
2.2.1. Principe.....	122
2.2.2. Protocole.....	124
2.3. Colorimétrie des poudres.....	124
2.4. Distribution de taille des particules.....	124
2.5. Détermination des propriétés de réhydratation.....	125
2.5.1. Mouillabilité.....	125
2.5.2. Dispersibilité.....	126
2.5.3. Solubilité.....	127
2.6. Détermination du taux d'encapsulation.....	127
2.7. Détermination de taux de rétention après TTMO en mode (t ; P).....	128
IV. RÉSULTATS ET DISCUSSION	129
1. Mix industriel.....	130
1.1. Traitement thermique de la Vit C dans le mix industriel.....	130
1.2. Traitement thermique de la vitamine B2 dans le mix industriel.....	131
1.2.1. Traitement thermique en mode temps-température.....	131
1.2.2. Traitement thermique au four à micro-ondes en mode temps-puissance.....	132
2. Poudres produites à l'échelle laboratoire.....	133
2.1. Teneur en eau des poudres produites.....	133
2.2. Activité d'eau des poudres.....	134
2.3. Distribution de taille des particules.....	135
2.3.1.1. Poudres 100 % PPCN.....	136
2.3.1.2. Poudres 75 % PPCN/25 % zéine.....	137
2.3.1.3. Poudres 100 % WPI.....	139
2.3.1.4. Poudres 100 % DM.....	140
2.4. Colorimétrie des poudres.....	142

2.5.	Propriétés de réhydratation	143
2.5.1.	Mouillabilité des poudres	143
2.5.2.	Dispersibilité des poudres.....	144
2.5.3.	Solubilité des poudres.....	145
2.6.	Taux d'encapsulation de la Vit C	146
2.7.	Taux de rétention en Vit C après traitement thermique au four à micro-ondes en mode consommateur	147
V.	PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE 3	150
	<i>CHAPITRE 4 : Encapsulation à l'échelle industrielle.....</i>	<i>152</i>
I.	INTRODUCTION	154
II.	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	157
1.	La réaction de brunissement non enzymatique	157
2.	La Vit C et le brunissement non enzymatique.....	159
3.	Démarche expérimentale.....	164
III.	MATÉRIEL ET MÉTHODES	165
1.	Fabrication des poudres.....	165
1.1.	Préparation des concentrés	165
1.2.	Séchage.....	167
2.	Vieillessement des poudres.....	167
3.	Qualité microbiologique.....	168
4.	Détermination du taux d'encapsulation.....	168
5.	Détermination de taux de rétention en Vit C et de l'activité antioxydante.....	169
6.	Caractéristiques colorimétriques	170
6.1.	Angle de teinte.....	170
6.2.	Indice de brunissement	172
IV.	RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	173
1.	Teneur en eau et activité d'eau des poudres produites	175
2.	Distributions de taille des particules	176
3.	Taux d'encapsulation	178
3.1.	Taux d'encapsulation de la Vit B1	178
3.2.	Taux d'encapsulation de la Vit C	181
3.3.	Rétention en Vit B1 et C après TT des poudres « fraîches ».....	183
4.	Rétention en vitamines pendant le vieillissement.....	185
4.1.	Taux de rétention des Vit B1 et C pendant le vieillissement des poudres	185
4.2.	Effet du traitement thermique sur la teneur en Vit C dans les poudres vieilles	190
5.	Colorimétrie des poudres	191
V.	PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE 4	206

<i>CHAPITRE 5 : Conclusions générales et perspectives.....</i>	<i>208</i>
<i>Références.....</i>	<i>216</i>
.....	

Liste des figures

Figure 1. Segmentation du marché de la nutrition-santé en France en 2013 ²	7
Figure 2. Le marché des compléments alimentaires dans le monde en 2015, adapté de Pensé-Lhéritier et Bouarfa (2016) ²	8
Figure 3. Marché européen des compléments alimentaires.	8
Figure 4. Évolution des ventes des compléments alimentaires en France de 2000 à 2015 ²	9
Figure 5. Les ventes de compléments alimentaires ont progressé de 3,9 % en 2015 en France, adapté de Pensé-Lhéritier et Bouarfa (2016) ²	10
Figure 6. Organigramme des institutions mondiales élaborant la législation alimentaire.	11
Figure 7. Exemple de format d'étiquette selon la loi INCO ⁵	16
Figure 8. Typologie des formats des SIN étudiés dans le cadre de la saisine.	17
Figure 9. Synthèse de la réglementation applicable aux compléments alimentaires dans l'UE ⁷	19
Figure 10. Gamme de fréquences des ondes électromagnétiques mettant en évidence les fréquences micro-ondes domestiques et industrielles.	27
Figure 11. Représentation du champ électromagnétique alternatif généré à l'intérieur du four à micro-ondes conduisant à des rotations des molécules polaires et à la migration des ions.	29
Figure 12. Schéma des transferts thermiques mis en œuvre lors des traitements thermiques au four à micro-ondes et au four traditionnel.	33
Figure 13. Localisation des points chauds selon la forme des objets traités au four à micro-ondes ¹⁷	34
Figure 14. Disposition des réacteurs et des sondes dans la cavité du four à micro-ondes Mars 6.....	52
Figure 15. Cycle de travail appliqué pour les traitements temps-puissance (t ; P).	54
Figure 16. Représentation schématique de la mise en œuvre expérimentale du traitement thermique en bain d'huile.	55
Figure 17. Exemples de méthodes de détermination de l'aire d'une courbe en l'approximant par une fonction linéaire par parties.....	56
Figure 18. Gradient d'élution de la méthode de dosage par CLHP.	59
Figure 19. Détermination de longueur d'onde optimale pour la détection UV/vis de la Vit B1.	59
Figure 20. Démarche expérimentale de ce chapitre : vitamines étudiées, matrices alimentaires et traitements thermiques.....	65
Figure 21. Comparaison des taux de rétention en vitamines B1 ($C_0 = 20 \mu\text{g/mL}$) et C ($C_0 = 130 \mu\text{g/mL}$), seules (A et B) et en mélange (C et D) dans de l'eau après les différents barèmes temps-température du TTC ($n = 3$). Lorsque les écarts-types ne sont pas visibles, ceci indique qu'ils sont inférieurs à la taille des marqueurs.	67
Figure 22. Modélisation de la cinétique d'altération de la Vit C lors du TTC à 40, 60 et 80 °C par une loi cinétique du second ordre (équation 8).....	69
Figure 23. Graphique d'Arrhenius de la dégradation de la Vit C par TTC en solution aqueuse.	70
Figure 24. Evolution de la température de l'échantillon et de la puissance micro-ondes lors des TTMO en mode (t ; T) à différentes températures entre 40 et 100 °C pendant 2 min de traitement effectif.....	74

Figure 25. Comparaison des profils de température lors des TTMO à différentes températures et différents temps de traitement.	75
Figure 26. Comparaison des taux de rétention en vitamines B1 ($C_0 = 20 \mu\text{g/mL}$) et C ($C_0 = 130 \mu\text{g/mL}$), seules (A et B) et en mélange (C et D), en solution aqueuse pendant le TTMO en mode (t ; T), ($n = 3$). Lorsque les écarts-types ne sont pas visibles, ceci indique qu'ils sont inférieurs à la taille des marqueurs.	77
Figure 27. Comparaison des profils de température et de puissance micro-ondes lors d'un TTMO en mode (t ; T) de 5 min à 100 °C de solutions de Vit C préparée dans de l'eau et dans du lait ½.	85
Figure 28. Capsules de type matriciel (à gauche) et cœur-couronne (à droite) adapté de Madène et al. (2006)..	96
Figure 29. Types de lit fluidisé suivant la position de la buse de pulvérisation produisant les gouttelettes de solution d'enrobage adapté de Champagne et Fustier (2007) ¹¹⁹	97
Figure 30. Différents procédés de fabrication de microsphères. Le mélange du matériau de matrice et de l'agent actif peut être pulvérisé par coupe-jet (a), pipette ou buse vibrante (b), turbine (c), buse bi-fluide (d), ou différence de potentiel électrostatique (e).	104
Figure 31. Schéma de structure de liposome.	105
Figure 32. Schéma de l'interaction entre une molécule et une cyclodextrine permettant la stabilisation par encapsulation ¹⁹⁵	107
Figure 33. Diversité de l'amidon selon son origine.	110
Figure 34. Schéma de la tour de séchage Micra Spray 150 (Anhydro, Soeborg, Danemark).	118
Figure 35. Principales propriétés des produits déshydratés adapté de Schuck et al. (2012) ²³³	121
Figure 36. Carte de stabilité pour le lait en poudres contenant de lactose amorphe adapté de Roos (2002) ²³⁷	123
Figure 37. Présentation des résultats de mesures granulométriques (adapté de www.horiba.com).	125
Figure 38. Comparaison de la rétention en Vit C dans le mix industriel et dans la matrice après encapsulation.	129
Figure 39. Teneurs en eau des poudres produites par atomisation. Lot 1 : $T_e = 200 \text{ °C}$ et $T_s = 100 \text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175 \text{ °C}$ et $T_s = 85 \text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150 \text{ °C}$ et $T_s = 70 \text{ °C}$, ($n = 3$). PPCN : caséines micellaires natives, WPI : isolat de protéines solubles laitières, zéine : protéines de maïs, DM : dextrine de maïs.	134
Figure 40. Activité d'eau des poudres produites par atomisation. Lot 1 : $T_e = 200 \text{ °C}$ et $T_s = 100 \text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175 \text{ °C}$ et $T_s = 85 \text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150 \text{ °C}$ et $T_s = 70 \text{ °C}$, ($n = 1$). PPCN : caséines micellaires natives, WPI : isolat de protéines solubles laitières, zéine : protéines de maïs, DM : dextrine de maïs.	135
Figure 41. Distributions de taille de particules des poudres composées à 100 % de PPCN obtenues par atomisation. Lot 1 : $T_e = 200 \text{ °C}$ et $T_s = 100 \text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175 \text{ °C}$ et $T_s = 85 \text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150 \text{ °C}$ et $T_s = 70 \text{ °C}$ ($n \geq 3$).	137
Figure 42. Distribution de taille de particules des poudres composées de 75 % PPCN/25 % zéine. Lot 1 : $T_e = 200 \text{ °C}$ et $T_s = 100 \text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175 \text{ °C}$ et $T_s = 85 \text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150 \text{ °C}$ et $T_s = 70 \text{ °C}$ ($n \geq 3$).	139
Figure 43. Distribution de taille de particules des poudres 100 % WPI. Lot 1 : $T_e = 200 \text{ °C}$ et $T_s = 100 \text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175 \text{ °C}$ et $T_s = 85 \text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150 \text{ °C}$ et $T_s = 70 \text{ °C}$ ($n \geq 3$).	140
Figure 44. Distributions de taille de particules des poudres 100 % DM. Lot 1 : $T_e = 200 \text{ °C}$ et $T_s = 100 \text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175 \text{ °C}$ et $T_s = 85 \text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150 \text{ °C}$ et $T_s = 70 \text{ °C}$ ($n \geq 3$).	141

Liste des figures

Figure 45. Mouillabilité (représentée par le temps de mouillage) des poudres suivant la matrice utilisée et les conditions de séchage. Lot 1 : $T_e = 200\text{ °C}$ et $T_s = 100\text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ °C}$ et $T_s = 85\text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ °C}$ et $T_s = 70\text{ °C}$, ($n = 3$). PPCN : caséines micellaires natives, zéine : protéines de maïs, DM : dextrine de maïs.	143
Figure 46. Evolution de la dispersibilité des poudres produites par atomisation au laboratoire suivant la matrice utilisée et les conditions de séchage. Lot 1 : $T_e = 200\text{ °C}$ et $T_s = 100\text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ °C}$ et $T_s = 85\text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ °C}$ et $T_s = 70\text{ °C}$ ($n = 3$). PPCN : caséines micellaires natives, WPI : isolat de protéines solubles laitières, zéine : protéines de maïs, DM : dextrine de maïs.	144
Figure 47. Solubilité des poudres suivant la matrice utilisée et les conditions de séchage. Lot 1 : $T_e = 200\text{ °C}$ et $T_s = 100\text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ °C}$ et $T_s = 85\text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ °C}$ et $T_s = 70\text{ °C}$ ($n = 3$). PPCN : caséines micellaires natives, WPI : isolat de protéines solubles laitières, zéine : protéines de maïs.	145
Figure 48. Comparaison des résultats pour les différentes matrices d'encapsulation testées à l'échelle laboratoire.	150
Figure 49. Etapes de réhydratation des poudres de caséines.	151
Figure 50. Facteurs de choix des matrices d'encapsulation à tester à l'échelle industrielle.....	154
Figure 51. Diagramme de Hodge. La réaction initiale entre un sucre réducteur et un groupe protéine $-NH_2$ forme la base Schiff instable (réaction a), qui se réarrange lentement pour former le produit d'Amadori correspondant (réaction b). Dégradation du produit d'Amadori (réaction c). Formation de composés réactifs de carbonyle et d' α -dicarbonyle (réaction d). Formation d'aldéhydes de Strecker à partir d'acides aminés et d'aminocétones (réaction e). Condensation en aldols de furfurals, de réductènes et d'aldéhydes respectivement produits par les réactions c, d et e sans intervention des composés contenant le groupement $-NH_2$ (réaction f). Réaction de furfurals, de réducteurs et d'aldéhydes produits en réaction c, d et e avec des dérivés contenant des groupements $-NH_2$ pour former des mélanoidines (réaction g). Formation de produits de scission de carbonyles à partir du sucre réducteur induite par des radicaux libres (voie Namiki) (réaction h).	158
Figure 52. Dégradation de la Vit C ²⁵⁴	160
Figure 53. Dégradation de Strecker entre l'acide déshydroascorbique et un acide aminé pour donner un aldéhyde et l'acide L-scorbamique ²⁶¹	160
Figure 54. Voies de réaction pour la dégradation de la Vit C en présence d'acide L-glutamique ^{271,272,274}	162
Figure 55. Voies de réaction pour la dégradation de la Vit C en présence de cystéine ^{271,272,274}	162
Figure 56. Voies de réaction de la dégradation de la Vit C en présence d'acides aminés acides ^{271,272,274}	163
Figure 57. Exemple de roue des couleurs utilisant l'angle de teinte.....	170
Figure 58. Représentation du système de couleur de Munsell, basé sur l'angle de teinte, la chromaticité, et la luminosité.....	172
Figure 59. Schéma des travaux de thèse présentés dans le Chapitre 4.	174
Figure 60. Teneur en eau des poudres produites par atomisation à l'échelle industrielle ($n = 3$).	175
Figure 61. Activité d'eau des poudres produites par atomisation à l'échelle industrielle ($n = 1$).	176
Figure 62. Distributions de tailles de particules des poudres composées de : A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; 50A : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; B : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; 50B : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; C : 100	

% isolat de protéines de pois ; 50C : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; D : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; 50D : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; E : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.	178
Figure 63. Libération de la Vit B1 encapsulée (164 µg/mL de A à 50D et 141 µg/mL pour E) pendant la réhydratation des poudres dans de l'eau (n = 3).	179
Figure 64. Taux d'encapsulation de la Vit B1 (concentration initiale avant atomisation de 164 µg/mL de A à 50D et 141 µg/mL pour E), (n = 3). Les taux d'encapsulation de Vit B1 associés à des lettres différentes en étiquette sont significativement différents (p < 0,05).	180
Figure 65. Libération de la Vit C encapsulée (1640 µg/mL) pendant la réhydratation des poudres dans de l'eau (n = 3).	181
Figure 66. Taux de rétention en Vit B1 après vieillissement à 40 °C pendant 1 mois (n = 3).	186
Figure 67. Comparaison de la couleur des poudres sur la base de photographies réalisées avant le vieillissement (demi-disque de gauche) et à 4 mois (120 jours) de vieillissement à 40 °C (demi-disque de droite).	191
Figure 68. Effet de la proportion volumique d'éthanol (%) dans le milieu de réaction sur la formation de la couleur rouge (spectres UV/vis) ²⁸⁸ . 1 : 100 % ; 2 : 95 % ; 3 : 80 % ; 4 : 20 %.	192
Figure 69. Changement de la couleur des solutions de poudres vieilles 4 mois à 40 °C réhydratées à 20 °C au cours du temps (6 h).	193
Figure 70. Mécanisme de formation des composés rouges ²⁶¹	194
Figure 71. Exemples d'évolution de la couleur de certaines poudres produites à l'échelle industrielle pendant le vieillissement.	195
Figure 72. Augmentation de l'angle de teinte pendant le vieillissement de la matrice A (100 % caséinate de calcium lécithiné).	197
Figure 73. Diminution de luminosité pendant le vieillissement de la matrice A (100 % caséinate de calcium lécithiné).	198
Figure 74. Augmentation de la chromaticité pendant le vieillissement de la matrice A (100 % caséinate de calcium lécithiné).	199
Figure 75. Augmentation de l'indice de brunissement pendant le vieillissement de la matrice A (100 % caséinate de calcium lécithiné).	200
Figure 76. Comparaison de l'évolution du taux de rétention en Vit C (%) et l'indice de brunissement (IB) pendant le vieillissement de la poudre A (100 % caséinate de calcium lécithiné).	201
Figure 77. Evolution du taux de rétention en Vit C et de l'indice de brunissement (IB) pendant le vieillissement des poudres.	202
Figure 78. Bilan schématique des travaux effectués pendant la thèse.	213

Liste des tableaux

Tableau 1. Le marché des compléments alimentaires en 2015 : répartition par circuit de distribution ²	10
Tableau 2. Structure chimique, sources alimentaires et facteurs influençant la stabilité d'après Ball (2005).	38
Tableau 3. Recommandations journalières en vitamines pour les adultes.....	40
Tableau 4. Exemples des pertes en vitamines C et A* soumises à différents traitements thermiques.	43
Tableau 5. Caractéristiques cinétiques de la dégradation de la Vit C dans différents produits alimentaires : conditions de traitement thermique, ordre de réaction et énergie d'activation.	46
Tableau 6. Composition du mix en macronutriments.	48
Tableau 7. Composition en vitamines du mix de base avant réhydratation et dans le produit réhydraté.	49
Tableau 8. Composition du SMUF.	50
Tableau 9. Composition et valeur énergétique du lait demi-écrémé.	51
Tableau 10. Paramètres cinétiques de la dégradation de la Vit C (TTC en mode (t ; T)) : vitesse de réaction (k), temps de demi-vie (t _{1/2}), logarithme népérien du facteur pré-exponentiel d'Arrhenius (ln (k°)) et énergie d'activation (E _a).	70
Tableau 11. Comparaison des résultats de rétention en Vit C en solution aqueuse pure après TTC en mode (t ; T) obtenus par les trois méthodes de dosage CLHP, ABTS et FRAP (n = 3).	71
Tableau 12. Profils thermiques pour les différents barèmes temps-température mis en œuvre lors des TTMO. ...	72
Tableau 13. Comparaison des taux de rétention en Vit C (C ₀ = 130 µg/mL) en solution aqueuse pure après TTMO en mode (t ; T), déterminés avec les méthodes de dosage CLHP, ABTS et FRAP (n = 3).	79
Tableau 14. Comparaison des taux de rétention en vitamine après TTC et TTMO pour les vitamines C (C ₀ = 130 µg/mL) et B1 (C ₀ = 20 µg/mL), seules ou en mélange dans des solutions aqueuses (n = 3).	80
Tableau 15. Comparaison de la rétention en Vit C (C ₀ = 130 µg/mL) dans l'eau et le SMUF pour le TTC et le TTMO en mode (t ; T) à 60 et 100 °C pendant 5 et 20 min (n = 3).	81
Tableau 16. Comparaison des résultats de rétention en Vit C (C ₀ = 130 µg/mL) dans l'eau et le SMUF pour le TTC et le TTMO en mode (t ; T) à 60 et 100 °C pour les trois méthodes de dosage CLHP, ABTS et FRAP (n = 3). .	82
Tableau 17. Influence du pH sur la rétention en Vit C (C ₀ = 130 µg/mL) dans l'eau et le SMUF après TTMO en mode (t ; T) à 60 et 100 °C pendant 5 min (n = 3).	83
Tableau 18. Comparaison de l'énergie micro-ondes nécessaire pour chauffer et maintenir à la température cible (100 °C) la solution de Vit C (seule) dans de l'eau et dans du lait ½ lors du TTMO en mode (t ; T).	84
Tableau 19. Comparaison de la rétention en vitamine B1 (C ₀ = 20 µg/mL) et C (C ₀ = 130 µg/mL) pour les TTMO en mode (t ; T) dans de l'eau et dans de lait ½ (n = 3).	85
Tableau 20. Comparaison de la rétention en vitamine B1 (C ₀ = 20 µg/mL) et C (C ₀ = 130 µg/mL) après TTC en mode (t ; T) dans de l'eau et dans du lait ½ (n = 3).	86
Tableau 21. Rétention moyenne en Vit C (C ₀ = 130 µg/mL) dans l'eau, le SMUF et le lait ½ après TTC et TTMO en mode (t ; T) à 100 °C pendant 5 min (n = 3).	87
Tableau 22. Matériaux d'encapsulation ¹²³	95
Tableau 23. Exemples de gammes de conditions d'atomisation adaptées.	101

Tableau 24. Température de transition vitreuse de différents matériaux alimentaires ²³³	114
Tableau 25. Température de transition vitreuse de certains amidons modifiés provenant de différentes sources botaniques ²³⁴	115
Tableau 26. Températures d'entrée et de sorties ciblées et mesurées (réelles) lors du séchage par atomisation au laboratoire.....	120
Tableau 27. Valeurs limites typiques d'activité d'eau en-dessous desquelles les micro-organismes ne peuvent plus se reproduire et dégrader un produit alimentaire ²³⁶	123
Tableau 28. Effet du type de TT (TTC et TTMO) en mode (t ; P) pendant 2 min avec une température finale d'environ 90 °C, et du milieu de réhydratation sur la rétention en vitamines dans les solutions de mix industriel contenant 180 µg/mL de Vit C (avec et sans texturants).....	130
Tableau 29. pH des solutions de 4 mix dans l'eau et dans du lait ½ avant le traitement thermique (n = 1).	131
Tableau 30. Effet du TTMO et du TTC en mode (t ; T) (5 min à 100 °C) sur la rétention en vitamine B2 dans le mix industriel vitaminé (sans et avec texturants) réhydraté à 5 g/50 mL de lait ½.....	132
Tableau 31. Rétention en vitamine B2 dans les mix réhydratés à (5 g dans 50 mL de lait ½), et soumis à TTMO en mode (t ; P) pendant 2 min (n = 3).	132
Tableau 32. Caractéristiques granulométriques des poudres 100 % PPCN (n ≥ 3).....	136
Tableau 33. Caractéristiques granulométriques des poudres 75 % PPCN/25 % zéine (n = 3).....	138
Tableau 34. Caractéristiques granulométriques des poudres atomisées (n ≥ 3).....	139
Tableau 35. Caractéristiques granulométriques des poudres à base de dextrine de maïs (n ≥ 3).	140
Tableau 36. Paramètres de couleur des poudres obtenues par séchage par atomisation à l'échelle pilote. Lot 1 : T _e = 200 °C et T _s = 100 °C, lot 2 : T _e = 175 °C et T _s = 85 °C, lot 3 : T _e = 150 °C et T _s = 70 °C, (n = 3).	142
Tableau 37. Taux d'encapsulation des différentes matrices étudiées à l'échelle laboratoire. Lot 1 : T _e = 200 °C et T _s = 100 °C, lot 2 : T _e = 175 °C et T _s = 85 °C, lot 3 : T _e = 150 °C et T _s = 70 °C (n = 3).	146
Tableau 38. Taux de rétention en Vit C des différentes matrices après TTMO en mode (t ; P). Lot 1 : T _e = 200 °C et T _s = 100 °C, lot 2 : T _e = 175 °C et T _s = 85 °C, lot 3 : T _e = 150 °C et T _s = 70 °C (n = 3).	147
Tableau 39. Taux de préservation de la Vit C après atomisation, reconstitution et TTMO en mode (t ; P), n = 3.	148
Tableau 40. Composition moyenne en acides aminés des protéines et teneurs en protéines, glucides et lipides des poudres utilisées comme matrices d'encapsulation à l'échelle industrielle.	166
Tableau 41. Caractéristiques granulométriques des poudres (n = 3).....	177
Tableau 42. Taux d'encapsulation de la Vit C (concentration initiale dans le concentré atomisé de 1 640 µg/mL de A à 50D et 1 410 µg/mL pour E) dosée par trois méthodes différentes (n = 3).	182
Tableau 43. Taux de rétention en vitamines C et B1 après un TTMO (2 min en mode (t ; P)) et TTC (2 min à 100 °C en mode (t ; T)) pour l'ensemble des poudres produites à l'échelle industrielle (n = 3).....	184
Tableau 44. Comparaison des résultats de dosage CLHP de la rétention en Vit C (proportion de vitamine retrouvée dans les poudres vieilles par rapport à la teneur initiale dans les poudres « fraîches »), n = 3.....	187

Tableau 45. Comparaison de la rétention en Vit C (teneur en vitamine exprimée en pourcents retrouvée par rapport à la concentration dans les poudres « fraîches ») pendant le vieillissement déterminée par les trois méthodes de dosage CLHP, ABTS et FRAP (n = 3).	189
Tableau 46. Taux de rétention en Vit C des poudres vieilles pendant 7 mois (proportion de Vit C après TT par rapport à la teneur retrouvée dans les poudres vieilles) après TTMO (2 min en mode (t ; P)) et TTC (2 min à 100 °C en mode (t ; T)) dosé par ABTS et FRAP (n = 2).	190
Tableau 47. Composition en acides aminés (en proportions de groupements amines libres exprimées en pourcents) dans le produit après incubation à 60 °C de caséine (148 h), d'albumine de sérum bovin (48 h) et d'ovalbumine (48 h) seules et en mélange avec le DHA ²⁸⁸	196
Tableau 48. Résultats de mesures L*, a*, b* des poudres pendant le vieillissement et détermination de l'angle de teinte (H*), de la chromaticité (C*) et de l'indice de brunissement (IB).	203

Liste des abréviations

(t ; P)	barème temps : puissance
(t ; T)	barème temps-température
ABTS	acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
AESA	Autorité Européenne de Sécurité des Aliments
AMC	amines hétérocycliques
ANC	Apport nutritionnel conseillé
ANSES	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire des Aliments
ARS	Agence Régionale de Santé
BNM	Besoin Nutritionnel Moyen
C*	Chromaticité
CA	Chiffre d'affaire
CES	Comité d'Experts Spécialisés
CIQUAL	Centre Informatique sur la Qualité des Aliments
CLHP	Chromatographie Liquide à Haute Précision
D10	10 % de particules ont une taille plus petite que la valeur indiquée
D50	Diamètre médiane qui correspond à la taille de particules pour laquelle la moitié de la population a une taille inférieure à la valeur indiquée
D90	90 % de particules ont une taille plus petite que la valeur indiquée
DDASS	Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales
DE	Dextrose équivalent
DGAI	Direction Générale de l'Alimentation
DGCCRF	Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes
DGDDI	Direction Générale des Douanes et des Droits Indirects
DGS	Direction Générale de Santé
DM	Dextrine de maïs
FAO	Organisation des Nation Unies pour l'alimentation et l'agriculture
Fe ^{II}	Fer ferrique
Fe ^{III}	Fer ferreux
FRAP	Puissance réductrice-antioxydante ferrique

Liste des abréviations

GMS	Grandes et moyennes surfaces
H*	angle de teinte
HACCP	Analyse des risques et maîtrise des points critiques
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HMF	Hydroxyméthylfurfural
HPST	Hôpital, Patients, Santé, Territoires
IB	Indice de brunissement
INCA	Etude Individuelle nationale
INCO	Information des consommateurs sur les denrées alimentaires
InVS	Institut de Veille Sanitaire
L*	Luminosité
Lait ½	Lait demi-écrémé
LMR	Limites maximales de résidus
Lot 1	Conditions de séchage T °C d'entrée de 200 °C et T °C de sortie de 100 °C
Lot 2	Conditions de séchage T °C d'entrée de 175 °C et T °C de sortie de 85 °C
Lot 3	Conditions de séchage T °C d'entrée de 150 °C et T °C de sortie de 70 °C
M€	Millions d'euros
mds	Milliards
OIE	Organisation Mondiale de la Santé Animale
OMC	Organisation Mondiale de Commerce
OMG	Organisme Génétiquement Modifié
OMS	Organisation Mondiale de Santé
ONU	Organisation des Nation Unies
PPCN	Isolat de protéines de lait naturellement riche en micelles de caséine natives
SENS	Algorithme de classification des aliments
SIN	Système d'information nutritionnelle
SMUF	Solution saline modèle d'ultrafiltration du lait
TPTZ	2, 4, 6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine
TT	Traitement thermique
TTC	Traitement thermique conventionnel
TTMO	Traitement thermique au four à micro-ondes
UE	Union Européenne

Liste des abréviations

UHT	Upérisation à haute température
UV/vis	Ultraviolet/visible
Vit B1	Vitamine B1 (thiamine)
Vit B2	Vitamine B2 (riboflavine)
Vit C	Vitamine C (acide ascorbique)
VPC	Ventes par correspondance
WPI	Isolat de protéines solubles de lait
Zéine	Protéine de maïs

Introduction du sujet

A. Contexte

Les produits déshydratés permettent d'optimiser la conservation et le transport des produits alimentaires. C'est pourquoi le marché des poudres alimentaires est en pleine croissance. Leur composition peut être contrôlée et standardisée, mais celle du produit obtenu après réhydratation peut varier selon les conditions de mise en œuvre et différer de celle de la poudre. Ceci s'explique par différentes modifications physicochimiques qui ont lieu pendant ou après la réhydratation.

Les mix de poudres alimentaires (formulations hyper-protéinées, hypo-caloriques, etc.) distribués au consommateur affichent sur leurs emballages des garanties nutritionnelles en termes d'apports qualitatif et quantitatif. Ces mix sont des substituts de repas pour lesquels la composition, les conditions de réhydratation et le mode de cuisson recommandé varient. Cependant, l'apport nutritionnel du « produit prêt à consommer », c'est-à-dire après reconstitution en milieu aqueux (eau et/ou lait principalement), suivi d'une cuisson, n'est pas garanti.

Il est donc crucial de pouvoir suivre l'évolution quantitative et qualitative de la teneur en molécules sensibles au cours de la reconstitution (réhydratation et cuisson) du produit alimentaire, et si nécessaire, de mettre en œuvre des stratégies de préservation afin de garantir la qualité nutritionnelle de l'aliment.

Les altérations biochimiques qui nous intéressent plus particulièrement dans le cadre de cette thèse correspondent aux pertes en vitamines après cuisson des poudres réhydratées. En particulier, au cours du travail de thèse, le traitement micro-ondes est comparé au traitement thermique classique dans les mêmes conditions de réhydratation et de cuisson. Outre l'impact des gradients de température sur l'altération des vitamines thermosensibles, le travail de thèse s'est attaché à mettre en évidence les éventuels effets spécifiques des micro-ondes sur les pertes en vitamines.

Le travail de cette thèse se concentre exclusivement sur l'évaluation des pertes en vitamines dues aux procédés de transformation alimentaire en lien avec l'effet de la matrice alimentaire. L'estimation des pertes suivant les conditions du traitement thermique sont prises en compte pour garantir des valeurs qui seront affichées sur l'étiquetage des produits commercialisés et donc les apports nutritionnels. Cela permettra également d'anticiper les lois d'étiquetages et les allégations

nutritionnelles qui sont en développement permanent aussi bien au niveau national qu'à l'international.

B. Objectifs de la thèse

Le premier enjeu de la thèse est l'identification des vitamines sensibles au traitement thermique (appelées marqueurs dans ce mémoire). La détermination qualitative et quantitative des altérations biochimiques et physico-chimiques des marqueurs identifiés sous l'effet de différents traitements thermiques constitue le second enjeu. Les solutions recherchées par l'entreprise, et pour lesquelles les propriétés nutritionnelles des biomolécules sont déterminantes, concernent la préservation des marqueurs par encapsulation. Les différentes voies d'encapsulation envisagées sont dépendantes de la composition et des propriétés physico-chimiques des marqueurs, ainsi que des mécanismes responsables de leur altération par traitement thermique. Les différentes étapes de la préparation du produit sont également à prendre en compte : composition du milieu de réhydratation (eau, lait), paramètres d'agitation, barème temps-température du traitement thermique et cinétique de refroidissement à la température de consommation.

C. Structure du manuscrit

Un premier chapitre fait le point sur la législation alimentaire, l'étiquetage nutritionnel, les compléments alimentaires et les aliments enrichis en vitamines. Il permet de situer l'étude par rapport aux réglementations actuelles.

Le second chapitre traite des différents types de traitements thermiques, de leurs caractéristiques et des transformations qu'ils provoquent dans les aliments menant à des pertes en vitamines. Une étude bibliographique a été entreprise pour caractériser la sensibilité thermique des différents types de micronutriments, ce qui a permis d'identifier les molécules les plus sensibles parmi les constituants du mix industriel. A partir de cette étude, il a été choisi de focaliser le travail de thèse sur les vitamines thermosensibles. La comparaison des traitements thermiques (classique et micro-ondes) a été réalisée sur la base des pertes en vitamines dans différentes solutions modèles et dans le mix réhydraté dans du lait demi-écrémé, ce dernier milieu correspondant au produit industriel.

Le troisième chapitre porte sur le développement d'une matrice d'encapsulation à l'échelle du laboratoire. Une étude bibliographique sur les moyens d'encapsulation est effectuée afin de guider le choix du procédé d'encapsulation suivant les molécules d'intérêt retenues et les équipements

Introduction du sujet

disponibles dans l'entreprise. L'impact des conditions d'atomisation et de la composition de la matrice d'encapsulation ont été étudiées sur la base des propriétés physicochimiques et fonctionnelles des poudres obtenues. Ce travail préliminaire à l'échelle du laboratoire a permis de définir les conditions d'encapsulation et les matrices prometteuses pour l'encapsulation des vitamines thermosensibles à l'échelle industrielle.

Le quatrième chapitre présente l'extrapolation de la méthode d'encapsulation en industrie. L'influence de la matrice d'encapsulation sur la rétention en vitamines après traitement thermique de la poudre reconstituée a été évaluée. Les poudres ont été soumises à un vieillissement accéléré afin de simuler la perte en vitamines et la diminution éventuelle du pouvoir protecteur de la matrice lors du stockage de la poudre. Les interactions spécifiques observées entre la matrice et la molécule encapsulée, accroissant significativement le pouvoir protecteur de la matrice d'encapsulation, ont fait l'objet d'une étude plus spécifique. Le choix de la matrice d'encapsulation adaptée à la problématique et aux contraintes de l'entreprise a été réalisé sur la base de ses caractéristiques (compatibilité alimentaire, coût etc.) et ses performances technologiques (rétention des vitamines lors de l'atomisation, du traitement thermique et du stockage).

Enfin, une discussion générale et les perspectives envisageables sont proposées en fin de mémoire de thèse. Cette dernière partie permet d'établir les liens entre les conditions du procédé d'encapsulation, les interactions biochimiques entre marqueur et matrice, et la qualité nutritionnelle du mix contenant le marqueur encapsulé.

CHAPITRE 1 : Legislation et marché des compléments alimentaires

La santé par l'alimentation, confrontée à de colossaux enjeux de santé publique, est une préoccupation majeure pour les consommateurs. Le marché de la nutrition-santé (ou des aliments-santé) continue à se développer, notamment en lien avec le vieillissement de la population et la prise de conscience de plus en plus importante du lien entre la santé et l'alimentation. Face à la demande croissante, la nécessité de proposer des produits innovants et adaptés aux exigences du consommateur d'aujourd'hui, est soulevée.

Afin d'élaborer un produit alimentaire et cibler son futur marché, il est indispensable de prendre en compte les restrictions et les lois applicables au produit et au(x) pays auquel il est destiné.

De nos jours, les lois concernant les produits alimentaires sont en constant développement et sont régulièrement modifiées suivant les exigences nationales, européennes et mondiales. En outre, les produits à effet santé comme les compléments alimentaires ou les aliments fonctionnels doivent suivre l'évolution des normes sur les apports en micronutriments afin d'assurer une dose optimale au consommateur.

Il est donc d'une importance majeure de connaître la législation qui concerne les produits industriels, qui sont au cœur de ce travail de thèse, afin de pouvoir en optimiser les garanties nutritionnelles et s'assurer qu'elles répondent aux exigences de la législation alimentaire.

I. MARCHE DES ALIMENTS A EFFET SANTE

Le marché mondial des aliments fonctionnels correspondait à un chiffre d'affaires de 129,39 milliards de dollars US en 2015. La sensibilisation croissante des consommateurs en ce qui concerne leur santé et l'adoption d'un régime alimentaire approprié devrait aider l'ensemble du secteur au cours des huit prochaines années ¹.

En France, le marché des compléments alimentaires connaît une croissance moyenne à un chiffre depuis les années 2000. Le marché français du complément alimentaire (Figure 1) a depuis renoué avec la croissance, permettant ainsi de booster le marché de la nutrition-santé qui représente 4,8 milliards d'euros en 2013.

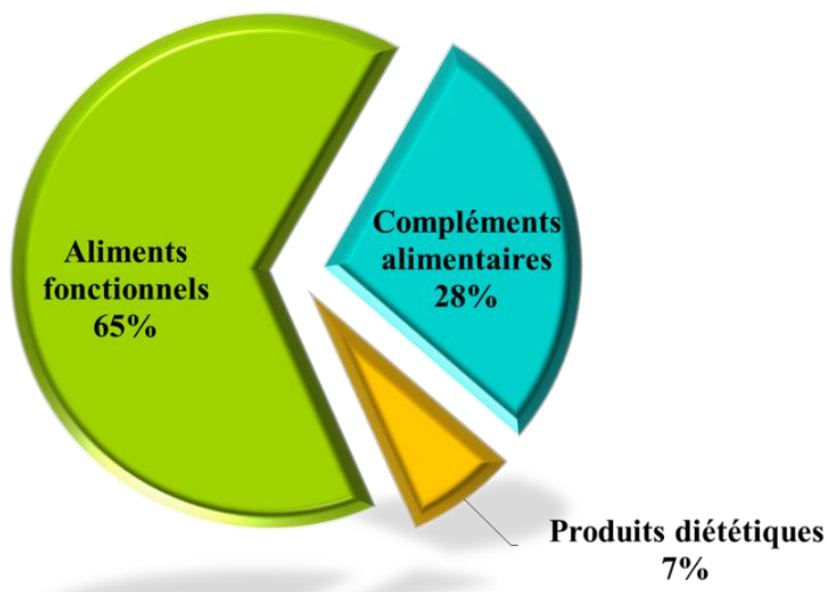


Figure 1. Segmentation du marché de la nutrition-santé en France en 2013 ².

Les compléments alimentaires sont définis comme « des denrées alimentaires dont le but est de compléter un régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique ». Ces produits sont destinés à être pris par voie orale et sont conditionnés en doses sous forme de comprimés, gélules, pastilles, ampoules.

Le marché du complément alimentaire dans le monde correspond à un chiffre d'affaires (CA) de 88,4 milliards (mds) de dollars US (\$) en 2015 (Figure 2). L'Europe représente 15 % du chiffre d'affaires généré par cette industrie.

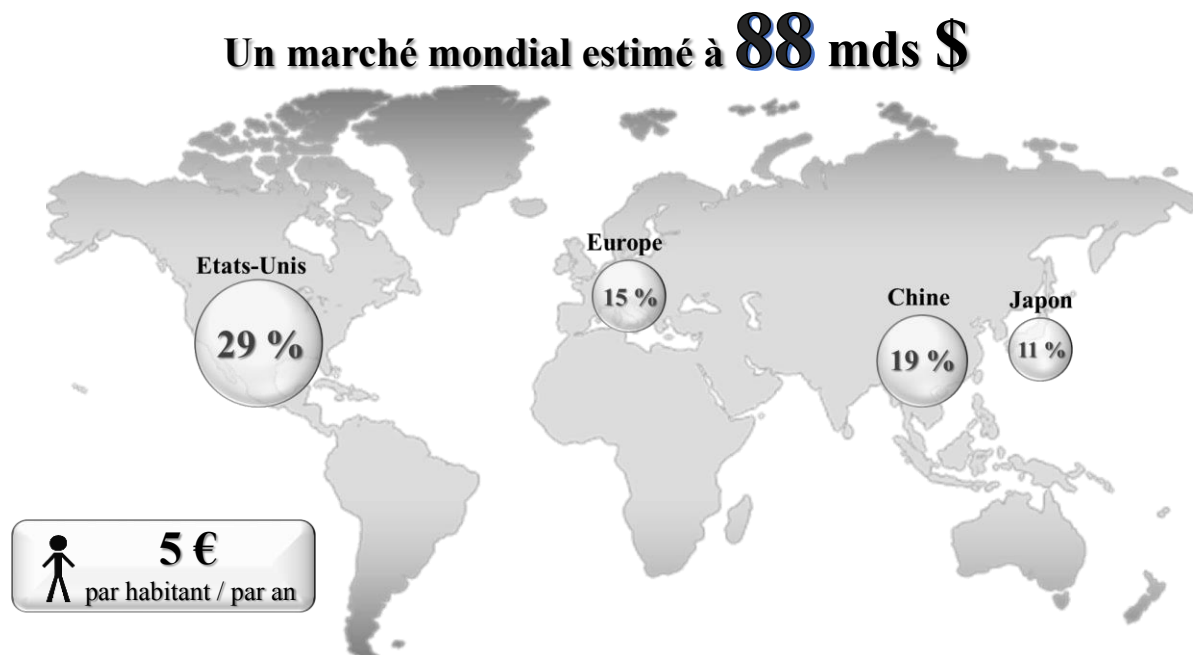


Figure 2. Le marché des compléments alimentaires dans le monde en 2015, adapté de Pensé-Lhéritier et Bouarfa (2016)².

Le marché européen des compléments alimentaires (Figure 3) est très développé. Quatre pays (Italie, France, Allemagne et Royaume-Uni) sont leaders et occupent 60 % du marché européen, dont la France avec 15 %.

Europe

... 4 pays représentent 60 % du marché

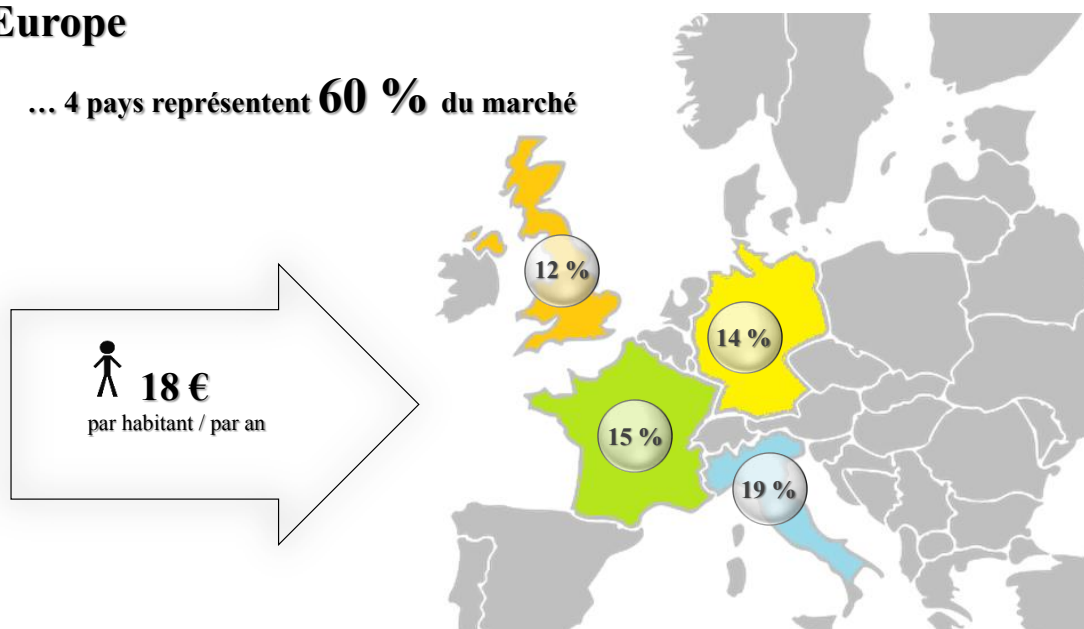


Figure 3. Marché européen des compléments alimentaires.

Les produits des entreprises françaises sont exportés vers plus de 43 pays hors Union Européenne. Ceci correspond à environ 10 % du marché national (près de 100 millions d’euros).

En France, le marché du complément alimentaire s’est montré dynamique depuis les années 2000 (Figure 4). Sur la période étudiée, trois grandes phases peuvent être identifiées :

- de 2000 à 2007 : phase de forte croissance du marché essentiellement grâce à un important élargissement de l’offre combiné à sa segmentation ;
- de 2008 à 2010 : phase de retournement du marché. Cette involution est principalement liée à la dégradation de la conjoncture économique et à l’évolution de la réglementation sur les allégations de santé (attentisme des industriels) ;
- de 2011 à 2015 : retour de la croissance.

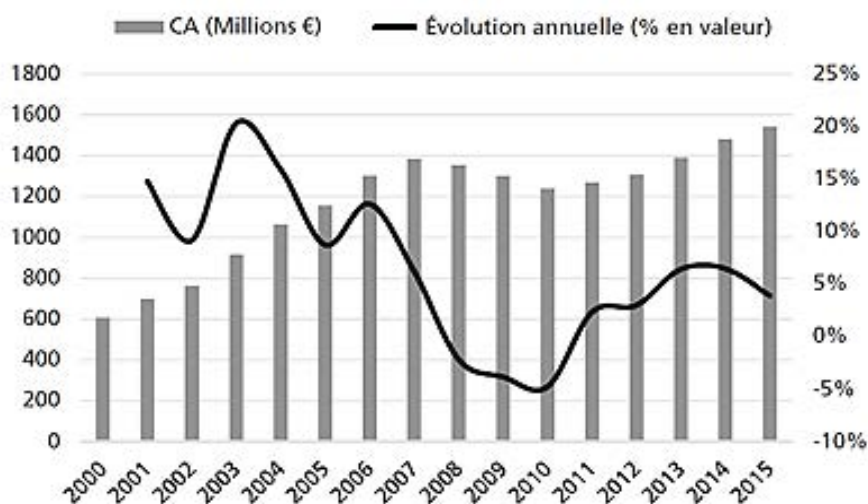


Figure 4. Évolution des ventes des compléments alimentaires en France de 2000 à 2015 ².

Les ventes de compléments alimentaires ont progressé de 6,5 % en 2014 et de 3,9 % en 2015 (Figure 5) pour se porter à près de 1,54 milliard d’euros. Les ventes des segments stress-sommeil, transit-digestion et minceur-drainage ont même enregistré une croissance à deux chiffres en 2014.



Figure 5. Les ventes de compléments alimentaires ont progressé de 3,9 % en 2015 en France, adapté de Pensé-Lhéritier et Bouarfa (2016)².

En 2015, les promesses santé ont poursuivi leur développement (notamment stress-sommeil et transit-digestion), tandis qu'un recul global des compléments alimentaires à visée minceur est observé.

La pharmacie est le premier circuit de distribution depuis de nombreuses années, totalisant près de 52 % des achats consommateurs en valeur en 2015. Les officines sont fortement concurrencées par les parapharmacies, les distributeurs spécialisés et surtout l'e-commerce (Tableau 1).

Tableau 1. Le marché des compléments alimentaires en 2015 : répartition par circuit de distribution ².

Circuits de distribution	CA 2014 (M€)	CA 2015 (M€)	Croissance en valeur (%)
Pharmacies	756	801	+ 6,0 %
Vente directe/vente à distance (VPC/e-commerce)	291	288	- 1 %
Circuits spécialisés (bio/diététique/franchises)	237	250	+ 5,4 %
Parapharmacies	102	104	+ 1,8 %
GMS (grandes et moyennes surfaces)	98	99	+ 0,4 %
TOTAL	1 485	1 542	+ 3,9 %

M€ : millions d'euros ; VPC : Ventes par correspondance ; GMS : Grandes et moyennes surfaces.

II. LEGISLATION ALIMENTAIRE

1. Institutions mondiales responsables de la sécurité des aliments et la législation alimentaire

Le commerce international des denrées alimentaires existe depuis des milliers d'années mais, jusqu'à une période relativement récente, les aliments étaient essentiellement produits, vendus et consommés sur place. La quantité des denrées alimentaires commercialisées au niveau mondial a littéralement explosé au cours du XX^{ème} siècle pour atteindre aujourd'hui des niveaux et une diversité inimaginables auparavant ³.

Sur le plan international, trois institutions ont reçu des missions complémentaires dans le domaine de la sécurité des aliments en lien avec le Codex Alimentarius (Figure 6). Le programme mixte de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) et de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) sur les normes alimentaires est mis en oeuvre par la Commission du Codex Alimentarius. L'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) définit les règlements sanitaires applicables aux échanges internationaux d'animaux et de produits d'origine animale ⁴.

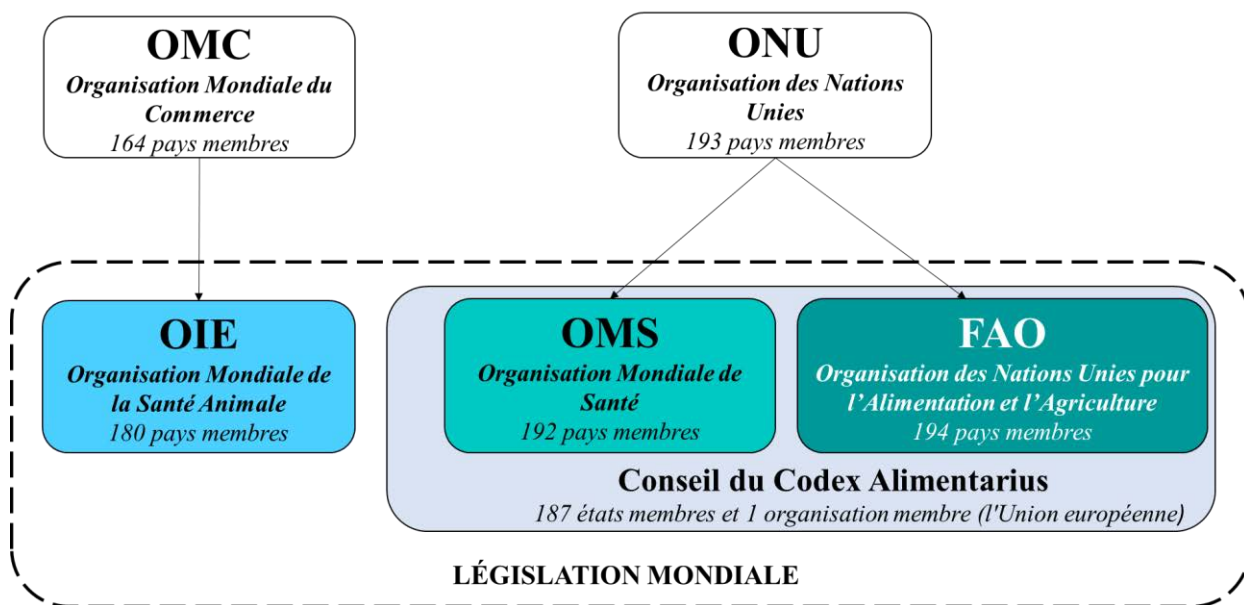


Figure 6. Organigramme des institutions mondiales élaborant la législation alimentaire.

La FAO a été créée le 16 octobre 1945 et l'OMS le 7 avril 1948 par l'Organisation des Nations Unies (ONU). Le Conseil du Codex Alimentarius est un organe intergouvernemental mixte (FAO/OMS), qui comprend 187 États membres et une organisation membre (l'Union européenne, UE). Depuis 1963, il établit des normes alimentaires internationales harmonisées pour protéger la santé des consommateurs et garantir des pratiques équitables dans le commerce des denrées alimentaires.

L'OMS émet des avis scientifiques indépendants au niveau international concernant les risques microbiologiques et chimiques qui serviront à établir des normes alimentaires par le Codex Alimentarius.

L'OIE est une organisation intergouvernementale chargée d'améliorer la santé animale dans le monde. Elle a été créée par l'accord international du 25 janvier 1924 sous le nom d'Office International des Epizooties, organisme de référence pour la santé animale de l'Organisation Mondiale du Commerce (OMC).

Le Conseil du Codex Alimentarius est une instance chargée de la mise au point de normes alimentaires harmonisées, de l'élaboration de lignes directrices, de codes d'usages internationaux, de directives et autres recommandations relatives à la sécurité alimentaire, à la production et à la transformation agro-alimentaire. Cette organisation internationale a pour objectifs de protéger la santé des consommateurs et des travailleurs des filières alimentaires et de préserver l'environnement, tout en assurant des pratiques loyales dans le commerce des aliments.

Le Codex Alimentarius est un programme qui reflète le code mondial des normes alimentaires. Par sa base scientifique, le Codex Alimentarius est considéré par l'Organisation Mondiale du Commerce comme la référence internationale pour les normes de sécurité alimentaire. Les normes du Codex Alimentarius servent souvent à l'élaboration des législations nationales.

2. Institutions européennes responsables de la sécurité des aliments et de la législation alimentaire

Les crises alimentaires ont révélé certaines faiblesses des systèmes de sécurité alimentaire de l'Union européenne et des États membres, ce qui a conduit les autorités européennes à réagir. La Commission européenne a donc adopté le 12 janvier 2000 un livre blanc sur la sécurité alimentaire, qui présente les éléments qui devraient permettre, d'une part, d'atteindre le niveau le plus élevé

possible de sécurité alimentaire et, d'autre part, de renforcer la compétitivité de l'industrie alimentaire européenne. Ce livre blanc repose sur une conception globale de la sécurité alimentaire, qui s'applique à toute la chaîne alimentaire animale et humaine « de la ferme à la table ». Il propose la création d'une autorité alimentaire européenne et un programme de réformes législatives relatives à la sécurité alimentaire.

En 2002 est créée l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (AESA) ou European Food Safety Authority (EFSA) qui fonctionne en toute indépendance vis-à-vis du pouvoir politique européen. Cette autorité créée par le règlement CE n°178/2002 constitue le socle de la sécurité sanitaire des aliments. Elle traite de questions diverses notamment sur les additifs alimentaires, les allergènes, la santé des plantes et des animaux, le bien-être des animaux, les organismes génétiquement modifiés (OGM) et les limites maximales de résidus (LMR) de pesticides.

L'EFSA n'est pas responsable de la législation en matière de sécurité des aliments ni de son application. Les décisions relatives à la législation européenne en matière de sécurité des aliments sont de la compétence de la Commission européenne, du Parlement européen, du Conseil européen et des autorités nationales de chaque État membre.

Le rôle de l'EFSA en tant qu'évaluateur de risques est de fournir des conseils scientifiques indépendants sur les risques associés à la sécurité des denrées alimentaires et des aliments pour animaux afin d'assister les gestionnaires de risques européens dans leurs prises de décision finales.

3. Institutions françaises responsables de la sécurité des aliments et de la législation alimentaire

En France, plusieurs intervenants, agences ou directions générales, concourent à garantir la sécurité sanitaire des aliments. Au titre de ses missions générales d'observation, l'Institut de veille sanitaire (InVS) effectue une veille épidémiologique sur les maladies, notamment celles liées aux risques alimentaires. L'évaluation scientifique des risques des produits alimentaires est un des trois domaines majeurs d'intervention de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES).

L'élaboration des politiques et de la réglementation ainsi que les contrôles incombent aux ministères. La Direction générale de l'Alimentation (DGAL) est garante des conditions sanitaires de production et de mise sur le marché des produits et responsable de la politique de l'alimentation

pour le ministère de l'agriculture et de l'agroalimentaire. La Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) exerce une mission de protection des consommateurs et de surveillance d'ensemble de la loyauté et de la sécurité des produits ministère de l'économie et de la consommation. La Direction générale de la santé (DGS) a une responsabilité d'ensemble en matière de santé publique, elle dépend du Ministère des affaires sociales. La Direction générale des douanes et des droits indirects (DGDDI) contribue à contrôler les importations alimentaires comme celles de produits de toutes natures. Située au croisement de plusieurs politiques publiques, la sécurité sanitaire des aliments fait donc intervenir plusieurs acteurs dont les responsabilités et missions sont par ailleurs plus larges.

En 2010 sont intervenues plusieurs réformes. Au niveau de l'évaluation scientifique, la sécurité sanitaire des aliments, jusqu'alors confiée à une agence spécifique, a été incluse dans une agence traitant aussi d'environnement et de santé au travail (ANSES). En matière de santé publique, les Agences Régionales de Santé (ARS) ont été constituées, auxquelles ont été rattachées les anciennes Directions départementales des affaires sanitaires et sociales (DDASS), et elles ne sont pas placées sous l'autorité des préfets.

➤ *Lois applicables*

Toutes les mesures nationales et individuelles de l'UE sont guidées par les principes généraux de la loi sur les aliments et la nourriture des animaux décrits dans la législation générale sur les aliments et la nourriture des animaux (CE) n°178/2002. Cela couvre toutes les étapes de la production, de la transformation et de la distribution de denrées alimentaires et les aliments pour animaux. Cette loi est adoptée en France également.

Les objectifs généraux de la législation alimentaire de l'UE sont :

- Garantir un niveau élevé de protection de la vie humaine et de santé et protéger l'intérêt des consommateurs ;
- Garantir des pratiques loyales dans le commerce alimentaire, en tenant compte de la santé et du bien-être des animaux, de la santé des plantes et de l'environnement ;
- Assurer la libre circulation des denrées alimentaires et des aliments pour animaux fabriqués et commercialisés dans l'UE ;
- Faciliter le commerce mondial des aliments pour animaux sûrs, sans danger et sains en tenant compte des normes et accords internationaux.

Des réglementations supplémentaires sur l'hygiène alimentaire ont été introduites en 2004 :

- Règlement (CE) 852/2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires.
- Règlement (CE) 853/2004 relatif aux règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale.
- Règlement (CE) 854/2004 relatif aux règles d'organisation des contrôles officiels sur les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine.

Ces réglementations ont apporté une responsabilité aux exploitants principaux du secteur alimentaire pour la sécurité alimentaire et ont précisé que la mise en place générale de procédures doit être fondée sur les principes HACCP (analyse des risques et maîtrise des points critiques). Ces réglementations ont également précisé l'élaboration de bonnes pratiques d'hygiène pour les processus spécifiques afin d'aider les entreprises à se conformer aux règles.

4. Lois sur l'étiquetage

Les denrées alimentaires présentées à la vente doivent comporter un étiquetage pour bien informer le consommateur. Les obligations d'étiquetage sont différentes selon le mode de conditionnement ou de présentation des denrées alimentaires (préemballées ou non).

Les textes applicables concernent l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires (INCO) (règlement n°1169/2011 du 25 octobre 2011) et l'indication du pays d'origine pour les viandes des espèces ovine, caprine, porcine et de volaille (règlement n°1337/2013 du 13 décembre 2013). Les dispositions du règlement INCO (entré en application le 13 décembre 2014) sont directement applicables dans tous les États membres de l'UE.

Deux décrets existent sur l'information des consommateurs sur les allergènes et les denrées alimentaires non préemballées (décret n°2015-447 du 17 avril 2015) et sur l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires (décret n°2014-1489 du 11 décembre 2014).

En France, l'étiquetage doit faire figurer diverses informations qui renseignent objectivement le consommateur. Elles doivent être rédigées au moins en français. L'étiquetage ne doit pas induire le consommateur en erreur (composition du produit, origine, etc.).

La déclaration nutritionnelle se fera préférentiellement sous forme de tableau (Figure 7) (ou si la place manque en forme linéaire) et dans un même champ visuel.

Praliné double noisettes
★ Lait ★
Fourré au praliné

Informations nutritionnelles

	100 g	2 pièces (28,55 g)	% GDA/2 pièces /28,55 g)*
Énergie	2 275 kJ	650 kJ	
	545 kcal	156 kcal	8 %
Graisses	32,5 g	9,2 g	13 %
dont acides gras saturés	15,5 g	4,4 g	22 %
Glucides	54,5 g	15,5 g	6 %
dont sucres	52,0 g	15,0 g	17 %
Fibres alimentaires	2,9 g	0,8 g	-
Protéines	7,5 g	2,1 g	4 %
Sel	0,2 g	0,06 g	1 %

*Apport de référence pour un adulte type (8 400 kJ/2 000 kcal).

F Chocolat au lait fourré (39%) au praliné noisettes, amandes et noix de cajou avec éclats de noisettes (7%). Ingrédients : Sucre, lait en poudre, pâte de cacao, praliné 10% (noisettes 5,0%, sucre), beurre de cacao**, éclats de noisettes 7,0%, graisses végétales (graisse de palme totalement hydrogénée, graisses de noix de coco et de palme partiellement hydrogénées en proportions variables), amandes, lactosérum en poudre (de lait), noix de cajou, émulsifiants (lécithine de soja, lécithine de colza), cacao maigre en poudre, lait écrémé en poudre, beurre pâtisier. Peut contenir d'autres fruits à coque. ** Minimum 30% du cacao issu de fermes vérifiées Rainforest Alliance, appliquant des principes de développement durable. Conserver au sec et à l'abri de la chaleur.

Service consommateurs Lascos
N° Indigo 0820820775 - Green Plaza ; Sahir
6, rue Dewoitine 78140 Villiers-Villacoublay
Merci de conserver l'emballage pour tout contact

200 g

Fabriqué en Belgique

A consommer de préférence avant le :
29 01 2015
12 : 08 00P5541821

N° de lot :

Date de durabilité minimale (DDM) /date limite de consommation (DLC)

OBLIGATIONS ET OPTIONS
Désormais, les packagings devront porter douze mentions obligatoires (voir ci-contre) et huit mentions facultatives, dont « une consommation excessive peut avoir des effets laxatifs » ou « contient de la réglisse » pour certaines confiseries, par exemple.

Dénomination

Conditions particulières de conservation/utilisation

Mode d'emploi si nécessaire

Déclaration nutritionnelle
Liste des ingrédients
Dans l'ordre décroissant de leur importance pondérale au moment de leur mise en œuvre dans la fabrication de la denrée.

Quantité de certains ingrédients/ catégories d'ingrédients
Titre alcoolémique pour boissons > 1,2% d'alcool

Ingrédients ou auxiliaires technologiques allergènes

Nom/raison sociale et adresse de l'exploitant de secteur

Quantité nette

Pays d'origine/lieu de provenance

Figure 7. Exemple de format d'étiquette selon la loi INCO ⁵.

Le règlement INCO prévoit quelques dérogations, telles que⁶ :

- Les aliments non transformés qui comprennent un seul ingrédient ou une catégorie d'ingrédient ;
- Les infusions de plantes ou de fruits, le thé ;
- Les denrées alimentaires conditionnées dans des emballages ou des récipients dont la face la plus grande a une surface inférieure à 25 cm².

A partir du 13 décembre 2016, les professionnels auront l'obligation d'indiquer une déclaration nutritionnelle sur les produits préemballés qu'ils mettront sur le marché.

Ce dispositif permet aux consommateurs de comparer les denrées alimentaires et ainsi d'être en mesure de faire des choix plus favorables à leur santé grâce à un encadrement du contenu, de la présentation et de l'expression des informations tant obligatoires que volontaires fournies sur la composition nutritionnelle des denrées alimentaires.

Cependant, lorsque d'autres réglementations imposent un étiquetage nutritionnel (allégations nutritionnelles ou de santé, enrichissement des aliments en vitamines ou minéraux), cette réglementation (INCO) était applicable dès le 13 décembre 2014.

Le 11 décembre 2015, l'ANSES a été saisie par la DGS, la DGAL et la DGCCRF pour la réalisation d'une expertise au sujet de « l'algorithme de classification nutritionnelle des aliments proposé par la Fédération des entreprises du Commerce et de la Distribution » ou SENS.

L'avis de l'ANSES est publié le 31 janvier 2017 et porte sur l'analyse de la pertinence en matière de nutrition des systèmes d'information nutritionnelle (SIN), parmi lesquels cinq ont fait l'objet d'un examen plus particulier dans le cadre de la saisine concernée : le 5C, le SENS, le Health Star Rating, le Nutri-repère et le Nutri-couleurs (Figure 8).

Etiquetage exclusivement descriptif

Présente une sélection d'informations sur les teneurs en nutriments, sans jugement ou recommandation

Etiquetage exclusivement interprétatif

Présente uniquement un jugement ou recommandation, sans information sur les teneurs en nutriments

SYSTÈMES D'INFORMATION NUTRITIONNELLE

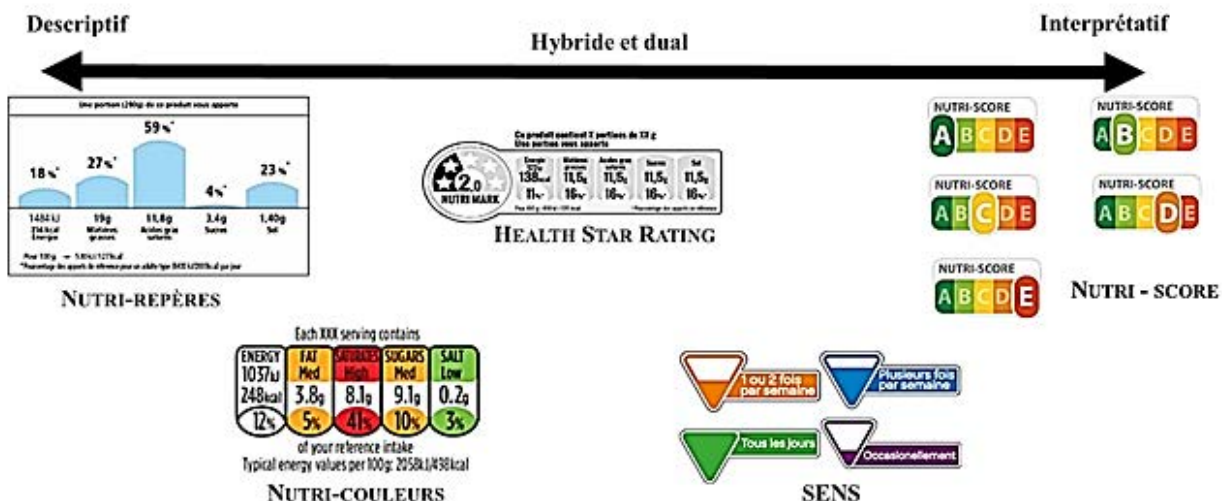


Figure 8. Typologie des formats des SIN étudiés dans le cadre de la saisine.

Le CES (comité d'experts spécialisés) estime que la démarche des SIN s'oppose à la complexité fondamentale des relations entre l'alimentation et la santé, qui s'apprécie en considérant simultanément le régime alimentaire pris dans sa globalité, les aliments consommés, les apports en nutriments et autres substances et l'exposition aux contaminants. Le CES observe que les SIN se cantonnent à l'échelle des teneurs en nutriments et ne considèrent que quelques nutriments. En

outre, la composition nutritionnelle d'un aliment n'a de sens qu'au regard de sa contribution effective à l'équilibre nutritionnel visé dans le cadre du régime alimentaire. Il s'agit là d'une incapacité structurelle de tout système d'information qui se réduit à l'échelle de l'aliment isolé sans projection dans le régime alimentaire.

L'ANSES note que la mise en œuvre des SIN s'inscrit dans un contexte réglementaire européen incomplètement déployé malgré sa forte antériorité et son caractère stratégique en matière de nutrition. Ainsi par exemple, l'enrichissement en certains nutriments sans limite maximale réglementaire peut être réalisé à l'initiative des opérateurs, sans justification requise du bien fondé en termes de santé publique. De ce fait, la valorisation de certains nutriments ou autres substances par des SIN pourrait inciter à l'enrichissement et donc augmenter les apports en vitamines et minéraux chez les consommateurs dont les apports sont déjà satisfaisants voire excessifs. L'ANSES souligne en outre que certains des systèmes examinés ne paraissent pas répondre à l'ensemble des critères posés par l'article 35 du règlement INCO rendant impossible leur déploiement, tels que les éléments fondant la compréhension par le consommateur.

5. Législation des aliments santé

La directive européenne 89/398 du 3 mai 1989, mise en œuvre par le décret français 91-827 du 29 août 1991, donne la définition d'un produit alimentaire santé/diététique. Elle a été complétée par la directive européenne 2001/15 (CE), qui énumère les substances nutritionnelles pouvant être utilisées dans les produits diététiques/de santé, mise en œuvre en France par le décret du 5 juin 2003. Jusqu'à présent, l'harmonisation de l'UE des produits diététiques est en vigueur pour l'étiquetage et la régulation des ingrédients des aliments pour bébés et tout petits (respectivement de 0 à 12 mois et de 1 à 3 ans), de produits faibles en calories pour les régimes alimentaires, de produits caloriques pour sportifs et d'aliments destinés à des fins médicales spéciales comme l'alimentation d'un diabétique.

Les compléments alimentaires sont des denrées alimentaires régies par une réglementation européenne concernant leur fabrication et leur commercialisation (Figure 9).



Figure 9. Synthèse de la réglementation applicable aux compléments alimentaires dans l'UE ⁷.

En France, c'est le décret n°2006-352 du 20 mars 2006 qui transpose la directive européenne n°2002/46/CE sur les compléments alimentaires commercialisés dans les pays de l'Union européenne.

Il existe en France un dispositif unique en Europe qui permet de déclarer les effets indésirables liés à la consommation ou l'utilisation de compléments alimentaires : le système national de déclaration dénommé « nutrivigilance » mis en place et confié à l'ANSES, par la loi Hôpital, Patients, Santé et Territoires (loi n°2009-879 du 21 juillet 2009 portant réforme de l'hôpital et relative aux patients, à la santé et aux territoires, notée loi HPST). D'après la loi HPST, « la mise en œuvre du système de vigilance » concerne « les nouveaux aliments, les compléments alimentaires, les aliments qui font l'objet d'adjonction de substances à but nutritionnel ou physiologique, ainsi que [...] les produits destinés à une alimentation particulière ».

Afin de pouvoir commercialiser un complément alimentaire, celui-ci doit obligatoirement être déclaré à la DGCCRF, conformément aux exigences des articles 15 et 16 du décret n° 2006-352. Les modalités de transmission des déclarations sont définies par l'arrêté du 14 juin 2006.

En pratique, toute déclaration doit comporter un étiquetage ainsi que des informations permettant de juger de la recevabilité de la demande. Les déclarations fondées sur l'article 16 doivent en outre comporter une preuve permettant de mettre en œuvre la reconnaissance mutuelle.

III. L'ALIMENTATION ENRICHIE ET LES GARANTIES NUTRITIONNELLES

Depuis le début du XXI^{ème} siècle, notre société a été témoin d'une augmentation continue de l'espérance de vie et fait preuve d'une plus grande attention à la qualité de nutrition. Les consommateurs sont de plus en plus préoccupés par leur santé et ils prêtent plus d'attention à leur mode de vie et à la salubrité de leur alimentation ⁸.

Les évolutions de la réglementation européenne en matière d'adjonction de vitamines et de minéraux (notamment directive 2002/46/EC et règlement 1925/2006) dans les compléments alimentaires et les aliments ont pour objectif d'encadrer le développement de ces produits et leur consommation. Il est prévu que des limites maximum de teneurs dans les produits soient proposées afin d'éviter des apports supérieurs aux limites de sécurité pour certains micronutriments.

Le rapport de l'étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires (INCA2) menée en 2006 - 2007 présente les apports nutritionnels dans la population française sur la base de l'alimentation non enrichie. L'ANSES s'est autosaisie le 5 juin 2012 pour la réalisation de l'expertise relative à l'estimation des apports en vitamines et minéraux issus de l'alimentation non enrichie, de l'alimentation enrichie et des compléments alimentaires dans la population française et à l'estimation des prévalences d'inadéquation des apports par rapport aux besoins et des risques de dépassement des limites de sécurité. Dans le cadre de cet avis publié le 13 mars 2015, l'ANSES complète les analyses concernant les apports nutritionnels en présentant l'estimation des apports nutritionnels usuels en vitamines et minéraux dans la population française prenant en compte simultanément les aliments non enrichis, les aliments enrichis et les compléments alimentaires.

Pour l'alimentation non enrichie, les données de composition nutritionnelle pour 11 variables relatives à l'énergie et aux macronutriments, 12 vitamines et 10 minéraux sont issues de la table du Centre informatique sur la qualité des aliments (CIQUAL) de 2008. La table du CIQUAL a été actualisée en 2013. Néanmoins, il a été décidé d'utiliser les données de composition correspondant à la période de recueil de l'étude INCA2 pour les calculs d'apports nutritionnels. Les évolutions de composition ayant pu intervenir depuis 2008 seront prises en compte ultérieurement avec les données de l'étude INCA3 (2014 - 2017).

A partir des indications fournies dans les carnets alimentaires, une base d'aliments dits « enrichis » contenant 494 aliments ayant une dénomination et une marque précise a été constituée. Cependant, tous les nutriments n'étaient pas renseignés et un grand nombre de valeurs manquantes subsistaient à l'issue de la constitution de cette base : elles ont donc été complétées par les valeurs présentes dans la table CIQUAL pour l'aliment générique auquel l'aliment enrichi est associé.

De la même façon que cela a été fait pour les aliments enrichis, une base de 506 compléments alimentaires consommés et déclarés lors de l'étude INCA2 a été constituée. A chacun de ces compléments a été associée une composition nutritionnelle, préalablement établie à partir des emballages des compléments alimentaires, des informations médicales obtenues dans la base VIDAL, des informations données par le fabricant (sur Internet) ou encore grâce à un recueil d'informations auprès des fabricants de ces produits. La composition des 506 compléments alimentaires a pu être établie par unité de produit pour les 34 nutriments de la table du CIQUAL précédemment cités. Par défaut, la valeur zéro a été attribuée pour les nutriments non mentionnés sur les emballages ou dans les sources consultées.

Les résultats pour la population adulte montrent que globalement, les écarts observés entre les apports liés à l'alimentation non enrichie et les apports liés à l'alimentation toutes sources (enrichie et non enrichie) sont un peu plus importants pour les vitamines que pour les minéraux. Par exemple, les apports estimés en vitamines B6, C et D par toutes les sources d'apports sont supérieurs de 10 à 17 % à ceux observés avec l'alimentation non enrichie. Les différences ne sont pas significatives pour les vitamines B1, B2, B9 et B12. Si on prend le cas de la vitamine C, l'écart entre l'apport par l'alimentation non enrichie (99 mg/jour) et celui de toutes sources d'apport (132 mg/jour) est de 40 %. L'apport nutritionnel conseillé (ANC) pour les femmes de 20 à 75 ans est de 95 mg/jour et pour les hommes de 20 à 75 ans de 110 mg/jour.

Les valeurs nutritionnelles de référence (VNR) constituent un ensemble complet de recommandations nutritionnelles pour un adulte type moyen. La VNR pour la vitamine C en France est de 80 mg/jour. Il semble donc que l'avis de l'ANSES mette en évidence qu'une grande partie des personnes qui ont participé aux études ont une alimentation suffisante pour assurer les VNR des micronutriments. Par contre, l'avis de la plupart des auteurs est que ces VNR sont sous-évalués. Les recommandations sont plutôt de 85 à 105 mg/jour, et jusqu'à 135 mg/jour pour les fumeurs⁹. Une publication révèle que l'apport journalier idéal serait de 200 mg/jour¹⁰. Les teneurs en

vitamine C fournies par l'alimentation varient. Une partie des adultes ne consomme pas suffisamment de vitamine C tandis qu'une autre consomme plus du double des BNM. La limite de sécurité pour la vitamine C est estimée à 1 000 mg/jour (Comité scientifique sur les aliments de l'UE, 1997) et donc une telle « surconsommation » ne présente pas de danger pour la population. Cette analyse a permis de montrer que le risque de dépassement des limites de sécurité est très marginal dans la population des adultes et celle des enfants. En revanche, certaines prévalences d'inadéquation d'apports (i. e. proportions d'individus dont les apports sont inférieurs à leurs besoins individuels) en vitamines et minéraux sont élevées, principalement pour les personnes âgées de 75 - 79 ans (notamment pour le calcium, le magnésium, le sélénium, le potassium et les vitamines C et B6). Dans la sous-population des consommateurs de compléments alimentaires, la prise en compte de toutes les sources d'apport conduit à une baisse modérée des prévalences d'inadéquation pour la vitamine C chez les adultes de moins de 65 ans.

En termes de perspectives, l'ANSES souligne la nécessité de poursuivre les travaux sur :

- La biodisponibilité des nutriments selon les matrices alimentaires (en effet, en raison du manque d'information sur la biodisponibilité, l'évaluation de la prévalence des inadéquations est imprécise pour certains nutriments) ;
- Les populations particulières (telles que les végétariens/végétaliens, les femmes enceintes, les fumeurs, etc.).

Ces populations sont représentées en nombre insuffisant dans les études de la population générale. Pour estimer avec précision les risques d'inadéquation d'apports ou de dépassement de limites de sécurité, il faudrait disposer de données de consommation sur ces populations particulières afin d'identifier d'éventuelles actions spécifiques à mettre en œuvre à leur égard.

Les données de l'étude INCA3 apporteront des descriptions plus précises des aliments consommés, grâce à un recueil plus complet des marques et des caractéristiques nutritionnelles des produits, ce qui permettra notamment une meilleure estimation des apports par les aliments enrichis.

D'après l'ANSES, il peut être retenu que les études INCA2 et CIQUAL ne prennent pas en compte l'effet de la transformation alimentaire (cuisson, réchauffement, passage au four à micro-ondes). Le vieillissement du produit et le temps de stockage (certains aliments fonctionnels et

compléments alimentaires ont une longue DLUO) peuvent aussi avoir un impact sur les qualités nutritionnelles du produit au moment de sa consommation.

En conclusion, il doit être souligné que des études plus détaillées sont indispensables pour évaluer la consommation réelle en micronutriments d'un aliment en fonction des procédés de transformation qu'il a subis avant sa consommation. Les effets des traitements thermiques classiques et micro-ondes sur la teneur en vitamines d'un produit modèle sont étudiés dans cette thèse.

**CHAPITRE 2 : Transformation des
aliments : effet du traitement thermique
sur la teneur en micronutriments**

I. INTRODUCTION

Dans ce chapitre, une étude bibliographique est réalisée sur les traitements thermiques des aliments. Le traitement par micro-onde est comparé aux traitements thermiques conventionnels. L'apparition de composés induits par traitements thermiques et les conséquences du traitement thermique sur la teneur en vitamines sont présentés.

Les vitamines thermosensibles sont par la suite utilisées comme marqueurs de l'impact des traitements thermiques conventionnels et micro-ondes dans des milieux alimentaires.

Dans les expérimentations, deux types de traitement thermique sont appliqués : un traitement thermique « conventionnel » qui mimera l'effet des systèmes de cuisson traditionnels (rôtissage, friture, blanchiment, étuvage, etc.) et un traitement thermique au four à micro-ondes. Plusieurs barèmes temps-température de traitement thermique sont utilisés afin de caractériser leur impact sur les pertes en vitamines. Des milieux alimentaires modèles sont choisis pour évaluer l'effet des constituants et des propriétés de l'aliment sur les pertes en marqueurs.

Le but de ce chapitre est de :

- a)** *Déterminer les vitamines les plus sensibles aux différents types de traitements thermiques dans les produits alimentaires.*
- b)** *Développer des méthodes de traitement thermique qui permettent de simuler la cuisson des produits industriels d'intérêt.*
- c)** *Quantifier les pertes en vitamines thermosensibles suivant le type de traitement thermique et le milieu.*
- d)** *Choisir une vitamine marqueur des traitements thermiques pour développer une matrice permettant de protéger de l'effet délétère du traitement thermique.*

II. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Le four à micro-ondes

Les micro-ondes (Figure 10) sont des ondes électromagnétiques caractérisées par des gammes de fréquence entre 300 MHz et 30 GHz (longueurs d'onde comprises entre 1 m et 1 cm respectivement). Elles ne sont pas ionisantes, contrairement aux rayonnements X et gamma. Les micro-ondes domestiques ont des fréquences de l'ordre de 2450 MHz. La fréquence de 915 MHz est utilisée en France dans l'industrie agro-alimentaire pour la décongélation et le tempérage (passage de la température de congélation à une température légèrement inférieure à la température de travail pour la transformation de l'aliment) ¹¹.

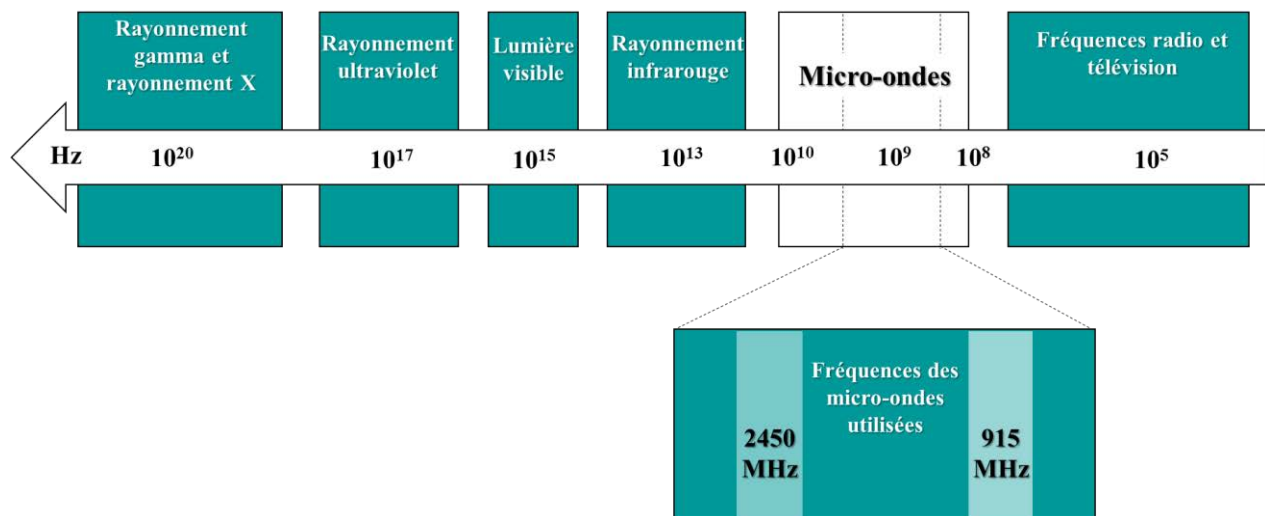


Figure 10. Gamme de fréquences des ondes électromagnétiques mettant en évidence les fréquences micro-ondes domestiques et industrielles.

Lors d'un traitement thermique classique, l'énergie thermique est transférée à la matière par convection, conduction ou rayonnement à partir des surfaces du matériau. Les propriétés thermiques des aliments entrant en jeu sont la capacité thermique massique, la conductivité thermique et la diffusivité thermique. En revanche, l'énergie des micro-ondes est délivrée directement dans le volume des matériaux suite à l'interaction des molécules du matériau avec le champ électromagnétique ¹². Dans les procédés classiques, l'énergie thermique est transférée sous

l'effet de gradients thermiques entre l'aliment et l'environnement (eau, air, parois métalliques), mais le chauffage par micro-ondes est la conséquence de la conversion d'énergie électromagnétique en énergie thermique par le biais de l'interaction directe du rayonnement incident avec les molécules du matériau cible. L'absorption par l'aliment de l'énergie électromagnétique micro-ondes dépend des constantes diélectriques des composants alimentaires et de la dissipation de chaleur par transferts couplés de chaleur et de matière. La chaleur latente de vaporisation de l'eau permet d'évacuer l'essentiel de la chaleur du produit traité thermiquement ¹³. Un aliment à haute teneur en humidité ne dépassera pas la température d'ébullition de l'eau (100 °C). La matière grasse est chauffée plus rapidement que l'eau en raison de sa capacité calorifique plus faible. Les aliments à forte teneur en matière grasse peuvent être chauffés à une température supérieure à 200 °C.

La profondeur de pénétration des micro-ondes diminue lorsque le degré d'absorption augmente. L'aliment riche en eau ou en sel atteint une température plus élevée à la surface, car il a tendance à absorber plus de micro-ondes et limite ainsi la pénétration des micro-ondes. Le chauffage est également plus intense dans les zones décongelées d'un aliment congelé, parce que l'eau liquide a une plus grande capacité d'absorption de micro-ondes que la glace. La teneur en eau de l'aliment est un facteur prépondérant pour évaluer l'aptitude de l'aliment au chauffage par micro-ondes. Lorsque les micro-ondes pénètrent dans l'aliment, des interactions dipolaires sont créées entre les molécules d'eau et les molécules polaires, qui tendent à s'aligner dans le champ électrique produit. L'agitation moléculaire et les frictions intermoléculaires résultantes entraînent la libération de chaleur (Figure 11).

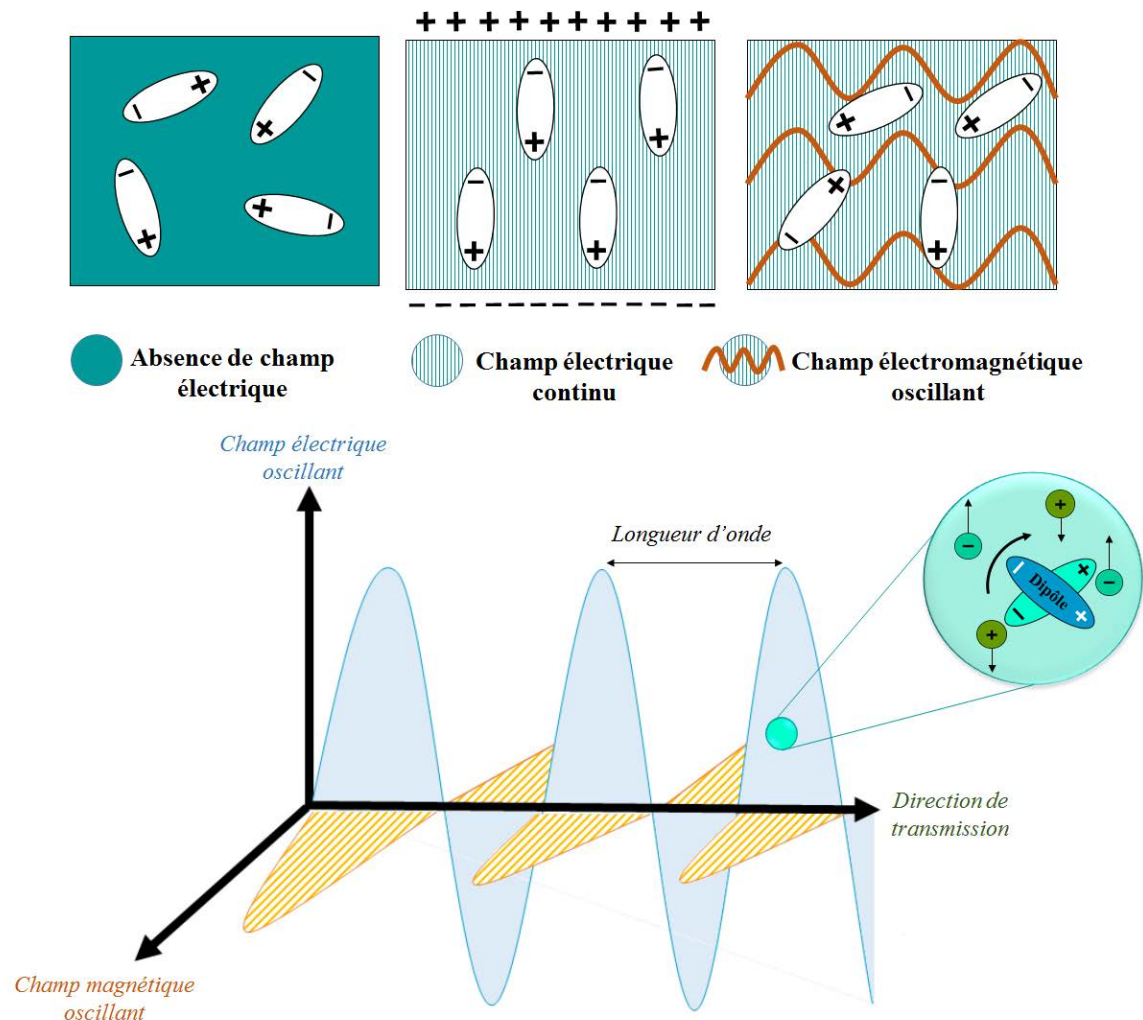


Figure 11. Représentation du champ électromagnétique alternatif généré à l'intérieur du four à micro-ondes conduisant à des rotations des molécules polaires et à la migration des ions.

Les ions présents dans le milieu jouent un rôle dans la libération d'énergie thermique au sein du produit. Ils sont mis en mouvement par les champs électriques alternatifs créés par l'interaction des micro-ondes avec les molécules polaires (constituées de dipôles) du produit et leurs collisions avec d'autres molécules entraînent la conversion de leur énergie cinétique en chaleur. De fait, des solutions présentant une force ionique élevée atteignent des températures plus élevées par chauffage micro-ondes que des solutions faiblement concentrées ¹⁴.

La puissance électromagnétique micro-ondes absorbée par un matériau est définie par l'équation suivante :

$$\text{Équation 1} \quad P_v = 2\pi\nu E^2 \varepsilon_0 \varepsilon_r$$

Avec :

P_v , puissance absorbée volumique (W.m^{-3}) ;

ν , la fréquence du rayonnement (Hz) ;

E , le champ électrique au sein du matériau (V.m^{-1}) ;

ε_0 , permittivité du vide ($\varepsilon_0 = 8,85.10^{-12} \text{ F.m}^{-1}$) ;

ε_r , permittivité relative du matériau (-).

La permittivité du matériau ε correspond au produit de la permittivité du vide ε_0 et de la permittivité relative ε_r . Ce paramètre caractérise les propriétés d'absorption et de transmission de l'énergie électromagnétique d'un matériau à une fréquence ν donnée (cf. Equation 2 où ω est la vitesse angulaire en radians par seconde) :

$$\text{Équation 2} \quad \nu = \frac{\omega}{2\pi}$$

La permittivité du matériau, dépendante de la fréquence (vitesse angulaire) du rayonnement incident, s'exprime sous forme complexe (Equation 3) :

$$\text{Équation 3} \quad \varepsilon(\omega) = \varepsilon'(\omega) + i\varepsilon''(\omega) \text{ }^{15}$$

Celle-ci est constituée d'une partie réelle ε' , qui décrit l'aptitude du matériel à stocker l'énergie lorsqu'il est soumis à un champ électrique, et d'une partie imaginaire ε'' , que l'on appelle le facteur de pertes et qui correspond à la dissipation de l'énergie électromagnétique sous forme de chaleur. Le rapport entre la partie imaginaire et la partie réelle correspond à la tangente de l'angle de pertes δ (cf. Equation 4) :

$$\text{Équation 4} \quad \tan \delta = \frac{\varepsilon''}{\varepsilon'}$$

Les produits avec un facteur de pertes supérieur à 1 s'échauffent facilement par micro-ondes comme les solvants polaires et les matériaux riches en eau (eau distillée, éthanol, feuilles de romarin et de menthe). Les matériaux dont le facteur de pertes est compris entre 0,1 et 1 peuvent être chauffés par micro-ondes mais nécessitent une mise en œuvre particulière. Le chauffage par micro-ondes est inefficace sur des matériaux dont le facteur de pertes est inférieur à 0,1 comme la silice et le Téflon qui ne se polarisent pas, la glace pure où les mouvements des dipôles ne sont pas permis, et les métaux qui réfléchissent le rayonnement micro-ondes.

Les micro-ondes domestiques présentent des distributions de champ électromagnétique plus hétérogènes et des rendements énergétiques plus faibles. Par conséquent, le chauffage par micro-ondes est non uniforme et conduit à des distributions hétérogènes de température au sein de l'aliment. L'apparition de « zones de surchauffe » est dépendante du système micro-ondes (fréquence, puissance, géométrie) et de l'aliment (volume, forme, modifications physico-chimiques délétères selon la composition en constituants sensibles). Certaines configurations de micro-ondes de laboratoire permettent de compenser ces pertes de puissance en améliorant l'homogénéité du champ électromagnétique appliqué.

La spécificité des micro-ondes en matière d'apport d'énergie thermique à l'aliment procure un certain nombre d'avantages à ce mode de cuisson. Comme les micro-ondes peuvent pénétrer dans les matériaux, l'apport d'énergie thermique peut être réalisé dans l'ensemble du volume du matériau. Il est ainsi possible d'obtenir un chauffage rapide et uniforme de matériaux épais, ce qui constitue un avantage certain par rapport aux méthodes de chauffage traditionnelles, où les durées de traitement thermiques sont souvent allongées pour permettre des vitesses de chauffage lentes, afin de minimiser les altérations biochimiques dues à des gradients thermiques importants.

Les micro-ondes peuvent être utilisées pour chauffer de manière sélective certains constituants des matériaux. La structure moléculaire affecte la capacité des micro-ondes à interagir avec les matériaux et par conséquent l'énergie transférée. Lorsque des matériaux possédant des propriétés diélectriques différentes sont chauffés simultanément par micro-ondes, le matériau avec le plus grand facteur de pertes thermiques verra sa température augmenter bien plus rapidement. Ce phénomène de chauffage sélectif des micro-ondes permet des applications plus vastes que les méthodes de cuisson conventionnelles.

Les micro-ondes peuvent également être en mesure d'initier des réactions chimiques grâce au chauffage sélectif des réactifs permettant d'atteindre localement des niveaux de température difficiles à obtenir avec les traitements thermiques classiques ¹⁶.

2. Comparaison des procédés de transformation de l'aliment

Le traitement thermique au four à micro-ondes peut être décrit comme un processus de chauffage volumétrique où l'énergie électromagnétique est directement absorbée par l'eau contenue dans la matrice et convertie en chaleur par agitation moléculaire ¹². Lors d'un traitement thermique conventionnel (cuisson à la poêle, friture, cuisson à la vapeur, etc.), la chaleur est transférée :

- soit par rayonnement directement au produit à chauffer (cuisson à la broche ou au grill tournant, etc.),
- soit par conduction si le produit est en contact direct avec le corps de chauffe,
- soit par convection du fluide entourant le produit à chauffer (air, eau, huile, etc.) vers la surface du produit à chauffer, puis de la surface du produit au cœur par conduction (aliment solide ou fluide) ou convection (aliment fluide seulement).

Dans le même temps, l'humidité est absorbée par le produit (cuisson à haute humidité) ou évaporée (cuisson à faible humidité) ¹³.

2.1. Comparaison générale des traitements conventionnels et micro-ondes

Les aliments cuits dans un four traditionnel sont chauffés par rayonnement et par l'air chaud environnant, alors que les aliments cuits dans un four à micro-ondes sont chauffés sous l'effet du champ électromagnétique alternatif (Figure 12). Le champ électromagnétique généré n'est pas distribué uniformément à l'intérieur de la zone de cuisson, ce qui mène à un chauffage inégal de l'aliment.

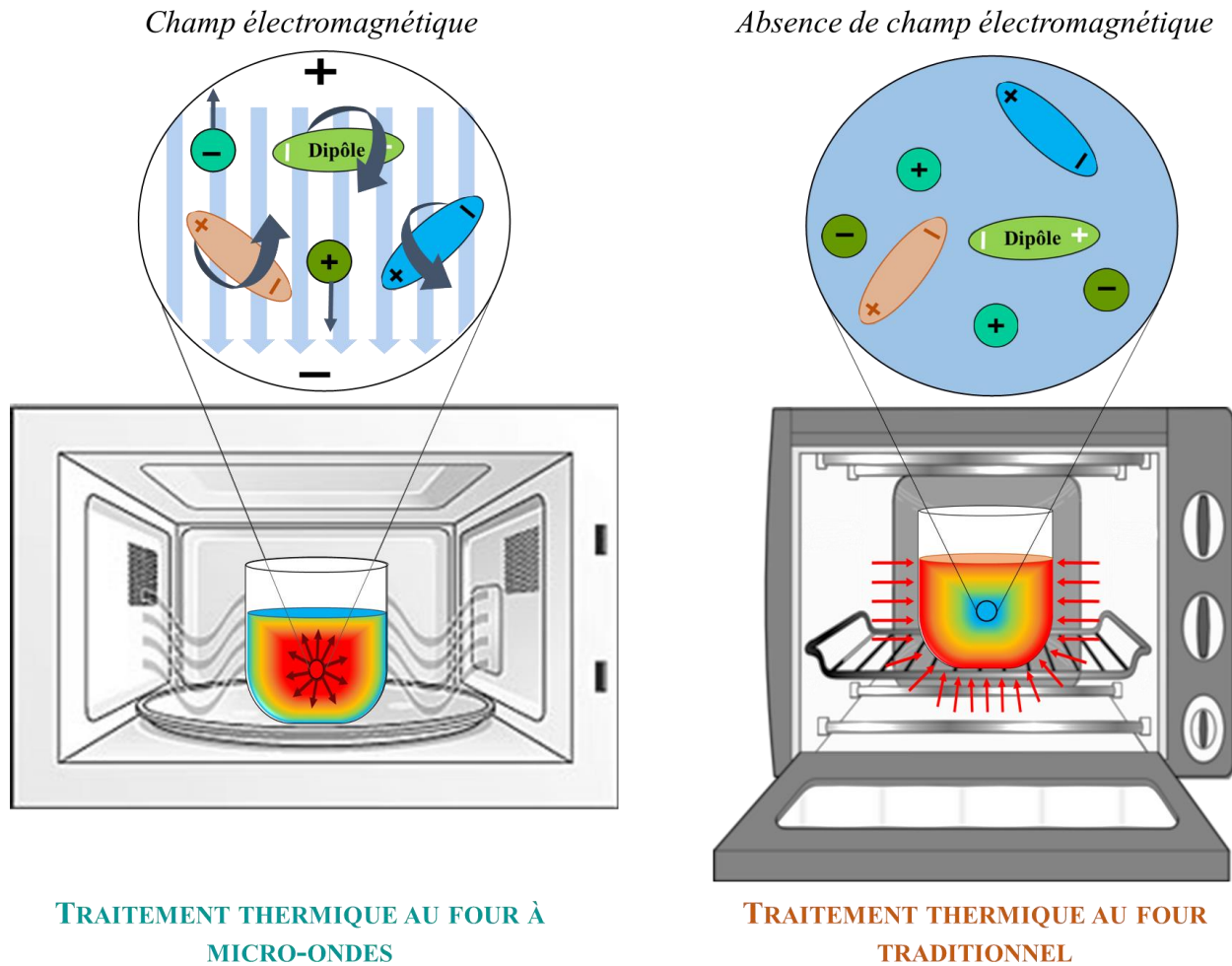
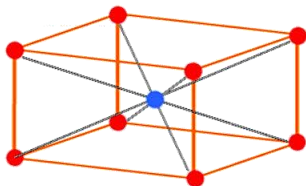


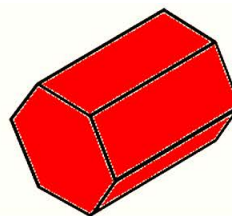
Figure 12. Schéma des transferts thermiques mis en œuvre lors des traitements thermiques au four à micro-ondes et au four traditionnel.

D'une manière générale, la durée et la température du procédé de chauffage dépendent d'un certain nombre de facteurs, tels que la composition, la taille, la quantité, la forme (Figure 13), la masse volumique et l'état physique de l'aliment.



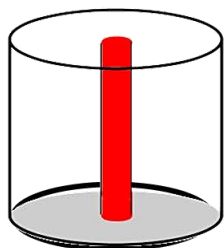
Parallélépipède rectangle :

Points chauds dans les angles.



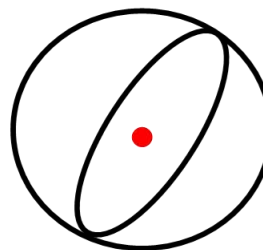
Prisme hexagonal : Points

chauds à la surface.



Cylindre : Points chauds sur

l'axe.



Sphère : Point chaud au centre

de symétrie.

Figure 13. Localisation des points chauds selon la forme des objets traités au four à micro-ondes ¹⁷.

Ce processus de chauffage anisotrope inégal peut produire dans l'aliment des points chauds ayant un impact sur l'altération thermique des vitamines. De nos jours, la conception de micro-ondes a été améliorée pour minimiser les problèmes de chauffage anisotrope. Néanmoins, le produit alimentaire peut être laissé au repos avant consommation, afin que la chaleur diffuse dans l'ensemble de l'aliment.

2.2. *Risques du traitement thermique*

2.2.1. *Risques chimiques*

Il est bien connu que le processus de cuisson, en particulier ceux à haute température (par exemple : grill, poêle, etc.), induit la production de substances potentiellement cancérigènes dont les produits de la réaction de Maillard. L'acrylamide, le furane, l'hydroxyméthylfurfural (HMF) et les amines hétérocycliques (AHC) sont parmi les composés les plus néfastes. L'acrylamide, le

furane et les HMF sont principalement produits à partir de l'amidon contenus dans les céréales et les produits à base de pomme de terre alors que les AHC sont produites à partir de la viande et du poisson ¹⁸. Au cours du séchage, du fumage, du grillage et de la cuisson à haute température, les produits de combustion peuvent entrer en contact direct avec l'aliment et produire des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par pyrolyse et combustion incomplète de la matière organique. De nombreuses études ont été menées pour comparer l'influence de la cuisson micro-ondes avec d'autres méthodes conventionnelles sur la formation de ces produits chimiques. Leurs principales conclusions sont résumées ci-dessous.

➤ Les amines hétérocycliques

Les AHC sont un groupe de composés qui sont présents dans la viande cuite à température élevée, par exemple sur un barbecue, au grill ou à la poêle. Des quantités négligeables d'AHC sont formées lorsque les viandes sont cuites à une température inférieure ou égale à 100 °C ou pendant de courtes durées. Par conséquent, les méthodes de cuisson comme les micro-ondes et l'ébullition sont susceptibles d'entraîner des quantités moindres d'AHC dans les aliments. Une étude a montré que la formation de certains types d'AHC dans la viande de poulet frit pourrait être réduite par une pré-cuisson micro-ondes ¹⁹.

➤ L'acrylamide

Lors des processus de cuisson à haute température (120 – 150 °C), notamment lors des fritures, l'acrylamide peut être généré à partir de l'amidon contenu dans l'aliment. L'acrylamide se forme à partir des sucres et des acides aminés (principalement l'asparagine) naturellement présents dans le produit alimentaire par réaction de Maillard. Une pré-cuisson aux micro-ondes minimise la formation d'acrylamide ¹⁸.

➤ Les hydrocarbures aromatiques polycycliques

Les HAP se réfèrent à un groupe important de substances organiques contenant deux ou plusieurs cycles aromatiques accolés constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène. Ils sont principalement dérivés des matières grasses dans l'aliment. Il est généralement considéré que la combustion incomplète est impliquée dans la formation des HAP. La transformation des aliments en cours de cuisson au four, au grill, au barbecue ou par fumaison génèrent des HAP et augmentent

donc le niveau d'HAP dans l'aliment cuit, en particulier lorsque l'aliment est en contact direct avec la source de chaleur : plus la source est éloignée, moins la teneur en HAP dans l'aliment est élevée ²⁰. De très faibles niveaux d'HAP ont été détectés lorsque l'aliment est cuit à la vapeur ou aux micro-ondes. Une étude a révélé que la teneur en HAP est élevée lorsque le bœuf est frit dans l'huile de maïs, alors qu'une quantité négligeable d'HAP est formée lors de la cuisson aux micro-ondes ²¹.

➤ Les nitrosamines

Les nitrites et les nitrates entrent dans la formulation de divers aliments carnés pour leur activité antimicrobienne et leurs propriétés de prévention du développement de flaveurs et d'odeurs indésirables au cours de la conservation. Les N-nitrosamines reconnues pour leur toxicité sont formées par réaction entre un agent de nitrosation (nitrates, nitrites, etc.) et les composés contenant des groupements amines (amines, amides, protéines, peptides, acides aminés). Les nitrosamines les plus couramment étudiées sont la N-nitrosodiméthylamine, la N-nitrosodiéthylamine et la N-nitrosopyrrolidine. La production de N-nitrosamines peut survenir au cours de la cuisson de certains aliments. La cuisson aux micro-ondes ou à la vapeur de produits de la mer produit moins de nitrosamines qu'un chauffage direct au gaz ²². Cela a été confirmé récemment sur la cuisson de saucisses. Le chauffage par micro-ondes réduit le taux de nitrosamines par rapport à la friture ²³. En conclusion, la cuisson aux micro-ondes produit peu d'AHC, d'HAP, d'acrylamide et de nitrosamines dans les aliments. L'utilisation du four à micro-ondes pour précuire la viande avant de la griller ou de la cuisiner au barbecue a été recommandée afin de minimiser la formation des AHC et des HAP. Ceci est probablement dû à la température de cuisson inférieure (température de la cuisson par micro-ondes généralement inférieure à 100 °C) et au temps de cuisson plus court. Actuellement, il n'existe aucune preuve scientifique que la production de substances cancérigènes augmenterait suite au chauffage par micro-ondes ²⁴.

2.2.2. Risques microbiologiques

Presque tous les aliments sont sujets aux contaminations microbiologiques. Le traitement thermique, par sa durée et la température atteinte dans l'aliment, peut être suffisant pour inactiver voire détruire les micro-organismes indésirables. Les courtes durées de cuisson et les bas niveaux de température mis en œuvre lors de la cuisson aux micro-ondes pourraient en effet se révéler

insuffisants pour détruire la flore pathogène. Quelques études se sont intéressées à comparer l'inactivation des agents pathogènes lors d'une cuisson au four à micro-ondes et par des méthodes de cuisson classiques ^{21,25,26}. Il a été démontré que l'efficacité de la cuisson aux micro-ondes pour détruire les micro-organismes et les spores est comparable à celle des procédés de traitement thermique classiques, à condition que le barème temps-température d'inactivation des microorganismes soit respecté.

Certaines études ont donné des résultats contraires, mais leurs résultats peuvent être attribués à un chauffage inégal des aliments lors de la cuisson aux micro-ondes ²⁷, entraînant le non respect du barème thermique en différentes localisations de l'aliment. Par conséquent, lors d'une cuisson aux micro-ondes, le processus de chauffage et les caractéristiques de cuisson doivent être pris en compte pour garantir que les températures atteintes soient appropriées à l'inactivation des micro-organismes indésirables ²¹.

3. Les vitamines

Les vitamines sont un groupe hétérogène de substances qui entrent dans la classification des nutriments essentiels obtenus à partir de l'alimentation. De la vitamine A à la vitamine K, les 13 vitamines sont divisées en deux catégories : liposolubles et hydrosolubles (Tableau 2). Les vitamines liposolubles sont représentées par le rétinol (vitamine A), l' α -tocophérol (vitamine E), la phylloquinone, la ménaquinone et la ménadione (vitamines K), le cholécalciférol (vitamine D). Les vitamines hydrosolubles comprennent l'acide ascorbique (vitamine C) et les vitamines du groupe B, à savoir la thiamine (vitamine B1), la riboflavine (vitamine B2), la niacine ou acide nicotinique (vitamine B3), l'acide pantothénique (Vitamine B5), la pyridoxine (vitamine B6), la biotine (vitamine B8), l'acide folique (vitamine B9) et la cobalamine (vitamine B12).

Tableau 2. Structure chimique, sources alimentaires et facteurs influençant la stabilité d'après Ball (2005).

Vitamines hydrosolubles	Formule chimique brute	Nom du composé chimique	Sources alimentaires importantes	Stabilité
Vitamine C	$C_6H_8O_6$	Acide L-ascorbique et acide déshydroascorbique	Les fruits frais (surtout les agrumes et les cassis) et les légumes verts, les pommes de terre, abats.	Sensible au pH neutre et alcalin, à l'oxygène, à la lumière et à la température.
Vitamine B1	$C_{12}H_{17}ClN_4OS$ $C_{12}H_{19}N_4O_7P_2S$	Chlorhydrate de thiamine Thiamine pyrophosphate	Levure et extrait de levure, son de blé, farine d'avoine, céréales à grains entiers et noix.	Sensible au pH neutre et alcalin, à l'oxygène, à l'addition d'agents de sulfatation, à la température et à l'humidité.
Vitamine B2	$C_{17}H_{21}N_4O_9P$ $C_{27}H_{33}N_9O_{13}P_2$	Flavine mononucleotide Flavine adénine dinucleotide	Extrait de levure, abats	En solution, l'activité de la vitamine est diminuée par exposition aux rayons UV et à la lumière visible, la vitesse de destruction augmentant avec une augmentation de la température et du pH.
Vitamine B3	C_6H_5NO $C_6H_6N_2O$	Niacine (acide nicotinique) Nicotinamide	Extrait de levure, son de blé, abats, viande maigre, poisson, céréales complètes, arachides et légumineuses.	Relativement stable.
Vitamine B5	$C_9H_{17}NO_5$ $C_9H_{19}NO_4$	Acide pantothenique Panthénol	Levure, abats, œuf, céréales complètes et noix.	Sensible au pH et à la température.
Vitamine B6	$C_8H_{11}NO_3$ $C_8H_{10}NO_6P$ $C_8H_9NO_3$ $C_8H_{10}NO_6P$ $C_8H_{12}N_2O_2$ $C_8H_{13}N_2O_5P$	Pyridoxine Phosphate de pyridoxine Pyridoxal Phosphate de pyridoxal Pyridoxamine Phosphate de pyridoxamine	Tous les aliments naturels non transformés, y compris l'extrait de levure, le son de blé et le foie.	Sensible à la lumière et à la température.
Vitamine B8	$C_{10}H_{16}N_2O_5S$	Biotine	Légumes, plantes vertes, fruits, lait et son de riz.	Les solutions aqueuses de pH 4 à 9 sont stables jusqu'à 100 °C, mais les solutions acides ou alcalines fortes sont instables au chauffage.
Vitamine B9	$C_{19}H_{19}N_7O_6$	Acide folique	Levure et extrait de levure, foie, son de blé, betterave, légumes à feuilles vertes, pois chiches et noix.	Sensible au pH neutre et alcalin, à la lumière et à la température.
Vitamine B12	$C_{72}H_{100}CoNi_{18}O_{17}P$	Cobalamine	Flore bactérienne intestinale	Sensible à l'oxygène et à la lumière.

Vitamines liposolubles	Formule chimique brute	Nom du composé chimique	Sources alimentaires importantes	Stabilité
Vitamine A	C ₂₀ H ₃₀ O	Rétinol	Produits laitiers, poisson, viande, légumes verts feuillus, légumes orange et jaunes, produits à base de tomates, fruits et quelques huiles végétales.	Sensible au pH acide, à l'oxygène, à la lumière et à la température.
	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	Acide rétinolique		
	C ₂₀ H ₃₁ O ₄ P	Rétinylphosphate		
Vitamine D	C ₂₈ H ₄₄ O	Vitamine D2 : Ergocalciférol	Huiles de foie de poissons, poissons gras, jaune d'œuf, foie, lait.	Sensible au pH alcalin, à l'oxygène, à la lumière et à la température.
	C ₂₇ H ₄₄ O	Vitamine D3 : Cholecalciférol		
Vitamine K	C ₃₁ H ₄₆ O ₂	Vitamine K1 : Phylloquinone	Légumes à feuilles vertes (chou frisé, épinards, navets, choux, bette à carde, feuilles de moutarde, persil, salades romaines) et crucifères (choux de Bruxelles, brocoli, chou-fleur et chou).	Sensible au pH acide et alcalin.
	C ₃₁ H ₄₀ O ₂	Vitamine K2 : Menaquinone		
	C ₁₁ H ₈ O ₂	Vitamine K3 : Menadione		
Vitamine E	C ₂₆₋₂₉ H ₄₆₋₅₀ O ₂	Tocophérols et tocotriénols	Noix, graines, huiles végétales et légumes à feuilles verts.	Sensibles à l'oxygène, la lumière et la température.

Présents naturellement dans l'alimentation ou ajoutées dans les formulations alimentaires, les vitamines sont des molécules sensibles à la température, l'oxygène, la lumière, l'humidité, l'activité de l'eau, au pH, aux enzymes et aux oligo-éléments métalliques, en particulier le fer et le cuivre. Le tableau 3 présente de façon synthétique les principaux paramètres influençant la stabilité des vitamines²⁸. Les apports journaliers recommandés en vitamines varient de quelques microgrammes (vitamines D et B12) à des dizaines de milligrammes (vitamines C, E et B3) (Tableau 3).

Tableau 3. Recommandations journalières en vitamines pour les adultes.

Référence bibliographique	29	30	31	32	33
Vitamine C	60 mg	80 mg	nd	60 mg	40 mg
Vitamine B1	1,1 – 1,3 mg	1,1 mg	1,1 – 1,2 mg	1,5 mg	1,1 – 1,4 mg
Vitamine B2	1,5 – 1,6 mg	1,4 mg	1,1 – 1,3 mg	1,7 mg	1,3 – 1,6 mg
Vitamine B3	11 – 14 mg	16 mg	14 – 16 mg	20 mg	14 – 18 mg
Vitamine B5	5 mg	6 mg	5 mg	10 mg	nd
Vitamine B6	1,5 – 1,8 mg	1,4 mg	1,3 mg	2 mg	2 mg
Vitamine B8	nd	50 µg	30 µg	300 µg	nd
Vitamine B9	300 – 330 µg	200 µg	400 µg	400 µg	200 µg
Vitamine B12	2,4 µg	2,5 µg	2,4 µg	6 µg	1 µg
Vitamine A	600 – 800 µg	800 µg	375 – 850 µg	5000 UI*	nd
Vitamine D	13 µg	5 µg	5 µg	400 UI	nd
Vitamine E	8 – 10 mg	12 mg	7,5 – 10 mg	30 UI	nd
Vitamine K	nd	75 mg	55 – 65 µg	80 µg	nd

* Unité internationale ; nd : non déterminé.

4. Effet des procédés de traitement thermique sur les vitamines

4.1. Vitamines hydrosolubles

L'acide ascorbique (Vit C) est la moins stable de toutes les vitamines et peut être facilement dégradée au cours du traitement thermique et du stockage. La Vit C est aussi sensible à l'oxydation, ou à la lumière. La teneur en Vit C dans des échantillons de légumes est significativement réduite par les méthodes conventionnelles de cuisson, en particulier par l'ébullition³⁴. Différentes études ont mis en évidence une diminution de la Vit C jusqu'à 75 % sous l'effet d'une cuisson par ébullition^{35,36}. Le lessivage est aussi la principale raison des pertes élevées en Vit C lors de la cuisson. Cela se produit essentiellement par transfert de matière vers le liquide de cuisson³⁷. Une

température élevée et, par conséquent, un temps de blanchiment court conduisent à une meilleure rétention des vitamines. Dans l'ensemble, le blanchiment à la vapeur préserve mieux que le blanchiment à l'eau ³⁸. Dans les choux verts, les plus fortes pertes en Vit C ont été observées lors de la cuisson sous vide (92,7 à 95,1 %), tandis que les pertes les plus faibles correspondaient aux traitements par ébullition (86,5 à 88,0 %) ³⁹.

La cuisson au four à 70 °C pendant 5 à 20 min entraîne une perte en Vit C de 26 % pour les mangues et les ananas ⁴⁰. Une perte équivalente de 30 % est obtenue pour des noix de cajou à 100 °C pendant 120 min ⁴¹. De même que les autres méthodes de cuisson, la friture réduit la teneur en Vit C en raison de son instabilité à des températures élevées. La cuisson au four, le rôtissage et la friture des pommes de terre entraînent généralement une perte moins importante que par ébullition ³⁷. Dans le cas des pommes de terre, la cuisson par ébullition entraîne des pertes importantes de Vit C, de phosphore, de potassium et d'autres micronutriments ⁴². Les pertes en Vit C observées lors du traitement thermique de trois variétés de pommes de terre ont donné les résultats suivants : ébullition dans l'eau (pertes de 77 à 88 %) > friture dans l'huile > cuisson à la poêle > cuisson sous pression dans l'eau (56 – 60 %) > rôtissage (33 – 51 %) > four à micro-ondes (21 - 33%) ⁴³.

Dans le cas d'échantillons à faible teneur en eau, les échantillons séchés par micro-ondes ont conservé une teneur en Vit C double par rapport aux échantillons séchés par convection ⁴⁴. Le séchage aux micro-ondes est plus efficace que le séchage infrarouge en termes de préservation des vitamines A, C et E ⁴⁵. A l'inverse, il a été montré que les pertes en Vit C dans les canneberges traitées par séchage à convection étaient plus faibles que lors du séchage micro-ondes ⁴⁶.

La cuisson micro-ondes provoque de légères pertes en vitamines B et en minéraux, comparativement aux autres méthodes de cuisson qui causent des pertes plus importantes dans le cas de légumes secs type pois chiches ⁴⁷. D'après les résultats de Hosseini *et al.* (2014) ⁴⁸, les plus grandes pertes en vitamine B1 (Vit B1) sont obtenues dans les échantillons cuits par ébullition. Certains modes de cuisson comme la friture diminuent aussi la stabilité de la vitamine B2 ⁴⁹.

4.2. Vitamines liposolubles

Des pertes élevées en vitamines liposolubles sont observées pour les légumes cuits à l'eau bouillante. En revanche, la cuisson aux micro-ondes et à l'autocuiseur permettent de limiter les pertes

de ces vitamines ⁵⁰. Dans le lait, les vitamines liposolubles A et D sont relativement stables aux traitements thermiques utilisés pour la transformation du lait.

Il n'y a pas de différence significative entre la teneur en vitamine A et en vitamine D du poisson cuit au micro-ondes et du poisson cru, mais la friture et l'ébullition les réduisent significativement ⁴⁸. De nombreuses méthodes de cuisson (ébullition, ragoût, vapeur, autocuiseur et micro-ondes(MO)) ont montré le relargage des vitamines A et E dans les légumes comme les brocolis ⁵⁰. Parmi les différentes formes de la vitamine E, la teneur moyenne en tocotriénols et en tocophérols ont été étudiées avant et après étuvage de riz. L' α -tocophérol est le plus sensible à l'étuvage avec des pertes de 93 %, alors que le γ -tocotriénol a subi une réduction d'environ 60 % dans les mêmes conditions ⁵¹.

La vitamine D des œufs et de la margarine est préservée lors des traitements thermiques ^{52,53}. Les pertes en vitamine D3 et en 25-hydroxy-vitamine D3 (25-OHD3) des œufs bouillis et brouillés varient entre 12 % et 18 %. Les œufs cuits au four pendant 40 min à 160 °C ont des taux de pertes de 61 % en vitamine D3 et 25-OHD3. La rétention en vitamine D est observée pour des traitements thermiques variés ^{54,55}. La fortification du pain avec de la Vit D3 ou de la Vit D2 de levure bio n'induit pas de différences significatives sur la rétention en vitamines pour la cuisson au four à 170 - 186 °C ⁵³⁻⁵⁵.

Les données bibliographiques sur les pertes en vitamines lors du traitement thermique des aliments liquides sont regroupées dans le Tableau 4.

Tableau 4. Exemples des pertes en vitamines C et A* soumises à différents traitements thermiques.

Aliments	Pertes en vitamines (%)	Conditions de cuisson	Référence
Pulpe d'acérola (cerise de la Barbade ou des Antilles)	13	Chauffage ohmique 120 min à 105 Hz	56
	17	Chauffage ohmique 120 min à 105 Hz	
	14	Traitement thermique témoin pendant 120 min	
Pulpe d'acérola	3,1 - 10,6	Chauffage ohmique à 60 Hz, de 120 à 200 V, à 85 °C pendant 3 min	57
Pulpe de rose hachée	5 - 20	Bain-marie à 70 °C (0 - 50 min)	58
	5 - 30	Bain-marie à 80 °C (0 - 50 min)	
	20 - 50	Bain-marie à 90 °C (0 - 50 min)	
	20 - 50	Bain-marie à 95 °C (0 - 50 min)	
Jus d'orange, citron vert, carotte, épinard	20 - 80	Traitement thermique en bain-marie à 120 °C	59
	5 - 50	Ultrasons à 20 kHz et 100 W	
Jus de carotte	5	Champ électrique pulsé à haute intensité 35 V.cm ⁻¹	60
	10	Pasteurisation à 90 °C pendant 30 s ou 60 s	
	35		
Purée de tomates	90	Extraction à 82 °C et pasteurisation à 98 °C, pendant 40 s	61
Gelée de fruits rouges	80	Cuisson dans une poêle à feu moyen	62
Jus de pastèque	5 - 25	Ultrasons à 35 °C	63
	50	Ultrasons à 45 °C	
Jus d'orange	21	Chauffage ohmique 30 min à 90 °C	64
Jus de carotte	16	Pasteurisation à 70 °C, 10 min	65
	33	Pasteurisation à 70 °C, 20 min	
	9*	Pasteurisation à 70 °C, 10 min	
	17*	Pasteurisation à 70 °C, 20 min	
Jus d'orange	15	Chauffage ohmique 1,13 s à 90 °C	66
	15	Chauffage ohmique 0,85 s à 120 °C	
	15	Chauffage ohmique 0,68 s à 150 °C	
	71	200 mL d'eau bouillante + 10 g de produit, four à micro-ondes à 600 W pendant 300 s	

Aliments	Pertes en vitamines (%)	Conditions de cuisson	Reference
Lait infantile formulé	2	Four à MO, $T_{\text{finale}} = 20,4\text{ °C}$, 20 s, 330 W	67
	3	Four à MO, $T_{\text{finale}} = 26,2\text{ °C}$, 10 s, 462 W	
	2	Four à MO, $T_{\text{finale}} = 28,4\text{ °C}$, 10 s, 660 W	
	3	Four à MO, $T_{\text{finale}} = 31,9\text{ °C}$, 10 s, 792 W	
	7	Four à MO, $T_{\text{finale}} = 35,4\text{ °C}$, 10 s, 990 W	
Boisson à base d'eau et de jus de fruits	15	Champ électrique pulsé à haute intensité : 200 Hz, 35 kV/cm pendant 1800 μs	68
	15	Bain-marie, 90 °C, 60 s	
Boisson à base de lait et de jus de fruits	10	Champ électrique pulsé à haute intensité : 200 Hz, 35 kV/cm pendant 1800 μs	
	30	Bain-marie, 90 °C, 60 s	
Boisson à base de lait de soja et de jus de fruits	8	Champ électrique pulsé à haute intensité : 200 Hz, 35 kV/cm pendant 1800 μs	
	20	Bain-marie, 90 °C, 60 s	
Purée de tomate	26 - 28	Pasteurisation par MO à faible puissance (330 - 770 W) et longue durée (460 - 848 s)	69
	12 - 23	Pasteurisation par MO à puissance (980 - 1700 W) et durée moyenne (230 - 340 s)	
	10 - 11	Pasteurisation par MO à puissance (1900 - 3150 W) et durée courte (150 - 180 s)	
	40	Pasteurisation conventionnelle à 96 °C, 35 s	

De l'ensemble des données bibliographiques analysées, il apparaît que les vitamines les plus sensibles aux traitements thermiques sont les vitamines hydrosolubles C, B1 et B2 et les vitamines liposolubles A et D. En concertation avec les industriels, il a été choisi de travailler sur les vitamines hydrosolubles B1, B2 et C au cours de cette thèse.

5. Cinétique de dégradation de la Vit C

Il est important de déterminer l'ordre de la réaction de dégradation de la Vit C pendant le traitement thermique. Cela permet de mieux comprendre les mécanismes de dénaturation thermique et de modéliser la cinétique de dénaturation.

La Vit C est une vitamine d'origine végétale, importante dans les aliments et qui se caractérise par une forte sensibilité à la dégradation au cours de la préparation des aliments. Les facteurs influents ne sont souvent connus que pour des solutions modèles ⁷⁰⁻⁷⁵.

La voie prédominante de dégradation de la Vit C en solution aqueuse correspond à l'oxydation de l'acide ascorbique en acide déshydroascorbique, qui s'hydrolyse en acide dicétogulonique ⁷⁶. Avec l'augmentation de l'activité de l'eau ou de la teneur en eau, la dégradation de la Vit C est favorisée ^{72,77}. Les modèles cinétiques de dégradation de la Vit C sont le plus couramment d'ordre 0 ou 1, comme cela est mis en évidence dans le tableau 4 suivant ^{73,78-84}.

L'oxydation de l'acide ascorbique et l'hydrolyse de l'acide déshydroascorbique sont accélérées en présence d'ions Fe^{3+} ou d'oxygène ⁸⁵. La stabilité de la Vit C est plus élevée à pH acide (3 - 5) qu'à pH neutre (7 - 8) ⁷³⁻⁷⁵. La concentration élevée de Vit C a un effet protecteur sur sa dégradation ⁸⁵. Avec l'augmentation de la température, la dégradation de la Vit C ne varie pas car la diminution de la solubilité de l'oxygène compense l'augmentation des vitesses de réaction ^{78,84,86}. La stabilité de la Vit C à 37 °C est plus élevée dans le cassis, le jus d'orange et le jus de pomme que dans l'eau ⁸⁷ grâce à l'effet antioxydant des polyphénols présents naturellement dans les jus de fruits.

Une synthèse de différentes études de la dégradation thermique de la Vit C dans des matrices alimentaires est réalisée dans le Tableau 5.

Il a été mis en évidence que les vitamines sont sensibles aux conditions physico-chimiques de leur environnement : traitements thermiques (conditions de cuisson, température et durée), durée de stockage et pH. Les pertes sont également dépendantes du type de matrice alimentaire.

Dans la suite de ce chapitre, les produits industriels étudiés ont conditionné le choix de la matrice alimentaire et des traitements thermiques utilisés.

Tableau 5. Caractéristiques cinétiques de la dégradation de la Vit C dans différents produits alimentaires : conditions de traitement thermique, ordre de réaction et énergie d'activation.

Aliment	Température, °C	Temps de stockage/rétention	pH	ordre de réaction	Energie d'activation (kJ/mol)	Référence
Jus d'orange haute pression	0 - 15	1 - 2 mois	3,4	0 ou 1	23,2 - 30,9	88
Jus d'orange pasteurisé	1 - 15	1 - 2 mois	3,4	0 ou 1	13,1 - 18,3	
Jus d'orange	28, 37, 45	2 mois	3,20	1	104,6 ± 16,7	89
Jus de citron			1,82		50,2 ± 4,1	
Jus de pamplemousse			2,56		76,9 ± 4,5	
Jus de tangerine			3,23		79,2 ± 3,1	
Nectar de cupuaçu	60, 70, 75, 80, 90, 99	240 min	3,2	1	74 ± 5	90
					73 ± 7	
Jus de pamplemousse	60 - 96	60 min	3,05	1	21	91
	59 - 91				22	
	60 - 96				28	
	60 - 91				36	
	67 - 96				47	
Jus de citron vert	20 à 92	nd	5,92	1	58,1	92
Jus de citron (variété Oriente)			2,94		46,5	
Jus de tangerine (variété Costa)			4,10		44,6	
Jus de pamplemousse			3,54		56,9	
Nectar d'orange	70,3 - 97,6	120 min	3,6	1	128,3	80
Jus d'orange					97,4	
Pois	-5, -10, -15 et -20	24 - 325 jours	nd	1	97,9 ± 9,6	93
Epinards		8 - 153 jours			112 ± 23,2	
Haricots verts		21 - 311 jours			101,5	
Gombo		40 - 660 jours			105,9	
Jus d'orange	65, 75, 80 et 90	30 - 60 min	3,8	1	12,5 - 12,6	64
Cresson	82,5 et 92,5	2 min	nd	1	150,4 ± 42,8	94
					136,2 ± 61,0	
Datte chinoise	50, 60, 70		nd	1	36,72	95
Goyave séchée	30 - 50	6 - 24 jours	nd	1	17 - 46	96
Orange pressé	120 - 150	jusqu'à 400 min	nd	1	117	83
Broccoli congelé	-7, -15 et -25	130 jours	nd	1	60,2 ± 7,2	97
Fraise séchée	40 - 70	jusqu'à 7 h	nd	1	82,1	98
Jus d'orange	50 - 90	16 min	nd	1	47	99
	50 - 90		nd		65	
	100 - 125		nd		40	
Jus d'agrumes	50 - 100	4 min	nd	1	36	78
Pulpe de goyave	80 - 150	5 - 240 min	nd	1	58	100

nd : non déterminé.

6. Démarche expérimentale

Dans cette partie bibliographique, il a été mis en évidence que les pertes en vitamines varient beaucoup suivant la matrice alimentaire ainsi que le type de cuisson. Il est donc essentiel de choisir une matrice alimentaire liquide à composition contrôlée adaptée au milieu de reconstitution du mix industriel. Les propriétés physico-chimiques de la matrice sont très importantes et permettent de mieux comprendre les mécanismes réactionnels mis en jeu. Par conséquent, les méthodes d'extraction doivent permettre de séparer les vitamines du milieu alimentaire choisi. La méthode de dosage peut être choisie en fonction de la teneur en vitamine extraite dans le cas d'un dosage direct, mais aussi suivant les propriétés de la vitamine dosée (pouvoir antioxydant de la vitamine C par exemple) dans le cas d'un dosage indirect.

Les traitements thermiques utilisés doivent permettre de mimer une large gamme de méthodes de cuisson en prenant en compte le type de source de chaleur et le barème temps-température.

III. MATERIEL ET METHODES

1. Mix industriel

Les produits à réhydrater (mix) proposés par l'entreprise diffèrent par leurs propriétés organoleptiques, leur composition chimique et leur méthode de préparation. Généralement, la réhydratation de 25 g de mix dans 250 mL du lait demi-écrémé se fait entre 4 et 20 °C, sous agitation pendant 2 min dans un shaker :

- Pour les mix sucrés, il n'est pas prévu de traitement thermique qui suit cette préparation ;
- Pour les mix salés, la préparation subit des traitements thermiques.

Les traitements thermiques prévus pour les mix salés sont les suivants :

- Four à micro-ondes : 1,5 à 5 min, puissance entre 750 et 800 W ;
- Four traditionnel : 15 à 20 min, entre 180 et 200 °C ;
- Cuisson à la poêle des deux côtés (sans huile ou légèrement huilée) : 4, 6 ou 12 min au total à feu moyen.

Le mix industriel dit de base (car il est la base de tous les mix commercialisés) contient plusieurs macro- et micro-nutriments, ainsi que des texturants, qui permettent d'assurer l'obtention de la texture désirée pour le produit final. Dans l'ensemble de ce travail de thèse, le « mix industriel » correspond au mix de base dépourvu de texturants et de vitamines. Certains essais spécifiques seront réalisés avec et sans texturants, avec et sans vitamines, et ceci sera rappelé dans la partie du mémoire concernée.

La composition nutritionnelle du mix en macronutriments est présentée dans le Tableau 6.

Tableau 6. Composition du mix en macronutriments.

Composition nutritionnelle	Pour 100 g de poudre	Par portion préparée : 25 g dans 250 mL de lait demi-écrémé
Valeurs énergétiques	1490 kJ / 356 kcal	861 kJ / 204 kcal
Protéines (g)	38,9	23,7
Glucides (g)	30,2	12,8
- dont sucres (g)	5,0	6,8
Lipides (g)	7,6	3,0
- dont lipides saturés (g)	1,2	3,0
Fibres alimentaires (g)	5,7	2,28

Plusieurs minéraux sont contenus dans le mix (K, Na, P, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, I, Se, Ca, et potentiellement Cr et Mo). Les protéines sont de diverses origines : soja, pois, œuf et/ou lait. Les glucides sont principalement du dextrose (avec des traces de saccharose) et de l'amidon. Les lipides sont de deux types : acides gras saturés ou insaturés (acides α -linoléique et linoléique principalement). Une portion de ce mix assure environ 30 % des besoins nutritionnels journaliers d'une personne.

Le mix de base est riche en micronutriments et notamment en vitamines lipo- et hydro-solubles. La composition en vitamines du mix est présentée dans le Tableau 7.

Tableau 7. Composition en vitamines du mix de base avant réhydratation et dans le produit réhydraté.

Vitamines	Pour 100 g de mix	Par portion préparée : 25 g de mix réhydraté
A (μg équivalent rétinol)	758,0	189,5
B1 (mg)	0,8	0,2
B2 (mg)	0,3	0,1
B3 (mg)	17,5	4,4
B5 (mg)	4,2	1,1
B6 (mg)	1,4	0,4
B8 (μg)	55,3	13,8
B9 (μg)	202,2	50,6
B12 (μg)	1,0	0,3
C (mg)	79,4	19,9
D3 (μg)	6,4	1,6
E (mg)	12,1	3,0

Les vitamines contenues dans le mix assurent environ 20 % des besoins journaliers en vitamines d'une personne (AJR).

2. Préparation des échantillons

2.1. Solutions aqueuses de vitamines hydrosolubles

Une solution mère de 10 mg.mL⁻¹ Vit C (Sigma-Aldrich, Etats-Unis) ainsi qu'une solution mère de 5 mg.mL⁻¹ Vit B1 (Sigma-Aldrich, Etats-Unis) ont été préparées séparément dans de l'eau désionisée. Les solutions de travail ont été préparées par dilution de la solution mère appropriée dans de l'eau désionisée afin d'atteindre une concentration en Vit C de 130 μ g.mL⁻¹ et en Vit B1 de 20 μ g.mL⁻¹. Les solutions de stockage et de travail ont été stockées à des températures de 2 à 8 °C dans des flacons teintés pendant une semaine (solution de stockage) ou quelques heures (solution de travail) maximum, respectivement.

Des ajustements de pH à 6,8 et 3,3 ont été réalisés en utilisant des solutions 0,1 M de NaOH et de HCl (Sigma-Aldrich).

2.2. Solutions de vitamines hydrosolubles dans le milieu salin du lait

La solution saline modèle d'ultrafiltration du lait (SMUF) a été préparée avec des sels de qualité analytique (Sigma-Aldrich) dans de l'eau désionisée sous agitation jusqu'à la solubilisation complète des sels. La composition en sels nécessaire pour la préparation de la solution est présentée dans le Tableau 8.

Tableau 8. Composition du SMUF.

Composition	Concentration dans SMUF (mmol.L⁻¹)
KH ₂ PO ₄	11,61
K ₃ C ₆ H ₈ O ₃ .H ₂ O	3,70
Na ₃ C ₆ H ₈ O ₃ .2H ₂ O	6,09
K ₂ SO ₄	1,03
K ₂ CO ₃	2,17
KCl	8,05
CaCl ₂ .2H ₂ O	8,98
MgCl ₂ .6H ₂ O	3,21

La solution de vitamines en SMUF a été préparée par dilution appropriée de la solution mère dans le SMUF à 130 µg.mL⁻¹ de Vit C et à 20 µg.mL⁻¹ de Vit B1.

Des ajustements de pH à 6,8 et 3,3 ont été réalisés en utilisant des solutions 0,1 M de NaOH et de HCl (Sigma-Aldrich).

2.3. Lait demi-écrémé

Le lait demi-écrémé (lait ½) UHT (1,6 % de matières grasses, Candia Grandlait SA, Lyon, France) a été acheté dans un supermarché local. La composition nutritionnelle du lait est présentée dans le Tableau 9.

Tableau 9. Composition et valeur énergétique du lait demi-écrémé.

Composition nutritionnelle *	pour 100 mL	pour 250 mL
Valeur énergétique	195 kJ / 46 kcal	487,5 kJ / 115 kcal
Lipides totaux (g)	1,6	4,0
- dont lipides saturés (g)	1,0	2,5
Glucides (g)	4,8	12,0
- dont sucres (g)	4,8	12,0
Protéines (g)	3,2	8,0
Minéraux (g)	0,1	0,25
Calcium (mg)	120 (15 % des AJR**)	300 (37,5 % des AJR**)

* Teneurs en vitamines non précisées

** Apports journaliers recommandés

Des solutions de travail de la Vit C ont été préparées par dilution appropriée de la solution mère dans du lait $\frac{1}{2}$ à $130 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

3. Traitement thermique

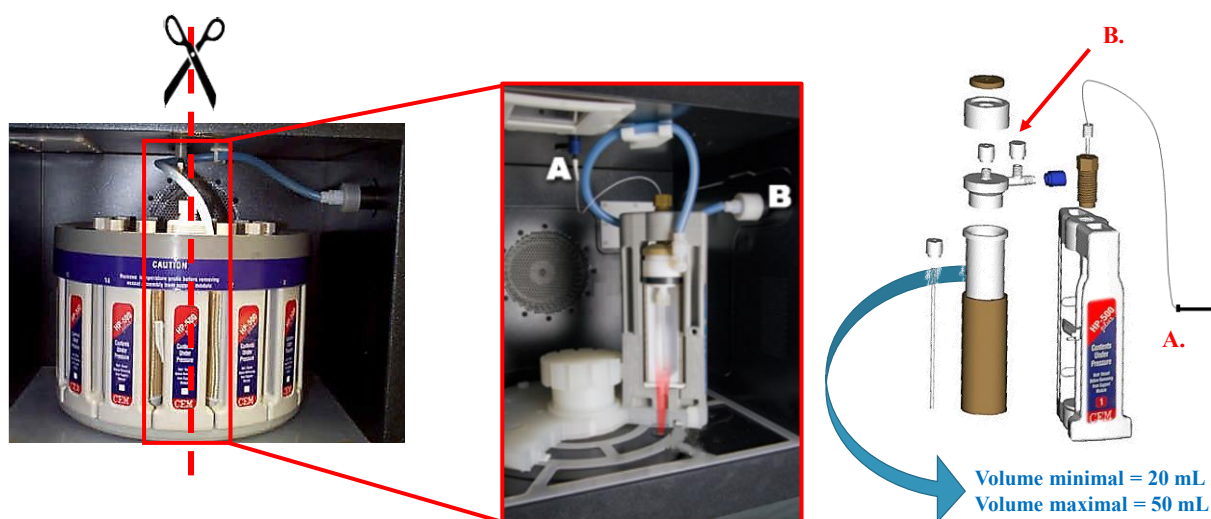
Le travail de thèse s'est concentré sur les mix industriels pour lesquels la reconstitution du produit fini nécessite une étape de traitement thermique. Les traitements thermiques (TT) appliqués sont le traitement thermique au four à micro-ondes (TTMO) et un traitement thermique conventionnel mimant les traitements thermiques traditionnels (four, poêle). Le traitement thermique conventionnel (TTC) est réalisé en plaçant l'échantillon contenu dans un tube en verre dans un bain d'huile, ce qui permet l'application d'une large gamme de températures et une montée rapide en température jusqu'à la température cible.

Deux types de barèmes de TT seront utilisés : temps-température (t ; T) et temps/puissance (t ; P). Le premier TT (t ; T) correspond à une cuisson à température maîtrisée et correspond plutôt au TT conventionnel, tandis que le second TT (t ; P) correspond à un TT effectué par rayonnement électromagnétique micro-ondes, dont on maîtrise la puissance mais pas la température de l'échantillon, qui est alors dépendante de plusieurs paramètres (teneur en eau, taille des particules, dimensions et matière du contenant, etc.). Ce deuxième type de TT caractérise le TT au four à micro-ondes.

3.1. Traitement thermique au four à micro-ondes

Le TTMO a eu lieu dans un four Mars 6 (CEM Corp., Matthews, NC, USA). A puissance maximale, il délivre 1800 W d'énergie micro-ondes à une fréquence de 2450 MHz. Le four à micro-

ondes Mars 6 permet de travailler dans des différentes conditions : en mode « domestique » avec des cycles de travail «tout ou rien», en continu (puissance constante) ou en appliquant des barèmes temps-température. Il est fourni avec un système de rotation alternée du carrousel. Le système de contrôle standard de la pression (Figure 15) est l'ESP-1500 plus (Electronique Sensor Pressure). Il permet de suivre et de réguler les conditions de pression à l'intérieur du réacteur contenant l'échantillon. Des réacteurs fermés HP500 (CEM Corp.) de 100 mL en perfluoroalkoxyalcane ($T_{\max} = 210\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P_{\max} = 24\text{ bar}$) ont été utilisés (Figure 14). Pour le traitement thermique, 50 mL d'échantillon ont été versés dans chaque réacteur du four à micro-ondes, qui ont ensuite été fermés et placés sur le carrousel.



- A. Détection de température par fibre optique directement dans le réacteur de référence
- B. Détecteur de pression dans le réacteur de référence

Figure 14. Disposition des réacteurs et des sondes dans la cavité du four à micro-ondes Mars 6.

Le système de contrôle de température du four MARS 6 est le MTS-300 qui contrôle les conditions de température à l'intérieur des réacteurs. Une sonde de température transparente aux micro-ondes est insérée dans le puits d'introduction plongeant dans un réacteur contenant l'échantillon et branchée au connecteur rapide placé au centre du plafond de la cavité de l'appareil. Le signal électrique proportionnel à la température est expédié vers le système de contrôle de température de l'instrument. Le signal en retour de la sonde MTS-300 vers le magnétron régule la puissance électromagnétique pour maintenir la consigne de température ou de puissance.

3.1.1. *Traitements thermiques micro-ondes qui miment le traitement thermique conventionnel (TTMO-C)*

Le TTMO-C a été réalisé dans des conditions isothermes : dans ce but, la puissance électromagnétique micro-ondes a été régulée par le four Mars 6 pour atteindre une température cible le plus rapidement possible et la maintenir dans l'échantillon afin de mimer un TTC. Le temps de chauffage nécessaire pour atteindre les différentes températures cibles a été déterminé au préalable pour tous les essais en mode temps-température (t ; T). Pour toutes les températures appliquées, la première étape de réglage du four, correspondant à la montée en température, était identique (a.) et la deuxième étape (b.) de stabilisation et de maintien de la température cible dépendait de la température de traitement thermique choisie.

a. 35 s de montée en température avec 150 °C comme température de consigne (la température à la fin de cette première étape ne dépasse pas les 40 °C).

b. 25 s de montée en température avec l'objectif d'atteindre la température de travail voulue (40, 60, 80, 100 °C) puis maintien à la température de travail pendant le temps voulu (2, 5, 10, 20 min).

Les expériences ont été réalisées en triplicata. Les températures moyennes T_M sont calculées pour avoir un aperçu des différences avec la température de consigne.

3.1.2. *Traitements thermiques micro-ondes qui miment les traitements thermiques au four à micro-ondes domestique (TTMO)*

Afin de mimer le fonctionnement d'un four à micro-ondes domestique (puissance entre 750 et 800 W, application intermittente de la puissance maximale), un cycle de travail tout ou rien (ou on/off) qui dure 16 s pour un traitement complet de 2 min a été appliqué. A la différence des cycles TTMO-C qui miment le TTC, ces cycles sont en mode temps-puissance (t ; P). Les paramètres du cycle de travail pour une puissance de 800 W sont les suivants (Figure 15) :

- Tout (ON) = 13 s par cycle, soit 81,25 % du temps,
- Rien (OFF) = 3 s par cycle, soit 18,75 % du temps,
- Puissance moyenne de 640 W.

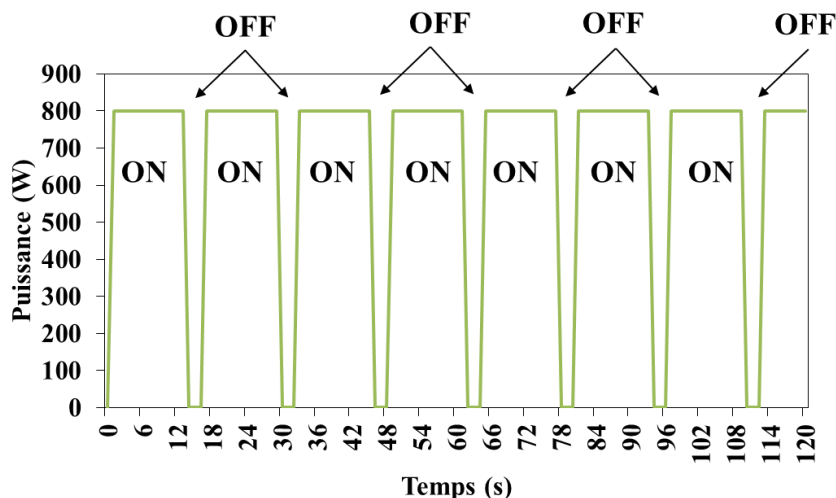


Figure 15. Cycle de travail appliqué pour les traitements temps-puissance (t ; P).

3.2. *Traitement thermique en bain d'huile*

Un bain d'huile muni d'un module de contrôle de température (Haake DC30-K20 Digital Control Bath, Thermo Scientific, Karlsruhe, Allemagne) a été employé pour simuler les TTC.

3.2.1. *Traitement thermique conventionnel (TTC)*

Pour simuler un traitement thermique conventionnel, 2 mL de chaque échantillon ont été placés dans des tubes à essai en verre (140 mm de hauteur, 8 mm de diamètre) équipés de bouchons pour éviter l'évaporation et la concentration des échantillons lors du traitement thermique (Figure 16). Les tubes ont été immergés dans de l'huile préchauffée à la température de maintien souhaitée (40, 60, 80 et 100 °C) pendant 2 à 20 min. Le faible volume d'échantillon et le petit diamètre du tube permettent d'atteindre rapidement la température de 40, 60, 80 et 100 °C.

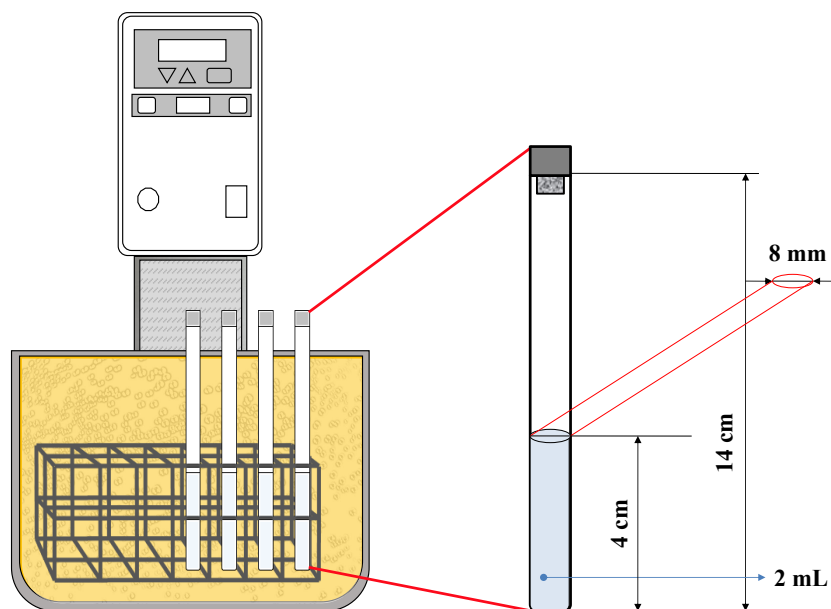


Figure 16. Représentation schématique de la mise en œuvre expérimentale du traitement thermique en bain d'huile.

Plusieurs barèmes temps-température sont appliqués avec des températures cibles de 40, 60, 80 et 100 °C et des temps de traitement de 2, 5, 10 et 20 min. Ces traitements thermiques en bain d'huile correspondent à une large gamme de traitements thermiques domestiques et ont été choisis en accord avec l'industriel. Les traitements thermiques ont été réalisés en triplicata.

3.2.2. Traitements thermiques conventionnels qui miment les fours à micro-ondes domestiques TTC-MO

Pour comparer les TT (TTC et TTMO en mode (t ; P)), un TTC à 100 °C qui mime le TTMO en mode (t ; P) (noté TTC-MO) est élaboré en utilisant un flacon contenant 10 mL de solution, scellé à l'aide d'un Parafilm pour éviter l'évaporation. Cela permet une évolution de la température similaire à celle mise en œuvre lors d'un TTMO de 2 min en mode (t ; P).

4. Intégration des pics de puissance

Pour déterminer la puissance moyenne (ou l'énergie électromagnétique totale, qui correspond à la puissance intégrée au cours du temps) et l'effet de la composition de la matrice traitée thermiquement (influence de la teneur en sels, de la masse volumique, etc.), une intégration des pics de puissance envoyés par le four à micro-ondes est effectuée pour le TTMO (t ; P). Ceci a

permis de comparer l'énergie nécessaire pour chauffer et maintenir l'échantillon à la température cible et d'évaluer si le transfert thermique est similaire dans les différentes matrices.

Les aires des pics de puissance lors des traitements thermiques sont calculées utilisant la méthode des trapèzes (Figure 17).

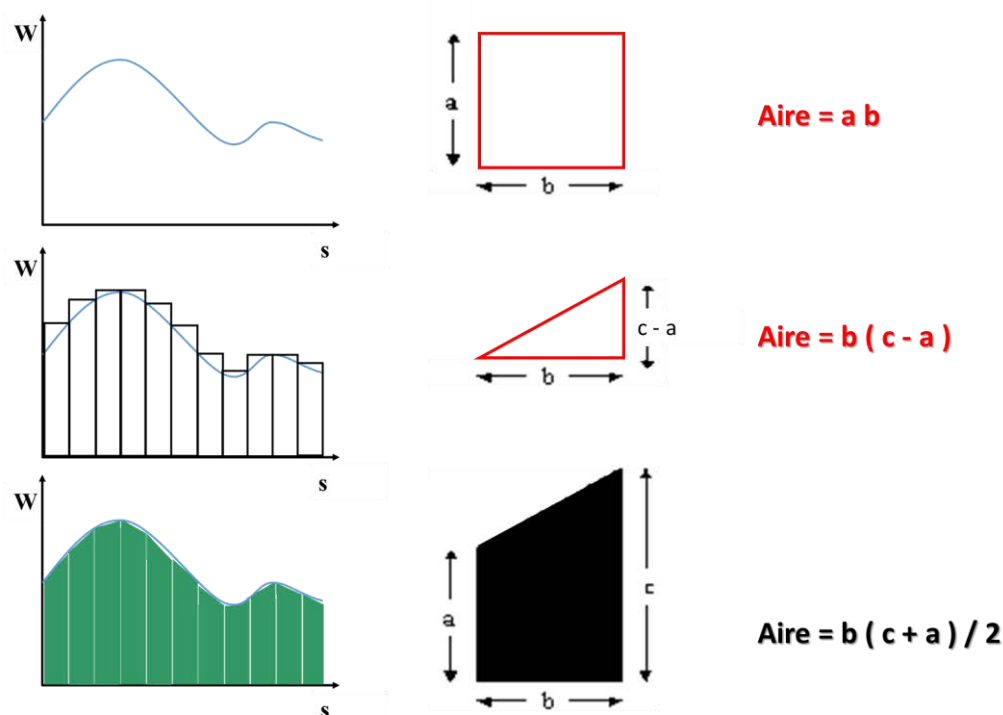


Figure 17. Exemples de méthodes de détermination de l'aire d'une courbe en l'approximant par une fonction linéaire par parties.

Pour les traitements thermiques effectués, il est attendu que l'intégration de la puissance par la méthode des trapèzes permette d'obtenir des résultats plutôt précis, étant donné que les mesures de puissance par le four à micro-ondes Mars 6 sont effectuées avec une résolution temporelle de 5 s. L'erreur réalisée avec cette méthode est donc vraisemblablement assez faible.

Comme le TTMO est constitué de deux phases, une montée en température puis un maintien à la température cible, il est raisonnable de supposer que l'énergie électromagnétique micro-ondes suive une loi du type (Equation 5 et 6) :

$$\text{Équation 5} \quad E(t) = E_0 \frac{t}{t_0} \quad \text{pour } 0 \leq t \leq t_0$$

$$\text{Équation 6} \quad E(t) = E_0 + P(t - t_0) \quad \text{pour } t_0 \leq t \leq t_{\text{TTMO}}$$

Avec :

$E(t)$: énergie micro-ondes nécessaire pour chauffer l'échantillon jusqu'à la température cible et l'y maintenir jusqu'à l'instant t (J) ;

E_0 : énergie micro-ondes nécessaire pour chauffer l'échantillon jusqu'à la température cible (J) ;

t_0 : temps nécessaire pour atteindre la température cible (s) ;

t_{TTMO} : temps total de TTMO (s).

En effet, la montée en température étant quasi-linéaire, la puissance micro-ondes est considérée constante durant la phase de chauffage jusqu'à la température cible (cette hypothèse revient à négliger la probable faible évolution de la capacité calorifique de l'échantillon lors de l'augmentation de la température). La puissance moyenne fournie lors de cette phase de chauffage vaut E_0/t_0 avec les notations de l'équation 5. Ensuite, une fois atteinte la température cible, la puissance micro-ondes est produite par l'appareil pour maintenir l'échantillon en température ; cette puissance notée P compense le refroidissement de l'échantillon provoqué par l'air (non chauffé par les micro-ondes) se trouvant dans l'enceinte du four micro-ondes. L'énergie micro-ondes à la fin du TTMO, $E(t_{\text{TTMO}})$, correspond à l'énergie totale utilisée à la fois pour chauffer l'échantillon et le maintenir à la température cible pendant toute la durée du TTMO (t_{TTMO}).

5. Dosage des vitamines par chromatographie liquide haute performance

Après l'étude bibliographique des méthodes analytiques existantes pour le dosage des vitamines, le choix s'est porté sur la chromatographie liquide haute performance (CLHP) en phase inverse. Contrairement à d'autres méthodes non spécifiques comme les méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant, la CLHP permet non seulement la quantification, mais aussi l'identification simultanée de plusieurs vitamines hydro- et lipo-solubles.

Parmi les protocoles trouvés dans la littérature, l'intérêt s'est particulièrement porté sur ceux adaptés aux produits pharmaceutiques (en raison du grand nombre de vitamines dosées simultanément) et alimentaires. Le protocole retenu dans cette étude est celui de Kucukkolbasi et *al.* (2013)¹⁰¹ qui est à la fois simple à réaliser et à mettre en place dans l'entreprise en tenant compte

des contraintes industrielles (faible coût, rapidité et possibilité d'automatisation des analyses). Cette méthode a permis de doser simultanément 5 vitamines du mix industriel (B1, B2, B9, C et A).

Les échantillons de vitamines ont été analysés en triplicat.

5.1. Appareillage

Les analyses CLHP ont été effectuées avec un système de chromatographie en phase liquide LC-20 AD (Shimadzu, Kyoto, Japon) fourni avec un dégazeur DGU-20A, un passeur d'échantillons SIL-20AC HT, un four à colonne STO-20AC, un détecteur à photodiode SPD-M20A, un détecteur de fluorescence RF-10A XL et un module de communication CBM-20A. Le logiciel LabSolution (Shimadzu) a été utilisé pour le traitement des chromatogrammes.

5.2. Méthode d'extraction

On ajoute 0,9 mL de $H_2(SO)_4$ à 0,05 M à 0,1 mL d'échantillon de lait $\frac{1}{2}$ enrichi en vitamines (C et B1). Ce mélange a ensuite été agité par vortex pendant 1 min et son volume a été ajusté à 2 mL avec du méthanol (Sigma-Aldrich). Après centrifugation à 1073 x g pendant 5 min (Eppendorf AG, 22331 Hambourg, Allemagne), le surnageant est recueilli, filtré (filtres PTFE de 0,22 μm) et analysé par CLHP.

5.3. Conditions analytiques de dosage

La séparation des vitamines a été réalisée en utilisant une colonne Zorbax HC-C18 (150 mm x 4,6 mm, billes de silice de 5 μm de diamètre, Agilent, Santa Clara, États-Unis) avec sa colonne de garde associée (12,5 mm x 4,6 mm, billes de silice de 5 μm de diamètre).

5.3.1. Dosage multi-vitamines hydrosolubles

Un gradient d'élution et une phase d'équilibration (cette dernière correspondant à un retour aux conditions initiales) (Figure 18) ont été effectués à 30 °C et à un débit de 0,7 mL.min⁻¹ avec le passage d'une phase mobile apolaire majoritairement composée de méthanol à une phase mobile polaire majoritairement composée d'acide trifluoroacétique à 0,1 % dans de l'eau désionisée. La durée totale d'analyse était de 40 min. Avant utilisation, les phases mobiles étaient filtrées à 0,2 μm (Millipore) sous vide et dégazées selon un protocole adapté de Kucukkolbasi et *al.* (2013) ¹⁰¹.

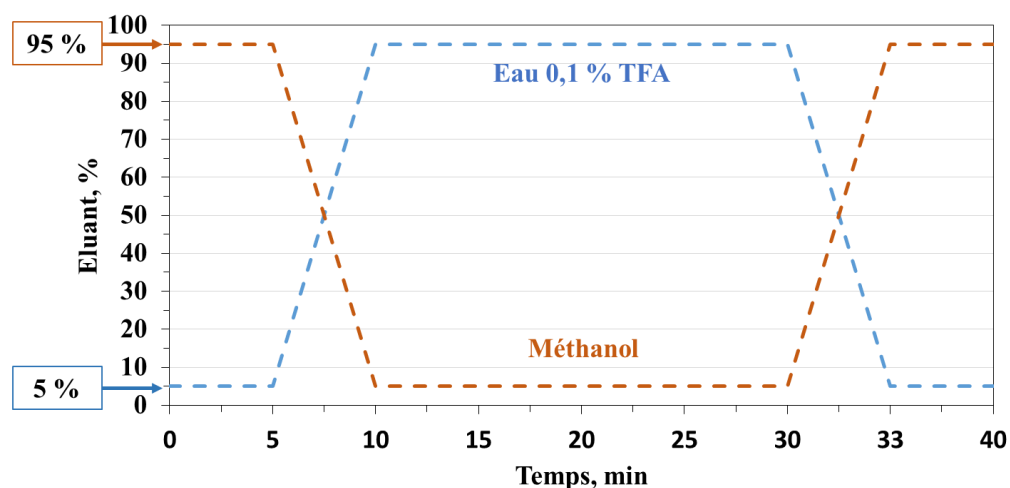


Figure 18. Gradient d'élution de la méthode de dosage par CLHP.

Pour chaque vitamine dosée, une longueur d'onde optimale a été déterminée en comparant l'absorbance des différents composés d'intérêt à différentes longueurs d'onde. Pour ce protocole, l'absorbance de la Vit B1 a été mesurée pour des longueurs d'onde entre 220 et 270 nm afin de vérifier et choisir la longueur d'onde optimale (Figure 19).

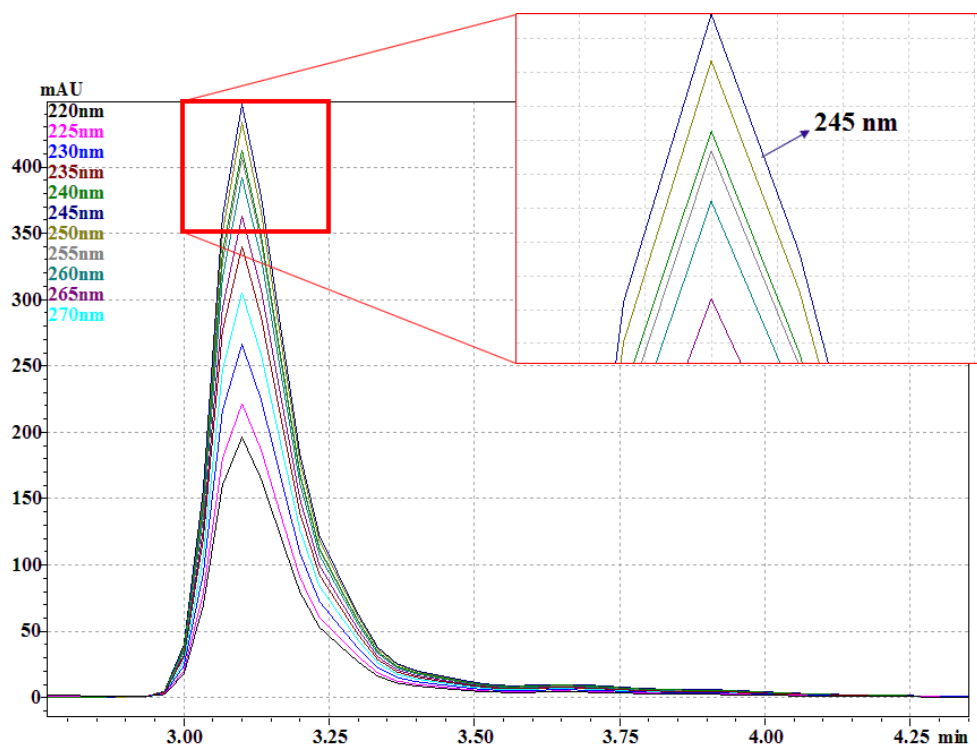


Figure 19. Détermination de longueur d'onde optimale pour la détection UV/vis de la Vit B1.

Les spectres ultraviolet/visible (UV/vis) des vitamines pures ont été déterminés grâce à une barrette de diode permettant la détection des pics chromatographiques dans la gamme de longueur d'onde de 200 à 800 nm. Ils ont été enregistrés dans la base de données du logiciel de chromatographie afin de pouvoir identifier les pics de vitamines dans des échantillons de composition inconnue ou complexe (tel que le mix réhydraté dans du lait ½ ou de l'eau). Le logiciel chromatographique permet d'estimer la similarité des spectres UV/vis d'un pic inconnu et d'une référence se trouvant dans la base de données, afin de confirmer que les pics identifiés sur les chromatogrammes sont bien ceux des vitamines attendues à ces temps de rétention. Cette méthode permet de s'affranchir des problèmes inhérents aux co-élutions susceptibles de se produire avec des échantillons complexes.

Afin de faciliter les dosages des vitamines seules ou en mélange et de diminuer le temps d'analyse, des protocoles simplifiés (basés sur le protocole principal) ont été également mis au point.

5.3.2. Protocole adapté au dosage des vitamines C et B1

Une élution isocratique a été effectuée à 30 °C et à un débit de 0,7 mL.min⁻¹, la phase mobile consistant en un mélange 5 : 95 (v / v) de méthanol et 0,1 % d'acide trifluoroacétique dans de l'eau désionisée. La détection des pics de Vit C et B1 a été obtenue par UV/vis à la longueur d'onde optimale de 245 nm. La durée totale d'analyse était de 10 min. Pour chaque échantillon, trois répétitions analytiques ont été effectuées et la quantification a été réalisée par étalonnage externe avec des étalons des vitamines seules et en mélange (préparés dans de l'eau désionisée). Les résultats ont été exprimés en termes de rétention de vitamine après traitement thermique en divisant la concentration de vitamine après traitement thermique par la concentration initiale de l'échantillon (130 µg.mL⁻¹). Les droites d'étalonnage ont été modélisées avec les équations suivantes : $C = 43,781A$ ($R^2 = 0,9928$) pour la Vit C et $C = 35,709A$ ($R^2 = 0,9720$) pour la Vit B1, où C désigne la concentration en vitamines exprimée en µg/mL et A l'absorbance de la solution analysée à la longueur d'onde de 245 nm.

5.3.3. Protocole adapté au dosage de la vitamine B2

L'élution isocratique a été effectuée à 30 °C et à un débit de 0,7 mL.min⁻¹, la phase mobile consistant en un mélange 50 : 50 (v / v) de méthanol et 0,1 % d'acide trifluoroacétique dans de l'eau désionisée. La détection du pic de la vitamine B2 a été effectuée par fluorescence à une longueur d'onde d'excitation de 450 nm et une longueur d'onde d'émission de 500 nm. Le temps d'analyse total était de 5 min. Pour chaque échantillon, trois répétitions analytiques ont été effectuées et la quantification a été déterminée par un étalonnage externe avec des standards de vitamine B2.

6. Cinétique de dégradation de la Vit C

L'ordre de la réaction de dégradation de la vitamine C a été déterminé en ajustant les données expérimentales à des modèles cinétiques d'ordre 0, 1 et 2, les plus fréquemment rencontrés dans la littérature ^{83,102-104}. Ci-dessous, l'équation 7 correspond à l'équation différentielle des cinétiques d'ordre n, qui peut être intégrée pour aboutir à l'expression de C(t), qui diffère selon l'ordre de réaction, n ≠ 1 (équation 8) ou n = 1 (équation 9) :

$$\text{Équation 7} \quad -\frac{dC}{dt} = kC^n$$

$$\text{Équation 8} \quad \text{pour } n \neq 1 \quad \frac{\left(\frac{C(t)}{C_0}\right)^{1-n} - 1}{(n-1)(C_0)^{n-1}} = kt$$

$$\text{Équation 9} \quad \text{pour } n = 1 \quad -\ln\left(\frac{C(t)}{C_0}\right) = kt$$

Différentes cinétiques de réaction, d'ordre 0, 1 et 2 (Equations 10 - 12), ont été testées afin d'obtenir le meilleur ajustement aux données expérimentales. La demi-vie de la réaction de dégradation thermique de la Vit C, t_{1/2}, a également été déterminée (Equations 13 - 15).

$$\text{Équation 10} \quad C = C_0 - kt \quad (\text{ordre 0})$$

$$\text{Équation 11} \quad C = C_0 \exp(-kt) \quad (\text{ordre 1})$$

$$\text{Équation 12} \quad C = \frac{C_0}{1 + kC_0t} \quad (\text{ordre 2})$$

$$\text{Équation 13} \quad t_{1/2} = \frac{C_0}{2k} \quad (\text{ordre 0})$$

Équation 14 $t_{1/2} = \ln \frac{2}{k}$ (ordre 1)

Équation 15 $t_{1/2} = \frac{1}{kC_0}$ (ordre 2)

où :

C : concentration en vitamine au temps t (mol.L⁻¹) ;

C₀ : concentration en vitamine initiale (mol.L⁻¹) ;

k : constante de vitesse pour la réaction d'ordre 0 (mol.L⁻¹.s⁻¹), 1 (s⁻¹) ou 2 (mol⁻¹.L.s⁻¹) ;

t : temps de traitement thermique (s) ;

t_{1/2} : temps de demi-vie de la Vit C (s).

Les valeurs de vitesse de réaction k ont été calculées à partir d'expériences réalisées à différentes températures, ce qui a permis de déterminer la dépendance de la vitesse de réaction à la température par régression linéaire des données expérimentales sur la base de l'équation d'Arrhenius, présentée ci-dessous sous forme linéarisée (Equation 16).

Équation 16 $\ln(k) = \ln(k^\circ) - \frac{E_a}{RT}$

où :

k[°] : facteur pré-exponentiel d'Arrhenius (mol⁻¹.L.s⁻¹) ;

E_a : énergie d'activation (J.mol⁻¹) ;

R : constante des gaz parfaits (≈ 8.314 J.mol⁻¹.K⁻¹) ;

T : température cible du traitement thermique (K).

La précision de la modélisation a été systématiquement évaluée en calculant le coefficient de détermination R². Les écarts-types de ln (k[°]) et E_a ont été déduits des écarts-types de la pente et de l'ordonnée à l'origine de l'équation d'Arrhenius linéarisée en utilisant les principes de propagation des incertitudes.

7. Dosage du pouvoir antioxydant de la Vit C

Les dosages du pouvoir antioxydant sont effectués sur un spectrophotomètre UV-1280 Shimadzu (Shimadzu Corporation, Australie).

7.1. Méthode ABTS

Le cation radical de l'ABTS (acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) est à la base de l'une des méthodes spectrophotométriques de mesure de l'activité antioxydante totale de solutions de substances pures, de mélanges et de boissons.

La méthode ABTS utilisée est basée sur les travaux de Re et al. (1999)¹⁰⁵. Le radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ est généré par réaction de l'ABTS avec du persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), la solution est préparée en solubilisant dans l'eau distillée 7 mmol.L⁻¹ d'ABTS et 2,5 mmol.L⁻¹ de persulfate de potassium. Cette solution est incubée à température ambiante dans l'obscurité pendant 16 h. La solution de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ est ensuite diluée afin d'obtenir une absorbance de $0,70 \pm 0,02$ à 734 nm. Ensuite, 10 μL d'échantillon sont ajoutés à 1 mL de solution d' $\text{ABTS}^{\bullet+}$. Les mesures spectrophotométriques sont effectuées à 734 nm dans une cuve de 1 cm de trajet optique. Lorsque l'échantillon a une capacité antioxydante, il provoque une réduction d' $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ce qui provoque la décoloration de la solution (diminution de l'absorbance). L'intensité de l'inhibition dépend de l'activité antioxydante. La capture des radicaux libres est exprimée en pourcentage d'inhibition du cation radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ selon la formule suivante (Equation 17) :

$$\text{Equation 17} \quad \% \text{ inhibition} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{test}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

où :

$A_{\text{contrôle}}$: absorbance à 734 nm de la solution ABTS.

A_{test} : absorbance à 734 nm de la solution ABTS après réaction avec la solution d'échantillon.

7.2. Méthode FRAP

A pH acide, lorsque le complexe ferrique tripyridyl-s-triazine (Fe^{III} -TPTZ) est réduit en complexe ferreux (Fe^{II} -TPTZ), une couleur bleue intense avec un maximum d'absorption à 593 nm se développe. La réaction est non spécifique, et toute demi-réaction qui a un potentiel redox moins élevé dans les conditions de réaction que la demi-réaction Fe^{III} -TPTZ / Fe^{II} -TPTZ conduit à la

réduction du complexe ferrique Fe^{III} -TPTZ. Les conditions d'essai favorisent la réduction du complexe et, par conséquent, le développement de la couleur, à condition qu'un réducteur (antioxydant) soit présent. La Ferrozine C, un composé étroitement lié à TPTZ, a été largement utilisé, en excès d'acide ascorbique, pour doser le fer. Dans le test FRAP, on utilise un excès de Fe^{III} -TPTZ et la vitesse de formation de Fe^{II} -TPTZ (et donc de la couleur) est donc reliée à la capacité réductrice de l'échantillon.

Le protocole pour la préparation de la solution FRAP est identique à celui décrit par Benzie et Strain (1996) ¹⁰⁶.

7.2.1. Préparation des réactifs

Les réactifs (Sigma-Aldrich) utilisés pour cette méthode étaient les suivants : 300 mmol.L⁻¹ de tampon acétate (pH 3,6), 10 mmol.L⁻¹ de TPTZ, 20 mmol.L⁻¹ de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

7.2.2. Dosage FRAP

Les mesures spectrophotométriques sont effectuées dans une cuve de 1 cm de trajet optique à une longueur d'onde de 593 nm. Le réactif FRAP fraîchement préparé a été chauffé à 37 °C pour pouvoir réaliser une mesure de blanc. Ensuite, 10 mL d'échantillon sont ajoutés. La différence d'absorbance entre l'échantillon sélectionné et le blanc (solution FRAP seule) a été calculée pour chaque échantillon. Afin de pouvoir exprimer la teneur en antioxydants en concentration équivalente en Vit C (du point de vue du pouvoir antioxydant), une courbe d'étalonnage a été réalisée avec des standards de Vit C.

Les droites d'étalonnage ont été modélisées avec les équations suivantes : $C = 0,2102A$ ($R^2 = 0,9970$) pour ABTS et ($C = 0,0066A$ avec $R^2 = 0,9796$) pour FRAP.

8. Analyse statistique

L'analyse statistique a été effectuée à l'aide de Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, Etats-Unis). Des différences significatives ($p < 0,05$) entre les moyennes ont été évaluées par une ANOVA unidirectionnelle et un test de comparaison multiple de Tukey ¹⁰⁷.

IV. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Afin de quantifier les pertes en vitamines pendant les traitements thermiques dans des milieux modèles, des barèmes de temps-température similaires ont été appliqués aux échantillons par TTC et TTMO (Figure 20). Ces deux types de traitements thermiques ont permis de comparer l'effet de la source de chaleur sur l'altération des vitamines. Les conditions de traitement thermique ont été choisies pour englober les intervalles de temps et de température rencontrés dans la préparation des produits industriels réhydratés : 2, 5, 10 et 20 min à 40, 60, 80 et 100 °C. Les expériences de traitement thermique ont été réalisées dans de l'eau, du SMUF et du lait ½.

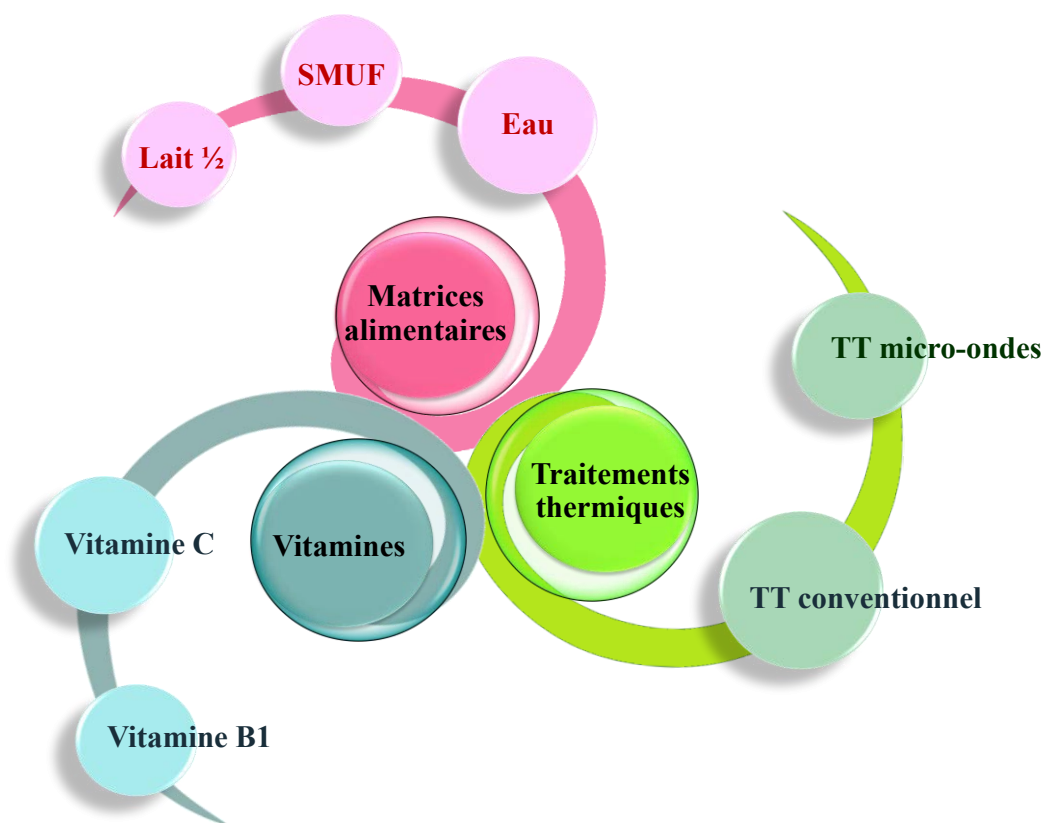
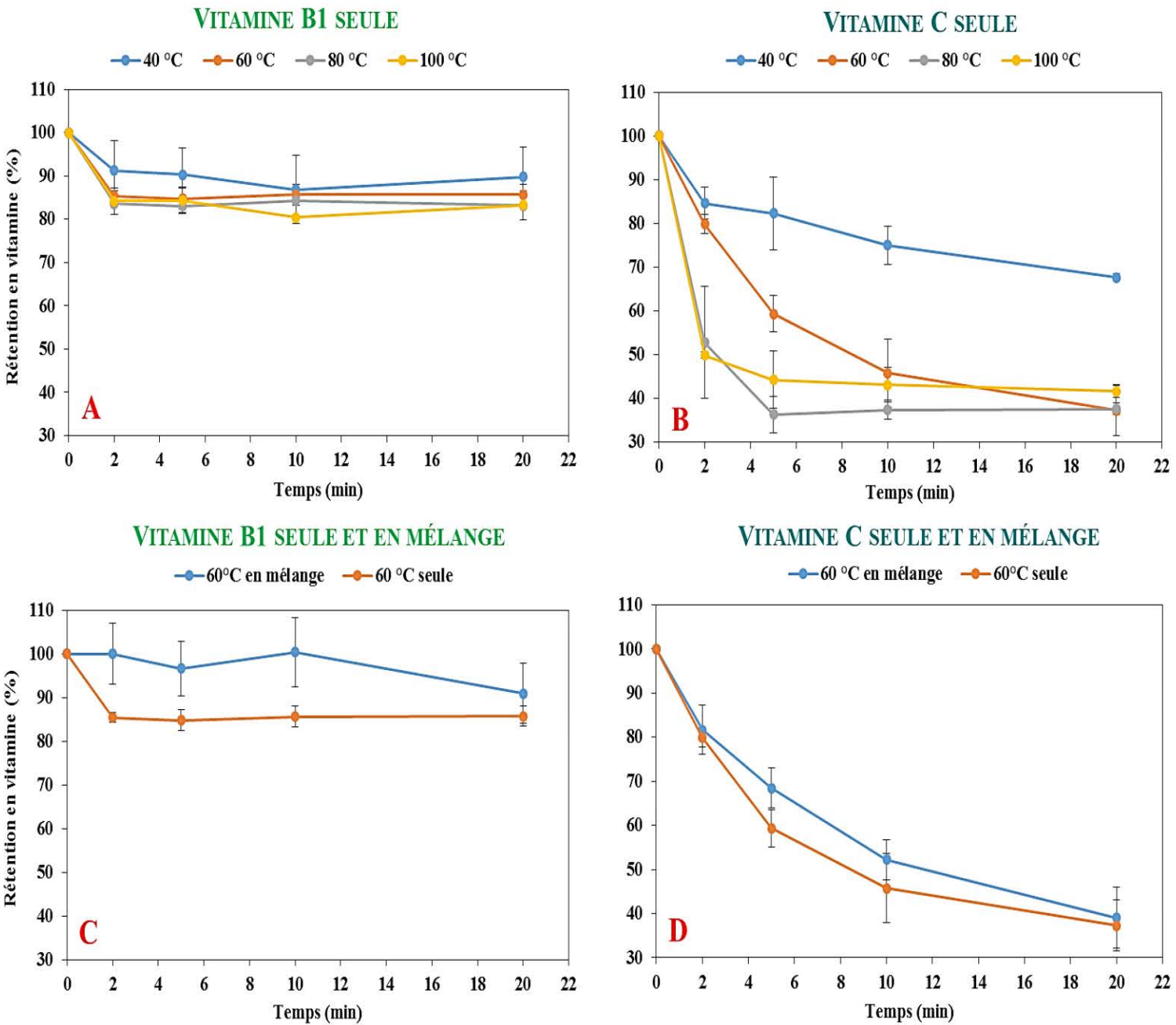


Figure 20. Démarche expérimentale de ce chapitre : vitamines étudiées, matrices alimentaires et traitements thermiques.

Les vitamines ont été traitées thermiquement seules en solutions simples (Vit B1 ou C) et en mélange (Vit B1 et C).

1. Traitement thermique conventionnel des vitamines C et B1 dans de l'eau

Les vitamines B1 et C ont été traitées thermiquement en solution aqueuse selon les barèmes temps-température indiqués ci-dessus. L'influence du mélange des deux vitamines a été également étudiée dans les mêmes conditions. La comparaison des traitements thermiques micro-ondes et conventionnel (Figure 21) repose sur le respect de conditions expérimentales semblables qui seront détaillées dans le sous-chapitre suivant.



Les résultats de la Figure 21A et B montrent que la température et le temps de chauffage ont un effet négatif sur la rétention de Vit C et B1 seules dans l'eau, avec des pertes allant jusqu'à 60 % et 17 % respectivement. Ces résultats sont conformes à la littérature où il est mis en évidence que l'altération de la Vit C est largement dépendante de la température (Tableau 4). Les mélanges de vitamines B1 et C (Figures 21C et D) en solution aqueuse traités thermiquement sont dosés pour estimer l'effet protecteur de chaque vitamine vis-à-vis de l'altération thermique de l'autre vitamine. Les données complètes de la rétention de la Vit B1 sont réunies dans le Tableau 14. L'effet protecteur de la Vit C sur la dénaturation de la Vit B1 (Figure 21C) est bien visible puisqu'en présence de Vit C, les pertes en Vit B1 sous l'effet de traitements thermiques sont très faibles voire quasi nulles (10 % maximum). Au vu de ces résultats, on peut estimer que la Vit C permet de réduire la dénaturation thermique de la Vit B1. La comparaison des pertes en Vit C seule et en mélange avec la Vit B1 (Figure 21D) montre qu'il n'y a pas de différences significatives de rétention de Vit C, ce qui signifie que la Vit B1 n'a pas d'effet protecteur sur la Vit C.

1.1. Cinétique de la dégradation de la Vit C seule dans de l'eau pendant le traitement thermique conventionnel

La modélisation cinétique de l'altération thermique de Vit C a été réalisée pour les données expérimentales acquises à 40, 60 et 80 °C en TTC, puisque la diminution rapide de la concentration de Vit C dès les deux premières minutes du TTC à 100 °C n'a pas permis d'obtenir une modélisation satisfaisante de l'évolution temporelle de la concentration en Vit C.

La meilleure modélisation des pertes en Vit C de 40 à 80 °C a été obtenue avec un modèle cinétique du second ordre (Figure 22).

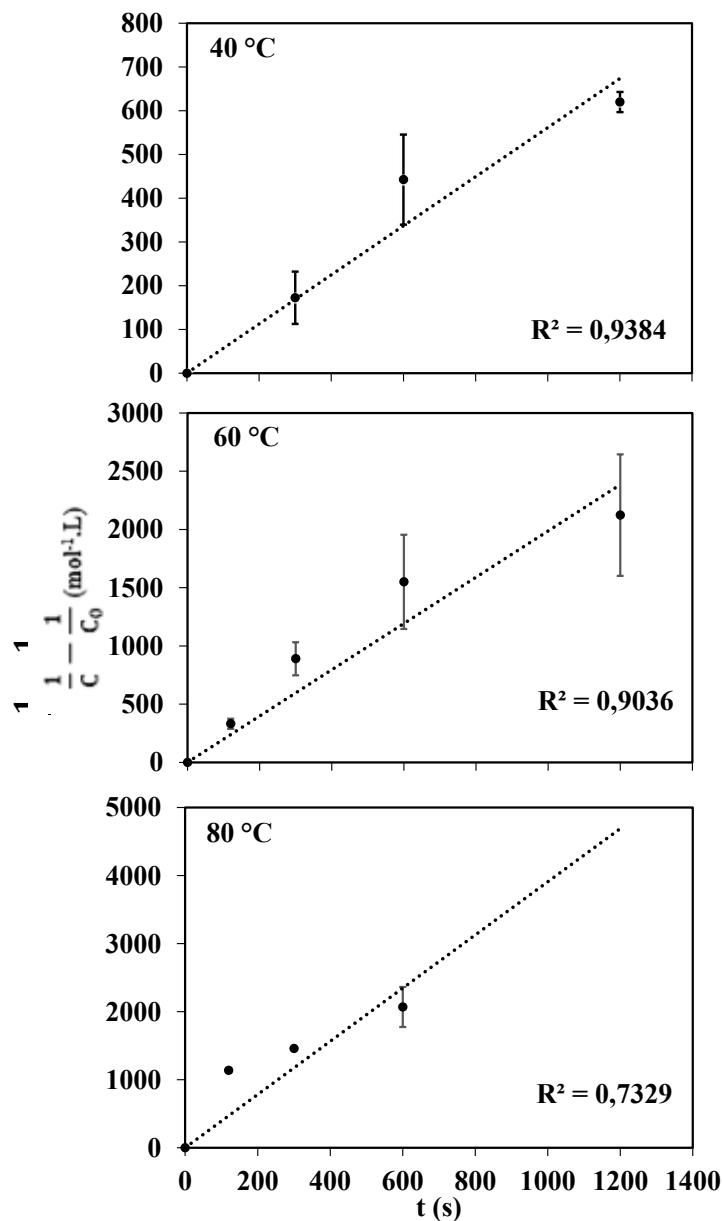


Figure 22. Modélisation de la cinétique d'altération de la Vit C lors du TTC à 40, 60 et 80 °C par une loi cinétique du second ordre (équation 8).

Les coefficients de détermination du modèle cinétique du second ordre sont bons ($R^2 > 0,9$) pour les essais menés à 40 et 60 °C, mais un peu plus faible pour l'essai à 80 °C ($R^2 \approx 0,73$), ce qui peut s'expliquer par le faible nombre de points expérimentaux et l'incertitude de mesure de la concentration en vitamine par CLHP qui croît pour les petites concentrations.

Une fois que les constantes de vitesse ont été déterminées à 40, 60 et 80 °C et représentées sur le graphique d'Arrhenius (Figure 23), l'énergie d'activation et le facteur pré-exponentiel d'Arrhenius de l'altération thermique de la Vit C peuvent être calculés par régression linéaire de l'équation 9 (Tableau 10).

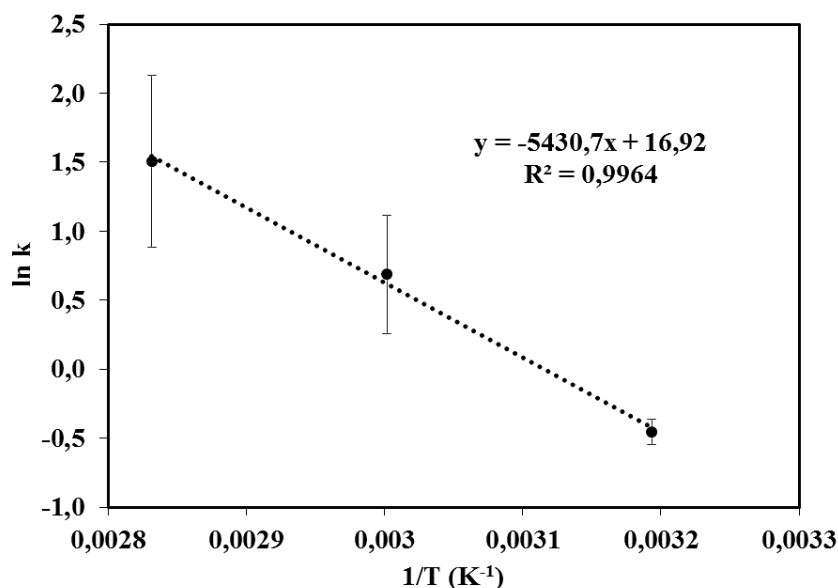


Figure 23. Graphique d'Arrhenius de la dégradation de la Vit C par TTC en solution aqueuse.

Tableau 10. Paramètres cinétiques de la dégradation de la Vit C (TTC en mode (t ; T)) : vitesse de réaction (k), temps de demi-vie ($t_{1/2}$), logarithme népérien du facteur pré-exponentiel d'Arrhenius ($\ln k^0$) et énergie d'activation (E_a).

T (°C)	k (mol ⁻¹ .L.s ⁻¹)	$t_{1/2}$ (s)	$\ln k^0$ (-)	E_a (kJ.mol ⁻¹)
40	0,635 ± 0,090	2305 ± 359		
60	1,987 ± 0,431	753 ± 142	16,92 ± 0,98	45,14 ± 2,71
80	4,507 ± 0,623	321 ± 40		

La diminution de la demi-vie $t_{1/2}$ de 40 à 80 °C illustre l'augmentation considérable de la vitesse d'altération de la Vit C avec la température. L'énergie d'activation de la dégradation de Vit C dans l'eau pure obtenue dans la présente étude ($45,14 \pm 2,71$ kJ.mol⁻¹) est conforme aux valeurs rapportées (la gamme de valeurs rencontrées pour les jus de fruits dans la littérature à partir des valeurs recensées dans le Tableau 4).

1.2. Pouvoir antioxydant de la Vit C

Le pouvoir antioxydant de la Vit C a été mesuré dans les mêmes conditions de TTC en mode (t ; T) par les deux méthodes ABTS et FRAP. Les résultats des tests antioxydants ont été comparés aux concentrations déterminées par CLHP. La rétention en Vit C est exprimée comme la proportion résiduelle, en pourcents, de la concentration en vitamine avant le TT (Tableau 11).

Tableau 11. Comparaison des résultats de rétention en Vit C en solution aqueuse pure après TTC en mode (t ; T) obtenus par les trois méthodes de dosage CLHP, ABTS et FRAP (n = 3).

Température (°C)	Temps (min)	Rétention en Vit C (%)		
		CLHP	ABTS	FRAP
100	2	49,9 ± 12,8 ^{cde}	59,3 ± 0,7 ^{cd}	47,1 ± 8,3 ^{efg}
	5	44,3 ± 4,2 ^{de}	49,5 ± 3,9 ^e	31,9 ± 4,5 ^{ghi}
	10	43,1 ± 2,2 ^{de}	48,8 ± 1,1 ^{de}	42,5 ± 1,2 ^{fgh}
	20	41,6 ± 1,3 ^{de}	48,1 ± 0,9 ^{de}	39,6 ± 4,6 ^{fghi}
80	2	52,8 ± 0,8 ^{cde}	72,1 ± 3,9 ^{cd}	55,2 ± 7,7 ^{def}
	5	36,3 ± 6,5 ^e	51,4 ± 2,5 ^d	28,7 ± 1,8 ^{hi}
	10	37,4 ± 3,9 ^e	38,1 ± 1,2 ^e	23,7 ± 0,6 ⁱ
	20	37,6 ± 1,4 ^e	46,5 ± 2,5 ^e	21,7 ± 2,1 ⁱ
60	2	79,9 ± 2,2 ^a	90,7 ± 0,6 ^a	74,4 ± 2,8 ^{bc}
	5	59,3 ± 4,2 ^{bcd}	86,4 ± 0,8 ^a	61,1 ± 7,3 ^{cde}
	10	45,8 ± 7,9 ^{de}	73,3 ± 0,6 ^{bc}	38,4 ± 2,1 ^{fghi}
	20	37,3 ± 5,8 ^e	56,3 ± 1,3 ^d	30,2 ± 4,8 ^{ghi}
40	2	84,6 ± 3,6 ^a	92,8 ± 0,4 ^a	96,0 ± 2,2 ^a
	5	82,3 ± 8,4 ^a	92,1 ± 0,4 ^a	81,6 ± 0,6 ^{ab}
	10	75,1 ± 4,4 ^{ab}	88,6 ± 0,6 ^a	73,6 ± 3,7 ^{bc}
	20	67,7 ± 0,8 ^{abc}	86,5 ± 0,7 ^{ab}	66,4 ± 3,6 ^{cd}

Les taux de rétention de Vit C (pour chaque méthode) associés à des lettres différentes en exposant sont significativement différents (p < 0,05, n = 3).

Les rétentions en Vit C suivent les mêmes tendances avec les 3 méthodes de dosage mises en œuvre. Les résultats obtenus par ABTS sont le plus souvent plus élevés que ceux obtenus par CLHP et FRAP. De façon similaire, une comparaison des différentes méthodes de dosage du pouvoir antioxydant a montré des valeurs plus élevées par ABTS que par FRAP sur des extraits de goyaves¹⁰⁸. Les rétentions en Vit C les plus importantes sont observées à 40 °C avec des valeurs

de 66,4 à 86,5 % après 20 min de TTC. Les méthodes de dosage du pouvoir antioxydant permettent de montrer que la Vit C dosée par CLHP présente une activité antioxydante préservée.

2. Traitement thermique au four à micro-ondes des vitamines C et B1 dans de l'eau

2.1. Comparaison des profils thermiques

Les paramètres caractérisant les profils thermiques mis en œuvre lors des TTMO sont présentés dans le Tableau 12.

Le temps de traitement de chaque échantillon à la température de travail programmée (40, 60, 80, 100 °C) est plus court que le temps de TTMO réel (3, 6, 11 et 21 min respectivement).

Tableau 12. Profils thermiques pour les différents barèmes temps-température mis en œuvre lors des TTMO.

Paramètres	T _{cible} (°C)	2 min	5 min	10 min	20 min
T_0 (°C)	40	15	14	14	14
T_M (°C)		41,89	43,66	44,46	44,51
T_{MI} (°C)		45,26	45,31	45,38	45,02
E_0 (J)		600	600	600	600
t_0 (s)		30	30	30	30
T_0 (°C)	60	15	15	15	15
T_M (°C)		54,49	54,81	56,39	57,34
T_{MI} (°C)		64,52	58,34	58,4	58,39
E_0 (J)		632	620	620	620
t_0 (s)		60	60	60	60
T_0 (°C)	80	15	16	15	15
T_M (°C)		66,92	76,05	79,77	80,95
T_{MI} (°C)		84,4	84,64	84,65	83,42
E_0 (J)		652	652	652	652
t_0 (s)		85	85	85	85
T_0 (°C)	100	14	14	15	15
T_M (°C)		75,51	89,86	96,61	98,51
T_{MI} (°C)		104,43	104,54	104,71	102,45
E_0 (J)		664	664	664	662
t_0 (s)		115	115	115	110

Où

- T_0 (°C) : température initiale de l'échantillon (avant le traitement thermique) ;

- T_{cible} (°C) : température de consigne de l'échantillon (40, 60, 80 et 100 °C) ;
- T_M (°C) : température moyenne sur l'ensemble du traitement thermique.
- T_{M1} (°C) : température moyenne de l'échantillon à partir du moment où la température cible T_{cible} est atteinte jusqu'à la fin du TTMO ;
- E_0 (J) : énergie électromagnétique micro-ondes totale apportée lors de la montée en température de T_0 à T_{cible} ;
- t_0 (s) : temps nécessaire pour atteindre la température cible.

T_{M1} est supérieure à la température de consigne de 2 à 5 °C, sauf à 60 °C où elle est mesurée à 58,4 °C. Par souci de simplification, les valeurs de température de consigne seront données dans l'ensemble des résultats qui suivent, sachant que l'effet de la température lors du traitement thermique micro-ondes est certainement légèrement majoré par rapport au traitement thermique conventionnel.

Différentes températures de travail conduisent à des temps de montée en température t_0 différents (Figure). A 40 °C, le temps nécessaire pour atteindre cette température est de 30 s, à 60 °C, il est d'une minute, à 80 °C, de 1 min 30 s et à 100 °C de 2 min. Cette variation dans le temps de montée à la température cible est inévitable car la puissance micro-ondes est maximale lors de cette étape.

A partir des données relevées par le four à micro-ondes Mars 6, il a été possible de tracer des graphiques représentant l'évolution de la température des échantillons et de la puissance micro-ondes au cours du TTMO (Figure 24).

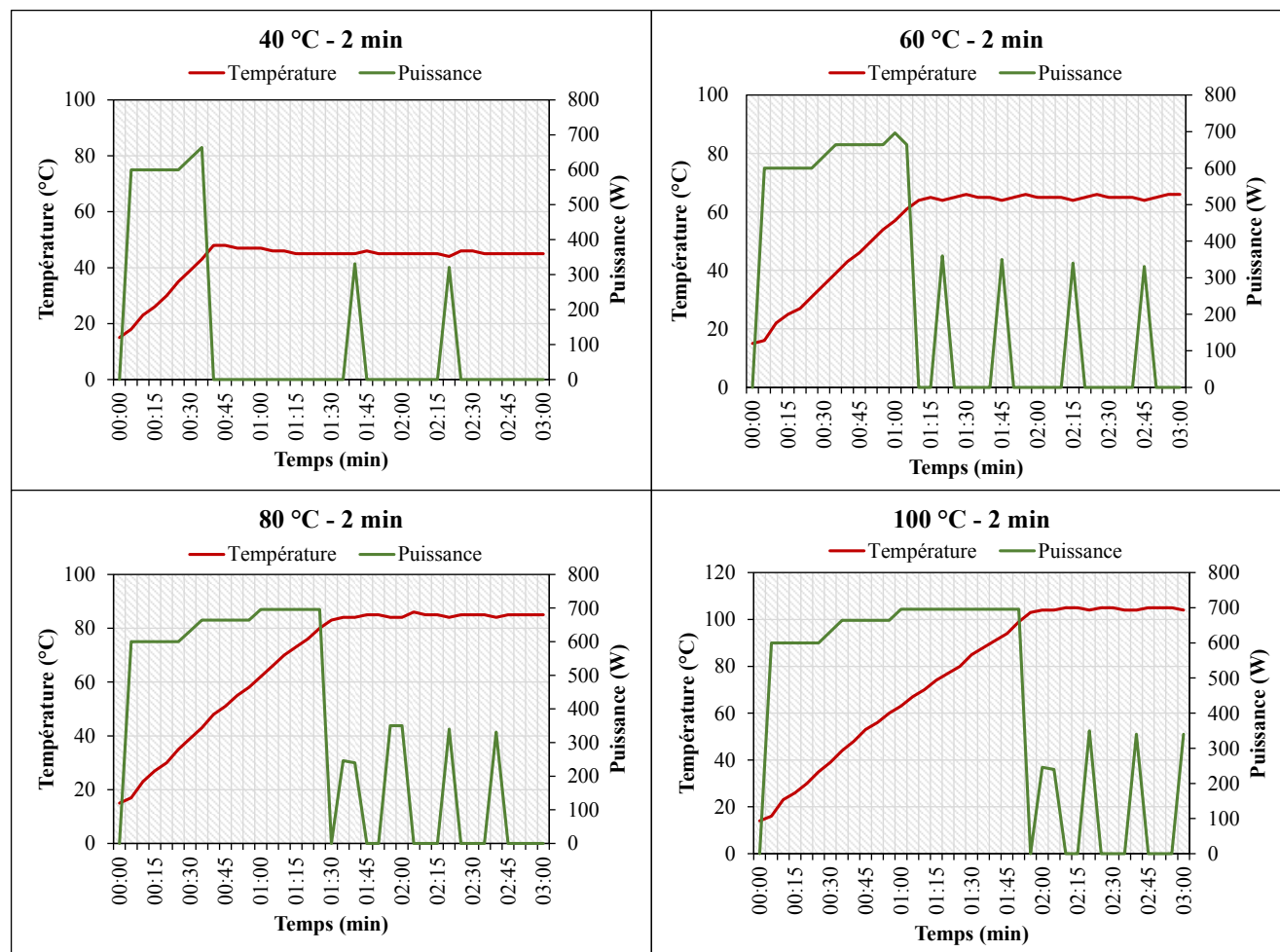


Figure 24. Evolution de la température de l'échantillon et de la puissance micro-ondes lors des TTMO en mode (t ; T) à différentes températures entre 40 et 100 °C pendant 2 min de traitement effectif.

De plus, les barèmes temps-température obtenus sont parfaitement identiques lors l'étape de montée en température (Figure 25) et présentent un maintien très régulier de la température cible.

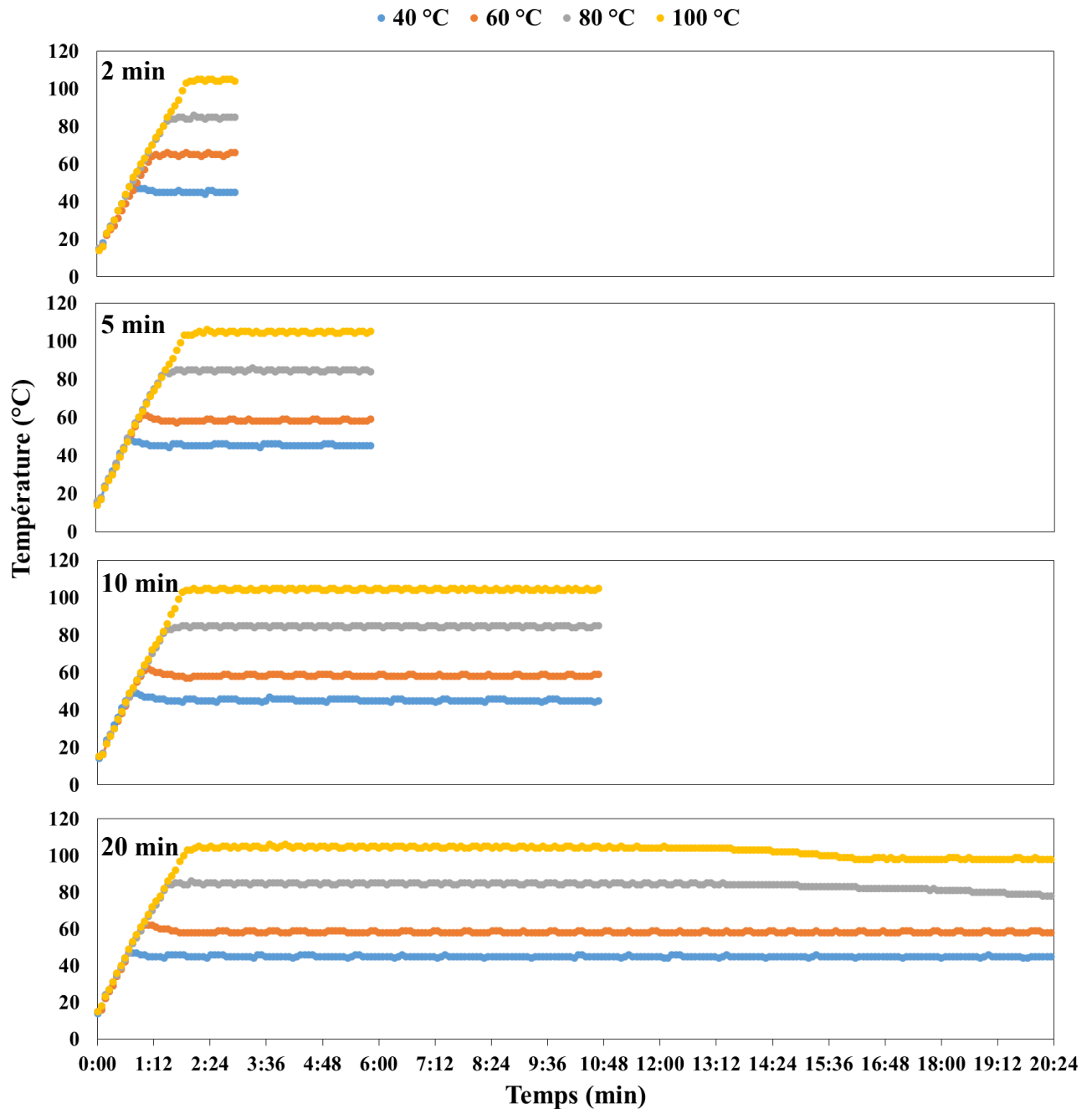


Figure 25. Comparaison des profils de température lors des TTMO à différentes températures et différents temps de traitement.

Les profils de température des Figures 18 et 19 montrent qu'il est possible de comparer les résultats obtenus en termes de rétention en Vit C pour les températures et temps de TT envisagés dans ce travail de thèse car l'étape de montée en température suit le même profil thermique.

2.2. Comparaison des pertes en vitamines B1 et C

Les données de pertes en vitamines obtenues précédemment en bain d'huile ont été comparées aux données obtenues par traitement thermique aux micro-ondes dans le four à micro-ondes. Globalement, le comportement des vitamines seules et en mélange diffère suivant la température, le temps et la méthode de traitement (Figure 26).

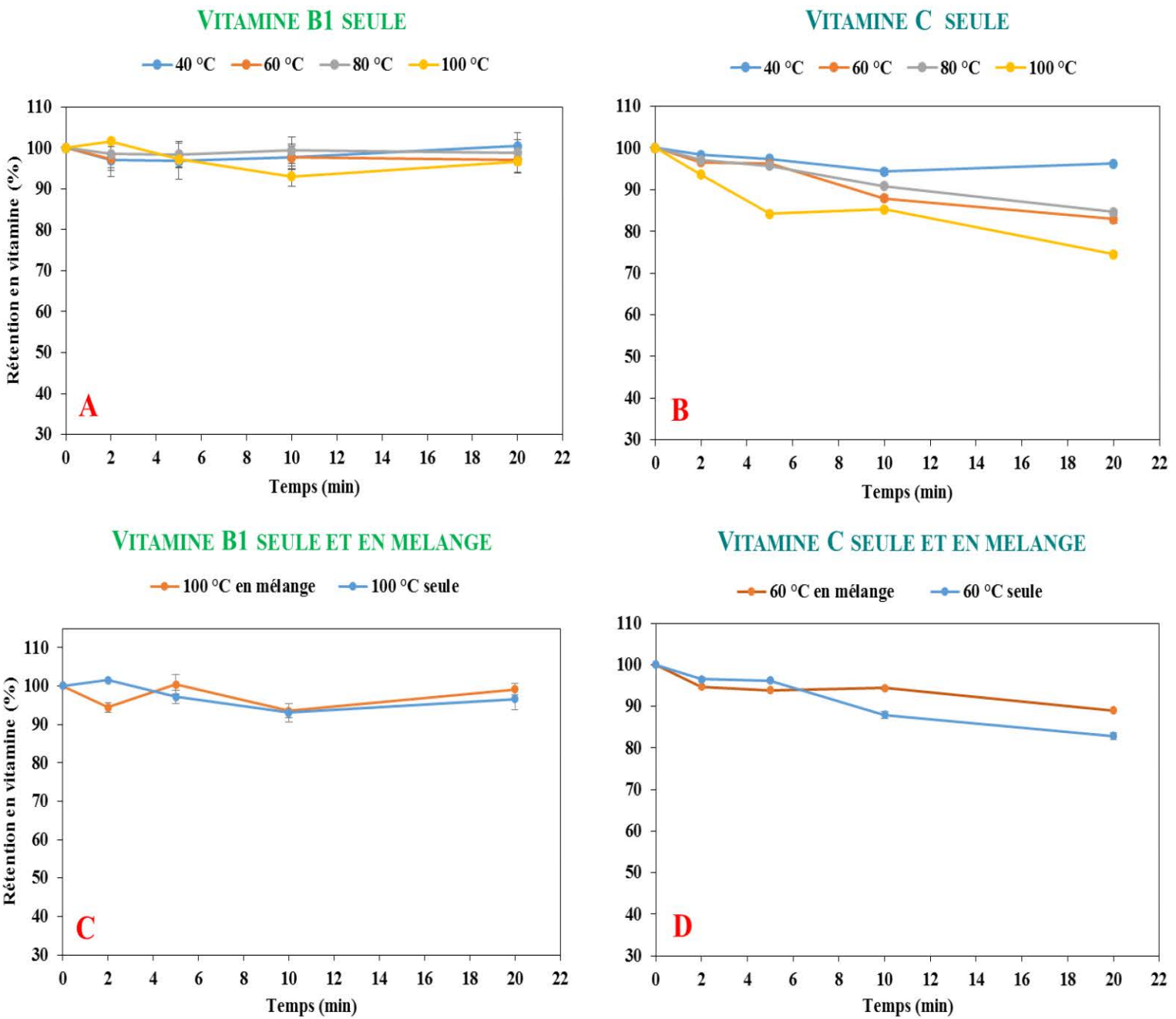


Figure 26. Comparaison des taux de rétention en vitamines B1 ($C_0 = 20 \mu\text{g/mL}$) et C ($C_0 = 130 \mu\text{g/mL}$), seules (A et B) et en mélange (C et D), en solution aqueuse pendant le TTMO en mode (t ; T), (n = 3). Lorsque les écarts-types ne sont pas visibles, ceci indique qu'ils sont inférieurs à la taille des marqueurs.

Les résultats obtenus montrent (Figure 26A) de faibles pertes en Vit B1 (maximum 7 %). Le TTMO semble ne pas diminuer significativement la concentration en Vit B1, ce qui est très positif pour le produit industriel reconstitué par réhydratation du mix puis TTMO. Les pertes en Vit B1 seule sont deux fois plus faibles après TTMO que celles obtenues après TTC.

La comparaison des figures 26B et 21B fait apparaître que la rétention en Vit C après TTMO est significativement améliorée par rapport au TTC quels que soient le temps et la température de traitement thermique. La rétention la plus faible a été observée, logiquement, après chauffage à 100 °C pendant 20 min pour les deux types de TT : dans ces conditions, le TTMO a conduit à une meilleure rétention en Vit C (70 %) que le TTC (40 %).

Le TTMO a également été appliqué au mélange de vitamines B1 et C dans de l'eau afin de vérifier si l'effet protecteur de la Vit C vis-à-vis de l'altération thermique de la Vit B1 observé lors du TTC est retrouvé lors d'un TTMO. Il est mis en évidence qu'après le TTMO en mode (t ; T), aucun effet protecteur de la Vit C sur la dénaturation de la Vit B1 n'est observé (Figure 26C). Ceci s'explique vraisemblablement par le fait que seule ou en mélange avec la Vit C, la Vit B1 ne subit quasiment pas de pertes pendant les TT pour tous les barèmes temps-température testés. Les pertes en Vit B1 lors du TTMO n'ont pas excédé 5 % : elles sont donc réduites approximativement de 10 % par rapport au TTC.

Les pertes en Vit C sont équivalentes lors du TTC et du TTMO qu'elle soit seule ou en mélange pour tous les barèmes temps-température, ce qui confirme que la Vit B1 ne joue pas de rôle protecteur vis-à-vis de l'altération thermique de la Vit C. Les pertes maximales en Vit C en mélange avec la Vit B1 sont d'environ 20 %, ce qui correspond au tiers des pertes mesurées en bain d'huile dans les mêmes conditions (60 %). Dans ce cas, les pertes en Vit C seule en solution sont de 25 %.

2.3. Pouvoir antioxydant de la Vit C

Le pouvoir antioxydant de la Vit C a été mesuré dans les mêmes conditions de TTMO en mode (t ; T) par les deux méthodes ABTS et FRAP et les données ont été comparées aux dosages CLHP (Tableau 13).

Tableau 13. Comparaison des taux de rétention en Vit C ($C_0 = 130 \mu\text{g/mL}$) en solution aqueuse pure après TTMO en mode (t ; T), déterminés avec les méthodes de dosage CLHP, ABTS et FRAP (n = 3).

Température (°C)	Temps (min)	Vit C (%)		
		CLHP	ABTS	FRAP
100	2	95,6 ± 1,0 ^d	95,9 ± 2,2 ^{ab}	100,8 ± 1,6 ^{ab}
	5	96,5 ± 0,5 ^{gh}	90,4 ± 2,8 ^{bc}	98,2 ± 0,8 ^{ab}
	10	85,4 ± 0,2 ^g	90,8 ± 1,2 ^{abc}	91,7 ± 1,6 ^{bcd}
	20	83,5 ± 1,3 ⁱ	81,9 ± 1,7 ^c	91,9 ± 0,9 ^{abcd}
80	2	97,1 ± 0,5 ^{ab}	99,0 ± 0,7 ^{ab}	97,0 ± 0,3 ^{ab}
	5	95,8 ± 0,5 ^{bc}	90,1 ± 2,7 ^{bc}	96,0 ± 0,4 ^{abc}
	10	90,9 ± 0,3 ^e	90,2 ± 5,4 ^{bc}	95,3 ± 2,3 ^{abcd}
	20	84,6 ± 0,4 ^{gh}	89,4 ± 2,9 ^{bc}	86,5 ± 4,9 ^{cd}
60	2	96,6 ± 0,5 ^{ab}	100,2 ± 1,2 ^{ab}	96,4 ± 1,8 ^{ab}
	5	96,2 ± 0,5 ^b	95,4 ± 1,5 ^{ab}	101,6 ± 1,1 ^a
	10	88,0 ± 0,8 ^f	95,5 ± 1,4 ^{ab}	101,4 ± 1,3 ^{ab}
	20	82,9 ± 0,9 ^h	95,7 ± 1,3 ^{ab}	86,1 ± 2,5 ^d
40	2	98,4 ± 0,6 ^a	101,6 ± 1,2 ^a	99,9 ± 0,6 ^{ab}
	5	97,4 ± 0,5 ^{ab}	97,4 ± 2,1 ^{ab}	96,4 ± 2,5 ^{ab}
	10	94,3 ± 0,8 ^{cd}	96,0 ± 1,0 ^{ab}	97,1 ± 5,7 ^{ab}
	20	96,3 ± 0,1 ^b	98,4 ± 2,3 ^{ab}	85,7 ± 2,8 ^d

Les taux de rétention de Vit C (par méthode) associés à des lettres différentes en exposant sont significativement différents ($p < 0,05$, n = 3).

Les taux de rétention en Vit C mesurés par les trois méthodes sont assez similaires et confirment que le TTMO est bien moins délétère pour la Vit C que le TTC. Comme pour le TTC, la proximité des résultats CLHP et de dosage du pouvoir antioxydant semble indiquer que la Vit C a conservé son pouvoir antioxydant après TTMO.

L'ensemble des dosages CLHP des vitamines B1 et C (seules et en mélange) lors des TTC et TTMO pour tous les barèmes temps-température sont regroupés dans le Tableau 14.

Tableau 14. Comparaison des taux de rétention en vitamine après TTC et TTMO pour les vitamines C ($C_0 = 130 \mu\text{g/mL}$) et B1 ($C_0 = 20 \mu\text{g/mL}$), seules ou en mélange dans des solutions aqueuses ($n = 3$).

Traitement thermique en mode (t ; T)	Température (°C)	Temps (min)	Vitamines seules		Vitamines en mélange (B1 + C)	
			Rétention en Vit C (%)	Rétention en Vit B1 (%)	Rétention en Vit C (%)	Rétention en Vit B1 (%)
TTC	100	2	49,9 ± 12,8	84,1 ± 3,1	42,9 ± 9,3	97,6 ± 1,6
		5	44,3 ± 4,2	84,4 ± 3,0	43,6 ± 7,6	98,0 ± 5,9
		10	43,1 ± 2,2	80,4*	44,1 ± 5,2	97,9 ± 9,1
		20	41,6 ± 1,3	83,2 ± 3,4	46,4 ± 4,8	101,7 ± 5,6
	80	2	52,8 ± 0,8	83,6 ± 0,4	62,9 ± 9,1	92,2 ± 6,6
		5	36,3 ± 6,5	83,0 ± 1,4	69,6*	98,5 ± 0,9
		10	37,4 ± 3,9	84,4 ± 0,6	49,7*	75,1 ± 4,7
		20	37,6 ± 1,4	83,2 ± 0,2	46,0 ± 9,5	89,5 ± 5,0
	60	2	79,9 ± 2,2	85,4 ± 1,1	81,7 ± 5,5	100,1 ± 3,7
		5	59,3 ± 4,2	84,8 ± 2,4	68,4 ± 4,6	96,7 ± 6,0
		10	45,8 ± 7,9	85,6 ± 2,5	52,2 ± 4,5	100,4 ± 5,8
		20	37,3 ± 5,8	85,7 ± 2,3	39,1 ± 6,9	100,0 ± 7,1
	40	2	84,6 ± 3,6	91,3 ± 6,9	85,3 ± 6,3	106,5 ± 5,0
		5	82,3 ± 8,4	90,3 ± 6,3	84,5 ± 6,4	106,8 ± 4,8
		10	75,1 ± 4,4	86,8 ± 7,9	72,4 ± 4,1	107,0 ± 4,4
		20	67,7 ± 0,8	89,9 ± 6,9	71,1 ± 3,9	102,4 ± 4,1
TTMO	100	2	95,6 ± 1,0	101,6*	94,8*	94,4 ± 1,4
		5	96,5 ± 0,5	97,2 ± 1,8	96,0 ± 0,8	100,4 ± 2,5
		10	85,4 ± 0,2	93,1 ± 2,4	93,6*	93,6 ± 1,8
		20	83,5 ± 1,3	96,7 ± 2,8	79,1 ± 0,1	99,1 ± 1,5
	80	2	97,1 ± 0,5	98,5 ± 3,3	93,9 ± 0,7	101,0 ± 1,6
		5	95,8 ± 0,5	98,4 ± 3,3	94,5 ± 0,6	99,7 ± 3,2
		10	90,9 ± 0,3	99,3 ± 3,2	90,1 ± 1,3	100,0 ± 2,9
		20	84,6 ± 0,4	98,8 ± 3,1	91,4 ± 0,4	103,7 ± 2,7
	60	2	96,6 ± 0,5	97,3 ± 2,9	94,7 ± 0,5	98,4 ± 1,0
		5	96,2 ± 0,5	85,1*	93,9 ± 0,1	83,8*
		10	88,0 ± 0,8	97,7 ± 2,7	94,4 ± 0,3	105,8 ± 1,3
		20	82,9 ± 0,9	97,1 ± 3,0	89,1 ± 0,2	101,4 ± 1,7
	40	2	98,4 ± 0,6	97,0 ± 4,0	97,0 ± 1,0	100,6 ± 2,7
		5	97,4 ± 0,5	96,7 ± 4,4	96,3 ± 0,5	100,8 ± 2,4
		10	94,3 ± 0,8	97,8 ± 3,1	93,7 ± 0,6	97,2 ± 3,7
		20	96,3 ± 0,1	100,4 ± 3,4	89,6 ± 0,8	104,8 ± 2,0

* Expériences réalisées sans répétition.

3. Traitement thermique de la Vit C dans l'ultrafiltrat de lait modèle

Afin d'étudier l'influence de la composition de la matrice laitière, le SMUF constitue une première étape pour simuler l'effet des minéraux du lait sur la dégradation thermique de la Vit C. En effet, la stabilité de la Vit C s'avère très dépendante de la composition de la matrice ¹⁰⁹, mais également du pH ^{110–112}. Dans les expériences suivantes, le temps de traitement thermique a été fixé à 5 et 20 min, car les variations les plus importantes de la concentration de Vit C sont enregistrées dans les cinq premières minutes et la diminution de la concentration de Vit C entre 5 et 20 min de traitement thermique semble faible (Figure 19). La rétention en Vit C dans l'eau et le SMUF a été comparée après TTC et TTMO en mode (t ; T), à 60 et 100 °C, pendant 5 et 20 min (Tableau 15).

Tableau 15. Comparaison de la rétention en Vit C ($C_0 = 130 \mu\text{g/mL}$) dans l'eau et le SMUF pour le TTC et le TTMO en mode (t ; T) à 60 et 100 °C pendant 5 et 20 min (n = 3).

Milieu	Traitement thermique (t ; T)	Température (°C)	Temps (min)	Rétention de la Vit C (%)
EAU	TTC	60	5	$57,4 \pm 4,2^{ef}$
			20	$41,6 \pm 0,8^h$
		100	5	$40,8 \pm 4,4^h$
			20	$41,7 \pm 1,4^h$
	TTMO	60	5	$96,2 \pm 0,5^a$
			20	$82,9 \pm 0,9^{bc}$
		100	5	$85,2 \pm 0,7^b$
			20	$74,5 \pm 0,4^{cd}$
SMUF	TTC	60	5	$57,5 \pm 2,8^{ef}$
			20	$40,2 \pm 1,2^h$
		100	5	$56,4 \pm 3,3^f$
			20	$46,8 \pm 1,7^{gh}$
	TTMO	60	5	$81,2 \pm 1,3^{bc}$
			20	$66,4 \pm 2,2^{de}$
		100	5	$74,7 \pm 1,8^{cd}$
			20	$55,5 \pm 3,4^{fg}$

Les taux de rétention de Vit C associés à des lettres différentes en exposant sont significativement différents ($p < 0,05$, $n = 3$).

Quels que soient le type de traitement thermique et la composition de la matrice, le temps et la température ont des impacts négatifs marqués sur la rétention en Vit C. En outre, les résultats du Tableau 15 confirment que le TTC entraîne plus de pertes en Vit C que le TTMO pour les deux types de matrices étudiées (eau, SMUF).

Pour le TTC, la rétention en Vit C est meilleure dans le SMUF que dans l'eau. Par exemple, après 5 min de TTC à 100 °C, la rétention en Vit C est d'environ 20 % plus élevée en présence des minéraux de lait. Au contraire, le TTMO a induit plus de pertes de Vit C (entre 10 et 20 % de pertes supplémentaires pour toutes les conditions testées) dans le SMUF que dans l'eau. Ces dernières matrices différaient non seulement en termes de composition minérale, mais aussi de pH : la solution aqueuse de Vit C pure dans l'eau était à pH 3,3 à cause de l'acidité de la Vit C, alors que la solution de Vit C dans le SMUF avait un pH de 6,8 suite au pouvoir tampon des sels de phosphate et de citrate présents dans le SMUF.

Les résultats obtenus par dosage CLHP sont comparés avec les concentrations équivalentes en Vit C déterminées par dosage du pouvoir antioxydant par ABTS et FRAP (Tableau 16).

Tableau 16. Comparaison des résultats de rétention en Vit C ($C_0 = 130 \mu\text{g/mL}$) dans l'eau et le SMUF pour le TTC et le TTMO en mode (t ; T) à 60 et 100 °C pour les trois méthodes de dosage CLHP, ABTS et FRAP (n = 3).

Matrice	Type de traitement thermique	Température (°C)	Temps (min)	Rétention en Vit C (%)		
				CLHP	ABTS	FRAP
Eau	TTC	60	5	57,4 ± 4,2 ^{ef}	86,4 ± 4,9 ^{ab}	61,1 ± 7,3 ^{bcd}
			20	41,6 ± 0,8 ^h	56,3 ± 4,5 ^{ef}	30,2 ± 4,8 ^f
		100	5	40,8 ± 4,4 ^h	49,5 ± 3,9 ^{fg}	47,1 ± 8,3 ^{def}
			20	41,7 ± 1,4 ^h	48,1 ± 3,2 ^{fg}	39,6 ± 4,6 ^{ef}
	TTMO	60	5	96,2 ± 0,5 ^a	95,4 ± 1,5 ^a	101,6 ± 1,1 ^a
			20	82,9 ± 0,9 ^{bc}	95,7 ± 1,3 ^a	86,1 ± 2,5 ^a
		100	5	85,2 ± 0,7 ^b	90,4 ± 2,8 ^{ab}	98,2 ± 0,8 ^a
			20	74,5 ± 0,4 ^{cd}	81,9 ± 6,1 ^{abc}	91,9 ± 0,9 ^a
SMUF	TTC	60	5	57,5 ± 2,8 ^{ef}	52,2 ± 1,2 ^{fg}	52,1 ± 0,4 ^{bcde}
			20	40,2 ± 1,2 ^h	49,2 ± 1,5 ^{fg}	50,0 ± 4,0 ^{bcde}
		100	5	56,4 ± 3,3 ^f	52,5 ± 2,7 ^{efg}	50,8 ± 4,0 ^{bcde}
			20	46,8 ± 1,7 ^{gh}	45,6 ± 4,0 ^{fg}	44,1 ± 2,6 ^{ef}
	TTMO	60	5	81,2 ± 1,3 ^{bc}	76,4 ± 2,0 ^{bdc}	64,7 ± 4,4 ^{bc}
			20	66,4 ± 2,2 ^{de}	54,4 ± 6,6 ^{efg}	63,4 ± 3,4 ^{bcd}
		100	5	74,7 ± 1,8 ^{cd}	68,0 ± 5,5 ^{cde}	65,1 ± 1,9 ^b
			20	55,5 ± 3,4 ^{fg}	61,0 ± 3,1 ^{def}	47,9 ± 0,5 ^{cde}

Les taux de rétention de Vit C (par méthode) associés à des lettres différentes en exposant sont significativement différents ($p < 0,05$, $n = 3$).

Les résultats des dosages ABTS et FRAP montrent les mêmes tendances de perte de la Vit C que les dosages CLHP, ce qui confirme que la Vit C retrouvée après TTMO a bien conservé son pouvoir antioxydant.

Pour étudier l'effet du pH des solutions de Vit C dans l'eau ou dans le SMUF, les valeurs de pH ont été ajustées à pH 3,3 pour la solution dans le SMUF de Vit C et à pH 6,8 pour la solution de Vit C dans l'eau (Tableau 17).

Tableau 17. Influence du pH sur la rétention en Vit C ($C_0 = 130 \mu\text{g/mL}$) dans l'eau et le SMUF après TTMO en mode (t ; T) à 60 et 100 °C pendant 5 min (n = 3).

Milieu	pH	Température (°C)	Rétention en Vit C (%)
Eau	3,3 (initial)	60	$96,2 \pm 0,5^a$
		100	$85,2 \pm 0,7^{bc}$
	6,8 (ajusté)	60	$63,3 \pm 1,7^e$
		100	$60,8 \pm 5,4^e$
SMUF	3,3 (ajusté)	60	$94,2 \pm 0,4^a$
		100	$91,5 \pm 0,6^{ab}$
	6,8 (initial)	60	$81,2 \pm 1,3^{cd}$
		100	$74,7 \pm 1,8^d$

Les taux de rétention en Vit C associés à des lettres différentes en exposant sont significativement différents ($p < 0,05$, n = 3).

D'après le Tableau 17, le pH acide préserve mieux la Vit C dans l'eau et dans le SMUF.¹¹³ avaient aussi montré l'effet bénéfique du pH acide sur la préservation thermique de la Vit C. A pH 6,8, la présence des sels dans le SMUF préserve mieux la Vit C lors du TTMO, comme lors du TTC (Tableau 11). Il peut donc être conclu que les sels présents dans le SMUF, reflétant le milieu ionique du lait, contribuent à réduire la dégradation thermique de la Vit C. La force ionique élevée qui diminuerait la solvation de la Vit C peut être à l'origine de cet effet protecteur¹¹⁴. Il est possible également que certains sels du SMUF empêchent la formation de radicaux superoxyde, peroxyde et hydroxyle, comme c'est le cas du NaCl¹¹⁵ ; de cette façon, la dégradation de la Vit C serait également réduite.

4. Traitement thermique des vitamines C et B1 dans du lait demi-écrémé

Afin d'évaluer l'impact du type de matrice (eau ou lait ½) sur l'énergie électromagnétique micro-ondes nécessaire pour traiter thermiquement 50 mL d'échantillon, les aires des pics de puissance enregistrées lors des traitements thermiques de la Vit C à 100 °C pendant 5 et 20 min ont été intégrées par parties en utilisant la méthode des trapèzes, ce qui a permis d'obtenir l'énergie nécessaire pour chauffer et maintenir à la température cible 50 mL d'échantillon (condition consommateur TTMO (t ; P)).

Les caractéristiques des profils thermiques mis en œuvre lors du TTMO à 100 °C sont présentées dans le Tableau 18.

Tableau 18. Comparaison de l'énergie micro-ondes nécessaire pour chauffer et maintenir à la température cible (100 °C) la solution de Vit C (seule) dans de l'eau et dans du lait ½ lors du TTMO en mode (t ; T).

Milieu	Puissance	100 °C	
		5 min	20 min
Eau	$E(t_{TTMO})$ (J)	69,21	103,78
	E_0 (J)	50,72	45,89
	$P(t_{TTMO} - t_0)$ (J)	18,49	57,89
	P (J/s)	0,0740	0,0499
Lait ½	$E(t_{TTMO})$ (J)	66,92	90,78
	E_0 (J)	49,88	45,78
	$P(t_{TTMO} - t_0)$ (J)	17,04	45,01
	P (J/s)	0,0682	0,0388

L'énergie nécessaire pour amener l'échantillon (Vit C dans du lait ou dans de l'eau) à 100 °C est quasiment la même ($E_0 \approx 45 - 50$ J) quels que soient la matrice et le temps de traitement total. L'énergie nécessaire pour maintenir l'échantillon à la température cible est peu différente pour les matrices eau et lait ½ pour 5 min de TTMO, mais il faut un peu plus d'énergie pour la matrice eau pour un TTMO de 20 min. Ceci indique que les échantillons préparés dans l'eau présentent plus de pertes de chaleur par l'air de l'enceinte (quel que soit le temps de TTMO), ce qui peut s'expliquer par la viscosité de l'eau plus faible que celle du lait, facilitant ainsi les transferts thermiques par convection au sein de l'échantillon et donc son refroidissement par l'air de l'enceinte. De plus, il est intéressant de noter que l'augmentation du temps total de TTMO (t_{TTMO}) de 5 à 20 min mène à une puissance micro-ondes de maintien à la température cible plus faible, ce qui est logique puisque l'air de l'enceinte se réchauffe au cours du temps suite aux pertes thermiques de l'échantillon : ainsi, les pertes thermiques diminuent au cours du traitement car la différence de température entre l'échantillon et l'air de l'enceinte (force motrice du refroidissement) s'amoindrit.

4.1. Comparaison des profils de TTMO dans de l'eau et dans du lait ½

Les barèmes thermiques mis en œuvre lors des TTMO à 100 °C pendant 5 et 20 min dans les matrices eau et lait ½ ont été suivis grâce aux enregistrements de température et puissance, afin de déterminer un éventuel effet de la matrice sur le profil thermique.

Le profil temporel de puissance micro-ondes était différent pour les échantillons préparés dans les matrices lait ½ et eau, principalement lors de la phase de maintien en température, alors que le profil de température était similaire pour les deux matrices (Figure 27).

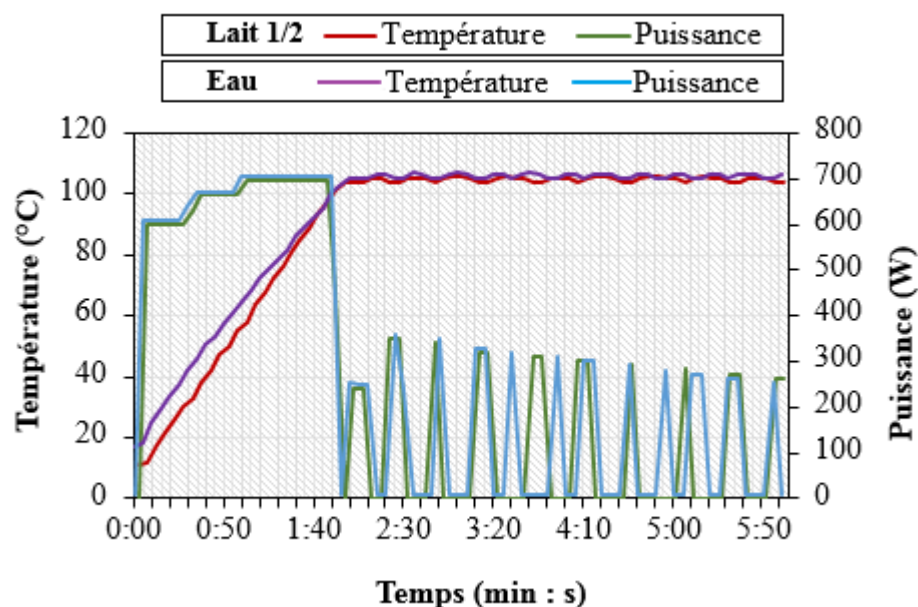


Figure 27. Comparaison des profils de température et de puissance micro-ondes lors d'un TTMO en mode (t ; T) de 5 min à 100 °C de solutions de Vit C préparée dans de l'eau et dans du lait ½.

Un taux de chauffage irrégulier est observé dans l'eau et dans le lait en raison de la faible profondeur de pénétration des micro-ondes.

4.2. Comparaison des pertes en vitamines B1 et C dans du lait

Les résultats obtenus au four à micro-ondes (TTMO en mode (t ; T)) dans du lait ½ et de l'eau sont présentés dans le Tableau 19.

Tableau 19. Comparaison de la rétention en vitamine B1 ($C_0 = 20 \mu\text{g/mL}$) et C ($C_0 = 130 \mu\text{g/mL}$) pour les TTMO en mode (t ; T) dans de l'eau et dans de lait ½ ($n = 3$).

Milieu	Temps (min)	Vitamines seules		Vitamines en mélange (B1 + C)	
		Rétention en Vit C (%)	Rétention en Vit B1 (%)	Rétention en Vit C (%)	Rétention en Vit B1 (%)
Eau	5	$84,2 \pm 0,5^{cd}$	$97,7 \pm 1,7^{CD}$	$96,0 \pm 0,8^{ab}$	$100,4 \pm 2,5^{BCD}$
	20	$74,5 \pm 0,4^d$	$98,0 \pm 2,7^{CD}$	$79,1 \pm 0,1^d$	$99,1 \pm 1,5^{CD}$
Lait ½	5	$79,8 \pm 1,7^{cd}$	$90,3 \pm 3,1^D$	$104,8 \pm 1,8^a$	$109,2 \pm 3,8^{BC}$
	20	$90,8 \pm 7,7^{bc}$	$112,1 \pm 6,3^B$	$101,3 \pm 1,1^{ab}$	$133,4 \pm 1,9^A$

Les taux de rétention en Vit C (resp. B1) seule et en mélange associés à des lettres minuscules (resp., majuscules) en exposant sont significativement différents ($p < 0,05$, $n = 3$).

Pour un TTC en mode (t ; T), les mêmes expérimentations ont été menées dans l'eau et le lait ½ (Tableau 20).

Tableau 20. Comparaison de la rétention en vitamine B1 ($C_0 = 20 \mu\text{g/mL}$) et C ($C_0 = 130 \mu\text{g/mL}$) après TTC en mode (t ; T) dans de l'eau et dans du lait ½ (n = 3).

Milieu	Temps (min)	Vitamines seules		Vitamines en mélange (B1 + C)	
		Rétention en Vit C (%)	Rétention en Vit B1 (%)	Rétention en Vit C (%)	Rétention en Vit B1 (%)
Eau	5	44,3 ± 4,2 ^b	84,4 ± 3,0 ^C	43,6 ± 7,6 ^b	98,0 ± 5,9 ^{ABC}
	20	41,6 ± 1,3 ^b	83,2 ± 3,4 ^C	46,4 ± 4,8 ^b	101,7 ± 5,6 ^{AB}
Lait ½	5	84,3 ± 0,3 ^a	94,5 ± 1,0 ^{ABC}	81,9 ± 1,0 ^a	90,1 ± 1,0 ^{BC}
	20	76,7 ± 1,1 ^a	105,9 ± 5,7 ^A	79,1 ± 5,4 ^a	96,2 ± 5,1 ^{ABC}

Les taux de rétention en Vit C (resp., B1) seule et en mélange associés à des lettres minuscules (resp., majuscules) en exposant sont significativement différents ($p < 0,05$, n = 3).

Dans le cas du TTC, la Vit C est significativement altérée et l'influence protectrice du lait ½ est démontrée (rétention supplémentaire en Vit C de 40 % environ par rapport à l'eau). Dans le TTMO, la Vit C est peu altérée et l'effet protecteur du lait ½ n'est pas observé. Par contre en mélange avec la Vit B1, on retrouve 10 à 20 % plus de Vit C dans du lait ½ que dans l'eau après TTMO.

La Vit B1 est peu sensible au TT quelle que soit la matrice eau ou lait ½ utilisée. La rétention en Vit B1 dépasse les 100 % car le lait contient naturellement de la Vit B1 qui est dosée simultanément avec celle qui est rajoutée avant les TT.

Il est intéressant de mentionner que la teneur en Vit C augmente avec le temps de traitement dans le lait : en effet, ceci peut être dû à la libération progressive de la vitamine. Cette observation est en accord avec l'utilisation industrielle du micro-onde pour faciliter l'extraction de tout type de molécule, où l'énergie électromagnétique micro-ondes est utilisée pour rompre les liaisons entre composés et favoriser leur extraction.

Il a déjà été démontré que le temps, la température, le pH et, dans une moindre mesure, la composition de la matrice contrôlent la rétention de Vit C après TTMO, alors que le temps, la température et le type de matrice sont les principaux paramètres physico-chimiques influençant la rétention finale de la Vit C après TTC.

Dans la cette dernière partie de l'étude, l'impact du lait ½, du SMUF et de l'eau sur la rétention en Vit C après TT a été comparé (Tableau 21). Le pH du lait écrémé a été mesuré à 6,4, ce qui était très proche du pH natif du SMUF. Pour rendre les résultats plus clairs, il a été choisi de comparer

seulement les résultats de rétention en Vit C après TTC et TTMO à 100 °C pendant 5 min pour ces trois solutions.

Tableau 21. Rétention moyenne en Vit C ($C_0 = 130 \mu\text{g/mL}$) dans l'eau, le SMUF et le lait $\frac{1}{2}$ après TTC et TTMO en mode (t ; T) à 100 °C pendant 5 min (n = 3).

Traitement thermique (t ; T)	Milieu	Rétention de la Vit C (%)
TTC	Eau	$40,8 \pm 4,4^d$
	SMUF	$56,4 \pm 3,3^c$
	Lait $\frac{1}{2}$	$64,2 \pm 1,8^{bc}$
TTMO	Eau	$85,2 \pm 0,7^a$
	SMUF	$74,7 \pm 1,8^{ab}$
	Lait $\frac{1}{2}$	$76,6 \pm 4,6^a$

Les taux de rétention de Vit C associés à des lettres différentes en exposant sont significativement différents ($p < 0,05$, n = 3).

L'impact déjà démontré du type de solution sur la rétention en Vit C après TTC a été confirmé; la rétention en Vit C est améliorée selon l'ordre suivant : lait $\frac{1}{2}$ > SMUF > eau. En dépit de l'effet protecteur du pH acide de la solution aqueuse pure, la rétention en Vit C est meilleure dans le SMUF et le lait, ce qui montre que l'influence de la composition de la matrice est supérieure à l'effet du pH sur la rétention de la Vit C après TTC. La meilleure rétention de la Vit C dans le lait $\frac{1}{2}$ par rapport au SMUF indique que certains composants du lait comme les protéines peuvent avoir un effet protecteur contre la dégradation thermique de la Vit C ^{116,117}. Dans le cas du TTMO, la Vit C est moins dégradée et l'influence protectrice éventuelle des matrices est peu apparente.

V. PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE 2

La rétention de Vit C après TTC et TTMO a été évaluée à 4 températures allant de 40 à 100 °C, pour des temps de traitement allant jusqu'à 20 min, dans de l'eau pure, de l'ultrafiltrat de lait simulé et du lait demi-écrémé à pH natif et ajustés.

Tout d'abord, l'influence négative, bien connue dans la littérature, du temps et de la température sur la rétention en Vit C a été trouvée à la fois dans le TTC et le TTMO. La cinétique de dégradation de la Vit C dans l'eau pendant le TTC a été déterminée avec un modèle de réaction de second ordre et l'énergie d'activation a été évaluée à $45,15 \pm 2,71 \text{ kJ.mol}^{-1}$ en accord avec la littérature.

Le TTC a fortement affecté la rétention en Vit C, avec des pertes importantes jusqu'à 60 %. Quels que soit le barème thermique et le type de matrice, le TTMO a permis une meilleure rétention en Vit C.

En ce qui concerne l'influence du milieu, le TTC a conduit à une plus grande rétention de Vit C dans le SMUF que dans l'eau, ce qui montre l'effet protecteur des minéraux du lait et de la force ionique contre la dégradation thermique de la Vit C. Dans l'eau et le SMUF, le pH acide a un effet protecteur sur la Vit C.

La rétention en Vit C après traitement thermique est meilleure dans le lait ½ (milieu de réhydratation du mix industriel) impliquant que les protéines de lait ont vraisemblablement un effet protecteur contre l'altération thermique de la Vit C. Dans ce milieu, la TTMO préserve mieux la Vit C que le TTC, ce qui montre que le TTMO est une excellente alternative au TTC pour améliorer la rétention en Vit C dans les aliments.

La Vit C est la vitamine la plus sensible aux différents types de traitements thermiques étudiés. Elle a été utilisée comme marqueur de dégradation thermique de la teneur en vitamines. De plus, grâce à ses propriétés antioxydantes, la variation de son activité antioxydante a été étudiée dans les différentes conditions d'encapsulation comme indicateur supplémentaire de la préservation de la qualité du produit thermisé. La Vit C a été utilisée comme marqueur de référence thermosensible, et une matrice d'encapsulation a été développée afin de la protéger de l'effet du traitement thermique lors de la préparation du produit industriel.

CHAPITRE 3 : Choix de la méthode et de la matrice pour l'encapsulation de la vitamine C à l'échelle du laboratoire

I. INTRODUCTION

Dans ce chapitre, la dégradation de la Vit C et de la Vit B2 dans le mix industriel est évaluée par l'application des deux types de TT représentatifs déjà présentés (TTC et TTMO) et les résultats obtenus dans ces milieux complexes sont utilisés par la suite comme base de comparaison pour le développement d'une matrice d'encapsulation destinée à protéger ces vitamines.

Une étude bibliographique des méthodes d'encapsulation utilisées dans le domaine agro-alimentaire ainsi que des matrices les plus utilisées est effectuée, afin de permettre le choix de la méthode et la matrice d'encapsulation les plus adaptées à l'encapsulation de la Vit C en conditions industrielles.

Différentes matrices et conditions d'encapsulation ont donc été utilisées pour produire des poudres contenant la Vit C encapsulée. Les poudres de Vit C encapsulée ont ensuite été caractérisées en mettant l'accent sur les propriétés fonctionnelles des poudres (aptitudes à la réhydratation et à la conservation), ainsi que sur le rendement d'encapsulation et la capacité des matrices alimentaires étudiées à protéger la Vit C après TT.

Ces essais à l'échelle du laboratoire ont servi de base pour le choix des matrices d'encapsulation et des conditions de procédé adaptées à l'échelle industrielle.

Les objectifs de ce chapitre sont de :

- a.** *Déterminer à partir d'une étude bibliographique les méthodes et matrices d'encapsulation de la Vit C les plus adaptées aux contraintes industrielles.*
- b.** *Mettre en œuvre des traitements thermiques représentatifs des conditions de préparation des produits industriels d'intérêt.*
- c.** *Caractériser les fonctionnalités des poudres de Vit C encapsulée en vue d'optimiser leurs aptitudes à la réhydratation et à la conservation et quantifier le taux d'encapsulation selon le type de matrice et les conditions d'encapsulation.*

II. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Les vitamines sont essentielles pour les fonctions normales du corps humain et elles sont souvent présentes en quantité insuffisante dans l'alimentation. Afin de pallier d'éventuelles carences, des aliments ou des compléments alimentaires enrichis en ces molécules sont développés à l'échelle industrielle. Dans ce genre de produits, les vitamines sont habituellement protégées par encapsulation. L'encapsulation assure non seulement leur conservation pendant le stockage, la reconstitution, la cuisson et/ou l'ingestion, mais augmente également la quantité de molécules biodisponibles dans les aliments, les boissons et les produits pharmaceutiques. De nos jours, un large éventail de techniques d'encapsulation est utilisé dans l'industrie ; il diffère selon la nature des molécules encapsulées, le domaine d'application du produit et la composition de la matrice d'encapsulation ¹¹⁸.

La microencapsulation est définie comme « la technologie d'emballage des matières solides, liquides et gazeuses en petites capsules qui libèrent leur contenu à des taux contrôlés pendant des périodes prolongées ». Cette technologie présente un intérêt significatif pour le secteur pharmaceutique (par exemple pour la délivrance de médicaments et de vaccins), mais elle est également importante pour l'industrie alimentaire ¹¹⁹.

Le développement d'une méthode d'encapsulation dépend de plusieurs critères ¹²⁰ :

- Capacité de charge : la capacité de charge est une mesure de la masse de matière encapsulée par unité de masse du matériau de support. Idéalement, une matrice d'encapsulation doit avoir une capacité de charge la plus élevée possible.
- Taux d'encapsulation : le rendement d'encapsulation est une mesure de la capacité de la matrice d'encapsulation à retenir le matériau encapsulé au cours du temps.
- Protection contre la dégradation chimique : la matrice d'encapsulation doit être conçue pour protéger le matériau encapsulé contre certains mécanismes de dégradation tels que l'oxydation ou l'hydrolyse. Ces réactions de dégradation peuvent être favorisées par la chaleur, la lumière, l'oxygène ou la présence de certains composés chimiques activateurs.
- Compatibilité avec la matrice alimentaire : la matrice d'encapsulation doit être compatible avec la base alimentaire, c'est-à-dire ne pas nuire à l'aspect, à la texture, à l'arôme, à la stabilité ou à la composition nutritionnelle du produit final.

- **Qualité alimentaire** : la matrice d'encapsulation doit être réalisée à partir d'ingrédients de qualité alimentaire en utilisant des technologies de traitement facilement mises en œuvre.
- **Production économique** : la matrice d'encapsulation doit pouvoir être fabriquée en utilisant des ingrédients peu coûteux. il faut s'assurer que les avantages obtenus en encapsulant le composant fonctionnel (par exemple une durée de conservation améliorée, une commercialisation améliorée, une nouvelle fonctionnalité) l'emportent sur les coûts supplémentaires associés à l'encapsulation.
- **Bioactivité** : la matrice d'encapsulation doit soit améliorer, soit préserver la biodisponibilité du composant encapsulé.

1. Types d'encapsulation

L'encapsulation peut être définie comme un procédé permettant de piéger une substance dans une autre substance, produisant ainsi des particules ayant des diamètres de quelques nanomètres à quelques millimètres. La substance encapsulée peut être appelée matière de cœur, phase active, remplissage, phase interne ou charge utile. La substance encapsulante peut être appelée revêtement, membrane, coquille, matériau de support, matériau de paroi, phase externe ou matrice. Le matériau support des encapsulés utilisés dans des produits alimentaires doit être de qualité alimentaire et capable de former une barrière entre l'agent actif et son environnement ¹²¹. Elle est largement utilisée dans les domaines agro-alimentaire, pharmaceutique, cosmétique et chimique afin de préserver des constituants variés, telles que des huiles, arômes, colorants, minéraux et enzymes ¹²². Une large gamme de biopolymères peut être utilisée pour l'encapsulation de substances actives (Tableau 22).

Tableau 22. Matériaux d'encapsulation ¹²³.

Origine	Polymères	Lipides	Protéines
Végétale	Amidon	Acides gras	Gluten
	Cellulose	Glycérides	Isolats (de soja, de pois, etc.)
	Exsudats végétaux	Cires	
	- Gomme arabique		
	- Gomme de karaya	Phospholipides	
	- Gomme de mesquite		
Marine	Extraits végétaux		
	- Galactomannans		
	- Extrait de soja soluble		
	Polysaccharides		
	Carraghénane		
	Alginate		
Microbienne/animale	Xanthane	Acides gras	Gélatine
	Gellane	Glycérides	Caséines
	Dextrane	Cires	Protéines solubles
	Chitosane	Phospholipides	

Les matériaux d'encapsulation typiques comprennent la gomme d'acacia, les maltodextrines, l'amidon et leurs mélanges. D'autres polysaccharides (alginate, carboxyméthylcellulose, gomme de guar) et protéines (protéines de lactosérum, protéines de soja, caséinate de sodium) peuvent être utilisés comme matériau dans le séchage par atomisation ¹²⁴. En tant que macronutriments vitaux dans les aliments, les protéines possèdent des propriétés fonctionnelles uniques, y compris leur capacité à former des gels et des émulsions, ce qui leur permet d'être un matériau idéal pour l'encapsulation de composés bioactifs ¹²⁵. L'industrie des arômes utilise de la gomme arabique comme stabilisant dans les applications de séchage par atomisation, où la gomme encapsule le composé d'arôme, en le protégeant de l'oxydation et de la volatilisation ¹²⁶. La cellulose modifiée a été adaptée avec succès pour la microencapsulation d'huile de poisson ¹²⁷. Il a été suggéré que les phospholipides de tournesol puissent être utilisés comme émulsifiants naturels pour former des systèmes d'administration ω -3 à base de nanoémulsion appropriés pour certains types d'aliments et de boissons ¹²⁸.

Les propriétés physico-chimiques (caractère hydrophobe/hydrophile, solubilité, etc.) et la concentration en substances actives sont des facteurs déterminants pour le choix du mode d'encapsulation et des biopolymères utilisés pour former la matrice d'encapsulation. Les principales propriétés recherchées pour les capsules produites sont : (1) stabilité physique et

chimique en lien avec les propriétés physicochimiques du milieu de reconstitution, (2) résistance au cisaillement et (3) résistance au chauffage. La libération des micronutriments doit survenir juste avant consommation ou au cours de la séquence de digestion-absorption ¹¹⁹. Les teneurs en enzymes digestives et les variations de pH de l'environnement gastrique et intestinal sont ainsi des paramètres prépondérants dans le relargage des substances actives ¹²⁹.

Deux structures de vecteurs d'encapsulation sont les plus souvent utilisées : le modèle « matriciel » qui correspond au piégeage de la substance active de manière homogène dans une matrice et le modèle « cœur-couronne » qui consiste en l'encapsulation par enrobage de la substance active (cœur) dans une matrice (couronne) ¹³⁰ (Figure 28).

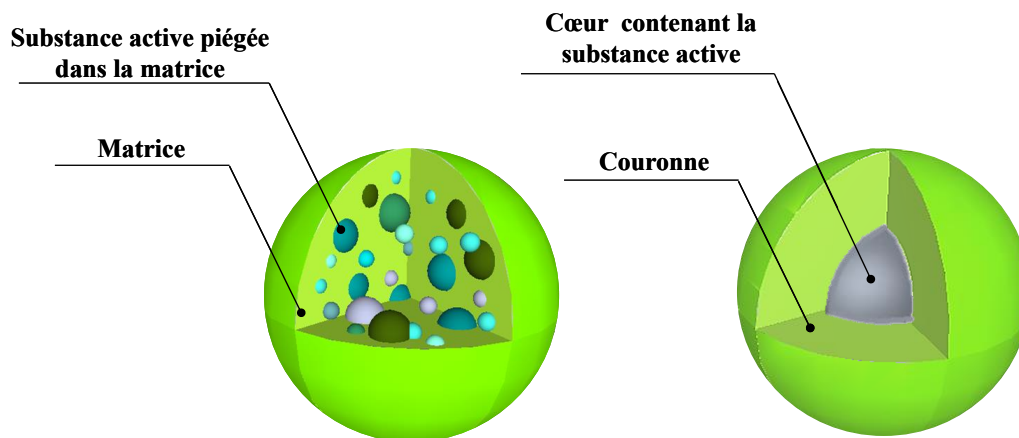


Figure 28. Capsules de type matriciel (à gauche) et cœur-couronne (à droite) adapté de Madène et al. (2006).

1.1. Encapsulation cœur-couronne

L'encapsulation type cœur-couronne correspond à la présence d'une enveloppe autour de l'agent actif. Ce type d'encapsulation se réfère aussi aux termes capsule, mono-cœur ou réservoir. L'application d'une pression suffisante ou la solubilisation de la couronne conduit à la rupture du réservoir de la capsule et à la libération de son contenu. Les procédés permettant d'obtenir des capsules cœur-couronne sont l'enrobage en lit fluidisé, l'émulsification, la coacervation et la co-extrusion.

1.1.1. *Enrobage en lit fluidisé*

L'enrobage en lit fluidisé est une technique dans laquelle un enrobage est appliqué sur les particules de poudre selon un procédé discontinu ou continu. Les particules de poudre sont mises en suspension dans un courant d'air à une température donnée et des gouttelettes de solution enrobante sont pulvérisées dans le lit fluidisé. Trois types de lit fluidisé pour l'enrobage existent, ils diffèrent selon la manière de pulvériser la solution d'enrobage (Figure 29). La solution d'enrobage doit avoir une viscosité acceptable pour permettre son pompage et sa pulvérisation, elle doit être thermiquement stable et en mesure de former un film sur la surface de la particule. La température de l'air de fluidisation est telle que l'enrobant sèche et devient solide à la surface de la particule de poudre initiale contenant la substance active à encapsuler ¹³¹.

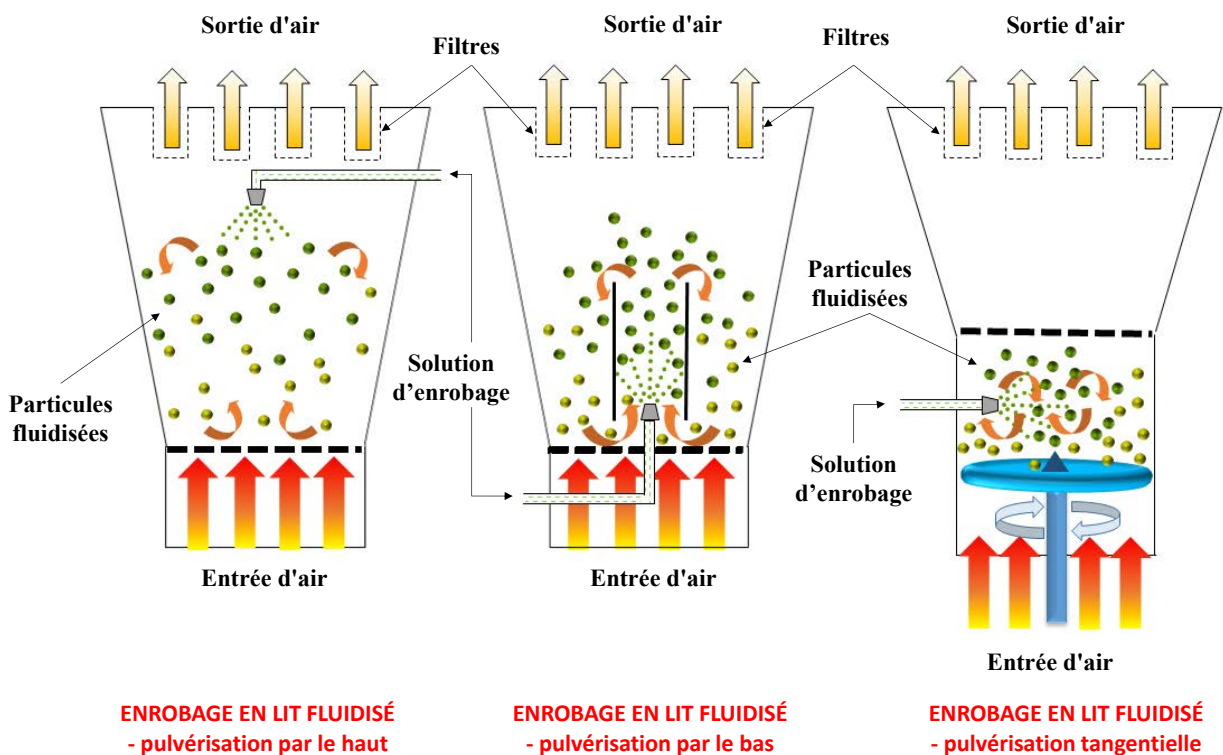


Figure 29. Types de lit fluidisé suivant la position de la buse de pulvérisation produisant les gouttelettes de solution d'enrobage adapté de Champagne et Fustier (2007) ¹¹⁹.

L'enrobage en lit fluidisé est très utilisé dans l'industrie alimentaire, où une grande variété de versions encapsulées des ingrédients alimentaires et des additifs sont disponibles ¹³² pour la Vit C, les vitamines du groupe B, l'ascorbate de sodium, et une variété de mélanges vitamines/minéraux ¹³³. Par exemple, le β -carotène (vitamine A) a été encapsulé dans

l'hydroxypropylcellulose en lit fluidisé avec de très bonnes caractéristiques des poudres obtenues ¹³⁴.

1.1.2. *Émulsification*

La plupart des vecteurs d'encapsulation à base de lipides sont produits en utilisant la technologie de l'émulsion. Généralement, une émulsion est constituée d'au moins deux liquides non miscibles (habituellement huile et eau), l'un des liquides étant dispersé sous forme de petites gouttelettes sphériques dans l'autre ^{135,136}. Les émulsions sont des systèmes à deux phases cinétiquement stables mais thermodynamiquement instables (les deux phases ont tendance à se séparer). Pour prévenir la séparation de phases dans une émulsion, il est important de bien choisir la composition des deux phases et de rajouter des émulsifiants si besoin ^{136,137}. Les émulsions sont généralement produites par un cisaillement élevé d'une solution diphasique, par exemple avec un système d'homogénéisation, un moulin colloïdal, un mélangeur à fort cisaillement ou un récipient agité préférentiellement équipé de chicanes.

Les doubles émulsions sont un bon moyen d'encapsulation de la riboflavine (vitamine B2) ¹³⁸. Les émulsions doubles monodisperses de type E/H/E (eau dans l'huile dans l'eau) de qualité alimentaire permettent une conservation de la Vit C supérieure à 80 % lors d'un stockage de 10 jours ¹³⁹. Toutes les émulsions de type eau dans l'huile E/H (huile de soja et émulsifiant hydrophobe de qualité alimentaire) utilisées pour l'encapsulation de la Vit C sont stables pendant plus de 30 jours à 4 ou 25 °C après 30 jours de stockage ¹⁴⁰. Les émulsions de vitamine D et d'acétate de vitamine E sont relativement stables (en termes de taille des gouttelettes) et il n'y a pas d'impact majeur du type de tensioactif non ionique (Tween 20, 60 ou 80) sur les propriétés des émulsions ¹⁴¹.

1.1.3. *Coacervation*

Les coacervats (Figure 30) sont obtenus par l'intermédiaire d'un mécanisme de séparation de phases liquide-liquide d'une solution aqueuse, avec une phase riche en polymère (appelée coacervat) et une phase pauvre en polymère.

Selon le type de polymère présent, le mécanisme de coacervation est qualifié de simple lorsqu'il se rapporte aux procédés faisant intervenir la désolvatation d'un seul polymère par l'un des facteurs suivants : abaissement de température, addition d'un non solvant, addition d'électrolytes, addition d'un deuxième polymère incompatible, et de complexe lorsqu'il s'agit d'une désolvatation

simultanée de deux polyélectrolytes hydrosolubles portant des charges opposées provoquée par une modification de pH du milieu aqueux. Les coacervats utilisés pour encapsuler l'agent actif sont le plus souvent de type complexe. Leur coque est souvent composée de gomme arabique et de gélatine. La technologie a été développée par la National Cash Register Co. dans les années 1950 et a été la base du papier autocopiant sans carbone, le premier produit commercial micro-encapsulé.

Les nanoparticules sont des systèmes porteurs présentant des diamètres inférieurs à 1 μm qui peuvent être nommés nanocapsules ou nanosphères en fonction de leur composition. La présence d'huile dans les nanocapsules conduit à une structure cœur-couronne, tandis que son absence assure une organisation matricielle des chaînes polymères ¹⁴². Des protéines de blé, les gliadines, ont été utilisées pour produire des nanosphères par coacervation simple ¹⁴³.

L'utilisation de la technique de double émulsion avant la coacervation complexe de la Vit C a permis d'obtenir des microcapsules avec un noyau hydrophile. Le taux d'encapsulation était alors élevée (environ 98 %). La stabilité de la Vit C était meilleure dans la microcapsule qu'en solution ¹⁴⁴.

1.1.4. *Co-extrusion*

La co-extrusion est une technique d'extrusion qui utilise une buse concentrique, qui peut être fixe, en rotation ou en vibration. Cette méthode peut être utilisée pour préparer des microbilles sphériques contenant l'agent actif dans un noyau hydrophobe et une coque hydrophile ou hydrophobe produite par gélification (par exemple, avec de l'alginate de calcium ou du carraghénane de potassium) ou par refroidissement (lorsque de la gélatine ou des lipides solides à température ambiante sont utilisés).

La Vit C a été encapsulée dans une matrice de maltodextrine vitreuse à faible dextrose équivalent par extrusion. La méthode peut permettre d'augmenter la teneur en Vit C dans les extrudats finaux jusqu'à 18,6 g pour 100 g d'extrudat, avec un rendement supérieur à 96 % ¹⁴⁵.

1.2. *Encapsulation matricielle*

L'agent actif, dans les capsules de type matriciel, est beaucoup plus dispersé dans le matériau support : il peut être sous la forme de petites billes réparties de façon homogène dans la capsule. Avec ce type d'encapsulation, les agents actifs sont en général également présents à la surface (sauf

si un enrobage supplémentaire est réalisé), contrairement à ceux du type cœur-couronne qui sont emprisonnés dans le cœur.

1.2.1. *Séchage par atomisation*

Le séchage par atomisation est l'un des plus anciens procédés pour encapsuler un agent actif. Il est si commun dans le domaine alimentaire qu'il n'est pas toujours perçu comme un procédé d'encapsulation. Le séchage par atomisation de l'agent actif est généralement obtenu en dissolvant, émulsionnant ou dispersant l'agent actif dans une solution aqueuse du matériau de support, puis le mélange est dispersé sous forme de fines gouttelettes dans un courant d'air chaud ^{146,147}. Au cours de ce processus, un film des constituants de concentrat (comme les protéines dans le cas des poudres de lait) se forme rapidement à la surface des gouttelettes, ce qui retient les molécules actives, tandis que les molécules d'eau, plus petites mais aussi plus sensibles à l'évaporation, s'échappent vers l'air ambiant.

C'est la méthode la plus courante disponible à l'échelle commerciale pour l'encapsulation des ingrédients alimentaires (Abbas et al. 2012a). Ce procédé continu est éprouvé, économique, simple et permet aisément l'extrapolation des conditions d'atomisation à une échelle supérieure.

L'efficacité de la microencapsulation par atomisation de l' α -tocophérol (vitamine E) avec un isolat de protéines de soja a été augmentée de 79,7 % à 94,8 % et l'efficacité de la microencapsulation de la Vit C a été réduite de 91,8 % à 57,3 %. Inversement, la fixation de groupes cationiques ammonium quaternaire à des chaînes protéiques a augmenté la solubilité de l'isolat de protéines de soja natives et amélioré l'efficacité de microencapsulation de la Vit C ¹⁴⁸. En effet, la taille des micelles de caséine a augmenté, ce qui a abouti à des poudres à surface rugueuse.

Les isolats de protéines de légumineuses sont particulièrement intéressants pour encapsuler par atomisation la Vit C pour des applications concernant la santé humaine ¹⁴⁹. L'administration de Vit C encapsulée (obtenue par séchage par pulvérisation avec des copolymères de méthacrylate) par voie orale présente un grand potentiel thérapeutique dans le traitement du cancer colorectal ¹⁵⁰. Des microparticules uniformes formées d'un copolymère neutre (à base d'acrylate d'éthyle et de méthacrylate de méthyle) ont été utilisées pour l'encapsulation de la vitamine B12 par atomisation microfluidique ¹⁵¹.

Le séchage par atomisation est largement utilisé dans les procédés de fabrication alimentaire et pharmaceutique. Cette technique offre des temps de contact courts (5 - 100 s) et des températures relativement basses, permettant de préserver la saveur, la couleur et les teneurs en nutriments des aliments ^{152,153}.

Pour concevoir les propriétés des poudres en fonction de leur utilisation future, il est nécessaire de savoir identifier les principaux paramètres du procédé qui influencent les mécanismes de séchage et les optimiser sur la base des propriétés de poudre souhaitées. Des exemples de matrices d'encapsulation avec les conditions d'atomisation sont présentés dans le Tableau 23.

Tableau 23. Exemples de gammes de conditions d'atomisation adaptées.

Produit encapsulé	Matrice	Conditions de séchage			Référence
		T _{entrée} (°C)	T _{sortie} (°C)	Autres paramètres de procédé	
β-carotène (vitamine A)	Maltodextrine	170 ± 5	95 ± 5	50 % humidité relative	154
Jus de poire de cactus	Maltodextrine	205 et 225	-	Pressions d'air de pulvérisation de 1 à 2 bars	155
Jus de fruit de passion	Amidon dérivé de n-octényl succinate	180	-	Température d'alimentation de 25 °C et un débit d'alimentation de 6 mL/min	156
Pulpe de pequi	Amidon modifié	140	-	-	157
Vitamine A	Gomme arabique et huile de coco	150	88	-	158
Vitamine C	Eudragit® (Des copolymères dérivés d'esters d'acide acrylique et méthacrylique)	105	-	-	159
Vitamines B12 et C	Chitosane, chitosane modifié et alginate	120	65	Pression d'air de pulvérisation de 6 bars	160
Vitamine B9	Gomme arabique et matodextrine	220 ± 5	105 ± 10	-	161
Vitamine C	Gomme arabique et isolat des protéines solubles laitières	160	70	-	162

Pomme de cajou	Chitosane et isolat des protéines solubles laitières	185 ± 5	81,5 ± 1,5	-	163
α-tocophérol (vitamine E)	Huile de palme et concentrat de protéines solubles laitières	-	73 et 77	-	164
Extrait de piment	Huiles de carthame, tournesol et maïs et gomme arabique et maltodextrine	160 ± 2	70 ± 2	-	165
Acide nicotinique (vitamine B3)	Isolat de protéines solubles laitières	120	75	-	166
Vitamine C	Chitosane réticulé tripolyphosphate	175	-	Débit de la pompe de 3 mL/min, débit d'air comprimé de 10 L/min	167
Pulpe de poire de cactus et extrait éthanolique de poire de cactus	Maltodextrine ou inuline	140 - 160 ± 5 °C et 120 - 160 ± 5 °C	-	Débit d'air de 600 L/h, débit d'alimentation de 10 mL/min et pression d'atomisation de 1,38 bars	168
Huile végétale	Gomme d'acacia	200 ou 220 (± 2)	100 et 130	-	169
Huile de mandarine	Gomme arabique et maltodextrine DE 20	160 – 200	80 - 100	-	170
Miel	Maltodextrine et isolat de protéines solubles laitières	150	85	-	171
Huile de myrte de citron	Amidon modifié + maltodextrine, protéines de lactosérum + maltodextrine	180	60 - 70	-	172
Vitamine C	Amidon de riz et gélatine	120	92	-	173

1.2.2. *Spray-chilling et spray-cooling*

Le spray-chilling et le spray-cooling sont d'autres méthodes de fabrication de capsules cœur-couronne constituées d'une matrice lipidique ¹⁷⁴⁻¹⁷⁶, la différence entre ces deux techniques étant le point de fusion des lipides utilisés. En cas de spray-chilling, le point de fusion est dans la gamme de 34 - 42 °C, alors qu'il est plus élevé pour le spray-cooling. Le spray-cooling est un procédé continu ou discontinu permettant d'obtenir des rendements d'encapsulation élevés. Dans le procédé de spray-chilling, les particules sont maintenues à basse température dans une configuration similaire à la granulation par pulvérisation dans un lit fluidisé ¹²¹. L'agent actif peut être soluble dans les lipides ou présent sous forme de particules sèches ou d'émulsions aqueuses. Les gouttelettes de lipides fondus sont atomisées dans une chambre réfrigérée (avec une buse, une turbine ou par co-extrusion), ce qui entraîne la solidification des lipides et permet la récupération des particules fines encapsulant l'agent actif.

1.2.3. *Fusion par injection et par extrusion*

Les matières glucidiques peuvent être mélangées avec un agent actif à l'état fondu, à une température au-dessus de 100 °C, puis pressées à travers un ou plusieurs orifices (procédé d'extrusion) avant de subir une « trempe » pour induire l'état vitreux du matériau dans lequel l'agent actif a très peu de mobilité. En général, la transition vitreuse des capsules produites par extrusion est comprise entre 30 et 70 °C. Fondamentalement, deux procédés pour encapsuler l'agent actif dans des matières glucidiques à l'état fondu peuvent être distingués. L'un est l'injection à l'état fondu, dans laquelle la masse fondue (composée de saccharose, dextrine de malt, sirop de glucose, polyols et/ou d'autres mono- et di-saccharides) est pressée à travers un ou plusieurs orifices puis trempée dans un solvant froid déshydratant. Il s'agit d'un procédé d'extrusion verticale sans vis. Le matériau d'enrobage durcit au contact du solvant déshydratant, encapsulant ainsi l'actif ¹⁷⁷. Tous les résidus d'agent actif à l'extérieur de la capsule seront solubilisés par le solvant déshydratant. Les capsules réalisées sont solubles dans l'eau et ont des tailles de particules de 200 à 2 000 µm. L'encapsulation dans une matière glucidique à l'état fondu peut également être réalisée en continu en utilisant une extrudeuse avec une ou plusieurs vis. Ce procédé, très similaire à la fusion par injection, est appelé fusion par extrusion.

1.2.4. Préparation des microsphères par extrusion ou par émulsification

Les microsphères sont des microbilles constituées d'un réseau gélifié de biopolymères piégeant l'agent actif. Les microsphères sont généralement préparées en présence de l'actif (Figure 24). Le gel d'alginate de calcium est le plus répandu pour encapsuler une grande variété d'agents actifs, telles que des gouttelettes d'huile contenant arômes, probiotiques, levures ou enzymes. Ces agents actifs sont de taille relativement importante, car les petites molécules diffusent facilement à travers le réseau poreux du biopolymère. La gélification de l'alginate en présence de cations divalents peut être contrôlée facilement et elle ne nécessite pas de chauffage comme dans le cas des autres biopolymères gélifiants tels que l'agarose, l'agar-agar et le carraghénane. Différents procédés de fabrication de microsphères existent et sont présentés dans la Figure 30^{174,178}.

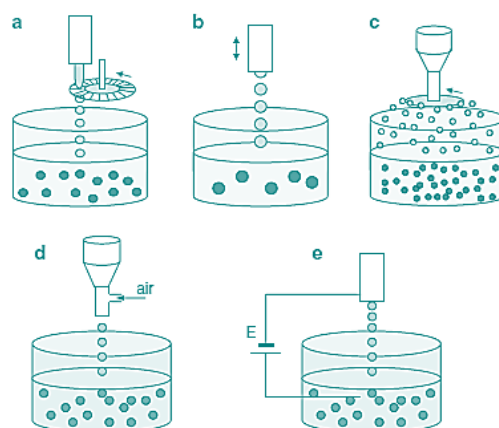


Figure 30. Différents procédés de fabrication de microsphères. Le mélange du matériau de matrice et de l'agent actif peut être pulvérisé par coupe-jet (a), pipette ou buse vibrante (b), turbine (c), buse bi-fluide (d), ou différence de potentiel électrostatique (e).

1.2.5. Lyophilisation

Une solution contenant la matrice d'encapsulation et l'agent actif peut être lyophilisée pour produire une structure poreuse. Tout d'abord, l'échantillon est congelé à des températures entre -90 et -40 °C, puis séché par sublimation à basse pression et température réduite (entre -90 et -20 °C). Après séchage, les pellicules fragiles obtenues peuvent être réduites en plus petits morceaux par broyage si nécessaire¹⁷⁹.

L'utilisation en quantités relativement élevées de cryoprotecteurs (comme 10 % de protéines de lait, 30 % de maltodextrine ou 10 % de disaccharides) peuvent aider à stabiliser les agents actifs sensibles comme les probiotiques ou les capsules sensibles comme les liposomes ¹⁸⁰.

1.3. Autres modes d'encapsulation

1.3.1. Liposomes

Les liposomes sont des vésicules sphériques de quelques dizaines à quelques milliers de nanomètres de diamètre. Ces vésicules sont composées d'une ou de plusieurs bicouches lipidiques qui permettent de séparer un milieu intravésiculaire d'un milieu extérieur ¹⁸¹ (Figure 31).

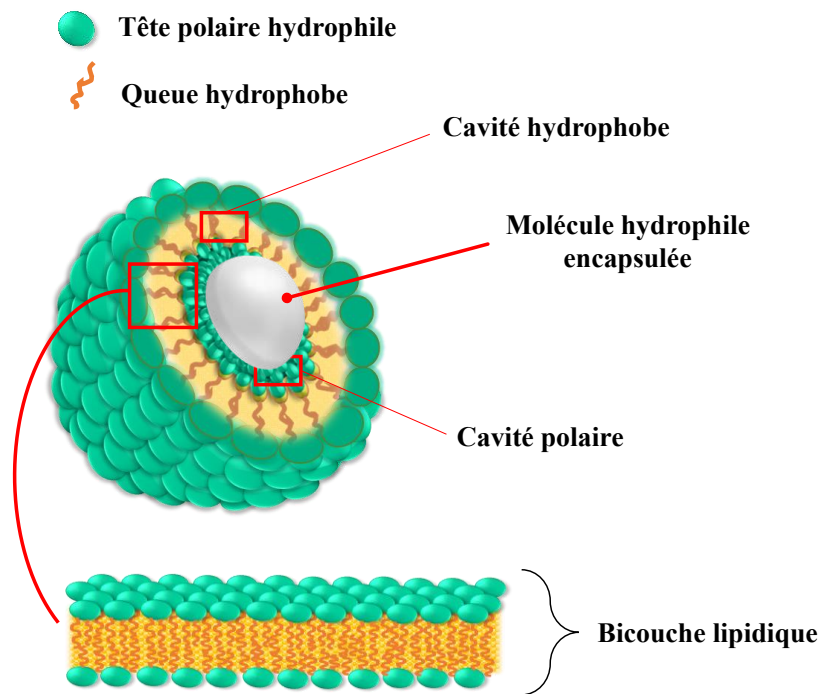


Figure 31. Schéma de structure de liposome.

Les liposomes se forment lorsque les phospholipides sont dispersés en milieu aqueux et exposés à des taux de cisaillement élevés, en utilisant, par exemple, la microfluidisation ou un moulin colloïdal. Le mécanisme sous-jacent à la formation des liposomes est essentiellement l'interaction hydrophile-hydrophobe entre les phospholipides et les molécules d'eau ¹⁸². L'agent actif peut être piégé à l'intérieur du cœur aqueux ou fixé à la membrane avec un meilleur rendement d'encapsulation ¹⁸³. La gamme de des liposomes s'étend de 30 nm à quelques microns ¹⁸⁴.

L'oxydation de la Vit C dans des systèmes modèles et dans des matrices alimentaires complexes a pu être ralentie par son incorporation dans des liposomes ¹⁸⁵.

1.3.2. Nanoparticules

L'utilisation de capsules de taille nanométrique pour la protection et la libération contrôlée de substances nutritives et d'ingrédients alimentaires bioactifs constitue un domaine d'intérêt croissant. Ceci s'explique par le fait que les nanoparticules pourraient être incorporées dans les produits alimentaires facilement, sans être soumises à la sédimentation, sans être remarquées par le consommateur et avec une biodisponibilité accrue ¹⁸⁶. Cependant, une évaluation de leurs risques potentiels s'impose d'autant plus que certaines nanoparticules métalliques sont suspectées d'avoir des effets délétères sur la santé humaine ¹⁸⁷.

La Vit C a été encapsulée avec succès dans des nanosphères créant ainsi des nanoparticules présentant diverses caractéristiques morphologiques en fonction de la concentration en Vit C ¹⁸⁸. Elle a été chargée dans des nanoparticules de chitosane par un procédé de sonication avec un taux d'encapsulation variant de 55 à 67 % ¹⁸⁹. La capacité de charge et le taux d'encapsulation du palmitate d'ascorbyle dans les nanoparticules étaient d'environ 8 – 20 % et 39 – 77 %, respectivement, lorsque la teneur initiale en palmitate d'ascorbyle se situait dans la plage de 25 à 150 % (p/p) de chitosane ¹⁹⁰. Il a été confirmé que la stabilité des nanoparticules de chitosane chargées en Vit C était réduite par la température mais que la stabilité interne était supérieure à la stabilité de surface ¹⁹¹. Par une méthode de gélification ionotrope (à partir d'un matériau ioniquement gélifiable au moyen d'une entité ionique de gélification), un nouveau système de production de nanoparticules à base de phosphate de chitosane de sodium a augmenté la durée de conservation et la libération de la Vit C ¹⁹².

1.3.3. Encapsulation par inclusion

L'encapsulation par inclusion est le plus souvent effectuée en utilisant la cyclodextrine ^{193,194}. Le mécanisme d'encapsulation par des cyclodextrines est schématisé dans la Figure 32.

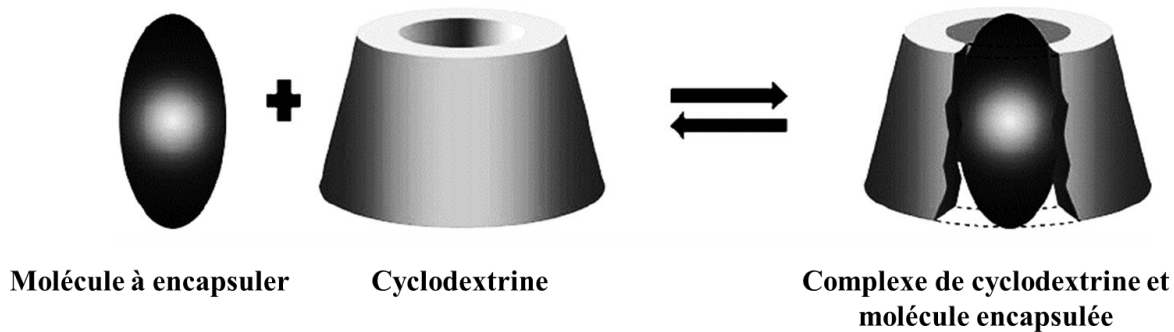


Figure 32. Schéma de l'interaction entre une molécule et une cyclodextrine permettant la stabilisation par encapsulation ¹⁹⁵.

Il a été trouvé que le palmitate de vitamine A peut être dissout dans un milieu aqueux par son inclusion dans la cavité des β -cyclodextrines ¹⁹⁶.

2. Matériaux d'encapsulation

Le choix des matériaux d'encapsulation est crucial non seulement pour la protection des molécules encapsulées mais aussi pour leur libération dans l'organisme. Les molécules encapsulées doivent être biodisponibles et bioaccessibles afin d'être absorbées lors de la digestion.

La FDA (Food and Drug Administration) a défini la biodisponibilité comme la vitesse à laquelle les substances actives contenues dans un produit médical ou alimentaire sont absorbées ¹⁹⁷. Un autre terme qui est couramment utilisé est l'accessibilité biologique, qui est définie comme la quantité d'un nutriment ingéré qui est disponible pour l'absorption dans l'intestin après la digestion ¹⁹⁸. Ainsi, il n'est pas équivalent de parler de biodisponibilité ou de bioaccessibilité.

La biodisponibilité d'un nutriment est liée à son absorption et peut être définie comme sa disponibilité pour les processus métaboliques et physiologiques normaux. Elle détermine les effets physiologiques bénéfiques de la consommation de nutriments, ainsi que la nature et la gravité des

effets indésirables lors d'apports excessifs. En raison de la variation considérable de la biodisponibilité des éléments nutritifs chez l'homme, les données de biodisponibilité de nutriments spécifiques doivent être prises en considération.

Dans la majorité des cas, la bioaccessibilité et la biodisponibilité d'un nutriment sont régies par les propriétés physicochimiques de la matrice alimentaire (et de la matrice d'encapsulation le cas échéant), qui affectent l'efficacité des mécanismes de digestion physique, enzymatique et chimique¹⁹⁹.

2.1. Polymères glucidiques

Il existe généralement deux manières différents de classification des polymères glucidiques : polysaccharides natifs naturels (extraits par exemple d'exsudats végétaux) et gommes/hydrocolloïdes obtenus par modification chimique de polysaccharides natifs (amidon et cellulose)²⁰⁰. Des glucides tels que des amidons, des sirops de maïs solides et des maltodextrines ont montré un potentiel intéressant comme agents d'encapsulation¹³³.

2.1.1. Amidon

L'amidon est un polysaccharide polymère de α -D-glucose de composition chimique générale $(C_6H_{10}O_5)_n$. L'amidon se compose de deux polysaccharides de constitution identique mais d'architecture moléculaire différente.

Il s'agit essentiellement de l'amylose linéaire et de l'amylopectine hautement ramifiée. Normalement, la teneur en amylose est comprise entre 20 % et 30 %, alors que la proportion d'amylopectine est d'environ 70 % à 80 %. La structure et la composition varient avec la source de l'amidon.

L'amidon est Generally Recognized as Safe (GRAS) pour le consommateur, peu coûteux, sans allergie et sans saveur. Certaines études comparatives ont montré que les systèmes à base d'amidon donnaient des taux d'encapsulation plus élevés et fournissaient une meilleure protection des ingrédients alimentaires (par exemple, huile de lin et arômes) que les systèmes à base de protéines ou de gomme arabique^{201,202}.

L'amidon est largement utilisé dans le procédé de micro-encapsulation par atomisation. Dans la littérature, il est suggéré que les canaux d'eau présents dans la matrice cristalline d'amidon extrait

des tubercules et racines, en particulier dans les amidons de tubercules, peuvent incorporer des molécules à encapsuler telles que des nutraceutiques, des médicaments, des composés aromatiques et des vitamines ²⁰³. Les produits d'amidon hydrolysé, comme les maltodextrines, sont des composés hydrophiles particulièrement adaptés à l'encapsulation de composés hydrosolubles ²⁰⁴. Le dextrose équivalent (DE) est une mesure du pouvoir réducteur résultant de l'hydrolyse de l'amidon, exprimée en g de glucose pour 100 g de matière sèche. La référence est la valeur 100 pour l' α -D-glucose pur. Les maltodextrines de DE compris entre 10 et 20 constitueraient le meilleur matériau d'encapsulation ²⁰⁵.

2.1.2. *Dérivés de l'amidon*

Les modifications chimiques, biochimiques et physiques de l'amidon sont connues. De nombreux produits fonctionnels dérivés de l'amidon sont commercialisés, notamment ceux qui sont réticulés, oxydés, acétylés, hydroxypropylés et partiellement hydrolysés (Figure 33). Le but de la transformation de l'amidon est de modifier la structure et d'affecter les interactions avec l'environnement de manière contrôlée, afin de renforcer et étendre la gamme d'applications industrielles des amidons.

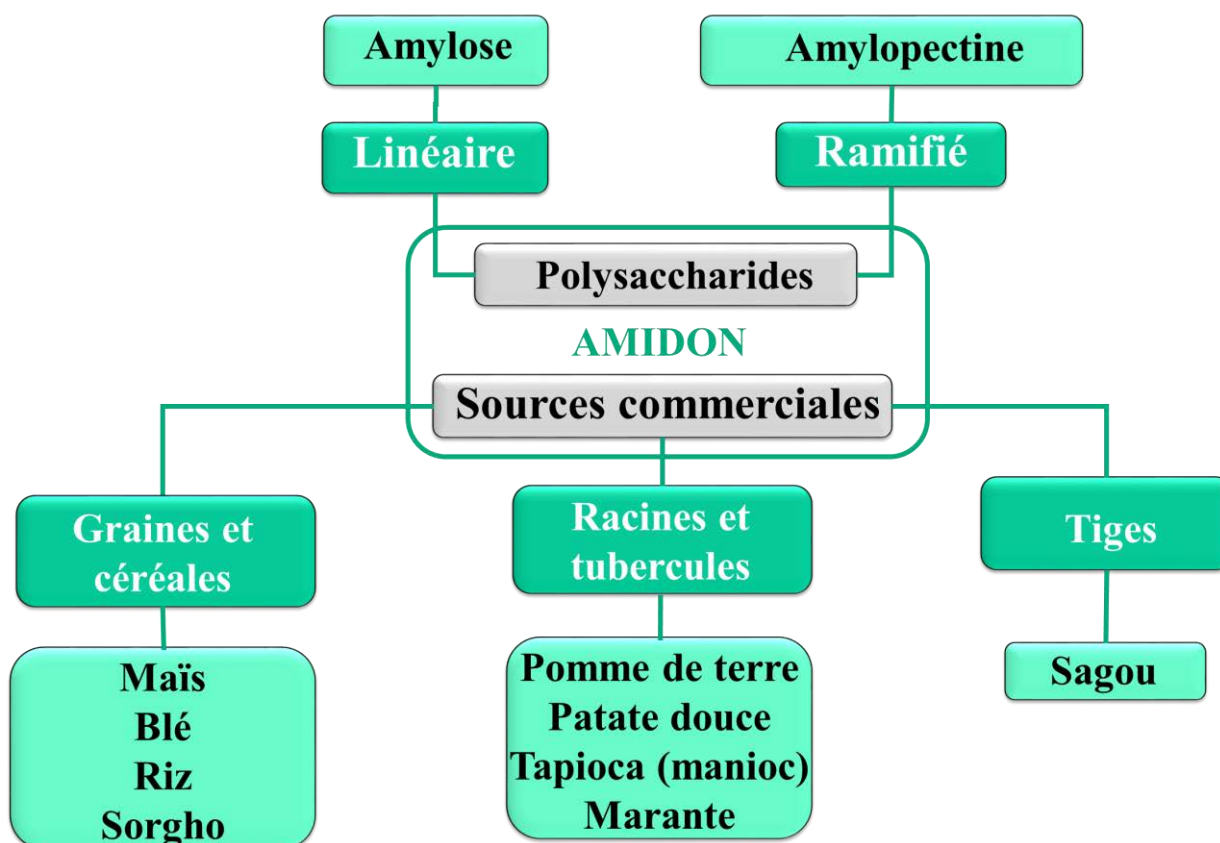


Figure 33. Diversité de l'amidon selon son origine.

2.1.3. Cellulose et dérivés de la cellulose

La cellulose ²⁰⁶ est un polymère de β -D-glucose. Les unités de la chaîne sont reliées par des liaisons β -(1,4)-glucosidiques. A la différence de l'amidon, où tous les groupes $-\text{CH}_2\text{OH}$ sont orientés du même côté du plan moléculaire, les groupes $-\text{CH}_2\text{OH}$ de la cellulose sont orientés en alternance au-dessus et en-dessous du plan, produisant ainsi de longues chaînes linéaires. En raison de l'absence de chaînes latérales, des molécules de cellulose peuvent s'organiser ensemble et former des structures rigides. Un gel d'hydroxypropylcellulose peut être utilisé pour l'encapsulation d'une phase huileuse chargée d'arôme ²⁰⁷. D'autres molécules hydrophobes peuvent être encapsulées en utilisant la cellulose : des microcapsules de polyphénols ont été préparées avec succès par un procédé de séparation de phase en utilisant l'éthylcellulose en tant que matériau d'enrobage ²⁰⁸.

2.1.4. *Exsudats et extraits de plantes*

Les exsudats de plantes et les extraits de polysaccharides sont des substances macromoléculaires complexes constitués d'oligomères et de polymères. Plusieurs matériaux utilisés pour l'encapsulation dans l'aliment sont des produits à base d'exsudats et d'extraits de plantes et sont nommés gommages végétales dans la pratique (gomme arabique, gomme tragacanth, gomme de caraya, gomme de mesquite, galactomannanes, pectines, etc.). La gomme arabique offre une plus grande protection de l'oléorésine que la maltodextrine et l'amidon modifié ²⁰⁹.

2.1.5. *Extraits marins*

Les algues peuvent être considérées comme une autre source presque illimitée de différents types de polysaccharides pour de nombreuses applications industrielles. Certains d'entre eux sont utilisés pour l'encapsulation dans le domaine alimentaire (carraghénanes, alginate). Alginates et carraghénanes entrent dans la préparation et l'enrobage de nombreux médicaments. Cet enrobage permet de préserver la substance active jusqu'à l'organe cible ²¹⁰. L'enrobage de microsphères de gélatine avec de l'alginate a fourni une protection importante pour *Bifidobacterium adolescentis* les conditions gastriques simulées, très acides. La désintégration des microsphères de gélatine revêtues d'alginate et la libération de cellules piégées se sont produites dans les conditions intestinales simulées.

2.1.6. *Polysaccharides d'origine microbienne ou animale*

Les polysaccharides produits par des biotechnologies mettant en œuvre des bactéries sont des biopolymères avec de nouvelles propriétés fonctionnelles. Les polymères de ce type intéressants pour les applications alimentaires sont le xanthane, le gellane, le dextrane et le chitosane. Des nanoparticules complexes de zéine/carboxyméthylchitosane ont été développées avec succès en tant que nouveau système d'encapsulation de la vitamine D3, en utilisant une méthode de dispersion liquide-liquide à faible énergie ²¹¹.

2.2. *Protéines*

Les protéines et les polysaccharides utilisés individuellement ou en combinaison peuvent être utilisés pour créer une variété de systèmes de vectorisation des molécules d'intérêt appropriés pour encapsuler des composants nutraceutiques et fonctionnels ¹²⁰. Les protéines alimentaires sont très

prometteuses pour le développement et l'ingénierie d'une gamme de nouvelles matrices GRAS avec le potentiel d'incorporer des composés nutraceutiques et de fournir une libération contrôlée après ingestion par voie orale ²¹². Les protéines les plus couramment utilisées pour l'encapsulation des ingrédients alimentaires par atomisation sont issues du lait (ou lactosérum) et de la gélatine.

2.2.1. *Gluten*

Le gluten est un mélange complexe de gliadines (protéines de gluten monomères) avec des masses molaires dans la plage de 3.10^4 à 8.10^4 g.mol⁻¹ ²¹³ et les gluténines (polymère de gluten) avec des masses molaires dans la plage de 8.10^4 à plusieurs millions de g.mol⁻¹ ²¹⁴. Les gliadines et les gluténines représentent environ 80 % des protéines contenues dans les semences de blé. Des microcapsules à base de gluten de blé sont adaptées pour la libération contrôlée et le maintien de la stabilité de l'huile de poisson encapsulée ²¹⁵.

2.2.2. *Protéines laitières*

Les protéines laitières aux propriétés technologiques intéressantes sont les caséines et les protéines du lactosérum. Les excellentes propriétés fonctionnelles des protéines leur permettent d'être un bon matériau d'encapsulation pour la microencapsulation par atomisation. En outre, les protéines possèdent une aptitude élevée à la liaison aux composés aromatiques ²¹⁶.

2.2.2.1. *Caséines*

Les caséines sont les phosphoprotéines prédominantes dans le lait. Les quatre protéines principales de la caséine sont très hétérogènes. Les caséines peuvent varier en termes de charge et d'hydrophobicité. Dans le lait, elles sont présentes sous la forme de micelles quasi-sphériques (masse molaire d'environ 2.10^5 - 2.10^6 kg.mol⁻¹ ²¹⁷. Les caséines forment près de 80 % de toutes les protéines présentes dans le lait. En solution, les caséines se regroupent sous une forme sphérique appelée micelle. La taille de la micelle se situe entre 100 et 500 nm, avec un diamètre moyen de 180 nm, et elle varie principalement selon l'espèce de l'animal, la saison et le stade de lactation.

Il a été montré que le caséinate de sodium a de meilleures propriétés d'encapsulation que la caséine micellaire ²¹⁸. Ce résultat a été expliqué par la conformation moléculaire, la haute diffusivité et le caractère amphiphile de certaines caséines individuelles.

2.2.2.2. Protéines solubles du lait

Les protéines solubles du lait sont principalement l' α -lactalbumine, la β -lactoglobuline, les immunoglobulines et l'albumine de sérum bovin, mais aussi de nombreuses protéines mineures. Leur concentration varie entre 14 et 20 % des protéines totales du lait. Les protéines globulaires peuvent être agrégées pour former des structures spécifiques (tubes, filaments ou particules) en les chauffant à un pH contrôlé ou à une force ionique donnée.

Le chauffage induit une augmentation de leur hydrophobicité de surface et de leur réactivité chimique (exposition de groupements thiols réactifs) ^{219–221}. Il a été montré que le séchage par atomisation entraîne une dénaturation et une agrégation de la β -lactoglobuline. Il a été mis en évidence que les traitements thermiques des protéines de lactosérum affectaient les propriétés fonctionnelles de la poudre séchée par atomisation, probablement par dénaturation des protéines ²²².

Parce qu'ils possèdent des propriétés fonctionnelles requises pour l'enrobage ²²³, les protéines de lactosérum ont été utilisés avec succès en tant que matériau d'encapsulation pour l'atomisation de la matière grasse laitière anhydre avec un rendement supérieur à 90 % ²²⁴.

2.2.2.3. Gélatine

Les macromolécules des gélatines ²²⁵ varient considérablement en taille et en charge. Cependant, elles présentent généralement une structure primaire caractéristique, déterminée par le collagène. La gélatine est un mélange hétérogène de polypeptides simples ou multi-brins, chacun de conformations lévogyres de longues hélices de proline et contenant entre 300 et 4 000 acides aminés ²²⁶. L'encapsulation de curcumine dans les microparticules de gélatine produites par atomisation électrohydrodynamique est un moyen efficace pour augmenter sa solubilité dans l'eau, améliorant sa dispersion dans les matrices alimentaires aqueuses, ainsi que sa bioaccessibilité ²²⁷.

3. Transition vitreuse

Dans les systèmes d'encapsulation amorphes, la stabilité des matériaux de base est liée à la mobilité moléculaire des matériaux de paroi. Les transitions de phase jouent un rôle important dans la plupart des procédés d'encapsulation lorsque l'objectif initial est de former une structure amorphe stable pour piéger les composés aromatiques et inhiber la mobilité des molécules encapsulées ²²⁸.

La transition vitreuse est un phénomène qui se produit dans les matériaux amorphes ou les régions amorphes dans les matériaux semi-cristallins. Dans l'état amorphe solide, les molécules ne sont pas ordonnées et le système est dit dans un état vitreux : le matériau est caractérisé par une viscosité interne élevée. La transition vitreuse décrit le passage d'un matériau dur et fragile à une masse fondue pendant le chauffage ou la transformation inverse en un liquide sur-refroidi (vitreux) après refroidissement rapide ²²⁹. Dans ces conditions, les molécules sont incapables de se réorganiser sous une forme cristalline, le liquide se fige, dû à sa viscosité très élevée qui limite la mobilité moléculaire ^{230,231}. Le concept de température de transition vitreuse (T_g) a été proposé pour contrôler les taux de mécanismes chimiques, enzymatiques et biologiques, fournissant ainsi un indice d'évaluation de la qualité ²³².

Pendant le chauffage, le système subit une transition vitreuse (caractérisée par une plage de température de transition vitreuse), passant d'un état vitreux à un état viscoélastique dans lequel la mobilité moléculaire est augmentée ²³³. Ce changement peut également se produire en augmentant la teneur en eau à une température constante, selon le mécanisme connu sous le nom d'effet plastifiant de l'eau.

La température de transition vitreuse est déterminée pour certaines poudres alimentaires (Tableau 24) et permet d'estimer leur comportement lors des procédés de fabrication ainsi que pendant le stockage ou le transport où elles sont susceptibles d'être exposées à des températures variables.

Tableau 24. Température de transition vitreuse de différents matériaux alimentaires ²³³.

Poudre	Tg (°C)
Lait écrémé	48 ± 4
Lait entier	57 ± 1
Caséine micellaire	68 ± 4
Caseinate de calcium	72 ± 3
Caséinate de sodium	64 ± 3
Protéines solubles	32 ± 4
Lactosérum de fromagerie chargé à 40 % d'huile de noix de coco	42 ± 4
Pérméat d'ultrafiltration	38 ± 1
Concentrat de protéines solubles à 35 % en base sèche	39 ± 3
Isolat de protéines solubles à 90 % en base sèche	80 ± 2
Maltodextrine DE* 12	de 98 à 105
Maltodextrine DE 19	93 ± 3
Maltodextrine DE 39	66 ± 3

* dextrose équivalent

Pour les produits qui contiennent de l'amidon, la température de transition vitreuse dépend de la source et de l'état de transformation. Quelques exemples de T_g de différents amidons sont présentés dans le Tableau 25 selon leur forme chimique.

Tableau 25. Température de transition vitreuse de certains amidons modifiés provenant de différentes sources botaniques ²³⁴.

Source d'amidon	T _g (°C)			
	Native	Acétylé	Hydroxypropylé	Réticulé
Pomme de terre	57 – 69	48 – 67	51 – 62	60 – 68
	57 – 70	55 – 64	nd*	59 – 68
Maïs	65 – 81	65 – 77	59 – 75	nd
	70 – 78	66 – 75	nd	nd
Maïs cireux	63 – 84	64 – 69	61 – 79	65 – 75
	68 – 73	nd	nd	67 – 72
Maïs hybride	60 – 78	71 – 84	nd	nd
Maïs à haute teneur en amylase	67 – 105	nd	66 – 95	nd
Blé	63 – 84	nd	55 – 71	63 – 76
	55 – 67	nd	46 – 55	61 – 72
Blé cireux	61 – 66	nd	nd	62 – 66
Riz	66 – 87	60 – 72	64 – 83	70 – 87
	63 – 92	nd	57 – 92	nd
Riz cireux	60 – 78	60 – 78	nd	61 – 78
	53 – 67	nd	nd	55 – 66

*nd : non disponible

4. Démarche expérimentale

Dans cette partie bibliographique, il est mis en évidence que les types de matrices d'encapsulation sont très dépendantes du moyen d'encapsulation utilisé. Il est donc important de choisir dans un premier temps le moyen d'encapsulation le plus adapté pour les besoins de cette étude et les matrices d'encapsulation qui conviennent à ce type de procédé ainsi qu'aux types de molécules à encapsuler. Le choix des matrices d'encapsulation doit également répondre aux problématiques industrielles (compatibilité alimentaire, respect de la formulation du mix industriel, protection contre le traitement thermique...). Les propriétés physico-chimiques et fonctionnelles des poudres produites avec ces matrices seront déterminées en utilisant des méthodes standardisées.

III. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Fabrication des poudres par atomisation

1.1. *Préparation des concentrés*

Différentes matrices d'encapsulation de la Vit C ont été testées : des matrices simples de 100 % PPCN (isolat de protéines de lait naturellement riche en micelles de caséine natives, Promilk 852 B, IDI SAS Arras, France), 100 % WPI (isolat de protéines solubles de lait, Promilk 852 FB1, IDI SAS Arras, France), 100 % DM (dextrine de maïs, Sigma-Aldrich) et un mélange 75 % PPCN/25 % zéine (protéines de maïs, Sigma-Aldrich). Comme les pertes les plus importantes en Vit C observées jusqu'à présent après TT s'élèvent à plus de 50 %, la matrice est élaborée pour contenir 200 mg de Vit C pour 100 g de poudre finale (pour comparaison, le mix est à 80 mg de Vit C pour 100 g de poudre).

La solution de chaque concentré était préparée la veille et laissée sous agitation pendant une nuit à 4 °C. La solution fraîchement préparée de Vit C était rajoutée dans le concentré juste avant de lancer le séchage par atomisation.

1.2. *Séchage*

Selon la bibliographie (Tableau 23), il a été décidé de fixer les températures de l'air d'entrée à 150, 175 et 200 °C en visant des températures de sortie respectives de 70, 85 et 100 °C. Pour s'assurer de ne pas boucher la buse de pulvérisation, la teneur en matière sèche (MS) a été adaptée à la matrice utilisée et le concentré préparé par dispersion de poudre dans l'eau a été tamisé à 315 µm au préalable (sans enlever des particules de l'alimentation liquide) pour éliminer tout agglomérat de particules susceptible de boucher la buse de pulvérisation.

La tour de séchage par atomisation Micra Spray 150 (Anhydro, Soeborg, Danemark) est une tour de séchage simple effet à co-courant, équipée d'une buse bi-fluide (Fluid Cap 60 100 + Air Cap 120, Anhydro), (Figure 34). Dans des conditions adaptées au séchage de produits alimentaires (températures d'entrée de l'air entre 150 et 225 °C et de sortie de l'air entre 70 et 100 °C), la capacité évaporatoire est théoriquement comprise entre 1,25 et 7,5 kg d'eau/h. La chambre de séchage est un cylindre avec une base conique formée par une paroi de 4,5 m².

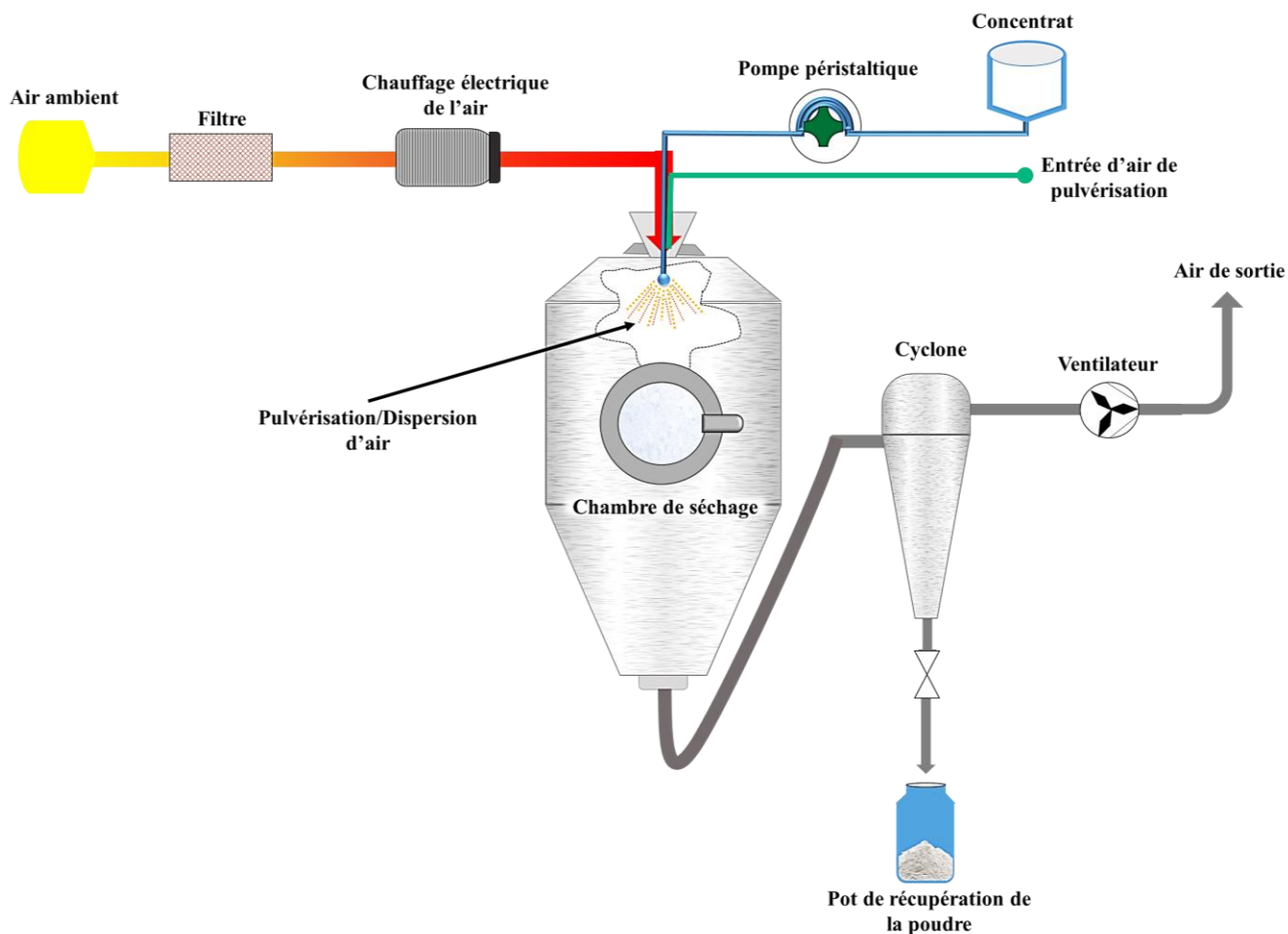


Figure 34. Schéma de la tour de séchage Micra Spray 150 (Anhydro, Soeborg, Danemark).

Le liquide d'alimentation à sécher (eau ou concentré) est pompé à température ambiante avec une pompe péristaltique FASTLoad (VWR, Leuven, Belgique, diamètre interne du tuyau : 48 mm, débits de 24 à 588 mL/min). La pression de pulvérisation est de 2 bars. L'air de séchage est de l'air ambiant aspiré par un ventilateur placé en sortie de l'installation ; de ce fait, la chambre de séchage est en légère dépression. Le débit d'air est contrôlé en faisant varier le pourcentage de fonctionnement du ventilateur qui correspond à la fréquence de rotation des pâles du ventilateur : il a été réglé à 70 % pour tous les essais. Avant d'entrer dans la chambre de séchage, l'air aspiré est filtré, puis chauffé grâce à une résistance électrique (puissance : 15 kW ; température maximale : 350 °C). Deux sondes mesurant les températures de l'air en entrée et en sortie de la tour de séchage permettent la régulation du procédé ; dans ce travail de thèse, les températures ont été régulées

manuellement en ajustant la puissance de chauffe de l'air d'entrée. A la sortie de la chambre de séchage, l'air humidifié lors du séchage et la poudre sont séparés dans un cyclone. L'air humidifié est rejeté dans l'atmosphère, tandis que la poudre est récupérée dans un pot en acier inoxydable placé sous le cyclone.

Pour préchauffer la tour et atteindre les températures d'entrée et de sortie voulues, la résistance électrique chauffant l'air d'entrée est mise en route sans alimenter la tour en liquide à sécher jusqu'à atteindre la température de l'air d'entrée visée. Ensuite, la tour de séchage est alimentée avec de l'eau jusqu'à atteindre la température de sortie cible. Une fois les températures d'entrée et de sortie fixées, l'alimentation en concentré peut débuter.

L'humidité relative (HR) et la température de l'air ambiant ou en sortie de la cheminée d'évacuation de l'air humidifié sont mesurées à l'aide d'une sonde thermo-hygrométrique Testo (0 - 100 % HR, -20 à 140 °C ; précision ± 2 % HR) reliée à un boîtier Testo 635-2 (Testo, Forbach, France). Les paramètres de séchage ont été suivis pendant toute la durée des essais et les températures réelles (moyennes) du séchage ont pu être calculées.

Pour effectuer le séchage par atomisation, il faut calculer plusieurs paramètres comme la puissance de chauffe, le débit de pompe pour l'eau et pour le concentré.

1.2.1. Détermination du débit de la pompe

Les données recueillies expérimentalement et les données du constructeur ont été comparées par des études effectuées au LIBio²³⁵. Il est mis en évidence qu'il y a un petit décalage avec les données constructeur à des températures de sortie de 85 et 95 °C, qui peut être expliqué par le fait que les conditions météorologiques (température et humidité relative de l'air ambiant) et/ou expérimentales (température de l'eau pulvérisée) du constructeur étaient vraisemblablement un peu différentes. Il est important de préciser que l'air chauffé pour donner l'air d'entrée est l'air environnant la tour, sans régulation de température ou d'humidité.

Pour améliorer la précision des mesures de débits, des empotages sur de l'eau et sur le concentrat à environ 30 % d'extrait sec du lait concentré ont été réalisés²³⁵ afin d'établir une relation entre le débit réel ($Q_{\text{réel eau}}$ ou $Q_{\text{réel 30 \% ES}}$) et le débit indiqué sur la pompe péristaltique (Q_{pompe}) (équation 18 et 19) :

Équation 18 $Q_{\text{réel eau}} = 0,9098 \cdot Q_{\text{pompe}} - 2,7583$ ($R^2 = 0,998$)

Équation 19 $Q_{\text{réel 30 \%ES}} = 0,8824 \cdot Q_{\text{pompe}} - 1,5318$ ($R^2 = 0,998$)

Ces relations sont très utiles car elles permettent un réglage précis des débits d'eau ou de concentré (réels) souhaités sur le contrôleur de la pompe.

Les trois conditions de séchage (150, 175 et 200 °C de température d'entrée et 70, 85 et 100 °C de température de sortie) ont été mises en œuvre dans la même journée en commençant par les températures les plus élevées. Pour chaque matrice, entre deux lots de poudre différents, une heure de pulvérisation d'eau a été effectuée. Cela permet d'éviter que la poudre collée sur les parois lors du premier essai ne soit récupérée lors du deuxième essai, tout en permettant de stabiliser les conditions de séchage nécessaires pour le lot suivant. Les paramètres de séchage sont présentés dans le Tableau 26.

Tableau 26. Températures d'entrée et de sorties ciblées et mesurées (réelles) lors du séchage par atomisation au laboratoire.

Poudre	N° Lot	MS (%)	T _e (°C)		T _s (°C)		Débit de concentré (mL/min)	Puissance de chauffe (%)
			cible	réelle	cible	réelle		
100 % PPCN	Lot 1	15	200	195,7	100	102,4	77,9 ± 2,4	33,7 ± 0,0
	Lot 2		175	174,7	85	87,5	105,2 ± 1,4	29,9 ± 0,3
	Lot 3		150	149,4	70	72,0	99,0 ± 0,0	24,7 ± 1,9
75 % PPCN/25 % zéine	Lot 1	15	200	237,8	100	97,5	75,8 ± 2,8	39,9 ± 0,1
	Lot 2		175	205,7	85	86,4	79,4 ± 2,0	35,7 ± 0,4
	Lot 3		150	172,0	70	70,2	75,0 ± 0,0	22,4 ± 0,2
100 % WPI	Lot 1	15	200	227,3	100	97,9	71,0 ± 0,0	39,5 ± 0,0
	Lot 2		175	179,3	85	84,1	66,0 ± 0,0	31,0 ± 0,0
	Lot 3		150	155,2	70	69,9	66,0 ± 0,0	27,0 ± 0,0
100 % Dextrine de maïs	Lot 1	15	200	184,6	100	99,9	71,9 ± 1,4	38,5 ± 0,0
	Lot 2		175	179,9	85	84,0	68,0 ± 0,0	32,0 ± 0,0
	Lot 3		150	149,9	70	67,9	68,0 ± 0,0	26,8 ± 0,3

Le débit d'eau évaporée entre les lots de la même matrice est de 56 mL/min.

2. Caractérisation des poudres

Les propriétés principales des produits déshydratés sont de deux types : générales (physicochimiques) et liées aux procédés de transformations alimentaires (fonctionnelles), comme le résume la Figure 35. D'une part, les propriétés générales englobent les propriétés biochimiques, physiques, microbiologiques et organoleptiques, et d'autre part les propriétés fonctionnelles et d'usage sont en lien avec les procédés mettant en œuvre les poudres : mouillabilité, solubilité, dispersibilité, gonflement, friabilité, aptitudes à l'écoulement, au stockage etc. Ces dernières sont particulièrement importantes lorsque les poudres sont réhydratées pour la fabrication de divers produits alimentaires. Toutes ces propriétés constituent les critères d'évaluation de la qualité des poudres et sont évaluées selon des protocoles normalisés au niveau national (AFNOR) et international (AOAC).

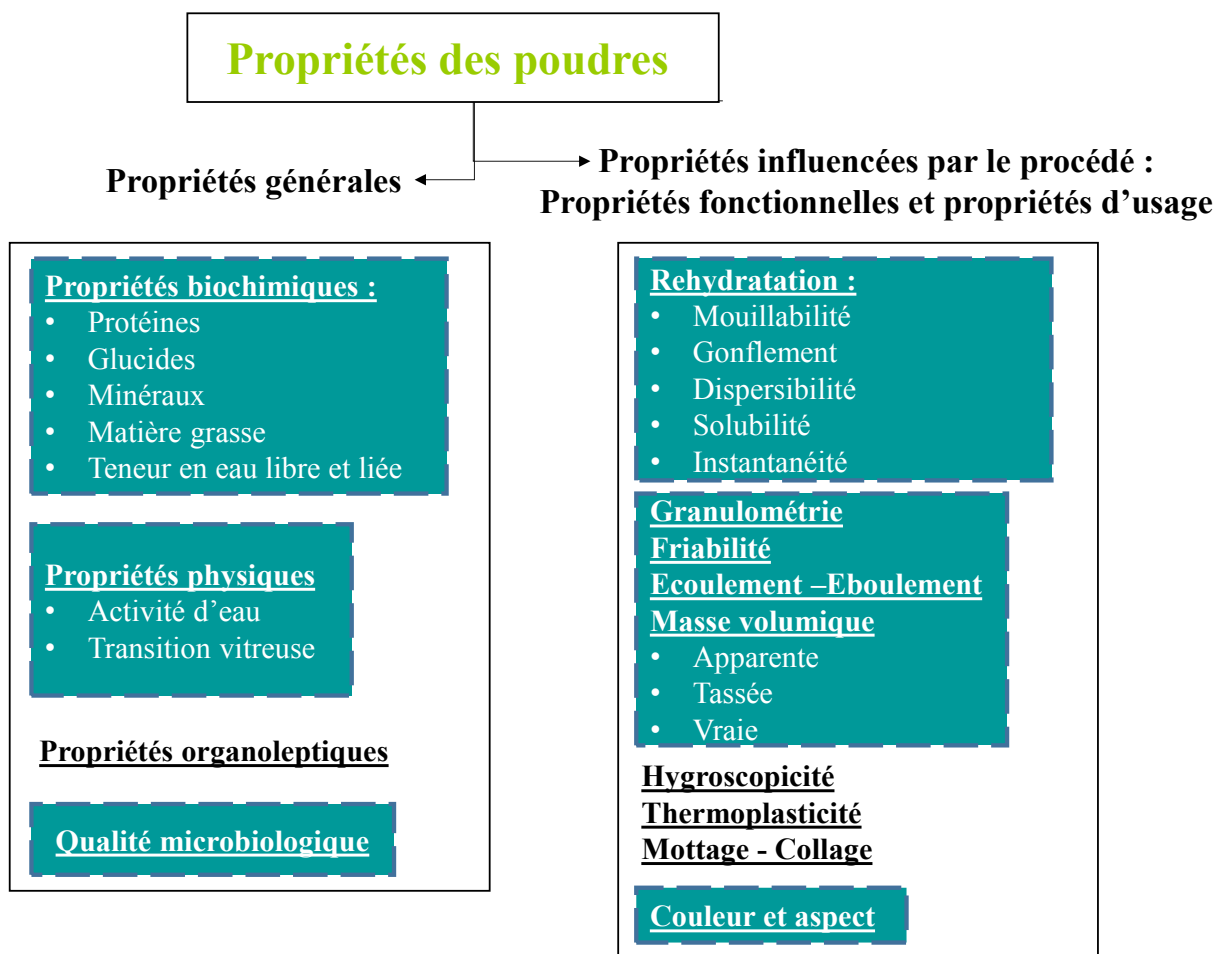


Figure 35. Principales propriétés des produits déshydratés adapté de Schuck et *al.* (2012) ²³³.

2.1. Teneur en eau

Plusieurs facteurs influencent la teneur en eau d'une poudre : température et hygrométrie de l'air de séchage, conditions d'atomisation, qualité physicochimique du concentré avant atomisation, etc. Par exemple, une variation de 10 °C de la température d'air d'entrée ou de 1 °C de la température d'air de sortie ou de 3,6 g d'eau.kg⁻¹ d'air sec de l'air d'entrée entraîne une variation de 0,2 % de la teneur en eau d'une poudre de carraghénane, à débit d'air constant²³³. Un autre paramètre essentiel pour le contrôle de l'humidité des poudres est la taille des gouttelettes. Pour un temps de séjour dans la tour d'atomisation donné, une gouttelette plus grosse séchera moins vite qu'une gouttelette plus fine et la poudre résultante sera finalement plus humide ; en effet, le transfert d'eau de l'intérieur vers l'extérieur de la gouttelette est, dans ce cas, beaucoup plus long.

La teneur en eau a été déterminée par un protocole adapté de la norme ISO 5537:2004 (IDF 26:2004). La poudre (2 g) est étuvée pendant 3 h à 103°C puis refroidie pendant 1 h au dessiccateur avant d'être pesée.

2.2. Activité d'eau

2.2.1. Principe

L'activité de l'eau est, par définition, l'eau libre contenue dans les denrées alimentaires et autres produits. L'eau liée ne peut pas être mesurée par cette méthode. La valeur d'activité d'eau (variant entre 0 et 1) est un indicateur important de la capacité de conservation des produits alimentaires. La teneur en eau libre d'un produit influence sa qualité microbiologique (Tableau 27) ainsi que sa stabilité chimique et enzymatique. Ce paramètre est particulièrement important, non seulement pour les produits périssables comme les aliments, les céréales, les semences mais également pour les médicaments et autres produits des industries pharmaceutiques et cosmétiques. Si trop d'eau libre est présente, les produits se dégradent, dans le cas contraire, ce sont d'autres propriétés du produit qui subiront une influence négative (oxydation des lipides par exemple).

Tableau 27. Valeurs limites typiques d'activité d'eau en-dessous desquelles les micro-organismes ne peuvent plus se reproduire et dégrader un produit alimentaire ²³⁶.

Activité d'eau (a_w)	Organismes
0,91 - 0,95	nombreuses bactéries
0,88	nombreuses levures
0,80	nombreuses moisissures
0,75	bactéries halophiles
0,70	levures osmophiles
0,65	moisissures xérophiles

La maîtrise de l'activité de l'eau a donc une importance décisive pour la capacité de stockage d'un produit. Les mécanismes d'altération biochimiques et microbiologiques dans les différentes gammes d'activité d'eau sont présentés dans la Figure 36.

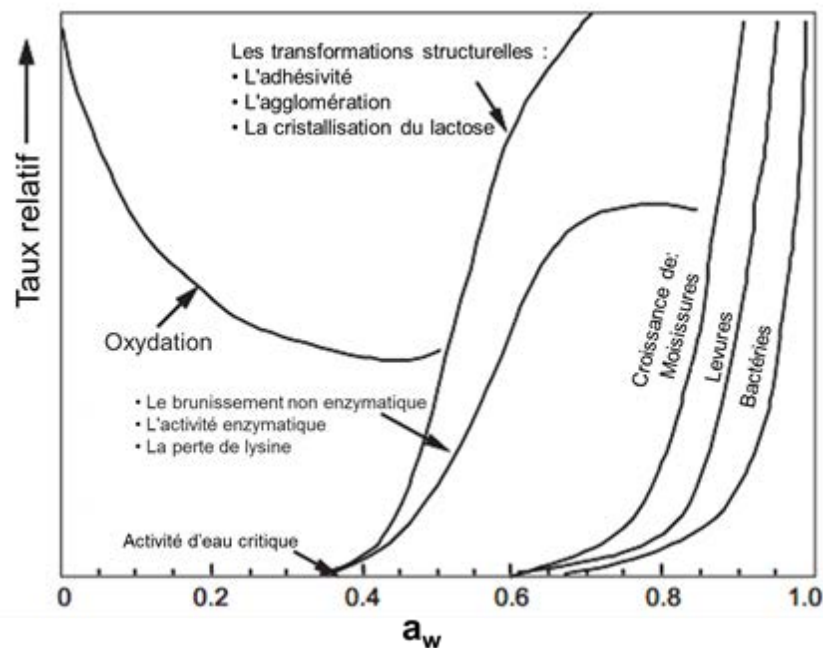


Figure 36. Carte de stabilité pour le lait en poudres contenant de lactose amorphe adapté de Roos (2002)

²³⁷

La mesure de l'activité de l'eau fournit également des informations utiles sur certaines propriétés comme la cohésion, la capacité de stockage, les propriétés d'écoulement de poudres, l'aptitude à la transformation en comprimés ou la capacité d'adhésion à des revêtements.

2.2.2. Protocole

On utilise l' a_w -mètre portatif Hydropalm de la marque Rotronic (Bassersdorf, Switzerland). La tête de mesure peut être étalonnée. Une chambre de mesure de petites dimensions permet d'atteindre rapidement l'équilibre en humidité. Suivant les poudres, la mesure dure de 15 à 30 min, jusqu'à ce qu'une valeur stable soit obtenue pendant deux minutes consécutives.

2.3. Colorimétrie des poudres

Un appareil Microflash 200d (Datacolor International, Lawrenceville, USA) a été utilisé pour mesurer la couleur des poudres. La mesure est effectuée sur des échantillons de poudre répartis dans des boîtes de Petri transparentes de diamètre 57 mm et de profondeur 10 mm. Dans chaque boîte, une quantité de poudre suffisante pour la remplir a été déposée après calibration de l'appareil avec les étalons noir et blanc. Pour effectuer la mesure, la cellule de l'appareil est directement appliquée sous la boîte de Petri contenant la poudre. Au moins trois mesures par échantillon sont réalisées.

2.4. Distribution de taille des particules

Pour étudier la distribution de tailles de particules obtenues par séchage par atomisation une mesure est effectuée avec le Mastersizer 3000 avec unité de dispersion Aero S. Le Mastersizer 3000 combine séquentiellement des mesures en lumière rouge puis bleue pour mesurer toute la gamme de taille des particules de 100 nm à 3,5 mm. La mesure de grosses particules est assurée par un détecteur situé dans le plan focal, capable de différencier des angles de diffraction très petits. La sensibilité aux particules inférieures à 100 nm, diffusant la lumière aux grands angles, est assurée par des détecteurs spécifiques et une puissante source de lumière bleue de 10 mW. Pour obtenir une obscuration correcte, tous les échantillons ont été dispersés à une pression d'air de 1 bar, une vitesse d'alimentation de 30 % et une hauteur de trémie de 3 mm. Trois à cinq mesures ont été effectuées pour chaque échantillon. Une quantité d'environ 1 g de poudre est utilisée pour chaque essai. L'analyse est réalisée par diffraction laser : un faisceau laser passe à travers un échantillon de particules dispersées et l'intensité de la lumière diffusée est mesurée en fonction de l'angle.

Les grandes particules diffractent la lumière aux petits angles et les petites particules diffractent aux grands angles. Les intensités diffractées sont ensuite analysées par l'appareil pour calculer la taille des particules. La taille des particules est représentée par le diamètre de la sphère équivalente

ayant la même surface de projection que la particule en utilisant les distributions en volume et la théorie de Mie basée sur des particules non sphériques. Les résultats sont présentés sous forme d'une distribution en volume (Figure 37).

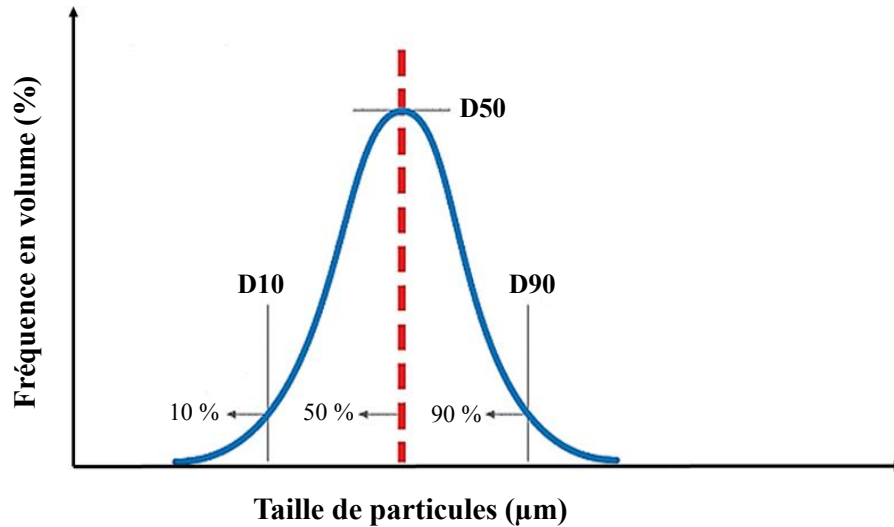


Figure 37. Présentation des résultats de mesures granulométriques (adapté de www.horiba.com).

Le diamètre médian D50 correspond à la taille de particules pour laquelle la moitié de la population a une taille inférieure. De même, le D90 et le D10 correspondent respectivement à 90 % et 10 % de particules plus petites que cette valeur. L'une des valeurs couramment utilisées pour décrire la largeur des distributions de taille de particules est le span, défini ci-dessous (équation 20) :

$$\text{Équation 20} \quad \textit{span} = \frac{D90 - D10}{D50}$$

2.5. Détermination des propriétés de réhydratation

Les protocoles des propriétés de réhydratation sont spécifiques du domaine d'application alimentaire.

2.5.1. Mouillabilité

La mouillabilité reflète l'aptitude d'une poudre à s'immerger après avoir été déposée à la surface de l'eau. Elle est mesurée selon la norme FIL (1985). Les principaux facteurs influençant la

mouillabilité sont la présence de particules de grande taille, la masse volumique de la poudre, la porosité des particules de poudre, ainsi que la présence d'air, la présence de matière grasse à la surface des particules de poudre et les conditions de reconstitution. Le temps de mouillage est la durée nécessaire pour mouiller toutes les particules d'une masse de poudre donnée à 20 °C, le temps zéro correspondant au dépôt de la poudre à la surface de l'eau.

La mesure de mouillabilité d'une poudre manque souvent de répétabilité mais elle permet souvent aux fabricants de poudres d'estimer par cette mesure si le comportement lors de la réhydratation d'une poudre est acceptable.

2.5.2. Dispersibilité

La dispersibilité d'une poudre dans l'eau représente son aptitude à se briser en particules pouvant passer à travers un tamis dont le diamètre des pores est défini préalablement. Elle se calcule comme le pourcentage pondéral de la matière sèche de l'échantillon susceptible d'être dispersé dans l'eau.

La dispersibilité est probablement le meilleur critère pris isolément pour évaluer le caractère "instantané" d'une poudre de lait, puisque dans une certaine mesure, elle est influencée par les autres propriétés de réhydratation (solubilité et mouillabilité) ²³⁸.

Une prise d'essai de l'échantillon, de teneur en eau connue, est répandue uniformément à la surface de l'eau à 20 °C. Le mélange est agité à la main avec une baguette en verre pendant un court instant (≈ 20 s) et une partie de ce mélange est passée au travers d'un tamis (120 μm). La matière sèche totale du filtrat ainsi récolté est déterminée puis rapportée à la prise d'essai.

La dispersibilité d'une poudre se calcule (d'après la norme ISO 5537/FIL 26) à l'aide de la formule ci-dessous (Equation 21) :

Équation 21
$$D = \frac{T \times 962}{100 - (W + T)}$$

où :

D est la valeur de dispersibilité (%),

T est la teneur en matière sèche totale du filtrat (% massique),

W est la teneur en eau de la poudre (% massique).

2.5.3. Solubilité

L'indice de solubilité d'une poudre est une mesure de sa capacité à se dissoudre dans l'eau. Il est exprimé en pourcentage de solubilité obtenu par la différence entre le volume du liquide reconstitué et le volume de sédiments.

2,5 g de poudre est dissoute dans 17,5 mL d'eau à 20 °C avec une spatule (dans un godet préalablement taré). La solution reconstituée est laissée à reposer pendant 15 min, puis centrifugée pendant 10 min à 1 800 tr/min. Le surnageant est éliminé puis remplacé par 17,5 mL d'eau distillée. Le culot est redispersé dans l'eau distillée à l'aide d'une spatule, puis le mélange est centrifugé pendant 10 min. Le deuxième surnageant est éliminé à son tour et les tubes sont placés à l'étuve (103 °C) en position inclinée pendant 15 h. Les tubes sont laissés à refroidir dans un dessiccateur et le sédiment sec est pesé.

Les résultats sont exprimés pour 100 g de poudre. La différence entre 100 et la teneur en insolubles exprimée pour 100 g de poudre donne l'indice de solubilité en pourcentage (IS) (équation 22).

$$\text{Équation 22} \quad IS = 100 - \frac{M}{2.5} \cdot 100$$

avec : M, la masse de sédiments (g).

2.6. Détermination du taux d'encapsulation

Afin de déterminer si l'encapsulation de la Vit C a été efficace, une réhydratation de la poudre (5 g pour 50 mL d'eau) est effectuée pendant 2 min et les échantillons sont ensuite soumis à une extraction et un dosage par CHLP (cf. Chapitre 2 - III.5). La concentration en Vit C dans les poudres est exprimée en pourcentage de la Vit C introduite dans le concentrat avant atomisation. Les teneurs en eau des poudres commerciales utilisées pour reconstituer le concentré et des poudres produites sont prises en compte dans les calculs, en exprimant les teneurs en vitamine en base sèche (i.e. en masse de vitamine par masse de matière sèche).

2.7. Détermination de taux de rétention après TTMO en mode (t ; P)

Afin de déterminer l'efficacité de la matrice à protéger la Vit C lors de TT, les poudres sont réhydratées comme décrit au-dessus (2.6.) et les solutions sont soumises au TTMO en mode (t ; P). Les résultats sont exprimés en pourcentage de la concentration en Vit C dosée avant TT.

IV. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les pertes en vitamines C dans le mix industriel après le TT sont estimées et l'effet de type de traitement thermique et le milieu de réhydratation sont estimés. L'objectif est de créer des matrices d'encapsulation à l'échelle laboratoire qui améliorent la rétention de la Vit C lors des différents traitements thermiques (Figure 38). La comparaison de résultats de rétention de la Vit C dans le mix (où el e n'est pas encapsulée) et dans la matrice d'encapsulation, après les TT, permettront de mettre en evidence l'efficacité de l'encapsulation.

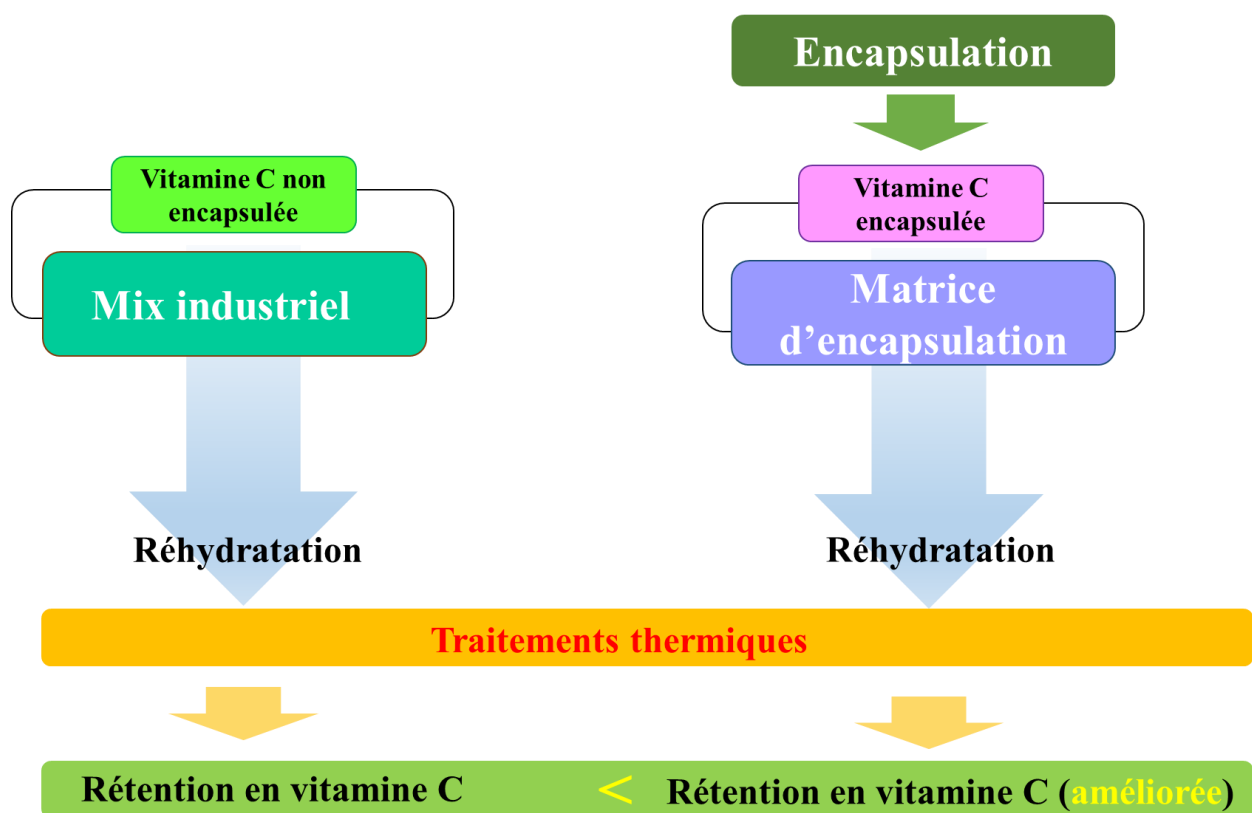


Figure 38. Comparaison de la rétention en Vit C dans le mix industriel et dans la matrice après encapsulation.

Plusieurs matrices sont testées pour évaluer leur potentiel d'encapsulation de la Vit C en vue de sa protection contre le TT. Les poudres obtenues seront caractérisées à la fois d'un point de vue physicochimique et fonctionnel (afin de déterminer celles permettant de répondre au mieux aux contraintes industrielles) mais aussi en termes de taux d'encapsulation et de pouvoir protecteur lors d'un TT. Ces critères permettront d'orienter le choix des matrices testées à l'échelle industrielle.

1. Mix industriel

Il a pu être démontré que la Vit B1 ne présente pas (ou très peu) de pertes lors des deux types de TT (TTC et TTMO) dans tous les conditions expérimentales étudiées (Chapitre I). Il a donc été choisi de se focaliser uniquement sur les vitamines B2 et C lors des dosages des vitamines dans le mix.

Les deux mix contenant des vitamines (ceux sans et avec texturants) ont été réhydratés dans de l'eau et dans du lait ½ et ensuite traités thermiquement. Afin de pouvoir doser par CLHP les vitamines B2 et C restantes dans les échantillons, la méthode d'extraction définie précédemment est appliquée. La réhydratation du mix (0,1 g/mL) est réalisée dans de l'eau et dans du lait ½ dans un shaker pendant 2 min.

1.1. *Traitement thermique de la Vit C dans le mix industriel*

Afin de déterminer l'influence spécifique du TTMO en ce qui concerne le chauffage de l'échantillon en volume et non en surface, la rétention en vitamines lors du TTMO en mode domestique (t ; P) a été comparée avec celle effectuée en TTC-MO (TTC dont la montée en température mime celle du TTMO) (Tableau 15).

Les deux mix contenant des vitamines fournis par l'entreprise (avec vitamines sans texturants ; avec vitamines et texturants) ont été utilisés. Une quantité de 5 g du mix a été réhydraté dans 50 mL d'eau ou de lait ½. Les solutions obtenues ont été enrichies en Vit C avant TT ($\approx 100 \mu\text{g}$ de vitamine ajoutée avec concentration finale d'environ $180 \mu\text{g/mL}$) afin de pouvoir quantifier la teneur en vitamine par dosage CLHP. Les résultats comparatifs des deux TT sont réunis dans le Tableau 28.

Tableau 28. Effet du type de TT (TTC et TTMO) en mode (t ; P) pendant 2 min avec une température finale d'environ 90 °C, et du milieu de réhydratation sur la rétention en vitamines dans les solutions de mix industriel contenant $180 \mu\text{g/mL}$ de Vit C (avec et sans texturants).

Traitement thermique (t ; P)	Milieu	Rétention en Vit C (%)	
		Avec texturants	Sans texturants
TTC-MO	Eau	$69,0 \pm 5,3$	$81,1 \pm 1,1$
	Lait ½	$82,5 \pm 10,0$	$85,4 \pm 7,1$
TTMO	Eau	$93,2 \pm 8,5$	$94,3 \pm 4,2$
	Lait ½	$69,2 \pm 6,9$	$82,5 \pm 6,7$

Les résultats montrent que les pertes de Vit C lors du TTC-MO ne sont pas trop importantes (entre 20 et 30 %) et le lait ½ semble avoir un effet positif sur la rétention de la Vit C. En revanche, dans le cas du TTMO, les pertes sont plus importantes dans du lait ½ que dans de l'eau. Cela peut être dû aux constituants du lait et/ou au pH. L'effet positif ou négatif des texturants sur la rétention en Vit C n'est pas démontré d'après ces résultats.

La littérature indique que l'acide ascorbique (Vit C) existe en tant qu'anion ascorbate par l'ionisation du groupe hydroxyle à pH basique. Il est très instable en solution en raison de sa forte capacité réductrice, ce qui entraîne une oxydation rapide jusqu'à l'acide déshydroascorbique. Ce processus est plus lent dans la gamme de pH 3,0 à 4,5 que dans la gamme de pH 5,0 à 7,0. A pH neutre et alcalin, l'acide ascorbique est très instable en raison de la conversion non seulement rapide en acide déshydroascorbique, mais aussi de la dégradation de l'acide déshydroascorbique par une réaction irréversible en produit biologiquement inactif, l'acide 2,3-dicéto-1-gulonique, qui a une structure linéaire et facilite la réaction de brunissement non enzymatique entre Vit C et protéine. Le pH des quatre mix fournis par l'entreprise varie d'une unité pH suivant qu'il est réhydraté dans l'eau ou dans le lait ½ : entre pH 8,19 et 8,38 pour l'eau et environ pH 7,20 pour le lait ½ (Tableau 29).

Tableau 29. pH des solutions de 4 mix dans l'eau et dans du lait ½ avant le traitement thermique (n = 1).

Milieu	Sans vitamines et texturants	Avec vitamines et sans texturants	Sans vitamines et avec texturants	Avec vitamines et texturants
Eau	8,38	8,19	8,42	8,31
Lait ½	7,25	7,20	7,19	7,18

1.2. *Traitement thermique de la vitamine B2 dans le mix industriel*

Une solution mère de 4 mg.mL⁻¹ Vit B2 (Sigma-Aldrich, Etats-Unis) a été préparée dans de l'eau désionisée. Les droites d'étalonnage ont été modélisées avec les équations suivantes : $C = 83,903A$ ($R^2 = 0,9840$) pour le dosage en UV-Vis et $C = 411,81A$ ($R^2 = 0,9985$) pour le dosage en fluorescence.

1.2.1. *Traitement thermique en mode temps-température*

Les mix vitaminés réhydratés pendant 2 min ont été traités pendant 5 min à 100 °C au TTMO et en TTC en mode (t ; T) (Tableau 30).

Tableau 30. Effet du TTMO et du TTC en mode (t ; T) (5 min à 100 °C) sur la rétention en vitamine B2 dans le mix industriel vitaminé (sans et avec texturants) réhydraté à 5 g/50 mL de lait ½.

Traitement thermique	Rétention en vitamine B2 (%)	
	Avec texturants	Sans texturants
TTC	52,2 ± 4,9	79,5 ± 4,7
TTMO	115,4 ± 28,7	132,2 ± 16,9

Les pertes en vitamine B2 sont très importantes après TTC et varient entre 20 et 50 %. Comme dans le cas de la Vit C, ces pertes sont plus importantes pour le mix avec texturants.

Les résultats montrent qu'il n'y a pas de pertes de Vit B2 lors du TTMO. Au contraire, entre 15 et 30 % de Vit B2 en plus sont retrouvés dans les échantillons traités par rapport aux échantillons initiaux. Cela peut être dû à la libération de la Vit B2 initialement présente dans le lait ½ et liée aux protéines du lait. Les liaisons qui se créent entre les protéines du lait et la riboflavine sont surtout des liaisons hydrogènes. Ces liaisons de faible énergie peuvent être facilement détruites lors d'un traitement thermique. La vitamine B2 est présente dans le lait à une concentration entre 1 et 2 mg/L. Sa nature plutôt hydrophile est démontrée par sa répartition entre la crème, le lactosérum, les protéines solubles et la caséine : 6 %, 67 %, 9 % et 18 %, respectivement ²³⁹.

1.2.2. *Traitement thermique au four à micro-ondes en mode temps-puissance*

Pour quantifier les pertes en vitamine B2 après un TTMO en mode (t ; P), les deux types de mix industriels vitaminés (avec ou sans texturants) ont été réhydratés dans du lait ½, la quantité de vitamine B2 dans le mix est égale à 0,3 µg/mL. La concentration en Vit B2 dans le lait ½ a été mesurée et correspond à 2,240 ± 0,004 µg/mL (concentration en Vit B2 de la poudre du mix réhydratée dans de l'eau est de 20 µg/mL). Les résultats de rétention en Vit B2 après TTMO en mode (t ; P) sont présentés dans le Tableau 31.

Tableau 31. Rétention en vitamine B2 dans les mix réhydratés à (5 g dans 50 mL de lait ½), et soumis à TTMO en mode (t ; P) pendant 2 min (n = 3).

Traitement thermique en mode (t ; P)	Milieu	Rétention en Vit B2 (%)	
		Avec texturants	Sans texturants
TTMO	Lait ½	82,9 ± 16,6	87,3 ± 11,8

Après TTMO en mode (t ; P), les résultats CLHP montrent que les pertes en vitamine B2 sont entre 10 et 20 % : elles sont donc plus importantes que celles obtenues avec le TTMO en mode (t ; T) pendant 5 min. Les pertes dans ce cas sont plus importantes et elles ne permettent pas d'observer la libération de vit B2 complexée aux protéines, puisque, apparemment, les pertes excèdent la quantité liée aux protéines. Les pertes en Vit B2 restent néanmoins faibles et donc l'encapsulation de la vitamine B2 afin de la protéger du traitement thermique par micro-ondes ne semble pas absolument nécessaire.

2. Poudres produites à l'échelle laboratoire

Il s'est avéré que seule la teneur en Vit C était fortement réduite par les TT et donc le développement des matrices d'encapsulation a été réalisé avec la vitamine C comme marqueur sensible au TT. Pour l'encapsulation de la Vit C à l'échelle laboratoire, quatre matrices et trois conditions de séchage par atomisation ont été appliquées et les poudres produites ont été caractérisées. Trois lots sont produits par matrice, avec les températures de séchage décroissantes selon l'ordre suivant : lot 1 > lot 2 > lot 3.

2.1. *Teneur en eau des poudres produites*

La teneur en eau est décisive pour la bonne conservation des poudres alimentaires. La teneur en eau des poudres analysées est présentée en Figure 39.

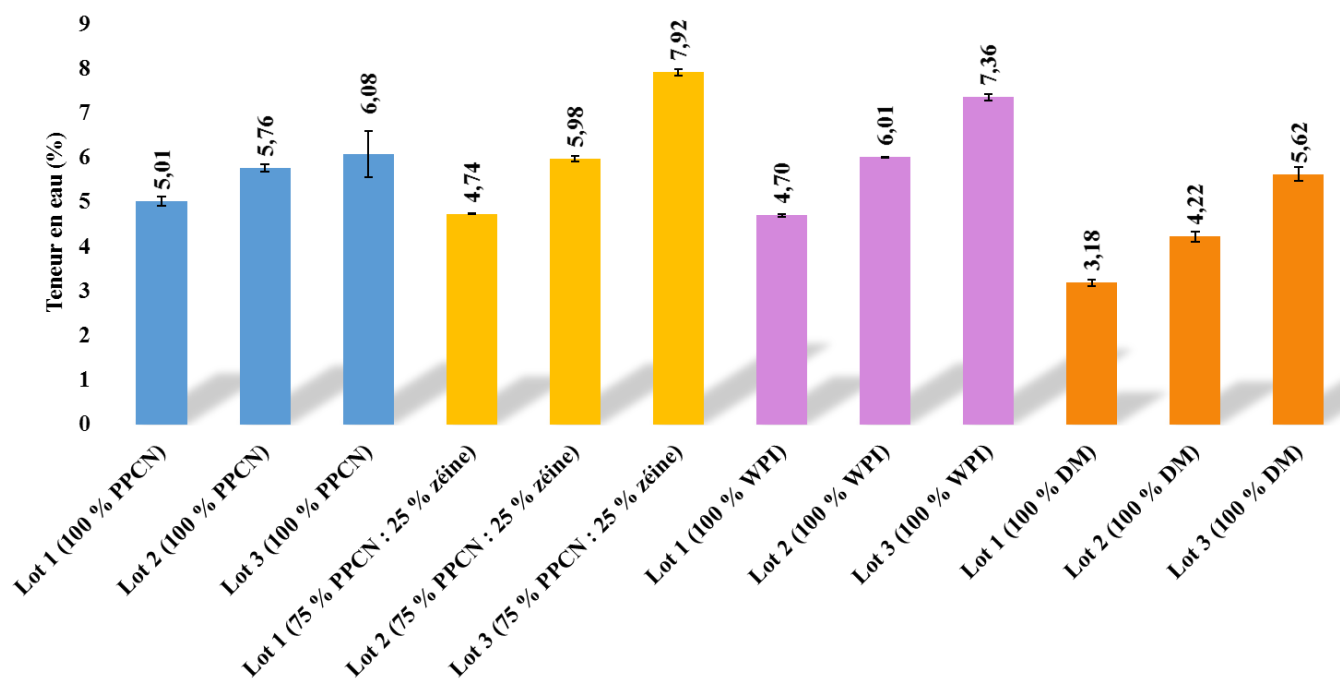


Figure 39. Teneurs en eau des poudres produites par atomisation. Lot 1 : $T_e = 200\text{ °C}$ et $T_s = 100\text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ °C}$ et $T_s = 85\text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ °C}$ et $T_s = 70\text{ °C}$, ($n = 3$). **PPCN** : caséines micellaires natives, **WPI** : isolat de protéines solubles laitières, **zéine** : protéines de maïs, **DM** : dextrine de maïs.

Suivant les conditions de séchage par atomisation, les teneurs en eau des poudres produites diffèrent. Les poudres obtenues dans les conditions les plus « douces », c'est-à-dire avec une température d'entrée (T_e) de 150 °C et température de sortie (T_s) de 70 °C (lot 3), présentent une teneur en eau relativement élevée ($> 5,5\%$) et donc peuvent poser des problèmes lors de leur conservation. Les poudres produites à T_s de 100 et 85 °C présentent donc a priori une meilleure aptitude à la conservation.

Les poudres avec la teneur en eau la plus faible pour les trois conditions de séchage appliquées sont celles de dextrine de maïs (DM), ce qui peut s'expliquer par le fait que les dextrines sont moins hygroscopiques que les protéines²⁴⁰.

2.2. Activité d'eau des poudres

Une activité d'eau (a_w) comprise entre $0,15$ et $0,35$ est favorable à la bonne conservation des poudres alimentaires²³⁰. L'activité d'eau des poudres analysées est présentée en Figure 40.

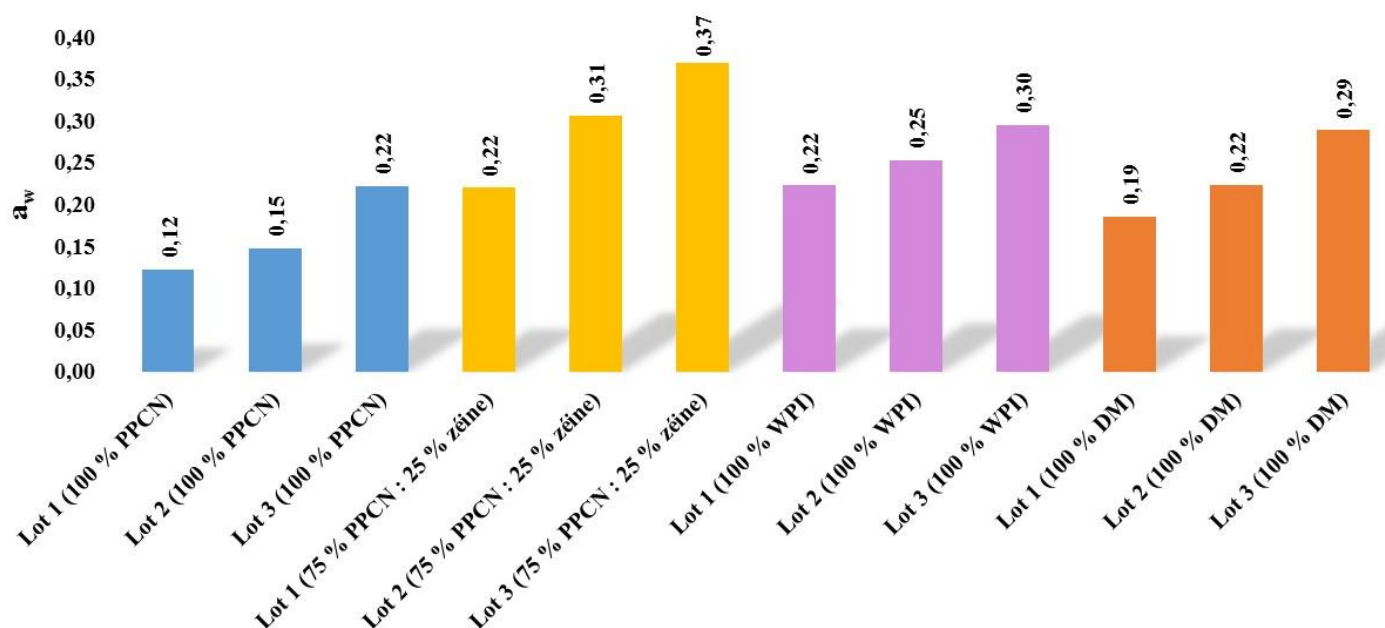


Figure 40. Activité d'eau des poudres produites par atomisation. Lot 1 : $T_e = 200\text{ °C}$ et $T_s = 100\text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ °C}$ et $T_s = 85\text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ °C}$ et $T_s = 70\text{ °C}$, ($n = 1$). **PPCN** : caséines micellaires natives, **WPI** : isolat de protéines solubles laitières, **zéine** : protéines de maïs, **DM** : dextrine de maïs.

Les poudres produites par atomisation ont une faible activité d'eau (inférieure à 0,35) et donc un bon potentiel de conservation (pas de risque de développement de microorganismes ou des moisissures). Globalement, les valeurs de l'activité d'eau des poudres sont acceptables, l'optimum correspondant généralement aux lots 2. En effet, les lots 1 ont souvent une activité d'eau un peu faible, ce qui les rend hygroscopiques et favorise la reprise d'eau à partir de l'humidité de l'air, tandis que les lots 3 ont une activité d'eau généralement plus élevée, qui pourrait favoriser les réactions d'altération des constituants lors de la conservation.

2.3. Distribution de taille des particules

L'un des objectifs du séchage par atomisation est de produire des poudres de taille moyenne la plus élevée possible pour faciliter leur réhydratation, leur écoulement et leur stockage. Il est également important que les poudres soient les plus monodisperses possibles pour de meilleures aptitudes à la réhydratation et à l'écoulement. Pour déterminer la taille des particules obtenues par atomisation, une mesure granulométrique en voie sèche a été effectuée et les résultats sont présentés dans les Figures 42 à 45.

2.3.1. Poudres 100 % PPCN

Les caractéristiques granulométriques des poudres 100 % PPCN sont présentées dans le Tableau 32.

Tableau 32. Caractéristiques granulométriques des poudres 100 % PPCN (n ≥ 3).

Poudre		D10 (µm)	D50 (µm)	D90 (µm)	Span
100 % PPCN	Lot 1	5,2 ± 0,0	17,7 ± 0,4	108,0 ± 10,3	5,8 ± 0,5
	Lot 2	4,7 ± 0,0	14,3 ± 0,1	65,5 ± 2,3	4,2 ± 0,2
	Lot 3	4,6 ± 0,0	13,6 ± 0,1	64,5 ± 6,2	4,4 ± 0,4

Les poudres produites dans les conditions de séchage plus douces (lot 2 avec $T_e = 175\text{ °C}$ et $T_s = 85\text{ °C}$ et lot 3 avec $T_e = 150\text{ °C}$ et $T_s = 70\text{ °C}$) ont une taille moyenne plus petite et un span le plus faible. Il convient de noter que les distributions de tailles de particules sont très larges au vu des valeurs de span très élevées obtenues, ce qui témoigne d'une probable agglomération de certaines particules au cours du séchage par atomisation. La taille moyenne des particules, comprise entre 10 et 20 µm, est typique pour une tour de séchage par atomisation pilote de cette dimension ²⁴¹ : lors de l'atomisation, la taille de gouttelettes, directement corrélée à la taille de particules obtenues finalement, est contrôlée par les paramètres de pulvérisation (pression d'air, débit de concentré, etc.), tout en étant très dépendante de la géométrie de la buse bi-fluide utilisée. Il est intéressant de noter que la taille médiane des particules diminue lorsque la température de séchage est réduite (d'ailleurs, ceci est également vrai pour les autres compositions de matrices, cf. Tableaux 33 - 35). Ce lien entre conditions de séchage et taille moyenne de particules peut s'expliquer par le fait qu'une température de séchage plus élevée induit une évaporation plus rapide de l'eau des gouttelettes, favorisant la solidification rapide de la surface et menant à des particules de taille plus grande et de forme plus sphérique ²⁴². En revanche, à plus faible température de séchage, la plus lente vitesse d'évaporation permet de laisser le temps à la matière sèche des gouttelettes de migrer, ce qui évite la formation d'une croûte et permet ainsi une réduction de taille lorsque la gouttelette se transforme en particule.

Les distributions de taille de particules pour les poudres 100 % PPCN sont présentées dans la Figure 41.

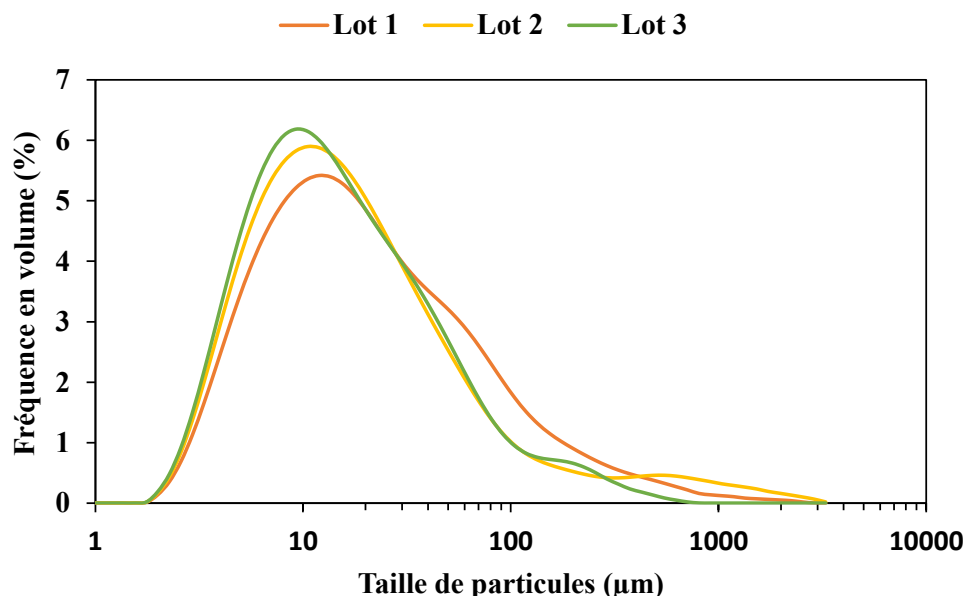


Figure 41. Distributions de taille de particules des poudres composées à 100 % de PPCN obtenues par atomisation. Lot 1 : $T_e = 200\text{ °C}$ et $T_s = 100\text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ °C}$ et $T_s = 85\text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ °C}$ et $T_s = 70\text{ °C}$ ($n \geq 3$).

Les poudres composées à 100 % de PPCN présentent des distributions de taille de particules bimodales, avec une population majoritaire de petite taille (autour de $10\text{ }\mu\text{m}$) et une population minoritaire de grande taille (au-delà de $100\text{ }\mu\text{m}$). Cette dernière population résulte vraisemblablement d'un phénomène d'agglomération des particules au cours du séchage par atomisation (induit par des recirculations des particules séchées dans la zone du spray), mais une mauvaise dispersion des poudres lors de l'analyse peut également expliquer le span élevé obtenu lors de la mesure et le peu de répétabilité dans la gamme de tailles de particules au-delà de $100\text{ }\mu\text{m}$ environ (puisque ces poudres se sont avérées cohésives et donc difficiles à disperser).

2.3.2. Poudres 75 % PPCN/25 % zéine

Les caractéristiques granulométriques des poudres 75 % PPCN/25 % zéine sont présentées dans le Tableau 33.

Tableau 33. Caractéristiques granulométriques des poudres 75 % PPCN/25 % zéine (n = 3).

Poudre		D10 (µm)	D50 (µm)	D90 (µm)	Span
75 % PPCN/25 % zéine	Lot 1	5,2 ± 0,1	26,3 ± 3,6	183,0 ± 36,4	6,7 ± 0,5
	Lot 2	5,0 ± 0,1	15,4 ± 0,2	125,0 ± 2,2	7,8 ± 0,1
	Lot 3	5,3 ± 0,0	23,6 ± 0,6	222,0 ± 9,0	9,2 ± 0,1

La taille moyenne des poudres produites varie entre 15 et 25 µm. Il s'agit des poudres avec un span élevé, notamment pour le lot 3. Ceci s'explique par le fait que les particules de zéine ne se réhydratent pas complètement dans l'eau et restent en suspension provoquant l'obtention de poudres de taille très variable. Les températures de séchage les plus basses (lot 3 avec $T_e = 150\text{ °C}$ et $T_s = 70\text{ °C}$) favorisent l'agglomération entre les particules : la surface des gouttelettes/particules sèche plus lentement et donc reste collante plus longtemps, ce qui favorise l'agglomération des particules entre elles.

Toutes les poudres ont un span élevé qui montre que les distributions des particules sont très larges, ce qui est cohérent avec la contribution d'un phénomène d'agglomération des particules lors du séchage par atomisation.

La Figure 42 présente les distributions de taille de particules des poudres 75 % PPCN/25 % zéine.

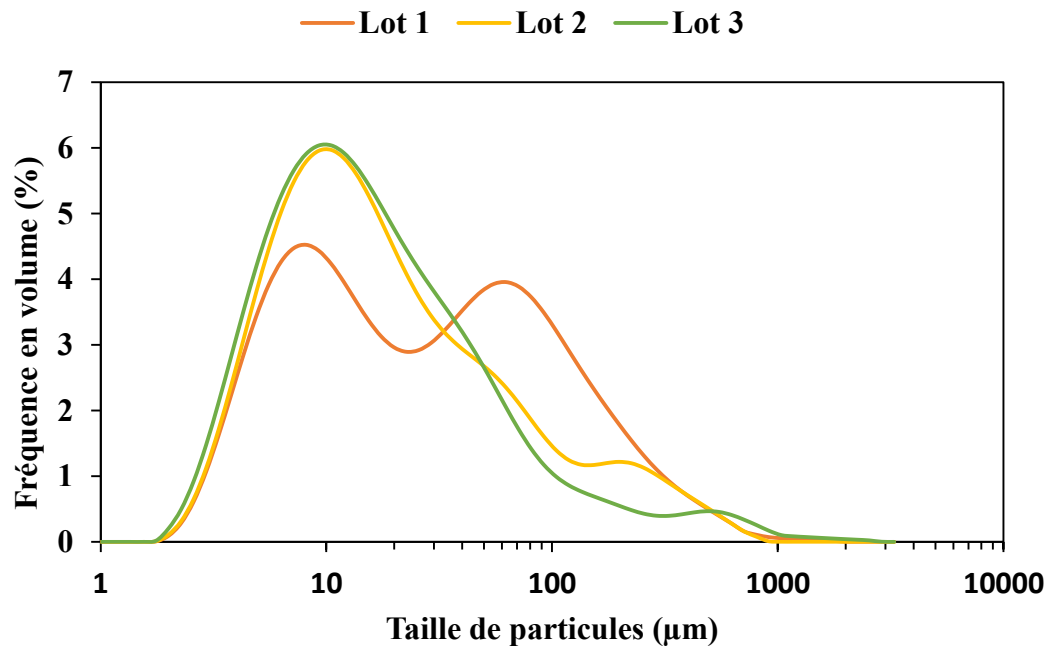


Figure 42. Distribution de taille de particules des poudres composées de 75 % PPCN/25 % zéine. Lot 1 : $T_e = 200\text{ °C}$ et $T_s = 100\text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ °C}$ et $T_s = 85\text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ °C}$ et $T_s = 70\text{ °C}$ ($n \geq 3$).

La poudre du lot 1 est bimodale avec deux populations, l'une autour de $10\text{ }\mu\text{m}$ et l'autre autour de $100\text{ }\mu\text{m}$. Les poudres des lots 2 et 3 sont polymodales.

2.3.3. Poudres 100 % WPI

Les caractéristiques granulométriques des poudres 100 % WPI sont présentées dans le Tableau 34.

Tableau 34. Caractéristiques granulométriques des poudres atomisées ($n \geq 3$).

Poudre		D10 (μm)	D50 (μm)	D90 (μm)	Span
100 % WPI	Lot 1	$5,2 \pm 0,6$	$14,4 \pm 1,1$	$51,2 \pm 11,0$	$3,2 \pm 0,6$
	Lot 2	$4,3 \pm 0,1$	$12,4 \pm 0,3$	$38,7 \pm 8,$	$2,7 \pm 0,6$
	Lot 3	$4,5 \pm 0,2$	$12,8 \pm 0,4$	$35,2 \pm 5,6$	$2,4 \pm 0,4$

Les poudres obtenues avec la matrice WPI sont petites avec une taille moyenne de $12\text{ à }14\text{ }\mu\text{m}$. Le span est le plus élevé pour le lot 1, indiquant que la distribution de tailles des particules de cette poudre est plus large.

La Figure 43 présente les distributions de taille de particules des poudres 100 % WPI.

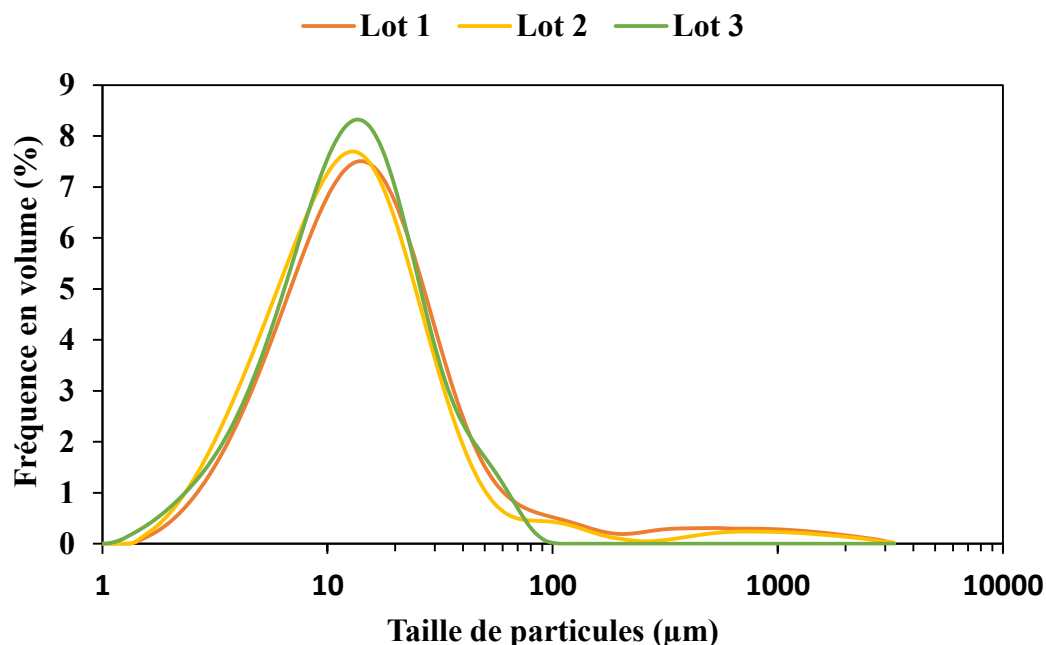


Figure 43. Distribution de taille de particules des poudres 100 % WPI. Lot 1 : $T_e = 200\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T_s = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T_s = 85\text{ }^{\circ}\text{C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T_s = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($n \geq 3$).

Les poudres 100 % WPI ont une distribution de taille de particules plus étroite pour le lot 3 ($T_e = 150\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T_s = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$). Elles sont relativement monomodales avec une population majoritaire de petite taille et quelques agglomérats entre 100 et 1 000 μm .

2.3.4. Poudres 100 % DM

Les caractéristiques granulométriques des poudres 100 % DM sont présentées dans le Tableau 35.

Tableau 35. Caractéristiques granulométriques des poudres à base de dextrine de maïs ($n \geq 3$).

Poudre		D10 (μm)	D50 (μm)	D90 (μm)	Span
100 % DM	Lot 1	3,5 ± 0,0	9,5 ± 0,2	35,5 ± 5,4	3,4 ± 0,5
	Lot 2	3,5 ± 0,0	8,1 ± 0,1	19,0 ± 0,3	1,9 ± 0,0
	Lot 3	3,5 ± 0,0	8,2 ± 0,1	21,0 ± 1,5	2,1 ± 0,2

Les poudres 100 % DM ont une taille moyenne des particules d'environ 8 à 9 μm . Comme pour les poudres 100 % PPCN et 100 % WPI, les conditions de séchage jouent un rôle important dans

les caractéristiques des poudres : les particules obtenues sont plus grandes à plus forte température de séchage car la surface est rapidement solidifiée. Le span des poudres à base de DM est le plus faible comparé aux résultats des autres matrices étudiées, ce qui indique qu'elles sont les plus monodisperses. La Figure 44 présente les résultats obtenus pour les poudres 100 % DM.

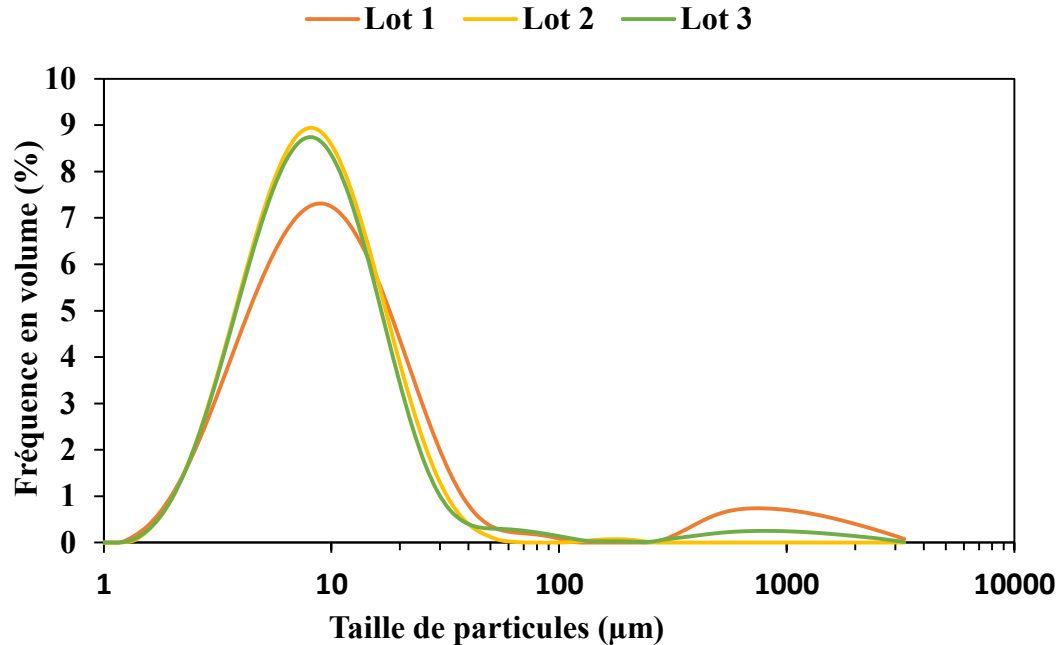


Figure 44. Distributions de taille de particules des poudres 100 % DM. Lot 1 : $T_e = 200\text{ °C}$ et $T_s = 100\text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ °C}$ et $T_s = 85\text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ °C}$ et $T_s = 70\text{ °C}$ ($n \geq 3$).

Le lot 2 ($T_e = 175\text{ °C}$ et $T_s = 85\text{ °C}$) des poudres 100 % DM a le meilleur span, ce qui indique que sa distribution de taille de particules est étroite. Les poudres à base de DM ont la plus petite taille des particules comparées aux autres matrices, ce qui est en accord avec la littérature²³³.

Les poudres 100 % PPCN ont la taille moyenne de particules la plus élevée et les poudres 100 % DM ont les distributions de particules monodisperses les plus étroites.

L'effet du type de matrice sur les caractéristiques des poudres semble plus important que l'effet des paramètres de séchage.

2.4. Colorimétrie des poudres

La colorimétrie des poudres est caractérisée par 3 paramètres dans le système $L^*a^*b^*$: L^* est la luminosité, a^* représente la balance vert-magenta et b^* représente la balance bleu-jaune. Les résultats obtenus pour les poudres produites à l'échelle pilote sont présentés dans le Tableau 36.

Tableau 36. Paramètres de couleur des poudres obtenues par séchage par atomisation à l'échelle pilote.
Lot 1 : $T_e = 200\text{ °C}$ et $T_s = 100\text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ °C}$ et $T_s = 85\text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ °C}$ et $T_s = 70\text{ °C}$, ($n = 3$).

Matrice	N° lot	L^*	a^*	b^*
100 % PPCN	1	$77,58 \pm 10,13$	$-0,61 \pm 0,03$	$4,89 \pm 0,33$
	2	$70,28 \pm 2,14$	$-0,54 \pm 0,02$	$4,77 \pm 0,13$
	3	$74,87 \pm 0,47$	$-0,48 \pm 0,01$	$3,95 \pm 0,10$
75 % PPCN/25 % zéine	1	$70,30 \pm 1,65$	$0,24 \pm 0,04$	$11,42 \pm 0,06$
	2	$65,17 \pm 1,24$	$0,50 \pm 0,18$	$12,18 \pm 0,61$
	3	$80,45 \pm 2,41$	$0,87 \pm 0,12$	$15,05 \pm 0,30$
100 % WPI	1	$83,30 \pm 0,87$	$-0,44 \pm 0,01$	$4,86 \pm 0,10$
	2	$92,67 \pm 0,91$	$-0,32 \pm 0,01$	$4,83 \pm 0,10$
	3	$79,60 \pm 2,30$	$-0,33 \pm 0,01$	$4,54 \pm 0,16$
100 % DM	1	$83,95 \pm 0,89$	$-0,22 \pm 0,01$	$-0,29 \pm 0,08$
	2	$88,53 \pm 0,60$	$-0,22 \pm 0,01$	$-0,49 \pm 0,02$
	3	$84,50 \pm 0,61$	$-0,22 \pm 0,00$	$-0,20 \pm 0,05$

PPCN : caséines micellaires natives, **WPI** : isolat de protéines solubles laitières, **zéine** : protéines de maïs, **DM** : dextrine de maïs.

A l'exception de la poudre qui contient des protéines de maïs qui est légèrement jaune (étant donné que la poudre commerciale de zéine est déjà de couleur jaune-orange), toutes les poudres sont blanches comme en témoignent les valeurs de a^* et b^* très proches de zéro. L'ajout d'une poudre colorée dans le mix industriel peut poser problème car certaines couleurs (par ex. le vert, le bleu, le noir) sont mal acceptées par le consommateur. A priori toutes les poudres, à l'exception de celle qui contient des protéines de maïs, sont blanches et ont donc une couleur acceptable. Les conditions de séchage testées ne semblent pas avoir d'impact significatif sur la couleur des poudres, contrairement à la composition de la matrice.

2.5. Propriétés de réhydratation

2.5.1. Mouillabilité des poudres

La Figure 45 présente la mouillabilité des poudres des différentes matrices obtenues pour les trois conditions de séchage.

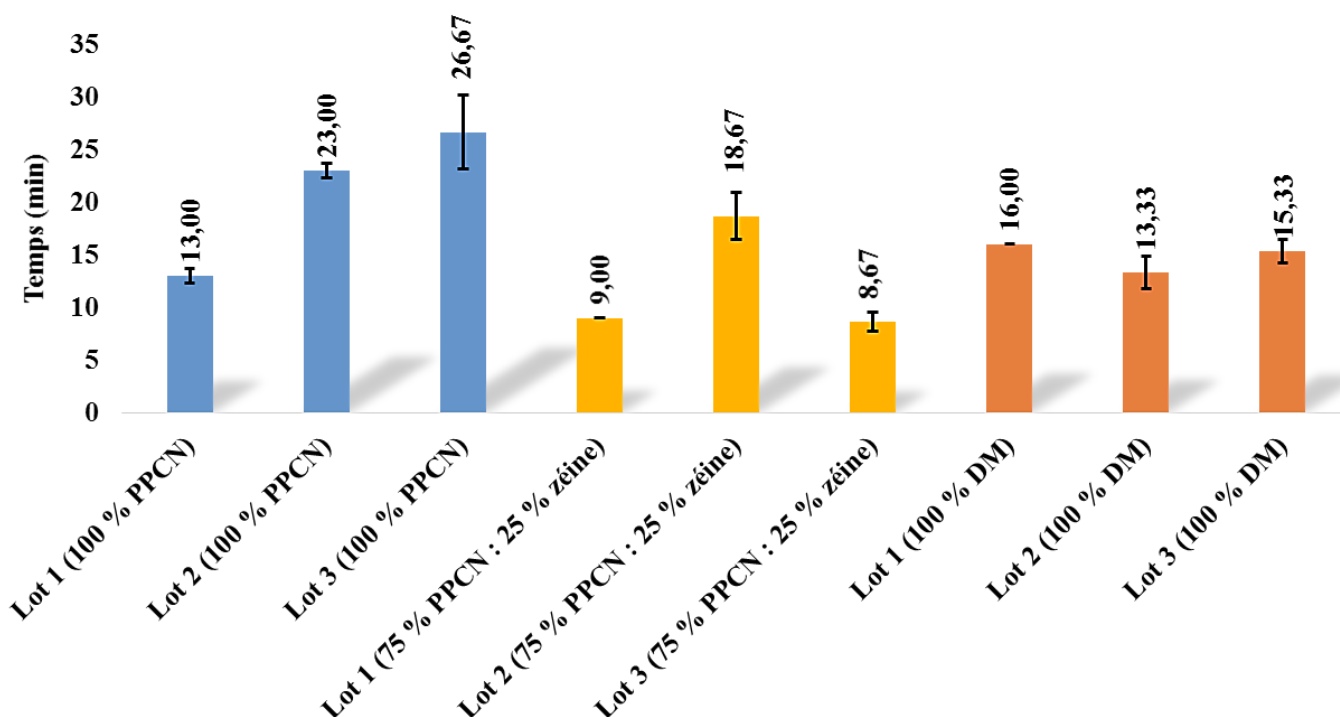


Figure 45. Mouillabilité (représentée par le temps de mouillage) des poudres suivant la matrice utilisée et les conditions de séchage. Lot 1 : $T_e = 200\text{ °C}$ et $T_s = 100\text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ °C}$ et $T_s = 85\text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ °C}$ et $T_s = 70\text{ °C}$, ($n = 3$). **PPCN** : caséines micellaires natives, **zéine** : protéines de maïs, **DM** : dextrine de maïs.

Les mesures ont montré que les poudres de WPI ne sont pas mouillables, en accord avec la littérature²⁴³, et donc leur temps de mouillage (supérieur à 45 min) n'est pas présenté sur la Figure 49. Les poudres avec la meilleure mouillabilité globale pour les trois lots sont constituées de 75 % PPCN/25 % zéine. Pour les poudres 100 % PPCN, on observe une tendance à l'augmentation du temps de mouillage lorsque la température de séchage est plus faible, ce qui est en accord avec la littérature²⁴³.

2.5.2. Dispersibilité des poudres

La dispersibilité reflète le caractère instantané des poudres²⁴⁴. Les résultats sont présentés dans la Figure 46.

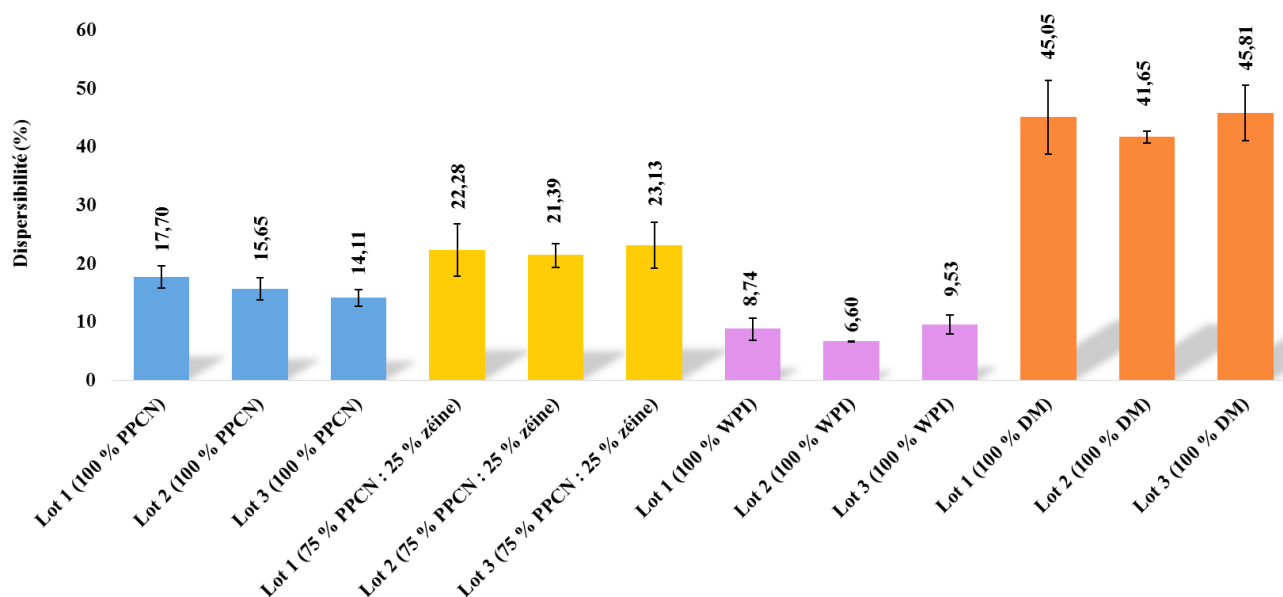


Figure 46. Evolution de la dispersibilité des poudres produites par atomisation au laboratoire suivant la matrice utilisée et les conditions de séchage. Lot 1 : $T_e = 200\text{ °C}$ et $T_s = 100\text{ °C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ °C}$ et $T_s = 85\text{ °C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ °C}$ et $T_s = 70\text{ °C}$ ($n = 3$). **PPCN** : caséines micellaires natives, **WPI** : isolat de protéines solubles laitières, **zéine** : protéines de maïs, **DM** : dextrine de maïs.

Les poudres de dextrine ont la meilleure dispersibilité²³³. Cela les rend très intéressantes pour l'application industrielle, car la Vit C encapsulée est vouée à être incorporée dans un mix qui sera réhydraté par le consommateur avant ingestion. Or, le temps de préparation est un facteur très important pour le consommateur.

Les poudres contenant des protéines de maïs présentent une meilleure dispersibilité que les poudres constituées à 100 % de PPCN et à 100 % WPI. Les conditions de séchage n'ont pas d'effet particulier sur la dispersibilité des poudres produites quelle que soit la matrice. Il peut être déduit que, dans les conditions expérimentales mises en œuvre dans cette étude, ce ne sont pas les conditions de séchage mais la composition de la matrice qui détermine la dispersibilité des poudres.

2.5.3. Solubilité des poudres

La solubilité des poudres est présentée dans la Figure 47.

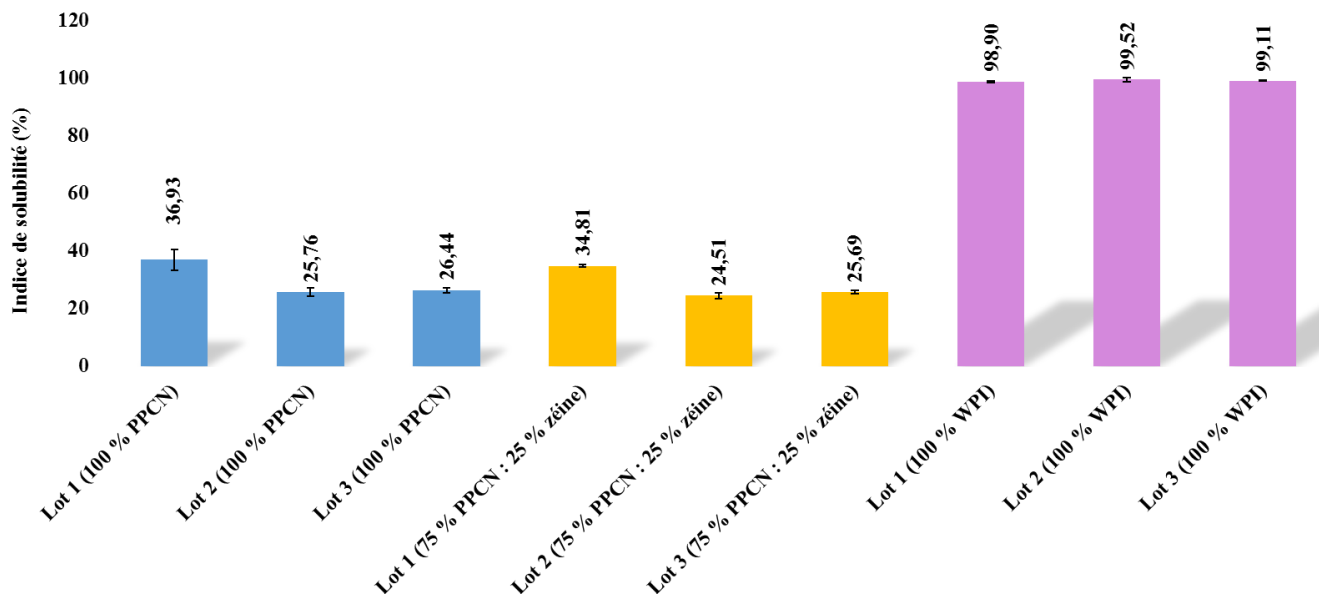


Figure 47. Solubilité des poudres suivant la matrice utilisée et les conditions de séchage. Lot 1 : $T_e = 200\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T_s = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T_s = 85\text{ }^{\circ}\text{C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T_s = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($n = 3$). **PPCN** : caséines micellaires natives, **WPI** : isolat de protéines solubles laitières, **zéine** : protéines de maïs.

Les matrices à base de PPCN ou de protéines de maïs sont peu solubles avec un indice de solubilité qui varie entre 25 et 35 %, ce qui est cohérent avec l'hydrophobicité du PPCN et la quasi-insolubilité des protéines de maïs dans de l'eau. Ces valeurs sont plus faibles que pour des particules de 70 – 80 μm (indice de solubilité de poudres de caséines de cette taille : $64,6 \pm 1,6\%$ ²³³), probablement à cause de la faible taille moyenne de particules qui est de 14 à 18 μm pour les poudres produites au laboratoire. Les poudres 100 % WPI présentent une excellente solubilité entre 98 et 100 %. Les poudres 100 % DM présentent une solubilité de 100 % et ne sont pas présentées dans la Figure 51. L'excellente dispersibilité des poudres de WPI et DM est bien en accord avec la littérature ²³³. La solubilité est améliorée pour les poudres produites avec les températures de séchage les plus élevées (lot 1 avec $T_e = 200\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T_s = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Du point de vue de l'application industrielle recherchée (protection de la Vit C lors de la réhydratation et du TTMO), les poudres se réhydratant le moins bien sont a priori les plus

intéressantes, puisqu'elles vont permettre de retenir plus longtemps la Vit C en milieu aqueux et lors du TTMO. En effet, la difficulté de réhydratation peut permettre de conserver un état stabilisé plus longtemps, rendant inaccessible la Vit C au milieu aqueux ambiant. Mais aussi, les micro-ondes agissant principalement sur les molécules d'eau, une poudre peu réhydratée aura tendance à se réchauffer plus lentement que le milieu liquide ambiant, ce qui aura pour effet de protéger la Vit C lors du TTMO.

2.6. Taux d'encapsulation de la Vit C

Le taux d'encapsulation de la Vit C des poudres correspond à la proportion de Vit C ajoutée aux concentrés avant séchage par atomisation présente dans la poudre obtenue ; les résultats pour toutes les matrices sont présentés dans le Tableau 37.

Tableau 37. Taux d'encapsulation des différentes matrices étudiées à l'échelle laboratoire. Lot 1 : $T_e = 200\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T_s = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$, lot 2 : $T_e = 175\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T_s = 85\text{ }^{\circ}\text{C}$, lot 3 : $T_e = 150\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T_s = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($n = 3$).

Matrice	Taux d'encapsulation (%)		
	Lot 1	Lot 2	Lot 3
100 % PPCN	$84,9 \pm 2,4^{abc}$	$88,5 \pm 2,3^a$	$88,6 \pm 1,7^a$
75 % PPCN/25 % zéine	$83,5 \pm 2,7^{abc}$	$81,6 \pm 2,9^{bcd}$	$75,2 \pm 2,8^e$
100 % WPI	$79,4 \pm 0,8^{cde}$	$76,0 \pm 2,4^{de}$	$77,0 \pm 3,2^{de}$
100 % DM	$85,0 \pm 2,7^{abc}$	$86,6 \pm 1,9^{ab}$	$88,6 \pm 2,5^{abc}$

Les taux d'encapsulation de Vit C (matrices et conditions ensemble) associés à des lettres différentes en exposant sont significativement différents ($p < 0,05$, $n = 3$).

PPCN : caséines micellaires natives, **WPI** : isolat de protéines solubles laitières, **zéine** : protéines de maïs, **DM** : dextrine de maïs.

Le séchage par atomisation à l'échelle pilote a permis d'obtenir des taux d'encapsulation de la Vit C tout à fait corrects, compris entre 75 et 90 %.

Le séchage par atomisation à température plus élevée (lot 1 : $T_e = 200\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T_s = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$) semble avoir un effet négatif sur l'encapsulation de la Vit C (matrices 100 % PPCN et 100 % DM), probablement suite à son altération thermique lors du séchage ²⁴⁵. Du point de vue du taux d'encapsulation, les conditions de séchage plus douces des lots 2 et 3 semblent plus appropriées.

2.7. Taux de rétention en Vit C après traitement thermique au four à micro-ondes en mode consommateur

Le taux de rétention est calculé comme la proportion de Vit C retrouvée après TTMO en mode (t ; P) par rapport à la Vit C encapsulée dans la poudre (Tableau 38).

Tableau 38. Taux de rétention en Vit C des différentes matrices après TTMO en mode (t ; P). Lot 1 : T_e = 200 °C et T_s = 100 °C, lot 2 : T_e = 175 °C et T_s = 85 °C, lot 3 : T_e = 150 °C et T_s = 70 °C (n = 3).

Poudre	Rétention en Vit C après TT (%)		
	Lot 1	Lot 2	Lot 3
100 % PPCN	92,5 ± 8,7 ^{bcd}	89,1 ± 14,4 ^d	88,1 ± 5,7 ^d
75 % PPCN/25 % zéine	106,7 ± 4,2 ^a	109,2 ± 9,2 ^a	105,4 ± 7,0 ^{ab}
100 % WPI	113,0 ± 3,6 ^a	103,2 ± 4,0 ^{abc}	110,2 ± 3,5 ^a
100 % DM	90,2 ± 4,3 ^{cd}	86,1 ± 3,8 ^d	85,9 ± 2,5 ^d

Les taux de rétention en Vit C (matrices et conditions ensemble) associés à des lettres différentes en exposant sont significativement différents (p < 0,05, n = 3).

PPCN : caséines micellaires natives, **WPI** : isolat de protéines solubles laitières, **zéine** : protéines de maïs, **DM** : dextrine de maïs.

L'encapsulation par atomisation a permis une bonne protection de la Vit C lors du TTMO en mode consommateur pour toutes les matrices utilisées : le taux de rétention après le TT variant entre 85 et 113 %. La matrice WPI semble être la meilleure pour protéger la Vit C contre le TT. Ceci peut être expliqué par l'interaction spécifique de la Vit C avec les protéines laitières solubles. Dans plusieurs expériences avec de la Vit C radiomarquée, il a été montré dans la littérature qu'elle se lie de manière covalente avec des protéines variées^{246,247}. Tukamoto et al. (1974)²⁴⁸ ont étudié les interactions de l'albumine soluble bovine avec la Vit C et ont montré que l'interaction est hydrophobe et que la force de liaison dépend du caractère hydrophobe des résidus acides. Choumane (1974)²⁴⁹ a mis en évidence l'interaction de la Vit C avec la β -lactoglobuline, sans détailler le mécanisme de cette interaction.

Dans ce travail de thèse, il peut donc être supposé qu'une proportion de la Vit C reste liée aux protéines solubles pendant l'extraction préalable à la CLHP, empêchant de doser cette fraction et donc conduisant à un taux d'encapsulation mesuré plus faible qu'en réalité. Grâce à l'énergie fournie par les micro-ondes, les liaisons spécifiques sont rompues et la Vit C est alors libérée dans la solution, la rendant disponible pour le dosage²⁵⁰. La même conclusion peut être formulée pour

la matrice contenant la zéine (protéine de maïs), pour laquelle la fraction de Vit C retrouvée après le TTMO dépasse également les 100 %.

La matrice avec le taux de rétention le plus faible est celle composée à 100 % DM. Cela peut être expliqué par le fait que la dextrine se solubilise facilement et donc la libération de la Vit C a lieu bien avant le traitement thermique, ce qui diminue grandement son pouvoir protecteur.

Afin d'intégrer à la fois un bon taux d'encapsulation et la protection contre le TTMO consommateur, le taux de préservation a été défini en comparant la quantité de Vit C dans le produit reconstitué avec la quantité de Vit C présente dans le concentré utilisé pour produire les poudres par atomisation (Tableau 39).

Tableau 39. Taux de préservation de la Vit C après atomisation, reconstitution et TTMO en mode (t ; P), n= 3.

Poudre	Rétention en Vit C (%)		
	Lot 1	Lot 2	Lot 3
100 % PPCN	76,8 ± 6,4 ^b	78,4 ± 6,7 ^{ab}	79,4 ± 5,1 ^{ab}
75 % PPCN/25 % zéine	89,1 ± 3,5 ^a	89,1 ± 7,5 ^a	79,1 ± 5,5 ^{ab}
100 % WPI	89,7 ± 2,8 ^a	78,4 ± 3,0 ^{ab}	84,4 ± 2,5 ^{ab}
100 % DM	76,7 ± 3,7 ^b	74,6 ± 3,3 ^b	73,6 ± 2,1 ^b

Les taux de préservation de la Vit C (matrices et conditions ensemble) associés à de lettres différentes en exposant sont significativement différents ($p < 0,05$, $n = 3$).

PPCN : caséines micellaires natives, **WPI** : isolat de protéines solubles laitières
zéine : protéines de maïs, **DM** : dextrine de maïs.

Les matrices protéiques semblent intéressantes pour la préservation (encapsulation + rétention) de la Vit C. Les matrices retenues pour le passage à l'échelle industrielle sont celles à base de protéines laitières car elles permettent des taux de préservation de 77 à 90 %, tout en se réhydratant convenablement dans l'eau, contrairement à la zéine qui est insoluble et entraîne des difficultés d'atomisation (bouchages fréquents de la buse de pulvérisation, nécessité de maintenir le concentré sous agitation pour éviter la sédimentation de la zéine au sein du concentré, etc.).

Les différentes conditions d'atomisation n'ont pas eu d'impact significatif sur le taux de préservation de la Vit C dans le produit reconstitué, mais il semble tout de même que la préservation puisse être améliorée en utilisant la plus forte température de séchage (lot 1). Ceci pourrait s'expliquer par le phénomène de croûtage des particules plus prononcé à température de séchage

plus élevée, limitant ainsi la réhydratation de la poudre, susceptible de diminuer l'altération thermique de la Vit C lors du TTMO en mode (t ; P).

V. PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE 3

Des différentes atomisations réalisées et des dosages de Vit C effectués, il ressort que les matrices les plus intéressantes tant pour la préparation des concentrés avant l'atomisation que pour le comportement durant l'atomisation et finalement la qualité de la poudre obtenue sont les matrices protéiques laitières (Figure 48). C'est donc l'encapsulation par atomisation de ces matrices, 100 % PPCN et 100 % WPI, qui serait plus favorable pour répondre à la problématique de l'entreprise finançant le projet de thèse. Les conditions de séchage les plus douces permettent de réduire les pertes en vitamine lors de l'atomisation.

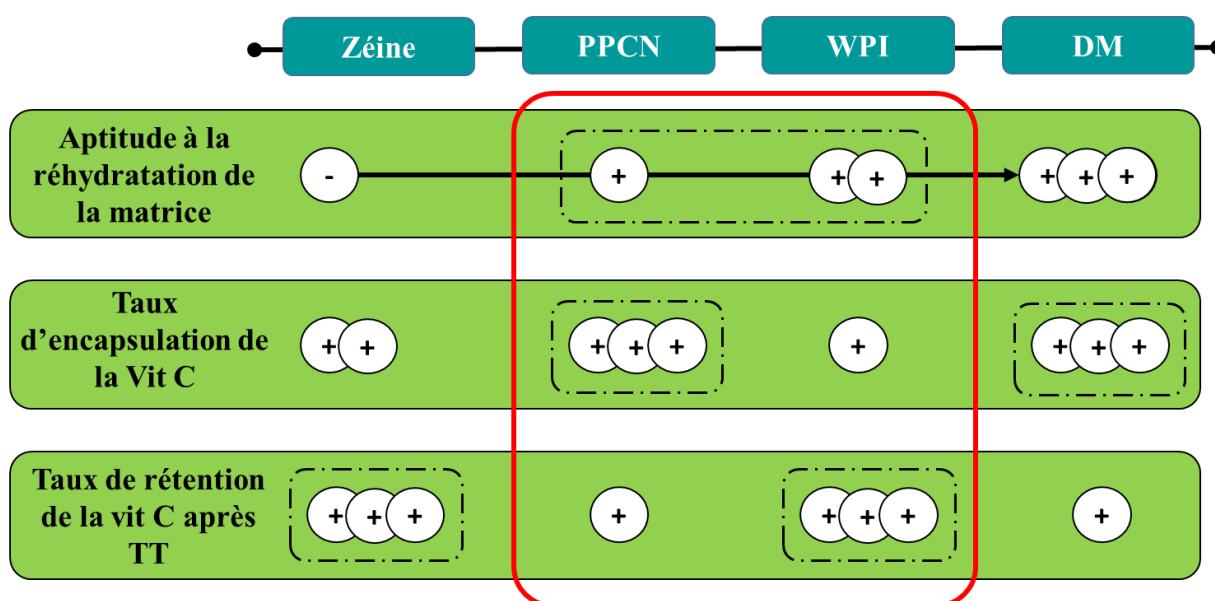


Figure 48. Comparaison des résultats pour les différentes matrices d'encapsulation testées à l'échelle laboratoire.

➤ Matrice 100 % PPCN

La matrice à base de caséines (100 % PPCN) a été choisie par rapport au comportement des protéines lors de la réhydratation. Le PPCN se réhydrate mal (Figure 49) et par conséquent, peu d'eau pénètre dans les particules caséiques lors d'une reconstitution de quelques minutes. Cela a permis de supposer que lors des phases rapides de réhydratation du mix (< 2 min) puis lors du traitement thermique au four à micro-ondes (< 3 min), les caséines encore peu hydratées peuvent être un support intéressant pour protéger la Vit C.

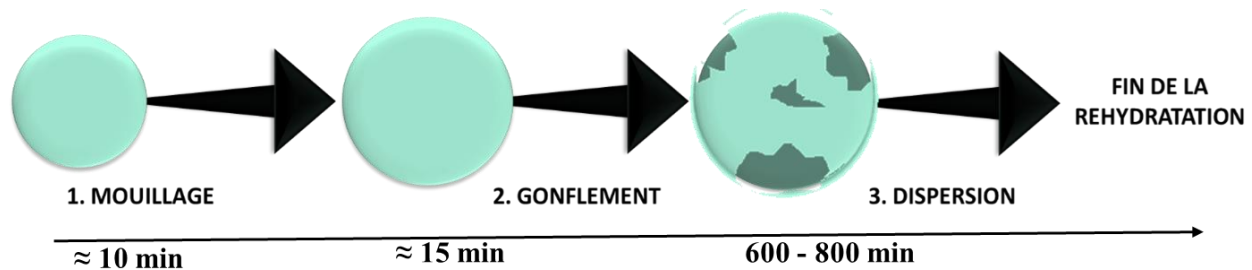


Figure 49. Etapes de réhydratation des poudres de caséines.

Le meilleur taux de préservation (après atomisation et TTMO) pour cette matrice est celui du lot 3 avec $82,1 \pm 5,1 \%$. En conclusion, les conditions de séchage optimales pour cette matrice sont celles du lot 3 : $T_e = 150 \text{ }^\circ\text{C}$ et $T_s = 72 \text{ }^\circ\text{C}$.

➤ **Matrice 100 % WPI**

La matrice 100 % WPI a été choisie parce que les protéines solubles laitières ont la propriété de se dénaturer à des températures élevées et sont capables alors d'entrer en interaction avec des biomolécules comme la Vit C²⁵¹. Le meilleur taux de préservation est celui du lot 1 avec $89,7 \pm 2,8 \%$. Donc les conditions de séchage optimales pour cette matrice sont celles du lot 1 : $T_e = 200 \text{ }^\circ\text{C}$ et $T_s = 100 \text{ }^\circ\text{C}$.

CHAPITRE 4 : Encapsulation à l'échelle industrielle

I. INTRODUCTION

L'étude des matrices d'encapsulation à l'échelle laboratoire (Chapitre 3) a permis de proposer à l'industriel des matrices types et des conditions de séchage par atomisation adaptées. Le choix des matrices pour les essais industriels s'est fait sur la base des résultats obtenus en laboratoire mais aussi en fonction de contraintes industrielles (Figure 50).

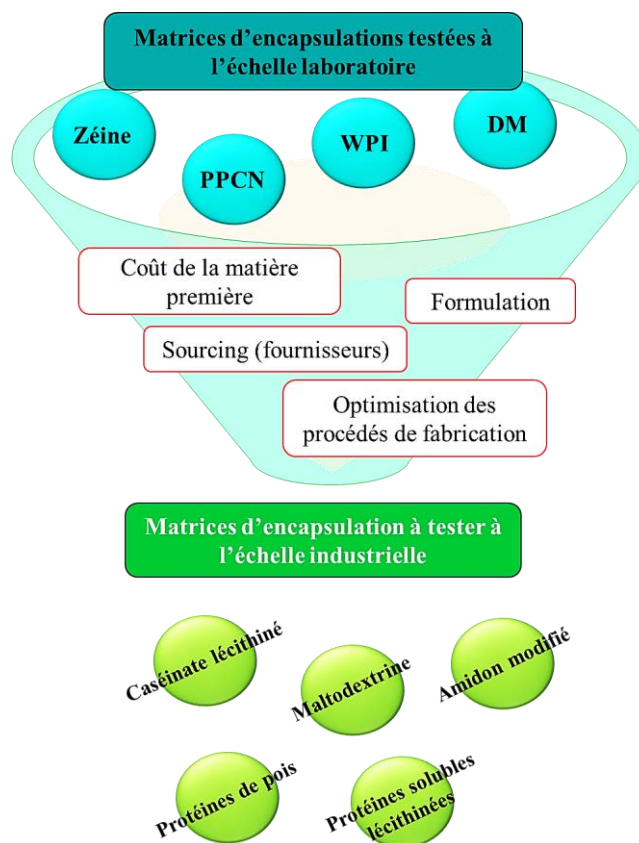


Figure 50. Facteurs de choix des matrices d'encapsulation à tester à l'échelle industrielle.

Les mix industriels standard contiennent dans leur formulation des protéines laitières et végétales mais aussi de l'amidon et des maltodextrines. Il a été choisi pour réaliser les essais industriels de fin de thèse d'utiliser ces ingrédients standards pour lesquels l'industriel a déjà optimisé le sourcing et adapté la production.

Ainsi, ces matrices sont proches de celles testées en laboratoire (poudres de protéines laitières) mais possèdent certaines caractéristiques différentes comme la lécithination qui permet un meilleur mouillage, une dispersion plus rapide, et diminue significativement le temps de préparation des

concentrats avant l'atomisation. Cela explique le choix de travailler avec du caséinate de calcium lécithiné (au lieu de PPCN) et avec un concentré de protéines solubles laitières lécithinées (au lieu de WPI).

Les protéines végétales sont intéressantes d'un point de vue nutritionnel mais aussi pour leur protection contre le TT mais la zéïne de maïs trop peu dispersible est remplacée par les protéines de pois, habituellement utilisée dans l'entreprise.

Pour des raisons de coût de matières premières, un ajout de maltodextrine est choisi au détriment des poudres protéiques dans la matrice d'encapsulation. L'amidon modifié est une matrice complémentaire proposée par l'industriel en mélange avec des maltodextrines et des protéines ou seul.

Le développement d'une matrice d'encapsulation ne se limite pas à son efficacité mais aussi à sa stabilité pendant la période de stockage. Ainsi, une étude du vieillissement accéléré des poudres de vitamine C encapsulée a été réalisée durant 7 mois (soit 24 mois à 20 °C) pour pouvoir évaluer la teneur en vitamine tout au long de la vie du produit.

Dans ce chapitre, en lien avec l'évolution des poudres au cours du stockage, une étude bibliographique est réalisée sur le brunissement non enzymatique des matrices protéiques et glucidiques. Deux vitamines hydrosolubles sont encapsulées pour comparer les résultats entre une vitamine peu sensible aux TT (Vit B1) et une qui est très sensible (Vit C). Les modifications de la vitamine C induites par le brunissement non enzymatique sont aussi traitées.

L'étude expérimentale vise à évaluer l'aptitude des matrices à la préservation de la vitamine C après la séquence « atomisation-stockage-TT conventionnel et microonde ».

Les objectifs sont de :

- a.** *Tester la faisabilité et la qualité des différentes matrices d'encapsulation de la Vit C à l'échelle industrielle.*
- b.** *Evaluer la capacité des matrices à protéger la Vit C du TT.*
- c.** *Quantifier les variations de propriétés physico-chimiques des poudres au cours du vieillissement accéléré.*
- d.** *Quantifier les pertes en Vit C pendant le vieillissement accéléré des poudres.*

De l'ensemble des résultats obtenus, la (les) matrice(s) d'encapsulation qui répond le mieux aux exigences industrielles (préservation de la Vit C lors du TT et du stockage et mise en œuvre aisée de l'encapsulation à l'échelle industrielle) sera définie(s).

II. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. La réaction de brunissement non enzymatique

Les réactions non-enzymatiques qui surviennent lors du chauffage entre protéines et sucres réducteurs sont appelées les réactions de Maillard ²⁵². Elles produisent une multitude de composés par différentes réactions suivant des mécanismes réactionnels complexes et multi-étapes, qui sont très dépendantes de la présence de protéines ou d'acides aminés et de la nature des sucres présents dans le produit. La caractérisation et la compréhension de la cinétique des étapes réactionnelles ²⁵³ et des constituants générés de la réaction de Maillard ²⁴⁹ restent un défi.

Pour mieux appréhender la réaction de Maillard, il est nécessaire d'élaborer un schéma simplifié selon trois grandes étapes (initiale, intermédiaire et finale) des 7 grandes réactions impliquées (de a à g sur la Figure 51) ²⁵⁴. L'absorption de la lumière dans l'UV et le visible des produits de réaction constitue un bon moyen de distinguer ces trois grandes étapes ²⁵⁴.

Etape initiale : formation de produits incolores n'absorbant pas dans l'ultraviolet (à 280 nm).

- Réaction a : condensation de Maillard ;
- Réaction b : réarrangement d'Amadori ;

Etape intermédiaire : formation de produits incolores ou jaunes, avec forte absorption dans l'ultraviolet.

- Réaction c : déshydratation du sucre ;
- Réaction d : fragmentation du sucre ;
- Réaction e : dégradation de Strecker ;

Etape finale : formation de produits fortement colorés.

- Réaction f : Condensation aldol ;
- Réaction g : Condensation aldéhyde-amine et formation de composés azotés hétérocycliques.

Les différentes étapes de la réaction de Maillard sont représentées sur la Figure 50 d'après Hodge (1953)²⁵⁶.

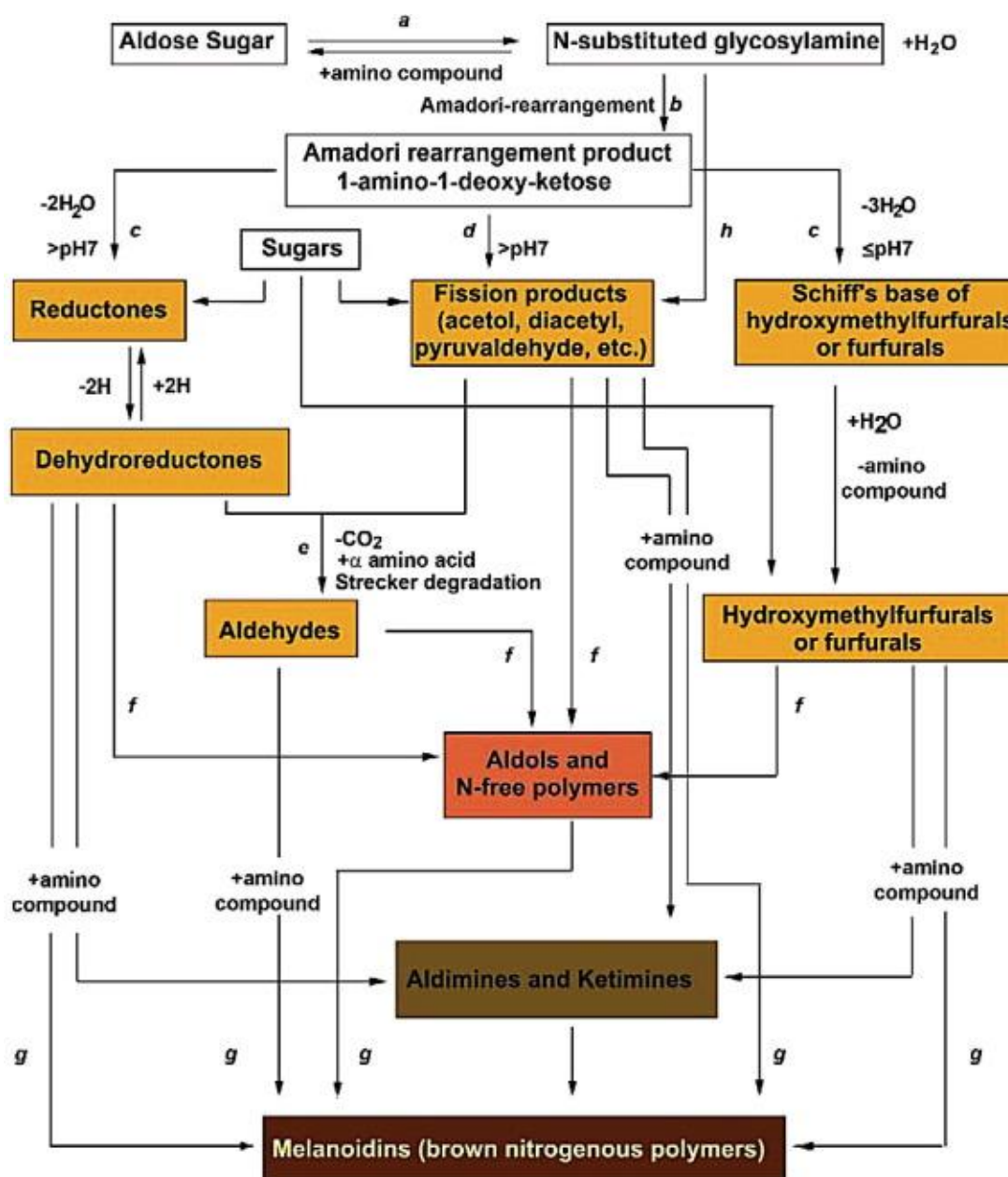


Figure 51. Diagramme de Hodge. La réaction initiale entre un sucre réducteur et un groupe protéine $-NH_2$ forme la base Schiff instable (réaction a), qui se réarrange lentement pour former le produit d'Amadori correspondant (réaction b). Dégradation du produit d'Amadori (réaction c). Formation de composés réactifs de carbonyle et d' α -dicarbonyle (réaction d). Formation d'aldéhydes de Strecker à partir d'acides aminés et d'aminocétone (réaction e). Condensation en aldols de furfurals, de réductènes et d'aldéhydes respectivement produits par les réactions c, d et e sans intervention des composés contenant le groupement $-NH_2$ (réaction f). Réaction de furfurals, de réducteurs et d'aldéhydes produits en réaction c, d et e avec des dérivés contenant des groupements $-NH_2$ pour former des mélanoidines (réaction g). Formation de produits de scission de carbonyles à partir du sucre réducteur induite par des radicaux libres (voie Namiki) (réaction h).

La réaction de Maillard a initialement été schématisée par le diagramme de Hodge ²⁵⁵, dans lequel a ensuite été intégrée la dégradation des radicaux libres des produits intermédiaires initiés par les sucres initiaux. L'étape initiale (réaction a) comprend la condensation de la fraction carbonyle d'un sucre réducteur (par exemple le lactose) avec des groupes amines (chaîne N-terminale ou chaîne latérale de lysine), générant une base de Schiff (aldimine). Ce dérivé instable influence le rendement de la 1-amino-1-désoxy-2-cétose (cétosamine) qui est un produit d'addition, également connu sous le nom de produit d'Amadori (réaction b) ²⁵⁶. Dans le cas du lactose, le produit d'Amadori correspond à la Nε-(1-désoxy-D-lactulose-1-yl)-Lys (également appelé lactulose L-lysine). La lactulose L-lysine est un dérivé de glycation de stade précoce qui peut être plus dégradé par diverses réactions dans les produits finis à glycation avancée ^{257,258}, aboutissant à la formation de furfurals non liés, de réductones, de pyranones et de produits de fragmentation (dérivés de carbonyles et d'hydroxycarbonyles) ²⁵² (réactions c, d et e), sans implication de composés contenant des groupements amino. L'étape g désigne les procédés entre les mêmes dérivés et les molécules contenant un groupe amino, ce qui donne finalement une mélanoine.

2. La Vit C et le brunissement non enzymatique

Au cours du traitement thermique des aliments, la Vit C est principalement dégradée par des réactions d'oxydation, la première étape est sa transformation en acide déshydroascorbique (DHA). La Vit C peut également donner du furfural après décarboxylation et déshydratation de sa forme énolique (Figure 52).

Il a été démontré qu'une dégradation de Strecker entre le DHA et un acide aminé initie une réaction de brunissement non enzymatique, mais que le DHA forme des produits bruns en l'absence de composés aminés ²⁵⁹. Dans la dégradation de Strecker, le produit initial est une base de Schiff qui se décarboxyle et donne une seconde base de Schiff ou un intermédiaire d'imine substituée. L'imine substituée s'hydrolyse pour libérer un aldéhyde et un acide L-scorbamique (SCA) (Figure 53). On suppose que l'acide L-scorbamique est un intermédiaire important dans la réaction de brunissement du DHA et dans la formation d'un assortiment de composés colorés ²⁶⁰.

Le brunissement dû au traitement thermique de la Vit C augmente avec le pH et, au-delà de pH 7, l'auto-oxydation et le brunissement se produisent dès 25 °C.

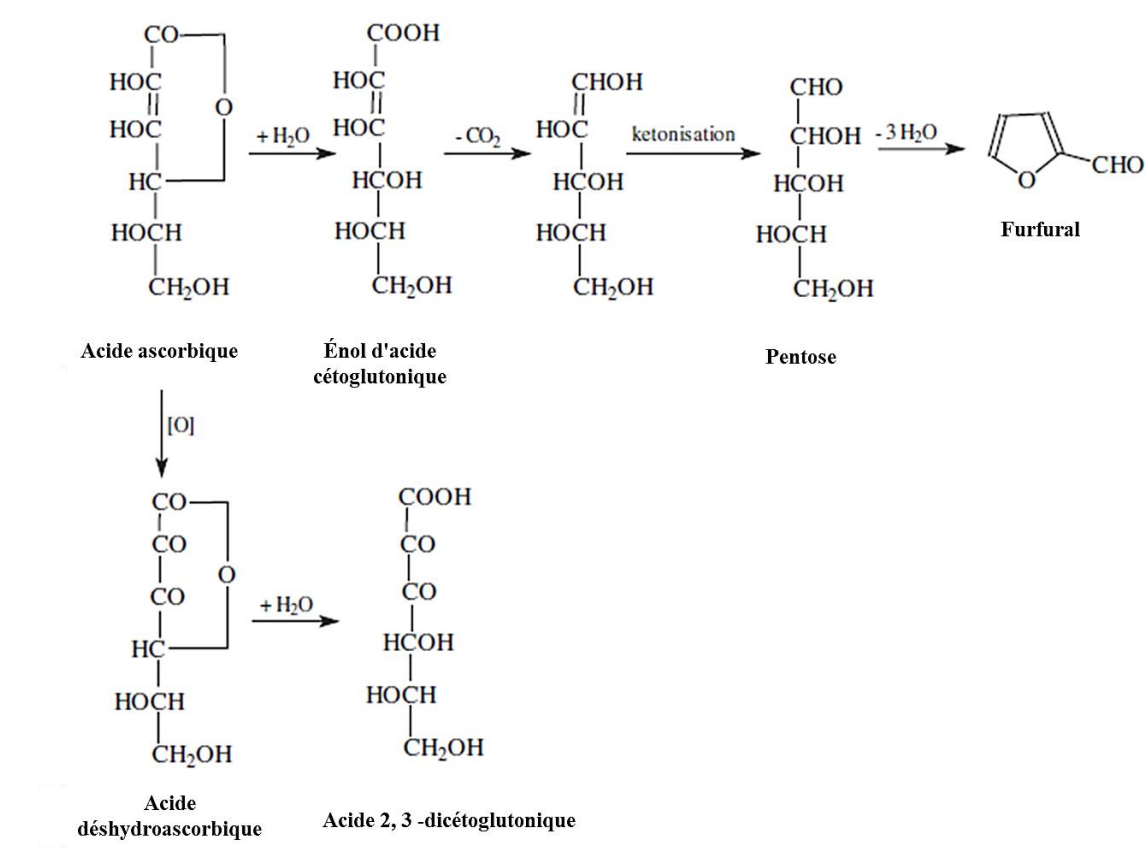


Figure 52. Dégradation de la Vit C ²⁵⁴.

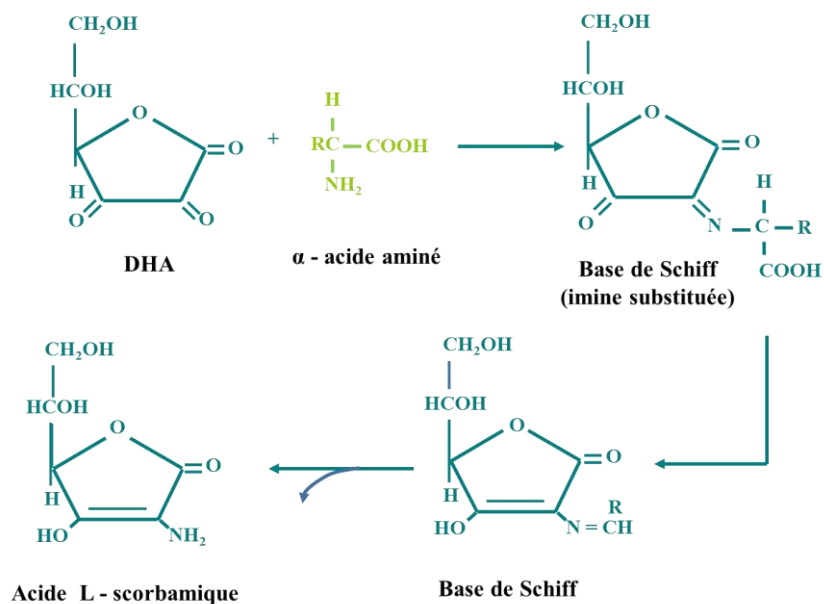


Figure 53. Dégradation de Strecker entre l'acide déshydroascorbique et un acide aminé pour donner un aldéhyde et l'acide L-scorbamique ²⁶¹.

Le comportement de la Vit C lors d'une réaction de brunissement non enzymatique en présence d'acides aminés a été bien étudié ²⁶²⁻²⁶⁹. Cependant, la cinétique de la réaction de brunissement non enzymatique dans les systèmes modèles Vit C/acide aminé n'a toujours pas été complètement caractérisée ²⁷⁰.

La réaction de brunissement non enzymatique entre la Vit C et les acides aminés forme des mélanoidines et des pyrazines ²⁶². La réaction de brunissement non enzymatique entre la Vit C et l'acide L-glutamique forme principalement des pyrazines. Les produits de dégradation de la Vit C tels que l'acétol, l'hydroxybutadiione, le butadiène, etc. (Figure 54) réagissent avec l'ammoniac libéré thermiquement par l'acide L-glutamique pour former des composés α -amino-carbonyle. La condensation bimoléculaire des composés α -amino-carbonyle donne la dihydropyrazine, qui se déshydrogène ensuite pour produire finalement les pyrazines ²⁶⁶.

La Vit C peut se dégrader et former de l'aldopentose selon la voie décrite par Feather (1993) ²⁷¹. Il a été rapporté dans la littérature que l'aldopentose formé par la dégradation de la Vit C forme des intermédiaires, tels que le 1-désoxypentosone, l'hydroxybutanedione, le butanedione et l'acétaldéhyde en présence de phosphates ²⁷¹. En outre, la 1-désoxypentosone peut former de l'acétol, du pyruvaldéhyde ²⁷², ou se dégrader davantage pour produire du formaldéhyde ²⁷³. Tous les produits de dégradation de la Vit C pré-cités peuvent réagir avec la cystéine ou ses produits de dégradation pour générer une variété de composés aromatiques. La voie de dégradation de la Vit C est présentée dans la Figure 55. Les composés aromatiques contenant du soufre formés par réaction de la Vit C avec la cystéine sont principalement des thiophènes, des thiazoles et des composés alicycliques contenant du soufre ²⁶⁷.

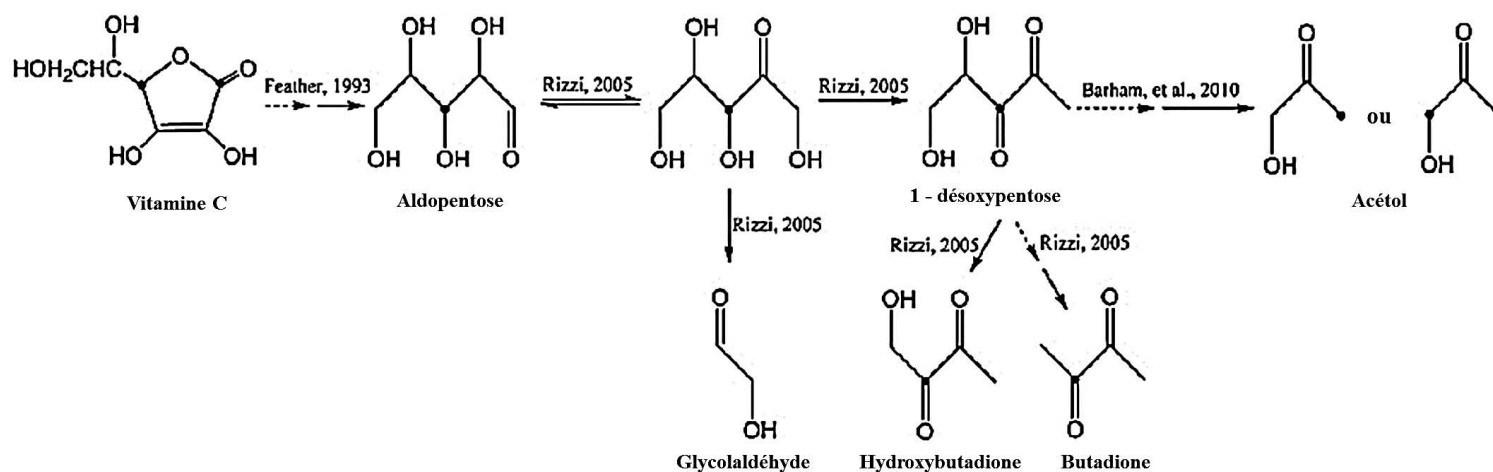


Figure 54. Voies de réaction pour la dégradation de la Vit C en présence d'acide L-glutamique ^{271,272,274}.

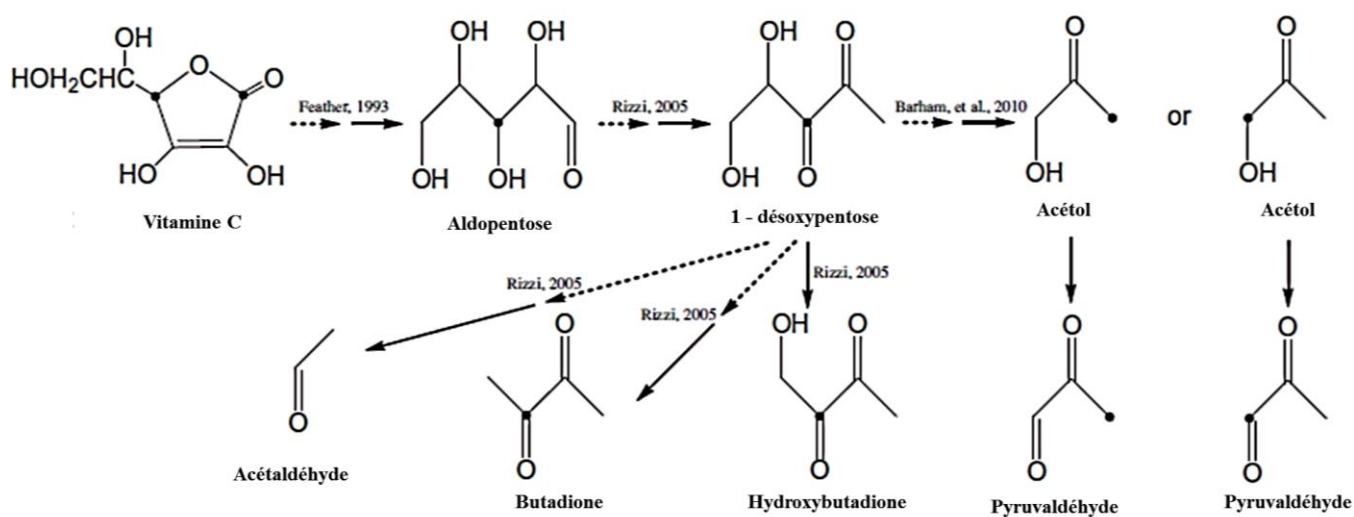


Figure 55 . Voies de réaction pour la dégradation de la Vit C en présence de cystéine ^{271,272,274}.

La cinétique de brunissement non enzymatique de la Vit C a été étudiée en chauffant des mélanges équimolaires de Vit C et d'acides aminés dans des conditions faiblement alcalines entre 120 et 150 °C et le lien entre le brunissement et la présence de composés de pyrazine a été caractérisé. Le taux de brunissement est plus important en présence d'acide L-aspartique que d'acide L-glutamique. La concentration totale en composés de pyrazine était fortement et positivement corrélée avec celle des produits de brunissement. La Figure 56 présente les voies de formation des produits de brunissement non enzymatique et de ses composés de pyrazine formée à partir de Vit C et des acides aminés acides ²⁵³.

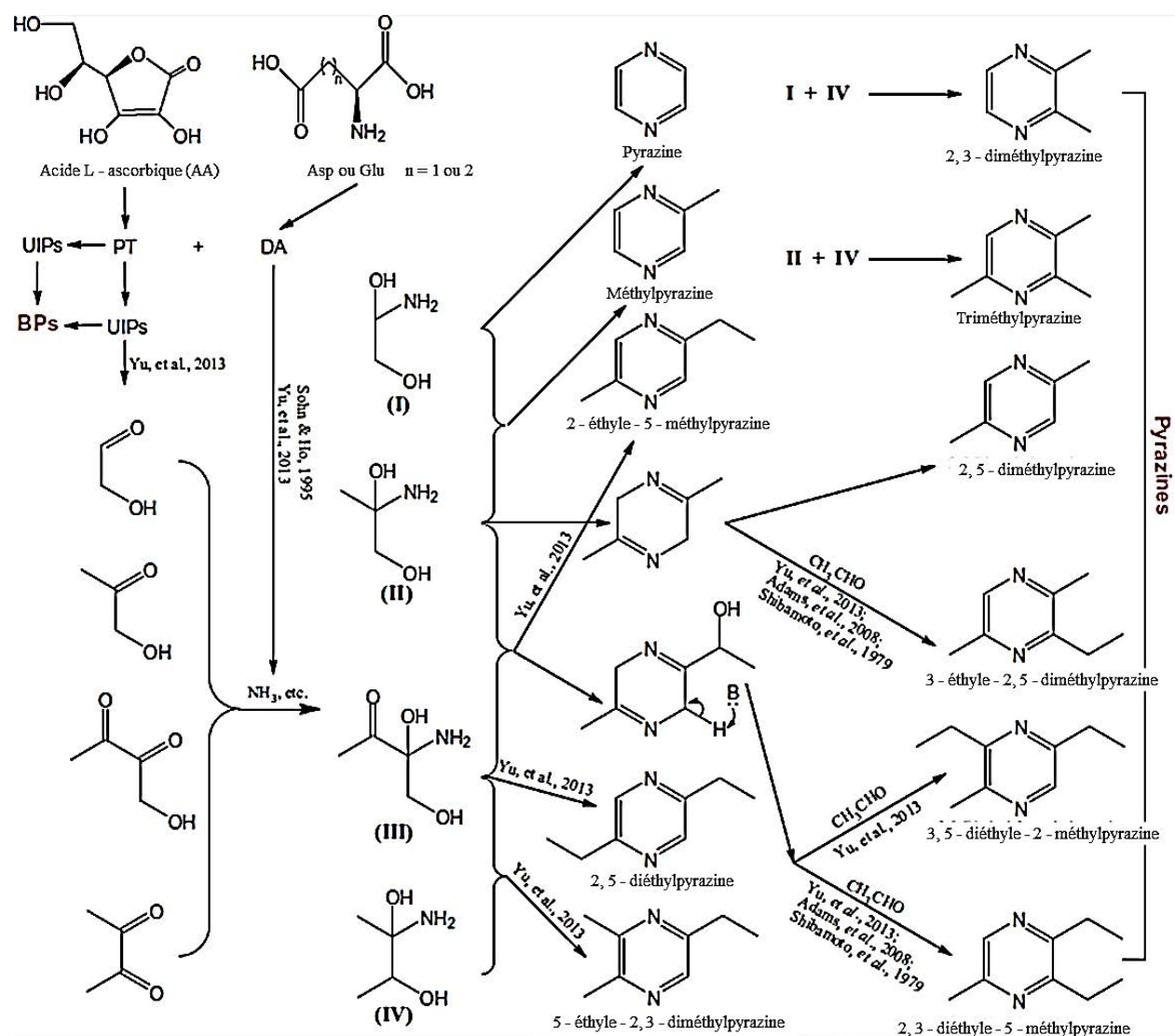


Figure 56. Voies de réaction de la dégradation de la Vit C en présence d'acides aminés acides ^{271,272,274}.

3. Démarche expérimentale

Cette étude bibliographique a permis de mettre en évidence que des réactions de brunissement non enzymatique peuvent avoir lieu entre la Vit C et les acides aminés. Il sera donc intéressant de suivre de près (à travers des méthodes adaptées comme la colorimétrie ou le pouvoir antioxydant) l'évolution éventuelle de la couleur des poudres de matrices protéiques encapsulant la Vit C pendant le stockage afin de déceler une éventuelle occurrence de ce phénomène susceptible de moduler le pouvoir antioxydant de la Vit C encapsulée.

III. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Fabrication des poudres

1.1. Préparation des concentrés

Une encapsulation par atomisation de la Vit C et la Vit B1 a été effectuée sur la tour de séchage industrielle avec 9 matrices alimentaires différentes ($\approx 1\ 000$ g de poudre de matrice alimentaire + 220 g de poudre de vitamines) :

- 100 % de caséinate de calcium lécithiné (**A**) ;
- 50 % de caséinate de calcium lécithiné et 50 % de maltodextrines (DE 11 - 15) (**50A**) ;
- 100 % d'un concentré de protéines solubles laitières lécithiné (**B**) ;
- 50 % d'un concentré de protéines solubles laitières lécithiné et 50 % de maltodextrines (DE 11 - 15) (**50B**) ;
- 100 % d'un isolat de protéines de pois (**C**) ;
- 50 % d'un isolat de protéines de pois et 50 % de maltodextrines (DE 11 - 15) (**50C**) ;
- 100 % d'amidon de maïs cireux modifié chimiquement (par réaction avec de l'acide succinique et de l'octanol (OSA)) (**D**) ;
- 50 % d'amidon de maïs cireux modifié chimiquement OSA et à 50 % de maltodextrines (DE 11 - 15) : (**50D**) ;
- 42 % d'un concentré de protéines solubles laitières lécithiné, 42 % de maltodextrines (DE 11 - 15) et 16 % d'amidon de maïs cireux modifié chimiquement OSA (**E**).

Pour les matrices A, B, C, D, 50A, 50B, 50C et 50 D, des concentrations de 164 mg de Vit C et 16,4 mg de Vit B1 pour 1 g de poudre de matrice ont été visées 200 g Vit C et 20 g Vit B1 pour 1 220 g de poudre de matrice. Pour la matrice E, les concentrations en Vit C et B1 sont respectivement de 141 et 14,1 mg par gramme de poudre de matrice : la matrice E est préparée en mélangeant 200 g d'amidon, 500 g de protéines solubles laitières et 500 g de maltodextrines. La matrice E découle d'un choix industriel pour étudier l'impact d'une matrice contenant trois constituants (protéine, amidon, maltodextrine) en mélange, en conservant un même ratio protéines/maltodextrine/vitamines avec un ajout complémentaire d'amidon.

La composition des poudres (fournies par l'industriel) utilisées comme matrices à l'échelle industrielle est présentée dans le Tableau 40 :

Tableau 40. Composition moyenne en acides aminés des protéines et teneurs en protéines, glucides et lipides des poudres utilisées comme matrices d'encapsulation à l'échelle industrielle.

Constituants	Caséinate de calcium	Concentré de protéines solubles laitières	Protéines de pois
g/100 g poudre			
Protéines	91	79	83,6
Glucides	0,2	2,5	0,4
Lipides	1,1	6	3
Eau	5,5	5,5	5
mg/100 g poudre			
Na	20	700	-
Ca	1300	250	-
Fe	0,5	0,5	-
P	700	350	-
K	50	200	-
Mg	20	30	-
Cl	250	500	-
g/100 g protéine			
Histidine	3,1	2,2	2,5
Isoleucine	5,5	6,0	4,5
Leucine	10,1	13,0	8,4
Lysine	8,3	10,6	7,2
Méthionine	3,0	2,3	1,1
Cystéine	0,3	2,5	1,0
Phénylalanine	5,5	4,1	5,5
Tyrosine	5,9	3,6	3,8
Thréonine	4,4	5,4	3,9
Tryptophane	1,4	2,4	1,0
Valine	7,2	5,9	5,0
Proline	11,7	5,4	4,5
Alanine	3,1	5,1	4,3
Sérine	5,7	4,9	5,3
Glycine	1,9	2,0	4,1
Arginine	3,8	3,0	8,7
Aspartate	7,4	11,8	11,5
Glutamate	23,5	18,9	16,8

Les poudres (matrice + vitamines) ont été réhydratées pendant 15 min et puis séchées par atomisation. L'extrait sec pour chaque poudre est ajusté à la valeur maximale permettant une pulvérisation correcte du concentré lors de l'encapsulation par atomisation, i.e. une viscosité du

cocentré pas trop élevée : A : 10 %, 50A : 20 %, B : 25 %, 50B : 25 %, C : 10 %, 50C : 20 %, D : 25 %, 50D : 25 % et E : 25 %.

1.2. Séchage

Le séchage a eu lieu sur la tour d'atomisation de l'industriel de 1 500 mm de diamètre et 3 000 mm de hauteur, équipée d'une turbine (vitesse de rotation entre 24 000 et 35 000 rpm, diamètre de la turbine de 50 mm) pour la pulvérisation de concentré et d'un système de chauffage de l'air de 27 kW. Pour tous les essais, les températures de l'air d'entrée et de sortie ont été fixées à 165 et 100 °C, respectivement. Le débit d'eau évaporée est de 10 kg/h donc le débit de concentré varie entre 11,1 et 13,3 kg/h car l'extrait sec des concentrés varie entre 10 et 25 %. Les conditions ont été choisies sur la base des résultats de séchage à l'échelle de laboratoire et correspondent à des conditions proches du lot 1 avec $T_s = 100$ °C.

2. Vieillessement des poudres

Les poudres produites ont été mises en sachets scellés (polyamide (20 %)/polyéthylène (80 %)) de 90 µm d'épaisseur et de dimensions 300 mm x 350 mm) en vue de leur conservation. Une partie a été placée à 4 °C pour éviter d'altérer les vitamines : ces poudres ont donc servi de référence dans l'étude de leur vieillissement. L'autre partie des poudres a été mise à vieillir à 40 °C dans des pots fermés avec très peu d'air résiduel dans une étuve CLIMACELL (MMM Medcenter Einrichtungen GmbH, Gräfelfing, Allemagne) pendant 7 mois.

Le facteur d'accélération du vieillissement est calculé (équation 18) pour prédire le comportement des poudres lors d'un stockage à 20 °C (la durée limite d'utilisation optimale visée par l'industriel étant de 2 ans).

Équation 23
$$FA = \frac{k(T)}{k(T_U)} = \exp\left(E_R \left(\frac{1}{T_U} - \frac{1}{T}\right)\right)$$

Avec :

FA : le facteur d'accélération ;

$E_R = E_a/R$ (K) ;

R : la constante universelle des gaz parfaits ($\approx 8,31 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$) ;

E_a : l'énergie d'activation (J.mol^{-1}) ;

T : la température du vieillissement accéléré (313,15 K) ;

T_U : la température de stockage des poudres (293,15 K).

Une étude bibliographique a permis d'établir que, dans la plupart des cas de vieillissement de la Vit C dans des produits alimentaires, l'ordre de réaction est de 1. Cela permet de dire qu'il s'agit donc d'une réaction de dégradation simple qui implique une seule molécule. Les énergies d'activation de la dégradation de la Vit C pour les produits similaires à ceux de cette étude sont autour 50 kJ/mol (Baéz et al. 2012). En se basant sur les données d'énergie d'activation de la littérature ainsi que sur la valeur déterminée au chapitre 2, une estimation du taux en Vit C pendant des stockages à différentes températures a pu être calculée : 1 mois à 40 °C correspond à 3,71 mois à 20 °C.

L'étude de vieillissement sera prolongée jusqu'à 7 mois pour avoir une idée de vie de produit pendant presque 26 mois (un peu plus de 2 ans) à température ambiante (DLUO standard des produits commercialisés par l'industriel).

3. Qualité microbiologique

Afin de vérifier que les poudres produites en entreprise ne présentent pas de contamination microbiologique, les microorganismes aérobies mésophiles ont été dénombrés. 0,5 g de chaque poudre ont été dilués dans 9 mL de Tryptone-sel. Plusieurs dilutions en série allant de 10^{-1} à 10^{-5} ont été effectuées. Les échantillons dilués sont par la suite passés au vortex, 1 mL de suspension est transféré dans une boîte de Petri. Le milieu nécessaire pour le dénombrement des microorganismes aérobies revivifiables est la gélose pour dénombrement PCA (Plate Count Agar). Son pH est ajusté à 7. 10 mL de la solution de PCA sont rajoutés aux échantillons dans chaque boîte de Petri. Après incubation à 30 °C pendant 72 h, le niveau de développement des colonies a été observé dans les boîtes de Petri.

4. Détermination du taux d'encapsulation

Afin de déterminer si l'encapsulation de la Vit C a été efficace, une réhydratation de la poudre (1 g pour 100 mL d'eau) est effectuée pendant 2 min et les échantillons sont ensuite soumis à un dosage de la Vit C résiduelle par CHLP après extraction (cf. Chapitre 2 - III.5.). La concentration

en Vit C dans les poudres est exprimée comme la proportion de Vit C introduite dans le concentré avant atomisation.

Pour vérifier si le temps de réhydratation joue un rôle sur la libération de la Vit C, un suivi de la teneur en vitamine est effectué pour les poudres protéiques (A, B, C, 50A, 50B et 50C) après 2, 30, 60 et 120 min de réhydratation à 400 tr/min avec un agitateur magnétique. Les poudres D et 50D et E se solubilisent beaucoup plus vite et ne semblent pas affectées par le temps de réhydratation, alors que les poudres protéiques présentent une faible mouillabilité et ne se rehydratent pas bien.

5. Détermination de taux de rétention en Vit C et de l'activité antioxydante

Afin de déterminer l'efficacité protectrice des différentes matrices d'encapsulation vis-à-vis de la dénaturation thermique de la Vit C lors de TTC (2 min en mode (t ; T)) et TTMO (en mode consommateur (t ; P)), les poudres sont réhydratées comme décrit ci-dessus (Chapitre 4 – III.4.) et dosées par CLHP, ABTS et FRAP. Les résultats sont exprimés en proportion de la concentration en Vit C présente dans la solution avant TT.

Les teneurs en Vit C des poudres sont aussi suivies pendant le vieillissement accéléré (par CLHP, ABTS et FRAP) et les résultats sont exprimés en proportion de Vit C retrouvée par rapport aux poudres « fraîches » (c'est-à-dire caractérisées juste après leur production par atomisation, durée de vieillissement de 0 mois).

6. Caractéristiques colorimétriques

6.1. Angle de teinte

L'angle de teinte (Hue angle) est une des propriétés principales (appelées paramètres d'apparence) d'une couleur, définie techniquement comme « le degré auquel un stimulus peut être décrit comme semblable ou différent des stimuli qui sont décrits comme rouge, vert, bleu et jaune (les teintes uniques) ».

Dans la théorie des couleurs, l'angle de teinte se réfère à une couleur pure, i.e. sans teinte ou ombre. L'angle de teinte est un élément de la roue des couleurs (Figure 57).

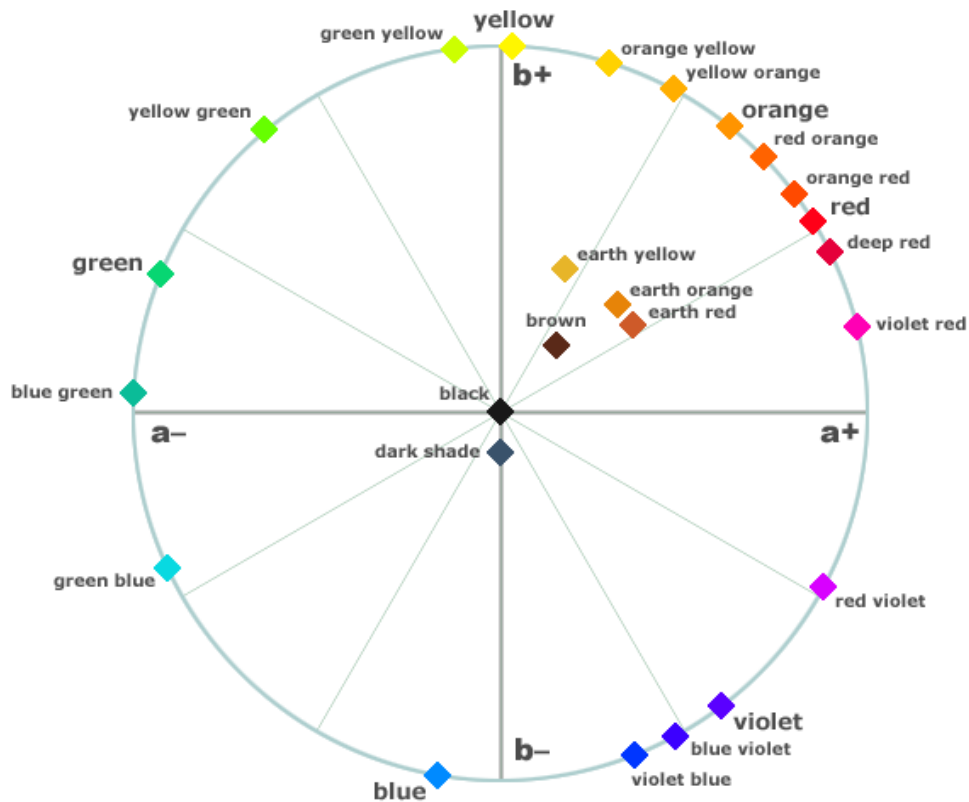


Figure 57. Exemple de roue des couleurs utilisant l'angle de teinte.

Habituellement, les couleurs avec la même teinte sont distinguées avec des adjectifs se référant à leur clarté et/ou vivacité, comme "bleu clair", "bleu pastel" ou "bleu vif". Les exceptions incluent

le brun, qui est un orange foncé, et le rose, un rouge clair avec chromaticité (degré de saturation des couleurs, ce paramètre sera également discuté par la suite) réduite.

La formule pour déterminer l'angle de teinte (H^*) est la suivante :

Équation 24
$$H^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

Les autres paramètres d'aspect des couleurs sont la vivacité, l'intensité (chromaticité), la saturation, la clarté et la luminosité.

La luminosité donne une idée de la teinte de la couleur étudiée et nous permet de dire si cette couleur est plutôt foncée et tire vers le noir ou bien est très claire et tire vers le blanc.

La chromaticité est la qualité qui distingue une teinte pure d'une nuance grise.

La formule pour déterminer la chromaticité (C^*) est la suivante :

Équation 25
$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

Une présentation assez complète des trois paramètres luminosité (L^*), chromaticité (C^*) et angle de teinte (H^*) est proposée par Munsell (Figure 58).

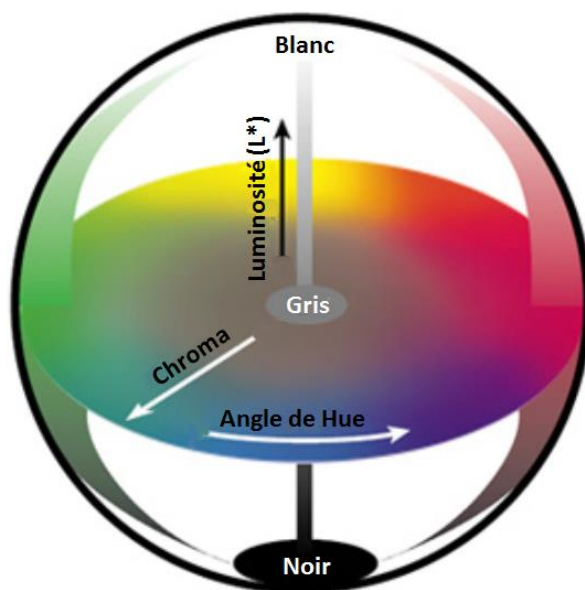


Figure 58. Représentation du système de couleur de Munsell, basé sur l'angle de teinte, la chromaticité, et la luminosité.

6.2. Indice de brunissement

L'indice de brunissement (IB) est un indicateur colorimétrique d'une modification chimique, souvent caractérisé par l'absorbance à une longueur d'onde donnée ou le rapport de l'absorbance à 570 nm (jaune) et 650 nm (rouge).

Maskan (2001) ²⁷⁵ a proposé une formule combinant les paramètres colorimétriques L^* a^* b^* pour évaluer la pureté de la couleur brune de l'aliment, appelée « indice de brunissement » (équations 19 et 20) :

$$\text{Équation 26} \quad IB = \frac{100 (x - 0,31)}{0,17}$$

Avec :

$$\text{Équation 27} \quad x = \frac{a + 1,75L^*}{5,645L^* + a^* - 3,012b^*}$$

Où L^* indique la luminosité, et a^* et b^* les coordonnées de la chromaticité.

IV. RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'encapsulation à l'échelle laboratoire a permis de déterminer les conditions de séchage et les matrices d'encapsulation les plus favorables à la préservation de la Vit C.

Les conditions de séchage les plus favorables déterminées suite aux travaux présentés dans le Chapitre 3 ont ainsi été sélectionnées pour être testées à l'échelle industrielle. Les matrices protéiques se sont avérées intéressantes pour la protection de la Vit C et ont donc été retenues pour l'encapsulation des vitamines. D'autres matrices prometteuses comme l'amidon ont été testées également à l'échelle industrielle. Neuf matrices d'encapsulation (3 matrices protéiques et 3 matrices qui contiennent de l'amidon modifié OSA) ont été retenues pour les essais en entreprise. Les poudres ainsi obtenues à l'échelle industrielle ont été étudiées par rapport au taux d'encapsulation des vitamines, à leur capacité de protection des vitamines lors du TT et à leur stabilité pendant le stockage (Figure 59). L'objectif final de la thèse était alors de déterminer les matrices aux meilleures propriétés fonctionnelles en vue de leur industrialisation subséquente au travail de thèse.

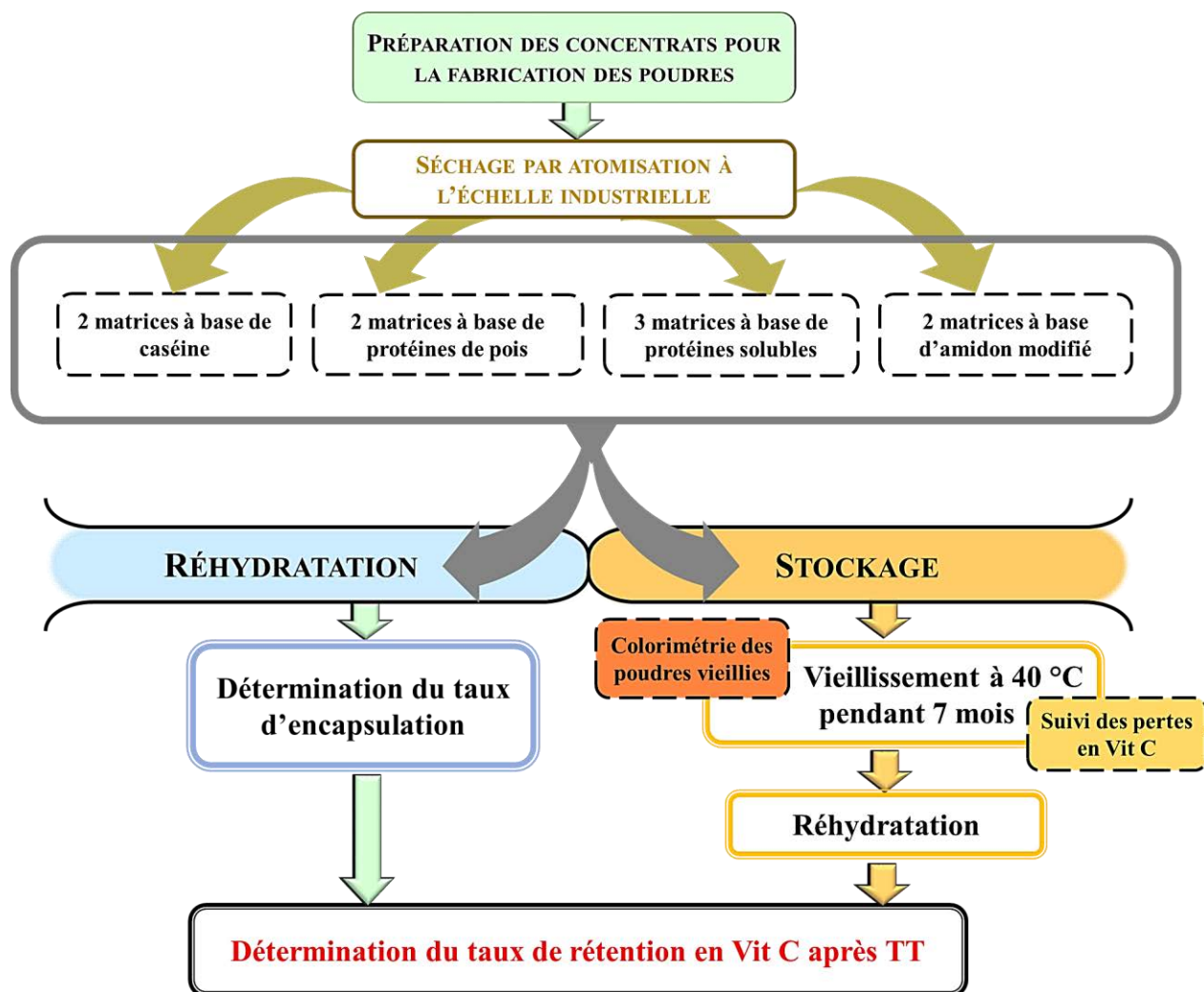


Figure 59. Schéma des travaux de thèse présentés dans le Chapitre 4.

Les poudres avec Vit C encapsulée par atomisation à l'échelle industrielle ont été caractérisées pour les neuf formulations de matrices étudiées. Il a été démontré que les échantillons de poudres produites en entreprise ne présentent pas de contamination microbologique.

1. Teneur en eau et activité d'eau des poudres produites

La teneur en eau est décisive pour la bonne conservation des poudres alimentaires. La teneur en eau des poudres analysées est présentée en Figure 60.

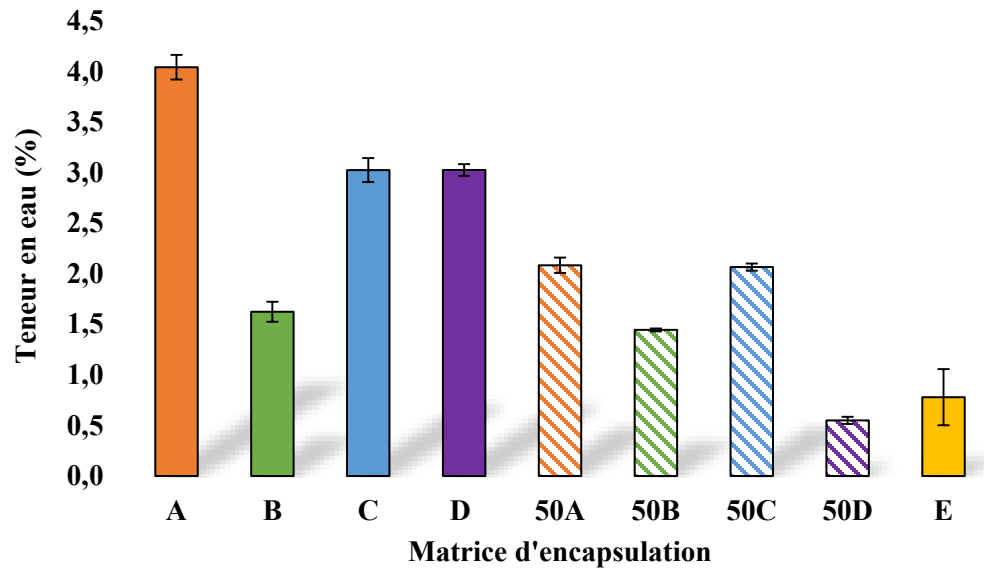


Figure 60. Teneur en eau des poudres produites par atomisation à l'échelle industrielle (n = 3).

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Toutes les poudres ont une teneur en eau très basse (entre 0,5 et 4 %), ce qui est favorable à leur conservation²⁷⁶.

Les valeurs d'activité d'eau des poudres encapsulant la Vit C et sont présentées dans la Figure 61.

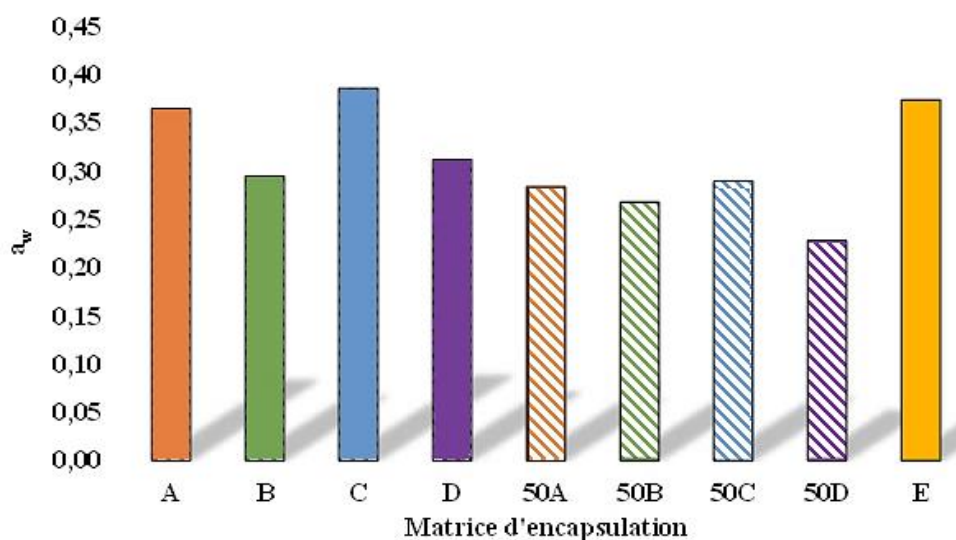


Figure 61. Activité d'eau des poudres produites par atomisation à l'échelle industrielle (n = 1).

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Les résultats d'activité d'eau obtenus montrent que les poudres A, C et E présentent une a_w élevée (significativement supérieure à 0,3) et sont donc a priori plus sensibles aux altérations biochimiques lors du stockage²⁷⁷. Les poudres à base d'amidon modifié OSA ont abouti à une teneur en eau plus faible et une activité d'eau plus élevée²⁷⁸.

2. Distributions de taille des particules

La taille des particules des poudres fabriquées en entreprise est déterminée par analyse granulométrique (voir Chapitre 3 - 2.4.). Les résultats sont présentés dans le Tableau 41.

Tableau 41. Caractéristiques granulométriques des poudres (n = 3).

Poudre	D10, μm	D50, μm	D90, μm	Span
A	19,9 $\pm$ 0,1	60,5 $\pm$ 0,13	129,0 $\pm$ 0,72	1,8 $\pm$ 0,1
50A	11,1 $\pm$ 0,0	39,1 $\pm$ 0,3	102,0 $\pm$ 2,9	2,3 $\pm$ 0,1
B	10,8 $\pm$ 0,5	27,8 $\pm$ 2,1	67,4 $\pm$ 4,9	2,0 $\pm$ 0,0
50B	12,0 $\pm$ 0,5	31,5 $\pm$ 0,7	77,1 $\pm$ 3,1	2,1 $\pm$ 0,2
C	39,9 $\pm$ 0,5	74,5 $\pm$ 1,3	129,0 $\pm$ 4,9	1,2 $\pm$ 0,0
50C	31,4 $\pm$ 0,3	73,1 $\pm$ 0,5	136,0 $\pm$ 0,8	1,4 $\pm$ 0,0
D	10,2 $\pm$ 0,0	33,6 $\pm$ 0,1	97,8 $\pm$ 1,7	2,6 $\pm$ 0,0
50D	13,7 $\pm$ 0,8	42,8 $\pm$ 3,9	117,0 $\pm$ 3,3	2,4 $\pm$ 0,3
E	10,7 $\pm$ 1,0	25,5 $\pm$ 1,4	58,5 $\pm$ 3,3	1,9 $\pm$ 0,0

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Les poudres avec la taille des particules la plus élevée sont celles des matrices A, C et 50C. Ces données sont en accord avec la littérature ²³³ mais aussi proches des caractéristiques granulométriques des poudres industrielles utilisées pour la préparation des matrices. Le span de toutes les poudres est entre 1 et 2 indiquant qu'elles sont plutôt monodisperses. Les poudres avec les tailles de particules les plus petites sont celles à base de protéines solubles (B, 50B et E) : leur taille est d'ailleurs également en accord avec la littérature ^{279,280}. La taille des particules peut influencer la qualité des poudres : plus elles sont petites, plus leur surface spécifique est élevée, ce qui favorise l'interaction de l'humidité et de l'oxygène de l'air avec les constituants de la poudre et accélère leur dénaturation ²⁸¹.

La distribution en volume des tailles de particules des différentes poudres est présentée dans la Figure 62.

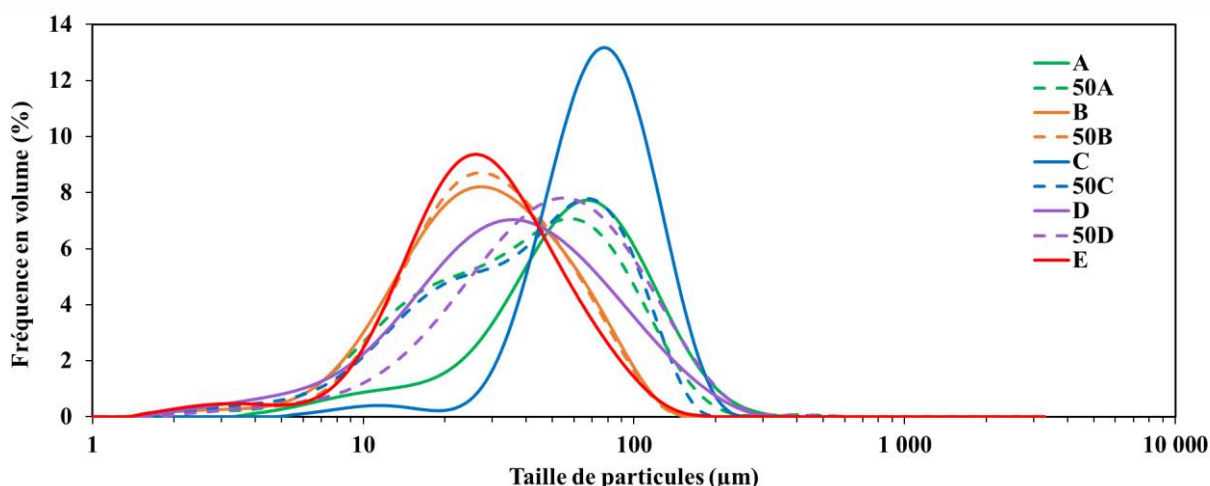


Figure 62. Distributions de tailles de particules des poudres composées de : **A** : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Les poudres 50A et 50C présentent une allure plutôt bimodale avec deux populations centrées autour de 15 et 65 μm . La taille de ces populations suggère que le premier pic correspond à des particules fines et le second à des agglomérats de particules fines, l'agglomération étant un phénomène récurrent en atomisation déjà mis en évidence à l'échelle laboratoire dans le chapitre 3. En effet, les poudres ayant une distribution de taille bimodale, 50A et 50C, contiennent une fraction importante de maltodextrines, qui pourraient favoriser l'agglomération des particules en rendant leur surface collante au cours du séchage²⁸².

3. Taux d'encapsulation

Le taux d'encapsulation des deux vitamines est déterminé après réhydratation dans de l'eau.

3.1. Taux d'encapsulation de la Vit B1

Les poudres des différentes matrices (à l'exception de D, 50D et E qui a priori ne présentent pas de problèmes de réhydratation, au vu de leur composition) ont été réhydratées pendant 120 min et

la teneur en Vit B1 est suivie pour évaluer si le temps de réhydratation a un effet sur la libération de la vitamine. Les résultats sont présentés sur la Figure 63.

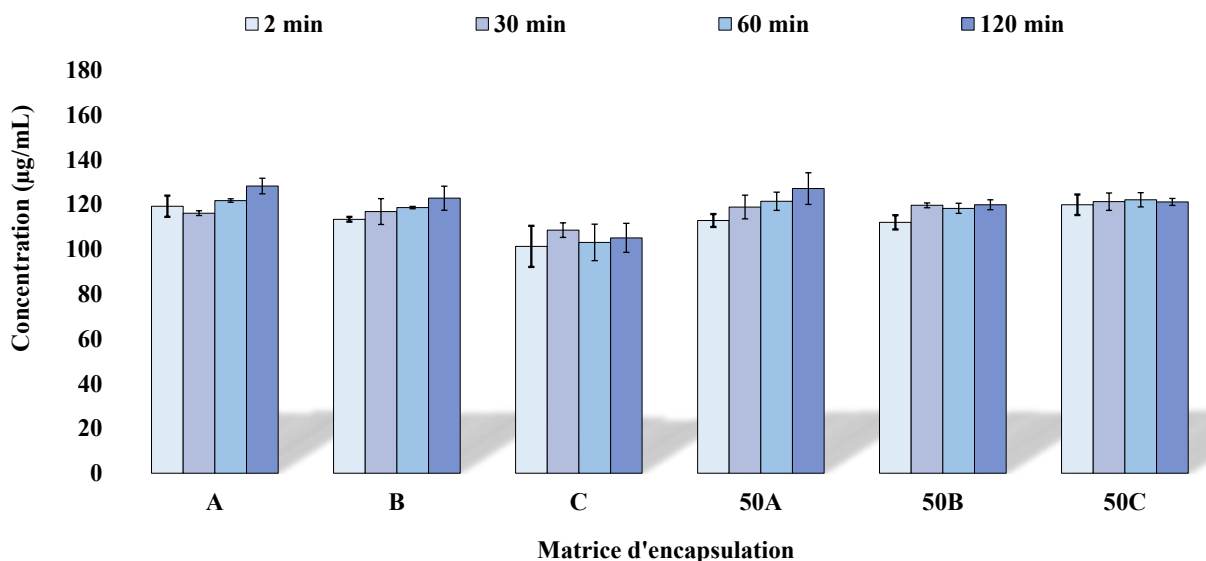


Figure 63. Libération de la Vit B1 encapsulée (164 µg/mL de A à 50D et 141 µg/mL pour E) pendant la réhydratation des poudres dans de l'eau (n = 3).

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Il est mis en évidence que le temps de réhydratation n'améliore pas la libération de la Vit B1 au-delà de 2 min, puisque la concentration en Vit B1 en solution reste constante ou augmente très peu jusqu'à 120 min de réhydratation. Un temps de réhydratation de 2 min est donc suffisant pour remettre la Vit B1 en solution lors de la réhydratation des poudres. Ce temps correspond au temps préconisé pour la préparation des mix par le consommateur.

Le taux d'encapsulation de la Vit B1 est exprimé en proportion de la teneur en vitamine introduite dans le concentrat avant l'atomisation (Figure 64).

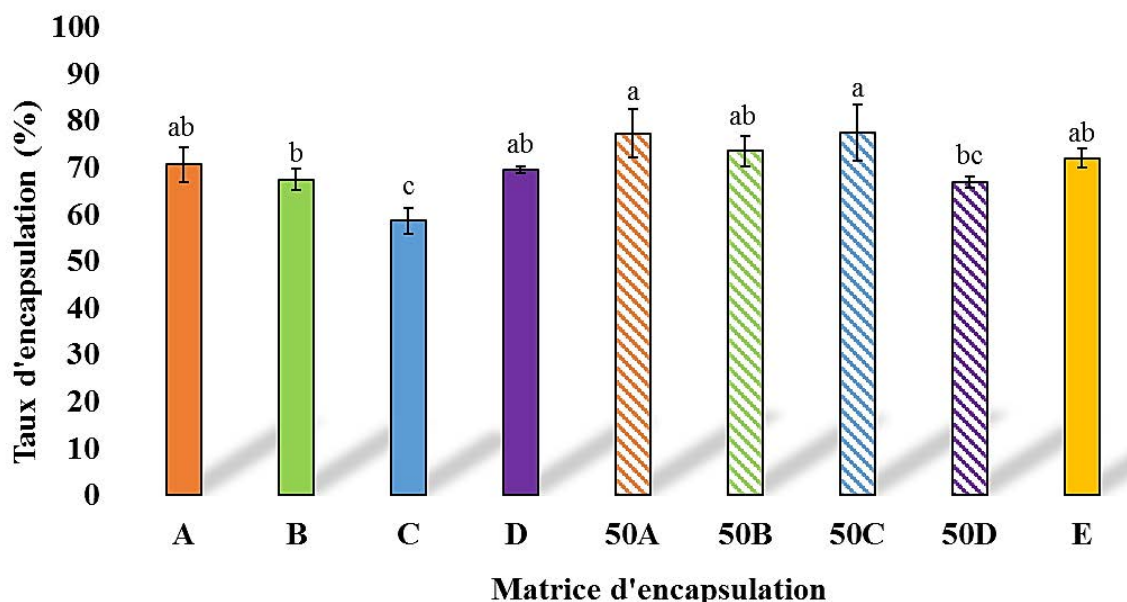


Figure 64. Taux d'encapsulation de la Vit B1 (concentration initiale avant atomisation de 164 µg/mL de A à 50D et 141 µg/mL pour E), (n = 3). Les taux d'encapsulation de Vit B1 associés à des lettres différentes en étiquette sont significativement différents ($p < 0,05$).

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Le taux d'encapsulation de la Vit B1 est assez élevé : pour toutes les matrices testées, il varie entre 60 et 80 %. Les matrices avec le meilleur taux d'encapsulation sont les 50A et 50C. L'efficacité de la maltodextrine comme adjuvant de séchage est due à sa propriété de formation rapide de film à la surface des gouttelettes lors du séchage par atomisation. D'autre part, les protéines forment des films lisses et non collants beaucoup plus tôt que la maltodextrine²⁸³. Les mélanges maltodextrine/protéines favorisent la protection des composés bioactifs et présentent de bonnes propriétés de séchage²⁸⁴. Un phénomène de glycation peut se produire pour les matrices constituées de protéines et de maltodextrine, ce qui mène à la formation de conjugués protéine-maltodextrine ayant des propriétés particulières. Les conjugués protéines-polysaccharides sont naturels, non toxiques et ont des propriétés émulsionnantes améliorées, avec un potentiel d'utilisation important dans les industries de l'alimentation et de la santé²⁸⁵.

3.2. Taux d'encapsulation de la Vit C

La libération de la Vit C est suivie pendant 120 min de réhydratation (pour les matrices protéiques uniquement, de manière similaire à l'étude de la libération de la Vit B1) pour évaluer l'effet du temps de réhydratation sur la concentration en Vit C retrouvée en solution. Les résultats sont présentés dans la Figure 65.

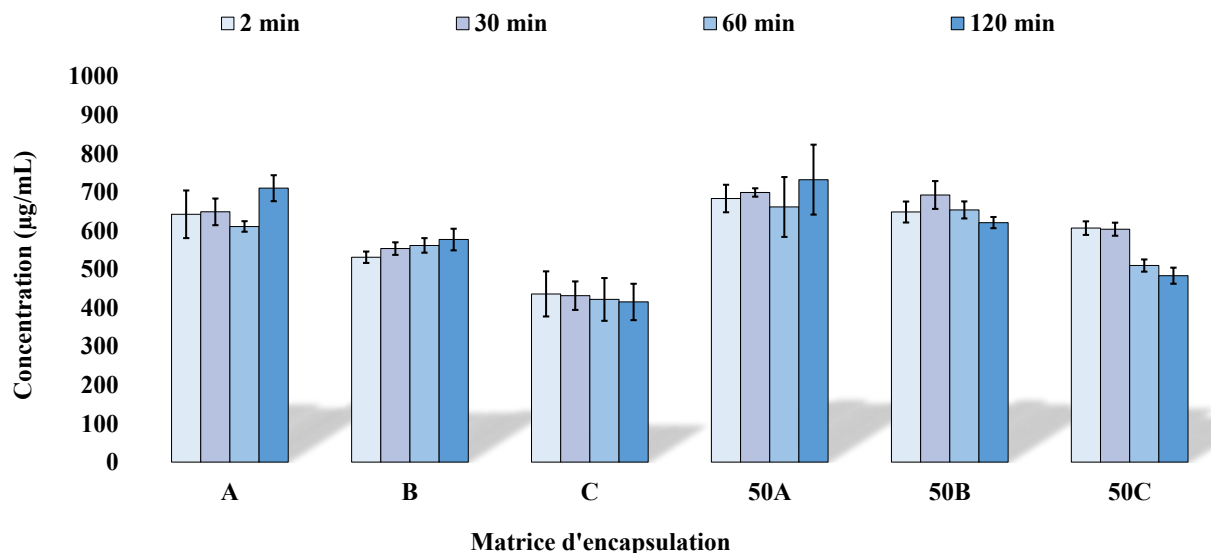


Figure 65. Libération de la Vit C encapsulée (1640 µg/mL) pendant la réhydratation des poudres dans de l'eau (n = 3).

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine.

Par le suivi de la teneur en Vit C libérée au cours de la réhydratation des poudres pendant 120 min, il a pu être démontré que le taux en Vit C évolue globalement très peu après 2 min de réhydratation : seules de légères diminutions sont observées pour certaines matrices. Donc la réhydratation prolongée ne favorise pas davantage la libération de la Vit C dosée par CLHP (c'est-à-dire mesurée après une étape d'extraction menant à la précipitation des protéines et des éventuelles vitamines liées à ces protéines). Un temps de réhydratation de 2 min est donc suffisant pour libérer complètement la Vit C.

Le taux d'encapsulation de la Vit C a été dosé par trois méthodes différentes : CLHP, ABTS et FRAP. La méthode de dosage par CLHP implique une extraction avec une précipitation des protéines tandis que les deux autres méthodes ont été appliquées directement sur la solution des

poudres réhydratées dans de l'eau (la concentration de Vit C de 1 640 µg/mL est trop élevée pour le dosage par ABTS et FRAP). Les résultats sont présentés dans le Tableau 42.

Tableau 42. Taux d'encapsulation de la Vit C (concentration initiale dans le concentré atomisé de 1 640 µg/mL de A à 50D et 1 410 µg/mL pour E) dosée par trois méthodes différentes (n = 3).

Poudre	Taux d'encapsulation de la Vit C (%)		
	CLHP	ABTS	FRAP
A	43,58 ± 1,64 ^c	111,61 ± 8,72 ^a	94,55 ± 2,66 ^{ab}
B	36,64 ± 1,25 ^d	109,38 ± 7,05 ^a	76,05 ± 4,82 ^b
C	26,30 ± 1,06 ^e	98,94 ± 14,04 ^a	83,28 ± 6,44 ^{ab}
D	44,72 ± 1,46 ^{bc}	122,21 ± 4,83 ^a	103,45 ± 7,63 ^{ab}
50A	47,53 ± 1,63 ^{ab}	111,28 ± 3,16 ^a	103,70 ± 2,36 ^{ab}
50B	44,72 ± 1,06 ^{bc}	119,98 ± 3,55 ^a	93,66 ± 0,98 ^{ab}
50C	38,75 ± 1,31 ^d	102,04 ± 3,60 ^a	85,94 ± 2,90 ^{ab}
50D	48,97 ± 1,65 ^a	125,85 ± 5,27 ^a	111,67 ± 0,59 ^a
E	43,62 ± 2,40 ^c	121,35 ± 1,92 ^a	92,76 ± 10,99 ^{ab}

Les taux d'encapsulation de Vit C associés à des lettres différentes en exposant sont significativement différents (p < 0,05, n = 3).

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Un écart important est observé systématiquement entre les valeurs obtenues par CLHP d'une part et celles obtenues par ABTS et FRAP d'autre part : des taux d'encapsulation entre deux et trois fois plus faibles sont obtenus avec la méthode CLHP. Ceci peut être expliqué par la méthode de préparation des échantillons qui implique la précipitation des protéines. En effet, une co-précipitation de la Vit C avec les protéines lors de l'étape d'extraction préalable au dosage CLHP est envisageable, au vu des interactions possibles entre vitamine C et protéines (cf. chapitre 3). Or, les trois méthodes ont déjà été comparées dans le Chapitre 1 et la proximité des résultats obtenus avait permis de montrer que la Vit C seule n'était pas précipitée lors de cette étape d'extraction préalable au dosage CLHP. Il peut donc être déduit que plus que 50 % de la Vit C présente initialement dans les concentrats avant atomisation se lie aux protéines pendant le séchage par atomisation tout en conservant ses propriétés antioxydantes²⁶⁰. Il est possible aussi que la Vit C entre en réaction avec les acides aminés des extrémités des chaînes protéiques ou les acides aminés

libres, menant par brunissement non enzymatique à la formation de composés qui possèdent une activité antioxydante. Ceci est quand même peu probable, car après atomisation aucune modification de couleur des poudres n'a été mise en évidence ; or, les produits de la réaction de Maillard les plus souvent identifiés comme ayant un pouvoir antioxydant sont les mélanoidines, qui ont une couleur brune très prononcée ²⁸⁶.

Dans la littérature, il est également montré que la Vit C encapsulée par atomisation dans différentes sources d'amidon (modifié ou non) aboutit à une répartition d'environ la moitié de la Vit C à la surface des particules et l'autre moitié à l'intérieur des particules, avec un très bon taux d'encapsulation entre 58 et 98 % (Palma-Rodriguez et al. 2013). Ceci permet d'expliquer pourquoi la teneur en Vit C dans les matrices D et 50D, à base d'amidon et de maltodextrines uniquement, enregistrent également une diminution significative de la teneur en Vit C par dosage CLHP.

Il est mis en évidence par les trois méthodes de dosage de la Vit C mises en œuvre que trois matrices sont particulièrement favorables à l'encapsulation de la Vit C : D, 50A et 50D ²⁸⁷.

3.3. Rétention en Vit B1 et C après TT des poudres « fraîches »

Le taux de rétention en vitamines après TT des solutions de matrices réhydratées dans de l'eau est dosé par CLHP. Les deux types de traitement thermique appliqués sont le TTC en mode (t ; T) pendant 2 min à 100 °C et le TTMO en mode (t ; P). Les résultats sont présentés dans le Tableau 43.

Tableau 43. Taux de rétention en vitamines C et B1 après un TTMO (2 min en mode (t ; P)) et TTC (2 min à 100 °C en mode (t ; T)) pour l'ensemble des poudres produites à l'échelle industrielle (n = 3).

Poudre	Vit C (%)		Vit B1 (%)	
	TTMO	TTC	TTMO	TTC
A	119,60 ± 5,16 ^{ab} _{ABC}	122,06 ± 4,90 ^{abc} _{ABC}	115,76 ± 5,46 ^a _{AB}	115,52 ± 4,01 ^a _{AB}
B	122,22 ± 5,58 ^{ab} _{ABC}	110,81 ± 6,81 ^{bc} _{BC}	118,81 ± 5,06 ^a _A	nd
C	124,54 ± 6,15 ^{ab} _{ABC}	131,26 ± 5,21 ^a _A	110,53 ± 5,69 ^a _{AB}	114,80 ± 1,66 ^a _{AB}
D	114,52 ± 5,90 ^b _{ABC}	122,80 ± 6,65 ^{ab} _{ABC}	nd	108,14 ± 2,27 ^{ab} _{AB}
50A	126,04 ± 5,37 ^{ab} _{AB}	89,76 ± 3,23 ^d _D	114,64 ± 3,57 ^a _{AB}	88,72 ± 2,37 ^c _C
50B	126,29 ± 5,61 ^{ab} _{AB}	110,97 ± 5,19 ^{bc} _{BC}	nd	nd
50C	117,27 ± 3,04 ^{ab} _{ABC}	87,84 ± 2,8 ^d _D	108,93 ± 6,60 ^a _C	89,54 ± 2,97 ^c _C
50D	116,28 ± 5,02 ^{ab} _{ABC}	107,50 ± 5,10 ^c _C	113,26 ± 3,49 ^a _A	nd
E	131,43 ± 9,54 ^a _A	118,45 ± 6,01 ^{abc} _{ABC}	116,56 ± 3,61 ^a _A	106,27 ± 4,08 ^b _B

nd : non déterminé

Les taux de rétention de la Vit B1 et C associés à des lettres minuscules différentes en exposant (comparaison par vitamine et par traitement thermique) et majuscules en indice (comparaison par vitamine, quel que soit le TT, i.e. TTMO et TTC confondus) sont significativement différents ($p < 0,05$, $n = 3$).

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Il est curieux que les résultats pour les deux types de TT et les deux vitamines dosées montrent non pas une diminution en concentration de vitamines mais une augmentation de 10 à 20 %. Les seules pertes enregistrées (≈ 10 % pour les deux vitamines traitées) correspondent aux matrices 50A et 50C par TTC. Comme les deux vitamines étudiées peuvent se lier aux protéines²⁸⁸, il peut être supposé que le traitement thermique fournisse suffisamment d'énergie pour rompre les liaisons entre protéines et vitamines et ainsi favoriser leur libération. Par conséquent, toutes les matrices (à l'exception de 50A et 50C) semblent être intéressantes pour protéger les vitamines lors d'un TT (TTC ou TTMO).

Les résultats pour certains dosages de vitamine B1 ne sont pas répétables et n'ont donc été pas présentés dans le Tableau 43.

4. Rétention en vitamines pendant le vieillissement

Il a été montré des rétentions en Vit C de l'ordre de 50, 30 et 20 % après 2, 4 et 6 mois de stockage respectivement à une température ambiante de 30 °C ²⁸⁹ pour des poudres de mangue emballées (fine feuille métallique ou sacs en polyester). Après 12 semaines, la poudre de noni stockée à la lumière naturelle a perdu 21 % de composés phénoliques totaux, 17 % de Vit C, et environ 30 % de son pouvoir antioxydant alors que les pertes à l'abri de la lumière ont été significativement réduites ²⁹⁰. Pendant 5 mois de stockage de poudres de tomate à 25 et 37 °C, une perte de Vit C de 40 et 96 %, respectivement, a été obtenue ²⁹¹. Il est donc mis en évidence dans la littérature que le taux de rétention en Vit C dans des différentes matrices et conditions de stockage varie beaucoup, d'où l'importance d'étudier l'impact du vieillissement des poudres pendant le stockage sur leur rétention en vitamine. Il est aussi intéressant de mesurer la sensibilité de la Vit B1 (une autre vitamine hydrosoluble présente dans les mix industriels) aux conditions de stockage pour la comparer à la Vit C.

4.1. *Taux de rétention des Vit B1 et C pendant le vieillissement des poudres*

Le taux de rétention de la Vit B1 après 1 mois de vieillissement à 40 °C est exprimé en proportion de Vit B1 retrouvée par rapport à la teneur en Vit B1 dans les poudres fraîches. Les résultats sont présentés dans la Figure 66.

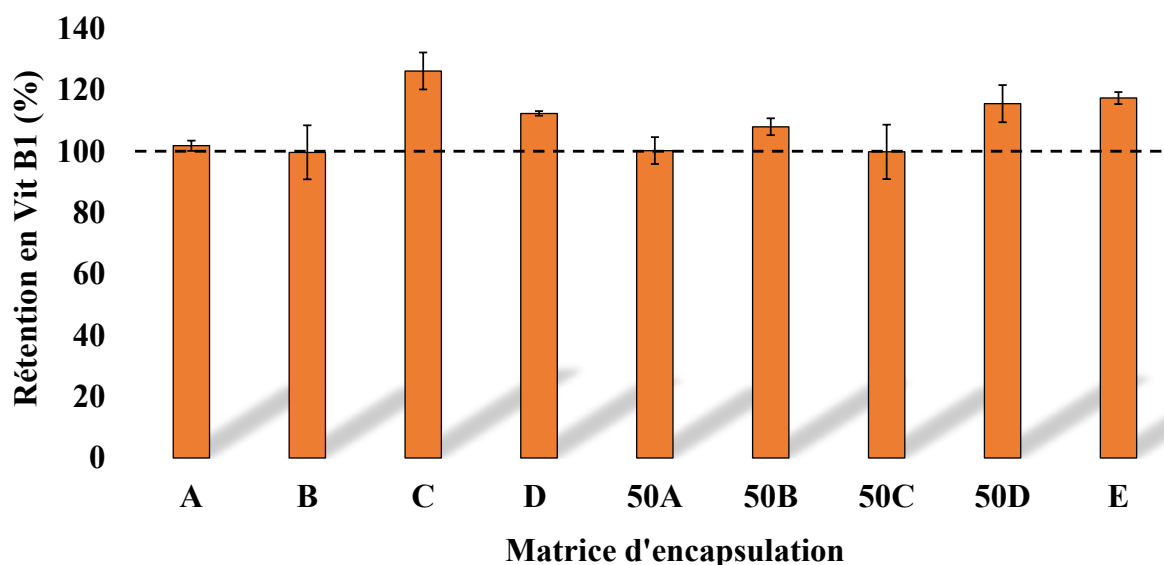


Figure 66. Taux de rétention en Vit B1 après vieillissement à 40 °C pendant 1 mois (n = 3).

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Il est mis en évidence qu'il n'y a pas de pertes en Vit B1 pendant 1 mois de vieillissement accéléré à 40 °C (ce qui correspond à 3,7 mois de stockage à 20 °C).

Comme la Vit B1 présente de très bonnes caractéristiques d'encapsulation, de résistance au TT et au vieillissement, il a été décidé de ne plus suivre son évolution pendant le vieillissement.

La Vit C a été choisie comme marqueur du vieillissement accéléré des poudres après 1 mois de conservation à 40 °C. L'effet du vieillissement sur la teneur en Vit C des poudres des différentes matrices a donc été suivi pendant 7 mois de stockage avec les trois méthodes de dosage déjà évoquées (CLHP, ABTS, FRAP). Les poudres de base utilisées pour la préparation des concentrés séchés par atomisation ont également été mises à vieillir dans les mêmes conditions, mais elles n'ont montré aucune activité antioxydante ni fraîches, ni après vieillissement. Les résultats pour les dosages par CLHP sont présentés dans le Tableau 44.

Tableau 44. Comparaison des résultats de dosage CLHP de la rétention en Vit C (proportion de vitamine retrouvée dans les poudres vieilles par rapport à la teneur initiale dans les poudres « fraîches »), n = 3.

Mois	Rétention en Vit C (%)								
	A	B	C	D	50A	50B	50C	50D	E
1	50,50 ± 0,63 ^a	41,48 ± 1,00 ^a	66,48 ± 2,74 ^a	96,01 ± 3,00 ^a	78,43 ± 2,24 ^a	69,53 ± 2,35 ^a	73,83 ± 3,03 ^a	81,96 ± 2,41 ^a	80,74 ± 4,63 ^a
2	39,21 ± 0,91 ^b	19,85 ± 2,18 ^b	48,26 ± 2,91 ^b	72,09 ± 4,67 ^{bc}	58,89 ± 1,80 ^c	35,72 ± 2,51 ^b	55,76 ± 5,45 ^{bc}	70,69 ± 3,83 ^b	49,83 ± 1,44 ^c
3	41,48 ± 2,23 ^b	15,97 ± 1,39 ^b	47,85 ± 10,93 ^b	79,03 ± 0,22 ^b	67,68 ± 3,13 ^b	35,70 ± 0,54 ^b	58,97 ± 1,36 ^b	80,65 ± 1,73 ^{ab}	53,23 ± 2,07 ^c
4	27,95 ± 0,40 ^c	9,76 ± 1,20 ^c	35,82 ± 3,74 ^{bc}	60,96 ± 3,90 ^{cd}	43,69 ± 1,36 ^d	23,12 ± 1,29 ^c	44,99 ± 2,31 ^c	55,36 ± 1,45 ^c	64,18 ± 0,17 ^b
4,5	25,54 ± 0,45 ^{cd}	7,91 ± 0,55 ^c	40,61 ± 5,64 ^{bc}	50,97 ± 2,73 ^{de}	43,35 ± 1,07 ^d	16,44 ± 1,25 ^{cd}	34,19 ± 2,91 ^{de}	43,83 ± 2,15 ^{de}	24,70 ± 2,36 ^d
5	28,62 ± 1,34 ^{cde}	8,74 ± 0,17 ^{cd}	37,87 ± 3,53 ^{bc}	57,32 ± 0,64 ^{de}	42,69 ± 0,76 ^d	17,29 ± 1,36 ^{de}	34,54 ± 2,01 ^{de}	52,34 ± 2,34 ^{cd}	25,08 ± 2,32 ^d
5,5	25,21 ± 4,10 ^{cde}	7,41 ± 0,71 ^{cd}	41,72 ± 2,79 ^{bc}	47,70 ± 3,10 ^e	32,31 ± 1,38 ^e	14,86 ± 1,07 ^{de}	38,43 ± 0,81 ^{de}	42,71 ± 3,00 ^{de}	24,24 ± 0,85 ^d
6	21,31 ± 0,33 ^{def}	7,03 ± 0,30 ^{cd}	33,81 ± 2,01 ^{bc}	46,32 ± 0,49 ^{ef}	35,01 ± 0,22 ^e	11,23 ± 1,70 ^{de}	30,02 ± 1,04 ^{ef}	36,07 ± 2,46 ^{ef}	20,61 ± 1,82 ^{de}
6,5	19,60 ± 2,81 ^{ef}	7,06 ± 0,19 ^{cd}	29,73 ± 2,05 ^c	35,64 ± 0,86 ^{fg}	27,85 ± 1,43 ^e	11,56 ± 0,72 ^{de}	27,48 ± 1,70 ^{ef}	37,20 ± 0,96 ^{ef}	19,88 ± 0,19 ^{de}
7	14,34 ± 1,20 ^f	4,15 ± 0,16 ^d	23,81 ± 1,40 ^c	32,37 ± 4,03 ^g	20,48 ± 1,24 ^f	10,27 ± 1,36 ^e	21,80 ± 2,98 ^f	29,13 ± 3,02 ^f	14,43 ± 0,45 ^e

Les taux de rétention en Vit C associés à des lettres minuscules différentes en exposant dans la même colonne (comparaison par type de matrice) sont significativement différents (p < 0,05, n = 3).

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Les matrices A, B, 50B et E permettent une très faible rétention en Vit C à la fin du vieillissement : elles présentent donc le moins d'intérêt pour l'application industrielle. Les matrices qui présentent la meilleure rétention en Vit C après vieillissement accéléré de 7 mois à 40 °C (soit l'équivalent de presque 26 mois de conservation à 20 °C) sont les formulations à base d'amidon : D et 50D.

Les taux de rétention en Vit C des différentes matrices dosés par CLHP, ABTS et FRAP ont été comparés (Tableau 45) pour mettre en évidence d'éventuelles différences entre la Vit C retrouvée en solution après extraction (et donc éventuellement après précipitation de la fraction de Vit C liée aux protéines) et le pouvoir antioxydant de la Vit C en solution sans extraction (donc incluant à la fois le pouvoir antioxydant de la Vit C libre et liée aux protéines). En effet, les dosages de Vit C contenue dans les poudres après atomisation (taux d'encapsulation) avaient montré des différences importantes de teneur en Vit C déterminée en CLHP et par dosage du pouvoir antioxydant, signe que la fraction de Vit C liée aux protéines et donc co-précipitée avec les protéines lors de l'extraction préalable à la CLHP, a conservé son pouvoir antioxydant. Il peut être supposé qu'une partie du pouvoir antioxydant dosé provient aussi de certains composés issus du brunissement non enzymatique.

Tableau 45. Comparaison de la rétention en Vit C (teneur en vitamine exprimée en pourcents retrouvée par rapport à la concentration dans les poudres « fraîches ») pendant le vieillissement déterminée par les trois méthodes de dosage CLHP, ABTS et FRAP (n = 3).

Poudre	Méthode	Taux de rétention de la Vit C (%)			
		5,5 mois	6 mois	6,5 mois	7 mois
A	CLHP	25,21 ± 4,10	21,31 ± 0,33	19,60 ± 2,81	14,34 ± 1,20
	ABTS	57,16 ± 5,78	45,20 ± 0,16	47,28 ± 3,60	51,83 ± 4,09
	FRAP	54,63 ± 1,32	50,05 ± 2,84	54,94 ± 2,22	55,29 ± 4,74
B	CLHP	7,41 ± 0,71	7,03 ± 0,30	7,06 ± 0,19	4,15 ± 0,16
	ABTS	25,68 ± 1,25	20,12 ± 1,25	23,97 ± 1,01	22,61 ± 5,30
	FRAP	19,10 ± 1,93	14,66 ± 0,55	22,94 ± 2,87	16,52 ± 3,56
C	CLHP	41,72 ± 2,79	33,81 ± 2,01	29,73 ± 2,05	23,81 ± 1,40
	ABTS	55,78 ± 5,57	51,22 ± 2,11	49,69 ± 2,85	45,80 ± 2,60
	FRAP	55,05 ± 5,75	49,73 ± 3,39	52,96 ± 3,41	54,81 ± 1,02
D	CLHP	47,70 ± 3,10	46,32 ± 0,49	35,64 ± 0,86	32,37 ± 4,03
	ABTS	95,72 ± 2,91	96,39 ± 3,97	96,02 ± 16,38	96,65 ± 5,44
	FRAP	103,60 ± 3,32	110,26 ± 2,26	100,68 ± 1,35	108,42 ± 2,09
50A	CLHP	32,31 ± 1,38	35,01 ± 0,22	27,85 ± 1,43	20,48 ± 1,24
	ABTS	91,51 ± 4,94	79,85 ± 6,93	74,42 ± 2,00	66,89 ± 0,95
	FRAP	103,60 ± 3,32	110,26 ± 2,26	100,68 ± 1,35	108,42 ± 2,09
50B	CLHP	14,86 ± 1,07	11,23 ± 1,70	11,56 ± 0,72	10,27 ± 1,36
	ABTS	48,64 ± 6,66	42,73 ± 2,44	39,33 ± 1,91	37,77 ± 2,15
	FRAP	42,16 ± 2,36	41,21 ± 1,07	42,93 ± 0,09	45,34 ± 0,96
50C	CLHP	38,43 ± 0,81	30,02 ± 1,04	27,48 ± 1,70	21,80 ± 2,98
	ABTS	67,95 ± 3,86	56,82 ± 2,05	64,21 ± 6,52	62,42 ± 3,17
	FRAP	69,49 ± 5,04	66,55 ± 0,94	66,02 ± 1,70	63,42 ± 0,46
50D	CLHP	42,71 ± 3,00	36,07 ± 2,46	37,20 ± 0,96	29,13 ± 3,02
	ABTS	101,09 ± 4,93	98,65 ± 6,58	71,47 ± 1,63	72,93 ± 6,56
	FRAP	99,03 ± 3,11	100,35 ± 2,88	93,36 ± 1,25	88,33 ± 14,85
E	CLHP	24,24 ± 0,85	20,61 ± 1,82	19,88 ± 0,19	14,43 ± 0,45
	ABTS	62,42 ± 2,35	54,00 ± 0,60	55,68 ± 4,36	43,26 ± 3,68
	FRAP	nd	62,67 ± 0,93	66,17 ± 3,05	46,58 ± 6,72

nd : non déterminé.

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Comme pour les taux d'encapsulation, l'écart entre les taux de rétention après vieillissement dosés par CLHP et par ABTS/FRAP est important. Les teneurs en Vit C retrouvées par ABTS et FRAP sont plus que deux fois plus élevées que celles obtenues par CLHP. Les matrices qui

semblent être les plus intéressantes pour la protection de la Vit C pendant le vieillissement sont D, 50A et 50D. En effet, il a déjà été démontré dans la littérature que les microcapsules fabriquées à partir de dérivés de l'amidon modifié OSA présentent de meilleures performances de rétention que la β -cyclodextrine²⁹², la maltodextrine et la protéine de lactosérum²⁹³.

4.2. Effet du traitement thermique sur la teneur en Vit C dans les poudres vieilles

La capacité des poudres vieilles pendant 7 mois à protéger la Vit C des TTC et TTMO a été évaluée par dosage du pouvoir antioxydant (ABTS et FRAP) et les résultats sont présentés dans le Tableau 46.

Tableau 46. Taux de rétention en Vit C des poudres vieilles pendant 7 mois (proportion de Vit C après TT par rapport à la teneur retrouvée dans les poudres vieilles) après TTMO (2 min en mode (t ; P)) et TTC (2 min à 100 °C en mode (t ; T)) dosé par ABTS et FRAP (n = 2).

Poudre	Taux de rétention en Vit C (%)			
	TTMO		TTC	
	ABTS	FRAP	ABTS	FRAP
A	85,52 ± 2,57 ^{bc}	98,93 ± 11,54 ^b	104,38 ± 3,70 ^a	98,09 ± 7,78 ^{ab}
B	76,92 ± 2,55 ^c	61,93 ± 5,89 ^c	103,23 ± 6,71 ^a	112,33 ± 5,53 ^{ab}
C	99,41 ± 11,32 ^{ab}	98,77 ± 2,78 ^b	118,15 ± 6,11 ^a	96,99 ± 5,17 ^{ab}
D	97,19 ± 4,16 ^{abc}	99,56 ± 4,05 ^b	104,47 ± 3,49 ^a	95,62 ± 1,46 ^{ab}
50A	109,23 ± 1,21 ^a	101,51 ± 0,94 ^{ab}	108,45 ± 0,11 ^a	102,23 ± 0,05 ^{ab}
50B	97,19 ± 2,85 ^{abc}	96,95 ± 0,90 ^b	116,20 ± 9,84 ^a	125,97 ± 2,74 ^a
50C	101,44 ± 0,87 ^{ab}	97,19 ± 2,24 ^b	89,99 ± 4,33 ^a	97,41 ± 2,46 ^{ab}
50D	97,73 ± 0,27 ^{abc}	96,58 ± 3,06 ^b	90,01 ± 0,80 ^a	88,99 ± 7,18 ^b
E	104,16 ± 0,95 ^{ab}	119,70 ± 12,32 ^a	108,78 ± 2,89 ^a	97,28 ± 0,10 ^{ab}

Les taux de rétention de la Vit C associés à des lettres minuscules différentes en exposant dans la même colonne (comparaison par méthode de dosage et TT) sont significativement différents ($p < 0,05$, $n = 2$).

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Globalement, au cours du vieillissement, la capacité de protection de la Vit C encapsulée des différentes matrices ne change pas : elles présentent toute une bonne protection de la Vit C lors du TT.

5. Colorimétrie des poudres

Les poudres produites en entreprise ont été soumises à un vieillissement accéléré à 40 °C pendant 7 mois et les modifications de couleur ont été suivies.

Une comparaison entre la couleur des poudres « fraîches » et les poudres vieilles (4 mois à 40 °C) est présentée sur la Figure 67.

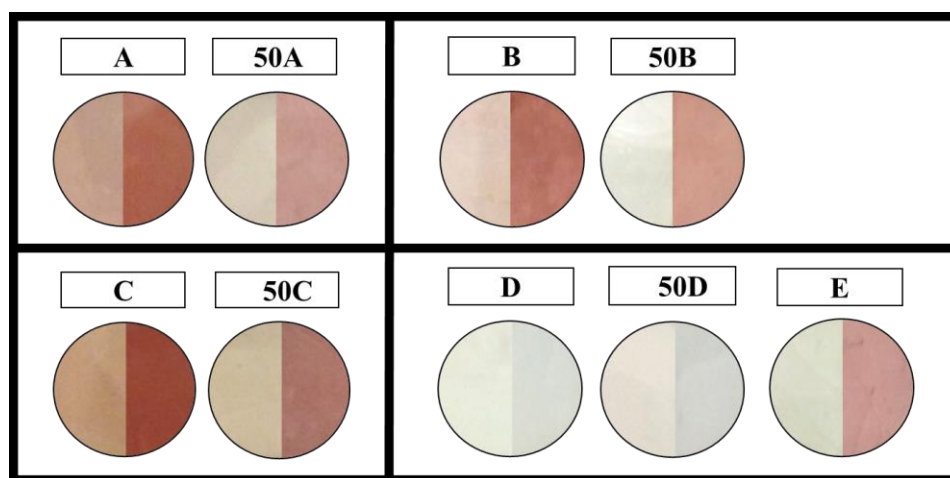


Figure 67. Comparaison de la couleur des poudres sur la base de photographies réalisées avant le vieillissement (demi-disque de gauche) et à 4 mois (120 jours) de vieillissement à 40 °C (demi-disque de droite).

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Certaines poudres sont légèrement colorées juste après l'atomisation (A, 50A, C, 50C et B) et leur couleur a beaucoup évolué pendant le vieillissement accéléré, tandis que d'autres (50B et E) étaient blanches juste après production et ont évolué vers des couleurs rose-rouge au cours du vieillissement accéléré. La couleur rouge des matrices protéiques deshydratées peut être due à la dégradation de la Vit C (présente à des concentrations importantes dans la formulation) donnant lieu à la formation de produits secondaires lors du séchage ²⁹⁴.

Les seules poudres qui n'ont pas changé de couleur (hormis une légère diminution de leur blancheur) pendant le vieillissement sont D et 50D, c'est-à-dire les matrices ne contenant pas de protéines.

Les poudres de base utilisées pour la préparation des concentrés séchés par atomisation n'ont pas subi un tel changement de couleur au cours du vieillissement et aucune formation de couleur rouge n'a été observée.

Un pigment rouge de faible poids moléculaire est obtenu suite à la réaction de certains acides aminés et du DHA ²⁸⁸. Il a été révélé que presque tous les α -acides aminés (acides aminés ayant à la fois les groupes amine et acide carboxylique liés au premier atome de carbone (carbone alpha)) à l'exception de la L-proline donnaient une coloration rouge par ce mécanisme (Kurata et al., 1973) mais que l'oxygène de l'air n'est pas impliqué dans la formation de ces pigments ²⁸⁸.

Etant donné que presque tous les acides aminés peuvent former des composés de couleur rouge, il est important de vérifier si cette réaction se produit toujours lorsque les acides aminés sont inclus dans la structure d'une protéine. Il a été mis en évidence que des mélanges de DHA et de protéines, préparés par lyophilisation et ayant une teneur en eau d'environ 5 %, forment des pigments rouges. Lorsque les mêmes mélanges sont incubés à 60 °C à une teneur en eau supérieure à 20 %, un brunissement rapide sans formation de pigment rouge se produit ²⁸⁸. Ces résultats sont confirmés par la mise en solution d'un mélange de caséines et de DHA dans de l'éthanol et l'eau à 60 °C (Figure 68).

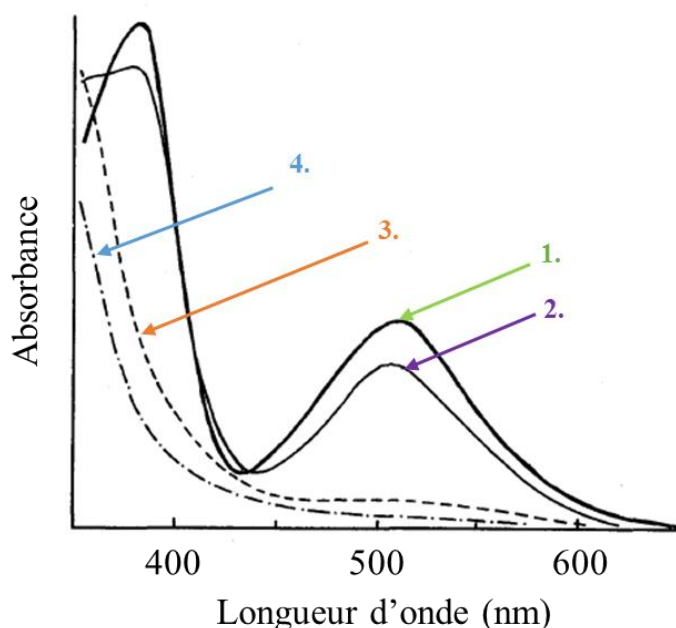


Figure 68. Effet de la proportion volumique d'éthanol (%) dans le milieu de réaction sur la formation de la couleur rouge (spectres UV/vis) ²⁸⁸. 1 : 100 % ; 2 : 95 % ; 3 : 80 % ; 4 : 20 %.

Les résultats suggèrent que la coloration rouge est un stade intermédiaire du brunissement non enzymatique des mélanges caséines/DHA.

Des changements rapides de couleur des solutions obtenues à partir des poudres vieilles ont été mis en évidence (Figure 69).

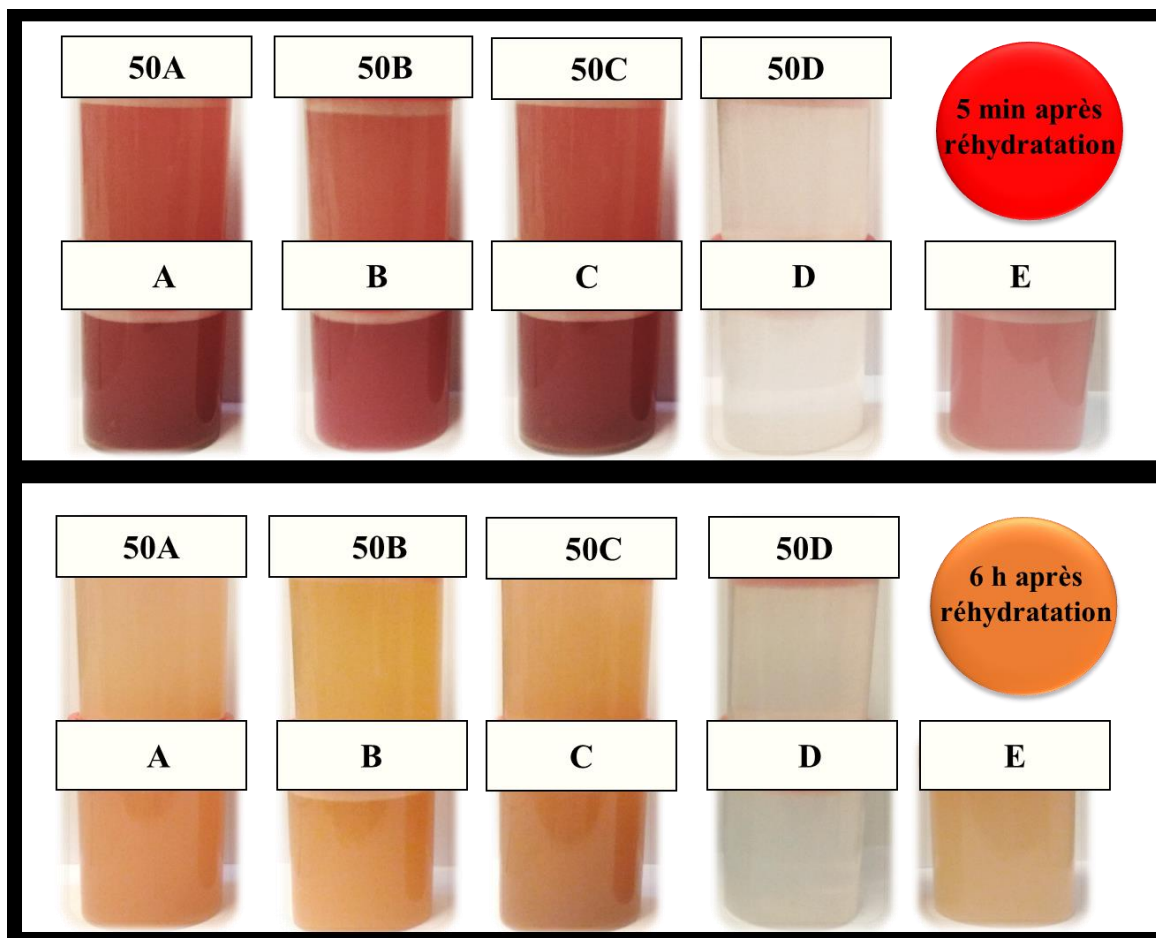


Figure 69. Changement de la couleur des solutions de poudres vieilles 4 mois à 40 °C réhydratées à 20 °C au cours du temps (6 h).

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Un changement de couleur entre le moment de réhydratation et après quelques heures de stockage à température ambiante a été observé pour les solutions préparées avec les poudres vieilles contenant des protéines. La couleur initialement rose-rouge des solutions tend vers le brun-orange pour les solutions de poudres protéiques, ce qui est en accord avec les données de la

littérature : la première étape de la réaction de Maillard, menant à des composés de couleur rouge, a lieu lors de l'atomisation et du vieillissement des poudres protéiques, et les étapes suivantes aboutissant à la transformation en composés bruns a lieu lentement après remise en solution. Cela a déjà été observé dans d'autres études ²⁶¹. Le pigment rouge subit des réactions avec le SCA pour donner ces produits de réaction bruns.

Le SCA réagit avec une molécule de DHA pour donner un pigment rouge (Figure 70). Il a été montré que le pigment rouge produit par l'oxydation du SCA est le sel monoammonium d'acide 2,2'-nitrilodi-2(2)-désoxy-L-ascorbique ²⁹⁵.

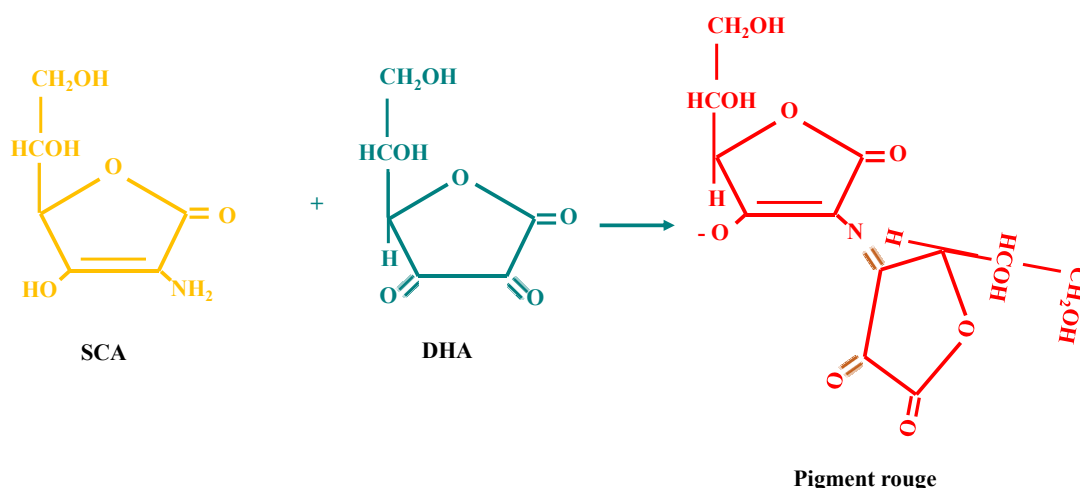


Figure 70. Mécanisme de formation des composés rouges ²⁶¹.

Plusieurs études ont été conduites pour indiquer quels acides aminés sont les plus impliqués dans la formation du pigment rouge. Il est bien connu que le DHA est plutôt instable en solution aqueuse : son cycle lactone est facilement hydrolysé pour donner l'acide 2,3-dicéto-L-gulonique. Il a été mis en évidence que, dans un mélange de DHA et de glycine, la coloration était due à la réaction du DHA sous forme cétonique avec la glycine et que la présence de cycle lactone était nécessaire pour la formation du pigment. La gamme optimale de pH pour la coloration est de 5,8 - 6,0 et reflète l'impact de deux effets différents: (1) à pH basique, le pigment est très instable en raison de l'hydrolyse catalysée par un acide ; (2) à pH neutre, la concentration de molécules actives de DHA diminue en raison de l'énolisation ²⁹⁵.

L'influence de la teneur en protéines sur l'apparition de la coloration est mise en évidence dans les poudres B, 50B et E qui présentent une teneur en protéines solubles lécithinées de 100, 50 et 42 % respectivement. L'évolution de la couleur des poudres (Figure 71) montrent que la coloration décroît avec la teneur en protéines selon l'ordre suivant : B (100 %) > 50B (50 %) > E (42 %).

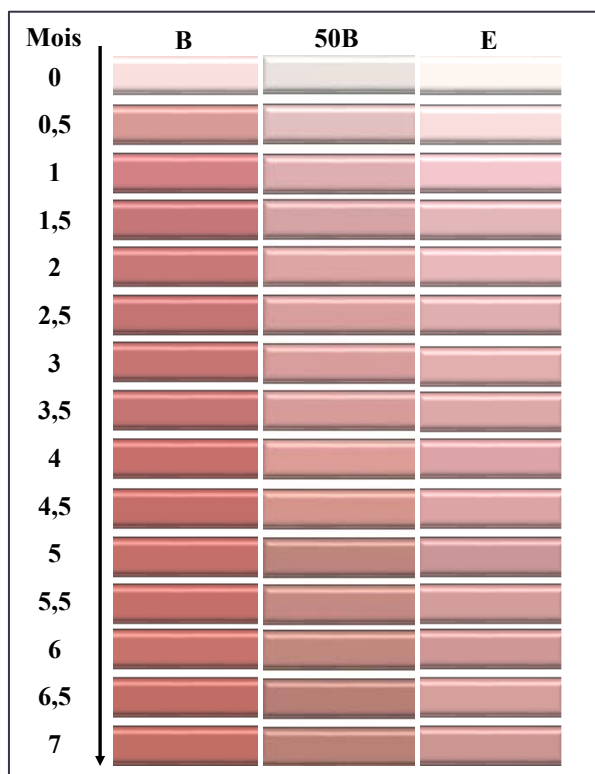


Figure 71. Exemples d'évolution de la couleur de certaines poudres produites à l'échelle industrielle pendant le vieillissement.

B : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Il est mis en évidence que la concentration en protéines joue un rôle important à la fois sur la cinétique de changement de couleur et sur l'intensité de la couleur obtenue : la poudre B contenant le plus de protéines solubles laitières atteint une couleur plus foncée plus rapidement. Cette tendance est valable pour toutes les poudres protéiques. A l'inverse, les poudres ne contenant pas de protéines (D et 50D, à base d'amidon et de maltodextrine) ne développent pas de coloration au cours du vieillissement. Comme cela a été évoqué précédemment, la présence des protéines indispensable à la coloration des poudres suggère une réaction de brunissement non enzymatique qui se développe au cours du vieillissement.

Des différences de composition en acides aminés après incubation à 60 °C de trois protéines seules ou en mélange avec le DHA ont été mises en évidence dans la littérature (Tableau 47). Trois mélanges de DHA et de protéines différentes ont donné une coloration rouge à la fin de l'incubation

288.

Tableau 47. Composition en acides aminés (en proportions de groupements amines libres exprimées en pourcents) dans le produit après incubation à 60 °C de caséine (148 h), d'albumine de sérum bovin (48 h) et d'ovalbumine (48 h) seules et en mélange avec le DHA ²⁸⁸.

Acide aminé	Caséine seule	Mélange caséine / DHA	Albumine de sérum bovin seule	Mélange albumine de sérum bovin / DHA	Ovalbumine seule	Mélange ovalbumine / DHA
Asp	6,7	6,6	11,6	10,1	11,0	11,4
Thr	4,3	4,4	5,9	6,3	5,7	5,0
Ser	7,1	6,9	5,4	6,2	10,4	10,5
Glu	19,4	19,4	14,7	14,9	14,2	14,4
Pro	12,4	14,2	7,3	8	2,2	2,0
Gly	3,1	3,0	3,3	4	6,6	7,0
Ala	4,4	4,0	8,1	9,5	10,0	10,5
Cys	traces	traces	1,6	1,5	0,4	0,34
Val	6,9	6,8	4,1	4,4	5,0	5,2
Met	2,7	2,6	0,8	0,8	4,0	3,8
Ile	4,7	4,6	1,3	1,7	3,5	4,0
Leu	8,8	8,8	9,9	10,2	7,0	7,5
Tyr	3,9	4,2	4	4,2	4,1	4,1
Phe	4,1	4,7	5,5	5,8	5,0	5,4
His	2,3	2,1	2,8	3	1,8	1,9
Lys	6,5	4,7	9,8	5,9	5,1	3,1
Arg	2,6	3,0	3,9	3,6	3,9	3,8

La formation du pigment rouge est accompagnée d'une diminution significative des acides aminés libres. Pour les trois mélanges étudiés, une diminution importante de teneur en lysine (Lys) a été enregistrée, indiquant que c'est l'acide aminé le plus impliqué dans la formation de la couleur rouge.

Pour toutes les poudres, l'évolution de la couleur de clair à foncé, de pale à vif et de rose-rouge à rouge-orange est démontrée à l'aide de trois paramètres : la luminance L^* , la chromaticité C^* et l'angle de teinte H^* respectivement.

Un exemple d'évolution de l'angle de teinte au cours du vieillissement de la poudre A est présenté en Figure 72.

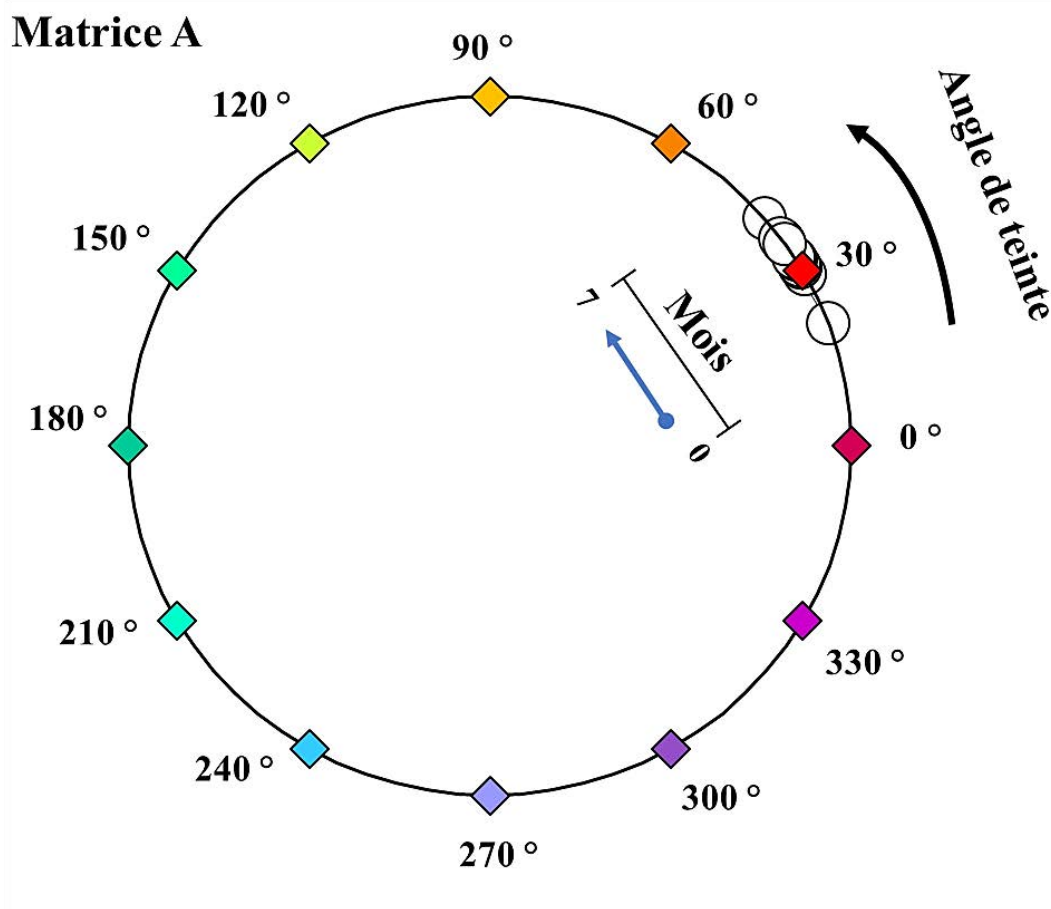


Figure 72. Augmentation de l'angle de teinte pendant le vieillissement de la matrice A (100 % caséinate de calcium lécithiné).

L'angle de teinte augmente avec le vieillissement traduisant le passage d'une couleur dominante rouge-magenta à rouge-orange. Cette tendance est valable pour toutes les poudres qui contiennent des protéines.

Il est mis en évidence que la couleur change avec le temps, mais pour savoir si elle devient plus claire ou foncée, il faut suivre sa luminosité. La variation de luminosité de la poudre A (100 % de caséines lécithinées) est présentée dans la Figure 73. Les poudres D et 50D restent stables pendant le vieillissement et gardent une couleur blanche dont la luminosité diminue légèrement avec le temps.

Matrice A

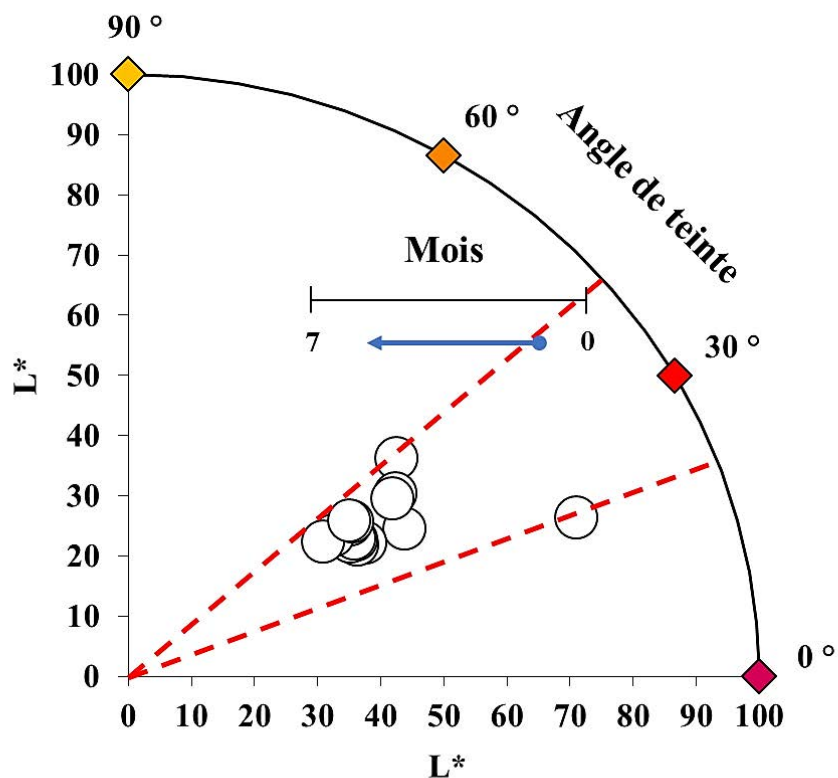


Figure 73. Diminution de luminosité pendant le vieillissement de la matrice A (100 % caséinate de calcium lécithiné).

La luminosité de la poudre A diminue au cours du vieillissement avec le point représentant sa couleur selon les coordonnées (L^* ; H^*) qui évolue vers l'origine, ce qui traduit une couleur plus foncée. La perte de luminosité est valable pour toutes les poudres produites en entreprise, y compris les poudres D et 50 D qui ne contiennent pas de protéines.

L'évolution de la teinte des poudres a été réalisée sur la base des valeurs de chromaticité (C^*) ; la Figure 74 présente l'augmentation de la chromaticité de la poudre A au cours de son vieillissement.

Matrice A

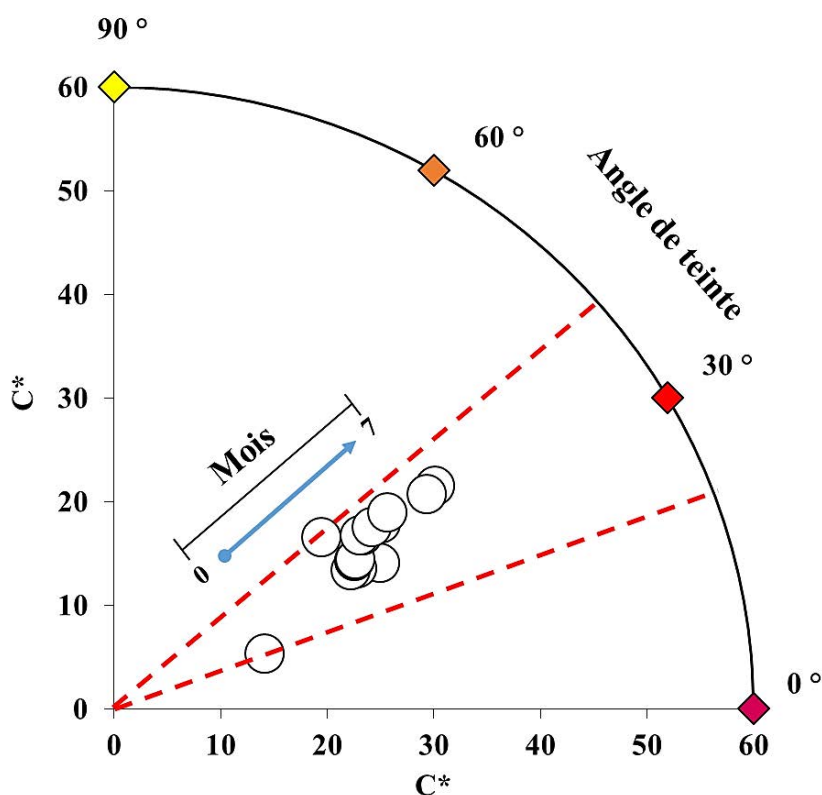


Figure 74. Augmentation de la chromaticité pendant le vieillissement de la matrice A (100 % caséinate de calcium lécithiné).

Le suivi de la saturation a permis de confirmer que l'intensité de la couleur augmente, ce qui traduit l'augmentation de la teneur en composés colorés au cours du vieillissement, en accord avec une réaction de brunissement non enzymatique se développant au cours du stockage.

Enfin, l'indice de brunissement permet d'évaluer précisément l'apparition de composés bruns à la surface des poudres produites en entreprises au cours de leur vieillissement. Sur la Figure 61, l'indice de brunissement de la poudre issue de la matrice A est présenté selon le temps de vieillissement (Figure 75).

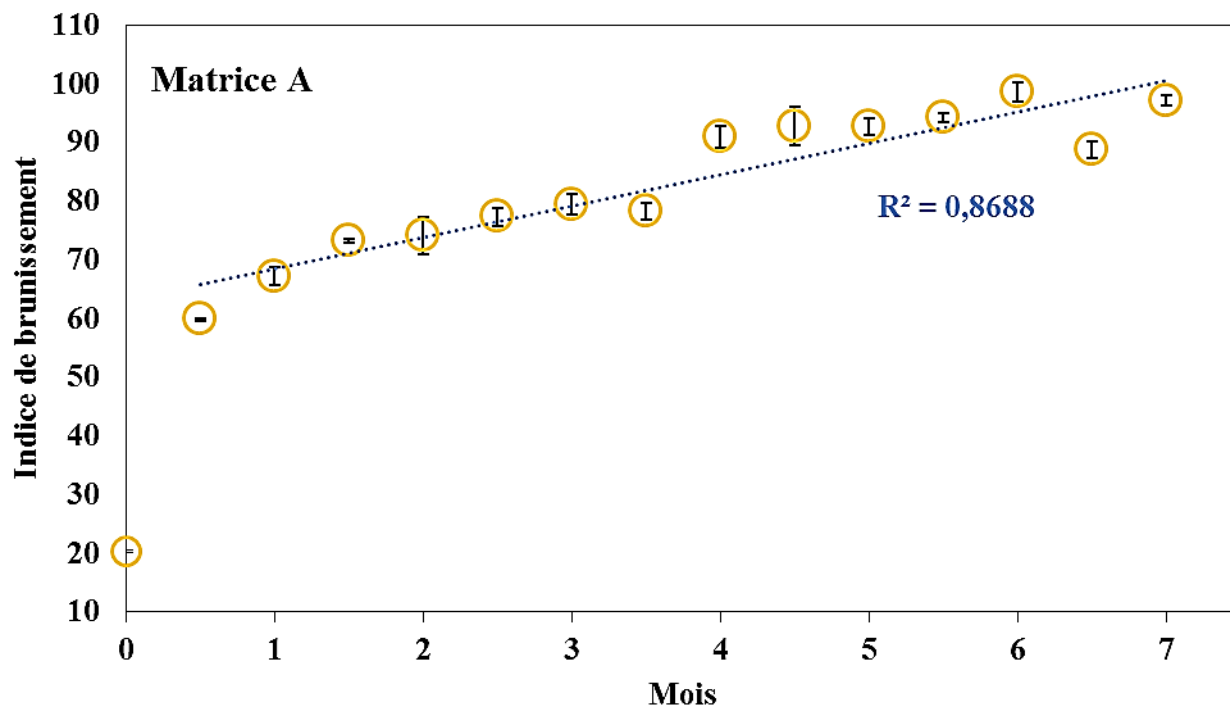


Figure 75. Augmentation de l'indice de brunissement pendant le vieillissement de la matrice A (100 % caséinate de calcium lécithiné).

L'indice de brunissement augmente avec le vieillissement et confirme que la présence de protéines mène à la formation des composés bruns. Ce comportement est valable pour toutes les poudres protéiques. Il n'est pas observé pour les poudres sans protéines.

Pour chaque matrice d'encapsulation, le coefficient de corrélation de Pearson a été calculé pour déterminer le niveau de corrélation entre l'indice de brunissement et la teneur en Vit C dosée par CLHP (exprimée en proportion de la teneur initiale) pendant le vieillissement. Pour toutes les matrices d'encapsulation protéiques, une forte corrélation négative est mise en évidence ($r \leq -0,9$), montrant que l'indice de brunissement est très influencé par la teneur en Vit C résiduelle dans la poudre vieillie : l'indice de brunissement augmente fortement avec la diminution de la concentration en vitamine (Figure 76).

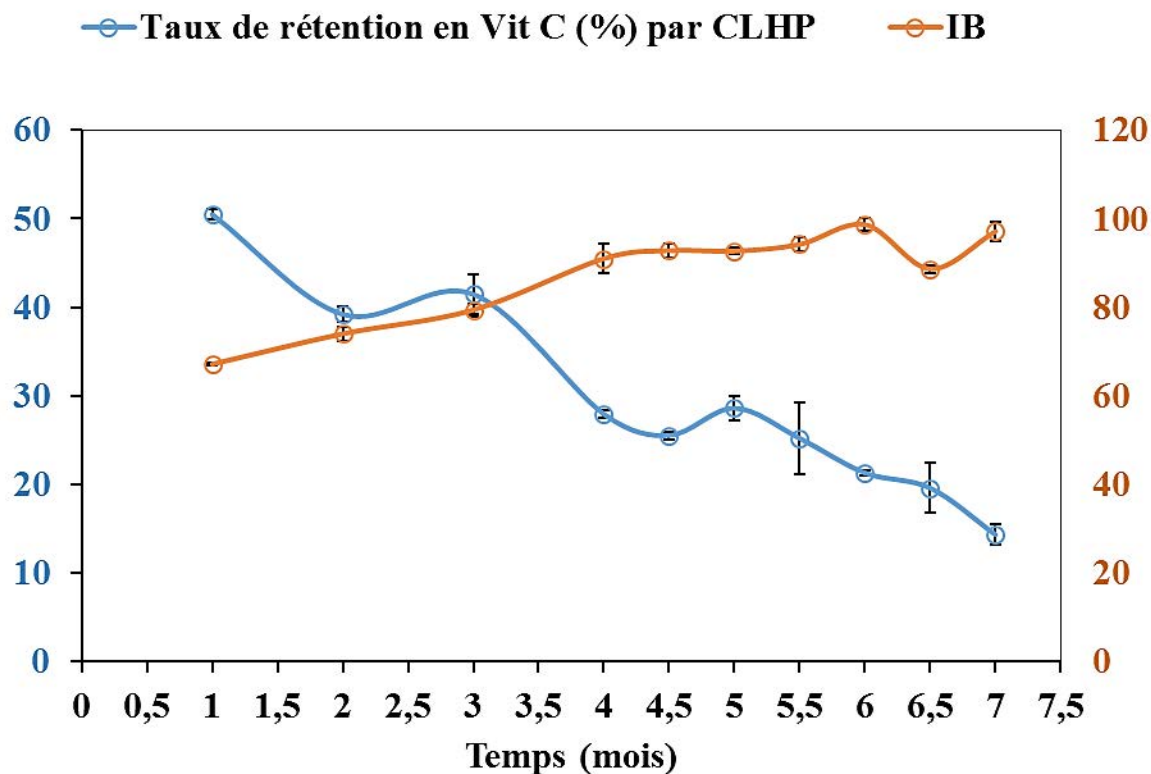


Figure 76. Comparaison de l'évolution du taux de rétention en Vit C (%) et l'indice de brunissement (IB) pendant le vieillissement de la poudre A (100 % caséinate de calcium lécithiné).

Cette forte corrélation pourrait être le signe de l'implication de la Vit C dans des réactions de brunissement non enzymatique. Il a été mis en évidence que la Vit C peut interagir avec des acides aminés avec la formation des composés bruns divers ^{253,263,267,269,296,297}.

La teneur en protéines est décisive pour la rétention en Vit C et l'évolution de la couleur brune des poudres. Une comparaison entre le taux de rétention en Vit C et l'évolution de l'indice de brunissement pour les poudres qui contiennent des protéines solubles laitières (B, 50B et E) est réalisée sur la Figure 77.

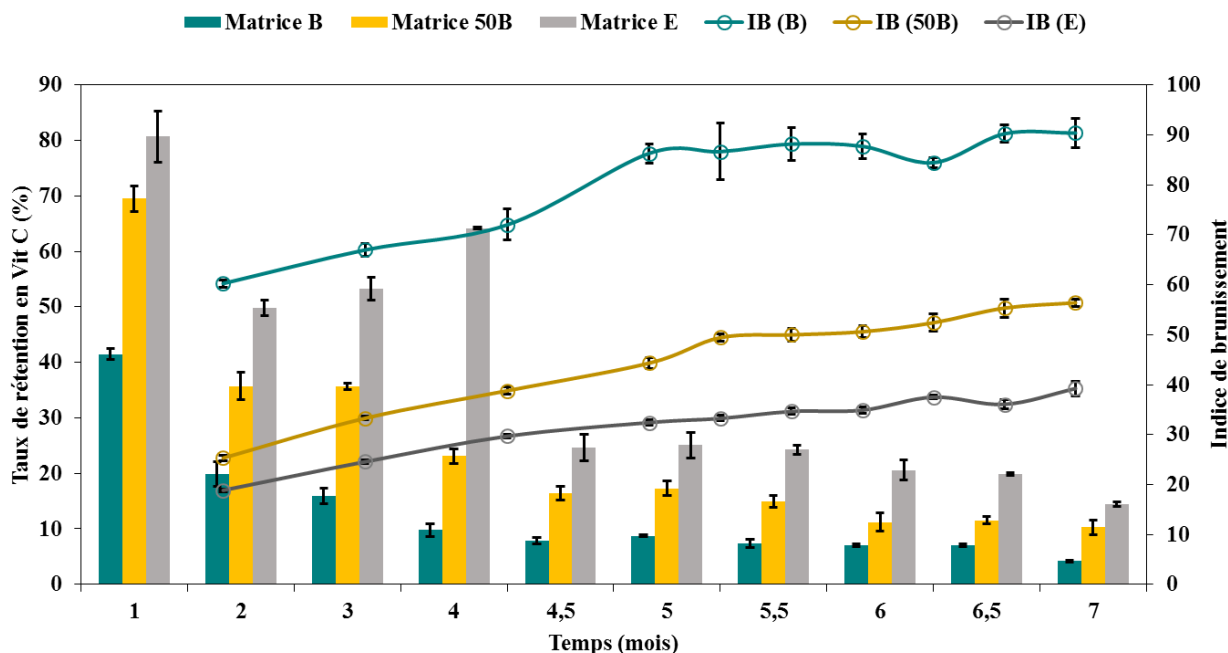


Figure 77. Evolution du taux de rétention en Vit C et de l'indice de brunissement (IB) pendant le vieillissement des poudres.

B : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné, **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine et **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

Il est mis en évidence qu'une teneur en protéines plus élevée mène à un indice de brunissement plus élevé et une diminution du taux de rétention en Vit C.

Tous ces paramètres de changement de couleur confirment qu'il est très probable que la réaction ayant lieu pendant le vieillissement des poudres protéiques est la première étape du brunissement non enzymatique entre la Vit C et des acides aminés protéiques.

Les résultats colorimétriques pour les poudres protéiques sont rassemblés dans le Tableau 48.

Tableau 48. Résultats de mesures L*, a*, b* des poudres pendant le vieillissement et détermination de l'angle de teinte (H*), de la chromaticité (C*) et de l'indice de brunissement (IB).

Matrice	Mois	L*	a*	b*	H*	C*	IB
A	0	75,74 ± 1,27	14,30 ± 0,26	5,27 ± 0,34	20,40 ± 1,10	15,10 ± 0,21	20,28 ± 0,26
	0,5	55,89 ± 2,58	19,49 ± 0,49	16,58 ± 0,39	40,39 ± 0,09	25,59 ± 0,62	59,79 ± 1,53
	1	50,19 ± 0,98	24,97 ± 0,39	14,07 ± 0,23	29,40 ± 0,06	28,66 ± 0,45	67,18 ± 0,40
	1,5	43,61 ± 1,76	22,77 ± 0,25	13,53 ± 0,11	30,73 ± 0,24	26,49 ± 0,24	73,25 ± 3,18
	2	42,45 ± 1,78	22,18 ± 0,61	13,42 ± 0,25	31,18 ± 0,22	25,92 ± 0,65	74,03 ± 1,53
	2,5	42,63 ± 0,74	22,57 ± 0,12	14,28 ± 0,06	32,32 ± 0,04	26,71 ± 0,13	77,29 ± 1,73
	3	41,64 ± 1,06	22,54 ± 0,21	14,33 ± 0,11	32,45 ± 0,05	26,71 ± 0,24	79,42 ± 1,48
	3,5	42,51 ± 0,52	22,59 ± 0,48	14,50 ± 0,33	32,69 ± 0,08	26,85 ± 0,56	78,30 ± 1,84
	4	51,24 ± 1,16	29,38 ± 0,45	20,69 ± 0,18	35,16 ± 0,20	35,94 ± 0,46	91,00 ± 3,30
	4,5	52,11 ± 1,01	30,11 ± 0,12	21,55 ± 0,11	35,59 ± 0,04	37,02 ± 0,16	92,80 ± 1,51
	5	43,28 ± 0,81	25,02 ± 0,46	17,88 ± 0,38	35,54 ± 0,08	30,75 ± 0,60	92,70 ± 0,69
	5,5	39,96 ± 1,08	23,32 ± 0,27	16,77 ± 0,18	35,72 ± 0,07	28,72 ± 0,32	94,21 ± 1,67
	6	38,21 ± 1,04	23,09 ± 0,71	16,76 ± 0,42	35,97 ± 0,15	28,53 ± 0,82	98,66 ± 1,41
	6,6	43,91 ± 0,57	24,16 ± 0,37	17,54 ± 0,21	35,98 ± 0,16	29,85 ± 0,40	88,68 ± 0,89
	7	43,59 ± 1,45	25,63 ± 0,38	18,98 ± 0,27	36,52 ± 0,01	31,89 ± 0,47	97,16 ± 2,15
B	0	86,36 ± 0,82	8,96 ± 0,04	3,93 ± 0,11	23,66 ± 0,61	9,78 ± 0,05	11,96 ± 0,09
	0,5	65,22 ± 0,72	22,97 ± 0,18	12,02 ± 0,28	27,61 ± 0,38	25,93 ± 0,29	44,89 ± 1,15
	1	58,99 ± 0,56	32,04 ± 0,40	12,31 ± 0,22	21,01 ± 0,11	34,32 ± 0,45	60,26 ± 0,70
	1,5	54,96 ± 0,82	30,48 ± 0,16	12,67 ± 0,11	22,57 ± 0,08	33,01 ± 0,19	63,93 ± 1,40
	2	55,82 ± 2,48	31,32 ± 0,85	13,95 ± 0,56	24,00 ± 0,30	34,29 ± 1,00	66,99 ± 1,32
	2,5	54,10 ± 1,02	31,12 ± 0,78	14,62 ± 0,54	25,16 ± 0,27	34,38 ± 0,94	70,69 ± 2,31
	3	54,71 ± 1,90	31,40 ± 0,28	15,29 ± 0,20	25,97 ± 0,10	34,92 ± 0,34	72,02 ± 3,11
	3,5	54,22 ± 0,48	31,26 ± 0,24	15,59 ± 0,16	26,51 ± 0,06	34,93 ± 0,29	73,21 ± 1,40
	4	53,30 ± 0,42	34,41 ± 0,38	18,50 ± 0,25	28,26 ± 0,06	39,07 ± 0,45	86,34 ± 1,92
	4,5	52,73 ± 1,92	33,51 ± 0,78	18,55 ± 0,53	28,96 ± 0,14	38,30 ± 0,94	86,68 ± 5,69
	5	52,98 ± 1,37	33,71 ± 0,28	19,19 ± 0,27	29,66 ± 0,14	38,79 ± 0,38	88,20 ± 3,32
	5,5	53,06 ± 1,32	33,49 ± 0,51	19,19 ± 0,36	29,81 ± 0,10	38,60 ± 0,62	87,75 ± 2,52
	6	54,07 ± 0,52	32,43 ± 0,12	19,10 ± 0,05	30,50 ± 0,02	37,64 ± 0,13	84,47 ± 0,99
	6,6	51,83 ± 0,93	32,77 ± 0,26	19,55 ± 0,13	30,82 ± 0,08	38,16 ± 0,28	90,26 ± 1,79
	7	52,07 ± 1,12	32,52 ± 0,32	19,84 ± 0,37	31,38 ± 0,24	38,09 ± 0,45	90,41 ± 2,88
C	0	73,63 ± 0,40	13,40 ± 0,33	16,04 ± 0,64	50,11 ± 0,51	20,90 ± 0,70	37,43 ± 1,38
	0,5	56,11 ± 0,16	24,56 ± 0,32	23,42 ± 0,20	43,64 ± 0,13	33,93 ± 0,37	84,33 ± 1,23
	1	49,76 ± 0,45	32,30 ± 0,35	20,76 ± 0,25	32,73 ± 0,10	38,40 ± 0,40	97,81 ± 1,68
	1,5	44,09 ± 0,59	30,41 ± 0,06	19,49 ± 0,10	32,65 ± 0,09	36,12 ± 0,10	104,49 ± 1,50
	2	45,33 ± 1,27	31,65 ± 0,69	20,87 ± 0,42	33,40 ± 0,44	37,91 ± 0,80	108,21 ± 1,06
	2,5	46,61 ± 1,32	31,74 ± 0,62	24,30 ± 3,03	37,28 ± 3,80	40,08 ± 1,50	119,81 ± 16,77
	3	42,55 ± 0,28	30,45 ± 0,32	20,93 ± 0,16	34,50 ± 0,15	36,95 ± 0,36	114,91 ± 0,39
	3,5	44,26 ± 0,25	31,47 ± 0,33	21,86 ± 0,16	34,79 ± 0,18	38,31 ± 0,34	115,00 ± 1,22
	4	45,37 ± 0,26	32,12 ± 0,24	23,64 ± 0,20	36,35 ± 0,09	39,89 ± 0,31	119,92 ± 0,48
	4,5	44,11 ± 1,20	31,29 ± 0,85	23,36 ± 0,58	36,74 ± 0,06	39,05 ± 1,03	121,62 ± 0,91
	5	37,88 ± 0,56	27,45 ± 0,69	20,76 ± 0,17	37,11 ± 0,50	34,42 ± 0,64	126,12 ± 0,73
	5,5	37,50 ± 0,64	27,86 ± 0,35	21,11 ± 0,28	37,14 ± 0,06	34,96 ± 0,45	130,18 ± 0,67
	6	35,00 ± 0,82	25,75 ± 0,28	19,95 ± 0,15	37,77 ± 0,14	32,57 ± 0,31	131,25 ± 2,52
	6,6	38,45 ± 1,83	27,12 ± 0,73	20,85 ± 0,55	37,56 ± 0,30	34,21 ± 0,91	124,05 ± 3,04
	7	38,34 ± 0,23	27,56 ± 0,16	21,29 ± 0,16	37,69 ± 0,09	34,83 ± 0,23	127,23 ± 0,19

50A	0	86,36 ± 1,53	5,91 ± 0,06	2,34 ± 0,02	21,64 ± 0,26	6,35 ± 0,06	7,58 ± 0,08
	0,5	79,41 ± 0,81	13,22 ± 0,32	6,41 ± 0,23	21,82 ± 5,83	12,12 ± 3,58	20,10 ± 0,51
	1	59,90 ± 2,75	15,47 ± 0,84	5,39 ± 0,22	19,25 ± 1,24	16,39 ± 0,76	27,42 ± 0,87
	1,5	56,78 ± 0,91	16,13 ± 0,30	6,20 ± 0,23	21,01 ± 0,45	17,28 ± 0,35	31,32 ± 1,23
	2	53,75 ± 1,81	15,50 ± 0,18	6,23 ± 0,08	21,90 ± 0,50	16,70 ± 0,14	32,40 ± 0,99
	2,5	55,47 ± 1,55	15,94 ± 0,23	6,94 ± 0,22	23,52 ± 0,62	17,38 ± 0,24	33,40 ± 1,10
	3	51,90 ± 1,45	16,15 ± 0,37	7,44 ± 0,15	24,73 ± 0,38	17,78 ± 0,39	37,14 ± 0,92
	3,5	52,53 ± 1,71	16,42 ± 0,45	7,77 ± 0,06	25,35 ± 0,42	18,16 ± 0,43	37,79 ± 0,53
	4	67,67 ± 1,13	20,34 ± 0,27	9,56 ± 0,15	25,18 ± 0,11	22,48 ± 0,30	36,19 ± 1,08
	4,5	69,35 ± 0,70	19,49 ± 0,53	9,75 ± 0,35	26,58 ± 0,20	21,79 ± 0,63	34,79 ± 1,40
	5	59,15 ± 3,09	19,09 ± 0,35	9,96 ± 0,27	27,55 ± 0,23	21,53 ± 0,43	41,15 ± 3,27
	5,5	52,13 ± 2,17	17,22 ± 0,53	9,29 ± 0,16	28,36 ± 0,31	19,57 ± 0,55	42,71 ± 1,08
	6	54,01 ± 2,06	17,34 ± 0,36	9,54 ± 0,15	28,81 ± 0,33	19,79 ± 0,39	41,91 ± 1,66
	6,6	54,76 ± 1,37	17,44 ± 0,48	9,73 ± 0,32	29,15 ± 0,18	19,97 ± 0,57	41,80 ± 1,29
	7	57,10 ± 2,09	17,54 ± 0,68	10,38 ± 0,40	30,61 ± 0,27	20,38 ± 0,75	41,54 ± 0,68
50B	0	85,89 ± 2,35	1,71 ± 0,08	3,66 ± 0,42	64,69 ± 1,68	4,04 ± 0,41	5,68 ± 0,41
	0,5	76,22 ± 2,06	12,40 ± 0,26	4,38 ± 0,24	19,45 ± 0,72	13,16 ± 0,32	17,33 ± 0,20
	1	71,41 ± 1,17	18,37 ± 0,06	5,12 ± 0,08	15,57 ± 0,17	19,07 ± 0,08	25,30 ± 0,56
	1,5	67,56 ± 1,16	19,25 ± 0,20	6,49 ± 0,06	18,83 ± 0,32	15,65 ± 6,17	29,87 ± 0,31
	2	68,67 ± 1,34	20,79 ± 0,45	7,94 ± 0,36	20,88 ± 0,66	22,26 ± 0,53	33,28 ± 0,34
	2,5	66,50 ± 0,76	21,48 ± 0,35	9,16 ± 0,21	23,10 ± 0,19	23,35 ± 0,40	37,24 ± 0,67
	3	66,43 ± 1,38	21,63 ± 0,10	9,90 ± 0,21	24,60 ± 0,36	23,79 ± 0,18	38,78 ± 0,69
	3,5	65,80 ± 1,71	21,90 ± 0,50	10,67 ± 0,38	25,98 ± 0,28	24,36 ± 0,61	40,86 ± 1,14
	4	66,64 ± 0,50	23,13 ± 0,53	12,17 ± 0,38	27,75 ± 0,19	26,14 ± 0,65	44,33 ± 1,13
	4,5	63,60 ± 1,04	23,43 ± 0,14	13,44 ± 0,08	29,84 ± 0,09	27,02 ± 0,16	49,43 ± 0,68
	5	57,32 ± 2,64	20,99 ± 0,72	12,41 ± 0,43	30,60 ± 0,03	24,39 ± 0,83	49,99 ± 1,33
	5,5	59,18 ± 1,37	21,70 ± 0,33	13,09 ± 0,25	31,10 ± 0,14	25,34 ± 0,41	50,60 ± 1,12
	6	58,27 ± 2,01	21,52 ± 0,24	13,59 ± 0,16	32,28 ± 0,12	25,45 ± 0,29	52,41 ± 1,78
	6,6	54,87 ± 0,55	20,86 ± 0,46	13,72 ± 0,32	33,33 ± 0,03	24,97 ± 0,56	55,35 ± 1,84
	7	55,44 ± 1,16	20,96 ± 0,17	14,35 ± 0,13	34,40 ± 0,05	25,40 ± 0,21	56,41 ± 0,74
50C	0	81,46 ± 0,47	6,41 ± 0,03	10,95 ± 0,14	59,64 ± 0,23	12,69 ± 0,14	19,89 ± 0,35
	0,5	72,64 ± 0,66	14,68 ± 0,34	10,64 ± 0,32	35,91 ± 0,17	18,13 ± 0,46	30,07 ± 1,04
	1	66,17 ± 0,81	20,64 ± 1,07	9,28 ± 0,59	24,19 ± 0,24	22,63 ± 1,21	36,77 ± 1,68
	1,5	56,76 ± 1,74	20,04 ± 0,53	9,33 ± 0,29	24,97 ± 0,10	22,11 ± 0,60	42,56 ± 2,52
	2	60,12 ± 1,16	21,23 ± 0,45	10,02 ± 0,28	25,26 ± 0,14	23,47 ± 0,52	42,76 ± 1,35
	2,5	59,93 ± 1,58	21,96 ± 0,54	11,05 ± 0,39	26,71 ± 0,25	24,58 ± 0,66	45,82 ± 0,20
	3	57,91 ± 1,29	22,22 ± 0,51	11,55 ± 0,34	27,46 ± 0,15	25,04 ± 0,61	48,87 ± 0,82
	3,5	58,01 ± 1,43	22,83 ± 1,56	12,22 ± 1,08	28,11 ± 0,46	25,90 ± 1,88	50,98 ± 3,65
	4	55,81 ± 1,37	22,64 ± 0,29	11,58 ± 0,12	27,09 ± 0,08	25,43 ± 0,31	51,38 ± 1,04
	4,5	63,28 ± 0,21	23,83 ± 0,34	13,10 ± 0,25	28,80 ± 0,18	27,19 ± 0,42	49,38 ± 0,69
	5	47,19 ± 1,54	20,74 ± 0,23	11,85 ± 0,22	29,73 ± 0,24	23,89 ± 0,30	59,48 ± 2,86
	5,5	49,21 ± 1,85	21,46 ± 0,22	12,40 ± 0,20	30,02 ± 0,36	24,78 ± 0,22	59,42 ± 3,01
	6	51,04 ± 1,11	21,44 ± 0,58	12,70 ± 0,36	30,63 ± 0,14	24,92 ± 0,68	57,86 ± 2,59
	6,6	51,29 ± 1,50	19,38 ± 0,49	11,74 ± 0,28	31,21 ± 0,10	22,66 ± 0,55	52,36 ± 0,33
	7	51,30 ± 1,34	19,47 ± 0,39	12,29 ± 0,32	32,26 ± 0,16	23,03 ± 0,50	53,90 ± 1,44
E	0	92,63 ± 0,88	2,12 ± 0,32	3,63 ± 0,23	59,83 ± 3,99	4,21 ± 0,26	5,55 ± 0,32
	0,5	85,82 ± 0,32	10,42 ± 0,06	3,66 ± 0,07	16,40 ± 3,95	8,59 ± 3,23	12,90 ± 0,18
	1	79,82 ± 0,82	16,02 ± 0,14	3,88 ± 0,19	13,25 ± 0,54	16,46 ± 0,17	18,84 ± 0,26
	1,5	73,95 ± 0,23	16,90 ± 0,22	4,56 ± 0,02	15,09 ± 0,13	17,51 ± 0,21	22,27 ± 0,25
	2	74,61 ± 1,43	17,96 ± 0,18	5,60 ± 0,13	17,32 ± 0,23	18,81 ± 0,21	24,56 ± 0,40
	2,5	71,42 ± 1,12	18,25 ± 0,14	6,50 ± 0,12	19,61 ± 0,21	19,37 ± 0,17	27,33 ± 0,13

3	71,64 ± 1,67	19,27 ± 0,44	7,44 ± 0,24	21,11 ± 0,23	20,66 ± 0,50	29,68 ± 0,30
3,5	69,71 ± 0,62	19,31 ± 0,15	7,92 ± 0,10	22,30 ± 0,09	20,87 ± 0,18	31,34 ± 0,49
4	68,53 ± 0,25	21,09 ± 0,36	7,21 ± 0,17	18,87 ± 0,11	22,28 ± 0,40	32,41 ± 0,59
4,5	68,43 ± 0,47	20,77 ± 0,30	7,85 ± 0,29	20,69 ± 0,45	22,21 ± 0,36	33,24 ± 0,55
5	63,34 ± 1,88	19,67 ± 0,31	7,77 ± 0,10	21,55 ± 0,09	21,15 ± 0,32	34,64 ± 0,64
5,5	65,54 ± 1,60	20,15 ± 0,36	8,29 ± 0,10	22,38 ± 0,13	21,79 ± 0,37	34,89 ± 0,66
6	63,89 ± 0,99	20,45 ± 0,27	9,04 ± 0,14	23,85 ± 0,07	22,36 ± 0,30	37,50 ± 0,41
6,6	66,25 ± 2,01	19,96 ± 0,24	9,26 ± 0,09	24,89 ± 0,16	22,00 ± 0,26	36,06 ± 0,86
7	62,97 ± 0,53	19,96 ± 0,57	9,92 ± 0,42	26,42 ± 0,30	22,29 ± 0,70	39,23 ± 1,43

A : 100 % caséinate de calcium lécithiné ; **50A** : 50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine ; **B** : 100 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné ; **50B** : 50 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / maltodextrine ; **C** : 100 % isolat de protéines de pois ; **50C** : 50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine ; **D** : 100 % amidon de maïs cireux modifié ; **50D** : 50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine ; **E** : 42 % concentré de protéines solubles laitières lécithiné / 42 % maltodextrine / 16 % amidon de maïs cireux modifié.

La couleur rouge dans les matrices 100 % protéiques est plus prononcée pour la matrice B avec des valeurs a^* les plus élevées et un angle de teinte plus petit (couleur plus proche du rouge que de l'orange). L'indice de brunissement est aussi le plus bas pour la matrice B comparée aux matrices A et C. Il peut donc être déduit que le brunissement enzymatique est à un stade plus avancé pour les poudres A et C et à un stade intermédiaire pour la poudre B car le pigment rouge n'est pas encore transformé en composés bruns dans la poudre B à la fin du vieillissement accéléré. La chromaticité mesurée à la fin de vieillissement est plus élevée pour la matrice B que pour les matrices A et C indiquant que la couleur retrouvée dans les poudres B est non seulement « la plus rouge » mais aussi « la plus saturée ». Cela peut être expliqué par la concentration en lysine qui est la plus importante dans l'ordre suivant : $B > A > C$ ²⁸⁸. En outre, il a été mis en évidence que les produits de la réaction de Maillard produites avec la lysine ont la plus haute valeur d'absorbance à 420 nm (intensité de brunissement (A_{420})), par rapport aux autres acides aminés, mais une capacité d'inhibition du brunissement enzymatique très limitée²⁹⁸.

V. PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE 4

Grâce aux résultats obtenus au laboratoire sur l'encapsulation des vitamines C et B1 par atomisation et sur la base du cahier des charges de l'entreprise, neuf matrices ont été choisies. Les matrices sélectionnées étaient constituées de protéines d'origines animale et végétale, de maltodextrine et /ou d'amidon.

L'encapsulation par atomisation a eu lieu en entreprise dans les conditions de séchage suivantes : 165 °C de température d'entrée et 100 °C de température de sortie de l'air. Les propriétés physicochimiques et fonctionnelles des poudres obtenues ont été caractérisées et une étude de vieillissement accéléré a été effectuée pour évaluer leur rétention en vitamines pendant le stockage et déterminer l'aptitude à la protection des vitamines contre les TT des poudres vieilles.

Sur la base des critères de teneur en eau et d'activité d'eau, l'ensemble des poudres présentait une bonne aptitude au stockage. La taille médiane des particules a varié entre 20 et 75 µm en accord avec la littérature dans des conditions d'atomisation et de matrices alimentaires équivalentes.

Il a été démontré que le taux d'encapsulation de la Vit C dépendait de la composition de la matrice mais également de la méthode de dosage utilisée (CLHP, ABTS et FRAP). Le meilleur taux d'encapsulation pour les trois méthodes de dosage a été obtenu pour la matrice 50D (50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine). Les valeurs de rétention étaient de 50 % par CLHP (vitamines libres) et supérieures à 100 % par ABTS et FRAP (vitamines libres et liées aux protéines).

Les deux types de TT (TTC et TTMO) appliqués aux matrices réhydratées n'ont pas provoqué de pertes ou peu de pertes, de l'ordre de 10 % maximum pour le TTC de 50A (100 % caséinate de calcium lécithiné) et 50C (50 % isolat de protéines de pois / 50 % maltodextrine).

Le vieillissement accéléré des poudres, effectué à 40 °C pendant 7 mois, a permis de mettre en évidence la coloration prononcée des poudres contenant des protéines. Les différentes caractéristiques colorimétriques mesurées (chromaticité, angle de Hue, indice de brunissement) ont montré l'évolution de la couleur des poudres protéiques vers le rouge-brun selon des réactions de type brunissement non enzymatique. Il a été mis en évidence que la Vit C favorisait la formation d'une coloration rouge spécifique. Cette réaction serait une étape intermédiaire du brunissement non enzymatique. En effet, grâce à la détermination de l'angle de teinte au cours du temps, il

apparaît que les composés de couleur rouge évoluent vers la formation de composés bruns et oranges caractéristiques des dernières étapes réactionnelles du brunissement non enzymatique. La teneur en lysine des poudres de protéines pourrait être l'un des principaux facteurs contrôlant le développement de la coloration rouge des poudres en présence de Vit C.

Des pertes en Vit C ont été observées pendant le vieillissement des neuf poudres étudiées. Les pertes les plus élevées ont été enregistrées pour les matrices à base de protéines solubles laitières. Les matrices D (100 % amidon de maïs cireux modifié), 50D (50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine) et 50A (50 % caséinate de calcium lécithiné / 50 % maltodextrine) présentaient la meilleure teneur en Vit C à la fin du vieillissement.

Après TT des matrices vieilles, il a été mis en évidence qu'elles ont toutes conservée leur capacité à préserver la Vit C. Les pertes les plus élevées induites par TTMO ont concerné la matrice B.

Les deux matrices les plus intéressantes pour l'encapsulation de la Vit C et sa préservation pendant le stockage et lors du TT sont celles à base d'amidon et/ou de maltodextrines : D (100 % amidon de maïs cireux modifié), 50D (50 % amidon de maïs cireux modifié / 50 % maltodextrine).

CHAPITRE 5 : Conclusions générales et perspectives

Le développement des allégations santé sur le marché agroalimentaire et les promesses de nombreux produits en termes de composition en micronutriments posent une vraie question sur la fiabilité et la transparence des données d'étiquetage. Les études des besoins nutritionnels ignorent souvent les différences entre les données affichées sur l'étiquette, la concentration après vieillissement et la biodisponibilité des micronutriments après reconstitution et traitement thermique, qui sont très dépendantes de la matrice alimentaire, des procédés de transformation et du stockage. Il était donc indispensable d'étudier l'effet de l'ensemble de ces facteurs pour estimer les teneurs réelles en micronutriments dans un aliment donné, après préparation (reconstitution et traitement thermique).

Souvent, dans les différentes formulations alimentaires, il est nécessaire d'offrir aux micronutriments une protection supplémentaire pour garantir leur teneur au moment de la consommation ; l'encapsulation des micronutriments est une des méthodes les plus utilisées pour les préserver au cours du stockage, de la préparation et de la consommation des produits alimentaires transformés.

Ce travail de thèse s'est focalisé sur la préservation de la vitamine C, un micronutriment crucial pour ses propriétés antioxydantes et un marqueur thermosensible de choix pour révéler le potentiel délétère d'un traitement thermique. L'essentiel du travail de thèse a été d'étudier la résistance de la vitamine C contenue dans l'aliment déshydraté aux traitements thermiques les plus courants, *i.e.* conventionnels, et au four à micro-ondes et après vieillissement de l'aliment déshydraté.

La stabilité des micronutriments durant les traitements thermiques lors du passage de l'état de poudre à l'état de solution puis après interaction avec une matrice alimentaire complexe peut être extrêmement réduite.

Cependant, la littérature scientifique manque souvent de données précises sur l'effet des conditions opératoires de traitement thermique, notamment le type de source de chaleur, sur les pertes en micronutriments dans des matrices complexes. Le travail de thèse a permis de mettre en évidence que le traitement thermique au four à micro-ondes provoque moins d'altérations de la vitamine C et présente donc une bonne alternative au traitement thermique conventionnel. En effet, le traitement thermique micro-ondes réduit jusqu'à deux fois les pertes en vitamine C par rapport au traitement thermique conventionnel réalisé avec le même barème temps-température.

Il est indispensable de prendre en compte l'effet de la matrice alimentaire sur les pertes en micronutriments, car leurs interactions avec les composants de l'aliment modulent leur sensibilité aux réactions délétères induites par le traitement thermique. Dans un premier temps, l'effet de caractéristiques physicochimiques de la matrice alimentaire, pH et composition minérale, a été évalué. Etant donné que les produits alimentaires déshydratés de l'entreprise partenaire de cette thèse ont vocation à être réhydratés dans du lait demi-écrémé, cette première partie du travail de thèse s'est attachée à découpler l'influence du pH, des minéraux et des protéines de la matrice laitière sur l'altération des vitamines (vitamine C surtout) lors du traitement thermique.

Il a été mis en évidence que le pH a un impact sur la rétention en vitamine C plus important que la composition minérale par une étude dans un ultrafiltrat de lait simulé. En effet, un pH moins acide favorise les pertes en vitamine C pour une même composition minérale. La présence de minéraux favoriserait l'homogénéité de la température de l'aliment lors du traitement thermique micro-ondes, ce qui conduit à une meilleure rétention en vitamine C dans l'ultrafiltrat de lait simulé que dans l'eau. Les essais menés avec le lait demi-écrémé ont permis de mettre en évidence un effet positif des protéines laitières sur la rétention en vitamine C après traitement thermique. Par conséquent, la matrice laitière, par ses teneurs en minéraux et protéines, favorise la rétention en vitamine C lors des traitements thermiques.

Les pertes mesurées après le traitement thermique micro-ondes, pourtant le moins délétère, ne sont pas négligeables, rendant l'encapsulation nécessaire pour répondre à l'objectif de la thèse de garantir une teneur en vitamine C suffisante après reconstitution et traitement thermique du produit alimentaire déshydraté.

Afin de développer des matrices d'encapsulation pour protéger la vitamine C de l'effet du traitement thermique, la composition nutritionnelle du produit alimentaire doit être respectée. Les matrices d'encapsulations étudiées ont été choisies pour leur compatibilité avec la composition nutritionnelle du produit alimentaire et pour leur aptitude moyenne à la réhydratation, puisque la réhydratation est une étape cruciale, au cours de laquelle les vitamines sont susceptibles d'être libérées et dégradées. Ces raisons ont orienté le choix vers des matrices protéiques.

L'atomisation est un procédé d'encapsulation très courant et relativement aisé à mettre en œuvre à l'échelle industrielle ; ce procédé a donc été choisi pour encapsuler la vitamine C dans ce travail de thèse. D'abord, les conditions d'atomisation ont été optimisées à l'échelle laboratoire et différentes formulations de matrices protéiques ont été comparées pour leur efficacité

d'encapsulation et leur effet protecteur lors de la réhydratation et du traitement thermique. Les protéines laitières, caséines et protéines solubles, se sont avérées les plus efficaces pour protéger la vitamine C lors des étapes d'encapsulation, de réhydratation et de traitement thermique. Les conditions de séchage par atomisation retenues correspondent à une température de sortie de l'air de 100 °C.

Afin de vérifier la faisabilité commerciale de l'encapsulation des matrices retenues à l'échelle laboratoire, le procédé a été transposé à l'échelle industrielle. En plus des deux matrices laitières déjà retenues, deux autres types de matrices (protéines de pois et amidon) ont été proposées par l'industriel par rapport à leur disponibilité commerciale et à leur coût. Les protéines animales ayant un coût élevé, des essais d'encapsulation ont été réalisés avec des matrices composées à 100 % de protéines, mais aussi en mélange 50:50 avec des maltodextrines, moins chères et facilitant le séchage grâce à leur température de transition vitreuse élevée. La même démarche a été suivie pour la matrice à base d'amidon, à des fins de comparaison. Trois matrices (100 % amidon, 50 % amidon/50 % maltodextrine et 50 % caséine/50 % maltodextrine) se sont démarquées par rapport à leur taux d'encapsulation et leur capacité de protection pour les deux types de traitement thermique, conventionnel et micro-ondes. **Il a été donc mis en évidence que l'amidon modifié présente une bonne alternative pour l'encapsulation et la protection de la vitamine C lors de la réhydratation et du traitement thermique.**

Pour finaliser l'étude, il a été indispensable de prendre en compte que les poudres de la vitamine C encapsulée seront stockées avant et après leur commercialisation. Pour s'assurer qu'elles gardent une teneur en vitamine C suffisante lors du stockage, un vieillissement accéléré a été effectué à 40 °C pendant 7 mois, équivalent à un stockage à 20 °C pendant quasiment 26 mois, puisque la durée limite d'utilisation optimale visée pour ce type de produits alimentaires déshydratés est généralement de 2 ans. Les pertes en vitamine C ont été quantifiées tout au long du vieillissement accéléré et la capacité des poudres à protéger la vitamine C, après réhydratation et traitement thermique, a été évaluée à la fin du vieillissement.

Il été mis en évidence que les meilleures matrices d'encapsulation pour la vitamine C sont les matrices composées de 100 % amidon et 50 % amidon/50 % maltodextrine. Elles présentent de bons taux d'encapsulation et de protection lors des traitements thermiques, ainsi que très peu de pertes en vitamine C lors du vieillissement. Elles ont également conservé leur effet protecteur contre l'impact délétère des traitements thermiques même à la fin de vieillissement. La

démarche globale de ce travail de thèse en partenariat avec l'industrie sont présentées dans la Figure 78.

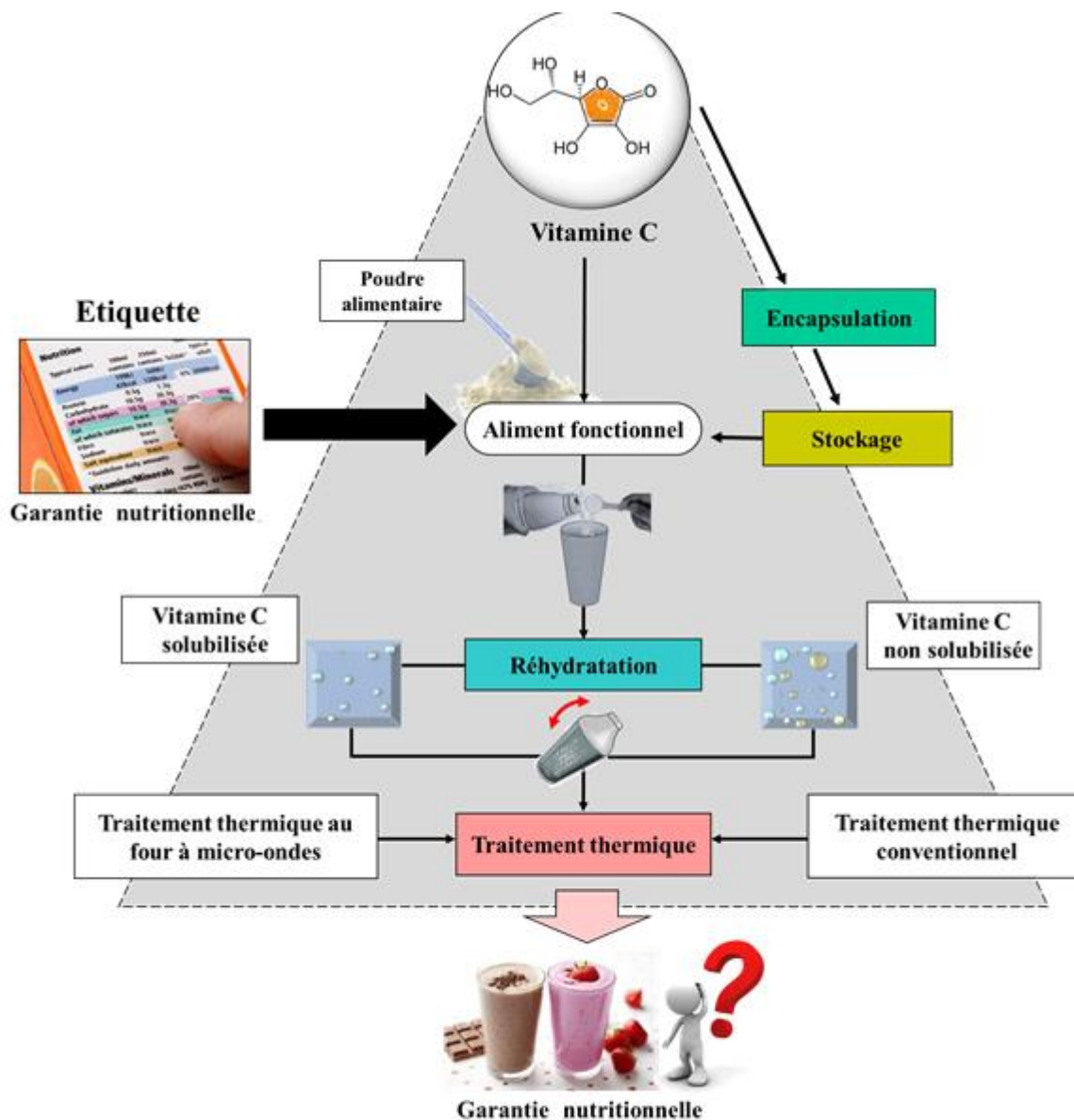


Figure 78. Bilan schématique des travaux effectués pendant la thèse.

Cette thèse a donc permis d'apporter des réponses concrètes au problème industriel posé, qui était de garantir la teneur en vitamine des produits commercialisés après reconstitution et traitement thermique. Le choix de la vitamine C thermosensible a permis d'accentuer les effets des traitements thermiques et il peut être envisagé à court terme de valider ces expérimentations sur d'autres vitamines hydrosolubles présentes dans les mix industriels. Ainsi, l'industriel dispose dorénavant

d'un moyen d'apporter des garanties nutritionnelles au consommateur, lui permettant ainsi d'anticiper les changements et les réglementations à venir.

Ce travail a permis de développer une démarche scientifique qui peut être applicable aux autres micronutriments d'intérêt industriel.

En outre, les matrices d'encapsulation développées dans le cadre de cette thèse peuvent être réutilisées ou adaptées à d'autres molécules à caractère hydrophile (d'autres vitamines hydrosolubles par exemple).

Les matrices étudiées sont aussi utilisables pour l'encapsulation d'une large gamme de molécules hydrophobes, tels que des huiles et des polyphénols, d'après la revue bibliographique présentée dans le chapitre 3. Elles pourraient donc être applicables aux constituants déjà présents dans le mix industriel : acides gras insaturés et vitamines A, D et E.

Les interactions spécifiques et atypiques mises en évidence entre la Vit C et les matrices protéiques seraient à étudier plus en détail. Les pigments rouges produits doivent être évalués pour leur toxicité éventuelle. Une fois le risque écarté, la coloration obtenue peut être intéressante à valoriser comme colorant d'origine naturelle dans l'industrie agroalimentaire ou encore comme indicateur de « réactivité » des produits riches en vitamine C. Il est utile d'étudier les chemins réactionnels du brunissement non enzymatique de la vitamine C en lien avec les matrices d'encapsulation pour mieux connaître et estimer les pertes en vitamines dépendamment de l'éventuel effet protecteur issu de leur interaction avec les protéines, et ainsi maîtriser l'évolution du pouvoir antioxydant et les garanties nutritionnelles pour une large gamme d'aliments fonctionnels et diététiques, de compléments alimentaires et même de certains produits pharmaceutiques.

Références

- 1 Functional Foods Market Size, Growth & Trends | Industry Report, 2024. <http://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/functional-food-market>.
- 2 Pensé-Lhéritier A-M, Bouarfa M. *Conception des compléments alimentaires Marché, développement, réglementation et efficacité*. Lavoisier, 2016.
- 3 CODEX Alimentarius: À propos du Codex. 2016. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/fr/>.
- 4 La sécurité alimentaire. La dimension internationale de la sécurité alimentaire. La sécurité alimentaire (1990-2003).
- 5 Harel C. Le casse-tête du nouvel étiquetage alimentaire. Lsa-Consofr. 2014. <http://www.lsa-conso.fr/le-casse-tete-du-nouvel-etiquetage-alimentaire,194605>.
- 6 DGCCRF. Étiquetage des denrées alimentaires : nouvelles règles européennes. Portail Ministères Économiques Financ. 2015. <http://www.economie.gouv.fr/dgccrf/etiquetage-des-denrees-alimentaires-nouvelles-regles-europeennes>.
- 7 Synadiet. <http://www.synadiet.org/les-complements-alimentaires/quest-ce-que-cest>.
- 8 Szakály Z, Szente V, Kövér G, Polereczki Z, Szigeti O. The influence of lifestyle on health behavior and preference for functional foods. *Appetite* 2012; **58**: 406–413.
- 9 German NSD. New Reference Values for Vitamin C Intake. *Ann Nutr Metab* 2015; **67**: 13.
- 10 Frei B, Birlouez-Aragon I, Lykkesfeldt J. Authors' perspective: What is the optimum intake of vitamin C in humans? *Crit Rev Food Sci Nutr* 2012; **52**: 815–829.
- 11 Anizon J-Y, Lemaire B, Surbled M. Extraction assistée par micro-ondes. *Téchniques Ing.* 2003.
- 12 Karam MC, Petit J, Zimmer D, Baudelaire Djantou E, Scher J. Effects of drying and grinding in production of fruit and vegetable powders: A review. *J Food Eng* 2016; **188**: 32–49.
- 13 Murphy RY, Johnson ER, Duncan LK, Clausen EC, Davis MD, March JA. Heat Transfer Properties, Moisture Loss, Product Yield, and Soluble Proteins in Chicken Breast Patties During Air Convection Cooking. *Poult Sci* 2001; **80**: 508–514.
- 14 Singh RP, Heldman DR. *Introduction to Food Engineering*. 4th Edition. 2008.
- 15 Datta AK. *Handbook of microwave technology for food application*. CRC Press, 2001.
- 16 Taylor M, Atri BS, Minhas S, Bisht P. Developments in microwave chemistry. *Evalueserve UK* 2005.

- 17 Chandrasekaran S, Ramanathan S, Basak T. Microwave food processing—A review. *Food Res Int* 2013; **52**: 243–261.
- 18 Rannou C, Laroque D, Renault E, Prost C, Sérot T. Mitigation strategies of acrylamide, furans, heterocyclic amines and browning during the Maillard reaction in foods. *Food Res Int* 2016; **90**: 154–176.
- 19 Chiu CP, Yang DY, Chen BH. Formation of heterocyclic amines in cooked chicken legs. *J Food Prot* 1998; **61**: 712–719.
- 20 Purcaro G, Moret S, Conte LS. Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: occurrence, legislation and innovative determination in foods. *Talanta* 2013; **105**: 292–305.
- 21 Hill A, ILSI Europe. *Microwave ovens*. Brussels : ILSI Europe. 1998.
- 22 Lee S-J, Shin J, Sung N, Kim J, Hotchkiss J. Effect of cooking on the formation of N-nitrosodimethylamine in Korean dried seafood products. *Food Addit Contam* 2003; **20**: 31–36.
- 23 Li L, Wang P, Xu X, Zhou G. Influence of Various Cooking Methods on the Concentrations of Volatile N-Nitrosamines and Biogenic Amines in Dry-Cured Sausages. *J Food Sci* 2012; **77**: C560–C565.
- 24 Food and Environmental Hygiene Department. Microwave Cooking and Food Safety. 2005.
- 25 Celandroni F, Longo I, Tosoratti N, Giannessi F, Ghelardi E, Salvetti S *et al*. Effect of microwave radiation on *Bacillus subtilis* spores. *J Appl Microbiol* 2004; **97**: 1220–1227.
- 26 Welt B, Tong C, Rossen J, Lund D. Effect of microwave radiation on inactivation of *Clostridium sporogenes* (PA 3679) spores. *Appl Environ Microbiol* 1994; **60**: 482–488.
- 27 Decareau RV. Chapter one: History of the microwave oven. In: Microwave foods: new product development. Trumbull Food Nutr. Press. 1992.
- 28 Ball GFM. *Vitamins In Foods: Analysis, Bioavailability, and Stability*. CRC Press, 2005<https://books.google.fr/books?id=vXnLBQAAQBAJ>.
- 29 ANSES. Avis de l'Anses relatif à l'évaluation des apports en vitamines et minéraux issus de l'alimentation non enrichie, de l'alimentation enrichie et des compléments alimentaires dans la population française : estimation des apports usuels, des prévalences d'inadéquation et des risques de dépassement des limites de sécurité. Saisine n°2012-SA-0142. 2015.
- 30 La commission des communautés européennes. DIRECTIVE 2008/100/CE DE LA COMMISSION du 28 octobre 2008 modifiant la directive 90/496/CEE du Conseil relative à l'étiquetage nutritionnel des denrées alimentaires en ce qui concerne les apports journaliers recommandés, les coefficients de conversion pour le calcul de la valeur énergétique et les définitions. J. Off. L'Union Eur. 2008.

-
- 31 FAO/WHO. Vitamin and mineral requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO expert consultation. 2004.
 - 32 U. S. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: A Food Labeling Guide (14. Appendix F: Calculate the Percent Daily Value for the Appropriate Nutrients). 2013.
 - 33 Indian Council of Medical Research. Expert Group. *Nutrient Requirements and Recommended Dietary Allowances for Indians: A Report of the Expert Group of the Indian Council of Medical Research*. Indian Council of Medical Research, 2010https://books.google.fr/books?id=3O_nMQEACAAJ.
 - 34 Somsu W, Kongkachuichai R, Sungpuag P, Charoensiri R. Effects of three conventional cooking methods on vitamin C, tannin, myo-inositol phosphates contents in selected Thai vegetables. *J Food Compos Anal* 2008; **21**: 187–197.
 - 35 Petersen M. Influence of sous vide processing, steaming and boiling on vitamin retention and sensory quality in broccoli florets. *Z Für Lebensm-Unters Forsch* 1993; **197**: 375–380.
 - 36 Zhang D, Hamauzu Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chem* 2004; **88**: 503–509.
 - 37 Bethke P, Jansky S. The effects of boiling and leaching on the content of potassium and other minerals in potatoes. *J Food Sci* 2008; **73**: H80–H85.
 - 38 Osinboyejo MA, Walker LT, Ogutu S, Verghese M. Effects of microwave blanching vs. boiling water blanching on retention of selected water - soluble vitamins in turnips, foods and greens using HPLC. 2011.
 - 39 Armesto J, Gómez-Limia L, Carballo J, Martínez S. Impact of vacuum cooking and boiling, and refrigerated storage on the quality of galega kale (*Brassica oleracea* var. *acephala* cv. Galega). *LWT - Food Sci Technol* 2017; **79**: 267–277.
 - 40 George DS, Razali Z, Santhirasegaram V, Somasundram C. Effects of ultraviolet light (UV-C) and heat treatment on the quality of fresh-cut Chokanan mango and Josephine pineapple. *J Food Sci* 2015; **80**: S426–S434.
 - 41 Lima JR, Elizondo NJ, Bohuon P. Kinetics of ascorbic acid degradation and colour change in ground cashew apples treated at high temperatures (100–180 °C). *Int J Food Sci Technol* 2010; **45**: 1724–1731.
 - 42 Moreira TS, Wolever TM, Davignon J, Yada R. Influence des procédés de cuisson sur la composition nutritionnelle et la digestibilité de la pomme de terre. *Cah Nutr Diététique* 2010; **45**: S37–S43.
 - 43 Han J-S, Kozukue N, Young K-S, Lee K-R, Friedman M. Distribution of ascorbic acid in potato tubers and in home-processed and commercial potato foods. *J Agric Food Chem* 2004; **52**: 6516–6521.
-

- 44 Khraish M, McMinn W, Magee T. Quality and structural changes in starchy foods during microwave and convective drying. *Food Res Int* 2004; **37**: 497–503.
- 45 Karatas F, Kamilı F. Variations of vitamins (A, C and E) and MDA in apricots dried in IR and microwave. *J Food Eng* 2007; **78**: 662–668.
- 46 Dorofejeva K, Rakcejeva T, Galoburda R, Dukalska L, Kviesis J. Vitamin C content in Latvian cranberries dried in convective and microwave vacuum driers. *11th Int Congr Eng Food ICEF11* 2011; **1**: 433–440.
- 47 Alajaji SA, El-Adawy TA. Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods. *J Food Compos Anal* 2006; **19**: 806–812.
- 48 Hosseini H, Mahmoudzadeh M, Rezaei M, Mahmoudzadeh L, Khaksar R, Khosroshahi NK *et al.* Effect of different cooking methods on minerals, vitamins and nutritional quality indices of kutum roach (*Rutilus frisii kutum*). *Food Chem* 2014; **148**: 86–91.
- 49 Ersoy B, Özeren A. The effect of cooking methods on mineral and vitamin contents of African catfish. *Food Chem* 2009; **115**: 419–422.
- 50 Bernhardt S, Schlich E. Impact of different cooking methods on food quality: Retention of lipophilic vitamins in fresh and frozen vegetables. *Prog Bioprod Process Food Saf Sel Pap 1st Int Conf CIGR Sect VI Bioprod Process Food Saf* 2006; **77**: 327–333.
- 51 Pascual C de SCI, Massaretto IL, Kawassaki F, Barros RMC, Noldin JA, Marquez UML. Effects of parboiling, storage and cooking on the levels of tocopherols, tocotrienols and γ -oryzanol in brown rice (*Oryza sativa* L.). *Food Res Int* 2013; **50**: 676–681.
- 52 Mattila PH, Piironen VI, Uusi-Rauva EJ, Koivistoinen PE. New analytical aspects of vitamin D in foods. *Food Chem* 1996; **57**: 95–99.
- 53 Jakobsen J, Knuthsen P. Stability of vitamin D in foodstuffs during cooking. *Food Chem* 2014; **148**: 170–175.
- 54 Madsen KH, Rasmussen LB, Andersen R, Mølgaard C, Jakobsen J, Bjerrum PJ *et al.* Randomized controlled trial of the effects of vitamin D–fortified milk and bread on serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in families in Denmark during winter: the VitmaD study. *Am J Clin Nutr* 2013; **98**: 374–381.
- 55 Natri A-M, Salo P, Vikstedt T, Palssa A, Huttunen M, Kärkkäinen MU *et al.* Bread fortified with cholecalciferol increases the serum 25-hydroxyvitamin D concentration in women as effectively as a cholecalciferol supplement. *J Nutr* 2006; **136**: 123–127.
- 56 Mercali GD, Schwartz S, Marczak LDF, Tessaro IC, Sastry S. Effect of the Electric Field Frequency on Ascorbic Acid Degradation during Thermal Treatment by Ohmic Heating. *J Agric Food Chem* 2014; **62**: 5865–5870.

- 57 Mercali GD, Jaeschke DP, Tessaro IC, Marczak LDF. Study of vitamin C degradation in acerola pulp during ohmic and conventional heat treatment. *LWT - Food Sci Technol* 2012; **47**: 91–95.
- 58 Karhan M, Aksu M, Tetik N, Turhan I. Kinetic Modeling Of Anaerobic Thermal Degradation Of Ascorbic Acid In Rose Hip (*Rosa Canina* L) Pulp. *J Food Qual* 2004; **27**: 311–319.
- 59 Khandpur P, Gogate PR. Effect of novel ultrasound based processing on the nutrition quality of different fruit and vegetable juices. *Ultrason Sonochem* 2015; **27**: 125–136.
- 60 Teixeira Z, Dreiss CA, Lawrence MJ, Heenan RK, Machado D, Justo GZ *et al*. Retinyl palmitate polymeric nanocapsules as carriers of bioactives. *J Colloid Interface Sci* 2012; **382**: 36–47.
- 61 Pérez-Conesa D, García-Alonso J, García-Valverde V, Iniesta M-D, Jacob K, Sánchez-Siles LM *et al*. Changes in bioactive compounds and antioxidant activity during homogenization and thermal processing of tomato puree. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2009; **10**: 179–188.
- 62 de Souza VR, Pereira PAP, Teixeira TR, Silva TLT da, Pio R, Queiroz F. Influence of processing on the antioxidant capacity and bioactive compounds in jellies from different blackberry cultivars. *Int J Food Sci Technol* 2015; **50**: 1658–1665.
- 63 Rawson A, Tiwari BK, Patras A, Brunton N, Brennan C, Cullen PJ *et al*. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. *Food Res Int* 2011; **44**: 1168–1173.
- 64 Lima M, Heskitt B, Burianek LL, Nokes SE, Sastry SK. ASCORBIC ACID DEGRADATION KINETICS DURING CONVENTIONAL and OHMIC HEATING. *J Food Process Preserv* 1999; **23**: 421–443.
- 65 Khalil AW, Ali J, Paracha GM, Iman S, Hassan S. Effect of Heat Treatments on Some Quality Parameters of Carrot (*Daucus carota* L.) Juice. *World J Dairy Food Sci* 2015; **10**: 55–59.
- 66 Leizeron S, Shimoni E. Effect of Ultrahigh-Temperature Continuous Ohmic Heating Treatment on Fresh Orange Juice. *J Agric Food Chem* 2005; **53**: 3519–3524.
- 67 Laguerre J-C, Pascale G-W, David M, Evelyne O, Lamia A-A, Inès B-A. The impact of microwave heating of infant formula model on neo-formed contaminant formation, nutrient degradation and spore destruction. *J Food Eng* 2011; **107**: 208–213.
- 68 Rodríguez-Roque MJ, de Ancos B, Sánchez-Moreno C, Cano MP, Elez-Martínez P, Martín-Belloso O. Impact of food matrix and processing on the in vitro bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. *J Funct Foods* 2015; **14**: 33–43.
- 69 Arjmandi M, Otón M, Artés F, Artés-Hernández F, Gómez PA, Aguayo E. Microwave flow and conventional heating effects on the physicochemical properties, bioactive compounds and enzymatic activity of tomato puree. *J Sci Food Agric* 2017; **97**: 984–990.

- 70 Aka J-P, Courtois F, Louarme L, Nicolas J, Billaud C. Modelling the interactions between free phenols, L-ascorbic acid, apple polyphenoloxidase and oxygen during a thermal treatment. *Food Chem* 2013; **138**: 1289–1297.
- 71 Kaack K, Austed T. Interaction of vitamin C and flavonoids in elderberry (*Sambucus nigra* L.) during juice processing. *Plant Foods Hum Nutr* 1998; **52**: 187–198.
- 72 Lee S, Labuza T. Destruction of ascorbic acid as a function of water activity. *J Food Sci* 1975; **40**: 370–373.
- 73 Rojas AM, Gerschenson LN. Ascorbic acid destruction in aqueous model systems: an additional discussion. *J Sci Food Agric* 2001; **81**: 1433–1439.
- 74 Wilson R, Beezer AE, Mitchell JC. A kinetic study of the oxidation of L-ascorbic acid (vitamin C) in solution using an isothermal microcalorimeter. *Thermochim Acta* 1995; **264**: 27–40.
- 75 Yamauchi S, Nimura N, Kinoshita T. Stabilization of ascorbic acid aqueous solution by protamine. *Yakugaku Zasshi* 1993; **113**: 385–390.
- 76 Washko PW, Welch RW, Dhariwal KR, Wang Y, Levine M. Ascorbic acid and dehydroascorbic acid analyses in biological samples. *Anal Biochem* 1992; **204**: 1–14.
- 77 Serpen A, Gökmen V. Reversible degradation kinetics of ascorbic acid under reducing and oxidizing conditions. *Food Chem* 2007; **104**: 721–725.
- 78 Dhuique-Mayer C, Tbatou M, Carail M, Caris-Veyrat C, Dornier M, Amiot MJ. Thermal degradation of antioxidant micronutrients in citrus juice: kinetics and newly formed compounds. *J Agric Food Chem* 2007; **55**: 4209–4216.
- 79 Eison-Perchonok M, Downes T. Kinetics of ascorbic acid autoxidation as a function of dissolved oxygen concentration and temperature. *J Food Sci* 1982; **47**: 765–767.
- 80 Johnson J, Braddock R, Chen C. Kinetics of ascorbic acid loss and nonenzymatic browning in orange juice serum: experimental rate constants. *J Food Sci* 1995; **60**: 502–505.
- 81 Kennedy JF, Rivera ZS, Lloyd LL, Warner FP, Jumel K. L-Ascorbic acid stability in aseptically processed orange juice in TetraBrik cartons and the effect of oxygen. *Food Chem* 1992; **45**: 327–331.
- 82 Oey I, Verlinde P, Hendrickx M, Van Loey A. Temperature and pressure stability of L-ascorbic acid and/or [6s] 5-methyltetrahydrofolic acid: A kinetic study. *Eur Food Res Technol* 2006; **223**: 71–77.
- 83 Van den Broeck I, Ludikhuyze L, Weemaes C, Van Loey A, Hendrickx M. Kinetics for Isobaric–Isothermal Degradation of l-Ascorbic Acid. *J Agric Food Chem* 1998; **46**: 2001–2006.

- 84 Pénicaud C, Peyron S, Gontard N, Guillard V. Oxygen quantification methods and application to the determination of oxygen diffusion and solubility coefficients in food. *Food Rev Int* 2012; **28**: 113–145.
- 85 Oey I, Verlinde P, Hendrickx M, Van Loey A. Temperature and pressure stability of L-ascorbic acid and/or [6s] 5-methyltetrahydrofolic acid: A kinetic study. *Eur Food Res Technol* 2006; **223**: 71–77.
- 86 Manso MC, Oliveira FA, Oliveira JC, Frías JM. Modelling ascorbic acid thermal degradation and browning in orange juice under aerobic conditions. *Int J Food Sci Technol* 2001; **36**: 303–312.
- 87 Miller NJ, Rice-Evans CA. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chem* 1997; **60**: 331–337.
- 88 Polydera A, Stoforos N, Taoukis P. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurised and high pressure processed reconstituted orange juice. *J Food Eng* 2003; **60**: 21–29.
- 89 Burdurlu HS, Koca N, Karadeniz F. Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *J Food Eng* 2006; **74**: 211–216.
- 90 Vieira MC, Teixeira A, Silva C. Mathematical modeling of the thermal degradation kinetics of vitamin C in cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) nectar. *J Food Eng* 2000; **43**: 1–7.
- 91 Saguy I, Kopelman I, Mizrahi S. Simulation of ascorbic acid stability during heat processing and concentration of grapefruit juice. *J Food Process Eng* 1978; **2**: 213–225.
- 92 Dios Alvarado J de, Palacios Viteri N. Efecto de la temperatura sobre la degradacion aerobica de vitamina C en jugos de frutas citricas. *Arch Latinoam Nutr* 1989; **39**: 601–12.
- 93 Giannakourou M, Taoukis P. Kinetic modelling of vitamin C loss in frozen green vegetables under variable storage conditions. *Food Chem* 2003; **83**: 33–41.
- 94 Cruz RMS, Vieira MC, Silva CLM. Effect of heat and thermosonication treatments on watercress (*Nasturtium officinale*) vitamin C degradation kinetics. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2008; **9**: 483–488.
- 95 Kun L, Zhoumin L, Zhongxin Y, Jiaqi Z, Wenyue J, Xingang L. Degradation kinetics of vitamin C in Chinese jujube during drying process. *IEEE*, 2011, pp 784–788.
- 96 Uddin M, Hawlader M, Ding L, Mujumdar A. Degradation of ascorbic acid in dried guava during storage. *J Food Eng* 2002; **51**: 21–26.
- 97 Gonçalves EM, Abreu M, Brandao TR, Silva CL. Degradation kinetics of colour, vitamin C and drip loss in frozen broccoli (*Brassica oleracea* L. ssp. *Italica*) during storage at isothermal and non-isothermal conditions. *Int J Refrig* 2011; **34**: 2136–2144.

- 98 Gamboa-Santos J, Megías-Pérez R, Soria AC, Olano A, Montilla A, Villamiel M. Impact of processing conditions on the kinetic of vitamin C degradation and 2-furoylmethyl amino acid formation in dried strawberries. *Food Chem* 2014; **153**: 164–170.
- 99 Vikram VB, Ramesh MN, Prapulla SG. Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. *J Food Eng* 2005; **69**: 31–40.
- 100 Hiwilepo-van Hal P, Bosschaart C, van Twisk C, Verkerk R, Dekker M. Kinetics of thermal degradation of vitamin C in marula fruit (*Sclerocarya birrea* subsp. *caffra*) as compared to other selected tropical fruits. *LWT-Food Sci Technol* 2012; **49**: 188–191.
- 101 Kucukkolbasi S, Bilber O, Ayyildiz HF, Kara H. Simultaneous and accurate determination of water- and fat-soluble vitamins in multivitamin tablets by using an RP-HPLC method. *Quím Nova* 2013; **36**: 1044–1051.
- 102 Bineesh NP, Singhal RS, Pandit AB. A study on degradation kinetics of ascorbic acid in drumstick (*Moringa olifera*) leaves during cooking. *J Sci Food Agric* 2005; **85**: 1953–1958.
- 103 Montaña A, Casado FJ, Rejano L, Sánchez AH, de Castro A. Degradation Kinetics of the Antioxidant Additive Ascorbic Acid in Packed Table Olives during Storage at Different Temperatures. *J Agric Food Chem* 2006; **54**: 2206–2210.
- 104 Singh RP, Heldman DR, Kirk JR. Kinetics of Quality Degradation: Ascorbic Acid Oxidation in Infant Formula during Storage. *J Food Sci* 1976; **41**: 304–308.
- 105 Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 1999; **26**: 1231–1237.
- 106 Benzie IF, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; **239**: 70–76.
- 107 Onofri A. Routine statistical analyses of field experiments by using an Excel extension. 2007, pp 20–22.
- 108 Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins Byrne D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Biodivers Nutr Common PathBiodiversity Nutr Common Path* 2006; **19**: 669–675.
- 109 Giannakourou MC, Taoukis PS. Kinetic modelling of vitamin C loss in frozen green vegetables under variable storage conditions. *Food Chem* 2003; **83**: 33–41.
- 110 Gabriel AA, Usero JMCL, Rodriguez KJ, Diaz AR, Tiangson-Bayaga CLP. Estimation of ascorbic acid reduction in heated simulated fruit juice systems using predictive model equations. *LWT - Food Sci Technol* 2015; **64**: 1163–1170.
- 111 Gliemmo MF, Latorre ME, Gerschenson LN, Campos CA. Color stability of pumpkin (*Cucurbita moschata*, Duchesne ex Poiret) puree during storage at room temperature: Effect

- of pH, potassium sorbate, ascorbic acid and packaging material. *LWT - Food Sci Technol* 2009; **42**: 196–201.
- 112 Golubitskii GB, Budko EV, Basova EM, Kostarnoi AV, Ivanov VM. Stability of ascorbic acid in aqueous and aqueous-organic solutions for quantitative determination. *J Anal Chem* 2007; **62**: 742–747.
- 113 Rucker RB, Steinberg FM, Johnston CS. Ascorbic Acid. In: *Handbook of Vitamins, Fourth Edition*. CRC Press, 2007<http://dx.doi.org/10.1201/9781420005806.ch15> (accessed 19 Aug2016).
- 114 Packer L. *Vitamin C in Health and Disease*. Taylor & Francis, 1997<https://books.google.fr/books?id=4nODCOzu2n8C>.
- 115 Harel S. Oxidation of ascorbic acid and metal ions as affected by NaCl. *J Agric Food Chem* 1994; **42**: 2402–2406.
- 116 Hernández-Ledesma B, Amigo L, Recio I, Bartolomé B. ACE-Inhibitory and Radical-Scavenging Activity of Peptides Derived from β -Lactoglobulin f(19–25). Interactions with Ascorbic Acid. *J Agric Food Chem* 2007; **55**: 3392–3397.
- 117 Pischetsrieder M. Reaction of l-Ascorbic Acid with l-Arginine Derivatives. *J Agric Food Chem* 1996; **44**: 2081–2085.
- 118 Landete JM. Dietary Intake of Natural Antioxidants: Vitamins and Polyphenols. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2013; **53**: 706–721.
- 119 Champagne CP, Fustier P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Plant Biotechnol Food Biotechnol* 2007; **18**: 184–190.
- 120 McClements DJ, Decker EA, Park Y, Weiss J. Structural Design Principles for Delivery of Bioactive Components in Nutraceuticals and Functional Foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2009; **49**: 577–606.
- 121 Zuidam NJ, Shimoni E. Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. In: *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*. Springer, 2010, pp 3–29.
- 122 Madene A, Jacquot M, Scher J, Desobry S. Flavour encapsulation and controlled release—a review. *Int J Food Sci Technol* 2006; **41**: 1–21.
- 123 Wandrey C, Bartkowiak A, Harding SE. Materials for encapsulation. In: *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*. Springer, 2010, pp 31–100.
- 124 Desai KGH, Jin Park H. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Dry Technol* 2005; **23**: 1361–1394.
- 125 Chen L, Remondetto GE, Subirade M. Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. *Funct Complex Foods First Int Symp Deliv Funct Complex Food Syst* 2006; **17**: 272–283.

- 126 Krishnan S, Kshirsagar AC, Singhal RS. The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. *Carbohydr Polym* 2005; **62**: 309–315.
- 127 Kolanowski W, Laufenberg G, Kunz B. Fish oil stabilisation by microencapsulation with modified cellulose. *Int J Food Sci Nutr* 2004; **55**: 333–343.
- 128 Komaiko J, Sastrosubroto A, McClements DJ. Encapsulation of ω -3 fatty acids in nanoemulsion-based delivery systems fabricated from natural emulsifiers: Sunflower phospholipids. *Food Chem* 2016; **203**: 331–339.
- 129 de Vos P, Faas MM, Spasojevic M, Sikkema J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *USIreland Funct Foods Conf Optim Gut Funct Microbiota* 2010; **20**: 292–302.
- 130 Kuang SS, Oliveira JC, Crean AM. Microencapsulation as a tool for incorporating bioactive ingredients into food. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2010; **50**: 951–968.
- 131 Guignon B, Duquenoy A, Dumoulin ED. Fluid bed encapsulation of particles: principles and practice. *Dry Technol* 2002; **20**: 419–447.
- 132 Dewettinck K, Huyghebaert A. Fluidized bed coating in food technology. *Trends Food Sci Technol* 1999; **10**: 163–168.
- 133 DeZarn TJ. Food ingredient encapsulation. ACS Publications, 1995.
- 134 Coronel-Aguilera CP, San Martín-González MF. Encapsulation of spray dried β -carotene emulsion by fluidized bed coating technology. *LWT-Food Sci Technol* 2015; **62**: 187–193.
- 135 Friberg S, Larsson K, Sjoblom J. *Food emulsions*. CRC Press, 2003.
- 136 McClements D. Food emulsions in practice. *Food Emuls Principles Pract Tech CRC Press Boca Raton* 2005; : 515–543.
- 137 Appelqvist IA, Golding M, Vreeker R, Zuidam NJ. Emulsions as delivery systems in foods. *Encapsulation Control Release Technol Food Syst* 2007; : 41–81.
- 138 Bou R, Cofrades S, Jiménez-Colmenero F. Physicochemical properties and riboflavin encapsulation in double emulsions with different lipid sources. *LWT - Food Sci Technol* 2014; **59**: 621–628.
- 139 Khalid N, Kobayashi I, Neves MA, Uemura K, Nakajima M, Nabetani H. Monodisperse W/O/W emulsions encapsulating l-ascorbic acid: Insights on their formulation using microchannel emulsification and stability studies. *Colloids Surf Physicochem Eng Asp* 2014; **458**: 69–77.
- 140 Khalid N, Kobayashi I, Neves MA, Uemura K, Nakajima M. Preparation and characterization of water-in-oil emulsions loaded with high concentration of l-ascorbic acid. *LWT-Food Sci Technol* 2013; **51**: 448–454.

- 141 Ziani K, Fang Y, McClements DJ. Encapsulation of functional lipophilic components in surfactant-based colloidal delivery systems: Vitamin E, vitamin D, and lemon oil. *Food Chem* 2012; **134**: 1106–1112.
- 142 Guterres SS, Alves MP, Pohlmann AR. Polymeric Nanoparticles, Nanospheres and Nanocapsules, for Cutaneous Applications. *Drug Target Insights* 2007; **2**: 147–157.
- 143 Renard D, Robert P, Lavenant L, Melcion D, Popineau Y, Guéguen J *et al.* Biopolymeric colloidal carriers for encapsulation or controlled release applications. *Int J Pharm* 2002; **242**: 163–166.
- 144 Comunian TA, Thomazini M, Alves AJG, de Matos Junior FE, de Carvalho Balieiro JC, Favaro-Trindade CS. Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release. *Food Res Int* 2013; **52**: 373–379.
- 145 Chang D, Abbas S, Hayat K, Xia S, Zhang X, Xie M *et al.* Encapsulation of ascorbic acid in amorphous maltodextrin employing extrusion as affected by matrix/core ratio and water content. *Int J Food Sci Technol* 2010; **45**: 1895–1901.
- 146 Barbosa-Cánovas GV, Ortega-Rivas E, Juliano P, Yan H. *Food powders: physical properties, processing, and functionality*. Springer Science & Business Media, 2006.
- 147 Gharsallaoui A, Roudaut G, Chambin O, Voilley A, Saurel R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res Int* 2007; **40**: 1107–1121.
- 148 Nesterenko A, Alric I, Silvestre F, Durrieu V. Comparative study of encapsulation of vitamins with native and modified soy protein. *Food Hydrocoll* 2014; **38**: 172–179.
- 149 Pereira HVR, Saraiva KP, Carvalho LMJ, Andrade LR, Pedrosa C, Pierucci APTR. Legumes seeds protein isolates in the production of ascorbic acid microparticles. *Food Res Int* 2009; **42**: 115–121.
- 150 Esposito E, Cervellati F, Menegatti E, Nastruzzi C, Cortesi R. Spray dried Eudragit microparticles as encapsulation devices for vitamin C. *Int J Pharm* 2002; **242**: 329–334.
- 151 Liu W, Wu WD, Selomulya C, Chen XD. On designing particulate carriers for encapsulation and controlled release applications. *Powder Technol* 2013; **236**: 188–196.
- 152 Masters K. Applications in the food industry. *Spray Dry Handb* 1991; : 587–638.
- 153 Shiga H, Yoshii H, Nishiyama T, Furuta T, Forssele P, Poutanen K *et al.* Flavor encapsulation and release characteristics of spray-dried powder by the blended encapsulant of cyclodextrin and gum arabic. *Dry Technol* 2001; **19**: 1385–1395.
- 154 Desobry SA, Netto FM, Labuza TP. Comparison of Spray-drying, Drum-drying and Freeze-drying for β -Carotene Encapsulation and Preservation. *J Food Sci* 1997; **62**: 1158–1162.
- 155 Rodríguez-Hernández GR, González-García R, Grajales-Lagunes A, Ruiz-Cabrera* MA, Abud-Archila M. Spray-Drying of Cactus Pear Juice (*Opuntia streptacantha*): Effect on the

- Physicochemical Properties of Powder and Reconstituted Product. *Dry Technol* 2005; **23**: 955–973.
- 156 Borrmann D, Pierucci APTR, Leite SGF, Leão MHM da R. Microencapsulation of passion fruit (*Passiflora*) juice with n-octenylsuccinate-derivatised starch using spray-drying. *Food Bioprod Process* 2013; **91**: 23–27.
- 157 Santana AA, Oliveira RA de, Kurozawa LE, Park KJ. Microencapsulation of pequi pulp by spray drying: use of modified starches as encapsulating agent. *Eng Agríc* 2014; **34**: 980–991.
- 158 Gonçalves A, Estevinho BN, Rocha F. Design and characterization of controlled-release vitamin A microparticles prepared by a spray-drying process. *Powder Technol* 2017; **305**: 411–417.
- 159 Esposito E, Cervellati F, Menegatti E, Nastruzzi C, Cortesi R. Spray dried Eudragit microparticles as encapsulation devices for vitamin C. *Int J Pharm* 2002; **242**: 329–334.
- 160 Estevinho BN, Carlan I, Blaga A, Rocha F. Soluble vitamins (vitamin B12 and vitamin C) microencapsulated with different biopolymers by a spray drying process. *Powder Technol* 2016; **289**: 71–78.
- 161 Guzman C, Catano C, Gallardo C. Development and characterization of folic acid microparticles formed by spray-drying with gum arabic and maltodextrin. *Vitae* 2009; **16**: 55–65.
- 162 Al-Ismail K, El-Dijani L, Al-Khatib H, Saleh M. Effect of Microencapsulation of Vitamin C with Gum Arabic, Whey Protein Isolate and some Blends on its Stability. 2016.
- 163 Bastos D da S, Gonçalves M do P, Andrade CT de, Araújo KG de L, Rocha Leão MHM da. Microencapsulation of cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) juice using a new chitosan–commercial bovine whey protein isolate system in spray drying. *Food Bioprod Process* 2012; **90**: 683–692.
- 164 Relkin P, Shukat R, Peyronel F, Meneau F. Spray Dried Protein-Stabilized Emulsions as Vitamin Matrix Carriers: Contribution of Protein Aggregates and Lipid Nano- and Micro-Structures to Vitamin Long-Term Protection. *Food Biophys* 2014; **9**: 389–395.
- 165 Guadarrama-Lezama AY, Dorantes-Alvarez L, Jaramillo-Flores ME, Pérez-Alonso C, Niranjan K, Gutiérrez-López GF *et al.* Preparation and characterization of non-aqueous extracts from chilli (*Capsicum annuum* L.) and their microencapsulates obtained by spray-drying. *J Food Eng* 2012; **112**: 29–37.
- 166 Panyoyai N, Bannikova A, Small DM, Shanks RA, Kasapis S. Diffusion of nicotinic acid in spray-dried capsules of whey protein isolate. *Food Hydrocoll* 2016; **52**: 811–819.
- 167 Desai K, Park HJ. Encapsulation of vitamin C in tripolyphosphate cross-linked chitosan microspheres by spray drying. *J Microencapsul* 2005; **22**: 179–192.

-
- 168 Saénz C, Tapia S, Chávez J, Robert P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chem* 2009; **114**: 616–622.
- 169 Fuchs M, Turchiuli C, Bohin M, Cuvelier ME, Ordonnaud C, Peyrat-Maillard MN *et al.* Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *J Food Eng* 2006; **75**: 27–35.
- 170 Bringas-Lantigua M, Exposito-Molina I, Reineccius GA, Lopez-Hernandez O, Pino JA. Influence of spray-dryer air temperatures on encapsulated mandarin oil. *Dry Technol* 2011; **29**: 520–526.
- 171 Shi Q, Fang Z, Bhandari B. Effect of addition of whey protein isolate on spray-drying behavior of honey with maltodextrin as a carrier material. *Dry Technol* 2013; **31**: 1681–1692.
- 172 Huynh TV, Caffin N, Dykes GA, Bhandari B. Optimization of the microencapsulation of lemon myrtle oil using response surface methodology. *Dry Technol* 2008; **26**: 357–368.
- 173 Trindade M, Grosso C. The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gum arabic. *J Microencapsul* 2000; **17**: 169–176.
- 174 Gouin S, The Government of the Hong Kong Special Administrative Region. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends Food Sci Technol* 2004; **15**: 330–347.
- 175 Kjaergaard OG. Multiple-core encapsulation: Prilling. *Microencapsul Food Ingrid Leatherhead Publ Surrey* 2001; : 197–214.
- 176 Uhlemann J, Schleifenbaum B, Bertram H-J. Flavor encapsulation technologies: an overview including recent developments. *Perfum Flavorist* 2002; **27**: 52–61.
- 177 Porzio MA. Flavor delivery and product development. *Food Technol* 2007.
- 178 Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *Int Dairy J* 2003; **13**: 3–13.
- 179 Kaushik V, Roos YH. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic–sucrose–gelatin systems. *LWT - Food Sci Technol* 2007; **40**: 1381–1391.
- 180 Zuidam N, Van Winden E, De Vruhe R, Crommelin D. Stability, storage, and sterilization of liposomes. *Liposomes Oxf Univ Press Oxf* 2003; : 149–165.
- 181 Lorin A, Flore C, Thomas A, Brasseur R. Les liposomes: description, fabrication et applications. *Biotechnol Agron Société Environ* 2004; **8**: 163–176.
- 182 da Silva Malheiros P, Daroit DJ, Brandelli A. Food applications of liposome-encapsulated antimicrobial peptides. *Trends Food Sci Technol* 2010; **21**: 284–292.
- 183 Jesorka A, Orwar O. Liposomes: technologies and analytical applications. *Annu Rev Anal Chem* 2008; **1**: 801–832.
-

- 184 Akbarzadeh A, Rezaei-Sadabady R, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifepour Y *et al.* Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res Lett* 2013; **8**: 102.
- 185 Wechtersbach L, Poklar Ulrih N, Cigić B. Liposomal stabilization of ascorbic acid in model systems and in food matrices. *LWT - Food Sci Technol* 2012; **45**: 43–49.
- 186 Acosta E. Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 2009; **14**: 3–15.
- 187 Marano F, Guadagnini R. Les nanoparticules dans l'alimentation : quels risques pour le consommateur ? *Toxicologie* 2013; **48**: 142–150.
- 188 Stevanović M, Savić J, Jordović B, Uskoković D. Fabrication, in vitro degradation and the release behaviours of poly (DL-lactide-co-glycolide) nanospheres containing ascorbic acid. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2007; **59**: 215–223.
- 189 Cho Y, Kim JT, Park HJ. Size-controlled self-aggregated N-acyl chitosan nanoparticles as a vitamin C carrier. *Carbohydr Polym* 2012; **88**: 1087–1092.
- 190 Yoksan R, Jirawutthiwongchai J, Arpo K. Encapsulation of ascorbyl palmitate in chitosan nanoparticles by oil-in-water emulsion and ionic gelation processes. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2010; **76**: 292–297.
- 191 Jang K-I, Lee HG. Stability of chitosan nanoparticles for L-ascorbic acid during heat treatment in aqueous solution. *J Agric Food Chem* 2008; **56**: 1936–1941.
- 192 Alishahi A, Mirvaghefi A, Tehrani M, Farahmand H, Shojaosadati S, Dorkoosh F *et al.* Shelf life and delivery enhancement of vitamin C using chitosan nanoparticles. *Food Chem* 2011; **126**: 935–940.
- 193 Hedges AR. Industrial Applications of Cyclodextrins. *Chem Rev* 1998; **98**: 2035–2044.
- 194 Szenté L, Szejtli J. Cyclodextrins as food ingredients. *Trends Food Sci Technol* 2004; **15**: 137–142.
- 195 Mishra M. *Handbook of Encapsulation and Controlled Release*. CRC Press, 2015 <https://books.google.fr/books?id=pY7wCgAAQBAJ>.
- 196 Vilanova N, Solans C. Vitamin A Palmitate- β -cyclodextrin inclusion complexes: Characterization, protection and emulsification properties. *Food Chem* 2015; **175**: 529–535.
- 197 Shi J, Maguer ML. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2000; **40**: 1–42.
- 198 Hedren E, Diaz V, Svanberg U. Original Communications-Estimation of carotenoid accessibility from carrots determined by an in vitro digestion method. *Eur J Clin Nutr* 2002; **56**: 425–430.
- 199 Boyer J, Brown D, Liu RH. Uptake of quercetin and quercetin 3-glucoside from whole onion and apple peel extracts by Caco-2 cell monolayers. *J Agric Food Chem* 2004; **52**: 7172–7179.

-
- 200 Zuidam NJ, Shimoni E. Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. In: *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*. Springer, 2010, pp 3–29.
- 201 Charve J, Reineccius GA. Encapsulation performance of proteins and traditional materials for spray dried flavors. *J Agric Food Chem* 2009; **57**: 2486–2492.
- 202 Tonon RV, Pedro RB, Grosso CR, Hubinger MD. Microencapsulation of flaxseed oil by spray drying: Effect of oil load and type of wall material. *Dry Technol* 2012; **30**: 1491–1501.
- 203 Janaswamy S. Encapsulation altered starch digestion: Toward developing starch-based delivery systems. *Carbohydr Polym* 2014; **101**: 600–605.
- 204 Shaikh J, Bhosale R, Singhal R. Microencapsulation of black pepper oleoresin. *Food Chem* 2006; **94**: 105–110.
- 205 Raja K, Sankarikutty B, Sreekumar M, Jayalekshmy A, Narayanan C. Material characterization studies of maltodextrin samples for the use of wall material. *Starch-Stärke* 1989; **41**: 298–303.
- 206 Coffey DG, Bell DA, Henderson A, Stephen A, Phillips G, Willimas P. Cellulose and cellulose derivatives. *Food Polysacch Their Appl* 2006; : 147–180.
- 207 Heitfeld KA, Guo T, Yang G, Schaefer DW. Temperature responsive hydroxypropyl cellulose for encapsulation. *Proc Adv Process Biomater Symp Mater Sci Technol Conf Exhib* 2008; **28**: 374–379.
- 208 Zheng L, Ding Z, Zhang M, Sun J. Microencapsulation of bayberry polyphenols by ethyl cellulose: Preparation and characterization. *J Food Eng* 2011; **104**: 89–95.
- 209 Krishnan S, Kshirsagar AC, Singhal RS. The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. *Carbohydr Polym* 2005; **62**: 309–315.
- 210 Dabouineau L. Un autre regard sur les algues marines. *Râ D'' Eau* 2004; **118**: 1–4.
- 211 Luo Y, Teng Z, Wang Q. Development of zein nanoparticles coated with carboxymethyl chitosan for encapsulation and controlled release of vitamin D3. *J Agric Food Chem* 2012; **60**: 836–843.
- 212 Chen L, Remondetto GE, Subirade M. Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. *Funct Complex FoodsFirst Int Symp Deliv Funct Complex Food Syst* 2006; **17**: 272–283.
- 213 MacRitchie F, Du Cros D, Wrigley C. Flour polypeptides related to wheat quality. *Adv Cereal Sci Technol USA* 1990.
- 214 Kasarda DD. Glutenin structure in relation to wheat quality. *Wheat Unique* 1989; : 277–302.
-

- 215 Liao L, Luo Y, Zhao M, Wang Q. Preparation and characterization of succinic acid deamidated wheat gluten microspheres for encapsulation of fish oil. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2012; **92**: 305–314.
- 216 Landy P, Druaux C, Voilley A. Retention of aroma compounds by proteins in aqueous solution. *Food Chem* 1995; **54**: 387–392.
- 217 Holt C. Structure and stability of bovine casein micelles. *Adv Protein Chem* 1992; **43**: 63–151.
- 218 Vega C, Kim E-H-J, Chen XD, Roos YH. Solid-state characterization of spray-dried ice cream mixes. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2005; **45**: 66–75.
- 219 Chen L, Remondetto GE, Subirade M. Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. *Trends Food Sci Technol* 2006; **17**: 272–283.
- 220 Foegeding EA. Food biophysics of protein gels: a challenge of nano and macroscopic proportions. *Food Biophys* 2006; **1**: 41–50.
- 221 Graveland-Bikker J, De Kruif C. Unique milk protein based nanotubes: food and nanotechnology meet. *Trends Food Sci Technol* 2006; **17**: 196–203.
- 222 Millqvist-Fureby A, Elofsson U, Bergenståhl B. Surface composition of spray-dried milk protein-stabilised emulsions in relation to pre-heat treatment of proteins. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2001; **21**: 47–58.
- 223 Rosenberg M, Sheu T. Microencapsulation of volatiles by spray-drying in whey protein-based wall systems. *Int Dairy J* 1996; **6**: 273–284.
- 224 Young S, Sarda X, Rosenberg M. Microencapsulating properties of whey proteins. 1. Microencapsulation of anhydrous milk fat. *J Dairy Sci* 1993; **76**: 2868–2877.
- 225 Nishinari K, Yamatoya K, Shirakawa M, Phillips G, Williams P. Handbook of hydrocolloids. *Woodhead Publ Camb UK* 2000; : 247–267.
- 226 Chaplin MF. The memory of water: an overview. *Homeopathy* 2007; **96**: 143–150.
- 227 Gómez-Estaca J, Gavara R, Hernández-Muñoz P. Encapsulation of curcumin in electrosprayed gelatin microspheres enhances its bioaccessibility and widens its uses in food applications. *Appl PEF FOOD Process* 2015; **29**: 302–307.
- 228 Li R, Roos YH, Miao S. Characterization of mechanical and encapsulation properties of lactose/maltodextrin/WPI matrix. *Food Hydrocoll* 2017; **63**: 149–159.
- 229 Le Meste M, Champion D, Roudaut G, Blond G, Simatos D. Glass transition and food technology: a critical appraisal. *J Food Sci* 2002; **67**: 2444–2458.
- 230 Nelson K, Labuza T. Water activity and food polymer science: implications of state on Arrhenius and WLF models in predicting shelf life. *J Food Eng* 1994; **22**: 271–289.

-
- 231 Rahman MS. Food stability determination by macro–micro region concept in the state diagram and by defining a critical temperature. *J Food Eng* 2010; **99**: 402–416.
- 232 Liu Y, Bhandari B, Zhou W. Glass transition and enthalpy relaxation of amorphous food saccharides: a review. *J Agric Food Chem* 2006; **54**: 5701–5717.
- 233 Schuck P, Jeantet R, Dolivet A. *Analytical methods for food and dairy powders*. John Wiley & Sons, 2012.
- 234 Singh J, Kaur L, McCarthy OJ. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications—A review. *Food Hydrocoll* 2007; **21**: 1–22.
- 235 Brignier N. Optimisation du procédé de séchage par atomisation de produits laitiers. LIBio (Laboratoire d'Ingénierie des Biomolécules), 2014.
- 236 Measurement Solutions - Mesure de l'humidité, température, CO2 et pression différentielle - rotronic sarl France. <https://www.rotronic.com/fr-fr/> (accessed 22 Feb2017).
- 237 Roos YH. Importance of glass transition and water activity to spray drying and stability of dairy powders. *Le Lait* 2002; **82**: 475–484.
- 238 Schuck P. Modifications des propriétés fonctionnelles des poudres de protéines laitières: Impact de la concentration et du séchage. 2011.
- 239 Kanno C, Shimomura Y, Takano E. Physicochemical properties of milk fat emulsions stabilized with bovine milk fat globule membrane. *J Food Sci* 1991; **56**: 1219–1223.
- 240 Tonon RV, Brabet C, Hubinger MD. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. *J Food Eng* 2008; **88**: 411–418.
- 241 Guerin J, Petit J, Burgain J, Borges F, Bhandari B, Perroud C *et al.* Lactobacillus rhamnosus GG encapsulation by spray-drying: Milk proteins clotting control to produce innovative matrices. *J Food Eng* 2017; **193**: 10–19.
- 242 Alamilla-Beltrán L, Chanona-Pérez JJ, Jiménez-Aparicio AR, Gutiérrez-López GF. Description of morphological changes of particles along spray drying. *IV Iberoam Congr Food Eng CIBIA IV* 2005; **67**: 179–184.
- 243 Gaiani C, Morand M, Sanchez C, Tehrany EA, Jacquot M, Schuck P *et al.* How surface composition of high milk proteins powders is influenced by spray-drying temperature. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2010; **75**: 377–384.
- 244 Fang Y, Selomulya C, Chen X. On measurement of food powder reconstitution properties. *Dry Technol* 2007; **26**: 3–14.
- 245 Abbas S, Da Wei C, Hayat K, Xiaoming Z. Ascorbic Acid: Microencapsulation Techniques and Trends—A Review. *Food Rev Int* 2012; **28**: 343–374.
-

- 246 Ortwerth B, Olesen P. Ascorbic acid-induced crosslinking of lens proteins: evidence supporting a Maillard reaction. *Biochim Biophys Acta BBA-Protein Struct Mol Enzymol* 1988; **956**: 10–22.
- 247 Sawamura M, Takemoto K, Li Z-F. ¹⁴C studies on browning of dehydroascorbic acid in an aqueous solution. *J Agric Food Chem USA* 1991.
- 248 Tukamoto T, Ozeki S, Hattori F, Ishida T. Drug interactions. I. Binding of ascorbic acid and fatty acid ascorbyl esters to bovine serum albumin. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1974; **22**: 385–389.
- 249 Arena S, Renzone G, D'Ambrosio C, Salzano AM, Scaloni A. Dairy products and the Maillard reaction: A promising future for extensive food characterization by integrated proteomics studies. *Food Chem* 2017; **219**: 477–489.
- 250 Dai-Dong J, Novak G, Hardy J. Stabilisation de la vitamine C par la bêta-lactoglobuline lors du traitement thermique. *Sci Aliments* 1990; **10**: 393–401.
- 251 Janjarasskul T, Min SC, Krochta JM. Storage stability of ascorbic acid incorporated in edible whey protein films. *J Agric Food Chem* 2011; **59**: 12428–12432.
- 252 Van Boekel M. Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food Chem* 1998; **62**: 403–414.
- 253 Yu A-N, Zhou Y-Y, Yang Y-N. Kinetics of browning and correlations between browning degree and pyrazine compounds in l-ascorbic acid/acidic amino acid model systems. *Food Chem* 2017; **221**: 1678–1684.
- 254 Nursten HE. *The Maillard reaction: chemistry, biochemistry, and implications*. Royal Society of Chemistry, 2005.
- 255 Hodge JE. Dehydrated foods. Chemistry of browning reactions in model systems. *J Agric Food Chem* 1953; **1**: 928–943.
- 256 Henle T, Walter H, Klostermeyer H. Evaluation of the extent of the early Maillard-reaction in milk products by direct measurement of the Amadori-product lactuloselysine. *Z Für Leb - Forsch A* 1991; **193**: 119–122.
- 257 Arena S, Salzano AM, Renzone G, D'Ambrosio C, Scaloni A. Non-enzymatic glycation and glycooxidation protein products in foods and diseases: An interconnected, complex scenario fully open to innovative proteomic studies. *Mass Spectrom Rev* 2014; **33**: 49–77.
- 258 Henle T. Protein-bound advanced glycation endproducts (AGEs) as bioactive amino acid derivatives in foods. *Amino Acids* 2005; **29**: 313–322.
- 259 Otsuka M, Kurata T, Arakawa N. Isolation and Characterization of an Intermediate Product in the Degradation of 2,3-Diketo-l-gulonic Acid. *Agric Biol Chem* 1986; **50**: 531–533.

-
- 260 Hayashi T, Namiki M, Tsuji K. Formation mechanism of the free radical product and its precursor by the reaction of dehydro-L-ascorbic acid with amino acid. *Agric Biol Chem* 1983; **47**: 1955–1960.
- 261 Liao M-L, Seib PA. Chemistry of L-ascorbic acid related to foods. *Food Chem* 1988; **30**: 289–312.
- 262 Adams A, De Kimpe N. Formation of pyrazines from ascorbic acid and amino acids under dry-roasting conditions. *Food Chem* 2009; **115**: 1417–1423.
- 263 Obretenov C, Demyttenaere J, Tehrani KA, Adams A, Keršiene M, De Kimpe N. Flavor release in the presence of melanoidins prepared from L-(+)-ascorbic acid and amino acids. *J Agric Food Chem* 2002; **50**: 4244–4250.
- 264 Pischetsrieder M. Reaction of L-ascorbic acid with L-arginine derivatives. *J Agric Food Chem* 1996; **44**: 2081–2085.
- 265 Rogacheva SM, Kuntcheva MJ, Panchev IN, Obretenov TD. L-Ascorbic acid in nonenzymatic reactions. *Z Für Leb -Forsch A* 1995; **200**: 52–58.
- 266 Yu A-N, Tan Z-W, Wang F-S. Mechanistic studies on the formation of pyrazines by Maillard reaction between L-ascorbic acid and L-glutamic acid. *LWT-Food Sci Technol* 2013; **50**: 64–71.
- 267 Yu A-N, Tan Z-W, Wang F-S. Mechanism of formation of sulphur aroma compounds from L-ascorbic acid and L-cysteine during the Maillard reaction. *Food Chem* 2012; **132**: 1316–1323.
- 268 Yu A-N, Deng Q-H. Volatiles from the Maillard reaction of L-ascorbic acid and L-alanine at different pHs. *Food Sci Biotechnol* 2009; **18**: 1495–1499.
- 269 Yu A-N, Zhang A-D. Aroma compounds generated from thermal reaction of L-ascorbic acid with L-cysteine. *Food Chem* 2010; **121**: 1060–1065.
- 270 Li Y, Yang Y, Yu A. Effects of reaction parameters on generation of volatile compounds from the Maillard reaction between L-ascorbic acid and glycine. *Int J Food Sci Technol* 2016; **51**: 1349–1359.
- 271 Feather MS. Dicarbonyl sugar derivatives and their role in the Maillard reaction. ACS Publications, 1994.
- 272 Barham P, Skibsted LH, Bredie WL, Bom Frøst M, Møller P, Risbo J *et al.* Molecular gastronomy: a new emerging scientific discipline. *Chem Rev* 2010; **110**: 2313–2365.
- 273 Cerny C, Davidek T. α -Mercaptoketone formation during the Maillard reaction of cysteine and [1-¹³C] ribose. *J Agric Food Chem* 2004; **52**: 958–961.
- 274 Rizzi GP. Role of phosphate and carboxylate ions in Maillard browning. ACS Publications, 2005.
-

- 275 Maskan M. Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. *J Food Eng* 2001; **48**: 169–175.
- 276 Guyomarc'h F, Warin F, Donald Muir D, Leaver J. Lactosylation of milk proteins during the manufacture and storage of skim milk powders. *Int Dairy J* 2000; **10**: 863–872.
- 277 Labuza TP. The effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. *Food Technol* 1980; **34**: 36–41.
- 278 Juarez-Enriquez E, Olivas G, Zamudio-Flores P, Ortega-Rivas E, Perez-Vega S, Sepulveda D. Effect of water content on the flowability of hygroscopic powders. *J Food Eng* 2017.
- 279 Chegini G, HamidiSepehr A, Dizaji MF, Mirnezami SV. Study of physical and chemical properties of spray drying whey powder. *Int J Recycl Org Waste Agric* 2014; **3**: 62.
- 280 Zhang Z, Arrighi V, Campbell L, Lonchamp J, Euston SR. Properties of partially denatured whey protein products 2: Solution flow properties. *Food Hydrocoll* 2016; **56**: 218–226.
- 281 Soottitantawat A, Bigeard F, Yoshii H, Furuta T, Ohkawara M, Linko P. Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated d-limonene by spray drying. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2005; **6**: 107–114.
- 282 Gianfrancesco A. Spray drying engineering: particle stickiness in relation with agglomeration. 2009.
- 283 Moser P, Souza RTD, Nicoletti Telis VR. Spray drying of grape juice from hybrid cv. BRS Violeta: microencapsulation of anthocyanins using protein/maltodextrin blends as drying aids. *J Food Process Preserv* 2017; **41**.
- 284 Nesterenko A, Alric I, Silvestre F, Durrieu V. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Ind Crops Prod* 2013; **42**: 469–479.
- 285 Shepherd R, Robertson A, Ofman D. Dairy glycoconjugate emulsifiers: casein–maltodextrins. *Food Hydrocoll* 2000; **14**: 281–286.
- 286 Manzocco L, Calligaris S, Mastrocola D, Nicoli MC, Lerici CR. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends Food Sci Technol* 2000; **11**: 340–346.
- 287 Martinez-Alvarenga MS, Martinez-Rodriguez EY, Garcia-Amezquita LE, Olivas GI, Zamudio-Flores PB, Acosta-Muniz CH *et al.* Effect of Maillard reaction conditions on the degree of glycation and functional properties of whey protein isolate – Maltodextrin conjugates. *Food Hydrocoll* 2014; **38**: 110–118.
- 288 Hayashi T, Terao A, Ueda S, Namiki M. Red pigment formation by the reaction of oxidized ascorbic acid and protein in a food model system of low moisture content. *Agric Biol Chem* 1985; **49**: 3139–3144.

-
- 289 Hymavathi TV, Khader V. Carotene, ascorbic acid and sugar content of vacuum dehydrated ripe mango powders stored in flexible packaging material. *J Food Compos Anal* 2005; **18**: 181–192.
- 290 Yang J, Gadi R, Paulino R, Thomson T. Total phenolics, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder as affected by illumination during storage. *Food Chem* 2010; **122**: 627–632.
- 291 Liu F, Cao X, Wang H, Liao X. Changes of tomato powder qualities during storage. *Powder Technol* 2010; **204**: 159–166.
- 292 Jeon Y-J, Vasanthan T, Temelli F, Song B-K. The suitability of barley and corn starches in their native and chemically modified forms for volatile meat flavor encapsulation. *Food Res Int* 2003; **36**: 349–355.
- 293 Brückner M, Bade M, Kunz B. Investigations into the stabilization of a volatile aroma compound using a combined emulsification and spray drying process. *Eur Food Res Technol* 2007; **226**: 137–146.
- 294 Liao M-L, Seib PA. Chemistry of L-ascorbic acid related to foods. *Food Chem* 1988; **30**: 289–312.
- 295 Kurata T, Fujimaki M, Sakurai Y. Red pigment produced by the reaction of dehydro-l-ascorbic acid with α -amino acid. *Agric Biol Chem* 1973; **37**: 1471–1477.
- 296 Yu A-N, Deng Q-H. Volatiles from the Maillard reaction of L-ascorbic acid and L-alanine at different pHs. *Food Sci Biotechnol* 2009; **18**: 1495–1499.
- 297 Pischetsrieder M. Reaction of L-ascorbic acid with L-arginine derivatives. *J Agric Food Chem* 1996; **44**: 2081–2085.
- 298 Xu H, Zhang X, Karangwa E, Xia S. Correlating enzymatic browning inhibition and antioxidant ability of Maillard reaction products derived from different amino acids. *J Sci Food Agric* 2017.

Développement de matrices alimentaires permettant de protéger des substances actives lors des traitements thermiques.

Résumé :

Les produits déshydratés permettent d'optimiser la conservation et le transport des aliments. Les poudres alimentaires distribuées au consommateur affichent des garanties nutritionnelles en termes d'apports qualitatif et quantitatif. Cependant, l'apport nutritionnel du produit après reconstitution et cuisson, n'est pas garanti.

Ce travail se concentre sur l'évaluation des pertes en vitamines dues aux procédés de transformation alimentaire en lien avec l'effet de la matrice alimentaire. Ces pertes mesurées après le traitement thermique ne sont pas négligeables, rendant l'encapsulation nécessaire pour répondre à l'objectif de la thèse de garantir une teneur en vitamines suffisante après reconstitution et traitement thermique du produit alimentaire déshydraté. Différentes matrices ont été testées à l'échelle laboratoire et industrielle. Parmi ces matrices, certaines comme les protéines laitières et l'amidon se sont avérées très intéressantes et ont permis la préservation de la vitamine C du traitement thermique. Pour finaliser l'étude, il a été indispensable de prendre en compte le stockage des poudres de la vitamine C encapsulée avant et après leur commercialisation. Pour assurer leur teneur suffisante en vitamine C lors ce stockage, un vieillissement accéléré a été effectué. Cette thèse a permis d'apporter des réponses concrètes au problème industriel posé, qui était de garantir la teneur en vitamine C des produits commercialisés après reconstitution et traitement thermique.

Mots clés : matrices, vitamines, traitement thermique, poudres alimentaires.

Development of food matrices to protect active substances during heat treatments.

Abstract :

Dehydrated products make it possible to optimize the storage and transport of food products. Food powder mixes distributed to the consumer display nutritional guarantees in terms of qualitative and quantitative inputs. However, the nutritional value of the product after reconstitution and cooking, is not guaranteed.

This PhD work focuses on the evaluation of vitamins losses due to food processing in relation to the effect of the food matrix. Losses measured after the heat treatment were not negligible, making the encapsulation necessary to meet the objective of the thesis to guarantee a sufficient vitamins content after reconstitution and heat treatment of the dehydrated food product. Different matrices have been tested at the laboratory scale and industrial scales. Some of these matrices, such as dairy proteins and starch, have proved to be very interesting and allowed the preservation of vitamin C during heat treatment. To finalize the study, it was essential to take into account that the vitamin C-encapsulating powders will be stored before and after their distribution. To ensure that they maintain a sufficient vitamin C content during storage, accelerated aging has been carried out. Thus this thesis made it possible to provide concrete answers to the posed industrial problem, which was to guarantee the vitamin C content of the commercial products after reconstitution and heat treatment.

Keywords : matrix, vitamins, heat treatment, food powders.