

Résumé

Les phospholipides, également nommés lécithines lorsqu'ils sont désignés par leur terme commercial, sont des émulsifiants aux applications très répandues dans l'industrie alimentaire, ceci en vue d'améliorer la qualité organoleptique des produits finis (chocolats, pâtisseries, margarines,...).

Dans le cadre de ce travail, l'analyse des propriétés physicochimiques des matières grasses additionnées de lécithine de soja commerciale a confirmé l'influence de sa teneur sur la cristallisation des matières grasses (notamment au niveau de la teneur en solide, de la dureté, du polymorphisme et de la microstructure des cristaux). Qui plus est, les résultats obtenus ont prouvé l'existence d'effets distincts sur ces propriétés techno-fonctionnelles des matières grasses lorsque les phospholipides sont issus d'origines différentes (à partir du soja, du colza et du lin).

Mots clés : lécithine, émulsifiant, phospholipides, cristallisation, polymorphisme

Abstract

Phospholipids, also called lecithin in trade, are emulsifiers with widespread applications in the food industry, this in order to improve the organoleptic quality of finished products (chocolates, pastries, margarine,...).

As part of this work, the analysis of physicochemical properties of commercial soybean lecithin added fat blend has confirmed the influence on the crystallization of fat blend (particularly in terms of the solid fat content, hardness, polymorphism and crystals microstructure). Furthermore, the results have proved the existence of distinct effects on these techno-functional properties of fat blend when the phospholipids are derived from different origins (from soybeans, canola and flax).

Keywords: lecithin, emulsifier, phospholipids, crystallization, polymorphism

Table des matières

Table des figures	i
Table des tableaux	ii
Liste des abréviations	iii
Introduction générale.....	1
Chapitre 1. Matériel et Méthodes	3
1.1. Matières premières	3
1.2. Préparation des échantillons	3
1.2.1. Préparations des mélanges	3
1.2.2. Cristallisation.....	3
1.3. Détermination des propriétés physicochimiques.....	4
1.3.1. Dureté par texturométrie.....	4
1.3.2. Contenu en graisse solide (SFC) par résonance magnétique nucléaire pulsée basse résolution (pRMN).....	5
1.3.3. Polymorphisme par diffraction de rayons X de poudres (DRX).....	5
1.3.4. Observation des cristaux par microscopie	6
1.4. Méthode d'analyse des résultats	6
1.4.1. Contenu en solide par pRMN	6
1.4.2. Dureté par texturométrie.....	7
1.5. Extraction des phospholipides.....	7
1.5.1. Extraction des phospholipides	7
1.5.2. Vérification de la composition des phospholipides par chromatographie (CCM)	8
Chapitre 2. Résultats et Discussion	9
2.1. Introduction	9
2.2. Comparaison des caractéristiques physicochimiques entre les différents mélanges de matières grasses	9
2.2.1. Introduction.....	9
2.2.2. Isothermes de cristallisation par pRMN	9

2.2.3. Dureté par texturomètre	11
2.2.4. Détermination des formes de polymorphisme par DRX	11
2.2.5. Observation des cristaux par microscopie	12
2.3. Effets de la lécithine commerciale sur la cristallisation des matières grasses ...	12
2.3.1. Introduction.....	12
2.3.2. Contenu en solide par pRMN	13
2.3.3. Dureté par texturomètre	15
2.3.4. Détermination des formes polymorphiques par DRX	17
2.3.5. Observation des cristaux par microscope	19
2.3.6. Conclusion	21
2.4. Effets des phospholipides au laboratoire	22
2.4.1. Introduction.....	22
2.4.2. Extraction des phospholipides de colza et de lin	22
2.4.3. Comparaison entre les effets des phospholipides de colza, de lin et de la lécithine commerciale sur la cristallisation des matières grasses	23
Chapitre 3. Conclusions et perspectives.....	30
3.1. Conclusion	30
3.2. Perspectives	30
Références bibliographies	32
Annexe.....	33

Table des figures

Figure 1.1. Echantillons en récipient plastique et en tube.....	3
Figure 1.2. Texturomètre de type SMS TA.XT2i/5 (Stable Micro Systems)	4
Figure 1.4. Schéma du diffractomètre de poudres (Culot, 1994) et appareil de diffraction RX (Bruker, Allemagne).....	6
Figure 1.5. Schéma d'analyse chromatographique	8
Figure 2.1. Cristallisation des mélanges de l'huile M1, M2 et M3 à 10°C.....	10
Figure 2.2. Cristallisation des mélanges de l'huile M1, M2 et M3 à 20°C.....	10
Figure 2.3. Dureté des mélanges de M1, M2 et M3 après cristallisation et tempérage de 15°C pendant 48 h	11
Figure 2.4. Diffractogrammes obtenus par DRX pour les mélanges M1, M2 et M3.....	12
Figure 2.5. Microstructure des cristaux de M1, M2 et M3 sans lécithine.....	12
Figure 2.6. Cristallisation du M1 avec l'ajout de la lécithine commerciale en proportion de 0, 1, 2 et 3 % à 10°C et 20°C.....	13
Figure 2.7. Cristallisation du M2 avec l'ajout de la lécithine de soja en proportion de 0, 1, 2 et 3 % à 10°C et 20°C.....	14
Figure 2.8. Cristallisation du M3 avec l'ajout de la lécithine de soja en proportion de 0, 1, 2 et 3 % à 10°C et 20°C.....	14
Figure 2.9. Influence de la teneur en lécithine commerciale sur la dureté des mélanges M1, M2 et M3	16
Figure 2.10. Diffractogrammes obtenus par DRX pour le mélange M1 avec 3 teneurs en lécithine ajoutée.....	17
Figure 2.11. Diffractogrammes obtenus par DRX pour le mélange M2 avec 3 teneurs en lécithine ajoutée.....	18
Figure 2.12. Diffractogrammes obtenus par DRX pour le mélange M3 avec 3 teneurs en lécithine ajoutée.....	18
Figure 2.13. Microphotographies des cristaux pour les échantillons du M1	19
Figure 2.14. Microphotographies des cristaux pour les échantillons du M2	20
Figure 2.15. Microphotographies des cristaux pour les échantillons du M2	21
Figure 2.16. Phospholipides de colza et de lin	23
Figure 2.17. Compositions qualitatives des LS, PLC et PLL par chromatographie	23
Figure 2.18. Isotherme de cristallisation des échantillons à 10°C et 20°C	24
Figure 2.19. Influence des différents types de phospholipides sur la dureté des échantillons.	25
Figure 2.20. Influence du temps de tempérage sur la dureté des échantillons.....	26
Figure 2.21. Diffractogrammes obtenus par DRX pour le mélange M2 avec 3 phospholipides différents.....	26
Figure 2.22. Microphotographies des cristaux après tempérage à 15°C pendant 48h	28

Figure 2.23. Microphotographies des cristaux après tempérage à 15°C	28
pendant une semaine	28
Figure 2.24. Microphotographies des cristaux après tempérage à 15°C	29
pendant 3 semaines.....	29

Table des tableaux

Tableau 2.1. Paramètres de modèle mathématique modifié de Gompertz	10
Tableau 2.2. Paramètres de modèle de Gompertz de contenu en solide des M1, M2 et M3 à la teneur en lécithine de 0, 1, 2 et 3%	15
Tableau 2.3. Extraction de phospholipides de colza (PLC):	22
Tableau 2.4. Extraction de phospholipides de lin (PLL):	22
Tableau 2.5. Paramètres de Gompertz sur l'isotherme de cristallisation des échantillons	24
Tableau 2.6. Évolution des formes polymorphiques des mélanges M1, M2 et M3.....	27

Liste des abréviations

M1	Huile de palme
M2	Mélange d'huile de palme et d'huile de colza en proportion 70/30
M3	Mélange d'huile de palme et d'huile de colza en proportion 50/50
LS	Lécithine de soja commerciale
PLC	Phospholipides de colza « labo »
PLS	Phospholipides de lin « labo »
RMN	Résonance magnétique nucléaire pulsée basse résolution (pRMN)
SFC	Contenu de graisse solide (%)
DRX	Diffraction de rayons X de poudres
JMP	Logiciel de découverte statistique de JMP de SAS
CCM	Chromatographie sur couche mince

Introduction générale

Dans divers produits alimentaires, la matière grasse qui est presque essentiellement composée de triglycérides, se trouve à l'état cristallisée ou semi-cristallisée à la température d'utilisation ou de stockage. Le processus de cristallisation des matières grasses influence largement les propriétés rhéologiques et texturales ainsi que la stabilité des produits finis qui la contiennent (la viscosité, le démoulage, le croquant, la brillance et les caractéristiques de fonte) (Cansell, 2005).

Actuellement, il est possible d'utiliser plusieurs techniques pour améliorer les propriétés techno-fonctionnelles des matières grasses, par exemple : emploi de corps gras transformés, choix de matières premières différentes ou ajout d'agents de texturation, etc.

De nos jours, la lécithine, qui est un mélange de phospholipides, trouve une application très répandue dans l'industrie alimentaire. Ceux-ci ont la propriété d'être émulsifiants, car ce sont des molécules amphiphiles, avec une tête polaire et deux queues aliphatiques (Wang, 2008). Ces émulsifiants sont utilisés également pour améliorer la qualité organoleptique de chocolats, de pâtisseries, de margarines, etc. Elle a aussi des applications dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique, dans les régimes, etc.

En général, la lécithine commerciale a pour origine le soja. Toutefois, le risque d'allergie aux protéines de soja et l'émergence de lécithine de soja d'origine à partir d'OGM ont conduit à l'inquiétude des consommateurs.

C'est pourquoi, il est nécessaire non seulement de poursuivre des recherches sur la lécithine de soja commerciale, mais aussi d'améliorer les connaissances sur l'utilisation d'autres sources potentielles de phospholipides.

Aussi, dans le cadre de ce travail de fin d'études, dont le sujet est : « **Influence des phospholipides sur la cristallisation de matières grasses** », nous avons investigué à la fois l'influence d'une lécithine commerciale et de phospholipides issus d'autres sources végétales comme le colza et le lin. L'objectif de cette étude est de déterminer l'influence des phospholipides sélectionnés sur la cristallisation de mélanges de matières grasses modèles à base d'huile de palme.

Ce travail se subdivise en plusieurs parties:

- Caractérisation physicochimique de matières grasses (références).
- Caractérisation physicochimique de matières grasses en présence de phospholipides commerciaux.
- Obtention de phospholipides de lin et de colza (et caractérisation).
- Caractérisation physicochimique de matières grasses en présence de phospholipides issus de lin et de colza.
- Comparaison de l'effet des phospholipides commerciaux et des phospholipides issus de lin et de colza.

Le plan d'expérimentation est le suivant :

1. Sur la lécithine commerciale

- L'expérimentation est réalisée indépendamment sur l'huile de palme (M1) et 2 mélanges d'huiles (%) : Palme 70 - Colza 30 (M2) ; Palme 50 - Colza 50 (M3).
- Le facteur d'essai : Teneur en lécithine commerciale à 4 niveaux 0, 1, 2, 3% (LS0, LS1, LS2, LS3).
- Les réponses observées : la cinétique de cristallisation (SFC), la dureté, le polymorphisme et la microscopie des cristaux des 3 échantillons M1, M2, M3.

2. Sur les phospholipides extraits au labo

Après avoir réalisé les essais en utilisant la lécithine commerciale, nous choisissons un mélange et une teneur en lécithine pour étudier l'effet des phospholipides extraits au labo : Phospholipides de colza (PLC) et phospholipides de lin (PLL).

Chapitre 1. Matériel et Méthodes

1.1. Matières premières

Les différentes matières grasses utilisées pour ce travail sont : une huile de palme raffinée (fournie par ADM International, USA), une huile de colza raffinée (fournie par Wilmar Edible oils B.V., Pays-Bas), une huile de colza brute (fournie par Cargill) et une huile de lin brute (fournie par Vandeputte SA).

Une lécithine de soja commerciale : nom commercial « Verolec Non GOM IP », fournie par Lasenor Emul SL.

1.2. Préparation des échantillons

1.2.1. Préparations des mélanges

Les différentes matières grasses sont d'abord portées à 70°C, température à laquelle elles sont complètement fondues, et maintenues à cette température 15 à 30 minutes, de façon à effacer leur passé, leur histoire thermique, et donc détruire toutes les amorces cristallines (Danthine, 2007).

Des mélanges pondéraux sont ensuite réalisés à chaud. Les matières grasses sont mélangées dans un récipient en verre sec, dans les proportions appropriées, sous agitation douce. Le poids total de chaque mélange est de 300 g.

Les échantillons sont ensuite répartis dans des récipients en plastique (diamètres de 6 cm) à raison de 50 g par récipient et maintenus sous forme liquide à 50°C. Ils sont ensuite soumis à une agitation manuelle lente avant la cristallisation (Danthine, 2007).

Les échantillons sont aussi répartis dans des tubes en verre (Bruker, Allemagne) sur une hauteur de 3 à 4 cm et maintenus sous forme liquide à 70°C avant l'analyse du SFC (Danthine, 2007).

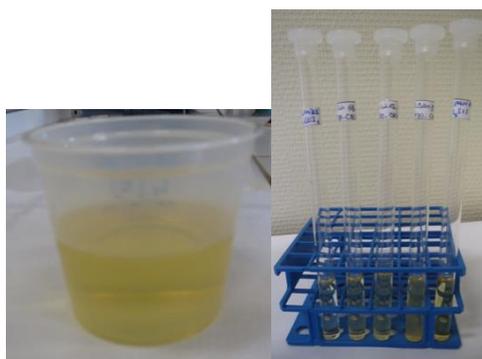


Figure 1.1. Échantillons en récipient plastique et en tube

1.2.2. Cristallisation

La cristallisation de l'ensemble des échantillons est réalisée statiquement. Chaque échantillon a été fondu à 70°C/30 minutes, avec destruction de l'ensemble des amorces cristallines. Ensuite, il est placé 20 minutes à 50°C avant d'être disposé sans couvercle à -20°C pendant 30 minutes (l'air emprisonné entre le couvercle et la matière grasse est isolant et empêche une homogénéité de tempérage autour de la matière grasse). Enfin, les

échantillons sont tempérés à 15°C pendant 48 h pour le développement des cristaux, puis analysés. La mise à température est réalisée dans les conditions de températures rigoureusement contrôlées (chambre avec thermostat) (Danthine, 2007).

1.3. Détermination des propriétés physicochimiques

1.3.1. Dureté par texturométrie

Matériel

L'appareillage utilisé pour caractériser la texture, exprimée en dureté (g), est un texturomètre de type SMS TA.XT2i/5 (Stable Micro Systems, Surrey UK) muni d'une sonde conique ayant un angle de 45° (P/45C) et d'une cellule de charge de 25 kg.

Méthode de caractérisation

Les expériences ont été réalisées selon une méthode consistant à mesurer une « force en compression » suivie d'un « return to start ». Cette méthode, apparentée à la méthode classique utilisant le pénétromètre à mobile lesté, est particulièrement adaptée pour évaluer et comparer la texture d'une large gamme de dureté de produits gras. Les données collectées sont la force maximale atteinte durant la pénétration. Notons encore que toutes les analyses sont réalisées dans une chambre avec thermostat (LMS Cooled Incubator) dont la température a été fixée à 15°C ± 0,5°C. Les paramètres d'analyses sont repris ci-dessous :

- Vitesse de pré-test : 0,5 mm/s ;
- Vitesse de test : 0,5 mm/s ;
- Vitesse de post-test : 2 mm/s ;
- Distance de pénétration : 5 mm ;
- Seuil de détection : 100 g
- Vitesse d'acquisition des données : 200 pps (Danthine, 2007).

Cinq à six mesures ont été réalisées dans chaque récipient plastique et répétées au minimum 2 fois par échantillon.

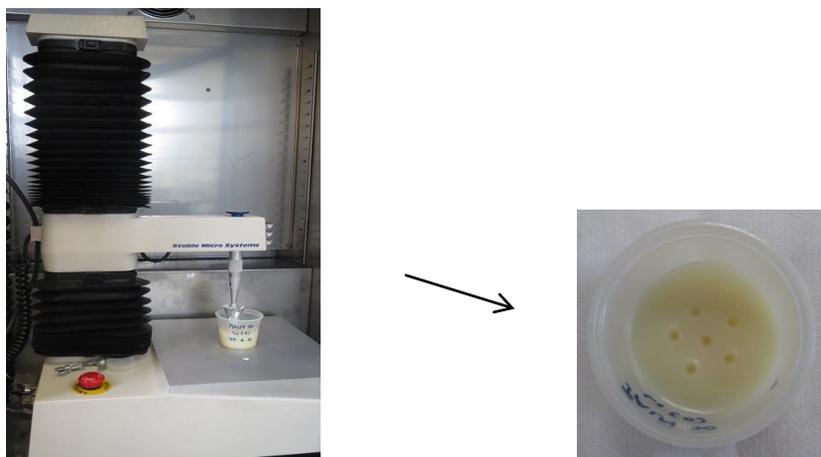


Figure 1.2. Texturomètre de type SMS TA.XT2i/5 (Stable Micro Systems)

1.3.2. Contenu en graisse solide (SFC) par résonance magnétique nucléaire pulsée basse résolution (pRMN)

Définition et principe

La RMN pulsée à basse résolution (pRMN) est une méthode spectroscopique qui utilise l'aptitude de certains noyaux, l'hydrogène dans ce cas-ci, à interagir avec un champ magnétique externe.

Une impulsion est envoyée dans un champ magnétique dans lequel se trouve l'échantillon. Lorsque l'envoi de cette impulsion cesse, les noyaux d'hydrogène se relaxent. Plus le milieu est visqueux et plus le temps de relaxation est court, ce qui implique que les protons de la portion solide de matière grasse se relaxent plus vite que ceux de la fraction liquide. Le signal est enregistré au temps zéro, il représente la contribution du total de protons, phases liquide et solide confondues. Le signal est également enregistré quelques instants plus tard lorsque la contribution des protons en phase solide s'est estompée. Il est donc possible grâce à cette technique de connaître le pourcentage de phase solide d'une matière grasse (SFC) pour une température donnée (Danthine, 2007).

Matériel

L'appareil utilisé pour la détermination de la teneur en graisses solides est un appareil de résonance magnétique nucléaire de type Minispec MQ20 (Bruker, Allemagne). L'appareil est calibré quotidiennement (mode de travail « BPL ») à l'aide de trois étalons ayant des valeurs de SFC de 0%, 31,1% et 74,8% (Danthine, 2007).

Méthode de caractérisation

Les tubes contenant les échantillons à analyser sont fondus à 70°C de façon à éliminer la totalité des germes cristallins. Les cinétiques de cristallisation ont été enregistrées à 10 et 20°C. Pour cela, le tube contenant l'échantillon est placé dans un bain à 10°C ou 20°C. La première analyse « au temps zéro » est rapidement effectuée. Ensuite, les mesures de SFC ont été réalisées chaque minute et ce, pendant 60 minutes.

Le contenu en solide (SFC) est lu directement, il est exprimé en %.

1.3.3. Polymorphisme par diffraction de rayons X de poudres (DRX)

Définition et principe

Les rayons X sont des radiations électromagnétiques qui interagissent avec la matière et produisent des effets tels que réfraction, diffusion ou absorption. Parmi ceux-ci, la diffusion de Rayleigh est basée sur la diffraction des rayons X par les cristaux, la périodicité du cristal transformant le phénomène continu de diffusion en un phénomène discontinu de diffraction (Van Meersche, 1984 ; cité par Danthine, 2007).

Matériel

Les mesures de diffraction RX de poudres sont effectuées à l'aide d'un diffractomètre D8 Advance (Bruker, Allemagne) à radiation Cu-K α : $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$, muni d'un système de contrôle de la température programmable pouvant travailler de -193°C à 450°C (Anton Paar, Australie). Ce système de contrôle de température se compose d'une chambre à température « TTK450 Low-Temperature Chamber » (Anton Paar, Australie). Les mesures

de diffraction ont été effectuées dans les zones angulaires 2°-13° (long spacings) et 15°-27° (2θ, short spacings). Les intensités de diffraction (exprimées en coups/sec) ont été enregistrées via le logiciel Eva 2 (14.0.0.0) (Bruker, Allemagne) (Trinh, 2011).

Méthode de caractérisation

Les mélanges sont placés déjà cristallisés et tempérés sur un porte-échantillon préalablement placé dans une enceinte conditionnée à la même température (15°C). Chaque échantillon est alors irradié par un faisceau de rayons X.

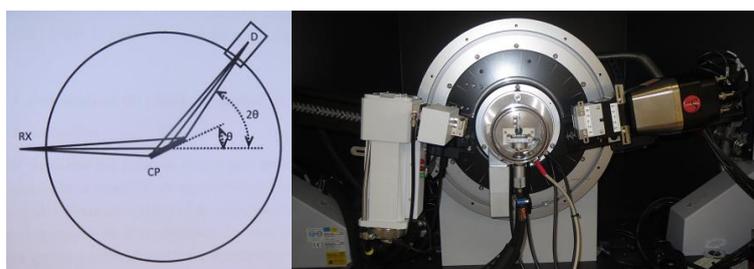


Figure 1.4. Schéma du diffractomètre de poudres (Culot, 1994) et appareil de diffraction RX (Bruker, Allemagne)

1.3.4. Observation des cristaux par microscopie

Matériel

Les échantillons ont été observés grâce à un microscope de type « Nikon Eclipse E400 » binoculaire avec 4 objectifs (10X, 20X, 40X et 100X immersion à l'huile). Toutes les images sont digitalisées grâce à une caméra Nikon DS-Fi2 avec boîtier de commande, et traitées par un analyseur d'image NIS-D Nikon (Nikon Instruments Europe B.V., France).

Méthode de caractérisation

Une portion d'échantillon qui a été préparé pour les analyses de dureté (même condition de cristallisation et de tempérage que lors des analyses de dureté et du polymorphisme) a été placée sur une lame de microscopie et observée à l'aide d'un grossissement 20X.

1.4. Méthode d'analyse des résultats

1.4.1. Contenu en solide par pRMN

D'après des études de Pajin et al. (2011), la cinétique de cristallisation peut être décrite par des modèles mathématiques de Avrami ou Gompertz ou un modèle de Gompertz modifié parce que ses paramètres ont une signification physique. Par conséquent, pour l'analyse de nos données expérimentales, nous avons utilisé un modèle modifié de Gompertz (l'exécution de régression non linéaire). Sur la base de ces paramètres, les propriétés de cristallisation de différentes graisses peuvent être comparées. La dépendance temporelle du SFC pendant la cristallisation à une température constante est donnée par un modèle prévisionnel:

$$S(t) = a * \text{Exp}(-\text{Exp}(\mu * e/a * (\lambda - t) + 1))$$

Où : S(t) : le SFC (%) à temps t (min) ;

a : L'asymptote (la fraction maximum de graisse solide) ;

μ : Le taux de croissance (le taux maximal d'augmentation de la fraction de matières grasses solides ou la tangente de la courbe de cristallisation, dans son point d'inflexion) ;

λ : Le point d'inflexion (un temps d'induction nominal défini comme étant l'intersection de la tangente au point d'inflexion de l'axe du temps) ;

$e = 2.7183$: Le nombre de logarithme naturel.

Les paramètres de ce modèle ont été déterminés sur la base des données expérimentales en ajustant les courbes de données au moyen d'une régression non linéaire par l'utilisation de la méthode de moindre carré à l'aide d'Excel Solver.

1.4.2. Dureté par texturométrie

Pour analyser les résultats expérimentaux de la dureté, nous utilisons le logiciel de statistique de JMP (SAS Campus Drive). Les résultats de dureté sont comparés aux moyennes par l'utilisation de « All pair, Tukey HSD » de l'ANOVA.

1.5. Extraction des phospholipides

1.5.1. Extraction des phospholipides

Les phospholipides extraits au laboratoire ont été préparés en réalisant un dégommage à l'eau.

L'objectif de ce processus est d'éliminer les phospholipides hydratables présents dans un échantillon d'huile brute.

Matériel : Bain-marie à 65°C ; agitateur mécanique à pales ; berlin de forme haute, centrifugeuse de laboratoire et flacons.

Réactif : eau distillée.

Procédure :

- Peser 500 g d'huile brute dans un berlin, le placer dans un bain-marie à 65°C, installer l'agitateur et mélanger 10 minutes afin de porter l'huile à $\pm 65^\circ\text{C}$.
- Ajouter 3% d'eau distillée, et mélanger 30 minutes à la vitesse de 350 rpm.
- Stopper l'agitation, répartir dans les flacons et centrifuger 15 minutes à 3000 rpm.
- Décanter la couche d'huile surnageante afin de récupérer l'extrait = gommages.

Après avoir réalisé ce dégommage à partir d'huile brute de lin et d'huile brute de colza, les phospholipides extraits ont été concentrés par précipitation à l'acétone :

Procédure :

- Pour 50 g de gommages, ajouter 20ml d'acétone pour les dissoudre. Ensuite, ajouter doucement 230 ml d'acétone glacé et placer un heure au frigo. Ensuite, centrifuger, décanter le solide et le sécher en évaporant l'acétone. Ces concentrés de phospholipides seront utilisés pour les essais dans la 2^{ème} étape d'expérimentation au laboratoire.

1.5.2. Vérification de la composition des phospholipides par chromatographie (CCM)

Principe

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique.

Matériel

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont :

- La cuve chromatographique : un récipient en verre, fermé par un couvercle étanche.
- La phase stationnaire : une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté.
- L'échantillon : les phospholipides sont dilués dans le chloroforme à 2 %.
- L'éluant : un mélange de solvant inclus des compositions ci-dessus :

Composition	Proportion
Chloroforme	85
Méthanol	15
Eau	3
Acide acétique	10

Méthode de caractérisation

L'échantillon est déposé en un point de la plaque situé à environ 1 cm de la partie inférieure au moyen d'un capillaire.

On introduit ensuite 0,5 cm d'éluant dans la cuve chromatographique, puis la plaque avec l'échantillon. Après avoir refermé la cuve, on attend que le solvant migre jusqu'au front de solvant prédéfini. On retire ensuite la plaque chromatographique pour lecture des résultats.

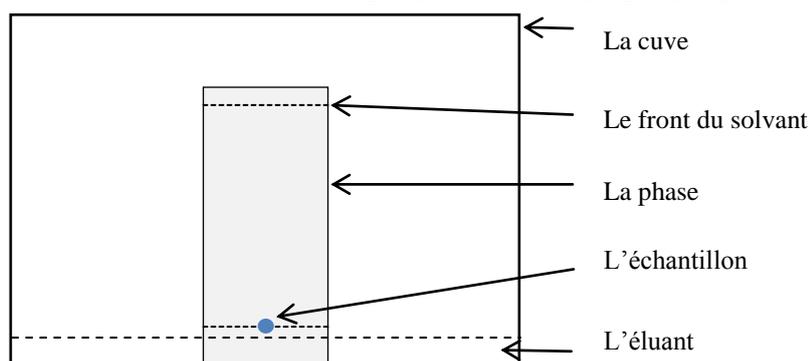
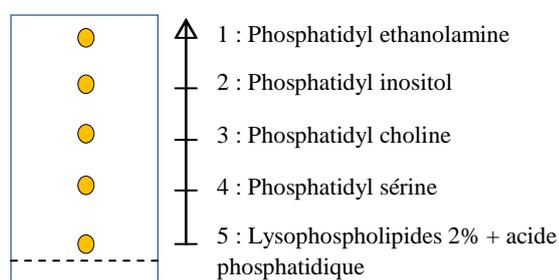


Figure 1.5. Schéma d'analyse chromatographique

Un mélange de phospholipides est utilisé comme témoin afin de déterminer qualitativement le contenu des extraits. L'éluution se déroule comme suit :



Chapitre 2. Résultats et Discussion

2.1. Introduction

Dans l'industrie agro-alimentaire, de nombreux types de matières grasses sont employés. Dans ce travail, les huiles de palme et de colza ont été sélectionnées car elles sont très fréquemment utilisées industriellement dans la formulation de margarines et shortenings.

La lécithine de soja est un agent émulsifiant très populaire dans l'industrie agro-alimentaire.

Dans cette étude, l'effet de l'ajout d'une lécithine commerciale sur la physicochimie de mélanges de matières grasses a été investigué. Des phospholipides ont ensuite été extraits par dégommeage à l'eau, à partir d'huiles brutes (colza et lin). Ils ont ensuite été ajoutés à ces mêmes mélanges de matières grasses. Leurs effets ont été comparés à ceux de la lécithine commerciale.

2.2. Comparaison des caractéristiques physicochimiques entre les différents mélanges de matières grasses

2.2.1. Introduction

Trois mélanges entre l'huile de palme et l'huile de colza ont été préparés et étudiés dans ce travail : huile de palme (M1), mélange de 70% d'huile de palme et 30% d'huile de colza (M2), mélange de 50% d'huile de palme et 50% d'huile de colza (M3).

L'huile de palme est riche en acides gras palmitique et acides gras oléique (Morin et Pagès-Xatart-Pagès, 2012). Elle est solide à température ambiante.

L'huile de colza est riche en acides gras monoinsaturés (acide oléique) et polyinsaturés (acide linoléique). Elle est liquide à température ambiante (Morin et Pagès-Xatart-Pagès, 2012).

2.2.2. Isothermes de cristallisation par pRMN

a) 10°C :

Les courbes d'évolution du taux de solides du M1, M2 et M3 en fonction du temps, à 10°C sont présentées en figure 2.1. Le SFC de M1 obtenu après 60 minutes de cristallisation, est le plus élevé à $34,5\% \pm 1,9$ et le M3 est le plus faible à $11,9\% \pm 0,2$. Toutefois, ces observations montrent que le contenu en solide des 3 mélanges augmente immédiatement aux premières minutes à la température de 10°C.

b) 20°C :

Le taux de solides à 20°C, a été mesuré toutes les minutes pendant 60 minutes, pour les deux mélanges et pour l'huile de palme. L'observation du graphique de la figure 2.2 montre que le contenu en solides de l'huile de palme (M1) et des mélanges avec l'huile de colza (M2, M3) sont très différents. Le SFC obtenu après 60 minutes de cristallisation pour M1 est le plus élevé : $15,3\% \pm 0,6$ et pour M3 le plus faible : $6,5\% \pm 0,2$. D'après l'allure des courbes, on remarque que l'augmentation du taux de solides est plus rapide dans les premières minutes pour l'huile de palme que pour les mélanges M2 et M3.

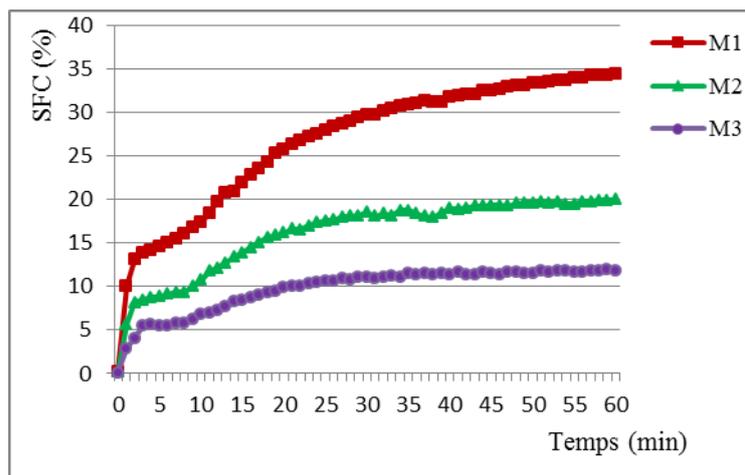


Figure 2.1. Cristallisation des mélanges de l'huile M1, M2 et M3 à 10°C

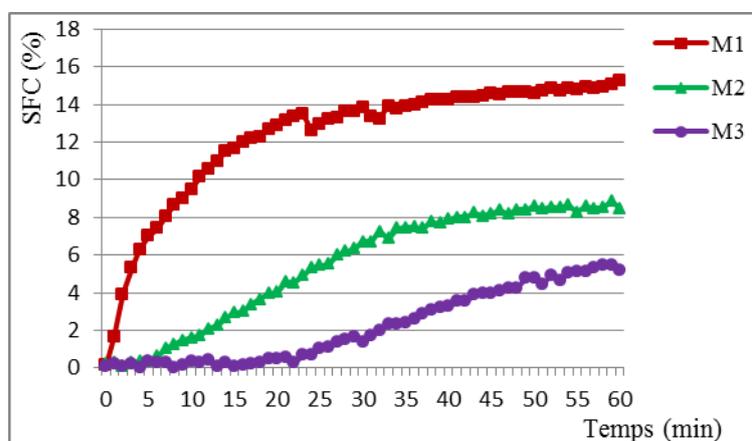


Figure 2.2. Cristallisation des mélanges de l'huile M1, M2 et M3 à 20°C

Comme décrit dans le Chapitre 1 (Matériel et Méthodes), le modèle de Gompertz a été utilisé pour calculer des paramètres caractéristiques de ces cinétiques. Les valeurs de ces paramètres sont indiquées dans le tableau 2.1, elles montrent que la vitesse de cristallisation (μ) de M1 est plus grande par rapport à celle de M2 et à M3 à 10°C et 20°C. Les valeurs du paramètre λ , qui indique l'importance du temps d'induction pour la cinétique de cristallisation, sont égales à 0, ce qui signifie que le temps d'induction est pratiquement négligeable à 10°C, c'est-à-dire que les cristaux sont formés immédiatement à 10°C. En outre, à la température de 20°C, ces valeurs sont assez grandes pour M2 et M3, ce qui signifie que dans ce cas le temps d'induction est significatif.

Tableau 2.1. Paramètres de modèle mathématique modifié de Gompertz

T (°C)	Echantillon	Fraction maximale de solide a (%)	Taux de cristallisation μ (%/min)	Temps d'induction λ (min)
10°C	M1	34,5 ± 1,2	1,7	0
	M2	20 ± 1,9	1,1	0
	M3	11,9 ± 0,2	0,7	0
20°C	M1	15,3 ± 0,6	1,1	0
	M2	8,9 ± 0,2	0,3	5,2
	M3	6,5 ± 0,2	0,2	10,5

L'information obtenue à partir des courbes de solide (SFC) permet de dire que, à la température donnée, les mélanges qui contiennent plus d'huile de palme cristallisent plus facilement et ont un SFC plus élevé que les autres après 60 minutes de cristallisation isotherme. Ces résultats s'expliquent sur base de la teneur en acides gras saturés plus élevée dans l'huile de palme. Nous pouvons également voir que la température influence la vitesse de cristallisation : plus la température est faible, plus la cristallisation est rapide. Cependant, la vitesse de cristallisation n'est pas identique pour les 3 échantillons.

2.2.3. Dureté par texturomètre

D'après les observations de la dureté des 3 mélanges dans la figure 2.3, on remarque que la dureté moyenne de l'huile de palme est de $247,7 \pm 19,4$ g. L'ajout d'une proportion d'huile de colza dans l'huile de palme (30% pour M2 et 50% pour M3) provoque rapidement la réduction de la dureté des mélanges M2 à $27,1 \pm 0,6$ g et M3 à $3,4 \pm 0,1$ g. La différence de la dureté entre les trois mélanges est significative à $p < 0,05$.

Ces résultats sont en adéquation avec les résultats de contenu en solides déjà discutés ci-dessus.

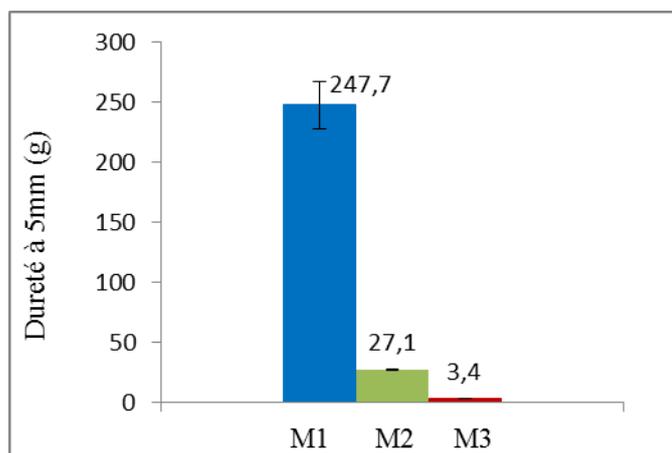


Figure 2.3. Dureté des mélanges de M1, M2 et M3 après cristallisation et tempéage de 15°C pendant 48 h

2.2.4. Détermination des formes de polymorphisme par DRX

Le polymorphisme a été investigué à 15°C par diffraction des rayons X de poudres dans les mêmes conditions que lors des mesures de dureté, après cristallisation et mise à tempéage pendant 48 h à 15°C.

Les résultats de l'analyse du polymorphisme des 3 matières premières M1, M2 et M3 sont illustrés à la figure 2.4 et dans le tableau 2.2. Les diffractogrammes obtenus (Figure 2.4) prouvent que la forme β' est clairement visible dans les 3 mélanges. C'est la forme polymorphique spécifique de l'huile de palme. Le signal diminue de plus en plus de M1 jusqu'à M3 ce qui correspond à la réduction de la proportion d'huile de palme dans ces échantillons. Ceci explique aussi la dureté plus grande de M1 par rapport à M2 et M3. Par ailleurs, il est probable que la courbe de M3 montre une présence de la forme β avec un signal très faible.

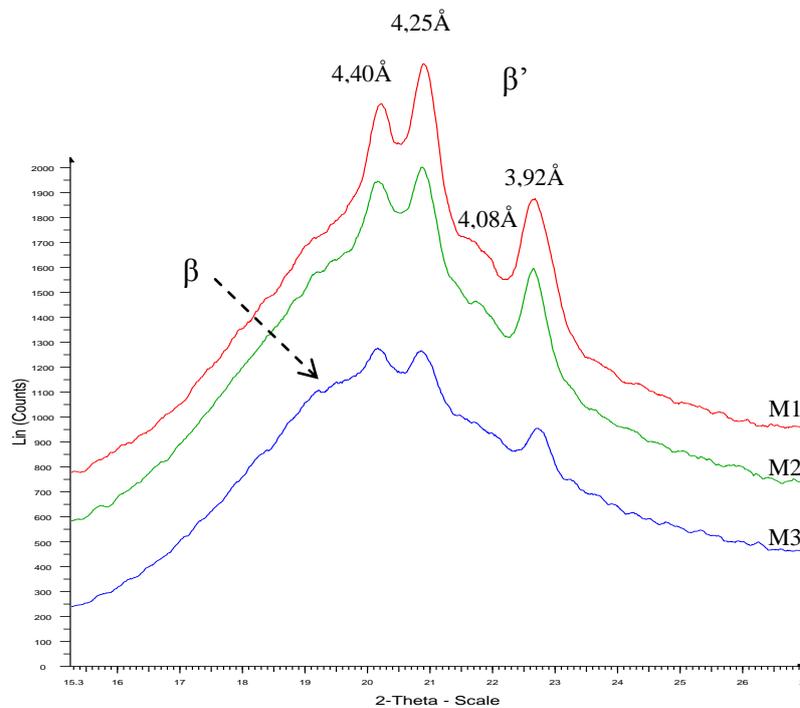


Figure 2.4. Diffractogrammes obtenus par DRX pour les mélanges M1, M2 et M3

2.2.5. Observation des cristaux par microscopie

Après chaque cristallisation et mise à température des échantillons, la taille des cristaux gras est observée de manière à pouvoir comparer les résultats obtenus pour des compositions différentes des échantillons.

La figure 2.5 présente un cliché de microscopie optique obtenu sur les mélanges de M1, M2 et M3. On peut voir que la taille des cristaux n'est pas homogène pour les 3 mélanges. La taille des cristaux de M3 est plus grande et se situe autour de 12 – 37 μm de longueur. Pour le M2, les cristaux sont d'environ 12-17 μm et de forme ronde et carrée, avec parfois quelques cristaux en forme de rectangle de 20-25 μm de longueur. Parmi le M3, la taille des cristaux observés varie de 4 à 10 μm , avec parfois quelques plus grands cristaux de 16 - 22 μm .

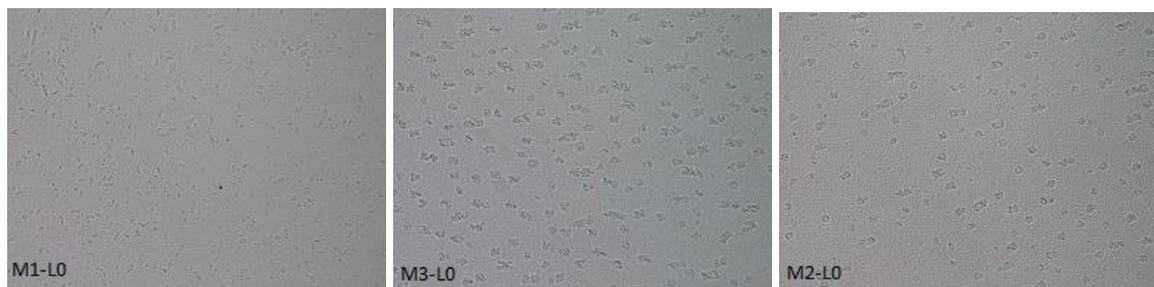


Figure 2.5. Microstructure des cristaux de M1, M2 et M3 sans lécithine

2.3. Effets de la lécithine commerciale sur la cristallisation des matières grasses

2.3.1. Introduction

Dans cette partie, les essais ont été réalisés pour définir les effets de l'ajout d'une lécithine de soja commerciale en proportion de 1, 2 et 3% (LS1, LS2, LS3 et L0 : témoin) sur la physicochimie de mélanges de matières grasses codés M1, M2 et M3.

2.3.2. Contenu en solide par pRMN

M1 : huile de palme 100%

Le suivi de l'évolution du SFC du M1, à 10°C, en fonction du temps (Figure 2.6) ne montre quasiment aucune différence quelle que soit la teneur en lécithine commerciale ajoutée. Au contraire, les courbes obtenues à 20°C montrent que la croissance du contenu en solide de M1 sans lécithine (M1-LS0) est plus faible que les autres au cours des premières minutes à 20°C.

Les paramètres caractéristiques de ces cinétiques ont été calculés, les résultats sont illustrés dans le tableau 2.2. Au vu de ces données, l'ajout de lécithine commerciale, à tout niveau, ne modifie pas le comportement de cristallisation, en termes d'induction de croissance (λ) et de SFC max (a). La vitesse d'augmentation du taux de solides de M1-LS0 (qui est de 1,52 %/min à 10°C et 0,93 %/min à 20°C) est un peu plus faible par rapport aux autres. Toutefois, les différences observées sont très faibles.

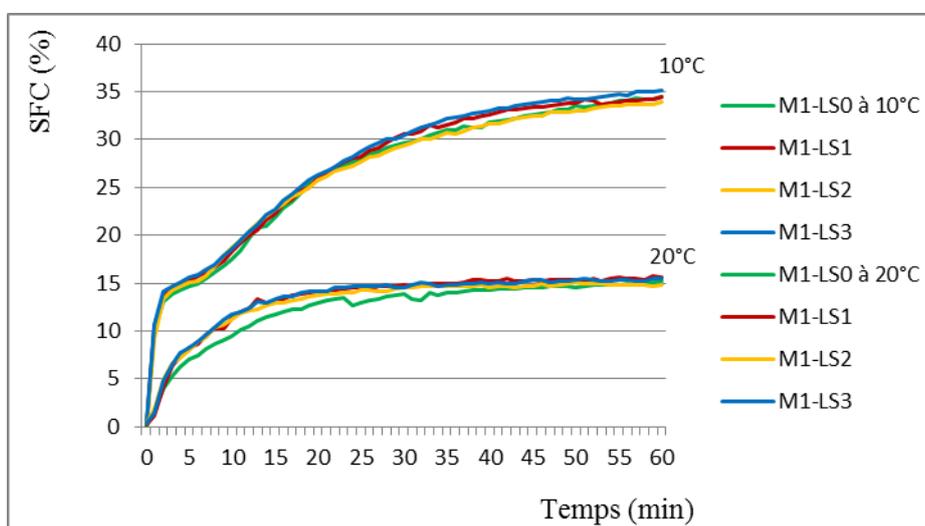


Figure 2.6. Cristallisation du M1 avec l'ajout de la lécithine commerciale en proportion de 0, 1, 2 et 3 % à 10°C et 20°C

M2 : Huile de palme 70% - colza 30%

Les résultats obtenus sont semblables au cas du mélange M1. La figure 2.7 et les valeurs des paramètres de Gompertz présentées dans le tableau 2.2, montrent qu'il n'y a pas beaucoup de différence entre les 4 niveaux de lécithine commerciale à la température de 10°C. Néanmoins, à 20°C, l'allure de la courbe de M2-LS0 montre que le SFC augmente légèrement plus lentement que ce M2 avec lécithine. Le temps d'induction est de 5,2 min, c'est-à-dire 2-3 fois plus élevé que pour M2-LS1, M2-LS2 et M2-LS3 (tableau 2.2). Le temps d'induction (λ) est inversement proportionnel à la vitesse de nucléation (de Oliveiraa, 2011). Ainsi, nous pouvons déduire que l'ajout de la lécithine commerciale aide à augmenter la vitesse de cristallisation du mélange de matières grasses M2. Néanmoins, les effets observés sont une fois encore très faibles.

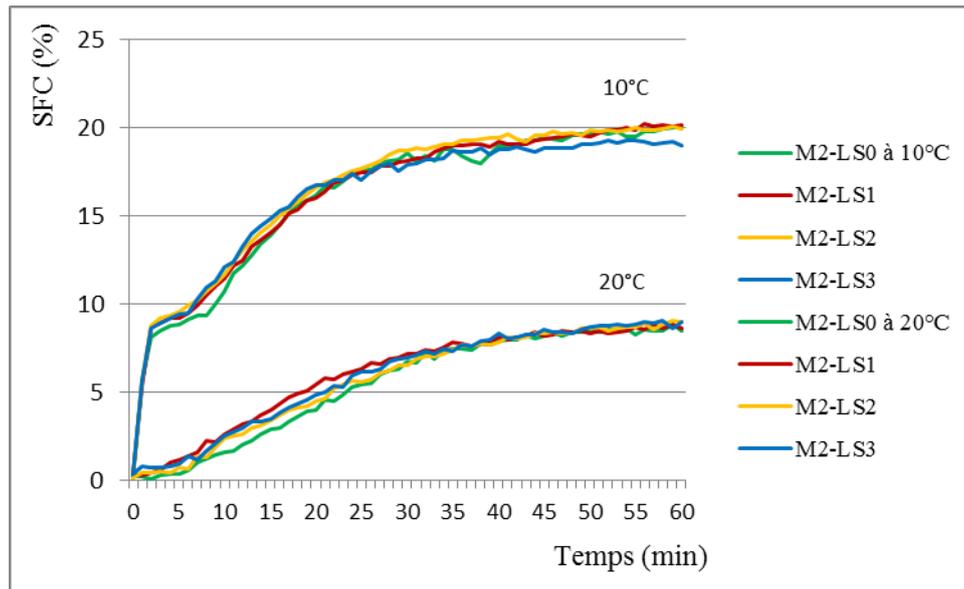


Figure 2.7. Cristallisation du M2 avec l'ajout de la lécithine de soja en proportion de 0, 1, 2 et 3 % à 10°C et 20°C

M3 : Huile de palme 50% - colza 50%

Pour le mélange M3, d'après la figure 2.8 et le tableau 2.2, les observations montrent que la croissance du contenu en graisse solide est identique pour les 4 proportions de lécithine commerciale à 10°C et à 20°C. Toutefois, les valeurs du paramètre λ des 4 niveaux de lécithine pour le refroidissement à 20°C sont plus grandes (plus de 10 minutes) par rapport au λ des mêmes échantillons à la température de 10°C (0 minutes). De plus, comme déjà observé avec le mélange M2, à 20°C, le temps d'induction de M3-LS0 est environ 2 fois plus grand (de l'ordre de 20 minutes) que celui pour les M3-LS1, M3-LS2 et M3-LS3 (environ 10min). Ceci confirme que l'ajout de lécithine commerciale influence la vitesse de cristallisation à 20°C.

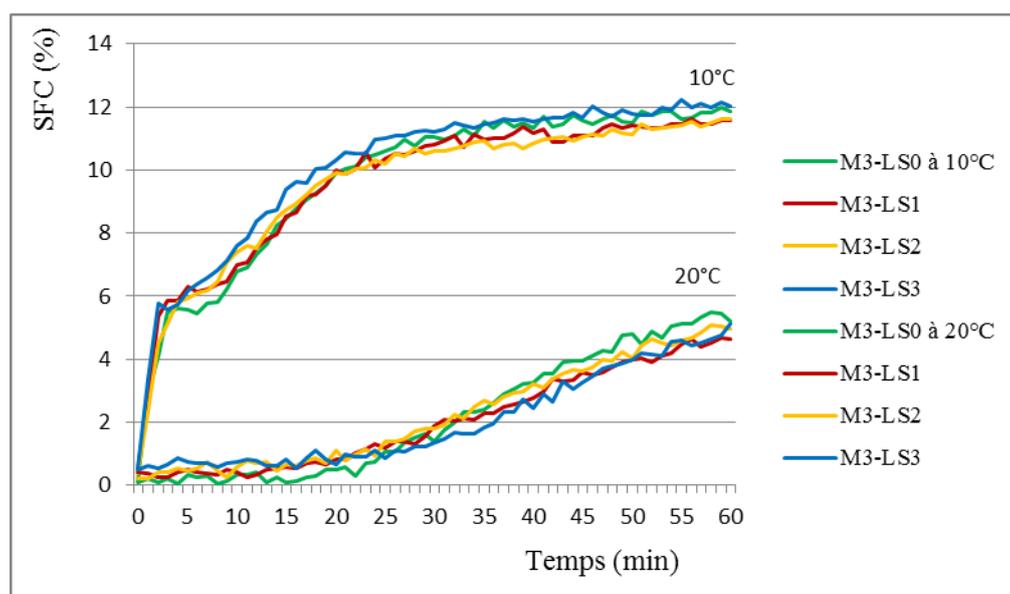


Figure 2.8. Cristallisation du M3 avec l'ajout de la lécithine de soja en proportion de 0, 1, 2 et 3 % à 10°C et 20°C

Tableau 2.2. Paramètres de modèle de Gompertz de contenu en solide des M1, M2 et M3 à la teneur en lécithine de 0, 1, 2 et 3%

Echantillon		T (°C)	Fraction maximale de solide (après 60 min) a (%)	Taux de cristallisation μ (%/min)	Temps d'induction λ (min)
M1	LS0	10°C	34,5 ± 1,2	1,5	0
	LS1		34,5 ± 1,1	1,6	0
	LS2		34 ± 0,4	1,6	0
	LS3		35,1 ± 0,5	1,6	0
	LS0	20°C	15,3 ± 0,6	0,9	0
	LS1		15,6 ± 1	1,3	0
	LS2		14,9 ± 0,2	1,4	0
	LS3		15,5 ± 0,2	1,4	0
M2	LS0	10°C	20 ± 1,9	1,1	0
	LS1		20,1 ± 0,5	1,1	0
	LS2		20 ± 0,5	1,2	0
	LS3		19,4 ± 0,8	1,3	0
	LS0	20°C	8,9 ± 0,2	0,3	5,2
	LS1		8,7 ± 0,2	0,3	1,4
	LS2		9,1 ± 0,1	0,3	2,6
	LS3		9,2 ± 0,2	0,3	1,4
M3	LS0	10°C	11,9 ± 0,2	0,7	0
	LS1		11,6 ± 0,2	0,7	0
	LS2		11,6 ± 0,5	0,7	0
	LS3		12 ± 0,1	0,8	0
	LS0	20°C	6,5 ± 0,2	0,2	19,7
	LS1		6,4 ± 0,6	0,1	11,4
	LS2		6,78 ± 0,2	0,1	10,1
	LS3		6,7 ± 0,1	0,1	11,9

2.3.3. Dureté par texturomètre

L'influence de la teneur en lécithine commerciale et de la composition de l'huile dans les mélanges sur la dureté est présentée dans les figures 2.9.a, b, c et d.

La dureté des échantillons de M1 aux 4 différents niveaux de lécithine est de plus de 250g, soit plusieurs fois supérieure à M2 (60g maximum) et M3 (moins de 10g). Ces résultats sont semblables aux les résultats de dureté obtenus et présentés ci-dessus dans la comparaison des 3 mélanges de matières premières sans lécithine.

L'effet de la teneur en lécithine commerciale sur la dureté de chaque mélange M1, M2 et M3 correspondant est illustré en détail sur les Figures 2.9b, c et d.

Mélange M1:

La Figure 2.9b montre que la dureté de M1 augmente en rapport avec l'ajout des 3 niveaux de la lécithine de soja commerciale (M1-L0 < M1-LS1 < M1-LS2 < M1-LS3). Néanmoins, en terme de statistique, l'influence de la teneur en lécithine commerciale de sur la dureté de M1 n'est pas significative en proportion de 1% et 2%. Seulement l'ajout de 3% de lécithine montre une différence significative à $p < 0,1$.

Mélange M2 :

Au contraire, d'après les observations sur la dureté des échantillons de M2 dans la figure 2.9c, on peut remarquer que la dureté est différente entre les 4 niveaux de la lécithine commerciale ajoutée. De plus, ces différences sont significatives à $p < 0,05$. La dureté de M2 sans lécithine (M2-L0 = 27,1g \pm 0,6) est la plus faible. L'ajout de seulement 1% de lécithine peut avoir un effet significatif (M2-LS1 = 38,2g \pm 1,7) par rapport à la dureté du témoin (M2-L0). D'autre part, la dureté de M2-LS1 est plus faible que celle du même mélange M2 après ajout de 2 ou 3% de lécithine (M2-LS2 = 53g \pm 6,3 et M2-LS3 = 53,7g \pm 7,8). Les duretés obtenues après ajout de 2 et 3% de LS sont quant à elles équivalentes. Ces résultats obtenus prouvent que l'ajout de lécithine commerciale (LS) a un effet significatif sur la dureté de ce mélange de matières grasses qui contient 70% d'huile de palme et 30% d'huile de colza.

Mélange M3 :

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 2.9d. Ils indiquent que, de manière semblable que pour M2, l'ajout de lécithine commerciale influence la dureté de M3. La dureté de M3 sans lécithine (M3-L0 = 3,4g \pm 0,1) est la plus faible et cela avec une différence significative (pour une valeur $p < 0,05$). Toutes les teneurs en lécithine de 1, 2 et 3% ont des effets similaires sur la dureté de M3.

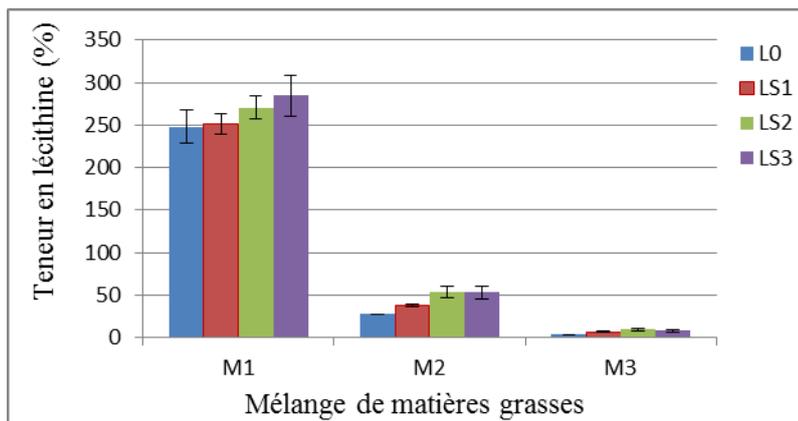


Figure 2.9a

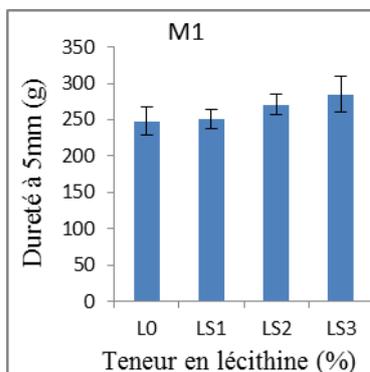


Figure 2.9b

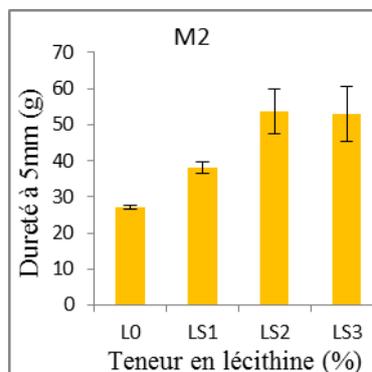


Figure 2.9c

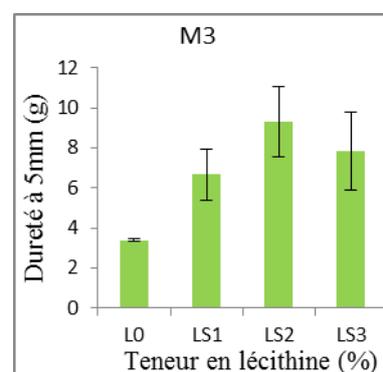


Figure 2.9d

Figure 2.9. Influence de la teneur en lécithine commerciale sur la dureté des mélanges M1, M2 et M3

2.3.4. Détermination des formes polymorphiques par DRX

Les diffractogrammes obtenus par DRX des 3 mélanges présentant 3 niveaux de lécithine sont présentés dans les Figures 2.10, 2.11 et 2.12 et le Tableau 2.2.

Mélange M1 :

Les observations dans la figure 2.10 montrent que la forme polymorphique β' est présente dans tous les échantillons. Il n'y a pas de différences entre le témoin et les 3 échantillons traités à 3 teneurs différentes en lécithine commerciale. Ces résultats sont en accord avec la dureté des échantillons du M1 qui n'est pas très différente entre les 3 niveaux de lécithine et le témoin.

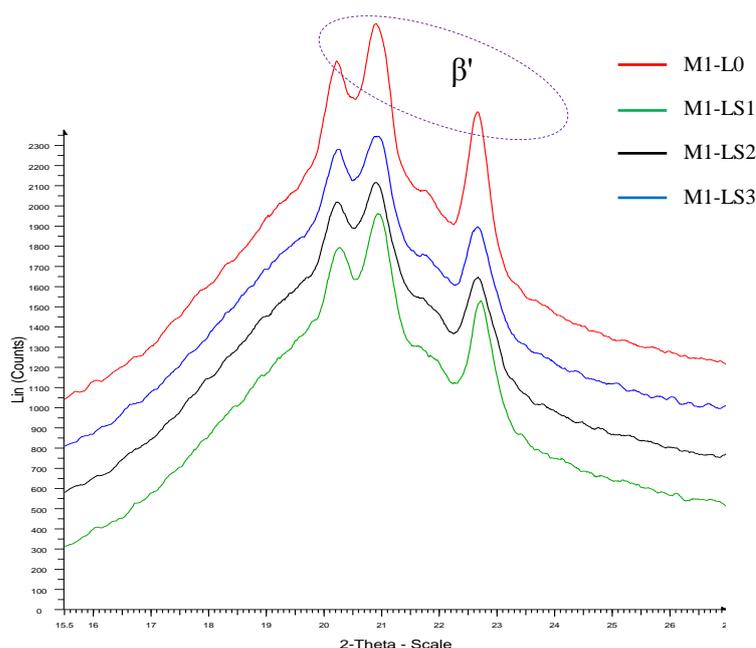


Figure 2.10. Diffractogrammes obtenus par DRX pour le mélange M1 avec 3 teneurs en lécithine ajoutée

Mélange M2 :

Les diffractogrammes dans la figure 2.11 illustrent que c'est similaire au mélange M1. Pour le M2, la forme polymorphique β' est présente dans les 4 échantillons. Néanmoins, la présence de la forme β est observée dans les échantillons additionnés de lécithine commerciale. Le signal est faible à 1% et 2% de lécithine ajoutée mais il est plus visible à 3% de lécithine ajoutée. Le polymorphisme de forme β pourrait expliquer l'augmentation de dureté des échantillons de M2-LS1 à M2-LS3 dont nous avons discuté ci-dessus.

Mélange M3 :

La figure 2.12 prouve que dans les 4 échantillons de mélange M3, la forme polymorphique β' est observée avec un signal plus faible que pour les échantillons de M1 et M3. Néanmoins, le polymorphisme de forme β apparaît très clairement sur les 3 échantillons auxquels nous avons ajouté de la lécithine commerciale à 1%, 2% et 3%. C'est semblable au M2, les polymorphismes en forme β du mélange M3 peuvent être reliés à l'augmentation de dureté des échantillons de M3-LS1 à M3-LS3.

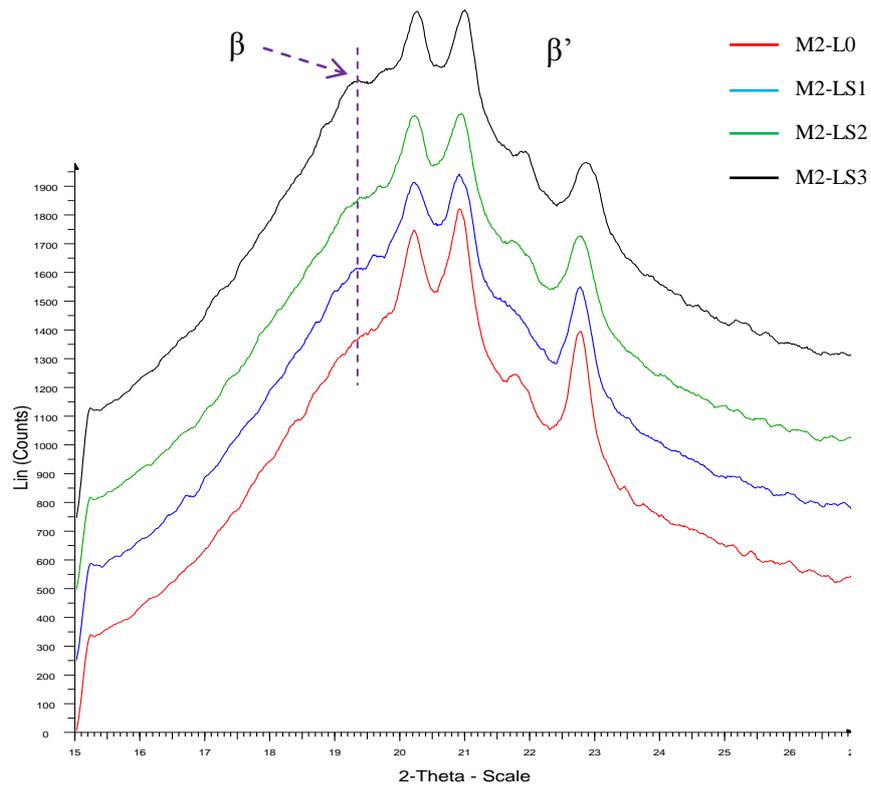


Figure 2.11. Diffractogrammes obtenus par DRX pour le mélange M2 avec 3 teneurs en lécithine ajoutée

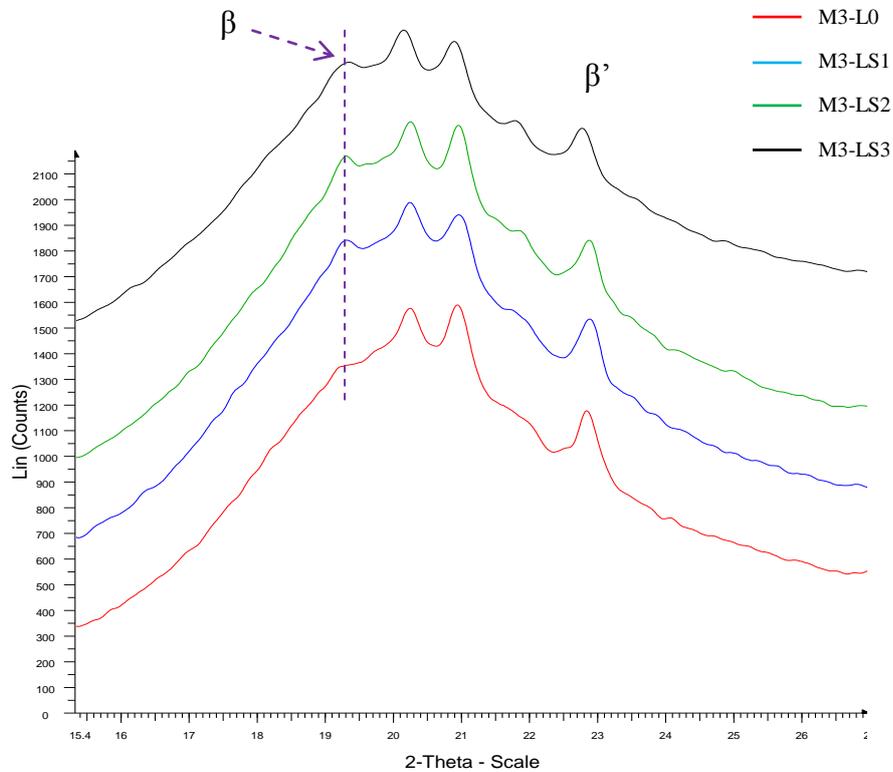


Figure 2.12. Diffractogrammes obtenus par DRX pour le mélange M3 avec 3 teneurs en lécithine ajoutée

2.3.5. Observation des cristaux par microscope

Dans cette partie, les microstructures sont observées (par microscopie avec un grossissement X20) pour comparer la différence des cristaux entre l'échantillon témoin sans lécithine de soja commerciale et avec l'ajout de 3 niveaux de lécithine. Les échantillons ont été cristallisés comme déjà décrit précédemment puis placés à 15°C pendant 5 jours (tempérage/stockage).

Mélange M1 :

Les microphotographies (grossissement X20) enregistrées pour l'échantillon témoin M1-L0 et avec ajout de lécithine, sont présentées à la figure 2.13.

Pour l'échantillon témoin, il existe des petits cristaux aux différentes formes : triangle, rectangle ou carré, etc. avec une taille moyenne variant de 4 à 10 μm , parfois quelques plus grand cristaux vers 16 – 22 μm . La microstructure des échantillons contenant de la lécithine est différente (de manière significative) en comparaison aux échantillons de contrôle. En effet, il y a aussi des petits cristaux, et il y apparait également beaucoup de nouveaux cristaux, dont la forme est semblable à un cylindre/tube assez long et mince dans les échantillons « M1-LS1 » et « M1-LS2 » avec une longueur proche des 23 - 37 μm et une largeur de seulement de 5-6 μm . Au contraire, pour le mélange enrichi « M1-LS3 », la taille des particules cristallines est faible, les cristaux ont une forme carrée, ronde ou encore de rectangle avec une largeur/un diamètre unique d'environ 9,5 – 12 μm et une longueur variant de 12 à 27 μm .



Figure 2.13. Microphotographies des cristaux pour les échantillons du M1

Mélange M2 :

Les observations des échantillons du mélange M2 (figure 2.14) montrent que la taille des cristaux présente peu de différence lorsque 1% de lécithine commerciale est ajoutée à l'échantillon (M2-LS1) par rapport au témoin M2-L0. Dans le témoin, les cristaux sont de forme ronde ou carrée avec un diamètre de 12-17 μm ou parfois de forme rectangulaire avec une largeur de 12-17 μm , et une longueur aux environs de 20-25 μm et il existe aussi beaucoup de plus petits cristaux. Dans l'échantillon M2-LS1, les cristaux ont souvent une forme rectangulaire avec une largeur proche de 10 μm et une longueur un peu plus grande vers 22-28 μm . Cependant, une différence bien marquée est observée pour 2% de LS ajouté à l'échantillon (M2-LS2) : les cristaux ont la forme de très longs tubes. Pour M2-LS3, les cristaux sont aussi des tubes longs mais plus courts et plus petits que pour M2-LS2.



Figure 2.14. Microphotographies des cristaux pour les échantillons du M2

Mélange M3 :

A l'opposé, pour les échantillons de M3, les microphotographies enregistrées montrent que la forme des cristaux du témoin M3-L0 est différente : beaucoup plus sphériques que ceux avec l'ajout de lécithine, ces cristaux sont en formes d'ondulations (comme des pétales), il n'existe pas de formes cylindriques. Les cristaux des M3-LS1, LS2 et LS3 sont plus petits avec la présence de formes cylindriques, il y a également quelques cristaux de forme carrée, sphérique et triangulaire ou de forme non clairement définie.

Dans les séries de microstructures observées, nous pouvons conclure que la concentration de lécithine de soja commerciale ajoutée influence à la fois la taille et la forme des cristaux des trois mélanges M1, M2 et M3. De nombreuses structures cristallines différentes ont été identifiées pour chaque proportion de lécithine: carrées, triangulaires ; tube rectangle ; formes sphériques avec des pétales, ou de formes indéfinies, etc. Ces différences de

microstructures expliquent peut être la tendance à augmenter la dureté observée suite à l'ajout de lécithine dans les trois mélanges étudiés.

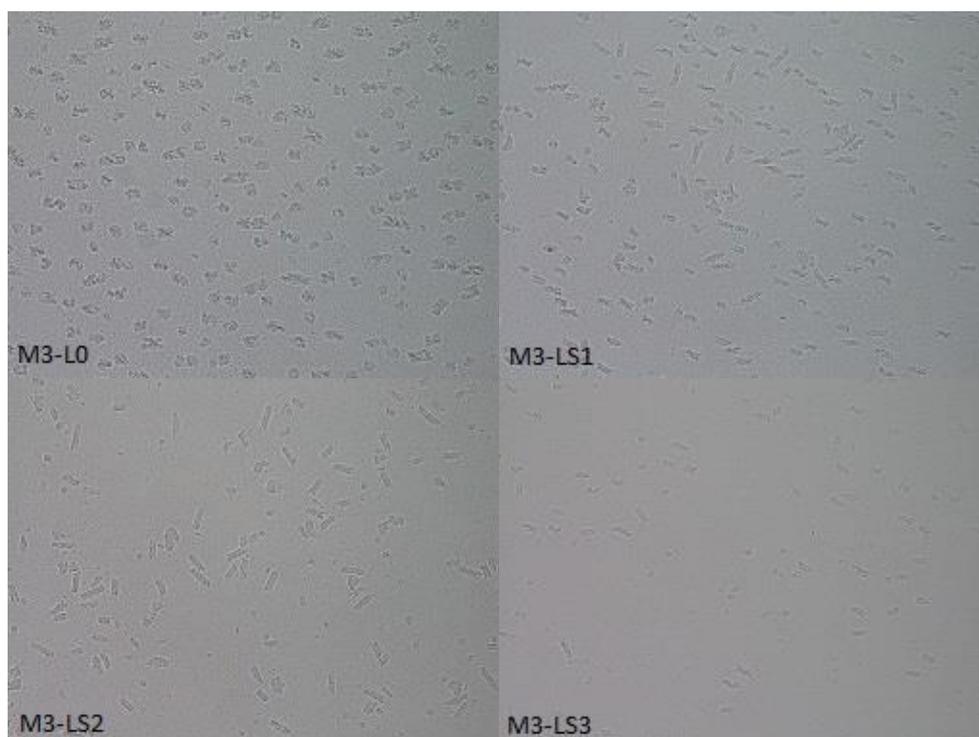


Figure 2.15. Microphotographies des cristaux pour les échantillons du M2

2.3.6. Conclusion

L'ajout de lécithine de soja commerciale ne donne aucun effet significatif sur l'isotherme de cristallisation de l'huile de palme (M1) ni à 10°C ni à 20°C et il n'a pas d'effet significatif sur la dureté de M1 à 15°C après un tempérage pendant 48h.

En ce qui concerne les mélanges M2 et M3 à 10°C, il n'a pas non plus d'effet de l'ajout de lécithine sur la cinétique de cristallisation. Toutefois, à 20°C, la lécithine commerciale ajoutée induit une réduction du temps d'induction sur les 2 mélanges M2 et M3.

Au contraire de ce qui a été observé pour l'huile de palme, l'ajout de la lécithine de soja commerciale influence significativement la dureté des mélanges M2 et M3 après un tempérage de 48 h à 15°C.

Pour les formes polymorphiques, les résultats prouvent que l'ajout de lécithine de soja commerciale n'influence pas la forme polymorphique de l'huile de palme, toutefois il a un effet léger sur la transition de forme β' à β du mélange qui contient 70 % d'huile de palme et 30% d'huile de colza. Cet effet est nettement plus marqué pour une teneur en lécithine ajoutée de 3 %. Dans le cas du mélange M3, l'ajout de lécithine a un effet très clair pour les 3 niveaux de lécithine ajoutée.

Les effets de la lécithine de soja commerciale se marquent aussi par le changement de taille et de forme des cristaux observés par microscopie.

Ceci suggère que l'effet de l'ajout de lécithine sur le changement de taille et de forme des cristaux peut être lié à l'augmentation de dureté des mélanges.

2.4. Effets des phospholipides au laboratoire

2.4.1. Introduction

En général, la lécithine de soja est un émulsifiant qui est utilisé notamment dans l'industrie agro-alimentaire. Les lécithines de colza viennent d'apparaître ces dernières années et à notre connaissance, les lécithines de lin ne sont pas encore présentes sur le marché. Il n'y a pas encore beaucoup de recherches sur leurs caractéristiques physicochimiques.

Cette étude contribue donc à une meilleure connaissance de leurs propriétés technofonctionnelles dans le domaine alimentaire.

2.4.2. Extraction des phospholipides de colza et de lin

Introduction

Des phospholipides de colza et de lin sont extraits à partir d'huile brute de colza et de lin par la méthode de dégommage à l'eau et ensuite par une concentration à l'aide d'acétone, comme décrit dans le M&M.

2.4.2.1. Rendement d'extraction

Tableau 2.3. Extraction de phospholipides de colza (PLC):

	Quantité (g)	Rendement (%)	Remarques
Poids initial	502,98	100	
Poids après dégommage à l'eau	29,60	5,9	Quantité encore importante d'huile après dégommage
Poids après extraction par l'acétone	8,68g	1,7	- Molle et encore présence d'huile. - Difficulté pour fondre et dissoudre dans le mélange d'huile lors de l'étape de préparation des échantillons. - Les échantillons contenant ces phospholipides sont troubles, pas limpides.

Tableau 2.4. Extraction de phospholipides de lin (PLL):

	Quantité (g)	Rendement (%)	Remarques
Poids initial	400,46	100	
Poids après dégommage à l'eau	8,44	2,1	Bonne facilité pour décanter la couche d'huile surnageante car la séparation se fait clairement en 2 couches après la centrifugation.
Poids après extraction par l'acétone	2,71	0,7	- Bien sèche et dure après extraction. - Facile à dissoudre dans le mélange d'huile pour préparer les échantillons. - Les échantillons contenant ces phospholipides sont très clairs.



Figure 2.16. Phospholipides de colza et de lin

Le rendement d'extraction des phospholipides de colza est plus élevé que des phospholipides de lin. Les apparences des deux types d'extraits sont différentes (Figure 2.16). De plus, les phospholipides se comportent différemment selon l'origine végétale. En effet, l'ajout de l'extrait issu du lin dans les mélanges de matières grasses, est plus difficile à mettre en œuvre que celui issu du colza. Le temps nécessaire à l'obtention d'un mélange homogène est plus long quand il s'agit de celui obtenu à partir de lin.

2.4.2.2. Composition des phospholipides de colza et de lin par chromatographie (CCM)

Nous réalisons les analyses de CCM et les résultats obtenus sont comparés avec 2 lécithines témoin et le standard des compositions de PL (voir § 1.5.2.)

Sur les plaques de la figure 2.17a, on voit que la LS, PLC et PLL contient les composants similaires aux témoins mais pour ces 3 cas, la taille des taches indiquent que tous les composants ne se révèlent pas avec la même intensité aux UV.

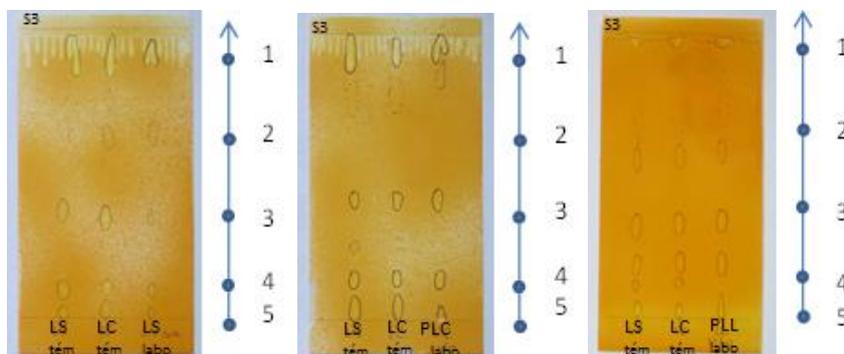


Figure 2.17. Compositions qualitatives des LS, PLC et PLL par chromatographie

2.4.3. Comparaison entre les effets des phospholipides de colza, de lin et de la lécithine commerciale sur la cristallisation des matières grasses

2.4.3.1. Introduction

D'après les observations réalisées dans la première partie de ce travail, pour tous les échantillons des 3 mélanges M1, M2 et M3 enrichis avec 3 proportions de lécithine de soja commerciale, nous avons mis en évidence que l'ajout de lécithine de soja commerciale influence la cristallisation de ces échantillons.

L'objectif de cette dernière partie du travail est d'investiguer l'influence des concentrés de phospholipides extraits au laboratoire, à partir d'huiles brutes de colza et de lin sur la cristallisation des mélanges étudiés précédemment.

En termes de délai de mise en œuvre du TFE, à cette étape, nous choisissons de considérer seulement le mélange M2 en ajoutant 1% de phospholipides « labo » pour examiner les effets de phospholipides de colza et de lin sur la cristallisation de matières grasses.

2.4.3.2. Isotherme de cristallisation par pRMN

a) 10°C

Les courbes présentées dans la figure 2.18 illustrent l'évolution du SFC du témoin M2-L0 et des échantillons avec phospholipides durant 60 minutes de cristallisation. Les différences de fraction maximale en solide, du taux de croissance et du temps d'induction ne sont pas très grandes entre le témoin et les différents types de phospholipides (tableau 2.5).

b) 20°C

Les informations montrent que l'effet des phospholipides sur le contenu en graisse solide à 20°C n'est pas similaire à celui obtenu à 10°C. Le SFC du témoin est le plus faible durant les premières minutes. Cela est prouvé par la valeur λ assez grande du témoin ($\lambda = 5,24$) qui traduit l'influence du temps d'induction sur la croissance de SFC du mélange M1-L0 (tableaux 2.5). Mais le SFC du témoin augmente rapidement aux cours des dernières minutes. Au contraire, l'échantillon M2-PLL1 est le plus faible aux dernières minutes. Le contenu en graisse solide de M2-LS1 augmente plus fort que les autres échantillons. L'ajout de phospholipides influence la cristallisation des matières grasses de manière plus forte aux premières minutes qu'à la fin des analyses (60 min).

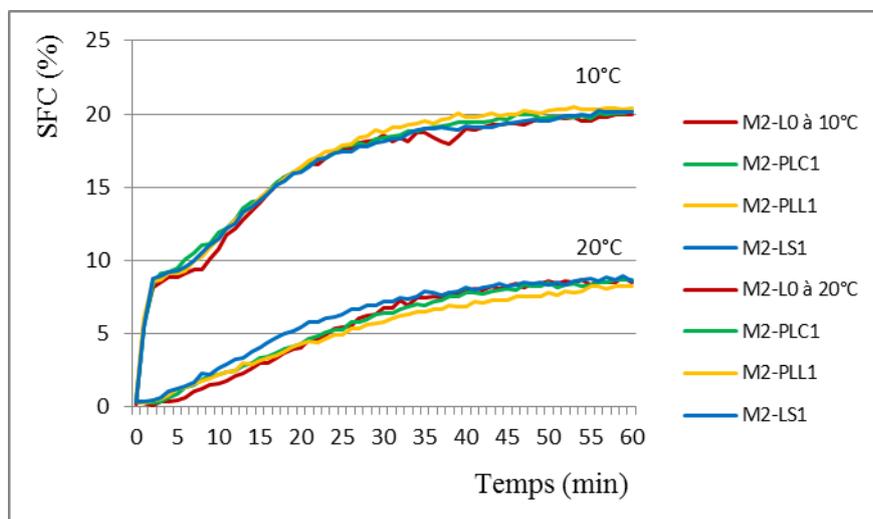


Figure 2.18. Isotherme de cristallisation des échantillons à 10°C et 20°C

Tableau 2.5. Paramètres de Gompertz sur l'isotherme de cristallisation des échantillons

T (°C)	Echantillon		Fraction maximale de solide a (%)	Taux de cristallisation μ (%/min)	Temps d'induction λ (min)
	Mélange	Type de PLs			
10°C	M2	L0	20	1,1	0
		PLC1	20,2	1,1	0
		PLL1	20,4	1,1	0
		LS1	20,1	1,1	0

20°C	L0	8,9	0,3	5,2
	PLC1	8,9	0,2	1,9
	PLL1	8,5	0,2	0,5
	LS1	8,7	0,3	1,4

2.4.3.3. Dureté par texturomètre

Dans cette partie du travail, la dureté a été mesurée après trois temps de tempéage/stockage à 15°C : 48 h, une semaine et 3 semaines. Néanmoins, les valeurs après trois semaines manquent pour l'huile de lin à cause d'un problème technique et faute de temps.

L'influence des phospholipides et du temps de tempéage sur la dureté du mélange M2 est présenté dans les figures 2.19 et 2.20.

La figure 2.19 illustre que l'ajout de 1% de phospholipides augmente la dureté du mélange M2, et d'autre part, les différents types de phospholipides donnent des effets significatifs différents sur la dureté de M2 (à la confiance de $p < 0,05$).

En effet, pour chacun des 2 niveaux de durée de tempéage (après 48h, une semaine), les observations prouvent que la dureté de M2-PLL1 est la plus grande et la dureté du témoin est la plus faible. La dureté de M2-PLC1 est plus faible que la dureté de M2-LS1, cependant, cette différence est significative après 48h de tempéage à 15°C, mais n'est plus très différent après une et 3 semaines de tempéage.

Après tempéage de 3 semaines, en particulier, la différence de dureté entre M2-LS1, M2-PLC1 et le témoin M2-L0 sont significative à $p \leq 0,1$.

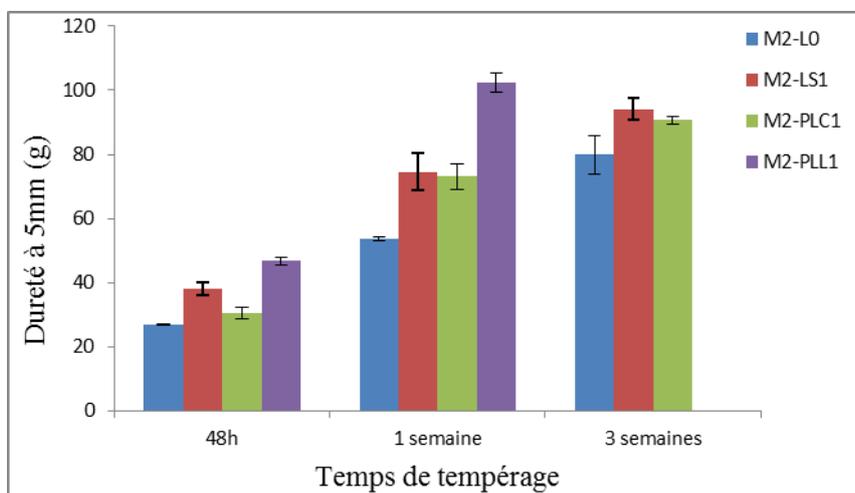


Figure 2.19. Influence des différents types de phospholipides sur la dureté des échantillons

En observant les données des échantillons présentées dans la figure 2.20 on remarque que le temps de tempéage influence très fort la dureté du mélange M2 et de tous les échantillons contenant des phospholipides, que ce soit la lécithine de soja commerciale, les phospholipides de colza ou encore les phospholipides de lin. La dureté des échantillons augmente de plus en plus, en relation avec l'augmentation de la durée de tempéage (48h, une semaine et 3 semaines) : plus la durée de tempéage est grande, plus la dureté des échantillons est importante. Toutefois, la figure 2.20 montre aussi que la dureté augmente

environ 2 fois plus après une semaine de tempérage, mais que cette augmentation de dureté est plus lente après 3 semaines qu'après une semaine.

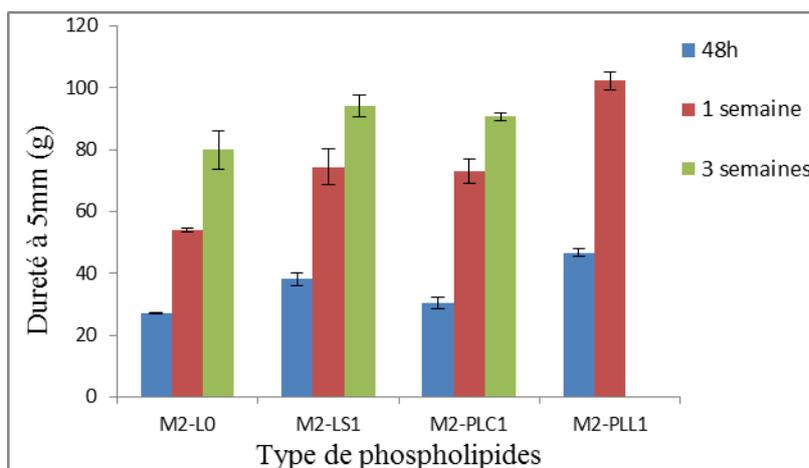


Figure 2.20. Influence du temps de tempérage sur la dureté des échantillons

2.4.2.4. Détermination des formes polymorphiques par DRX

Au cours de cette étape, le polymorphisme est déterminé à 15°C par diffraction des rayons X sur poudre dans les mêmes conditions que pour les mesures de dureté, après cristallisation et tempérage de ceux-ci durant une semaine à 15°C (figure 2.21).

Cette figure présente les diffractogrammes pour le mélange M2 auquel nous avons ajouté 3 différents types de phospholipides : les courbes sont très similaires, une légère différence existe au pic 4.6Å pour les 3 échantillons enrichis en phospholipides (M2-LS1, M2-PLC1 et M2-PLL1). Cela revient à dire que les formes polymorphiques sont identiques (β') pour le témoin et les 3 échantillons traités. En outre, il est probable que la transition $\beta' \rightarrow \beta$ soit favorisée par l'ajout de phospholipides, mais le signal n'est pas encore clairement défini.

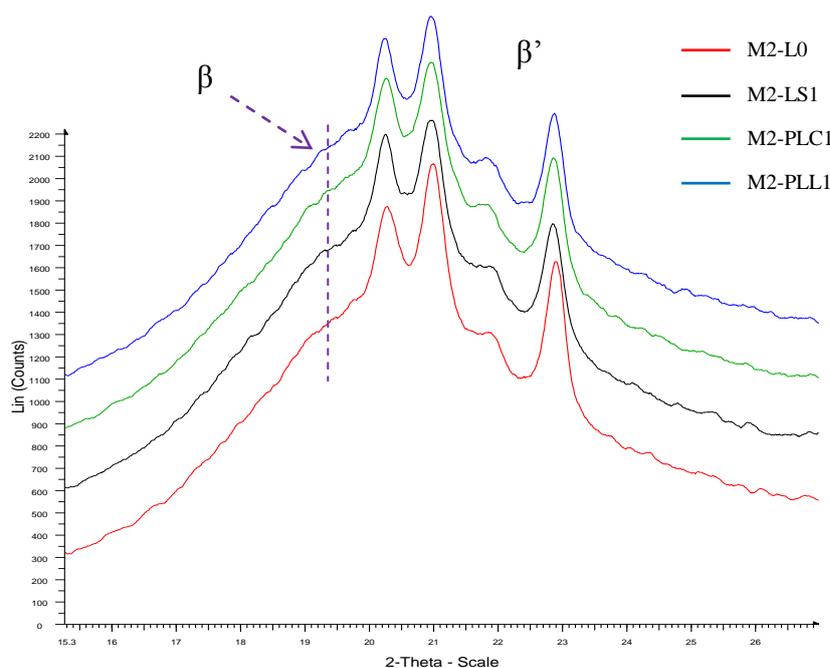


Figure 2.21. Diffractogrammes obtenus par DRX pour le mélange M2 avec 3 phospholipides différents

Tableau 2.6. Évolution des formes polymorphiques des mélanges M1, M2 et M3

	Short spacing (Å)	Forme polymorphique
M1-L0	4,40(F) + 4,25(F) + 4,08(f) + 3,92(F)	β'
M1-LS1	4,40(F) + 4,25(F) + 4,08(f) + 3,92(F)	β'
M1-LS2	4,40(F) + 4,25(F) + 4,08(f) + 3,92(F)	β'
M1-LS3	4,40(F) + 4,25(F) + 4,08(f) + 3,92(F)	β'
M2-L0	4,40(F) + 4,25(F) + 4,08(f) + 3,92(F)	β'
M2-LS1	4,6(tf) + 4,40(F) + 4,25(F) + 4,08(f) + 3,92(F)	$\beta + \beta'$
M2-LS2	4,6(tf) + 4,40(F) + 4,25(F) + 4,08(f) + 3,92(F)	$\beta + \beta'$
M2-LS3	4,6(f) + 4,40(F) + 4,25(F) + 4,08(f) + 3,92(F)	$\beta + \beta'$
M3-L0	4,6(tf) + 4,40(F) + 4,25(F) + 3,92(F)	$\beta + \beta'$
M3-LS1	4,6(M) + 4,40(F) + 4,25(F) + 3,92(F)	$\beta + \beta'$
M3-LS2	4,6(M) + 4,40(F) + 4,25(F) + 3,92(F)	$\beta + \beta'$
M3-LS3	4,6(M) + 4,40(F) + 4,25(F) + 3,92(F)	$\beta + \beta'$
M2-PLC1	4,6(tf) + 4,40(F) + 4,25(F) + 4,08(f) + 3,92(F)	$\beta + \beta'$
M2-PLL1	4,6(tf) + 4,40(F) + 4,25(F) + 4,08(f) + 3,92(F)	$\beta + \beta'$

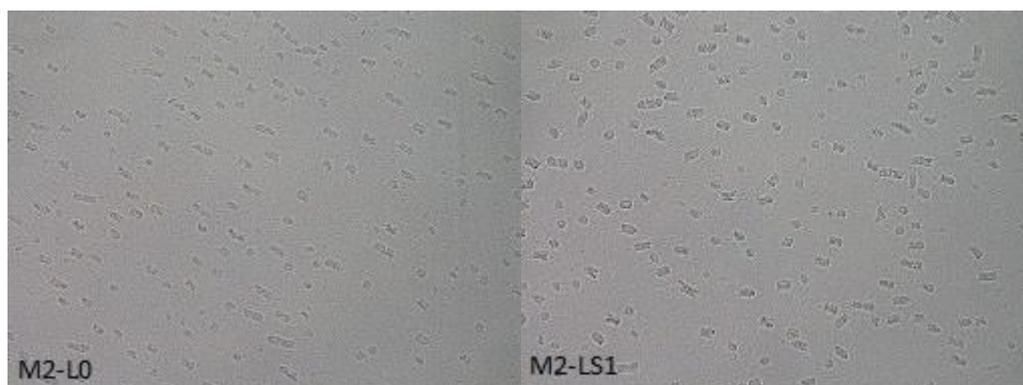
Avec : t : très ; F : fort ; M : moyen ; f : faible.

2.4.2.5. Observation des cristaux par microscopie

a) Tempérage de 48 heures

D'après les microphotographies présentées dans la figure 2.22, on voit que l'ajout de 1% de lécithine de soja commerciale n'influence pas beaucoup la taille et la forme des cristaux après 48h de tempérage à 15°C. Les cristaux varient beaucoup et sont de formes carrées, rondes, avec des tailles aux environs de 13-17 μm ou rectangulaires avec une longueur proche des 16-28 μm .

Au contraire, les phospholipides de colza et de lin influencent plus fortement la formation des cristaux avec une taille plus petite. Pour le M2-PLL1, les cristaux sont plus grands que le M2-PLC1 mais la forme des cristaux n'est pas identique. Ces cristaux comprennent beaucoup de formes et de tailles différentes: notamment des formes carrées, ovales et de petits ronds pour environ 10 μm de diamètre ; quelques grands ovales de plus 20 μm de longueur, ou quelques grands morceaux sphériques ayant environ 20 μm de diamètre. Pour le M2-PLC1, les cristaux sont plus petits et ils présentent une forme de petit tube dont la longueur varie de 4-15 μm et la largeur tend vers 2-4 μm ; ce mélange inclut aussi des petits morceaux ou parfois quelques grands cristaux de formes indéfinies et d'une taille de plus de 10 μm de diamètre.



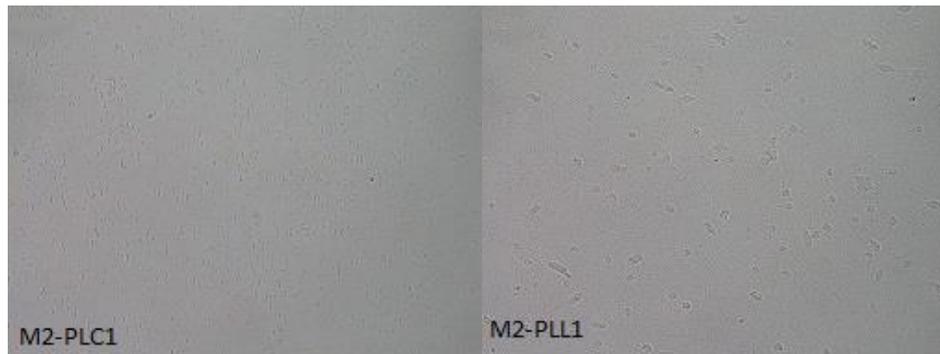


Figure 2.22. Microphotographies des cristaux après tempéage à 15°C pendant 48h

b) Tempéage d'une semaine

La Figure 2.23 montre qu'après une semaine de tempéage à 15°C pour tous les échantillons, les cristaux ont changé de forme, ils ne sont pas caractérisés par une forme identique et sont par ailleurs un peu plus grands.

La forme des cristaux de M1-L0 varie en forme cylindre d'environ 37 – 50 μm de longueur et 13-15 μm de largeur. Les observations montrent aussi que la forme et la taille des cristaux M2-LS1 sont légèrement différentes par rapport au témoin après une semaine. Ces cristaux ont une forme de cylindre avec une longueur de 22-30 μm et une largeur de 8-10 μm . Pour le M2-PLL1, le changement des cristaux sont plus clairs que pour les autres. Leurs cristaux présentent une grande taille (de longueur vers 30-50 μm , largeur de 12-15 μm) et de forme indéfinie, le contour sans claire avec apparence beaucoup d'angulaires. Ces différences peuvent être reliées à l'augmentation de dureté plus rapide pour M2-PLL1 que pour les autres échantillons. Pour le M2-PLC1, la taille des cristaux augmente seulement légèrement et leur forme ne change pas beaucoup.



Figure 2.23. Microphotographies des cristaux après tempéage à 15°C pendant une semaine

c) Tempéragé de 3 semaines

Une série de microphotographies après 3 semaines de tempéragé (figure 2.24) illustre qu'il apparait avec le temps des cristaux sphériques à l'apparence de pétales dans tous les échantillons : le témoin et les 2 échantillons traités (rappelons que le mélange contenant les phospholipides de lin n'a pu être analysé après 3 semaines faute de temps), ceci diffère par rapport aux formes observées après 48h ou 1 semaine (notamment de tube ou rectangle). Les cristaux du témoin sont plus homogènes que les autres avec des tailles aux environs de 15-20 μm . Comme dans le témoin, la majorité des cristaux de M2-LS1 sont sphériques et de même taille, mais il y a également de grands cristaux en forme de fleur, dont le diamètre varie de 30-35 μm . Au contraire, pour l'échantillon M2-PLC1, la forme et la taille des cristaux varient beaucoup. Il contient les « fleurs » comme M2-LS1 mais aussi des cristaux de forme ovale avec des « pétales » de 40-55 μm ; il existe aussi beaucoup de petits cristaux de moins de 10 μm .

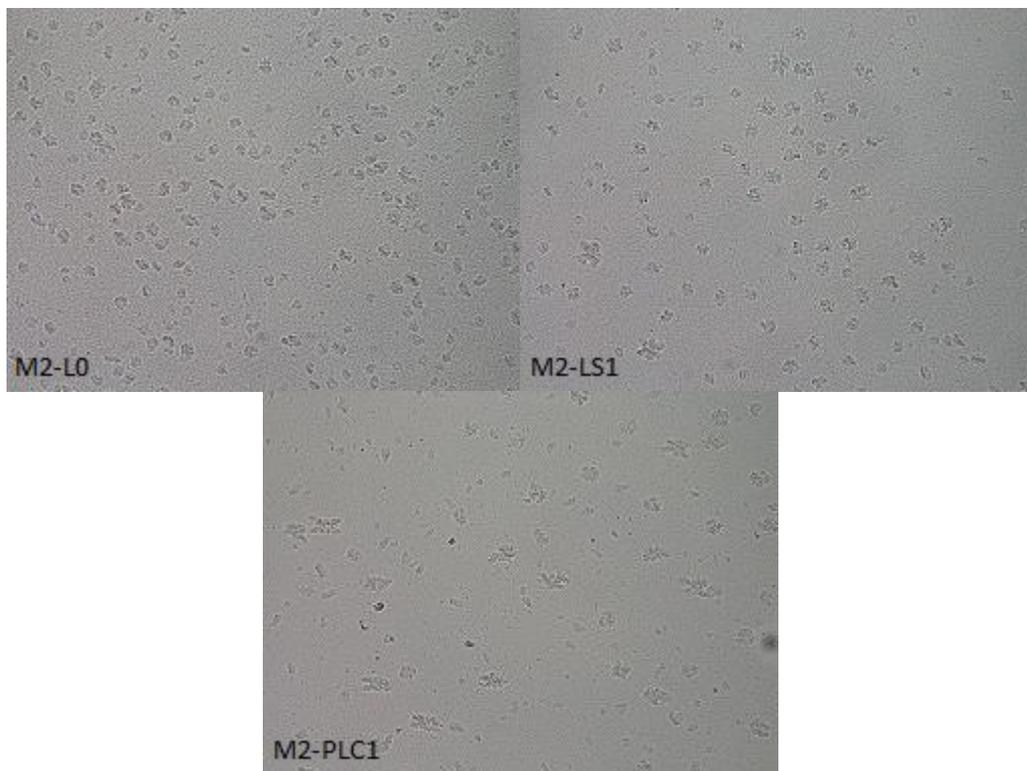


Figure 2.24. Microphotographies des cristaux après tempéragé à 15°C pendant 3 semaines

2.4.2.6. Conclusion

Les phospholipides d'origines différentes ont des influences différentes sur la taille et la forme des cristaux. Pour cette raison, ces phospholipides influencent différemment la dureté de M2. Le temps de tempéragé plus long entraîne quant à lui une texture plus dure de tous les échantillons.

Chapitre 3. Conclusions et perspectives

3.1. Conclusion

L'objectif principal de ce travail de fin d'études était d'évaluer les effets d'une lécithine de soja commerciale et de phospholipides « labo » sur la cristallisation des matières grasses. Cet objectif a été atteint.

En effet, durant la 1^{ère} étape, l'influence de la lécithine de soja commerciale sur les caractéristiques des matières grasses a été analysée. Les résultats obtenus ont permis de montrer que l'ajout de lécithine de soja commerciale à une concentration de 1% à 3% n'a pas beaucoup d'effet sur l'huile de palme. Par contre, ils influencent les propriétés technofonctionnelles des mélanges d'huile de palme et d'huile de colza au niveau 70/30 et 50/50, en détail :

- Il n'y a pas d'influence très forte sur le contenu en graisse solide lors d'une cristallisation isotherme, et ce pour les 3 mélanges de matières grasses.
- Pour l'huile de palme, il y a seulement des différences sur les microphotographies des cristaux, il n'y a pas de différences sur les autres analyses.
- Pour le mélange de palme et de colza aux niveaux 70/30 et 50/50, les résultats montrent que les effets sur la dureté, le polymorphisme et la taille ainsi que la forme des cristaux apparaissent dès la proportion de 1% de teneur en lécithine ajoutée.

Au cours de la 2^{ème} étape de ce travail, l'extraction de phospholipides de colza et de lin a été réalisée. Le rendement d'extraction des phospholipides de colza est plus élevé que celui des phospholipides de lin et les apparences des deux types d'extraits sont différentes. De plus, les phospholipides se comportent différemment selon l'origine végétale.

Durant la 3^{ème} étape, les influences des phospholipides de colza et de lin extraits sur la cristallisation des matières grasses ont été déterminées et comparés avec celles de la lécithine de soja commerciale. Les résultats obtenus montrent que :

- Il y a pas d'effet sur le contenu en graisse solide lors d'une cristallisation isotherme, et ce pour tous les types différents de phospholipides.
- L'ajout des 3 types de phospholipides influence de façon similaire la forme polymorphiques des mélanges de 70% d'huile de palme et 30% d'huile de colza.
- Les phospholipides d'origines différentes ont des influences différentes sur la dureté, la taille et la forme des cristaux.

3.2. Perspectives

En termes de délai de mise en œuvre du TFE, nous avons choisi de considérer seulement le mélange de 70% d'huile de palme et 30% d'huile de colza, en y ajoutant 1% de phospholipides « labo » pour examiner les effets de phospholipides de colza et de lin sur la cristallisation de matières grasses.

Pour mieux comprendre les effets de ces phospholipides sur la cristallisation de matières grasses, il est nécessaire de poursuivre l'étude sur le mélange d'huile de palme et de colza à la proportion de 50/50.

En outre, il serait intéressant de poursuivre les analyses en allongeant le temps de tempérage/stockage.

De plus, il serait également opportun d'analyser de façon quantitative les phospholipides présents dans les extraits issus des huiles brutes de colza et de lin au labo pour avoir une meilleure connaissance de l'implication de ces phospholipides.

Références bibliographiques

- Cansell M., 2005. Impact de la cristallisation des corps gras sur les propriétés des produits finis. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. Vol 12, No.5, 427-31.
- Chikhoun A., 2011. Texture d'une margarine nouvellement formulée et effet des huiles incorporées (hydrogénées et interestérifiées). Mémoire du diplôme de Magister en Sciences Alimentaires. Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires.
- Danthine S., 2004. Caractérisation de propriétés physicochimiques de matières grasses, en vue de formuler des shortenings adaptés à des besoins technologiques particuliers. Mémoire de fin d'études : Faculté Universitaires des Sciences Agronomiques de Gembloux.
- Danthine S., 2007. Caractérisation des phénomènes dynamique liés à la cristallisation de systèmes lipidiques alimentaires en vue de leur formulation. Thèse de doctorat : Faculté Universitaires des Sciences Agronomiques de Gembloux.
- De Oliveiraa G.-M., 2011. Effect of the addition of hardfats on technological properties of palm oil: solid fat content, consistency and crystallization kinetic. The 11th International Congress on Engineering and Food (ICEF). <http://www.icef11.org/content/papers/fms/FMS1048.pdf>
- Kloek W., Walstra P. et Ton V.V., 2000. Crystallization Kinetics of Fully Hydrogenated Palm Oil in Sunflower Oil Mixtures. *JAOCS*, Vol. 77, no. 4 (2000)
- Morin O. et Pagès-Xatart-Pagès X., 2012. Huiles et corps gras végétaux : ressources fonctionnelles et intérêt nutritionnel. *OCL2012* ; 19(2) : 63-75. doi : 10.1684/ocl.2012.0446.
- Pajin B. et al., 2011. Physicochemical and textural properties of puff pastry margarines. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2011, 113, 262–268.
- Trinh N.H, 2011. Contribution à l'étude de l'effet de l'intérestérification enzymatique sur les propriétés physicochimiques d'huiles végétales. Mémoire de fin d'études : Gembloux Agro Bio-Tech, Université de Liège.
- Van Meersche M. et Feneau-Dupont J., 1984. Introduction à la cristallographie et à la chimie structurale. Edition Peeters, Louvain-la-Neuve, Belgique.

Annexe

Résultats des analyses statistiques de la dureté des échantillons

Annexe 1. Comparaison de dureté entre 3 mélanges M1, M2 et M3

Connecting Letters Report $\alpha = 0,05$

Level		Mean
M1	A	247,75000
M2	B	26,72500
M3	C	3,40000

Levels not connected by same letter are significantly different.

Annexe 2. Comparaison de dureté des échantillons avec la lécithine de soja commerciale ajoutée

2.1. Mélange M1

Connecting Letters Report M1, $\alpha = 0,1$

Level		Mean
LS3	A	284,80000
LS2	A B	270,62500
LS1	B	250,90000
LS0	B	247,75000

Levels not connected by same letter are significantly different.

2.2. Mélange M2

Connecting Letters Report M2, $\alpha = 0,05$

Level		Mean
LS2	A	53,675000
LS3	A	53,025000
LS1	B	38,175000
LS0	C	27,125000

Levels not connected by same letter are significantly different.

2.3. Mélange M3

Connecting Letters Report M3, $\alpha = 0,05$

Level		Mean
LS2	A	9,3250000
LS3	A	7,8750000
LS1	A	6,7000000
LS0	B	3,4000000

Levels not connected by same letter are significantly different.

Annexe 3. Comparaison de dureté des échantillons avec 3 différents types de phospholipides ajoutés après tempérag

3.1. Dureté des différents types de phospholipides

Tempérag 48h :

Connecting Letters Report $\alpha = 0,05$

Level		Mean
LL1	A	46,650000

Level		Mean
LS1	B	38,150000
LC1	C	30,500000
L0	C	27,050000

Levels not connected by same letter are significantly different.

Tempérage une semaine :

Connecting Letters Report $\alpha = 0,05$

Level		Mean
LL1	A	102,25000
LS1	B	74,40000
LC1	B	73,10000
L0	C	53,85000

Levels not connected by same letter are significantly different.

Tempérage 3 semaines :

Connecting Letters Report $\alpha = 0,1$

Level		Mean
M2-LS1	A	94,050000
M2-LC1	A B	90,650000
M2-L0	B	79,900000

Levels not connected by same letter are significantly different.

3.2. Dureté de la durée différente du tempérage

Témoin M2 sans phospholipides

Connecting Letters Report M0-L0

Level		Mean
3 semaines	A	79,900000
1 semaine	B	53,850000
48 h	C	27,050000

Levels not connected by same letter are significantly different.

Ajout de la lécithine de soja

Connecting Letters Report M0-LS1 by tempérage

Level		Mean
3 semaines	A	94,050000
1 semaine	B	74,400000
48 h	C	38,150000

Levels not connected by same letter are significantly different.

Ajout des phospholipids de colza

Connecting Letters Report M0-LC1 by tempérage

Level		Mean
3 semaines	A	90,650000
1 semaine	B	73,100000
48 h	C	30,500000

Levels not connected by same letter are significantly different.

Ajout des phospholipids de lin

LSD Threshold Matrix

Abs(Dif)-HSD	1 semaine	48 h
1 semaine	-9,722	45,878
48 h	45,878	-9,722

Positive values show pairs of means that are significantly different.