



**HAL**  
open science

## Recherches et Innovations pour l'Aliment et les Bioproduits

Michael O'Donohue, Mélanie Delclos, Laurence Prevosto, . Département  
Cepia

► **To cite this version:**

Michael O'Donohue, Mélanie Delclos, Laurence Prevosto, . Département Cepia. Recherches et Innovations pour l'Aliment et les Bioproduits. 2017, 44 p. 10.15454/1.508483782951509E12 . hal-01886427

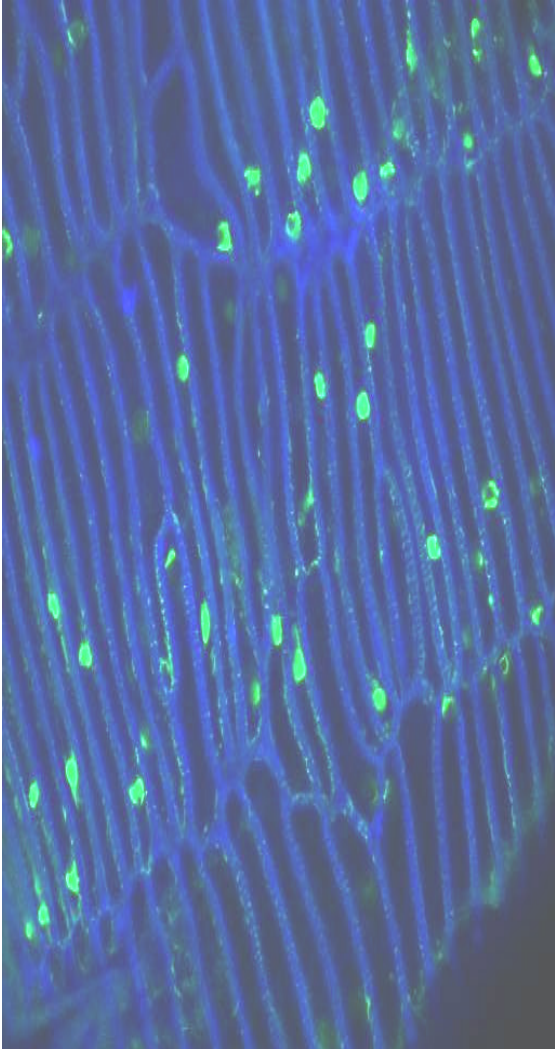
**HAL Id: hal-01886427**

**<https://hal.science/hal-01886427v1>**

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.



Département Caractérisation et Elaboration des Produits  
Issus de l'Agriculture  
*Division of Science for Food and Bioproduct Engineering*

RECHERCHES ET INNOVATIONS

*RESEARCH & INNOVATION*

POUR L'ALIMENT ET LES BIOPRODUITS - *FOR FOOD & BIOBASED PRODUCTS*



EDITION 2017

## **Recherches et innovations pour l'Aliment et les Bioproduits**

### ***Research & innovation for Food & Biobased Products***

Directeur de la publication/Editor: Michael O'Donohue, Chef de département/Head of division

Comité éditorial/Editorial committee: Cécile Barron, Rachel Boutrou, Sylvie Clerjon, Paul-Henri Ducrot, Pascale Manchado-Sarni, Jean-François Maingonnat, Gabriel Paës, Laurence Prévosto, Olivier Tranquet, Olivier Vitrac, Catherine Garnier

Conception et Réalisation/Design: Mélanie Delclos et Laurence Prévosto

### **Institut National de la Recherche Agronomique**

Département CEPIA B.P. 71627 44316 Nantes Cedex 03

Tél. +33 (0)2 40 67 51 45

[cepia-dpt@inra.fr](mailto:cepia-dpt@inra.fr)

© INRA

Illustrations/Gallery: Photothèque INRA ou mentions contraires, INRA Gallery or other indications

Photo de couverture/Frontpage picture : Fotolia, Photothèque INRA



Le département en quelques chiffres	<b>4</b>	<i>The CEPIA division in a few figures</i>
Editorial	<b>5</b>	<i>Editorial</i>
Caractérisation de la matière pour transformer et sécuriser les produits et aliments	<b>6</b>	<i>Characterizing materials for improved processing and food and bioproduct security</i>
Fonctionnalité des produits	<b>14</b>	<i>From functionalities to smart products</i>
Des Enzymes dans tous les sens	<b>21</b>	<i>Enzymes everywhere</i>
Traiter et modéliser nos données et résultats	<b>28</b>	<i>Data processing and modeling</i>
Des procédés de transformation plus efficaces	<b>34</b>	<i>More efficient processes</i>
Nos Domaines d'Innovation	<b>41</b>	<i>Our innovation areas</i>
Nos infrastructures scientifiques collectives	<b>42</b>	<i>Our collective scientific facilities</i>
Nos autres dispositifs de collaboration	<b>43</b>	<i>Our other collaboration initiatives</i>
Contacter nos unités de recherche	<b>44</b>	<i>Contact our research units</i>



Le département CEPIA - Caractérisation et Elaboration des Produits Issus de l'Agriculture - est l'un des 13 départements de recherche de l'Institut National de la Recherche Agronomique - INRA. Les recherches concernent les produits alimentaires et les bioproduits issus des productions agricoles (biocarburants, biomolécules, matériaux).



*The division for Science and Process Engineering of Agricultural Products (CEPIA) is one of the 13 research scientific divisions of the National Institute for Agricultural Research (INRA). CEPIA's research pertains to the sectors of food and bioproducts (biofuels, materials, biomolecules).*

**Organisation :** 22 unités dont 17 Unités Mixtes de Recherche (UMR) ou Unités sous Contrat (USC) en partenariat avec des laboratoires universitaires, des écoles du ministère de l'agriculture, des instituts de recherche comme le CNRS et le CIRAD. Un dispositif de 14 sites technologiques pour les expérimentations à l'échelle pilote dans les secteurs du lait, des céréales, de la vigne et du vin et de la chimie des lipides, ou pour les besoins analytiques dans le domaine des biopolymères, des polyphénols, du criblage d'enzymes, des molécules aromatiques, des lipides, de l'analyse sensorielle et de l'imagerie de systèmes biologiques.

**Effectifs :** 500 agents dont 270 chercheurs et ingénieurs INRA et près de 200 enseignants-chercheurs des organismes associés.

**Budget :** une dotation de l'Etat d'environ 3 M€, à laquelle s'ajoute le financement des salaires des personnels de l'INRA pour 37 M€.

*Organization: 22 research units, of which 17 are under joint management with partner organizations such as universities, national agricultural schools (Ministry of Agriculture), or research institutes (e.g. CNRS and CIRAD). 14 facilities possess experimental platforms, such as: pilot scale facilities for dairy processes, wine production, cereal technologies, and analytical tools for the characterization of biopolymers, polyphenols, for enzyme screening, aroma and lipid analysis, sensory image analysis and imaging of biological systems.*

*Staff: 500, including 270 INRA researchers and engineers and about 200 teacher-researchers from partner establishments.*

*Resources: INRA State fundings: approximately 40M€.*

[www.cepia.inra.fr](http://www.cepia.inra.fr)



Assurer la sécurité alimentaire mondiale dans des conditions de transitions et de changements globaux constitue un défi majeur pour l'INRA. Dans un contexte complexe où se rencontrent les enjeux liés au changement climatique, la nécessité de développer des systèmes alimentaires sains et durables, et l'émergence de la bioéconomie, notre département de Sciences pour l'Ingénierie des Aliments et des Bioproduits porte la responsabilité de favoriser l'élaboration de produits finalisés multi-performants.

Pour progresser vers cette ambition, notre feuille de route stratégique pour la période 2016-2020 propose de relever deux défis :

- Concevoir de façon raisonnée la qualité des aliments et des bioproduits
- Développer des procédés efficaces pour des produits durables

Notre premier défi consiste à acquérir les connaissances et à générer les concepts nécessaires à l'élaboration de produits de qualité dotés de fonctionnalités diverses. Ainsi, nous travaillons à la conception d'aliments qui soient à la fois de bonne qualité nutritionnelle et sensorielle et de haute qualité environnementale. Pour les bioproduits non-alimentaires, nous souhaitons satisfaire les besoins en fonctionnalités principales tout en garantissant la sécurité et l'innocuité environnementale. Ces nouvelles notions de qualité nous conduisent à considérer les produits sur l'ensemble de leur cycle de vie, de leur élaboration jusqu'à leur usage en allant, le cas échéant, jusqu'à leur destruction ou leur recyclage.

Notre deuxième défi est d'appréhender les mécanismes qui régissent les différentes phases jalonnant les itinéraires de fabrication des produits. Nous aspirons à progresser vers la modélisation et la simulation de processus, à améliorer les opérations unitaires existantes, et à concevoir de nouvelles opérations éco-efficaces. Enfin, pour comprendre les interactions au sein du système et en améliorer la durabilité, nous proposons d'étudier le fonctionnement des procédés au sein d'un système bioéconomique. Pour ce faire nous mobilisons, à une échelle pertinente qui est celle du territoire, nos compétences en génie des procédés, en ingénierie de connaissances, et en modélisation multi-échelle et multicritère.

La pleine réalisation de ces ambitions est encore à venir. Cette édition 2017 de notre rapport annuel « Recherches et Innovations » vous offre un aperçu de notre démarche et illustre la façon dont nos chercheurs et ingénieurs se sont emparés de ces ambitions. Cette édition a également pour objectif de mettre en lumière la qualité et la diversité de notre partenariat et de réaffirmer la forte volonté de l'INRA de poursuivre son ouverture vers des partenaires académiques, socio-économiques et publics (#OpenInra).

Bonne lecture à tous !

*At a time of global change, INRA's overarching goal is to contribute to world food security. To achieve this, it is necessary to operate within a complex framework in which climate change, the need for healthy and sustainable food systems, and the transition to a bioeconomy all need to be considered. Therefore, the "Science for Food and Bioproducts Engineering" (CEPIA)*

*Division focuses its efforts on the development of high performance products that satisfy multiple quality criteria.*

*From an operational perspective, to achieve this goal the CEPIA Division has built its 2016-2020 strategic roadmap to address two key challenges*

- *the rational design of food and bioproduct quality*
- *the development of eco-efficient processes for sustainable product manufacture*

*The first challenge focuses on building the knowledge base and concepts required to understand and create quality in products. For food products, this involves learning how to design foods that display high nutritional value, sensorial quality, and environmental sustainability. In the case of non-food bioproducts, it involves deducing how to reach technical specifications, while guaranteeing safety and environmental innocuity. To account for these more complex notions of quality it is necessary to consider products over their whole life cycle, from cradle to grave or in some cases from cradle to cradle, taking into account recycling.*

*CEPIA's second challenge focuses on the use of mechanistic knowledge that characterizes discreet steps in product processing and manufacturing itineraries. Through its use we aim to model processes, perform simulations, improve existing unit operations, and design eco-efficient processes. Lastly, since food and bioproduct manufacturing processes form part of bioeconomy value chains, we aim to better understand these and thus contribute to overall sustainability through process optimization. To implement this approach, we intend to mobilize our skills and knowledge in the fields of applied mathematics, knowledge engineering and multi-scale multi-criteria analyses to study bioeconomic systems at the territorial scale.*

*Obviously, the implementation of our current 2016-2020 roadmap is far from completion. However, the 2017 edition of our Research and Innovations Report provides you with insight into our strategic approach. The examples herein illustrate the way in which our scientists and engineers are working to achieve our ambitions, and exemplify the quality and diversity of our R&D partnerships. Indeed, through these examples we hope to reaffirm INRA's desire to pursue the development of strategic partnerships with academia, public stakeholders and enterprises (#OpenInra).*

*Enjoy reading !*

***Caractérisation  
de la matière  
pour  
transformer  
et sécuriser  
les produits et  
aliments***

***Characterizing  
materials for  
improved  
processing  
and food and  
bioproduct  
security***

## Les peptides: un levier pour modifier les techno-fonctionnalités des matrices laitières



## Peptides: a lever to change the techno-functionalities of dairy matrices

Les protéines sont à la base de la structuration et des propriétés de texture des aliments. Les peptides produits à partir de ces protéines constituent quant à eux un facteur secondaire de ces propriétés. Lors de la fabrication de fromages, il a été établi que la production de peptides varie selon le type d'enzymes protéolytiques présentes. Nous avons donc recherché quels types de peptides pouvaient être impliqués dans les changements de texture.

Nous avons réalisé une étude *in silico* sur des jeux de données « peptides » acquis sur les fromages afin de sélectionner les peptides d'intérêt issus des caséines plus particulièrement impliqués dans les propriétés fonctionnelles des fromages. Avec deux enzymes, la trypsine et l'endopeptidase Glu-C, nous avons produit des peptides ayant les mêmes caractéristiques physico-chimiques d'intérêt. Nous les avons réincorporés dans différentes matrices présentant des concentrations totales en protéines et des proportions de peptides variables. Des matrices laitières neutres ou acides de texture "liquide" à "gel très visqueux" ont ainsi été obtenues.

Nous avons établi des liens entre les peptides possédant des caractéristiques spécifiques (taille, charge et/ou hydrophobie), susceptibles d'interagir avec la matrice caséinique et d'en modifier les propriétés de structuration et de texturation. Nous avons montré que ces propriétés dépendent

- du type de peptides produits,
- de leur proportion dans l'hydrolysate et dans les matrices,
- de la concentration totale en protéines des matrices laitières,
- des conditions physico-chimiques de formation des gels.

Enfin, nous avons validé dans des fromages modèles de type pâte pressée non cuite l'impact durable de ces peptides sur la texture.

Nos résultats offrent de nouvelles pistes pour préparer des matrices laitières aux propriétés techno-fonctionnelles spécifiques en adaptant les fabrications traditionnelles ou en créant de nouveaux ingrédients. Il devient possible (i) de multifonctionnaliser les matrices avec des peptides afin d'obtenir des modifications de texture et de nouvelles bioactivités; (ii) de mettre en œuvre *in situ* des hydrolyses soit par ajout d'enzymes exogènes spécifiques soit par utilisation de bactéries possédant des équipements enzymatiques particuliers; (iii) de produire des ingrédients à base d'hydrolysats caséiniques avec des fonctionnalités modifiées.

*Proteins are major determinants of the structural and textural properties of food, whereas the production of peptides derived from these proteins is often seen as a secondary factor. During cheese making, it is known that the production of peptides is closely linked to the type of proteolytic enzymes present. In recent work, we have investigated the relationship between peptide type and textural properties.*

*We performed an in silico study on a "peptide" dataset previously obtained from cheeses in order to select casein-derived peptides that are major cheese texture determinants. Peptides with the corresponding physico-chemical characteristics were produced using two enzymes, trypsin and the endopeptidase Glu-C. They were reincorporated into casein matrices that varied in terms of their total protein concentration and the proportion of peptides within the matrices, in order to scan a range of dairy matrices, from liquid to highly viscous gels, under neutral and acidic conditions.*

*We thus established relationships between peptides with specific characteristics (size, charge and/or hydrophobicity) able to interact with the casein matrix and to change its structural and textural properties. We showed that these properties depended on:*

- *The type of peptides produced;*
- *Their proportion in both the hydrolysates and the casein matrices;*
- *The total concentration of proteins within the matrices; and*
- *The physico-chemical conditions of the formation of the gels*

*Finally, we validated the lasting impact of these peptides on cheese texture in semi-hard model cheeses.*

*Our results pave the way for preparing dairy matrices with specific techno-functional properties by adapting traditional manufacturing processes or by creating new ingredients, as examples: (i) multi-functionalising matrices with peptides in order to induce changes in texture, as well as providing attractive health bioactivities; (ii) conducting in situ hydrolyses either by adding specific exogenous enzymes or by using bacteria with specific enzymatic equipment; and (iii) producing ingredients made of casein hydrolysates with modified functionalities.*

**Partenaires/Partnership:** Plateforme d'imagerie microscopique, Université de Rennes; Laboratoire de Mathématiques Appliquées AgroCampus Ouest Rennes; Actalia Produits Laitiers, Rennes.

**Contact:** [valerie.gagnaire@inra.fr](mailto:valerie.gagnaire@inra.fr) INRA - AgroCampus Ouest Rennes SCIENCE ET TECHNOLOGIE DU LAIT ET DE L'ŒUF (UMR STLO)/ SCIENCE & TECHNOLOGY OF MILK & EGG

**En savoir plus/Read more:** Lacou, L., Lê, S., Pezennec, S., Gagnaire, V. (2015). An *in silico* approach to highlight relationships between a techno-functional property of a dairy matrix and a peptide profile. *Colloids and Surfaces A Physicochemical and Engineering Aspects*, 475, 44-54. DOI : 10.1016/j.colsurfa.2014.10.052

Lacou, L., Léonil, J., Gagnaire, V. (2016). Functional properties of peptides: From single peptide solutions to a mixture of peptides in food products. *Food Hydrocolloids*, 57, 187-199. DOI : 10.1016/j.foodhyd.2016.01.028



## Comment et pourquoi introduire le décor p-coumarique des lignines de graminées dans les lignines d'autres plantes.

Les lignines sont des polymères indispensables au soutien et à la défense des plantes mais elles gênent les fractionnements industriels des biomasses lignocellulosiques tels que la production de pâte à papier ou la conversion de la cellulose en éthanol. La sélection de plantes moins lignifiées est souvent pénalisée par une biomasse réduite. Nos recherches consistent à agir sur la structure des lignines pour faciliter leur élimination industrielle.

Les lignines de graminées (monocotylédones) ont la particularité unique d'être décorées par des esters p-coumariques (jusqu'à 20% en poids). Ce décor étrange est ajouté aux monolignols, molécules précurseurs des lignines, par une enzyme de type acyltransférase, la p-coumaroyl monolignol transférase (PMT). Nous avons cherché à rendre des lignines de dicotylédones autant p-coumaroylées que les lignines de graminées avec l'objectif d'éclaircir l'impact de cette p-coumaroylation sur les propriétés des lignines.

Pour la première fois, la structure unique des lignines de graminées a été reproduite chez une autre angiosperme (plante modèle *Arabidopsis*) grâce à l'introduction d'un gène de graminée codant pour l'enzyme PMT. Les plantes transformées, obtenues jusqu'à la troisième génération dans plusieurs fonds génétiques et à l'aide de deux constructions différentes, présentent systématiquement des tiges moins lignifiées (jusqu'à moins 30%) sans pour autant avoir de problèmes de croissance. Leurs lignines possèdent les propriétés remarquables des lignines de graminées : un taux élevé d'acide p-coumarique et une grande richesse en groupes phénoliques libres, richesse qui rend ces lignines faciles à éliminer en milieu alcalin et à température ambiante. Ainsi, la p-coumaroylation des lignines a permis de produire des plantes faciles à délignifier en conditions douces sans altérer leur croissance.

Ce résultat pourrait rendre les lignines de non graminées aussi sensibles que celles de graminées aux traitements alcalins associés aux bioraffineries des lignocelluloses. Cette stratégie pourrait être testée sur des conifères aux lignines particulièrement résistantes.



## Making non-grass lignins as p-coumaroylated as grass lignins: how and why.

*Lignins are abundant cell wall polymers that play a key role in plant support and defence. However, they detrimentally affect the industrial fractionation of lignocellulosic biomass, including pulp and paper production, and the cellulose-to-ethanol conversion process. Selecting plants with lower lignin levels is often penalised by reduced biomass yield. We research ways to monitor the variable structure of lignins in order to facilitate their industrial removal.*

*Grass lignins have the unique specificity of being decorated with p-coumaric esters (up to 20% by weight). This strange decoration is made on monolignols, lignin monomeric precursors, by a p-coumaroyl monolignol transferase (PMT). In this study, we attempted to make non-grass lignins as p-coumaroylated as grass lignins in order to evaluate the impact of p-coumaroylation on lignin structure and properties.*

*For the first time, the remarkable peculiarities of grass lignins have been reproduced in the lignins of a non-grass plant model (*Arabidopsis thaliana*) by introducing the grass gene encoding for the PMT enzyme. The transformed plants, obtained up to the third generation in several genetic backgrounds and with two different constructs, systematically display substantially lower lignin levels (up to 30% less lignins in mature stems) without any visible impact on plant growth. Their stem lignins have the unique specificities of grass lignins: they are decorated with p-coumaric esters up to the grass level and they display a high frequency of free phenolic groups, an outstanding structural feature that makes lignins freely soluble in alkali and at room temperature. The p-coumaroylation of dicot lignins up to the grass level allowed the production of plants more easily delignified in mild conditions, without any visible yield penalty.*

*This study paves the way for redesigning the structure of non-grass lignins and makes them highly susceptible to the alkaline treatments that are used in lignocellulosic biomass biorefineries. Such a novel strategy might be particularly efficient on coniferous biomass with lignins that are highly resistant.*

### Partenaires/Partnership:

Hugues Renault, Institute of Plant Molecular Biology, Centre National de la Recherche Scientifique-University of Strasbourg, 67084 Strasbourg.

### Contacts:

[catherine.lapierre@inra.fr](mailto:catherine.lapierre@inra.fr), [richard.sibout@inra.fr](mailto:richard.sibout@inra.fr); INSTITUT JEAN-PIERRE BOURGIN (UMR IPB) INRA – AgroParisTech

### En savoir plus/read more:

Structural redesigning *Arabidopsis* lignins into alkali-soluble lignins through the expression of p-coumaroyl-CoA : monolignol transferase PMT. R. Sibout, Ph. Le Bris, F. Legée, L. Cézard, H. Renault and C. Lapierre. *Plant Physiol*, (2016), 170, 1358-1366. Doi/10.1104/pp.15.01877

## Vers une conception raisonnée des produits céréaliers cuits : mise au point d'une méthode de quantification simultanée du furane et du furfural

Au cours des procédés de transformation à haute température comme la cuisson, un nombre considérable de composés peut se former dans les produits céréaliers. Certains jouent un rôle sensoriel important mais d'autres suscitent une préoccupation sanitaire, d'autant plus ces aliments sont très largement consommés à tout âge. Parmi les composés indésirables se trouve le furane, potentiellement cancérigène. Il se forme par des voies réactionnelles communes à d'autres néoformés, qui sont eux indicateurs de la qualité sensorielle, comme par exemple le furfural, un composé odorant aux notes de caramel.

Comprendre leur génération simultanée et connaître leur concentration dans les aliments est indispensable pour développer des stratégies de réduction/élimination du furane, sans pour autant entraîner une dégradation du profil aromatique. Ceci est l'un des défis de la chimie alimentaire d'aujourd'hui: proposer des voies nouvelles et globales d'amélioration des produits, en prenant en compte la réactivité de leurs constituants par une approche *ab initio*.

Nous avons pour la première fois développé une méthode de quantification simultanée du furane et furfural dans un produit céréalier de large consommation (type cake). Pour y parvenir, nous avons d'abord utilisé des outils chimiométriques afin de (i) déterminer les effets des variables instrumentales et de préparation sur l'extraction du furane et furfural par headspace trap (ou HS trap), et ensuite (ii) optimiser les conditions de mise en œuvre, en tenant compte des deux composés. L'analyse quantitative simultanée de ces composés furaniques est un défi car ils se trouvent à des concentrations faibles (ppm, ppb) et ont des propriétés physicochimiques différentes, le furane étant notamment très volatil ( $T_{eb}$  de 31°C).

La méthode quantitative HS trap / GC-MS validée par la suite est performante, sensible et précise et a été appliquée à d'autres matrices céréaliers alvéolées (teneurs en humidité et en matière grasse variables) présentant différents niveaux de concentration en furane et furfural. Son application dans une démarche de conception raisonnée des aliments permettra (i) de mieux comprendre l'effet des conditions de cuisson et des ingrédients sur la formation des composés furaniques et, à terme, (ii) d'ouvrir des pistes pour développer des stratégies efficaces de maîtrise de la qualité sanitaire du produit tout en préservant sa qualité sensorielle. Cette stratégie est transférable à d'autres types de problématiques, notamment celles liées à des composés néoformés.



## Towards the quality design of baked goods: development of a method for the simultaneous quantification of furan and furfural

A broad range of compounds are formed during the thermal processing of food, such as the baking of cereal products. Some of these compounds are sensory-related while others are of concern to health since baked goods are highly consumed among the population, regardless of age. Furan is among the negative health-related compounds because of its possible carcinogenicity. Its formation is due to reaction pathways that are common to other process-induced compounds that play a role in sensory quality, including furfural, an aroma compound that contributes to caramel notes. Understanding their simultaneous formation as well as determining their concentration in food is essential for developing furan mitigation strategies and preserving the overall aroma profile. A current challenge in food chemistry is the proposal of holistic solutions for the development of safe yet appealing foods by considering food reactivity *ab initio*.

For the first time, we have developed a quantification method for furan and furfural in highly consumed cake-type baked goods. In order to accomplish this, we applied chemometric tools to: (1) determine the instrumental and preparation factors influencing furan and furfural extraction by headspace trap (HS trap); and (2) optimise the operating conditions, considering both compounds. The simultaneous determination of furan and furfural is challenging since they are found at trace levels (ppm, ppb) and have different physicochemical properties. Furan is, in fact, quite volatile ( $T_{b,p}$  of 31°C).

The optimised HS trap/GC-MS method, which was later validated, is reliable, sensitive and precise, and was successfully applied to cakes with different properties (humidity and fat content) and furan and furfural levels. Its application in the context of a formulation engineering approach will make it possible to better understand the effects of ingredients and baking conditions on the formation of furanic compounds in cake-type products. This will, in turn, be essential for developing food safety strategies while preserving the aroma quality of the product. The optimisation strategy used here can be readily transferable to other phenomena, including those related to process-induced compounds.

### Partenaires/Partnership:

Bourse du Conseil National de Science et Technologie du Mexique (CONACYT)

### Contacts:

[barbara.rega@agroparistech.fr](mailto:barbara.rega@agroparistech.fr) INGÉNIERIE PROCÉDÉS ALIMENTS (UMR GENIAL)/FOOD PROCESS AND ENGINEERING - AgroParisTech - INRA; [valerie.camel@agroparistech.fr](mailto:valerie.camel@agroparistech.fr)

### En savoir plus/read more:

Cepeda-Vázquez, M., Blumenthal, D., Camel, V., Rega, B., *Talanta* 164 (2017) 708-715. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.10.073>





## Mesurer la teneur en oxygène solubilisé dans les huiles alimentaires

La quantité d'oxygène ( $O_2$ ) dissous dans les huiles est un facteur majeur qui affecte l'étendue des réactions d'oxydation des acides gras poly-insaturés (AGPI). Peu de données sont pourtant disponibles dans la littérature pour les milieux non polaires tels que les huiles végétales. On peut calculer la concentration en  $O_2$  dissous dans un liquide en mesurant la pression partielle en  $O_2$  ( $PO_2$ ) et en la convertissant à l'aide de la constante de la loi de Henry pour ce liquide. Cette constante est connue pour l'eau (Table de Winkler) mais pas pour les huiles.

Le but de ce travail était donc de développer une méthodologie expérimentale permettant de déterminer les valeurs de la constante de Henry pour l' $O_2$  dans des liquides apolaires. Cette méthodologie reposant sur une mesure de  $PO_2$  dans un flacon fermé, nous avons utilisé une technique récente non invasive basée sur la mesure de fluorescence de sondes collées à l'intérieur du flacon. La mesure s'effectue à l'aide d'une fibre optique à travers la paroi.

La méthode repose sur l'équation de conservation, à température constante, du nombre de molécules d' $O_2$  dans un flacon fermé contenant initialement un liquide en anoxie et un espace de tête d'air. La constante de Henry est calculée à partir des mesures de  $PO_2$  en phases liquide et gazeuse à l'équilibre. La méthode, d'abord validée sur l'eau entre 5 à 50 °C par rapport aux données de Winkler, a ensuite été appliquée à des milieux apolaires non oxydables (dodécane, Miglyol) et à des huiles végétales. Dans l'huile de tournesol, nous avons pris la précaution de vérifier que la mesure n'était pas perturbée par une éventuelle oxydation des AGPI qui induirait la consommation d'oxygène et donc un biais dans le calcul de la constante de Henry.

L'huile de tournesol solubilise plus d' $O_2$  à basse température qu'à une température plus élevée. La valeur de solubilité de l' $O_2$  dans l'huile de tournesol est intermédiaire entre celles de l'eau et du dodécane. Ainsi, l'huile de tournesol peut solubiliser 4 à 5 fois plus d' $O_2$  que l'eau, quelles que soient les températures entre 5 et 50 °C.

Cette méthode permet de quantifier l' $O_2$  dissous en fonction de la température dans tous les types de liquides. Il sera possible d'étendre le travail aux milieux complexes et de mesurer la consommation d' $O_2$  par oxydation pendant le stockage. Des paramètres cruciaux pour modéliser les réactions d'oxydation pourront alors être obtenus.

## Oxygen solubility measured in different liquids (water, sunflower oil, Miglyol, dodecane) as a function of temperature.

*The amount of oxygen ( $O$ ) dissolved in oils largely determines the extent to which are oxidized polyunsaturated fatty acids (PUFA). Little data is available in the literature about non-polar media such as vegetable oils. The concentration of  $O_2$  dissolved in a liquid can be calculated by measuring the  $O_2$  partial pressure ( $PO_2$ ) and converting it to Henry's law's constant for this liquid. This constant is known for water (Winkler's table) but not for oils.*

*The aim of this work was to develop an experimental methodology for determining the values of Henry's constant for  $O_2$  in nonpolar liquids. This methodology is based on a measurement of  $PO_2$  in a closed bottle. We used a new non-invasive technique based on the fluorescence measurement of probes attached to the inside of a bottle and using an optical fibre to make measurements through the wall.*

*This method relies on the conservation equation, at constant temperature, of the number of  $O_2$  molecules in a closed bottle initially containing an anoxic liquid and an air head space. Henry's constant is calculated from measurements of  $PO_2$  in liquid and gas phases at equilibrium. The methodology was first validated on water between 5 to 50°C by comparison with the Winkler data, and then applied to non-oxidisable apolar media (dodecane, Miglyol) and vegetable oils. In the case of sunflower oil, we took the precaution of checking that the measurement was not disturbed by a possible oxidation of the PUFAs, which would induce the consumption of oxygen and, therefore, a bias in the calculation of Henry's constant. Sunflower oil solubilises more  $O_2$  at lower temperatures than at higher temperatures. The solubility of  $O_2$  in sunflower oil is intermediate between those of water and dodecane. Thus, sunflower oil can solubilise four to five times more  $O_2$  than water for temperatures between 5 and 50°C.*

*This method makes it possible to quantify dissolved  $O_2$  in all types of liquids as a function of temperature. It will be possible to extend this research to complex media and to measure  $O_2$  consumption by oxidation during storage in order to obtain crucial parameters for modelling the oxidation reactions.*

### Contact:

[marie-elisabeth.cuvelier@agroparistech.fr](mailto:marie-elisabeth.cuvelier@agroparistech.fr), INGÉNIERIE PROCÉDÉS ALIMENTS (UMR GENIAL)/FOOD PROCESS AND ENGINEERING - AgroParisTech - INRA

### En savoir plus/read more:

Oxygen solubility measured in aqueous or oily media by a method using a non-invasive sensor. CUVELIER M.E., SOTO P., COURTOIS F., BROYART B., BONAZZI C. - Food Control, (2016). <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.11.008>

## L'oxydation de l'huile en cours de friture : un mécanisme enfin contrôlable pour des produits frits plus sains

Le procédé de friture, opération essentielle de cuisson et stabilisation des aliments, est souvent décrié. Le chauffage de l'huile à haute température au contact de l'air est en effet responsable de l'auto-oxydation de l'huile et de l'apparition de composés toxiques. Le mécanisme d'oxydation est particulièrement complexe, car il met en œuvre une réaction radicalaire en chaîne pour laquelle la durée de vie des intermédiaires réactionnels varie de la microseconde à la seconde. En réutilisant les concepts de transporteurs de valence libre utilisés dans le domaine des polymères fondus, nous avons réussi à séparer la contribution du transport de l'oxygène du mécanisme de propagation radicalaire. Les constantes de réactions, indépendantes des conditions expérimentales, ont pu être déterminées dans un réacteur à bulles et agrégées dans un modèle prédictif. Le modèle permet d'unifier l'ensemble des données de la littérature (géométrie de friteuse, température, pression partielle en oxygène...) et d'identifier des leviers pour réduire l'oxydation de l'huile.

Le réacteur à bulles a permis d'obtenir des vitesses de réaction indépendantes de la cinétique de dissolution de l'oxygène. Elles sont trois à cinq fois supérieures à celles publiées précédemment pour des températures similaires. Les relations mathématiques entre l'apparition des composés primaires et secondaires d'oxydation et les conditions opératoires (température, pression partielle en oxygène, surface en contact avec l'air, hauteur d'huile, coefficient de transfert...) ont été établies et validées pour des niveaux d'oxydation correspondant à des taux de composés polaires de 5 à 45 % (seuil réglementaire 25 %). Il a été montré par ailleurs que la majorité des produits d'hydrolyse résultait plus de la suroxydation de l'huile que de l'action propre de la vapeur. Le modèle couvre l'ensemble du domaine utile pour les industriels de la friture (procédés continus, procédés batchs des fast-foods et applications domestiques).



## Oil oxidation during deep-frying: a mechanism finally controllable for healthier fried food products

*The frying process is often criticized but remains an essential operation for the cooking and stabilisation of food. Heating oil to high temperatures and exposing oil to air lead to the auto-oxidation of oil and the formation of toxic compounds. The oxidation mechanism is particularly complex because it involves a radical chain reaction for which the lifetime of reactional intermediates varies from microseconds to seconds. By reusing the concepts of free valence carriers used in the field of molten polymers, we succeeded in separating the contribution of oxygen transport from the mechanism of radical propagation. The reaction rate constants were determined independently of experimental conditions in a bubble reactor and aggregated in a predictive model. The model made it possible to reconcile all of the data from the literature (geometry of the deep-fryer, temperature, partial oxygen pressure, etc.) and allowed us to identify significant drivers to reduce oil oxidation.*

*The bubble reactor made it possible to obtain reaction rates independent of the dissolution kinetics of oxygen. They were three to five times higher than the values previously published for similar temperatures. The mathematical relationships between the appearance of the primary and secondary oxidation products and the operating conditions (temperature, partial oxygen pressure, surface area in contact with the air, oil height, mass transfer coefficient, etc.) were established and validated for oxidation levels corresponding to polar compounds varying from 5 to 45% (regulatory threshold: 25%). It was also shown that the majority of hydrolysis products were produced by oxidation itself rather than by the action of steam during frying. The model covers the whole practical application area of industrial frying (continuous processes, batch processes in the fast-food and catering sectors and household applications).*

### Contact:

[olivier.vitrac@agroparistech.fr](mailto:olivier.vitrac@agroparistech.fr), INGÉNIERIE PROCÉDÉS ALIMENTS (UMR GENIAL)/FOOD PROCESS AND ENGINEERING - AgroParisTech – INRA

### En savoir plus/read more:

Patsioura A., Ziaifar A. M., Smith P., Menzel A., Vitrac O., Effects of oxygenation and process conditions on thermo-oxidation of oil during deep-frying, Food and Bioproducts Processing (2017),101, 84-99.

Les résultats sont utilisés dans le projet FUI Fry'In (2014-2018) : « des aliments frits moins riches en matières grasses » dans une logique de reconception des procédés domestiques de friture/ The results are used in the collaborative project Fry'In (2014-2018): "fried foods with reduced fat content", with the aim of redesigning deep-frying household processes.

<http://competitivite.gouv.fr/projets-en-cours-fui-investissements-d-avenir/fiche-projet-r-d-aide-355/fry-in-450.html?cHash=225af52c9e75495fe7c710dce1144db4>



## Caractérisation des mécanismes et des cinétiques de N-nitrosation et de nitrosylation en conditions gastro-intestinales

En 2010, les nitrites ont été classés « probablement cancérigènes pour l'homme » par le Centre International de Recherches sur le Cancer. Leur toxicité à long terme vient du fait qu'en présence d'amines secondaires, ils peuvent former des nitrosamines (N-nitrosation) ou réagir avec le fer de la myoglobine pour former du nitrosyl-hème (nitrosylation). Ces composés mutagènes sont impliqués dans les cancers digestifs. Ces réactions qui ont lieu lors de la transformation de la viande sont bien documentées mais peu de données existent lorsqu'il s'agit du phénomène endogène de digestion. Nous avons initié cette étude pour mieux comprendre ces réactions et trouver des solutions pour limiter leur impact.

La N-nitrosation et la nitrosylation ont été étudiées *in vitro* dans des conditions physicochimiques mimant le tractus digestif. La réaction tryptophane/nitrite a été choisie comme modèle d'étude de la production des nitrosamines et la réaction myoglobine/nitrite comme modèle d'étude de la nitrosylation du fer héminique.

- N-nitrosation : Nous avons montré une augmentation de la formation des nitrosamines avec l'augmentation de la teneur en nitrite et l'abaissement du pH (de 6,5 à 2). Le fer non héminique est un puissant catalyseur de la N-nitrosation. Avec une alimentation riche en fer, la N-nitrosation est efficace même à pH neutre, comme c'est le cas dans l'intestin. L'ajout d'antioxydants au modèle a révélé des résultats contradictoires, dépendants à la fois de la nature de l'antioxydant et du rapport [fer] / [antioxydant].

- Nitrosylation : nous avons montré que les deux états d'oxydation de la myoglobine ( $Fe^{2+}/Fe^{3+}$ ) pouvaient conduire, en présence de nitrite et en conditions mimant le tractus digestif, à la formation de nitrosyl-hème. L'efficacité de la nitrosylation dépend à la fois du pH et de l'état d'oxydation du pigment. L'ajout d'antioxydants au modèle a montré un effet protecteur vis-à-vis de la nitrosylation.

Nous allons maintenant poursuivre nos recherches sur digesteur instrumenté avec des milieux réactionnels plus représentatifs de vrais repas (mélange de produits carnés et de produits végétaux).

## N-nitrosation and nitrosylation mechanisms and kinetics in gastrointestinal conditions

*In 2010, the International Agency for Research on Cancer classified nitrites as "probably carcinogenic for humans". The long-term toxicity of nitrites arises from their reactions with secondary amines to form nitrosamines (N-nitrosation) or with myoglobin iron to form nitrosyl-heme (nitrosylation). Nitrosamines and nitrosyl-heme are mutagenic compounds involved in digestive cancers. N-nitrosation and nitrosylation that occur during meat processing are well documented but little data is available concerning these reactions during digestion (endogenous process).*

*This study was performed with the purpose of improving in order to improve our knowledge of endogenous N-nitrosation and nitrosylation and to offer solutions that could limit their impact.*

*Results: N-nitrosation and nitrosylation reactions were studied in vitro in physicochemical conditions that mimic the digestive tract. The tryptophan-nitrite reaction was chosen as a model for studying nitrosamine production, and the myoglobin-nitrite reaction was chosen as a model for studying heme iron nitrosylation.*

- N-nitrosation: We demonstrated that nitrosamine formation grew with increasing levels of nitrite and with decreasing pH (from 6.5 to 2). In the same study, we demonstrated that non-hemic iron was a powerful catalyst of N-nitrosation. In the case of a diet rich in iron, N-nitrosation is efficient even at neutral pH, as is the case in the intestine. The addition of antioxidants to the model led to conflicting results depending on the type of antioxidant and the ratio of [iron]/[antioxidant].

- Nitrosylation: Concerning nitrosylation, we demonstrated that the two oxidation states of myoglobin ( $Fe^{2+}/Fe^{3+}$ ) can react with nitrite to form nitrosyl-heme in conditions mimicking the digestive tract. The extent of nitrosylation was dependent on the pH and the pigment oxidation state. The addition of antioxidants to the model revealed a protective effect against nitrosylation.

*For future experiments, we plan to use an in vitro digestion insulator with a reactional medium that is more representative of actual meals (mixture of animal products and vegetables).*

### Partenaires/Partnership:

Financement du département CEPIA (ANS NITROSOTUB). La modélisation globale des phénomènes de N-nitrosation et de nitrosylation endogènes sera menée avec l'aide de l'équipe IT de l'unité QUALITE DES PRODUITS ANIMAUX (UR QUAPA)/ANIMAL PRODUCT QUALITY - INRA Site de Theix.

Contact: [philippe.gatellier@inra.fr](mailto:philippe.gatellier@inra.fr) ; QUALITE DES PRODUITS ANIMAUX (UR QUAPA)/ANIMAL PRODUCT QUALITY - INRA Site de Theix.

### En savoir plus/Read more:

De La Pomélie, D., Santé-Lhoutellier, V., Gatellier P. (2017). Mechanisms and kinetics of tryptophan N-nitrosation in a gastro-intestinal model. Food Chemistry, 218, 487-495.



## L'aggrégation des protéines lors d'un traitement thermique module leur capacité sensibilisante

Les allergies alimentaires affectent 5 % des adultes et 8 % des enfants et leur fréquence augmente. Les traitements thermiques subis par les aliments peuvent modifier la capacité déclenchante des allergènes et de nombreux enfants allergiques à l'œuf le tolèrent dans les gâteaux/biscuits. Dans cette étude, nous avons montré que la manière dont s'agrège l'ovalbumine (protéine majeure du blanc d'œuf) lors d'un chauffage module aussi sa capacité sensibilisante.

Le blanc d'œuf est consommé sous de nombreuses formes dont la capacité sensibilisante reste inconnue. L'ovalbumine constitue plus de 50 % des protéines du blanc d'œuf. Selon les conditions physico-chimiques, chauffer une solution d'ovalbumine conduit à la formation d'agrégats variés en taille et morphologie. Deux conditions opposées ont été retenues pour produire de petits ( $5-80 \times 10^9$  m) et de gros ( $3-300 \times 10^6$  m) agrégats d'ovalbumine. La capacité sensibilisante de ces deux types d'agrégats et celle de la protéine native ont été comparées à l'aide d'un modèle souris. Lors d'une provocation orale avec la protéine native, les souris sensibilisées avec la protéine native présentent des symptômes plus importants que celles sensibilisées avec les agrégats et les souris sensibilisées avec les petits agrégats présentent les symptômes les plus réduits. La réduction des symptômes allergiques a été associée au niveau sanguin à une diminution de la production des IgE spécifiques, marqueurs de la sensibilisation allergique, avec les petits agrégats et à une augmentation pour les deux types d'agrégats des marqueurs des réponses anti-allergiques de type Th1 (IgG<sub>2a</sub>). Ces trois formes d'ovalbumine présentent ainsi des capacités sensibilisantes différentes avec des répercussions sur le déclenchement d'une réaction allergique. Ces résultats illustrent comment un procédé, en affectant les structures moléculaires et supra-moléculaires, peut moduler l'allergénicité des protéines alimentaires.

Ce travail réalisé sur un modèle simplifié constitué de la protéine majeure du blanc d'œuf montre qu'il est possible de moduler sa capacité sensibilisante par son état d'agrégation. D'autres travaux sont nécessaires pour établir si une telle modulation affecte celle des autres allergènes du blanc d'œuf. A terme, les résultats permettraient de recommander les formes alimentaires les plus à même de limiter la sensibilisation allergique au blanc d'œuf.

## The way in which proteins aggregate when heated may change their sensitising potency

Food allergies affect 5% of adults and 8% of children and their frequency is increasing. Thermal treatments are known to alter the triggering ability of allergens and many egg-allergic children tolerate eggs in cakes/biscuits. In this study, we showed that the way in which ovalbumin (the major egg white protein) aggregates during heating also modulates its sensitising capacity.

Egg white is consumed in many forms whose sensitizing capacities are unknown. Ovalbumin constitutes more than 50% of the proteins in egg white. Depending on the physico-chemical conditions, heating ovalbumin leads to the formation of aggregates that vary in size and in morphology. Small ( $5-80 \times 10^9$  m) and large ( $3-300 \times 10^6$  m) ovalbumin aggregates were produced by heating the protein under opposite physico-chemical conditions to compare the sensitising capacity of these aggregates and that of the native protein using a mouse model.

When orally challenged with native ovalbumin, mice exhibited more severe symptoms when sensitised with the native protein than those sensitised with aggregates. Mice sensitised with the small aggregates exhibited the least severe symptoms. Reduction of the allergic symptoms was associated with a decreased production of specific IgE (markers of allergic sensitisation) with the small aggregates and an increase in markers of anti-allergic Th1 responses (IgG<sub>2a</sub>) with both aggregates. The three forms of ovalbumin thus exhibit different sensitising capacities with repercussions on the onset of an allergic reaction. These results illustrate how a process can modulate the allergenicity of dietary proteins by affecting molecular and supramolecular structures.

This work carried out on a simplified model made up of the major egg white protein shows that its sensitising capacity may be modulated according to its aggregation state. Further work is needed to establish whether such a modulation affects the sensitising potency of other egg white allergens. On the long term, those results would make it possible to limit the allergic sensitisation to egg in children by recommending certain types of food containing eggs over others.

**Partenaires/Partnership:** F. Nau INRA – AgroCampus Ouest Rennes SCIENCE ET TECHNOLOGIE DU LAIT ET DE L'ŒUF (UMR STLO)/SCIENCE & TECHNOLOGY OF MILK & EGG

**Contact:** [chantal.brossard@inra.fr](mailto:chantal.brossard@inra.fr) INRA Angers-Nantes BIOPOLYMERES, INTERACTIONS, ASSEMBLAGES (UR BIA)/BIOPOLYMERS, INTERACTIONS, ASSEMBLIES

**En savoir plus/Read more:** Claude, M., Lupi, R., Bouchaud, G., Bodinier, M., Brossard, C., & Denery-Papini, S. (2016). The thermal aggregation of ovalbumin as large particles decreases its allergenicity for egg allergic patients and in a murine model. *Food Chemistry*, 203, 136–144. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.054>

Claude, M., Bouchaud, G., Lupi, R., Castan, L., Tranquet, O., Denery-Papini, S., Bodinier, M. et Brossard, C. (2017). How proteins aggregate can reduce allergenicity: comparison of ovalbumins heated under opposite electrostatic conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 65 (18), 3693–3701 <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00676>





***Fonctionnalités  
des produits***

***From  
functionalities  
to smart  
products***

## Comment la température de cuisson de la viande affecte-t-elle la vitesse de digestion des protéines ?

Il a été montré que la vitesse de digestion des protéines alimentaires conditionne l'efficacité de leur assimilation. Chez les personnes âgées, c'est un facteur limitant pour stimuler l'anabolisme post prandial. La viande, par sa richesse en protéines et sa cinétique de digestion potentiellement élevée, est à privilégier pour lutter contre la sarcopénie. Or, la cuisson affecte notamment la macro et la microstructure des protéines de la viande et peu de données existent sur l'impact de ces traitements thermiques sur le potentiel nutritionnel.

Nous avons testé trois températures correspondant à des viandes bleues, à point et bien cuites (55, 70 et 90°C) et identifié la cinétique d'hydrolyse des protéines de la viande en fonction de leur localisation.

Les résultats ont mis en évidence l'effet de la cuisson de la viande sur la cinétique de digestion des protéines de la viande le long du tractus digestif. Nous avons établi une base de données complète de 1743 peptides obtenus à partir de 71 protéines de viande dans des conditions de cuisson différentes et quantifié chacun des peptides et protéines associés par spectrométrie de masse haute résolution « label free ». Le traitement thermique de la viande influence la digestion des protéines de la viande en fonction de leur localisation dans la cellule musculaire. Dans le tractus digestif, c'est au niveau de l'estomac que les protéines sarcoplasmiques sont plus hydrolysées lorsque la viande est cuite à basse température (55°C). En revanche, lorsque la viande est cuite à point ou bien cuite (70°C, 90°C), les protéines sarcoplasmiques sont moins dégradées dans le compartiment gastrique, probablement en raison de la dénaturation des protéines induite par la chaleur.

Ce travail souligne l'intérêt d'outils de peptidomique développés en spectrométrie de masse pour appréhender comment les protéines alimentaires sont digérées dans le tractus gastro-intestinal. Ces travaux vont permettre à terme de concevoir des aliments de structure *ad hoc* pour moduler la digestion dans le tractus gastro-intestinal en utilisant les process adaptés.

Les travaux se poursuivent en collaboration avec l'Unité de Nutrition Humaine et la faculté dentaire en intégrant la phase orale c'est-à-dire la mastication des viandes et en ciblant la population sénior. La base de données peptidomique publiée offre à la communauté internationale des informations qui peuvent être utilisées pour déterminer, par exemple, toute séquence bioactive possible en utilisant des outils *in silico*.



## How does meat cooking affect the speed of protein digestion?

*It has been shown that the speed of digestion of food proteins determines the efficiency of their assimilation. For the elderly, this is a limiting factor for the stimulation of post-prandial anabolism. Meat plays a central role to limit sarcopenia in the elderly thanks to its concentration of proteins and its potentially high digestion kinetics. However, cooking, particularly affects the macro and microstructure of meat proteins and little information is available about the impact of thermal treatments on nutritional potential.*

*We tested three temperatures corresponding to rare, medium rare and well-done meats (55, 70 and 90°C) and identified the hydrolysis kinetics of meat proteins according to their location.*

*We showed that meat cooking affects the kinetics of protein digestion throughout the digestive tract. We established a complete database of 1743 peptides obtained from 71 meat proteins under different cooking conditions and quantified each of the associated peptides and proteins using high-resolution mass spectrometry and the "label free" method. Meat cooking influences the digestion of meat proteins according to their location in the muscle cell. In the gastric compartment, sarcoplasmic proteins are more hydrolysed when the meat is cooked at low temperatures (55°C). On the other hand, when the meat is cooked medium rare or well done (70°C, 90°C), the sarcoplasmic proteins are less degraded in the gastric compartment, probably due to the heat-induced denaturation of proteins. This study also highlighted how peptidomic tools based on mass spectrometry analysis provide new insights into food proteins digested in the gastrointestinal tract. This study will eventually lead to the design of foods with an ad hoc structure to modulate digestion in the gastrointestinal tract using specific processes.*

*In the future, the oral phase, i.e., meat chewing, will be implemented in partnership with nutritionists and dentists, specifically targeting the senior population. In addition, the peptidomic database published here provides relevant information for the international community that can be used to determine, for example, all possible bioactive sequences using in silico tools.*

**Partenaires/Partnership:** Financement ANR Pronutral 09-ALIA-008-02

**Contact:** [veronique.sante-lhoutellier@inra.fr](mailto:veronique.sante-lhoutellier@inra.fr) et [thierry.sayd@inra.fr](mailto:thierry.sayd@inra.fr) QUALITE DES PRODUITS ANIMAUX (UR QUAPA) INRA Auvergne-Rhône-Alpes/ ANIMAL PRODUCT QUALITY

**En savoir plus/Read more:**

Sayd T., Chambon C. & Sante-Lhoutellier V. (2016) Quantification of peptides released during *in vitro* digestion of cooked meat. Food Chemistry, 197, 1311-1323



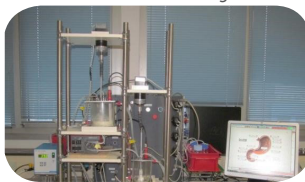
## Impact des traitements thermiques sur la digestion du lait maternel chez le nourrisson prématuré

Lorsque le lait de la mère n'est pas disponible, du lait humain de lactarium peut être administré après pasteurisation (62,5°C, 30 min) aux grands prématurés. Ce traitement, indispensable pour assurer la sécurité sanitaire, dénature les protéines bioactives comme les lipases endogènes qui, à l'état natif, contribuent à la digestion des lipides chez le nouveau-né. Ainsi, les enfants nourris au lait pasteurisé auraient une absorption lipidique et une croissance diminuées par rapport à ceux nourris au lait cru. A l'inverse, l'homogénéisation, en augmentant la surface spécifique des gouttelettes lipidiques, pourrait favoriser la lipolyse. Notre objectif était de connaître l'impact de ces deux traitements sur le comportement en digestion du lait maternel en termes structural et biochimique. Des approches *in vitro* (digesteur dynamique INRA DIDGI®) et *in vivo* (20 enfants prématurés; étude clinique approuvée éthiquement NCT02112331) ont été mises en œuvre. Le digesteur permet l'accès aux phases gastrique et intestinale, tandis que seule la phase gastrique est accessible *via* la sonde d'alimentation.

Nos travaux montrent que les traitements technologiques modifient la micro-structure du lait maternel, ces modifications se maintenant pendant la digestion. La pasteurisation n'impacte pas la lipolyse gastrique mais tend à la réduire en phase intestinale. A l'inverse, l'homogénéisation double le degré de lipolyse gastrique du lait pasteurisé. Concernant les protéines, seule la pasteurisation accélère la protéolyse gastrique de la lactoferrine.

La vitesse de vidange gastrique est identique pour les laits cru et pasteurisé mais ralentie pour le lait homogénéisé (temps de demi-vidange: 30 vs. 38 min, respectivement). Le pH gastrique postprandial évolue similairement pour tous les laits avec un pH moyen de 4,6 à 90 min de digestion. L'activité enzymatique des lipases dans les effluents gastriques tend à être plus élevée après ingestion de lait cru par rapport aux laits pasteurisé ou homogénéisé.

Les données de ces travaux sont cruciales pour une meilleure compréhension des conditions digestives infantiles et permettent d'améliorer les modèles de digestion *in vitro* correspondants. Nos résultats pourront aider à soutenir la prise en charge nutritionnelle délicate des nouveau-nés prématurés. L'homogénéisation pourrait être une stratégie pour améliorer la prise de poids chez les prématurés, ce qui reste à démontrer dans une étude interventionnelle de plus grande ampleur.



Crédit photo: Thierry Pasquet

## Human milk digestion in the preterm infant: impact of technological treatments

*When mother's milk is not available, human milk from a milk bank can be administered after pasteurisation (62.5°C, 30 min) to very low birth weight infants. This treatment, which ensures sanitary quality, denatures bioactive proteins such as endogenous lipases, who, in their native states, contribute to lipid digestion in infants. Infants fed pasteurised milk showed reduced fat absorption and growth compared to those fed raw milk. In contrast, homogenisation could improve lipolysis by increasing the specific surface of the fat droplets. Our objective was to evaluate the impact of technological treatments on the digestive behaviour of human milk in structural and biochemical terms, using either in vitro (dynamic digestion system of INRA, DIDGI®) or in vivo (20 preterm infants, ethically approved clinical trial, NCT02112331) approaches. While the in vitro approach allowed access to gastric and intestinal phases, only the gastric digestion step could be monitored in the preterm infants through their feeding tube.*

*Our work shows that technological treatments impact the microstructure of human milk, changes that are maintained during digestion. Pasteurisation does not impact gastric lipolysis but tends to reduce it in the intestinal phase. On the contrary, homogenisation doubles the degree of lipolysis of the pasteurised milk. Regarding proteins, only pasteurisation enhances gastric proteolysis of lactoferrin. The gastric emptying rate is similar between raw and pasteurised milks but reduced for homogenised milk (half-emptying time: 30 vs. 38 min, respectively). Postprandial gastric pH evolves similarly for all milks, with an average pH of 4.6 at 90 min of digestion. Enzymatic activity of lipases in gastric effluents tends to be higher after ingestion of raw milk compared to pasteurised and homogenised milks.*

*The present data is crucial in order to better understand the digestive conditions in infants, making it possible to improve the corresponding in vitro models. Our results provide essential knowledge for supporting the challenging decisions in clinical practices and nutritional interventions for preterm infants. Homogenisation could be a strategy for improving growth in preterm infants, although it still needs to be evaluated in a larger clinical trial.*

Digesteur dynamique DIDGI®/Dynamic digestion system DIDGI®

**Partenaires/Partnership:** CHU Rennes; EIPL CNRS Marseille; Institut de Physique de Rennes.

**Contact:** [didier.dupont@inra.fr](mailto:didier.dupont@inra.fr), [amelie.deglair@agrocampus-ouest.fr](mailto:amelie.deglair@agrocampus-ouest.fr) INRA – AgroCampus Ouest Rennes SCIENCE ET TECHNOLOGIE DU LAIT ET DE L'ŒUF (UMR STLO)/ SCIENCE & TECHNOLOGY OF MILK & EGG

**En savoir plus/Read more:**

Bourliou, C., O. Menard, K. Bouzerzour, G. Mandalari, A. Macierzanka, A. R. Mackie and D. Dupont (2014). Specificity of infant digestive conditions: some clues for developing relevant *in vitro* models. *Critical reviews in food science and nutrition* 54(11): 1427-1457. doi: 10.1080/10408398.2011.640757

De Oliveira, S., Bellanger, A., Ménard, O., Pladys, P., Le Gouar, Y., Dirson, E., Rousseau, Kroell, F., Dupont, D., Deglaire, A., Bourliou, C. (2017) Impact of pasteurization of human milk on gastric digestion in the preterm infant: a randomized controlled trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, 105, 379-90. doi: 10.3945/ajcn.116.142539

## Les secrets d'une baguette de pain savoureuse : Quand perception rime avec mastication et hydratation

Le pain français offre toute une palette de perceptions complexes, de texture, saveurs et arômes qui s'expriment au cours de la mastication. Elles sont difficiles à prédire et la façon dont elles évoluent en fonction de la structure et de la texture de la mie et de la croûte est inconnue.

Des pains ont été formulés à partir des mêmes matières premières et soumis à des dégustateurs, des structures de mies et de croûtes différentes ayant été obtenues en modulant les étapes de transformation. A partir des propriétés physicochimiques et sensorielles des produits et des bols issus de la mastication nous avons construit des modèles mathématiques et identifié des molécules d'arôme « traceur » qui ont été suivies *in vivo* afin de comprendre l'influence de la structure des pains et de leur déstructuration en bouche sur la libération des arômes et leur perception.

Les perceptions de texture « mou », « sec » et « pâteux », qui interviennent à différent temps du processus oral, sont plus influencées par les propriétés des bols que par les propriétés initiales des pains et peuvent être expliquées en partie par la structure de la mie et par sa capacité d'hydratation. Le facteur principal influant sur la libération des molécules d'arômes lors de la consommation de pain est la dilution du bol par la salive. La consommation de la croûte avec la mie contribue à la perception de notes « toasté » et « céréales torrifiées » liées aux molécules formées lors de la cuisson et libérées dès les premiers instants de la mastication. A l'inverse, la mie seule présente des notes aromatiques fermentaires liées à des molécules libérées plus lentement en bouche lors de l'hydratation de la mie.

Ainsi, si la structure de la mie pilote principalement les perceptions de textures *via* les propriétés des bols au cours du processus oral, elle, influence plus fortement les perceptions d'arôme. Ces perceptions sont des phénomènes multidimensionnels et dynamiques résultant à la fois de la structure initiale des pains et de leur déstructuration au cours du processus oral.

Ces connaissances sont utiles pour la conception de pains pour des populations spécifiques (difficultés masticatoires, sécheresse buccale) ou pour développer de nouveaux produits enrichis en fibres ou sans gluten.



## The secrets of a delicious French baguette: When perception rhymes with mastication and hydration

*Eating a French baguette offers complex texture and flavour perceptions expressed during eating. They are difficult to grasp and their dynamics, which depend on the structure of the crumb and crust are still not fully understood.*

*We presented a bread-tasting panel with breads that were obtained from the same raw materials but with different crust and crumb structures through modulation of the bread-making process. From the physicochemical and sensory properties of breads and boli at different steps of oral processing we designed mathematical models and identified "markers" for aroma molecules which was measured in *in vivo* conditions in order to understand the influence of the structure of the breads and their breakdown in the mouth on aroma release and perception.*

*Attributes of texture perceptions such as "soft", "dry" and "doughy" occur at different times of oral processing and are more influenced by the bolus properties than by the initial properties of the bread. The structure of the doughy part of the bread and its hydrating capacity are the main properties underlying this result. The main factor influencing the release of aroma molecules when eating bread is the dilution of the bolus by saliva.*

*The consumption of the crust with the doughy part of the bread contributes to the perception of "toasted" and "roasted cereal" notes linked to the molecules formed during cooking and released in the initial stages of mastication. On the contrary, the doughy part of the bread alone contains aromatic fermentative notes linked to molecules released more slowly in the mouth during hydration of the crumb.*

*Thus, if the structure of the doughy part of the bread mainly controls texture perceptions via the properties of the bolus during oral processing, the crust influences more actively the perceptions of aroma. These perceptions of texture and aroma are multidimensional and dynamic phenomena resulting from both the initial structure of the breads and their destructure during the oral process.*

*This knowledge could be useful for the design of breads for specific populations (masticatory difficulties, dry mouth) or by coupling sensory and nutritional properties for new products such as fibre-enriched or gluten-free breads.*

**S. Jourden a reçu pour ces travaux le Prix de thèse de la SFAS (Société Française d'Analyse Sensorielle) / S. Jourden awarded the « PhD Price » from the SFAS French society for sensorial analysis**

**Partenaires/Partnership:** Lesaffre International, CENTRE DES SCIENCES DU GOUT ET DE L'ALIMENTATION (UMR CSGA)/CENTRE FOR TASTE & FOOD SCIENCE CNRS-INRA - Université de Bourgogne; BIOPOLYMERES, INTERACTIONS, ASSEMBLAGES (UR BIA)/BIOPOLYMERS, INTERACTIONS, ASSEMBLIES INRA Angers-Nantes

**Contact:** [anne.saint-eve@inra.fr](mailto:anne.saint-eve@inra.fr), [isabelle.souchon@inra.fr](mailto:isabelle.souchon@inra.fr), GÉNIE ET MICROBIOLOGIE DES PROCÉDÉS ALIMENTAIRES (UMR GMPA)/FOOD PROCESS ENGINEERING & MICROBIOLOGY INRA, AgroParisTech

**En savoir plus/read more:** Jourden S., Saint-Eve A., Panouillé M., Lejeune P., Déléris I., Souchon I. (2016) Respective impact of bread structure and oral processing on dynamic texture perceptions through statistical multiblock analysis, *Food Research International*, 87, 142–151.

Jourden S., Saint-Eve A., Pollet B., Panouillé M., Lejeune P., Guichard E., Déléris I., Souchon I. (2017) Gaining deeper insight into aroma perception: An integrative study of the oral processing of breads with different structures, *Food Research International*, 92, 119–127

## Les trois dimensions de la perception du gras dans les fromages blancs : l'odeur, la saveur et la texture



Nous avons conduit une étude pour évaluer le poids respectif des différentes dimensions sensorielles (odeur, saveur, texture) dans la perception globale du gras dans les aliments et mettre en évidence les interactions perceptives entre ces différentes dimensions. Nous avons choisi le fromage blanc comme modèle avec une gamme étendue de teneur en matière grasse à 0, 1, 3, 8 et 11 %.

L'augmentation de la teneur en matière grasse influence des descripteurs aromatiques (renforcement de l'intensité de l'arôme crème), des descripteurs de saveurs (notamment diminution de l'amertume), des sensations trigéminales (diminution de l'astringence) et des descripteurs de texture (notamment augmentation du descripteur film gras résiduel en bouche qui augmente avec le pourcentage de matière grasse).

Nous avons mesuré les seuils de détection au gras, en référence à un fromage blanc à 0 %, et les seuils différentiels, en référence à un fromage blanc à 3 %. Les résultats ont montré que :

- la dimension olfactive contribue à la perception du gras dans le fromage blanc. La sensibilité des sujets est meilleure, en moyenne, lorsqu'ils disposent du sens olfactif pour détecter la présence de matière grasse ou pour discriminer deux teneurs en matière grasse.
- la dimension de texture participe à la perception de la matière grasse. La sensibilité des sujets est meilleure lorsque les produits sont servis à 15°C plutôt qu'à 7°C. Des différences de viscosité ont été mesurées entre les différents niveaux de matière grasse uniquement à la température de 15°C.
- Enfin, il est intéressant de noter que la détection de la matière grasse et la discrimination de deux teneurs en matière grasse dans le fromage blanc restent possibles même en l'absence d'indice olfactif et tactile (condition avec pince-nez et à 7°C). Ce résultat suggère que la matière grasse est perceptible au travers d'une dimension gustative et/ou trigéminal.

Les résultats pointent notamment pour la première fois l'effet de la température de consommation des produits et l'importance de la dimension olfactive. Ils ouvrent de nouvelles perspectives pour des études industrielles au travers de la compensation multimodale et suggèrent de nouveaux leviers pour reformuler des aliments à teneur réduite en matière grasse, tout en maintenant leur acceptabilité sensorielle.

## Fat perception in cottage cheeses involves three sensory dimensions: odour, taste and texture

*This study aimed at evaluating the respective impacts of different sensory dimensions (odour, taste and texture) on global fat perception in foods and at highlighting the perceptive interactions between these different dimensions. Cottage cheese with a wide range of fat contents (0, 1, 3, 8 and 11%) was chosen as a food model.*

*An increase in fat content influences aroma perception (increase in creaminess), taste perception (decrease in bitterness), trigeminal sensation (decrease in astringency) and texture (increase in the residual fatty film that remains in the mouth).*

*Detection (reference to cottage cheese with 0% fat) and difference (reference to cottage cheese with 3% fat) thresholds for fat were measured in different experimental conditions. Results show that:*

- *The olfactive dimension impacts fat perception in cottage cheese. Subjects are more sensitive when they use the olfactive dimension both for detection and difference thresholds.*
- *The texture dimension is also involved in fat perception. Subjects are more sensitive when products are tested at 15°C rather than 7°C. This was explained by differences in viscosity between products at 15°C only.*
- *However, subjects are also able to detect fat in cottage cheeses without olfactive and texture sensations (condition with nose-clip and at 7°C). This result suggests that fat could also be detected through the taste or trigeminal dimensions.*

*The results obtained within the project allow a better understanding in the mechanisms of fat perception. For the first time, they point out an effect of product tasting temperature and the impact of the olfactive dimension. These results offer new perspectives for finalised studies within the framework of industrial partnerships involving multimodal compensation. They suggest new levers for formulating low-fat foods while maintaining consumer approval.*

**Partenaires/Partnership:** Projet QualigrasPhy (Institut Carnot Qualiment) / QualigrasPhy Project (Institut Carnot Qualiment); GÉNIE ET MICROBIOLOGIE DES PROCÉDÉS ALIMENTAIRES (UMR GMPA)/FOOD PROCESS ENGINEERING & MICROBIOLOGY INRA, AgroParisTech, Firmenich.

**Contact:** [elisabeth.guichard@inra.fr](mailto:elisabeth.guichard@inra.fr), CENTRE DES SCIENCES DU GOUT ET DE L'ALIMENTATION (UMR CSGA)/CENTRE FOR TASTE & FOOD SCIENCE CNRS-INRA - Université de Bourgogne

**En savoir plus/read more:** Martin Ch., Schoumacker R., Bourjade D., Thomas-Danguin T., Guichard E., Le Quééré J.-L., Labouré H. (2016). Sensory properties linked to fat content and tasting temperature in cottage cheese, Dairy Science & Technology, 96(5): 735-746. DOI: 10.1007/s13594-016-0301-6  
Schoumacker, R., Martin, Ch., Thomas-Danguin, T., Guichard, E., Le Quééré J.L. and Labouré H. (2016), Fat perception in cottage cheese: the contribution of aroma and tasting temperature in a study of inter-individual variability. Food Quality and Preference, 56:241-246. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.04.003>

## Une eau gélifiée enrichie pour une population souffrant de dysphagie

Les troubles de la déglutition (ou dysphagies) concernent principalement les personnes âgées et les personnes atteintes d'une hémiparésie. Les eaux gélifiées permettent l'hydratation de ces patients tout en diminuant le risque de fausse route. Elles ne règlent pas cependant le problème de la dénutrition et de l'affaiblissement profond qui peut en résulter.

Nous avons enrichi des gels fluides mixtes (amidon de pomme de terre/glucomannane de konjac) en acides gras polyinsaturés essentiels et en antioxydants ne se fragmentant pas en bouche et stables chimiquement et physiquement. Les molécules d'intérêt nutritionnel étudiées ont été choisies pour leur spécificité réactionnelle (structure chimique, hydrophobie...) : l'acide alpha-linolénique, acide gras essentiel de la famille des oméga-3 et le carvacrol, souvent utilisé comme arôme pour son goût chaud et piquant caractéristique de l'origan et possédant des propriétés antioxydantes.

Cependant, ces molécules sont très sensibles à l'oxygène comme tous les antioxydants et doivent être protégés afin de garantir leur bénéfice et éviter de faire consommer des produits de dégradation potentiellement toxiques. Or, l'amylose, de par son caractère linéaire et la présence quasi-exclusive de liaisons  $\alpha(1-4)$ , est susceptible de complexer de petites molécules hydrophobes comme l'acide linoléique et le carvacrol et de les protéger ainsi de l'oxydation. Le konjac, connu pour ralentir voire supprimer l'expulsion progressive de l'eau des gels auxquels il est ajouté, devrait stabiliser le système de protection des molécules d'intérêt par l'amidon.

Les résultats ont montré que la présence de glucomannane de konjac dans une matrice d'amidon de pomme de terre permet de ralentir nettement l'apparition de la séparation du liquide de son gel et, de ce fait, d'accroître la stabilité physique de ce gel. L'ajout de glucomannane de konjac en faible quantité (0.2% w/s) gêne très sensiblement la formation des assemblages protecteurs et ce quelle que soit la molécule d'intérêt utilisée. Cependant, l'introduction en fin de procédé de ces molécules d'intérêt améliore nettement leur piégeage par l'amylose permettant ainsi un apport quantitatif en microconstituants tout en garantissant un apport minimal en molécules oxydées.

L'amélioration de la qualité nutritionnelle de ces gels à la texture lisse et homogène via l'utilisation en synergie d'acides gras polyinsaturés et d'antioxydants, constitue ainsi une piste de nouvelle source alimentaire pour les populations dysphagiques.

## Enriched gelled water for a population suffering from dysphagia

*Dysphagia, or swallowing disorder, mainly affects the elderly and people with hemiparesis. Gelled water allows the hydration of these patients but does not solve the problem of malnutrition and the severe weakness it may incur.*

*In this study, we enriched fluid gels with essential polyunsaturated fatty acids and antioxidants that do not fragment in the mouth and that are chemically and physically stable. The molecules studied are molecules of nutritional interest and were chosen for their reactional specificity (chemical structure, hydrophobicity, etc.):  $\alpha$ -linolenic acid, essential fatty acid from the omega-3 family and carvacrol, often used as an aroma for its hot and spicy taste that is characteristic of oregano and that has antioxidant properties.*

*Indeed, unsaturated fatty acids and antioxidants are fragile and easily oxidisable molecules. It is therefore necessary to protect them in order to guarantee their health benefits and to avoid the consumption of potentially toxic degradation products. As a result of its linear nature and the almost exclusive presence of  $\alpha(1-4)$  bonds, amylose may be capable of complexing small hydrophobic molecules such as linolenic acid and carvacrol and, as a result, of protecting them from oxidation. Konjac, known to slow down or stop the progressive expulsion of water from gels to which it was added, should be able to stabilise the protection system of the molecules with starch.*

*This work has shown that the presence of konjac glucomannan in a potato starch matrix makes it possible to clearly slow down the occurrence of syneresis and to therefore increase the physical stability of this gel. The addition of konjac glucomannan in a small amount (0.2% w/s) significantly hinders the formation of the protective assemblies, regardless of the molecule of interest used. However, the introduction of these active molecules at the end of the process clearly improves their trapping by amylose, thus enabling a quantitative supply of microconstituents while guaranteeing a minimum supply of oxidised molecules.*

*Improving the nutritional quality of these gels via the synergistic use of polyunsaturated fatty acids and antioxidants while maintaining a smooth and homogeneous texture should lead to the development of a new source of food for a population with these particular physiological conditions.*

**Partenaires/Partnership:** Thèse de Céline Lafarge Agrosup Dijon

**Contact:** [patricia.le-bail@inra.fr](mailto:patricia.le-bail@inra.fr) INRA Angers-Nantes BIOPOLYMERES, INTERACTIONS, ASSEMBLAGES (UR BIA)/BIOPOLYMERS, INTERACTIONS, ASSEMBLIES

**En savoir plus/Read more:**

C. Lafarge, N. Cayot, C. Hory, L. Goncalves, C. Chassemont, P. Le-Bail «Effect of konjac glucomannan addition on aroma release in gels containing potato starch». (2014) Food Research International 64, 412-419.

C. Lafarge, L. Journaux, A. Bonottec, J. Lherminier, J. Aldo Leed, P. Le Bail, N. Cayot "Trapping of carvacrol by konjac glucomannan-potato starch gels: stability from macroscopic to microscopic scale, using image processing". (2017) Food Hydrocolloids, 216-226. 10.1016/j.foodhyd.2016.11.020.



## Encapsulation d'émulsion de Pickering dans des microgels par microfluidique pour la libération contrôlée de composés lipophiles

Les microgels d'alginate sont largement utilisés pour l'encapsulation de cellules et la libération de composés hydrophiles. L'encapsulation de molécules lipophiles variées dans un même microgel reste cependant un grand défi. Seule l'encapsulation d'une unique goutte d'huile par capsule d'hydrogel a été démontrée; elle utilise en outre des tensioactifs non souhaités dans la formulation.

Notre étude décrit une approche originale en deux étapes dans laquelle la microfluidique permet l'encapsulation de multicœurs lipophiles de taille et de composition parfaitement contrôlées. La première étape consiste à former un stock de microgouttelettes d'huile très stables *via* une émulsion huile-dans-eau (H/E) stabilisée par des particules hybrides constituées de nanocristaux de cellulose (NCC) et de carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>). Dans ces émulsions dites «de Pickering», les particules biosourcées s'adsorbent de manière irréversible à l'interface et constituent ainsi une alternative aux tensioactifs pour stabiliser les microgouttelettes d'huile. Dans la seconde étape, les microgouttelettes d'huile résultantes sont encapsulées par microfluidique dans des microgels à base d'alginate. Dans le circuit, par diffusion d'acide acétique vers les microgouttes d'alginate, le CaCO<sub>3</sub> adsorbé sur les NCC est solubilisé et induit la gélification de l'alginate. Cela démontre la possibilité d'introduire l'agent de gélification directement à l'interface de microgouttelettes d'huile, *via* les particules hybrides, pour leur encapsulation dans des hydrogels.

Nous avons fabriqué des microgels d'alginate monodisperses (85µm de diamètre) contenant environ 12 microgouttelettes d'huile (15 µm de diamètre). Par ailleurs, le potentiel de l'approche multicœurs lipophiles a été confirmé par l'encapsulation d'un composé lipophile modèle (Rouge de Nile); l'émulsion obtenue est restée stable plusieurs mois. Des résultats de libération contrôlée ont confirmé la stabilité de la coque de NCC à l'interface H-E des microgouttelettes d'huile indépendantes après la dégradation de l'alginate et la libération du composé lipophile dans le milieu environnant en utilisant des solvants appropriés.

Ces microgels présentent de forts potentiels pour l'encapsulation compartimentée et simultanée de composés lipophiles et /ou hydrophiles, tels que les vitamines, les composés aromatiques ou les médicaments anti-cancéreux, dans un unique microgel.

## Encapsulation of Pickering oil microdroplets into alginate microgels by microfluidics for lipophilic compound delivery

Alginate microgels are widely used as delivery systems for the encapsulation and sustained release of hydrophilic compounds and cells. However, the encapsulation of several lipophilic molecules within a unique microgel remains a major challenge. Indeed, to date, only the encapsulation of one oil droplet in a hydrogel capsule has been demonstrated and uses surfactants that are globally undesired in formulations.

Our study describes an original two-step approach in which microfluidics allows the encapsulation of lipophilic multicores in a perfectly controlled size and composition. The first step consists in forming a stock of oil microdroplets via an oil-in-water (O/W) Pickering emulsion stabilised by hybrid particles made of cellulose nanocrystals (CNCs) and calcium carbonate (CaCO<sub>3</sub>). Pickering emulsions that use biosourced particles irreversibly adsorbed at the interface are an alternative solution to surfactants for stabilising oil microdroplets. In the second step, the resulting oil microdroplets are encapsulated using microfluidics into alginate-based microgels. By diffusion of acetic acid into the microdroplets of alginate, the CaCO<sub>3</sub> adsorbed on the CNCs is solubilised, inducing the alginate gelation. This demonstrates the double action of the hybrid as an interface stabiliser and gelling agent for the encapsulation of the oil microdroplets in hydrogels. This innovative approach shows the possibility of generating monodisperse alginate microgels (85 µm in diameter) containing about 12 oil microdroplets (15 µm in diameter). For the first time, the microfluidic control associated with the stability of Pickering emulsions has led to new oil multicores in microgels. Moreover, the potential of this multicore lipophilic approach was confirmed by the efficient encapsulation of a model lipophilic compound (Red Nile) stable for several months. Controlled release results confirmed the stability of the CNC shell at the O-W interface of independent oil droplets after the alginate degradation and the lipophilic compound release in the medium using suitable solvents.


These microgels have high potential for compartmentalised and simultaneous encapsulation of lipophilic and/or hydrophilic compounds such as vitamins, aromatics or anti-cancer drugs in a single microgel.

**Partenaires/Partnership:** IFREMER

**Contact:** [Melanie.Marquis@inra.fr](mailto:Melanie.Marquis@inra.fr), [Isabelle.capron@inra.fr](mailto:Isabelle.capron@inra.fr), INRA Angers-Nantes BIOPOLYMERES, INTERACTIONS, ASSEMBLAGES (UR BIA)/BIOPOLYMERS, INTERACTIONS, ASSEMBLIES

**En savoir plus/read more:**

M. Marquis, V. Alix, I. Capron, S. Cuenot, A. Zykwska. Microfluidic encapsulation of Pickering oil microdroplets into alginate microgels for lipophilic compound delivery. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2, 535-543, (2016). DOI 10.1021/acsbomaterials.5b00522



*Des enzymes  
dans tous les  
sens*

*Enzymes  
everywhere*



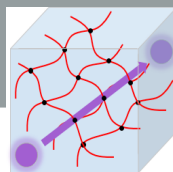
## Cribler les interactions des enzymes avec des assemblages bio-inspirés

L'utilisation d'enzymes pour la déconstruction de la biomasse lignocellulosique présente de nombreux avantages mais leur coût de production demeure élevé et les enzymes peuvent être rendues inactives par la présence de composés chimiques comme la lignine. Afin de limiter ces interactions contre-productives, il est primordial d'étudier les propriétés d'interactions des enzymes avec la biomasse lignocellulosique. Nous proposons une nouvelle approche avec l'utilisation d'assemblages bio-inspirés qui sont constitués à façon de polymères représentatifs de la composition et de certaines interactions rencontrées dans la biomasse.

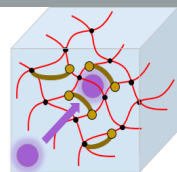
Ainsi, pour étudier les interactions des enzymes dans ces assemblages, la mobilité des enzymes est mesurée par la technique de recouvrement de fluorescence après photoblanchiment (FRAP) en microscopie confocale de fluorescence : la diffusion de l'enzyme est directement liée aux interactions de l'enzyme avec les polymères de l'assemblage qui vont la ralentir.

Pour valider cette approche, nous avons testé des enzymes de type cellulases dans différents assemblages bio-inspirés contenant ou non de la lignine modèle et des polymères à différentes concentrations. Ces cellulases peuvent être constituées d'un domaine catalytique soit seul, soit en présence d'un ou plusieurs domaines de fixation aux polysaccharides (appelés *carbohydrate binding modules* ou CBMs) qui servent aux enzymes à se fixer plus facilement à leur substrat. Une analyse multi-factorielle a été utilisée afin de définir les marqueurs influençant le plus les interactions. Les résultats ont mis en évidence que seul le domaine catalytique interagissait avec la lignine mais que ces interactions pouvaient être empêchées par la présence d'au moins un CBM. De plus, même une très faible teneur en lignine contribue aux interactions non désirées avec les enzymes.

Ces résultats montrent que la compréhension du devenir de la composition et de l'architecture de la lignine au cours des procédés de transformation de la biomasse dans les bioraffineries est un élément essentiel à considérer pour optimiser l'action des enzymes. Enfin, ce type de criblage devrait permettre d'identifier les acides aminés enzymatiques qui participent aux interactions, et donc de limiter ces interactions en modifiant les acides aminés. Le répertoire d'enzymes testées pourrait également être étendu en utilisant des assemblages bio-inspirés contenant d'autres polymères.



(a) Assembly without lignin  
Enzyme free diffusion



(b) Assembly with lignin  
Enzyme diffusion slowed down

## Screening interactions of enzymes with bioinspired assemblies

*Use of enzymes for the deconstruction of lignocellulosic biomass has several advantages, but their production cost remains high and enzymes can become inactive when some chemical components such as lignin are present. In order to reduce these counter-productive interactions, it is critical to study the interaction properties of enzymes with lignocellulosic biomass. We propose a new approach using bioinspired assemblies that are made of polymers representative of the composition and of some interactions found in lignocellulose.*

*To assay the interactions of enzymes in these assemblies, the mobility of enzymes has been monitored by measuring the fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) technique implemented in a fluorescence confocal microscope: enzyme diffusion is directly correlated to its interaction with the polymers of the assemblies.*

*In order to verify this approach, we have tested enzymes known as cellulases that act on cellulose in different bioinspired assemblies, some of which contained model lignin, and other polymers at different concentrations. These enzymes may contain a catalytic domain, either alone or linked to one or several carbohydrate binding modules (CBMs), which facilitate interactions of enzymes towards their substrate. A multi-factorial analysis was carried out to highlight the factors most important in influencing the interactions. Results have shown that interactions only occurred between the catalytic domain and lignin, but that they could be reduced by the presence of at least one CBM. Moreover, even a small lignin content could be responsible for the establishment of undesirable interactions with enzymes.*

*This study has demonstrated that the understanding of the evolution of the composition and architecture of lignin during the transformation process of biomass in biorefineries is essential to optimise enzyme interactions and thus activity. Finally, this type of screening approach should lead to the identification of enzyme residues involved in the interactions with lignin, thus possibly limiting the interactions by mutating the residues. The range of enzymes assayed could also be extended by preparing bioinspired assemblies with other polymers.*

### Partenaires / Partnership:

ANR Lignoprogram ANR-14-CE05-0026, UMR BBF (INRA/Aix-Marseille University)

Contact: [gabriel.paes@inra.fr](mailto:gabriel.paes@inra.fr), FRACTIONNEMENT DES AGRO-RESSOURCES ET ENVIRONNEMENT (UMR FARE)/FRACTIONATION OF AGRICULTURAL RESOURCES & ENVIRONMENT INRA – Université de Reims Champagne Ardenne

### En savoir plus/read more:

Fong M, Berrin JG and Paës G (2016) Investigation of the binding properties of a multi-modular GH45 cellulase using bioinspired model assemblies. *Biotechnology for Biofuels* 9, 12. DOI: 10.1186/s13068-016-0428-y

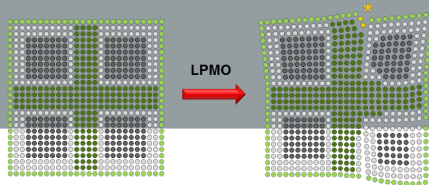
## Les LPMO : des nouveaux outils enzymatiques pour la production de nanofibrilles de cellulose

La cellulose constitue une ressource renouvelable majeure pour la production d'énergie ou de matériaux biosourcés. La délamination des fibres de cellulose produit des nanofibrilles aux propriétés remarquables mais le verrou majeur du procédé est son coût énergétique. Pour le réduire, deux stratégies sont actuellement étudiées : soit le prétraitement des fibres de cellulose par des cellulases, ce qui rend très variable la qualité des nanofibrilles et le rendement énergétique du procédé, soit l'oxydation chimique qui génère des effluents fortement pollués.

Nous avons donc recherché des solutions de prétraitement innovantes en étudiant le fractionnement de fibres de cellulose à l'aide d'une nouvelle classe d'enzymes, les « lytic polysaccharide monoxygénases » (LPMO) qui améliorent la dégradation de la lignocellulose par des réactions d'oxydation, au contraire des cellulases qui réalisent des réactions d'hydrolyse. La catalyse par les LPMO peut donc être mise à profit pour créer des brèches dans la structure cristalline des fibres cellulosiques et faciliter leur fractionnement pour produire des nanocelluloses.

En étudiant l'action de LPMO d'origine fongique sur des fibres papetières obtenues par le procédé kraft, nous avons mis en évidence leur action sur la déstructuration de l'arrangement des fibres de cellulose. Les études par RMN montrent une modification des surfaces amorphes accessibles et inaccessibles entourant le cœur cristallin des fibrilles de cellulose par les LPMO. Un modèle de l'organisation des différentes parties de la cellulose (amorphe, para-cristalline, accessible, non-accessible) a ainsi pu être établi montrant comment les parties cristallines externes deviennent moins ordonnées. Par ailleurs, la détermination de la cristallinité et des dimensions latérales des fibrilles individuelles et des agrégats de fibrilles révèle une augmentation de la porosité des fibres après action des LPMO. La masse molaire des fibres kraft diminue après le traitement enzymatique avec les LPMO mais cette diminution reste limitée comparativement à d'autres procédés, ce qui laisse espérer une bonne conservation des propriétés mécaniques des fibres.

Ces résultats démontrent pour la première fois l'effet d'enzymes oxydatives de type LPMO sur la partie insoluble de la cellulose et ouvrent la voie à un outil pour la préparation de nanofibrilles. L'étude de l'action des LPMO est poursuivie sur d'autres types de fibres et sur des substrats complexes de type cellulose/hémicelluloses (xyloglucanes, xylanes).



Modèle d'action des LPMOs sur l'organisation des fibres de cellulose /  
Action of LPMOs on the organisation of paper fibres

## LPMOs: new enzymatic tools for the production of cellulose nanofibres

Cellulose is a renewable resource that is used in the production of energy and biosourced materials. Cellulose fibres can be delaminated into cellulose nanofibres with excellent properties, but fibrillation is costly. In order to reduce the energy consumption, two main strategies are presently employed: the pretreatment of the fibres by cellulases, which usually results in variable quality and yield of nanofibres, and oxidation, which produces large quantities of toxic effluents.

We have investigated new strategies as a pretreatment for cellulose fractionation by a new type of enzymes, "lytic polysaccharide monoxygénases" (LPMO), which have demonstrated the ability to cleave glycosidic bonds by oxidation instead of hydrolysis performed by cellulases. This innovative catalysis may therefore be used as a pretreatment and/or as a modification step of cellulose fibres for producing nanocelluloses.

By studying the action of fungal LPMOs on paper fibres obtained by the Kraft procedure, we have demonstrated the disruption of the cellulose fibre arrangement. NMR studies have revealed a modification of the accessible amorphous and inaccessible surfaces. A model for the organization of the different regions of cellulose (crystalline, amorphous, paracrystalline, accessible and inaccessible), has been suggested, showing that the crystalline regions become less ordered. The crystallinity values and the lateral dimensions of individual fibrils and aggregates suggest an increase in the porosity upon the action of LPMOs. On the other hand, molar mass of the Kraft fibres decreases upon the LPMO enzymatic treatment. Nevertheless, this decrease is limited compared to other procedures of fabrication of nanocelluloses, which suggests a good preservation of the mechanical properties of the fibres.

For the first time, these results show the effect of LPMO enzymes on insoluble cellulose. The results we have obtained are promising since the action of LPMO enzymes may be used as a new strategy for the preparation of cellulose nanofibres. Current research is focused on the study of the action of LPMOs on other types of cellulose/hemicellulose substrates (xyloglucan, xylan).

Ana Villares-Garicochea a reçu le prix « Espoir scientifique » de l'INRA pour ses travaux sur la conception de nouveaux matériaux biosourcés performants et durables / Ana Villares-Garicochea awarded the price « Espoir scientifique » from INRA for her work on the design of new efficient and sustainable biosourced material: <http://jobs.inra.fr/A-la-une/Lauriers/Lauriers-2016/Reportage-Ana-Villares>

**Partenaires/Partnership:** BIODIVERSITE ET BIOTECHNOLOGIE FONGIQUES (UMR BBF)/FUNGAL BIODIVERSITY AND BIOTECHNOLOGY - INRA - Aix-Marseille Université - Faculté des Sciences; CTP et FCBA Grenoble; Laboratoire de chimie du bois de l'Université d'Hambourg (Allemagne)

**Contact:** [ana.villares@inra.fr](mailto:ana.villares@inra.fr) - BIOPOLYMERES, INTERACTIONS, ASSEMBLAGES (UR BIA)/BIOPOLYMERS, INTERACTIONS, ASSEMBLIES INRA Angers-Nantes

**En savoir plus/read more:** Lytic polysaccharide monoxygénases disrupt the cellulose fibers structure, Villares A., Moreau C., Bennati-Granier C., Garajova S., Foucat L., Falourd X., Saake B., Berrin J.G., Cathala B., **Scientific Reports**, (2017), 7, 40262, DOI: 10.1038/srep40262

Cathala B., Villares A., Moreau C., Berrin J.G. FR (2015)/ 1555049 Procédés pour la fabrication de nanocelluloses à partir d'un substrat cellulosique (3 Juin 2015)

## Les transporteurs de sucres complexes : des éléments clés pour le fonctionnement des écosystèmes microbiens et pour la biologie de synthèse



## Sugar transporters: key elements for microbial ecosystems and synthetic biology

La métabolisation des glycanes constitue la principale source de carbone de l'ensemble des organismes vivants. Le microbiote intestinal humain a développé une machinerie protéique très diversifiée pour reconnaître, transporter et dégrader les glycanes complexes composant les fibres alimentaires. Nous avons développé une stratégie générique de caractérisation de cette machinerie et ainsi identifié et caractérisé la spécificité de transporteurs de constituants majeurs de la paroi végétale appartenant à deux familles différentes.

La multiplicité des systèmes de transport, la difficulté des manipulations génétiques dans le cas d'organismes non cultivés et les difficultés rencontrées dans l'expression hétérologue de ces protéines membranaires et du criblage de leur fonction de transport rendent complexe toute étude du rôle des transporteurs de sucre. Dès 2010, une approche de métagénomique fonctionnelle a été développée pour capter des voies complètes du catabolisme des glycanes issues de bactéries non-cultivées. C'est à partir de l'un de ces loci d'ADN métagénomique que nous avons développé une approche générique basée sur l'utilisation d'*E. coli* pour la caractérisation de ce système multi-protéique et l'exploitation de son potentiel fonctionnel.

Une étude intégrative combinant transcriptomique, ingénierie rationnelle du locus métagénomique et caractérisation biochimique a été réalisée, permettant d'accéder aux fonctions de chaque élément du système catabolique. Cette machinerie complexe, issue d'un *Bacteroidetes* intestinal naturellement optimisé pour la métabolisation des xylo-oligosaccharides, confère à *E. coli* la possibilité d'utiliser des glycanes complexes comme seule source de carbone grâce aux fonctions complémentaires d'hydrolyse assurées par plusieurs glycoside-hydrolases et de transport, réalisées par deux nouveaux transporteurs dont la spécificité pour les pentoses, constituants majeurs de la paroi végétale, a été finement caractérisée.

L'approche développée ici permettra à court terme la caractérisation à l'échelle moléculaire, voire le contrôle des fonctions cruciales de métabolisation des glycanes et de composés bioactifs par le microbiote intestinal humain. De plus, l'intégration chez *E. coli* et l'ingénierie de telles voies métaboliques issues d'écosystèmes naturellement optimisés pour l'assimilation de la biomasse végétale, ouvre la voie au développement de nouvelles usines cellulaires dédiées à la synthèse de produits bio-sourcés.

*Glycans metabolism is the main sources of carbon for all living organisms. The human intestinal microbiota has evolved into a highly diversified protein machinery that is able to recognise, transport and degrade complex glycans, especially those composing dietary fibres. In order to access these functions, which are largely expressed by uncultured bacteria, we have developed a generic strategy for the characterisation and engineering of glycan metabolism. This work led to the identification and the characterisation of transporters belonging to two different families that are specific to the major constituents of the plant cell wall.*

*Identification and characterisation of sugar transporters remain limited due to the multiplicity of sugar transport systems in native organisms, the difficulty of genetic manipulation and the difficulty with the heterologous expression of these membrane proteins as well as the screening of their transport functions. Since 2010, a functional metagenomic approach has been developed to capture complete pathways of glycan catabolism from uncultured bacteria. It is from one of these metagenomic DNA loci that we have developed a generic approach based on the use of *E. coli*, a laboratory bacterium frequently used as a chassis strain for synthetic biology, for the functional characterisation of these multiproteic systems.*

*To characterise the system of interest and to fulfil its functional potential in *E. coli*, an integrative study combining transcriptomics, rational engineering of the metagenomic locus and biochemical characterisation was performed, allowing access to the functions of each element of the catabolic system. This complex machinery, derived from an intestinal *Bacteroidetes* naturally optimised for the metabolisation of xylo-oligosaccharides, confers to *E. coli* the ability to use complex glycans as its sole carbon source thanks to the complementary functions of hydrolysis, provided by several glycoside hydrolases, and transport, carried out by two new transporters whose specificity for pentoses, major constituents of the plant wall, has been finely characterised.*

*The approach developed here will allow, in the short term, the increase of the identification, characterisation at the molecular level and control of crucial functions of the metabolisation of glycans and bioactive compounds by the human intestinal microbiota. Moreover, the integration into *E. coli* and the engineering of such metabolic pathways inspired from ecosystems naturally optimised for the assimilation of plant biomass paves the way for the development of new cellular factories dedicated to the synthesis of bio-sourced compounds.*

**Partenaires/Partnership:** Dr. Eric Martens and Dr. Yao Xiao, Université du Michigan, USA

**Contact:** Gabrielle Véronèse [veronese@insa-toulouse.fr](mailto:veronese@insa-toulouse.fr), Alexandra Tauzin [tauzin@insa-toulouse.fr](mailto:tauzin@insa-toulouse.fr), Laboratoire d'INGÉNIERIE DES SYSTEMES BIOLOGIQUES ET DES PROCÉDÉS (UMR LISBP)/BIOSYSTEMS AND PROCESS ENGINEERING - INRA - INSA - CNRS Toulouse

**En savoir plus/read more:** Tauzin A.S., Laville E., Xiao Y., Nouaille S., Le Bourgeois P., Heux S., Portais J.-C., Monsan P., Martens E.C., Potocki-Veronese G., Bordes F. (2016) Functional characterization of a gene locus from an uncultured gut *Bacteroides* conferring xylo-oligosaccharides utilization to *E. coli*. *Molecular Microbiology*, doi: 10.1111/mmi.13480.



## Lancement opérationnel de la Joint-Venture CARBIOLICE : des plastiques à durée de vie contrôlée

Les matières plastiques sont devenues incontournables dans de nombreux segments industriels. Après plusieurs décennies d'une exploitation intensive et une accumulation de plastique dans notre environnement, une prise de conscience collective naît enfin quant à la nécessité de produire et consommer autrement.

L'un des objectifs du projet de R&D Thanoplast™, démarré en 2012 et dont le chef de file est la société CARBIOS, spécialiste des bioprocédés enzymatiques appliqués aux polymères dans les plastiques et textiles, est de permettre un déclenchement de la biodégradation des matières plastiques, et plus particulièrement du PLA (Poly Lactic Acid), en fonction de la durée de vie requise pour l'usage et dans le respect de l'environnement. Le concept repose sur l'inclusion dans la matière plastique d'enzymes capables de dégrader ce polymère en composés bio assimilables par les microorganismes présents dans la nature.

Des chercheurs toulousains ont identifié une enzyme capable de dégrader efficacement le PLA grâce à des propriétés catalytiques remarquables. Le défi à relever était de préserver l'activité enzymatique lors de l'introduction de l'enzyme dans le PLA au moment de la phase d'extrusion à très haute température (~170°C). Cette enzyme a été produite de manière recombinante, puis optimisée par ingénierie enzymatique de manière à maximiser son activité spécifique et surtout sa thermostabilité. En parallèle, sa formulation a également été optimisée, tout ceci permettant, *in fine*, de relever le challenge : valider la biodégradation de ce plastique enzymé qui peut être contrôlée et complète en quelques semaines ou quelques mois suivant la durée souhaitée. En outre, ce procédé préserve les propriétés d'usage des polymères et ne nécessite pas de modification de l'outil industriel des plasturgistes. Ce procédé enzymatique innovant a donné lieu à la création de la Joint-Venture CARBIOLICE au 1<sup>er</sup> septembre 2016 entre CARBIOS, Limagrain Céréales Ingrédients et le fonds SPI de Bpifrance.

Deux marchés stratégiques sont visés en priorité : le marché de la sacherie, notamment celui des sacs fruits et légumes qui représentait environ 20 millions de tonnes en 2012, et celui des films de paillage agricole, évalué à 2 millions de tonnes en 2013 et dont la croissance est estimée à 10% en Europe sur le segment du biodégradable.

## Operational launch of the CARBIOLICE Joint Venture: enzymes to rethink the lifecycle of plastics

Plastics, a symbol of our consumer society, have become progressively unavoidable in many industrial fields. After several decades of intensive use and an accumulation of plastic in our environment, there has been a collective awakening concerning the need to produce and consume in an eco-friendly way.

One of the objectives of the Thanoplast™ project, launched in 2012 and led by CARBIOS, a firm specialised in enzymatic bioprocesses applied to polymers in the fields of plastics and textiles, is to trigger the biodegradation of plastics and more particularly of PLA (Poly Lactic Acid), depending on the lifetime required for their use and with respect for the environment. The concept of this project relies on the inclusion in the plastic material of enzymes capable of degrading this polymer into organic compounds that can be further assimilated by microorganisms present in nature.

Researchers in Toulouse have identified an enzyme with remarkable catalytic properties, making it possible to degrade PLA very efficiently. The main challenge was to maintain the catalytic activity after its inclusion in the PLA during the extrusion phase at very high temperatures (~170°C). This enzyme was produced recombinantly and then optimised for activity and thermostability by enzymatic engineering. In parallel, its formulation has also been optimised, all of which make it possible, ultimately, to take on the challenge of confirming the biodegradation of this enzymated plastic that can be controlled and which is complete within a few weeks or a few months, depending on the time period desired. Furthermore, the enzymated plastic retains the properties of polymers and does not require any modification of industrial tools for plastic processing.

This innovative enzymatic process led to the creation, on 1<sup>st</sup> September 2016 of the CARBIOLICE Joint Venture between CARBIOS, Limagrain Céréales Ingrédients and the SPI funds operated by Bpifrance. Two strategic markets will be targeted in priority by CARBIOLICE: the market for bags and particularly those meant for fruits and vegetables, which amounted to almost 20 million tonnes in 2012, and that of agricultural mulching films, estimated at 2 million tonnes in 2013 and with an average growth rate of 10% in Europe in the biodegradable segment.

**Partenaires/Partnership:** Laboratoire d'INGÉNIERIE DES SYSTEMES BIOLOGIQUES ET DES PROCÉDÉS (UMR LISBP)/BIOSYSTEMS AND PROCESS ENGINEERING INRA - INSA - CNRS Toulouse, TWB (Toulouse White Biotechnology), CRIT Bio-industries de l'INSA de Toulouse et CARBIOS

**Contact:** [Alain.Marty@carbios.fr](mailto:Alain.Marty@carbios.fr), [Florence.bordes@insa-toulouse.fr](mailto:Florence.bordes@insa-toulouse.fr), [Sophie.duquesne@insa-toulouse.fr](mailto:Sophie.duquesne@insa-toulouse.fr)

**En savoir plus/read more:** Alvarez P., Amillastre E., Duquesne S., Marty A., WO/2016/062695A1; Date de publication: 28.04.2016 Polypeptide présentant une activité de dégradation de polyester et utilisations de celui-ci



## Un bouquet d'enzymes pour transformer le saccharose en nouveaux biopolymères



## A bouquet of enzymes to transform sucrose into new biopolymers

La demande en polymères biodégradables d'origine naturelle est en plein essor et les exopolysaccharides microbiens suscitent un intérêt croissant. Les  $\alpha$ -transglucosylases de la famille 70 des Glycoside-Hydrolases catalysent à partir de saccharose la synthèse d'homopolymères de glucose généralement de très haute masse molaire ( $10^5 - 10^8$  g.mol<sup>-1</sup>) ainsi que la synthèse d'oligosaccharides et de glucoconjugués en présence d'accepteurs exogènes. Enrichir la palette en nouvelles  $\alpha$ -transglucosylases permettrait de diversifier et mieux contrôler les structures polymériques potentiellement accessibles à partir saccharose, un substrat renouvelable et bon marché.

Nous avons recherché des gènes codant pour de nouvelles enzymes GH70 dans les génomes séquencés des bactéries lactiques *Leuconostoc citreum* NRRL B-1299, *Leuconostoc citreum* NRRL B-742 et *Oenococcus kitaharae* DSM17330. Quatre enzymes remarquables ont alors pu être produites sous forme recombinante et caractérisées. Une première enzyme (DSR-M) issue de *L. citreum* NRRL B-1299 catalyse la synthèse directe d'un dextrane ( $\alpha$ -1,6 glucane) de faible masse molaire (entre 7.10<sup>3</sup> et 27. 10<sup>3</sup> g/mol selon la concentration initiale en saccharose), contrairement à toutes les autres polymérases de la famille GH70 caractérisées jusqu'à présent. A *contrario*, une enzyme isolée d'*Oenococcus kitaharae* (DSR-OK) catalyse la formation d'un dextrane incroyablement grand en taille (10<sup>9</sup> g/mol) et 1000 fois plus visqueux que les dextrans commerciaux. Enfin, la caractérisation de deux autres enzymes, BRS-A et BRS-B, issues respectivement des souches *L. citreum* NRRL B-1299 et B-742, a permis d'identifier deux autres activités enzymatiques, spécifiques du branchement des dextrans linéaires par des unités glucosyle liées en  $\alpha$ -1,2 ou  $\alpha$ -1,3, très utiles pour produire de nouvelles architectures.

Nous avons élucidé le mécanisme de formation des dextrans hautement ramifiés dans ces souches bactériennes et proposé des voies de production permettant de contrôler à la fois la taille et le degré de branchement des polymères formés. Ces nouveaux catalyseurs ont révélé des propriétés uniques pour la production de gluco-flavonoïdes solubles. Nous disposons de nouveaux outils pour l'étude des relations structure-spécificité de ces polymérases et enzymes de branchement, ainsi que des relations structure-propriétés des différents polymères de glucose obtenus.

The demand for natural and biodegradable polymers is rapidly expanding and there is an increasing interest in microbial polysaccharides. In particular, the bacterial enzymes from the Glycoside Hydrolase family 70 (GH70) are receiving considerable attention. These  $\alpha$ -transglucosylases can synthesize glucose homopolymers with very high molar mass ( $10^5$ - $10^8$  g/mol) from sucrose, and can also produce oligosaccharides and glucoconjugates in the presence of exogenous acceptors. The search for new  $\alpha$ -transglucosylases is of prime interest to enrich our enzymatic toolbox and thus diversify the potential polymeric structures that can be obtained from sucrose, a cheap and renewable agro-resource.

Genome sequencing and functional genomics were used to search for new GH70 encoding genes in *Leuconostoc citreum* NRRL B-1299, *Leuconostoc citreum* NRRL B-742 and *Oenococcus kitaharae* DSM17330 genomes. Four remarkable enzymes were recombinantly produced and characterised. The first one (DSR-M), from the NRRL B-1299 strain, catalyses the direct synthesis of a low molar mass dextran ( $\alpha$ -1,6 glucan), contrary to all of the GH70 polymerases characterised to date. Polymers with a molar mass comprised between 7. 10<sup>3</sup> and 27. 10<sup>3</sup> g/mol can be produced by varying the initial sucrose concentration. In contrast, an enzyme derived from *Oenococcus kitaharae* catalyses the synthesis of an extremely high molar mass dextran (10<sup>9</sup> g/mol) that is 1000 times more viscous than commercial dextrans. Finally, the characterisation of two other enzymes, BRS-A and BRS-B (from NRRL B-1299 and NRRL B-742 strains, respectively), allowed us to identify novel enzymatic functions dedicated to linear dextran branching with either  $\alpha$ -1,2 or  $\alpha$ -1,3 links, and that are very promising for producing new molecular architectures.

This work allowed us to clarify the mechanism of highly branched dextran formation in lactic acid bacteria and to propose new ways to produce dextrans of controlled size and branching degree. Finally, these newly discovered catalysts also revealed unique properties for the production of soluble gluco-flavonoids. This progress opens the way for new structure-function relationship studies on GH70 enzymes and encourages investigations on structure-properties of the various biopolymers obtained.

**Partenaires/Partnership:** BIOPOLYMERS, INTERACTIONS, ASSEMBLAGES (UR BIA)/BIOPOLYMERS, INTERACTIONS, ASSEMBLIES INRA Angers-Nantes, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin (Bordeaux). Financement Projets ANR Oenopolys ; ANR Engels

**Contacts:** Claire Moulis, [moulis@insa-toulouse.fr](mailto:moulis@insa-toulouse.fr) ; Magali Remaud-Simeon, [remaud@insa-toulouse.fr](mailto:remaud@insa-toulouse.fr) Laboratoire d'INGÉNÉRIE DES SYSTEMES BIOLOGIQUES ET DES PROCÉDÉS (UMR LISBP)/BIOSYSTEMS AND PROCESS ENGINEERING INRA - INSA - CNRS Toulouse

**En savoir plus/read more:** 4 Patents: WO2014202208(A1)/ WO2015193492(A1)/ WO2015144731(A1)/ WO2016016544(A1).

Vuillemin, M., Claverie, M., Brison, Y., Séverac, E., Bondy, P., Morel, S., Monsan, P., Moulis, C., Remaud-Siméon, M., 2016. Characterization of the First  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3) Branching Sucrases of the GH70 Family. (2016). The Journal of Biological Chemistry. 291(14), 7687-7702.

## Le syringarésinol, un bisphénol « triple A » naturel !

L'industrie des polymères utilise des bisphénols d'origine pétrochimique comme le Bisphénol A (BPA) pour la préparation de nombreux matériaux plastiques et comme additifs plastifiants et/ou antioxydants. Ils présentent cependant une toxicité avérée et le BPA, en raison de son activité de perturbateur endocrinien, sera progressivement interdit dans les applications emballages destinées à l'agro-alimentaire. Le syringarésinol, une molécule naturelle issue de la lignine est, du fait de ses caractéristiques structurales, un bisphénol de choix pour remplacer le BPA dans la plupart de ses utilisations. Il ne présente aucune activité de perturbateur endocrinien et ne pose donc *a priori* pas de problèmes de contamination des contenus alimentaires en cas de relargage à partir des matériaux en contenant.

En se basant sur des considérations mécanistiques issues de l'étude chimique de la biosynthèse des lignines, il a été possible d'optimiser la synthèse du syringarésinol par dimérisation biocatalytique de l'alcool sinapylique biosourcé. Il est maintenant accessible par lots de plus de 15g au niveau du laboratoire ce qui augure d'un bon potentiel industriel !

Il a été mis en jeu pour la synthèse de polymères de type polyoléfiniques par dérivatisation et polymérisation par des procédés de type ADMET (polymérisation par méthathèse de diènes) et également dans la formulation de résines époxy en utilisant différentes diamines comme durcisseurs. Parallèlement, son pouvoir antioxydant a été évalué et est similaire à celui des antioxydants de type BHT généralement utilisés dans le domaine des polymères. Dans tous les cas, les matériaux obtenus à partir de syringarésinol ont montré des propriétés plastiques (températures de transition vitreuse) et des stabilités thermiques (températures de dégradation) comparables à celles des mêmes types de polymères préparés dans des conditions semblables à partir du BPA.

Cette étude montre que le syringarésinol est facilement accessible à une échelle raisonnable pour être mis en jeu dans des réactions de polymérisation diverses permettant la formulation de matériaux présentant de bonnes propriétés thermomécaniques, une bonne stabilité thermique et chimique et ne présentant pas les problèmes de toxicité des matériaux similaires à base de BPA.

## Syringaresinol, the "triple A" natural bisphenol!

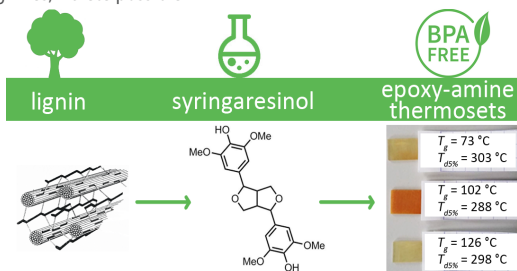
The polymer industry uses petrochemical-based bisphenols such as bisphenol A (BPA) as building blocks for the preparation of numerous plastic materials and as plastifying and/or antioxidant additives. But, these compounds are extremely toxic. Because of its activity as an endocrine disruptor, BPA will be progressively prohibited in food packaging applications. Due to its chemical structure, syringaresinol, a natural compound derived from lignin, is clearly a bisphenol of choice to replace BPA in most of its applications. Moreover, syringaresinol does not exhibit any endocrine disruptor activity and, consequently, no potential problem of food contamination if it is used in the manufacturing of food packaging material.

Recent progress in the understanding of the chemical mechanisms involved in lignin biosynthesis has led to the

optimisation of its preparation through enzymatic oxidative dimerisation of sinapyl alcohol. Syringaresinol is now prepared at the lab scale in up to 15-g batches, auguring a good industrial potential! Syringaresinol has been used, through

dérivatisation et ADMET polymérisation (acyclic diene metathesis polymerisation), for the production of polyolefinic polymers as well as in the formulation of epoxy-amine resins using various diamines as hardeners. Its antioxidant activity has been measured and is similar to that of currently used antioxidants in polymer chemistry. In all of the cases tested, materials obtained from syringaresinol have shown plastic properties (glass transition properties) and thermic stabilities (degradation properties) similar to those of other polymers prepared in conditions similar to those of BPA.

This study shows that syringaresinol is readily obtainable in reasonable quantities. This implies that syringaresinol is a suitable compound for the production of materials displaying good thermo-mechanical properties and chemical and thermic stability, but without the toxicity problems encountered in similar materials prepared from BPA.



**Partenaires/Partnership:** CEBB Centre Européen de Biotechnologies et Bioéconomie, Pomace

**Contacts:** [paul-henri.ducrot@inra.fr](mailto:paul-henri.ducrot@inra.fr) INSTITUT JEAN-PIERRE BOURGIN (UMR IPJB) INRA – AgroParisTech ; [florent.allais@agroparistech.fr](mailto:florent.allais@agroparistech.fr) Chaire ABI (Agro-Biotechnologies Industrielles)

**En savoir plus/read more:** Optimization of the Laccase-Catalyzed Synthesis of ( $\pm$ )-Syringaresinol and Study of its Thermal and Antiradical Activities. Abdus S. Jaufurally, Andreia R. S. Teixeira, Louis Hollande, Florent Allais, Paul-Henri Ducrot; *ChemistrySelect*, (2016), 1 (16), 5165–5171  
Syringaresinol: a renewable and safer alternative to bisphenol A for epoxy-amine resins. Janvier M, Hollande L, Jaufurally AS, Pernes M, Ménard R, Grimaldi M, Beaugrand J, Balaguer P, Ducrot PH, Allais F. *ChemSusChem* (2017), 4(10), 738-746





***Traiter et  
modéliser  
nos données  
et résultats***

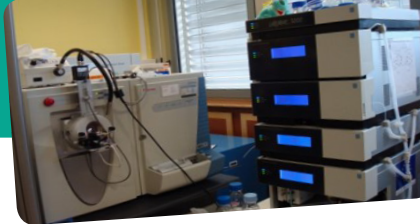
***Data  
processing  
and modeling***

## Quelles protéines se cachent derrière les spectres de masse?

Avec la capacité d'analyse croissante de nos outils scientifiques, nous constatons une forte augmentation de la volumétrie des données produites. C'est particulièrement le cas en spectrométrie de masse où l'analyse d'un mélange inconnu de protéines découpées en peptides génère des séries de masses mesurées qui constituent les spectres expérimentaux. Un logiciel d'interprétation doit être capable de retrouver à quels peptides ces masses correspondent puis d'en déduire les protéines présentes dans l'échantillon analysé. L'interprétation d'un spectre expérimental se fait par comparaison avec un spectre 'idéal' dit théorique obtenu en simulant les mesures d'un spectromètre de masse sur les peptides issus de protéines prédites à partir des données génomiques d'un organisme. Malheureusement, la maturité de l'interprétation n'est pas encore atteinte car les algorithmes actuels n'interprètent qu'environ 25 % des spectres produits.

De très nombreux paramètres sont susceptibles d'influer le comportement des algorithmes d'interprétation : prétraitements des spectres expérimentaux, définition de l'ensemble des peptides théoriques comparés aux spectres expérimentaux ou encore fonction de score qui évalue la similarité entre les spectres. Pour mieux maîtriser ces paramètres, nous avons comparé les résultats obtenus par quatre logiciels parmi les plus utilisés. Nous montrons ainsi que si un spectre est comparé au même sous-ensemble de spectres théoriques, alors il est presque toujours interprété de la même manière, quel que soit le logiciel utilisé. Par contre, le classement des interprétations obtenues, des plus fiables au moins fiables, varie beaucoup d'un logiciel à l'autre et induit *in fine* des résultats qui peuvent être très différents en fonction des seuils d'erreur acceptés.

La bonne compréhension des algorithmes et de leurs limitations est également un prérequis pour en concevoir de nouveaux et tenter de dépasser les limites analytiques actuelles. Au-delà de la mise à disposition à la communauté scientifique des résultats de la comparaison des 4 logiciels, nous avons également développé une nouvelle approche capable de comparer plusieurs dizaines de milliers de spectres expérimentaux à plusieurs centaines de milliers de spectres théoriques en quelques minutes. Cette méthode permet l'identification à grande échelle de peptides portant des modifications post-traductionnelles non reconnues par les approches classiques, levant ainsi l'un des verrous méthodologiques actuels. Le développement d'un logiciel implémentant cette nouvelle méthode est en cours de finalisation.



## Which proteins are hidden behind mass spectrometry spectra?

*During the past few years, we have seen an increase in the technical power of our tools, with the constant evolution of our analytical capacity and a marked rise in the volume of data generated. This evolution concerns, in particular, mass spectrometers in which the analysis of unknown protein mixtures generates series of masses that constitute experimental spectra. Peptide interpretation of an experimental spectrum consists of comparing the experimental spectra to a set of ideal spectra (also referred to as theoretical spectra) extrapolated from the predicted fragmentation of proteins deduced from the genomic databases. Unfortunately, current software programmes used to interpret spectra are not sophisticated enough to interpret more than approximately 25% of spectra generated by an experiment.*

*Many parameters affect the behaviour of algorithms, including pretreatment of experimental spectra, the definition of the set of theoretical spectra compared to experimental spectra, and the score function that computes the similarity between spectra. In order to assist the scientific community to better understand these parameters, we performed several distinct interpretations of the same experimental datasets with four distinct software programmes including the ones most commonly used. We showed that most of the software programmes give the same peptide interpretation for each spectrum when the set of theoretical spectra is strictly equal. In contrast, each software programme has its own score function to rank the spectra identifications, from the most reliable to the least reliable. This ranking could have a great impact on the results, depending on the accepted error threshold.*

*A good understanding of algorithms and their limitations is also a prerequisite for the conception of new approaches that resolve their drawbacks. In addition to making the results of the comparison of four software programmes available to the scientific community, we also submitted innovative algorithms able to compare a large set (several tens of thousands) of experimental spectra with several hundreds of thousands of theoretical spectra in just a few minutes. This new approach identifies large sets of peptides that display post-translational modifications that cannot be detected by traditional software programmes. The development of a software programme to implement this new method is now being finalised.*

**Partenaires/Partnership:** Laboratoire des Sciences du Numérique de Nantes (LS2N) dans le cadre du Programme Griote, financé par la région Pays de la Loire – Thèse de Matthieu David, directeur de thèse Guillaume Fertin.

**Contact:** [Dominique.tessier@inra.fr](mailto:Dominique.tessier@inra.fr), [Helene.rogniaux@inra.fr](mailto:Helene.rogniaux@inra.fr), INRA Angers-Nantes BIOPOLYMERES, INTERACTIONS, ASSEMBLAGES (UR BIA)/ BIOPOLYMERS, INTERACTIONS, ASSEMBLIES INRA

**En savoir plus/Read more:** David, M., Fertin, G., and Tessier, D. (2016). SpecTrees: An efficient without a priori data structure for MS/MS spectra identification. In International Workshop on Algorithms in Bioinformatics, pages 65-76. Springer. DOI: 10.1007/978-3-319-43681-4\_6; Tessier, D., Lollier, V., Larré, C., and Rogniaux, H. (2016) Origin of Disagreements in Tandem Mass Spectra Interpretation by Search Engines, *J Proteome Res* 15, 3481-3488. DOI: 10.1021/acs.jproteome.6b00024



## La densification, étape importante de la mastication du pain

Le pain, dont la structure aérée peut être décrite comme une mousse solide, est connu pour sa vitesse de digestion rapide. Améliorer la qualité nutritive d'un pain sans altérer son goût revient à mieux comprendre son comportement en bouche. Mastiquer du pain c'est appliquer un effort mécanique pour réduire la taille des bouchées afin de faciliter la déglutition. Nous savons tous mastiquer mais nous ne savons pas forcément ce que la structure aérée du pain subit avant d'arriver à l'état permettant la déglutition. La structure aérée du pain subit des modifications importantes jusqu'à ce stade de déglutition. Ces modifications contrastent avec celles observées pour un produit céréalier sec alors que les deux présentent un même niveau d'aération. Cette différence de comportement est à l'origine de la texture particulière du pain en bouche.

Dans cette étude, nous révélons les modifications structurales de la mie de pain lors d'un test mécanique qui simule la mastication : compression jusqu'à dégradation d'échantillons de mie de pain dans divers états d'hydratation. Cette étude s'appuie sur l'imagerie 3D par tomographie RX conduite simultanément avec le test mécanique. L'association de ces deux techniques d'analyse permet de suivre les changements internes de la structure aérée à la manière d'une imagerie médicale qui accompagnerait une expérience de mastication humaine. Grâce à la combinaison de l'imagerie 3D au test mécanique, nous avons pu montrer qu'un pain perd jusqu'à 80% de son aération (proportion de vide dans la mie) avant d'arriver à l'état de densification. Lors d'une mise en bouche, la structure de la mousse solide de la mie de pain reste stable tant que l'étape de densification n'est pas atteinte. Cette stabilité remarquable est d'autant plus marquée que la mie est plus hydratée. La densification est donc une composante significative de la texture du pain en bouche.

Nous proposons pour la première fois une nouvelle interprétation mécanique de la mastication basée sur l'état de densification. La conception de nouveaux pains avec une meilleure qualité nutritive implique une maîtrise de la texture en bouche. Cette étude dégage un critère mécanique, la densification, pouvant aider à guider la formulation de nouveaux produits pour produire une texture acceptable en bouche.

## Densification, an important step in bread chewing

*Bread, especially white bread, is one of these cereal products ranked as a high glycaemic food. Formulation of bread with enhanced health benefits goes hand-in-hand with preserving its taste as much as possible. This can be done if its texture and oral behaviour are better understood. Chewing bread is like putting a piece of an airy material between compression stages. During human mastication, muscular activity provides the necessary mechanical action to break down the food into pieces before swallowing. Most people do not even think about what the actual food undergoes during chewing, although it is crucial for the other steps of digestion. The sensory perception of bread chewing is unlike that of brittle cereal products, even if both share the same airiness.*

*In this study, we capture the structural modifications that a piece of bread crumb undergoes during a compression test that mimics human mastication. It is based on in situ 3D imaging conducted simultaneously with the mechanical action. The combination of both techniques reveals the internal modifications of the air cells composing the bread crumb structure at all stages up to product degradation. Computerized tomography (CT) scans show that bread crumb loses up to 80% of its airiness, measured as a percentage of air in the crumb, before mechanical degradation begins. Airiness loss occurs while preserving the structural integrity of the bread crumb. Neither production of airy fragments nor loss of cell walls is observed before the onset of densification. This means that the preliminary step to food breakdown is the severe densification of bread crumb. This remarkable stability of the airy structure of bread is more obvious for hydrated bread. Densification can therefore be considered as a significant step in the oral processing of bread.*

*For the very first time, we provide a new mechanical interpretation of bread chewing based on the state of densification. The formulation of healthy bread with a high nutritive value implies improved control of oral processing by considering densification as a texture criterion of product acceptance.*

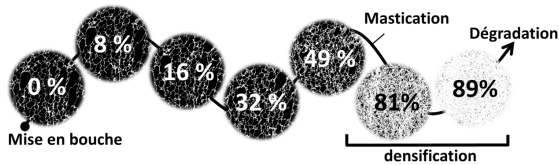


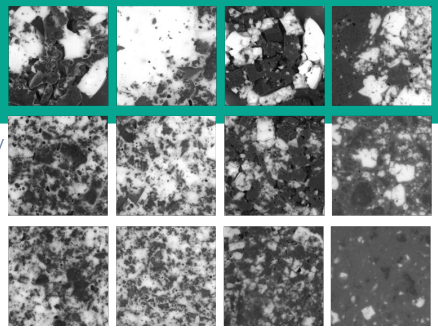
Schéma de concept de la mastication humaine d'un pain montrant l'étape de densification avant dégradation. Imagerie 3D par tomographie RX lors de la compression d'un échantillon de mie de pain à des niveaux croissants de compression/Concept of bread chewing showing the densification step before food degradation. 3D images are obtained at different stages of compression using 3D X-ray microtomography coupled to mechanical testing

**Partenaires/Partnership:** Ecole des Mines de Douai

**Contact:** [sofiane.guessasma@inra.fr](mailto:sofiane.guessasma@inra.fr), BIOPOLYMERES, INTERACTIONS, ASSEMBLAGES (UR BIA)/BIOPOLYMERS, INTERACTIONS, ASSEMBLIES INRA Angers-Nantes

**En savoir plus/read more:** GUESSASMA, S. & NOURI, H. (2015). Compression behaviour of bread crumb up to densification investigated using X-ray tomography and finite element computation. Food Research International, 72, 140-148. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.03.038. GUESSASMA, S. & NOURI, H. (2016). Comprehensive study of biopolymer foam compression up to densification using X-ray micro-tomography and finite element computation. European Polymer Journal, 84, 715-733. DOI : 10.1016/j.eurpolymj.2016.09.059.

Exemples d'images de bols collectés à trois temps de mastication /  
Images of boli collected at 3 different steps of the chewing process



## Etude de la formation du bol alimentaire par analyse d'images

L'étude de la déstructuration de l'aliment en bouche permet de comprendre la perception sensorielle des aliments lors de leur consommation. Les propriétés des bols alimentaires sont généralement étudiées par des méthodes rhéologiques, granulométriques et hygrométriques. Ces méthodes peuvent être longues à réaliser et ne sont pas toujours applicables pour des bols présentant une structure hétérogène (fragmentation partielle...). La complexité des bols alimentaires étant visible à l'œil nu, nous avons choisi une approche par analyse d'images.

Lors d'une étude précédente, nous avons construit une collection d'images de bols (1200 images) issus de la mastication de 10 gels modèles, par 10 sujets et pendant 3 temps de mastication différents. Ces gels étaient constitués de deux couches de couleur différente, à base d'agar-agar ou de gélatine, à faible ou haute concentration. Les compositions des deux couches étaient les mêmes pour 4 gels et différentes pour 6 autres gels. Les propriétés rhéologiques et granulométriques des bols avaient été caractérisées en parallèle.

Pour cette nouvelle étude, nous voulions : i) évaluer la pertinence de l'analyse de la texture d'images pour l'étude de la formation du bol à partir de gels modèles, et ii) caractériser l'influence de la composition des gels et du temps de mastication sur les propriétés des bols.

Quatre méthodes d'analyse d'images ont été comparées sur les images issues de gels de composition homogène. Trois méthodes se sont révélées pertinentes et la méthode par morphologie mathématique s'est révélée être la mieux adaptée. Appliquée à l'étude de l'impact de la composition et du temps de mastication pour les bols issus de gels hétérogènes, elle a révélé que lorsque deux couches de composition différente étaient combinées au sein d'un même gel, les propriétés du bol étaient principalement déterminées par la couche d'agar-agar. La présence de gélatine affectait davantage la dynamique de formation du bol. Ces résultats ont été en accord avec ceux obtenus au préalable par des méthodes de caractérisation physiques de ces mêmes bols.

L'analyse de la texture d'images de bols alimentaires peut ainsi être utilisée comme un outil de discrimination rapide dans les études portant sur la déstructuration d'aliments en bouche.

## Investigation of oral gel breakdown using image analysis

*Characterising the dynamics of oral food breakdown is of interest in the understanding of the temporal perception of food products. Boluses are usually characterised by their particle size distribution, salivary uptake and rheological properties. These methods may not be suitable in the case of totally or partly soft foods, due to partial fragmentation, visible particles in liquid phase. For this reason, it is convenient to examine the possible application of other analytical techniques such as artificial vision.*

*In a previous study, we built up a large collection of images of gel boluses. These boluses amounted to ten double-layer gels chewed by ten panellists for three different chewing durations. Each layer of a gel was composed either of agar-agar or gelatine, at low or at high concentrations; therefore, four gels had a homogeneous composition and six gels had a heterogeneous composition. Boluses were characterised in parallel using rheological and particle size analyses.*

*This new study aimed at (i) evaluating the application of image analysis for studying bolus formation during the chewing process, and (ii) characterising the influence of gel composition and mastication time on boluses.*

*Four methods were compared for their ability to discriminate boluses as a function of homogeneous gel composition and mastication time. Three methods were found to be relevant, and mathematical morphology provided the best results. Using this method, we further analysed the impact of heterogeneous gel composition on the evolution of bolus properties. Results showed that when two gel layers with different compositions were combined, the agar layer dominated bolus properties and the presence of gelatine impacted the dynamics of gel breakdown. The results were in agreement with previously obtained results when characterising the physical properties of the boluses.*

*This study showed that artificial vision provides reliable tools for evaluating the dynamics of bolus formation. It can be used as a rapid discrimination tool to study food oral breakdown.*

**Partenaires/Partnership:** TI Food and Nutrition, Université de Wageningen, NIZO Food Research (Pays-Bas); Data\_frame (Nantes)

**Contact:** [carole.tournier@inra.fr](mailto:carole.tournier@inra.fr) UMR CSGA CENTRE DES SCIENCES DU GOUT ET DE L'ALIMENTATION (UMR CSGA)/CENTRE FOR TASTE & FEEDING BEHAVIOUR Agrosup Dijon-CNRS-INRA-Université de Bourgogne

**En savoir plus/Read more:** Devezeaux de Lavergne, M.; Tournier, C.; Bertrand, D.; Salles, C.; van de Velde, F.; Stieger, M., Dynamic texture perception, oral processing behaviour and bolus properties of emulsion-filled gels with and without contrasting mechanical properties. *Food Hydrocolloids* (2016), 52, 648-660. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.07.022

Tournier, C.; Devezeaux de Lavergne, M.; van de Velde, F.; Stieger, M.; Salles, C.; Bertrand, D., Investigation of oral gels breakdown using image analysis. *Food Hydrocolloids* (2017), 63, 67-76. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.07.037>



## Quand le calcul thermodynamique dans les aliments est plus rapide que l'expérience : un tournant pour le 21<sup>ème</sup> siècle

Les propriétés de la matière à l'équilibre thermodynamique sont indispensables pour le développement des procédés industriels, le traitement des effluents et l'évaluation de la contamination de l'environnement et des aliments. Les données sont expérimentalement longues à acquérir, de quelques heures à plusieurs mois. Elles ont été collectées initialement au siècle dernier et font cruellement défaut pour les nouvelles applications (polymères, aliments), les nouveaux contaminants, etc. Nous avons développé un cadre général pour les calculer rapidement à l'échelle atomique dans les polymères sur la base de la seule structure chimique des espèces mises en jeu. Nous montrons que l'approche est transposable aux aliments et aux espèces polaires, y compris l'eau. L'ensemble des résultats est obtenu en quelques heures avec une précision comparable à l'expérience.

Nous utilisons des champs de force obtenus à partir de calculs quantiques. De sorte que l'ensemble de l'approche de calcul peut être considéré *ab initio* (sans aucune donnée de quelque sorte). Des calculs rapides sont obtenus en combinant calculs « force brute » à l'échelle atomique et éléments théoriques (théorie de Buff-Kirkwood, théorie des volumes libres, théorie de Flory). Nous avons détaillé les procédures de calcul des isothermes de sorption/désorption dans les principales phases amorphes d'intérêt : liquides, homo et hétéropolymères pour des solutés organiques (additifs, arômes, éthanol) et l'eau.

L'approche aujourd'hui semi-automatisée est proposée aux industriels (chimie, matériau, agroalimentaire, biotechnologie, médical, pharmaceutique) dans le cadre de la nouvelle Unité Mixte Technologique SafeMat « Matériaux sûrs » associant AgroParisTech/INRA et le LNE.

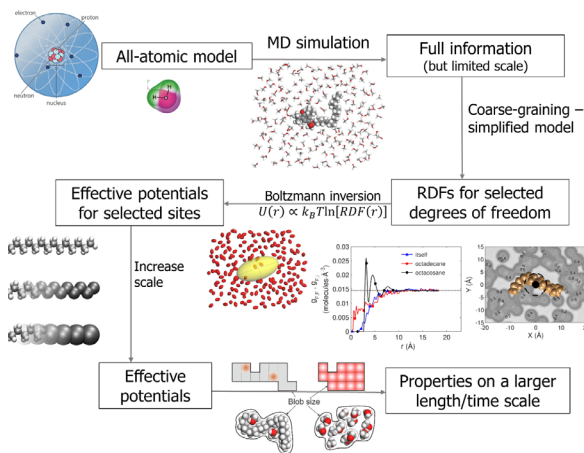
## When thermodynamic calculations in foods are more rapid than experiments: a turning point for the 21<sup>st</sup> century

The properties of matter at thermodynamic equilibrium are indispensable to the development of industrial processes, the treatment of effluents, the evaluation of the contamination of the environment and food. Their collection requires time-consuming experiments, ranging from a few hours to several months. This data was initially acquired in the last century and is severely lacking in new applications (polymers and food), new contaminants, etc. We developed a general framework for the rapid calculation at the atomic scale of these properties in polymers using only the chemical structure of the species involved. We showed that the approach is essentially transposable to foods and polar species such as water. All of the results are available in just a few hours and with a precision comparable to the experiment.

Since we use force fields obtained from quantum calculations, the whole calculation approach can be considered as *ab initio* (without any data of any kind). Rapid calculations are obtained by combining "brute force" calculations at the atomic scale with theoretical considerations (Buff-Kirkwood theory, free volume theory, Flory's theory). We detailed the calculation procedures for the sorption/desorption isotherms

in the main amorphous phases of general interest: liquids, homo- and hetero-polymers for organic solutes (additives, flavourings, ethanol) and water.

The current semi-automated approach is being proposed to different industries (chemical, material, agrifood, biotechnology, medical, pharmaceutical) within the framework of the new Joint Technological Unit: SafeMat ("Safe Materials") that includes AgroParisTech/INRA and LNE.



Approche multiéchelle générale pour le calcul des propriétés thermodynamiques / Global multiscale approach for the calculation of thermodynamic properties

Contact: [olivier.vitrac@agroparistech.fr](mailto:olivier.vitrac@agroparistech.fr) INGÉNIERIE PROCÉDÉS ALIMENTS (UMR GENIAL)/FOOD PROCESS AND ENGINEERING - AgroParisTech - INRA

### En savoir plus/read more:

Nguyen P-M, Guiga W, Dkhissi A, Vitrac O. Off-lattice Flory-Huggins approximations for the tailored calculation of activity coefficients of organic solutes in random and block copolymers. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. (2017);56:774-787.

Nguyen P-M, Guiga W, Vitrac O. Molecular thermodynamics for food science and engineering. *Food Research International*. (2017); 88, Part A:91-104.

## Les arômes du vin : du suivi en ligne à la modélisation



Le goût des consommateurs a évolué vers des vins plus souples et plus fruités. La filière œnologique demande une meilleure connaissance et maîtrise des phénomènes impliqués dans la synthèse des arômes fermentaires de type "fruits frais" au cours de la fermentation alcoolique. Nous avons développé un nouvel outil de suivi en ligne de ces composés volatils 'marqueurs' au cours de la fermentation œnologique par chromatographie en phase gazeuse. Grâce à ce dispositif, nous pouvons suivre de façon très fine la dynamique de synthèse de ces composés et effectuer des bilans complets de production de ces molécules en différenciant leur concentration dans le vin et les pertes dans le gaz éffluent (qui ne sont généralement pas prises en compte).

L'objectif de ce travail était d'utiliser cet outil pour modéliser la cinétique de formation des principaux alcools supérieurs et esters dans des situations œnologiques très contrastées obtenues en faisant varier les deux principaux facteurs environnementaux : l'azote assimilable et la température.

L'évolution des rendements de production d'arômes en cours de fermentation a été modélisée et intégrée dans un modèle antérieur prédisant la cinétique fermentaire. Nous avons ainsi obtenu un modèle dynamique (MODAPEC pour "modeling of aroma production in enological conditions") capable de prédire pour la première fois les cinétiques de production totale de cinq arômes fermentaires en fonction des conditions initiales de température et d'azote. Ce modèle conduit à des valeurs calculées très proches des données expérimentales (précision moyenne supérieure à 90 %). Il a ensuite été enrichi pour prédire également les concentrations des arômes restants dans le vin et l'énergie consommée pour la régulation de la température de fermentation.

Ce modèle complet ouvre de larges perspectives dans le développement de stratégies originales de contrôle de la fermentation alcoolique en œnologie. En particulier, son utilisation dans le cadre d'une approche d'optimisation multicritère à valider dans différents contextes œnologiques permettra d'obtenir une composition aromatique prédéterminée tout en minimisant le coût énergétique du procédé. Il sera alors possible de proposer aux vinificateurs un outil très original permettant d'orienter la fermentation vers la production d'arômes recherchés. Cela constituera un développement majeur du système de suivi en ligne des fermentations d'ores et déjà commercialisé dans différentes caves, en particulier en Champagne.

## Wine aromas: from online monitoring systems to modelling

*In recent years, consumer tastes have gradually shifted towards fruitier wines. The oenological sector demands for better knowledge and control of the phenomena underlying the synthesis of aroma compounds involved in the fruity flavour of wine during alcoholic fermentation. We developed a new online monitoring system of these volatile marker compounds throughout alcoholic fermentation using gas chromatography. With this device, we can precisely monitor the synthesis kinetics of these compounds and perform complete assessments of their production by differentiating their content in the wine and losses in the exhaust gas (which are generally not taken into account).*

*The objective of this work is to use this equipment to build a kinetic model to predict the synthesis of the major higher alcohols and esters under very different oenological conditions resulting from variations in the two main environmental parameters: assimilable nitrogen and temperature.*

*Production yields of aromas throughout the fermentation process were modelled and then integrated into an older model to predict the kinetics of the main reaction of the fermentation. We therefore obtained a kinetic model (MODAPEC for 'modelling of aroma production in enological conditions') able to predict, for the first time, the overall production kinetics of five fermentative aromas on the basis of the initial values of temperature and nitrogen. The calculated values are very close to the experimental data (average difference lower than 10%). This model has been enriched to predict the aroma concentrations remaining in wine and the energy used to regulate the temperature of fermentation. This complete model allows a global vision of the fermentation process.*

*The development of this new model opens wide perspectives in the implementation of novel strategies for the control of alcoholic fermentation in winemaking conditions. In particular, the use of this model, within the framework of a multicriteria optimisation approach, which will have to be validated in different oenological situations, makes it possible to obtain a predetermined aroma content while minimising the energy cost of the process. It will then be possible to propose a very unique tool to winemakers that would allow them to direct the fermentation process towards the synthesis of targeted aromas. This will constitute a major development of the online monitoring system of fermentations, already used in different wineries, particularly in the Champagne region.*

**Partenaires/Partnership:** GÉNIE ET MICROBIOLOGIE DES PROCÉDÉS ALIMENTAIRES (UMR GMPA)/FOOD PROCESS ENGINEERING & MICROBIOLOGY INRA, AgroParisTech; PECH ROUGE (UE PR)/PECH ROUGE EXPERIMENTAL UNIT INRA; Laboratoire d'INGÉNIERIE DES SYSTÈMES BIOLOGIQUES ET DES PROCÉDÉS (UMR LISBP)/BIOSYSTEMS AND PROCESS ENGINEERING INRA - INSA - CNRS Toulouse.

**Contact:** [jean-roch.mouret@inra.fr](mailto:jean-roch.mouret@inra.fr); [jean-marie.sablayrolles@inra.fr](mailto:jean-marie.sablayrolles@inra.fr) SCIENCES POUR L'ŒNOLOGIE (UMR SPO)/SCIENCES FOR ŒNOLOGY INRA - Montpellier SupAgro - Université Montpellier

**En savoir plus/read more:** Mouret J.R., Camarasa C., Angenieux M., Aguera E., Perez M., Farines V. and Sablayrolles J.M. (2014). Kinetic analysis and gas-liquid balances of the production of fermentative aromas during winemaking fermentations: Effect of assimilable nitrogen and temperature. *Food Res. Int.* 62: 1-10. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.02.044

Mouret J.R., Farines V., Sablayrolles J.M. and Trelea I.C. (2015). Prediction of the production kinetics of the main fermentative aromas in winemaking fermentations. *Biochem. Eng. J.* 103: 211-218. DOI: 10.1016/j.bej.2015.07.017



*Des  
procédés de  
transformation  
plus efficaces*

*More efficient  
processes*

## Maîtriser l'encrassement des échangeurs de chaleur en contrôlant leur conduite et la réactivité des solutions

L'encrassement des échangeurs de chaleur à plaques (ECP) dans l'industrie laitière affecte les performances de l'opération de pasteurisation en limitant le transfert de chaleur, en augmentant les pertes de charge et donc la fréquence de nettoyage. La  $\beta$ -lactoglobuline ( $\beta$ -lg), protéine soluble majeure du lait de vache, contribue à la formation des dépôts encrassants à une température inférieure à 110°C. Ce mécanisme est cependant mal connu, notamment en ce qui concerne la contribution des réactions compétitives de dépliement et d'agrégation de la  $\beta$ -lg et le rôle des minéraux en solution.

Nous avons voulu établir les liens entre composition des solutions protéiques et encrassement des échangeurs et évaluer les impacts environnementaux du nettoyage et de la pasteurisation. En s'appuyant sur les constantes cinétiques de dénaturation des solutions protéiques à pH neutre et sur la connaissance du profil thermique appliqué au sein de l'ECP, les distributions de concentrations des différentes espèces de  $\beta$ -lg (native, dépliée et agrégée) ont été simulées dans chaque canal de l'ECP puis corrélées à la distribution de masse de dépôt sec formé en zone de chauffe. Enfin, ces dépôts ont été analysés par microsonde rayons X.

La croissance du dépôt est directement liée à la présence au sein de la veine fluide de protéines dépliées et de calcium (ionique, sels de phosphate) qui fixent les protéines et forment avec elles des co-précipités stables. La concentration en calcium affecte également la cinétique de dénaturation thermique des protéines. Ainsi, la formation de dépôt est plus rapide et la structure des couches encrassantes est plus lâche lorsque la teneur en calcium ionique et le ratio molaire calcium / protéine augmentent. Enfin, à teneur fixée en calcium, la masse de dépôt sec dans chaque canal de l'ECP a pu être corrélée au ratio des constantes de dénaturation et d'agrégation. Il a été également établi que les impacts environnementaux reposaient à part égale sur le nettoyage et la conduite de l'opération de pasteurisation proprement dite.

Ces résultats montrent que les mécanismes de croissance du dépôt impliquent principalement l'environnement minéral et la réactivité des solutions. Ils ouvrent la voie à un contrôle de la formation de l'encrassement passant par la libération des espèces dépliées dans des zones non critiques de l'ECP, garant d'un process plus performant et à impact environnemental limité.

## Controlling the fouling of plate heat exchangers through their operation mode and the solution's reactivity

*The fouling of plate heat exchangers (PHE) in the dairy industry strongly affects the performances of pasteurisation by decreasing the rate of heat transfer, increasing pressure drops and of course, cleaning frequency. It is known that  $\beta$ -lactoglobulin ( $\beta$ -lg), the major whey protein, plays a key role in the constitution of fouling deposits at temperatures below 110°C. However, the underlying mechanisms are far from being fully understood, in particular, regarding the contribution of the competitive  $\beta$ -lg unfolding and aggregation reactions and the influence of the mineral environment. Our studies aimed at: (i) establishing the relationships between the composition of the protein solution and the fouling of the PHE; and (ii) assessing the environmental impacts of both cleaning and pasteurisation.*

*By considering both the denaturation kinetic constants of the protein solution at neutral pH and the temperature profile of the PHE, the distribution of the different  $\beta$ -lg species (native, unfolded and aggregated) were calculated along the PHE channel and then correlated with the dried fouling deposit mass distribution that was experimentally measured. These fouling deposits were then analysed by Electron Probe Micro Analysis.*

*Fouling deposit growth is directly correlated to the presence in the PHE channel of  $\beta$ -lg unfolded species and calcium (ionic, phosphate form), which bind the proteins and form stable co-precipitates. The calcium content also influences the thermal denaturation kinetics of proteins. Thus, faster fouling deposit formation and less dense deposit structure are concomitant with increasing calcium content and calcium/protein molar ratio. Finally, for a given calcium content, the dry deposit mass in each channel of the PHE could be correlated to the constant ratio of the unfolding-to-aggregation kinetics. The environmental impact is shown to be equally due to the conduct of the PHE operation and the cleaning step.*

*These results clearly show that the fouling deposit growth mechanisms mainly involve the mineral environment and the solution reactivity. They pave the way for new operating modes by forming the unfolded protein species far from the critical zones of the PHE, more efficient and with lower environmental impacts.*

**Partenaires/Partnership:** INRA – AgroCampus Ouest Rennes SCIENCE ET TECHNOLOGIE DU LAIT ET DE L'ŒUF (UMR STLO)/ SCIENCE & TECHNOLOGY OF MILK & EGG

**Contact:** [Guillaume.delaplace@inra.fr](mailto:Guillaume.delaplace@inra.fr), Matériaux ET TRANSFORMATIONS (UMR UMET)/MATERIALS AND TRANSFORMATIONS - CNRS – Université de Lille 1 – Ecole nationale supérieure de Chimie – INRA

**En savoir plus/read more:** Khaldi M., Ronse G, André C, Blanpain-Avet P, Bouvier L, Six T., Bornaz S., Croguennec T, Jeantet R. and Delaplace G. "Denaturation kinetics of whey protein isolate solutions and fouling mass distribution in a plate heat exchanger". International Journal of Chemical Engineering, [http://dx.doi.org/10.1155/2015/139638Blanpain-Avet\\_P.,\\_C.\\_André,\\_M.\\_Khaldi,\\_L.\\_Bouvier,\\_J.\\_Petit,\\_T.\\_Six,\\_R.\\_Jeantet,\\_T.\\_Croguennec,\\_G.\\_Delaplace.\\_\(2016\).](http://dx.doi.org/10.1155/2015/139638Blanpain-Avet_P.,_C._André,_M._Khaldi,_L._Bouvier,_J._Petit,_T._Six,_R._Jeantet,_T._Croguennec,_G._Delaplace._(2016).) Predicting the distribution of a whey protein fouling in a plate heat exchanger using the kinetic parameters of the thermal denaturation reaction of  $\beta$ -lactoglobulin and the bulk temperature profiles. Journal of Dairy Science 99, 9611-9630, <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-10957>



## Accroître la survie des probiotiques au séchage en stimulant leur adaptation aux stress

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) définissent les probiotiques comme des « micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé ». Ce sont donc des bactéries bénéfiques pour la santé que l'on retrouve dans divers produits de l'alimentation humaine ou animale. Mais les procédés de stabilisation nécessaires à leur diffusion sont soit efficaces mais coûteux en énergie (ex. lyophilisation), soit plus éco-efficaces mais susceptibles de diminuer la viabilité des probiotiques (ex. séchage par atomisation).

Nous avons imaginé un procédé simplifié et peu coûteux maintenant un niveau de viabilité proche de celui obtenu par lyophilisation. Le procédé classique nécessite une première étape de culture du micro-organisme sur un milieu optimisé (souvent non alimentaire), suivie d'un rinçage et d'une remise en suspension dans un nouveau milieu avant déshydratation. Le nouveau procédé consiste à sécher directement le milieu de culture par atomisation. En plus du gain de productivité, cette simplification élimine tout risque de contamination aux étapes intermédiaires. Testé sur deux bactéries probiotiques, l'une fragile (*Lactobacillus casei*) et l'autre robuste (*Propionibacterium freudenreichii*), le procédé a démontré une efficacité comparable à celle d'un séchage par lyophilisation, avec des taux de survie respectifs de l'ordre de 40-50 % et de 100 %. Le milieu de culture développé utilise du lactosérum doux, abondant et peu coûteux. La concentration en matière sèche de ce milieu, de 20 à 30 % (p/p) d'extrait sec, a été optimisée afin d'obtenir un effet protecteur vis-à-vis des bactéries lors du séchage par atomisation. De plus, une osmo-adaptation des bactéries par accumulation de solutés compatibles (tréhalose, polyphosphates) conduit à une tolérance accrue à différents stress, dont le stress thermique, et maximise la survie après séchage. La stabilité des micro-organismes dans le temps a été vérifiée à 4 et 6 mois, avec des résultats comparables à ceux d'une lyophilisation.

Ce nouveau procédé permet une production continue à des coûts énergétiques de 20 à 40 fois inférieurs à ceux de la lyophilisation. Il est particulièrement adapté à la production de bactéries probiotiques destinées à la santé animale offrant ainsi une alternative aux antibiothérapies et une réponse efficace, éthique, économique et durable aux problèmes conjoints de rentabilité de production et de sécurité sanitaire. Le secteur de l'alimentation humaine est aussi une voie de valorisation pour la production en masse de probiotiques destinés à des produits de consommation courante.

## Enhancing the viability of spray-dried probiotic bacteria by stimulating their stress tolerance

The World Health Organization (WHO) and the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) officially defined probiotics as "live microorganisms which when ingested in adequate amounts confer a health benefit to the host". Although they are generally associated with dairy products, they are found today in a wide variety of human foods and animal feeds. However, their manufacture requires production and storage processes that are costly, such as freeze-drying or that are likely to alter the structural and functional integrity of cells, such as atomisation and fluidisation.

We designed a simplified and energy-efficient process that maintained bacteria viability close to that of freeze-drying. Unlike the regular process that requires an initial culture stage for the microorganism on an optimum medium (frequently, non-food grade), followed by rinsing and re-suspension in a new medium before dehydration, the new process consists of direct spray-drying of the culture medium. In addition to a gain in productivity, this simplification eliminates risks of contamination at the intermediate stages. Challenged on two probiotic strains, one fragile (*Lactobacillus casei*) and the other robust (*Propionibacterium freudenreichii*), this process has demonstrated an efficiency comparable to that of freeze-drying, with respective survival rates of around 40-50% and 100%. The nutrient medium developed utilises whey, which is abundant and inexpensive. The dry matter concentration of this medium, in the range of 20 to 30% (w/w) dry matter, has been optimised in order to protect bacterial cells during atomisation. Indeed, we showed that hyperconcentrated sweet whey as a culture medium led to bacteria osmoadaptation through the accumulation of compatible solutes (trehalose, polyphosphate), triggering multistress tolerance and enhanced survival upon spray-drying. The stability of microorganisms over time has also been verified at 4 and 6 months, with results comparable to those of freeze-drying.

This innovative process makes it possible to produce dry probiotics in a continuous mode and at 20 to 40 times lower energy costs than freeze-drying. This patented process appears to be particularly well suited to producing probiotics for animal feeds. Probiotics could thus offer an alternative to antibiotic therapy and constitute an efficient, ethical, economical and sustainable response to the issues of profitability and animal health. The food sector could also provide the opportunity to mass produce probiotics intended for everyday consumer use.

**Contact:** [Romain.Jeantet@agrocampus-ouest.fr](mailto:Romain.Jeantet@agrocampus-ouest.fr); [Gwenael.Jan@inra.fr](mailto:Gwenael.Jan@inra.fr) - INRA – AgroCampus Ouest Rennes SCIENCE ET TECHNOLOGIE DU LAIT ET DE L'ŒUF (UMR STLO) / SCIENCE & TECHNOLOGY OF MILK & EGG

**En savoir plus/read more:** - Huang S, Cauty C, Dolivet A, Le Loir Y, Chen XD, Schuck P, Jan G, Jeantet R. (2016). Double use of highly concentrated sweet whey to improve the biomass production and viability of spray-dried probiotic bacteria. *Journal of Functional Foods*, 23, 455-463 DOI: 10.1016/j.jff.2016.02.050

- Huang S, Rabah H, Jardin J, Briard-Bion V, Parayre S, Maillard MB, Le Loir Y, Chen XD, Schuck P, Jeantet R, Jan G. (2016). Hyperconcentrated sweet whey, a new culture medium that enhances *Propionibacterium freudenreichii* stress tolerance. *Applied Env Microbiol*, 82, 4641-4651 DOI: 10.1128/AEM.00748-16  
Method for preparing a probiotic powder using a two-in-one whey-containing nutrient medium. Demande de brevet déposée en Europe le 21 septembre 2015 sous le n° EP 15 306465.4. Inventeurs : Jeantet R, Huang S, Jan G, Schuck P, Le Loir Y, Chen XD (2016).

## Stockactif : des champignons pour prétraiter la biomasse lignocellulosique

Le principe de ce projet est d'utiliser la période comprise entre la récolte de la biomasse lignocellulosique (paille, tiges, bois, ...) et son utilisation en usine afin de mettre en œuvre des processus biologiques pour dégrader la lignine et ainsi faciliter la transformation industrielle de cette biomasse pour des applications énergétiques (biogaz, biocarburants) ou chimiques (bioraffinerie).

Notre objectif était d'identifier un ou des champignon(s) filamenteux et la façon de les utiliser pour accélérer les phénomènes naturels pendant le stockage (quelques semaines) sans perdre le potentiel d'utilisation final de la matière première. La principale question scientifique était donc de contrôler la balance entre la transformation de la lignine et celle des sucres durant le stockage. Pour passer à l'application pratique, il fallait ensuite trouver une solution permettant de faire agir les champignons sélectionnés à grande échelle et en milieu ouvert non stérile.

Les recherches à l'échelle du laboratoire ont permis d'identifier une souche de champignon (parmi environ 175 testées) présentant des caractéristiques particulières de dégradation de la lignine et de définir ses conditions optimales d'utilisation. A l'échelle du laboratoire, nous avons mis au point de nouvelles méthodes et/ou équipements pour mesurer les ratios de transformation lignines/sucres, ainsi que pour caractériser l'aptitude au broyage des substrats transformés.

Les essais à plus grande échelle ont montré la possibilité de réaliser le prétraitement « Stockactif » (la souche et la méthode ont été brevetées) en utilisant un « levain » à l'état solide. Les essais de mise au point d'un procédé de production du levain à l'échelle de plusieurs centaines de kg ont permis d'identifier les points-clés du compromis à trouver.

Les bilans technico-économiques réalisés dans l'hypothèse d'unités de taille industrielle montrent des surcoûts d'investissement relativement faibles (quelques %) mais qui ne sont pas rapidement compensés par une diminution des frais de fonctionnement. Du point de vue environnemental, les résultats sont contrastés, avec une nette amélioration des critères de l'ACV pour la voie éthanol et une légère dégradation pour la voie biogaz, qui est déjà intrinsèquement performante. En conséquence, le procédé semble plutôt adapté à des matières premières particulièrement récalcitrantes.



Croissance de cinq souches de champignons sur paille de blé (témoin à gauche)/ Growth of five fungi strains on wheat straw (control sample on the left).

## Stockactif: filamentous fungi to speed up the natural degradation process of lignocellulosic biomass

*The idea underlying this project is to use the time between the harvesting of lignocellulosic biomass (straw, stalks, wood, etc.) and its use in a factory to implement biological processes able to degrade lignin and to facilitate the industrial transformation of this biomass for energy (biogas and biofuels) and chemical (biorefinery) applications.*

*Our aims were to identify one or several filamentous fungi and to determine how to use them to speed up the natural degradation process at the storage scale (a few weeks), without losing the final potential uses of the raw material. The main scientific question was therefore how to control the balance between the transformation of lignin and that of sugars during storage. In order to develop practical applications, it was then necessary to find a solution enabling the selected fungi to act on a large scale and in an open non-sterile medium.*

*Laboratory scale research made it possible to identify a fungus strain (out of some 175 tested) with specific lignin degradation characteristics and to define its optimal conditions of use. This step led us to develop new methods and/or equipment for measuring lignin/sugar conversion ratios as well as for characterising the mechanical properties of the processed substrates.*

*Larger scale trials demonstrated the feasibility of performing Stockactif pretreatment using a solid state "leavening starter". This strain and the method of use have been patented. Experiments on the development of a leavening process at the scale of several hundred kilograms made it possible to identify the key points of the compromise to be defined at this scale.*

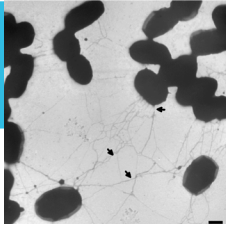
*The technical-economic balance computations carried out under the assumption of industrial size units show relatively low investment costs (a few %) that will not be compensated quickly, however, by a reduction in operating costs. From an environmental point of view, the results are contrasted, with a clear improvement of the LCA criteria for the ethanol route and a slight degradation for the biogas route, which is already intrinsically efficient. Accordingly, the process appears to be suitable for particularly recalcitrant raw materials.*

**Partenaires/Partnership:** Recherche publique: FRACTIONNEMENT DES AGRO-RESSOURCES ET ENVIRONNEMENT (UMR FARE)/FRACTIONATION OF AGRICULTURAL RESOURCES & ENVIRONMENT INRA – Université de Reims Champagne Ardenne, UR LBE, UMR IATE, UMR BBF, UMR ECOSYS. Entreprises privées: Envolution, Solagro, Vivescia, Ets Soufflet

**Contact:** [jean.taye@inra.fr](mailto:jean.taye@inra.fr) FRACTIONNEMENT DES AGRO-RESSOURCES ET ENVIRONNEMENT (UMR FARE)/FRACTIONATION OF AGRICULTURAL RESOURCES & ENVIRONMENT INRA – Université de Reims Champagne Ardenne

**En savoir plus/Read more:** Zhou S.M., Raouche S., Grisel S., Navarro D., Sigoiilot J.C., Herpoulet-Gimbert I. (2015). Solid-state fermentation in multi-well plates to assess pretreatment efficiency of rot fungi on lignocellulose biomass. *Microbial Biotechnology*, 8 (6), 940-949. DOI : 10.1111/1751-7915.12307

Rouches E., Dignac M.F., Zhou S., Carrere H. (2017). Pyrolysis-GC-MS to assess the fungal pretreatment efficiency for wheat straw anaerobic digestion. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 123, 409-418. DOI : 10.1016/j.jaap.2016.10.012



Microscopie électronique à transmission de lactocoques de la souche IL1403 Pili exprimant des pili (flèches). Barre d'échelle, 500 nm. Illustration tirée de la revue PlosOne / Lactococcus strain IL1403 by Transmission Electron Microscopy expressing pili (arrows). Scale 500nm. From PlosOne

## Le pouvoir adhésif de *Lactococcus lactis* : une histoire tirée par les « pili » ?

Au moyen d'un faisceau laser, il est possible de manipuler une protéine à la surface d'une bactérie vivante et de l'étirer jusqu'à son point de rupture. De précieuses informations sur la structure dynamique de la macromolécule telle que l'élasticité mais aussi sa conformation lorsqu'elle est soumise à une force de l'ordre du piconewton (1 millionième de millionième de Newton) peuvent ainsi être obtenues. Nous avons développé une pince optique pour manipuler des objets à l'échelle du micron (1 millionième de mètre) afin de mesurer des forces infimes. Nous nous sommes penchés sur la structure du pilus (pluriel : pili), une protéine sécrétée à la surface d'une bactérie *Lactococcus lactis* et impliquée dans l'adhésion à une surface. Cette bactérie rencontrée majoritairement dans le milieu laitier a la capacité de former des communautés, les biofilms, qui sont un véritable enjeu pour la sécurité sanitaire des aliments.

Il a été démontré qu'en condition statique, les pili seraient impliqués dans l'auto-agrégation et la structuration du biofilm. Pour comprendre en détail le rôle des pili dans ce processus, nous nous sommes focalisés sur l'influence des différentes pilines et de la sortase C sur (i) le rôle adhésif et (ii) les propriétés nanomécaniques des pili. Nos résultats montrent le rôle primordial des pili dans l'adhésion de *L. lactis* sur une surface polymère. La sortase C est en outre indispensable pour que s'opère cette capacité à résister à un écoulement cisailé. Les expériences d'étirement ont confirmé ce résultat et apporté des données d'extrême flexibilité de la protéine, bien supérieures à celles d'un brin d'ADN.

Une meilleure compréhension des conditions qui gouvernent la colonisation de surfaces biotiques (par ex. le tractus intestinal) ou abiotiques (par ex. machine à traire, planches d'affinage) constitue un réel enjeu socio-économique. La compréhension de la nanomécanique des pili et de leur importance dans l'adhésion des lactocoques apporte des éléments sur le rôle possible joué par les lactocoques dans la formation de biofilms. A terme, ce type de biofilms permettrait de lutter contre les sources pathogènes (par exemple *Listeria*) mais aussi contre les flores d'altération pour proposer des solutions de biopréservation alimentaire.

## To stick or not to stick? Pulling pili sheds new light on biofilm formation

It is now possible to open the doors of the nano-world with a single laser beam. Since the last decade, it has been possible to manipulate and pull a single macromolecule on the surface of a living bacterium until it breaks. These types of experiments produce relevant information regarding biomechanical properties such as elasticity or conformation when exposed to an external force in piconewtons (pN, one trillionth of a Newton).

We have focused on the structure of pili (sing. pilus). A pilus is a protein secreted by a bacterium at its surface and highly involved in the adhesion process. In this study, pili were produced by *Lactococcus lactis* - a widely used bacterial species in the dairy industry - that has the ability to form communities referred to as biofilms. Battling biofilm formation in the agro-food industry is challenging for food safety. To address this issue, optical tweezers have been designed in our laboratory and make it possible to manipulate micrometer-sized objects (one millionth of a meter) and to quantify minute forces ( $10^{12}$  Newtons).

It has been demonstrated that under static conditions, pili are involved in self-aggregation and modify the architecture of a growing biofilm. To provide a deeper understanding of the role played by pili in biofilm formation, we focused on the influence of different pilins and sortase C on (i) the adhesion of cells to surfaces under dynamic conditions, and (ii) the nanomechanical properties of pili using single-molecule force spectroscopy.

We have reported that the presence of pili drastically increased the adhesion properties of *L. lactis* on polymeric surfaces and that sortase C was mandatory for cells to sustain shear flow. Force spectroscopy experiments confirmed these requirements and provided data showing extreme flexibility of the pili, much more than DNA strands.

A better understanding of the conditions that determine the bacterial colonisation of biotic (e.g., intestinal tract) or abiotic (e.g., milking machine) surfaces remains a major socio-economic issue. Deciphering the nanomechanics of pili and their importance in the adhesion of lactococci makes it possible to provide the elements necessary to understand the possible role that they play in the formation and structuring of biofilms. Eventually, this type of biofilm would make it possible to combat pathogens (e.g., *Listeria*) as well as spoilage flora, in order to ultimately suggest new solutions for food biopreservation.

**Partenaires/Partnership:** Jean-Christophe Piard, Institut MICALIS; Muriel Mercier-Bonin, Toxalim.

**Contacts:** [mickael.castelain@insa-toulouse.fr](mailto:mickael.castelain@insa-toulouse.fr) Laboratoire d'INGÉNIERIE DES SYSTEMES BIOLOGIQUES ET DES PROCÉDÉS (UMR LISBP)/BIOSYSTEMS AND PROCESS ENGINEERING INRA - INSA - CNRS Toulouse.

**En savoir plus/read more:** Castelain M, Duviau MP, Canette A, Schmitz P, Loubiere P, Coccagn-Bousquet M, et al. (2016) The Nanomechanical Properties of *Lactococcus lactis* Pili Are Conditioned by the Polymerized Backbone Pilin. *PLoS One* 11 (3): e0152053. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0152053>

Castelain M, Duviau MP, Oxaran V, Schmitz P, Coccagn-Bousquet M, Loubiere P, et al. (2016) Oligomerized backbone pilin helps pilated *Lactococcus lactis* to withstand shear flow. *Biofouling* 32 (8): 911-923. doi: 10.1080/08927014.2016.1213817

## Un nouvel outil pour suivre en ligne la structuration de la pâte à pain

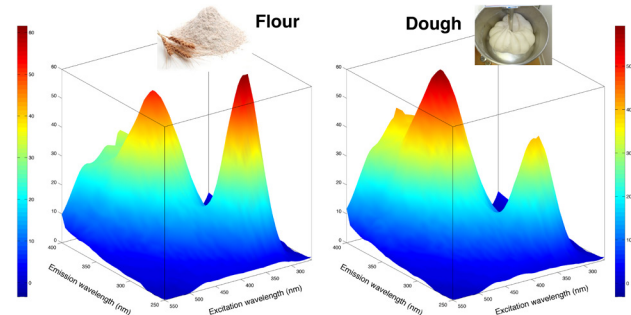
Notre travail répond à une demande des professionnels de la filière boulangère pour disposer d'un outil permettant la détermination automatisée de l'optimum de pétrissage lors de la fabrication d'une pâte à pain, opération réalisée manuellement à plusieurs reprises. La détection automatisée de cet optimum permettrait au boulanger de déployer son expertise vers une activité à plus forte valeur ajoutée et favoriserait l'innovation dans la filière.

Ce travail avait deux objectifs principaux : (i) revisiter le champ des connaissances biochimiques sur la structuration de la pâte à pain par voie spectroscopique, de manière beaucoup plus rapide et selon une mise en œuvre opératoire simplifiée ; (ii) développer une méthode transposable sur un dispositif optique à capteurs de taille réduite applicable à une mesure en ligne.

Nous avons utilisé la spectroscopie de fluorescence frontale pour suivre le développement de la pâte en fonction de la formulation et du temps de pétrissage. À l'aide de l'analyse en composantes indépendantes, appliquée aux spectres de fluorescence complets, nous avons extrait des signaux chimiquement interprétables reflétant la contribution complexe de plusieurs fluorophores dans leur environnement. Nous avons ensuite mis au point les conditions expérimentales idoines pour étudier l'effet de la formulation sur la cinétique de formation de la pâte.

Nous entendons poursuivre ce travail en intégrant l'expertise pratique boulangère (notations sensorielles) afin d'aller vers un modèle semi-empirique d'évaluation du temps optimum de pétrissage et d'avancer dans la conception d'un dispositif à capteurs.

En termes d'impact, notre dispositif modifierait en profondeur les pratiques du secteur boulangerie-viennoiserie-pâtisserie industriel.



Fluorescence frontale 3D (spectres bruts) : farine (à g.) et pâte (à dr.) : contrôle après 8 min de pétrissage/3D frontal fluorescence (basic spectra) : flour (left) and dough (right) control after 8 min kneading

## A new tool for online monitoring of bread dough structure

Our work addresses the demand of professionals in the baking field to develop a tool that will allow the automated determination of optimum kneading during dough formation, conducted today by manual evaluation. Automatic detection of optimum kneading will allow the baker to devote his expertise to higher added-value activities and thus promote innovation in the baking field. However, at this time, there is no automated tool capable of conducting this assessment during dough formation.

This work had two primary objectives. Firstly, we wanted to review and consolidate the field of biochemical knowledge on bread dough structure using spectroscopic means, both faster and under simplified operating conditions. Secondly, we aimed to develop a method that could be transposable to an optical device of reduced size with sensors for on-line measurement.

We used frontal fluorescence spectroscopy to monitor dough development according to formulation and kneading time. Using independent component analysis applied to complete fluorescence spectra, we extracted chemically interpretable signals that reflected the complex contribution of several fluorophores in their environment. We developed suitable experimental conditions for studying the effects of formulation on the kinetics of dough formation. We are now able to understand the operating conditions that can lead to the development of a system with on-line fluorescence sensors.

A simple fluorescence measurement will be needed to monitor several biochemical markers (gluten, protein aggregation, appearance of linoleic acid or ferulic acid oxidation derivatives) and to assess dough formation.

We wish to continue the work undertaken by integrating the practical baking expertise (sensory notes) in order to move towards a semi-empirical model of optimal kneading time and to progress in the design of the sensor device.

In terms of impact, our system would deeply modify the practices of the French BVP (bakery and pastry) sector.

**Partenaires/Partnership:** Chopin SA

**Contact:** [christophe.cordella@agroparistech.fr](mailto:christophe.cordella@agroparistech.fr) ; [rebeca.garcia@lecnam.net](mailto:rebeca.garcia@lecnam.net) ; INGÉNIERIE PROCÉDÉS ALIMENTS (UMR GENIAL)/FOOD PROCESS AND ENGINEERING - AgroParisTech - INRA

**En savoir plus/Read more:** Garcia, R.; Boussard, A.; Rakotozafy, L.; Nicolas, J.; Potus, J.; Rutledge, D. N.; Cordella, C. B. Y., 3D-front-face fluorescence spectroscopy and independent components analysis: A new way to monitor bread dough development. *Talanta* (2016), 147, 307-314.

Boussard, A.; Cordella, C.B.Y.; Rakotozafy, L.; Moulin, G.; Buche, F.; Potus, J.; Nicolas, J., Use of chemometric tools to estimate the effects of the addition of yeast, glucose-oxidase, soybean or horse bean flours to wheat flour on biochemical bread dough characteristics, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* (2012), 113, 68-77



## Des barèmes de pasteurisation modérés des ovoproduits optimisent leurs propriétés fonctionnelles tout en préservant leur qualité nutritionnelle

L'industrie alimentaire utilise largement les ovoproduits (œuf entier, jaune ou blanc) sous forme liquide ou en poudre. Ces produits sont pasteurisés ou étuvés afin d'assurer leur sécurité sanitaire et parfois pour accroître leurs fonctionnalités. Les procédés utilisés modifient la structure des protéines, impactant ainsi les propriétés fonctionnelles. Mais qu'en est-il de la qualité nutritionnelle et de l'antigénicité de ces produits ?

Nous avons étudié l'effet de ces traitements avec l'objectif d'identifier les conditions optimales préservant l'ensemble des qualités fonctionnelles et nutritionnelles de l'œuf en utilisant les barèmes de pasteurisation de l'œuf entier liquide et d'étuvage de la poudre de blanc d'œuf utilisés en industrie.

- Concernant l'œuf entier liquide pasteurisé, la digestibilité *in vitro* des protéines augmente après pasteurisation jusqu'à 10 min à 60°C, ou 4 min à 62°C. Mais l'impact sur l'antigénicité dépend fortement de la protéine considérée : elle diminue pour le lysozyme dès 64°C, alors qu'elle augmente pour l'ovotransferrine à partir de 66°C.

- Pour les poudres de blanc d'œuf, la digestibilité *in vitro* des protéines augmente avec le barème d'étuvage au-delà de 2 jours à 70°C. Quant à l'antigénicité des protéines, elle diminue pour le lysozyme dès lors que la poudre est étuvée, mais elle augmente pour l'ovotransferrine dans le cas des étuvages intenses (supérieurs à 2 jours à 80°C).

A l'aide d'une étude multifactorielle, nous avons ensuite déterminé les conditions de traitements thermiques offrant les meilleurs compromis. Ainsi, dans le cas de l'œuf entier liquide, une pasteurisation d'intensité modérée (4 à 10 min à 60°C) améliore les propriétés émulsifiantes et la digestibilité *in vitro* des protéines sans augmenter leur antigénicité. De même, pour les poudres de blanc d'œuf, des traitements d'étuvage modérés (2 à 5 jours à 70°C ou 1 à 2 jours à 80 ou 90°C) améliorent les propriétés interfaciales tout en préservant la digestibilité des protéines sans augmenter leur antigénicité.

Grâce à cette étude, les fabricants d'ovoproduits disposent de données objectives pour optimiser leurs traitements thermiques afin de concilier sécurité sanitaire, propriétés fonctionnelles et nutritionnelles tout en limitant l'antigénicité.



## Mild heat treatments of egg products optimise interfacial properties while preserving nutritional quality

When eggs are required for food formulation, food manufacturers buy ready-to-use egg products, i.e., whole egg, egg yolk or egg white, in liquid or powder form. These products are pasteurised or dry heated to ensure food safety and to sometimes functionalise them. However, these processes modify egg protein structure that can, in turn, modify their functional properties. What about the nutritional quality and antigenicity of these products?

We studied the effect of industrial heat treatments on the nutritional quality of egg products and on antigenicity, with the aim to find optimal heat treatment conditions. The time-temperature rates tested in this study for both liquid whole egg pasteurization and egg white powder dry-heating were chosen to cover industrial practices.

- For pasteurised liquid whole egg, the proteins' *in vitro* digestibility was improved by pasteurisation at under 64°C, whereas the effect on protein antigenicity strongly depended on the protein considered: lysozyme antigenicity decreased for pasteurization at over 64°C, whereas ovotransferrin antigenicity increased as of 66°C.

- For egg white powder: the proteins' *in vitro* digestibility was improved by dry-heating over 2 days at 70°C, lysozyme antigenicity decreased as long as egg white powder was dry heated, whereas ovotransferrin antigenicity increased for dry-heating treatments longer than 2 days at 80°C.

Using a multifactorial study, we determined the optimum heat treatment conditions. Low pasteurisation treatments of liquid whole egg (from 4 to 10 min at 60°C) improve emulsifying properties, protein *in vitro* digestibility and decrease or do not change protein antigenicity. Similarly, mild dry-heating treatments of egg white powders (2 to 5 days at 70°C or 1 to 2 days at 80 or 90°C) improve egg white foaming properties while preserving protein *in vitro* digestibility and without enhancing protein antigenicity.

Thanks to this study, egg product manufacturers now have new objective results for optimising heat treatments in order to reconcile food safety, functional and nutritional properties, while limiting antigenicity.

**Partenaires/Partnership :** BIOPOLYMERES, INTERACTIONS, ASSEMBLAGES (UR BIA)/BIOPOLYMERS, INTERACTIONS, ASSEMBLIES INRA Angers-Nantes; ANR Ovonutrial ANR 07-PNRA-0023

**Contact :** [valerie.lechevalier@agrocampus-ouest.fr](mailto:valerie.lechevalier@agrocampus-ouest.fr), [francoise.nau@agrocampus-ouest.fr](mailto:francoise.nau@agrocampus-ouest.fr) INRA – AgroCampus Ouest Rennes SCIENCE ET TECHNOLOGIE DU LAIT ET DE L'ŒUF (UMR STLO)/ SCIENCE & TECHNOLOGY OF MILK & EGG

**En savoir plus/read more :** Lechevalier V, Guerin-Dubiard C, Anton M, Beaumal V, David Briand E, Gillard A, Le Gouar Y, Musikaphun N, Pasco M, Dupont D, Nau F. (2017) Effect of dry heat treatment of egg white powder on its functional, nutritional and allergenic properties. *J. Food Eng.* 195, 40-51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.09.022>

Lechevalier V, Guerin-Dubiard C, Anton M, Beaumal V, David Briand E, Gillard A, Le Gouar Y, Musikaphun N, Tanguy G, Pasco M, Dupont D, Nau F. (2017) Pasteurisation of liquid whole egg: optimal heat treatments in relation to its functional, nutritional and allergenic properties. *J. Food Eng.* 195, 137-149. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.10.007>

Pour aider nos partenaires socio-économiques à accéder plus facilement aux informations relatives à notre expertise, l'INRA a défini des domaines d'innovation. Le département CEPIA est désormais responsable de deux d'entre eux / To help socioeconomic partners to better identify and locate our expertise, INRA has defined innovation areas. CEPIA is now heading two of these:

### Bioraffinerie et Produits Biosourcés

Le cœur de ce domaine porte sur l'utilisation de la biomasse comme matière première pour l'élaboration de produits biosourcés.

Convaincu que la durabilité, le principe de cascades et le concept d'économie circulaire sont des éléments clés de la transition vers la bioéconomie, l'INRA est de plus en plus actif dans ce domaine. Notre expertise couvre (i) la caractérisation de différentes ressources en biomasse à la fois d'origine végétale et animale, (ii) le développement de technologies compatibles avec la bioéconomie, telles que les bioprocédés et celles faisant appel à la chimie verte, (iii) la conception d'itinéraires de transformation conduisant à l'obtention de produits biosourcés répondant à de multiples critères de qualité.

Dans ce cadre, les travaux de l'INRA portent sur une large gamme de ressources en biomasse et en produits finalisés, tels que les biocarburants, les produits chimiques, les polymères et matériaux biosourcés, ainsi que d'autres composés pour des applications spécifiques.

Chargée de Partenariat Innovation : [Isabelle.Maillet@inra.fr](mailto:Isabelle.Maillet@inra.fr)



### Biorefinery & Biobased Products

The focus of this innovation area is the use of biomass as sustainable raw materials for biobased products manufacture.

Convinced that sustainability, cascading and circular economy concepts are key elements of the bioeconomy transition, INRA is increasingly active in this field. Our expertise covers (i) the characterization of different types of plant and animal-derived biomass, (ii) the development of bioeconomy-compatible technologies, such as bioprocesses and green chemistry, (iii) the design of processing itineraries allowing the manufacture of products that satisfy multiple quality criteria.

Within the scope of this area, INRA works on a wide range of biomass resources for the production of various target products, including biofuels, chemicals, biobased polymers and materials and other speciality compounds.

Business Developer: [Isabelle.Maillet@inra.fr](mailto:Isabelle.Maillet@inra.fr)

### Procédés alimentaires et aliments durables

Ce domaine recouvre des démarches d'optimisation des qualités sanitaire, sensorielle, nutritionnelle et fonctionnelle des aliments et des emballages, intégrant les préoccupations de durabilité environnementale et organisationnelle.

En effet, la construction de la qualité des aliments implique une prise en compte de l'ensemble de la chaîne du champ au consommateur : depuis les caractéristiques spécifiques du produit agricole (végétal ou animal), sa stabilisation (première transformation), sa mise en oeuvre (seconde voire troisième transformation) par des procédés déterminés et s'enchaînant d'une façon aussi écoconçue que possible, avec l'apport d'ingrédients permettant d'atteindre les caractéristiques souhaitées de l'aliment fini.

Dans le cadre de ce domaine les actions seront principalement ciblées sur les opérations de transformation, éventuellement biotechnologiques.

Chargée de Partenariat Innovation : [Catherine.Renard@inra.fr](mailto:Catherine.Renard@inra.fr)



### Food Processes and Sustainable Foods

This area encompasses initiatives to optimize the health, sensory, nutritional and functional qualities of foods and packaging, integrating organizational and environmental sustainability concerns.

In fact, the construction of food quality implies an awareness of the entire food chain, from the farm to the table, and including the specific characteristics of the agricultural product (plant or animal), its stabilization (first transformation) and its implementation (second or even third transformation) via explicit processes, carried out as ecologically as possible with the ingredients necessary to obtain the desired properties of the final product.

Within the framework of this area, actions will be mainly targeted at transformation and, eventually, biotechnological operations.

Business Developer: [Catherine.Renard@inra.fr](mailto:Catherine.Renard@inra.fr)

CEPIA met à la disposition de la communauté scientifique publique et privée, un ensemble de plateformes technologiques et analytiques :

CEPIA makes a range of technological and analytical platforms available to the public and private scientific community:

### Plate-forme de recherche en technologie laitière

*Dairy Technology Platform*

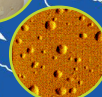
[http://www.rennes.inra.fr/plateform\\_lait](http://www.rennes.inra.fr/plateform_lait)  
Gilles.Garric@inra.fr



### Biopolymères - biologie structurale

*Biopolymers - Structural Biology*

<http://www.bibs.inra.fr>  
Helene.Rogniaux@inra.fr



### Ingénierie et criblage d'enzymes originales

*Engineering and screening of original enzymes*

<http://iceo.genotoul.fr>  
sophie.bozonnet@insa-toulouse.fr



### Unité expérimentale Recherche œnologique de Pech Rouge

*Experimental unit for Oenology. Pech Rouge*

<http://www.montpellier.inra.fr/pechrouge>  
Hernan.Ojeda@inra.fr



### Transformation des produits végétaux / Plant agro-resources processing platform

<http://umr-iate.cirad.fr/equipements/transformation-des-vegetaux>  
Claire.Mayer@inra.fr



### ChemoSens

<http://www.chemosens.fr>  
Chemosens@inra.fr



### Mini-Fromagerie

*Mini Cheese-Making*

<http://www.dijon.inra.fr/Plateformes-Dispositifs/Plateformes-techniques/Minifromagerie>  
Pascal.Barbet@inra.fr



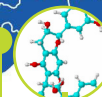
### AgroResonance

<http://www6.inra.fr/agroresonance>  
Jean-Marie.Bonny@inra.fr



### Toulouse White Technology (TWB)

<http://www.toulouse-white-biotechnology.com>  
twb@inra.fr



### Polyphénols / Polyphenols

<http://www.montpellier.inra.fr/spo/structures-collectives/plate-forme-polyphenols>  
Veronique.Cheynier@inra.fr

CEPIA dispose également d'une grande variété de plateaux expérimentaux disponibles pour nos chercheurs et nos partenaires / CEPIA also provides access to a large variety of technical facilities for our researchers and partners.

<http://www.cepia.inra.fr/Outils-et-Ressources/Plateformes-experimentales-ou-instrumentales>



### Des Instituts Carnot <http://www.instituts-carnot.eu>

**Qualiment®**, un réseau spécialisé en nutrition-sensorialité-comportement alimentaire-structure des aliments-procédés. <http://www.qualiment.fr>

**3BCAR** pour le développement de l'usage des ressources renouvelables dans les domaines de l'énergie, de la chimie et des matériaux. <http://www.instituts-carnot.eu/fr/3BCAR>



### Carnot Institutes <http://www.instituts-carnot.eu>

**Qualiment®**, specialized in nutrition-sensory perception-consumer behavior-food structure-food process. <http://www.qualiment.fr>

**3BCAR** for the development of renewable bioresources uses in the fields of energy, chemistry and materials. <http://www.instituts-carnot.eu/fr/3BCAR>



### Un leadership scientifique dans :

**Toulouse White Biotechnology (TWB)** est une unité mixte de services sous la tutelle de l'INRA, de l'INSA-Toulouse et du CNRS. En tant que plateforme technologique, la mission de TWB est de réaliser de la recherche translationnelle en biotechnologie industrielle. S'appuyant sur les connaissances et les données fournies par la recherche fondamentale, TWB développe des concepts de bioprocédés. Ceux-ci sont maturés jusqu'à la preuve de concept (TRL 3) et au-delà pour obtenir de façon précoce des informations relatives à leur faisabilité industrielle (TRL5).



[www.toulouse-white-biotechnology.com](http://www.toulouse-white-biotechnology.com)

### A scientific leadership in the programmes:

**Toulouse White Biotechnology (TWB)** is a joint service unit under the shared management of INRA, INSA-Toulouse and CNRS. As a technology platform, its mission is to perform translational research in the field of industrial biotechnology, using knowledge and data from fundamental research to generate bioprocess concepts. TWB moves these along the TRL scale (up to TRL5), providing proof of concepts and early stage verification of industrial feasibility.

### Le synchrotron SOLEIL

Sous la tutelle conjointe du CNRS et du CEA, SOLEIL est le centre français de rayonnement synchrotron. Pour l'INRA, l'accès à cet instrument est facilité par la présence permanente à SOLEIL de deux ingénieurs de recherche INRA. Nos ingénieurs, spécialisés en imagerie, spectroscopie et diffusion du rayonnement, aident les équipes INRA à préparer et réaliser leurs projets qui font appel plus particulièrement aux lignes de lumière **LUCIA**, **NANOSCOPIUM** et **DISCO**.

<http://www.cepia.inra.fr/Outils-et-Ressources/Synchrotron-SOLEIL/Des-lignes-de-lumiere-privilegiees-par-l-INRA>



### Synchrotron Facilities

Under the joint stewardship of CNRS and CEA, SOLEIL is the French synchrotron radiation source. Access to this source by INRA personnel is facilitated by the permanent presence of two research engineers. Our engineers assist INRA teams in the preparation and realization phases of their projects, which mainly (but not exclusively) use the beamlines **LUCIA**, **NANOSCOPIUM** and **DISCO**.

<http://www.cepia.inra.fr/en/Tools-and-Resources/SOLEIL-Synchrotron>

Contact: [INRA-SOLEIL@synchrotron-soleil.fr](mailto:INRA-SOLEIL@synchrotron-soleil.fr)

### Unité mixte technologique (UMT) / *The Joint Technological Unit (UMT)*

L'UMT est un dispositif partenariats entre une unité de recherche publique et un institut technique, mis en place et soutenu par le ministère chargé de l'Agriculture et par l'INRA. Le Département a ainsi renforcé son partenariat avec les filières agroalimentaires pour favoriser la recherche/développement et l'innovation

*The UMT is a partnership arrangement between a public research unit and a technical institute, established and supported by the Ministry of Agriculture and by INRA. We have strengthened our partnership with the agro-food sectors in order to promote research/development and innovation in the following fields:*

- Vin et œnologie / *wine and oenology* **MiniCave IFVV/UEPR** magali.bes@inra.fr
- Cidre / *cider* **Nova2Cidre IFPC/BIA** - sylvain.guyot@inra.fr
- Fromage et suivi de l'affinage / *cheese and ripening follow-up* **From'Capt ACTALIA/URTAL** eric.beuviel@inra.fr
- Innovation dans les produits carnés / *New meat products* **NewCarn ADIV/UR QUAPA** pierre.sylvain.mirade@inra.fr
- Qualité et durabilité de la filière blé dur / *Quality and sustainability of the durum wheat sector* **Novadur ARvalis/IATE** marie-francoise.samson@inra.fr
- Sécurité des matériaux et emballages au contact / *Safety of agro-food materials such as packagings* **Safemat LNE/UMR GENIAL** sandra.domenek@agroparistech.fr

**Toutes les UMT sur :** <https://www.gis-relance-agronomique.fr/Dispositifs-en-interaction-avec-le-GIS-Relance-agronomique/Les-UMT>



# CONTACTER NOS UNITES DE RECHERCHE / CONTACT OUR RESEARCH UNITS

## Auvergne - Rhône-Alpes

QUALITE DES PRODUITS ANIMAUX (UR QUAPA)  
ANIMAL PRODUCT QUALITY  
INRA Site de Theix  
63122 SAINT-GENÈS-CHAMPANELLE  
Téléphone : +33 (0)4 73 62 41 90  
quapa-ara@inra.fr

## Bourgogne - Franche Comté

UMR CSGA CENTRE DES SCIENCES DU GOUT ET DE L'ALIMENTATION (UMR CSGA)/CENTRE FOR TASTE & FEEDING BEHAVIOUR AgroSup Dijon-CNRS-INRA  
Université de Bourgogne  
21065 DIJON Cedex  
Téléphone : +33 (0)3 80 68 16 23  
Lionel.Bretillon@inra.fr

TECHNOLOGIE ET ANALYSES LAITIÈRES (UR TAL)  
DAIRY TECHNOLOGY & ANALYSIS  
INRA - 39801 POLIGNY Cedex 1  
Téléphone : +33 (0)3 63 57 20 00  
Eric.Beuvier@inra.fr

## Bretagne

SCIENCE ET TECHNOLOGIE DU LAIT ET DE L'ŒUF (UMR STLO)  
SCIENCE & TECHNOLOGY OF MILK & EGG  
INRA - AgroCampus Ouest  
35042 RENNES Cedex  
Téléphone : +33 (0)2 23 48 53 22  
Yves.Le-Loir@inra.fr

## Grand-Est

FRACTIONNEMENT DES AGRO -RESSOURCES ET ENVIRONNEMENT (UMR FARE)  
FRACTIONATION OF AGRICULTURAL RESOURCES & ENVIRONMENT  
INRA - Université de Reims Champagne Ardenne  
Centre de recherche en environnement et agronomie  
51686 REIMS CEDEX 2  
Téléphone : +33 (0)3 26 77 35 92  
Bernard.Kurek@inra.fr

## Hauts-De-France

MATÉRIAUX ET TRANSFORMATIONS (UMR UMET)  
MATERIALS AND TRANSFORMATIONS  
CNRS - Université de Lille 1 - Ecole nationale supérieure de Chimie - INRA  
59651 VILLENEUVE-D'ASCQ Cedex  
Téléphone : +33 (0)3 20 43 54 00  
Alexandre.Legris@univ-lille1.fr

## Ile-de-France

INSTITUT JEAN-PIERRE BOURGIN (UMR IJPB)  
INRA - AgroParisTech  
78026 VERSAILLES Cedex  
Téléphone : +33 (0)1 30 83 30 00  
ijpb@inra.fr

GÉNIE ET MICROBIOLOGIE DES PROCÉDÉS ALIMENTAIRES (UMR GMPA)  
FOOD PROCESS ENGINEERING & MICROBIOLOGY  
INRA - AgroParisTech  
78850 THIVERVAL-GRIGNON  
Téléphone : +33 (0) 1 30 81 54 87  
Pascal.Bonnaime@inra.fr

INGÉNIERIE PROCÉDÉS ALIMENTS (UMR GENIAL)  
FOOD PROCESS AND ENGINEERING  
AgroParisTech - INRA  
91744 MASSY Cedex  
Téléphone : +33 (0)1 69 93 50 97  
Catherine.Bonazzi@agroparistech.fr

## Nouvelle Aquitaine

CENOLOGIE (USC Œ)  
CENOLOGY  
INRA - ISVV  
Faculté d'Œnologie  
33882 Villenave d'Ornon  
Téléphone : +33 (0)5 57 57 58 58  
Philippe.Darriet@u-bordeaux.fr

INSTITUT DE MÉCANIQUE ET D'INGÉNIERIE DE BORDEAUX (USC I2M)  
INSTITUTE FOR MECHANICS & ENGINEERING  
INRA - CNRS - Université Bordeaux  
Campus Talence, 33405 Talence  
Téléphone : +33 (0)5 40 00 28 47  
Jean-Christophe.Batsale@ensam.eu

## Occitanie Pyrénées-Méditerranée

INGÉNIERIE DES AGROPOLYMERES ET TECHNOLOGIES EMERGENTES (UMR IATE)  
EMERGING TECHNOLOGY AND POLYMER ENGINEERING  
INRA - Montpellier SupAgro - CIRAD - Université Montpellier  
34060 MONTPELLIER Cedex 1  
Téléphone : +33 (0)4 99 61 35 43  
Hugo.De-vries@inra.fr

SCIENCES POUR L'ŒNOLOGIE (UMR SPO)  
SCIENCES FOR CENOLOGY  
INRA - Montpellier SupAgro - Université Montpellier  
34060 MONTPELLIER Cedex 1  
Téléphone : +33 (0)4 99 61 22 41  
Jean-Marie.Sablayrolles@inra.fr

PECH ROUGE (UE PR)  
PECH ROUGE EXPERIMENTAL UNIT  
INRA - 11430 GRUISSAN  
Téléphone : +33 (0)4 68 49 44 00  
Hernan.Ojeda@inra.fr

CHIMIE AGRO-INDUSTRIELLE (UMR CAI)  
AGRO-INDUSTRIAL CHEMISTRY  
INRA - INPT - ENSIACET  
31030 TOULOUSE Cedex 04  
Téléphone : +33 (0)5 34 32 35 00  
lca@ensiacet.fr

LABORATOIRE D'INGÉNIERIE DES SYSTEMES BIOLOGIQUES ET DES PROCÉDÉS (UMR LISBP)  
BIOSYSTEMS AND PROCESS ENGINEERING  
INRA - INSA - CNRS  
31077 TOULOUSE CEDEX 4  
Téléphone : +33 (0)5 61 55 94 01  
direction\_lisbp@insa-toulouse.fr

TOULOUSE WHITE BIOTECHNOLOGY (UMS TWB)  
31520 RAMONVILLE SAINT-AGNE  
Téléphone : +33 (0)5 61 28 57 80  
twb@toulouse.inra.fr

## Pays de la Loire

BIOPOLYMERES, INTERACTIONS, ASSEMBLAGES (UR BIA)  
BIOPOLYMERS, INTERACTIONS, ASSEMBLIES  
INRA - 44316 NANTES Cedex 03  
Téléphone : +33 (0)2 40 67 50 31  
Equipe PRP - INRA - 35653 LE RHEU Cedex  
Téléphone : +33 (0)2 23 48 52 16  
biadir-nantes@inra.fr

STATISTIQUE, SENSOMETRIE et CHIMIOMETRIE (USC StatSc)  
STATISTIC, SENSOMETRICS AND CHEMOMETRICS  
INRA - Oniris  
44322 NANTES Cedex 3  
Téléphone : +33 (0)2 51 78 54 50  
Evelyne.Vigneau@oniris-nantes.fr

## Provence - Alpes - Côte d'Azur

BIODIVERSITE ET BIOTECHNOLOGIE FONGIQUES (UMR BBF)  
FUNGAL BIODIVERSITY AND BIOTECHNOLOGY  
INRA - Aix-Marseille Université - Faculté des Sciences  
13288 MARSEILLE Cedex 09  
Téléphone : +33 (0)4 91 82 86 00  
umrbcf@esil.univ-mrs.fr

SÉCURITE ET QUALITÉ DES PRODUITS D'ORIGINE VÉGÉTALE (UMR SPOPO)  
SAFETY & QUALITY OF PLANT PRODUCTS  
INRA - Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse - Domaine Saint-Paul  
84914 AVIGNON Cedex 9  
Téléphone : +33 (0)4 32 72 25 00  
Catherine.Renard@inra.fr

ARCHITECTURE ET FONCTION DES MACROMOLECULES BIOLOGIQUES (USC AFMB)  
ARCHITECTURE AND FUNCTION OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES  
INRA - CNRS - Aix-Marseille Université  
13288 MARSEILLE Cedex 09  
Téléphone : +33 (0)4 91 82 55 60  
secretariat@afmb.univ-mrs.fr



INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

DEPARTEMENT Caractérisation et Elaboration des Produits Issus de l'Agriculture

DIVISION of Science for Food and Bioproduct Engineering

B.P. 71627 • 44316 Nantes Cedex 03 • Tel: +33 (0)2 40 67 51 45 • cepia-dpt@inra.fr

www.cepia.inra.fr

