

# ScanMat, une plateforme d'analyses multi-échelle pour le soutien à l'innovation : exemple de l'étude « Aquafaba »

Muriel Escadeillas, Fabienne Gauffre, Francis Gouttefangeas, Philippe Jéhan, Loïc Joanny, Laurène Jourdy, Nicolas Le Yondre, Alain Moréac, Ludovic Paquin, Véronique Vié, Eric Gicquel, Gilles Paboeuf, Arnaud Saint-Jalmes, Univ Rennes, CNRS, ScanMat-UMS2001, F-35000 Rennes, France

Les jus de cuisson des légumineuses sont des solutions au fort pouvoir moussant. Dans le cas des pois chiches, le jus de cuisson appelé aquafaba, est utilisé comme substitut au blanc d'œuf dans des préparations à base de mousse. La plateforme Rennaise ScanMat, spécialisée dans l'analyse multi-échelle (moléculaire à macroscopique) des matériaux et des matrices, a cherché à résoudre le mystère des mousses d'aquafaba. Grâce à une étude reliant l'analyse de la composition chimique à l'activité de surface et aux propriétés moussantes, nous démontrons que les molécules et les mécanismes mis en jeu diffèrent du cas du blanc d'œuf. Nous mettons en évidence une formation rapide des mousses due à de petites molécules tensioactives ainsi que le ralentissement du vieillissement résultant de structures macromoléculaires augmentant la viscosité et bloquant le drainage.

## ABSTRACT

The cooking juices of pulse vegetables are solutions with high foaming power. In the case of chickpeas, the cooking juice - called aquafaba - is used as a substitute for egg white in foam-based preparations. The breton ScanMat platform, specialized in multi-scale (molecular to macroscopic) analysis of materials and matrices, has sought to solve the mystery of aquafaba foams. Through a study linking the analysis of chemical composition to surface activity and to foaming properties, we demonstrate that the molecules and mechanisms involved in aquafaba foams differ from the case of egg white. We carried out the chemical analysis in mass spectrometry and elementary analysis which shows that the dry matter of aquafaba consists of a complex mixture of macromolecules and molecules of lower molecular weight, in contrast to egg white which contains mainly proteins. In comparison to egg white, aquafaba foam is made of smaller bubble sizes. There is also remarkable stability over time, as aquafaba foam lasts about 4 times longer. We highlight the rapid formation of aquafaba foams due to small surfactant molecules as well as the slowing of aging resulting from macromolecular structures increasing viscosity and blocking drainage.

Mots clés : aquafaba, mousse, activité de surface, analyse.

## L'AQUAFABA, UNE MATRICE ALIMENTAIRE BIEN CONNUE... MAIS PEU ÉTUDIÉE.

Les légumineuses constituent un des piliers de l'alimentation humaine. Très riches en protéines, elles ont de tout temps complété un régime souvent pauvre en protéines animales. Dans nos sociétés modernes, elles trouvent une place de choix sur la table de consommateurs de plus en plus soucieux de limiter leur empreinte écologique et de respecter le bien-être animal. Mais, pour le secteur agro-alimentaire, la richesse des légumineuses ne tient pas uniquement à leur graine. Ainsi, le jus de cuisson des pois chiches — l'aquafaba — possède des propriétés moussantes exceptionnelles qui permettent de le substituer au blanc d'œuf dans de nombreuses préparations alimentaires de type mousse, gâteaux, meringues. Ainsi, l'aquafaba permet d'éviter les allergènes de l'œuf et son usage s'est largement répandu dans la communauté vegan, comme en témoignent de nombreuses publications dans la presse et sur internet. En outre, dans la perspective d'un rejet sociétal de

plus en plus fort de l'élevage en batterie, et donc de l'augmentation du coût de l'œuf, l'intérêt économique de l'aquafaba semble évident. Pourquoi les industriels ne se sont-ils pas encore saisis de cette manne qui reste actuellement un déchet industriel et ménager ? Sans doute en partie en raison du manque de connaissances sur cette matrice. Notre étude bibliographique montre une quasi absence d'études et de brevets sur l'aquafaba.

Afin de promouvoir son expertise et son plateau technique auprès des industriels du secteur agroalimentaire, ScanMat, qui regroupe les plateformes d'analyse multi-échelle de l'Université de Rennes 1 dans le secteur des sciences de la matière, a réalisé une étude complète de la composition et des propriétés de l'aquafaba (Figure 1). Pour cette étude, nous avons utilisé du jus de cuisson issu de conserves achetées en grande distribution. Dans toutes les analyses, le comportement de l'aquafaba lyophilisé puis réhydraté au taux d'humidité initial a donné les mêmes résultats que celui des jus de cuissons bruts, et nous l'avons comparé à des préparations obtenues à partir de poudre de blanc d'œuf pasteurisée de qualité « foisonnante ». L'objectif principal était de mettre en évidence les fonctionnalités de l'aquafaba comme matrice alimentaire moussante et de caractériser ses propriétés (rhéologie, moussabilité) en vue de la mise en œuvre de procédés de transformation.



Figure 1. L'aquafaba est le jus de cuisson des pois chiches. Grâce à l'expertise de ses équipes et à son plateau technique complet, la plateforme d'analyse ScanMat a pu mener l'étude de l'aquafaba, depuis l'échelle moléculaire jusqu'à la mousse.

Aquafaba is the cooking juice from chickpeas. Thanks to the expertise of its teams and its complete technical platform, the ScanMat analysis platform carried out the study of the aquafaba, from the molecular scale to the foam.

### ANALYSE CHIMIQUE DE L'AQUAFABA.

Le pouvoir moussant du blanc d'œuf résulte de sa forte concentration en protéines (87,5 % de la matière sèche, figure 2), notamment l'ovalbumine et le lysozyme. Ces protéines sont amphiphiles : elles ont tendance à s'adsorber spontanément aux interfaces gaz-liquide, notamment celles formées par un battage mécanique. Ce phénomène conduit à une stabilisation des bulles d'air, et par conséquent à une mousse. L'aquafaba contient quant à lui seulement 6,5 % de protéines (figure 2), et sa composition chimique s'avère beaucoup plus complexe et moins bien connue que celle du blanc d'œuf. Une part importante (80 %) de sa matière sèche ne correspond ni à des protéines, ni à des glucides. L'analyse élémentaire (CHNS) d'un échantillon lyophilisé révèle les proportions de carbone, hydrogène, azote et soufre de la matière sèche (C = 34,5 % ; H = 5,6 % ; N = 3,7 % ; soufre < 0,5 %). Nos résultats d'analyses par spectrométrie de masse, qui est à l'heure actuelle la méthode d'analyse chimique la plus sensible, montrent que les espèces majoritairement observées sont des polysaccharides. On trouve dans une moindre mesure des acides aminés libres (surtout lysine et arginine) et des peptides, issus de l'hydrolyse des protéines présentes dans l'aquafaba, avec une forte présence de sodium et de potassium. La graine du pois chiche contient des saponines. Ces molécules, dont le nom évoque celui du savon, sont tensioactives et sont parfois considérées dans la littérature comme responsables du foisonnement, bien que les quantités retrouvées dans l'aquafaba soient extrêmement faibles, de l'ordre de quelques centaines de ppm. Nous avons donc cherché également la présence de saponines. La famille des saponines comporte une grande variété de molécules, de formules complexes, donc difficiles à identifier dans une matrice brute. Néanmoins, dans nos échantillons d'aquafaba, la soyaaponin I/Bd/B et la soyaaponin βg sont détectables en quantités très faibles (de l'ordre de 0.1% en intensité relative par rapport à l'oligosaccharide majoritaire), ce qui corrobore les observations reportées dans Barakat et al. (2015). Des saponines sont donc présentes, mais probablement en quantité trop faible pour être responsables du pouvoir moussant de l'aquafaba. Par ailleurs, un dosage en chromatographie ionique a mis en évidence de grandes quantités de chlorures de sodium et de potassium (environ 23 g/L) dans l'aquafaba, qui peuvent résulter de l'assaisonnement des conserves.

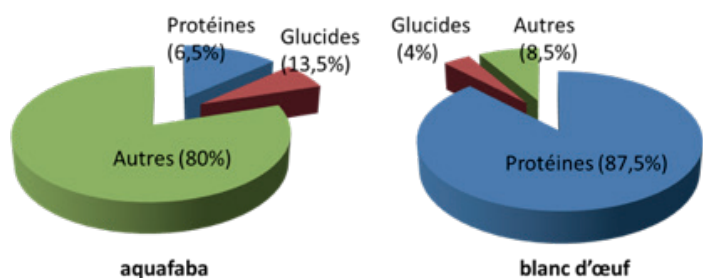


Figure 2 : Comparisons des matières sèches du blanc d'œuf et de l'aquafaba. (N.B. L'aquafaba que nous avons utilisé contient 7,5 % de matière sèche, contre 12 % pour un blanc d'œuf standard.)

Comparative dry matter compositions of egg white and aquafaba (N.B. The aquafaba we used contains 7.5% dry matter, compared to 12% for a standard egg white.)

En résumé, la composition chimique de l'aquafaba est beaucoup plus complexe que celle du blanc d'œuf. En effet, l'aquafaba contient beaucoup moins de protéines, mais plus d'oligosaccharides et une plus grande variété de composés de bas poids moléculaire, qui peuvent être également tensioactifs comme certains peptides et les saponines. Sur la base de l'analyse chimique seule, il n'est pas possible de désigner une famille unique de molécules responsable du pouvoir moussant. Les analyses physico-chimiques ci-dessous, vont apporter des éléments d'information complémentaires.

### RHÉOLOGIE ET STABILITÉ THERMIQUE DE LA SOLUTION: DEUX PARAMÈTRES IMPORTANTS POUR LES PROCÉDÉS DE TRANSFORMATION.

Les propriétés rhéologiques ont été mesurées à l'aide d'un rhéomètre MCR 301 (Anton Paar). Nous avons comparé l'aquafaba et le blanc d'œuf dans leur condition d'usage en cuisine, soit réhydraté à 16,7% de matière sèche pour le blanc d'œuf, et jus de conserve brut (7,5% de matière sèche) pour l'aquafaba (Figure 3). L'aquafaba est plus visqueux que le blanc d'œuf, d'un peu moins qu'un ordre de grandeur. De même que le blanc d'œuf, il est rhéofluidifiant, c'est à dire que sa viscosité baisse sous écoulement. Mais même après plusieurs cycles de cisaillement, il retrouve rapidement sa viscosité initiale (pas d'effet mémoire), ce qui garantit un bon contrôle des procédés. En ce qui concerne sa stabilité thermique, les analyses de calorimétrie différentielle à balayage (DSC) révèlent que l'aquafaba lyophilisé subit une transformation irréversible vers 100°C, probablement une réaction Maillard (réaction des sucres avec les acides aminés), ce qui donne un goût légèrement caramélisé aux meringues préparées à base d'aquafaba. Aucune carbonisation n'est observée jusque 180°C, ce qui permet d'envisager des préparations culinaires variées.

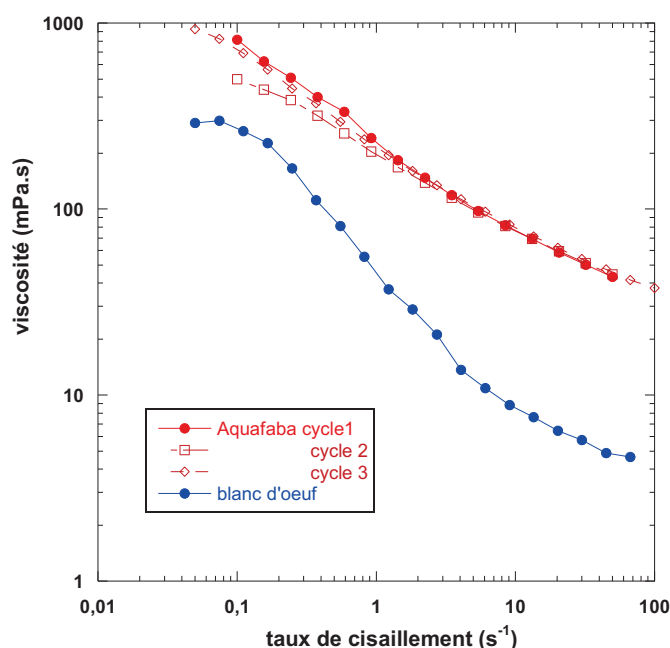


Figure 3 : viscosité de l'aquafaba (7,5 % de matière sèche) lors de 3 cycles de cisaillement et du blanc d'œuf réhydraté (16,7 %). Viscosity of the aquafaba (7.5% dry matter) in 3 shear cycles and of the rehydrated egg white (16.7%).

Afin de comprendre les propriétés moussantes, il est nécessaire de caractériser les étapes déterminantes pour la formation et la stabilisation d'une mousse : d'une part, la capacité de la solution

à former un film adsorbé à l'interface air-liquide et d'autre part la capacité de ces films à stabiliser les couches de liquide qui séparent les bulles.

**Fonction moussantes : activité de surface et foisonnement.** L'ellipsométrie de surface est une technique originale qui permet de suivre la formation de films interfaciaux à l'interface air-liquide, d'estimer leur épaisseur et de caractériser leur structure. C'est une mesure moyennée sur une surface de 1 mm<sup>2</sup>. Nous avons mis en évidence l'adsorption rapide de molécules à l'interface à la fois pour l'aquafaba et pour le blanc d'œuf (en quelques minutes). Cette forte affinité pour l'interface est à relier aux bonnes capacités moussantes de ces deux solutions. Par ailleurs, l'aquafaba présente les caractéristiques d'une couche interfaciale monomoléculaire (~5 nm) stable alors que celle du film créé par le blanc d'œuf est deux fois plus importante suggérant dans ce cas une accumulation de protéines à l'interface. Les deux films interfaciaux ont été imagés à haute résolution, par microscopie à force atomique (AFM, Bruker, Nanoscope V) (Figure 4a). Les images du film d'aquafaba présentent un film homogène parsemé de structures fibrées. La continuité du film et son homogénéité confirment la présence d'une couche monomoléculaire de petites molécules, peptides ou acides aminés. Les structures fibrillaires quant à elles, sont attribuées à la présence de polysaccharides. En effet, la hauteur de ces structures est de 10 nm ce qui correspond bien à la taille des polysaccharides. L'image du film formé par le blanc d'œuf corrobore les données d'ellipsométrie. En effet, le film est parsemé d'une kyrielle de structures globulaires pouvant se regrouper et former des structures épaisses d'environ 40 nm (nous avons dû adapter l'échelle sur les représentations topographiques). Ces structures correspondent à une agrégation protéique induite à l'interface pour des solutions de fortes concentrations protéiques.

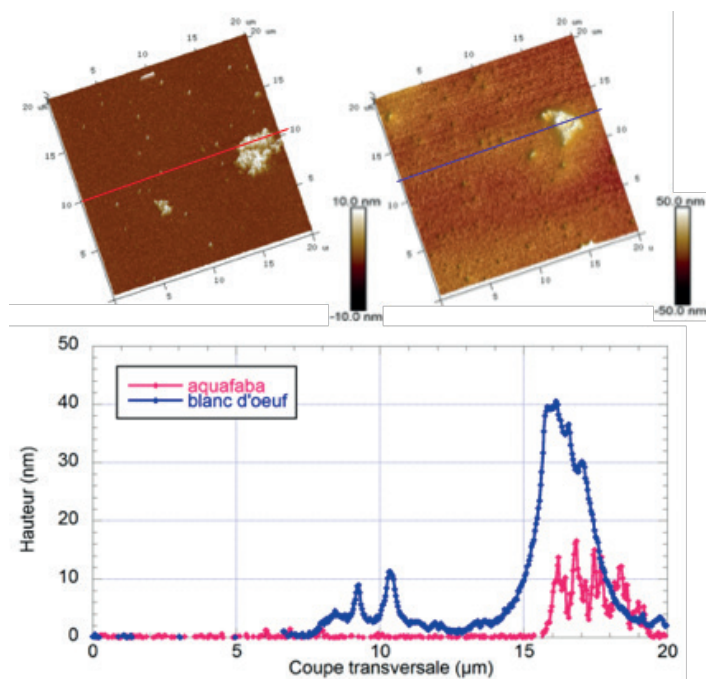


Figure 4 : Topographies de films interfaciaux d'aquafaba et de blanc d'œuf, observés par microscopie à force atomique. Les courbes représentent les variations de hauteur le long des lignes rouge (aquafaba) et bleue (blanc d'œuf).

Topographies of interfacial films of aquafaba and egg white, observed by atomic force microscopy. The curves represent the height variations along the red (aquafaba) and blue (egg white) lines.

Ces premières mesures d'ellipsométrie sont complétées par de la tensiométrie interfaciale effectuée sur goutte pendante. Ces mesures sont faites à l'aide d'un tensiomètre à goutte « Tracker » (Teclis), pouvant fonctionner à la fois aux interfaces gaz-liquide et liquide-liquide. Elles renseignent sur la rapidité à couvrir des interfaces gaz-liquide ainsi que sur la quantité de matière adsorbée. Il s'avère que, à la même fraction sèche (7,5%), les comportements de l'aquafaba et de la poudre de blanc d'œuf sont similaires : en 10 minutes, la tension de surface de l'eau se voit abaissée de 72 à 43 mN/m, puis évolue peu. La formation d'une mousse correspond à la formation de bulles séparées par des films liquides (Figure 5b), le foisonnement représentant le volume d'air incorporé par rapport au volume de liquide. Nous avons utilisé une colonne de moussage pour caractériser le foisonnement d'échantillons d'aquafaba ainsi que la stabilité des mousses produites. Ce dispositif, réalisé au laboratoire, permet d'abord de produire des mousses de façon contrôlée, puis de suivre la fraction de liquide de ces mousses, en fonction du temps et à différentes positions dans la colonne. Les mousses sont produites par bullage à travers des frittes de porosités variables et à des pressions d'injection de gaz contrôlées, ce qui permet de couvrir de larges gammes de taille de bulles et d'humidité. Après sa formation, la mousse évolue suivant différents processus qui tendent à la détruire : le suivi par des mesures locales de conductances électriques fournit la dynamique de décroissance de la fraction de liquide. L'analyse de ces évolutions temporelles nous renseigne ensuite sur les mécanismes de déstabilisation qui dominent et pilotent le temps de vie de la mousse. Un exemple de mesure est présenté sur la figure 5, où sont comparés les comportements de l'aquafaba et du blanc d'œuf. Dans ce cas, la pression d'injection d'air est relativement élevée et les deux solutions sont capables de remplir la colonne de mousse en moins d'une minute. On constate toutefois que la mousse d'aquafaba atteint son maximum de fraction de liquide plus rapidement, et que ce maximum est 2 fois plus grand que pour le blanc d'œuf (échelle logarithmique). Ceci s'explique par une très bonne efficacité à incorporer du gaz pour l'aquafaba, et par des tailles de bulles plus petites : ainsi, la moussabilité (ou 'capacité moussante') de l'aquafaba apparaît supérieure à celle du blanc d'œuf. Quant à la partie vieillissement, les tailles de bulles initiales plus petites et la plus grande viscosité induisent un vieillissement nettement plus lent : typiquement, au bout de 30 minutes, la mousse de blanc d'œuf ne contient plus que 1 % de liquide, alors que celle d'aquafaba en contient encore 8 %. La mesure permet aussi de mettre en évidence un blocage du vieillissement de la mousse d'aquafaba, avec une fraction de liquide qui n'évolue pratiquement plus au-delà d'une heure, indiquant une remarquable stabilité. Ce blocage du vieillissement est le résultat d'effets volumiques et interfaciaux dus à la composition particulière de l'aquafaba. Ainsi, l'organisation de la couche interfaciale, composée d'une monocouche peptidique et de structures fibrées, induit une viscoélasticité qui ralentit les phénomènes de murissement. En outre, les polysaccharides confinés dans les canaux liquides de la mousse finissent par bloquer le drainage gravitaire.

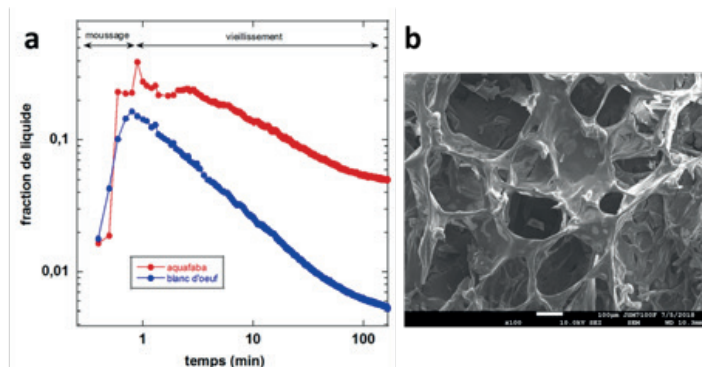


Figure 5. (a) Evolution temporelle comparée de la fraction liquide dans une mousse d'aquafaba et de blanc d'œuf réhydraté dans des conditions d'usage en cuisine (matière sèche : œuf : 16,7% ; aquafaba : 7,5%). (b) Observation au microscope électronique à balayage de la structure d'une mousse d'aquafaba obtenue par battage puis lyophilisée (échelle 0,1 mm).

(a) Comparative temporal evolution of the liquid fraction in a foam of aquafaba and rehydrated egg white under conditions of use in cooking (dry matter: egg: 16.7%; aquafaba: 7.5%). (b) Scanning electron microscope observation of the structure of an aquafaba foam obtained by beating and then lyophilized (scale 0.1 mm).

## CONCLUSION :

En conclusion, l'aquafaba possède des propriétés moussantes exceptionnelles. En comparaison au blanc d'œuf et pour une même procédure de moussage, la mousse d'aquafaba est faite de plus petites tailles de bulles, ce qui permet de couvrir une plus large gamme d'humidité initiale. Quantitativement, il apparaît surtout une remarquable stabilité dans le temps : la mousse d'aquafaba

résiste environ 4 fois plus longtemps que celle du blanc d'œuf. Contrairement au blanc d'œuf qui tient son pouvoir moussant des protéines très majoritaires dans la composition, la matière sèche de l'aquafaba est constituée d'un mélange complexe de macromolécules et de molécules de plus bas poids moléculaires, agissant en synergie pour d'abord former très efficacement les mousses, puis pour les stabiliser sur des temps longs. Ainsi, l'adsorption des peptides permet d'obtenir rapidement des films interfaciaux très homogènes ce qui aide pour la moussabilité tandis que les composés macromoléculaires interviennent majoritairement dans le ralentissement du murissement et du drainage de la mousse. Cette stratégie synergique, basée sur des formules mêlant courtes et longues molécules, est souvent celle des formulateurs qui cherchent à optimiser les propriétés de mousses. Le cas de l'aquafaba tend à nous prouver que la nature peut parfois jouer ce même jeu de façon très efficace !

A travers une porte d'entrée unique, la plateforme d'analyse ScanMat met à disposition des industries un éventail complet d'expertises et de techniques physiques et chimiques permettant de faire le lien composition-structure-fonction de matrices alimentaires, cosmétiques et dans de nombreux autres domaines.... D'autres techniques non présentées ici, comme la microscopie électronique en transmission, la photoluminescence, ou la spectroscopie Raman (qui permet par exemple d'obtenir une signature chimique des échantillons, et de les comparer entre eux dans une perspective de contrôle qualité) sont également disponibles.

Le travail concerté des différentes équipes permet d'appréhender les problématiques dans leur globalité. Que ce soit sous la forme de prestations de service ou de projets collaboratifs, nous pouvons accompagner les industriels du secteur dans leurs projets d'innovation en leur apportant notre expertise scientifique et technique.