

## Approche physico-chimique et sensorielle de l'oxydation des lipides en émulsions\*

Angélique VILLIÈRE  
Claude GENOT

INRA – Unité biopolymères,  
interactions, assemblages,  
Rue de la Géraudière  
BP 71627 – F 44316 NANTES Cedex 3 France.  
Fax : 33 (0) 2 40 67 50 84  
<claude.genot@nantes.inra.fr>

**Abstract:** In many foods, lipids are present as droplets dispersed in an aqueous matrix. This dispersed state favours the oxidation of unsaturated lipids and leads to the degradation of sensory and nutritional qualities of the foods. This work was aimed to (1) investigate the influence on lipid oxidation of physico-chemical characteristics of the lipid-water interface and the aqueous phase in oil-in-water emulsions, designed to mimic dispersion state of lipids in foods, and (2) evaluate the sensory impact of the produced volatile compounds. Analysis of oxidation kinetics of emulsions varying by the nature of the emulsifier, the pH of the aqueous phase or the presence of a hydrosoluble metal chelator, demonstrates the key roles of metal location and reactivity of the emulsifying protein on oxidation initiation and on relative proportions of produced volatile compounds. Most of the volatiles exhibit an odour activity. Their formation lead to an early detection of an odour, which was characterised by cut grass, mushroom, oilseeds, rancid, crushed wood bug, deep fried and painty descriptors. The odour evolved with time as shown by changes in the relative contributions of the intensities of these descriptors. The contribution to the odour of volatile compounds perceived alone or as mixtures was investigated by olfactometric analysis. This work contradicts models based on the charge of the interface and suggests new interpretations for oxidative stability of lipids in complex dispersed media. It also gives practical information about formulation of foods containing unsaturated lipids.

**Key words:** auto-oxidation, sunflower oil, unsaturated fatty acids, proteins, interface, metallic ions

L'oxydation des lipides est une cause majeure de dégradation des aliments lors de leur fabrication et de leur conservation. Elle affecte les acides gras insaturés présents dans les huiles, les graisses ou les lipides de structure. Les recommandations nutritionnelles conseillent d'augmenter la part relative des acides gras poly-insaturés (AGPI) dans la ration en raison notamment de leur rôle dans la prévention de pathologies du système cardiovasculaire et de l'obésité [1]. Or, la présence dans les aliments de ces AGPI particulièrement sensibles à l'oxydation pose le problème de la maîtrise de la stabilité de tels systèmes. Les produits non alimentaires tels que les cosmétiques sont également concernés par ce phénomène.

La conséquence la plus perceptible de l'oxydation des lipides est l'apparition d'odeurs et de saveurs désagréables souvent qualifiées de rance. Ces odeurs qui conduisent souvent au rejet de l'aliment par le consommateur peuvent être perçues très précocement. Elles sont

liées à la formation de composés volatils aux seuils de détection olfactifs très bas. L'oxydation des lipides peut également induire une modification de la couleur des produits par co-oxydation des pigments qu'ils soient liposolubles ou hydrosolubles. C'est le cas par exemple des caroténoïdes dans la margarine ou le pain [2], ou de l'accélération de l'oxydation de la myoglobine dans la viande [3]. L'oxydation peut affecter la texture des aliments, en raison de la réaction des protéines avec les produits d'oxydation [4-6]. Elle affecte également la valeur nutritionnelle des aliments en entraînant la perte d'acides gras essentiels mais aussi de vitamines et d'acides aminés indispensables. Enfin, la toxicité de produits d'oxydation des lipides a été observée lors de l'administration de doses importantes de ces composés à des animaux. Or, même s'il est rare de consommer des aliments contenant des quantités importantes de produits d'oxydation, notamment en raison de l'odeur que ces produits développent, il existe à ce jour peu de données quant aux risques liés à une ingestion régulière d'aliments faiblement oxydés [7-10]. Enfin, les risques liés à la peroxydation lipidique au cours du passage et de la transformation des aliments dans le tractus digestif commencent seulement

à être considérés. L'oxydation des lipides est une réaction dont les principaux mécanismes sont aujourd'hui bien décrits et les cinétiques et facteurs de variation globalement connus [11-13]. C'est une réaction radicalaire en chaîne généralement schématisée en trois étapes (figure 1). La première de ces étapes est l'étape d'amorçage, ou initiation, au cours de laquelle il y a génération des premiers radicaux alkyle ( $R^\bullet$ ) à partir des acides gras insaturés (RH). Cette première étape peut être modulée par de nombreux facteurs, notamment la présence d'enzymes dans le cas de matériel biologique, mais aussi par les traitements subis, comme un chauffage ou une exposition à la lumière. Les métaux présents à l'état de traces dans les matières premières ou apportés par les procédés de transformation jouent un rôle catalytique majeur dans les conditions d'auto-oxydation, c'est-à-dire en l'absence d'enzyme et d'exposition à la lumière. Ces conditions correspondent à des conditions courantes de conservation de nombreux aliments, c'est pourquoi elles ont été choisies pour la présente étude. La deuxième étape réactionnelle est l'étape de propagation, au cours de laquelle les radicaux alkyles précédemment formés réagissent avec l'oxygène moléculaire pour former

\*Angélique Villière a reçu le prix de thèse de l'Afecg 2005, pour son travail sur la Formation et la perception des composés d'arômes issus de l'oxydation des lipides en émulsion. Influence des caractéristiques physico-chimiques du milieu et des propriétés de l'interface.

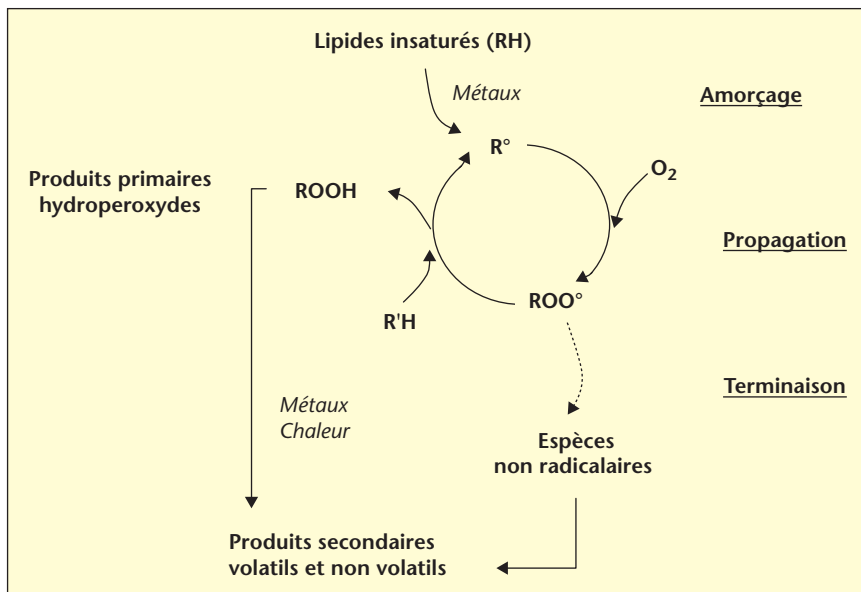


Figure 1. Représentation schématique du mécanisme réactionnel de l'auto-oxydation des lipides.

des radicaux peroxyde ( $\text{ROO}^\circ$ ). Ces derniers réagissent à leur tour avec des acides gras et forment des hydroperoxydes ( $\text{ROOH}$ ) et de nouveaux radicaux alkyle, engageant ainsi de nouveaux cycles réactionnels. Les hydroperoxydes, produits primaires de la réaction, sont des molécules instables. Ils se décomposent sous l'effet de la chaleur ou des métaux en donnant naissance à des produits secondaires. Parmi ces derniers, les composés volatils sont à l'origine de la modification de l'odeur des produits oxydés [14, 15]. La troisième étape est la terminaison : les espèces radicalaires réagissent entre elles pour donner des espèces non radicalaires, mettant ainsi fin aux cycles réactionnels. Ces espèces sont également susceptibles de se décomposer et de donner naissance à d'autres produits secondaires. La connaissance des mécanismes réactionnels de l'oxydation des lipides reste dépendant incomplète. De fait, les connaissances actuelles ne suffisent pas à maîtriser parfaitement le phénomène qui demeure difficile à prévenir. Garantir la durée de vie des aliments sensibles à l'oxydation demeure ainsi parfois une gageure, même en ayant recours de façon massive aux antioxydants [16]. Dans de nombreux aliments formulés, les lipides sont dispersés dans une matrice aqueuse sous forme de gouttelettes stabilisées par des émulsifiants de type surfactant ou par des protéines qui s'adsorbent à l'interface lipide/phase aqueuse en raison de leurs propriétés amphiphiles. Ces émulsifiants diminuent la tension interfaciale et l'énergie du système et assurent sa stabilisation physique. Dans ces systèmes, les cinétiques d'oxydation et leurs facteurs de variation sont sensiblement différents de ceux rencontrés lors de l'oxyda-

tion d'une phase lipidique continue. En tout premier lieu, cette dispersion des lipides favorise leur oxydation [17]. Elle augmente la surface de contact entre les lipides oxydables et la phase aqueuse à travers laquelle diffuse l'oxygène de l'air et dans laquelle sont dissous des ions métalliques pro-oxydants. L'interface huile/eau, lieu de rencontre des substrats de la réaction, joue alors un rôle stratégique dans l'oxydation des lipides dispersés [12, 18, 19]. Les caractéristiques de l'interface : composition, épaisseur, charge, etc. sont ainsi susceptibles de moduler le déroulement des différentes étapes de l'oxydation. Les caractéristiques de la phase aqueuse comme sa composition ou son pH, peuvent également influencer sur ce développement. De même, la répartition des constituants en présence, et notamment des anti-oxydants, entre les phases du système, est un facteur à prendre en compte.

La décomposition des hydroperoxydes génère un mélange complexe de volatils à l'origine de l'altération de l'odeur des produits. Dans les études sensorielles appliquées aux huiles ou corps gras mais aussi aux viandes et produits céréaliers, le terme rance est couramment évalué comme descripteur de l'oxydation lipidique [20, 21]. L'information recueillie renseigne alors sur une odeur globale associée au vieillissement du produit mais n'informe en rien de l'évolution qualitative de cette odeur. De plus, ce terme est souvent associé à une perception hédonique négative. De fait, son évaluation peut renseigner sur l'acceptabilité du produit mais peut ne pas être objective. Parmi les volatils formés, les aldéhydes sont généralement considérés comme ayant un rôle majeur dans l'odeur générée. Pourtant, ils ne possèdent pas

nécessairement une odeur « rance ». Par exemple, l'hexanal et le déca-2,4-diéna-(E,E), deux produits majoritaires de l'oxydation de l'acide linoléique ( $\omega$ -6), ont des odeurs respectives d'herbe coupée et de friture. Ils possèdent de faibles seuils de détection : respectivement 320 et 120 ppm dans l'huile et 12 et 0.2 ppm dans l'eau [22]. Le lien entre composés formés et odeur générée n'est donc pas direct. La perception d'un composé odorant isolé dépend, entre autres facteurs, de sa volatilité, de son seuil de détection et de sa concentration dans l'air, cette dernière pouvant affecter simultanément l'intensité et la qualité de l'odeur perçue [23]. En présence d'un mélange de composés, l'odeur perçue dépend des proportions de composés présents, sans pour autant répondre à des règles d'additivité ou de proportionnalité [24, 25]. De plus, dans une matrice multiphasique comme sont les émulsions et la plupart des aliments, les composés volatils initialement produits dans la phase lipidique doivent diffuser dans la phase aqueuse à travers l'interface, puis dans la phase gazeuse avant d'être perçus. À l'équilibre dans un système clos, ils se répartissent dans toutes les phases du système dans des proportions qui dépendent des propriétés physico-chimiques du composé et de ses interactions avec les autres constituants du système. La perception de l'odeur dans de telles matrices dépend donc également des propriétés de partage de chaque composé entre les phases lipidique, aqueuse et gazeuse du système et des vitesses de transfert des composés dans et hors des matrices [18, 26].

L'objectif de cette étude était d'approfondir la compréhension du déroulement de l'oxydation des lipides dans les milieux complexes tels que les aliments en s'attachant particulièrement à la formation de composés volatils, et d'évaluer l'impact sensoriel de ces composés. Les milieux étudiés devaient donc tenir compte de la dispersion des lipides. Les émulsions huile-dans-l'eau, dispersions de gouttelettes d'huile dans une phase aqueuse, répondent à cette exigence. Des émulsions constituées d'huile de tournesol débarrassée de ses antioxydants naturels et stabilisées par un émulsifiant ont ainsi été aliquotées et conservées à 50 °C dans l'obscurité dans des flacons hermétiquement fermés, ceci afin de reproduire de façon accélérée des conditions de conservation d'aliments. Pour préciser le rôle de l'interface et de la composition de la phase continue sur l'oxydation des lipides, des émulsions différant par la nature de l'émulsifiant, le pH de la phase aqueuse, et la présence d'un chélatant des métaux hydrosoluble ont été soumises aux conditions d'oxydation accélérée. Pour préciser le rôle des composés volatils formés au cours de l'oxydation sur l'évolution de l'odeur des émulsions oxydées, nous avons

quantifié les composés secondaires volatils formés et évalué leur impact sur la perception de l'odeur des émulsions. Grâce à différentes méthodologies sensorielles (tests de différence, profil sensoriel, olfactométries), des réponses ont pu être apportées aux questions suivantes : À partir de quand une modification de l'odeur des émulsions devient-elle perceptible ? Comment évolue cette odeur au cours du temps ? Quels sont les composés secondaires volatils qui ont une activité odorante et quelles sont leurs participations respectives dans l'odeur des émulsions ?

## Approche physico-chimique : implication de l'interface dans l'oxydation des lipides en émulsion

Beaucoup d'études traitant de l'implication de l'interface dans l'oxydation des lipides en émulsion expliquent son rôle par sa capacité à attirer ou repousser les cations métalliques pro-oxydants au contact des lipides par le biais d'interactions électrostatiques. La charge portée par l'interface apparaît alors comme un facteur de première importance. Ainsi, l'oxydation d'une huile végétale en émulsion est favorisée quand l'émulsifiant est chargé négativement (sulfate de dodécyle et de sodium) en comparaison avec un émulsifiant chargé positivement (bromure de dodécyle, triméthyle ammonium) [27, 28]. Cet effet a été attribué à l'attraction ou à la répulsion électrostatique des cations métalliques par l'interface. Des résultats similaires ont été obtenus dans les émulsions stabilisées par des protéines sériques, selon que celles-ci étaient chargées négativement lorsque le pH de la phase aqueuse était ajusté au-dessus des points isoélectriques des protéines ou positivement lorsqu'il était ajusté au-dessous de ces points [29, 30]. Pour notre part, nous avons obtenu des résultats en apparence contradictoires en étudiant le déroulement de l'oxydation dans des émulsions stabilisées par la SAB.

### Influence du pH sur le développement de l'oxydation

Le déroulement de l'oxydation a été étudié via la mesure de la consommation d'oxygène ( $O_2$ ) dans des émulsions stabilisées par une protéine modèle, la sérum albumine bovine (SAB) dont le point isoélectrique est de 5,15. Le pH de la phase aqueuse a été ajusté soit à 4,0, soit à 6,5. À pH 4,0 l'interface protéique est donc globalement chargée positivement et à pH 6,5, négativement, ce qui a été confirmé par zétabromométrie (données non présentées [31]). À pH 6,5, la consommation d' $O_2$  débute lentement, et s'accélère à partir de 8 h de conserva-

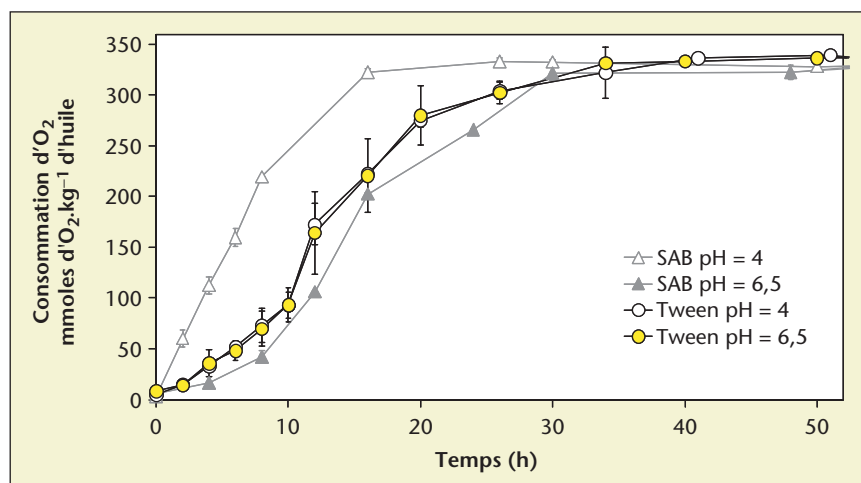


Figure 2. Consommation d'oxygène au cours de la conservation à 50 °C dans l'obscurité, d'émulsions d'huile de tournesol purifiée stabilisées par la SAB ou le Tween 20 et dont le pH initial a été ajusté à 4,0 ou 6,5 (n = 3). L'étude a été menée pendant 10 jours, seules les 50 premières heures ont été représentées, la consommation d' $O_2$  étant constante au-delà [35].

tion (figure 2). Après 30 h, elle atteint un plateau correspondant à la consommation de la quasi-totalité de l' $O_2$  présent dans le flacon fermé hermétiquement. À pH 4,0, alors que la SAB est chargée positivement, ce qui devrait selon le modèle précédent freiner l'oxydation, la consommation d' $O_2$  progresse plus rapidement qu'à pH 6,5. Elle est pratiquement totale après seulement 16 h. La charge portée par l'interface et ses interactions électrostatiques avec les métaux ne suffit donc pas toujours pour prédire le déroulement de l'oxydation dans des émulsions stabilisées par des protéines. Une diminution du pH est souvent considérée comme un facteur favorisant l'oxydation en raison de la plus grande concentration d'ions  $H^+$ , de son effet sur les potentiels redox et de l'augmentation de la solubilité des métaux présents [18, 19]. Le développement de l'oxydation a donc été étudié dans des émulsions stabilisées par un surfactant non protéique et non chargé, le Tween 20, et dont le pH avait été ajusté soit à 4,0 soit à 6,5. Dans ces émulsions, quel que soit le pH initial, la consommation d'oxygène suit la même évolution, ce qui prouve que le pH de la phase aqueuse n'y modifie pas le développement de l'oxydation. Les différences observées avec la SAB en fonction du pH initial sont donc probablement liées à une modification de la structure de la protéine à l'interface, ou de sa réactivité induites par le changement du pH de la phase aqueuse [32-34]. En revanche quand les résultats obtenus pour un même pH sont comparés, une différence est également observée selon l'émulsifiant. Les recherches ont donc été poursuivies en étudiant les effets liés à une modification de la nature de l'émulsifiant sur le déroulement de l'oxydation.

### Influence de l'émulsifiant protéique sur le développement de l'oxydation

Le développement de l'oxydation a été comparé dans des émulsions (pH = 6,5) stabilisées soit par la SAB, soit par le caséinate de sodium (NaCas). Contrairement à la SAB, qui est une protéine globulaire de masse moléculaire élevée (69 kDa), le NaCas est un mélange de protéines plus ou moins phosphorylées, de faible degré d'organisation et de masses moléculaires faibles (entre 20-25 kDa). L'expérience a été répétée en présence d'un chélateur de métaux hydrosoluble, l'acide tétra-acétique d'éthylène diamine (EDTA) [35]. En l'absence d'EDTA, l'oxydation est plus rapide avec le NaCas qu'avec la SAB (figure 3). Lorsque le NaCas est utilisé comme émulsifiant, les protéines adsorbées retiennent au moins une fraction des cations métalliques à l'interface en raison des propriétés de chélation des métaux de leurs résidus phosphoséryle [36, 37]. Cette localisation stratégique des métaux favorise l'initiation et la propagation de l'oxydation (figure 4A). La présence d'EDTA dans la phase aqueuse augmente la stabilité chimique des émulsions quelle que soit la protéine émulsifiante (figure 3), confirmant l'implication des métaux dans l'oxydation. L'EDTA, chélate les métaux dans la phase aqueuse donc loin de l'interface où ils sont peu disponibles pour initier ou propager la réaction d'oxydation. Dans ce cas, ce sont les émulsions stabilisées par la SAB qui s'oxydent beaucoup plus vite que celles stabilisées par le NaCas (figure 3). Cette inversion s'explique par les propriétés anti-radicalaires des NaCas [37]. Les métaux étant chélatés par l'EDTA dans la phase aqueuse, le NaCas révèle ses propriétés anti-radicalaires et limiterait la formation des

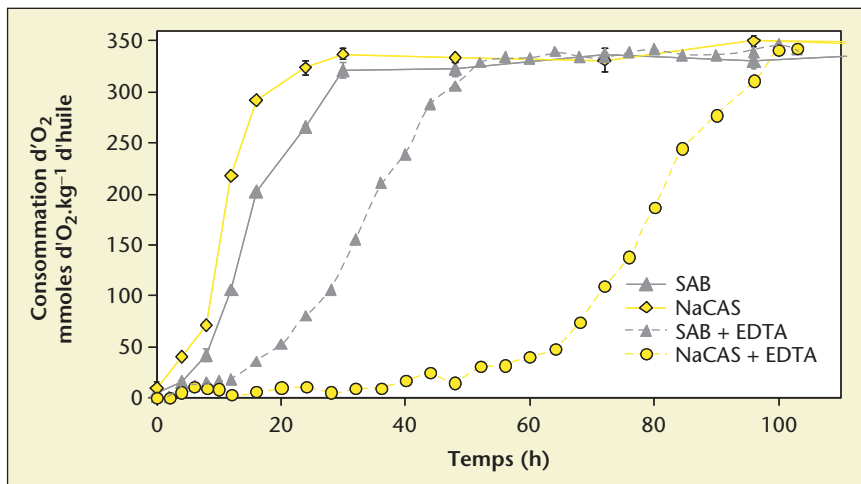


Figure 3. Consommation d'oxygène au cours de l'incubation à 50 °C dans l'obscurité, d'émulsions d'huile de tournesol purifiée stabilisées par la SAB ou le NaCas, avec et sans EDTA (pH initial de la phase aqueuse = 6,5 ; n = 3).

radicaux, ou capterait les radicaux formés empêchant la réaction de se propager (figure 4B). Ces propriétés ont été confirmées par la technique de résonance paramagnétique électronique en présence d'une sonde nitroxyde (résultats non présentés [31, 38]). Ainsi un même émulsifiant protéique, le NaCas, peut se comporter comme un pro-oxydant en attirant les métaux présents à l'interface ou inversement se comporter comme un antioxydant en révélant des propriétés anti-radicalaires lorsque les métaux présents sont chélatés dans la phase aqueuse.

Cette première partie de l'étude a confirmé le rôle-clé de l'interface dans la stabilité à l'oxy-

dation des lipides en émulsion. Mais elle a surtout permis de préciser les limites d'un modèle qui ne tiendrait compte que de la charge de l'interface et de ses interactions électrostatiques possibles avec les cations métalliques. Si la charge de l'interface module l'oxydation des lipides dans certaines conditions [27, 28], ce facteur n'était pas prépondérant dans nos systèmes. Ce travail montre que la compréhension des phénomènes d'oxydation dans les émulsions passe par la prise en compte simultanée de multiples facteurs parmi lesquels la présence et surtout la localisation des métaux, ainsi que les propriétés et la réactivité de l'émulsifiant.

## Approche sensorielle : formation des composés secondaires volatils et impact sur l'odeur des émulsions

### Formation des composés volatils

De nombreux composés secondaires volatils ont été extraits de la phase gazeuse en équilibre avec les émulsions par micro-extraction en phase solide (SPME). Dix-neuf ont été identifiés et quantifiés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme ou à un spectromètre de masse (figure 5A). La quasi-totalité d'entre eux sont issus de l'oxydation des acides linoléique et oléique, les deux acides gras majoritaires de l'huile de tournesol [14, 39-42]. La majeure partie de ces volatils est constituée d'aldéhydes conformément à la littérature, mais d'autres familles chimiques sont représentées : alcanes, alcools, cétones, et alkyl-furannes. Tous les composés identifiés ont été retrouvés dans l'ensemble des émulsions étudiées mais dans des proportions différentes selon l'émulsifiant et le pH de la phase aqueuse comme en témoigne l'analyse factorielle discriminante réalisée sur les proportions de volatils formés dans toutes les émulsions étudiées (figure 6). Les composés les plus discriminants sont l'heptane, l'hexanal, déca-2,4-diéнал-(E,E), l'acide hexanoïque, le 2-pentyl-furanne, le oct-2-éнал-(E), et le pentane. On constate qu'une modification de l'émulsifiant entraîne plus de différences dans la composition en volatils qu'une modification du pH. De même, le passage d'un émulsifiant protéique à un émulsifiant de type surfactant entraîne plus de différences qu'une

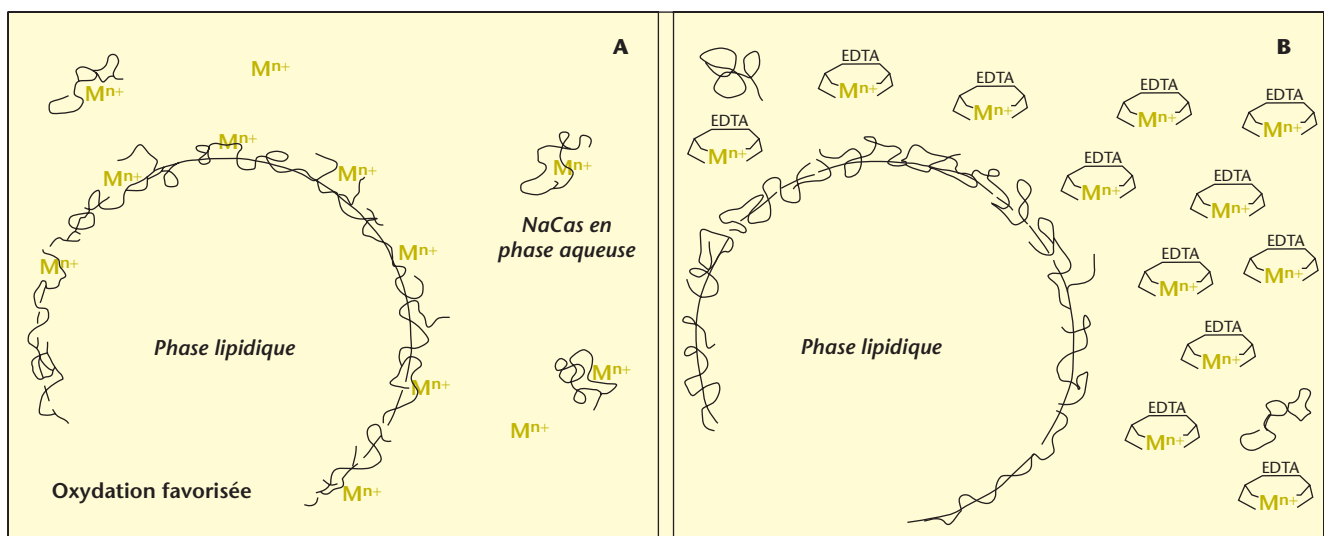


Figure 4. Représentation schématique de l'implication des protéines émulsifiantes dans l'oxydation d'émulsions stabilisées par le caséinate de sodium en l'absence (A) ou en présence d'EDTA (B). pH de la phase aqueuse = 6,5.



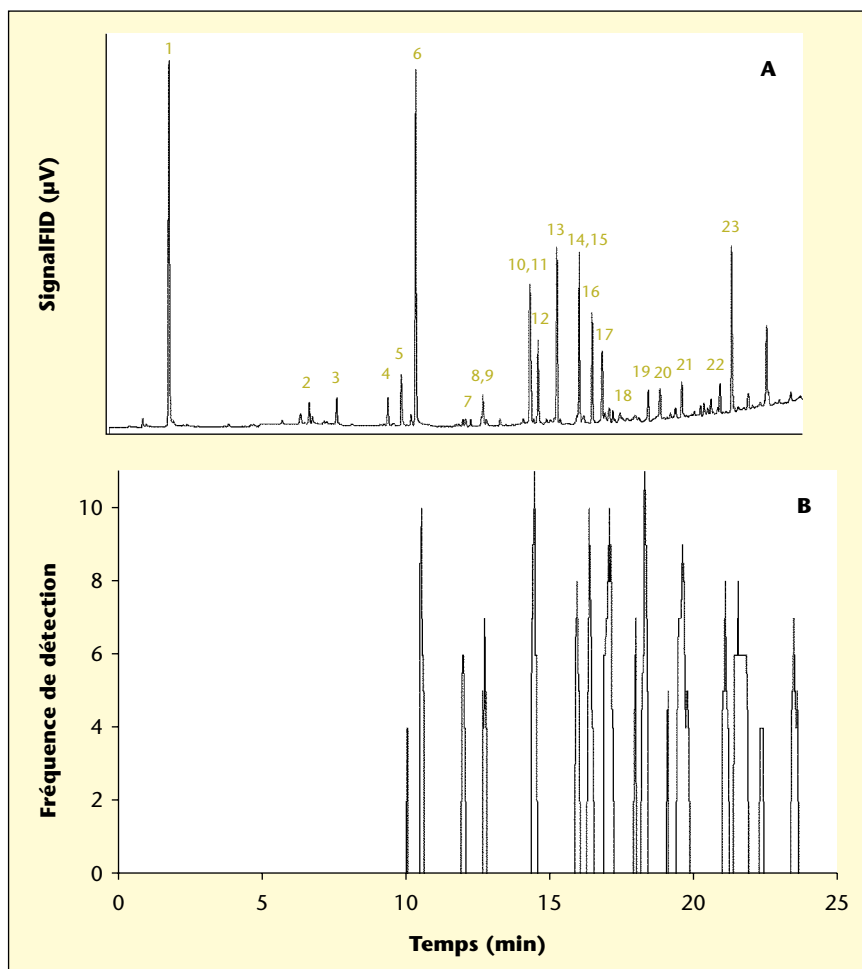


Figure 5. Chromatogramme (A) et aromagramme en fréquence de détection (B) obtenus à l'issue de l'analyse d'un extrait SPME de phase gazeuse en équilibre avec une émulsion incubée pendant 10 jours à 50 °C. 1 : pentane, 2 : heptane, 3 : pentanal, 4 : octane, 5 : pentanol, 6 : hexanal, 7 : 2-butyl-furanne, 8 : heptan-2-one, 9 : heptanal, 10 : 2-pentyl-furanne, 11 : l'hept-2-énal-(E), 12 : oct-1-én-3-ol, 13 : acide hexanoïque, 14 : oct-3-én-2-one-(E), 15 : oct-2-énal-(E), 16 : anhydride hexanoïque, 17 : nonanal, 18 : 3-(E)-non-2-ène, 19 : non-2-énal-(E), 20 : nona-2,4-di-énal-(Z,E), 21 : nona-2,4-di-énal-(E,E), 22 : déca-2,4-di-énal-(Z,E), 23 : déca-2,4-di-énal-(E,E).

modification de la nature de la protéine. L'origine de ces différences n'a pu être clairement déterminée. Elle pourrait être liée à des réactions de composés, notamment les aldéhydes insaturés, avec certains acides aminés des protéines [4, 6, 43], ou à une formation privilégiée de certains composés dans l'une ou l'autre condition réactionnelle. Toutefois, ces hypothèses ne suffisent pas à expliquer l'ensemble des différences observées, aucun lien n'ayant pu être établi avec les mécanismes de formation des composés ou leur fonction chimique. Par ailleurs, dans une émulsion, la formation des volatils suit une cinétique propre à chacun d'entre eux. De fait, la composition globale en volatils d'une émulsion évolue au cours du temps, laissant supposer que l'odeur résultante évolue elle aussi.

### Évolution de l'odeur

Des analyses sensorielles ont été réalisées sur des émulsions stabilisées par la SAB et dont le pH de la phase aqueuse avait été ajusté à 6,5, pour caractériser l'odeur induite par l'oxydation de l'huile de tournesol. D'après les résultats des tests de différences menés avec 18 juges, la génération des composés volatils conduit très précocement au développement d'une odeur : 1 heure d'incubation suffit pour qu'une odeur soit perçue significativement par 10 juges. Ensuite, plus le temps d'incubation augmente, plus le nombre de juges percevant une odeur augmente. Une description qualitative et quantitative de l'odeur des émulsions non oxydées (t0) et en cours d'oxydation (6 h, 24 h, 100 h et 240 h) a été menée. Huit termes

ont été nécessaires aux juges pour décrire l'odeur de ces émulsions. Il s'agit des termes huile, herbe coupée, champignon, graines oléagineuses, rance, punaise écrasée, friture et peinture. Le profil de l'odeur des émulsions évolue au cours du temps du fait d'une évolution significative de la part relative des descripteurs rance, punaise écrasée, friture et peinture (figure 7). La part du descripteur huile, qui prédomine dans l'émulsion fraîche, diminue ensuite au profit du descripteur friture qui caractérise l'odeur à 24 h d'oxydation. Puis, la part du descripteur friture recule, essentiellement au profit du descripteur peinture, qui devient majoritaire à 100 h et 240 h, les profils odorants restant alors similaires. Le descripteur rance, dont la part augmente progressivement de t0 à t100 puis reste constante, n'est à aucun moment le descripteur dont la part majoritaire dans l'odeur des émulsions oxydées.

### Détermination de l'activité odorante des composés volatils

Une analyse chromatographique couplée à de l'olfactométrie a été réalisée sur un extrait SPME de phase gazeuse en équilibre avec une émulsion oxydée pendant 10 jours à 50 °C. L'étude a été réalisée avec 11 juges. Seules les odeurs perçues par plus de 3 juges ont été prises en compte. L'olfactogramme en fréquence de détection recueilli révèle 16 odeurs parmi lesquelles 12 ont pu être associées à un composé secondaire d'oxydation (figure 5). Olfactogramme et chromatogramme n'ont pas les mêmes allures : par exemple le pentane, composé formé majoritairement lors de l'oxydation de l'acide linoléique (90 ng formé dans 1,5 mL d'émulsion) ne génère aucune odeur perceptible. À l'inverse, le nonanal formé en quantité bien moindre (environ 2 ng) est associé à l'une des odeurs les plus perçues. Ceci est dû aux différences de seuils de détection de certains volatils [14, 15], mais aussi en partie au partage des composés entre les phases de l'émulsion et la phase gazeuse [18, 26]. Les odeurs les mieux perçues individuellement sont respectivement associées au nona-2,4-di-énal-(E,E), déca-2,4-di-énal-(E,E), non-2-énal-(E), oct-1-én-3-ol, oct-2-énal-(E), hexanal, oct-3-én-2-one-(E), nonanal. Les termes utilisés pour décrire l'odeur de l'hexanal, du oct-1-én-3-ol et du déca-2,4-di-énal-(E,E), respectivement herbe coupée, champignon et friture, ont fait l'objet d'un consensus par les membres du jury. Les termes utilisés pour décrire les autres odeurs étaient peu consensuels mais appartenaient aux mêmes champs sémantiques du gras et du végétal. Il est intéressant de remarquer que l'odeur de champignon associée au oct-1-én-3-ol, ou l'odeur d'herbe coupée associée à l'hexanal ont une part très faible dans l'odeur des émulsions en cours d'oxyda-

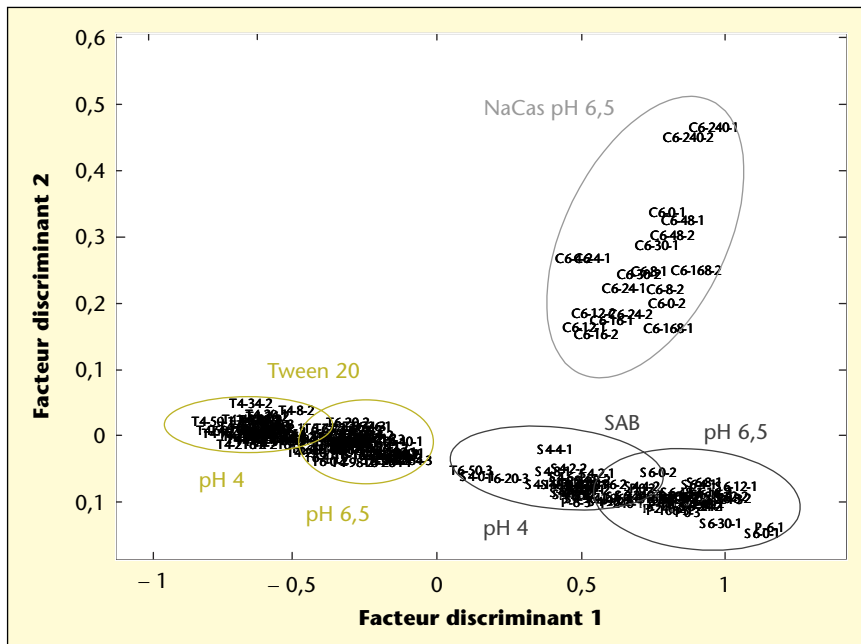


Figure 6. Analyse factorielle discriminante des proportions de composés volatils dans des émulsions constituées d'huile de tournesol purifiée et différant par leur composition en émulsifiant (SAB, NaCAS et tween) et le pH initial de la phase aqueuse (4,0 ou 6).

tion (figure 7), alors qu'elles sont parmi les plus perçues individuellement (figure 5). De même, la part de l'odeur de friture associée au déca-2,4-diéna-(E,E) recule dans l'odeur des émulsions aux temps d'oxydation longs alors que la quantité produite de ce composé augmente régulièrement au cours de l'oxydation (don-

nées non présentées [31, 35]). L'olfactométrie dynamique permet d'expliquer en partie ces phénomènes. L'olfactométrie dynamique est un dispositif original permettant de faire évaluer à un juge, l'odeur générée par un mélange de composés. Quelques gouttes de composé pur sont placées dans un flacon fermé hermé-

tiquement, l'intérieur duquel est balayé par un flux d'air arrivant à un port de flairage. L'appareil possède ainsi 5 canaux convergeant vers le port de flairage permettant de réaliser des mélanges comportant jusqu'à 5 composés. Ces flux d'air peuvent être plus ou moins dilués de façon à faire varier la concentration en composé dans le flux d'air. Le déca-2,4-diéna-(E,E), le oct-1-én-3-ol, le oct-2-éna-(E), l'hexanal et le nonanal ont été choisis pour l'étude car ils sont parmi les composés les mieux perçus individuellement et ont des odeurs suffisamment discernables les unes des autres. Ces composés ont été associés à un descripteur, respectivement : *deep fried*, *mushroom*, *herbaceous*, *cut grass* et *soapy-fatty* (termes en anglais car l'étude a été réalisée au Danemark). Un mélange de ces cinq molécules, chacune introduite à une intensité faible, et un mélange de ces cinq molécules, chacune introduite à une intensité forte, ont été évalués par huit juges en notant l'intensité des descripteurs associés aux molécules dans chacun de ces mélanges ainsi que l'intensité d'un descripteur *painty* correspondant à l'odeur de peinture perçue par le panel français dans l'odeur des émulsions.

Bien que les composés aient été introduits chacun à une intensité individuelle équivalente, la part de l'intensité de chaque descripteur n'est pas équivalente dans l'odeur des mélanges (figure 8). La part relative du descripteur *deep fried* associé au déca-2,4-diéna-(E,E) domine dans l'odeur du premier mélange, suivi de celle du descripteur *soapy fatty* associé au nonanal et de celle du descripteur *herbaceous* associé au oct-2-éna-(E). La part du descripteur *painty* est minoritaire. L'augmentation de l'intensité individuelle de chacun des composés, modifie significativement cette hiérarchie. La part du descripteur *deep fried* associé au déca-2,4-diéna-(E,E) recule au profit du descripteur *herbaceous* associé au oct-2-éna-(E) et du descripteur *painty* qui augmentent significativement. Ceci explique au moins en partie la forte perception de l'odeur de peinture dans les émulsions très oxydées donc contenant une forte concentration de composés volatils. Par ailleurs, le descripteur *cut grass* associé à l'hexanal, composé volatil majoritaire de l'oxydation de l'huile de tournesol, ne domine dans aucun des mélanges.

Cette étude sensorielle de l'oxydation d'une huile de tournesol en émulsion a confirmé la difficulté de prévoir l'odeur d'un mélange de composés en système complexe. Au moins 16 composés odorants, dont 12 ont été identifiés, participent à la modification précoce de l'odeur des émulsions. Cette odeur évolue en deux temps : de 0 à 24 h, l'odeur d'huile initialement dominante recule au profit d'une odeur de friture qui devient prépondérante. Puis de 24 à 100 h cette dernière diminue au profit

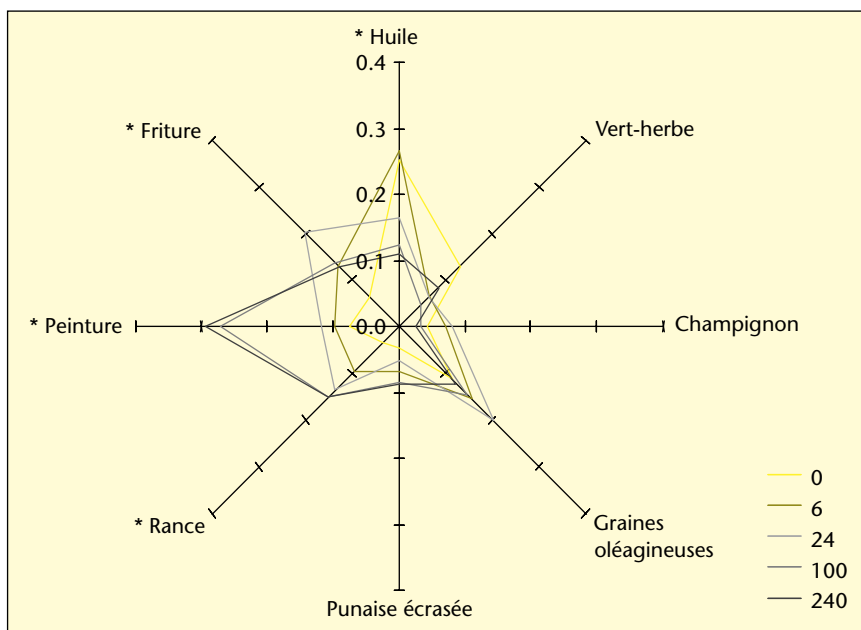


Figure 7. Déformation du profil de l'odeur d'émulsions au cours de l'oxydation à 50 °C. Les valeurs représentent la part relative de chaque descripteur dans l'odeur globale. Une étoile (\*) indique les descripteurs pour lesquels l'évolution de la part relative est significative ( $p < 0,05$ ).

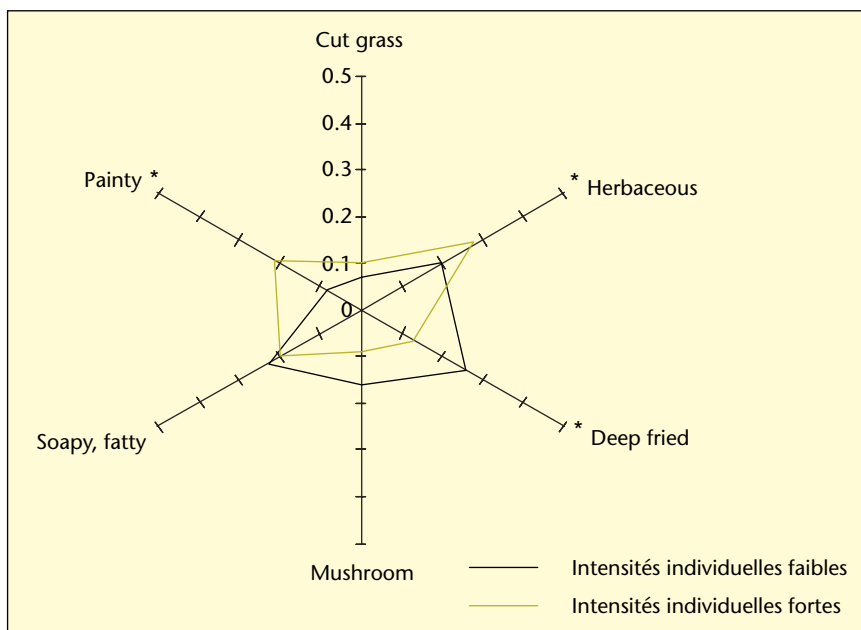


Figure 8. Profil de l'odeur de mélanges constitués de 5 composés typiques de l'oxydation des lipides, introduits à des concentrations générant des intensités équivalentes faibles et fortes. Les descripteurs cut grass, herbaceous, deep fried, mushroom et soapy-fatty étaient respectivement associés aux composés introduits : hexanal, oct-2-éнал-(E), déca-2,4-diéнал-(E,E), oct-1-én-3-ol et nonanal.

surtout d'une odeur de peinture. Au-delà, l'odeur des émulsions n'évolue quasiment plus. Le terme rance, utilisé dans le langage courant pour décrire l'odeur de corps gras oxydés, n'est à aucun moment le descripteur prédominant. Par ailleurs, l'hexanal, produit majoritaire de l'oxydation de l'acide linoléique et souvent utilisé comme marqueur de l'oxydation, ne semble pas être un marqueur pertinent de la dégradation sensorielle. Le oct-2-éнал-(E) dont l'odeur est bien perçue dans des mélanges de composés d'oxydation de l'huile de tournesol en serait probablement un meilleur.

## Conclusion

Ce travail fait progresser la compréhension des mécanismes d'oxydation des lipides et de formation des composés volatils dans les systèmes multiphasiques et permet de mieux interpréter l'impact de ces composés volatils sur l'altération de l'odeur des produits oxydés. Le rôle de l'interface huile/phase continue a été confirmé et précisé : il ne se limite pas aux seules interactions électrostatiques avec les métaux présents. Son implication tient autant à ses propriétés et à sa réactivité chimique. Quant à l'odeur générée par les composés volatils formés, elle est très précoce et évolue dans le temps. L'implication d'un composé dans cette odeur ne peut être reliée directement à sa quantité formée. Elle dépend à chaque instant des quantités et de la répartition de chacun des autres volatils

en présence. Cette étude illustre la nécessité de poursuivre les recherches sur l'oxydation des lipides dans les systèmes complexes, plus proches des aliments et autres systèmes formulés. Le lien entre propriétés et réactivité de l'interface et oxydation des lipides en systèmes dispersés est notamment à approfondir, afin de déterminer dans quelle mesure une maîtrise de l'interface pourrait permettre un meilleur contrôle de l'oxydation. Sur le plan sensoriel, l'utilisation de techniques complémentaires permettant de hiérarchiser plus finement l'impact sensoriel de chaque composé volatil dans l'odeur des produits oxydés, permettrait de mieux prévoir et d'anticiper cette dégradation sensorielle.

**Remerciements.** Ce travail a été financé par l'INRA et la région Pays de la Loire (thèse d'Angélique Villière et programme régional VANAM). Les séjours des auteurs au KVL (Royal Veterinary Institute, Frederiksberg, Danemark) au cours desquels les mesures par RPE et olfactométrie dynamique ont été réalisées, ont été financés par l'Union européenne : accès à une Major Research Infrastructure, le Levnedsmiddelcentret (LMC ; Center for Advanced Food Studies) dans le cadre du programme « potentiel et mobilité » du 6<sup>e</sup> PCRD.

Nous remercions pour l'aide apportée à différents stades de ce travail par : – Chantal Brossard, Michèle Viau, Florence Rousseau, Anne Meynier, à l'INRA de Nantes ; – Gaëlle Arvisenet et Carole

Prost à l'ENITIAA, et – Wender Bredie, Mogens Anderson et Leif Skibted au KVL. Nathalie Moreau, Isabelle Bronnec et Benoît Bousseau ont largement contribué à son aboutissement par leur efficace participation technique.

## RÉFÉRENCES

- MARTIN A. *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. Paris : Technique et documentation, Lavoisier, 2001.
- PRIOR E. Usage des corps gras alimentaires dans les différents secteurs de la technologie alimentaire. In : Graille J, ed. *Lipides et corps gras alimentaires*. Paris : Technique et documentation, Lavoisier, 2003 : 147-87.
- GENOT C. *Congélation et qualité de la viande*. Paris : Inra éditions, 2000.
- GENOT C, MEYNIER A, RIAUBLANC A, CHOBERT J-M. Proteins alterations due to lipid oxidation in multiphase systems. In : Kamal-Eldin A, ed. *Lipid oxidation pathways*. Champaign, IL, USA : AOCS Press, 2003 : 265-92.
- KANNER J. Oxidative processes in meat and meat products : quality implications. *Meat Sci* 1994 ; 36 : 169-89.
- POKORNY J. Problème de stabilité des produits alimentaires liés à la présence des lipides. In : Graille J, ed. *Lipides et corps gras alimentaires*. Paris : Technique et documentation, Lavoisier, 2003 : 147-87.
- ADDIS PB. Occurrence of lipid oxidation products in foods. *Food Chem Toxicol* 1986 ; 24 : 1021-30.
- KUBOW S. Toxicity of dietary lipid peroxidation products. *Trends Food Sci Technol* 1990 ; 1 : 67-71.
- KUBOW S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. *Free Radic Biol Med* 1991 ; 12 : 63-81.
- RIEMERSMA RA. Analysis and possible significance of oxidised lipids in food. *Eur J Lipid Sci Technol* 2002 ; 104 : 419-20.
- FRANKEL EN. Lipid oxidation. *Prog Lipid Res* 1980 ; 19 : 1-22.
- FRANKEL EN. *Lipid oxidation*. Bridgewater : The Oily Press LTD, 2005.
- LABUZA TP. Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC Critical Reviews Food Technology* 1971 ; 2 : 355-405.
- GROSCHE W. Lipid degradation products and flavour. In : Morton ID, Macleod AD, eds. *Food flavours*. Amsterdam : Elsevier, 1982 : 325-98.
- FAZZALARI FA. *Odor and taste threshold values data*. Philadelphia : American society for testing and materials, 1978.

16. GENOT C, EYMARD S, VIAU M. Comment protéger les acides gras poly-insaturés à longues chaînes oméga 3 vis à vis de l'oxydation? *OCL* 2004 ; 11 : 133-41.
17. LETHUAUT L, MÉTRO F, GENOT C. Effect of droplet size on lipid oxidation rates of oil-in-water emulsions stabilized by protein. *J Am Oil Chem Soc* 2002 ; 79 : 425-30.
18. GENOT C, MEYNIER A, RIAUBLANC A. Lipid oxidation in emulsions. In : Kamal-Eldin, ed. *Lipid oxidation pathways*. Champaign : AOCS Press, 2003 : 190-234.
19. MCCLEMENTS DJ, DECKER EA. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions : impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *J Food Sci* 2000 ; 65 : 1270-82.
20. ZHANG H, JACOBSEN C, PEDERSEN LS, CHRISTENSEN MW, ADLER-NISSEN J. Storage stability of margarines produced from enzymatically interesterified fats compared to those prepared by conventional methods – chemical properties. *Eur J Lipid Sci Technol* 2006 ; 108 : 227-38.
21. MAKHOUL H, GHADAR T, TOUFEILI I. Identification of some rancidity measures at the end of the shelf life of sunflower oil. *Eur J Lipid Sci Technol* 2006 ; 108 : 143-8.
22. BELITZ HD, GROSCH W, SCHIEBERLE P. Lipids. In : Belitz HD, Grosch W, Schieberle P, eds. *Food Chemistry*. Berlin : Springer-Verlag, 2004 : 157-244.
23. SAUVAGEOT F. L'évaluation sensorielle appliquée aux arômes. In : Richard H, Multon JL, eds. *Les arômes alimentaires*. Paris : Technique et documentation, Lavoisier, 1992 : 39-76.
24. LAING DG, FRANCIS GW. The capacity of humans to identify odors in mixtures. *Physiol Behav* 1989 ; 46 : 809-14.
25. BERGLUND B, OLSSON MJ. Odor-intensity interaction in binary and ternary mixtures. *Percept Psychophys* 1993 ; 53 : 475-82.
26. VAN RUTH SM, ROOZEN JP. Aroma compounds of oxidised sunflower oil and its oil-in-water emulsion : volatility and release under mouth conditions. *Eur Food Res Technol* 2000 ; 210 : 258-62.
27. MEI L, MC CLEMENTS DJ, WU J, DECKER EA. Iron-catalyzed lipid oxidation in emulsion as affected by surfactant, pH and NaCl. *Food Chem* 1998 ; 61 : 307-12.
28. MEI L, DECKER EA, MCCLEMENTS DJ. Evidence of iron association with emulsion droplets and its impact on lipid oxidation. *J Agric Food Chem* 1998 ; 46 : 5072-7.
29. DONNELLY JL, DECKER EA, MCCLEMENTS DJ. Iron-catalysed oxidation of menhaden oil as affected by emulsifiers. *J Food Sci* 1998 ; 63 : 997-1000.
30. HU M, MCCLEMENTS DJ, DECKER EA. Impact of whey protein emulsifiers on the oxidative stability of salmon oil-in-water emulsions. *J Agric Food Chem* 2003 ; 51 : 1435-9.
31. VILLIÈRE A. Approche physico-chimique et sensorielle de l'oxydation des lipides dans des émulsions stabilisées par des protéines. Thèse de doctorat. Faculté des sciences et des techniques, Nantes, 2005.
32. BUROVA TV, GRINBERG NV, GOLUBEVA IA, MASHKEVICH AY, GRINBERG VY, TOLTOGUSOV VB. In : *Flavour release in model serum albumin/pectin/2-octanone systems*. Food Hydrocolloids, 1999 : 7-14.
33. BUROVA TV, GRINBERG NV, GRINBERG VY, TOLSTOGUSOV VB. Binding of odorants to individual proteins and their mixtures. Effects of protein denaturation and association. À plasticized globule state. *Colloids Surfaces A. Physico-chemical Engineering Aspects* 2003 ; 213 : 235-44.
34. DRUAUX C, LUBBERS S, CHARPENTIER C, VOILLEY A. Effects of physico-chemical parameters of a model wine on the binding of  $\gamma$ -decalactone on bovine serum albumin. *Food Chem* 1995 ; 53 : 203-7.
35. VILLIÈRE A, VIAU M, BRONNEC I, MOREAU N, GENOT C. Oxidative stability of bovine serum albumin- and sodium caseinate-stabilized emulsions depends on metal availability. *J Agric Food Chem* 2005 ; 53 : 1514-20.
36. GAUCHERON F. Interactions caséines-cations. In : Gaucheron F, ed. *Minéraux et produits laitiers*. Paris : Technique et Documentation, Lavoisier, 2004 : 81-112.
37. RIVAL SG, BOERIU CG, WICHERS HJ. Caseins and casein hydrolysates. 2. Antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition. *J Agric Food Chem* 2001 ; 49 : 295-302.
38. VILLIÈRE A, GENOT C. In : *Interactions protéines-métaux et stabilité à l'oxydation d'émulsions stabilisées par des protéines. 16èmes rencontres Agoral*. Nantes. Paris : Technique et documentation, Lavoisier, 2004 : 32-9.
39. FRANKEL EN. Volatile lipid oxidation products. *Prog Lipid Res* 1982 ; 22 : 1-33.
40. FRANKEL EN. Chemistry of autoxidation : mechanism, products, and flavor significance. In : Min DB, Smouse T, eds. *Flavor chemistry of fats and oils*. American Oil Chemists' Society, 1985 : 1-37.
41. GROSCH W. Reactions of hydroperoxides-products of low molecular weight. In : *Autoxidation of unsaturated lipids*. CHAN HW-S ed. London : Academic Press, 1987 : 95-139.
42. KESZLER A, KRISKA T, NÉMETH A. Mechanism of volatile compound production during storage of sunflower oil. *J Agric Food Chem* 2000 ; 48 : 5981-5.
43. MEYNIER A, RAMPON V, DALGALARONDO M, GENOT C. Hexanal and t-2-hexenal form covalent bonds with whey proteins and sodium caseinate in aqueous solutions. *Int Dairy J* 2004 ; 14 : 681-90.