



HAL
open science

Les coacervats de protéines sériques: des nouveaux agents d'encapsulation naturels et fonctionnels

Anne Laure Chapeau

► To cite this version:

Anne Laure Chapeau. Les coacervats de protéines sériques: des nouveaux agents d'encapsulation naturels et fonctionnels. Journée PROFIL - La plasticité des protéines du lait : un atout majeur pour concevoir des assemblages fonctionnels, Institut National de Recherche Agronomique (INRA). UMR UMR INRA / AgroCampus Rennes: Science et Technologie du Lait et de l'uf (1253)., Sep 2017, Rennes, France. hal-01595711

HAL Id: hal-01595711

<https://hal.science/hal-01595711>

Submitted on 5 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike 4.0 International License



Journée PROFIL

Milk Valley



La plasticité des protéines du lait,
Un atout majeur pour concevoir des assemblages fonctionnels.

Session: Encapsulation

**Les coacervats de protéines sériques:
des nouveaux agents d'encapsulation naturels et fonctionnels**

Anne-Laure CHAPEAU, Saïd BOUHALLAB - UMR STLO, INRA Rennes

Marieke VAN AUDENHAEGE - Sodiaal



L'encapsulation en agro-alimentaire – Contexte

Dualité des attentes de consommation :

Aliments naturels **et** offrant des bénéfices améliorés pour la santé... **aliments naturels fonctionnels**

Incorporation de molécules **bioactives...**
molécules **sensibles** aux dégradations



Encapsulation

Incorporation

Protection

Vectorisation

Liberation

Capsule



Matrice



*Avec des
protéines de lait*



**Produits laitiers
naturels et fonctionnels**



Bioactif



Stratégies d'encapsulation utilisant les protéines sériques – Contexte

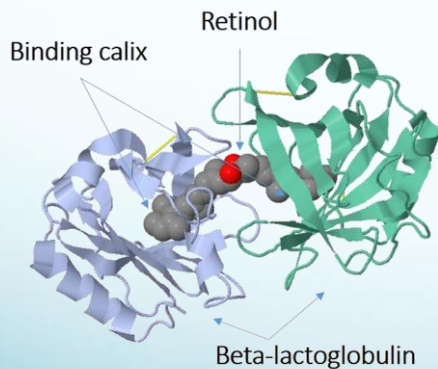
Liaison (binding)

Interactions avec un ligand
(liaisons hydrophobes
et/ ou interactions électrostatiques)

Favorisée par la conformation
structurale de la protéines

Formation de complexe

Ex: β -lactoglobuline + acide gras



(Synthèse par Le Maux et al., 2014)

Process descendant (top down)

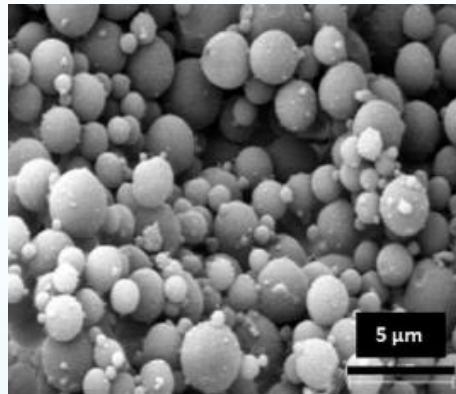
Emulsion

Gélification +/- extrusion

(Schmitt et al., 2009)

Electrospraying

Spray drying (Pérez et al., 2015)

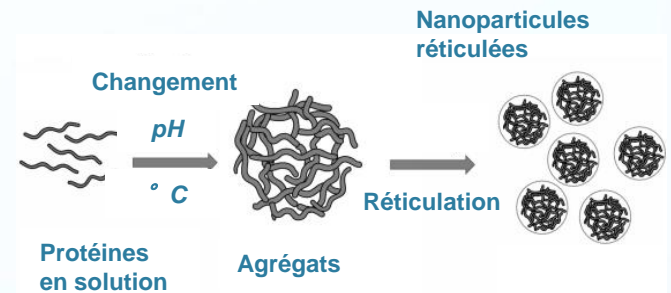


*Microcapsules (2 μ m) formées
par electrospraying d'un
concentré de protéines sériques*

(Lopez-Rubio et al., 2012)

Process montant (Bottom-up)

Agrégation thermique
Désolvatation

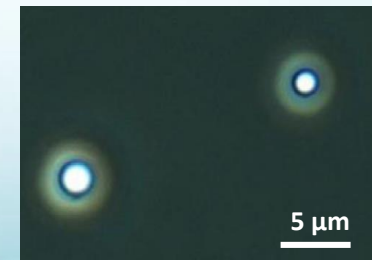


(Lohcharoenkal W. et al, 2014)

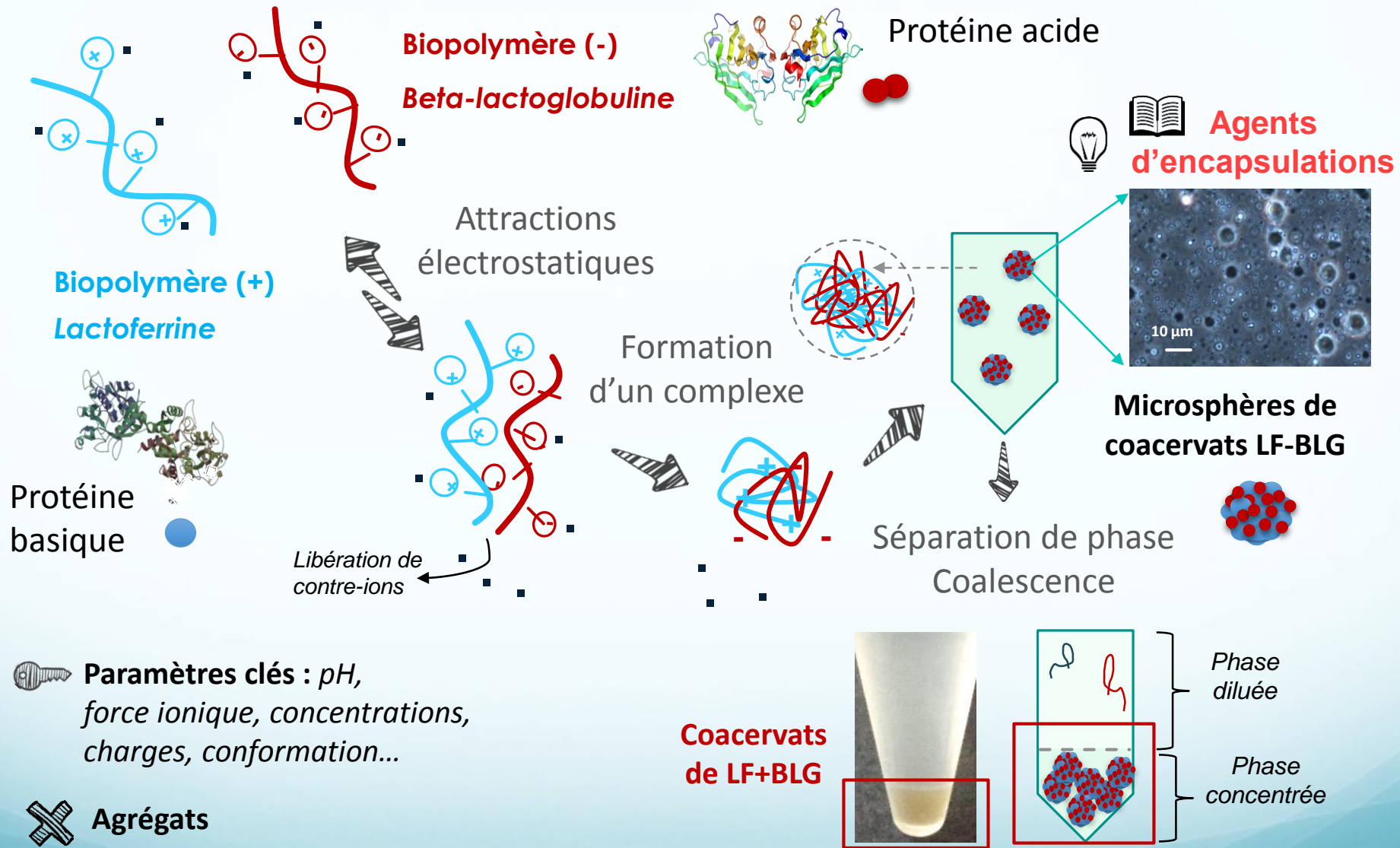
Co-assemblages spontanés

Coacervation (Bouhallab et Croguennec, 2014)

*Coacervats de β -Lactoglobuline et
lactoferrine en solution* (Tavares et al., 2015)

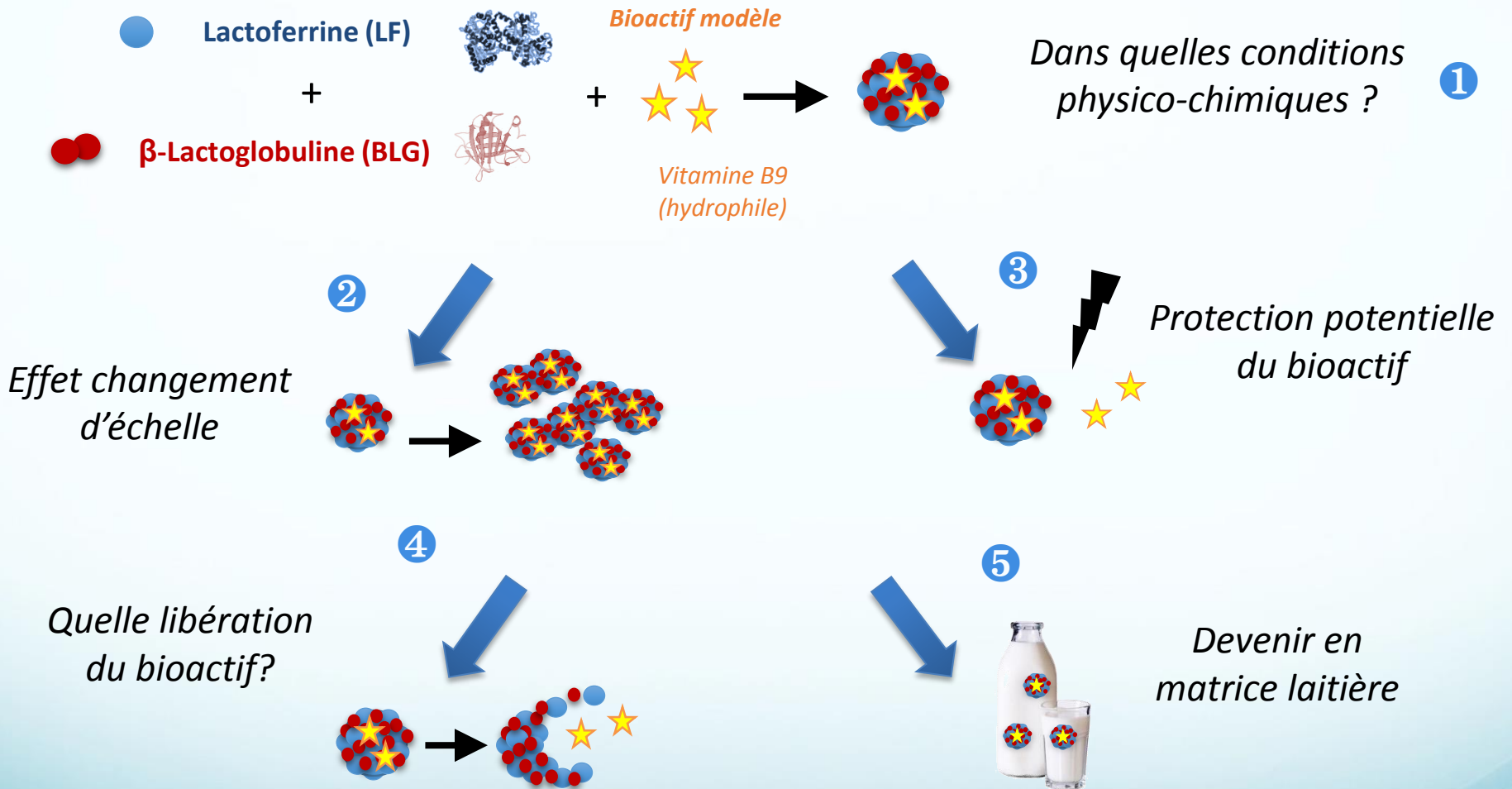


La coacervation complexe des protéines sériques – Contexte

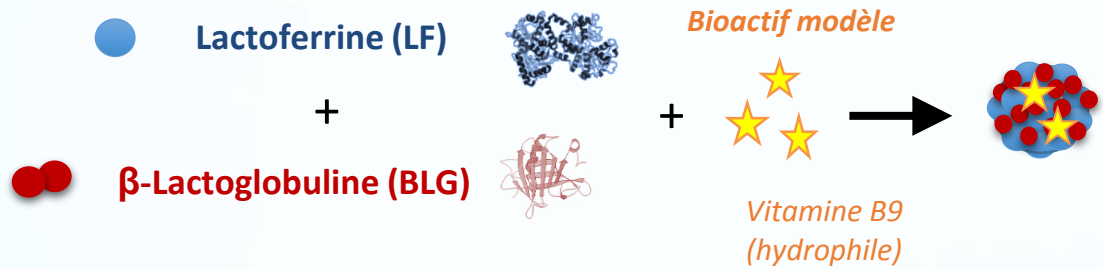


(de Kruif et al., 2004)

Comment utiliser le coacervat de protéines sériques comme agents d'encapsulation d'une molécule bioactive ? – Stratégie



Comment utiliser le coacervat de protéines sériques comme agents d'encapsulation d'une molécule bioactive ? – Stratégie



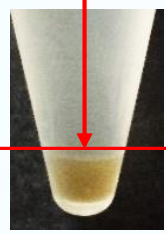
Dans quelles conditions physico-chimiques ?

1

Optimisation des conditions de coacervation de LF-BLG en présence de B9 – Résultat 1

Phase concentrée de coacervats

B9-protéines sériques (PS)



Formation
Eau pH 5.5
Ratio LF:B9:BLG
1:5:10



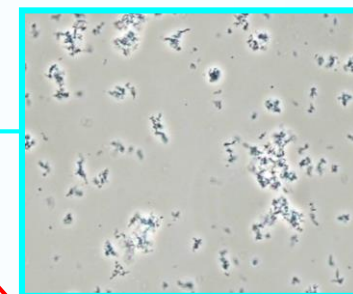
Densité ≈ miel

Correspondance des domaines de coacervation avec les haut rendements d'encapsulation de B9

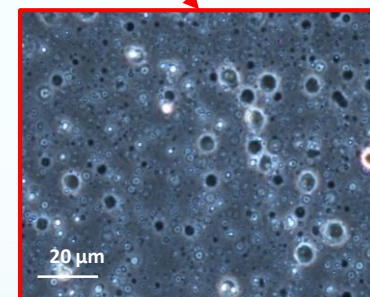
Efficacité d'encapsulation ≈ 5 mg B9 / g coacervats

Même ordre de grandeur qu'encapsulation par séchage de PS (Pérez-Masiá et al., 2015)

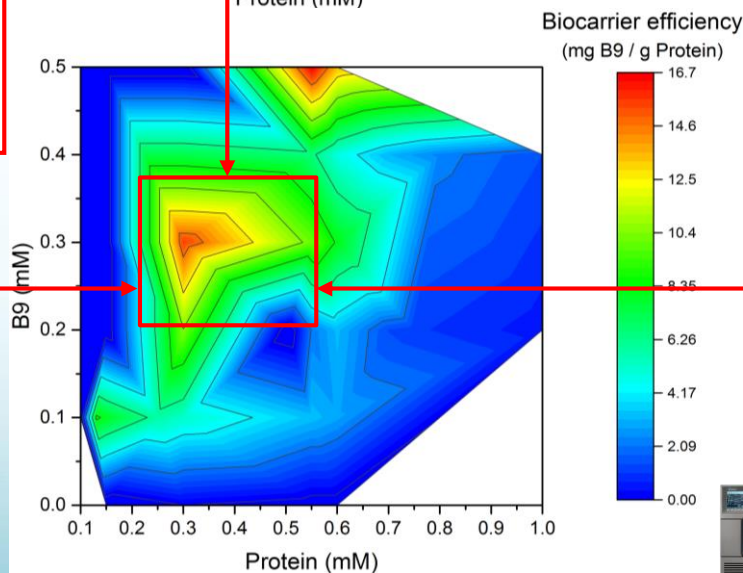
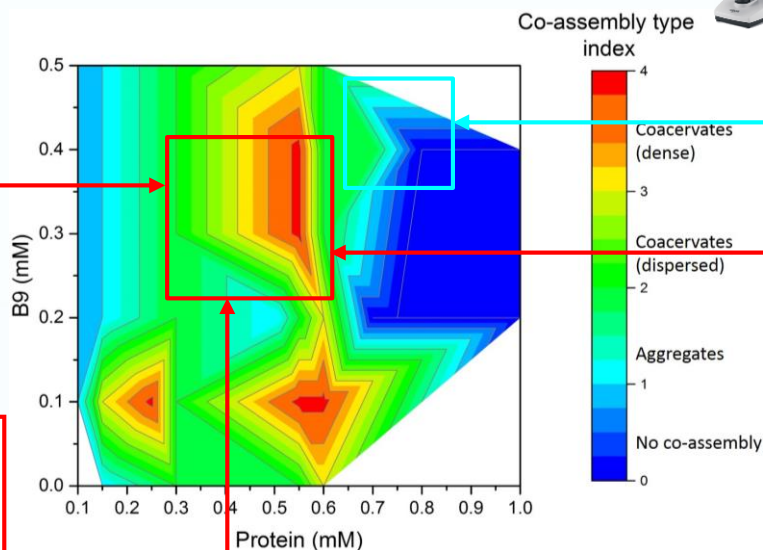
Par microscopie



Agrégats



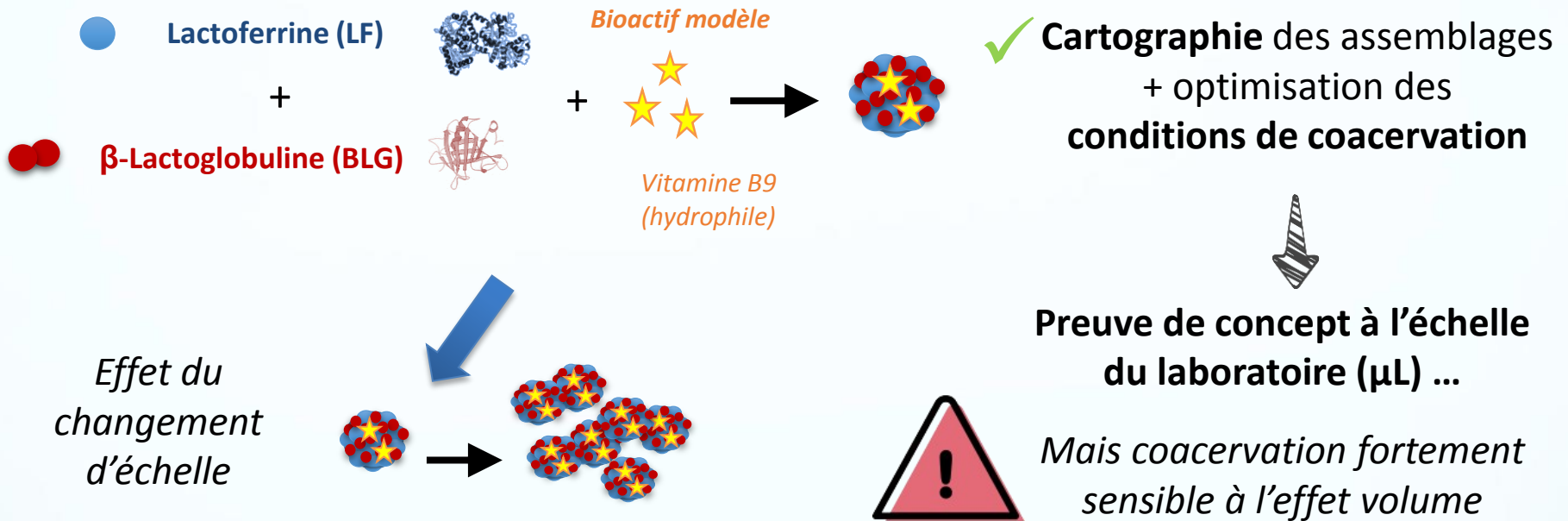
Coacervats



Dosage par chromatographie



Comment utiliser le coacervat de protéines sériques comme agents d'encapsulation d'une molécule bioactive ? – Stratégie



Augmentation de l'échelle de production des coacervats B9-PS – Résultat 2

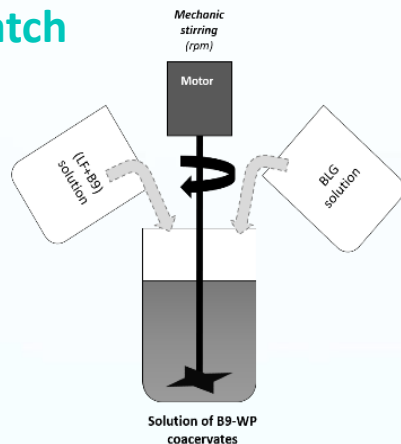
■ Rendement d'encapsulation de B9 (%)
 ■ Rendement de coacervation des PS (%)



Rendement d'encapsulation = 98 %
 Rendement de coacervation = 58 %

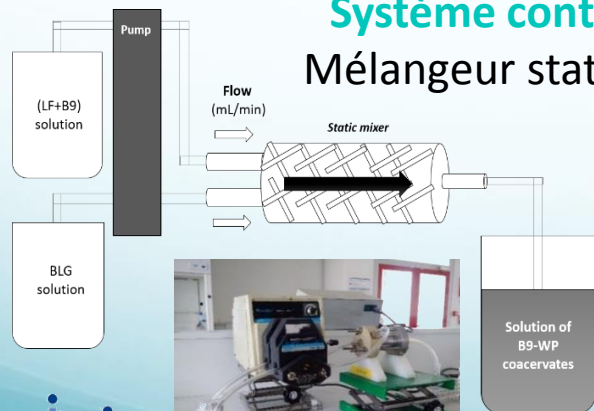
Système en batch

Pâle à hélice

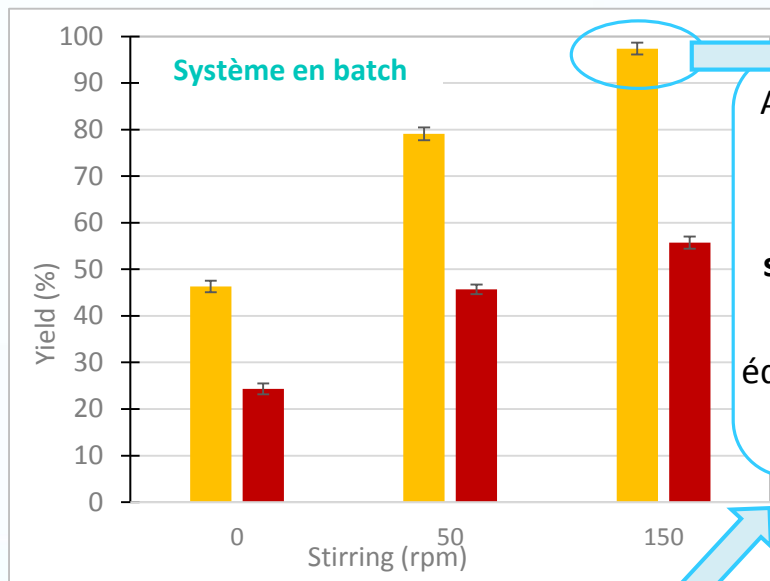


Système continu

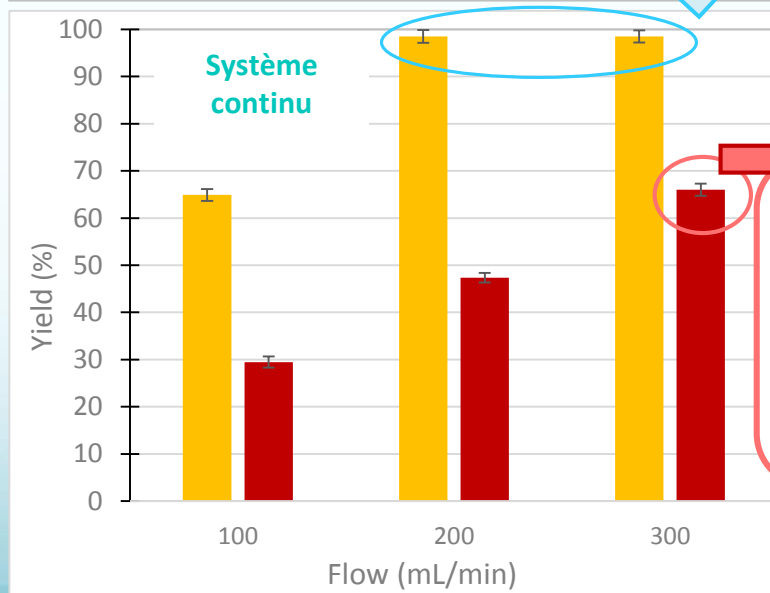
Mélangeur statique



D. Poncelet

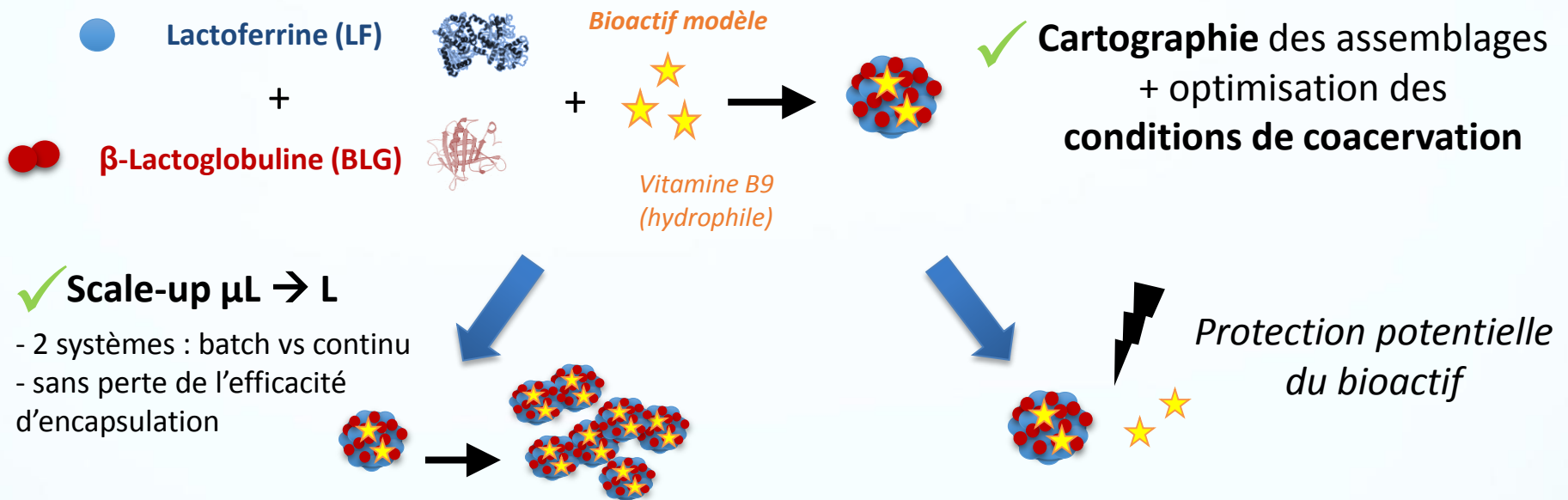


Après optimisation
 → Rendement d'encapsulation similaires sur les 2 systèmes et équivalent à l'échelle du laboratoire.



Meilleur rendement de coacervation des protéines sériques avec le système continu.

Comment utiliser le coacervat de protéines sériques comme agents d'encapsulation d'une molécule bioactive ? – Stratégie



Effet protecteur des coacervats de PS sur la dégradation de B9 – Résultat 3

→ 2 types d'échantillons :

B9 seule vs coacervats B9-PS

→ Dégradations = temps longs...

Test en dégradation accélérée / induite :

irradiation UV,

oxydation induite par H_2O_2

→ Dosage de la **forme native de B9**

= **Forme bioactive** :

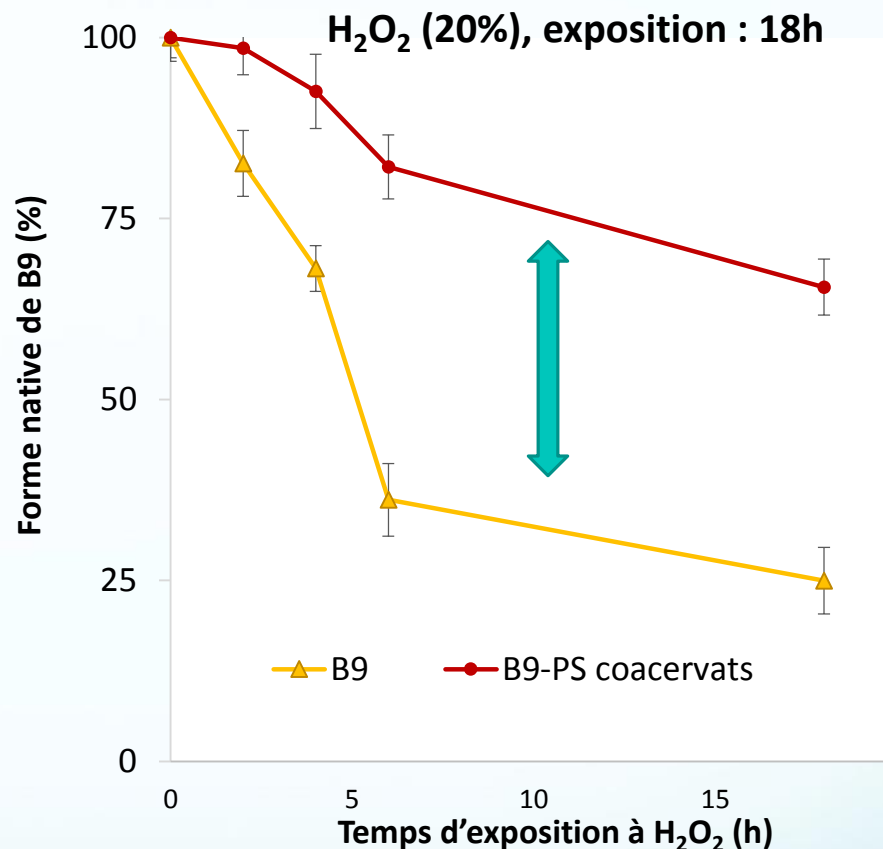
spectrométrie de masse, ELISA

Conservation de la forme native de B9 dans le coacervat vis à vis des différentes conditions de dégradations testées

→ **Maintient de la forme bioactive**

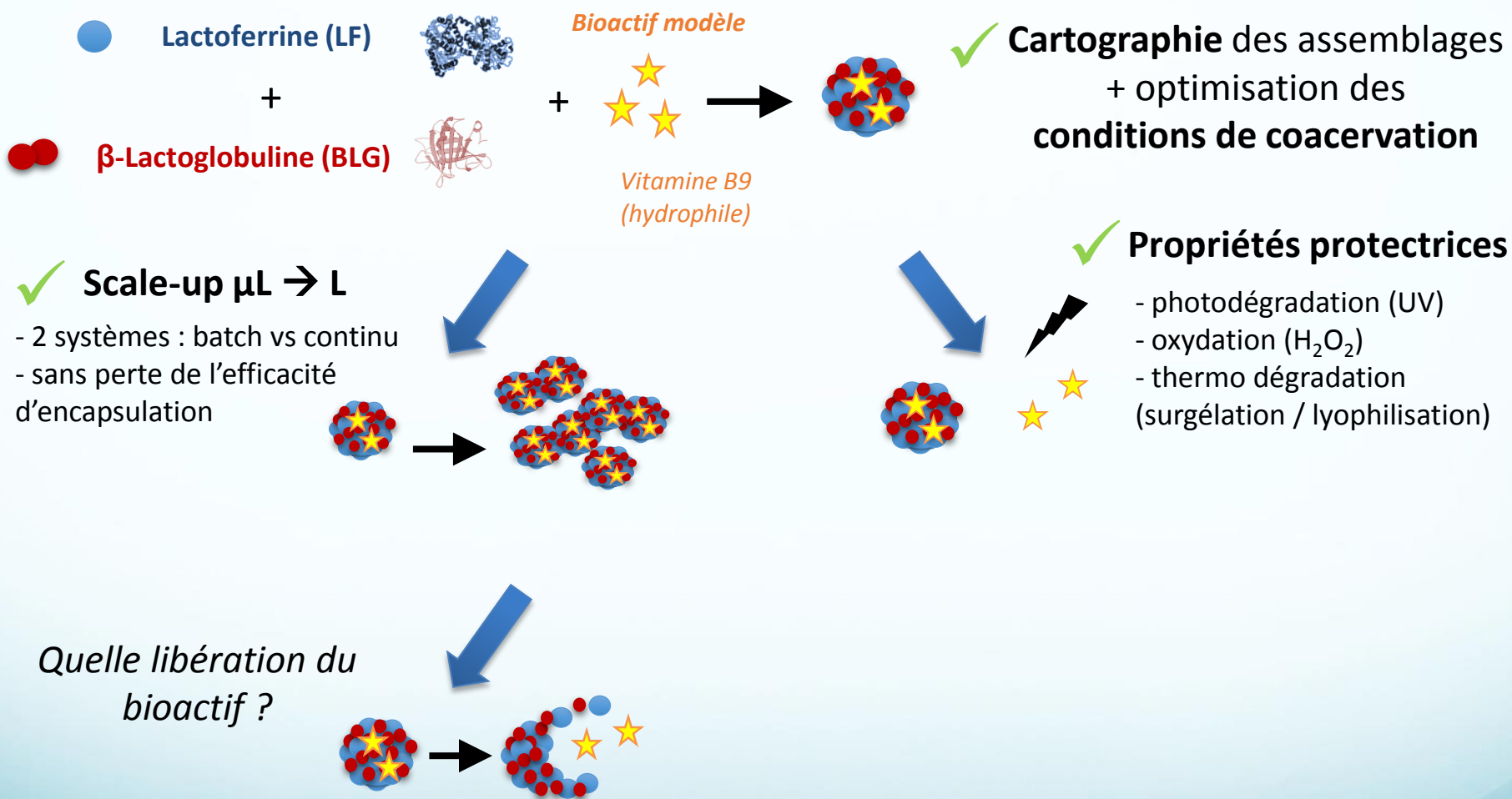
→ **Effet protecteur du coacervat de PS**

Dégradation (oxydation)



→ **Limitation de la perte de la forme native de B9 quand encapsulée dans les coacervats de PS par rapport à B9 seule en solution**

Comment utiliser le coacervat de protéines sériques comme agents d'encapsulation d'une molécule bioactive ? – Stratégie



Amélioration *in vivo* de la biodisponibilité de B9 par les coacervats de PS – Résultat 4



Groupes expérimentaux

10 rats
Sprague Dawley
Mâles, ≈ 450g

B9



Coacervats de B9-PS



Etude pharmacocinétique

10 jours



Alimentation *ad libitum* sans B9

Administration de B9 ou coacervats de B9-PS

Prélèvements sanguins
(T0, T30min, T1h, T2h, T4h, T6h, T10h)



Dose de B9 administrée oralement



500 µg B9 / rat
en solution seule ou par les coacervats de PS

Concentration plasmatique de B9

Cinétique de dosage par ELISA

Collaboration internationale

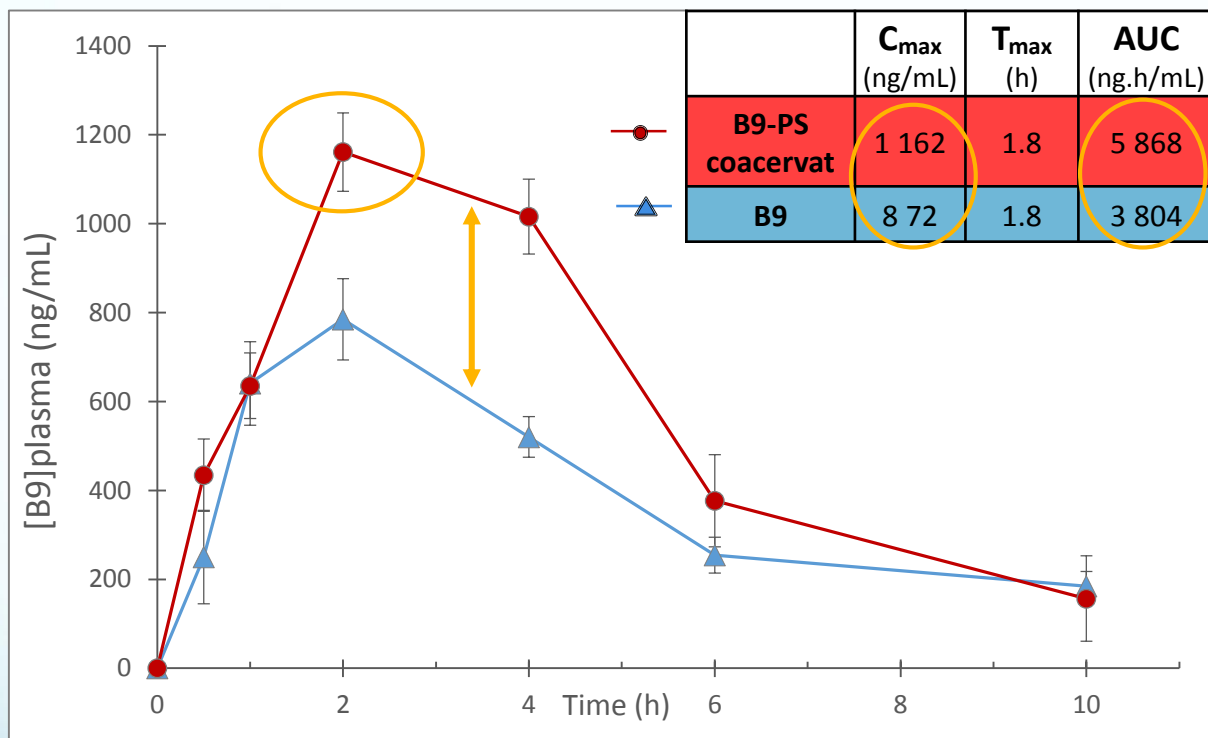
Lauréate Bourse Erasmus +

N. Bertrand : Chercheur sur l'utilisation des biomatériaux pour la pharmacie



Amélioration *in vivo* de la biodisponibilité de B9 par les coacervats de PS – Résultat 4

Concentrations plasmatiques de vitamine B9 chez le rat après une administration orale (T0) d'une dose de 500 µg de B9 en solution seule, ou en coacervat de protéines sériques



→ 1 courbe

pharmacocinétique = **moyenne**

des prélèvements sanguins
des 5 rats sur les 7 temps

→ 2 paramètres étudiés :

- C_{max} : concentration maximale de B9 absorbée
- **AUC** = aire sous la courbe ≈ quantité totale de B9 absorbée

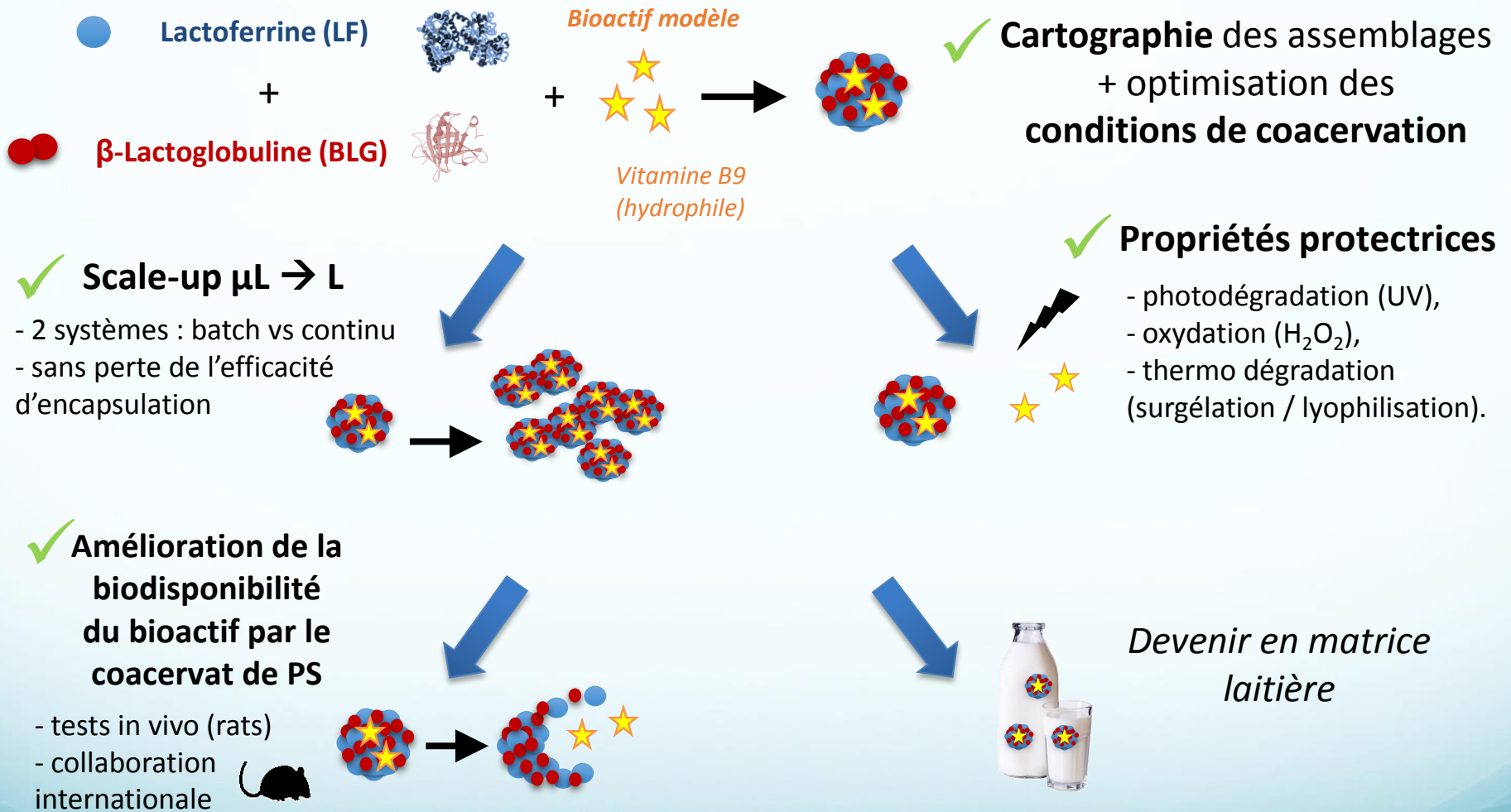
→ Evaluer la **biodisponibilité globale** de B9

A dose égale en B9 administrée la :

C_{max} B9-PS > C_{max} B9 et l' AUC B9-PS > AUC B9

→ Donc la **vitamine B9 administrée par le coacervat** de protéines sériques serait **mieux absorbée** que la B9 administrée en solution

Comment utiliser le coacervat de protéines sériques comme agents d'encapsulation d'une molécule bioactive ? – Stratégie



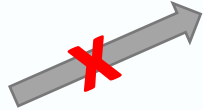
Resuspension des coacervats B9-PS en matrices laitières: première approche – Résultat 5

Coacervat
« Natif »



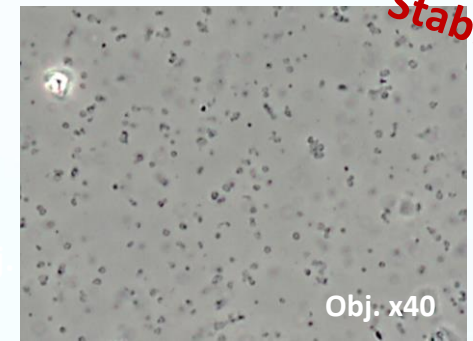
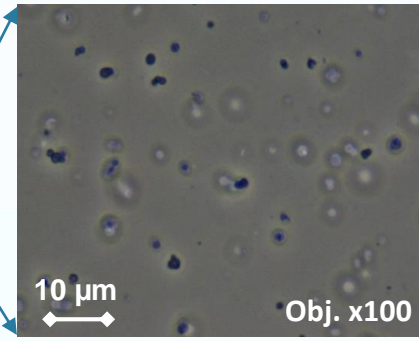
Cycles de
vortex et
sonication

Eau milliQ
pH 5.5



Solution **non homogène**
→ coacervat B9-PS **non redispersable**
dans l'eau à pH 5.5

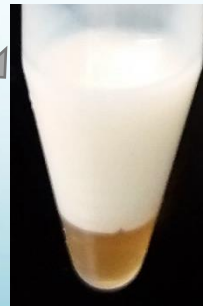
Perméat
d'ultra-filtrat
(PUF)



Stable

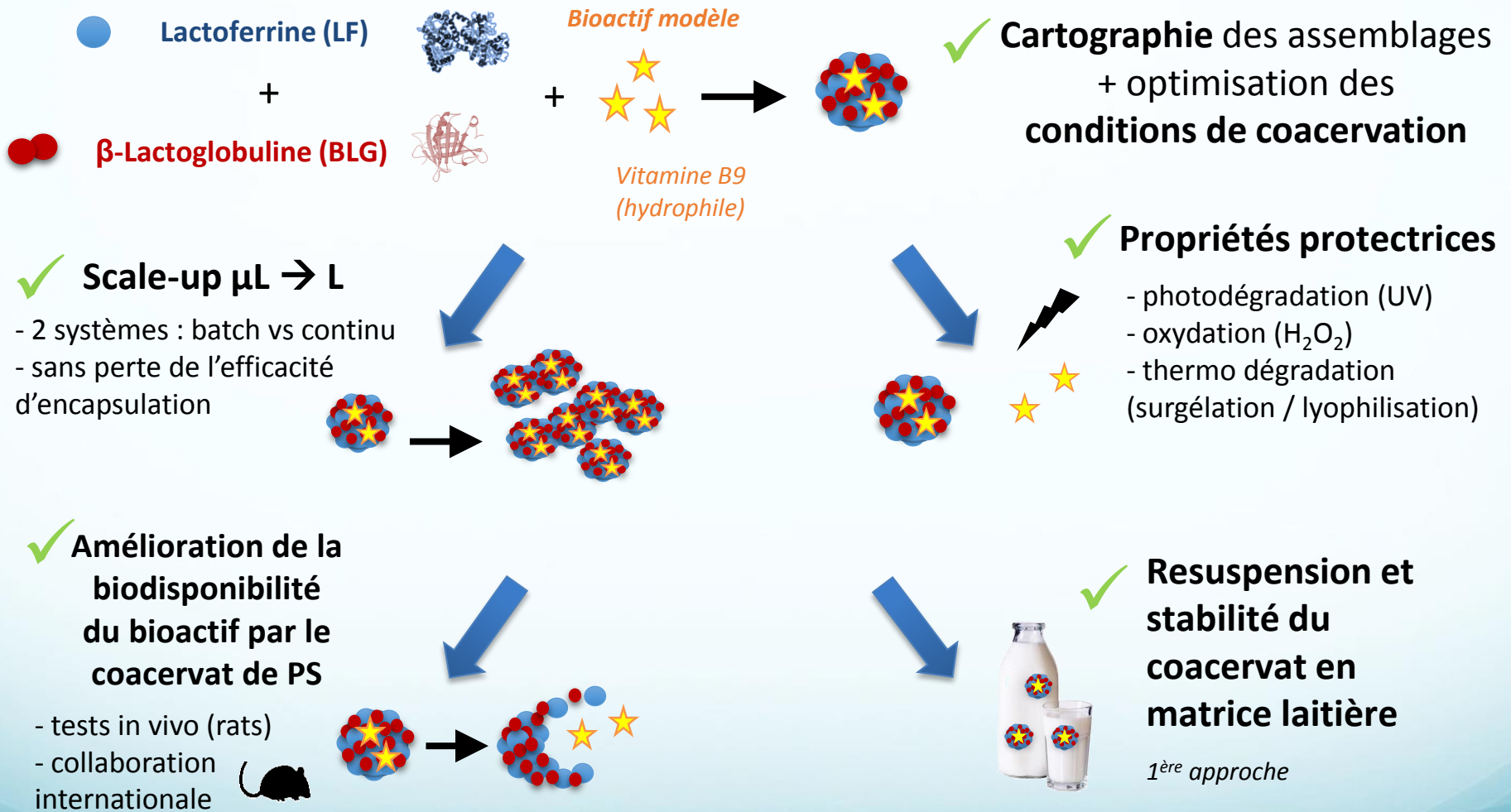
Solution **homogène** → Resuspension du coacervat B9-PS
en petites particules/goutelettes sphériques (≈ 2 à 5 µm)

Lait demi
écrémé UHT



Solution **homogène**
→ Resuspension du coacervat
B9-PS **identique à celle du PUF**

Comment utiliser le coacervat de protéines sériques comme agents d'encapsulation d'une molécule bioactive ? – Stratégie



Le coacervat de protéines sériques comme agents d'encapsulation d'une molécule bioactive – Applications potentielles



100 mg de coacervats B9-PS

450 µg B9

25 mg de protéines sériques
(dont LF : peptides bioactifs
et activités métaboliques)

50 µg Fer

Utiliser le coacervat B9-PS
comme ingrédient ou
composé bioactif naturel et fonctionnel

• Complément alimentaire pour femme enceinte



VITAMINES	PAR CAPSULE	EN % DES AR* par capsule	MINÉRAUX SÉRIQUES	PAR CAPSULE	EN % DES AR* par capsule
B1	1,1 mg	100%	Fer	14 mg	100%
B2	1,4 mg	100%	Cuivre	3,75 mg	37,5%
B3/PP	16 mg NE	100%	Magnésium	60 mg	16%
B5	6 mg	100%	Cuivre	1 mg	100%
B6	1,4 mg	100%	Manganèse	2 mg	100%
B9/PS	450 µg	100%	Iode	150 µg	100%
B9/Acide folique	400 µg	200%	Sélénium	50 µg	91%
B12	2,5 µg	100%			
F	12 mg d'ET	100%			

*AR : Apports de Référence

Par gélule

400 µg B9

14 mg Fer

Pas de protéines

• Aliment quotidien "nutrition santé"



Par portion (30g)

100 µg B9

3.5 mg Fer

2.7 g protéines
végétales

Analyse moyenne	Par 100g à 12,8%	Par portion à 100g à 12,8%	VV par portion
Valeur énergétique kJ	379	750	
Matières grasses g	3	6,1	
dont acides gras saturés	0,7	2	
Glucides g	84	22,5	
dont sucres	4,9	13,1	
Fibres alimentaires g	0	0	
Protéines g	1,5	4	
Sel g	0,04	0,2	
Vitamines			
A	71	188	40%
D	1,3	3,4	48%
Vitamine E	1,5	4,1	81%
Vitamine K	6,5	17,3	140%
Vitamine C	13	35,5	71%
Thiamine	0,14	0,37	74%
Riboflavine	0,23	0,61	79%
Niacine	0,23	0,61	34%
Acide folique	15	39	31%
Biotine	2,4	6,3	63%
Acide pantothénique	2,4	6,3	87%
Minéraux			
Potassium	83	220	22%
Calcium	24	63	12%
Phosphore	30	78	24%
Magnésium	1,1	2,8	31%
Na	1,05	2,8	31%
Cl	0,05	0,14	38%
Manganèse	8	22	32%
Sélénium	1,3	3	18%
Zinc	17	46	34%

• Poudre infantile (portion)

30 µg B9

2 mg Fer

4 g protéines de lait



NOS INFORMATIONS NUTRITIONNELLES		
	○ Pour 100 g	● Par portion de 30 g
ENERGIE	1588 kJ 375 kcal	476 kJ 113 kcal
MATIÈRES GRASSES	1,5 g	0,5 g
dont acides gras saturés	0,3 g	0,1 g
GLUCIDES	79 g	24 g
dont sucres	15 g	4,5 g
FIBRES ALIMENTAIRES	4,5 g	1,4 g
PROTÉINES	9 g	2,7 g
SEL	1 g	0,3 g
VITAMINES :	(% AR)	(% AR)
D	8,4 µg (167)	2,5 µg (50)
THIAMINE (B1)	1,8 mg (167)	0,55 mg (50)
RIBOFLAVINE (B2)	2,3 mg (167)	0,70 mg (50)
NIACINE (B3/PP)	13,4 mg (84)	4,0 mg (25)
B6	1,2 mg (84)	0,35 mg (25)
ACIDE FOLIQUE (B9)	334 µg (167)	100 µg (50)
B12	2,1 µg (84)	0,6 µg (25)
SELS MINÉRAUX :		
FER	11,6 mg (83)	3,5 mg (25)
ZINC	8,3 mg (83)	2,5 mg (25)

(%AR) = Apports de Référence

Le coacervat de protéines sériques comme agents d'encapsulation d'une molécule bioactive – Conclusion et perspectives

Au 1^{er} plan : Preuve de **concept** (de l'échelle laboratoire à pré-industrielle), effet **protecteur**, vectorisation/**libération**, **stabilité** des coacervats B9-PS en matrice laitière...

... et avec un peu de recul : Nouvelle **approche** de la **coacervation hétéroprotéique**, par son **application** pour l'encapsulation de bioactif

Connaissances scientifiques 

→ Caractérisation de la phase resuspendue des gouttelettes de coacervats de PS :
(*en cours, stage Master 2, L. Masbernat*)

- Composition (dynamique de l'eau)
- Interactions moléculaires
- Rhéologie...

→ Nouvelles connaissances sur les propriétés du coacervats hétéroprotéiques et ses modifications en fonction de sa cinétique de formation, de son milieu...

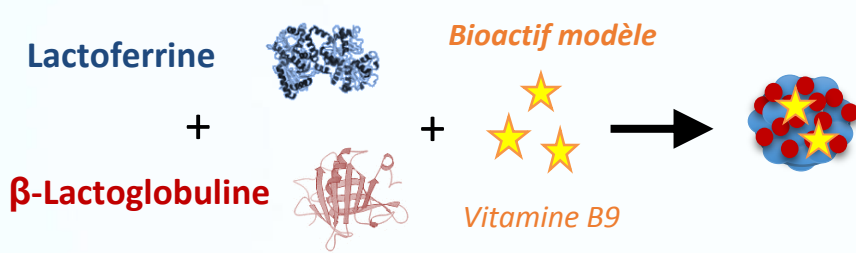
 *Application*

→ Optimisation des paramètres de fabrication:

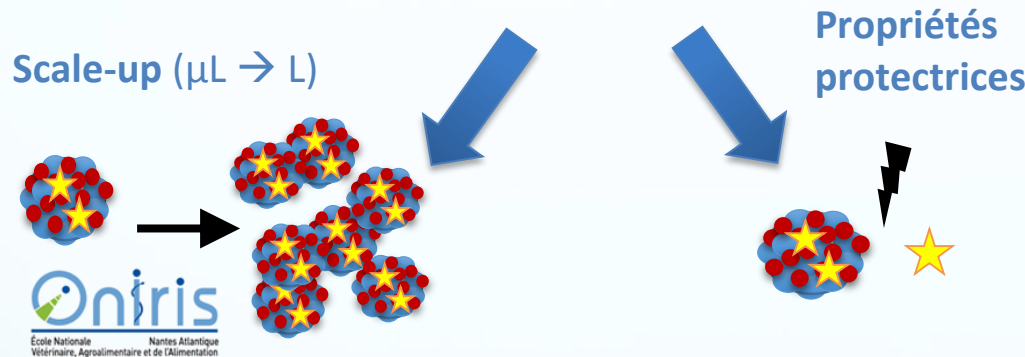
- Production à échelle pilote
- Forme utilisable (lyophilisation, séchage...)
- Rendement d'encapsulation selon le type de bioactif.

→ Digestion *in vitro* du coacervat : comprendre les mécanismes de libération du bioactif et analyses des peptides générés par les coacervats

Le coacervat de protéines sériques comme agents d'encapsulation d'une molécule bioactive – Valorisations



- Chapeau A.L., et al. (2016) *Food Hydrocolloids*
- 1 communication orale internationale (*Pays Bas*)
 - 1 communication orale nationale (*Nantes*)
 - 1 poster international (*Canada*)



- Chapeau A.L., et al. (2017) *Journal of Food Engineering*
- 1 communication orale internationale (*Allemagne*)



Libération et biodisponibilité du bioactif

- Chapeau A.L., et al. (2017) *Journal of Functional Foods*
- 1 communication orale internationale (*Nantes*)



Incorporation en matrice laitière



Stage ingénieur – Master 2 en cours

Le coacervat de protéines sériques comme agents d'encapsulation d'une molécule bioactive – *Travail d'équipe !*



Equipe IS-FPL du STLO

(Pascaline Hamon, Thomas Croguennec, Valérie Briard-Bion, Laurena Masbernat, Florence Rousseau, Saïd Bouhallab)



Equipe Québécoise du CHUL

(Nicolas Bertrand)



Equipe ONIRIS
(Denis Poncelet)

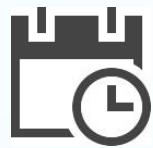
Pilotage PAO (Stephan Rouverand, Morgane Raison)

BBA et Comité technique industriels Axe 4 Profil (Marieke Van Audenhaege, Daniel Senocq, Marie-Laure Sansous, Carole Prost, Anne Ranc, Caroline Puel, Anne Bernard, Marie Chevallier, Raphaël Chacon, Isabelle Proudly, ...)

20/20

Merci de votre attention

Et pour en savoir plus...



*Jeudi 26 octobre 2017, 9h30
Soutenance de Thèse A-L Chapeau,
au STLO, à Rennes.*

