

VÉRONIQUE PERREULT

**EFFET DE LA COMPOSITION ET DE LA STRUCTURE DES
MATRICES ALIMENTAIRES ÉLABORÉES À PARTIR DE
PROTÉINES LAITIÈRES (ÉMULSIONS, GELS) SUR LA
LIBÉRATION D'ARÔME**

Mémoire présenté
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval
dans le cadre du programme de maîtrise en Sciences et technologie des aliments
pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

DÉPARTEMENT DE SCIENCES DES ALIMENTS ET DE NUTRITION
FACULTÉ DES SCIENCES DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

2007

RÉSUMÉ

La libération d'arôme a été étudiée à partir de produits contenant des protéines laitières. L'objectif général était de comparer l'effet, sur la libération d'arôme, de différentes microstructures d'émulsions et de gels, obtenues en modulant des paramètres de procédé. Ces derniers ont été sélectionnés pour leur incidence sur la microstructure du produit fini : la pression d'homogénéisation, la fraction d'huile à l'homogénéisation et la source de protéines dans le cas d'émulsions; le traitement thermique du lait et la gélification dans le cas de gels acides. La microstructure (taille des gouttelettes et charge protéique pour les émulsions; densité du réseau – fermeté pour les gels) a montré peu ou pas d'effet sur la libération d'arôme, même sur sa composante cinétique. Cependant, les paramètres de procédé à l'étude ont montré des effets sur la libération d'arôme, qui pourraient s'expliquer par le changement de conformation des protéines laitières associé à ces traitements.

ABSTRACT

Aroma release was studied from products containing milk proteins. The purpose of the project was to compare the effect, on aroma release, of different microstructures of emulsions and gels, obtained by modulating processing parameters. The latter were selected for their impact on the microstructure of the final product: homogenization pressure, oil fraction at homogenization and protein source in the case of emulsions; milk heating and acid-induced gelation in the case of acid gels. The microstructure (droplet size and protein load for emulsions; density of the network – firmness for gels) showed little or no effect on aroma release, even on its kinetic component. However, the studied processing parameters showed significant effects on aroma release, which could be explained by the change in the conformation of proteins associated with these treatments.

AVANT-PROPOS

Ce mémoire est composé de quatre chapitres précédés d'une introduction générale. Le premier chapitre présente une revue de littérature portant principalement sur les protéines laitières et sur le comportement des composés d'arôme dans les systèmes alimentaires. Le second chapitre présente l'hypothèse à l'origine du projet et les objectifs des travaux. Les deux chapitres suivants correspondent à des études distinctes, liées à un but commun d'étudier l'effet, sur la libération d'arôme, de différentes microstructures de modèles alimentaires laitiers, obtenues en modulant des paramètres de procédé. Ces chapitres décrivent les travaux réalisés de même que les résultats obtenus, et chacun contient une discussion des résultats et une conclusion qui lui sont propres. Une conclusion générale vient ensuite résumer les points majeurs qui se sont dégagés de l'ensemble de la démarche.

La première étude (Chapitre 3), réalisée au Centre de recherche et de développement sur les aliments (CRDA) d'Agriculture et Agroalimentaire Canada, traite de l'effet de conditions d'homogénéisation et de composantes structurales d'émulsions liquides sur la cinétique de libération d'arôme. Vu le peu de différences observées entre les traitements à l'étude, les résultats à eux seuls ne justifiaient pas la publication d'un article scientifique. Cependant, ces travaux ont contribué au développement d'une méthode pour caractériser la libération d'arôme dynamique (décrite dans ce mémoire), ce qui a été fait sous la supervision du Dr Michel Britten avec la collaboration d'Hélène Giroux. Une étude supplémentaire complétée par cette dernière a notamment permis de valider la méthode, en étudiant l'effet de la composition d'une émulsion sur la libération d'arôme, ce qui a été publié dans *Journal of Food Science* (Giroux *et al.*, 2007).

La seconde étude (Chapitre 4) traite de l'effet d'un traitement thermique du lait et de la gélification acide sur la libération d'arôme. L'effet de la structure d'un gel laitier type yogourt sur la libération d'arôme y est aussi abordé. Cette étude est en voie d'être soumise pour publication dans un journal scientifique, et je suis l'auteure principale de l'article. J'ai assumé la planification et l'exécution des travaux, de même que l'analyse des résultats et la rédaction du document. Les travaux ont été effectués au Laboratoire d'ingénierie

moléculaire et sensorielle des aliments et des produits de santé (IMSAPS) de l'École Nationale Supérieure de Biologie Appliquée à la Nutrition et à l'Alimentation (ENSBANA) – Université de Bourgogne, sous la supervision du Dr Anne-Marie Seuvre et du Dr Philippe Cayot, coauteurs de l'article. Ces derniers ont contribué à la conception des travaux, à la discussion des résultats et à la révision de l'article. Pr Andrée Voilley, directrice de laboratoire, apparaîtra aussi comme coauteure de l'article, de même que Dr Sylvie Turgeon, qui a contribué à la révision du document, et Dr Michel Britten, qui a assumé la modélisation des données, a contribué à la discussion des résultats et à la révision du document.

REMERCIEMENTS

Mes remerciements les plus sincères vont d'abord au Dr Michel Britten qui, par son ouverture, son investissement dans le projet, sa rigueur et son sens du partage, a fait grandir mon intérêt pour la recherche. Je sais avoir eu beaucoup de chance de côtoyer de près un chercheur de haut niveau, qui m'a tant appris, et aussi beaucoup inspiré. Je remercie également Dr Sylvie Turgeon pour tous les échanges que nous avons eus qui m'ont été très formateurs, pour ses commentaires et suggestions toujours si efficaces. Je suis aussi fort reconnaissante envers les Drs Britten et Turgeon qui ont fait tout le nécessaire pour que j'aie l'opportunité d'aller apprendre avec une équipe de renommée internationale dans le domaine des arômes.

Ainsi, je tiens à remercier chaleureusement Pr Andrée Voilley, directrice du Laboratoire d'ingénierie moléculaire et sensorielle des aliments et des produits de santé (IMSAPS) de l'École Nationale Supérieure de Biologie Appliquée à la Nutrition et à l'Alimentation (ENSBANA) – Université de Bourgogne, d'avoir accepté de me recevoir en stage de recherche au sein de son équipe. Je remercie également Dr Philippe Cayot et Dr Anne-Marie Seuvre de m'avoir encadrée et d'avoir contribué à la logistique qui entoure l'accueil d'un collaborateur étranger.

Je veux aussi exprimer ma reconnaissance envers Dr Jean-Christophe Vuillemard qui a accepté d'évaluer ce mémoire. De plus, dans les deux laboratoires où j'ai évolué, j'ai eu la chance de côtoyer des gens qui m'ont accueillie, m'ont encouragée et m'ont aidée. D'eux aussi, j'ai beaucoup appris. Je tiens notamment à remercier toute l'équipe du secteur laitier au Centre de recherche et de développement sur les aliments (CRDA), d'Agriculture et Agroalimentaire Canada, et particulièrement Hélène Giroux, qui m'a beaucoup appuyée dans la réalisation de mon projet. Je veux aussi remercier les doctorants du laboratoire IMSAPS qui m'ont orientée dans le laboratoire et m'ont partagé quelques trucs techniques forts utiles, particulièrement Cécile Dury, Alice Nongonierma et Guillaume Houzé.

Un stage de recherche en France d'une durée de près de 6 mois m'a été rendu possible grâce à une subvention de Valorisation-Recherche Québec (VRQ) que je tiens évidemment aussi à remercier grandement. J'exprime également ma reconnaissance envers mon employeur, l'Institut de tourisme et d'hôtellerie du Québec (ITHQ), représenté par M. Bernard Aurouze, directeur des études, et Mme Lucile Daoust, directrice générale, qui a supporté financièrement mes études de deuxième cycle.

À ceux que j'ai dû « négliger » pour réaliser ce projet parallèlement à mon travail, mes proches que j'adore, merci de m'avoir encouragée et d'avoir compris.

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|---|-----|
| RÉSUMÉ | II |
| ABSTRACT | II |
| AVANT-PROPOS..... | III |
| REMERCIEMENTS | V |
| TABLE DES MATIÈRES | VII |
| LISTE DES ILLUSTRATIONS..... | X |
| LISTE DES TABLEAUX..... | X |
| INTRODUCTION GÉNÉRALE | 1 |
| CHAPITRE 1 – REVUE DE LITTÉRATURE..... | 3 |
| 1.1. LES PROTÉINES DU LAIT | 3 |
| 1.1.1. Les caséines..... | 3 |
| 1.1.1.1. Structure micellaire..... | 3 |
| 1.1.2. Les protéines du sérum | 4 |
| 1.2. DES SYSTÈMES ALIMENTAIRES LAITIERS : ÉMULSIONS ET GELS | 5 |
| 1.2.1. Les émulsions | 5 |
| 1.2.1.1. Formation des émulsions..... | 5 |
| 1.2.1.1.1. Création de l'interface | 6 |
| 1.2.1.1.2. Formation de la membrane | 6 |
| 1.2.1.1.3. Adsorption et étalement des agents tensioactifs | 7 |
| 1.2.2. Les gels laitiers acides | 7 |
| 1.2.2.1. Fabrication du yogourt | 8 |
| 1.2.2.1.1. Traitement thermique du lait | 9 |
| 1.2.2.1.2. Acidification du milieu | 10 |
| 1.3. LES ARÔMES | 11 |
| 1.3.1. Définition..... | 11 |
| 1.3.2. Classification des composés d'arôme | 12 |
| 1.4. PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DES PETITES MOLÉCULES INTERVENANT DANS LA RÉTENTION OU LA LIBÉRATION DES COMPOSÉS D'ARÔME..... | 12 |
| 1.4.1. Paramètres thermodynamiques : partage entre les phases | 12 |
| 1.4.1.1. Volatilité et coefficient de partage vapeur-produit..... | 13 |
| 1.4.1.2. Hydrophobicité | 14 |
| 1.4.1.3. Solubilité dans l'eau..... | 15 |
| 1.4.1.4. Pression de vapeur saturante | 15 |
| 1.4.2. Paramètres cinétiques : phénomènes de transfert de matière | 15 |
| 1.4.2.1. Phénomènes de diffusion | 16 |
| 1.4.2.2. Transfert entre les phases..... | 17 |
| 1.5. LIBÉRATION D'ARÔME EN BOUCHE ET DISPOSITIFS DE MESURE ADAPTÉS | 21 |
| 1.6. ANALYSE DE L'ESPACE DE TÊTE | 21 |
| 1.6.1. Statique vs dynamique..... | 21 |
| 1.6.2. Modélisation..... | 22 |
| 1.7. INTERACTIONS DES COMPOSÉS D'ARÔME AVEC LES MACROMOLÉCULES | 23 |
| 1.7.1. Nature des liaisons impliquant les composés d'arôme..... | 23 |
| 1.7.2. Lipides et libération d'arôme | 23 |
| 1.7.2.1. Lipides et perception d'arôme | 24 |

| | |
|--|-----------|
| 1.7.3. Glucides et libération d'arôme..... | 24 |
| 1.7.4. Protéines et libération d'arôme..... | 25 |
| 1.7.4.1. Effet d'un traitement thermique..... | 26 |
| 1.7.4.2. Effet d'une variation de pH..... | 27 |
| 1.8. LIBÉRATION D'ARÔME D'UNE ÉMULSION..... | 27 |
| 1.8.1. Composition d'une émulsion et libération d'arôme..... | 27 |
| 1.8.2. Structure d'une émulsion et libération d'arôme..... | 28 |
| 1.9. LIBÉRATION D'ARÔME D'UN GEL..... | 30 |
| 1.9.1. Texture d'un gel et perception d'arôme..... | 31 |
| 1.9.2. Structure d'un gel et libération d'arôme..... | 31 |
| CHAPITRE 2 – HYPOTHÈSE GÉNÉRALE, BUT ET OBJECTIFS..... | 33 |
| 2.1. HYPOTHÈSE GÉNÉRALE..... | 33 |
| 2.2. BUT..... | 33 |
| 2.3. OBJECTIFS..... | 33 |
| CHAPITRE 3 – EFFET DES CONDITIONS D'HOMOGENÉISATION ET DE COMPOSANTES STRUCTURALES D'ÉMULSIONS LIQUIDES SUR LA CINÉTIQUE DE LIBÉRATION D'ARÔME..... | 34 |
| 3.1. RÉSUMÉ..... | 34 |
| 3.2. INTRODUCTION..... | 35 |
| 3.3. TRAVAUX PRÉLIMINAIRES..... | 36 |
| 3.3.1. Mise au point d'une méthode pour caractériser la libération d'arôme dynamique..... | 36 |
| 3.3.1.1. Montage et conditions d'analyse..... | 36 |
| 3.3.1.1.1. Montage – cellule et raccordements..... | 36 |
| 3.3.1.1.2. Conditions de température..... | 38 |
| 3.3.1.1.3. Conditions d'agitation..... | 38 |
| 3.3.1.1.4. Conditions d'opération du chromatographe..... | 40 |
| 3.3.1.2. Cueillette et traitement des données..... | 41 |
| 3.3.1.2.1. Chromatogramme obtenu : courbe de libération d'arôme..... | 41 |
| 3.3.1.2.2. Modélisation de la courbe de libération d'arôme..... | 43 |
| 3.3.2. Sélection des émulsions à l'étude..... | 45 |
| 3.4. MATÉRIEL ET MÉTHODES..... | 47 |
| 3.4.1. Matériel..... | 47 |
| 3.4.2. Préparation des matrices..... | 47 |
| 3.4.2.1. Aromatisation de l'huile..... | 48 |
| 3.4.2.2. Hydratation des poudres (j1)..... | 48 |
| 3.4.2.3. Dénaturation des protéines de lactosérum (j2)..... | 49 |
| 3.4.2.4. Filtration des solutions protéiques (j2)..... | 49 |
| 3.4.2.5. Fabrication des émulsions (j2)..... | 49 |
| 3.4.2.6. Dilution des émulsions (j2)..... | 50 |
| 3.4.2.7. Entreposage - équilibration..... | 50 |
| 3.4.2.8. Échantillonnage des solutions protéiques pour calcul des charges protéiques..... | 50 |
| 3.4.3. Méthodes et procédures d'analyse..... | 51 |
| 3.4.3.1. Libération d'arôme (profil cinétique) (j3)..... | 51 |
| 3.4.3.2. Taille des gouttelettes d'huile de l'émulsion (j3)..... | 52 |
| 3.4.3.3. Charge protéique..... | 52 |
| 3.4.3.3.1. Centrifugation des émulsions et extraction des « sousnageants »..... | 52 |

| | |
|---|----|
| 3.4.3.3.2. <i>Évaluation de la teneur en protéine des solutions</i> | 53 |
| 3.4.3.3.3. <i>Calcul de la charge protéique</i> | 53 |
| 3.4.4. <i>Plan expérimental et analyses statistiques</i> | 54 |
| 3.5. RÉSULTATS ET DISCUSSION | 55 |
| 3.5.1. <i>Propriétés physiques des émulsions</i> | 55 |
| 3.5.1.1. <i>Taille des gouttelettes d'huile</i> | 56 |
| 3.5.1.1.1. <i>Effet de la fraction d'huile à l'homogénéisation</i> | 57 |
| 3.5.1.1.2. <i>Effet de la pression d'homogénéisation</i> | 58 |
| 3.5.1.1.3. <i>Effet de la source de protéines</i> | 58 |
| 3.5.1.2. <i>Fraction de protéines adsorbées et charge protéique</i> | 59 |
| 3.5.1.2.1. <i>Effet de la fraction d'huile à l'homogénéisation</i> | 60 |
| 3.5.1.2.2. <i>Effet de la pression d'homogénéisation</i> | 61 |
| 3.5.1.2.3. <i>Effet de la source de protéines</i> | 61 |
| 3.5.2. <i>Libération d'arôme</i> | 63 |
| 3.5.2.1. <i>Constante a – phase 2</i> | 64 |
| 3.5.2.2. <i>I_{max} – phase 3</i> | 69 |
| 3.5.2.3. <i>Indice de persistance (1/c - phase 3)</i> | 70 |
| 3.6. CONCLUSION..... | 70 |
| CHAPITRE 4 – LA LIBÉRATION D'ARÔME À PARTIR D'UN LAIT ÉCRÉMÉ AROMATISÉ, TELLE QU'INFLUENCÉE PAR UN TRAITEMENT THERMIQUE ET UNE GÉLIFICATION ACIDE. | 72 |
| 4.1. RÉSUMÉ | 72 |
| 4.2. ABSTRACT | 73 |
| 4.3. INTRODUCTION..... | 73 |
| 4.4. MATERIAL AND METHODS..... | 76 |
| 4.4.1. <i>Materials</i> | 76 |
| 4.4.2. <i>Preparation of the matrices</i> | 76 |
| 4.4.3. <i>Gel texture</i> | 78 |
| 4.4.4. <i>Static headspace analysis</i> | 78 |
| 4.4.5. <i>Data treatment</i> | 79 |
| 4.4.6. <i>Statistical analysis</i> | 81 |
| 4.5. RESULTS AND DISCUSSION | 81 |
| 4.5.1. <i>Aroma release from water</i> | 81 |
| 4.5.1.1. <i>Partition coefficients</i> | 81 |
| 4.5.1.2. <i>Initial rates of release</i> | 82 |
| 4.5.2. <i>Aroma release from aromatized skim milk</i> | 83 |
| 4.5.2.1. <i>Partition coefficients</i> | 83 |
| 4.5.2.2. <i>Initial rates of release</i> | 85 |
| 4.5.3. <i>Effect of heat treatment and acid-induced gelation on aroma release</i> | 85 |
| 4.5.3.1. <i>Partition coefficients</i> | 85 |
| 4.5.3.2. <i>Initial rates of release</i> | 90 |
| 4.6. CONCLUSION..... | 93 |
| CONCLUSION GÉNÉRALE | 94 |
| BIBLIOGRAPHIE | 97 |

LISTE DES ILLUSTRATIONS

| | |
|---|----|
| Figure 1.1. Diagramme général de fabrication du yogourt. | 9 |
| Figure 1.2. Détermination du coefficient de transfert de masse. | 19 |
| Figure 3.1. Dispositif de mesure de la libération d'arôme dynamique dans des conditions de température et d'agitation contrôlées : montage expérimental connecté au chromatographe en phase gazeuse. | 37 |
| Figure 3.2. Profil de libération de l'hexanoate d'éthyle (0,01%) à partir d'une émulsion à 2% d'huile de tournesol stabilisée avec du caséinate de sodium (0,102%). | 41 |
| Figure 3.3. Profil de libération de l'hexanoate d'éthyle (0,01%) à partir d'une émulsion à 2% d'huile de tournesol stabilisée avec du caséinate de sodium (0,102%). (Courbe expérimentale et modèles) | 45 |
| Figure 3.4. Influence de la teneur en huile de l'émulsion sur le diamètre des gouttelettes d'huile..... | 57 |
| Figure 3.5. Relation entre la libération de l'hexanoate d'éthyle - constante a de la phase 2, et la fraction de protéines adsorbées pour chaque source de protéines..... | 68 |
| Figure 4.1. Aroma release kinetics from unheated skim milk (M)..... | 80 |
| Figure 4.2. Difference in the mass partition coefficients (K_{mass}) of aroma compounds in unheated skim milk (M) relative to those measured in water..... | 84 |
| Figure 4.3. Difference in the mass partition coefficients (K_{mass}) of aroma compounds in various matrices relative to those measured in unheated skim milk (M)..... | 86 |
| Figure 4.4. Difference in the mass partition coefficients (K_{mass}) of ethyl esters in various matrices relative to those measured in unheated skim milk (M), as a function of hydrophobicity index (log P)..... | 88 |
| Figure 4.5. Difference in the initial rates of release (R_i) of aroma compounds in the gels (means for gels) relative to those estimated in unheated skim milk (M). | 90 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau 3.1. Propriétés physiques des émulsions en fonction des conditions d'homogénéisation (n = 3)..... | 56 |
|---|----|

| | |
|---|----|
| Tableau 3.2. Fraction de protéines adsorbées et charge protéique en fonction des conditions d'homogénéisation. | 60 |
| Tableau 3.3. Libération d'arôme en fonction des conditions d'homogénéisation (n = 3). .. | 64 |
| Tableau 3.4. Libération d'arôme – constante a de la phase 2 (pA) en fonction de l'ajout ou non de protéines post homogénéisation, pour chaque source de protéines. | 67 |
| Table 4.1. Physico-chemical characteristics of aroma compounds. | 77 |
| Table 4.2. Partition coefficients (K_{mass}) from the different matrices at 20°C (n = 3 or 4).. | 82 |
| Table 4. 3. Initial rates of release (R_i) from the different matrices at 20°C (n = 3 or 4)..... | 83 |

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La demande grandissante pour des aliments aux qualités nutritionnelles améliorées, notamment réduits en gras, en sucre et/ou en sel, incite l'industrie à modifier la formulation de certains produits. Cela entraîne inévitablement un changement de leurs propriétés sensorielles, ce qui ne va pas sans affecter l'acceptance de ces produits par les consommateurs. Le contrôle de la texture et de la libération d'arôme représente des défis importants pour l'industrie alimentaire en ce moment. Ces deux attributs sont bien souvent affectés par les changements de composition, spécialement lors de la réduction de la matière grasse. De plus, plusieurs auteurs ont montré que la texture influence la perception des arômes (Baek *et al.*, 1999; Hollowood *et al.*, 2002; Weel *et al.*, 2002; Mestres *et al.*, 2005; Mestres *et al.*, 2006). Toutefois, la cause de ce phénomène n'est pas encore claire. Les aliments réduits en gras suscitent un grand intérêt dû au rôle reconnu des graisses alimentaires dans l'étiologie de maladies chroniques, telle les maladies cardiovasculaires. Or la libération des composés d'arôme hydrophobes, lesquels constituent la majorité des composés d'arôme, est influencée de façon importante par la teneur en matière grasse des aliments (Bakker, 1995; de Roos, 1997; Guichard, 2002). Pour des modèles de yogourt notamment, la libération d'arôme d'un produit faible en gras, lors de la consommation, est plus rapide et plus intense, mais moins persistante que celle d'un produit à haute teneur en matière grasse (Brauss *et al.*, 1999). L'impact initial graduel et la persistance de l'arôme confèrent aux aliments riches en gras un profil aromatique équilibré, alors que le profil peut paraître plutôt non équilibré dans les aliments sans gras, où l'arôme tend à être intense et passager.

D'un point de vue physico-chimique, la libération des composés d'arôme dépend de leur affinité avec les constituants de l'aliment et de la proportion de ces derniers. Un grand nombre d'études ont porté sur l'effet de la présence de différents constituants sur la libération d'arôme. En général, la présence de lipides, de polysaccharides ou de protéines réduit la volatilité des composés d'arôme par rapport à leur volatilité dans l'eau pure, alors que la présence de sucres simples l'augmente (Bakker, 1995; Fisher & Widder, 1997; de Roos, 1997; Godshall, 1997; Guichard, 2002; van Ruth & Roozen, 2002). Cependant, la

libération d'arôme dépend aussi du niveau de complexité structurale du produit, dû notamment aux interactions entre les macromolécules, qui modifient la nature et le nombre de sites de liaison disponibles pour les composés d'arôme (Druaux & Voilley, 1997).

Les protéines représentent environ 3,2% des constituants du lait de vache (Cayot & Lorient, 1998; Amiot *et al.*, 2002). Plusieurs concentrés de protéines laitières ont été développés et sont largement utilisés en formulation, notamment pour leurs propriétés émulsifiantes et gélifiantes. En milieux hydratés, les protéines laitières peuvent lier des composés d'arôme par interactions hydrophobes (O'Neill & Kinsella, 1987; Le Thanh *et al.*, 1992; Landy *et al.*, 1995; Fischer & Widder, 1997; Guichard & Langourieux, 2000) ou encore par voie chimique, spécialement dans le cas des aldéhydes (Plug & Haring, 1993; Bakker, 1995; Fischer & Widder, 1997). Toutefois, les procédés de transformation des aliments contenant des protéines sont susceptibles de moduler l'effet de ces dernières sur la libération d'arôme. D'abord, la conformation des protéines est influencée par les conditions du milieu dans lequel elles se trouvent, telle la force ionique, la concentration des autres constituants de l'aliment, la température, le pH, etc., ce qui ne va pas sans affecter la libération d'arôme (Fisher & Widder, 1997). De plus, certains paramètres de procédé peuvent avoir un effet sur la structure d'un produit contenant des protéines, notamment la pression d'homogénéisation dans le cas d'une émulsion (Dickinson, 1996) ou le traitement thermique du lait dans la fabrication de yogourt (Harwalkar & Kalab, 1980; Lucey *et al.*, 1999). Or, des auteurs ont montré que la microstructure d'un produit peut aussi affecter la libération des composés d'arôme (Charles *et al.*, 2000a; Charles *et al.*, 2000b; Rega *et al.*, 2002; Seuvre *et al.*, 2004; Juteau *et al.* 2004a), et même leur perception lors de la consommation (Charles *et al.*, 2000a).

Le but du projet était d'étudier l'effet de différentes microstructures de produits alimentaires contenant des protéines laitières, obtenues en modulant des paramètres de procédé, sur la libération d'arôme. Des études approfondies concernant l'effet des propriétés structurales et rhéologiques d'aliments réduits en matière grasse sur la libération d'arôme pourraient conduire à des nouvelles approches pour moduler la libération d'arôme des aliments réduits en gras.

1.1. LES PROTÉINES DU LAIT

Les protéines représentent environ 3,2% des constituants du lait de vache (Cayot & Lorient, 1998; Amiot *et al.*, 2002). Elles se classent en deux catégories, notamment selon leur solubilité dans l'eau et leur stabilité : les caséines et les protéines du sérum.

1.1.1. Les caséines

Les caséines représentent près de 80% des protéines du lait (Amiot *et al.*, 2002). Elles s'y retrouvent en suspension colloïdale et se regroupent en presque totalité sous forme de micelles. Les quatre protéines majeures constituant les micelles sont, en ordre d'importance en terme de proportion, les caséines α_{S1} (40%), β (35%), κ (12%) et α_{S2} (10%). Une autre caséine présente dans le lait est formée lors de l'hydrolyse de la β -caséine par la plasmine : la γ -caséine. Le pH isoélectrique moyen des caséines est de 4,65.

Les caséines précipitent lors de l'acidification du milieu à un pH d'environ 4,6 ou encore sous l'action de la présure (action d'enzymes coagulantes). Elles sont toutefois très stables à la chaleur.

1.1.1.1. Structure micellaire

La micelle de caséines est un ensemble supramoléculaire de forme sphérique d'un diamètre moyen de près de 180 nm, avec une distribution entre 100 et 500 nm (Cayot & Lorient, 1998). Elle est constituée d'environ 92% de protéines (caséines) et 8% de minéraux. Différents modèles de structure micellaire ont été proposés. Un aspect apparaît maintenant assez clair, la micelle serait formée de sous-micelles reliées entre elles par des ponts phosphate de calcium. La distribution des différentes caséines dans la micelle résulte en la

présence d'un cœur hydrophobe, formé par une plus grande proportion de caséines α_{S1} et β (la plus hydrophobe des caséines) au centre de la micelle, alors que la partie externe est formée de caséines κ , α_{S1} et α_{S2} . La κ -caséine a un caractère très amphiphile. Sa partie terminale hydrophile est glycosylée et chargée négativement. La présence de cette caséine en périphérie de la micelle contribue notamment à maintenir cette dernière en suspension dans la phase aqueuse, en constituant une sorte de chevelure.

1.1.2. Les protéines du sérum

Les protéines du sérum représentent près de 20% des protéines du lait (Amiot *et al.*, 2002). Les protéines majeures du sérum sont de type globulaire et se retrouvent dans le lait sous forme de dispersion colloïdale. Elles se divisent en quatre protéines principales : la β -lactoglobuline (55%), l' α -lactalbumine (22%), la sérum albumine bovine (7%) et le groupe des immunoglobulines (13%). Notons que le lait compte aussi quelques protéines mineures (lactoferrine, enzymes) et quelques composants azotés issus de dégradation enzymatique (protéose-peptones).

Les protéines du sérum présentent un pH isoélectrique qui varie entre 4,8 et 9 selon la protéine. Les plus importantes en terme de proportion, la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine, ont des pH isoélectriques de 5,1, et 4,8 respectivement. La structure tertiaire de la β -lactoglobuline dispose d'une poche hydrophobe qui lui permet de fixer des composés de même nature (vitamine A et certains acides gras). L' α -lactalbumine possède également une partie hydrophobe qui constitue notamment le site de fixation de la galactosyltransférase. Le complexe α -lactalbumine – galactosyltransférase permettrait entre autres la biosynthèse du lactose dans la glande mammaire.

Contrairement aux caséines, les protéines du sérum sont sensibles à la chaleur. Un traitement thermique supérieur à 75°C peut provoquer la dénaturation de la majeure partie des protéines du sérum. Cependant, la stabilité des protéines à la chaleur dépend notamment des conditions de milieu, tel le pH, la composition ionique, la présence d'autres constituants (protéines, sucres) et la teneur en matière sèche (Kinsella, 1984).

1.2. DES SYSTÈMES ALIMENTAIRES LAITIERS : ÉMULSIONS ET GELS

Les protéines font partie intégrante des systèmes alimentaires et la technologie fournit un nombre croissant de produits de protéines isolées créés pour le développement d'aliments modernes. Les concentrés de protéines laitières sont largement utilisés en formulation notamment pour leurs propriétés émulsifiante et gélifiante.

1.2.1. Les émulsions

Une émulsion est constituée de deux liquides non miscibles (habituellement de l'huile et de l'eau), dont l'un est dispersé dans l'autre sous forme de petites gouttelettes sphériques (traduction libre de McClements, 2004). Dans la plupart des émulsions alimentaires, les gouttelettes ont un diamètre qui varie entre 0,1 et 100 μm . Les émulsions peuvent notamment être classifiées selon la distribution spatiale relative de l'huile et de la phase aqueuse. Un système constitué de gouttelettes d'huile dispersées dans une phase aqueuse est appelé émulsion huile-dans-eau (H/E), alors qu'un système constitué de gouttelettes d'eau dispersées dans une phase grasse est appelé émulsion eau-dans-huile (E/H). Les émulsions alimentaires sont le plus souvent de type huile-dans-eau, comme par exemple le lait, la crème, les vinaigrettes, la mayonnaise, les soupes, les sauces. C'est d'ailleurs ce type d'émulsion qui fait l'objet de l'étude décrite au chapitre 3 de ce mémoire. Le beurre et la margarine sont des exemples d'émulsion eau-dans-huile.

1.2.1.1. Formation des émulsions

Les émulsions alimentaires ne se forment pas spontanément. Un apport en énergie est nécessaire pour créer une émulsion, et la présence d'un agent émulsifiant (tensioactif) est déterminante pour la stabilité du produit. La formation d'une émulsion peut se résumer en une séquence de quatre événements, soit : la création de l'interface, la migration, l'adsorption et l'étalement des agents tensioactifs (Britten *et al.*, 2002).

1.2.1.1.1. *Création de l'interface*

La création de l'interface nécessite d'apporter une quantité d'énergie au système, généralement sous forme mécanique. L'étendue de l'interface et la dimension initiale des gouttelettes en suspension dans la phase continue dépendent de l'intensité d'énergie fournie au système. La production d'émulsions fines en industrie fait bien souvent appel à un homogénéisateur à valve de type Manton-Gaulin (Dickinson, 1996). Le principe de base consiste à employer une pression élevée pour faire passer un mélange grossier d'huile et d'eau à travers un espace étroit. Lors de l'homogénéisation, les gouttelettes sont rompues par association de turbulence et d'un cisaillement laminaire intense. L'augmentation de la pression d'homogénéisation favorise la création d'interface et contribue à diminuer la dimension des gouttelettes.

Une émulsion peut être formée en homogénéisant simplement de l'huile et de l'eau ensemble, toutefois les deux phases se séparent assez rapidement en une couche d'huile sur une couche d'eau. La force d'entraînement de ce phénomène est le fait que le contact entre deux phases non miscibles soit défavorable d'un point de vue thermodynamique (McClements, 2004). La tension interfaciale est forte à cause du déséquilibre entre les forces intermoléculaires qui règnent dans les deux phases. Ainsi, les surfaces créées par l'homogénéisation sont instables, et le système tend à réduire son énergie en diminuant l'étendue des surfaces de contact entre les phases. Pour stabiliser le mélange, la présence d'un agent de surface (tensioactif) est nécessaire.

1.2.1.1.2. *Formation de la membrane*

Les protéines laitières sont de bons agents tensioactifs. Dû à leur structure amphiphile, elles ont la capacité d'abaisser la tension interfaciale entre deux phases. Les protéines laitières sont donc souvent utilisées pour la fabrication d'émulsions. Au cours de l'homogénéisation, les protéines migrent vers l'interface et forment d'abord un film interfacial, empêchant ainsi le bris de l'émulsion (Britten *et al.*, 2002). La vitesse de formation de ce film dépend de la fréquence des contacts entre les protéines et l'interface.

La concentration des protéines de même que leur vitesse de déplacement dans la phase aqueuse sont donc déterminantes. La vitesse de migration des protéines ou des agrégats protéiques est notamment influencée par leur dimension. Dans le cas de l'homogénéisation, les phénomènes de convection étant prédominants, le déplacement des plus grosses particules est favorisé (Dickinson, 1996; Britten *et al.*, 2002).

1.2.1.1.3. Adsorption et étalement des agents tensioactifs

Au contact de l'interface, la structure initiale des protéines évolue de façon à réduire davantage la tension interfaciale. Elles subissent une dénaturation de surface dont le degré dépend de la flexibilité de la protéine et de la tension présente à l'interface (Britten *et al.*, 2002). L'étalement des protéines peu structurées et flexibles est facilité alors que les protéines globulaires nécessitent plus d'énergie. Au départ, la tension interfaciale est élevée ce qui contribue à dénaturer fortement les premières protéines qui atteignent l'interface. Puis la tension chute, et les protéines qui s'adsorbent par la suite conservent davantage leur structure initiale.

L'épaisseur du film formé, ou charge protéique, dépend de la vitesse ou de la fréquence d'adsorption des protéines. La charge protéique peut être augmentée en favorisant une adsorption massive qui sature rapidement l'interface et restreint l'étalement. Inversement, une charge protéique plus faible peut être obtenue en favorisant une adsorption lente qui permet l'étalement complet des premières protéines atteignant l'interface. Cela contribue à faire chuter rapidement la tension et à ainsi limiter l'adsorption.

1.2.2. Les gels laitiers acides

Un gel est un solide déformable, mou et élastique, formé par un assemblage de particules colloïdales ou de macromolécules reliées les unes aux autres (Dickinson, 1996). Le yogourt est un gel laitier obtenu par acidification lactique. Sa formation repose en majeure partie sur l'assemblage des caséines. Les micelles de caséines sont stables au pH normal du lait. Au fur et à mesure que le milieu s'acidifie, par l'action de bactéries lactiques

introduites dans le produit, les micelles deviennent instables. Puis, des associations prennent forme et conduisent à la formation d'un gel. Un tel gel produit par l'agrégation de caséines est un gel dit de particules dont la structure serait liée aux concepts de géométrie fractale (Dickinson, 1996; Cayot & Lorient, 1998).

1.2.2.1. Fabrication du yogourt

Les procédés de fabrication du yogourt se caractérisent par trois grandes étapes : la préparation du lait, la fermentation et les traitements post-fermentaires (Béal & Sodini, 2003). La figure 1.1 présente le diagramme général de la fabrication du yogourt. Ce diagramme montre notamment deux embranchements possibles dans les étapes de production, selon le type de produit désiré : yogourt ferme (non brassé) ou yogourt brassé. Nos travaux décrits au chapitre 4 de ce mémoire portent sur des gels non déstructurés, type yogourt ferme (non brassé). Deux paramètres de procédé ont spécialement attiré notre attention, dû à leur implication dans la structure du produit : le traitement thermique du lait et l'acidification du milieu.

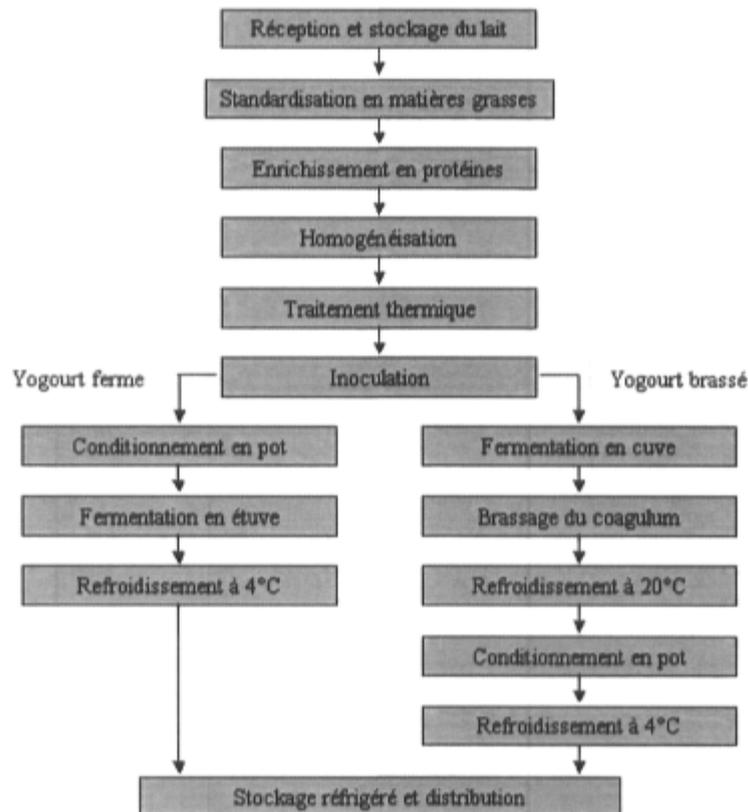


Figure 1.1. Diagramme général de fabrication du yogourt. (Reproduit avec légère modification de Béal & Sodini, 2003.)

1.2.2.1.1. Traitement thermique du lait

Le procédé de fabrication du yogourt implique un traitement thermique qui sert notamment à détruire les microorganismes pathogènes potentiellement présents dans le lait. Ce traitement est l'un des paramètres de procédé qui affecte le plus les caractéristiques des gels laitiers acides (Mulvihill & Grufferty, 1995; Sodini *et al.*, 2004). Le chauffage du lait avant l'acidification est notamment reconnu pour augmenter la fermeté du yogourt. Les effets du chauffage du lait sur les propriétés rhéologiques et sur la microstructure de gels laitiers non gras ont été largement étudiés (Harwalkar & Kalab, 1980; Lucey & Singh, 1998; Lucey, *et al.*, 1999). Le chauffage du lait à une température de plus de 70°C provoque la

dénaturation et l'agrégation des protéines du sérum, de même que leur association avec les micelles de caséines. Les protéines dénaturées libres dans le sérum, de même que celles associées avec les micelles de caséine participent à la structure du gel acide (Lucey & Singh, 1998; van Vliet *et al.*, 2004), ce qui la rend plus ramifiée. La structure fortement ramifiée des gels acides faits de lait chauffé a été clairement montrée par microscopie électronique (Harwalkar & Kalab, 1980), de même que par microscopie confocale à balayage laser (Lucey *et al.*, 1999). L'augmentation du nombre et de la force des liaisons entre les particules de protéine contribuent à augmenter la fermeté des gels acides produits à partir de lait chauffé.

Considérant une variété de critères, des conditions de chauffage du lait avant gélification autour de 90°C maintenu pendant 5 minutes (300 secondes) permettraient d'obtenir les plus grandes fermetés, en comparaison à une gamme de conditions de 80 à 110°C maintenu entre 40 et 2000 secondes (Kulozik *et al.*, 2003).

1.2.2.1.2. Acidification du milieu

Les micelles de caséines sont sensibles aux variations de pH. Elles sont les principales impliquées dans la gélification par acidification du lait. L'abaissement du pH favorise la dissociation du phosphate de calcium colloïdal qui passe à l'état soluble. Le processus de gélification se résume ainsi (Cayot & Lorient, 1998) : Lorsque le pH passe de 6,7 à 5,5, la chute du potentiel ζ des micelles de caséines leur permet notamment de se rapprocher et de commencer à former des groupes de micelles. Les micelles maintiennent alors encore leur aspect, mais commencent à former des chaînes. À pH = 5,0, la solubilisation du calcium micellaire est totale et des agrégats de micelles ont commencé à apparaître. Alors que le pH s'approche du point isoélectrique des caséines (4,65), les phénomènes d'agrégation protéiques prennent le dessus. À pH = 4,6, le gel acide est définitivement réalisé.

Tel qu'abordé à la sous-section 1.2.2.2.1, le chauffage du lait à plus de 70°C avant acidification permet l'obtention de gels plus fermes, dû à la dénaturation et à l'agrégation des protéines du sérum, de même qu'à leur association avec les micelles de caséines. En

fait, la présence de protéines sériques, essentiellement la β -lactoglobuline, à la surface des micelles de caséine limite les possibilités de dissociation micellaire entre $\text{pH} = 5,3$ et $\text{pH} = 4,8$, ce qui permettrait notamment de préserver des particules micellaires de petite taille, bien individualisées (Béal & Sodini, 2003). De plus, dû à leur pH isoélectrique plus élevé que celui des caséines (5,1 contre 4,65), les protéines sériques à la surface des micelles peuvent établir des liaisons à un pH plus élevé que les caséines, ce qui augmenterait globalement le nombre de sites de liaison possibles. Ainsi, un gel dont le lait a subi un fort traitement thermique se formerait plus rapidement et présenterait un réseau plus dense, donc une plus grande fermeté et une meilleure capacité de rétention d'eau, qu'un gel dont le lait a subi un traitement thermique modéré.

1.3. LES ARÔMES

1.3.1. Définition

Les composés d'arôme sont des molécules organiques de faible masse moléculaire ($M < 400$ daltons) dont la tension de vapeur, à pression atmosphérique et à température ambiante, est suffisamment élevée pour que ces molécules se retrouvent partiellement à l'état de vapeur dans l'atmosphère gazeux (Richard, 1992). Pour être perceptibles, les composés d'arôme doivent être libérés dans la phase gazeuse. Ils peuvent ensuite être transférés vers la cavité nasale, suite à l'inspiration par les narines (odeurs), ou encore par voie rétro-nasale, à partir de la cavité buccale (arômes) quand l'aliment est dans la bouche. Ces composés volatils provoquent ensuite un stimulus au contact de la muqueuse olfactive. Un arôme naturel peut être constitué de plusieurs centaines de composés volatils qui contribuent chacun à l'arôme avec plus ou moins de subtilité. Parfois un seul ou quelques uns des composés d'arôme donne la note typique, parfois l'arôme est difficile à décomposer.

1.3.2. Classification des composés d'arôme

Les composés d'arôme appartiennent aux différentes classes de la chimie organique ; ils incluent des hydrocarbures, des composés possédant un ou plusieurs groupements fonctionnels (alcool, éther-oxyde, aldéhyde, cétone, ester, amine, amide) et divers hétérocycles (Richard, 1992). Ces composés n'apportent aucune contribution nutritive à l'aliment dans lequel ils se trouvent, or comme certains micronutriments ils sont parfois sensibles à la chaleur et à la lumière.

Dans le contexte alimentaire, la concentration de ces substances volatiles libres dans la phase vapeur dépend de plusieurs facteurs. Elle dépend notamment de leur concentration, de leurs propriétés physico-chimiques, de même que de leurs interactions avec les autres constituants de l'aliment.

1.4. PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DES PETITES MOLÉCULES INTERVENANT DANS LA RÉTENTION OU LA LIBÉRATION DES COMPOSÉS D'ARÔME

La libération d'arôme des aliments est contrôlée par des paramètres thermodynamiques et cinétiques. Ces paramètres dépendent non seulement de la composition de la matrice étudiée, mais aussi de son état physique (Voilley & Souchon, 2006): les systèmes liquides sont relativement simples à étudier et utiles pour comprendre le partage entre les phases et la libération d'arôme; les systèmes visqueux ou solides impliquent de tenir compte de plus de paramètres comme la diffusion; les vrais aliments sont souvent encore plus complexes, puisqu'ils peuvent présenter une composition et une structure hétérogènes, et doivent ainsi être étudiés à différents niveaux.

1.4.1. Paramètres thermodynamiques : partage entre les phases

La concentration d'un composé volatil dans une phase ou son partage entre plusieurs phases dépend non seulement des caractéristiques des composés purs (taille moléculaire,

groupements fonctionnels, forme), mais aussi de paramètres thermodynamiques à une échelle macroscopique (pression de vapeur, solubilité, coefficients de partage et coefficients d'activité), et toutes ces propriétés colligatives peuvent être déduites par des équations reliées (Voilley & Souchon, 2006). Seul le calcul de coefficients de partage a été effectué pour ce mémoire, mais d'autres propriétés des composés, dont les valeurs ont été recherchées dans la littérature, ont notamment permis de discuter des résultats et sont brièvement définies dans cette sous-section : l'hydrophobicité, la solubilité dans l'eau et la pression de vapeur saturante.

1.4.1.1. Volatilité et coefficient de partage vapeur-produit

Pour étudier les interactions arôme – milieu de dilution, l'utilisation d'un système de référence est indispensable. L'eau est souvent utilisée comme milieu de référence, puisqu'elle constitue le solvant biologique le plus important, et qu'elle est présente dans la plupart des aliments (Seuvre *et al.*, 2002). La volatilité d'un composé d'arôme dans le milieu est représentée par le coefficient de partage vapeur-liquide. L'existence ou non d'interactions soluté – solvant est indiquée par le coefficient d'activité. Le coefficient de partage vapeur-liquide d'un composé d'arôme (K_i), ou sa volatilité, peut être exprimé ainsi à une température donnée :

$$K_i = \frac{Y_i}{X_i}$$

Équation 1.1

Où Y_i est la concentration du composé d'arôme i dans la phase vapeur (fraction molaire) et X_i est la concentration de i dans le liquide (fraction molaire) (Voilley & Souchon, 2006). Ce coefficient de partage (K_i) peut notamment être relié au coefficient d'activité de i à dilution infinie (γ_i^∞), représentant les interactions entre les composés d'arôme et la matrice (écart par rapport à l'idéalité d'une solution), et à la pression de vapeur saturante (P_i^S) à une même température donnée :

$$K_i = \frac{\gamma_i^\infty P_i^S}{P_T}$$

Équation 1.2

Où P_T est la pression atmosphérique.

Les systèmes alimentaires sont souvent triphasiques et parfois même quadriphasiques. Dans ces cas, plusieurs phases liquides et/ou solides et vapeur sont mélangées. Suivant leur affinité, les composés d'arôme se répartissent entre les différentes phases. La thermodynamique des équilibres entre les phases vise à exprimer de façon quantitative, par la détermination de coefficients de partage, la distribution des composés dans les différentes phases de l'aliment. Deux types de coefficients peuvent être calculés : le coefficient de partage vapeur-produit, le produit pouvant être un liquide (Équation 1.1), un solide ou une matrice alimentaire, et le coefficient de partage liquide-liquide entre deux liquides non miscibles. Seul le calcul des coefficients de partage vapeur-produit a été effectué pour le présent projet (Chapitre 4). L'équilibre entre la phase vapeur et le produit existe seulement s'il n'y a pas de transfert effectif à l'interface produit-vapeur (de Roos, 2000).

Vu la complexité que représente l'expression des différentes matrices étudiées en terme de moles, les coefficients de partage apparaissant au chapitre 4 ont été calculés suivant les fractions massiques, plutôt que molaires. Notons que la phase vapeur au-dessus des produits étudiés est considérée comme un mélange de gaz parfaits, constitué de vapeur d'eau et de composés volatils.

1.4.1.2. Hydrophobicité

L'hydrophobicité est souvent représentée par le log P, qui se définit comme le logarithme du coefficient de partage liquide-liquide du soluté, entre le n-octanol et l'eau (Seuvre *et al.*, 2002). Ainsi, le log P traduit l'affinité du composé d'arôme pour une phase organique. Plus cette valeur est élevée, plus le composé d'arôme est hydrophobe. Sa valeur varie

généralement entre -3 et 7. En général, un composé dont le log P est supérieur à 1 est considéré comme étant plutôt hydrophobe. Cette valeur peut être mesurée ou estimée.

1.4.1.3. Solubilité dans l'eau

La solubilité dans l'eau, comme l'hydrophobicité, permet d'évaluer la répartition du composé entre les phases organique et aqueuse. Elle représente la concentration maximale en composé d'arôme dissoute dans l'eau dans des conditions de température et de pression données. Elle peut être mesurée par la méthode de solubilité mutuelle qui consiste à déterminer le coefficient de partage liquide-liquide entre le solvant (l'eau) et le composé d'arôme pur, à température constante (Seuvre *et al.*, 2002).

1.4.1.4. Pression de vapeur saturante

La pression de vapeur saturante représente la volatilité de la molécule à l'état pur. Cette valeur peut être mesurée ou estimée (Espinosa Diaz *et al.*, 1999; Seuvre *et al.*, 2002; Covarrubias Cervantes *et al.*, 2004).

1.4.2. Paramètres cinétiques : phénomènes de transfert de matière

Lors de l'étude des partages à l'équilibre, l'aspect dynamique de la libération des composés d'arôme n'est pas considéré. La libération d'arôme n'a lieu que si l'équilibre vapeur/produit est dérangé. En d'autres mots, le non équilibre est la force d'entraînement pour le transfert de masse (van Ruth & Roozen, 2002).

La répartition des composés au sein de l'aliment nécessite leur diffusion dans les différentes phases et leur transfert d'une phase à l'autre. Deux principaux facteurs contrôlent la vitesse de libération d'arôme des aliments, à savoir la volatilité des composés d'arôme, celle-ci ayant été abordée à la sous-section 1.4.1.1, et la résistance au transfert de masse (Voilley & Souchon, 2006).

L'aspect cinétique de la libération d'arôme fait l'objet de ce mémoire, ainsi les principes fondamentaux liés au transfert de matière sont abordés dans cette section. Toutefois les coefficients de diffusion et de transfert global n'apparaissent pas parmi les paramètres cinétiques de la libération d'arôme sélectionnés pour les études décrites aux chapitres 3 et 4.

1.4.2.1. Phénomènes de diffusion

La diffusion des composés d'arôme est basée sur deux mécanismes : la diffusion moléculaire et la diffusion turbulente (de Roos, 2000; van Ruth & Roozen, 2002). La diffusion moléculaire ou statique est le mouvement aléatoire des molécules dans un fluide stagnant, pour lequel la force d'entraînement est un gradient de potentiel chimique (lois de Fick). Pour des systèmes macroscopiques, la relation de Stokes-Einstein montre que le coefficient de diffusion est proportionnel à la vitesse de la particule diffusante, laquelle dépend de la température, de la viscosité du milieu et de la taille de la particule. Cette relation a servi de point de départ dans le développement de corrélations pour estimer la diffusion moléculaire (Poling *et al.*, 2001). La corrélation de Wilke et Chang, par exemple, considère que le coefficient de diffusion en phase liquide dépend notamment du volume molaire du soluté, ainsi que de la viscosité de la solution et de la température du système. La vitesse de diffusion moléculaire peut varier légèrement entre les composés d'arôme (de Roos, 2000; van Ruth & Roozen, 2002).

La diffusion turbulente, ou convective, intervient lorsqu'un ou des fluides en jeu sont en mouvement. Elle transporte la matière ou les remous du fluide d'une location à une autre, entraînant avec eux les composés d'arôme en solution (de Roos, 2000; van Ruth & Roozen, 2002). La vitesse de la diffusion turbulente est habituellement beaucoup plus grande que celle de la diffusion moléculaire, et elle est indépendante du type de composé.

1.4.2.2. Transfert entre les phases

Dans un système multiphasique, le transfert de matière à travers une interface plane peut avoir lieu d'une phase liquide (ou solide) vers une phase vapeur (libération) ou encore d'une phase liquide vers une autre phase liquide (ou solide).

La diffusion moléculaire ou statique gouverne le transfert de masse dans un milieu macroscopiquement immobile et sa force d'entraînement est un gradient de potentiel chimique (lois de Fick).

Lorsqu'un transfert de masse a lieu entre les phases dans un système biphasique avec un fluide en mouvement (Figure 1.2a), un écoulement laminaire s'effectue dans une couche interfaciale régulière d'une épaisseur constante ΔX , alors qu'au-delà de la couche interfaciale, le transfert de masse est infiniment rapide et une concentration moyenne \bar{C}_1 existe dans tout le milieu turbulent (Voilley & Souchon, 2006).

Dans ce cas, l'équation de flux de masse à partir de la couche interfaciale vers le fluide :

$$\frac{dm}{dt} = -A \cdot D \frac{dC}{dx} \quad (\text{première loi de Fick}) \quad \text{Équation 1.3}$$

Où m est la quantité de molécules diffusantes (kg) passant normalement à travers l'élément (A , unité : m^2) en un temps (dt , unité : s) ; D est le coefficient de diffusion ($m^2 \cdot s^{-1}$) ; dC/dx est le gradient de concentration avec C ($kg \cdot m^{-3}$) et x , la distance (m).

peut s'écrire :

$$\frac{dm}{dt} = -A \cdot D \frac{\bar{C}_1 - C_2}{\Delta x} \quad \text{Équation 1.4}$$

Le coefficient de transfert de masse (k) se définit par :

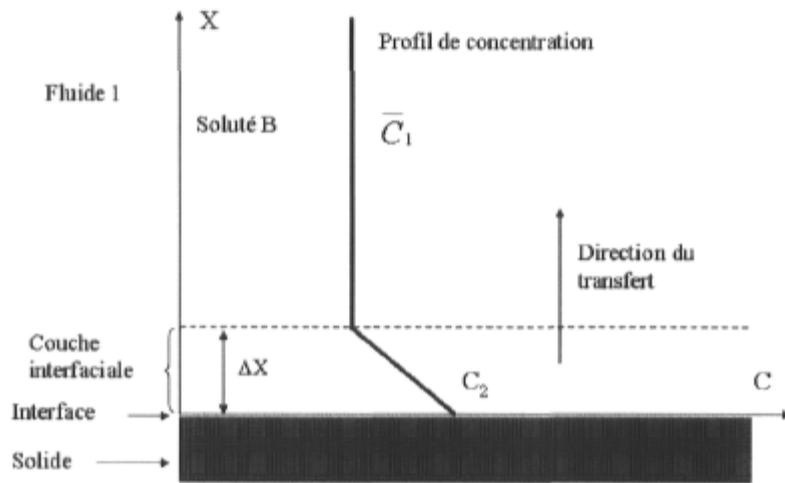
$$k = \frac{D}{\Delta x} (m \cdot s^{-1}) \quad \text{Équation 1.5}$$

En combinant les équations 1.4 et 1.5, le flux de masse s'exprime en fonction du coefficient de transfert de masse :

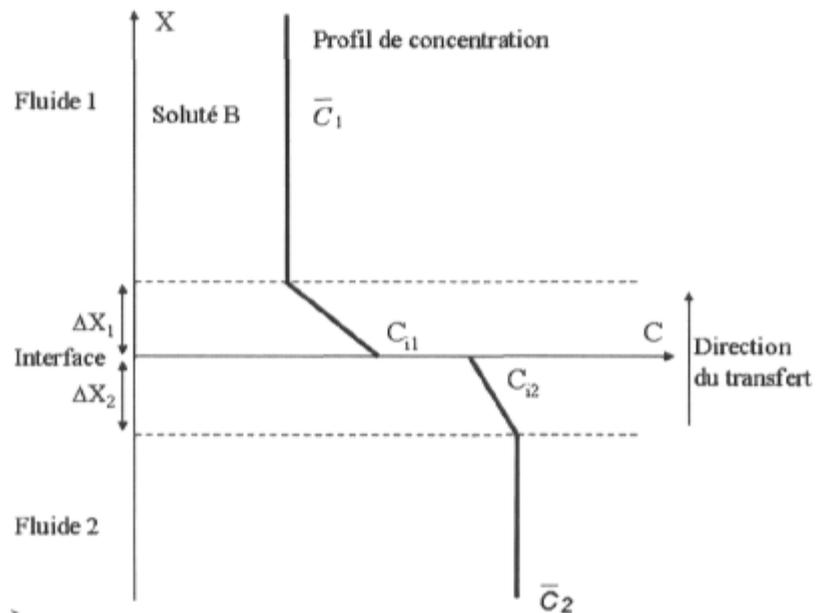
$$\frac{dm}{dt} = A \cdot k(C_2 - \bar{C}_1) \quad \text{Équation 1.6}$$

À l'équilibre, la concentration à l'interface C_2 tend vers la limite atteinte par la concentration \bar{C}_1 dans le fluide et :

$$\frac{dm}{dt} = A \cdot k(C_1^* - \bar{C}_1) \quad \text{Équation 1.7}$$



(a)



(b)

Figure 1.2. Détermination du coefficient de transfert de masse. a) Transfert entre deux phases dont l'une constitue un fluide en mouvement; b) Transfert entre deux phases constituant deux fluides en mouvement. (Reproduit et traduit de Voilley & Souchon, 2006.)

Ce raisonnement peut aussi s'appliquer au transfert de masse entre deux phases constituant deux fluides en mouvement (Figure 1.2b). Dans la phase supérieure, le fluide au delà de la couche interfaciale a une concentration \bar{C}_1 du soluté B; la concentration à l'interface est C_{i1} et l'épaisseur de la couche interfaciale est ΔX_1 . Pour la phase inférieure, la concentration du soluté B est \bar{C}_2 , au-delà de la couche interfaciale d'épaisseur ΔX_2 , et C_{i2} à l'interface. Si les phases sont en équilibre à l'interface, nous avons :

$$\frac{C_{i1}}{C_{i2}} = K_c$$

Le coefficient de partage du soluté B entre les deux phases, en général, n'est pas unité.

Si nous considérons que toute la résistance au transport se trouve dans les couches interfaciales, le taux de transfert est :

$$\frac{dm}{dt} = A \cdot k_{global} (K_c \bar{C}_2 - \bar{C}_1) \quad \text{Équation 1.8}$$

Si $K_c \bar{C}_2 = C_1^*$,

$$\frac{dm}{dt} = A \cdot k_{global} (C_1^* - \bar{C}_1) \quad \text{Équation 1.9}$$

avec :

$$\frac{1}{k_{global}} = \frac{1}{k_1} + \frac{K_c}{k_2}$$

Ce coefficient de transfert de masse global, k_{global} ($m \cdot s^{-1}$), est fonction de toutes les caractéristiques du système et est toujours déterminé par les méthodes de similarité (analyses dimensionnelles). L'inverse de ce coefficient correspond à la résistance au transfert de masse. Cette résistance détermine la vitesse à laquelle les composés d'arôme se répartissent entre les phases, et dépend de la texture (viscosité, émulsion, taille des gouttelettes, point de fusion de la phase lipidique, etc.), du taux de renouvellement de la surface et de la superficie de la surface du produit (de Roos, 1997).

1.5. LIBÉRATION D'ARÔME EN BOUCHE ET DISPOSITIFS DE MESURE ADAPTÉS

La libération d'arôme en bouche diffère de celle dans les systèmes modèles à plusieurs égards (de Roos, 1997). À cause de la dilution avec la salive et l'avalement de l'aliment, un changement continu a lieu dans son volume, sa composition et sa viscosité. La superficie spécifique augmente souvent considérablement avec la propagation du produit dans toute la bouche. Ainsi, une gamme de dispositifs ont été développés, intégrant des conditions se rapprochant du contexte de consommation, pour simuler la libération d'arôme en bouche (van Ruth *et al.*, 1995; Roberts & Acree, 1995; Elmore & Langley, 1996; Odake *et al.*, 2000). Certains de ces dispositifs incluent principalement des conditions contrôlées de température et d'agitation, certains vont jusqu'à disposer d'un système d'écrasement et de mélange simulant de plus près la mastication. Quelques dispositifs intègrent en plus la dilution pour simuler la salivation. Ces modèles de bouche sont généralement couplés à l'analyse dynamique de l'espace de tête (voir sous-section 1.6.1). Certains auteurs vont jusqu'à utiliser des méthodes de mesure de la libération d'arôme *in vivo*, en faisant des prélèvements directement dans la cavité nasale de participants, alors qu'ils ont l'aliment en bouche (Baek *et al.*, 1999; Weel *et al.*, 2002; Hollowood *et al.*, 2002; Mestres *et al.*, 2005; Mestres *et al.*, 2006).

1.6. ANALYSE DE L'ESPACE DE TÊTE

1.6.1. Statique vs dynamique

L'analyse de l'espace de tête consiste à analyser la composition de la phase vapeur au-dessus du produit à l'étude, à l'aide d'un appareil d'analyse tel un chromatographe en phase gazeuse, couplé au besoin à un spectromètre de masse. L'analyse de l'espace de tête statique (*static headspace*) implique que la phase vapeur au-dessus du produit soit sans turbulence et qu'un prélèvement de gaz soit effectué en vue de l'analyse. L'analyse dynamique de l'espace de tête (*dynamic headspace*) implique qu'un gaz inerte passe à travers le produit ou balaie constamment sa surface pour transporter les composés d'arôme

vers l'appareil d'analyse. Bien souvent les composés d'arôme sont d'abord dirigés dans un « piège » où ils sont condensés, puis sont éventuellement relâchés pour permettre l'analyse.

L'étude de la cinétique de libération d'arôme peut s'effectuer tant par analyse de l'espace de tête dynamique que par analyse de l'espace de tête statique. La première met toutefois en jeu les phénomènes de diffusion moléculaire et turbulente, alors que la seconde implique uniquement le phénomène de diffusion moléculaire. Quoique les mesures statiques ne simulent pas complètement la libération d'arôme en bouche, comme le font mieux les méthodes dynamiques, elles seules offrent la possibilité de déterminer avec une bonne précision les paramètres thermodynamique et cinétique de la libération d'arôme (Juteau *et al.*, 2004b).

1.6.2. Modélisation

Quelques modèles mathématiques de prédiction de la libération d'arôme ont été développés. Deux approches principales sont utilisées pour modéliser. Une première approche est plutôt théorique et se base sur les principes de la physique et de la chimie, résultant en des modèles mécanistiques (Harrison & Hills, 1997a; Harrison & Hills, 1997b; Harrison *et al.*, 1997). La seconde s'inspire des données expérimentales et conduit à des modèles empiriques. Les modèles ajustés aux données expérimentales sont cependant développés uniquement pour prédire la libération de l'arôme d'un produit dans des conditions données (pression, température, agitation, etc.). D'autres approches ont été récemment développées, notamment des modèles dont les paramètres sont des caractéristiques physico-chimiques des composés d'arôme et/ou de la matrice alimentaire (Roberts *et al.*, 2003).

1.7. INTERACTIONS DES COMPOSÉS D'ARÔME AVEC LES MACROMOLÉCULES

1.7.1. Nature des liaisons impliquant les composés d'arôme

La liaison des composés d'arôme dans les systèmes alimentaires est synonyme de « sorption » au sens large, incluant l'adsorption, l'absorption, les liaisons physico-chimiques de même que les liaisons chimiques (van Ruth & Roozen, 2002). D'abord l'adsorption et l'absorption sont spécifiques aux systèmes alimentaires à faibles taux d'humidité. Puis, des interactions physico-chimiques (interactions hydrophobes, forces de van der Waals, liaisons hydrogène et liaisons ioniques) peuvent intervenir entre les composés d'arôme et les autres constituants alimentaires, tant dans les aliments à faible qu'à haute teneur en humidité. Ces interactions consistent en des liaisons non covalentes de faible énergie (inférieure à $50 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) et réversibles. Elles se distinguent des liaisons chimiques par l'absence de transfert d'électrons entre les molécules impliquées, de même que par une plus faible énergie mise en jeu. Des liaisons chimiques peuvent aussi s'établir entre certains composés d'arôme et notamment les protéines.

La composition de l'aliment détermine l'étendue et le type de liaison des composés d'arôme (van Ruth & Roozen, 2002). Mis à part la phase aqueuse, présente dans les aliments à haute teneur en humidité, les composantes majeures impliquées dans la liaison d'arôme sont les lipides, les glucides et les protéines.

1.7.2. Lipides et libération d'arôme

Les aliments réduits en gras suscitent un grand intérêt dû au rôle reconnu des graisses alimentaires dans l'étiologie de maladies chroniques, telles les maladies cardiovasculaires. Or la matière grasse modifie les propriétés physiques des aliments, et de ce fait affecte notamment la sensation en bouche, l'apparence et la structure (Brauss *et al.*, 1999). Au-delà de sa contribution à la texture du produit, la matière grasse influence grandement la libération des composés d'arôme. Dans les systèmes alimentaires contenant du gras, les composés d'arôme hydrophobes sont faiblement liés aux molécules de lipides par des forces de van der Waals et par des interactions hydrophobes non spécifiques (van Ruth &

Roozen, 2002). Toutefois, comme la majorité des composés d'arôme sont hydrophobes à différents degrés, l'effet du gras sur la libération de la plupart de ces composés est plus grand que celui des autres ingrédients (Bakker, 1995 ; Guichard, 2002; van Ruth & Roozen, 2002). L'effet du gras est plus apparent en suivant la dynamique de libération d'arôme qui est censé avoir lieu dans la bouche. Les composés d'arôme doivent d'abord être transférés de la phase lipidique à la phase aqueuse avant de pouvoir entrer dans l'espace de tête (de Roos, 1997). Les profils de libération des composés d'arôme hydrophobes sont ainsi significativement influencés par la concentration de gras. Brauss *et al.* (1999) ont notamment trouvé, pour des modèles de yogourt, que la libération d'arôme d'un produit faible en gras était plus rapide et plus intense, mais moins persistante que celle d'un produit à haute teneur en matière grasse.

1.7.2.1. Lipides et perception d'arôme

La suppression ou la réduction de la quantité de matière grasse dans un produit alimentaire influencerait non seulement le profil de libération d'arôme, mais causerait des changements dans le profil aromatique perçu (Brauss *et al.*, 1999). À la lumière des travaux de Brauss *et al.* (1999) sur des modèles de yogourt, les composés d'arôme auraient notamment tendance à être perçus plus rapidement et plus fortement dans les produits à faible teneur en matière grasse que dans ceux à haute teneur en matière grasse.

1.7.3. Glucides et libération d'arôme

D'une part, des concentrations élevées de sucres simples en milieu aqueux résultent généralement en une augmentation des coefficients de partage vapeur-liquide comparativement à l'eau (Godshall, 1997; Hansson *et al.*, 2001; van Ruth & Roozen, 2002). Une sorte d'effet de « salting out » serait la raison de ce phénomène, où le sucre interagit avec l'eau, augmentant ainsi la concentration de composés d'arôme dans le volume d'eau libre restant.

D'autre part, en règle générale, les polysaccharides diminuent la volatilité des composés d'arôme comparativement à leur volatilité dans l'eau, résultant d'interactions moléculaires non spécifiques (Godshall, 1997). Quelques polymères de glucide constituent des structures tridimensionnelles dans lesquelles des régions hydrophiles et hydrophobes sont distinguables (Plug & Haring, 1993). Dans une certaine mesure, une fonctionnalité hydrophobe peut être présente dans ces polymères. Dans le cas de l'amidon et des cyclodextrines, par exemple, l'interaction avec les composés d'arôme serait une inclusion moléculaire et l'attraction entre l'« hôte » et l'« invité » serait due à une interaction hydrophobe (Godshall, 1997). Dans le cas de l'amidon, la chaîne d'amylose, plus particulièrement, peut former des complexes d'inclusion avec plusieurs composés. En général, la diminution de la volatilité des composés, due à leurs interactions moléculaires non spécifiques avec les polysaccharides, serait modérée comparativement aux effets causés par les changements de viscosité résultant de la présence de polysaccharides (Guichard, 2002).

1.7.4. Protéines et libération d'arôme

Sous une large perspective, la plus importante interaction composé d'arôme - protéine est liée à l'aspect physiologique de la perception des arômes (Fischer & Widder, 1997). En effet, les récepteurs dans l'épithélium olfactif sont des protéines spécialement conçues pour des interactions composé d'arôme – protéine très spécifiques. Or dans le contexte alimentaire, une influence prédominante des protéines sur la perception d'arôme relève des interactions des composés d'arôme avec les macromolécules protéiques des aliments, puisque celles-ci agissent sur la libération d'arôme. En principe, deux différents types d'interaction peuvent se produire : l'adsorption physique réversible via une interaction non covalente (forces d'interaction plutôt faible), et une réaction chimique via des liens covalents ou électrostatiques (liens plus forts) (Fisher & Widder, 1997; van Ruth & Roozen, 2002). Les protéines laitières peuvent notamment lier des composés d'arôme par interactions hydrophobes (O'Neill & Kinsella, 1987; Le Thanh *et al.*, 1992; Landy *et al.*, 1995; Fischer & Widder, 1997; Guichard & Langourieux, 2000) ou encore par voie

chimique, spécialement dans le cas des aldéhydes (Plug & Haring, 1993; Bakker, 1995; Fischer & Widder, 1997).

La β -lactoglobuline est la protéine majoritaire du lactosérum et parmi les protéines du lait les plus étudiées. Cette protéine peut lier les composés d'arôme via des interactions hydrophobes (Guichard & Langourieux, 2000; O'Neill & Kinsella, 1987). Selon un consensus général, les types rétinoïdes se lient à l'intérieur du calice, par analogie avec le comportement des lipocalines, cependant, la location exacte de ce site de liaison demeure incertaine (Tromelin *et al.*, 2006). Des évidences suggèrent actuellement que la β -lactoglobuline ait plus d'un site de liaison pour les composés d'arôme, le principal étant le site du rétinol dans le calice central, et un second site se trouvant sur la surface externe.

La distribution spécifique des régions hydrophiles et hydrophobes dans les protéines détermine leur forme, leur structure de surface et leurs caractéristiques physiques. Ainsi, les facteurs d'un système alimentaire qui influencent la conformation d'une protéine ont une influence considérable sur la liaison de composés d'arôme (Fisher & Widder, 1997). Les facteurs principaux d'influence sont : la concentration des composés d'arôme; la force ionique du milieu; la concentration des autres constituants de l'aliment; la température; le pH et le temps. Deux de ces facteurs font spécialement l'objet de nos travaux : la température et le pH.

1.7.4.1. Effet d'un traitement thermique

Parmi les protéines laitières, les protéines du sérum sont généralement les plus sensibles aux traitements thermiques, tel que décrit aux sous-sections 1.1.2 et 1.2.2.2.1. Dû au changement de conformation des protéines et à l'agrégation, l'affinité des composés d'arôme notamment pour la β -lactoglobuline après traitement thermique (75°C pendant 10 et 20 min) s'est montrée plus faible que leur affinité pour la protéine native (O'Neill & Kinzella, 1987).

1.7.4.2. Effet d'une variation de pH

Dans des milieux contenant des protéines, une variation de pH peut affecter la structure protéique, ce qui entraîne une modification des interactions physico-chimiques avec les composés d'arôme. Parmi les protéines laitières, les caséines sont particulièrement sensibles aux variations de pH. Leur comportement lors de l'acidification du milieu a d'ailleurs été résumé dans les sous-sections 1.1.1 et 1.2.2.2.2. La rétention des composés d'arôme hydrophobes pourrait notamment être amplifiée par une meilleure exposition des régions hydrophobes des caséines, suite à l'acidification du milieu (Nongonierma *et al.*, 2006). Concernant la β -lactoglobuline, la rétention de composés d'arôme s'est déjà montrée généralement augmentée avec l'augmentation du pH de 3 à 9, alors qu'elle s'est montrée dramatiquement diminuée à pH = 11 (Jouenne & Crouzet, 2000). Ceci a été lié aux modifications structurales des protéines permettant un meilleur accès aux sites de liaison (poche hydrophobe et site de liaison externe secondaire) avec l'augmentation du pH, alors qu'une dénaturation alcaline de la protéine serait responsable de la perte de rétention à pH = 11.

1.8. LIBÉRATION D'ARÔME D'UNE ÉMULSION

Les valeurs de coefficient de transfert de masse et de coefficient de partage vapeur-liquide d'une émulsion dépendent de sa composition et de sa microstructure, de même que des caractéristiques physico-chimiques des phases constituant l'émulsion, par exemple la polarité et la viscosité (McClements, 2004)

1.8.1. Composition d'une émulsion et libération d'arôme

L'effet des constituants majeurs des aliments sur la libération d'arôme a été abordé dans la section précédente. Des travaux portant en partie sur l'effet de la composition d'une émulsion sur la libération d'arôme ont notamment montré une libération fortement diminuée d'un composé d'arôme hydrophobe (linalol) avec l'augmentation de la fraction

d'huile de l'émulsion, alors que cet effet s'est montré faible pour un composé d'arôme à caractère polaire (diacétyle) (Miettinen *et al.*, 2002). La nature de l'émulsifiant s'est aussi déjà montrée influente sur la libération d'arôme (Charles *et al.*, 2000b). Utiliser un émulsifiant de nature protéique, notamment, provoque une diminution de la libération des composés qui interagissent avec la protéine en question.

1.8.2. Structure d'une émulsion et libération d'arôme

La structure de l'émulsion peut se caractériser par la nature de la phase dispersée (eau ou huile), la superficie de l'interface huile-eau, ainsi que par la nature et la quantité d'agent tensioactif adsorbé à l'interface. Salvador *et al.* (1994) ont trouvé des changements dans la volatilité et le taux de libération du diacétyle (composé polaire) entre des émulsions huile-dans-eau et eau-dans-huile préparées avec la même quantité d'huile, le même émulsifiant et des tailles de gouttelettes comparables. Ils ont observé que la libération du diacétyle était plus importante lorsque l'eau constituait la phase continue. Ces résultats montrent que la nature de la phase dispersée joue un rôle dans la volatilité et le taux de libération de composés d'arôme.

Les travaux de Land (1978) ont montré que dans un milieu émulsifié, le coefficient de partage vapeur-liquide du sulfure de diméthyle dans la phase vapeur était significativement inférieur à celui mesuré pour un milieu biphasique non émulsifié. Considérant que la présence d'une petite quantité d'émulsifiant dans un système non émulsifié n'avait pas eu d'effet sur le coefficient de partage vapeur-liquide du sulfure de diméthyle, la diminution de la volatilité de ce composé dans les émulsions laissait supposer qu'il était retenu à l'interface huile-eau. Ces travaux suggèrent que la structure de l'émulsion puisse avoir une influence sur la libération d'arôme. D'ailleurs, d'autres auteurs ont obtenu des résultats allant dans le même sens pour la 2-nonanone ($\log P = 2,8$) en utilisant du caséinate de sodium comme émulsifiant (Voilley *et al.*, 2000). L'adsorption des protéines à l'interface huile-eau pourrait notamment modifier l'accès à leurs sites de liaison pour les composés d'arôme, ce qui modifierait la rétention de ces derniers. Or l'effet de l'adsorption des protéines sur la libération d'arôme dépendrait du type de protéine et du composé d'arôme. En effet, la 2-

nonanone par exemple s'est déjà montrée, au contraire, moins retenue dans un système émulsifié contenant de la β -lactoglobuline comparativement à un système non émulsifié (Espinosa Diaz, 1999; Seuvre *et al.*, 2000). Landy *et al.* (1996) n'ont obtenu aucune différence significative entre les coefficients de partage du butanoate et de l'hexanoate d'éthyle pour des systèmes émulsifiés ou non. Cela pourrait toutefois s'expliquer par la faible quantité de caséinate de sodium adsorbé à l'interface liquide/liquide (0,5 mg/m² de trioléine), ou encore par la forte affinité des composés d'arôme pour la matière grasse, donc leur faible concentration présente dans la phase aqueuse, qui aurait masqué l'effet de l'émulsifiant.

D'autres auteurs ont aussi exploré l'effet de la structure d'une émulsion huile-dans-eau sur la libération d'arôme, en s'intéressant particulièrement à l'effet de l'aire interfaciale (Charles *et al.*, 2000a; Charles *et al.*, 2000b). D'une part, ces travaux effectués sur des modèles de vinaigrette ont montré une augmentation de la libération de composés d'arôme hydrophobes avec la diminution de la taille des gouttelettes d'huile (plus grande énergie d'émulsification). Vu l'augmentation de l'aire interfaciale, cela a été attribué à un meilleur potentiel de transfert des composés d'arôme hydrophobes vers la phase aqueuse, et conséquemment vers la phase vapeur. Une plus faible concentration de protéines à l'interface, associée aux émulsions présentant une aire interfaciale plus importante (plus petites gouttelettes), a aussi été suggérée comme élément d'explication. D'autre part, les résultats ont révélé que les composés d'arôme plus hydrophiles étaient, à l'inverse, moins libérés avec la diminution de la taille des gouttelettes. Cela a été attribué à une augmentation de la viscosité du milieu dû à la diminution de la taille des gouttelettes d'huile. La structure de l'émulsion a également montré un effet sur la perception des différentes notes aromatiques des vinaigrettes modèles (Charles *et al.*, 2000a). Les auteurs ont conclu de leur étude sur l'influence de la structure de vinaigrettes sur la libération d'arôme, que des études complémentaires sur des systèmes plus simples seraient nécessaires pour comprendre l'influence respective de la taille des gouttelettes, de la concentration de protéines à l'interface et de la viscosité.

Des études ont tenté d'approfondir l'influence de la présence de protéines dans une émulsion sur le transfert des composés d'arôme aux interfaces. À l'aide d'une cellule de diffusion rotative, certains auteurs ont mesuré le transfert de composés d'arôme hydrophobes d'une phase aqueuse vers une autre phase aqueuse, au travers d'une phase lipidique (Landy *et al.*, 1998 ; Rogacheva *et al.*, 1999). Landy *et al.* (1998) ont montré que la présence de caséinate de sodium à l'interface miglyol-eau augmentait la résistance au transfert à l'interface pour les plus hydrophobes des esters d'éthyle étudiés, le butanoate ($\log P = 1,8$) et l'hexanoate ($\log P = 2,8$) d'éthyle, mais pas pour l'acétate d'éthyle ($\log P = 0,7$). Rogacheva *et al.* (1999) ont montré que la β -lactoglobuline augmentait la résistance au transfert à l'interface miglyol-eau pour la 2-nonanone ($\log P = 2,9$) et le benzaldéhyde ($\log P = 1,5$), montrant toutefois une résistance au transfert beaucoup plus prononcée pour le composé le plus hydrophobe (2-nonanone).

Bien que la libération d'arôme des émulsions ait été largement étudiée, l'effet de ses paramètres de structure, sur la cinétique de libération d'arôme particulièrement, demeure à approfondir.

1.9. LIBÉRATION D'ARÔME D'UN GEL

Considérant les constatations des dernières décennies à l'effet que l'organisation des macromolécules dans une matrice alimentaire influencerait le comportement des composés d'arôme, de même que la texture d'un aliment influencerait la perception des arômes, l'hypothèse d'un effet potentiel de la structure du produit sur sa saveur a été émise (Lubbers, 2006). Les gels sont évidemment touchés par cette hypothèse. À l'heure actuelle, une question d'intérêt concerne la recherche des mécanismes par lesquels l'augmentation de viscosité ou de texture des aliments provoque une réduction de la perception des arômes ou des odeurs.

1.9.1. *Texture d'un gel et perception d'arôme*

La texture d'un gel influence la perception des arômes. Des travaux ont montré que l'intensité d'arôme perçue diminuait notamment avec l'augmentation de la fermeté d'un gel (Baek *et al.*, 1999; Weel *et al.*, 2002; Mestres *et al.*, 2005; Mestres *et al.*, 2006). Or ces auteurs ont trouvé, par l'analyse simultanée de l'air dans la cavité nasale, que malgré la notation moyenne du jury montrant des différences d'intensité d'arôme perçue selon la fermeté du produit, aucune différence significative n'était mise en évidence par analyse instrumentale de la libération d'arôme absolue. Différentes hypothèses ont été proposées pour expliquer ces résultats. D'une part, une moindre intensité perçue d'un gel plus ferme pourrait être liée aux interactions psychophysiques entre les sens (Weel *et al.*, 2002). La texture des gels plutôt que la concentration d'arôme dans la cavité nasale déterminerait la perception de l'intensité d'arôme. D'autre part, Mestres *et al.* (2005) basent leur hypothèse sur des analyses plus spécifiques des patrons individuels de libération d'arôme chez les différents juges en cours de mastication. En accord avec les travaux de Baek *et al.* (1999), leurs données montrent un taux différent de libération d'arôme selon la fermeté du gel, avec un retard de libération pour les gels plus fermes. Mestres *et al.* (2005) invoquent l'influence importante de la première impression sur la notation de l'intensité perçue par les juges. Une moindre intensité perçue d'un gel plus ferme pourrait être liée à une libération d'arôme retardée à partir de ce gel, due à une déstructuration plus lente pendant la mastication de la matrice et donc à la formation plus lente de nouvelles surfaces (Baek *et al.*, 1999; Mestres *et al.*, 2005; Mestres *et al.*, 2006). Or, la microstructure de la matrice elle-même peut influencer la libération d'arôme (Rega *et al.*, 2002; Seuvre *et al.*, 2004; Juteau *et al.*, 2004a), ce qui pourrait aussi potentiellement affecter la perception d'arôme lors de la consommation de gels de différentes textures.

1.9.2. *Structure d'un gel et libération d'arôme*

Deux phénomènes ont été proposés pour expliquer le comportement des composés d'arôme dans des milieux visqueux à base de macromolécules (polysaccharides ou protéines). La nature des macromolécules serait impliquée, d'abord directement, en engageant des

interactions avec les composés d'arôme, puis en modifiant les conditions de transfert de masse à travers le système (Lubbers, 2006). L'état d'organisation de la matrice, provoquée par des macromolécules, résulte en un enchevêtrement plus ou moins dense, ou en un réseau tridimensionnel établi entre un nombre plus ou moins important de chaînes de macromolécules.

Ainsi dans un gel, d'un point de vue physico-chimique, la libération des composés d'arôme dépend de leur affinité avec les constituants du produit et de la proportion de ces derniers. Mais elle dépend aussi, comme pour toute matrice alimentaire, du niveau de complexité structurale du produit, dû notamment aux interactions entre les macromolécules, qui modifie la nature et le nombre de sites de liaison disponibles pour les composés d'arôme (Druaux & Voilley, 1997). De plus, d'un point de vue dynamique, le transfert des composés d'arôme est conditionné par leur renouvellement à l'interface produit-vapeur, celui-ci étant relié à la migration des composés d'arôme dans le produit (Lubbers, 2006). Dans un système visqueux, la force de frottement peut être estimée entre les macromolécules et les composés d'arôme. Dans un système gélifié, cette limitation des échanges a été caractérisée par une restriction à la diffusion des composés d'arôme dans la matrice, dû à un encombrement stérique. La présence d'un réseau tridimensionnel peut réduire la diffusivité des composés volatils, ralentissant ainsi leur migration vers l'interface produit-vapeur (Rega *et al.*, 2002). Ainsi, la structure gélifiée de matrices de polysaccharides, notamment, contribuerait à augmenter la rétention de composés d'arôme (Rega *et al.*, 2002 ; Juteau *et al.*, 2004a) et causerait un ralentissement de leur transfert à l'interface vapeur-produit (Juteau *et al.*, 2004a).

Des travaux ont considéré l'effet de la structure d'un gel laitier sur la libération d'arôme (Seuvre *et al.*, 2004). Seuvre *et al.* (2004) ont comparé le pourcentage de libération de la 2-nonanone après un temps donné à partir d'un gel de β -lactoglobuline et d'un même gel déstructuré. Ils ont mis en évidence une libération légèrement, mais significativement plus grande pour le gel déstructuré, ce qui suggère que le réseau protéique d'un tel gel puisse gêner la libération d'arôme dans l'espace de tête.

2.1. HYPOTHÈSE GÉNÉRALE

La microstructure d'un aliment a un effet sur la libération d'arôme, particulièrement sur sa composante cinétique.

2.2. BUT

Comparer l'effet de différentes microstructures de produits alimentaires laitiers, obtenues en modulant des paramètres de procédé, sur la libération d'arôme.

2.3. OBJECTIFS

- Développer une méthode instrumentale pour mesurer la libération d'arôme dans des conditions dynamiques.
- Évaluer l'effet de paramètres physiques d'émulsions stabilisées par des protéines lactiques sur la cinétique de libération d'un composé d'arôme hydrophobe.
- Mesurer l'effet d'un traitement thermique du lait et de la gélification par acidification sur la libération de composés d'arôme.
- Étudier le lien entre la fermeté (microstructure) des gels acides et la libération de composés d'arôme.

CHAPITRE 3 – EFFET DES CONDITIONS D’HOMOGENÉISATION ET DE COMPOSANTES STRUCTURALES D’ÉMULSIONS LIQUIDES SUR LA CINÉTIQUE DE LIBÉRATION D’ARÔME.

L’étude au cœur des travaux décrits dans ce chapitre porte sur les émulsions. Elle se rattache au but de l’ensemble de la démarche, consistant à comparer l’effet de différentes microstructures de produits alimentaires laitiers, obtenues en modulant des paramètres de procédé, sur la libération d’arôme. Les traitements étudiés (paramètres de procédé) ont été sélectionnés pour leur incidence sur la microstructure du produit fini : la pression d’homogénéisation, la fraction d’huile à l’homogénéisation et la source de protéines. Les travaux décrits incluent d’abord une partie importante de travaux préliminaires, puisque qu’une méthode pour caractériser la libération d’arôme dynamique a dû être mise au point avant d’amorcer l’étude envisagée.

3.1 RÉSUMÉ

Une méthode a été développée pour caractériser la libération d’arôme dynamique. Cette méthode a été utilisée pour évaluer l’effet, sur la libération de l’hexanoate d’éthyle, de paramètres physiques d’émulsions stabilisées à partir de protéines laitières, modulés en variant les conditions d’homogénéisation. Les conditions choisies ont permis d’obtenir des émulsions présentant des caractéristiques physiques distinctes. La méthode développée s’est montrée très sensible. Les propriétés physiques de l’émulsion ont montré généralement peu d’effets sur les paramètres de libération d’arôme étudiés. Dans des conditions non agitées cependant, la libération d’arôme s’est vue diminuée avec une augmentation de la pression d’homogénéisation. Une forte relation négative trouvée, entre la libération d’arôme et la fraction de caséines adsorbées particulièrement, suggère que le changement de conformation des caséines, lors de leur adhérence à l’interface, augmente leur affinité pour l’hexanoate d’éthyle. Les résultats sont discutés en regard des propriétés physico-chimiques des milieux étudiés et de leurs composantes.

3.2. INTRODUCTION

La réduction du gras dans les produits légers conduit bien souvent en un profil aromatique perçu comme étant non équilibré, comparativement au produit régulier. Les composés d'arôme sont majoritairement hydrophobes, et la présence de matière grasse a un effet dominant sur leur libération. La libération d'arôme d'un produit faible en gras est plus rapide et plus intense, mais moins persistante (Brauss *et al.*, 1999).

Les protéines laitières sont souvent utilisées comme ingrédients pour leurs propriétés fonctionnelles, comme leur capacité émulsifiante et/ou stabilisante dans un système alimentaire « lipides dispersés ». Les protéines laitières peuvent lier des composés d'arôme par interactions hydrophobes (O'Neill & Kinsella, 1987; Le Thanh *et al.*, 1992; Landy *et al.*, 1995; Fischer & Widder, 1997; Guichard & Langourieux, 2000) ou encore par voie chimique, spécialement dans le cas des aldéhydes (Plug & Haring, 1993; Bakker, 1995; Fischer & Widder, 1997). Dû à leurs propriétés fonctionnelles, ces protéines se retrouvent souvent, comme éléments de structure dans les aliments, et pourraient aussi influencer la libération d'arôme de cette façon. Par exemple, la présence de β -lactoglobuline ou de caséinate de sodium à l'interface huile-eau augmente la résistance au transfert des composés d'arôme hydrophobes de l'huile à l'eau (Landy *et al.*, 1998; Rogacheva *et al.*, 1999; Voilley *et al.*, 2000), ce qui pourrait notamment être une piste pour ralentir la libération d'arôme. Des études approfondies, à propos de l'effet des propriétés physiques d'une émulsion sur la libération d'arôme, pourraient conduire à des nouvelles approches permettant de moduler le profil aromatique de produits réduits en gras.

L'objectif de l'étude était d'évaluer l'effet de paramètres physiques d'émulsions stabilisées à partir de protéines laitières, modulés en variant les conditions d'homogénéisation, sur la cinétique de libération d'arôme.

3.3. TRAVAUX PRÉLIMINAIRES

3.3.1. *Mise au point d'une méthode pour caractériser la libération d'arôme dynamique*

Considérant l'objectif de l'étude et les ressources à notre disposition, une méthode devait d'abord être mise au point pour comparer des profils de libération d'arôme. Un système a donc été conçu pour caractériser des cinétiques de libération d'arôme à partir de produits liquides, sous l'influence de conditions se rapprochant des conditions en bouche en contexte de consommation. Ce système, comprenant une cellule à échantillon connectée à un chromatographe en phase gazeuse, permet d'enregistrer une cinétique de libération d'arôme dynamique (balayage en continu de l'espace de tête) dans des conditions de température et d'agitation contrôlées. Tel que suggéré par Elmore & Langley (1996), les aspects suivant ont été considérés pour la conception du montage expérimental et pour le développement de la méthode d'analyse : l'inertie des matériaux constituant la cellule contenant l'échantillon, la taille et la forme de la cellule, l'introduction de l'échantillon, l'étanchéité au gaz, les raccordements à l'appareil d'analyse (chromatographe en phase gazeuse), le débit du gaz vecteur, l'agitation de l'échantillon, la température et la facilité de modification. Plusieurs essais ont été nécessaires pour identifier les limites du système et s'assurer du contrôle des différents paramètres. Cette section décrit le montage expérimental conçu et la méthode d'analyse développée, tout en résumant les motivations liées aux choix des conditions d'analyse.

3.3.1.1. *Montage et conditions d'analyse*

3.3.1.1.1. *Montage – cellule et raccordements*

Une cellule de verre s'inspirant des travaux de Elmore et Langley (1996), a été spécialement fabriquée (Montreal Glassblowing Inc., Ile Perrot, QC, Canada) (Figure 3.1). Le volume interne total du récipient à échantillon cylindrique de la cellule d'analyse est de 56 mL (d.i. = 3,3 cm; h = 6,5 cm). Ce dernier est amovible et peut ainsi être dissocié de la partie supérieure de la cellule pour permettre l'introduction de l'échantillon. Du ruban de

Téflon placé à la jonction des deux pièces assure l'étanchéité au gaz de la cellule. À l'aide de tubes de jonction métal-verre (d.e. = 0,64 cm), de capillaire inerte de verre de silice (d.i. = 0,32 mm) et d'adaptateurs en acier inoxydable, la cellule a été reliée à un chromatographe en phase gazeuse (HP 6890, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, États-Unis d'Amérique) muni d'un détecteur à ionisation de flamme (DIF). D'un côté la cellule a été reliée à la sortie de l'injecteur, de l'autre côté, elle a été reliée à l'entrée du détecteur dans le four, sans passer par une colonne. Un système de valve à deux voies intégré à la cellule permet au gaz vecteur arrivant de l'injecteur de contourner le récipient à échantillon lorsque les valves sont fermées, ou de balayer l'espace de tête puis de se rendre au détecteur lorsque les valves sont ouvertes. Certains éléments du montage illustré à la figure 3.1 sont liés au contrôle de la température et de l'agitation. Ils seront donc abordés dans les sous-sections Conditions de température (3.3.1.1.2) et Conditions d'agitation (3.3.1.1.3).

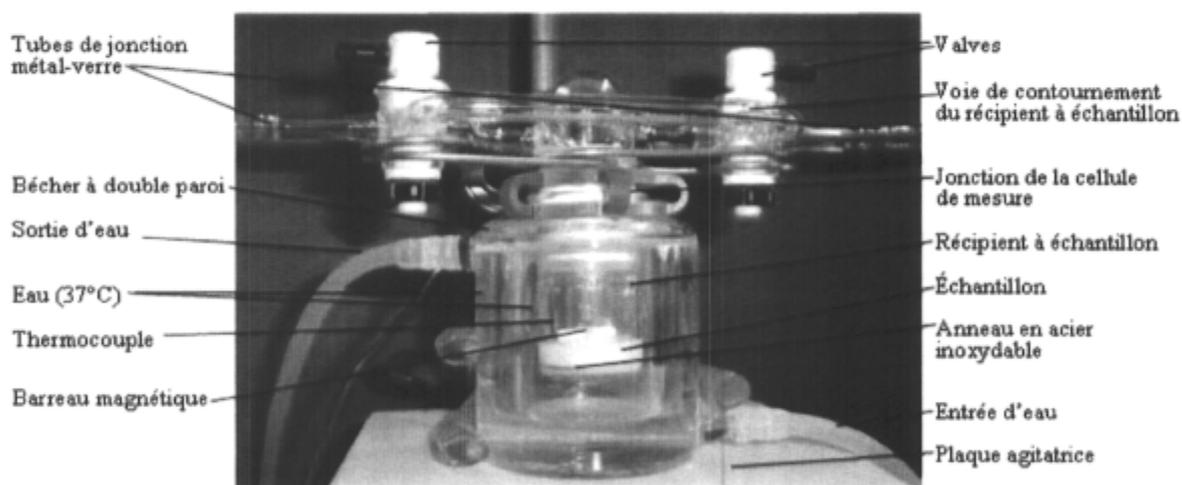


Figure 3.1. Dispositif de mesure de la libération d'arôme dynamique dans des conditions de température et d'agitation contrôlées : montage expérimental connecté au chromatographe en phase gazeuse.

3.3.1.1.2. Conditions de température

Un système a été mis au point pour assurer le contrôle de la température escomptée en cours d'analyse (37°C). Un bécher à double paroi d'une capacité de 100 mL (Kontes, VWR Canlab) rempli d'eau aux deux tiers (65 mL) sert de bain thermorégulateur dans lequel la cellule à échantillon est introduite. (Figure 3.1) La cavité interne de sa double paroi est alimentée par l'eau d'un bain adjacent régulée à 38°C au moyen d'un thermoplongeur (LAUDA type B : précision $\pm 0.5^\circ\text{C}$). L'eau circule en continu entre le bain et la paroi du bécher acheminée par des tuyaux flexibles (tubes Tygon, d.i = 0,64 cm) assistés d'une pompe péristaltique (Watson-Marlow Bredel Pumps Inc.). Un écart constant de température de 1°C est obtenu entre l'eau du bain d'alimentation et l'eau contenue dans la cavité du bécher où est introduite la cellule à échantillon. Ceci est dû à une perte de chaleur qui relève notamment du parcours de l'eau dans le système. Pour s'assurer du contrôle de la température de l'eau dans laquelle est introduite la cellule à échantillon, un thermocouple suit en continu son évolution.

Température : choix des conditions d'analyse

La température corporelle (37°C) a été choisie pour se rapprocher des conditions de température en bouche lors de la consommation de produits liquides. Différents contenants en guise de bain thermorégulateur pour la cellule à échantillon ont été essayés. Un bécher à double paroi muni d'une cavité étroite (d.i. = 4,7 cm; h = 7,3 cm) pour introduire la cellule de mesure a été choisi dans le but d'éviter le plus possible les pertes de chaleur et d'assurer ainsi un meilleur contrôle de la température en cours d'analyse.

3.3.1.1.3. Conditions d'agitation

Le montage, soutenu par des pinces fixées à un support universel, est installé sur une plaque agitatrice (Cimarec 2 Thermolyne) (Figure 3.1). Celle-ci permet l'agitation d'un barreau magnétique cylindrique de 2,22 cm de diamètre et de 1,27 cm de hauteur (Ficher « Cross-type », Fisher Scientific Company) introduit dans la cellule à échantillon. Le barreau magnétique est maintenu en position centrale au fond de la cellule cylindrique de

3,3 cm de diamètre par un anneau en acier inoxydable de fabrication maison (d.e. = 3.1 cm; d.i. = 2.2 cm). L'échantillon (4 mL) étant introduit en périphérie du barreau magnétique sans le recouvrir, la superficie du contact de l'échantillon avec l'espace de tête est de 4,75 cm².

Agitation : choix des conditions d'analyse

Le choix d'un barreau d'agitation cylindrique, maintenu en position centrale au fond de la cellule, a permis de mieux contrôler l'agitation du produit. Différentes vitesses d'agitation ont été testées, variant de 200-220 à 480-500 rpm, telles que mesurées à l'aide d'un tachomètre. L'agitation contribue notamment à éliminer le gradient de concentration d'arôme dans un produit stagnant (Overbosch *et al.*, 1991). Ce gradient limite le taux de libération qui est alors gouverné, dans un tel produit, par le phénomène de diffusion. En favorisant le transport convectif des composés d'arôme dans le produit, l'agitation contribue à maintenir un écart de concentration élevé à l'interface produit-vapeur, permettant ainsi d'augmenter considérablement le taux de libération d'arôme. Le transport convectif des composés d'arôme étant favorisé avec l'augmentation de la vitesse d'agitation, l'épuisement en arôme du milieu est accéléré quand la vitesse d'agitation augmente.

Considérant l'implication d'une simple rotation d'un cylindre dans un autre immobile, le taux de cisaillement (γ) a pu être calculé (Équation 3.1). La vitesse d'agitation de 480-500 rpm a été choisie. Elle correspond à un taux de cisaillement de 100 s⁻¹, se situant dans une gamme de taux de cisaillement associés à la consommation de liquides et d'aliments visqueux (Shama & Sherman, 1973).

$$\gamma = \frac{r \cdot \omega}{\Delta r} = \frac{0,011 \cdot \left(\frac{480 \cdot 2 \cdot \pi}{60} \right)}{0,0165 - 0,011} = 100 \text{ s}^{-1} \quad \text{Équation 3.1}$$

Où γ est le taux de cisaillement (vitesse de déformation); r le rayon du barreau d'agitation (m); ω la vitesse angulaire du barreau d'agitation ($\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$) et Δr , la distance entre la paroi de la cellule et la périphérie du barreau d'agitation (m).

3.3.1.1.4. Conditions d'opération du chromatographe

Les conditions d'opération du chromatographe sont les suivantes : débit du gaz vecteur (H_2) de $25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; débit de l'hydrogène pour le détecteur de $35 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; débit de l'air de $350 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; débit du gaz de « *make up* » (N_2) de $25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; température de l'injecteur et du four de 37°C (même température que le produit analysé); température du DIF de 250°C . L'acquisition des données est réalisée à l'aide du logiciel HP Chemstation (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, États-Unis d'Amérique).

Débit du gaz vecteur : choix des conditions d'analyse

Le débit du gaz transportant les composés volatils vers le détecteur (gaz vecteur : H_2) devait être suffisant pour permettre le renouvellement de l'espace de tête en un temps raisonnable. Toutefois, toute fuite du système devait être évitée et un débit trop élevé augmentait la pression et générait des fuites provoquant l'arrêt du chromatographe. Après des essais de débit variant de 2 à $30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, un débit de $25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ a été choisi. Ce débit correspond à la valeur affichée par le chromatographe et a été validé par des mesures, à l'aide d'un débitmètre à bulle. Tout en permettant d'assurer un contrôle des fuites de gaz, un débit de $25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ permet le passage, dans l'espace de tête, d'un volume de gaz vecteur (H_2) équivalant au volume libre du récipient à échantillon (47 mL) en moins de 2 minutes. De plus, dans les conditions de température et d'agitation adoptées, et pour les émulsions-types à l'étude (sous-section 3.3.2. Sélection des émulsions à l'étude), ce débit permet d'obtenir une ligne de détection lisse sans bruit excessif. Cela suggère qu'il n'y ait pas saturation au détecteur dans les conditions choisies pour ce projet.

3.3.1.2. Cueillette et traitement des données

3.3.1.2.1. Chromatogramme obtenu : courbe de libération d'arôme

Considérant que les composés d'arôme arrivent directement au détecteur, aucune identification des composés ne peut être effectuée dans ces conditions. Ainsi, un seul composé d'arôme est introduit dans l'échantillon analysé et l'intérêt demeure dans le profil de sa libération dans le temps. Une détection en continu du composé sur une période définie résulte en un chromatogramme sous forme d'une courbe. Cette courbe représente l'évolution du signal électrique (pA) provenant du détecteur, celui-ci étant lié à la concentration du composé d'arôme dans la phase gazeuse analysée, en fonction du temps (min) (Figure 3.2).

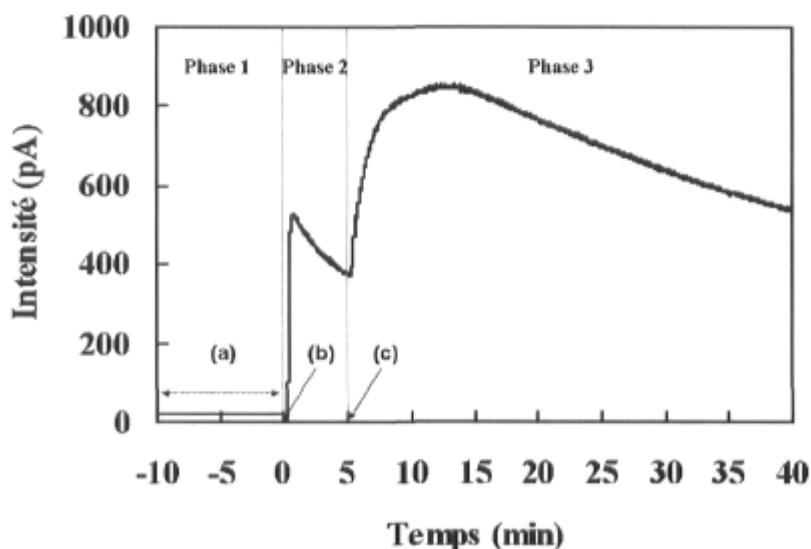


Figure 3.2. Profil de libération de l'hexanoate d'éthyle (0,01%) à partir d'une émulsion à 2% d'huile de tournesol stabilisée avec du caséinate de sodium (0,102%). a) Stabilisation de la température de l'échantillon; b) Ouverture des valves; c) Démarrage de l'agitation.

Trois phases se dégagent de la courbe obtenue. Au cours de la première phase (-10 à 0 min) les valves sont fermées. Considérant que le gaz vecteur contourne le récipient à échantillon, le composé d'arôme n'est pas détecté. Cette phase correspond ainsi à la ligne de base et sa durée de 10 min permet d'assurer la stabilisation de la température de l'échantillon analysé. À 0 min, les valves sont ouvertes, ce qui marque le début de la deuxième phase (0 à 5 min). Le détecteur reçoit alors les composés d'arôme ayant été libérés dans l'espace libre de la cellule au cours de la première phase, ce qui explique la montée abrupte de la courbe. Par la suite, jusqu'à 5 min, la concentration d'arôme dans l'espace de tête s'affaiblit avec l'entraînement en continu des composés par le gaz vecteur. La diminution de l'intensité d'arôme indique que le transfert d'arôme du produit vers la phase vapeur ne peut compenser pour l'entraînement des composés par le gaz vecteur (Giroux *et al.*, 2007). Cette phase permet d'assurer qu'une concentration de base de composé d'arôme, liée à sa libération à partir de l'échantillon non agité à 37°C, circule dans l'ensemble du système, tendant à devenir uniforme et constante. À 5 min, l'agitation est démarrée, ce qui marque le début de la troisième phase (5 à 40 min). L'agitation du produit augmente le transport convectif des composés d'arôme dans la phase aqueuse, ce qui contribue à augmenter le taux de transfert aux interfaces eau-vapeur et huile-eau (Giroux *et al.*, 2007). L'agitation a ainsi un effet important sur le profil de la courbe. Considérant que la libération d'arôme en bouche implique aussi une agitation (Overbosch *et al.*, 1991), cette phase a particulièrement attiré notre attention.

Deux équations cinétiques de premier ordre ont été ajustées aux données expérimentales dans les parties descendantes de la courbe : une aux données de la deuxième phase et l'autre aux données de la troisième phase (Figure 3.3). Des paramètres d'intérêt ont ensuite été extraits de ces modèles.

3.3.1.2.2. Modélisation de la courbe de libération d'arôme

Deuxième phase

La deuxième phase est marquée par l'ouverture des valves après 10 min d'équilibration de l'échantillon, couplée à une détection de l'intensité d'arôme abruptement élevée. Alors que l'agitation n'est pas encore activée, la concentration d'arôme dans l'espace de tête s'affaiblit avec l'entraînement en continu des composés par le gaz vecteur. Le débit de ce dernier de même que le volume de la chambre ont alors une influence importante sur la pente de cette section descendante de la courbe. Une équation cinétique de premier ordre a été ajustée au profil d'intensité (I) obtenu pour la deuxième phase, dans sa partie descendante (coefficient de corrélation moyen > 0.99), à l'aide du logiciel Table Curve 2D (v5.0, AISN software Inc.) (Équation 3.2; Figure 3.3). L'affaiblissement de la courbe semble s'effectuer jusqu'à une valeur à l'infini différente de zéro (constante a : valeur « plateau »). Cette valeur est le paramètre qui a attiré notre attention dans la deuxième phase de la courbe. Sans toutefois représenter une valeur thermodynamique, elle dépend des interactions du composé d'arôme avec le milieu et du partage entre les phases à l'équilibre (à 37°C). Puisqu'elle est associée à une mesure cinétique dans un système dynamique (balayage en continu de l'espace de tête), cette valeur de libération d'arôme dépend aussi des phénomènes de diffusion et de transfert aux interfaces.

$$I = a + I_0 \cdot EXP(-ct) \quad \text{Équation 3.2}$$

Où I_0 est l'intensité maximale (ordonnée à l'origine); a est la valeur à l'infini (valeur « plateau »); c est la constante de vitesse de décroissance de la libération d'arôme et t, le temps.

Troisième phase

Considérant que la persistance aromatique représentait un intérêt central dans ce projet, la partie descendante de la troisième et dernière phase de la courbe a été prise en considération. Une équation cinétique de premier ordre a donc aussi été ajustée au profil

d'intensité (I) obtenu pour la troisième phase de la courbe, dans sa partie descendante (coefficient de corrélation moyen > 0.99), à l'aide du logiciel Table Curve 2D (v5.0, AISN software Inc.) (Équation 3.3; Figure 3.3). Pour cette phase, l'intensité décroît pour atteindre la valeur de zéro à l'infini. L'équation est donc semblable au modèle choisi pour la deuxième phase (Équation 3.2), excluant toutefois la constante a (a = 0) :

$$I = I_0 \cdot EXP(-ct) \qquad \text{Équation 3.3}$$

Les paramètres suivant ont été extraits de ce modèle : l'intensité d'arôme maximale (I_0), où $t = 5.3$ min, et le taux d'affaiblissement de l'intensité, représenté par la constante de vitesse de décroissance (c). L'indice de persistance (IP) a été défini par l'inverse de la constante de vitesse de décroissance :

$$IP = 1/c \qquad \text{Équation 3.4}$$

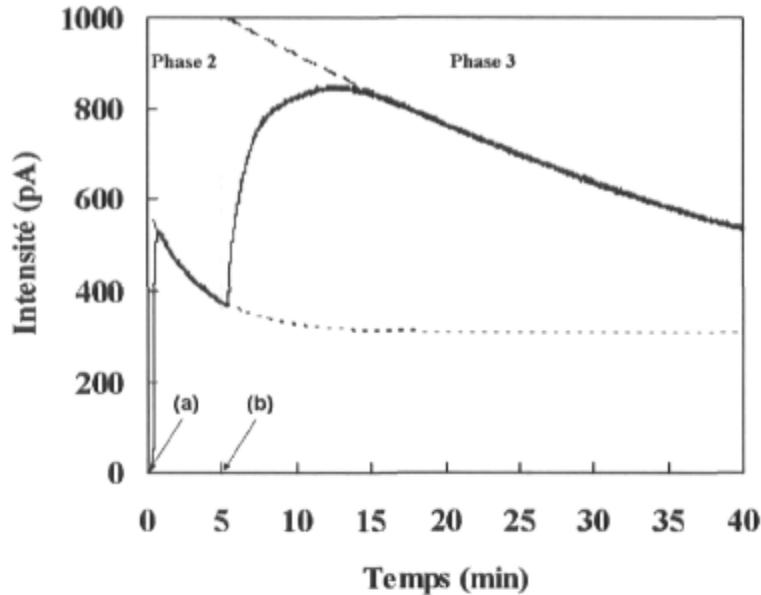


Figure 3.3. Profil de libération de l'hexanoate d'éthyle (0,01%) à partir d'une émulsion à 2% d'huile de tournesol stabilisée avec du caséinate de sodium (0,102%). (—) Données expérimentales; (···) Courbe d'affaiblissement prédite par le modèle ajusté à la phase 2 de la courbe expérimentale : $I = a + I_o \cdot EXP(-ct)$; (---) Courbe d'affaiblissement prédite par le modèle ajusté à la phase 3 de la courbe expérimentale: $I = I_o \cdot EXP(-ct)$. a) Ouverture des valves; b) Démarrage de l'agitation.

3.3.2. Sélection des émulsions à l'étude

Parallèlement à la mise au point de la méthode d'analyse de la libération d'arôme dynamique, plusieurs essais ont été effectués avec différentes émulsions aromatisées à l'hexanoate d'éthyle. La variation de la composition de l'émulsion montrait notamment un effet apparent sur des paramètres d'intérêt de la courbe de libération d'arôme, telles l'intensité maximale et la pente descendante (constante c) de la troisième phase (Figure 3.3). L'effet apparent de la concentration en huile, sur ces paramètres, se montrait très prononcé et dominait sur l'effet des autres éléments de composition. Par exemple, des concentrations d'huile de 2 à 9% ont été testées pour des émulsions contenant 3% de

protéines. À 9% d'huile dans l'émulsion, la rétention des composés d'arôme se montrait telle qu'une libération limitée similaire était obtenue pour des concentrations d'arôme variant de 50 à $260 \cdot 10^{-6}$ g / g d'émulsion finale (50 à 260 ppm). Vu la grande affinité des composés d'arôme hydrophobes, tel l'hexanoate d'éthyle ($\log P = 2,8$), pour la phase grasse, l'épuisement en arôme du milieu était alors très lent et la pente descendante recherchée (constante c de la phase 3) était à peine perceptible. Ainsi, une concentration moindre d'huile a été sélectionnée (2%), vu notre intérêt de vérifier notamment l'effet de paramètres physiques de l'émulsion sur la persistance aromatique. À 2% d'huile, la pente descendante de la troisième phase de la courbe expérimentale de libération d'arôme se montrait appréciable pour une concentration d'hexanoate d'éthyle de $100 \cdot 10^{-6}$ g / g d'émulsion finale (100 ppm). Ces conditions ont été choisies. Les données obtenues au cours des travaux préliminaires se sont montrées bien répétables et projetaient déjà une grande sensibilité de la méthode développée. Par la suite, hors du cadre de ce mémoire, des essais répétés sur des émulsions de compositions variées : différentes concentrations en protéines, en huile ou en arôme ont permis d'évaluer l'effet de chaque composante sur le profil de libération d'arôme dynamique, tout en validant la méthode d'analyse développée (Giroux *et al.*, 2007).

Pour une concentration d'huile de 2%, sélectionnée pour le présent projet, une concentration de protéines de 3% était trop élevée pour permettre une distinction marquée de la charge protéique, alors que celle-ci nous intéressait. En effet, un tel ratio protéine/huile de l'émulsion (3/2) résultait en un faible pourcentage de protéines, provenant de la solution protéique initiale, se trouvant adsorbées à l'interface huile-eau de l'émulsion. Dans ces conditions, une distinction aurait été difficile à faire entre l'effet des protéines adsorbées ou de la charge protéique et l'effet des protéines en solution sur la libération d'arôme. Pour permettre une distinction claire, un ratio protéine/huile de l'émulsion de 1/20 a été sélectionné.

3.4. MATÉRIEL ET MÉTHODES

3.4.1. Matériel

L'isolat de protéines de lactosérum BIPRO a été obtenu de Davisco Foods International Inc. (Eden Prairie, MN, États-Unis d'Amérique). Son contenu se résume ainsi : 93,6% protéines (71,24% β -lactoglobuline; 17,69% α -lactalbumine; 2,94% lactoferrine; 2,81% sérum albumine bovine (BSA); 2,58% immunoglobuline G (IgG); 2,74% inconnu); 4,34% humidité; 0,33% matière grasse; 0,553% Na; 0,129% K; 0,012% Ca; 0,002% Mg.

Le caséinate de sodium Alanate 180 a été obtenu de New Zeland Milk Products (Santa Rosa, CA, États-Unis d'Amérique). Son contenu se résume ainsi : 90,4% protéines; 4,5% humidité; 3,8% cendres; 1,1% matière grasse; 0,1% lactose; 1,2% Na; 0,8% P; 0,03% Ca.

L'huile de tournesol commerciale de marque maison a été obtenue de Loblaws (St-Hyacinthe, QC, Canada). L'hexanoate d'éthyle (pureté $\geq 99\%$) a été obtenu de Sigma-Aldrich (Oakville, ON, Canada).

3.4.2. Préparation des matrices

Les matrices à l'étude présentaient des proportions finales semblables d'huile, de protéines et de composé d'arôme :

- Une teneur en huile finale de 2% (v/v);
- Un ratio protéine/huile de l'émulsion de 1/20;
- Une concentration en composé d'arôme de $100 \cdot 10^{-6}$ g / g de produit (100 ppm).

Concernant la composition des émulsions, seule la source de protéines constituait un facteur à l'étude et pouvait varier : caséinate de sodium (CAS); isolat de protéines de lactosérum (IPL); isolat de protéines de lactosérum thermodénaturé (IPL – D). Puis, différentes conditions d'homogénéisations ont été utilisées pour produire des émulsions présentant des caractéristiques physiques distinctes. Ainsi les autres facteurs à l'étude étaient : la teneur en huile à l'homogénéisation : 2% ou 20% (v/v); la pression

d'homogénéisation : 1500/1500/500 psi et 4500/4500/500 psi; l'ajout de protéine après homogénéisation : aucun ajout de protéine et ajout de 0.1% (m/v) de protéine (Dans le cas d'ajout de protéine, le ratio protéine/huile de l'émulsion finale était de près de 1/10 plutôt que de 1/20.). Ce dernier facteur devait nous permettre de distinguer l'effet des protéines adsorbées à l'interface huile-eau de l'effet des protéines en solution sur la libération d'arôme.

3.4.2.1. Aromatisation de l'huile

La totalité de l'huile (500 mL) servant à effectuer les unités expérimentales d'une répétition complète du protocole a à chaque fois été aromatisée à 0.5% (v/v) d'hexanoate d'éthyle, un minimum de 24 h avant la fabrication des premières émulsions. Cette huile a été conservée, pour la durée de l'élaboration du protocole (~10 j) à température ambiante dans une bouteille de verre (500 mL) munie d'un bouchon étanche vissable.

3.4.2.2. Hydratation des poudres (j1)

Pour produire des émulsions à 2% d'huile présentant des propriétés physiques variées, certaines émulsions ont été fabriquées dès le départ à 2% d'huile alors que d'autres ont été produites à 20% d'huile et ont été diluées après fabrication. Pour respecter le ratio protéine/huile de l'émulsion visé de 1/20, une émulsion produite à 2% d'huile nécessitait une solution protéique initiale à 0,102%, et une émulsion produite à 20% d'huile nécessitait une solution protéique initiale à 1,25%. Les poudres laitières (IPL et CAS), ont été hydratées à concentration désirée (0,102% et 1,25% (m/v)) avec un tampon phosphate 0,01 M à pH = 6,7. Le mélange a été agité pendant deux heures à température ambiante, puis complété au volume dans un ballon volumétrique (250 mL). En prévision de l'étape de dénaturation des protéines du lactosérum (pour les émulsions stabilisées avec l'IPL – D : voir sous-section 3.4.2.3.), des solutions d'IPL à 4% ont été préparées en volume de 100 mL. Toutefois dans ce cas, la poudre a été hydratée simplement avec de l'eau déionisée (système Milli-Q, Millipore Canada Ltd., Nepean, ON, Canada) et le pH des solutions a été

ajusté à 7,5 avec du NaOH 0,1 N. Toutes les solutions protéiques ont été entreposées une nuit à 8°C.

3.4.2.3. Dénaturation des protéines de lactosérum (j2)

Pour les émulsions stabilisées avec l'IPL – D, les solutions d'IPL à 4% (pH 7,5) devaient subir un traitement thermique pour provoquer une dénaturation des protéines de lactosérum. Cette opération a donc été effectuée ou non, selon les unités expérimentales en préparation. La solution d'IPL à 4% a été introduite dans des tubes à essai de 30 mL de capacité (20 mL de solution/tube). Les tubes ont ensuite été introduits dans un bain d'eau thermostatée à 90°C pour une durée de 15 min. Puis, ils ont été refroidis sur glace et leur contenu a été mélangé à nouveau. Cette solution a été diluée à concentration protéique escomptée (0,102% ou 1,25%), avec du tampon phosphate 0,01 M (solutions à 0,102%) ou 0,0145 M (solutions à 1,25%) à pH = 6,7. Au besoin, le pH des solutions a été ajusté à 6,7 avec du HCl 0.1 N.

3.4.2.4. Filtration des solutions protéiques (j2)

Toutes les solutions protéiques ont été filtrées sur 0.45µm (incluant les solutions pour dilution, le cas échéant) pour éviter la présence d'amas de protéines.

3.4.2.5. Fabrication des émulsions (j2)

Pour minimiser les pertes d'arôme en cours de fabrication des émulsions, les solutions protéiques ont été refroidies à une température de 2°C ± 1°C, en déposant leur contenant (bouteille de verre de 250 mL) sur glace. Au moment de produire une émulsion (150 mL), la solution protéique et la proportion d'huile aromatisée correspondant à l'unité expérimentale en préparation ont été introduites dans un bécher d'une capacité de 250 mL. Le mélange (ratio protéine/huile de 1/20 (v/v)) a été pré-homogénéisé à l'Ultra Turrax T25 (IKA, Staufen, Allemagne) muni d'une tige S25-25GM, pendant 3 min à 8000 rpm. L'émulsion a ensuite été homogénéisée avec un homogénéisateur à pression Emulsiflex-C5

(Avestin, Ottawa, ON, Canada) selon les conditions désirées. Deux passes ont été effectuées à pression désignée (1500 ou 4500 psi), suivies d'une passe à 500 psi. L'émulsion a ensuite été introduite dans une bouteille de verre propre de 100 mL de capacité munie d'un bouchon étanche vissable. Le volume de la bouteille a été sélectionné le plus près possible du volume de l'émulsion, pour minimiser l'espace de tête.

3.4.2.6. Dilution des émulsions (j2)

Dans le cas d'une émulsion produite à 20% d'huile, une dilution 1/10 a été effectuée avec, selon l'unité, du tampon phosphate 0.01 M ou une solution protéique à 0.102% préparée et filtrée préalablement à cette fin. L'émulsion a ensuite été introduite dans une bouteille de verre propre de 250 mL de capacité munie d'un bouchon étanche vissable. Le volume de la bouteille a été sélectionné le plus près possible du volume de l'émulsion, pour minimiser l'espace de tête.

3.4.2.7. Entreposage - équilibration

Avant analyse, les émulsions ont été entreposées une nuit à 8°C pour équilibration.

3.4.2.8. Échantillonnage des solutions protéiques pour calcul des charges protéiques

Toutes les solutions protéiques (pour fabrication et pour dilution des émulsions) ont été échantillonnées en prévision des analyses Kjeldahl pour le calcul des charges protéiques (voir sous-section 3.4.3.3).

3.4.3. Méthodes et procédures d'analyse

3.4.3.1. Libération d'arôme (profil cinétique) (j3)

Le profil de libération d'arôme a été déterminé en utilisant la méthode d'analyse de l'espace de tête dynamique précédemment développée (voir section 3.3. TRAVAUX PRÉLIMINAIRES). La procédure suivie se résume comme suit.

Pour réduire au plus bas possible les pertes de composé d'arôme en cours de manipulation des échantillons, au jour de l'analyse, les produits étaient maintenus sur glace. Au moment de l'analyse, la température de l'émulsion était notée et devait être de $2^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ avant de commencer. Les valves étaient alors en position fermée et le gaz vecteur contournait le récipient à échantillon. Rapidement mais avec précautions, 4 mL d'émulsion étaient introduits dans la cellule à l'aide d'une pipette de verre de 5 mL. Le produit était introduit autour du disque agitateur et aucune gouttelette ne devait se trouver sur le disque ou sur les parois de la cellule. Aussitôt fait, le récipient à échantillon était délicatement remplacé et fixé à la partie supérieure de la cellule. Au même moment, l'acquisition des données était démarrée (logiciel HP ChemStation, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, États-Unis d'Amérique) et la cellule était aussitôt descendue dans le bain thermorégulateur (début de la phase 1). Un exemple de chromatogramme est illustré à la figure 3.2. Après 10 min, les deux valves étaient placées en position ouverte (début de la phase 2) en commençant par celle du côté de l'entrée de gaz. Cela permettait le balayage de l'espace de tête de l'échantillon et le transport des composés volatils jusqu'au détecteur. À cette étape, la température du bain thermorégulateur était notée et devait être de $37,0^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Après 5 min, l'agitation (taux de cisaillement constant de $\sim 100 \text{ s}^{-1}$) était alors activée (début de la phase 3). L'analyse se terminait après 40 min. Les valves de la cellule étaient alors placées en position fermée. Le récipient à échantillon était retiré et soigneusement nettoyé en vue des prochaines analyses.

La méthode développée a permis d'enregistrer l'intensité d'arôme libéré (pA) de l'émulsion en fonction du temps (Figure 3.2). Deux équations cinétiques de premier ordre ont été

ajustées aux données obtenues dans différentes phases de la courbe expérimentale (Figure 3.3). Les données correspondant aux paramètres d'intérêt ont ensuite été extraites des modèles pour passer à l'analyse statistique : valeur « plateau » (constante a) de la phase 2; intensité maximale (I_0) de la phase 3 et indice de persistance ($1/c$).

3.4.3.2. Taille des gouttelettes d'huile de l'émulsion (j3)

La taille des gouttelettes des émulsions a été déterminée par spectroscopie de corrélation photonique (SCP) avec un Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Inc., Southborough, MA, États-Unis d'Amérique). La SCP est une technique de mesure de la taille de particules colloïdales (diamètre hydrodynamique) par observation de leur mouvement brownien. Les particules sont illuminées par rayon laser et le taux de changement du modèle de chatoiement produit permet d'estimer la taille des particules. Avant analyse, les échantillons ont été dilués dans un tampon phosphate 0,01 M - pH = 6,7, contenant 0,5% (m/v) de sulfate dodécylque de sodium (SDS), jusqu'à obtention d'une fraction volumique d'huile de 4×10^{-5} . Le dispersant a été préalablement filtré sur $0.22 \mu\text{m}$, et la présence de SDS a notamment permis d'éviter les phénomènes de déstabilisation ou d'agrégation (Kinsella, 1984) qui auraient pu conduire à une modification du diamètre des particules. Les mesures ont été effectuées en quadruplicata.

3.4.3.3. Charge protéique

3.4.3.3.1. Centrifugation des émulsions et extraction des « sousnageants »

Rappelons qu'un échantillonnage de chaque solution protéique (solution initiale de l'émulsion et solution de dilution, le cas échéant) a été effectué avant homogénéisation, pour être en mesure de doser la concentration protéique initiale de l'émulsion. Au jour de l'analyse de la libération d'arôme, 10 mL d'émulsion ont été prélevés en triplicata, et introduits dans des tubes de polypropylène 18×98 mm (Beckman). Ces échantillons ont été centrifugés à 25200 g pendant 1 h à 5°C. Après centrifugation, la phase aqueuse (« sousnageant ») a été récupérée à l'aide d'une seringue jetable de 5 mL - aiguille 18G $\frac{1}{2}$,

en transperçant délicatement la paroi du tube à la base. Puis, un dosage des protéines dans la solution protéique initiale, de même que dans la phase aqueuse après centrifugation a permis de calculer la charge protéique.

3.4.3.3.2. Évaluation de la teneur en protéine des solutions

La méthode Kjeldahl a été utilisée pour quantifier les protéines en solution par dosage de l'azote. Cette méthode s'effectue en trois étapes soit la minéralisation, la distillation et le titrage. L'azote sous forme organique se trouvant dans les protéines doit d'abord subir une minéralisation pour pouvoir être dosé. Cette opération se fait à haute température (450°C) en présence d'acide sulfurique (H₂SO₄), d'un catalyseur sélénium (Se) et de sulfate de potassium (K₂SO₄). L'azote de l'échantillon est alors réduit et converti en sulfate d'ammonium ((NH₄)₂SO₄). Ce sel, neutralisé par ajout en excès d'une base forte (NaOH), libère sa portion ammoniacale qui peut ensuite être distillée et condensée dans un tampon acide borique (H₃BO₃) où elle provoque une remontée de pH. Le tampon contenant un indicateur de pH (rouge de méthyle et vert de bromocrésol) est ensuite titré par ajout d'acide chlorhydrique (HCl). La quantité d'acide nécessaire au titrage est proportionnelle à la quantité d'ammoniac dans le tampon, elle-même proportionnelle à la quantité d'azote dans l'échantillon d'origine.

L'appareil ayant été ajusté pour tenir compte d'un facteur de conversion azote/protéine propre aux protéines du lait (6,38), la valeur obtenue a simplement été divisée par la masse de l'échantillon pesé (de l'ordre de 2,500 g à 4,500 g) pour obtenir la teneur en protéine de la solution. Les analyses ont été effectuées en duplicata.

3.4.3.3.3. Calcul de la charge protéique

La charge protéique a été calculée en g/m² (convertie en mg/m²) à partir de la quantité de protéine adsorbée à la surface des gouttelettes d'huile, divisée par la surface totale de l'interface.

Pour calculer la surface totale (S), la teneur en huile de l'émulsion de même que le diamètre moyen des gouttelettes sont considérés. La surface est calculée avec l'équation suivante :

$$S = V \cdot 6/D \quad \text{Équation 3.5}$$

Où S est la surface pour 100 mL d'émulsion (m^2); V, le volume d'huile dans 100 mL d'émulsion (m^3) et D, le diamètre moyen des gouttelettes (m).

Pour calculer la quantité de protéine adsorbée (QA), la quantité de protéine dosée dans la phase aqueuse (« sousnageant ») après centrifugation de l'émulsion est soustraite de la quantité dosée dans la solution initiale. La quantité de protéine adsorbée est calculée avec l'équation suivante :

$$QA = (C_0 - C) \cdot (100 - H)/100 \quad \text{Équation 3.6}$$

Où QA est la quantité de protéine adsorbée (g/100 mL d'émulsion); C_0 , la concentration protéique de la solution initiale (g/100 mL); C, la concentration protéique du « sousnageant » (g/100 mL) et H, la teneur en huile de l'émulsion (mL/ 100mL d'émulsion).

La charge protéique (CP) est calculée avec l'équation suivante :

$$CP = QA/S \quad \text{Équation 3.7}$$

3.4.4. Plan expérimental et analyses statistiques

La préparation des émulsions a été répétée trois fois. Des analyses de variance (ANOVA) ont été effectuées pour des plans entièrement aléatoires d'expériences factorielles en utilisant la procédure de modèles linéaires généraux (GLM) du programme Statistical Analysis System (SAS, Cary, Caroline du Nord, États-Unis d'Amérique). Ceci a permis de déterminer l'existence ou non d'effet significatif des facteurs à l'étude (source de protéines,

pression d'homogénéisation, fraction d'huile à l'homogénéisation et ajout de protéine post-homogénéisation) sur les variables étudiées (diamètre des gouttelettes de l'émulsion, charge protéique, fraction de protéines adsorbées et paramètres de libération d'arôme). L'ANOVA a été complétée par un test de comparaisons multiples : Plus Petite Différence Significative (PPDS). Un niveau de confiance de $\alpha = 0,05$ a été utilisé pour l'ensemble des analyses.

3.5. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.5.1. *Propriétés physiques des émulsions*

La plupart des phénomènes qui sont importants lors de la formation d'une émulsion, c'est-à-dire la déformation des gouttelettes, l'adsorption de l'émulsifiant, l'étalement de l'émulsifiant et la collision des gouttelettes, se produisent dans l'espace de quelques millisecondes ou moins (Dickinson, 1996). L'enchaînement de ces phénomènes peut notamment influencer les propriétés physiques d'une émulsion et sa stabilité. Les conditions d'homogénéisation choisies pour ce projet devaient permettre d'obtenir des émulsions présentant des caractéristiques physiques distinctes.

Le tableau 3.1 présente les résultats obtenus pour le diamètre (DIAMÈTRE) des gouttelettes d'huile de l'émulsion, la fraction de protéines adsorbées à l'interface (FRACTION PTR ADS.) et la charge protéique (CHARGE PTR), en fonction des conditions d'homogénéisation à l'étude : la source de protéines (SOURCE PRT), la fraction d'huile à l'homogénéisation ([HUILE] À L'HOMO.), la pression d'homogénéisation pour les 1^{ère} et 2^e passes (PRESSION) et l'ajout ou non de protéine post-homogénéisation (AJOUT PRT).

Pour chaque paramètre physique de l'émulsion, les effets significatifs des conditions d'homogénéisation sont discutés dans les sous-sections suivantes.

Tableau 3.1. Propriétés physiques des émulsions en fonction des conditions d'homogénéisation (n = 3).

| CONDITIONS D'HOMOGENÉISATION | | | | PROPRIÉTÉS PHYSIQUES DE L'ÉMULSION | | |
|------------------------------|-----------------------|--|---------------------------|------------------------------------|-------------------|---------------------------------|
| SOURCE PRT | [HUILE] À L'HOMO. (%) | PRESSION 1 ^{me} et 2 ^e (psi) | AJOUT PRT N = non O = oui | DIAMÈTRE (nm) | FRACTION PRT ADS. | CHARGE PTR (mg/m ²) |
| CAS | 2 | 1500 | N | 423 ± 23 | 0.500 ± 0,022 | 1.60 ± 0,23 |
| CAS | 2 | 4500 | N | 292 ± 11 | 0.561 ± 0,088 | 1.19 ± 0,23 |
| CAS | 20 | 1500 | N | 570 ± 48 | 0.366 ± 0,101 | 1.49 ± 0,39 |
| CAS | 20 | 1500 | O | 503 ± 76 | 0.220 ± 0,061 | 1.79 ± 0,63 |
| CAS | 20 | 4500 | N | 390 ± 24 | 0.626 ± 0,088 | 1.82 ± 0,20 |
| CAS | 20 | 4500 | O | 353 ± 04 | 0.311 ± 0,073 | 1.52 ± 0,34 |
| IPL | 2 | 1500 | N | 360 ± 70 | 0.431 ± 0,083 | 1.13 ± 0,34 |
| IPL | 2 | 4500 | N | 281 ± 14 | 0.449 ± 0,044 | 0.79 ± 0,04 |
| IPL | 20 | 1500 | N | 429 ± 34 | 0.404 ± 0,012 | 1.29 ± 0,05 |
| IPL | 20 | 1500 | O | 430 ± 14 | 0.152 ± 0,024 | 0.86 ± 0,17 |
| IPL | 20 | 4500 | N | 287 ± 10 | 0.430 ± 0,097 | 0.84 ± 0,23 |
| IPL | 20 | 4500 | O | 297 ± 27 | 0.259 ± 0,013 | 1.04 ± 0,06 |
| IPL-D | 2 | 1500 | N | 401 ± 35 | 0.375 ± 0,053 | 1.05 ± 0,16 |
| IPL-D | 2 | 4500 | N | 311 ± 13 | 0.509 ± 0,036 | 1.14 ± 0,09 |
| IPL-D | 20 | 1500 | N | 623 ± 61 | 0.377 ± 0,112 | 1.55 ± 0,65 |
| IPL-D | 20 | 1500 | O | 540 ± 50 | 0.172 ± 0,016 | 1.17 ± 0,11 |
| IPL-D | 20 | 4500 | N | 463 ± 45 | 0.518 ± 0,089 | 1.72 ± 0,31 |
| IPL-D | 20 | 4500 | O | 473 ± 09 | 0.235 ± 0,068 | 1.41 ± 0,50 |

3.5.1.1. Taille des gouttelettes d'huile

Le diamètre des gouttelettes, déterminé pour chaque émulsion par spectroscopie de corrélation photonique (SCP), varie de 281 à 623 nm. La fraction d'huile à l'homogénéisation (H), la pression d'homogénéisation (P) et la source de protéines (S) ont montré un effet significatif sur le diamètre des gouttelettes, de même que l'interaction des facteurs P et H et des facteurs S et H ($p < 0,05$).

3.5.1.1.1. Effet de la fraction d'huile à l'homogénéisation

En moyenne, une fraction d'huile à l'homogénéisation de 20% a contribué à produire des gouttelettes de diamètre plus important qu'une fraction d'huile de 2% (Figure 3.4). L'augmentation de la fraction grasse d'une émulsion a déjà été identifiée comme un élément contribuant à l'augmentation de la taille moyenne des gouttelettes (Walstra, 1975). D'une part, l'augmentation de la fraction volumique de la phase dispersée augmente le nombre de gouttelettes de gras, ce qui augmente la fréquence de collision pendant l'homogénéisation et favorise le phénomène de recalescence (McClements, 2004). D'autre part, l'augmentation de la fraction grasse contribue à augmenter la viscosité de l'émulsion, ce qui pourrait réduire la formation de remous responsables du fractionnement des gouttelettes.

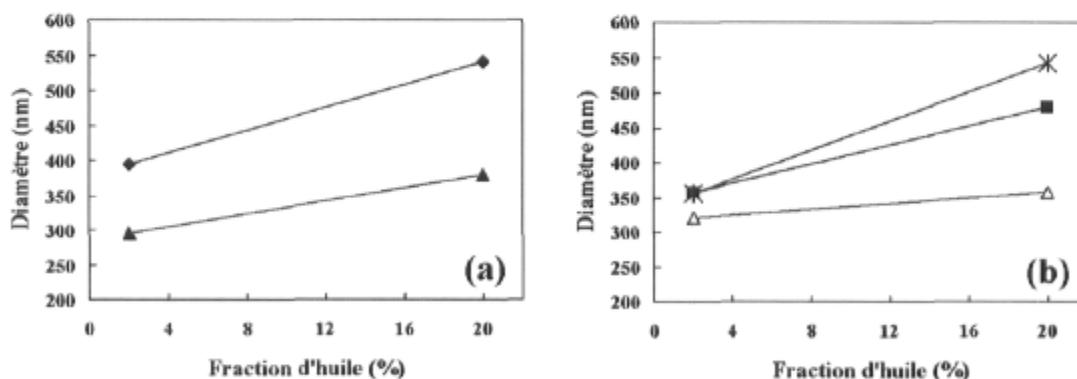


Figure 3.4. Influence de la teneur en huile de l'émulsion sur le diamètre des gouttelettes d'huile. a) La pression d'homogénéisation était fixée à (◆) 1500 et (▲) 4500 psi (erreur type : 12,53 nm); b) Les émulsions étaient stabilisées par (■) le caséinate de sodium, (Δ) l'isolat de protéines de lactosérum et (×) l'isolat de protéines de lactosérum thermo dénaturé (erreur type : 15,35 nm). Le ratio massique protéine/huile était fixé à 0,05.

3.5.1.1.2. Effet de la pression d'homogénéisation

L'augmentation de la pression d'homogénéisation a réduit la taille des gouttelettes, et cet effet s'est montré dépendant de la fraction d'huile de l'émulsion ($p < 0.05$). En augmentant la pression de 1500 à 4500 psi, le diamètre des gouttelettes s'est vu diminué de 29.8% pour les émulsions à 20% d'huile, alors que la diminution n'a été que de 25.3% pour les émulsions à 2% d'huile (Figure 3.4a). En présence d'une quantité suffisante de tensioactifs pour couvrir complètement la nouvelle interface, ce qui était le cas pour nos échantillons, le facteur limitant qui détermine la taille des gouttelettes est l'apport d'énergie fournie par l'homogénéisateur (Dickinson, 1996; Cayot & Lorient, 1998) : généralement, plus l'énergie fournie est importante, plus les gouttelettes obtenues sont petites.

3.5.1.1.3. Effet de la source de protéines

En moyenne, l'ordre croissant des diamètres (nm) obtenus pour les différentes sources de protéines est le suivant : IPL (339) < CAS (419) \approx IPL – D (450). Les différences associées à la source protéique se sont toutefois montrées plus importantes lorsque la fraction d'huile de l'émulsion était plus élevée ($p < 0,05$). Dans cette condition, l'IPL – D a produit des gouttelettes dont le diamètre était 1,52 fois plus élevé que l'IPL natif et 1,13 fois plus élevé que le caséinate de sodium (Figure 3.4b).

L'aptitude d'une protéine à donner une émulsion formée de petites gouttelettes est fortement corrélée à son aptitude à abaisser rapidement la tension à l'interface huile-eau (Dickinson, 1996). Plus l'émulsifiant s'adsorbe rapidement à l'interface, et plus la réduction de la tension interfaciale est importante, plus les gouttelettes produites à une énergie d'homogénéisation donnée devraient être petites (McClements, 2004). En effet, lors de la formation de l'émulsion, les gouttelettes d'huile sont fractionnées et les protéines s'adsorbent à l'interface nouvellement créée. En absence de protéine à l'interface, les gouttelettes d'huile sont instables et plus susceptibles de coalescer dans la valve d'homogénéisation.

L'effet de la source de protéines sur la taille des gouttelettes de l'émulsion s'est montré plus important lorsque la teneur en huile de l'émulsion était élevée (Figure 3.4b). L'augmentation de la fréquence de collision liée à une fraction d'huile augmentée favorise le phénomène de renaissance, particulièrement pour les émulsions produites avec de l'IPL – D. La présence de particules s'étalant difficilement à l'interface a pu favoriser la coalescence de gouttelettes en cours d'homogénéisation.

3.5.1.2. Fraction de protéines adsorbées et charge protéique

La fraction de protéines adsorbées à l'interface, telle qu'obtenue après dosage des protéines (méthode Kjeldahl) dans la solution protéique initiale et dans la phase aqueuse après centrifugation de l'émulsion, varie de 0,37 à 0,63 (Tableau 3.1). Les conditions d'homogénéisation ayant influencé significativement la fraction de protéines adsorbées à l'interface sont la pression d'homogénéisation et la source de protéines ($p < 0,05$) (Tableau 3.2). La charge protéique (mg/m^2), telle qu'obtenue à l'aide de l'équation 3.7, varie de 0,79 à $1,82 \text{ mg}/\text{m}^2$ (Tableau 3.1). Les conditions d'homogénéisation ayant influencé significativement la charge protéique de l'émulsion sont la fraction d'huile à l'homogénéisation et la source de protéines ($p < 0,05$) (Tableau 3.2).

Tableau 3.2. Fraction de protéines adsorbées et charge protéique en fonction des conditions d'homogénéisation.

| CONDITIONS D'HOMOGENÉISATION | | FRACTION PRT ADS. ¹ | CHARGE PTR (mg/m ²) ¹ |
|---|-------|--------------------------------|--|
| [HUILE] À L'HOMO. (%) | 2 | 0,471 ^a | 1,15 ^a |
| | 20 | 0,454 ^a | 1,45 ^b |
| PRESSION 1 ^{ère} et 2 ^e (psi) | 1500 | 0,409 ^a | 1,35 ^a |
| | 4500 | 0,516 ^b | 1,25 ^a |
| SOURCE PRT | CAS | 0,514 ^b | 1,52 ^b |
| | IPL | 0,429 ^a | 1,01 ^a |
| | IPL-D | 0,445 ^a | 1,37 ^b |

¹Pour chaque variable de conditions d'homogénéisation, les moyennes à l'intérieur d'une colonne suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à $p < 0,05$ ($n = 3$).

3.5.1.2.1. Effet de la fraction d'huile à l'homogénéisation

La fraction d'huile à l'homogénéisation a montré un effet significatif sur la charge protéique, alors qu'aucun effet n'a été observé sur la fraction de protéines adsorbées (Tableau 3.2). En moyenne, une fraction d'huile à l'homogénéisation de 20% a contribué à produire une charge protéique plus importante qu'une fraction d'huile de 2% (1,45 et 1,15 mg/m² respectivement), et ce, pour un même ratio protéine/huile de l'émulsion (1/20) ($p < 0,05$). Le phénomène de recalescence, favorisé par une fraction d'huile élevée, entraînerait notamment une réduction de l'aire interfaciale (McClements, 2004) et la « compaction » de la membrane. Ainsi, malgré une aire interfaciale réduite, l'augmentation de la charge protéique explique l'absence d'effet des traitements sur la fraction de protéines adsorbées.

3.5.1.2.2. Effet de la pression d'homogénéisation

La pression d'homogénéisation a montré un effet significatif sur la fraction de protéines adsorbées, alors qu'aucun effet n'a été observé sur la charge protéique (Tableau 3.2). La quantité d'énergie fournie au système influence la taille des gouttelettes d'huile (Dickinson, 1996) et donc l'étendue de la surface à couvrir. En moyenne, une pression d'homogénéisation de 4500 psi a contribué à produire une fraction de protéines adsorbées plus importante qu'une pression de 1500 psi (0,52 et 0,41 respectivement) ($p < 0,05$) (Tableau 3.2), ce qui pourrait s'expliquer par la création d'une plus grande étendue de surface à couvrir lors de l'homogénéisation à 4500 psi (Kinsella, 1984).

3.5.1.2.3. Effet de la source de protéines

L'ordre croissant des fractions moyennes de protéines adsorbées obtenues avec les différentes sources de protéines est le suivant: IPL (0,43) \approx IPL – D (0,45) < CAS (0,51), et l'ordre croissant des charges protéiques moyennes (mg/m^2) est similaire : IPL (1,01) < IPL – D (1,37) \approx CAS (1,52) (Tableau 3.2). Ces résultats peuvent en partie être liés aux propriétés émulsifiantes des sources protéiques utilisées. Les caséines auraient notamment de meilleures propriétés émulsifiantes que les protéines sériques natives (Leman & Kinsella, 1989). Les caséines ont une structure désordonnée et sont de nature très amphiphile. Ces caractéristiques font que les dérivés de caséine ont généralement une activité interfaciale remarquable, et particulièrement les formes solubles de caséine tel le caséinate de sodium (Britten *et al.*, 2002). Les protéines sériques sont plutôt des protéines globulaires et rigides qui nécessitent temps et énergie pour s'étaler et se réorganiser aux interfaces. Ainsi, alors que les caséines peuvent créer des associations à l'interface et former des films chargés, les protéines sériques produisent des charges protéiques plutôt faibles, dues notamment à leur faible activité interfaciale. De plus, durant la formation d'une émulsion avec du caséinate, les protéines continueraient à être adsorbées à partir de la phase aqueuse au fur et à mesure que la nouvelle surface est créée, alors qu'avec de l'IPL, les protéines déjà adsorbées à l'interface seraient apparemment étalées davantage sur la nouvelle surface créée (Törnberg, 1978). Tout cela peut expliquer que la fraction

moyenne de caséines adsorbées se soit montrée plus importante que la fraction adsorbée de protéines sériques, malgré une aire interfaciale moyenne plus grande (plus petites gouttelettes) pour les émulsions produites avec de l'IPL qu'avec du caséinate.

En moyenne, les émulsions stabilisées avec de l'IPL – D ont montré une charge protéique augmentée comparativement à celles stabilisées avec de l'IPL, alors qu'aucune différence n'a été observée entre ces deux sources de protéine pour la fraction de protéines adsorbées (Tableau 3.2). Ceci pourrait d'abord s'expliquer par la taille plus importante des gouttelettes obtenues avec de l'IPL – D, et donc la plus petite aire interfaciale couverte avec la même quantité de protéines adsorbées. En effet, la présence de plus grosses particules s'étalant initialement de façon limitée à l'interface a pu favoriser la coalescence de gouttelettes en cours d'homogénéisation, donc la formation d'une plus petite aire interfaciale, sans toutefois empêcher la formation d'une charge protéique importante. La charge protéique peut être augmentée en favorisant une adsorption massive qui sature rapidement l'interface et restreint l'étalement (Britten *et al.*, 2002). Or, la dénaturation partielle des protéines sériques, due au traitement thermique, contribue à l'adoption d'une structure plus flexible des protéines et à l'exposition de zones hydrophobes (Kinsella & Whitehead, 1989; Zhu & Damodaran, 1994). L'adsorption des protéines de l'IPL – D à l'interface a ainsi pu être favorisée, notamment puisque initialement dans le processus d'émulsification les interactions hydrophobes sont dominantes entre les protéines et l'huile (Kinsella & Whitehead, 1989). La nature agrégée des protéines et la présence de plus grosses particules dans la solution d'IPL – D a aussi pu contribuer à produire une charge protéique plus importante que celle obtenue avec de l'IPL. En effet, dans des conditions de faible concentration de protéines, la vitesse de transport à l'interface est critique pour assurer la formation rapide d'une membrane (Britten & Giroux, 1993). Lors de l'homogénéisation, les phénomènes de convection étant prédominants, le déplacement des plus grosses particules est favorisé (Britten *et al.*, 2002). La théorie des collisions prévoit qu'en turbulence isotrope, de plus grosses particules sont préférentiellement adsorbées par les globules de gras nouvellement formés (Walstra & Oortwijn, 1982 ; Dickinson, 1996). Les plus grosses particules protéiques présentes dans l'IPL – D ont donc pu atteindre plus

rapidement l'interface et s'adsorber avec un étalement restreint, ce qui pourrait expliquer en partie la concentration de surface plus élevée pour cette source de protéines.

3.5.2. Libération d'arôme

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet de propriétés physiques d'émulsions stabilisées à partir de protéines laitières, modulés en variant les conditions d'homogénéisation, sur la cinétique de libération d'arôme.

Le tableau 3.3 présente les résultats obtenus pour différents paramètres de la libération d'arôme qui ont été définis dans la section TRAVAUX PRÉLIMINAIRES (sous-section 3.3.1.2.2) : la constante a de la phase 2 (CONSTANTE A – PH 2), l'intensité maximale de la phase 3 (I_{\max} – PH 3) et l'indice de persistance (INDICE DE PERSISTANCE 1/C (PH 3)), en fonction des conditions d'homogénéisation à l'étude : la source de protéines (SOURCE PRT), la fraction d'huile à l'homogénéisation ([HUILE] À L'HOMO.), la pression d'homogénéisation lors des 1^{ère} et 2^e passes (PRESSION) et l'ajout ou non de protéine post-homogénéisation (AJOUT PRT).

Pour chaque paramètre de libération d'arôme, les effets significatifs des conditions d'homogénéisation sont discutés dans les sous-sections suivantes, en abordant l'influence possible des propriétés physiques de l'émulsion.

Tableau 3.3. Libération d'arôme en fonction des conditions d'homogénéisation (n = 3).

| CONDITIONS D'HOMOGENÉISATION | | | | PARAMÈTRES DE LIBÉRATION D'ARÔME | | |
|------------------------------|-----------------------|---|-------------------------------|----------------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| SOURCE PRT | [HUILE] À L'HOMO. (%) | PRESSION 1 ^{ère} et 2 ^e (psi) | AJOUT PRT N= non O= oui | CONSTANTE A - PH 2 (pA) | I _{max} - PH 3 (pA) | INDICE DE PERSISTANCE I/C (PH 3) |
| CAS | 2 | 1500 | N | 371 ± 02 | 984 ± 26 | 56,80 ± 1,42 |
| CAS | 2 | 4500 | N | 247 ± 13 | 997 ± 75 | 61,36 ± 5,50 |
| CAS | 20 | 1500 | N | 430 ± 43 | 997 ± 53 | 56,36 ± 4,40 |
| CAS | 20 | 1500 | O | 373 ± 31 | 1058 ± 24 | 57,52 ± 2,51 |
| CAS | 20 | 4500 | N | 346 ± 41 | 1064 ± 58 | 57,58 ± 4,29 |
| CAS | 20 | 4500 | O | 295 ± 10 | 1040 ± 44 | 56,99 ± 2,26 |
| IPL | 2 | 1500 | N | 399 ± 62 | 1009 ± 31 | 56,46 ± 2,73 |
| IPL | 2 | 4500 | N | 359 ± 12 | 1025 ± 13 | 54,83 ± 2,54 |
| IPL | 20 | 1500 | N | 391 ± 53 | 1023 ± 26 | 56,09 ± 1,78 |
| IPL | 20 | 1500 | O | 430 ± 30 | 1017 ± 64 | 56,47 ± 0,39 |
| IPL | 20 | 4500 | N | 303 ± 51 | 1057 ± 12 | 55,21 ± 0,66 |
| IPL | 20 | 4500 | O | 341 ± 50 | 1050 ± 25 | 54,70 ± 0,64 |
| IPL-D | 2 | 1500 | N | 421 ± 60 | 1021 ± 41 | 56,24 ± 2,59 |
| IPL-D | 2 | 4500 | N | 370 ± 87 | 971 ± 46 | 55,74 ± 3,43 |
| IPL-D | 20 | 1500 | N | 437 ± 36 | 1058 ± 06 | 55,72 ± 1,08 |
| IPL-D | 20 | 1500 | O | 379 ± 15 | 1062 ± 16 | 55,51 ± 1,42 |
| IPL-D | 20 | 4500 | N | 378 ± 70 | 1037 ± 17 | 55,54 ± 2,32 |
| IPL-D | 20 | 4500 | O | 309 ± 43 | 1055 ± 24 | 55,26 ± 0,10 |

3.5.2.1. Constante a – phase 2

La constante a de la phase 2 représente la libération d'arôme « à l'équilibre », telle qu'influencée par les interactions du composé d'arôme avec le milieu de même que par les phénomènes de diffusion et de transfert aux interfaces dans le produit non agité. Elle varie de 247 à 437 pA (Tableau 3.3). La pression d'homogénéisation a montré un effet significatif sur ce paramètre de la libération d'arôme, de même que l'interaction des facteurs source de protéines et ajout de protéine post-homogénéisation ($p < 0,05$).

En moyenne, une pression d'homogénéisation de 4500 psi, associée à des gouttelettes de plus petit diamètre et à une fraction supérieure de protéines adsorbées, a contribué à diminuer la libération d'hexanoate d'éthyle de l'émulsion non agitée (constante a de la

phase 2), comparativement à une pression d'homogénéisation de 1500 psi (334 et 408 pA respectivement). Considérant la petite taille des gouttelettes des émulsions à l'étude ($d \leq 623$ nm), nous aurions pu nous attendre à des résultats contraires. En effet, quand le diamètre des gouttelettes tombe sous une taille critique ($d < 100$ nm) à peine plus petite que ce que nous avons obtenu, la solubilité dans la phase aqueuse des composés qu'elles contiennent augmente, dû à l'augmentation de la pression de Laplace (McClements, 2004). Ainsi, une diminution de la taille des gouttelettes de l'émulsion aurait pu conduire à une augmentation de la concentration d'arôme dans la phase continue, et par conséquent dans la phase vapeur. Les résultats suggèrent que la taille des gouttelettes des émulsions à l'étude ait été trop grande pour que l'influence de la courbure de l'interface soit significative sur la solubilité des composés d'arôme. Or la libération de composés d'arôme hydrophobes s'est déjà montrée augmentée pour des émulsions plus fines (plus grande aire interfaciale) comparativement à des émulsions plus grossières (Charles *et al.*, 2000a; Charles *et al.*, 2000b), même si ces émulsions présentaient des gouttelettes de plus grande taille que dans le présent projet ($d \geq 7$ μm). Une explication pourrait être qu'une augmentation de l'aire interfaciale augmente la surface de transfert potentiel des composés hydrophobes, de l'huile vers la phase aqueuse. Ce qui pourrait en soit augmenter le transfert de masse des composés d'arôme hydrophobes vers la phase aqueuse, et conséquemment vers la phase vapeur. Cependant, dans des systèmes où les gouttelettes sont de taille assez importante ($d > 100$ nm) et où l'émulsifiant est présent à l'interface, de même que dans la phase continue, la volatilité des composés d'arôme serait plus susceptible de dépendre de la concentration totale d'émulsifiant dans le milieu, plutôt que de la taille des gouttelettes (McClements, 2004).

La charge protéique ne s'étant pas montrée significativement différente pour une émulsion produite à 1500 psi par rapport à une émulsion produite à 4500 psi, le niveau de résistance imposé par le film protéique au transport des composés volatils (Landy *et al.*, 1998; Rogacheva *et al.*, 1999; Voilley *et al.*, 2000) serait peu susceptible de justifier les résultats obtenus. Or, la nature adsorbée ou non des protéines à l'interface pourrait fournir une explication. L'accumulation d'un composé d'arôme à l'interface réduit sa concentration dans l'huile, l'eau et la phase vapeur d'une quantité qui dépend de l'aire interfaciale, de la

concentration d'arôme et de l'affinité du composé d'arôme avec l'interface (McClements, 2004). Dans les systèmes étudiés comme dans bien d'autres systèmes alimentaires, non seulement l'agent émulsifiant (protéines) se retrouve à l'interface des gouttelettes d'huile, mais une fraction se retrouve dans la phase aqueuse. Les caséines et les protéines sériques, notamment la β -lactoglobuline, peuvent lier les esters, tel l'hexanoate d'éthyle, par interactions hydrophobes (Landy *et al.*, 1995; Fischer & Widder, 1997; Guichard & Langourieux, 2000; Charles *et al.*, 2000b), réduisant ainsi leur volatilité. D'ailleurs, l'ajout de caséinate ou d'IPL – D post-homogénéisation a diminué la libération de l'hexanoate d'éthyle de l'émulsion non agitée (constante a de la phase 2) (Tableau 3.4), ce qui signifie que les protéines présentes dans la phase aqueuse agissent sur la libération d'arôme. L'ajout d'IPL a pour sa part plutôt légèrement augmenté la libération d'arôme, ce qui est difficilement explicable puisque la β -lactoglobuline (protéine majeure de l'IPL) native aurait pourtant plus d'affinité pour les composés d'arôme que la β -lactoglobuline traitée thermiquement (O'Neill & Kinsella, 1987). L'adsorption d'une protéine à une interface a un effet sur sa conformation. Plusieurs, si ce n'est toutes les protéines adsorbées sont de conformation différente de leur état natif (Dalglish, 2006). Tel que cela a déjà été suggéré pour la β -lactoglobuline, l'adsorption d'une protéine à l'interface huile-eau pourrait modifier l'accès à ses sites de liaison pour les composés d'arôme (Espinosa Diaz, 1999; Seuvre *et al.*, 2000). Espinosa Diaz (1999) a trouvé une diminution de la rétention de la 2-nonanone ($\log P = 2,9$) par la β -lactoglobuline dans un système émulsifié en comparaison à un système non émulsifié. L'auteure a proposé que cela soit notamment dû à une modification de l'environnement stérique du site de fixation de la β -lactoglobuline pour le composé d'arôme, suite à l'adsorption de la protéine à la surface des globules gras. Notons toutefois que cet effet de l'émulsification sur la libération d'arôme ne s'était pas montré significatif pour l'acétate d'isoamyle ($\log P = 2,2$).

Tableau 3.4. Libération d'arôme – constante a de la phase 2 (pA) en fonction de l'ajout ou non de protéines post homogénéisation, pour chaque source de protéines.

| AJOUT PRT | CAS | IPL | IPL-D |
|-----------|------------------|------------------|------------------|
| Non | 388 ^b | 347 ^a | 407 ^b |
| Oui | 334 ^a | 385 ^b | 344 ^a |

Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à $p < 0,05$ ($n = 3$).

La relation entre la libération d'arôme, exprimée par la constante a de la phase 2, et la fraction de protéines adsorbées pour chacune des sources de protéines à l'étude est illustrée à la figure 3.5. Les résultats obtenus suggèrent que la libération de l'hexanoate d'éthyle soit moindre lorsque l'interface est augmentée (plus petites gouttelettes), particulièrement dans le cas d'émulsions produites avec du caséinate. D'autres travaux ont déjà mis en évidence une diminution de la volatilité d'un composé d'arôme hydrophobe (2-nonanone, $\log P = 2,9$) dans un système émulsifié contenant du caséinate de sodium (0,05% de dodécane + 3% de caséinate de sodium) comparativement à un système non émulsifié de même composition (Voilley *et al.*, 2000), ce qui va dans le sens de nos résultats. Considérant la forte relation négative entre la libération d'arôme, exprimée par la constante a de la phase 2, et la fraction de caséines adsorbées (Figure 3.5a), nous pourrions suggérer que la nature adsorbée ou non des caséines ait un effet sur leur capacité à lier l'hexanoate d'éthyle ($\log P = 2,8$). Le changement de conformation des caséines, lors de leur adhérence à l'interface, pourrait augmenter leur affinité pour l'hexanoate d'éthyle, dû à un meilleur accès aux zones hydrophobes des protéines. Cela contribuerait à diminuer la libération d'arôme. Ainsi, l'augmentation de la fraction protéique adsorbée pourrait être une cause de la diminution de la constante a de la phase 2 avec une augmentation de la pression d'homogénéisation.

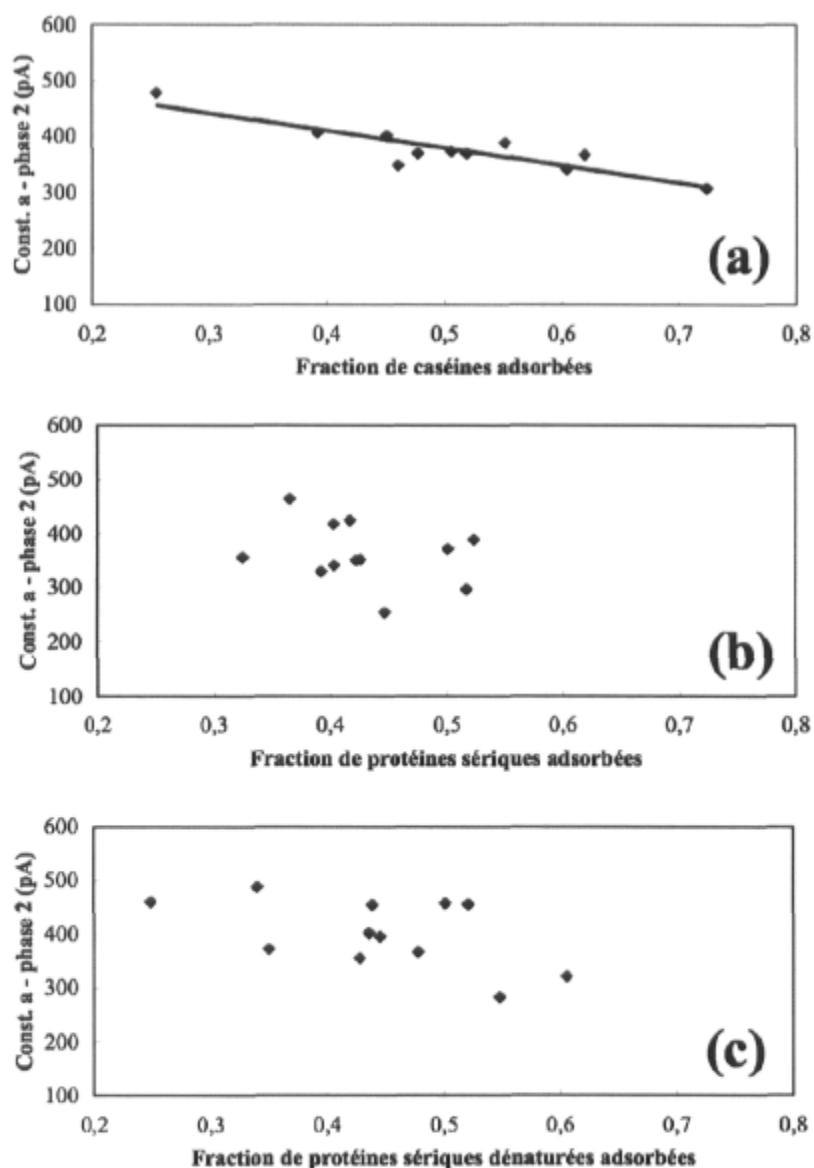


Figure 3.5. Relation entre la libération de l'hexanoate d'éthyle - constante a de la phase 2, et la fraction de protéines adsorbées pour chaque source de protéines. (a) Caséinate de sodium: $r = -0,89$; (—) droite de régression linéaire, $r^2 = 0,79$, erreur type = 21,19. (b) Isolat de protéines de lactosérum (IPL) : $r = -0,28$. (c) Isolat de protéines sériques thermo dénaturées (IPL - D) : $r = -0,53$.

3.5.2.2. I_{max} – phase 3

L'intensité maximale (I_{max}) de la phase 3 représente l'intensité d'arôme maximale atteinte, due à l'ensemble des phénomènes en jeu dans le système agité : interactions des composés d'arôme avec le milieu, transport convectif des composés d'arôme, phénomènes de diffusion et de transfert aux interfaces. Elle varie de 971 à 1064 pA (Tableau 3.3). Seule la fraction d'huile à l'homogénéisation a montré un effet significatif, quoi que très léger, sur ce paramètre de la libération d'arôme ($p < 0,05$). En moyenne, une fraction d'huile à l'homogénéisation de 2%, associée à des gouttelettes de plus petit diamètre et à une charge protéique inférieure, a contribué à diminuer l'intensité d'arôme maximale libérée de l'émulsion agitée, comparativement à une fraction d'huile à l'homogénéisation de 20% (1001 et 1039 pA respectivement). Ces résultats montrent cependant une différence si peu importante (38 pA) que nous pourrions la considérer négligeable. Les caractéristiques physiques de l'émulsion semblent donc avoir eu très peu ou pas d'effet sur l'intensité d'arôme maximale. Harrison *et al.* (1997) assument que le partage d'un composé d'arôme entre les phases aqueuse et huileuse est très rapide comparativement au transport du composé à travers l'interface émulsion-vapeur, celui-ci constituant le facteur limitant pour le taux de libération d'arôme. Basée sur les mêmes prémices, les prédictions théoriques d'Harrison et Hills (1997a), pour un profil de libération d'arôme dynamique (balayage continu de l'espace de tête), suggèrent que l' I_{max} soit notamment proportionnelle à la concentration d'arôme initiale dans le liquide. D'autres facteurs influençant ce paramètre de la libération d'arôme seraient le coefficient de partage, le coefficient de transfert de masse et le débit du gaz vecteur. Dans le présent projet, l'agitation de l'échantillon pourrait s'ajouter à ces facteurs. Considérant que la concentration d'arôme initiale dans les émulsions à l'étude était toujours la même, de même que leur contenu en protéines et en huile, les résultats obtenus pour l' I_{max} indiqueraient une bonne répétabilité de la méthode développée pour ce paramètre de la libération d'arôme. D'ailleurs d'autres travaux, effectués avec la même méthode de mesure, ont mis en évidence des effets de la composition de l'émulsion sur ce paramètre de la libération d'arôme (Giroux *et al.*, 2007). Par exemple, pour une concentration d'arôme constante, l' I_{max} s'est montrée diminuée significativement avec l'augmentation de la concentration de protéines ou d'huile. De plus,

à composition égale, l' I_{\max} s'est montrée directement proportionnelle à la concentration d'hexanoate d'éthyle dans l'émulsion.

3.5.2.3. *Indice de persistance (1/c - phase 3)*

L'indice de persistance, varie de 54,70 à 61,36 (Tableau 3.3). Aucun des paramètres de procédé, même associé à une variation des propriétés physiques de l'émulsion, n'a montré d'effet significatif sur l'indice de persistance ($p > 0,05$). Le partage d'un composé d'arôme entre les phases aqueuse et huileuse serait très rapide, comparativement au transport du composé à travers l'interface émulsion-vapeur (Harrison *et al.*, 1997), et cela pourrait expliquer que les paramètres physiques de l'émulsion n'ont pas eu d'effet sur l'indice de persistance. Pour le type d'émulsion à l'étude, la composition de l'émulsion, plutôt que sa structure influencerait davantage l'indice de persistance (Giroux *et al.*, 2007). Les résultats de Giroux *et al.*, 2007 montrent que la persistance aromatique augmente significativement avec l'augmentation de la concentration d'huile ou de protéines (IPL), distinguant toutefois un effet clairement dominant de la concentration d'huile sur l'indice de persistance.

3.6. CONCLUSION

La méthode développée pour évaluer le profil de libération d'un composé d'arôme s'est montrée très sensible. Les propriétés physiques de l'émulsion, telles que modulées par les conditions d'homogénéisation, ont montré peu d'effets sur les paramètres de libération d'arôme étudiés.

D'une part, la constante a de la phase 2, représentant la libération d'arôme liée aux interactions arôme-milieu et aux phénomènes de diffusion et de transfert aux interfaces dans le produit non agité, a semblé le paramètre de libération d'arôme le plus affecté par les conditions d'homogénéisation. Une pression d'homogénéisation augmentée a contribué à diminuer ce paramètre de libération d'arôme, ce qui pourrait s'expliquer par une meilleure affinité de l'hexanoate d'éthyle pour les protéines adsorbées que non adsorbées. Une forte

relation négative trouvée, entre ce paramètre de la libération d'arôme et la fraction de caséines adsorbées particulièrement, suggère que le changement de conformation des caséines, lors de leur adhérence à l'interface, puisse augmenter leur affinité pour l'hexanoate d'éthyle. Les protéines non adsorbées auraient toutefois aussi un effet sur la constante a de la phase 2. L'ajout de caséinate ou d'IPL – D post-homogénéisation a contribué à diminuer ce paramètre de libération d'arôme, alors que l'ajout d'IPL l'a légèrement augmenté.

D'autre part, très peu ou pas d'effet des conditions d'homogénéisation ont été mis en évidence sur les paramètres sélectionnés de la phase 3 de la courbe de libération d'arôme : intensité maximale ou indice de persistance. La phase 3 de la courbe, contrairement à la phase 2, implique l'agitation de l'échantillon en cours d'analyse. Or, les liaisons de l'hexanoate d'éthyle aux protéines se feraient essentiellement *via* des interactions hydrophobes (Landy *et al.*, 1995; Fischer & Widder, 1997; Guichard & Langourieux, 2000), et seraient donc réversibles. Nous pourrions supposer que les forces convectives contribuant à promouvoir la libération d'arôme dans la deuxième phase aient masqué les effets perceptibles dans des conditions non agitées.

Considérant le peu d'effets mis en évidence des conditions d'homogénéisation et des propriétés physiques de l'émulsion sur la libération d'arôme, et encore moins sous agitation, nous pourrions envisager que les effets soient peu perceptibles en contexte de consommation. Cela demeure toutefois à vérifier en analyse sensorielle. Dans le cas d'émulsions fines s'apparentant à celles produites pour notre projet, le profil de libération de composés d'arôme hydrophobes pourrait d'avantage être modulé en variant la composition de l'émulsion (Giroux *et al.*, 2007).

CHAPITRE 4 – LA LIBÉRATION D'ARÔME À PARTIR D'UN LAIT ÉCRÉMÉ AROMATISÉ, TELLE QU'INFLUENCÉE PAR UN TRAITEMENT THERMIQUE ET UNE GÉLIFICATION ACIDE.

Les travaux décrits dans ce chapitre sont liés aux travaux précédents par le but de l'ensemble de la démarche, consistant à comparer l'effet de différentes microstructures de produits alimentaires laitiers, obtenues en modulant des paramètres de procédé, sur la libération d'arôme. Cependant, alors que l'étude du chapitre précédent portait sur les émulsions, l'étude au cœur du présent chapitre porte sur les gels acides. Comme dans le cas de l'étude sur les émulsions, les traitements à l'étude (paramètres de procédé) ont été sélectionnés pour leur incidence marquée sur la microstructure du produit fini : le traitement thermique du lait et la gélification.

4.1. RÉSUMÉ

Les coefficients de partage massiques (K_{mass}) et les cinétiques de libération d'arôme ont été déterminés, par analyse de l'espace de tête statique – chromatographie en phase gazeuse, dans un lait écrémé, un lait écrémé chauffé et les gels acides obtenus de chacun. Cinq composés d'arôme ont été étudiés : acétate d'éthyle, butanoate d'éthyle, hexanoate d'éthyle, pentan-2-one et hexanal. Le traitement thermique a diminué légèrement la rétention de l'hexanoate d'éthyle. La gélification acide a augmenté de jusqu'à 24% la rétention des esters d'éthyle et a diminué de 28% celle de l'hexanal. Malgré sa fermeté accrue, le gel de lait chauffé a montré des K_{mass} généralement semblables à ceux du gel de lait non chauffé. Pour les deux laits, la gélification acide a réduit la vitesse initiale de libération (V_i) de 37 à 70%, selon le composé d'arôme. Les interactions arôme – matrices sont discutées en relation avec les propriétés physico-chimiques des composés d'arôme.

4.2. ABSTRACT

Mass partition coefficients and release kinetics of aroma compounds were determined in skim milk and heated skim milk as well as in acid-induced gels derived from them, using static headspace – gas chromatography analysis. Five aroma compounds were studied: ethyl acetate, ethyl butyrate, ethyl hexanoate, pentan-2-one and hexanal. Heat treatment decreased retention of ethyl hexanoate only slightly, while acid-induced gelation increased retention of ethyl esters by up to 24% and decreased retention of hexanal by 28%. Despite increased firmness, gel derived from heated milk generally showed partition coefficients similar to that derived from unheated milk. For both, heated and non heated skim milk, acid-induced gelation reduced the initial rate of release by 37–70% depending on the aroma compound. The interaction between milk-based matrices and aroma compounds is discussed in relation to their chemical structure and physico-chemical characteristics.

4.3. INTRODUCTION

The growing demand for foods with improved nutritional qualities has prompted the food processing industry to cut down on ingredients such as fat, sugar and additives, thereby necessitating some important changes in sensory qualities that influence consumer acceptance of food products. Controlling food texture and aroma release represents a significant challenge for the industry at present. Both of these quality attributes are affected by changes in food composition, especially a reduction in fat. Furthermore, texture is thought to influence flavour perception (Baek *et al.*, 1999; Hollowood *et al.*, 2002; Weel *et al.*, 2002; Mestres *et al.*, 2005; Mestres *et al.*, 2006), although the cause of this phenomenon is still unclear. More in-depth studies on the effects that the rheological and structural properties of fat-free food have on aroma release could lead to new approaches for modulating the flavour profile of fat-free products.

From a physico-chemical standpoint, the release of aroma compounds depends not only on the properties of the compounds and their affinity for the product's components, but also on

the structural complexity of the matrix (Druaux & Voilley, 1997). Interactions between macromolecules modify the nature and the number of connection sites available for aroma compounds. In general, these factors govern the equilibrium partitioning of aroma compounds between the different phases. The rate at which this equilibrium is achieved is influenced by kinetic factors, which are driven mainly by interfacial mass transport and diffusion phenomena (Taylor, 2002). Dairy proteins and lactose are the main components that affect aroma release from skim milk. In aqueous systems, increased volatility has been observed in the presence of lactose in both simple (van Willige *et al.*, 2000) and more complex media (Paci Kora *et al.*, 2004), suggesting that competition occurs between aroma compounds and lactose for interaction with water. In addition, ions in milk could have a salting-out effect, likewise leading to greater volatility of aroma compounds (Nongonierma *et al.*, 2006). In highly hydrated systems, however, proteins may bind aroma compounds *via* hydrophobic interactions (O'Neill & Kinsella, 1987; Le Thanh *et al.*, 1992; Landy *et al.*, 1995; Fischer & Widder, 1997; Guichard & Langourieux, 2000), although chemical bonds could be involved especially in the case of aldehydes (Plug & Haring, 1993; Bakker, 1995; Fischer & Widder, 1997), which may react with amino groups of proteins to form imine bonds. Factors in a food system that influence protein conformation may have a considerable effect on the interaction of proteins with aroma compounds. The principal factors include ionic strength, concentration of other food components, temperature, pH and time (Fisher & Widder, 1997). Obviously, any change that occur in the food system during yogurt manufacture (e.g. milk heating and acid-induced gelation) could influence aroma release from the final product.

In yogurt production, milk is subjected to heat treatment, which is one of the most important processing parameters affecting the final product characteristics (Mulvihill & Grufferty, 1995; Sodini *et al.*, 2004). The effects of milk heating on the rheological properties and microstructure of fat-free dairy gels have been studied fully (Harwalkar & Kalab, 1980; Lucey & Singh, 1998; Lucey *et al.*, 1999). Milk heating prior to acidification is known to increase yogurt firmness. Heating milk above 70°C induces denaturation and aggregation of whey proteins and their association with casein micelles. The denatured whey proteins in the serum and those associated with casein micelles participate in the

acid-induced gel structure (Lucey & Singh, 1998; van Vliet *et al.*, 2004). The highly branched structure of acid gels made from heated milks has been clearly shown using electron microscopy (EM) (Harwalkar & Kalab, 1980) or confocal scanning laser microscopy (CSLM) (Lucey *et al.*, 1999). The increase in the number and strength of the bonds that form between protein particles helps to increase the firmness of acid gels made from heated milk.

Aroma perception intensity from gel-type food products has been shown to decrease with increasing firmness of the gel, whereas in parallel no significant difference was found in absolute aroma release as measured by instrumental analysis of air in the nasal cavity (Baek *et al.*, 1999; Weel *et al.*, 2002; Mestres *et al.*, 2005; Mestres *et al.*, 2006). Various hypotheses have been proposed to explain this. A lower perceived intensity from a firmer gel could be linked to psychophysical interactions between the senses (Weel *et al.*, 2002). Alternatively, it could be linked to delayed aroma release from a firmer gel caused by slower breakdown of the matrix during mastication and lower surface formation (Baek *et al.*, 1999; Mestres *et al.*, 2005; Mestres *et al.*, 2006). The microstructure of the matrix itself may affect aroma release. Seuvre *et al.* (2004) compared the percentage of 2-nonanone release in set gel of β -lactoglobulin *versus* the same type of gel following destructuring: the release was slightly higher for the destructured gel. The gelled structure of polysaccharidic matrices has also been shown to cause increased retention of aroma compounds (Rega *et al.*, 2002; Juteau *et al.*, 2004a) and slower transfer across the vapour/matrix interface (Juteau *et al.*, 2004a). Further studies on non-agitated matrices should be carried out to characterize the rate of aroma release governed exclusively by interfacial mass transport and diffusion phenomena.

Milk heating is known to affect the microstructure and rheology of acid-induced dairy gels. However, little information is available about the associated impact on the release of aroma compounds. The objective of this project was to measure the influence of heat treatment (before aromatization) and acid-induced gelation on the release of selected aroma compounds from flavoured skim milk matrices. Acid-induced gels were prepared from heated or unheated skim milk to study the relationship between gel firmness and aroma

release from a complex dairy system. The thermodynamic and kinetic components of aroma release were both studied.

4.4. MATERIAL AND METHODS

4.4.1. *Materials*

Low heat skim milk powder (32.9% protein) was obtained from Ingredia (Arras, France). Ethyl acetate (EA), ethyl hexanoate (EH), pentan-2-one (2P), hexanal (H) and glucono- δ -lactone (GDL) were obtained from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Ethyl butyrate (EB) was supplied by Aldrich (Milwaukee, United States of America). The purity of all the aroma products was higher than 97%.

4.4.2. *Preparation of the matrices*

Skim milk (M), heated skim milk (HM), and gels from skim milk (MG) and heated skim milk (HMG) were prepared from low heat skim milk powder rehydrated at ambient temperature in deionized water at 13.1% (m/m) solids. Heat treatment was carried out at 90°C for 5 min on 15 mL milk aliquots (Pyrex reaction tubes) according to the technique proposed by Cayot, *et al.* (2003). All of the aroma compounds (ethyl acetate, ethyl butyrate, ethyl hexanoate, pentan-2-one and hexanal) were added directly to M and HM (500-g samples), each at a rate of $50 \cdot 10^{-6}$ g /g of product (50 ppm). The physico-chemical characteristics of the aroma compounds are presented in table 4.1. Sodium azide (VWR, Prolabo, VWR International, Fontenay/Bois, France) was added at 0.02% (m/m) to prevent microbial growth. Acid gels were produced by adding glucono- δ -lactone (GDL) to M and HM. The GDL concentration was fixed to 1.7% (m/m), allowing the pH to drop to 4.5 after the incubation period. After the GDL was mixed with milk, liquid samples were quickly transferred to 21-mL vials for the gas chromatography measurements. Each vial was filled with 10.4 g of the product (10 mL) and hermetically sealed with a Teflon-coated seal. In addition, beakers (80 mL) were filled with 65 g of the product for texture measurements

and covered with two layers of parafilm. Samples were incubated at 30°C for 10 h (Sanyo Incubator MIR 153, Sanyo Electric Co Ltd., Japan) and then stored at 7°C for 48 h before analysis.

Table 4.1. Physico-chemical characteristics of aroma compounds.

| | Aroma compound | | | | |
|--|---|---|--|----------------------------------|------------------------------------|
| | Ethyl acetate | Ethyl butyrate | Ethyl hexanoate | Hexanal | Pentan-2-one |
| Chemical class | Ester | Ester | Ester | Aldehyde | Ketone |
| Empirical formula | C ₄ H ₈ O ₂ | C ₈ H ₁₂ O ₂ | C ₈ H ₁₆ O ₂ | C ₆ H ₁₂ O | C ₅ H ₁₀ O |
| Molecular mass (g·mol ⁻¹) | 88.1 | 116.2 | 144.2 | 100.2 | 86.1 |
| Molar Volume (cm ³ ·mol ⁻¹) | 107 ^a | 151 ^a | 196 ^a | 147 ^a | 121 ^a |
| Boiling point at P_{atm} (°C) | 75.0 ^b | 121.0 ^b | 168.0 ^b | 128.0 ^b | 102.0 ^b |
| Log P octanol/water | 0.7 ± 0.2 ^c | 1.8 ± 0.2 ^c | 2.8 ± 0.2 ^c | 2.0 ± 0.2 ^c | 0.9 ± 0.2 ^c |
| Water solubility at 25°C (g·L ⁻¹) | 86 (20°C) ^d 58.8 ± 4.3 ^e | 5.6 ^a 4.4 ± 0.1 ^f | 0.5 ^a 0.4 ± 0.0 ^f | 5.6 (30°C) ^g | 51.9 ± 2.2 ^f |
| Saturated vapour pressure at 25°C (Pa) | 12 132 ^a 12 510 ⁱ | 2306 ^a | 224 ^a 215 ⁱ | 1517 ⁱ | 9464 (37°C) ^h |
| Odor | Ether-like, wine-like ^b | Fruity, pineapple undernote ^b | Fruity, pineapple- banana note ^b | Green ^j | Wine, acetone-like ^b |

^aReid *et al.* (1987); ^bFuria & Bellanca (1975); ^cSciFinder Scholar (2005); ^dLe Thanh (1992) (Quoted from): Handbook of Chemistry and Physics (1962); ^eLe Thanh (1992): Experimental data; ^fPhilippe (2003): Experimental data (mineral water); ^gPaci Kora *et al.* (2004): Estimated with EPI software; ^hPhilippe *et al.* (2003): Estimated with MPBP-Win software; ⁱCovarrubias Cervantes *et al.* (2004): Experimental data; ^jGomes da Silva & Chaves das Neves (1999).

4.4.3. Gel texture

The firmness of the gels was measured using a texture analyzer (model 1122, Instron Ltd, Buckinghamshire, England) equipped with a stainless steel cylindrical sensor of $2.51 \cdot 10^{-2}$ m² surface with constant compression speed ($8.33 \cdot 10^{-4}$ m·s⁻¹). Penetration tests were performed at $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Gel sample surface and thickness were $1.45 \cdot 10^{-1}$ m² and $4.6 \cdot 10^{-2}$ m respectively. From the force-deformation data, the true stress – strain curve was derived, and Young's modulus of elasticity was obtained from the initial slope.

4.4.4. Static headspace analysis

Vials containing milk or acid gel samples were equilibrated at 20°C in a water bath for at least 30 min before analysis. This temperature corresponds to the average temperature reached by a thick yogurt in the mouth during the first seconds of consumption (Paci Kora, 2003). Before the experiment started ($t = 0$), the vial headspace (11 mL) was flushed with nitrogen ($150 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ for 25 s). The loss of each aroma compound during this operation was less than 1%. Samples were then sealed again and maintained at 20°C for up to 300 min. At selected intervals, the headspace was analysed by gas chromatography, with a new sample being used for each analysis. Samplings and injections were carried out with a CombiPAL autosampler (CTC Analytics, Switzerland). The gas chromatograph (GC; CP3800; Varian Analytical Instruments, Walnut Creek, United States of America) was equipped with a 3-m stainless steel column (2.2 mm i.d.) packed with Chromosorb W-AW 80–100 mesh with a stationary phase of Carbowax 20M-10%. The operating conditions were as follows: helium carrier flow rate $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; hydrogen flow rate $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; air flow rate $300 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; injector (splitless) temperature 190°C ; flame ionization detector (FID) temperature 200°C . The oven temperature was maintained at 80°C for 6 min and then increased to 140°C at a rate of $5^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, and finally to 180°C at a rate of $10^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$. The chromatograms were recorded and analysed using the Star Chromatography Workstation software (v5.31, Varian Associates Inc.).

Six concentrations of the aroma compounds in pure water were analysed in quadruplicate for calibration, allowing quantification of the compounds in the gas phase. To verify that no aroma compounds formed during the incubation, blank samples (non-aromatised) treated the same way as the experimental units were analysed after a 210-min equilibration.

4.4.5. Data treatment

Headspace concentration was reported as a ratio of concentration: C_g/C_m , where C_g and C_m are the aroma mass fractions (m/m) in the gas and the matrix phases respectively. Experimental data (C_g/C_m) were fitted to a variable-order kinetic model (Figure 4.1) using Table Curve 2D software (v5.0, AISN software Inc.):

$$C_t = C_\infty - (C_\infty^{1-n} + knt - kt)^{1/1-n} \quad \text{Equation 4.1}$$

Where C_t is the concentration at time t ; C_∞ the concentration at equilibrium; n the reaction order; and k , the kinetic constant.

This model was selected for the goodness of its fit to the experimental data (average correlation coefficient > 0.99 ; homogeneous distribution of residuals). The rate of release of each aroma compound from the matrices was obtained from the first derivative of equation 4.1:

$$dC/dt = k(C_\infty - C_t)^n \quad \text{Equation 4.2}$$

The initial rate of release (R_i) was calculated using equation 4.2 with $C_t = 0$.

The equilibrium concentration (C_∞) corresponds to the mass partition coefficient. However, because of the extrapolation, the C_∞ values obtained from the model were much less repeatable than the plateau values measured at 210 min. For this reason, the values measured at 210 min were considered equilibrium values and used for subsequent calculations. In all the matrices studied, after a 210-min equilibration, equilibrium

appeared to be reached for all compounds, i.e. the concentration measured in the headspace at that point in the kinetics was similar to the concentration at the next time point.

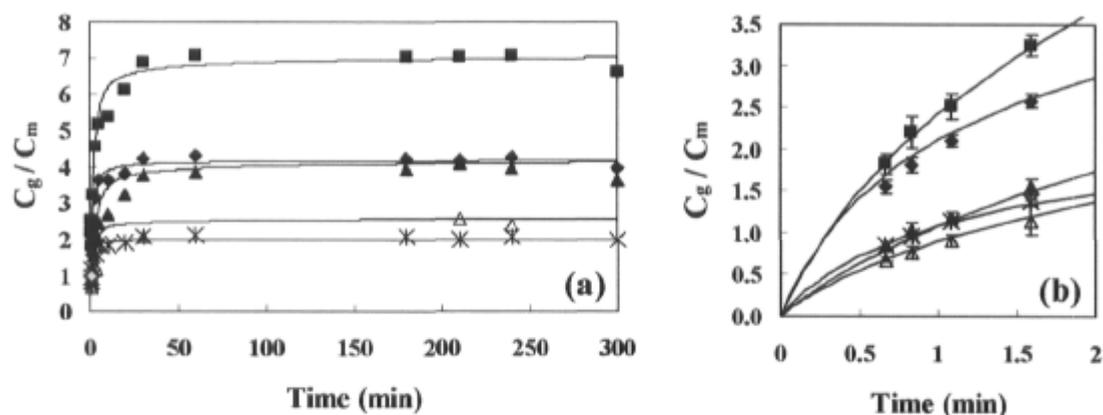


Figure 4.1. Aroma release kinetics from unheated skim milk (M). ◆Ethyl acetate; ■Ethyl butyrate; ▲Ethyl hexanoate; ×Pentan-2-one; △Hexanal. Prediction models from equation 4.1 are presented as solid lines ($r^2 > 0.99$). (a) Entire experiment; (b) Enlargement of the two first minutes.

To determine the effects of milk solids on the volatility of aroma compounds, mass partition coefficients measured in skim milk ($K_{\text{mass M}}$) were compared to those measured in water ($K_{\text{mass water}}$) according to the following equation:

$$\Delta K_{\text{ref-water}} = (K_{\text{mass M}} - K_{\text{mass water}}) / K_{\text{mass water}} \times 100 \quad \text{Equation 4.3}$$

A negative $\Delta K_{\text{ref-water}}$ indicates that milk solids increase retention of the compound in the aqueous phase, whereas a positive $\Delta K_{\text{ref-water}}$ indicates that milk solids promote the release of the compound in the headspace.

A similar calculation was used to determine the effect of milk heating and acid-induced gelation on the mass partition coefficient or initial rate of release. The mass partition

coefficients and initial rates of release obtained in skim milk were used as a reference instead of those obtained in water.

4.4.6. *Statistical analysis*

The experiments were repeated four times. Multivariate analysis of variance (MANOVA) was performed on the partition coefficients and the initial rates of release of aroma compounds in order to determine significant differences between the samples. This was followed by a least significant difference (LSD) means comparison test. The significance level was $p < 0.05$ throughout the study. The statistical analyses were performed with SAS software (Cary, NC, United States of America) using the mixed procedure.

4.5. RESULTS AND DISCUSSION

4.5.1. *Aroma release from water*

4.5.1.1. *Partition coefficients*

As shown in table 4.2, the vapour/water partition coefficients of aroma compounds increased in the following order: pentan-2-one (2P) < ethyl acetate (EA) < hexanal (H) < ethyl butyrate (EB) < ethyl hexanoate (EH). Among the compounds with the same number of carbons, the ester compound (ethyl butyrate) showed a higher vapour/water partition coefficient than the aldehyde (hexanal) (6.23 vs. 4.09). The saturated vapour pressure of ethyl butyrate is higher than that of hexanal (Table 4.1), which could explain the difference (Covarrubias Cervantes *et al.*, 2004). Like the results reported by other authors (Landy *et al.*, 1995; Philippe, 2003), our homologous series of esters exhibited an increase in the vapour/water partition coefficients with increasing carbon chain length and increasing hydrophobicity index ($\log P$) of the compound (Table 4.1).

Table 4.2. Partition coefficients (K_{mass}) from the different matrices at 20° C (n = 3 or 4).

| Aroma compound | Partition coefficient (K_{mass}) | | | | |
|-----------------|---|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| | Water* | Milk | Heated milk | Milk gel | Heated milk gel |
| Ethyl acetate | 3.37 ^w | 4.18 ^{b,x} | 4.14 ^{ab,x} | 4.02 ^{a,y} | 4.04 ^{ab,y} |
| Ethyl butyrate | 6.23 ^y | 7.04 ^{b,y} | 7.06 ^{b,z} | 6.21 ^{a,z} | 6.35 ^{a,z} |
| Ethyl hexanoate | 6.57 ^z | 4.11 ^{c,x} | 4.40 ^{d,y} | 3.12 ^{a,w} | 3.52 ^{b,x} |
| Pentan-2-one | 1.69 ^v | 2.00 ^{a,v} | 1.97 ^{a,v} | 1.97 ^{a,v} | 2.00 ^{a,v} |
| Hexanal | 4.09 ^x | 2.53 ^{a,w} | 2.63 ^{a,w} | 3.23 ^{b,x} | 3.20 ^{b,w} |

Means in the same row followed by different letters (a, b, c, d) are significantly different ($p < 0.05$). Means in the same column followed by different letters (v, w, x, y, z) are significantly different ($p < 0.05$). *For K_{mass} from water, comparisons were determined in an independent experiment.

4.5.1.2. Initial rates of release

The increasing order of the initial rates of release from purified water was as follows: EH < H < 2P < EB < EA (Table 4.3). The homologous series of esters exhibited an increase in initial rates of release with decreasing carbon chain length and molar volume (Table 4.1). These results suggest that in the undisturbed conditions of our investigation, the initial rate of release of aroma compounds was controlled by diffusion. In a previous study, Seuvre *et al.* (2006) reported opposite results for the same series of esters in mineral water at 37°C and suggested that hydrophobicity was the main factor driving the apparent initial rate of release. In their experimental set-up, samples were quickly transferred to flasks, with no headspace flushing, just before analysis. It can be postulated that, under such conditions, significant and unavoidable convection forces during transfer promote the quick release of aroma compounds according to their affinity with the media, masking the effect of

diffusion.

Table 4.3. Initial rates of release (R_i) from the different matrices at 20°C (n = 3 or 4).

| Aroma compound | Initial rate of release – R_i (min ⁻¹) | | | | | | |
|-----------------|--|------|-------------|------------------------------|----------|-----------------|------------------------------|
| | Water* | Milk | Heated milk | Means for milks | Milk gel | Heated milk gel | Means for gels |
| Ethyl acetate | 9.99 | 4.69 | 5.79 | 5.24 ^{b, z} | 1.49 | 1.71 | 1.60 ^{a, xy} |
| Ethyl butyrate | 6.70 | 4.32 | 5.33 | 4.82 ^{b, z} | 1.27 | 1.35 | 1.31 ^{a, xy} |
| Ethyl hexanoate | 2.94 | 1.61 | 2.18 | 1.89 ^{b, xy} | 0.62 | 0.63 | 0.63 ^{a, x} |
| Pentan-2-one | 5.59 | 2.30 | 2.81 | 2.56 ^{b, y} | 1.15 | 1.19 | 1.17 ^{a, xy} |
| Hexanal | 3.26 | 1.78 | 1.92 | 1.85 ^{b, x} | 0.99 | 1.08 | 1.03 ^{a, y} |

Means in the same row followed by different letters (a, b) are significantly different ($p < 0.05$). Means in the same column followed by different letters (x, y, z) are significantly different ($p < 0.05$). * For R_i from water, kinetic measurements were not repeated (n = 1).

4.5.2. Aroma release from aromatized skim milk

4.5.2.1. Partition coefficients

The aroma release kinetics of the different compounds from skim milk are illustrated in figure 4.1, and the mass partition coefficients are presented in table 4.2. The values obtained in skim milk were compared to those measured in water according to equation 4.3 (Figure 4.2). The most polar compounds, ethyl acetate (log P = 0.7), pentan-2-one (log P = 0.9) and ethyl butyrate (log P = 1.8), showed higher partition coefficients in skim milk than in water, resulting in positive $\Delta K_{\text{ref-water}}$ values (Figure 4.2). This suggests that competition for interaction with water occurred between aroma compounds and other milk solids. Lactose, which is highly hygroscopic, is present at a high concentration in skim milk (6.4%

(m/m)). Lactose has been shown to influence aroma compound retention in food matrices (van Willige *et al.*, 2000; Paci Kora *et al.*, 2004). In addition, it has been suggested that ions in milk could cause a salting-out effect (Nongonierma *et al.*, 2006). For the series of three ethyl esters, the putative “water-controlled” behaviour in skim milk decreases with increasing carbon chain length and hydrophobicity index (log P). The most hydrophobic of the three compounds, ethyl hexanoate (log P = 2.8), showed a negative $\Delta K_{\text{ref-water}}$ value corresponding to increased retention in skim milk compared to water (Figure 4.2). As in the case of esters, hydrophobic interactions with caseins (Landy *et al.*, 1995; Fischer & Widder, 1997) and whey proteins, especially β -lactoglobulin (Guichard & Langourieux, 2000), could explain the retention of ethyl hexanoate in skim milk. Residual lipids could also contribute to its retention. Hexanal retention in skim milk could likewise be attributed to hydrophobic interactions with proteins (Guichard & Langourieux, 2000) and residual lipids. Additionally, Schiff’s bases formation, i.e. bonds resulting from the reaction of carbonyl with amino groups of proteins, is likely to occur (Plug & Haring, 1993).

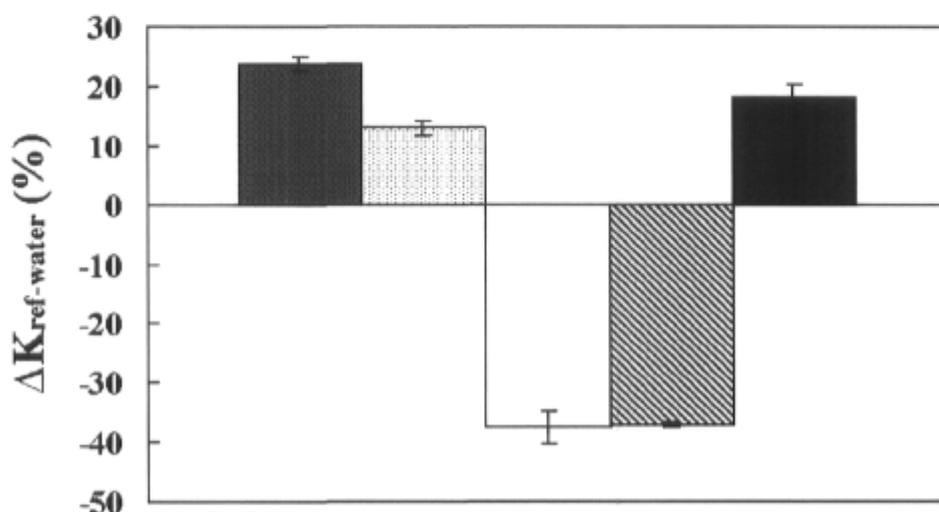


Figure 4.2. Difference in the mass partition coefficients (K_{mass}) of aroma compounds in unheated skim milk (M) relative to those measured in water. ■ Ethyl acetate; ▨ Ethyl butyrate; □ Ethyl hexanoate; ▩ Hexanal; ■ Pentan-2-one.

$$\Delta K_{\text{ref-water}} = (K_{\text{mass M}} - K_{\text{mass water}}) / K_{\text{mass water}} \times 100$$

4.5.2.2. *Initial rates of release*

For all the compounds, an average reduction of 48% in the initial rate of release was observed in skim milk relative to water (Table 4.3). According to Stokes–Einstein theory, the diffusion coefficient of a solute is inversely proportional to viscosity. Hence, the general reduction of the initial rates of release could be attributable mainly to the increased viscosity of the aqueous medium caused by addition of milk solids.

4.5.3. *Effect of heat treatment and acid-induced gelation on aroma release*

As a whole, the vapour/matrix mass partition coefficients and the initial rates of release (R_i) for the tested aromatized matrices varied according to the nature of the aroma compound ($p < 0.05$). In addition, the effects of heat treatment and acid-induced gelation on aroma release were shown to be compound-dependent, when significant.

The partition coefficients of the aroma compounds did not vary in the same order as the initial rates of release (Table 4.2 and Table 4.3). The pentan-2-one partition coefficients were the lowest for all matrices, and the ethyl butyrate ones were the highest. In increasing order, the partition coefficients in the various matrices were as follows: in M and HM: $2P < H < EA \leq EH < EB$; in MG: $2P < EH < H < EA < EB$; in HMG: $2P < H < EH < EA < EB$. The general increasing order of initial rates of release was $EH \leq H \leq 2P \leq EB \approx EA$, which corresponds to the order of the initial rates of release found in purified water.

4.5.3.1. *Partition coefficients*

The mass partition coefficients measured in the different matrices are presented in table 4.2. The values obtained in HM, MG and HMG were compared to those measured in M using equation 4.3, and the results are presented in figure 4.3. Skim milk heat treatment decreased the retention of ethyl hexanoate slightly ($p < 0.05$), but had no significant effect on other aroma compounds. Acid-induced gelation increased retention of ethyl esters significantly, by up to 24%, and decreased retention of hexanal by 28% ($p < 0.05$), whereas

it had no effect on retention of pentan-2-one ($p > 0.05$). The effect of milk heating and the effect of acid-induced gelation on partition coefficients was compound-dependent. In addition, a significant effect of the interaction between the three factors was found for the partition coefficients.

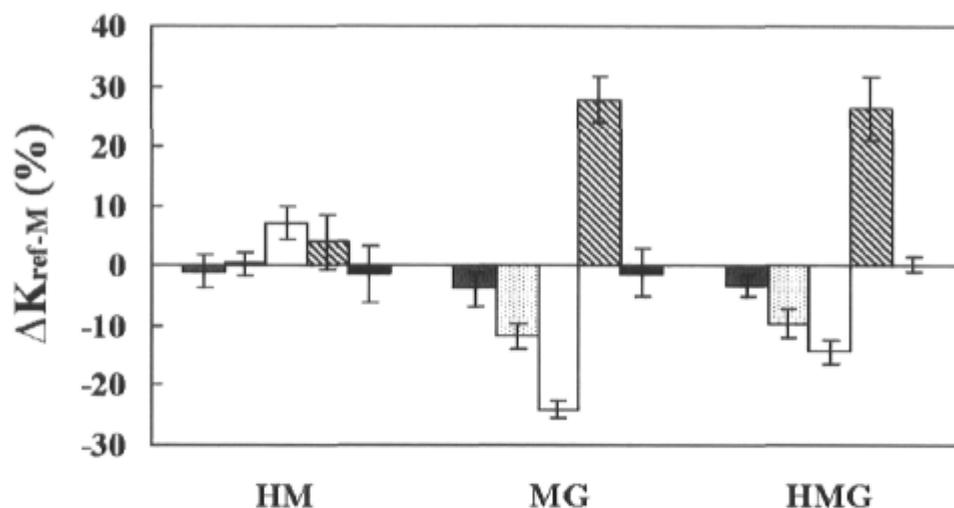


Figure 4.3. Difference in the mass partition coefficients (K_{mass}) of aroma compounds in various matrices relative to those measured in unheated skim milk (M). The matrices consisted of heated skim milk (HM), unheated skim milk gel (MG) and heated skim milk gel (HMG). ■ Ethyl acetate; ▨ Ethyl butyrate; □ Ethyl hexanoate; ▩ Hexanal; ■ Pentan-2-one. $\Delta K_{\text{ref-M}} = (K_{\text{mass matrix}} - K_{\text{mass M}}) / K_{\text{mass M}} \times 100$

Heat treatment induces unfolding and aggregation of whey proteins and their association with casein micelles, e.g. the association of β -lactoglobulin with κ -casein at the surface of casein micelle *via* hydrophobic interactions (Haque & Kinsella, 1988 ; Singh, 1995) and the formation of intermolecular disulphide bonds (Jang & Swaisgood, 1990; Singh, 1995). The retention of the most hydrophobic ester, ethyl hexanoate ($\log P = 2.8$), significantly decreased in HM ($p < 0.05$), but no effect was observed for compounds from the same chemical class. Hydrophobic domains in milk proteins are defined by the spatial

organization of aminoacyl residues, which determines the potential interaction with hydrophobic molecules. Studies on β -lactoglobulin have revealed that heating disrupts hydrogen and hydrophobic bonds with a consequent loss in secondary and tertiary structure as well as exposure of apolar residues and thiol groups of the protein to the aqueous environment (Jelen & Rattray, 1995). This results in various protein connections involving intermolecular disulphide bond formation, hydrogen bonding as well as electrostatic and hydrophobic interactions. The affinity of aroma compounds for thermally treated (75°C during 10 or 20 min) β -lactoglobulin has been shown to be weaker than that for the native protein (O'Neill & Kinsella, 1987). Aggregation of β -lactoglobulin in response to heat treatment would cause an increase in the number of connection sites (hydrophobic binding sites), which nonetheless exhibit a weaker affinity for the aroma compounds. Therefore, in heated milk, owing to whey protein denaturation, well-defined hydrophobic cavities, known to be binding sites for the majority of aroma compounds (e.g. hydrophobic pocket of β -lactoglobulin), are no longer available. In addition, enhanced protein-protein interactions could limit the availability of other hydrophobic sites. This could explain the weaker retention of ethyl hexanoate in HM.

Lowering of pH also causes changes in protein conformation. Among milk proteins, caseins are the most sensitive to pH variations. With slow acidification of milk, colloidal calcium phosphate in the casein micelles gradually solubilizes, casein micelles become unstable and aggregation occurs as pH approaches 4.6 (Cayot & Lorient, 1998). At a pH close to 4.6, a reduction of the electrostatic repulsions between casein micelles facilitates hydrophobic interactions between proteins. In addition, acidification induces the escape of β -casein from the micelle. This casein, which is the most hydrophobic casein, is located in the core of the native casein micelle. Thus, retention of the more hydrophobic aroma compounds (ethyl hexanoate: $\log P = 2.8$ and ethyl butyrate: $\log P = 1.8$) may also be amplified by partial exposure of the hydrophobic groups of caseins. This explanation has already been put forward by Nongonierma *et al.* (2006). The effect of acid-induced gelation on partition coefficients seems to increase as the carbon chain length and the hydrophobicity index ($\log P$) of the compound increase, as shown for the homologous series of esters (Figure 4.4). Figure 4.4 shows the linear relationship between the

hydrophobicity index ($\log P$) of the esters and their ΔK_{ref-M} . A reduction of the slope for HMG compared to that for MG could be explained by an increase in the number of hydrophobic protein–protein interactions in the gel when milk is heated before acidification (Zhu & Damodaran, 1994); this increase could partly reduce the aroma compounds' access to the hydrophobic domains of caseins.

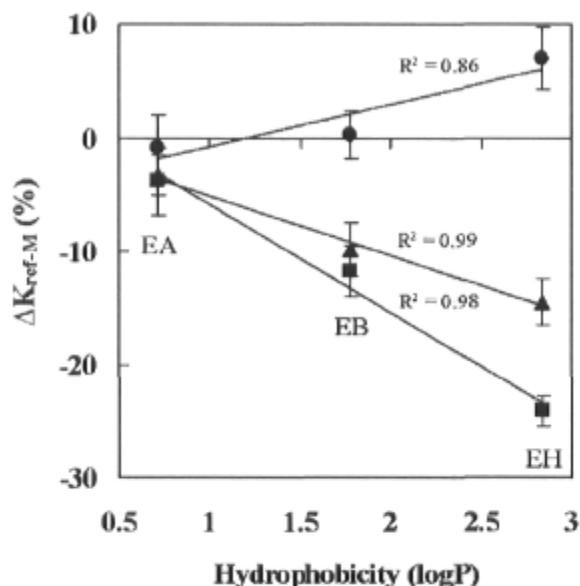


Figure 4.4. Difference in the mass partition coefficients (K_{mass}) of ethyl esters in various matrices relative to those measured in unheated skim milk (M), as a function of hydrophobicity index ($\log P$). The matrices consisted of heated skim milk (●), unheated skim milk gel (■) and heated skim milk gel (▲). EA: ethyl acetate, EB: ethyl butyrate, EH: ethyl hexanoate. $\Delta K_{ref-M} = (K_{mass\ matrix} - K_{mass\ M}) / K_{mass\ M} \times 100$

Both Jouenne and Cruzet (2000) and van Ruth and Villeneuve (2002) studied the effect of pH on the retention of aroma compounds by β -lactoglobulin solutions. A general increase in retention was observed between pH = 3 and pH = 9. This has been attributed to structural modifications of proteins allowing better access to binding sites: hydrophobic pocket and secondary external binding site. The dramatic decrease in retention at pH = 11

was hypothesized to be a consequence of alkaline denaturation of β -lactoglobulin (Jouenne & Crouzet, 2000). Authors van Ruth and Villeneuve (2002) found that the pH effect depended on the concentration of β -lactoglobulin and was also compound-dependent. However, in the complex dairy gel systems described in the present study, whey proteins are present in small proportions compared to caseins (0.7% vs. 3.6% (m/m)). Furthermore, for the heated skim milk gel, in particular, heat denatured β -lactoglobulin would be essentially incorporated into the protein network, becoming unavailable for interactions with aroma compounds (Nongonierma *et al.*, 2006).

As opposed to other studied aroma compounds, hexanal showed a markedly higher partition coefficient in the matrices at pH = 4.5 than in those at pH = 6.7 (positive value of ΔK_{ref-M} in figure 4.3). This can be linked to a decline in chemical protein binding as the pH decreases from 6.7 to 4.5. Mills and Solms (1984) reported a similar finding for heptanal in whey protein solutions at similar pH values (6.89 and 4.66). The authors borrowed the assumption that the aldehydes may react with the ϵ -amino group of lysine.

As mentioned above, during milk acidification, the colloidal calcium phosphate in the casein micelles solubilizes gradually as the pH approaches 4.6. The increase in ionic strength, after acid-induced gelation, should have enhanced the volatility of the aroma compounds. However, as a general trend, retention of aroma compounds in the gel matrices increased after acid gelation (Figure 4.3). This result suggests that specific interactions between aroma compounds and gel matrix overcome the expected effect of ionic strength. In addition, the gel structure may have helped to increase the retention of aroma compounds owing to steric hindrance, which limits migration of the compounds. This has been already suggested for polysaccharidic and proteic matrices (Rega *et al.*, 2002; Juteau *et al.*, 2004a; Seuvre *et al.*, 2004). However, in the present study, the gel structure appeared to have a much greater effect on the initial rate of release than on equilibrium partitioning.

4.5.3.2. Initial rates of release

The initial rates of release estimated for the different matrices are presented in table 4.3. Those measured in HM, MG and HMG were compared to those measured in M according to equation 4.3 and the $\Delta R_{i \text{ ref-M}}$ values for gels are presented in figure 4.5.

Heat treatment of milk had no significant effect on the initial rate of release of the various aroma compounds ($p > 0.05$). Therefore, the $\Delta R_{i \text{ ref-M}}$ values for HM are not shown. For both heated and non heated skim milk, acid-induced gelation reduced the initial rate of release by 37–70% depending on the aroma compound ($p < 0.05$). (Figure 4.5) No significant difference in initial rates of aroma release was found for the gels ($p > 0.05$), despite the fact that the gel derived from HM was significantly firmer than the gel obtained from M. Young's modulus was close to 8 times higher for HMG (7116 ± 427 Pa) than for MG (917 ± 62 Pa).

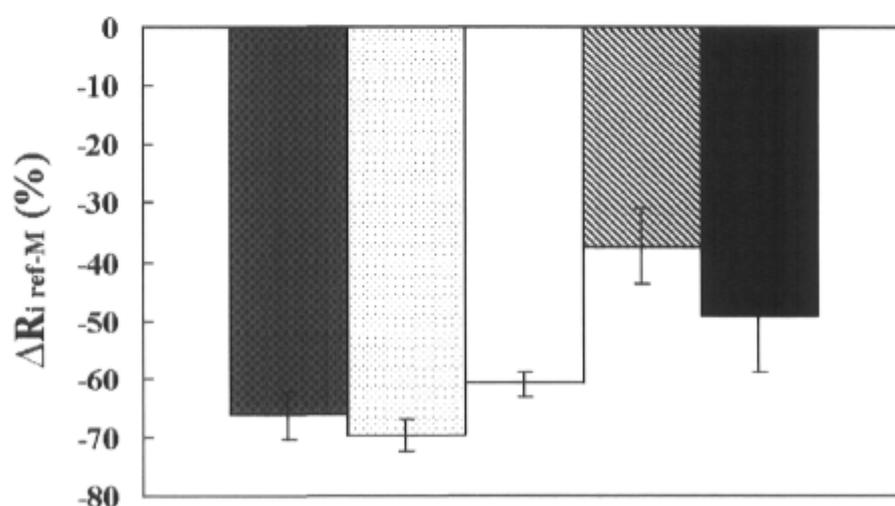


Figure 4.5. Difference in the initial rates of release (R_i) of aroma compounds in the gels (means for gels) relative to those estimated in unheated skim milk (M). ■ Ethyl acetate; ▨ Ethyl butyrate; □ Ethyl hexanoate; ▩ Hexanal; ■ Pentan-2-one.

$$\Delta R_{i \text{ ref-M}} = (R_{i \text{ matrix}} - R_{i \text{ M}}) / R_{i \text{ M}} \times 100$$

Analogous results have been obtained for ethyl butyrate using polysaccharidic matrices (Juteau *et al.*, 2004a). These authors studied aroma release (mass transfer and partition coefficients) on either side of the gelation point of ι -carrageenan matrices (1%). Gelation was induced through the addition of different concentrations of NaCl (0.1, 0.3 or 0.5%), and resulted in: 1) an entangled molecular solution; 2) a soft gel; and 3) a harder gel. No difference was observed between the mass transfer coefficient of linalool from matrices 1, 2 and 3, and ethyl hexanoate showed a mass transfer coefficient that differed significantly only between the ι -carrageenan solution and the harder gel (lower). This finding differs from our results. However, these authors' results for ethyl butyrate, like ours, suggest that the formation of the macromolecular network (gel formation) has a greater effect on its mass transfer than does reinforcement of the established network (hardening of the gel). Gel formation itself could slow down the transfer of aroma compounds to the gas phase, partly because collective movements are eliminated through fixation of the matrix core. Nevertheless, the three-dimensional protein network could also slow down the diffusion phenomenon that takes place within the matrix (Rega *et al.*, 2002). Since the effect of acid-induced gelation on the initial rate of release has been shown to be compound-dependent in the present study, the diffusion phenomenon appears to be an even more important factor deserving consideration.

The method used (static headspace analysis) in the present investigation may not have been sensitive enough to detect subtle differences between the initial rates of release from the different gels, unlike the situation in the mouth. In undisturbed gels, the microstructure in the surface layer might differ from that in the core. The surface layers of the various gels in vials may show similar microstructures, even if the inner microstructures differ. If so, they could offer similar resistance to mass transfer and have a similar effect on the rate of aroma release from the gels, since the transport of aroma compounds across the product–gas interface may be the rate-limiting step for aroma release (Harrison & Hills, 1997b).

The effect of matrix structure on the molecular migration of small molecules, such as aroma compounds, within gel-type food products, has not been fully elucidated. According to studies on polysaccharidic or gelatin matrices, it seems conceivable that an increased

number of molecule connections may induce a decrease in the diffusion motion of small molecules (Gillies *et al.*, 1996; Contreras-Lopez *et al.*, 2000), potentially leading to slower aroma release from highly branched broken gels. Gillies *et al.* (1996) studied the rotational correlation times and the translational diffusion constants of a radical spin probe (NaTMIOS: sulphonated 1,1,3,3-tetramethylisindolin-2-ylloxyl, free radical) in gelatin gels by electron paramagnetic resonance (EPR). The radical's mobility was influenced by gelatin concentration and by temperature. The authors found that translation motion was much more sensitive to biopolymer concentration than rotational motion. They suggested that the increasing density of the biopolymer chains forming the network restricts translational diffusion, but that relatively free rotation can still occur in the interchain cavities. Contreras-Lopez *et al.* (2000) studied the mobility of small molecules in concentrated systems containing various thickening (not gelling) agents. They measured the rotational mobility of nitroxide radicals (Tempol: 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl, free radical, MM = 172 g·mol⁻¹) with EPR, and determined the translational diffusion coefficient of fluorescein (disodium salt, Kuhlmann, MM = 332.3 g·mol⁻¹) using the fluorescence recovery after photobleaching method (FRAP). Probe mobility depended on the temperature and on the total dry matter content. Contreras-Lopez *et al.* found that rotational motion was not influenced by the nature or structure of the polysaccharide, and that translational diffusion was affected only in matrices containing polysaccharides forming entangled matrices (pullulan, 10%). However, it should be noted that fluorescein has a higher molecular mass than an average aroma compound (332.3 g·mol⁻¹ vs. ~140 g·mol⁻¹), and that Tempol falls into a high molecular mass category of aroma compounds. As Juteau *et al.* (2004a) reported, highly precise methods especially designed for aroma diffusion measurements are required. The investigation by Rega *et al.* (2002) showed that the addition of high methoxylated pectin (0.1% to 0.4%) in jam models decreased the release of hydrophobic aroma compounds. Pectin also caused a decrease in the apparent diffusion coefficient measured by the concentration-profile method (Voilley & Bettenfeld, 1985). However, these authors found no specific molecular interaction between aroma compounds and pectin (1%) in aqueous solutions, nor any difference in diffusion coefficient values between various pectin levels. They suggested that aroma retention in gelled systems might be due to the presence of a three-dimensional network which hinders

molecule migration. Obviously, milk gels have a different structure than polysaccharidic gels and gelatin gels. Targeted studies are needed to gain insight into the effect that increasing the density of a milk gel network (increased number of interchain connections) has on the migration rate of aroma compounds.

4.6. CONCLUSION

Acid-induced gelation had a dominant effect on aroma release; the effect seems to be greater for the initial rate of release than for equilibrium partitioning. Since the formation of an acid-induced gel itself led to a significant decrease in the initial rate of release for all the aroma compounds studied, no significant additional effect was observed with static headspace analysis when the gel network was reinforced by preheating the milk.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Des stratégies sont actuellement nécessaires pour parfaire le contrôle de la libération d'arôme dans des produits aux qualités nutritionnelles améliorées, notamment réduits en gras. Ainsi, un grand nombre de travaux ont porté sur le comportement des composés d'arôme dans différents milieux alimentaires, simples ou complexes, soumis à différentes conditions. Les résultats de ces études peuvent servir au développement d'approches plus systématiques en aromatisation. Le présent projet a pour sa part permis d'accroître les connaissances sur l'effet de la microstructure de produits contenant des protéines laitières (émulsions et gels) sur la libération d'arôme. Il a aussi permis d'évaluer l'effet de différents paramètres de procédé sur la libération d'arôme de tels produits.

De façon générale, pour les deux types de systèmes étudiés (émulsions et gels), des variations des paramètres de structure ont montré peu d'effets sur la libération d'arôme, même sur sa composante cinétique. Cependant, les paramètres de procédés testés sur les produits à l'étude ont montré des effets sur la libération d'arôme, qui pourraient s'expliquer par le changement de conformation des protéines laitières associé à ces traitements. Les résultats saillants sont les suivant.

Dans le cas des émulsions, l'augmentation de la pression d'homogénéisation a contribué à diminuer la libération d'arôme « à l'équilibre » dans des conditions non agitées (constante a – phase 2). Considérant qu'une augmentation de la pression d'homogénéisation a notamment été associée à une augmentation de la fraction de protéines adsorbées à l'interface, une meilleure affinité de l'hexanoate d'éthyle pour ces protéines pourrait expliquer les résultats. En effet, une forte relation négative observée entre la libération d'arôme « à l'équilibre » et la fraction de caséines adsorbées, suggère que le changement de conformation des caséines particulièrement, lors de leur adhérence à l'interface, puisse augmenter leur affinité pour l'hexanoate d'éthyle. Un meilleur accès aux zones hydrophobes des caséines pourrait expliquer qu'un composé hydrophobe, tel l'hexanoate d'éthyle ($\log P = 2,8$), soit davantage retenu dans un système où une plus grande proportion des protéines est adsorbée à l'interface. Très peu ou pas d'effet des conditions d'homogénéisation et des paramètres de structure de l'émulsion ont été mis en évidence sur

les paramètres cinétiques de la libération d'arôme dans des conditions agitées (intensité maximale ou indice de persistance). Les forces convectives contribuant à promouvoir la libération d'arôme ont pu masquer les effets perceptibles dans des conditions non agitées.

Dans le cas des gels acides, des deux paramètres de procédé à l'étude (traitement thermique et gélification acide), la gélification acide a eu un effet dominant sur la libération d'arôme. Pour le coefficient de partage, l'ampleur de l'effet a pu être liée à la classe chimique du composé d'arôme et à son hydrophobicité. La gélification acide a diminué de 28% la rétention de l'hexanal (aldéhyde), et a augmenté de jusqu'à 24% la rétention des esters d'éthyle. L'effet de la gélification acide sur la libération de ces derniers s'est montré augmenté avec l'hydrophobicité du composé. Un meilleur accès aux zones hydrophobes des caséines, après gélification, pourrait contribuer à augmenter les interactions hydrophobes avec les composés d'arôme. Malgré une fermeté accrue, le gel de lait chauffé a montré des coefficients de partage généralement semblables à ceux du gel de lait non chauffé. Concernant la vitesse initiale de libération, la gélification acide a contribué à la réduire de 37 à 70%, selon le composé d'arôme. Cela pourrait s'expliquer par l'élimination des transports collectifs, type convectif, dû à la fixation du cœur de la matrice lors de la gélification. Aucune différence n'a cependant été mise en évidence entre les vitesses initiales de libération d'arôme à partir de gels plus ou moins fermes (différentes microstructures) obtenus par chauffage ou non du lait avant acidification.

Plusieurs concentrés de protéines laitières sont disponibles et sont largement utilisés en formulation, notamment pour leurs propriétés émulsifiante et gélifiante. Le présent projet a résulté en une meilleure connaissance de l'implication de certains procédés de transformation sur la libération d'arôme en présence de ces protéines. Cela pourrait être considéré dans le développement d'une approche systématique en vue d'optimiser l'aromatisation de produits contenant des protéines laitières.

Différentes avenues pourraient être envisagées, afin d'approfondir les travaux accomplis dans le cadre de ce mémoire. Dans le cas des gels notamment, des études sur des milieux simples permettraient de vérifier certaines hypothèses avancées pour expliquer les résultats.

De plus, afin de vérifier plus spécifiquement l'effet de la microstructure d'un gel laitier sur le comportement des composés d'arôme, l'étude de la diffusivité dans les matrices serait nécessaire. L'utilisation de la méthode du profil de concentration pourrait notamment être envisagée, et éventuellement des mesures à l'échelle microscopique, telles peut-être des mesures adaptées de résonance magnétique nucléaire (RMN). Dans le cas des émulsions, des essais avec des émulsions plus grossières, par exemple, pourraient permettre d'approfondir l'effet de leur structure sur la libération d'arôme dans les conditions d'analyse de ce projet. En outre, puisque ultimement la perception des arômes en cours de consommation est ce qui compte vraiment, des essais ciblés en analyse sensorielle complèteraient bien les travaux de ce mémoire. L'utilisation d'une méthode suivant les variations de stimulation sensorielle perçues au cours de la consommation pourrait être envisagée, telle la méthode temps-intensité.

BIBLIOGRAPHIE

- Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P. & Simpson, R. (2002) Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. Vignola, L.C. (Ed.), *Science et technologie du lait : transformation du lait*, 2^e édition, Montréal : Presses internationales Polytechnique, pp. 1-73.
- Baek, I., Linforth, R.S.T., Blake, A. & Taylor, A.J. (1999) Sensory perception is related to the rate of change of volatile concentration in-nose during eating of model gels. *Chemical Senses*, 24, 155-160.
- Bakker, J. (1995) Flavor interactions with the food matrix and their effects on perception. In O.R. Fennema, M. Karel, G.W. Sanderson, S.R. Tannenbaum, P. Walstra & J.R. Whitaker (Eds.), *Ingredient interactions: Effects on Food Quality*, New-York: Marcel Dekker, pp. 411-439.
- Béal, C. & Sodini, I. (2003) *Fabrication des yaourts et des laits fermentés*. Paris : Éditions Techniques de l'ingénieur, traité Agroalimentaire, Doc. F 6 315.
- Brauss, M.S., Linforth, R.S.T., Cayeux, I., Harvey, B. & Taylor A.J. (1999) Altering the fat content affects flavor release in a model yogurt system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2055–2059.
- Britten, M., Gauthier, S. & Pouliot, Y. (2002) Ingrédients laitiers. Vignola, L.C. (Ed.), *Science et technologie du lait : transformation du lait*, 2^e édition, Montréal : Presses internationales Polytechnique, pp. 471-525.
- Britten, M. & Giroux, H.J. (1993) Interfacial properties of milk protein-stabilized emulsions as influenced by protein concentration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(8), 1187-1191.
- Cayot, P. & Lorient, D. (1998) *Structures et technofonctions des protéines du lait*. Paris: Lavoisier Tec & Doc, pp. 363.
- Cayot, P., Fairise, J.-F., Colas, B., Lorient, D. & Brulé, G. (2003) Improvement of rheological properties of firm acid gels by skim milk heating is conserved after stirring. *Journal of Dairy Research*, 70, 423-431.
- Charles, M., Rosselin, V., Beck, L., Sauvageot, F. & Guichard, E. (2000a) Flavor release from salad dressings: sensory and physiochemical approaches in relation with the structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1810-1816.
- Charles, M., Lambert, S., Brondeur, P., Courthaudon, J.-L. & Guichard, E. (2000b) Influence of formulation and structure of an oil-in-water emulsion on flavor release. In D.D. Roberts and A.J. Taylor (Eds.), *Flavor release*, ACS symposium series 763, Washington: American Chemical Society, pp.126-141.

Contreras-Lopez, E., Champion, D., Hervet, H., Blond, G. & Le Meste, M. (2000) Rotational and translational mobility of small molecules in sucrose plus polysaccharide solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1009-1015.

Covarrubias Cervantes, M., Mokbel, I., Champion, D., Jose, J. & Voilley, A. (2004) Saturated vapour pressure of aroma compounds at various temperatures. *Food Chemistry*, 85, 221-229.

Dalgleish, D.G. (2006) Food emulsions – their structures and structure-forming properties. *Food Hydrocolloids*, 20, 415–422.

de Roos, K.B. (1997) How Lipids influence Food Flavor. *Food Technology*, 51 (1), 60-62.

de Roos, K.B. (2000) Physiochemical models of flavor release from foods. In D.D. Roberts & A.J. Taylor (Eds.), *Flavor Release*, ACS symposium series 763, Washington: American Chemical Society, pp. 126-141.

Dickinson, E. (1996) *Les Colloïdes alimentaires*. traduit de l'anglais par J.-L. Courthaudon et M. Le Meste, Paris : Masson, pp. 216.

Druaux, C. & Voilley, A. (1997) Effect of food composition and microstructure on volatile flavour release: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 8, 364-368.

Elmore, J.S. & Langley K.R. (1996) Novel vessel for the measurement of dynamic flavour release in real time from liquid foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3560-3563.

Espinosa Diaz, M.A. (1999) Étude de la rétention et de la libération des composés d'arôme dans des milieux modèles en présence ou non de β -lactoglobuline. Thèse de doctorat, École Nationale Supérieure de Biologie Appliquée à la Nutrition et à l'Alimentation, Université de Bourgogne.

Espinosa Diaz, M.A., Guetachew, T., Landy, P., Jose, J. & Voilley, A. (1999) Experimental and estimated saturated vapour pressures of aroma Compounds. *Fluid Phase Equilibria*, 157, 257–270.

Fisher, N. & Widder S. (1997) How Proteins Influence Food Flavor. *Food Technology*, 51 (1), 68-70.

Furia, T.E. & Bellanca, N. (1975) *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients (vol. 2)*. In T.E. Furia & N. Bellanca (Eds.), 2nd ed., Cleveland: CRC Press, pp. 928.

Gillies, D.G., Sutcliffe, L.H., Wu, X. & Belted, P.S. (1996) Molecular motion of a water-soluble nitroxyl radical in gelatin gels. *Food Chemistry*, 55, 349-352.

Giroux, H., Perreault, V. & Britten, M. (2007) Characterization of hydrophobic flavor release profile in oil-in-water emulsions. *Journal of Food Science*, 72 (2), S125-S129.

Godshall, M.A. (1997) How Carbohydrates influence food flavor. *Food Technology*, 51, 63-67.

Gomes da Silva, M.D.R. & Chaves das Neves, H.J. (1999) Complementary use of hyphenated purge-and-trap gas chromatography techniques and sensory analysis in the aroma profiling of strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4568-4573.

Guichard, E. (2002) Interactions between flavour compounds and food ingredients and their influence on flavour perception. *Food Reviews International*, 18 (1), 49-70.

Guichard, E. & Langourieux, S. (2000) Interactions between β -lactoglobulin and flavour compounds. *Food Chemistry*, 71, 301-308.

Hansson, A, Andersson, J. & Leufvén, A. (2001) The effect of sugars and pectin on flavour release from a soft drink-related model system. *Food Chemistry*, 72, 363-368.

Haque, Z. & Kinsella, J.E. (1988) Interaction between heated k-casein and β -lactoglobulin: Predominance of hydrophobic interactions in the initial stages of complex formation. *Journal of Dairy Research*, 55, 67-80.

Harrison, M. & Hills, B.P. (1997a) Effects of air flow-rate on flavour release from liquid emulsions in the mouth. *International Journal of Food Science and Technology*, 32, 1-9.

Harrison, M. & Hills, B.P. (1997b) Mathematical model of flavour release from liquids containing aroma-binding macromolecules. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1883-1890.

Harrison, M., Hills, B.P., Bakker, J. & Clothier, T. (1997) Mathematical Models of Flavor Release from Liquid Emulsions. *Journal of Food Science*, 62 (4), 653-664.

Harwalkar, V.R. & Kalab, M. (1980) Milk gel structure. XI. Electron microscopy of glucono- δ -lactone-induced skim milk gels. *Journal of Texture Studies*, 11, 35-49.

Hollowood, T.A., Linforth, R.S.T. & Taylor, A.J. (2002) The effect of viscosity on the perception of flavour. *Chemical Senses*, 27, 583-591.

Jang, H.D. & Swaisgood, H.E. (1990) Disulphide bond formation between thermally denatured β -lactoglobulin and κ -casein in casein micelles. *Journal of Dairy Science*, 73, 900-904.

Jelen, P. & Rattray, W. (1995) Thermal denaturation of whey proteins. In P.F. Fox (Ed.), *Heat-induced Changes in Milk*, 2nd ed., Brussels: International Dairy Federation Special Issue no. 9501, pp. 66-85.

Jouenne, E. & Crouzet, J. (2000) Effect of pH on retention of aroma compounds by β -lactoglobulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1273-1277.

Juteau, A., Doublier, J.-L. & Guichard, E. (2004a) Flavor release from ι -carrageenan matrices: A kinetic approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1621-1629.

Juteau, A., Cayot, N., Chabanet, C., Doublier, J.-L. & Guichard, E. (2004b) Flavour release from polysaccharide gels : different approaches for the determination of kinetic parameters, *Trends in Food Science and Technology*, 15, 394-420.

Kinsella, J.E. (1984) Milk proteins physicochemical and functional properties. *CRC Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 21,197-259.

Kinsella, J.E. & Whitehead, D.M. (1989) Proteins in whey: chemical, physical, and functional properties. *Advances in Food & Nutrition Research*, 33, 343-438.

Kulozik, U., Tolkach, A., Bulca, S. & Hinrich, J. (2003) The role of processing and matrix design in development and control of microstructures in dairy food production – a survey, *International Dairy Journal*, 13, 621-630.

Land, D.G. (1978) Some factors influencing the perception of flavour-contributing substances in food, In D.G. Land & H. Nursten (Eds.), *Progress in Flavor Research*, London: Applied Sciences Publishers, pp. 53-56.

Landy, P., Rogacheva, S., Lorient, D. & Voilley, A. (1998) Thermodynamic and kinetic aspects of the transport of small molecules in dispersed systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 12, 57-65.

Landy, P., Druaux, C. & Voilley, A. (1995) Retention of aroma compounds by proteins in aqueous solution. *Food Chemistry*, 54, 387-392.

Landy, P., Courthaudon, J.-L., Dubois, C. & Voilley, A. (1996) Effect of interface in model food emulsion on the volatility of aroma compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 526-530.

Leman, J. & Kinsella, J.E. (1989) Surface activity, film formation, and emulsifying properties of milk proteins. *CRC Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 28 (2), 115-138.

Le Thanh, M. (1992) Extraction de substances aromatisantes produites par voie microbiologique – Étude des interactions entre substances d'arôme et constituants d'un milieu de culture. Thèse de doctorat, University de Bourgogne, Dijon, France.

- Le Thanh, M., Thibeaudeau, P., Thibaut, M.A. & Voilley, A. (1992) Interactions between volatile and non-volatile compounds in the presence of water. *Food Chemistry*, 43, 129-135.
- Lubbers, S. (2006) Texture-aroma interactions. In A. Voilley & P. Étievant (Eds.), *Flavour in food*, Abington, Cambridge: Woodhead Publishing Ltd., pp. 327-344.
- Lucey, J.A. & Singh, H. (1998) Formation and physical properties of acid milk gels: A review. *Food Research International*, 30, 529-542.
- Lucey, J.A., Cheng, T.T., Munro, P.A. & Singh, H. (1999) Microstructure, permeability and appearance of acid gels made from heated skim milk. *Food Hydrocolloids*, 12, 159-165.
- McClements, D.J. (2004) *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. 2nd ed., Washington: CRC Series in Contemporary Food Science, pp. 609.
- Mestres, M., Moran, N., Jordan, A. & Buettner, A. (2005) Aroma release and retronasal perception during and after consumption of flavored whey protein gels with different textures. 1. In vivo analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 403-409.
- Mestres, M., Kieffer, R. & Buettner, A. (2006) Release and perception of ethyl butanoate during and after consumption of whey protein gels: Relation between textural and physiological parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1814-1821.
- Miettinen, S.M. Tuorila, H. Piironen, V. Vehkalahti, K. & Hyvönen, L. (2002) Effect of emulsion characteristics on the release of aroma as detected by sensory evaluation, static headspace gas chromatography, and electronic nose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4232-4239.
- Mills, O.E. & Solms, J. (1984) Interaction of selected flavour compounds with whey proteins. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 17, 331-335.
- Mulvihill, D.M. & Grufferty, M.B. (1995) Effect of thermal processing on the coagulability of milk by acid. In P.F. Fox (Ed.), *Heat-induced Changes in Milk*, 2nd ed., Brussels: International Dairy Federation Special Issue no. 9501, pp. 188-205.
- Nongonierma, A., Springett, M., Le Quéré, J.-L., Cayot, P. & Voilley, A. (2006) Flavour release at gas/matrix interfaces of stirred yoghurt models. *International Dairy Journal*, 16, 102-110.
- Odake, S., Roozen J.P. & Burger, J.J. (2000) Flavor release of diacetyl and 2-heptanone from cream style dressings in three mouth model systems. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64 (12), 2523-2529.

- O'Neill, T.E. & Kinsella, J.E. (1987) Binding of alkanone flavors to β -lactoglobulin: Effects of conformational and chemical modification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35, 770-774.
- Overbosch, P., Afterof, W.G.M. & Haring, P.G.M. (1991) Flavor release in the mouth. *Food Reviews International*, 7 (2), 137-184.
- Paci Kora, E. (2003) Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la saveur ? Thèse de doctorat, Institut nationale agronomique Paris-Grignon, Paris, France.
- Paci Kora, E., Souchon, I., Latrille, E., Martin, N. & Marin, M. (2004) Composition rather than viscosity modifies the aroma compound retention of flavored stirred yogurt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (10), 3048-3056.
- Philippe, E. (2003) Étude de différents paramètres physico-chimiques sur la rétention des composés d'arôme par des matrices possédant un comportement rhéologique similaire. Thèse de doctorat, Université de Bourgogne, Dijon, France.
- Philippe, E., Seuvre, A.-M., Colas, B., Langendorff, V., Schippa, C., & Voilley, A. (2003) Behaviour of flavour compounds in model food systems: a thermodynamic study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1393-1398.
- Plug, H. & Haring, P. (1993) The role of ingredient-flavour interactions in the development of fat-free foods. *Trends in Food Science and Technology*, 4, 150-152.
- Poling, B.E., Prausnitz, J.M. & O'Connell, J.P. (2001) Diffusion coefficients. *The properties of gases and liquids*, 5th ed., New York: McGraw-Hill Book Company, pp. 11.1–11.55.
- Rega, B., Guichard, E. & Voilley, A. (2002) Flavour release from pectin gels: Effects of texture, molecular interactions and aroma compounds diffusion. *Sciences des Aliments*, 22, 235-248.
- Reid, C., Prausnitz, J.M., & Poling, B.E. (1987) Pressure–volume–temperature relation of pure gases and liquids. *The properties of gases and liquids*, 4th ed., New York: McGraw-Hill Book Company., pp. 11–73.
- Richard, H. (1992) Connaissance de la nature des arômes. H. Richard & J.L. Multon (Coord.), *Les Arômes alimentaires*, Paris : Lavoisier Tec & Doc pp. 22-37.
- Roberts, D.D. & Acree, T.E. (1995) Simulation of retronasal aroma using a modified headspace technique: Investigating the effects of saliva, temperature, shearing, and oil on flavor release, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2179-2186.

Roberts, D., Pollien, P. & Watzke, B. (2003) Experimental and modeling studies showing the effect of lipid type and level on flavor release from milk-based liquid emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 189-195.

Rogacheva, S., Espinosa Diaz, M.A. & Voilley, A. (1999) Transfer of aroma compounds in water-lipid systems: Binding tendency of β -lactoglobulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 259-263.

Salvador, D., Bakker, J., Langley, K.R., Potjewijd, R., Martin, A. & Elmore, J.S. (1994) Flavour release of diacetyl from water, sunflower oil and emulsions in model systems. *Food Quality and Preference*, 5, 103-109.

SciFinder Scholar (2005) American Chemical Society: Log P calculé en utilisant Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) software Solaris v4.67 (1994-2005).

Seuvre, A.-M., Espinosa Diaz, M.A. & Voilley, A. (2000) Influence of the food matrix structure on the retention of aroma compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4296-4300.

Seuvre, A.-M., Goubet, I. & Voilley, A. (2002) Rôle de l'eau dans le comportement des substances d'arôme en milieu aqueux, peu hydraté, émulsionné et gélifié. *L'eau dans les aliments*, M. Le Meste, D. Lorient & D. Simatos (Coord.) Paris : Lavoisier Tec & Doc, pp. 313-346.

Seuvre, A.-M., Espinosa Diaz, M.A., Cayot, P. & Voilley, A. (2004) Influence of the composition and the structure of different media on the release of aroma compounds. *Le Lait*, 84, 305-316.

Seuvre, A.-M., Philippe, E., Rochard, S. & Voilley, A. (2006) Kinetic study of the release of aroma compounds in different model food systems. *Food Research International*, 40 (4), pp. 480-492.

Shama, F. & Sherman, P. (1973) Identification of stimuli controlling the sensory evaluation of viscosity. *Journal of Texture Studies*, 4, 111-118.

Singh, H. (1995) Heat-induced changes in casein, including interactions with whey proteins. In P.F. Fox, *Heat-induced Changes in Milk*, 2nd ed., Brussels: International Dairy Federation Special Issue no. 9501, pp. 86-104.

Sodini, I., Remeuf, F., Haddad, S. & Corrieu, G. (2004) The relative effect of milk base, starter, and process on yogurt texture: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 113-137.

Taylor, A.J. (2002) Release and transport of flavors in vivo: physicochemical, physiological, and perceptual considerations. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1, 45-57.

Tornberg, E. (1978) The interfacial behaviour of three food proteins studied by the drop volume technique. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29, 762-776.

Tromelin, A., Andriot, I. & Guichard, E. (2006) Protein-flavour interactions. In A. Voilley et P. Étievant (Eds.), *Flavour in food*, Abington, Cambridge: Woodhead Publishing Ltd., pp. 172-207.

van Ruth, S.M., Roozen, J.P. & Cozijnsen, J.L. (1995) Volatile compounds of rehydrated french beans, bell peppers and leeks. Part 1. Flavour release in the mouth and in three mouth model systems. *Food Chemistry*, 53 (1), 15-22.

van Ruth, S.M. & Roozen, J.P. (2002) Delivery of flavours from food matrices. In A.J. Taylor (Ed.), *Flavour technology*, Sheffield: Sheffield Academic Press Ltd., pp. 167-184.

van Ruth, S. M. & Villeneuve, E. (2002) Influence of β -lactoglobulin, pH and presence of other aroma compounds on the air/liquid partition coefficients of 20 aroma compounds varying in functional group and chain length. *Food Chemistry*, 79, 157-164.

van Vliet, T., Lakemond, C.M.M. & Visschers, R.W. (2004) Rheology and structure of milk protein gels. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 9, 298-304.

van Willige, R.W.G., Linssen, J.P.H. & Voragen, A.G.J. (2000) Influence of food matrix on absorption of flavour compounds by linear low-density polyethylene: Proteins and carbohydrates. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 80, 1779-1789.

Voilley, A. & Souchon, I. (2006) Flavour retention and release from the food matrix : an overview. In A. Voilley et P. Étievant (Eds.) *Flavour in food*, Abington, Cambridge: Woodhead Publishing Ltd., pp. 117-132.

Voilley, A., Espinosa Diaz, M.A., Druaux, C. & Landy, P. (2000) Flavor release from emulsion and complex media. In D.D. Roberts, A.J. Taylor (Eds), *Flavor release*, ACS symposium series 763, Washington: American Chemical Society, pp.142-152.

Voilley, A. & Bettenfeld, M.L. (1985) Diffusivities of volatiles in concentrated solutions. *Journal of Food Engineering*, 4, 313-323.

Walstra, P. (1975) Effect of homogenization on the fat globule size distribution in milk. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 29, 279-94.

Walstra, P. & Oortwijn, H. (1982) The membranes of recombined fat globules. III. Mode of formation. *Netherlands Milk & Dairy Journal*, 36 (2), 103-113.

Weel, K.G.C., Boelrijk, A.E.M., Alting, A.C., van Mil, P.J.J.M., Burger, J.J., Gruppen, H., Voragen, A.G.J. & Smit, G. (2002) Flavor release and perception of flavoured whey protein gels: Perception is determined by texture rather than by release. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5149-5155.

Zhu, H. & Damodaran, S. (1994) Heat-induced conformational changes in whey protein isolate and its relation to foaming properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 846-855.

