



**HAL**  
open science

# Etude des mécanismes de réhydratation des poudres laitières : influence de la structure et de la composition des poudres

Claire Gaiani

► **To cite this version:**

Claire Gaiani. Etude des mécanismes de réhydratation des poudres lactiques : influence de la structure et de la composition des poudres. Autre. Institut National Polytechnique de Lorraine, 2006. Français. NNT : 2006INPL031N . tel-01752477

**HAL Id: tel-01752477**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01752477>**

Submitted on 29 Mar 2018

**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.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**THESE**

Présentée devant l'Institut National Polytechnique de Lorraine  
pour obtenir le grade de Docteur de l'INPL  
*Spécialité : Procédés Biotechnologiques et Alimentaires*

par

**Claire GAIANI**

---

**Étude des mécanismes de réhydratation des poudres lactières :  
influence de la structure et de la composition des poudres**

---

Directeur de thèse : Sylvie Banon

Soutenue publiquement le 5 juillet 2006 devant la commission d'examen

**Rapporteurs :**

M. Cuq                      Professeur, Université de Montpellier II  
M. Jeantet                 Professeur, STLO-ENSAR, Rennes

**Examineurs :**

Mme Banon                Maître de conférences, HDR, ENSAIA-INPL, Nancy  
M. Boudier                Directeur scientifique, Ingrédia, Arras  
M. Hardy                    Professeur émérite, ENSAIA-INPL, Nancy  
M. Scher                    Professeur, ENSAIA-INPL, Nancy

**Invité :**

M. Ehrhardt                Directeur de recherche, LCPME-CNRS, Nancy



# Avant-propos

*Ce travail de recherche a été réalisé au Laboratoire de Sciences et Génie Alimentaire (LSGA) de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires (ENSAIA) de Nancy dans le cadre d'une thèse CIFRE. Mes plus sincères remerciements vont à Monsieur Stéphane Désobry pour m'avoir accueillie dans son laboratoire. Cette thèse industrielle n'aurait pu voir le jour sans le soutien financier d'Arilait Recherches. Je tiens donc à remercier Madame Jean ainsi que Messieurs Guyonnet et Ayerbe. D'autre part, nos rencontres régulières avec les membres du comité « protéine » ont permis des échanges fructueux. Qu'ils soient tous assurés de mes plus francs remerciements et plus particulièrement Monsieur Boudier qui a accepté d'être examinateur de mon travail de thèse.*

*Je remercie également Messieurs Cuq et Jeantet qui ont accepté de juger ce travail en tant que rapporteurs.*

*Je tiens à saluer Monsieur Hardy pour son aide : malgré ses importantes obligations il a toujours été présent pour recadrer mes recherches dans la bonne direction et ceci a été fondamental dans la bonne réalisation de cette thèse. Merci à Anne et madame Colas pour leur disponibilité pendant ces trois ans. Merci, Muriel, pour ta confiance et pour m'avoir ainsi permis d'accéder à ma première expérience d'enseignement. J'ai également une pensée particulière pour Madame Maucourt toujours là pour réparer un appareil irrécupérable et pour son emblématique pause tic-tac. Merci, Carole, pour ton aide mais surtout pour ta présence pendant nos pauses repas et tout le reste.*

*Nul besoin d'un long monologue pour exprimer ma reconnaissance envers Sylvie Banon qui m'a appris ce que sont recherche et rigueur. Merci encore pour vos encouragements et votre patience à toute épreuve notamment quand il fallait inlassablement relire mes articles et ma thèse. Merci beaucoup, Joël, pour ta bonne humeur et tes conseils pendant ces trois années.*

*Une pensée sympathique à mes collègues thésards passés ou présents : Albarin, Kassem, Angelica, Rawa, Suzanna, Ali, Lynn, Laetitia, Marie, Almirha, Charbel, et Atmane. J'envoie surtout toute mon affection à mes amis : Reine (ma correctrice préférée), Sandrine*

*(ma partenaire de galère dans cette dernière ligne droite qu'est la rédaction de thèse), Valérie, Olivier, Virginie et Ghrozlène (notre toute nouvelle maître de conférence).*

*J'ai effectué de nombreux séjours à l'UMR Sciences et Technologie du Lait et de l'œuf (STLO) à Rennes. Merci Anne, Arnaud, Jacques et Serge, de m'avoir aidé dans la fabrication des poudres ainsi que pour votre accueil chaleureux. Et surtout merci à toi, Pierre, pour ta disponibilité, ta bonne humeur légendaire et pour m'avoir fait me sentir chez moi dans ton labo. C'est toujours avec joie que je suis venue passer une petite semaine en Bretagne.*

*Je tiens également à saluer le Laboratoire de Chimie Physique et Microbiologie pour l'environnement pour notre collaboration qui fut d'une grande importance dans l'avancée de ma thèse. Merci à Monsieur Lambert pour la réalisation des analyses. Mes plus francs remerciements vont également à Monsieur Ehrhardt pour les heures passées à corriger ma publication et pour avoir accepté d'être examinateur de ma thèse.*

*Une pensée particulière à mes parents ainsi qu'à Vincent, Anne, Sandrine, Philippe, Marie et Vanessa qui même à distance ont été très présents pendant ces trois années. Mes fréquents « retours au pays » m'ont permis de bien recharger les batteries. Ce travail de thèse n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide précieuse des familles Cavaré, Godard, Lemoy et Maatar. Merci à tous de vous être occupés régulièrement de notre petit « paquet » notamment les nuits...*

***Merci bien évidemment à Luc pour être là tout simplement. J'ai aussi une pensée pour mon petit Jules. Même s'il ne m'a pas toujours simplifié la tâche, il m'a permis par la force des choses de relativiser et d'oublier, une fois rentrée, les soucis du travail. C'est donc avec plaisir que je leur dédie à tous les deux cette thèse.***

# Table des matières :

<b>AVANT-PROPOS</b> .....	<b>3</b>
<b>NOMENCLATURE</b> .....	<b>15</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	<b>17</b>
<b>ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>23</b>
1 DU LAIT AU PRODUIT DESHYDRATE .....	25
1.1 <i>Composition et structures du lait</i> .....	25
1.1.1 Les protéines du lactosérum .....	25
1.1.2 La micelle de caséine .....	27
1.1.3 Les autres constituants du lait .....	29
1.1.4 Modèle global des structures qui composent le lait .....	31
1.2 <i>Composition et structures des poudres laitières</i> .....	33
1.2.1 Organisation des composants aux interfaces lipide/eau .....	33
1.2.2 Organisation des composants aux interfaces liquide/air et extrapolation aux interfaces poudre/air .....	34
1.2.3 Techniques d'investigation de la surface des particules de poudres .....	35
1.3 <i>Influence du procédé de séchage sur la structure des particules</i> .....	39
2 MODIFICATIONS PHYSICO-CHIMIQUES DU LAIT INDUITES AU COURS DES OPERATIONS TECHNOLOGIQUES ET DU STOCKAGE DES POUDRES .....	41
2.1 <i>Dénaturation des protéines</i> .....	41
2.2 <i>Insolubilisation des sels phosphocalciques</i> .....	42
2.3 <i>Dégradation du lactose</i> .....	42
2.3.1 La réaction de Maillard .....	42
2.3.2 La cristallisation du lactose .....	43
2.4 <i>Globules gras</i> .....	44
2.5 <i>Conservation et vieillissement des poudres laitières</i> .....	44
3 LES OPERATIONS TECHNOLOGIQUES .....	46
3.1 <i>Les opérations technologiques permettant l'obtention de poudres laitières</i> .....	46
3.1.1 Les traitements thermiques .....	47
3.1.2 Les filtrations sur membranes ou concentration différentielle .....	47
3.1.3 La concentration par évaporation sous vide .....	49
3.1.4 Séchage .....	50
3.2 <i>Place et intérêt des protéines laitières en tant qu'ingrédient alimentaire</i> .....	53
3.2.1 Les concentrés de protéines totales (CPT) .....	53
3.2.2 Caséine et ses dérivés .....	54
3.2.3 Protéines sériques et ses dérivés .....	56
4 LES PROPRIETES DE REHYDRATATION DES POUDRES LAITIERES .....	58
4.1 <i>L'eau dans les poudres</i> .....	58
4.1.1 Les différents états de l'eau .....	58
4.1.2 Les interactions entre constituants et eau .....	58
4.2 <i>Les différentes étapes de réhydratation</i> .....	59
4.2.1 L'étape du mouillage ou mouillabilité d'une poudre .....	59
4.2.2 L'étape de gonflement ou d'absorption d'eau par la poudre .....	62
4.2.3 La dispersibilité ou dispersion d'une poudre .....	63
4.3 <i>La solubilité</i> .....	65
4.3.1 Définition et méthodologie .....	65
4.3.2 Paramètres influençant la solubilité .....	66
5 SYNTHÈSE ET POSITIONNEMENT DE L'ÉTUDE .....	68
<b>MATERIELS ET METHODES</b> .....	<b>71</b>

1	FABRICATION DES POUDRES .....	73
1.1	<i>Préparation des concentrés</i> .....	73
1.1.1	Concentré enrichi en caséine micellaire (figure 26).....	74
1.1.2	Concentré enrichi en protéines solubles (figure 28).....	75
1.2	<i>Formulation</i> .....	75
1.2.1	Préparation du phosphocaséinate natif .....	75
1.2.2	Préparation des protéines solubles .....	77
1.2.3	Préparation des mélanges de phosphocaséinate natif et de protéines solubles .....	78
1.3	<i>Séchage</i> .....	78
1.3.1	Obtention des poudres de phosphocaséinate natif.....	79
1.3.2	Obtention des poudres de protéines solubles .....	79
1.3.3	Obtention des poudres de phosphocaséinates additionnées de protéines solubles .....	81
2	CARACTERISATION DES POUDRES.....	82
2.1	<i>Composition chimique</i> .....	82
2.1.1	Dosage de l'eau .....	82
2.1.2	Dosage des cendres .....	82
2.1.3	Dosage des protéines .....	82
2.1.4	Dosage du lactose.....	82
2.1.5	Dosage des lipides .....	83
2.1.6	Dosage de la présence de composés de Maillard .....	84
2.2	<i>Propriétés physiques</i> .....	84
2.2.1	Masses volumiques et air occlus .....	84
2.2.2	Répartition granulométrique .....	84
2.2.3	Mesures de la surface des particules de poudre par Spectroscopie des Photoélectrons X (SPX) .....	86
2.3	<i>Observations macroscopique et microscopique des poudres</i> .....	89
2.3.1	Colorimétrie .....	89
2.3.2	Microscopie électronique à balayage (MEB).....	90
2.3.3	Microscopie optique.....	91
2.4	<i>Détermination des propriétés d'hydratation</i> .....	91
2.4.1	Les normes .....	91
2.4.2	Obtention des cinétiques de réhydratation avec un rhéomètre équipé d'un système vane .....	92
2.4.3	Obtention des cinétiques de réhydratation avec le réacteur instrumenté .....	95
3	ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES .....	102
<b>RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>		<b>103</b>
1	COMPOSITION DES POUDRES ETUDIEES.....	105
1.1	<i>Les poudres de phosphocaséinate natif</i> .....	105
1.1.1	Composition chimique .....	105
1.1.2	Propriétés physiques.....	106
1.1.3	Microstructure .....	107
1.2	<i>Les poudres de protéines sériques</i> .....	108
1.2.1	Composition chimique et propriétés physiques .....	108
1.2.2	Microstructure .....	109
1.3	<i>Les mélanges de phosphocaséinate natif et de protéines solubles</i> .....	110
1.3.1	Composition chimique et propriétés physiques .....	110
1.3.2	Microstructure .....	111
2	ÉTUDE CINÉTIQUE DE LA REHYDRATATION D'UNE POUDRE DE PHOSPHOCASEINATE NATIF .....	113



2.1	<i>Mise au point d'une méthodologie permettant de suivre la réhydratation de poudres laitières par rhéologie</i> .....	113
2.1.1	Profil de viscosité obtenu lors de la réhydratation d'une poudre de phosphocaséinate granulée.....	113
2.1.2	Compréhension du profil de viscosité obtenu.....	114
2.1.3	Conclusion sur la méthode rhéologique.....	118
2.2	<i>Mise au point d'une méthodologie permettant de suivre la réhydratation de poudres laitières dans un réacteur par turbidimétrie, pH-métrie et conductimétrie</i> .....	119
2.2.1	Profils de turbidité, de pH et de conductivité obtenus lors de la réhydratation d'une poudre de phosphocaséinate granulée.....	119
2.2.2	Compréhension du profil de turbidité.....	121
2.2.3	Conclusion sur la méthode turbidimétrique.....	123
2.3	<i>Influence du temps de réhydratation, de la température et de la concentration sur la réhydratation du phosphocaséinate natif</i> .....	124
2.3.1	Effet de la concentration en protéines.....	124
2.3.2	Effet de la température.....	126
2.3.3	Conclusion.....	127
2.4	<i>Lien entre les méthodologies mises au point et les normes</i> .....	128
2.5	<i>Conclusion</i> .....	130
3	INFLUENCE DE LA COMPOSITION BIOCHIMIQUE SUR LA REHYDRATATION.....	133
3.1	<i>Influence de la nature des protéines réhydratées</i> .....	133
3.1.1	Description des profils de réhydratation obtenus.....	133
3.1.2	Les paramètres de réhydratation : temps de mouillage, de gonflement et de réhydratation.....	135
3.1.3	Discussion.....	139
3.2	<i>Influence de l'ajout de protéines solubles au phosphocaséinate natif</i> .....	142
3.2.1	Description des profils de réhydratation obtenus.....	142
3.2.2	Les paramètres de réhydratation : temps de mouillage, temps de gonflement et temps de réhydratation.....	144
3.2.3	Discussion.....	145
3.3	<i>Influence de l'ajout de composés hygroscopiques au phosphocaséinate natif</i> ..	147
3.3.1	Les propriétés de réhydratation des poudres.....	147
3.3.2	Composition de surface des poudres mesurée par spectroscopie de photoélectrons X (SPX).....	150
3.3.3	Relations entre la composition de surface et les paramètres de réhydratation	156
3.3.4	Discussion.....	159
4	INFLUENCE DU PROCEDE TECHNOLOGIQUE SUR LA REHYDRATATION.....	163
4.1	<i>Effet du type de mélange : co-séchage (CO) ou mélange à sec (MAS)</i> .....	163
4.1.1	Influence du type de mélange lors de la réhydratation des caséines micellaires additionnées de composés hygroscopiques.....	163
4.1.2	Influence du type de mélange lors de la réhydratation de caséine micellaire additionnée de protéines solubles.....	165
4.1.3	Récapitulatif des paramètres de réhydratation obtenus.....	166
4.1.4	Discussion.....	168
4.2	<i>Effet de la granulation sur la réhydratation et la répartition des composés à la surface des particules</i> .....	170
4.2.1	Influence de la granulation sur la réhydratation.....	170
4.2.2	Influence de la granulation sur la répartition des composés à la surface de la particule de phosphocaséinate natif.....	173
4.2.3	Discussion.....	175
4.3	<i>Effet du traitement thermique sur la réhydratation</i> .....	177
4.3.1	Influence du traitement thermique sur la dénaturation.....	177

4.3.2	Effet du traitement thermique sur la réhydratation des protéines solubles seules	179
4.3.3	Effet du traitement thermique sur la réhydratation de mélanges de protéines solubles et de phosphocaséinate natif.....	181
4.3.4	Influence de la vitesse d'agitation sur le temps de mouillage.....	184
4.3.5	Discussion .....	186
5	INFLUENCE DES CONDITIONS DE CONSERVATION SUR LA REHYDRATATION.....	191
5.1.1	Propriétés de la poudre et conditions de stockage.....	191
5.1.2	Détermination des paramètres de réhydratation.....	192
5.1.3	Étude de la composition de surface, de l'humidité et de la couleur.....	194
5.1.4	Mesure de la formation des composés de Maillard.....	195
5.1.5	Caractérisation des lipides.....	196
5.1.6	Discussion .....	197
	<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>201</b>
	<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>211</b>
	<b>ANNEXES.....</b>	<b>225</b>

## Liste des figures :

Figure 1 : Répartition des produits fabriqués à partir de lait en France .....	18
Figure 2 : Composition globale du lait de vache et détail de sa composition minérale.....	25
Figure 3 : Structure tridimensionnelle de la $\beta$ -lactoglobuline bovine obtenue par diffraction aux rayons X.....	27
Figure 4 : Structure tridimensionnelle de l' $\alpha$ -lactalbumine bovine en présence d'ion $\text{Ca}^{2+}$ obtenue par diffraction aux rayons X à pH 8,0 d'après Chrysina <i>et al.</i> (2000) .....	27
Figure 5 : Modèle submicellaire d'après Walstra (1999).....	28
Figure 6 : Modèle de type structure ouverte d'après Horne (1998) .....	29
Figure 7 : Formule de l' $\alpha$ -lactose .....	30
Figure 8 : Modèle global des structures et superstructures qui composent le lait .....	31
Figure 9 : Description schématique des évènements arrivant lors du séchage d'une émulsion d'après Millqvist-Fureby <i>et al.</i> (2001).....	35
Figure 10 : Poudre de lait observée par microscopie électronique à balayage, présentant une surface « ridée » (flèche blanche) et des crevasses (flèche noire) d'après Mistry (2002) .....	36
Figure 11 : Image obtenue par microscopie électronique à balayage confocale laser d'une poudre de lait montrant les protéines (bleu) et les lipides (jaune) d'après Keogh et Auty (1998) .....	37
Figure 12 : Microstructure du lait en poudre d'après Kalab (1982).....	39
Figure 13 : Mise en évidence par MEB de la présence de vacuoles dans une particule de poudre laitière.....	40
Figure 14 : Image de microscopie électronique à balayage de la surface d'une poudre laitière après cristallisation du lactose d'après Hardy <i>et al.</i> (2002) .....	44
Figure 15 : Présentation générale des opérations technologiques appliquées en industrie laitière d'après Schuck (1999).....	46
Figure 16 : Classification des quatre principales techniques de la séparation par membrane en référence aux composés à séparer d'après Saboya et Maubois (2000).....	48
Figure 17 : Transfert des fluides dans un évaporateur d'après Mafart (1996) et Mahaut <i>et al.</i> (2000).....	50
Figure 18 : Exemple d'installation de séchage sur double cylindre d'après Mafart (1996).....	51
Figure 19 : Principe de fonctionnement d'une tour d'atomisation « trois temps » d'après Schuck (1999) .....	52
Figure 20 : Différentes procédures de mouillage d'après Lazghab <i>et al.</i> (2005) .....	60
Figure 21 : Détermination de la mouillabilité d'après Westergaard (1994).....	61
Figure 22 : Détermination de la dispersibilité d'après Westergaard (1994).....	64
Figure 23 : Détermination de la solubilité d'après Westergaard (1994) .....	66
Figure 24 : Schéma montrant les principales étapes comprises dans la réhydratation d'une poudre et les facteurs les influençant .....	69
Figure 25 : Premières étapes de séparation membranaires à partir du lait écrémé.....	73
Figure 26 : Obtention du concentré enrichi en caséine micellaire .....	74
Figure 27 : Concentrés de PPCN (à gauche) et de protéines solubles (à droite).....	74
Figure 28 : Obtention du concentré enrichi en protéine soluble.....	75
Figure 29 : Obtention du (PPCN + LAC) par co-séchage.....	76
Figure 30 : Obtention du (PPCN + PUF) par co-séchage .....	77
Figure 31 : Récupération des poudres granulées (A) en sortie du lit fluidisé.....	78

Figure 32 : Traitement thermique des protéines solubles liquides (A) et observation visuelle de la dénaturation de ces protéines avant et après ce même traitement thermique (B) .....	80
Figure 33 : Diagramme de conservation de l'énergie .....	86
Figure 34 : Porte objet utilisé pour 10 échantillons pour des mesures SPX.....	87
Figure 35 : Schéma de l'espace chromatique CIE : $L^*a^*b^*$ .....	90
Figure 36 : Module permettant de suivre en continu la réhydratation.....	92
Figure 37 : Schéma représentant le système vane intégré au rhéomètre Stress Tech.....	93
Figure 38 : Viscosités obtenues pour du PPCN à 2, 5, 8, 10 et 12% de MAT ; à 15, 24 et 55°C avec la géométrie cône/plan et la géométrie vane (moyenne de 4 déterminations $\pm \sigma$ ).....	95
Figure 39 : Vu d'ensemble du montage expérimental permettant le suivi de la réhydratation .....	96
Figure 40 : Schéma du réacteur comprenant les sondes de turbidité, de conductivité et de pH.....	96
Figure 41 : Cuve comprenant les sondes de pH et de conductivité .....	97
Figure 42 : Comparaison entre la turbidité mesurée et attendue pour différentes suspensions de formazine (moyenne de 3 déterminations $\pm \sigma$ ).....	99
Figure 43 : Relation entre la valeur de turbidité et le pourcentage en protéines dans des solutions contenant du PPCN G réhydraté à 24°C.....	100
Figure 44 : Comparaisons des turbidités mesurées et attendues par différentes séries de suspension de formazine au cours du temps.....	101
Figure 45 : Microscopie électronique à balayage des poudres (x 500) ; A : PPCN NG, B : (PPCN + LAC) NG, C : (PPCN + PUF) NG, D : PPCN G, E : (PPCN + LAC) G et F : (PPCN + PUF) G .....	107
Figure 46 : Microscopie électronique à balayage des poudres de protéines solubles (x 500) .....	109
Figure 47 : Microscopie électronique à balayage des poudres de (PPCN + PS)(x 500) .....	111
Figure 48 : Profil de viscosité obtenu lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 5% de MAT pendant 60 000 secondes et à 24°C (n=3).....	114
Figure 49 : Profil de viscosité et données granulométriques obtenus lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 5% de MAT pendant 60 000 secondes à 24°C (n=3) .....	115
Figure 50 : Microscopie optique réalisée sur une particule de PPCN G prélevée en cours de réhydratation dans la cuve du rhéomètre ; A : particule native, B : particule prélevée après 2000 secondes de réhydratation et C : particule prélevée après 20 000 secondes de réhydratation.....	117
Figure 51 : Profils de viscosité obtenus sur trois poudres : silicate, glucose et gélatine pendant 6000 secondes de réhydratation à 24°C avec le système vane à $100s^{-1}$ .....	117
Figure 52 : Modèle hypothétique schématisant les différentes étapes lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 5% de MAT et à 24°C .....	118
Figure 53 : Profils de turbidité et de pH obtenus lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 5% de MAT pendant 60 000 secondes et à 24°C.....	120
Figure 54 : Profils de turbidité et de conductivité obtenus lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 5% de MAT pendant 60 000 secondes et à 24°C .....	121
Figure 55 : Corrélation entre les mesures de turbidité et de viscosité au cours de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 5% de MAT et à 24°C .....	122
Figure 56 : Interprétation du profil de turbidité à l'aide de la granulométrie lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 5% de MAT et à 24°C .....	123

Figure 57 : Mise en évidence d'une relation linéaire entre la taille des particules, la turbidité et la viscosité sur une gamme 50-400 $\mu\text{m}$ .....	124
Figures 58 : Profils de viscosité obtenus lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G pendant 10 000 secondes à 24°C à 2, 5, 10 et 12% de MAT.....	125
Figure 59 : Profils de viscosité obtenus lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G pendant 10 000 secondes à 5% de MAT et à 5, 15, 24 et 45°C.....	126
Figure 60 : Réhydratation d'une poudre de PPCN G en fonction de la concentration (2 ; 5 ; 10 et 12%), de la température (5, 15, 24, 35, 45 et 55°C) et du temps (solution totalement réhydratée, après 50 000 secondes, après 10 000 secondes et après 5000 secondes à une vitesse de cisaillement de 100 $\text{s}^{-1}$ ).....	128
Figure 61 : Corrélation entre le temps de réhydratation obtenu à partir des profils de turbidité et la dispersibilité obtenue par la norme FIL (1985) .....	129
Figure 62 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation du PPCN NG (A) et G(B) à 24°C pendant 80 000 secondes .....	134
Figure 63 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de PS NG (A) et de PS G (B) à 5% de MAT et à 24°C pendant 80 000 secondes .....	135
Figure 64 : Images de microscopie optique (échelle 200 $\mu\text{m}$ ) montrant les premières étapes de la réhydratation d'une particule de poudre de PS G (A1 à A4) et d'une particule de poudre de PPCN G (B1 à B4) ; la flèche blanche indique le front du solvant .....	137
Figure 65 : Profils de granulométrie obtenus lors de la réhydratation des poudres de PS et de PPCN non granulées et granulées .....	138
Figure 66 : Profil de turbidité obtenu lors de la réhydratation d'une poudre de caséinate de sodium à 5% de MAT et à 24°C pendant 10 000 secondes (taille des particules 45 $\mu\text{m}$ ) .....	140
Figure 67 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de (PPCN + PS) NG (A).....	142
Figure 68 : Profil de viscosité d'une poudre de (PPCN + PS) G réhydratée pendant 80 000 secondes dans de l'eau distillée à 24°C (noir), dans de l'eau distillée à 10°C (orange) et dans 1,2% de glycérol à 24°C (rouge) .	143
Figure 69 : Schéma de fabrication des six poudres .....	147
Figure 70 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de poudres non granulées de PPCN (A), (PPCN + LAC) (B) et (PPCN + PUF) (C) à 24°C et à 5% de MAT pendant 60 000 secondes .....	148
Figure 71 : Décomposition du pic $C_{1s}$ de la poudre de lactose de référence en 4 pics correspondant aux liaisons : C-(C,H), C-O, O-C-O et O-C=O.....	151
Figure 72 : Formule chimique du lactose comprenant deux carbones* (O-C-O) et dix carbones (C-O) .....	151
Figure 73 : Spectre global d'une poudre de PPCN non granulée.....	153
Figure 74 : Spectres de détail des pics de l'oxygène (a), carbone (b) et azote (c).....	153
Figure 75 : Nature de certaines liaisons [C-(C,H) et C-O] à la surface des particules .....	156
Figure 76 : Relation entre le temps de mouillage et le pourcentage de lactose en surface : A : poudres granulées et B : poudres non granulées .....	157
Figure 77 : Mise en évidence des relations entre les temps de mouillage et la nature des liaisons de surface pour les poudres non granulées (A) et granulées (B) .....	158
Figure 78 : Structure hypothétique des particules de poudres.....	160
Figure 79 : Schéma de fabrication des poudres co-séchées et mélangées à sec .....	163
Figure 80 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de (PPCN + LAC) NG à 5% de MAT et à 24°C pendant 60 000 secondes ; A : poudre CS ; B : poudre MAS .....	164

Figure 81 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de (PPCN + PUF) NG à 5% de MAT et à 24°C pendant 60 000 secondes. A : poudre CS ; B : poudre MAS .....	165
Figure 82 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de (PPCN + PS) à 5% de MAT et à 24°C pendant 80 000 secondes .....	166
Figure 83 : Mise en évidence de l'étape de gonflement des particules de PPCN (G et NG) en début de réhydratation par granulométrie .....	171
Figure 84 : Profil de viscosité hypothétique obtenu lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 12% de MAT et à 24°C pendant 10 000 secondes .....	172
Figure 85 : Images XPS réalisées sur les poudres de PPCN NG (1 – échelle de 50 µm) et de PPCN G (2 – échelle de 200 µm) ; A : image optique, B : présence d'azote, C : présence de calcium, D : superposition de B et C (azote pixels rouges et calcium pixels verts).....	173
Figure 86 : Structure hypothétique des particules de poudres en fonction du procédé de séchage ; la particule granulée présente une composition de surface proche des fines et un cœur proche des particules non granulées .....	176
Figure 87 : Solutions de protéines solubles réhydratées à 5% de MAT .....	177
Figure 88 : Pourcentage de dénaturation obtenu pour les poudres de PS 90 (A) ; les poudres de PS 70 (B) et les poudres de mélanges (PPCN + PS) (C).....	178
Figure 89 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de PS 90 à 5% de MAT, à 24°C et pendant 5000 secondes ; A et B : poudres de PS 90 NG ; C et D : poudres de PS 90 G .....	181
Figure 90 : Profils de viscosité obtenus lors de la réhydratation des poudres à 5% de MAT, à 24°C et pendant 10 000 secondes ; poudres NG (A) et poudres G (B).....	183
Figure 91 : Evolution de la taille des particules lors de la réhydratation des trois poudres par granulométrie ...	184
Figure 92 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation des poudres à 5% de MAT et à 24°C pendant 4000 secondes ; poudres NG (A) et poudres G (B).....	185
Figure 93 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation des deux poudres granulées avec une agitation de 100 tours/minutes et de 400 tours.min <sup>-1</sup> .....	186
Figure 94 : Evolution des profils de viscosité (A) et de turbidité (B) pour une poudre de PPCN réhydratée à 8% de MAT et à 24°C pendant 5000 secondes .....	191
Figure 95 : Conditions de conservation de la poudre de PPCN .....	192
Figure 96 : Composition de la matière grasse d'une poudre de PPCN stockée à 20°C en sac étanche.....	196
Figure 97 : Relation entre le pourcentage de lipides en surface et l'augmentation du temps de mouillage pour toutes les conditions de conservation .....	197

## Liste des tableaux :

Tableau 1 : Les principales protéines sériques d'après Swaisgood (1982) .....	25
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques des quatre espèces de caséines .....	28
Tableau 3 : Composition de surface d'une même poudre de lait entier séchée par différents procédés d'après Faldt (1995).....	40
Tableau 4 : Classification des poudres de lait écrémé selon leur WPNi d'après Alais (1984) et Niro (1978).....	42
Tableau 5 : Composition moyenne (g.100g <sup>-1</sup> ) des concentrés de protéines totales du lait.....	54
Tableau 6 : Composition moyenne (g.100g <sup>-1</sup> ) des dérivés de caséine.....	56
Tableau 7 : Composition moyenne (g.100g <sup>-1</sup> ) des dérivés de protéines sériques d'après Britten <i>et al.</i> (2002).....	57
Tableau 8 : Liste des poudres à base de caséine fabriquées .....	79
Tableau 9 : Liste des poudres à base de protéines solubles fabriquées .....	80
Tableau 10 : Liste des poudres à partir des mélanges PPCN/PS fabriquées .....	81
Tableau 11 : Constantes données par le fournisseur pour l'étalonnage de la géométrie vane.....	93
Tableau 12 : Etalons de viscosité (moyenne de 4 déterminations $\pm \sigma$ ). .....	94
Tableau 13 : Composition chimique des poudres de phosphocaséinate natif (g.100g <sup>-1</sup> ).....	105
Tableau 14 : Propriétés physiques des poudres de phosphocaséinate natif.....	106
Tableau 15 : Composition chimique des poudres de protéines solubles (g.100g <sup>-1</sup> ) .....	108
Tableau 16 : Propriétés physiques des poudres de protéines solubles .....	109
Tableau 17 : Composition chimique des mélanges de phosphocaséinate natif et de protéines solubles en (g.100g <sup>-1</sup> ).....	110
Tableau 18 : Propriétés physiques des poudres de phosphocaséinate natif et de protéines solubles.....	111
Tableau 19 : Temps de mouillage obtenus pour certaines poudres laitières à partir des profils de turbidité et de la norme FIL (1985).....	129
Tableau 20 : Paramètres de réhydratation obtenus pour les poudres de PPCN et de PS (n=3).....	136
Tableau 21 : Paramètres de réhydratation obtenus pour les six poudres (n=3).....	144
Tableau 22 : Paramètres de réhydratation obtenus à partir des profils de turbidité (n=3).....	149
Tableau 23 : Composition élémentaire des échantillons de référence analysés par SPX.....	150
Tableau 24 : Composition globale et composition de surface calculée avec les deux types de matrices (n=2) ..	154
Tableau 25 : Pourcentage de minéraux en surface des poudres obtenus par XPS.....	159
Tableau 26 : Paramètres de réhydratation obtenus pour les différentes poudres (n=3).....	168
Tableau 27 : Quelques temps de mouillage obtenus pour des poudres granulées et non granulées d'après la norme FIL (1985).....	170
Tableau 28 : Composition de surface des poudres de PPCN (n=2).....	174
Tableau 29 : Eléments de surface et composition de surface des trois poudres obtenus par spectrométrie de photoélectrons X .....	175
Tableau 30 : Norme FIL (1985) de mouillabilité et de dispersibilité pour les poudres de protéines solubles (n=3) .....	180
Tableau 31 : Normes de mouillabilité et de dispersibilité selon la FIL (1985) .....	182
Tableau 32 : Propriétés physico-chimiques de la poudre de PPCN (n=2) .....	192

Tableau 33 : Temps de mouillage obtenus à partir des profils de viscosité pour du PPCN G à 5% de MAT et à 24°C (n=2) .....	193
Tableau 34 : Temps de réhydratation obtenus à partir des profils de viscosité pour une poudre de PPCN G réhydratée à 5% de MAT et à 24°C (n=2) .....	194
Tableau 35 : Composition de surface obtenue par SPX des poudres stockées en sac étanche.....	195
Tableau 36 : Composition de surface obtenue par SPX des poudres stockées en sac classique .....	195
Tableau 37 : Comparaison de la couleur des poudres (+b) avant et après extraction des lipides (n=3).....	197



# Nomenclature

**AFM** : microscopie de force atomique

**C** : carbone

**Ca** : calcium

**CCM** : chromatographie sur couche mince

**CCP** : phosphate de calcium colloïdal

**CPT** : concentrés de protéines totales

**ES** : extrait sec (%)

**ESV** : évaporation sous vide

**FRV** : facteur de réduction volumique =  
volume d'entrée / volume de rétentat

**G** : granulé

**g** : gramme

**L** : litre

**LAC** : lactose

**MAT** : matière azotée totale

**MEB** : microscopie électronique à balayage

**mg** : milligramme

**MG** : matière grasse

**mL** : millilitre

**mS** : millisiemens

**N** : azote

**NG** : non granulé

**O** : oxygène

**P** : phosphore

**PPCN** : phosphocasinat natif

**PS** : protéines solubles

**PUF** : perméat d'ultrafiltration

**RMN** : résonance magnétique nucléaire

**rpm** : rotation par minutes

**S** : soufre

**SPX** : Spectroscopie des photoélectrons X

**T** : tonne

**T<sub>f</sub>** : température de fusion (°C)

**T<sub>g</sub>** : temps de gonflement (s)

**T<sub>g</sub>** : température de transition vitreuse (°C)

**T<sub>m</sub>** : temps de mouillage (s)

**T<sub>r</sub>** : temps de réhydratation (s)

**TTL** : traitement thermique du liquide

**TTP** : traitement thermique de la poudre

**µg** : microgramme



## **Introduction générale**

Pouvez-vous citer des produits alimentaires transformés qui n'intègrent aucun ingrédient laitier ? Certainement très peu... Actuellement, les ingrédients laitiers sont déshydratés dans un but de stabilisation et utilisés par les industriels de l'agroalimentaire sous cette forme. Ces dernières années, les avancées technologiques dans le domaine des transformations laitières ont permis la multiplication de ces produits laitiers déshydratés. C'est, entre autre, l'émergence des techniques séparatives sur membrane qui a engendré l'apparition sur le marché de nouvelles bases laitières et notamment protéiques (protéines de lactosérum, concentrés de protéines micellaires ou encore concentrés de lait épurés...). En parallèle, des progrès considérables dans la connaissance scientifique des constituants du lait ont permis une valorisation de ces protéines laitières, principalement dans les domaines nutritionnels et fonctionnels. Il en résulte une évolution de la nature des poudres laitières fabriquées au cours de ces dernières années. Ainsi, leur tonnage global est toujours d'environ 1 200 000 tonnes sur les cinq dernières années mais la nature des poudres fabriquées a fortement évolué (CNIEL 1998 ; 2000 ; 2002 ; 2004). Par exemple, la production de poudre de lait a nettement diminué au profit de la production de poudres de lactosérum ou encore de poudres de concentrés protéiques.

La **figure 1** résume la répartition du lait en France et met en évidence l'importance du marché des poudres laitières en France. Si l'on estime qu'il y a environ 10% d'extrait sec dans le lait et si l'on additionne le tonnage de toutes les poudres fabriquées (soit environ 1 200 000 T), il apparaît ainsi que 50% de l'extrait sec du lait de départ se retrouve sous forme de poudre. L'étendue de ce marché prouve l'intérêt de travailler sur les poudres laitières. Par contre, avant de pouvoir envisager une utilisation optimale de ces poudres, l'utilisateur devra forcément les réhydrater. Cette étape dite de **réhydratation** est loin d'être simple. Aujourd'hui face à la diversité et à la complexité de tous ces nouveaux ingrédients laitiers, il apparaît un manque évident de données techniques et de méthodes scientifiques fiables permettant d'évaluer les propriétés de réhydratation de ces poudres. C'est pourquoi, le principal objectif de ce travail de thèse a été d'aborder la problématique de la réhydratation des poudres laitières en proposant une approche dynamique de la compréhension des mécanismes de réhydratation.

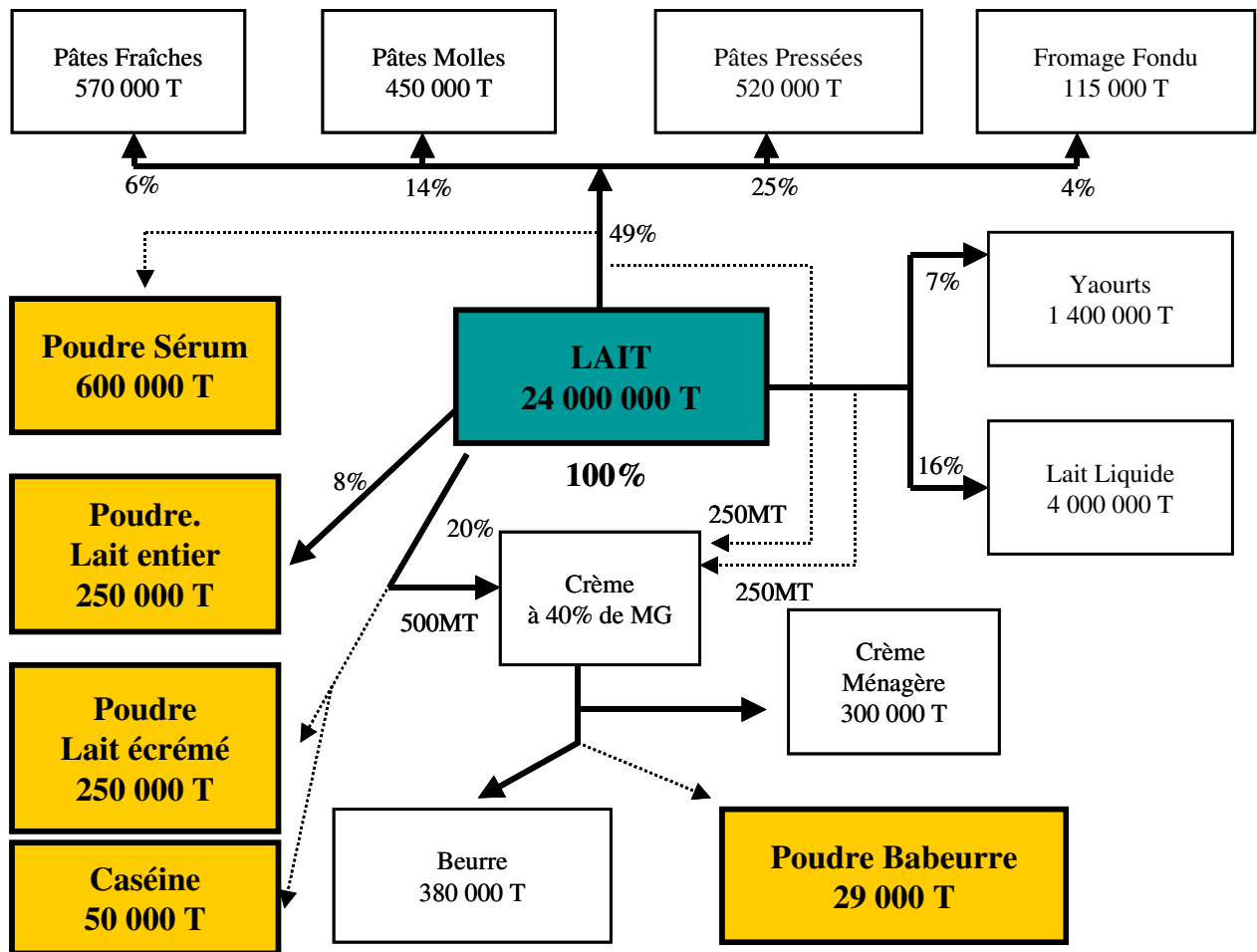


Figure 1 : Répartition des produits fabriqués à partir de lait en France d'après Brulé (communication personnelle)

Les caractéristiques biochimiques (composition protéique, glucidique, lipidique et minérale) et physiques (masse volumique, granulométrie, porosité, écoulement, éboulement) de la poudre influencent sa qualité finale et par conséquent ses propriétés de réhydratation. Or, ces caractéristiques dépendent aussi bien de la composition du concentré avant séchage que des paramètres de séchage. C'est pourquoi, la compréhension des phénomènes de réhydratation implique de s'intéresser à l'évolution de la matrice durant le processus d'obtention des poudres et suppose une maîtrise de la composition des poudres laitières et du procédé d'atomisation.

Les facteurs limitants de la réhydratation des poudres correspondent au caractère hydrophobe ou hydrophile des constituants et à leur répartition dans la particule, à la présence de pores de petit diamètre et de zones particulièrement visqueuses (les cinétiques de diffusion seront complètement différentes dans une structure à l'état amorphe caoutchouteux ou vitreux). L'influence de la variation des paramètres physico-chimiques de l'environnement

aqueux (pH, force ionique) doit également être prise en compte dans le processus dynamique de réhydratation des constituants, notamment protéiques.

L'étude de la structure des particules de poudre constitue aussi une étape dans la compréhension des phénomènes de réhydratation. L'étude structurale implique l'utilisation de différentes méthodes permettant d'analyser la composition de surface des particules de poudre comme la spectroscopie des photoélectrons X (SPX) ou encore la microscopie optique. Quant à la microstructure et la distribution de taille des particules, elles peuvent être étudiées respectivement par microscopie électronique à balayage (MEB) et par granulométrie laser.

Compte tenu de la multiplicité des paramètres à envisager et des interactions spécifiques pouvant survenir entre constituants (réactions de Maillard, interactions protéines sériques/caséines...), il est apparu important de ne pas s'éloigner des milieux réels utilisés en industrie. Le choix des produits s'est donc porté sur les dérivés de fractionnement du lait écrémé ; des phosphocaséinates et des protéines solubles seules ou en mélange, en présence ou non de lactose et de minéraux du lait. La dénaturation thermique des protéines est également envisagée car susceptible de modifier les propriétés fonctionnelles de ces protéines donc leur réhydratation.

Une **étude bibliographique** précède l'exposé des travaux. Elle comprend quatre parties. La composition du lait et de ses constituants est d'abord envisagée dans une première partie. Puis, la composition de la poudre et l'arrangement des constituants dans la matrice et à l'interface poudre/air est traitée. Les modifications physico-chimiques induites au cours des opérations technologiques et du stockage font partie de la deuxième partie. La troisième partie est consacrée au volet technologique. Les opérations technologiques permettant l'obtention des poudres ainsi que les principales poudres de protéines laitières et leurs utilisations industrielles sont entre autre développées. Enfin, les propriétés de réhydratation des poudres laitières vont constituer le point de départ de notre travail de recherche. Les différentes approches de caractérisation de la réhydratation seront présentées et le manque de standardisation dans ce domaine sera soulevé dans la quatrième partie.

Le matériel et les principes des techniques expérimentales utilisées ainsi que la technologie de fabrication des poudres étudiées dans la thèse sont détaillés dans la **partie matériel et méthodes**.

Les **résultats** comprennent tout d'abord la mise au point et la validation de deux méthodologies développées au laboratoire et permettant de suivre la réhydratation des poudres laitières. La première méthodologie met en jeu un réacteur instrumenté comprenant des sondes de turbidité, de pH et de conductivité et la seconde appréhende le développement

d'un rhéomètre équipé d'un agitateur à pales adapté à l'étude des systèmes particuliers. Dans les parties suivantes ces méthodologies seront exploitées dans le but de caractériser :

- l'influence de la composition biochimique sur la réhydratation,
- l'influence du procédé technologique sur la réhydratation,
- l'influence des conditions de conservation sur la réhydratation.

En complément des méthodologies mises au point, les propriétés de réhydratation des poudres seront approfondies par des analyses de composition de surface par spectroscopie des photoélectrons X. La microstructure des poudres sera également mise en évidence par microscopie électronique à balayage.

Enfin, une **conclusion générale** permet de faire un bilan sur les résultats obtenus et d'ouvrir sur les nombreuses **perspectives** que soulèvent cette thèse.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse ont fait l'objet des publications et communications suivantes :

Publications dans des journaux internationaux:

- **C. Gaiani**, S. Banon, J. Scher, P. Schuck and J. Hardy, Use of a turbidity sensor to characterize casein powders rehydration : influence of some technological effects, *Journal of Dairy Science*, 88 (2005) 2700-2706.
- **C. Gaiani**, J. Scher, P. Schuck, J. Hardy, S. Desobry and S. Banon, The dissolution behaviour of native phosphocaseinate as a function of concentration and temperature using a rheological approach, *International Dairy Journal*, 16:12 (2006) 1427-1434.
- **C. Gaiani**, J.J. Ehrhardt, J. Scher, J. Hardy, S. Desobry and S. Banon, Surface composition of dairy powders observed by X-ray Photoelectron Spectroscopy effects on their rehydration properties, *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces*, 49:1 (2006) 71-78.
- **C. Gaiani**, P. Schuck, J. Scher, S. Desobry and S. Banon, Dairy powder rehydration : Influence of proteins nature, incorporation mode and granulation, *Journal of Dairy Science*, acceptée.
- **C. Gaiani**, J. Scher, P. Schuck, S. Desobry and S. Banon, Relations between dairy powder rehydration properties and powder surface composition during conservation, en cours de rédaction.

Conférences avec comité de lecture:

***Communication orale***

- **C. Gaiani**, S. Banon, J. Scher and J. Hardy, Micellar casein powder rehydration : effect of adding lactose and ultrafiltrate on water transfer, *First Dairy Science and Technology Week*, 28 february - 3 march 2005, Cambridge.
- J. Scher, **C. Gaiani**, S. Banon, P. Schuck et M. Thomas, Interaction poudre alimentaire/eau, *Colloque ADRIA*, 31 mai – 1er juin 2006, Paris.

***Par affiche***

- **C. Gaiani**, P. Schuck, S. Banon, J. Scher and J. Hardy, Use of viscosity profiles to characterize the rehydration of dairy powders, *Second International Symposium on Spray Drying of Milk Products*, 19-2 october 2004, Cork, Ireland.





# **Étude bibliographique**

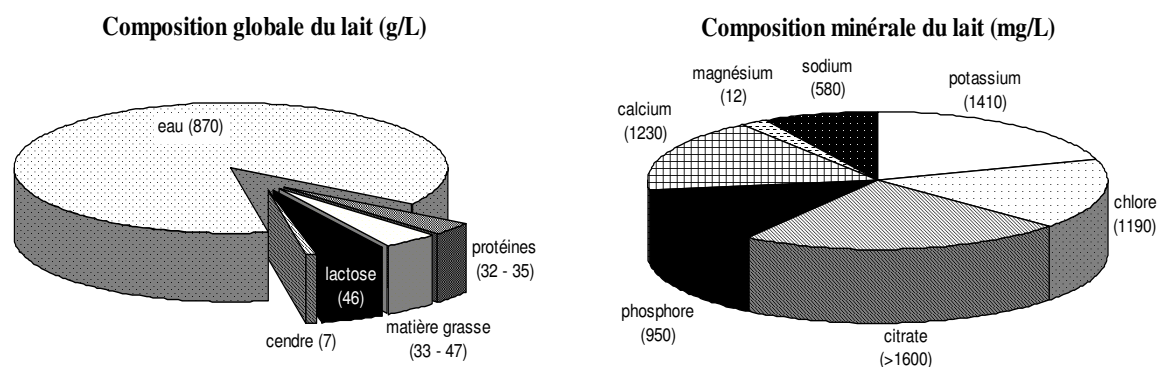


## 1 Du lait au produit déshydraté

### 1.1 Composition et structures du lait

Le lait est un mélange complexe qui contient des protéines, lipides, glucides, minéraux et vitamines (**figure 2**). Ces composants se répartissent en trois fractions :

- une suspension protéique composée principalement de caséines sous leur forme micellaire comprenant 2/3 du calcium,
- une phase aqueuse où l'on retrouve les sucres du lait, les protéines sériques, les minéraux et les vitamines,
- une phase émulsionnée contenant la matière grasse sous forme de globules gras.



**Figure 2 : Composition globale du lait de vache et détail de sa composition minérale d'après Cayot et Lorient (1998)**

#### 1.1.1 Les protéines du lactosérum

Le lait contenant 32 à 35 g.L<sup>-1</sup> de protéines, les protéines du lactosérum représentent 20% de ce total soit environ 7 g.L<sup>-1</sup> (**tableau 1**) (Alais, 1984). Les protéines du lactosérum se présentent sous forme globulaire, elles sont situées dans la phase aqueuse du lait et présentent une importante sensibilité thermique.

**Tableau 1 : Les principales protéines sériques d'après Swaisgood (1982)**

protéine	quantité (g.L <sup>-1</sup> )
β-lactoglobuline	2 à 4
α-lactalbumine	1 à 1,5
immunoglobulines	0,6 à 1,8
albumine sérique	0,1 à 0,4

#### 1.1.1.1 Les protéines mineures

Ces protéines dites mineures d'un point de vue quantitatif ont pourtant des fonctions fondamentales. C'est le cas des immunoglobulines qui font partie de la famille des glycoprotéines et qui possèdent des activités d'anticorps (Ribadeau-Dumas, 1981). La sérum albumine bovine est principalement connue pour son rôle de transporteur d'acides gras insolubles ou d'hormones (Morr et Ha, 1993 ; Spector, 1975). La lactoferrine (protéine dite basique) est généralement complexée avec la sérum albumine bovine ou la  $\beta$ -lactoglobuline (protéines dites acides). C'est une protéine porteuse d'ions ferriques qui jouerait un rôle bactériostatique dans le lait en privant les microorganismes du fer disponible (Cayot et Lorient, 1998). Nous pouvons également citer quelques enzymes présentes : la lactoperoxydase, la phosphatase alcaline, la catalase ou encore la plasmine.

#### 1.1.1.2 Les protéines majeures

Les protéines majeures du lactosérum tant d'un point de vue quantitatif que technologique comprennent deux protéines : la  $\beta$ -lactoglobuline et l' $\alpha$ -lactalbumine. Contrairement à certaines protéines mineures, elles sont synthétisées par les cellules des glandes mammaires de la vache et ne proviennent pas du compartiment sanguin.

La  $\beta$ -lactoglobuline est une protéine globulaire comprenant 162 acides aminés et dont la masse moléculaire avoisine les  $18\,300\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ . En fonction du pH, de la température, de la concentration ou encore de la force ionique du milieu, elle peut exister sous différents états oligomériques allant du dimère au pH naturel du lait à l'octamère (Busti *et al.*, 2002 ; Croguennec *et al.*, 2003). Au voisinage de son point isoélectrique estimé à pH 5,2 (Pelegri et Gasparetto, 2004), elle est très peu soluble dans l'eau. Par contre, sa solubilité augmente de façon importante avec la concentration saline du milieu. Sa structuration est importante du fait de l'empilement de feuillets  $\beta$  et d'une structure très compacte de type  $\beta$ - $\alpha$ - $\beta$  bloquée par deux ponts disulfure. D'après Timasheff *et al.* (1965), 45% des acides aminés sont impliqués dans les feuillets  $\beta$  et 15% dans les feuillets  $\alpha$ . Cette structuration conduit à une structure tertiaire extrêmement compacte (**figure 3**).

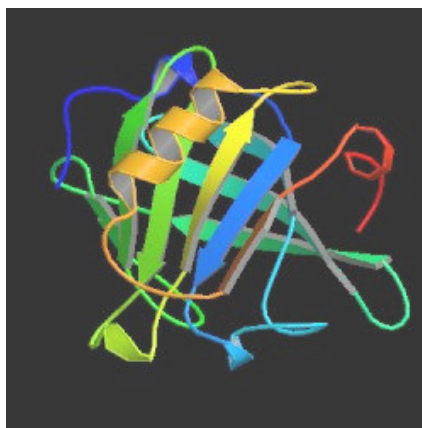


Figure 3 : Structure tridimensionnelle de la  $\beta$ -lactoglobuline bovine obtenue par diffraction aux rayons X à pH 6,5 d'après Brownlow *et al.* (1997)

L' $\alpha$ -lactalbumine est une petite protéine globulaire compacte de 123 acides aminés et d'une masse moléculaire de  $14\,200\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  (figure 4). Cette métalloprotéine présente une structure stabilisée par 4 ponts disulfures et un cation (Ribadeau-Dumas, 1981). Son pH isolélectrique est de 4,8 (Cayot et Lorient, 1998). Le degré d'organisation de cette protéine est relativement faible par rapport à celui de la  $\beta$ -lactoglobuline ; seulement 30% des acides aminés sont structurés en hélice  $\alpha$  et 9% en feuillets  $\beta$  (Alexandrescu *et al.*, 1993). Sa structure tertiaire est rigidifiée par la présence d'un ion calcium au cœur de celle-ci. De plus, cet ion lui confère une meilleure résistance aux traitements thermiques que la  $\beta$ -lactoglobuline.

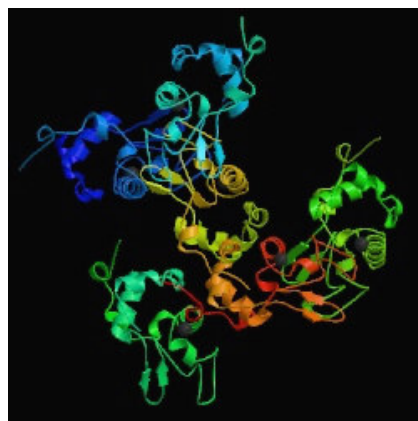


Figure 4 : Structure tridimensionnelle de l' $\alpha$ -lactalbumine bovine en présence d'ion  $\text{Ca}^{2+}$  obtenue par diffraction aux rayons X à pH 8,0 d'après Chrysinia *et al.* (2000)

## 1.1.2 La micelle de caséine

### 1.1.2.1 Composition, taille et forme

La fraction protéique majeure du lait est constituée des caséines  $\alpha_{s1}$  ;  $\alpha_{s2}$  ;  $\beta$  et  $\kappa$  et organisée en superstructures sphériques et volumineuses appelées micelles. Les propriétés physico-chimiques des quatre espèces de caséines ( $\alpha_{s1}$  ;  $\alpha_{s2}$  ;  $\beta$  et  $\kappa$ ) constitutives de la micelle

sont données dans le **tableau 2**. On note que le pH isoélectrique de la micelle de caséine (pH 4,6) diffère des points iso-ioniques des caséines constitutives. Ceci traduit l'importance de la structuration des sous unités sur le comportement des caséines. La micelle de caséine contient 92% de protéines et une fraction minérale de 8%. Les minéraux sont constitués de 90% de phosphate de calcium et de 10% d'ions citrate et magnésium. Le rapport des masses de caséines dans la micelle est de  $\alpha_{S1}$ - $\alpha_{S2}$ - $\beta$ - $\kappa$  / 4-1-3,7-1,4. Leur diamètre moyen est d'environ 180 nm (Mc Mahon et Brown, 1984) mais peut varier de 30 à 600 nm. Ces variations dépendent de la saison, du stade de lactation ou encore du traitement subi par le lait mais également de la technique de mesure utilisée (Scher, 1988).

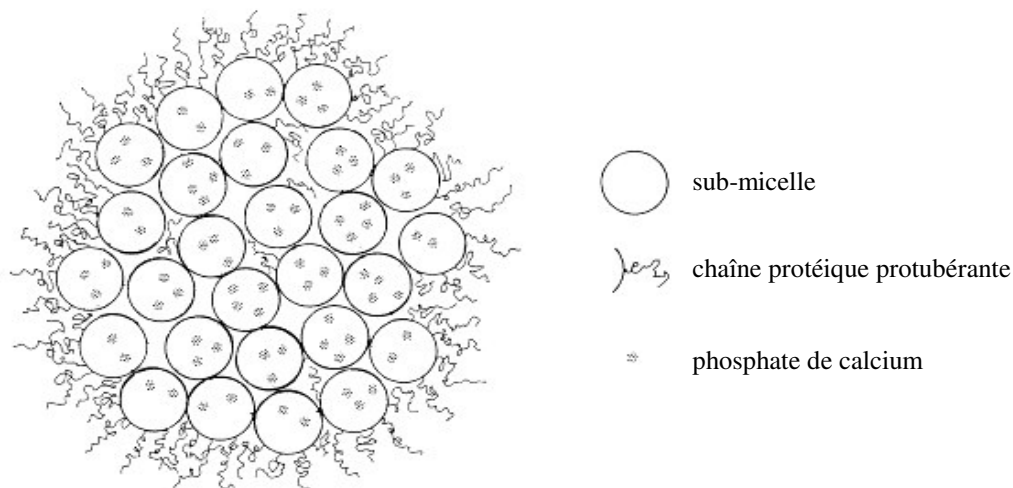
**Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques des quatre espèces de caséines d'après Swaisgood (1982) et Cheftel *et al.* (1985)**

	caséine $\alpha_{S1}$	caséine $\alpha_{S2}$	caséine $\beta$	caséine $\kappa$
nombre de résidus	199	207	209	169
masse moléculaire (g.mol <sup>-1</sup> )	23 612	25 228	23 980	19 005
pH iso-ionique	6	5,3	5,2	5,6
hydrophobicité totale (kJ.résidu <sup>-1</sup> )	4,89	4,64	5,58	5,12

### 1.1.2.2 Modèles de structure des micelles de caséine

Parmi les différents modèles structuraux proposés, deux modèles de micelle de caséines sont aujourd'hui admis.

Le modèle submicellaire ou de type « sous-unité » a été décrit par Morr (1967) pour la première fois. Walstra (1999) propose une version actualisée de ce modèle. L'édifice micellaire serait constitué d'un assemblage de submicelles de 10 à 15 nm de diamètre (**figure 5**).



**Figure 5 : Modèle submicellaire d'après Walstra (1999)**

La composition des submicelles serait différente suivant leur localisation dans la micelle. Les submicelles situées au cœur de l'édifice seraient composées de caséines  $\alpha_s$  et  $\beta$  pour former un cœur hydrophobe. Celles situées sur le pourtour contiendraient les caséines  $\alpha_s$  et  $\kappa$  pour constituer une enveloppe plutôt hydrophile. C'est grâce à des ponts de phosphate de calcium colloïdal que la cohésion de l'ensemble de l'édifice micellaire est rendue possible. De plus, la présence de chaînes peptidiques (chaînes protéiques protubérantes sur la **figure 5**) à l'extrémité C-terminale de la caséine  $\kappa$  s'étendant vers l'extérieur confèrent à la micelle une certaine stabilité stérique (Walstra et Jeness, 1984 ; Holt et Horne, 1996 ; de Kruif, 1999)

Un second modèle de type « structure ouverte » remettant en cause la présence de submicelles a été revu récemment par Horne (1998). Ce modèle basé sur la présence d'interactions spécifiques entre les caséines, conduit à une structure plus poreuse (**figure 6**). C'est un équilibre entre des interactions hydrophobes et des forces de répulsion électrostatiques qui maintiendrait l'intégrité micellaire. Ces interactions hydrophobes entre protéines sont possibles grâce au phosphate de calcium colloïdal (CCP) dont la charge positive, en interagissant avec les groupements phosphoséryles des protéines, réduirait la charge nette des caséines.

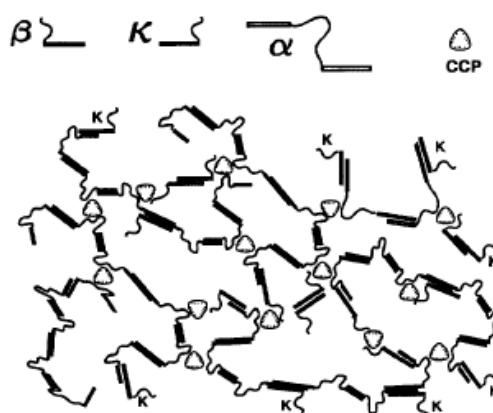


Figure 6 : Modèle de type structure ouverte d'après Horne (1998)

### 1.1.3 Les autres constituants du lait

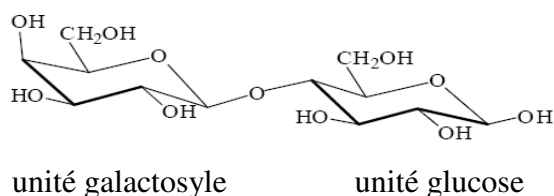
#### 1.1.3.1 Le lactose

Le lactose est le constituant majeur de la matière sèche du lait où il représente plus de la moitié de l'extrait sec. Il se forme dans les glandes mammaires à partir du glucose et du galactose. C'est donc un diholoside : le 4-O- $\beta$ -D galactopyranosyl-D-glucopyranose (**figure 7**). On le trouve sous deux formes anomériques ( $\alpha$  ou  $\beta$ ). Elles diffèrent par la configuration

stérique de l'atome d'hydrogène et du groupe hydroxyle OH sur le carbone C<sub>1</sub> du glucose. La proportion en solution  $\alpha/\beta$  est d'environ 37/63 à 20°C.

À l'état sec, le lactose se présente sous différentes formes : amorphe s'il est séché suffisamment vite ou cristallisé sous des formes anhydres ( $\alpha$  et  $\beta$ ) ou encore monohydraté ( $\alpha$ ). Il est très utilisé dans l'industrie alimentaire et sert principalement à renforcer le goût et la couleur des produits ou encore à augmenter leur durée de conservation en fixant une partie de l'eau libre.

Le lactose est directement responsable de la réaction de Maillard qui peut se développer dans les poudres laitières entre des protéines et des sucres réducteurs. Cette réaction a pour conséquence une altération de la qualité nutritionnelle et organoleptique des poudres ainsi que des propriétés fonctionnelles. Néanmoins, cette réaction peut être recherchée ; c'est le cas dans le domaine de la chocolaterie avec les poudres de lait roller.



**Figure 7 : Formule de l' $\alpha$ -lactose**

### 1.1.3.2 La matière grasse

La matière grasse du lait est constituée principalement de triacylglycérols (97,5%). On retrouve également des phospholipides (0,6%), des diacylglycérols (0,36%) ou encore du cholestérol (0,31%) (Christie, 1983). Les triacylglycérols sont composés de 23,5% de résidus d'acide palmitique (C16:0), de 21% de résidus d'acide oléique (C18:1), de 10,5% de résidus d'acide myristique (C14:0) et de 10% de résidus d'acide stéarique (C18:0)... (Walstra et Jenness, 1984).

Pratiquement toute la matière grasse est contenue dans les globules gras ; gouttelettes lipidiques enrobées d'une enveloppe protectrice (Danthine *et al.*, 2000). Leur diamètre varie de 2 à 12  $\mu\text{m}$  (Ribadeau-Dumas et Grappin, 1989). Lors de leur exocytose depuis les cellules épithéliales vers la lumière de la glande mammaire, il se forme une membrane constituée principalement de protéines glycosylées (Mather, 2000). Au cours de l'homogénéisation du lait, la matière grasse va être fragmentée pour permettre une stabilisation de l'émulsion. Cette opération va également modifier la structure de leur membrane.



#### 1.1.3.3 Les minéraux

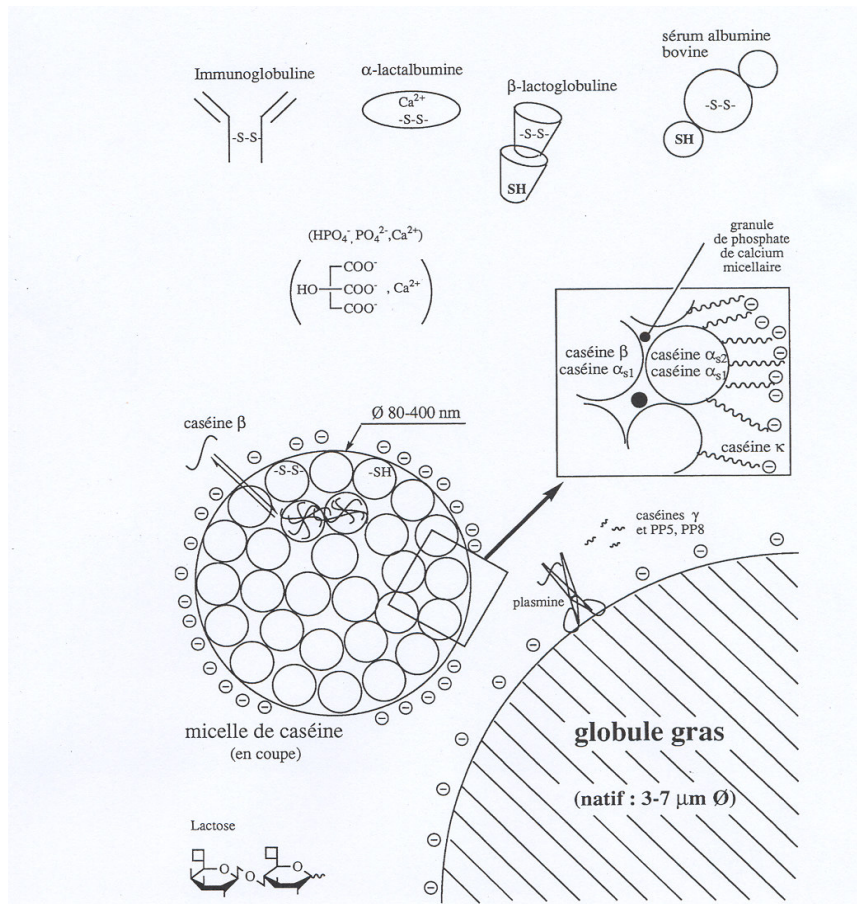
Les éléments essentiels contribuant aux équilibres minéraux sont le calcium, le phosphate inorganique et le citrate. Les ions calcium sont principalement associés avec les ions citrate et phosphate. Les autres minéraux tels que le magnésium, le sodium, le potassium et le chlorure sont également présents dans le lait mais ont un rôle moins crucial (Gaucheron *et al.*, 2004). Ils se répartissent entre la phase colloïdale et la phase aqueuse. À pH 6,6 environ, les 2/3 du calcium se trouvent dans la phase colloïdale (Alais, 1984). Ainsi, sur 34 mmol.L<sup>-1</sup> de calcium contenus dans le lait, 24 mmol.L<sup>-1</sup> sont dans la phase colloïdale intégrés à la micelle, 8,7 mmol.L<sup>-1</sup> correspondent à du calcium soluble dans la phase aqueuse et 2,1 mmol.L<sup>-1</sup> à des ions calcium (Cayot et Lorient, 1998).

#### 1.1.3.4 Les vitamines

Le lait ne permet pas de satisfaire tous les besoins vitaminiques. Néanmoins, il contient des vitamines réparties en deux classes selon leur solubilité : les vitamines hydrosolubles et les vitamines liposolubles. La première classe comprend les vitamines A, D, E et K à hauteur de 40 ; 2,4 ; 100 et 5 µg/100 mL respectivement. Les plus représentatives de la deuxième classe sont les vitamines C, B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub>. Les vitamines liposolubles présentent la caractéristique de s'associer aux lipides du lait. L'écémage entraînera donc une diminution considérable de leur concentration.

#### 1.1.4 Modèle global des structures qui composent le lait

La **figure 8** illustre la complexité de la structure du lait à l'état natif. Nous verrons qu'au cours de la réhydratation pratiquement chaque constituant a un rôle direct dans les phénomènes de réhydratation.



**Figure 8 : Modèle global des structures et superstructures qui composent le lait d'après Cayot et Lorient (1998)**

## 1.2 Composition et structures des poudres lactières

### 1.2.1 Organisation des composants aux interfaces lipide/eau

D'après Cayot et Lorient (1998), le lait est défini comme étant une émulsion lipide dans eau ; c'est à dire une dispersion de matière grasse sous forme de gouttelettes lipidiques dans de l'eau (phase continue). Lors d'une homogénéisation, les protéines et plus particulièrement les caséines sont connues pour s'adsorber fortement aux interfaces (Dickinson 1989 ; 1999) ; les molécules de caséine diffusant plus rapidement à la surface des gouttelettes formées que les protéines sériques (Walstra, 1983a). Cette couche protéique va également stabiliser la gouttelette d'une immédiate coalescence et lui conférer une stabilisation lors des procédés. Par comparaison aux caséines, les protéines sériques présentent une capacité d'adsorption aux interfaces moins importante mais l'interface obtenue sera beaucoup plus stable par dépliement de celles-ci. Par conséquent, dans une solution contenant un mélange caséines/protéines sériques, les caséines seront majoritairement retrouvées en surface. Ces propriétés semblent directement liées aux structures des deux grandes familles protéiques. Les caséines sont des molécules dépliées et flexibles, bipolarisées (amphiphiles) et très tensioactives. À l'opposé, les protéines sériques sont des protéines globulaires, compactes et rigides.

La formation de cette couche protéique aux interfaces nécessite trois étapes (Fox et Mulvihill, 1983). Une diffusion des protéines apparaît tout d'abord, suivie par leur adsorption à l'interface. Pour terminer, un réarrangement protéique va se mettre en place. Ces étapes sont dépendantes de la composition en acides aminés de la protéine, du pH, de la température, de la force ionique et surtout de la facilité avec laquelle la structure protéique va se déplier.

Lors de l'application d'un traitement thermique (85°C) à une émulsion contenant les deux familles protéiques, il semble qu'une compétition s'installe entre les protéines ; les protéines sériques déplaçant ainsi pratiquement toutes les caséines de l'interface même si ces dernières sont considérées comme plus tensioactives (Brun et Dalgleish, 1999). Dalgleish *et al.* (2002) mettent ainsi en évidence que seule la  $\beta$ -lactoglobuline (et non l' $\alpha$ -lactalbumine) est capable de déplacer les caséines de la surface. Dans un mélange de caséines, il semble que seule la caséine  $\kappa$  puisse résister à cette tendance (Dalgleish *et al.*, 2002). La présence de protéines solubles en surface lors d'un traitement thermique semble s'expliquer par la dénaturation de ces dernières et la formation de liaisons S-S entre les deux familles de protéines (Dickinson et Matsumura, 1991). Par contre, le mécanisme exact entraînant le déplacement des caséines de l'interface vers l'intérieur de l'émulsion n'est pas encore élucidé (Brun et Dalgleish, 1999).

### 1.2.2 Organisation des composants aux interfaces liquide/air et extrapolation aux interfaces poudre/air

Les concepts développés dans la partie précédente sur les activités des protéines aux interfaces lipide/eau s'appliquent également dans le cas des interfaces liquide/air (Cayot et Lorient, 1998). De plus, la synthèse proposée par Walstra et Roos (1993) sur les interfaces protéiques ne différencie pas le type d'interface (lipide/eau ; liquide/air...). Pendant le séchage, l'atomisation forme des gouttelettes ; de nombreux auteurs ont alors extrapolé l'interface liquide/air de la gouttelette à l'interface poudre/air.

Lors du séchage d'un mélange liquide contenant des protéines, des lipides et du lactose, il apparaît généralement une sur-représentation de protéines en surface par rapport à la composition globale (Fäldt, 1995 ; Millqvist-Fureby *et al.*, 2001 ; Kim *et al.*, 2003 ; Nijdam et Langrish, 2005). Par exemple, le pourcentage de protéines dans un mélange (protéine/lipides/lactose - 33/33/33) a été évalué en surface à (50/40/10). Cette sur-représentation en surface s'observe également pour les lipides dans une moindre mesure (Fäldt, 1995). En effet, une augmentation de la composition globale en lipides de 0 à 5% entraîne une augmentation des lipides de surface de 0 à 35%. La nature des protéines et la quantité de lactose dans le mélange avant séchage vont directement influencer la quantité de lipides en surface des poudres (Fäldt, 1995). Ainsi, les caséines en présence de lactose présentent des propriétés d'encapsulation des lipides beaucoup plus importantes que les protéines sériques. Par contre, si le pourcentage de lactose dans le concentré avant séchage diminue (de 60 à 20%), les propriétés d'encapsulation des caséines diminuent fortement ; les lipides de surface passant alors de 40 à 80%. À l'inverse, les mêmes mélanges à base de protéines sériques entraîneront la présence de plus de lipides en surface, ceci est dû à leur moindre capacité d'encapsulation. Dans ce cas, aucune influence du lactose n'est observée.

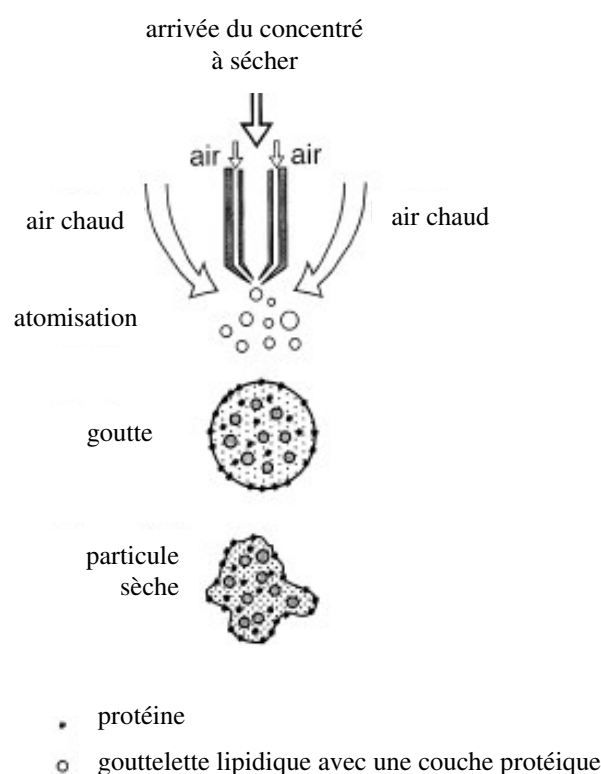
Deux hypothèses sont actuellement présentées pour expliquer les mécanismes mis en jeu lors du séchage et aboutissants à la sur-représentation de protéines et de lipides en surface des particules par rapport au lactose.

Dans la première, les composés les plus tensioactifs (protéines) diffusent vers la surface accompagnés des lipides qui sont sous forme liquide aux températures de séchage classiques. Par conséquent, les autres constituants comme les minéraux ou le lactose seront plutôt localisés dans le cœur de la particule (Millqvist-Fureby *et al.*, 2001 ; Nijdam et Langrish, 2005). Cette théorie s'appuie sur le mécanisme de formation des interfaces décrit dans la partie précédente et est extrapolée à la formation de la surface des poudres (**figure 9**).

Dans la seconde hypothèse, la diffusion de l'eau qui s'établit de l'intérieur vers l'extérieur de la particule lors du séchage est accompagnée par une diffusion opposée de tous

les solides : protéines, lipides, lactose et minéraux (diffusion de Fick). Les composés de faible masse moléculaire (lactose et minéraux) vont diffuser plus vite vers l'intérieur de la particule que les composés de haut poids moléculaire (protéines, lipides). C'est pourquoi les protéines et les lipides se retrouveraient alors en plus grande quantité à la surface des particules (Kim *et al.*, 2003 ; Kentish *et al.*, 2005).

Lors du séchage, le temps entre la formation de la gouttelette et la formation de la croûte en surface de la particule est très court et dure moins d'une seconde (Fältdt, 1995). Par conséquent, les phénomènes intervenants sont certainement un peu plus complexes que ceux mis en jeu dans une simple émulsion où les étapes de diffusion, d'adsorption et de réarrangement des composants aux interfaces ont largement le temps de se réaliser. Dans le cas d'une interface poudre/air, le mécanisme de diffusion est donc considéré comme le principal mécanisme de transport des molécules à la surface. Toutefois, peu d'études s'intéressent actuellement à la formation des interfaces poudres/air (Landström *et al.*, 2003).



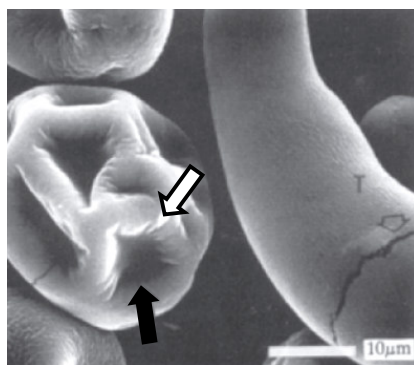
**Figure 9 : Description schématique des événements arrivant lors du séchage d'une émulsion d'après Millqvist-Fureby *et al.* (2001)**

### 1.2.3 Techniques d'investigation de la surface des particules de poudres

Lors du séchage d'un lait entier, le lactose forme une matrice dans laquelle les protéines, la matière grasse et l'air occlus sont uniformément distribués (Aguilar et Ziegler, 1994a ; 1994b). La matière grasse se présente principalement sous la forme de fines

gouttelettes lipidiques (Mac Kenna, 1997). Le reste correspond à de la matière grasse libre et se retrouve souvent en surface des particules, dans les pores et les capillaires (Aguilar et Ziegler, 1994a). L'organisation des composants à la surface des poudres est sensée jouer un rôle crucial dans certaines de leurs propriétés fonctionnelles et plus précisément dans la réhydratation (Fäldt, 1995), l'écoulement ou la cohésion des poudres (Kim *et al.*, 2005a).

Jusqu'à ces dernières années, la **microscopie électronique à balayage** (MEB) était une méthode classiquement utilisée pour étudier la surface d'une poudre laitière. Certains auteurs interprètent les photographies obtenues par MEB en terme de composition de surface. Mistry *et al.* (1992) et Mistry (2002) ont ainsi démontré qu'une poudre riche en protéines présente une surface lisse alors qu'une poudre contenant beaucoup de lactose révèle une surface plutôt « ridée » (**figure 10**). Mais d'autres auteurs arrivent à des conclusions inverses (Aguilar et Ziegler, 1994a ; 1994b). Ces interprétations peuvent donc prêter à confusion et une quelconque quantification de la composition de surface ou une identification des composants est difficilement réalisable.



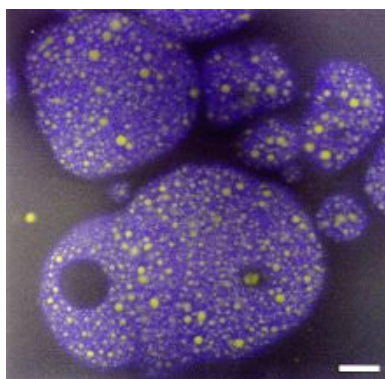
**Figure 10 : Poudre de lait observée par microscopie électronique à balayage, présentant une surface « ridée » (flèche blanche) et des crevasses (flèche noire) d'après Mistry (2002)**

Quant à la présence de lipides en surface, elle peut également être quantifiée par une **extraction aux solvants**. Toutefois, cette méthode est critiquable, les lipides semblent plus ou moins extraits de la masse des particules (pores, capillaires) et non seulement de la surface (Buma, 1971 ; 1971b ; 1971c ; Buchheim, 1982). De plus, la quantité extraite dépend de la taille des particules. Ainsi, plus de lipides seront extraits de particules de petite taille rendant difficile une comparaison entre différentes poudres.

La **microscopie de force atomique** (AFM) permet d'obtenir des informations sur la topographie de surface de produits alimentaires (Kirby *et al.*, 1995). C'est le cas par exemple dans la caractérisation de la microstructure de cristaux de matière grasse (Aguilera *et al.*, 2000).

La surface de poudres de lait entier peut s'observer par **microscopie électronique à transmission** (MET). Un traitement préalable au tétr oxyde d'osmium améliore de contraste des images en se liant spécifiquement aux protéines et aux lipides. Les images obtenues montrent une fine couche de micelles de caséines en surface et quelques autres protéines ; cet ensemble couvrant une matrice formée de lactose et de gouttelettes lipidiques dispersées (Müller, 1964).

La **microscopie électronique à balayage confocale laser** est également une technique qui permet d'obtenir des résultats intéressants sur les poudres laitières (**figure 11**). Elle permet de visualiser la présence de lipides et de protéines à la surface des poudres par l'utilisation de différents colorants qui vont ensuite fluorescer à des longueurs d'onde spécifiques (Keogh et Auty, 1998 ; Aguilera *et al.*, 2000).



**Figure 11 : Image obtenue par microscopie électronique à balayage confocale laser d'une poudre de lait montrant les protéines (bleu) et les lipides (jaune) d'après Keogh et Auty (1998)**

Il est également possible de suivre durant la transformation des produits (Auty *et al.*, 2001) les composants marqués. Des poudres de protéines laitières sont également préparées à partir d'un mélange liquide contenant des protéines marquées au pyrène (Landström *et al.*, 1999). Après séchage, une exposition des poudres à une longueur d'onde spécifique permet de rendre les zones protéiques fluorescentes. La quantité de protéines en surface peut ainsi être déduite avec précision et une différenciation des protéines est possible (dans des mélanges de  $\beta$ -lactoglobuline et de  $\beta$ -caséine). Landström *et al.* (2003) arrivent ainsi à la conclusion qu'un mélange contenant 26 g de caséines et 6 g de protéines sériques (i.e. rapport reflétant la composition protéique globale du lait) entraîne des poudres présentant le même pourcentage en surface.

Pour terminer, la **spectrométrie des photoélectrons X** (SPX) est une méthode de choix dans l'analyse de surface. Malgré l'importance de la composition de surface sur les propriétés fonctionnelles des poudres, les connaissances dans ce domaine sont assez restreintes. La SPX,

permet de déterminer le pourcentage atomique de surface (Briggs, 1998a ; 1998b). Cette technique est utilisée en microbiologie pour relier la composition atomique de surface de bactéries ou de levures à certaines propriétés telles que l'hydrophobicité de surface, la mobilité électrophorétique (Amory *et al.*, 1988 ; Amory et Rouxhet, 1988 ; Mozes *et al.*, 1988) ou encore les propriétés physico-chimiques (Boonaert et Rouxhet, 2000). Rouxhet *et al.* (1994) détaillent très précisément cette application sur les microorganismes et soulèvent les principaux problèmes de la technique liés aux contaminations de surface. Il y a une dizaine d'années, cette technique a été mise en application sur des poudres de lait par Fäldt (1995). Sur la base de la connaissance de la composition atomique de surface d'une poudre laitière, il est possible de recalculer par un système d'équations le pourcentage en protéines, lipides et lactose.

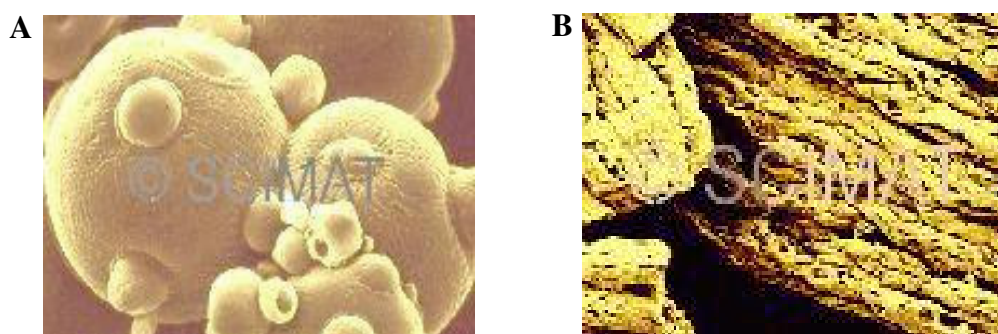
Depuis ce travail et malgré l'intérêt de la méthode, seules quelques équipes ont utilisé la SPX sur des poudres laitières. Cela s'explique par un appareillage rare, coûteux et complexe à utiliser. De plus, très peu de travaux concernent les relations entre la composition de surface et les propriétés de réhydratation (Fäldt et Bergenståhl, 1996b ; Kim *et al.*, 2002). Néanmoins, la détérioration de certaines propriétés fonctionnelles (l'aptitude à l'écoulement ou le mottage des poudres) avec la présence de lipides en surface est mise en évidence par Kim *et al.* (2005a) et Nijdam et Langrish (2005). Les autres études par SPX sur les poudres laitières concernent principalement :

- l'évaluation de la matière grasse de surface en fonction de la nature des lipides incorporés et de leur point de fusion (Fäldt *et al.*, 1993 ; Millqvist-Fureby, 2003 ; Kim *et al.*, 2005b), ou encore des capacités d'encapsulation de la matière grasse par différentes protéines laitières (Fäldt et Bergenstahl, 1995),
- la composition de surface des poudres de lait entier obtenues sur différentes installations et à différents moments du séchage (Fäldt et Sjöholm, 1996) ou encore une comparaison entre poudres atomisées et séchées sur cylindres (Fäldt, 1999),
- l'évaluation de la composition de surface lors du stockage et de la cristallisation du lactose (Fäldt et Bergenståhl, 1996 ; 1996a),
- la compétition entre les différentes protéines (Millqvist-Fureby *et al.*, 2001 ; Landström *et al.*, 2003) ou protéines/lactose (Fäldt et Bergenståhl, 1994) à la surface des particules lors du séchage.



### 1.3 Influence du procédé de séchage sur la structure des particules

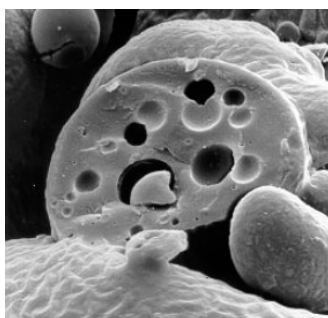
Le type de séchage a un impact important sur la structure des particules de poudres laitières. Pour cette raison, une distinction doit être faite entre les poudres séchées sur cylindre et les poudres issues du séchage par atomisation (**figure 12**). Lors de la pulvérisation dans l'atomiseur il se forme des gouttelettes rondes qui gardent leur forme pendant le processus de séchage ; la **figure 12A** présente donc des particules sphériques. Si elles sont séchées sur cylindres, les particules seront plates et présenteront une surface plus écaillée (**figure 12B**).



**Figure 12 : Microstructure du lait en poudre d'après Kalab (1982)**

**A : poudre issue du séchage par atomisation ; B : poudre issue du séchage sur cylindre**

Lors du séchage par atomisation, le type d'atomiseur est également d'importance. Les poudres produites par buse semblent avoir de meilleures propriétés de réhydratation, elles sont plus denses et contiennent moins d'air occlus que celles produites par turbine (Yeteismeyen et Deveci, 2000). La présence de vacuoles dans les particules provient de l'air occlus dans la matrice lors du séchage (**figure 13**). Lors du refroidissement, il se crée localement une dépression qui peut également entraîner la formation de vacuoles dans les heures qui suivent le séchage (King, 1965). En fonction de la concentration des composants, il peut même se créer des particules totalement creuses (Mistry et Hassan, 1991). L'air occlus influence directement la masse volumique apparente de la poudre, elle-même dépendante de la masse volumique de chaque constituant et de la quantité d'air interstitiel (Pisecky, 1978 ; Daemen, 1982 ; Westergaard, 1994). La masse volumique se détermine selon la méthode décrite par Niro Atomizer (1978). C'est une propriété importante d'un point de vue économique. En effet, une poudre de masse volumique élevée permettra de réduire les coûts de transport (Pisecky, 1980). Mais la masse volumique joue aussi sur les propriétés fonctionnelles des poudres et notamment sur les propriétés de réhydratation.



**Figure 13 : Mise en évidence par MEB de la présence de vacuoles dans une particule de poudre laitière d'après Hardy *et al.* (2002)**

Différents facteurs peuvent faire varier la taille des particules mais celle-ci va essentiellement dépendre du procédé de séchage. La viscosité de la solution séchée influe sur la taille des gouttelettes et par conséquent sur la taille des particules (Pisecky, 1981). Par conséquent, tous les paramètres influençant la viscosité du milieu vont indirectement permettre de jouer sur la taille des particules : température du concentré, matière sèche, conditions d'homogénéisation (Schuck, 1999). Le procédé de granulation et la nature des broyeurs associés permettent également de modifier la taille (Sherrington et Olivier, 1981 ; Mak, 2001). En général, ces procédés en augmentant la taille des particules, augmentent aussi leur porosité (Hogekamp et Pohl, 2003). Pour terminer, les tailles moyennes des particules sont également différentes pour les poudres séchées respectivement sur cylindre et atomiseur ; autour de 150  $\mu\text{m}$  pour les premières et entre 30 et 80  $\mu\text{m}$  pour les secondes.

On peut également noter des différences entre séchage « simple » et « double effet ». Pour ce dernier, le temps de séjour de la poudre dans la tour est plus long. Ceci a pour conséquence une diminution de la température d'air de sortie et permet d'obtenir des poudres présentant de meilleurs indices de solubilité (Jensen et Nielsen, 1982).

Falldt (1995) met en évidence par SPX des différences significatives de la surface des poudres en fonction du procédé de séchage utilisé (**tableau 3**). Les poudres séchées sur cylindre vont présenter beaucoup plus de lipides en surface que des poudres séchées par atomisation. De plus, pour les poudres séchées sur cylindre, la localisation de la poudre sur celui-ci influe également sur la composition de surface (contact avec l'air ou le cylindre).

**Tableau 3 : Composition de surface d'une même poudre de lait entier séchée par différents procédés d'après Falldt (1995)**

Poudre	lactose (%)	protéine (%)	lipides (%)
poudre séchée par atomisation	16	34	50
poudre séchée sur cylindre	7	9	84
- poudre au contact de l'air	8	5	87
- poudre au contact du cylindre	7	18	75

## 2 Modifications physico-chimiques du lait induites au cours des opérations technologiques et du stockage des poudres

### 2.1 Dénaturation des protéines

Au cours des opérations technologiques, les propriétés fonctionnelles des protéines peuvent être plus ou moins affectées par la température ou encore le pH du milieu. Lors des procédés de fabrication mettant en jeu des transferts thermiques (pasteurisation, évaporation et séchage) ce sont les protéines sériques qui seront principalement dénaturées.

Les protéines sériques seules en solution sont rapidement dénaturées quand la température critique de 65°C est dépassée. Elles vont alors s'agréger irréversiblement puis précipiter. Toutefois, les températures critiques données par la littérature sont à considérer avec prudence car la dénaturation est fortement liée aux conditions du milieu telles que le pH, la composition ionique ou la force ionique (Anema et Li, 2003). Dans tous les cas, l' $\alpha$ -lactalbumine est la protéine sérique la plus résistante à la chaleur. L'ordre de dénaturation des protéines sériques est le suivant : immunoglobuline > sérum albumine bovine >  $\beta$ -lactoglobuline >  $\alpha$ -lactalbumine (Kinsella, 1984). Une évaluation de la dénaturation des protéines à chaque étape du procédé de fabrication d'une poudre d'isolats de protéines sériques met en évidence que c'est lors de la pasteurisation et non pendant la concentration ou le séchage que la dénaturation est la plus importante (de la Fuente *et al.*, 2002).

Le lait peut par contre supporter des températures plus élevées. Ceci n'est pas étonnant quand on sait qu'il contient environ 80% de caséines et 20% de protéines sériques ; la stabilité du lait reflétant alors les caractéristiques du constituant majoritaire. Dans du lait, les protéines sériques vont dans ce cas réagir avec les micelles de caséine. Il peut y avoir des interactions directes entre la  $\beta$ -lactoglobuline et la caséine  $\kappa$  de la micelle. Certains auteurs parlent également de la formation de complexes  $\beta$ -lactoglobuline/ $\alpha$ -lactalbumine qui agiraient comme intermédiaires dans l'agrégation des protéines sériques avec les micelles de caséine (Corredig et Dalgleish, 1996 ; 1999 ; Schokker *et al.*, 2000 ; Livney *et al.*, 2003). Les interactions protéine/protéine sont accélérées par une augmentation de température mais également par une diminution de pH (Corredig et Dalgleish, 1996). Même s'il n'y a pas de dénaturation dans le lait, on voit donc que les caractéristiques des micelles seront modifiées par la température.

La mesure de l'indice d'azote protéique (WPNI) est utilisée industriellement pour classer les poudres en fonction de l'intensité du traitement thermique subi (**tableau 4**).

Tableau 4 : Classification des poudres de lait écrémé selon leur WPNi d'après Alais (1984) et Niro (1978)

Classes	WPNi (mg N.g <sup>-1</sup> de poudre)
Low heat	> 6,0
Medium heat	4,5 – 5,99
Medium high heat	1,51 – 4,49
High heat	< 1,5

## 2.2 Insolubilisation des sels phosphocalciques

Les sels se répartissent entre la phase colloïdale et aqueuse du lait. Cette répartition et leur solubilité sont liées au pH, à la force ionique et surtout à la température. En fonction de l'intensité du traitement thermique, l'équilibre minéral subira des modifications plus ou moins irréversibles. Lors de l'élévation de la température ou de la concentration des espèces ioniques, la migration de phosphate de calcium vers la micelle sera favorisée (Schuck *et al.*, 1994). Cela aura pour conséquence l'insolubilisation des sels phosphocalciques.

En dessous de 90°C, les modifications de l'équilibre minéral seront réversibles et un retour à cet équilibre après réhydratation est possible. À ces températures, le chauffage du lait entraîne une précipitation du calcium, magnésium et phosphore en moins d'une minute. Dès que le lait est réfrigéré, ces modifications s'inversent et les minéraux se rééquilibrent complètement (Pouliot *et al.*, 1989a ; 1989b).

## 2.3 Dégradation du lactose

### 2.3.1 La réaction de Maillard

La principale modification du lactose lors des procédés technologiques est liée à son caractère réducteur. Par conséquent, le lactose est très réactif vis à vis des groupements aminés des protéines, entraînant la réaction de Maillard. Cette réaction également connue sous le nom de brunissement non enzymatique comporte deux étapes principales. La première est une lactosylation et correspond à la condensation du lactose sur les groupements aminés des protéines. Elle conduit à la présence de composés carbonylés très réactifs (furfurals et réductones). La deuxième étape correspond à des réactions de dégradation et de condensation. Au final, les produits obtenus sont odorants, volatils et responsables du brunissement non enzymatique. La réaction de Maillard conduit donc à une altération de la qualité des poudres :

- la qualité nutritionnelle est détériorée par la perte en lysine et en tryptophane (O'Brien, 1995 ; Zbikowski *et al.*, 1993),
- la digestibilité des protéines (O'Brien et Morrissey, 1989) et du lactose est moindre,

- l'apparition d'un jaunissement des poudres et d'un défaut de goût (arôme de cuit) dégrade les qualités organoleptiques,
- des problèmes de sécurité alimentaire se posent également ; le caractère allergène des protéines peut être augmenté et il peut y avoir formation de composés cancérigènes,
- une dégradation des propriétés de réhydratation. En effet, la perte de solubilité d'une poudre de lait entier a été reliée à la réaction de Maillard par Stapelfeldt *et al.* (1997). Par contre, la lactosylation, qui est la toute première étape de la réaction de Maillard, ne semble pas responsable de cette perte de solubilité (Morgan *et al.*, 1999).

Ces composés peuvent se former dès l'atomisation et se développer aussi pendant la conservation (Guyomarc'h *et al.*, 2000). D'après Morgan *et al.* (1997), une fixation de lactose sur la  $\beta$ -lactoglobuline serait possible même si les traitements thermiques sont très modérés.

Plusieurs facteurs influent sur la vitesse et les voies de réaction : la température, le pH, la durée de conservation ou encore l'activité de l'eau. La température est le facteur le plus influant. En effet, de part la relation d'Arrhenius, la vitesse de réaction est doublée lorsque la température augmente de 10°C. Cela n'empêche pas pour autant la formation de composés de Maillard dans des poudres stockées à 4°C, si les autres facteurs sont défavorables. Un pH alcalin favorise également les réactions du fait de la réactivité de l'amine protéique sous sa forme basique. Pour une très faible teneur en eau, les réactions sont également inhibées par l'absence d'eau solvante.

### 2.3.2 La cristallisation du lactose

La cristallisation du lactose consiste en une modification de l'état du lactose (d'amorphe à cristallisé) modifiant ainsi l'organisation des composants dans la particule et leur comportement vis à vis de l'eau. La cristallisation du lactose est facilement mise en évidence par microscopie électronique à balayage à la surface des particules (**figure 14**). Il y a deux étapes dans la formation des cristaux : la nucléation qui correspond à la formation de petits cristaux formés autour du nucléi (impuretés présentes dans la matrice) puis la croissance qui correspond à une propagation des cristaux.

Trois facteurs influencent la cristallisation et sont à prendre en considération : la durée de conservation, l'humidité relative et la température (Roos, 2002). La cristallisation va se produire entre la température de transition vitreuse ( $T_g$ ) et la température de fusion ( $T_f$ ) du lactose. D'après Jouppila *et al.* (1997), l'apparition de la cristallisation n'est pas constante entre les deux températures  $T_g$  et  $T_f$ . Autour de  $T_g$ , la nucléation est favorisée alors que la

croissance l'est à des températures supérieures, proches de  $T_f$ . La vitesse globale de cristallisation la plus élevée sera en fait à un  $T_{max}$  situé entre  $T_g$  et  $T_f$ . Il semble par contre que la présence de matière grasse dans la poudre diminue la vitesse de cristallisation (Jouppila et Roos, 1994a).

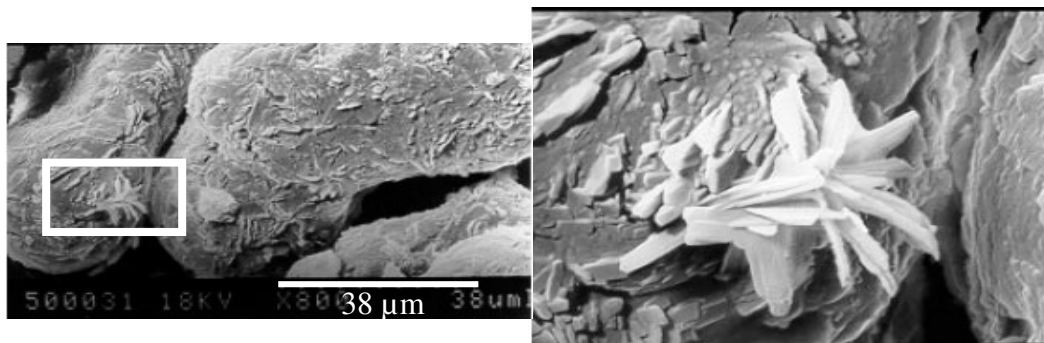


Figure 14 : Image de microscopie électronique à balayage de la surface d'une poudre laitière après cristallisation du lactose d'après Hardy *et al.* (2002)

#### 2.4 Globules gras

L'homogénéisation consiste à diminuer la taille des globules gras sous l'effet de la pression (Walstra, 1983). Leur diamètre va tout d'abord passer de 1-8  $\mu\text{m}$  à 0,3-0,8  $\mu\text{m}$ . Leur surface va également être modifiée lors du chauffage car des protéines vont s'y fixer (principalement les caséines). L'aire cumulée de la surface de tous les globules s'en trouve augmentée d'un facteur de 5 à 10 (Walstra, 1983). Ce phénomène semble de plus irréversible. Par microscopie électronique à transmission, Mc Mahon *et al.* (1993) mettent en évidence des micelles de caséine adsorbées à la surface des globules gras. L'encapsulation de la matière grasse dans les particules de poudre est recherchée lors du séchage afin d'éviter une altération de la qualité des poudres principalement en terme d'oxydation de la matière grasse et de diminution de la mouillabilité (Fäldt et Bergenstahl, 1995 ; Keogh et O'Kennedy, 1999).

#### 2.5 Conservation et vieillissement des poudres laitières

Les changements observés pendant la conservation des poudres laitières dépendent principalement de la température de stockage et de la teneur en eau de la poudre. Pour une teneur en eau supérieure à 5%, une insolubilisation protéique est observé même à basse température de stockage (Singh et Newstead, 1992). Les conditions optimales de conservation d'une poudre de lait ont été étudiées par Van Mil et Jans (1991). Ainsi, l'association d'un traitement thermique modéré, d'une teneur en eau inférieure à 2,8%, d'une température de

stockage inférieure à 20°C et d'un conditionnement étanche sous vide permettent une conservation de longue durée et de bonne qualité.

Des changements physiques lors de la conservation peuvent être observés tel que l'agglomération des particules. L'écoulement de la poudre sera par conséquent détérioré (Thomas *et al.*, 2004 ; Foster *et al.*, 2005).

Le stockage peut également provoquer la cristallisation du lactose. Cette cristallisation peut être mise en évidence simplement par une perte d'eau des poudres laitières placées sous différentes humidités relatives (Jouppila et Roos, 1994). C'est principalement une humidité relative élevée qui va entraîner la cristallisation de poudres de lait entier et influencer  $T_g$  (Jouppila et Roos, 1994).

De plus, un stockage mal approprié entraîne la formation d'hydroxyméthyl-furfural (HMF), composé typique de la réaction de Maillard. Les qualités organoleptiques et la solubilité des poudres seront altérées. Ainsi, un lien entre la diminution de solubilité d'une poudre de lait entier et l'augmentation de la teneur en HMF a été mis en évidence par Stapelfeldt *et al.* (1997). La présence de groupements sulfhydryles libres à la surface des protéines peuvent entraîner la polymérisation des protéines entre elles ou avec d'autres composés de la réaction de Maillard (Thomas, 2004). Ces agrégats semblent donc à l'origine de la perte de solubilité des poudres laitières pendant leur stockage (Baldwin et Ackland, 1991 ; Van Mil et Jans, 1991 ; Zbikowska et Szerszunowicz, 1999). Les propriétés émulsifiantes vont aussi être altérées par les interactions protéiques (Euston et Hirst, 1999). Romeu-Nadal *et al.* (2005) montrent qu'une oxydation des lipides peut aussi se produire lors de la conservation. Cela se traduit dans les poudres laitières par des modifications du goût et d'odeur des produits reconstitués principalement dus à la réaction entre l'oxygène atmosphérique et des lipides insaturés.

### 3 Les opérations technologiques

#### 3.1 Les opérations technologiques permettant l'obtention de poudres laitières

Les opérations technologiques les plus courantes sont présentées dans la **figure 15**. Les matières premières (1 - lait entier, lait écrémé, babeurres...) peuvent être traitées thermiquement (2) puis soumises à des traitements de centrifugation (3). Ces matières premières clarifiées, traitées thermiquement ou non, peuvent être intégrées dans différentes formulations (6) ou subir des opérations de concentration différentielles (5 - microfiltration, ultrafiltration, nanofiltration).

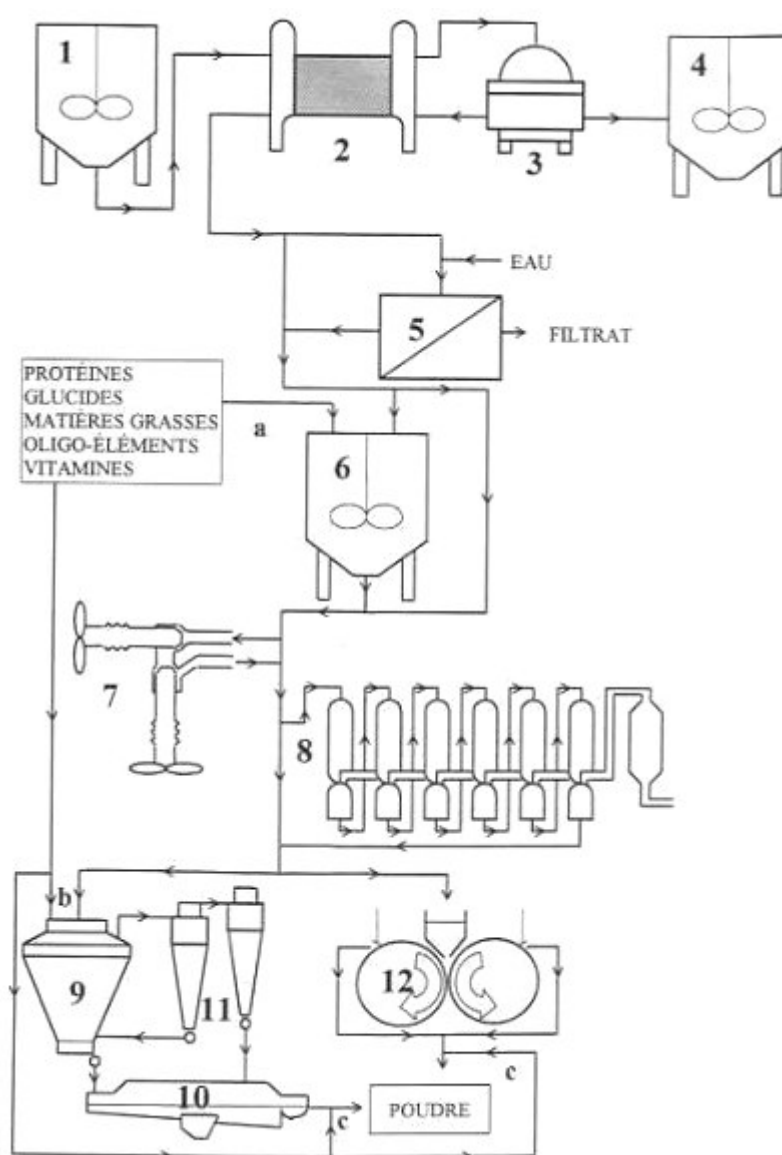


Figure 15 : Présentation générale des opérations technologiques appliquées en industrie laitière d'après Schuck (1999)



Les concentrés obtenus peuvent ensuite subir une homogénéisation (7) puis une concentration par évaporation sous vide (8). Pour terminer, le concentré peut être séché par atomisation (9) ou par passage sur cylindres chauffants (12) (Singh et Newstead, 1992).

### 3.1.1 Les traitements thermiques

Le premier traitement subi par le lait est en général l'écémage, même si ce n'est pas un traitement thermique à proprement parler, les températures lors de cette étape sont comprises entre 40 et 60°C pendant quelques secondes. Les traitements thermiques ont pour but soit de réduire la charge microbienne soit de modifier certaines caractéristiques structurales des protéines pour améliorer les propriétés fonctionnelles (Kneifel *et al.*, 1990 ; Leveau *et al.*, 2001). Les traitements thermiques suivants peuvent être envisagés (Leveau *et al.*, 2001) :

- la stérilisation : traitement thermique long et à haute température (120°C – 10 minutes ou 140°C – 2 secondes). Ce traitement est capable de détruire toutes les formes microbiennes présentes y compris les endospores,
- la pasteurisation basse température (LTLT : 63°C – 30 secondes),
- la pasteurisation haute température (HTST : 72°C – 15 secondes),
- la pasteurisation flash ou très haute température (80-90°C – quelques secondes).

### 3.1.2 Les filtrations sur membranes ou concentration différentielle

La filtration sur membrane offre plusieurs avantages aux consommateurs et aux industriels de l'agroalimentaire. Tout d'abord, cette technique se révèle un moyen efficace pour obtenir un produit de meilleure qualité sanitaire sans modifier ses qualités organoleptiques. En effet, la filtration n'implique ni changement de phase de l'eau des produits à traiter, ni réactions chimiques, ni élévation de la température. Elle convient donc au traitement des fluides biologiques tel que le lait qui requiert des spécifications de qualité et de conservation. Ensuite, la filtration permet d'écourter certaines étapes du process et d'accroître le rendement. De part son fort degré de sélectivité, elle permet un meilleur contrôle du processus de fabrication. Pour terminer, le développement de ces techniques de séparation « physiques » permet une diversification de la palette des composants laitiers utilisables.

#### 3.1.2.1 Principe

La classification des procédés de filtration se fait principalement sur deux critères :

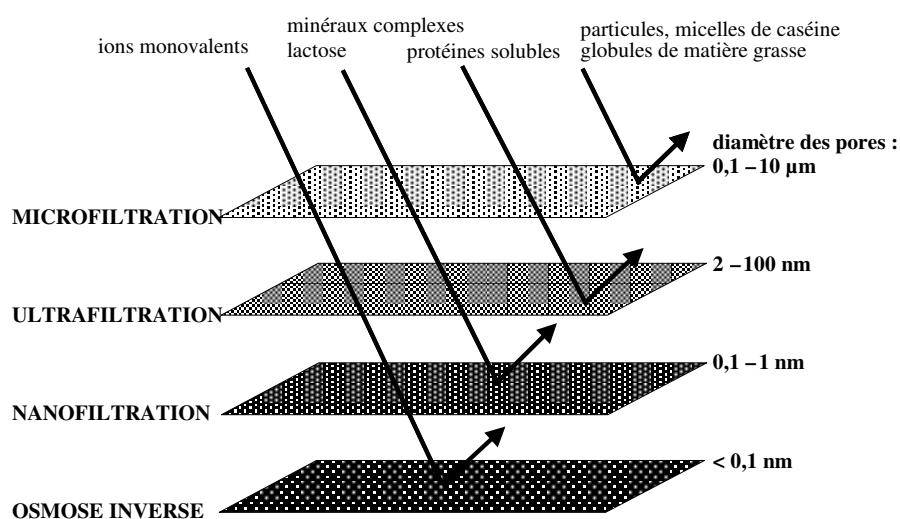
- la nature de la force de séparation (gradient de pression, de concentration et/ou de potentiel électrique) et l'intensité de la force de séparation (de quelques MPa à plus de 10 MPa).

- la taille ou la nature des espèces à séparer ou encore la taille des pores de la membrane.

On regroupe donc dans les procédés à membranes, des procédés physiques dont la séparation dépend de la perméabilité sélective des constituants d'un liquide à travers une membrane. Ces procédés permettent l'obtention de deux fractions :

- une fraction qui ne peut pas traverser la membrane : le rétentat,
- une fraction qui traverse la membrane : le perméat.

En fonction de la taille des composés qui traversent la membrane (**figure 16**), les procédés ont des noms différents.



**Figure 16 : Classification des quatre principales techniques de la séparation par membrane en référence aux composés à séparer d'après Saboya et Maubois (2000)**

### 3.1.2.2 La microfiltration

La microfiltration du lait est réalisée avec des membranes qui ont une taille de pores élevée comprise entre 0,1 et 10 µm. La pression transmembranaire exercée est faible et constante tout au long de la membrane.

Cette technique, est utilisée par exemple dans l'épuration bactérienne du lait à basse température, ce qui permet de combiner sécurité microbiologique et qualité organoleptique du produit. Ce procédé est commercialement appelé « Bactocatch ». Combiné à un traitement thermique, ce procédé permet la commercialisation d'un lait microfiltré pouvant être conservé à température ambiante pendant six mois et dont le goût est comparable au lait frais pasteurisé (Maubois, 2000).

Par ce procédé, une séparation de la matière grasse du lait en petits et gros globules a également vu le jour. Selon Goudédranche *et al.* (2000), les petits globules ainsi obtenus

permettraient l'obtention de produits présentant une texture plus fine et plus onctueuse. Ces caractéristiques peuvent s'expliquer par une composition en triglycérides et une capacité à lier l'eau différente chez ces petits globules.

Avant l'utilisation de la microfiltration, la séparation des caséines était réalisée uniquement par voie physico-chimique (ajout d'acide) ou biologique (fermentation lactique). La microfiltration a donc également ouvert la voie à la séparation sélective des caséines micellaires (voie physique). Mis à part le diamètre des pores de la membrane (0,1  $\mu\text{m}$ ) qui est différent, le principe est exactement le même que pour une épuration bactérienne (Pierre *et al.*, 1992 ; Schuck *et al.*, 1994). La caséine micellaire native ainsi obtenue présente de nombreux intérêts industriels.

#### 3.1.2.3 L'ultrafiltration

L'ultrafiltration est l'outil le plus efficace pour la standardisation protéique des laits de fromagerie. Ces dernières années, la notion de quantité de lait a été favorisée au détriment de la richesse en protéines. Par conséquent, la baisse du taux protéique des laits a eu des répercussions sur les rendements fromagers et sur les technologies de fabrication. Pour revenir à des taux protéiques plus élevés, il est possible de retirer une partie de la phase aqueuse par ultrafiltration (Ratray et Jelen, 1996 ; Pierre *et al.*, 1998). Cette technique est également à l'origine des dernières avancées en matière de technologie fromagère. En répondant aux attentes des consommateurs, elle a permis la création de nombreux produits.

#### 3.1.2.4 La nanofiltration

Les membranes de nanofiltration portent une charge négative à pH neutre qui vont générer des interactions électrostatiques pour séparer des molécules chargées. Ce procédé membranaire permet la séparation de composés dont la taille varie de 200 à 1000  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$  (Tsuru *et al.*, 1994) ; il retient donc la totalité des protéines et presque tout le lactose. Par contre, 5 à 20% de cations monovalents et 30 à 55% de cations divalents sont retenus. C'est pourquoi le dessalement du lactosérum est une des principales applications de ce procédé (Bazinet *et al.*, 2002).

#### 3.1.3 La concentration par évaporation sous vide

Généralement, la concentration par évaporation sous vide ou ESV intervient juste avant la déshydratation dans le but d'augmenter l'extrait sec du produit ou avant la cristallisation (lactosérum). Elle peut également être une fin en soi (concentration sirops ou de jus de fruits).

C'est un procédé d'élimination de l'eau par ébullition ; la vapeur d'eau cédant sa chaleur au produit à évaporer (**figure 17**). La température maximale d'ébullition utilisée est inférieure à 70°C dans l'industrie laitière.

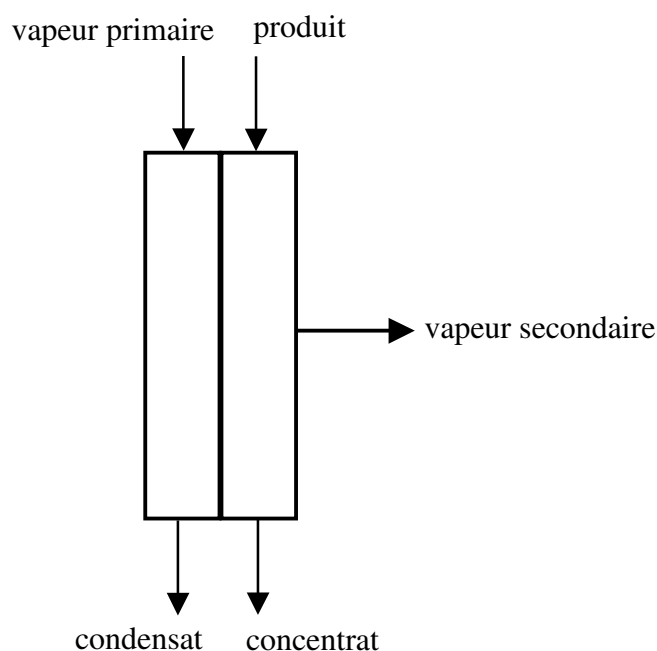


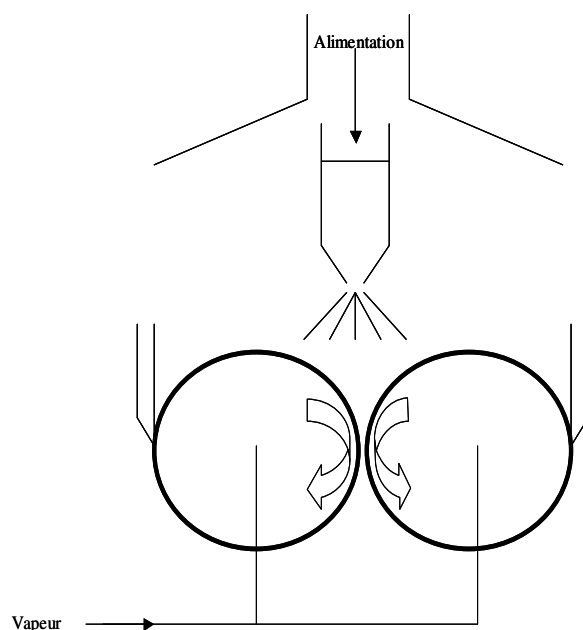
Figure 17 : Transfert des fluides dans un évaporateur d'après Mafart (1996) et Mahaut *et al.* (2000)

D'un point de vue économique, il est intéressant de concentrer. L'ESV va permettre une augmentation de la teneur en extrait sec et ainsi une réduction de la consommation d'énergie. En effet, l'ESV est moins coûteuse énergiquement que le séchage. Il convient donc de concentrer les produits avant séchage. Par exemple, pour du lait, l'extrait sec va passer de 10 à 45%. Il y a également un intérêt qualitatif en fonction du couple temps/température utilisé. Lors de l'ESV, la viscosité du concentré augmente et les micelles vont ainsi occuper 30% du volume total. D'après Singh et Newstead (1992), ce phénomène est lié au taux protéique du lait, aux traitements thermiques effectués et à la durée de maintien du concentré à plus de 55°C. D'après Walstra et Jenness (1984), une modification du pH du lait est également observée de 6,7 à 6,3 pour 45% d'extrait sec ainsi qu'une augmentation de la taille des micelles de caséine (augmentation du phosphate de calcium colloïdal et coalescence des micelles).

### 3.1.4 Séchage

#### 3.1.4.1 Séchage sur cylindre

Un séchoir sur cylindres peut être constitué de deux cylindres chauffés intérieurement par de la vapeur d'eau (**figure 18**). Comme pour l'ESV, le séchage sur cylindre est également un procédé d'élimination de l'eau par ébullition. Le produit à sécher est versé entre ces deux cylindres tournants en sens inverse. La pellicule sèche se formant à la surface des cylindres est détachée par un racleur.



**Figure 18 : Exemple d'installation de séchage sur double cylindre d'après Mafart (1996)**

Le séchage sur cylindre ne peut répondre aux nouveaux besoins qualitatifs exigés pour une poudre laitière (solubilité, dispersibilité élevée, faible teneur en matière grasse libre...). Par contre, les poudres séchées sur cylindre sont encore préférées dans le domaine de la chocolaterie pour leur fort pourcentage en matière grasse libre, pour la taille élevée des particules élevée et l'absence de vacuoles (Dewettinck *et al.*, 1996). Dans le domaine de la confiserie (Haylock, 1995), le taux en matière grasse libre élevé et la présence de composés de Maillard libérés lors du séchage en plus grande quantité font que le séchage sur cylindre est préférentiellement utilisé.

#### 3.1.4.2 Séchage par atomisation

Depuis une trentaine d'années le séchage par atomisation est la norme dans l'industrie laitière. Le principe du séchage par atomisation consiste comme son nom l'indique à atomiser, c'est à dire à transformer en fines gouttelettes de 50 à 200  $\mu\text{m}$  une solution concentrée. C'est un procédé d'élimination de l'eau par entraînement. Ces gouttelettes vont être entraînées par un courant d'air chaud qui va les déshydrater (**figure 19**).

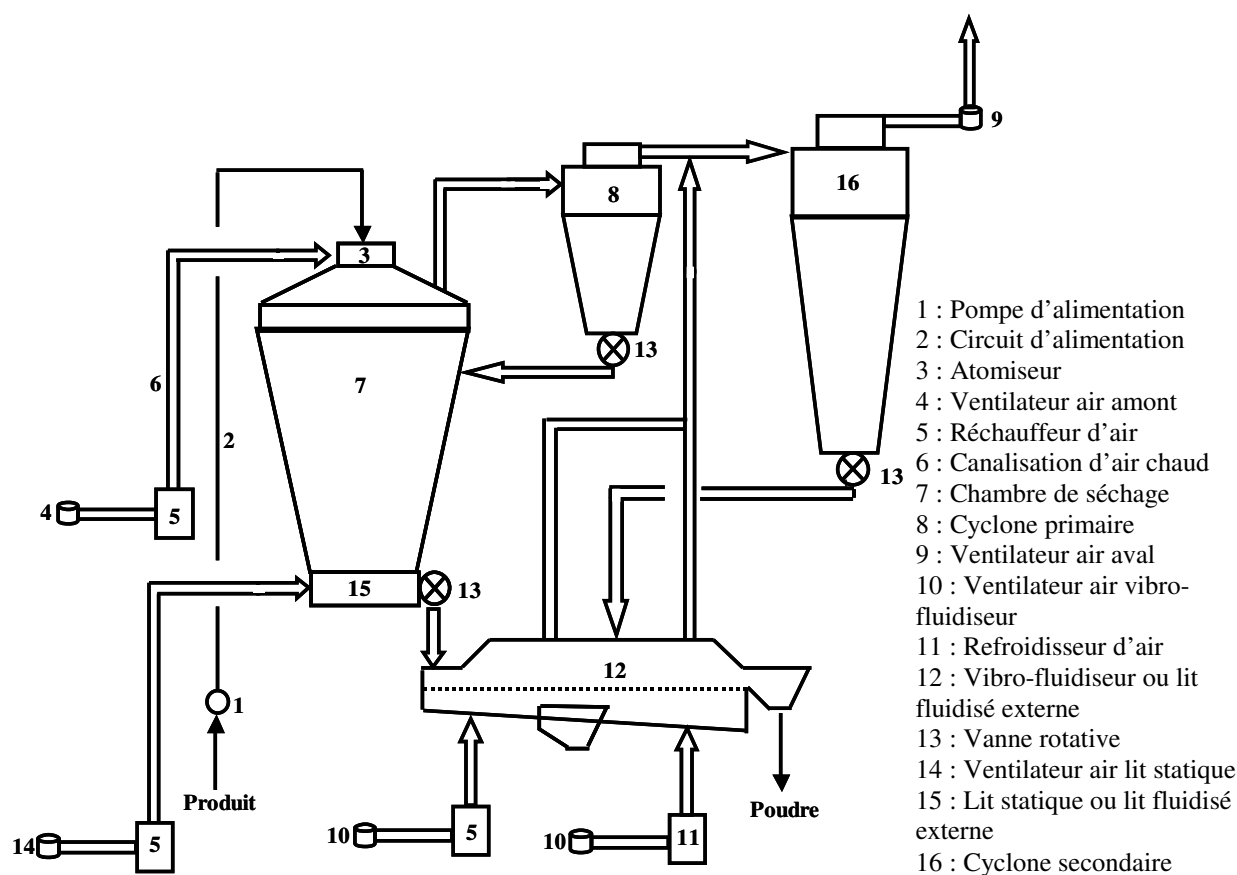


Figure 19 : Principe de fonctionnement d'une tour d'atomisation « trois temps » d'après Schuck (1999)

La **pulvérisation** du produit peut être réalisée à l'aide d'une turbine centrifuge, de buses sous pression de liquide ou d'une buse bifluide. L'utilisation d'une turbine permet de pulvériser des produits de haute viscosité et à un débit relativement élevé. Par contre, les buses permettent l'obtention de poudres de meilleure qualité (moins d'air occlus, meilleur écoulement...). Les buses bifluides sont utilisées pour les produits sensibles aux hautes pressions.

Le **chauffage de l'air** peut se faire par chauffage direct ou indirect à partir de l'air atmosphérique. Le premier présente un intérêt financier mais nécessite un apport d'eau. En effet, la combustion du gaz (méthane) entraîne un apport d'eau diminuant la capacité évaporatoire de l'installation. Le second a l'avantage de ne pas mettre en contact le produit à sécher avec le fluide caloporteur (vapeur, gaz) mais il est énergiquement défavorable. C'est toutefois ce type de chauffage qui est utilisé dans l'industrie agroalimentaire.

Les tours sont équipées de cyclones permettant la **recupération des fines**. Ces fines sont des particules entraînées par l'air lors du séchage. Les fines peuvent être réincorporées soit au niveau du système de pulvérisation, soit au niveau du vibro-fluidiseur soit au niveau du lit statique (**figure 19**). En fonction du lieu de réincorporation, des poudres aux structures différentes peuvent être fabriquées. Pour limiter les rejets de fines dans l'atmosphère et en

complément des cyclones, les installations sont équipées de filtres à manches ou de laveurs d'air (Mak, 2001).

### 3.2 Place et intérêt des protéines laitières en tant qu'ingrédient alimentaire

La plupart des industries alimentaires exploitent les qualités nutritionnelles et fonctionnelles des poudres laitières pour répondre à leurs besoins spécifiques. Si on associe cette forte demande industrielle à l'évolution des techniques de fractionnement et de séchage on comprend que le secteur des poudres laitières est en pleine expansion (Augustin, 1991 ; Jost, 1993). Compte tenu du fait que nous travaillerons principalement sur des protéines laitières, nous ne traiterons que ces dernières dans ce chapitre.

#### 3.2.1 Les concentrés de protéines totales (CPT)

##### 3.2.1.1 Production

Le principe consiste à éliminer une partie du lactose et des minéraux du lait tout en conservant le même rapport caséine / protéines sériques. Deux méthodes sont actuellement employées : la coprécipitation et la séparation par membrane (Britten *et al.*, 2002). La première consiste à appliquer un traitement thermique au lait écrémé suivi d'une acidification ou d'un enrichissement en calcium. Les caséines et les protéines sériques vont s'agréger. Des températures supérieures à 85°C sont en général utilisées. La séparation par membrane permet quant à elle de concentrer les protéines par ultracentrifugation tangentielle sans pour autant dénaturer les protéines sériques. Pour des teneurs en protéines supérieures à 70%, une ultracentrifugation suivie d'une diafiltration est nécessaire (Mistry et Hassan, 1991).

##### 3.2.1.2 Composition

Le **tableau 5** donne les compositions moyennes de concentrés de protéines totales avec la composition de la poudre de lait en référence. Même si la composition globale des deux poudres de concentré est semblable, d'un point de vue qualitatif elles sont très différentes. En effet, les coprécipités contiennent des protéines sériques dénaturées alors que les procédés à membrane préservent leur intégrité. Les caséines sont également sous des formes très différentes : l'arrangement micellaire est préservé dans les procédés à membrane alors qu'il est détruit par la précipitation acide dans les coprécipités (Britten *et al.*, 2002).

**Tableau 5 : Composition moyenne (g.100g<sup>-1</sup>) des concentrés de protéines totales du lait d'après Britten *et al.* (2002)**

	poudre de lait	coprécipités	concentrés sur membrane
Protéines	36	85 – 90	50 – 90
<i>caséines / protéines</i>	0,8	0,8 – 0,84	0,83 – 0,95
Lactose	51	1 – 4	1 – 40
Humidité	3 – 5	3 – 5	3 – 5
Lipides	1	1,5	1 – 2
Minéraux	7,7	3 – 7	4 – 7
<i>calcium</i>	1,3	0,5 - 3	1,5 – 2,5

### 3.2.1.3 Utilisation

C'est principalement dans la standardisation de la composition des produits que les concentrés de protéines totales sont utilisés (Ratray et Jelen, 1996). L'industrie laitière les exploite également pour améliorer la qualité des produits ou augmenter les rendements de production. Par exemple, dans les yaourts ou crèmes glacées, les CPT permettent d'augmenter la viscosité et d'améliorer la résistance à la synérèse. En l'industrie fromagère, ils sont souvent utilisés dans la production de fondus ou d'analogues de fromage.

Les coprécipités sont utilisés dans l'industrie de la charcuterie pour améliorer la rétention d'eau et de gras ou encore en boulangerie pour améliorer le volume des pains et la consistance de la pâte. Les concentrés obtenus par filtration sont utilisés dans les produits diététiques (barres céréalières et boissons) pour les enrichir en protéines. Ils apportent également une saveur laitière intéressante et sont riches en calcium (Maubois, 2000).

## 3.2.2 Caséine et ses dérivés

### 3.2.2.1 Production

Les dérivés de caséine sont principalement fabriqués à partir de lait écrémé par précipitation suivi d'un drainage et d'un lavage du caillé. La précipitation entraîne une déstabilisation de l'arrangement micellaire et une agrégation sélective des caséines.

La première technique mise en jeu pour précipiter le lait est l'acidification. Elle exploite le fait que les caséines précipitent à pH 4,6 alors que les protéines sériques restent stables à ce même pH. L'acidification peut être obtenue par les méthodes suivantes :

- par fermentation, l'ajout d'un ferment mixte va entraîner une conversion du lactose en acide lactique,
- par ajout direct d'acides forts tels que l'acide chlorhydrique ou sulfurique,



- par l'utilisation de résines d'échange cationique, des groupements acides en surface des membranes vont échanger leur proton avec les cations présents dans le lait, ceci a pour conséquence un abaissement du pH,
- l'électrodialyse utilise également des membranes cationiques mais l'échange de cations se fait cette fois-ci avec les protons d'un acide circulant dans le compartiment voisin,
- par injection sous pression de gaz carbonique, la production d'acide carbonique va permettre l'abaissement du pH.

Le dernier moyen pour précipiter les caséines ne fait pas intervenir l'acidification mais des enzymes (présure de veau, enzyme protéolytique) qui vont scinder la caséine  $\kappa$  et ainsi déstabiliser l'édifice micellaire qui va précipiter.

Le précipité est ensuite égoutté pour évacuer le lactosérum. Le caillé ainsi obtenu est lavé pour éliminer le lactose, les protéines sériques résiduelles, les minéraux et éventuellement l'acide utilisé pour précipiter. Pour terminer, la caséine est séchée pour la stabiliser biochimiquement et faciliter son utilisation. Les sécheurs utilisés sont des sécheurs en lit fluidisé, circulaires ou par attrition (Britten *et al.*, 2002). La caséine acide est insoluble, pour pallier ce problème elle est souvent transformée en caséinate avant séchage par neutralisation à l'aide d'une base (NaOH, KOH, Ca(OH)<sub>2</sub>...).

Depuis quelques années (Fauquant *et al.*, 1988 ; Pierre *et al.*, 1992), on sait séparer et purifier par microfiltration tangentielle sur membrane de 0,1  $\mu\text{m}$  la caséine micellaire native encore appelée phosphocaséinate natif (PPCN). Le produit obtenu après concentration et séchage a une composition voisine des autres caséines.

#### 3.2.2.2 Composition

Le **tableau 6** présente la composition des principaux dérivés de caséine. Pour toutes les poudres la teneur moyenne en protéines avoisine les 90%. La teneur en eau est par contre différente et reflète les conditions de séchage. En effet, les caséines acide et présure sont déshydratées à l'état solide et non atomisées comme les autres ; ce qui a pour conséquence un transfert d'humidité incomplet vers la surface au cours du séchage.

Pour les poudres de caséine micellaire, l'arrangement micellaire est préservé par les procédés à membrane alors qu'il est détruit par la précipitation acide ou enzymatique dans les autres poudres de caséine. De plus, sa composition ionique est très différente des autres caséines.

**Tableau 6 : Composition moyenne (g.100g<sup>-1</sup>) des dérivés de caséine d'après Pierre *et al.* (1992) et Britten *et al.* (2002)**

	caséine acide	caséine pression	caséinate sodium	caséinate calcium	caséine micellaire
Protéines	87	80	92	91	85
Lactose	0,2	0,2	0,2	0,2	-
Humidité	10	12	4	4	6,5
Lipides	1,5	1,5	1,5	1,5	-
Minéraux	2	7	4	4,5	8,4
<i>sodium</i>	0,1	0,02	1,3	0,05	0,02
<i>calcium</i>	0,08	3	0,1	1,5	2,6
<i>phosphore</i>	0,9	1,5	0,8	0,8	1,9

### 3.2.2.3 Utilisation des dérivés de caséine

La caséine était considérée comme un sous produit et utilisée dans les industries textiles, des plastiques ou des peintures (Fox et Kelly, 2003). Actuellement, les qualités nutritionnelles et technologiques des caséines ne sont plus à démontrer et elles sont exploitées pour améliorer la qualité des produits. La caséine présure est souvent utilisée dans la formulation de fromages d'imitation (Fox et Kelly, 2003 ; Soupe, 2004). Les caséinates présentent de bonnes capacités de rétention d'eau et sont exploités dans la fabrication des yaourts ou des produits à base de viande. Ils sont également utilisés dans la formulation de produits diététiques (Soupe, 2004).

La caséine micellaire est utilisée par l'industrie fromagère pour son aptitude à la transformation fromagère (Pierre *et al.*, 1992 ; Garem *et al.*, 2000). Les laits de fromagerie enrichis en caséine micellaire conduisent par exemple à une augmentation du rendement fromager (Caron *et al.*, 1997 ; St-Gelais *et al.*, 1998). De plus c'est un produit intermédiaire de choix pour la séparation des caséines individuelles (Maubois, 1990).

## 3.2.3 Protéines sériques et ses dérivés

### 3.2.3.1 Production et composition

L'utilisation des dérivés de protéines sériques s'est développée afin d'exploiter le lactosérum issu de la transformation du lait en fromage et en même temps de réduire la pollution liée à son élimination. Aujourd'hui, les propriétés nutritionnelles et technologiques importantes des protéines du lactosérum expliquent le développement exponentiel de leurs applications dans l'industrie alimentaire.

La principale source de protéines sériques est le lactosérum issu de la transformation fromagère ou de la production de caséines. En fonction du type de coagulation, on peut

obtenir du lactosérum doux (suite à une précipitation des caséines de type présure) ou du lactosérum acide (suite à une précipitation des caséines par acidification). La poudre de lactosérum est ensuite obtenue par concentration et séchage.

Les protéines du lactosérum peuvent être isolées par dénaturation thermique puis précipitation pour obtenir un concentré appelé lactalbumine. Les concentrés de protéines sériques sont obtenus à partir du lactosérum. Une ultrafiltration du lactosérum permet de concentrer les protéines de 35 à 80%. Pour des concentrations protéiques supérieures à 65%, une diafiltration ou une chromatographie d'échange ionique est nécessaire. On parle alors d'isolats de protéines sériques. Ce sont des concentrés à très forte teneur protéique (~ 90%).

Enfin, il est possible d'obtenir des protéines sériques dites « natives » ou « protéines solubles » directement à partir du lait par récupération du perméat de microfiltration du lait. Ce perméat subit ensuite une ultrafiltration (Kelly *et al.*, 2000). Le **tableau 7** résume les compositions de ces différents dérivés.

**Tableau 7 : Composition moyenne (g.100g<sup>-1</sup>) des dérivés de protéines sériques d'après Britten *et al.* (2002)**

	Protéines	Lactose	Humidité	Lipides	Minéraux
Poudre de lactosérum	12	70	4	1	8
Lactalbumine	85	3	4	3,5	1,5
Concentré – 35	35	46	4,5	3,2	8
Concentré – 50	50	31	4,3	4,3	6
Concentré – 65	65	21	4,2	5,6	3,9
Concentré – 75	75	10	4,1	7	3
Concentré – 80	80	3,5	4	7,5	2,9
Isolat	90	1	4	1	3

Le pourcentage en protéine et en lactose varie inversement. Le pourcentage de matière grasse augmente avec la concentration en protéines. En effet, l'ultrafiltration concentre également les lipides ; il est alors possible de les délipider.

### 3.2.3.2 Utilisation des protéines sériques

Les protéines sériques sont principalement utilisées dans la stabilisation des mousses ou encore pour faire des gels. On les trouve également dans les yaourts car elles accroissent leur fermeté. En nutrition infantile, les laits sont supplémentés en concentrés de protéines sériques pour rétablir le rapport protéique du lait humain.

## 4 Les propriétés de réhydratation des poudres laitières

La réhydratation d'une poudre laitière est une propriété essentielle ; toutes les poudres devant être réhydratées avant utilisation. En effet, de bonnes propriétés de réhydratation sont indispensables tant pour la maîtrise des procédés de fabrication que pour celle de la qualité des produits finis. Comment dans ce cas envisager l'utilisation d'une poudre laitière dans de bonnes conditions si cette étape n'est pas réalisée correctement ?

### 4.1 L'eau dans les poudres

#### 4.1.1 Les différents états de l'eau

Il existe trois types de liaisons de l'eau aux constituants.

**L'eau non congelable** qui inclut l'eau structurale et l'eau de la monocouche. La première est directement liée aux constituants et stabilise les structures ; elle n'est pas disponible pour les réactions chimiques et met en jeu principalement des liaisons hydrogène. La seconde met également en jeu des liaisons fortes (4 à 60 kJ.mol<sup>-1</sup>) hydrogène ou des interactions dipolaires, elle n'est pas solvante et est très fortement liée.

**L'eau capillaire** est une eau physiquement retenue dans des « crevasses moléculaires » d'après Cayot et Lorient (1998). Elle agit comme solvant et est disponible pour les réactions chimiques, par contre elle peut être éliminée par l'application d'une force.

**L'eau hydrodynamique** présente les propriétés physiques de l'eau libre et est faiblement associée aux constituants (1 à 3 kJ.mol<sup>-1</sup>).

En tout état de cause, ces classifications varient selon les auteurs et peuvent être plus ou moins complexes (Chou et Morr, 1979 ; Kinsella et Fox, 1986 ; Kneifel *et al.*, 1991 ; Robin *et al.*, 1993 ; Cayot et Lorient, 1998 ; Hardy *et al.*, 2002). De plus, en fonction de la technique employée l'eau peut être définie différemment. Les techniques thermodynamiques permettent, par exemple, de différencier l'eau congelable et non congelable alors que les isothermes de sorption permettent de définir l'eau solvante et non solvante. La résonance magnétique nucléaire (RMN) permet quant à elle de différencier l'eau libre et l'eau liée.

#### 4.1.2 Les interactions entre constituants et eau

Les interactions entre l'eau et les constituants (principalement le lactose et les protéines) sont responsables des propriétés d'écoulement, de conservation et de réhydratation des poudres laitières (Hardy *et al.*, 2002). Ces interactions vont dépendre de la présence d'ions ou de groupes ionisables ou encore de la présence de résidus capables de créer des liaisons

hydrogène. Ainsi, Kuntz (1971), montre par RMN que l'eau liée peut être calculée par la relation suivante :

$$A = X_i + 0,4 X_p + 0,2 X_{ap}$$

avec A, l'eau liée ;  $X_i$ ,  $X_p$  et  $X_{ap}$  respectivement les acides aminés ionisés, polaires et apolaires.

D'après Kinsella et Fox (1986), les principales interactions protéines/eau seraient de nature :

- électrostatique entre les groupes chargés de la protéine et les ions issus de la décomposition de la molécule d'eau,
- charge-dipôle,
- hydrogènes entre groupes polaires et molécules d'eau,
- de Van der Waals entre molécules d'eau et groupement apolaires,
- capillaires.

## 4.2 Les différentes étapes de réhydratation

Il est généralement admis que le processus de réhydratation se déroule en différentes étapes (Schubert, 1980, 1993 ; Freudig *et al.*, 1999) qui seront développées ci-dessous plus en détail. Nous différencierons dans ce chapitre les différentes étapes faisant partie de la réhydratation d'une poudre (mouillage, gonflement et dispersion des particules) de la solubilité. En effet, il y a une certaine confusion dans les termes qui est due à un manque de standardisation des méthodes.

### 4.2.1 L'étape du mouillage ou mouillabilité d'une poudre

#### 4.2.1.1 Définition et méthodologies

Les différents types de mouillage qu'un solide divisé peut rencontrer sont listés sur la **figure 20**. Le mouillage par étalement, l'ascension capillaire et le mouillage par condensation ne sont pas rencontrés lors de la réhydratation d'une poudre laitière. Par contre, le mouillage par immersion est la première étape du processus de réhydratation d'une poudre laitière. Cette étape consiste à immerger entièrement le solide dans un liquide. Dans ce cas, l'interface solide/gaz est entièrement remplacée par une interface solide/liquide.

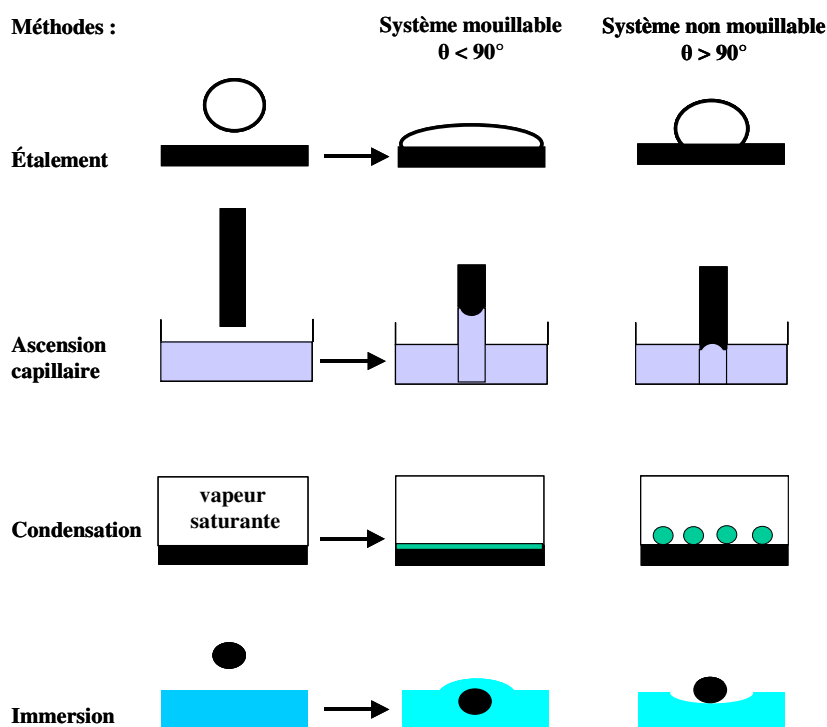


Figure 20 : Différentes procédures de mouillage d'après Lazghab *et al.* (2005)

La mouillabilité d'une poudre laitière peut être mesurée selon les normes FIL (1985) ou la méthode Niro Atomizer (1978). Elle reflète l'aptitude d'une poudre à s'immerger après avoir été déposée à la surface de l'eau (**figure 21**). D'un point de vue pratique, la méthode consiste à mesurer le temps nécessaire à une certaine quantité de poudre pour pénétrer dans l'eau à travers sa surface au repos, on l'exprime donc en secondes. D'après Niro Atomizer (1978), une poudre est considérée comme mouillable si cet indice est inférieur à 20 secondes. Dans la pratique, un temps de mouillage aussi rapide est rarement atteint. Ashworth et Gunthardt (1954), décrivent une méthode qui se base sur le même principe, ils peuvent ainsi évaluer la capacité de mouillage d'une poudre. D'après Baldwin et Sanderson (1973) et Schubert (1993), le mouillage d'une poudre est souvent considéré comme un facteur clef dans le sens où il s'agit de l'étape dite « limitante » de l'ensemble de la réhydratation.

Certains auteurs parlent aussi des propriétés de « pénétrabilité » d'une poudre ou de « sinkability » (Samuelsson et Hueg, 1973 ; Schubert, 1993 ; Freudig *et al.*, 1999). Ce terme désigne la facilité qu'une poudre présente à passer à travers le liquide après avoir été mouillée. On l'exprime en milligramme de poudre pénétrée par minute et par centimètre carré de surface de liquide. Il n'existe aucune norme permettant de la mesurer et on comprend qu'elle soit étroitement liée aux propriétés de mouillage. Pour cette raison, la pénétrabilité ne sera pas différenciée du mouillage.

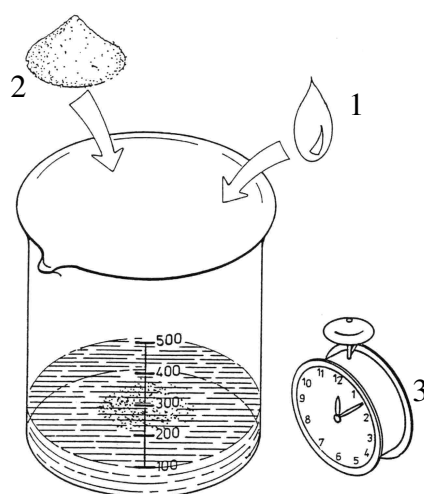


Figure 21 : Détermination de la mouillabilité d'après Westergaard (1994)

#### 4.2.1.2 Paramètres influençant la mouillabilité

La **composition de surface** semble conditionner l'étape de mouillage. En effet, c'est avec sa surface que la poudre va entrer en contact en premier avec le milieu de réhydratation. Quelques études récentes ont mis en évidence un lien entre la présence de composés hydrophobes en surface comme des lipides et un mauvais mouillage des poudres (Fältdt, 1995 ; Fältdt et Bergenstahl, 1996) et inversement entre la présence de composés hygroscopiques en surface comme du lactose et un mouillage facilité (Schubert, 1993 ; Fältdt et Bergenstahl, 1994). Ainsi, la matière grasse en surface crée une barrière hydrophobe qui réduit le nombre d'interaction poudre/eau. Si une poudre présentant des lipides en surface est lavée par des solvants pour éliminer ces lipides de surface, son aptitude au mouillage sera meilleure après extraction des lipides (Kim *et al.*, 2002).

Le mouillage est également influencé par les **propriétés physiques** et la tension interfaciale de la poudre. D'une façon générale, pour obtenir un mouillage rapide, la particule de poudre doit posséder une taille, une porosité et une masse volumique élevée. Westergaard (1994) étudie l'influence de la porosité, de la capillarité et de la présence d'air interstitiel des particules de poudre. La pénétration de l'eau dans une telle structure s'en trouve facilitée, la mouillabilité est par conséquent améliorée. La masse volumique de la poudre sera également plus importante si celle-ci est constituée de composés possédant une masse volumique vraie élevée (lactose, sels minéraux), d'où une meilleure aptitude au mouillage (Pisecky, 1980). La taille des particules influe également fortement sur le mouillage. Il est admis qu'un mouillage

rapide sera favorisé par des particules de taille élevée (Neff et Morris, 1967 ; Freudig *et al.*, 1999).

Les **facteurs externes** comme les conditions de réhydratation sont également primordiaux. La température, la vitesse d'agitation ou encore la composition du milieu de réhydratation peuvent modifier pour une même poudre le temps de mouillage (King, 1966 ; Schober et Fitzpatrick, 2005). Le temps de mouillage peut également dépendre de la présence d'un vortex dans la cuve de réhydratation, du procédé d'introduction de la poudre ou encore du choix du système d'agitation (Fitzpatrick *et al.*, 2001).

Pour terminer, le **procédé de séchage** peut contribuer à une plus ou moins bonne mouillabilité des poudres. Pisecky (1972) est l'un des premiers à développer des poudres se mouillant rapidement dans de l'eau froide grâce à l'ajout de tensioactifs (lécithine) à leur surface. De même, Westergaard (1994) limite la perte de mouillabilité de poudres présentant des lipides en surface par ajout de 0,5% de lécithine de soja. La dénaturation des protéines et donc l'application d'un traitement thermique au cours du procédé réduit en général le temps de mouillage (Kinsella, 1984). La réintroduction des particules récupérées en sortie des cyclones (fines) au niveau de la buse de pulvérisation va entraîner une agglomération des particules et par la même une augmentation de la taille et donc une meilleure aptitude au mouillage (Pisecky, 1986 ; Schubert, 1993 ; Westergaard, 1994 ; Schuck, 1999).

#### 4.2.2 L'étape de gonflement ou d'absorption d'eau par la poudre

##### 4.2.2.1 Définitions et méthodologies

Quand une poudre laitière absorbe de l'eau, la particule gonfle progressivement tant que l'eau reste piégée dans la matrice. Lorsque la structure de la poudre disparaît en raison de la dispersion des constituants, on admet que le seuil de gonflement a été atteint (Cayot et Lorient, 1998). Cette capacité d'absorption d'eau d'une poudre laitière a été mesurée par Davenel *et al.* (1997 ; 1997a) par RMN. Ils évaluent par exemple l'absorption d'eau d'une poudre de phosphocaséinate native à environ 5g d'eau.g<sup>-1</sup> de poudre pendant les 20 premières minutes de la réhydratation. Il n'existe pas de normes (FIL, ADPI) ou de méthodes (Niro Atomizer) permettant de déterminer cette étape. La capacité d'absorption d'eau peut quand même s'évaluer par l'analyse des isothermes de sorption. Mais il n'existe à l'heure actuelle aucune standardisation.

##### 4.2.2.2 Paramètres influençant le gonflement

La **nature de la protéine** influe sur la capacité d'absorption d'eau. Pour Kinsella et Fox (1986), les poudres de protéines globulaires (telles que la  $\beta$ -lactoglobuline) fixeraient moins



d'eau que les poudres de protéines non structurées. La caséine fixe quand à elle 2 à 4 g d'eau.g<sup>-1</sup> de poudre. Cette quantité d'eau absorbée importante s'explique par le piégeage physique de l'eau dans la matrice micellaire et par sa fixation sur les protubérances hydrophiles en surface des micelles (Robin *et al.*, 1993). Berlin *et al.* (1968 ; 1968a) ont étudié les isothermes de sorption de mélanges contenant différents composants. L'absorption d'eau se fera alors préférentiellement sur la caséine puis seulement dans un second temps sur le lactose et les protéines solubles.

Les **facteurs externes**, comme la température, influent sur la capacité d'absorption d'eau. Ainsi, une diminution de température entraîne une augmentation du degré d'hydratation des caséines micellaires par augmentation de l'eau piégée (Farrell *et al.*, 1989). Une modification de pH du milieu va également modifier la charge des protéines et donc leur capacité à fixer l'eau. Or, les résidus d'acide aminés fixent plus d'eau quand ils sont ionisés (Kinsella et Fox, 1986). Pour terminer nous citerons l'influence des sels en solution. L'ajout d'une faible quantité de chlorure de calcium va, par exemple, augmenter la quantité d'eau fixée par des interactions électrostatiques (Robin *et al.*, 1993).

#### 4.2.3 La dispersibilité ou dispersion d'une poudre

##### 4.2.3.1 Définition et méthodologie

La dispersibilité d'une poudre dans l'eau est mesurée par les normes FIL (1985), ADPI (2002a) ou par la méthode Niro Atomizer (1978). Elle présente l'aptitude d'une poudre à se briser en particules pouvant passer à travers un tamis dont le diamètre des pores est défini (**figure 22**). Elle est exprimée en pourcentage. Selon la méthode FIL (1985), la dispersibilité est le critère le plus important pour évaluer la réhydratation d'une poudre car elle dépend à la fois de la solubilité, de la mouillabilité et du gonflement des poudres. Par conséquent, il arrive que seule la dispersibilité soit mesurée pour évaluer les propriétés de réhydratation d'une poudre laitière (Lascelles et Baldwin, 1976 ; Fitzpatrick *et al.*, 2000). Or la dispersion n'est qu'une étape de la réhydratation. Kinsella (1984) décrit une autre méthode pour apprécier la dispersibilité d'une poudre. Au lieu de verser la poudre dans de l'eau (comme dans les normes), l'eau est versée sur une quantité de poudre prédéfinie. La taille des pores du tamis utilisé est également variable selon les études : 180 µm pour Baldwin et Woodhams (1974) ou 210 µm pour Kinsella (1984). Tout cela montre la diversité des techniques utilisées qui sont plus ou moins dérivées des normes. On comprend ainsi pourquoi il est souvent difficile de comparer des études différentes qui s'appuient sur un grand nombre de paramètres rarement standardisés.

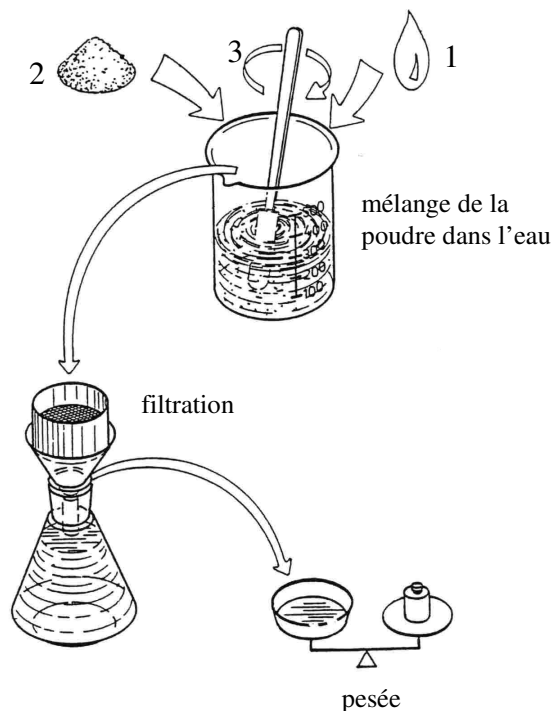


Figure 22 : Détermination de la dispersibilité d'après Westergaard (1994)

#### 4.2.3.2 Paramètres influençant la dispersibilité

La dispersibilité est tout d'abord dépendante de la **composition biochimique de la poudre**. Ainsi, plus la teneur en protéines est élevée, plus la dispersibilité diminue (Lascelles et Baldwin, 1976). La quantité de lactose influe par contre positivement sur la dispersibilité. Une augmentation de la dispersibilité de 21 à 32 % est mise en évidence par Schuck *et al.* (1994a) pour une poudre de caséine micellaire si elle est enrichie en lactose avant séchage. Une amélioration encore plus marquée est observée par incorporation d'une solution minérale (NaCl ou Citrate de Na) à la caséine avant séchage (Schuck, 1999). La présence de solutés hygroscopiques semble donc améliorer les transferts d'eau lors de la réhydratation. À moins que cette augmentation de dispersibilité ne soit due à une diminution de la concentration en caséine micellaire qui pourrait être le facteur limitant le transfert d'eau.

La dispersibilité semble également améliorée pour **des tailles de particules** comprises entre 90 et 250  $\mu\text{m}$  (Pisecky, 1972 ; Lascelles et Baldwin, 1976). D'après d'autres auteurs, la dispersibilité augmente avec le diamètre des particules (Baldwin et Sanderson, 1973) alors

que Pisecky, (1986) préconise une absence de particules au diamètre supérieur à 250  $\mu\text{m}$ . Dans tous les cas, une diminution de la quantité de fines (taille < 90  $\mu\text{m}$ ) est bénéfique.

Certains **facteurs externes** comme la température de réhydratation influent sur la dispersibilité. Ainsi, la dispersibilité de poudres de lait entier semble optimale vers 60°C (Lascelles et Baldwin, 1976 ; Kinsella, 1984). Une stabilisation de la température de la poudre à 37°C avant la réhydratation améliore également le pourcentage de dispersibilité de 27 à 74% d'après Baldwin et Sanderson (1973). Lors de la conservation des poudres il a été mis en évidence une diminution de la dispersibilité (Zbikowski *et al.*, 1993a). D'autres études notent cette dégradation après 100 jours de conservation pour des poudres de caséine micellaire mais pas pour des poudres de lait low heat (Schuck *et al.*, 1994).

Schuck *et al.* (1994) mettent en évidence l'influence de la température de sortie pendant **le séchage** sur la dispersibilité. Ainsi, un séchage à basse température améliore le pourcentage de dispersibilité (Kinsella, 1984). Une diminution du temps de séjour de la poudre dans la tour de séchage semble aussi favorable (Baldwin et Woodhams, 1974). Un traitement thermique peut également entraîner l'agrégation des protéines solubles à la surface des micelles et ainsi diminuer les qualités de dispersibilité d'une poudre de lait (Cayot et Lorient, 1998).

### 4.3 La solubilité

#### 4.3.1 Définition et méthodologie

C'est un critère essentiel dans le contrôle de la qualité des poudres destinées à être réincorporées en phase aqueuse. L'indice de solubilité est mesuré selon la méthode de Niro Atomizer (1978) ou les normes FIL (1995) et ADPI (2002b). La solubilité permet de déterminer l'aptitude d'une poudre à se solubiliser suite à des séries de centrifugation définies (**figure 23**). En théorie, une poudre de lait est soluble si son indice de solubilité est supérieur à 99% ou inversement si la teneur en insoluble est inférieure à 1% (Schuck, 1998). Kinsella (1984) ; Morr, *et al.* (1985) et Robin *et al.* (1993) décrivent des méthodes de mesures dérivées des normes. Or le résultat obtenu va dépendre de la méthode utilisée principalement la concentration en protéines de la dispersion, la force de centrifugation, le temps. Cayot et Lorient (1998) soulignent le fait qu'il ne suffit pas d'appliquer une méthode bien standardisé (FIL, 1985) pour obtenir des résultats répétables car certaines indications ne sont pas mentionnées telle que la durée ou la vitesse d'agitation ou la température de reconstitution. Or, il a été démontré que ces paramètres ont une influence sur la valeur de l'indice de solubilité (Schuck *et al.*, 1994a).

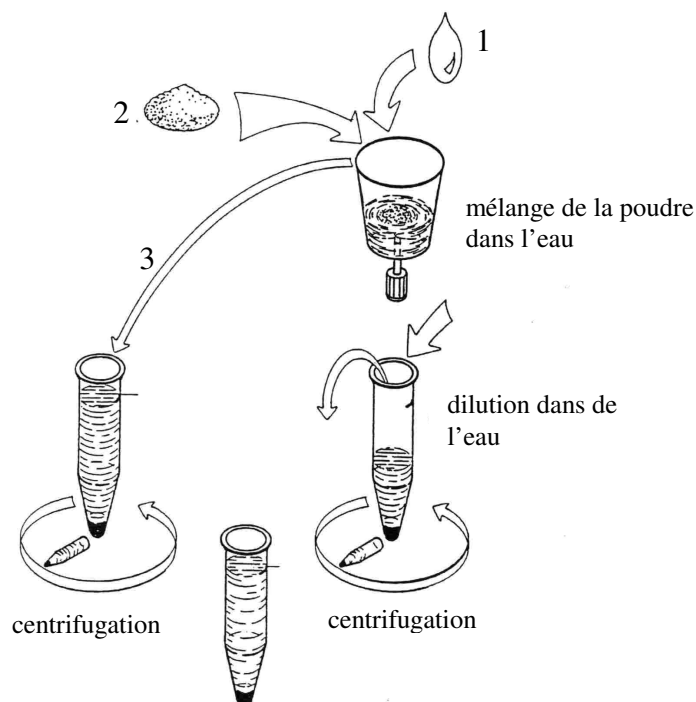


Figure 23 : Détermination de la solubilité d'après Westergaard (1994)

#### 4.3.2 Paramètres influençant la solubilité

L'indice de solubilité est principalement affecté par **les traitements thermiques** au cours du procédé de fabrication. Les trois étapes du procédé de fabrication pouvant affecter la solubilité sont la pasteurisation du lait à réception, l'évaporation sous vide et le séchage par atomisation. C'est pourquoi la plupart des insolubles mesurés sont en fait constitués de protéines solubles dénaturées ou de précipités de phosphate de calcium (Bloore et Boag, 1982 ; Mc Kenna *et al.*, 1999).

De façon plus générale, **les procédés de fabrication** vont affecter la solubilité. Plus les températures de séchage sont élevées, plus la température humide dans un premier temps et la température sèche dans un second temps seront élevées (Bloore et Boag, 1982 ; Westergaard, 1994). Il y aura donc dénaturation des protéines solubles et modification de leurs propriétés fonctionnelles donc de la solubilité de la poudre. Lors de l'homogénéisation, l'adsorption de micelles de caséine à la surface des globules gras a également été reliée à une élévation de l'insolubilité (Mc Kenna *et al.*, 1999).

La **composition biochimique de la poudre** influence également sa solubilité. Ainsi, des poudres à forte teneur en lactose présentent peu d'insolubles (Westergaard, 1994 ; Schuck *et al.*, 1994 ; 1994a). Comme la capacité de solubilité d'un constituant dépend de l'affinité de

ce constituant vis à vis de l'eau, un composé hygroscopique va permettre un transfert d'eau facilité aussi bien pendant le séchage (de l'intérieur vers l'extérieur de la particule) que pendant la réhydratation (de l'extérieur vers l'intérieur de la particule). Par contre, la cristallisation du lactose diminue la solubilité (Yetismeyen et Deveci, 2000). Une concentration en caséine élevée va également diminuer la solubilité des poudres (Mistry et Hassan, 1991 ; Schuck, 1998). Pour ces poudres l'indice de solubilité sera faible et d'environ 70% (Pierre *et al.*, 1992 ; Schuck *et al.*, 1994 ; 1994a).

L'indice de solubilité s'accroît avec la réduction de **taille des particules** (Bloore et Boag, 1982 ; Schuck, 1999). Une diminution de taille des particules va permettre une augmentation de la surface de contact entre l'eau et la poudre et une augmentation du transfert d'eau de l'extérieur de la particule vers l'intérieur.

Les **conditions de réhydratation** influent aussi sur l'indice de solubilité. Ainsi, une modification de la vitesse d'agitation et de sa durée, de la température de réhydratation peut entraîner une augmentation de l'indice de solubilité de 73 à 99% pour des poudres de caséine micellaire (Schuck *et al.*, 1994). La température et la durée de **conservation** sont aussi importants dans la formation d'insoluble (Litman et Ashworth, 1957 ; King, 1968).

Pour terminer, il est très important de préciser qu'il semble exister un insoluble apparent qui est essentiellement constitué de poudre non réhydratée. En effet, certaines poudres qui présentent des transferts d'eau très lent en cours de réhydratation ne sont pas réhydratées en suivant la norme de solubilité. Quelques études mettent en évidence que la mauvaise solubilité obtenue pourrait être due uniquement au fait que la poudre n'est pas totalement solubilisée (Schuck *et al.*, 1994 ; 1994a ; Davenel *et al.*, 1997 ; 2002). La fraction correspondant théoriquement à de l'insoluble serait en fait principalement de la poudre non réhydratée. Ces observations remettent donc en question l'intérêt de ces normes qui semblent peu adaptées aux ingrédients laitiers actuels.

## 5 Synthèse et positionnement de l'étude

Lors de sa réhydratation, une poudre va passer par toutes les étapes précédemment décrites dans la partie 4 qui sont : le mouillage et la « pénétrabilité » de l'eau dans les particules, le gonflement puis la dispersion. Comme présenté sur la **figure 24**, la réhydratation d'une poudre sera plus ou moins longue en fonction des conditions d'utilisation (vitesse d'agitation, température, milieu de réhydratation...) et des propriétés de la poudre elle-même (composition biochimique, porosité, taille...).

Par RMN, Samuelsson et Hueg (1973) ont étudié la réhydratation de différentes poudres laitières. Plus récemment, cette technique a été adaptée par Davenel *et al.* (1997 ; 1997a) sur le suivi de la réhydratation de poudres laitières en continu. L'inconvénient de la technique est que ces auteurs ne peuvent pas obtenir les toutes premières secondes qui suivent l'introduction de la poudre dans le milieu (mouillage). De plus, leur méthodologie est très éloignée des conditions industrielles. Néanmoins, l'intérêt de ce système est qu'il permet d'évaluer la capacité d'absorption d'eau des poudres et un temps de réhydratation total. Un système utilisant une pompe et un colorimètre est également développé par De Wit et Klarenbeek (1986). L'absorbance de la suspension contenant la poudre en cours de réhydratation est suivie pendant 20 minutes. À partir des profils obtenus, un pourcentage de réhydratation est déterminé. Ce système permet d'avoir une bonne idée des propriétés de réhydratation d'une poudre mais il n'est pas du tout représentatif de la réhydratation industrielle. Ennis *et al.* (1998) ont mis au point un système basé sur le suivi rhéologique. La poudre est versée dans la cuve du rhéomètre et la viscosité du système est suivie au cours du temps. Ces auteurs arrivent ainsi à déterminer à partir de profils de viscosité des étapes de réhydratation. Une autre approche intéressante permettant de suivre la réhydratation de caséine dans de l'eau à partir d'un spectromètre à ultrasons est développée par Povey *et al.* (1999). A partir des signaux obtenus il est possible de différencier les états successifs de la caséine au cours de la réhydratation : poudre de caséine, micelles de caséines et submicelles. Par le même type d'approche, Nassar *et al.* (2004) caractérisent les modifications de conformation spatiale des protéines en cours de réhydratation.

Il existe actuellement des études considérant les différentes phases de la réhydratation en relation avec les normes (FIL, ADPI) et les méthodes existantes (Niro Atomizer) ; mais une inadéquation entre ces méthodologies et les nouvelles bases laitières actuellement sur le marché est avérée (Schuck, 1999). De plus, seuls quelques auteurs ont tenté d'élucider le processus que nous appellerons **réhydratation** dans sa globalité. C'est la raison pour laquelle il est apparu la nécessité dans un premier temps de mettre au point des méthodologies

adaptées à tous ces nouveaux produits. Dans un second temps et en utilisant ces méthodologies, une étude des relations existant entre les propriétés de réhydratation, la structure et la composition des poudres laitières est également envisagée. C'est pourquoi la thèse s'intitule : **Etude des mécanismes de réhydratation des poudres laitières : influence de la structure et de la composition des poudres.**

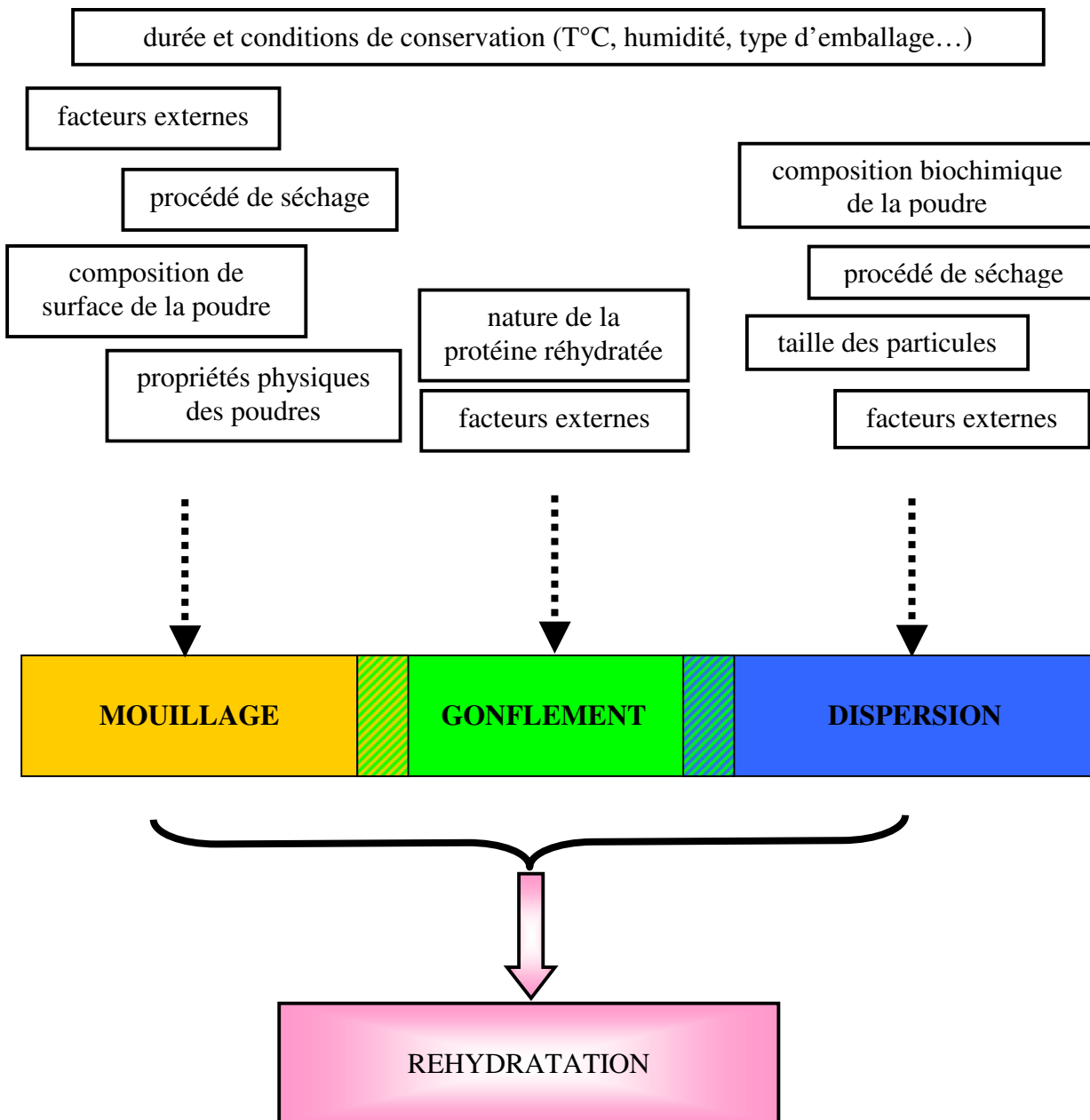


Figure 24 : Schéma montrant les principales étapes comprises dans la réhydratation d'une poudre et les facteurs les influençant





## **Matériels et Méthodes**



## 1 Fabrication des poudres

La fabrication des poudres est réalisée dans les installations pilotes de l'UMR STLO à Rennes à partir d'un lait de vache de grand mélange. Après écrémage à 45°C, le lait est réfrigéré à 2°C pendant 4 heures. Pour chaque fabrication 1200 L sont utilisés. La fabrication des différentes poudres étudiées dans la thèse est détaillée dans cette partie. Il s'agit de poudres de caséine micellaire, de protéines solubles et des mélanges des deux familles protéiques.

### 1.1 Préparation des concentrés

Les premières étapes de séparation sont résumées sur la **figure 25**. Dès réception, le lait est chauffé à 50°C puis stocké dans une cuve tampon. Une épuration bactérienne (facteur de concentration ou FRV = 20) est réalisée par microfiltration tangentielle sur une membrane en céramique de 1,4 µm à 7 canaux contenant chacun 19 membranes. On récupère 1140 L de lait épuré ; le rétentat bactérien et la matière grasse résiduelle (60 L) sont éliminés. Ce lait épuré subit ensuite une microfiltration sur membrane en céramique recouverte d'une couche d'oxyde de zirconium de 0,1 µm (19 canaux de 19 membranes chacun). Elle est réalisée à 50°C sur un pilote MFS19 (Tetra Laval, Aarhus C, Danemark) avec un FRV de 3. 380 L de rétentat (caséine) et 760 L de microfiltrat (sels minéraux, fraction non protéique, lactose, protéines solubles) sont séparés.

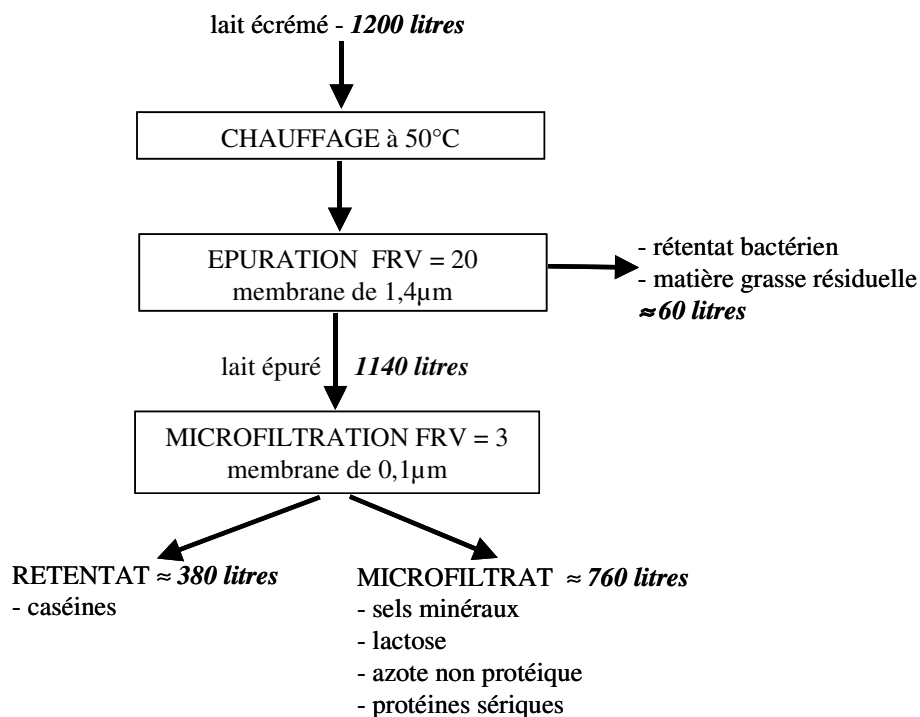


Figure 25 : Premières étapes de séparation membranaires à partir du lait écrémé

### 1.1.1 Concentré enrichi en caséine micellaire (figure 26)

Le rétentat est diafiltré sur le même pilote (MFS19). Afin d'enrichir le concentré en caséine micellaire, une diafiltration est effectuée avec 4 volumes d'eau osmosée chauffée (4 x 380 L). Puis, le PPCN ainsi obtenu est concentré deux fois pour obtenir au final 190 L de PPCN à 10% d'extrait sec (figure 27).

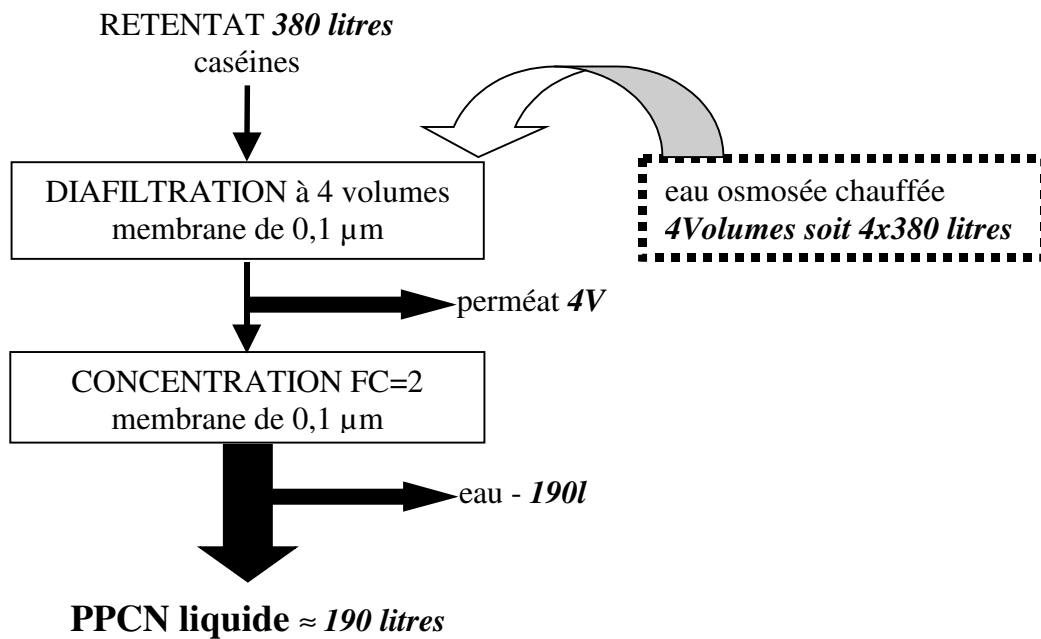


Figure 26 : Obtention du concentré enrichi en caséine micellaire



Figure 27 : Concentrés de PPCN (à gauche) et de protéines solubles (à droite) séparés par une membrane de filtration en céramique

### 1.1.2 Concentré enrichi en protéines solubles (figure 28)

Afin de concentrer les protéines solubles, le microfiltrat subit une ultrafiltration tangentielle sur membrane de seuil de coupure égal à  $8000 \text{ g.mol}^{-1}$ . Le module utilisé est un DDS (GEA, Soeborg, Danemark) équipé de  $9 \text{ m}^2$  de membranes céramiques. L'ultrafiltration (FRV = 20) permet l'obtention d'environ 38 L de protéines solubles et de 722 L de perméat d'ultrafiltration. Enfin, les protéines solubles sont diafiltrées en boucle sur ce même module avec 4 volumes d'eau osmosée (4 x 38 L). Au final, 38 L de protéines solubles sont obtenus (figure 27).

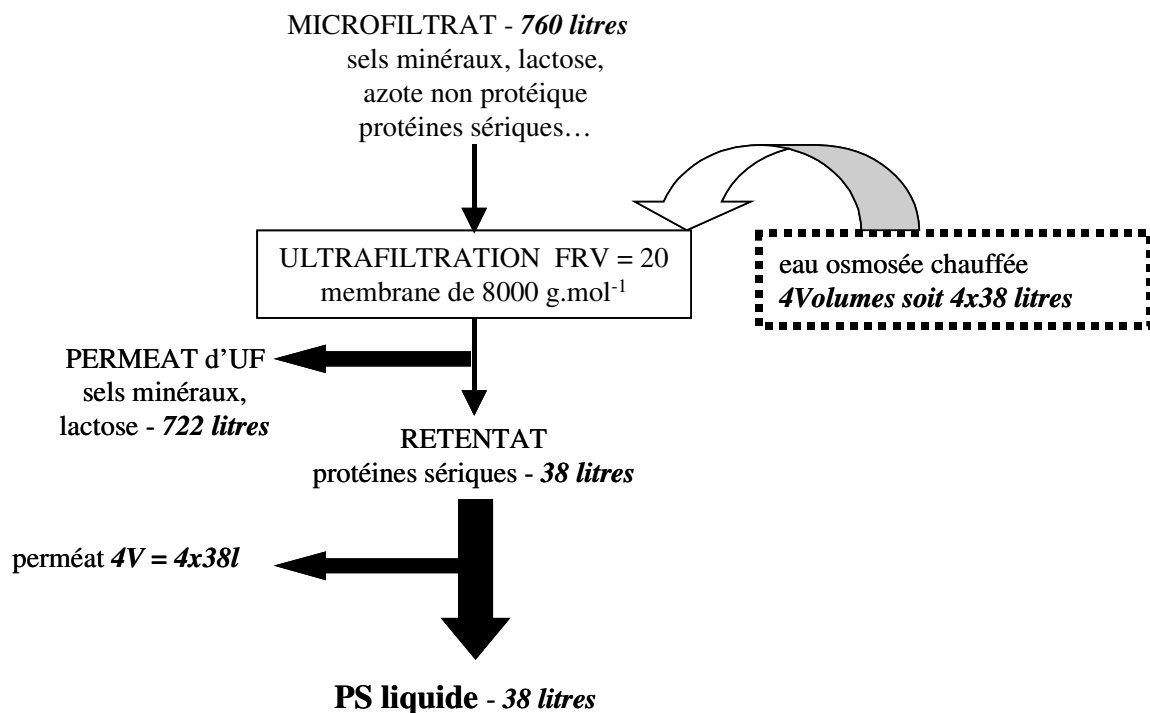


Figure 28 : Obtention du concentré enrichi en protéine soluble

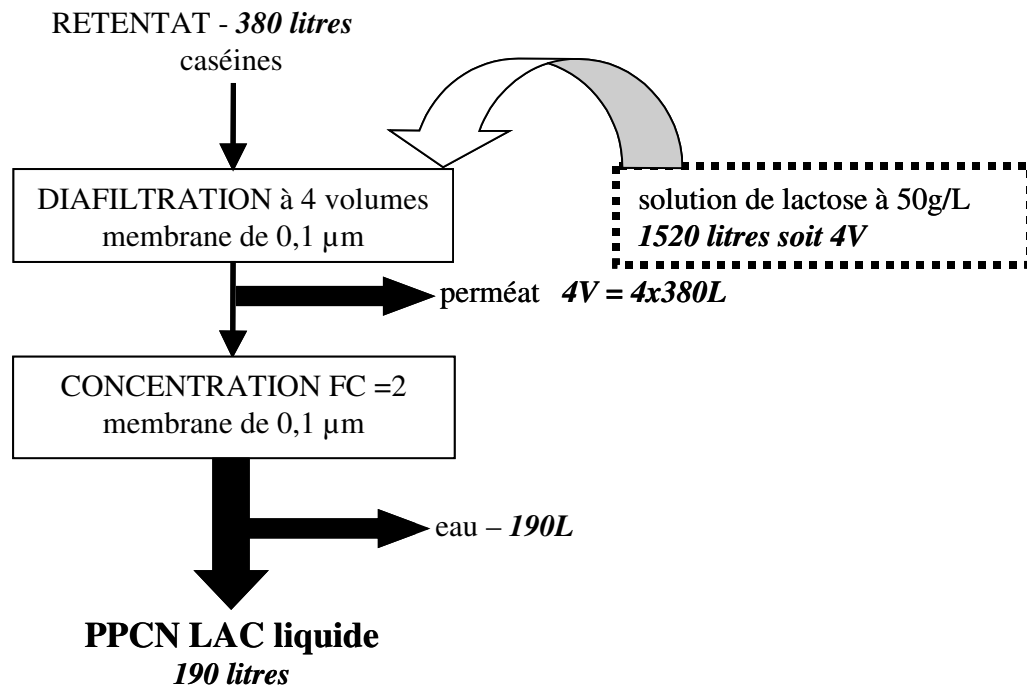
## 1.2 Formulation

### 1.2.1 Préparation du phosphocaséinate natif

#### 1.2.1.1 Obtention du phosphocaséinate natif additionné de lactose

L'enrichissement des caséines en lactose (LAC) est réalisé par co-séchage (CS) ou par mélange à sec (MAS). Le CS consiste à déshydrater un mélange de deux produits en phase liquide avant séchage. Le MAS consiste à mélanger les deux produits préalablement déshydratés séparément.

L'ajout de lactose pour obtenir les poudres co-séchées se fait pendant l'étape de diafiltration (**figure 29**). 4 volumes d'une solution lactosée à 50 g/L sont diafiltrés. Au final, on obtient 190 L de (PPCN + LAC) liquide.



**Figure 29 : Obtention du (PPCN + LAC) par co-séchage**

#### 1.2.1.2 Obtention du phosphocaséinate natif additionné de perméat d'ultrafiltration

Comme pour l'enrichissement en lactose, l'enrichissement des caséines en perméat d'ultrafiltration (PUF) est réalisé par co-séchage (CS) ou par mélange à sec (MAS). L'ajout de PUF se fait pendant l'étape de diafiltration (**figure 30**). Le perméat d'ultrafiltration utilisé est récupéré lors de l'ultrafiltration du microfiltrat. Au final, 190 L de (PPCN + PUF) liquide est récupéré.

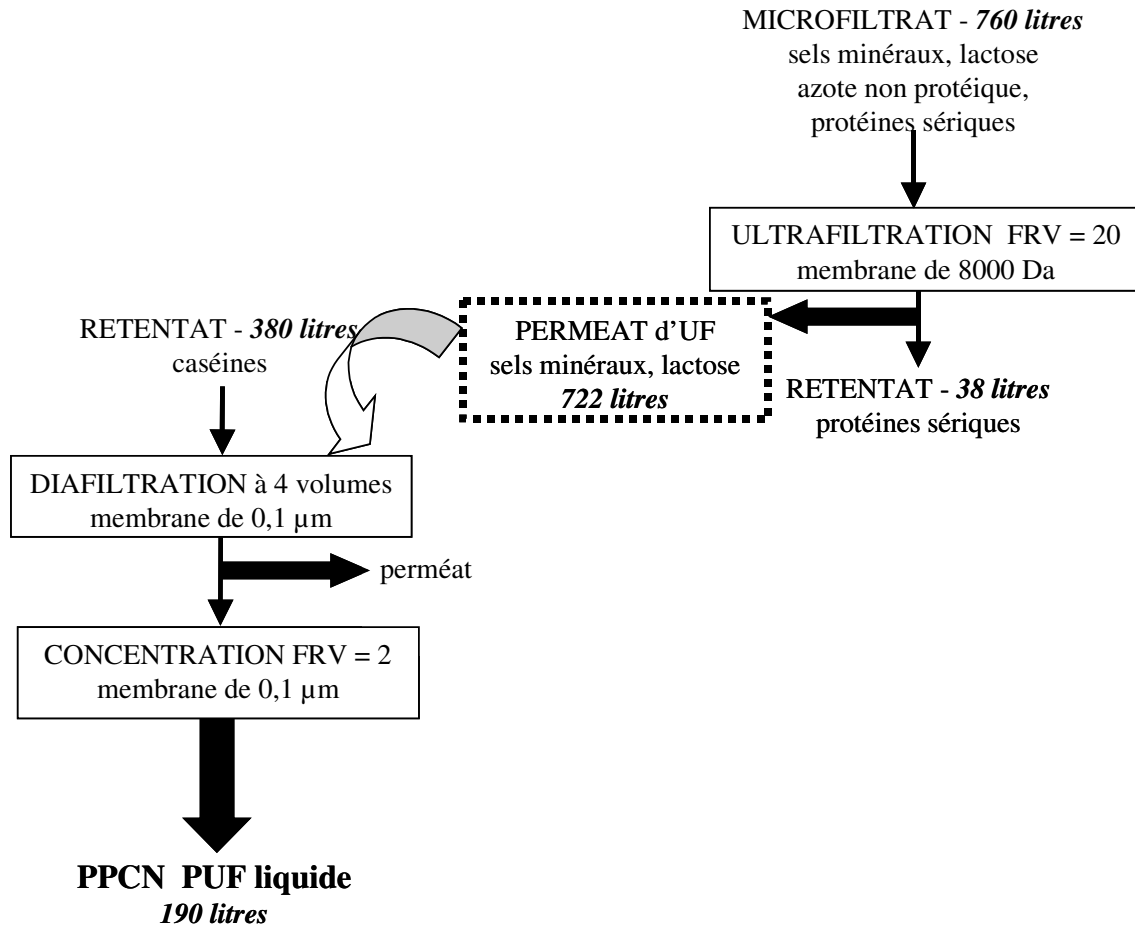


Figure 30 : Obtention du (PPCN + PUF) par co-séchage

### 1.2.2 Préparation des protéines solubles

Deux concentrations ont été choisies : 70 et 90% de MAT sur extrait sec. Compte tenu du faible volume de PS obtenues avec les installations pilotes de l'INRA, nous n'avons pas assez de PS à sécher. Pour cette raison, nous avons travaillé à partir de poudres de PS 90 industrielles obtenues par le procédé décrit sur la **figure 28** (i. e. filtration membranaire). Les PS 90 sont obtenues par la réhydratation de 60 kg de poudres de PS 90 dans 240 kg d'eau. Les PS 70 sont obtenues par la réhydratation de 48 kg de poudres de PS 90 et 12 kg de poudre de PUF dans 240 kg d'eau.

Une partie des concentrés obtenus sont traités thermiquement (TTL : traitement thermique du liquide) pendant 4 minutes à  $72^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Un traitement thermique dans la tour (TTP : traitement thermique de la poudre) est également appliqué à une partie des poudres par augmentation de la température en sortie de tour à  $95^{\circ}\text{C}$  au lieu de  $80^{\circ}\text{C}$ .

### 1.2.3 Préparation des mélanges de phosphocaséinate natif et de protéines solubles

Les mélanges PPCN/PS sont tous réalisés dans un rapport proche de 80/20 (qui correspond au rapport protéique du lait).

Les traitements thermiques appliqués sont les suivants :

- le mélange liquide (PPCN + PS) est traité thermiquement pendant 4 minutes à  $72^{\circ}\text{C} \pm 1$ .
- les PS seules sont traitées thermiquement pendant 4 minutes à  $72^{\circ}\text{C} \pm 1$  puis dans un second temps mélangées au PPCN liquide.

### 1.3 Séchage

Le séchage de tous les produits est réalisé par atomisation sur une tour MSD (Multi-spray drying) (GEA, St Quentin en Yvelines, France) Bionov (Rennes, France) ayant une capacité évaporatoire de 70 à 100  $\text{kg}\cdot\text{h}^{-1}$ . La caractérisation énergétique de cette installation a été détaillée par Schuck *et al.* (1998).

La technologie de séchage a permis la fabrication de trois types de granulations (**figure 31**). Dans un premier temps, les poudres non granulées sont récupérées directement en sortie des cyclones. Dans un second temps, les fines particules sont recyclées en haut de tour et réintroduites au niveau de la buse pour obtenir des poudres dites granulées. Entre ces deux fabrications, le mélange hétérogène de particules non granulées, granulées et fines peut être récupéré ; il correspond aux poudres dites intermédiaires dans cette étude.



Figure 31 : Récupération des poudres granulées (A) en sortie du lit fluidisé et des poudres non granulées (B) directement en sortie des cyclones



### 1.3.1 Obtention des poudres de phosphocaséinate natif

Le **tableau 8** liste les poudres à base de caséine fabriquées.

Le % de MAT sur extrait sec pour les trois poudres de PPCN est de 90%, seule la granulation les différencie.

Les poudres additionnées de lactose ou de perméat présentent un % de MAT sur extrait sec proche de 70%. Pour les poudres mélangées à sec, les poudres de PPCN et de lactose (ou perméat) sont mélangées manuellement de façon à obtenir exactement les mêmes % en MAT que pour les poudres de (PPCN + LAC) co-séchées ou de (PPCN + PUF) co-séchées.

**Tableau 8 : Liste des poudres à base de caséine fabriquées**

abréviation utilisée pour la poudre	type de mélange	ajout en lactose	ajout en perméat d'ultrafiltration	type de granulation	% de MAT/ES
PPCN G	-	non	non	G	90
PPCN I	-	non	non	I	90
PPCN NG	-	non	non	NG	90
(PPCN + LAC) G	CS	oui	non	G	70
(PPCN + LAC) NG	CS	oui	non	NG	70
PPCN NG + LAC NG	MAS	oui	non	NG	70
(PPCN + PUF) G	CS	non	oui	G	70
(PPCN + PUF) NG	CS	non	oui	NG	70
PPCN G + PUF G	MAS	non	oui	G	70
PPCN NG + PUF NG	MAS	non	oui	NG	70

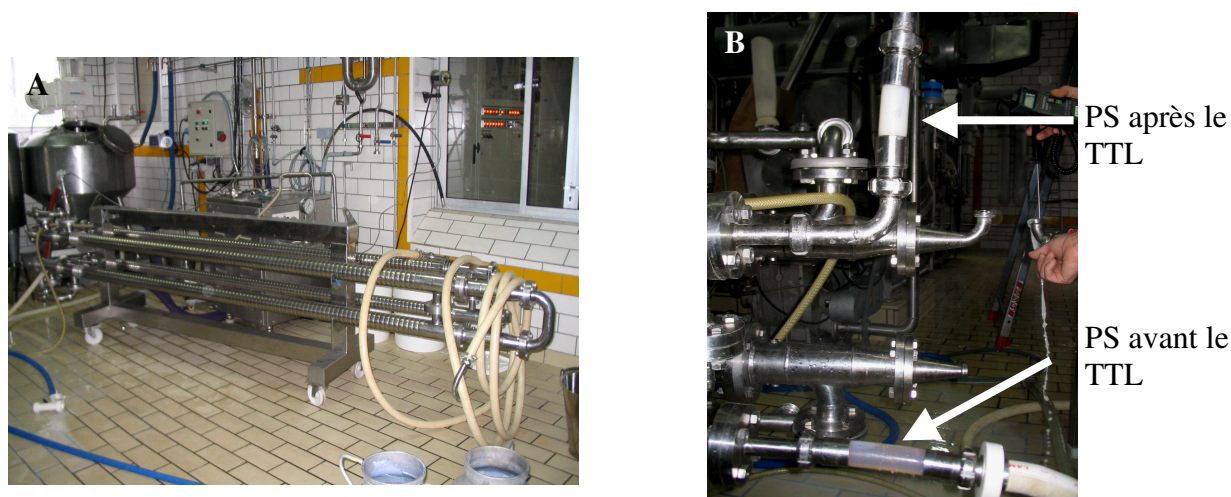
CS : co-séchage ; ES : extrait sec ; G : poudre granulée ; I : poudre intermédiaire ; LAC : lactose ; MAS : mélange à sec ; MAT : matière azotée totale ; NG : poudre non granulée ; PUF : perméat d'ultrafiltration.

### 1.3.2 Obtention des poudres de protéines solubles

Le **tableau 9** présente les poudres fabriquées à base de protéines solubles.

Le % de MAT sur extrait sec pour les 6 poudres non traitées thermiquement est de 90% ou de 70%, seule la granulation les différencie.

L'influence du traitement thermique est étudié sur les 12 autres poudres. C'est pourquoi elles ont été soumises à différents traitements thermiques : un traitement thermique du liquide (TTL) (**figure 32**) et un traitement thermique de la poudre pendant le séchage (TTP).



**Figure 32 : Traitement thermique des protéines solubles liquides (A) et observation visuelle de la dénaturation de ces protéines avant et après ce même traitement thermique (B)**

**Tableau 9 : Liste des poudres à base de protéines solubles fabriquées**

abréviation utilisée pour la poudre	traitement thermique du liquide (TTL)	traitement thermique de la poudre (TTP)	type de granulation	% de MAT/ES
PS 90 G	non	non	G	90
PS 90 I	non	non	I	90
PS 90 NG	non	non	NG	90
PS 70 G	non	non	G	70
PS 70 I	non	non	I	70
PS 70 NG	non	non	NG	70
PS 90 TTL – TTP G	oui	oui	G	90
PS 90 TTP G	non	oui	G	90
PS 90 TTL G	oui	non	G	90
PS 90 TTL – TTP NG	oui	oui	NG	90
PS 90 TTP NG	non	oui	NG	90
PS 90 TTL NG	oui	non	NG	90
PS 70 TTL – TTP G	oui	oui	G	70
PS 70 TTP G	non	oui	G	70
PS 70 TTL G	oui	non	G	70
PS 70 TTL – TTP NG	oui	oui	NG	70
PS 70 TTP NG	non	oui	NG	70
PS 70 TTL NG	oui	non	NG	70

ES : extrait sec ; G : poudre granulée ; I : poudre intermédiaire ; MAT : matière azotée totale ; NG : poudre non granulée ; TTL : traitement thermique du liquide ; TTP : traitement thermique de la poudre.

### 1.3.3 Obtention des poudres de phosphocaséinates additionnées de protéines solubles

Le **tableau 10** liste les poudres fabriquées à partir des mélanges de (PPCN + PS).

L'influence du traitement thermique a été étudiée sur ces poudres. Les traitements thermiques ne concernent que les solutions liquides (TTL). Toutes les poudres sont fabriquées à 90% de MAT sur extrait sec.

Toutes les poudres présentent un rapport caséine/protéine soluble proche de 80/20. Pour les poudres mélangées à sec, les poudres de PPCN et de protéines solubles sont mélangées manuellement de façon à obtenir exactement les mêmes rapports que pour les poudres de (PPCN + PS) co-séchées.

**Tableau 10 : Liste des poudres à partir des mélanges PPCN/PS fabriquées**

abréviation utilisée pour la poudre	type de mélange	traitement thermique du liquide (TTL)	traitement thermique des PS	type de granulation
(PPCN + PS) G	CS	non	non	G
(PPCN + PS) NG	CS	non	non	NG
PPCN G + PS G	MAS	non	non	G
PPCN NG + PS NG	MAS	non	non	NG
PPCN + (PS TTL) G	CS	non	oui	G
(PPCN + PS) TTL G	CS	oui	non	G
PPCN + (PS TTL) NG	CS	non	oui	NG
(PPCN + PS) TTL NG	CS	oui	non	NG

CS : co-séchage ; G : poudre granulée ; MAS : mélange à sec ; NG : poudre non granulée ; TTL : traitement thermique du liquide.

## 2 Caractérisation des poudres

### 2.1 Composition chimique

#### 2.1.1 Dosage de l'eau

La teneur en eau a été déterminée par pesée et étuvage à 103°C suivant la norme AFNOR (1978). Deux grammes de poudre sont étuvés pendant trois heures, puis refroidis pendant une heure au dessiccateur ( $P_2O_5$ ) avant d'être pesés.

#### 2.1.2 Dosage des cendres

Le taux de cendres a été déterminé par minéralisation de 2 g de poudre dans des creusets de porcelaine dans un four à moufles à 550 degrés selon la norme décrite par l'ADPI (2002c).

#### 2.1.3 Dosage des protéines

##### 2.1.3.1 Les teneurs en protéines

Les teneurs en protéines ont été dosées par la méthode de Kjeldahl (AOAC, 1984). Les teneurs en azote total (NT), en azote non caséinique (NCN) et en azote non protéique (NPN) sont déterminés. Les pourcentages en protéines (g de protéines pour 100 g de poudre), en caséines (g de caséines pour 100 g de poudre) et en protéines sériques (g de protéines sériques pour 100 g de poudre) sont respectivement calculés d'après les relations suivantes :  $(NT - NPN) \times 6,38$  ;  $(NT - NCN) \times 6,38$  et  $(NCN - NPN) \times 6,38$ .

##### 2.1.3.2 Evaluation de la dénaturation protéique

Le pourcentage de dénaturation des protéines solubles a été déterminé par la mesure de la quantité d'azote soluble après centrifugation d'une solution protéique à 5% pendant 30 minutes à 3100g (FIL, 1995). Les protéines sont précipitées à pH 4,6 et le filtrat est dosé par Kjeldahl. À ce pH, les protéines dénaturées sont insolubles. Par centrifugation, on sépare les protéines dénaturées (culot) des protéines natives (surnageant).

#### 2.1.4 Dosage du lactose

Le dosage du lactose est réalisé par voie enzymatique, avec un kit de dosage : ENZYTEC Lactose/D-galactose. Les échantillons sont préalablement clarifiés avec les réactifs de Carrez. Le lactose est hydrolysé en glucose et D-galactose en présence d'eau dans une réaction catalysée par la  $\beta$ -galactosidase. Le D-galactose est ensuite oxydé en acide

galactonique avec libération de NADH. La formation de NADH mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 340 nm est proportionnelle à la quantité de lactose présente dans le milieu.

### **2.1.5 Dosage des lipides**

#### **2.1.5.1 Teneur en lipides**

La teneur en matière grasse a été déterminée suivant la norme FIL (1987) de Röse Gottlieb. Son principe repose sur une extraction des lipides au moyen d'éther diéthylique et d'éther de pétrole. Enfin, le mélange de solvants est évaporé et les lipides extraits sont pesés.

#### **2.1.5.2 Analyse de la composition lipidique**

L'analyse de la composition lipidique dans la poudre de PPCN a été réalisée par chromatographie sur couche mince couplée à un détecteur à ionisation de flamme Iatroscan® (chromarods-SIII Iatroscan Laboratory Inc. Tokyo, Japan). Cette méthode combine la chromatographie sur couche mince (CCM) pour séparer les composés et l'ionisation de flamme (hydrogène / air) pour les détecter. La CCM est composée d'une couche de silice servant d'adsorbant déposée sur des baguettes de quartz. Les ions formés dans la flamme sont collectés et leur passage entre deux électrodes provoque une modification du courant qui est ensuite amplifié au niveau du détecteur (FID Ammeter). Pour terminer, ils sont analysés par le logiciel de traitement de données incorporé à l'appareil (Chromstar).

Les baguettes de quartz sont préalablement nettoyées pour éliminer toutes les impuretés. Les lipides extraits suivant la norme FIL (1987) de Röse Gottlieb sont récupérés à raison de 5 mg.mL<sup>-1</sup> de chloroforme et déposés sur les baguettes (1 à 4 µL) à l'aide d'une micropipette de 1 µL (Hirschmann™ Laborgeräte, Germany). Les baguettes sont ensuite placées dans une cuve contenant une solution de NaCl saturée ( $a_w$  : 0,75) pendant 10 minutes. Une première chromatographie permet de séparer les lipides neutres à l'aide d'un éluant apolaire (hexane-diéthyléther-acide formique ; 80-20-0,2 ; v-v-v). Les baguettes sont ensuite séchées dans une étuve (Rod Dryer TK-B, Tokyo, Japan) à 103°C pendant 1 minute avant d'être analysées. Une deuxième chromatographie sur les baguettes non brûlées permet pour terminer de séparer plus précisément les lipides polaires (phospholipides) à l'aide d'un mélange (chloroforme-méthanol-eau-ammoniaque ; 47-20-2,5-0,28 ; v-v-v-v).

#### **2.1.5.3 Extraction des lipides de surface**

Les lipides sont extraits de la surface des poudres par des solvants selon les méthodes décrites par Buma (1971b). Deux types de solvants sont utilisés : l'éther de pétrole et le

tétrachlorure de carbone pendant 2 heures. Les poudres sont ensuite séchées sous la hotte pendant une nuit.

### **2.1.6 Dosage de la présence de composés de Maillard**

Le dosage de la présence des composés issus de la dégradation de Maillard est réalisé par le laboratoire NUTRINOV Analyses & Recherche (Vezin Le Coquet, France). Le dosage de la furosine est réalisé selon la norme FIL (2004) et celui de l'hydroxyméthyl-furfural par une méthode interne.

## **2.2 Propriétés physiques**

### **2.2.1 Masses volumiques et air occlus**

Les masses volumiques aérées et tassées des tas de poudres sont déterminées à l'aide d'un analyseur de poudre (Hosokawa Micron Powder Tester PT-R, Osaka, Japon). Le pourcentage d'air occlus est calculé d'après la méthode de Niro Atomizer (1978) à partir de la masse volumique des particules et des solides.

### **2.2.2 Répartition granulométrique**

#### **2.2.2.1 Principe**

La distribution de taille des particules est déterminée par diffusion statique de la lumière grâce à un granulomètre Malvern Mastersizer S (Malvern Instruments Ltd, UK). L'appareil est équipé d'un laser de type He/Ne d'une puissance de 5 mW et opérant à une longueur d'onde de 632,8 nm. L'optique est composée d'une cellule de mesure de 0,5 mm sur laquelle est montée une lentille de type 300RF possédant une distance focale de 0,45 mm. L'intensité lumineuse diffusée par l'échantillon est récupérée par 42 photodiodes localisées à différents angles. La lumière étant diffusée par une particule avec un angle inversement proportionnel à sa taille, les grosses particules dévient une quantité importante de lumière avec des angles faibles, alors qu'une petite particule va dévier des quantités faibles de lumières avec des angles plus importants.

L'acquisition est réalisée à l'aide du logiciel de traitement Malvern (Sizer Sv2.17) qui permet la récupération et l'analyse des données brutes.

#### 2.2.2.2 Mode opératoire pour l'obtention de la distribution de taille des particules sèches

La distribution de taille des particules dans l'air est mesurée à l'aide d'un module spécifique aux poudres : dry powder feeder. Le code choisi est le modèle optique classique pour les particules dispersées dans l'air. La taille des particules détectées par ce système varie de 4,88 à 3473  $\mu\text{m}$ .

#### 2.2.2.3 Mode opératoire pour l'obtention des profils de granulométrie

La distribution de taille des particules est également suivie dans de l'eau distillée filtrée (Millipore, membrane diamètre 0,22  $\mu\text{m}$ ) pendant toute la réhydratation. 0,1 g de poudre sont réhydratés dans 100 mL d'eau distillée. Cette concentration permet l'obtention d'une obscurité satisfaisante. Pour calculer ces distributions, il est nécessaire de fixer l'indice de réfraction des particules. La présentation de code 30HD correspondant à un indice de réfraction de 1,5295 pour les particules et de 1,33 pour le solvant (eau) est retenue (Strawbridge *et al.*, 1995). La répartition de taille est mesurée en fonction de la distribution volumique des particules (%). Les distributions de taille obtenues varient entre 0,06 et 878  $\mu\text{m}$ .

#### 2.2.2.4 Mode opératoire pour l'obtention des profils de granulométrie couplés aux profils de viscosité et de turbidité

Des prélèvements sont effectués en cours de réhydratation ; 0,5 mL d'une suspension à 5% de MAT sont prélevés et introduits dans la cellule du granulomètre contenant préalablement 100 mL d'eau distillée préfiltrée (Millipore, membrane de 0,22  $\mu\text{m}$ ). Le volume de suspension introduit est choisi pour permettre une obscurité satisfaisante ( $\approx 20\%$ ). La valeur mesurée est le d(50), soit le diamètre moyen des particules dans la suspension.

Pour les prélèvements effectués pendant les cinétiques de viscosité, il est impossible d'introduire une pipette compte tenu du faible volume de la cuve et du type de géométrie utilisée. La cinétique de réhydratation est donc arrêtée pendant le prélèvement. Pour obtenir un autre point, la cinétique sera recommencée du début et ainsi de suite. Pour les prélèvements effectués pendant les cinétiques de turbidité, il n'y a pas de problèmes. La même opération est régulièrement répétée pendant toute la durée de la réhydratation. La cuve contenant 2 L de solution, le volume prélevé (0,5 mL) ne modifie pas les profils obtenus et l'introduction d'une pipette se fait sans problèmes.

### 2.2.3 Mesures de la surface des particules de poudre par Spectroscopie des Photoélectrons X (SPX)

Les analyses sont réalisées au Laboratoire de Chimie Physique et de Microbiologie pour l'Environnement (LCPME / UMR 7564 CNRS, Université Henry Poincaré Nancy 1, Vandoeuvre Lès Nancy).

#### 2.2.3.1 Principe

La SPX est une des techniques les plus performantes permettant la caractérisation de l'extrême couche de surface des matériaux (0,5 à 15 nm). Cette technique est basée sur la photo-émission. Lors de l'irradiation par des photons X, les atomes de la poudre émettent des électrons appelés photoélectrons. Le principe consiste à analyser en énergie cinétique les électrons photo-émis lors de l'irradiation (**figure 33**). L'énergie de liaison, caractéristique d'un atome, est directement accessible par la relation de conservation de l'énergie :

$$E_B = h\nu - E_C - \Phi$$

avec :

- $h\nu$ , l'énergie des photons X incidents (eV),
- $E_B$ , l'énergie de liaison (eV),
- $E_C$ , l'énergie cinétique mesurée (eV),
- $\Phi$ , l'énergie nécessaire à l'électron pour franchir la frontière matériel/vide, c'est à dire le travail d'extraction électronique (eV),
- $h$ , la constante de Planck ( $6,62 \cdot 10^{-34}$  J.s)
- $\nu$ , la fréquence de l'onde ( $s^{-1}$  ou Hz).

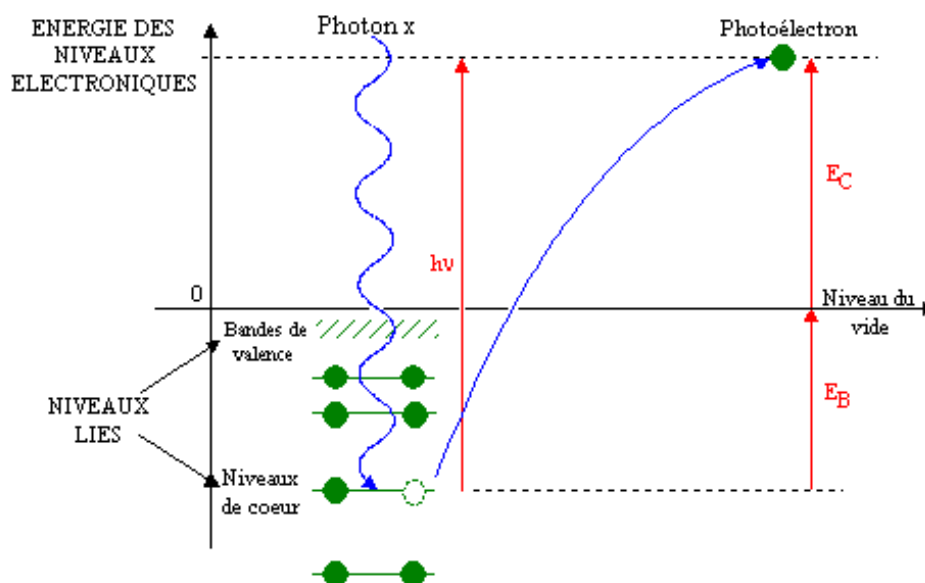


Figure 33 : Diagramme de conservation de l'énergie

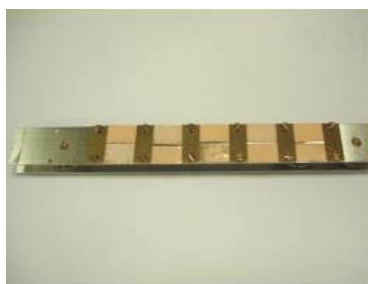


En tant que technique spectroscopique, elle présente l'avantage d'être peu destructive, d'être sensible et applicable à un grand nombre d'atomes. En effet, tout électron dont l'énergie de liaison est inférieure à celle des photons X incidents ( $h\nu$ ) peut être extrait. Tous les atomes sont donc détectables, à l'exception de l'hydrogène et de l'hélium.

### 2.2.3.2 Conditions expérimentales

Les analyses sont réalisées avec un appareil Kratos (Axis Ultra, Kratos Analytical, Manchester, UK). L'appareil utilise une source de radiation monochromatique  $AlK\alpha$  d'énergie incidente de 1486,6 eV. La puissance appliquée à l'anode est réduite à 90 watts ce qui évite la dégradation de l'échantillon par les photons X. L'appareil est calibré pour donner une énergie de liaison de 83,96 eV sur l'élément Au 4f7/2 et la dispersion est ajustée pour donner une énergie de liaison de 932,65 eV pour l'élément Cu 2p3/2.

Les échantillons de poudre sont fixés sur un support porte objet (**figure 34**) à l'aide d'un scotch double face conducteur et dégazés une nuit entière avant les analyses. Les mesures peuvent se faire à angle variable : dans notre cas l'angle incident du faisceau est fixé à  $90^\circ$  permettant une analyse sur environ 5 nm de profondeur. L'aire d'analyse est de  $700 \times 300 \mu\text{m}$  et dépend de la taille des fentes d'entrée. Les spectres de survol sont enregistrés avec un pas de 1,0 eV et une énergie passante de 160 eV. Les spectres de haute résolution (pics de carbone, oxygène et azote) sont enregistrés avec un pas de 0,05 eV et une énergie passante de 20 eV.



**Figure 34 : Porte objet utilisé pour 10 échantillons pour des mesures SPX**

Les photoélectrons sont éjectés continuellement de la surface du matériau. Dans le cas d'échantillons isolants, un potentiel positif apparaît constituant une barrière supplémentaire pour les électrons. Au niveau des spectres, cela correspond à un déplacement de l'ensemble des pics vers des niveaux d'énergie plus élevés. Pour compenser ce phénomène, un neutraliseur de charge est activé pendant les mesures. Comme une surcompensation est toujours observée, le pic  $C_{1s}$  correspondant aux liaisons C-(C, H) est fixé à 284,6 eV et utilisé

comme énergie de référence interne permettant une comparaison des résultats pour différents échantillons.

L'acquisition d'images en parallèle est réalisée avec un miroir sphérique. La résolution latérale de l'instrument a été déterminée sur une grille d'or en utilisant une intensité de définition 20-80% soit 3  $\mu\text{m}$ . Pour éliminer les effets topographiques l'image contenant le bruit de fond (15 eV au dessus de l'énergie de liaison du pic observé) est soustraite (Blomfield, 2005).

Les spectres sont analysés avec le logiciel Vision de Kratos (Vision 2.2.0). Une ligne de base, de type Shirley, permet de soustraire le bruit de fond. Les pics sont décomposés à l'aide d'un modèle de distribution Gaussienne - Lorentzienne de 70% et 30% respectivement. La quantification est réalisée avec les coefficients de transmission fournis par le logiciel de l'appareil.

### 2.2.3.3 Application de la technique à la détermination de la composition de surface des poudres laitières

La spectroscopie des photoélectrons X permet tout d'abord une **analyse élémentaire**. L'énergie de liaison étant spécifique d'un atome, l'identification des éléments présents à la surface des poudres est possible à partir des pics qui apparaissent sur le spectre complet. La méthode est décrite en détail par Fäldt (1995) dans son travail de thèse. Le pourcentage de carbone, d'oxygène et d'azote présent à la surface de l'échantillon est quantifié. Une matrice à trois inconnues permet à partir de ces pourcentages de déduire le pourcentage des différents composants (protéines, lactose et lipides).

$$I^C = \alpha P \cdot I^{CP} + \alpha L \cdot I^{CL} + \alpha F \cdot I^{CF}$$

$$I^O = \alpha P \cdot I^{OP} + \alpha L \cdot I^{OL} + \alpha F \cdot I^{OF}$$

$$I^N = \alpha P \cdot I^{NP} + \alpha L \cdot I^{NL} + \alpha F \cdot I^{NF}$$

avec : -  $I^C, I^O, I^N$ , les fractions molaires de carbone, d'oxygène et d'azote à la surface de l'échantillon; ces valeurs sont directement obtenues à partir des aires des pics  $C_{1s}$ ,  $O_{1s}$  et  $N_{1s}$ .

-  $I^{CP}, I^{CL}, I^{CF}$ , les fractions molaires du carbone dans les protéines, lactose et lipides;  $I^{OP}, I^{OL}, I^{OF}$ , les fractions molaires de l'oxygène dans les protéines, lactose et lipides et  $I^{NP}, I^{NL}, I^{NF}$ , les fractions molaires de l'azote dans les protéines, lactose et lipides. Les valeurs

théoriques et expérimentales (caséine, matière grasse laitière anhydre et lactose monohydraté) sont utilisées dans la matrice.

-  $\alpha P$ ,  $\alpha L$ ,  $\alpha F$  sont les surfaces relatives en protéines, lactose et lipides déterminées en résolvant la matrice de trois équations. Comme il y a des différences entre les masses atomiques de carbone (12), oxygène (16) et azote (14) et pour la comparaison directe avec la composition globale des poudres, la composition de surface est calculée en masse.

#### 2.2.3.4 Application de la spectroscopie à la détermination des natures des liaisons de surface

La SPX permet également une **analyse chimique**. Ce type de mesure passe par une déconvolution des spectres. Dans un composé donné, les niveaux de cœur de l'atome vont réagir à la modification de l'environnement chimique avec des variations de l'énergie orbitale de l'ordre de quelques eV. C'est ce que l'on appelle le déplacement chimique. Or, ce déplacement dépend des liaisons chimiques établies par l'atome et il est caractéristique de leur nature (groupements fonctionnels). Par conséquent, la déconvolution des spectres rend possible la détermination de la nature des liaisons de surface.

### 2.3 Observations macroscopique et microscopique des poudres

#### 2.3.1 Colorimétrie

##### 2.3.1.1 Principe

Un appareil microflash 200 d (Datacolor International, Lawrenceville, USA) a été utilisé pour mesurer la couleur des poudres. La couleur est un attribut perceptif, subjectif, élaboré dans notre système visuel à partir de la lumière renvoyée par les objets et leur environnement. La colorimétrie consiste en un ensemble de données et de méthodes permettant de quantifier la couleur objectivement. L'espace chromatique  $L^*a^*b^*$  a été défini par la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE). Les trois coordonnées sont des correspondances de la luminance ( $L^*$ ), de la balance « rouge -vert »  $a^*$  et de la balance « jaune - bleu »  $b^*$  (**figure 35**).

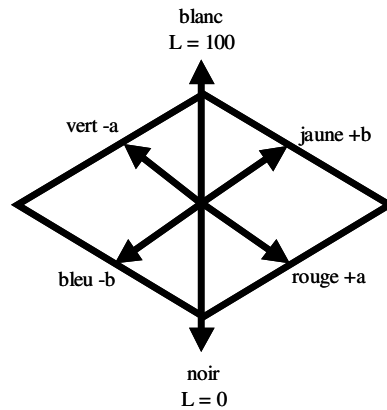


Figure 35 : Schéma de l'espace chromatique CIE :  $L^*a^*b^*$ .

### 2.3.1.2 Mode opératoire

La mesure est effectuée sur des échantillons de poudre répartis dans des boîtes de Pétri transparentes. Après une calibration de l'appareil avec les étalons noirs et blancs, la cellule de l'appareil est directement appliquée sous la boîte de Pétri contenant la poudre pour effectuer la mesure. Les résultats sont la moyenne de 3 mesures.

## 2.3.2 Microscopie électronique à balayage (MEB)

Les observations au microscope électronique à balayage sont réalisées au laboratoire de chimie minérale à la faculté des sciences et techniques (UHP Nancy 1, Vandoeuvre-Lès-Nancy).

### 2.3.2.1 Principe

La microscopie électronique à balayage repose sur le même principe que la microscopie optique, à la différence près que le rayon incident est constitué par un faisceau très fin d'électrons accélérés sous une tension de 10 à 30 kV au lieu d'un rayon de lumière visible. Les électrons rétrodiffusés et/ou secondaires sont recueillis en synchronisant la détection au balayage du faisceau incident. On obtient ainsi une image de la surface. On distingue deux types de contrastes :

- Le contraste topographique est lié au taux d'électrons rétrodiffusés et à leur accès au détecteur en fonction de la topographie. Cela permettra de distinguer la profondeur de l'échantillon.
- Le contraste chimique est lié au facteur de diffusion de l'atome donc à son numéro atomique. On distinguera un atome lourd d'un atome plus léger par la présence d'une zone brillante due au nombre élevé d'électrons rétrodiffusés.

### **2.3.2.2 Mode opératoire**

Les poudres à analyser sont fixées sur un ruban adhésif double face monté sur un support. Une couche de carbone de 10 nm, puis un mélange or/palladium sont déposés à la surface des particules de poudre. Cette préparation consiste à rendre l'échantillon conducteur. Les mesures sont réalisées sous vide secondaire (environ  $10^{-5}$  torr) par rétro diffusion des électrons secondaires avec un microscope électronique à balayage (Hitachi S2500, Japon).

### **2.3.3 Microscopie optique**

#### **2.3.3.1 Equipement**

Les images de microscopie optique sont obtenues avec un microscope à contraste de phase de type Leica DMRB (Wetzlar, Allemagne). Le microscope est relié à une caméra (Kappa optoelectronics GmbH, Allemagne). Le traitement des images est réalisé grâce au logiciel Kappa imageBase 2.5.

#### **2.3.3.2 Mode opératoire**

Deux types de mesures sont effectuées.

La réhydratation des particules est suivie directement sous le microscope dans son ensemble. Une particule de poudre isolée est mise en contact avec une gouttelette d'eau et des photos sont prises régulièrement tout au long de sa réhydratation.

La réhydratation des particules est indirectement suivie à l'aide de prélèvements réalisés en cours de réhydratation dans le rhéomètre. Ces prélèvements sont effectués principalement aux moments clefs de la réhydratation (gonflement des particules, dispersion...).

## **2.4 Détermination des propriétés d'hydratation**

### **2.4.1 Les normes**

#### **2.4.1.1 La solubilité**

C'est un critère essentiel dans le contrôle de la qualité des poudres destinées à être réincorporées en phase aqueuse. L'indice de solubilité est mesuré selon la norme ADPI (2002b) ou la méthode de Niro Atomizer (1978) et permet de déterminer l'aptitude d'une poudre à se solubiliser. Après des séries de centrifugation définies le culot est pesé.

#### **2.4.1.2 La mouillabilité**

La mouillabilité reflète l'aptitude d'une poudre à s'immerger après avoir été déposée à la surface de l'eau. Elle est mesurée selon la norme FIL (1985) ou la méthode de Niro Atomizer (1978). C'est le temps en secondes nécessaire pour mouiller toutes les particules d'une poudre, celle-ci étant déposée à la surface de l'eau.

#### 2.4.1.3 La dispersibilité

La dispersibilité d'une poudre dans l'eau représente son aptitude à se briser en particules pouvant passer à travers un tamis dont le diamètre des pores est défini et égal à 150  $\mu\text{m}$ . C'est le pourcentage pondéral de la matière sèche de l'échantillon susceptible d'être dispersée dans l'eau en suivant les normes FIL (1985), ADPI (2002a) ou la méthode de Niro Atomizer (1978).

### 2.4.2 Obtention des cinétiques de réhydratation avec un rhéomètre équipé d'un système vane

#### 2.4.2.1 Appareillage

Les mesures sont effectuées sur un appareil Stress Tech de Rheologica (**figure 36**). La géométrie utilisée pour le suivi de la réhydratation des poudres est un système vane formé de quatre pales à angles droits qui fonctionne avec une cuve permettant de travailler avec 18 mL de solution (**figure 37**).



Figure 36 : Module permettant de suivre en continu la réhydratation

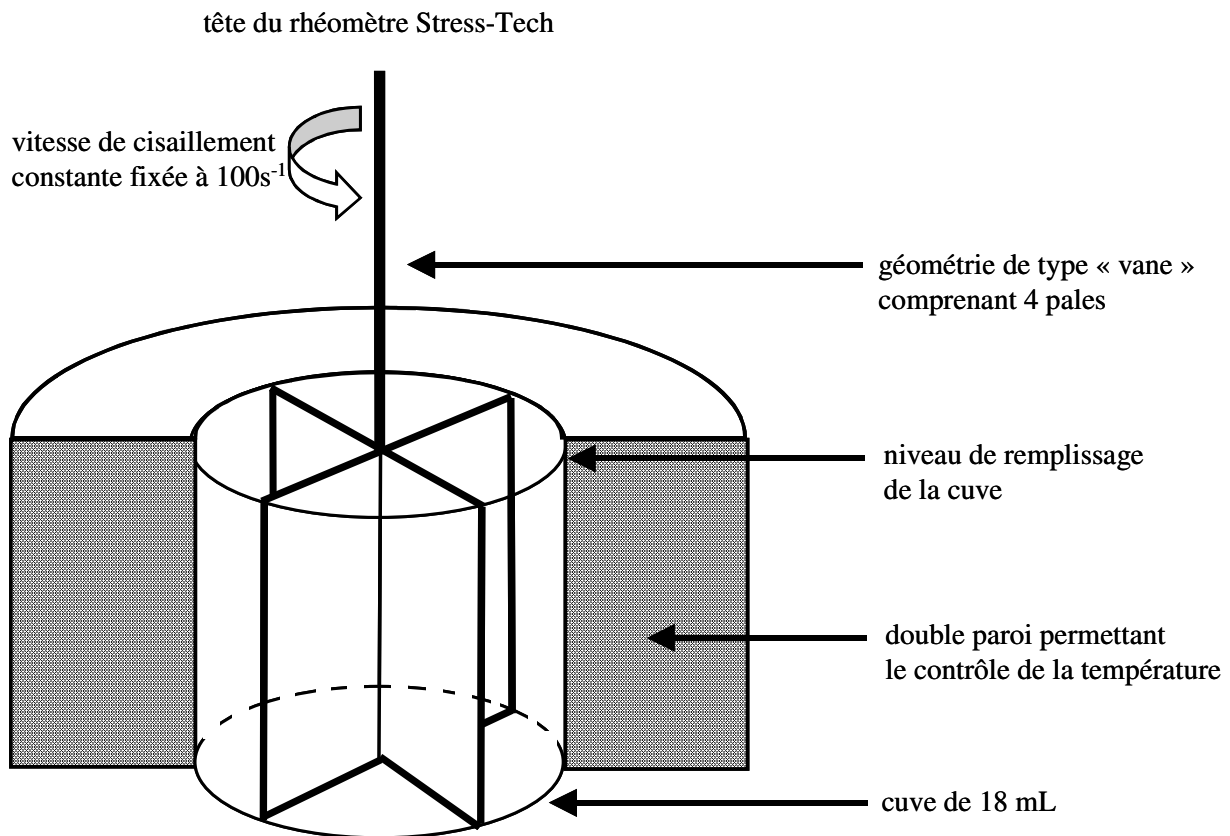


Figure 37 : Schéma représentant le système vane intégré au rhéomètre Stress Tech

#### 2.4.2.2 Mode opératoire

La viscosité du mélange est suivie pendant 60 000 secondes dans 18 mL d'eau distillée. La quantité de poudre versée est calculée en pourcentage de MAT ; les mesures sont effectuées à 5% de MAT. Le système est thermostaté à 24°C. La vitesse de cisaillement est fixée à  $100\text{ s}^{-1}$  et reste constante tout au long des mesures. Pendant les 60 premières secondes, l'appareil fonctionne sur de l'eau distillée, ceci permet une stabilisation des valeurs de viscosité sur la solution de réhydratation. Au bout d'une minute, la poudre est versée en totalité dans la cuve. Tous les résultats présentés correspondent à la moyenne de 3 expérimentations au moins. La géométrie vane a été vendue avec ses propres constantes (tableau 11).

Tableau 11 : Constantes données par le fournisseur pour l'étalonnage de la géométrie vane

Coefficient de contrainte (Pa/Nm)	41712
Coefficient de déformation (1/s/rad)	1,175
Inertie ( $\text{kg.m}^x.\text{m}$ )	$1,884.10^{-6}$
Intervalle (mm)	2
Volume d'échantillon (ml)	18

## 2.4.2.3 Etalonnage et validation du système vane

La qualité de l'étalonnage est contrôlée grâce à des solutions étalons de viscosité connue (**tableau 12**). Les étalons utilisés sont calibrés sur 5,02 ; 9,88 et 49,70 mPa.s (Brookfields Standard de viscosité, Middleboro, U.S.A.). Les viscosités obtenues ne sont pas significativement différentes des viscosités données pour les 3 solutions étalons pour les deux types de géométrie testés (Paired T-test de Kyplot).

**Tableau 12 : Etalons de viscosité (moyenne de 4 déterminations  $\pm \sigma$ ).**

viscosité solution étalon (mPa.s)	viscosité cône/plan (mPa.s)	viscosité vane (mPa.s)
5,02 <sup>a</sup>	4,98 <sup>a</sup> $\pm$ 0,11	5,03 <sup>a</sup> $\pm$ 0,10
9,88 <sup>b</sup>	9,82 <sup>b</sup> $\pm$ 0,02	10,26 <sup>b</sup> $\pm$ 0,22
49,70 <sup>c</sup>	48,49 <sup>c</sup> $\pm$ 0,95	50,33 <sup>c</sup> $\pm$ 0,74

<sup>a, b, c</sup> : une même lettre signifie que les valeurs ne sont pas significativement différentes entre elles ( $P < 0,01$ ).

Les valeurs de viscosité obtenues sur des solutions de PPCN G réhydratées avec la géométrie cône/plan et la géométrie vane ont également été comparées. Les viscosités du PPCN G à 2, 5, 8, 10 et 12% de MAT et à 15, 24 et 55°C sont présentées sur la **figure 38**. Pour la poudre réhydratée à 24°C et à 5% de MAT (conditions de réhydratation classique), la viscosité obtenue après 24 heures de réhydratation avec le module vane est proche de la viscosité obtenue avec le module cône/plan. Les valeurs de viscosité sont respectivement de 4,1 et 3,7 mPa.s. La comparaison des valeurs entre la géométrie cône/plan et la géométrie vane nous permet de valider les valeurs de viscosité reportées dans la thèse. De plus, le comportement de ces solutions protéiques totalement réhydratées est newtonien dans les gammes étudiées en accord avec Bourriot *et al.* (1999).



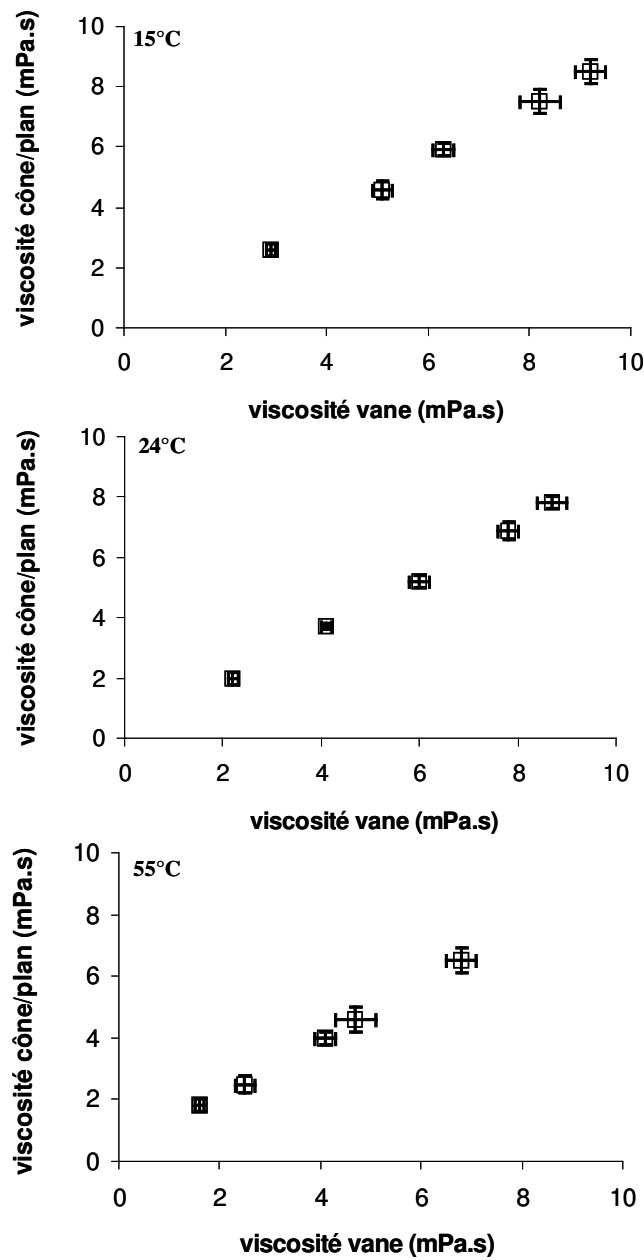


Figure 38 : Viscosités obtenues pour du PPCN à 2, 5, 8, 10 et 12% de MAT ; à 15, 24 et 55°C avec la géométrie cône/plan et la géométrie vane (moyenne de 4 déterminations  $\pm \sigma$ )

### 2.4.3 Obtention des cinétiques de réhydratation avec le réacteur instrumenté

#### 2.4.3.1 Le montage expérimental

L'ensemble du montage expérimental est représenté sur la **figure 39**. Le réacteur instrumenté comprend une cuve à double paroi et un module d'agitation (**figure 40**). Le module d'agitation (Lightin Labmaster Mixer, Axflow, France) est composé de 6 pales (R

100 impeller ; 8 cm diamètre). L'acquisition des données est réalisée à l'aide d'un data logger (Almemo 8990-8V<sub>5</sub>, Ahlborn, Holzkirchen, Allemagne). L'ordinateur relié au data logger utilise le logiciel AMRWinControl pour centrale Almemo. Ce réacteur est instrumenté et comprend un certain nombre de sondes : turbidité, conductivité et pH.



Figure 39 : Vu d'ensemble du montage expérimental permettant le suivi de la réhydratation

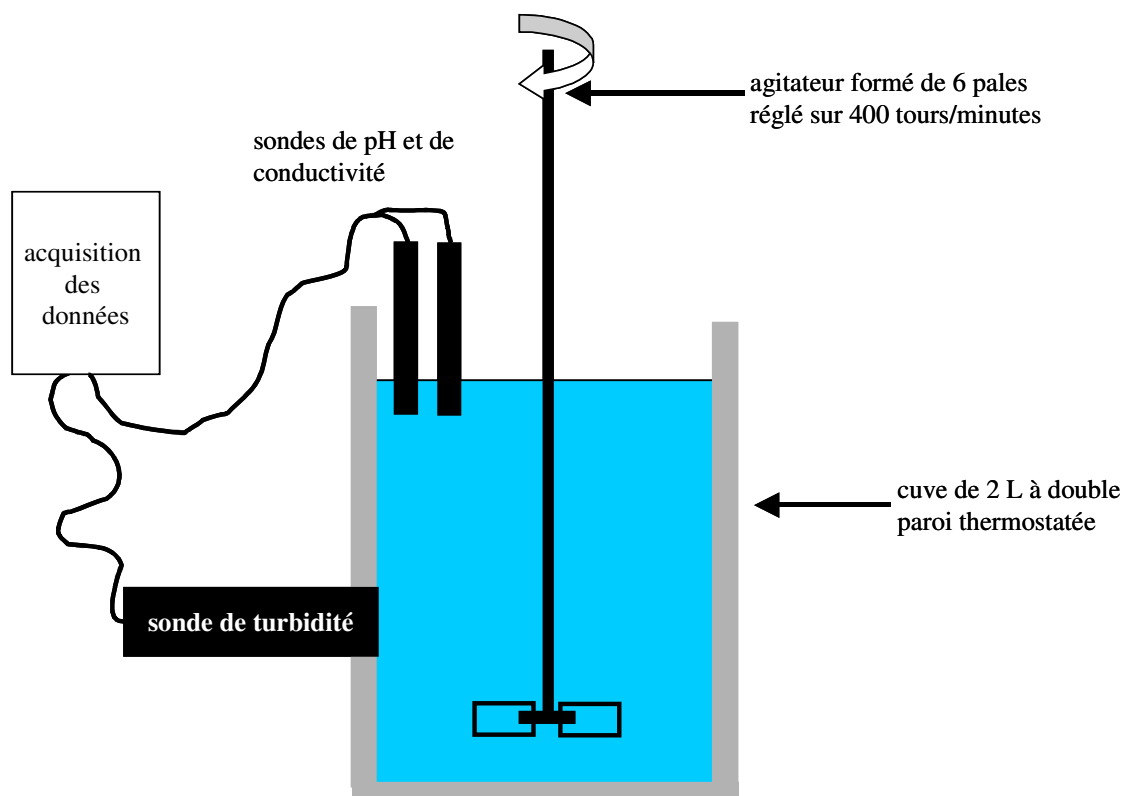


Figure 40 : Schéma du réacteur comprenant les sondes de turbidité, de conductivité et de pH

#### 2.4.3.2 Mode opératoire

La réhydratation est suivie dans une cuve contenant 2 L d'eau distillée. La quantité de poudre versée est calculée en pourcentage de MAT ; les analyses sont effectuées à 5% de MAT. Le système est thermostaté à 24°C et la vitesse d'agitation est fixée à 400 tours par

minutes et reste constante tout au long des mesures. Pendant les 60 premières secondes, les mesures se font sur de l'eau distillée, ceci permet une stabilisation des trois capteurs sur la solution de réhydratation. Au bout d'une minute, la poudre est versée d'un seul coup dans la cuve. Les données sont collectées automatiquement toutes les secondes pendant les 1000 premières secondes puis toutes les 5 secondes. Tous les résultats présentés correspondent au moins à trois expérimentations.

#### 2.4.3.3 Les sondes

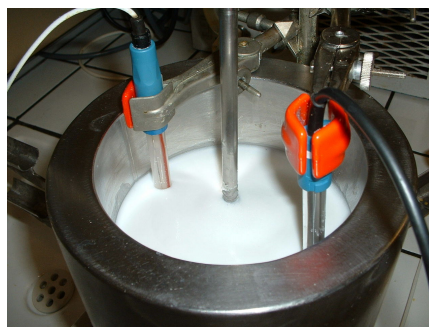
- Sonde de turbidité

La sonde de turbidité (Analyte NEP 160 Mc Van Instruments, Mulgrave, Australie) est placée perpendiculairement à la cuve à travers la double paroi et affleure la suspension. Son diamètre étant important, une introduction horizontale à travers la paroi plutôt que verticale en haut de cuve permet d'éviter la création de turbulences en cours de réhydratation.

La mesure est basée sur la réflexion d'un rayonnement monochromatique dans le proche IR. Le rayon incident (860 nm) transmis dans la dispersion par l'intermédiaire de fibres optiques est réfléchi par les particules en suspension. Le rayonnement réfléchi à 180° est capté par un second réseau de fibres optiques jusqu'à un récepteur électronique amplifiant le signal. Le signal reçu est enfin transformé en unité néphélométrique de turbidité (NTU).

- Sonde de conductivité

Les mesures de conductivité sont effectuées à l'aide d'un conductimètre CDM 210 et d'une sonde de conductivité CDC749 à 2 pôles platinés de diamètre 4 mm (Radiometer Analytical, France). La sonde est placée verticalement en haut de la cuve (**figure 41**).



**Figure 41 : Cuve comprenant les sondes de pH et de conductivité**

Le principe de fonctionnement est simple. La résistance (R) de solution est calculée à partir de la loi d'Ohm :

$$R = V / I, \text{ en (ohms)}$$

- avec V correspondant à la tension (Volts) et I au courant (Ampères).

La conductance (G) est définie comme étant l'inverse de la résistance entre deux électrodes :

$$G = 1 / R, \text{ en (S)}$$

La constante de cellule (K) correspond au rapport de la distance (d) entre les électrodes sur la surface des électrodes (a) :

$$K = d / a, \text{ en (cm}^{-1}\text{)}$$

- avec a correspondant à la surface réelle des électrodes (cm<sup>2</sup>) et d à la distance entre les électrodes (cm).

Les ions en solution conduisant l'électricité, la conductivité ( $\kappa$ ) représente donc la capacité d'une solution à faire passer du courant.

$$\kappa = G \times K, \text{ en (S/cm)}$$

- Sonde de pH

Les cinétiques de pH sont réalisées avec un pH-mètre 210 (Radiometer Analytical SAS, France) muni d'une électrode de pH adaptée aux produits laitiers (pHC3101). La sonde est placée verticalement en haut de cuve (**figure 41**).

La mesure de pH fait intervenir deux électrodes : l'électrode de verre et l'électrode de référence. Ici, ces deux électrodes sont regroupées dans un même corps et donnent naissance à une seule électrode appelée électrode combinée. Lorsqu'elle est plongée dans la solution, une pile galvanique va se créer. Le potentiel de l'électrode de référence reste constant alors que le potentiel de l'électrode de verre va varier en fonction des variations de pH de la solution à mesurer. La différence de potentiel mesurée est définie par la Loi de Nernst.

Le pH étant défini par la relation  $\text{pH} = -\log a_{\text{H}^+}$ , la valeur de pH à une température T, peut être exprimée comme suit :

$$\text{pH}_T = \text{pH}_T^0 - (E / R' \times S \times T)$$

avec :  $R' = \text{constante} = 0,1984 \text{ mV/K}$ .

S = pente (relative), un facteur de correction qui prend en compte la différence de réponse entre l'électrode utilisée et la valeur théorique (pente mesurée divisée par pente théorique).

$\text{pH}^0$  = le zéro pH qui correspond à la valeur de pH pour laquelle le potentiel mesuré est 0 mV.

## 2.4.3.4 Etalonnage et validation de la sonde de turbidité

- Linéarité de la réponse du turbidimètre pour des suspensions peu concentrées (gamme 0 – 4000 NTU)

Des solutions de formazine sont utilisées pour étalonner le turbidimètre. Elles sont préparées à partir d'un mélange de sulfate d'hydrazine et d'hexa-méthylène-tetramine. Ce mélange correspond à une turbidité de 4000 NTU, il sera ensuite au besoin dilué dans de l'eau microfiltrée pour obtenir une gamme étalon (EPA guidance manual, turbidity standard method, 1999). Des mesures sont menées pour observer la linéarité du turbidimètre sur ces solutions. Plusieurs suspensions de formazine sont préparées à des concentrations variables permettant de couvrir la gamme 0 – 4000 NTU de l'appareil (**figure 42**).

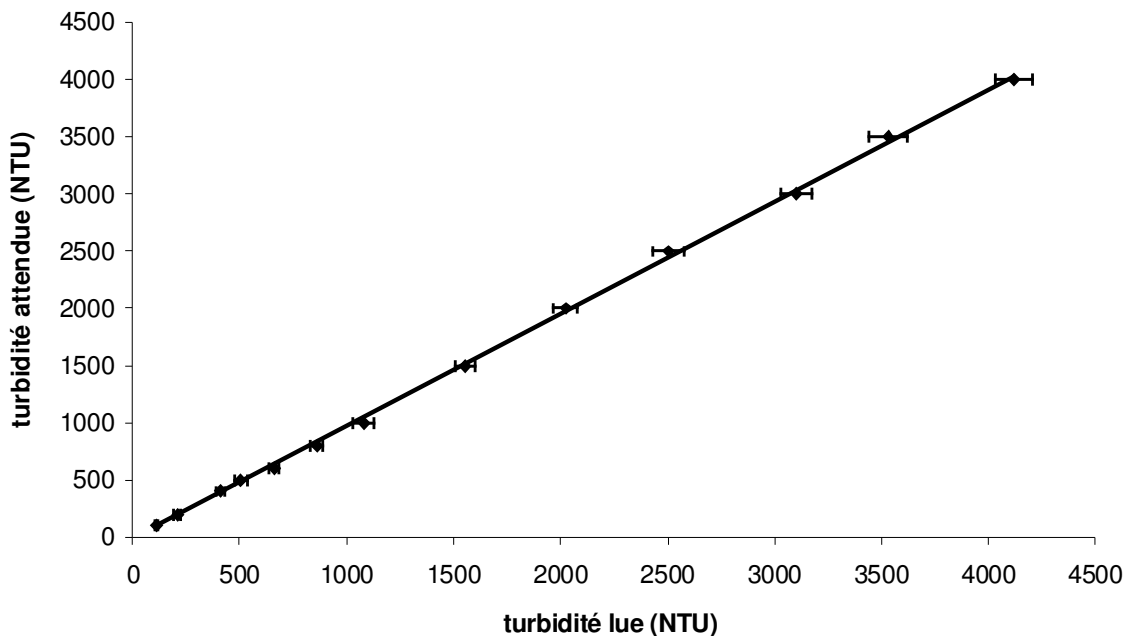
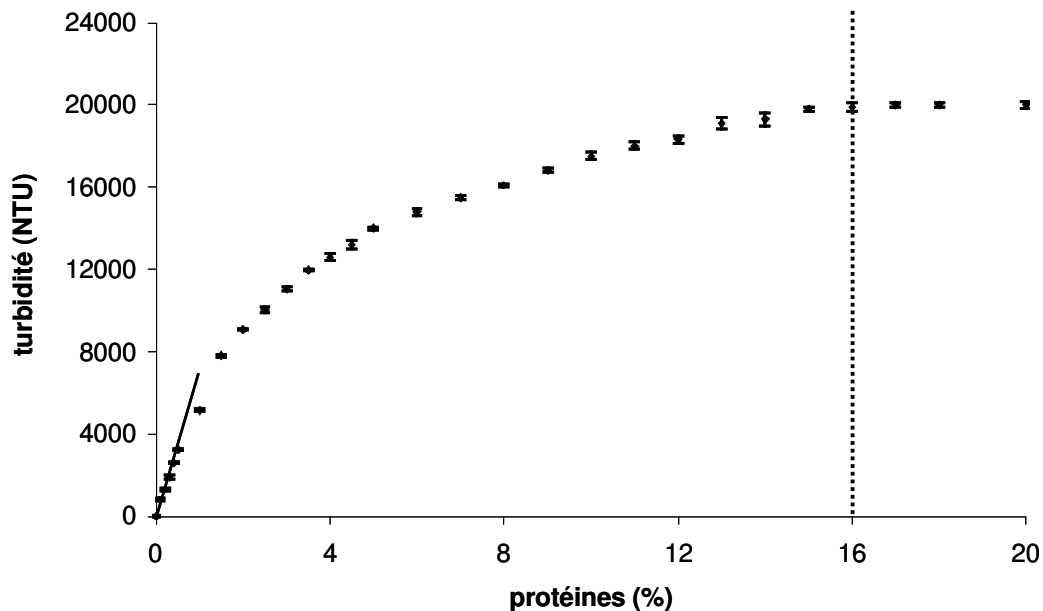


Figure 42 : Comparaison entre la turbidité mesurée et attendue pour différentes suspensions de formazine (moyenne de 3 déterminations  $\pm \sigma$ )

Il apparaît une linéarité entre la turbidité attendue et lue ( $R^2 = 0,99$ ). Les valeurs de turbidité lues sont systématiquement légèrement supérieures aux valeurs attendues mais les différences ne sont pas significatives (Paired T-test de Kyplot).

- Linéarité de la réponse du turbidimètre pour des suspensions plus concentrées (> 4000 NTU)

La sonde de turbidité est utilisable sur la gamme 0 – 20 000 NTU. Or, au dessus de 4000 NTU, il n'existe plus de solution étalon disponible sur le marché. Si l'on suit la turbidité d'une solution de PPCN contenant des pourcentages en protéine croissants, on constate qu'au dessus de 4000 NTU, l'évolution de la turbidité n'est plus linéaire. Sur la **figure 43**, la relation entre la turbidité et le pourcentage en protéine n'est plus linéaire mais logarithmique et du type :  $y = 4920 \times \ln(x) + 5970$  avec un  $R^2 > 0,99$ . Au dessus de 16% de protéines la valeur de turbidité de la solution réhydratée atteint 20 000 NTU, valeur de saturation de la sonde. Au dessus de cette concentration, les valeurs ne sont donc plus dans la gamme de validité.



**Figure 43 : Relation entre la valeur de turbidité et le pourcentage en protéines dans des solutions contenant du PPCN G réhydraté à 24°C**

- Dérive au cours du temps de la réponse du turbidimètre

La formazine, de par ses contraintes d'utilisation (temps de préparation long et durée de conservation des solutions très courte), ne permet pas un étalonnage quotidien de la sonde. Pour cette raison, une évaluation de la dérive du signal de turbidité au cours du temps a été estimée pour évaluer le temps au bout duquel il est nécessaire de refaire l'étalonnage. Les valeurs de turbidité sur des solutions fraîches de formazine sans refaire l'étalonnage de l'appareil sont comparées au cours du temps sur la **figure 44**. Au bout de 10 jours, la turbidité

commence à dévier des valeurs initiales. La dérive est ensuite de plus en plus importante au cours du temps. L'étalonnage de l'appareil a donc été fixé systématiquement tous les 6 jours.

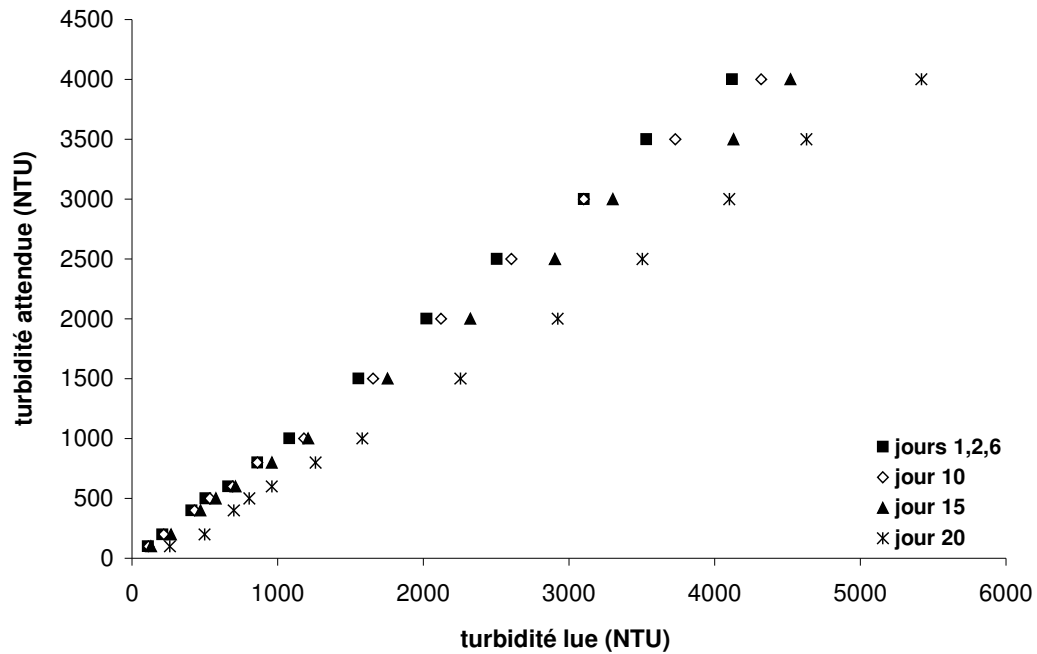


Figure 44 : Comparaisons des turbidités mesurées et attendues par différentes séries de suspension de formazine au cours du temps

#### 2.4.3.5 Etalonnage et validation des sondes de pH et de conductivité

La sonde de pH est étalonnée tous les jours sur deux solutions étalons de pH 4,6 et 7. La constante de cellule de la sonde de conductivité est vérifiée une fois par semaine avec une solution étalon de NaCl à 0,05%. Toutefois elle est restée constante pendant toute la durée de la thèse.

### **3 Analyse statistique des données**

Le traitement statistique des données est réalisé à l'aide du logiciel KyPlot version 2.0. Les comparaisons entre les poudres sont réalisées avec un test multiparamétrique. Le niveau de signification est : \*\*\*  $P < 0,001$  ; \*\*  $P < 0,01$  ; \*  $P < 0,05$  et <sup>NS</sup> $P > 0,05$ .



## **Résultats et Discussion**



## 1 Composition des poudres étudiées

L'ensemble des poudres a été analysé d'un point de vue physico-chimique. Il est notamment important de vérifier que la granulométrie et les masses volumiques aérées et tassées des particules sont comparables pour des poudres de composition biochimique différente afin de minimiser l'influence des paramètres physiques sur le processus de réhydratation.

### 1.1 Les poudres de phosphocaséinate natif

#### 1.1.1 Composition chimique

La composition chimique des poudres fabriquées à partir de phosphocaséinate natif est reportée dans le **tableau 13**.

Le PPCN contient environ 84 g de caséines pour 100 g de poudre. Dans cette poudre, des traces de protéines solubles, de lipides et de lactose sont également retrouvées. Le pourcentage de cendres est élevé ; ceci est dû à la présence de minéraux colloïdaux.

Par rapport au PPCN, le (PPCN + LAC) est une poudre enrichie en lactose à 22%. Par conséquent, cette poudre est appauvrie en protéines. Le (PPCN + PUF) contient également environ 22% de lactose. Cette poudre se différencie du (PPCN + LAC) par la présence de minéraux solubles du lait apportés par le perméat d'ultrafiltration. Le pourcentage de lipides est à peu près constant dans toutes les poudres.

**Tableau 13 : Composition chimique des poudres de phosphocaséinate natif (g.100g<sup>-1</sup>)**

nature des poudres <sup>1</sup>	mode d'incorporation <sup>2</sup>	composition (g.100g <sup>-1</sup> )					
		caséines	protéines solubles	lipides	lactose	cendres	eau
PPCN G	-	83,8	3,1	0,3	0,4	7,6	4,8
(PPCN + LAC) G	CS	65,8	1,2	0,4	22,2	5,6	4,8
(PPCN + PUF) G	CS	65,6	1,5	0,4	21,7	6,5	4,3
PPCN G + PUF G	MAS	65,1	1,8	nd <sup>3</sup>	21,8	6,6	4,3
PPCN NG	-	83,3	3,4	0,3	0,4	7,2	5,4
(PPCN + LAC) NG	CS	65,3	1,0	0,4	22,1	5,8	5,4
(PPCN + PUF) NG	CS	65,1	1,2	0,4	21,3	6,9	5,1
PPCN NG + PUF NG	MAS	64,7	1,4	nd <sup>3</sup>	21,7	6,7	5,1

<sup>1</sup> G : granulé ; LAC : lactose ; NG : non granulé ; PPCN: phosphocaséinate natif ; PUF : perméat d'ultrafiltration.

<sup>2</sup> CS : co-séchage ; MAS : mélange à sec.

<sup>3</sup> nd : non déterminé.

Chaque poudre mélangée à sec (MAS) est préparée de façon à obtenir une composition chimique globale voisine de celle de son homologue co-séchée.

Le pourcentage en eau est la seule différence significative dans la composition des poudres granulées et non granulées fabriquées à partir du même concentré. En effet, les poudres granulées comprennent systématiquement moins d'eau car elles ont un temps de séjour dans la tour de séchage plus long.

### 1.1.2 Propriétés physiques

Le **tableau 14** présente certaines propriétés physiques des poudres déterminées par Hosokawa et granulométrie. Les poudres granulées ont des masses volumiques aérées et tassées moyennes respectivement de 337 et 371 kg.m<sup>-3</sup> et une taille d'environ 266 µm. Pour les poudres non granulées, les masses volumiques aérées et tassées moyennes sont de 246 et de 323 kg.m<sup>-3</sup> et la taille des particules est d'environ 49 µm. De plus, les poudres granulées présentent plus d'air occlus que les non granulées. La présence de lactose ou de perméat a également pour conséquence de diminuer ce pourcentage.

Les paramètres de séchage ont été choisis pour obtenir des poudres présentant des propriétés physiques similaires. C'est effectivement le cas. Globalement, les poudres granulées et non granulées ont des propriétés physiques similaires tout en présentant des compositions protéiques différentes ; les poudres étant plus ou moins riches en caséines, protéines solubles, lactose et/ou minéraux. Les propriétés physiques des poudres influent fortement sur la réhydratation, c'est pourquoi, il est important de comparer des poudres aux propriétés physiques similaires pour que seule la composition chimique influe sur la réhydratation.

**Tableau 14 : Propriétés physiques des poudres de phosphocaséinate natif**

nature des poudres <sup>1</sup>	mode d'incorporation <sup>2</sup>	propriétés physiques			
		air occlus (%)	masse volumique aérée (kg.m <sup>-3</sup> )	masse volumique tassée (kg.m <sup>-3</sup> )	taille (µm)
PPCN G	-	21,2	340	395	285
(PPCN + LAC) G	CS	20,5	340	368	248
(PPCN + PUF) G	CS	18,1	333	351	253
PPCN G + PUF G	MAS	nd <sup>3</sup>	nd <sup>3</sup>	nd <sup>3</sup>	277
PPCN NG	-	14,3	238	329	46,8
(PPCN + LAC) NG	CS	7,7	249	321	51,2
(PPCN + PUF) NG	CS	6,6	252	320	49,5
PPCN NG + PUF NG	MAS	nd <sup>3</sup>	nd <sup>3</sup>	nd <sup>3</sup>	48,0

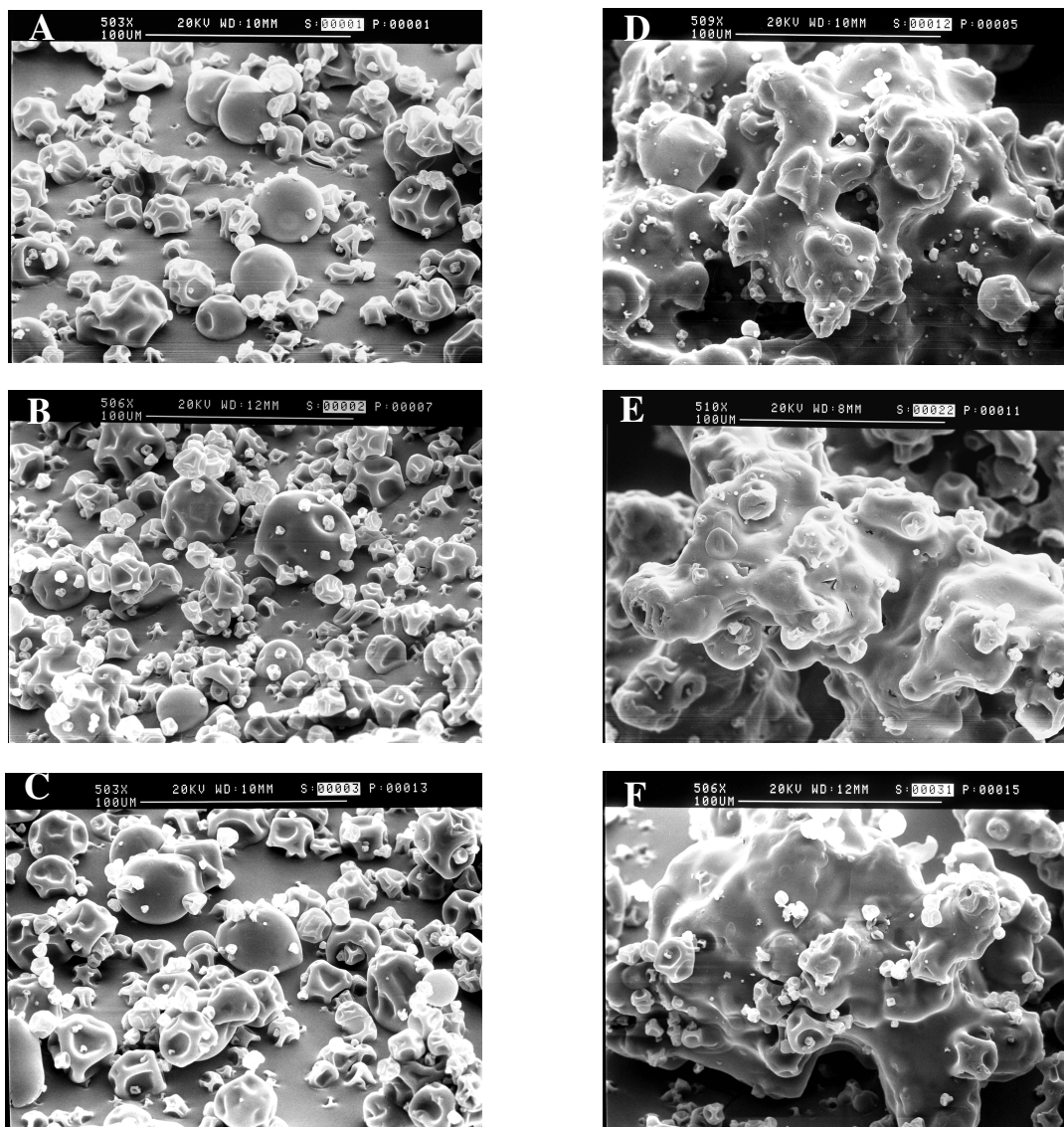
<sup>1</sup> G : granulé ; LAC : lactose ; NG : non granulé ; PPCN: phosphocaséinate natif ; PUF : perméat d'ultrafiltration.

<sup>2</sup> CS : co-séchage ; MAS : mélange à sec.

<sup>3</sup> nd : non déterminé.

### 1.1.3 Microstructure

Les poudres sont caractérisées par microscopie électronique à balayage sur la **figure 45**. Les particules non granulées présentent une hétérogénéité de taille. Les plus larges particules ont un diamètre d'environ 50  $\mu\text{m}$  pouvant expliquer les tailles obtenues par granulométrie (répartition de taille en volume). Une comparaison des poudres ne permet pas de voir de différences nettes en fonction de leur composition biochimique. La surface des six poudres étudiées apparaît donc semblable.



**Figure 45 :** Microscopie électronique à balayage des poudres (x 500) ; A : PPCN NG, B : (PPCN + LAC) NG, C : (PPCN + PUF) NG, D : PPCN G, E : (PPCN + LAC) G et F : (PPCN + PUF) G

## 1.2 Les poudres de protéines sériques

### 1.2.1 Composition chimique et propriétés physiques

La composition chimique des poudres de PS est présentée dans le **tableau 15**. Les PS 90 sont riches en protéines solubles ( $\approx 88\%$ ) et contiennent des traces de caséines, de lactose et de lipides ainsi que des minéraux (cendres). La composition globale des poudres n'est pas significativement influencée par la dénaturation thermique. Les PS 70 sont plus ou moins enrichies en lactose, par conséquent elles contiennent moins de protéines ( $\approx 70\%$ ) et plus de lactose (entre 13 et 18,4%).

Les différences de composition observées entre poudres granulées et non granulées sont principalement dues au séchage et concernent le pourcentage en eau.

**Tableau 15 : Composition chimique des poudres de protéines solubles (g.100g<sup>-1</sup>)**

% de MAT <sup>1</sup>	traitement thermique <sup>2</sup>	granulation <sup>3</sup>	composition (g.100g <sup>-1</sup> )				
			protéines		lactose	cendres	eau
			protéines totales	protéines solubles			
90	-	G	89,6	88,9	2,2	2,3	2,3
	TTL - TTP	G	90,3	89,4	2,0	2,0	3,2
	TTP	G	90,5	88,9	1,7	1,7	1,9
	TTL	G	89,7	88,9	1,6	1,6	3,7
	-	NG	87,8	87,1	2,1	2,1	4,5
	TTL - TTP	NG	87,9	87,0	1,5	1,5	5,1
	TTP	NG	87,8	86,9	2,0	2,0	5,0
	TTL	NG	87,2	86,6	1,9	1,9	6,1
	70	-	G	70,7	69,4	16,6	3,3
TTL - TTP		G	71,8	70,5	15,6	3,5	3,3
TTP		G	72,1	70,8	15,0	3,4	3,3
TTL		G	71,6	70,3	14,6	3,4	3,9
-		NG	70,4	69,3	15,7	3,3	5,7
TTL - TTP		NG	71,3	70,1	18,4	3,4	4,5
TTP		NG	71,9	70,7	16,1	3,3	4,8
TTL		NG	72,1	70,1	13,3	3,4	5,3

<sup>1</sup> MAT : matière azotée totale.

<sup>2</sup> TTL : traitement thermique du liquide ; TTP : traitement thermique de la poudre.

<sup>3</sup> G : granulé ; NG : non granulé.

Les propriétés physiques des poudres non traitées thermiquement sont présentées dans le **tableau 16**. Les masses volumiques des poudres contenant du lactose sont supérieures pour une granulation comparable. Les tailles des particules sont d'environ 247  $\mu\text{m}$  pour les poudres granulées et de 45  $\mu\text{m}$  pour les poudres non granulées.

Tableau 16 : Propriétés physiques des poudres de protéines solubles

nature des poudres <sup>1</sup>	granulation <sup>2</sup>	propriétés physiques		
		masse volumique aérée (kg.m <sup>-3</sup> )	masse volumique tassée (kg.m <sup>-3</sup> )	taille (µm)
PS 90	G	352	405	244
PS 90	NG	235	374	44,2
PS 70	G	385	442	251
PS 70	NG	277	391	46,1

<sup>1</sup> PS : protéines solubles.

<sup>2</sup> G : granulé ; NG : non granulé.

### 1.2.2 Microstructure

La microstructure de 8 poudres de PS est caractérisée par microscopie électronique à balayage (figure 46).

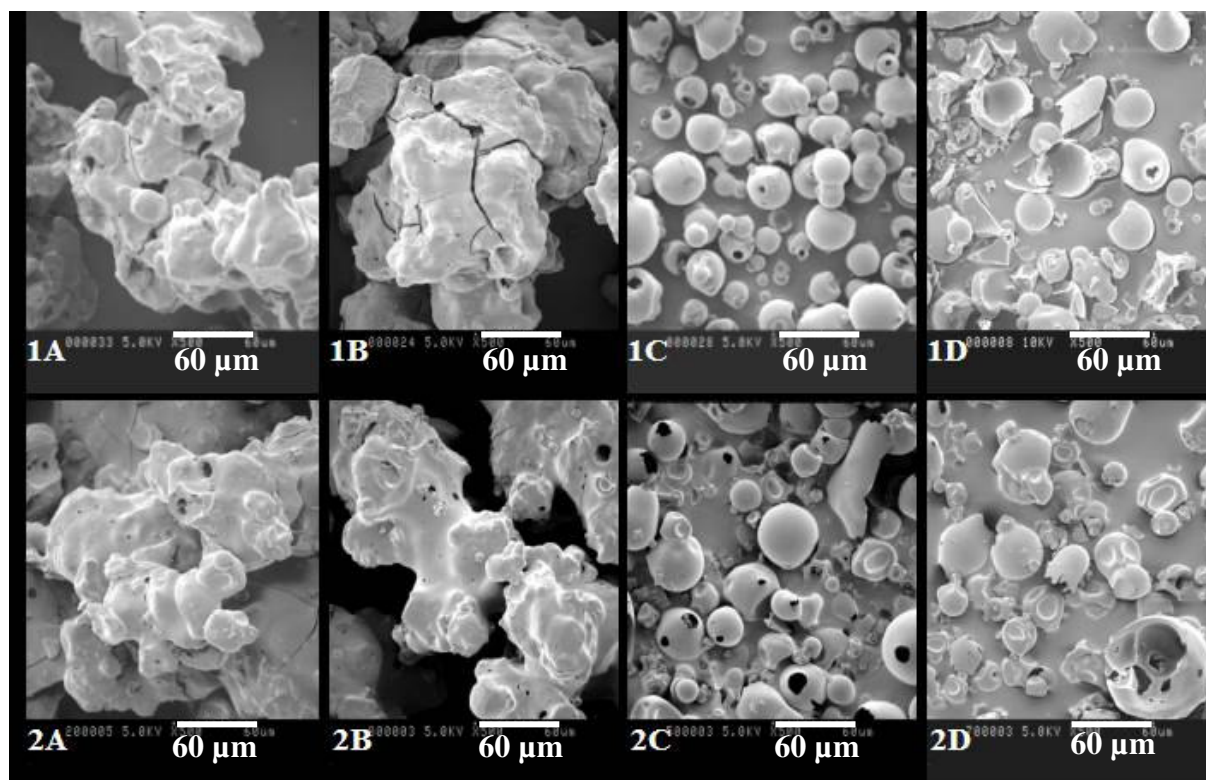


Figure 46 : Microscopie électronique à balayage des poudres de protéines solubles (x 500)

1 : poudres de PS 90 et 2 : poudres de PS 70

A : poudres granulées non traitée thermiquement, B : poudres granulées TTL-TTP, C : poudres non granulées non traitées thermiquement et D : poudres non granulées TTL-TTP

On remarque une hétérogénéité de la taille des particules non granulées. La taille moyenne des plus grosses particules semble correspondre à la taille trouvée par granulométrie laser soit environ 45 µm (**tableau 16**).

Le traitement thermique semble également influencer la surface des particules de PS 90. En effet, les poudres de PS 90 granulées traitées thermiquement présentent de nombreuses fissures en surface par rapport à la surface des PS 90 natives. Les particules de PS 90 non granulées traitées thermiquement présentent un aspect plus déstructuré. Par contre, la microstructure des PS 70 traitées thermiquement ne semble pas différente de celle des PS 70 natives.

### 1.3 Les mélanges de phosphocaséinate natif et de protéines solubles

#### 1.3.1 Composition chimique et propriétés physiques

Le **tableau 17** présente la composition chimique des poudres de (PPCN + PS). Les mélanges de caséines et de protéines solubles non traités thermiquement contiennent environ 70% de caséine et 18% de protéines solubles (proche du rapport protéique du lait). Les mélanges à sec de PPCN et de PS sont préparés afin d'obtenir un rapport proche de celui obtenu pour les poudres co-séchées. Les dosages semblent indiquer que les mélanges traités thermiquement contiennent plus de caséines ; le pourcentage de caséines comprenant la caséine associée aux PS dénaturées.

**Tableau 17 : Composition chimique des mélanges de phosphocaséinate natif et de protéines solubles en (g.100g<sup>-1</sup>)**

poudres <sup>1</sup>	mode d'incorporation <sup>2</sup>	composition (g.100g <sup>-1</sup> )					
		protéines		lactose	cendres	lipides	eau
caséines <sup>3</sup>	protéines solubles <sup>4</sup>						
(PPCN + PS) G	CS	70,4	19,3	0,3	5,9	0,2	3,9
(PPCN + PS) NG	CS	70,0	17,4	0,3	6,0	0,2	4,7
PPCN G + PS G	MAS	68,6	19,0	nd <sup>5</sup>	6,9	nd <sup>5</sup>	4,3
PPCN NG + PS NG	MAS	67,9	19,2	nd <sup>5</sup>	6,9	nd <sup>5</sup>	5,1
PPCN + (PS TTL) G	CS	74,9	15	0,3	5,6	0,1	4,1
PPCN + (PS TTL) NG	CS	75,4	15,3	0,4	5,8	0,2	4,5
(PPCN + PS) TTL G	CS	78,1	13,1	0,4	5,7	0,2	3,7
(PPCN + PS) TTL NG	CS	77,2	13,1	0,3	5,5	0,2	3,4

<sup>1</sup> G : granulé ; NG : non granulé ; PPCN : phosphocaséinate natif ; PS : protéines solubles ; TTL : traitement thermique du liquide.

<sup>2</sup> CS : co-séchage ; MAS : mélange à sec.

<sup>3</sup> caséine + protéines solubles dénaturées.

<sup>4</sup> protéines solubles non dénaturées.

<sup>5</sup> non déterminé.



Sur le **tableau 18**, les propriétés physiques des poudres de (PPCN + PS) non traitées thermiquement sont présentées. Les tailles des particules granulées et non granulées sont comparables quel que soit le type de mélange, soit environ 267  $\mu\text{m}$  pour les premières et 50  $\mu\text{m}$  pour les deuxièmes.

**Tableau 18 : Propriétés physiques des poudres de phosphocasinat natif et de protéines solubles**

nature des poudres <sup>1</sup>	mode d'incorporation <sup>2</sup>	propriétés physiques		
		masse volumique aérée ( $\text{kg.m}^{-3}$ )	masse volumique tassée ( $\text{kg.m}^{-3}$ )	taille ( $\mu\text{m}$ )
(PPCN + PS) G	CS	341	415	275
(PPCN + PS) NG	CS	245	354	53,5
PPCN G + PS G	MAS	nd <sup>3</sup>	nd <sup>3</sup>	260
PPCN NG + PS NG	MAS	nd <sup>3</sup>	nd <sup>3</sup>	46,1

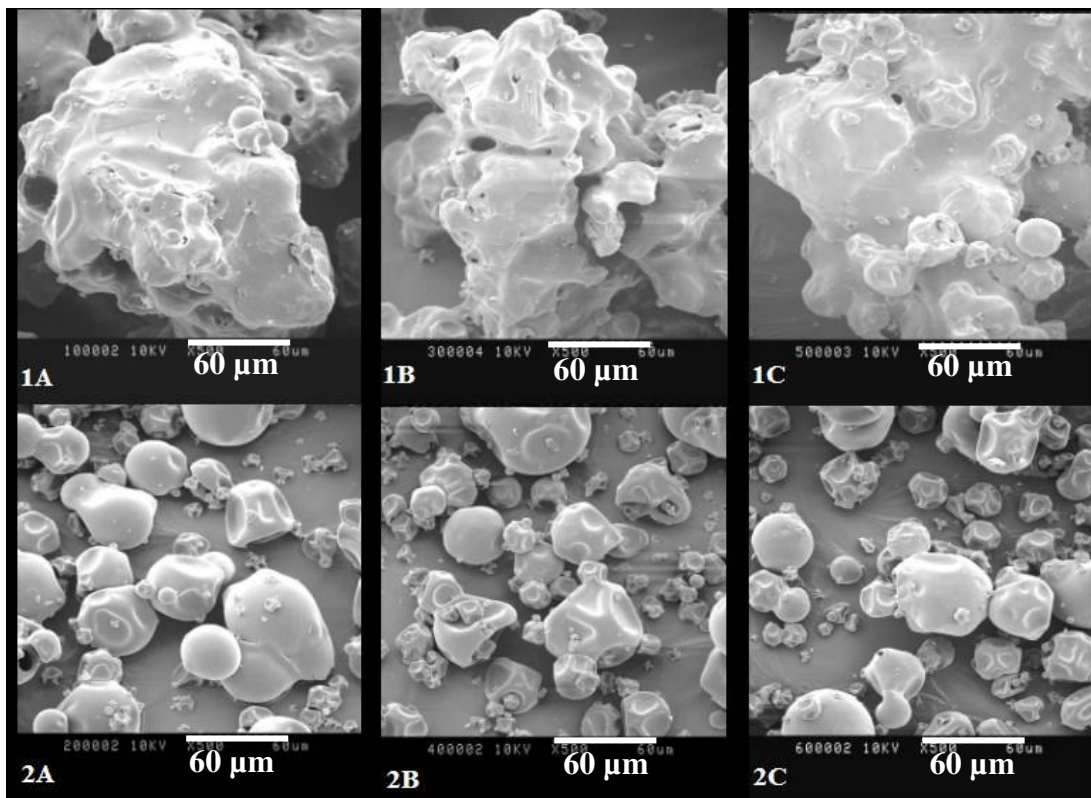
<sup>1</sup> G : granulé ; NG : non granulé ; PPCN : phosphocasinat natif ; PS : protéines solubles.

<sup>2</sup> CS : co-séchage ; MAS : mélange à sec.

<sup>3</sup> non déterminé.

### 1.3.2 Microstructure

La microstructure des poudres de (PPCN + PS) est semblable quel que soit le traitement thermique subi (**figure 47**). L'allure de ces poudres semble plus proche des poudres de PPCN que des poudres de PS.



**Figure 47 : Microscopie électronique à balayage des poudres de (PPCN + PS)(x 500)**

**1 : poudres de (PPCN + PS) G et 2 : poudres de (PPCN + PS) NG**

**A : (PPCN + PS), B : PPCN + (PS TTL), C : (PPCN + PS) TTL**



## 2 Étude cinétique de la réhydratation d'une poudre de phosphocaséinate natif

### 2.1 Mise au point d'une méthodologie permettant de suivre la réhydratation de poudres laitières par rhéologie

La première méthodologie mise au point permettant de suivre la réhydratation de poudres laitières utilise un rhéomètre de type Stress Tech de Rheologica équipé d'une géométrie de type vane. Cette géométrie est particulièrement bien adaptée aux suspensions particulières car elle permet de suivre la réhydratation d'une poudre dans sa totalité sans perdre les premières secondes. En effet, la poudre peut être versée directement dans la solution de réhydratation alors que l'acquisition des mesures est déjà lancée. Le même type de méthodologie a été développé pour étudier la dissolution de poudres d'hydrocolloïdes ou de gommes par Kravtchenko *et al.* (1999), puis par Wang *et al.* (2002 ; 2003 ; 2006) et Larsen *et al.* (2003). Allouche *et al.* (2003) ont développé quant à eux, un réacteur couplant viscosité et conductivité pour suivre des changements de phases dans des émulsions. Goldsazal et Bousquet (2001) ont étudié la viscosité d'une poudre en continu quand l'humidité augmente, pour évaluer les étapes du procédé d'agglomération. Cette géométrie (vane) présente également l'avantage de moins dénaturer la structure d'un produit que le système cône/plan. Elle est donc utilisée dans l'étude de yaourts ou encore de crèmes dessert (Parker et Vigouroux, 2003). Seule l'approche d'Ennis et Mulvihill (1998 ; 1999) se rapproche un peu de la nôtre, dans le sens où ils ont comparé des temps de réhydratation et des valeurs de viscosité pour le suivi de la réhydratation de caséine présure. Même si l'appareillage utilisé n'est pas original en soit, l'utilisation que nous en avons faite l'est dans le cadre de l'étude de la réhydratation.

#### 2.1.1 Profil de viscosité obtenu lors de la réhydratation d'une poudre de phosphocaséinate granulée

Le profil log-log de réhydratation du PPCN G à 5% de MAT et à 24°C est présenté sur la **figure 48**. La poudre est versée dans la cuve après 60 secondes pour permettre une stabilisation de la viscosité sur l'eau. Pendant ces 60 premières secondes, la viscosité de l'eau (1 mPa.s) doit normalement être obtenue. Or, cette viscosité est de 1,48 mPa.s au lieu de 1 mPa.s. Elle est surestimée par l'appareillage qui n'est pas assez sensible pour de si faibles viscosités, c'est pourquoi cette partie de la courbe est représentée en pointillés. Une fois la poudre versée, une augmentation rapide de la viscosité est observée (pic a) pour atteindre environ 12 mPa.s pendant les premières secondes de réhydratation. Ce pic est suivi par une

autre augmentation de viscosité beaucoup plus lente (pic b). Le maximum de ce pic b est obtenu après 1800 secondes de réhydratation. Ensuite, une lente diminution de la viscosité se produit correspondant à la phase c. En fin de profil, un fluide peu visqueux est obtenu et la valeur de viscosité se stabilise à 4,1 mPa.s après 48 000 secondes de réhydratation environ (phase d).

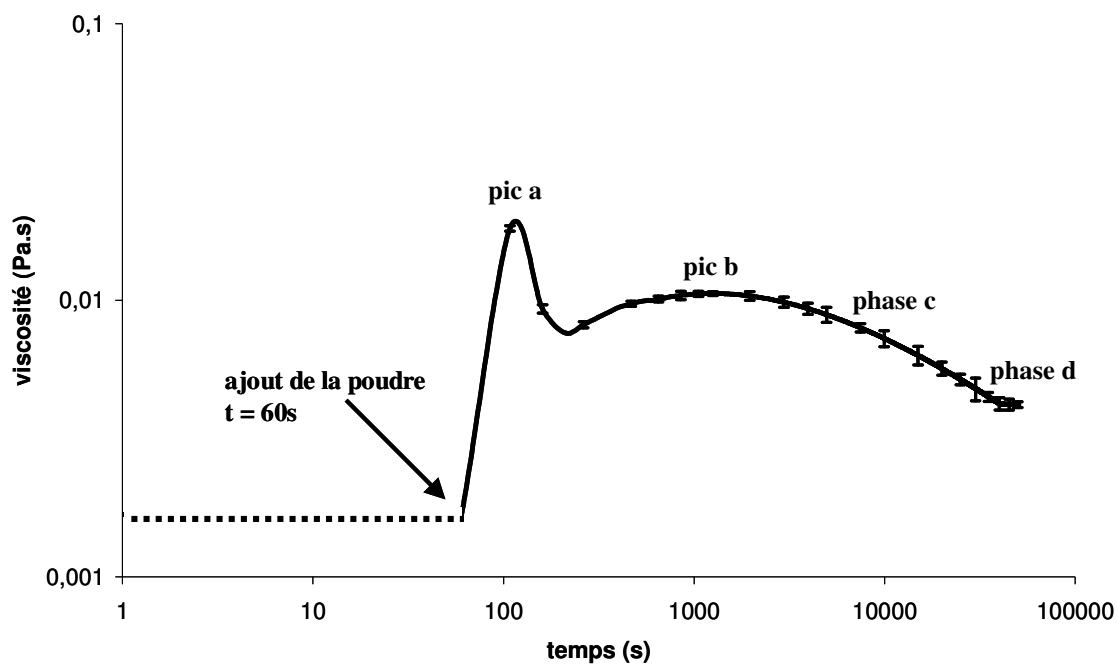


Figure 48 : Profil de viscosité obtenu lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 5% de MAT pendant 60 000 secondes et à 24°C (n=3)

## 2.1.2 Compréhension du profil de viscosité obtenu

### 2.1.2.1 Interprétation à partir des données granulométriques

Le profil de viscosité est couplé à des mesures granulométriques de la suspension protéique (**figure 49**) afin de relier les différentes étapes (pic a, pic b, phase c et phase d) observées sur le profil de viscosité (**figure 48**) à des étapes de réhydratation. Les écarts types de trois expériences sont représentés à certains temps aussi bien sur le profil de viscosité que sur le profil granulométrique.

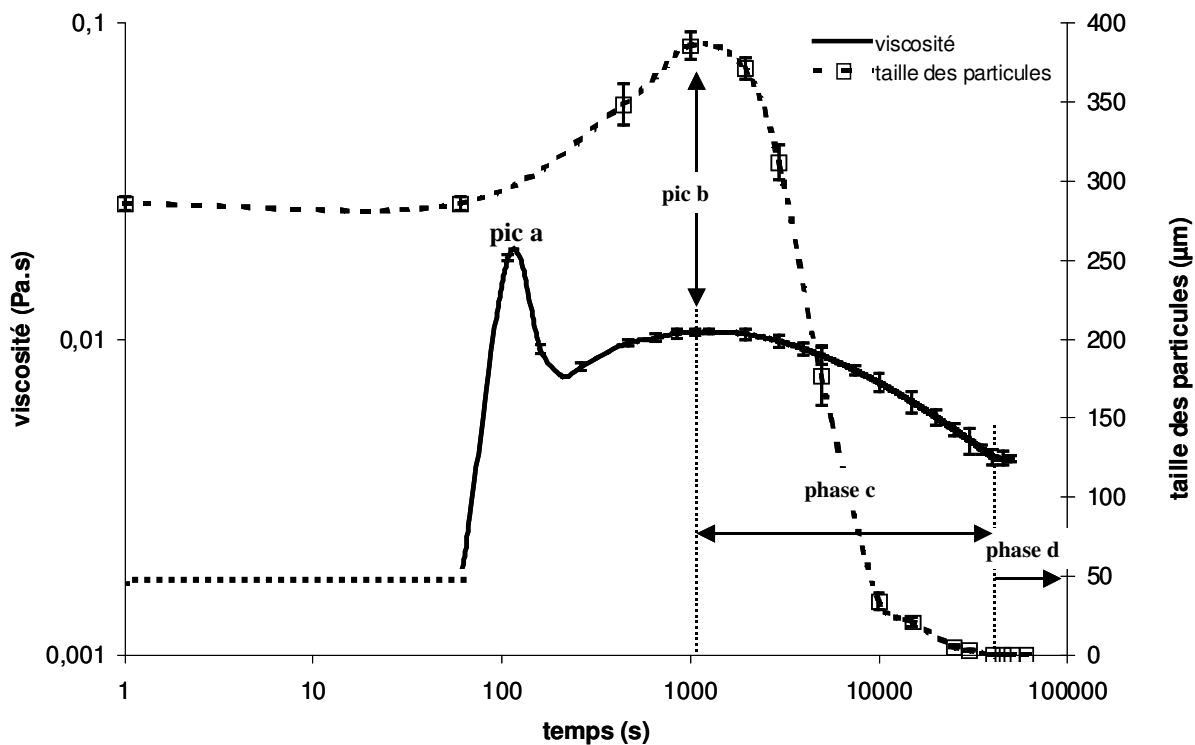


Figure 49 : Profil de viscosité et données granulométriques obtenus lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 5% de MAT pendant 60 000 secondes à 24°C (n=3)

**Pic a :** Ce premier pic est visuellement interprétable. Il correspond au moment où toutes les particules de poudre sont mouillées. Quand la poudre est versée, le signal de viscosité augmente puis quand toutes les particules à la surface de la cuve sont mouillées, il y a systématiquement apparition de ce pic. Ce pic pourrait donc correspondre au **mouillage** des particules.

**Pic b :** Le maximum du pic b en viscosité correspond à une taille des particules maximale par granulométrie. En effet, entre le moment où la poudre est versée et 1800 secondes environ, la taille des particules s'accroît progressivement de 286 μm à 387 μm. Une augmentation de viscosité a déjà été corrélée à un « gonflement » des particules pour des poudres d'amidon (Bean et Yamazaki, 1978 ; Shi et BeMiller, 2002). Davenel *et al.* (1997) ont, quant à eux, mis en évidence la capacité d'absorption d'eau d'une particule de PPCN en tout début de réhydratation par RMN. Le pic (b) semble donc coïncider avec une absorption d'eau par les particules qui se traduit par un accroissement de leur taille et donc un **gonflement** des particules.

**Phase c :** La phase c correspond à une diminution de la viscosité, cette diminution est systématiquement couplée à une diminution de taille des particules de 387 μm jusqu'à 0,36

µm. Cette phase correspondrait ainsi à une **dispersion** lente et progressive des particules dans le milieu.

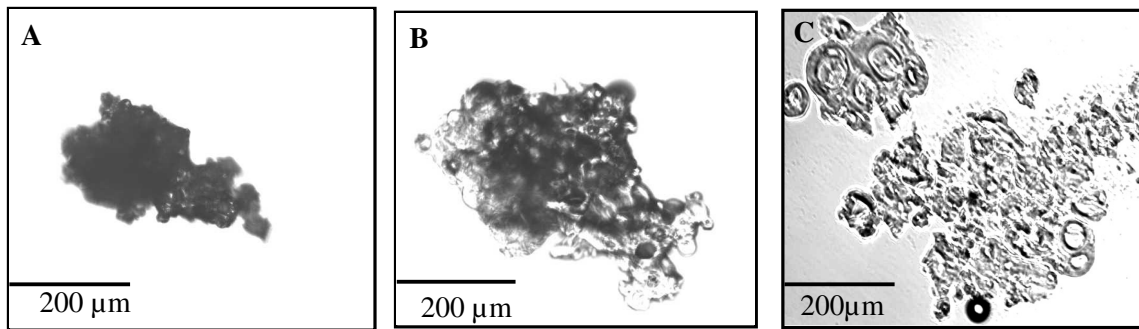
**Phase d :** En fin de profil, la taille des particules se stabilise à 0,36 µm. Celle-ci concorde avec une stabilisation de la valeur de viscosité (~ 4 mPa.s). La suspension obtenue en fin de profil est de type monodisperse avec un d(50) de 0,36 µm. Cette population monodisperse correspond aux micelles de caséine (Chardot *et al.*, 2002 ; Regnault *et al.*, 2004). La phase (d) est donc associée à la **fin de la réhydratation**.

#### 2.1.2.2 Validation des interprétations par des observations de microscopie optique

D'après le profil de viscosité et les données granulométriques, il apparaît que la réhydratation du PPCN G passe par différentes phases. À partir d'observations par microscopie optique, nous avons pu caractériser certaines de ces phases. Les photographies de la **figure 50** représentent une particule de PPCN isolée en cours de réhydratation :

- particule de PPCN sèche avant son contact avec le milieu de réhydratation (**figure 50A**),
- particule de PPCN prélevée après 2000 secondes de réhydratation dans la cuve du rhéomètre et correspondant au pic (b) sur le profil de viscosité (**figure 50B**),
- particule de PPCN prélevée après 20 000 secondes de réhydratation dans la cuve du rhéomètre et correspondant au milieu de la phase (c) sur le profil de viscosité (**figure 50C**).

La **figure 50A** représente une particule de PPCN avant son contact avec l'eau. La taille de la particule correspond à la taille obtenue par granulométrie soit environ 300 µm. Sur la **figure 50B**, on observe le gonflement des particules après 2000 secondes de réhydratation. Cette observation est en accord avec les interprétations du profil de viscosité. Cette photo confirme également la valeur du d(50) de 400 µm environ obtenue par granulométrie au même moment. La particule observée sur la **figure 50B** est en effet du même ordre de grandeur. L'observation microscopique permet également d'écarter le fait que l'augmentation de taille pourrait provenir d'une agrégation des particules entre elles. En effet, les particules sont toutes bien individualisées au sein du prélèvement. Le prélèvement suivant est effectué après 20 000 secondes de réhydratation (**figure 50C**) pendant la phase de dispersion (phase c). On observe par microscopie les particules en train de se disperser en sous-unités dans le milieu de réhydratation. Ceci est également en accord avec l'interprétation des profils de viscosité et de granulométrie.

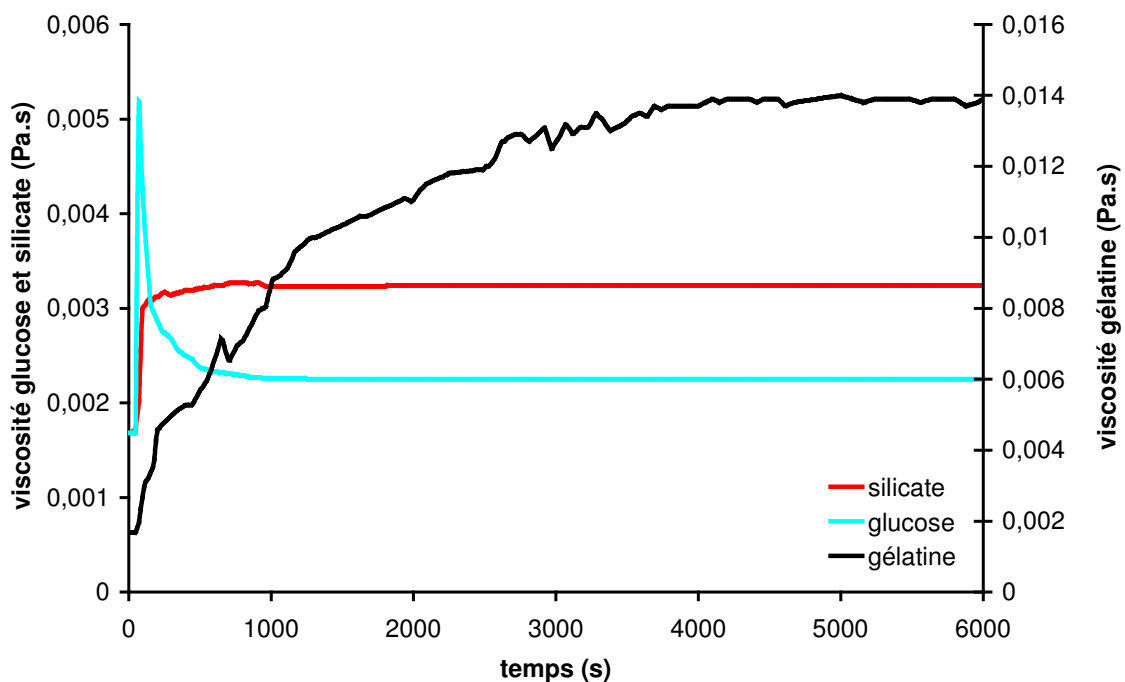


**Figure 50 : Microscopie optique réalisée sur une particule de PPCN G prélevée en cours de réhydratation dans la cuve du rhéomètre ; A : particule native, B : particule prélevée après 2000 secondes de réhydratation et C : particule prélevée après 20 000 secondes de réhydratation**

### 2.1.2.3 Etude de poudres présentant une réhydratation « simple » et connue et comparaison avec la réhydratation du phosphocaséinate natif

Les profils de viscosité de poudres aux comportements « simples » et connus sont analysés sur la **figure 51**. Ces poudres sont choisies afin de comparer leur comportement lors de la réhydratation à leur profil de viscosité. Les trois poudres sont les suivantes :

- une poudre de silicate qui se disperse sans se réhydrater,
- une poudre de glucose qui se dissout rapidement,
- une poudre de gélatine qui présente un gonflement des particules lors de son contact avec l'eau.



**Figure 51 : Profils de viscosité obtenus sur trois poudres : silicate, glucose et gélatine pendant 6000 secondes de réhydratation à 24°C avec le système vane à 100s<sup>-1</sup>**

Suite à l'ajout de glucose dans la cuve, un pic de viscosité est observé il correspond au temps de mouillage. Le sucre se solubilisant ensuite très vite, la viscosité va très rapidement diminuer et se stabiliser quand il est totalement dissous.

La poudre de silice est insoluble dans l'eau. Le profil obtenu comprend un maximum de viscosité qui correspond au temps de mouillage. Ensuite, la viscosité de la suspension ne diminue pas car la poudre ne se réhydrate pas et reste en suspension dans le milieu.

Dès l'ajout de gélatine une augmentation de viscosité se produit, cette augmentation est régulière et continue. Cela correspond au gonflement des particules. Au bout d'un certain temps, le manque d'eau entraîne une stabilisation de la viscosité par une stabilisation de la taille des particules qui ne peuvent pas absorber plus d'eau.

### 2.1.3 Conclusion sur la méthode rhéologique

Les interprétations du profil de viscosité concordent à la fois avec les comportements attendus de poudres connues, les profils de granulométrie, les observations microscopiques et les observations visuelles. Il apparaît donc que cette méthodologie développée sur une poudre de PPCN G permette de caractériser les différentes étapes de réhydratation (**figure 52**) :

- le pic (a) de viscosité correspondant au mouillage des particules,
- le pic (b) de viscosité correspondant au gonflement des particules,
- la phase (c) correspondant à la dispersion des particules,
- et la phase (d) correspondant à la fin de réhydratation.

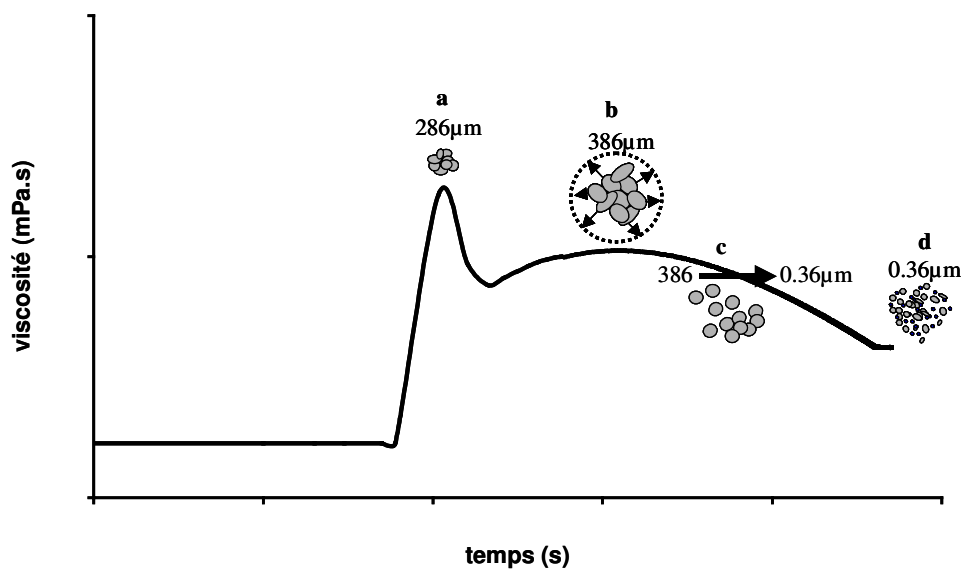


Figure 52 : Modèle hypothétique schématisant les différentes étapes lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 5% de MAT et à 24°C



## 2.2 Mise au point d'une méthodologie permettant de suivre la réhydratation de poudres laitières dans un réacteur par turbidimétrie, pH-métrie et conductimétrie

La deuxième méthodologie mise au point permet de suivre la réhydratation de poudres laitières grâce à un réacteur équipé de trois sondes : turbidité, conductivité et pH. La réhydratation peut être suivie complètement, la poudre étant versée dans la cuve alors que l'acquisition des mesures a déjà commencé. Ce type de réacteur utilisant une sonde de turbidité a été développé pour étudier la formation de cristaux par Crawley *et al.* (1996) ; Moscosa-Santillan *et al.* (2000). A partir des valeurs de turbidité, ces auteurs remontent à la taille des cristaux. Des sondes optiques sont également utilisées dans des réacteurs pour étudier la formation d'agrégats (Huang et Chen, 1996 ; Dao *et al.*, 2000 ; Gruy, 2001) ou encore dans l'évaluation d'une population microbienne (Castro *et al.*, 1995). Dans le secteur laitier, Hardy et Fanni (1981); Hardy *et al.* (1981 ; 1985) ; Hardy et Scher (1986) et Banon et Hardy (1991) ont utilisé des capteurs optiques pour suivre en continu la coagulation du lait. L'étude cinétique de la réhydratation de poudres laitières par les méthodologies mises au point est donc nouvelle.

### 2.2.1 Profils de turbidité, de pH et de conductivité obtenus lors de la réhydratation d'une poudre de phosphocaséinate granulée

#### 2.2.1.1 Profils de turbidité et de pH

Le profil de réhydratation du PPCN G à 24°C et 5% de MAT est présenté sur la **figure 53**. La poudre n'est versée dans le réacteur qu'après 60 secondes pour permettre une stabilisation des trois sondes sur l'eau.

Pendant les 100 premières secondes de réhydratation, une augmentation rapide de la turbidité est observée (pic a) jusqu'à 7400 NTU. Ce pic est suivi par une diminution de la turbidité. Après 250 secondes environ, un minimum (b) est atteint. Puis, une augmentation lente et régulière de la turbidité suit ce minimum (b). Cette augmentation correspond à la phase (c) et s'étale de 250 à 45 000 secondes environ. En fin de profil, après 45 000 secondes de réhydratation, la valeur de turbidité se stabilise sur 14 100 NTU et un fluide homogène est obtenu (phase d).

Le profil de pH est présenté en parallèle sur la **figure 53**. Le pH passe par un maximum suite à l'ajout de la poudre dans le réacteur (après 40 secondes de réhydratation et à pH 7,6). Ce maximum de pH correspond en temps au pic (a) observé sur le profil de turbidité. Suite à ce maximum, le pH décroît lentement et régulièrement. On n'observe pas de stabilisation

nette du pH en fin du profil comme pour la turbidité. Ceci signifie que les équilibres ioniques ne sont pas encore totalement stabilisés, même après 50 000 secondes de réhydratation.

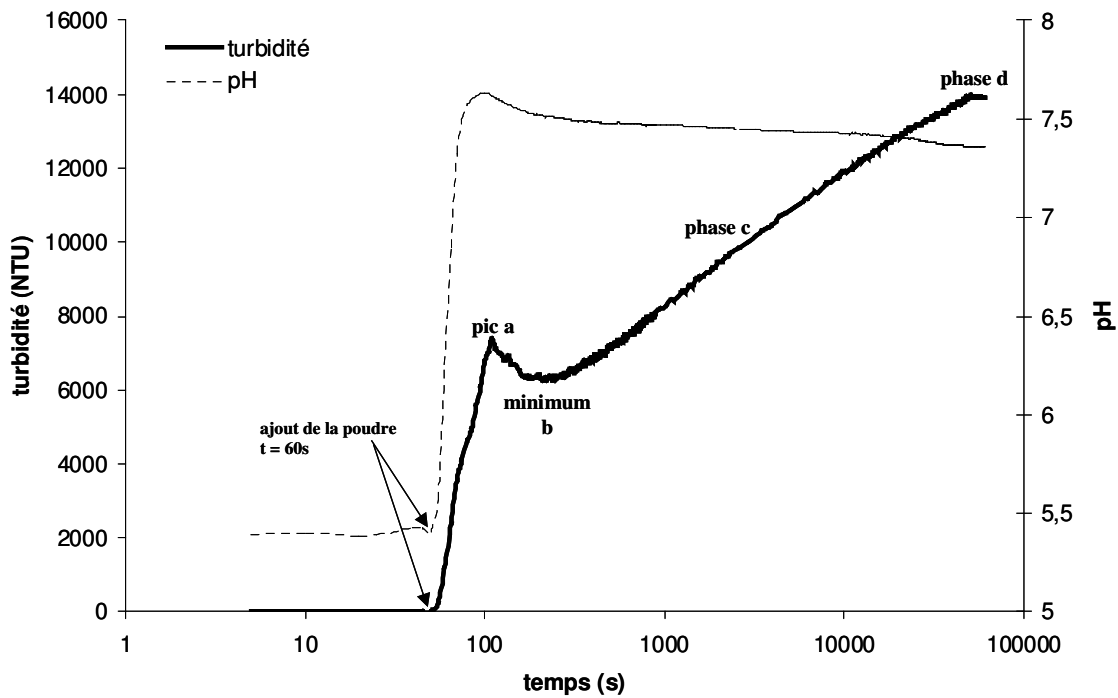


Figure 53 : Profils de turbidité et de pH obtenus lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 5% de MAT pendant 60 000 secondes et à 24°C

#### 2.2.1.2 Profils de turbidité et de conductivité

Sur la **figure 54**, le même profil de turbidité est, cette fois, représenté avec le profil de conductivité. Après l'ajout de la poudre, la conductivité de la suspension augmente mais avec une pente moins importante que celle de la turbidité. Une inflexion de la conductivité est notée après 250 secondes, cette inflexion semble correspondre en temps au minimum (b) de turbidité. A partir de 250 secondes, la conductivité augmente lentement et régulièrement. En fin de profil, la valeur de conductivité tend vers  $260 \text{ mS.cm}^{-1}$  mais n'est toujours pas stabilisée, signifiant également que les équilibres ioniques ne sont pas encore totalement atteints.

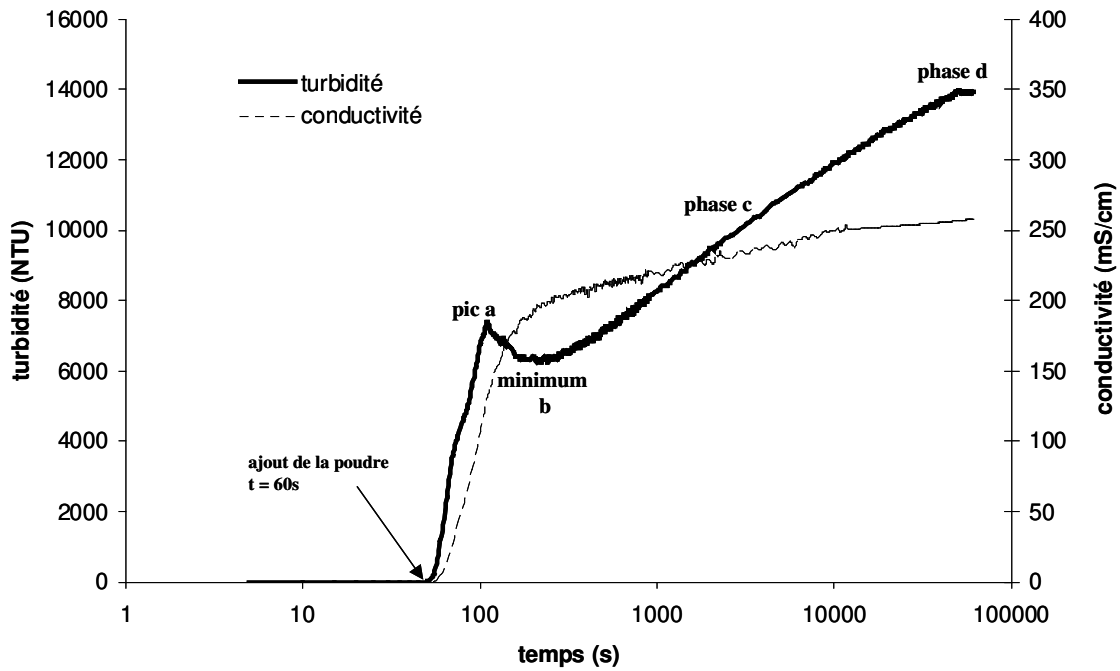


Figure 54 : Profils de turbidité et de conductivité obtenus lors de la réhydratation d’une poudre de PPCN G à 5% de MAT pendant 60 000 secondes et à 24°C

## 2.2.2 Compréhension du profil de turbidité

### 2.2.2.1 Validation du profil par des mesures de viscosité

Lors de la réhydratation du PPCN G, des prélèvements au cours du temps sont effectués dans le réacteur. La viscosité de ces prélèvements est mesurée ponctuellement.

Ce type de mesure permet une comparaison des données turbidimétriques et viscosimétriques (**figure 55**). Un prélèvement est réalisé au moment où le minimum (b) de turbidité est atteint (3<sup>ème</sup> point de la **figure 55**). On constate que la valeur de viscosité correspond au pic (b) observé sur la **figure 49**. Ce prélèvement a été encadré par quelques mesures avant et après. Pour les deux points de mesure précédant le minimum de turbidité, la diminution de turbidité coïncide avec une augmentation de viscosité. Pour les prélèvements effectués après le minimum (b), l’augmentation de turbidité coïncide avec une diminution de viscosité. Pour finir, deux prélèvements sont réalisés au moment où la turbidité se stabilise à 14 100 NTU. Ils concordent là aussi avec une stabilisation de la viscosité.

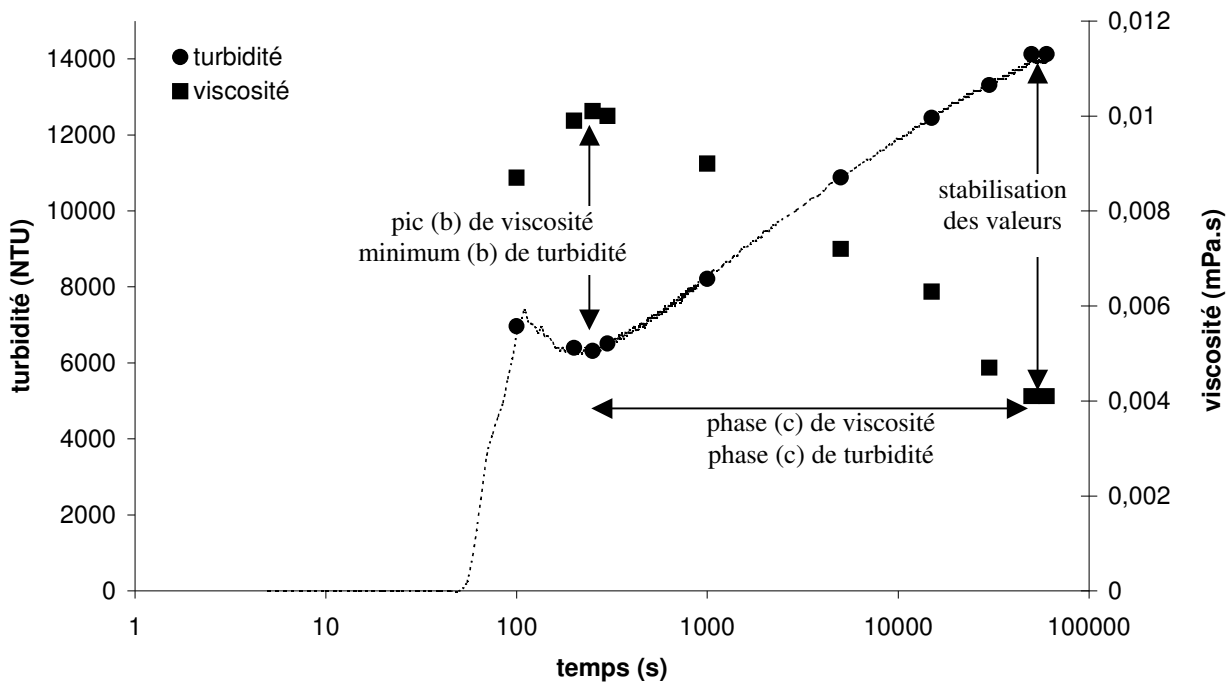


Figure 55 : Corrélation entre les mesures de turbidité et de viscosité au cours de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 5% de MAT et à 24°C

#### 2.2.2.2 Interprétation du profil turbidimétrique

Afin de relier les différentes étapes observées sur le profil type de turbidité (pic a, minimum b, phase c et phase d) à des étapes de la réhydratation de la poudre, le profil de turbidité est couplé à des mesures granulométriques de la suspension protéique sur la **figure 56**.

**Pic a :** Comme sur les profils de viscosité, le premier pic est visuellement interprété. Il correspond au moment où toutes les particules de poudre sont mouillées. Quand la poudre est versée, le signal de turbidité augmente brusquement. Quand toutes les particules à la surface de la cuve sont mouillées, il y a soit l'apparition d'un pic comme sur le profil présenté soit juste une inflexion de la courbe pour d'autres poudres. Le pic (a) pourrait donc correspondre au **mouillage** des particules.

**Minimum b :** Le minimum (b) correspond systématiquement à une taille des particules maximale par granulométrie. Pendant les 250 premières secondes de réhydratation, la taille des particules s'accroît progressivement de 286  $\mu\text{m}$  à 389  $\mu\text{m}$ . Ce minimum (b) pourrait donc correspondre au **gonflement** des particules.

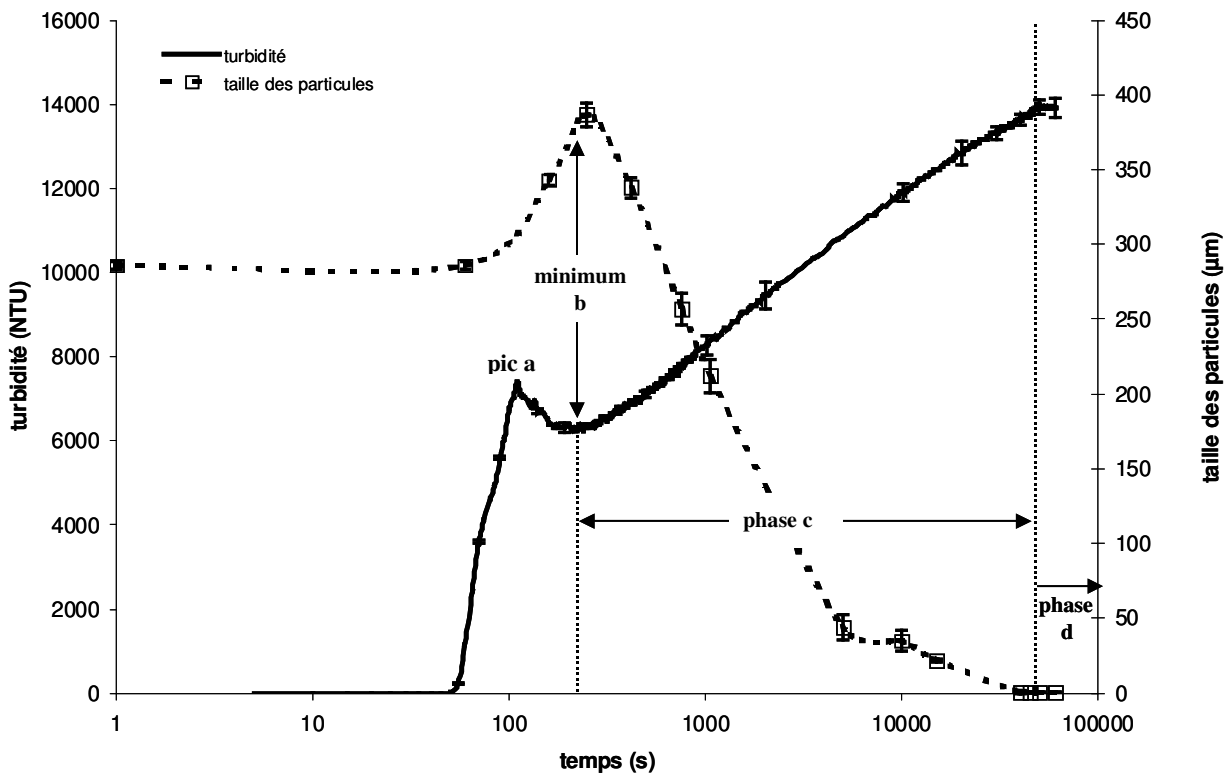


Figure 56 : Interprétation du profil de turbidité à l'aide de la granulométrie lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 5% de MAT et à 24°C

**Phase c :** Lors de la phase (c), l'augmentation de turbidité coïncide avec une diminution de la taille des particules de 389 à 0,36  $\mu\text{m}$ . La phase (c) pourrait donc correspondre à la **dispersion** des particules dans le milieu.

**Phase d :** En fin de profil, une stabilisation de la valeur de turbidité à 14 100 NTU est observée qui correspond à la stabilisation de la taille des particules à 0,36  $\mu\text{m}$ . C'est également la taille obtenue à partir des suspensions analysées par rhéologie (§2.1.2.1). Cette phase (d) pourrait donc correspondre à la **fin de la réhydratation**.

### 2.2.3 Conclusion sur la méthode turbidimétrique

Toutes ces observations sont en accord avec les interprétations du profil de turbidité et de granulométrie. De plus, les étapes associées au gonflement, à la dispersion et à la fin de réhydratation ont été validées par des mesures de viscosité. On note une linéarité sur une gamme relativement large (50-400  $\mu\text{m}$ ) entre la taille des particules et respectivement la turbidité ( $R^2 = 0,98$ ) et la viscosité ( $R^2 = 0,99$ ) sur la **figure 57**. Il apparaît donc que la mesure de turbidité permette également de caractériser les différentes étapes de réhydratation d'une poudre de PPCN par réflexion de la lumière.

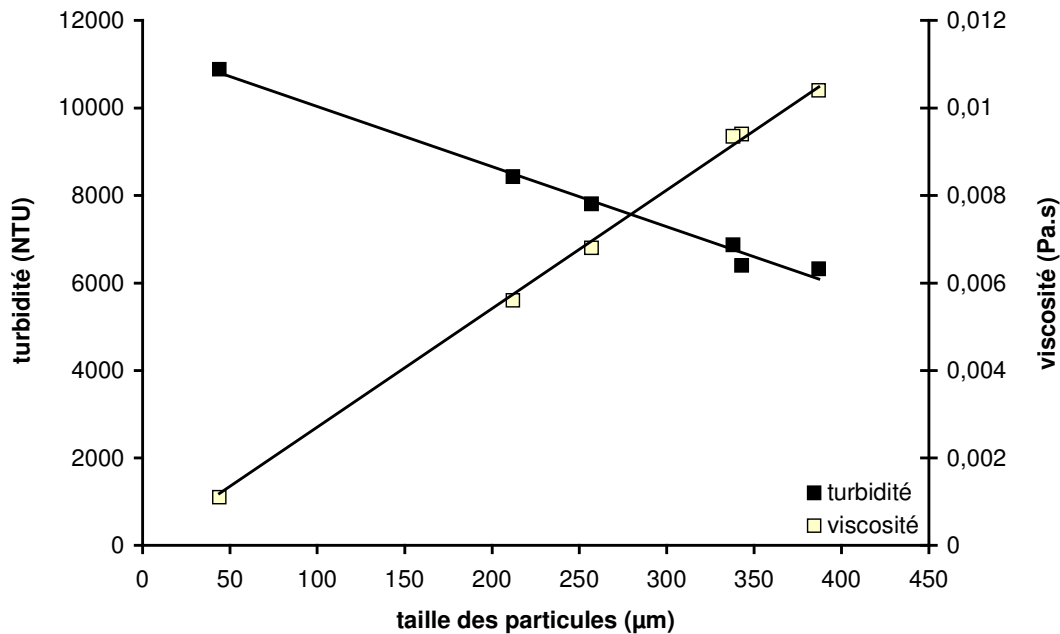


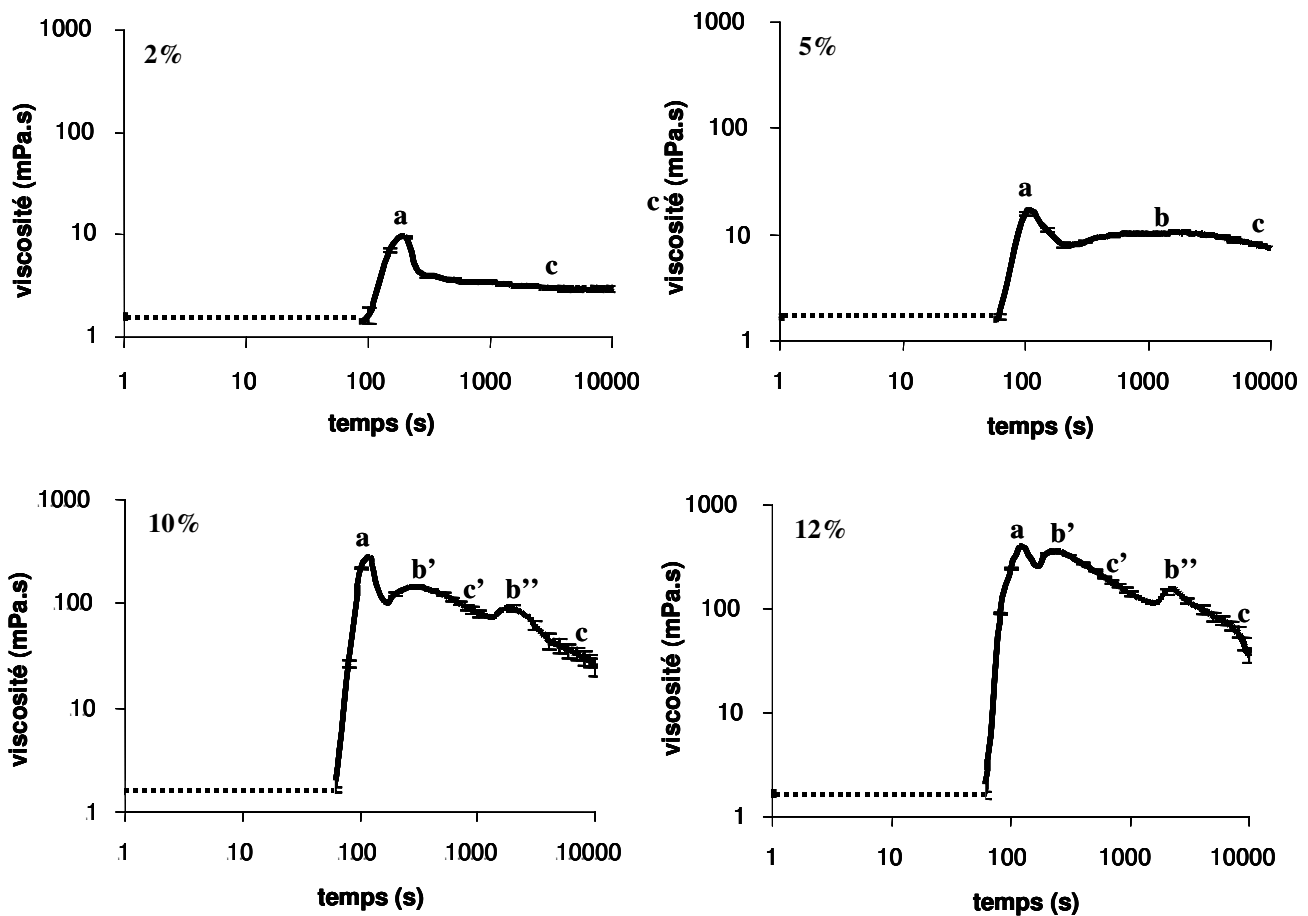
Figure 57 : Mise en évidence d’une relation linéaire entre la taille des particules, la turbidité et la viscosité sur une gamme 50-400 µm

### 2.3 Influence du temps de réhydratation, de la température et de la concentration sur la réhydratation du phosphocaséinate natif

#### 2.3.1 Effet de la concentration en protéines

La **figure 58** représente les profils de viscosité de la poudre réhydratée à différentes concentrations à 24°C et pendant 10 000 secondes. Les profils sont présentés sous forme log-log et les écarts types de trois expériences indépendantes sont indiqués à certains temps.

À 2% de protéines dans le milieu, seul le pic (a) correspondant au mouillage des particules est observé. Aucun pic associé au gonflement des particules n’est visualisé. L’utilisation de la granulométrie permet pourtant d’affirmer que le gonflement des particules de cette même poudre se produit même en milieu fortement dilué (**figure 56**). Cette absence peut probablement être expliquée par une limitation de l’appareillage à de faibles viscosités.



Figures 58 : Profils de viscosité obtenus lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G pendant 10 000 secondes à 24°C à 2, 5, 10 et 12% de MAT

À 5% de protéines, le profil de viscosité présenté correspond au profil typique développé dans la mise au point de la méthodologie (**figure 48**). Les phases suivantes sont donc présentes : mouillage (pic a) et gonflement des particules (pic b) après 2000 secondes de réhydratation environ, suivi par la dispersion des particules (phase c). Si le profil était poursuivi plus longtemps, une stabilisation de la viscosité après 48 000 secondes de réhydratation (phase d) serait obtenue comme sur la **figure 48**.

À 10 et 12% de protéines, trois pics apparaissent sur les profils. L'allure de ces profils est donc inhabituelle. Le premier pic (a) correspond toujours au mouillage des particules. Les pics (b') et (b'') pourraient correspondre à des phases de gonflement. Compte tenu de la structuration de la particule étudiée (granulation) et du fait que la même poudre non granulée à 10% de MAT ne présente pas ces deux pics de viscosité, on peut associer ces pics à la granulation des particules. Par conséquent, les deux pics (b') et (b'') semblent révéler deux étapes de gonflement lors de la réhydratation du PPCN G. Le premier pic correspondrait alors au gonflement des particules initiales et le second au gonflement des particules nouvellement

formées dans le milieu. Les phases (c') et (c) seraient donc respectivement reliées à la dispersion des particules initiales et à la dispersion des particules nouvellement créées. Cette hypothèse permettrait d'expliquer le délai dans l'apparition du second pic (b'') quand la concentration en protéine augmente. En effet, une augmentation de la concentration protéique est supposée diminuer la disponibilité en eau entraînant un ralentissement des étapes de réhydratation.

### 2.3.2 Effet de la température

Les profils de viscosité obtenus lors de la réhydratation du PPCN G à 5% de MAT et à différentes températures de réhydratation sont présentés sur la **figure 59**. Les profils sont présentés sous forme log-log et les écarts types de trois expériences indépendantes sont représentés à certains temps.

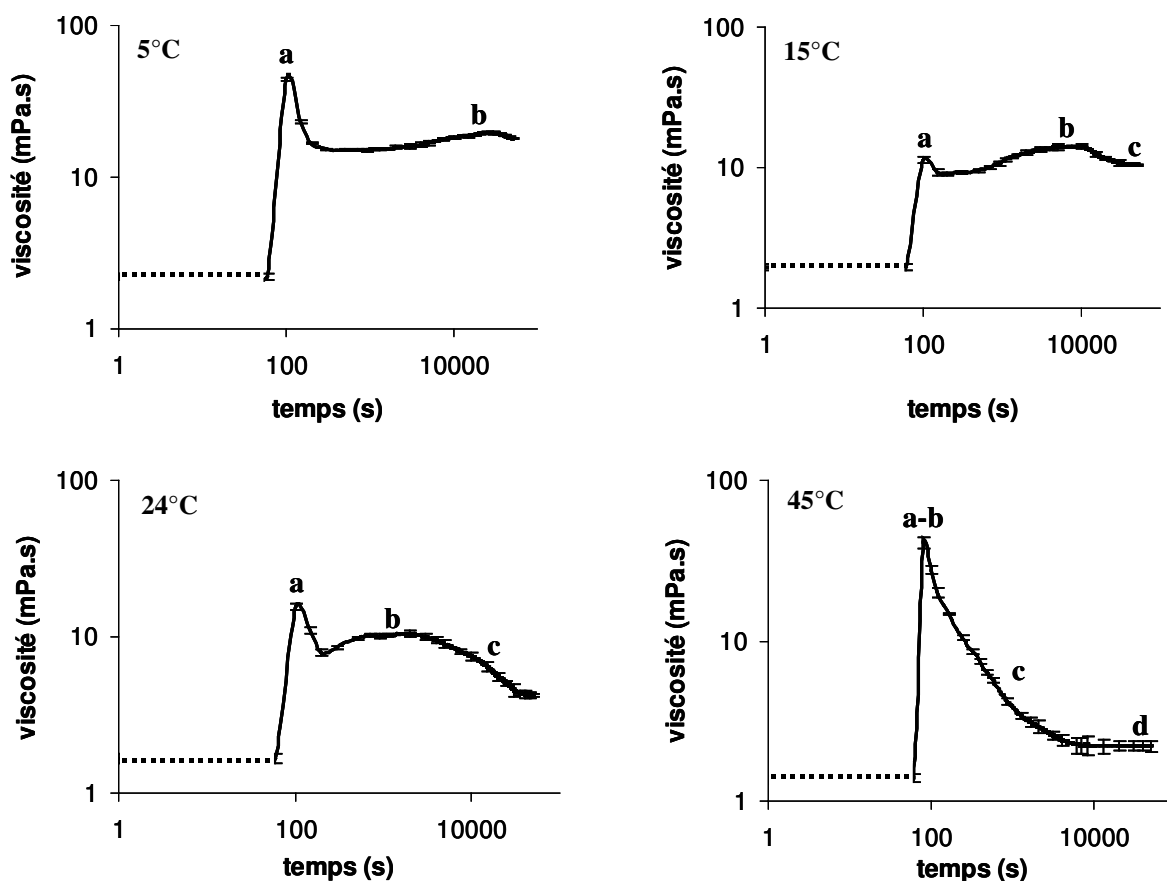


Figure 59 : Profils de viscosité obtenus lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G pendant 10 000 secondes à 5% de MAT et à 5, 15, 24 et 45°C



Pour chaque température étudiée le pic de mouillage (a) est présent. À des températures basses (5 et 15°C), le pic de gonflement (b) apparaît très tardivement et plus longtemps. Quand la température de réhydratation augmente (24°C), le pic de gonflement apparaît plus précocement. Pour des températures plus élevées (45°C), le gonflement des particules est tellement rapide qu'il est impossible de le déterminer avec précision. En fait, le pic (b) est probablement confondu dans le pic a (pic a-b).

### **2.3.3 Conclusion**

Un modèle permettant d'anticiper la réhydratation de la poudre de PPCN G en fonction de la température, de la concentration et du temps est présenté sur la **figure 60**. Par exemple, la réhydratation de la poudre à 2% de MAT est achevée après 50 000 secondes de réhydratation de 15°C à 55°C. En effet, la viscosité de la solution est la même que la viscosité de la solution de référence (solution totalement réhydratée). À 5°C, la viscosité obtenue après 50 000 secondes de réhydratation est supérieure à la viscosité de référence, par conséquent la réhydratation de la poudre dans ces conditions n'est pas achevée. Après 5000 secondes et 10 000 secondes de réhydratation, on constate que la réhydratation de la poudre n'est totale qu'à 35, 45 et 55°C.

Si l'utilisateur a besoin de travailler à des concentrations en PPCN supérieures (5, 10 ou 12% de MAT), la réhydratation totale de la poudre est difficilement atteinte même après 50 000 secondes de réhydratation. Par exemple, après 50 000 secondes de réhydratation, la poudre à 5, 10 et 12% de MAT est totalement réhydratée en augmentant la température à 24, 35 et 45°C respectivement. Au dessus de 45°C, le temps de réhydratation est atteint légèrement plus vite.

Peu d'études concernent actuellement la caséine micellaire et encore moins sa réhydratation. Par conséquent, ces figures permettent de développer industriellement des optimums temps/énergie pour réhydrater le PPCN G. Le facteur agitation est également un paramètre essentiel qu'il aurait été intéressant de prendre en compte.

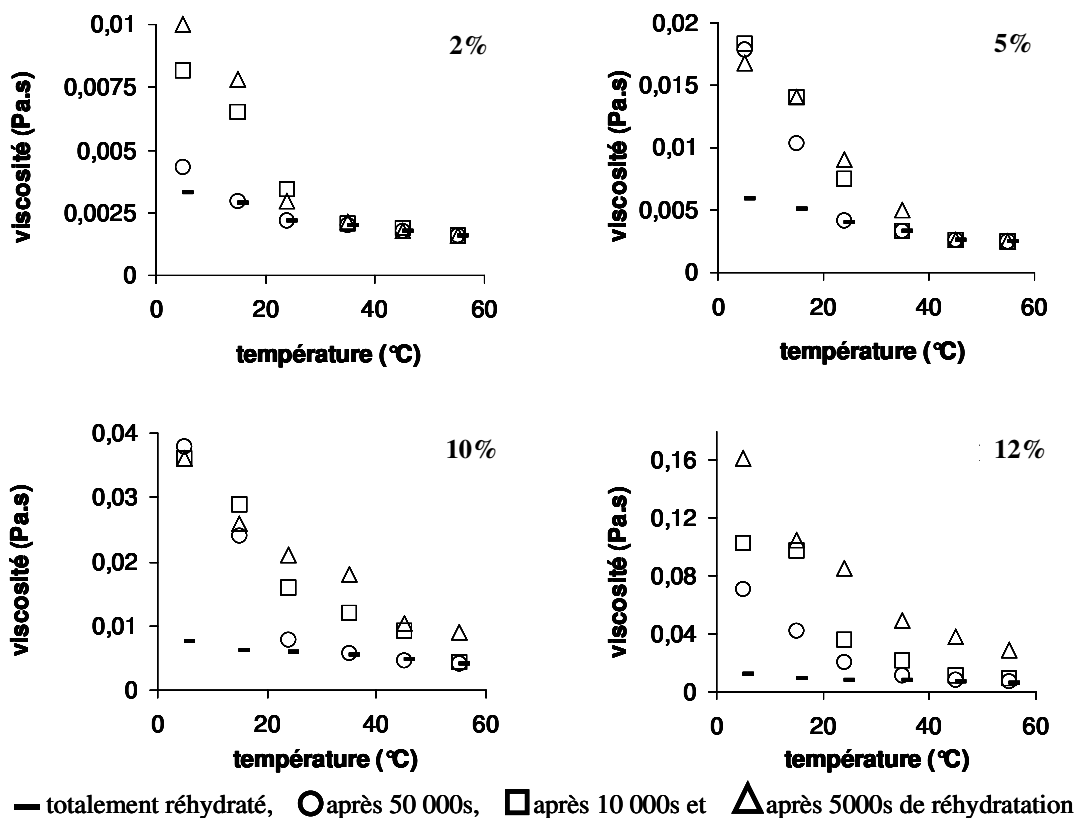


Figure 60 : Réhydratation d’une poudre de PPCN G en fonction de la concentration (2 ; 5 ; 10 et 12%), de la température (5, 15, 24, 35, 45 et 55°C) et du temps (solution totalement réhydratée, après 50 000 secondes, après 10 000 secondes et après 5000 secondes à une vitesse de cisaillement de 100 s<sup>-1</sup>)

#### 2.4 Lien entre les méthodologies mises au point et les normes

Comme nous l’avons vu dans la revue bibliographique, il existe quelques méthodes standardisées permettant la détermination du mouillage, de la dispersibilité et de la solubilité (normes FIL, ADPI et/ou méthode Niro Atomizer). Ces méthodes souvent empiriques sont difficiles à mettre en œuvre. Le **tableau 19** met en évidence une corrélation entre les temps de mouillage obtenus par notre méthodologie et les normes. Les temps de mouillage issus de notre méthodologie sont systématiquement plus rapides que ceux obtenus avec les normes. Cela s’explique par le fait que cette dernière est statique ; aucune agitation du milieu n’est effectuée. C’est pourquoi, il est impossible en appliquant la norme d’obtenir les temps de mouillage des poudres peu mouillables (en général des poudres non granulées). A l’opposé, nos méthodologies permettent d’obtenir pour toutes les poudres étudiées une valeur de temps de mouillage grâce au système d’agitation utilisé. Elles sont également plus représentatives des conditions industrielles de réhydratation.

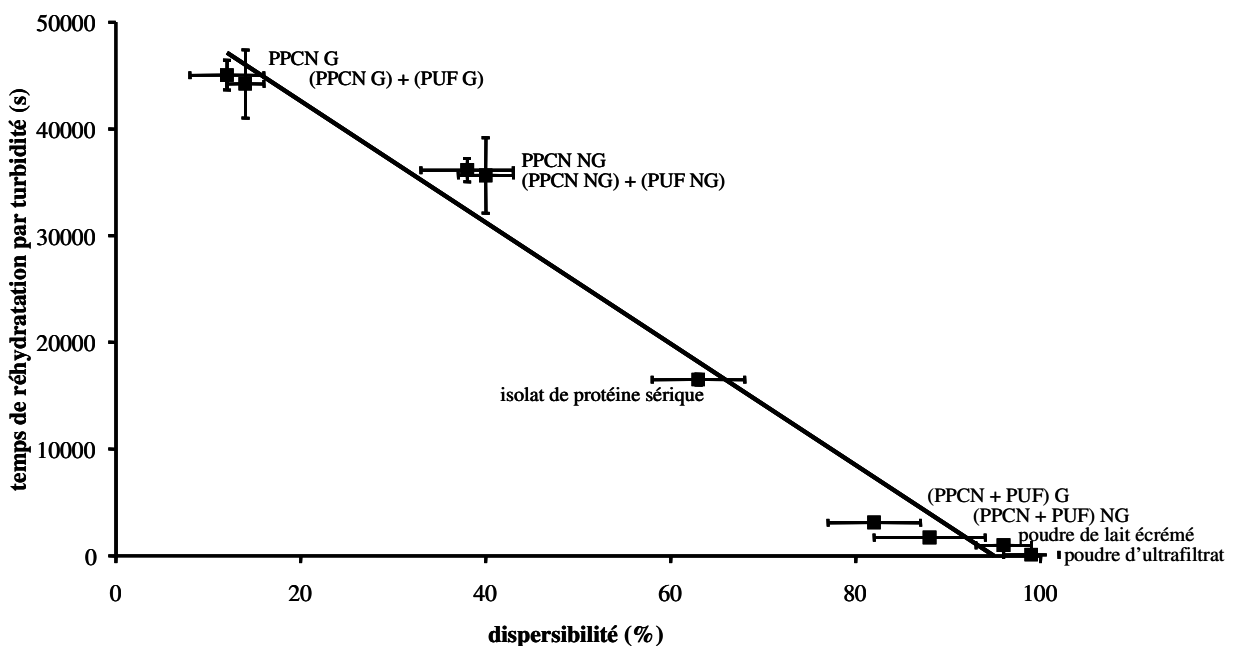
**Tableau 19 : Temps de mouillage obtenus pour certaines poudres laitières à partir des profils de turbidité et de la norme FIL (1985)**

nature des poudres <sup>1</sup>	type de mélange <sup>2</sup>	temps de mouillage (s) profil turbidité		temps de mouillage (s) norme IDF (1985)	
		moyenne	$\sigma$	moyenne	$\sigma$
PPCN G	-	110	8	454	46
(PPCN + PUF) G	CS	88	6	271	21
PPCN G + PUF G	MAS	115	10	507	38
PPCN NG	-	207	15	> 10 000	/
(PPCN + PUF) NG	CS	221	22	> 10 000	/
PPCN NG + PUF NG	MAS	238	26	> 10 000	/
poudre de lait écrémé	-	15	2	66	13
isolat de protéines sériques	-	148	11	780	67
poudre de perméat	-	4	0	15	2

<sup>1</sup> G : granulé ; NG : non granulé ; PPCN : phosphocaséinate natif ; PUF : perméat d’ultrafiltration.

<sup>2</sup> CS : co-séchage ; MAS : mélange à sec.

Aucune norme n’est actuellement disponible pour déterminer le temps de gonflement ou le temps de réhydratation d’une poudre laitière. Néanmoins, une bonne corrélation ( $R^2 > 0,97$ ) a été trouvée entre le temps de réhydratation d’après les profils de turbidité et la dispersibilité (**figure 61**). Il est en effet logique de considérer qu’une poudre se dispersant rapidement (fort pourcentage de dispersibilité), se réhydrate rapidement. Hormis les poudres obtenues par mélange à sec, notons que les écarts types obtenus grâce à notre méthodologie sont plus bas qu’avec les normes.



**Figure 61 : Corrélation entre le temps de réhydratation obtenu à partir des profils de turbidité et la dispersibilité obtenue par la norme FIL (1985)**

## 2.5 Conclusion

Cette première partie de l'étude a permis de mettre au point des méthodologies spécifiques pour étudier les cinétiques de réhydratation : un réacteur instrumenté comprenant des capteurs de turbidité, de pH et de conductivité a été développé. Un montage rhéologique de géométrie adapté à l'introduction puis au suivi de la viscosité des suspensions a été également mis au point.

Nous avons démontré par des mesures de granulométrie et de microscopie optique que ces méthodologies permettent une bonne appréciation des propriétés de réhydratation des poudres laitières. De plus, des observations visuelles, l'analyse du comportement de réhydratation de poudres modèles et une bonne corrélation entre le profil de viscosité et celui de turbidité confirment nos interprétations. Pour toutes les poudres testées, les profils obtenus donnent accès aux informations suivantes :

- temps de mouillage,
- présence ou pas d'un gonflement des particules et temps de gonflement éventuel,
- formation ou pas de grumeaux,
- visualisation de la dispersion des particules,
- et enfin le temps de réhydratation total de la poudre.

Jusqu'à présent, seul Davenel *et al.* (1997 ; 1997a ; 2002) ont développé des techniques de suivi de la réhydratation en continu. La réhydratation des poudres est suivie par RMN, mais cette technique ne permet pas d'estimer les toutes premières étapes de la réhydratation telles que le mouillage.

Les normes ADPI, FIL et/ou méthode Niro Atomizer ne permettent pas d'approfondir autant les propriétés de réhydratation des poudres laitières car elles sont ponctuelles et portent sur un seul paramètre : le temps de mouillage, le pourcentage de dispersibilité ou encore la solubilité. Elles ciblent principalement les poudres de lait classiques se réhydratant rapidement et ne semblent pas adaptées aux nombreux dérivés de protéines laitières existant actuellement sur le marché (Schuck, 1999). Toutefois, une bonne corrélation entre nos résultats et les normes sont à relever. Des corrélations semblent notamment apparaître :

- entre le temps de mouillage de la norme et le temps de mouillage obtenu par nos méthodes,
- entre le pourcentage de dispersibilité de la norme et le temps de réhydratation obtenu par nos méthodes.

Schuck (1999) mesure le temps de réhydratation des poudres par RMN. Une corrélation négative entre l'indice de solubilité et le temps de réhydratation est mise en évidence.

D'après Niro Atomizer (1978), une poudre est considérée comme mouillable si son temps de mouillage est inférieur à 20 secondes. Cette condition est loin d'être respectée pour toutes les poudres étudiées dans la thèse. On voit donc l'importance de revoir ces normes pour les adapter aux ingrédients laitiers actuels.

Les profils de viscosité et de turbidité sont concordants. Il apparaît une relation linéaire entre ces deux paramètres et la taille dans un domaine assez large (50 - 400  $\mu\text{m}$ ). De plus, ces deux méthodologies sont complémentaires en fonction du type de poudre étudiée. Les mesures de viscosité permettent des analyses précises, de faibles différences étant interprétables cependant toutes les poudres ne sont pas analysables par cette méthode. Les mesures de turbidité permettent l'analyse de l'ensemble des poudres, néanmoins, les mesures sont moins discriminantes.



### 3 Influence de la composition biochimique sur la réhydratation

#### 3.1 Influence de la nature des protéines réhydratées

Pour étudier l'influence de la nature des protéines sur la réhydratation, nous avons fabriqué deux types de poudres :

- à base de phosphocaséinate natif ou **PPCN** à 90% de MAT,
- à base de protéines solubles ou **PS** à 90% de MAT.

Deux états de granulation sont étudiés pour chaque composition biochimique : poudre granulée (G) et poudre non granulée (NG).

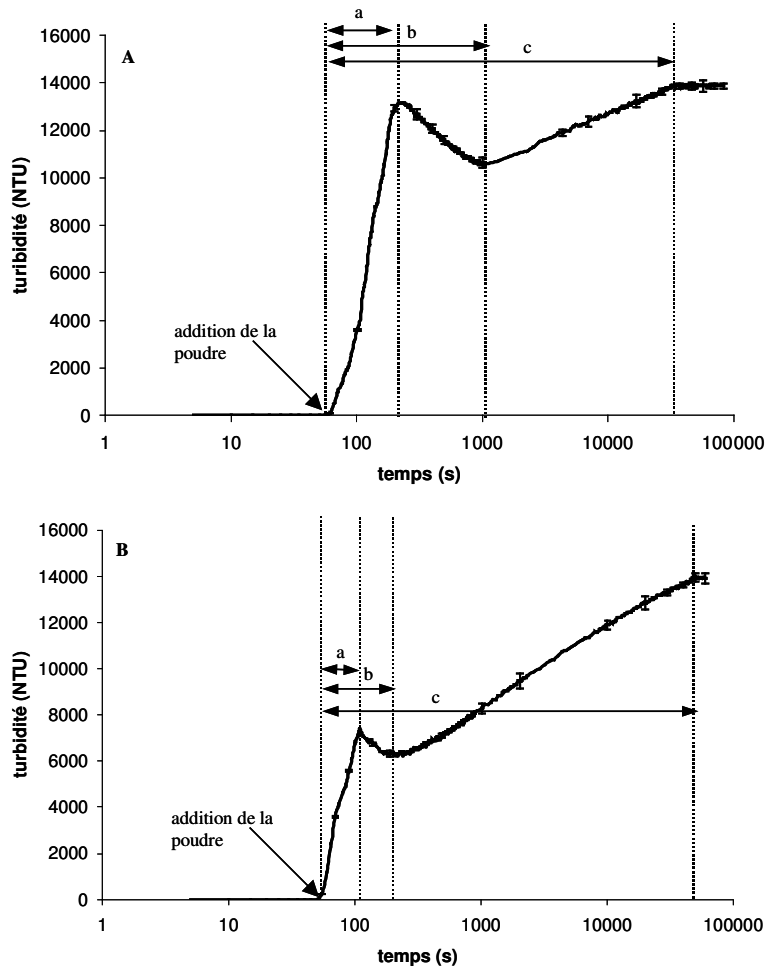
##### 3.1.1 Description des profils de réhydratation obtenus

###### 3.1.1.1 Les poudres de phosphocaséinate natif

La **figure 62** présente les profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation des poudres de PPCN. Le profil de turbidité du PPCN NG (**figure 62A**) comprend trois phases. L'ajout de la poudre dans le réacteur entraîne une augmentation rapide du signal de turbidité jusqu'à 13 200 NTU. Cette phase appelée (a) correspond au temps de mouillage. Il s'ensuit une diminution de la turbidité jusqu'à un minimum après 1000 secondes de réhydratation environ. Cette phase (b) correspond au temps de gonflement des particules. Puis, une augmentation régulière de la turbidité apparaît, c'est la phase de dispersion. À la fin du profil, les valeurs de turbidité se stabilisent à 14 000 NTU après 34 000 secondes de réhydratation, il s'agit de la phase (c).

Le profil de turbidité du PPCN G (**figure 62B**) suit exactement les mêmes phases ; seule leur durée dans le temps varie. Les phases (a) et (b) sont beaucoup plus rapides et la phase (c) est plus lente. La turbidité se stabilise en fin de profil sur 14 000 NTU environ après 48 000 secondes de réhydratation.

Notons que les turbidités finales des suspensions (i.e. 14 000 NTU) obtenues pour les deux poudres sont les mêmes.



**Figure 62 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation du PPCN NG (A) et G(B) à 24°C pendant 80 000 secondes**  
**a : temps de mouillage ; b : temps de gonflement ; c : temps de réhydratation**

### 3.1.1.2 Les poudres de protéines solubles

Les profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation des poudres de protéines solubles sont présentés sur la **figure 63**. Les deux profils comprennent deux phases : une phase bruitée en début de réhydratation et une phase stable. Après l'addition de la poudre, le signal de turbidité augmente immédiatement de 0 à 200 NTU. Une instabilité du signal apparaît ensuite pendant 1000 secondes pour les PS NG (**figure 63A**) et 300 secondes pour les PS G (**figure 63B**). Cette instabilité correspond à la formation de « grumeaux » et également au temps de mouillage (phase a). Pour les deux granulations, le temps de mouillage (phase a) est immédiatement suivi par une stabilisation du signal correspondant au temps de réhydratation (phase c). Le temps de réhydratation est d'environ 300 secondes pour les poudres de PS NG et de 1000 secondes pour les poudres de PS G. Le temps de réhydratation



correspond donc pour ces deux poudres au temps de mouillage. En effet, la dispersion de la poudre semble instantanée une fois que celle-ci est mouillée. La valeur finale de turbidité est de 250 NTU pour les deux poudres.

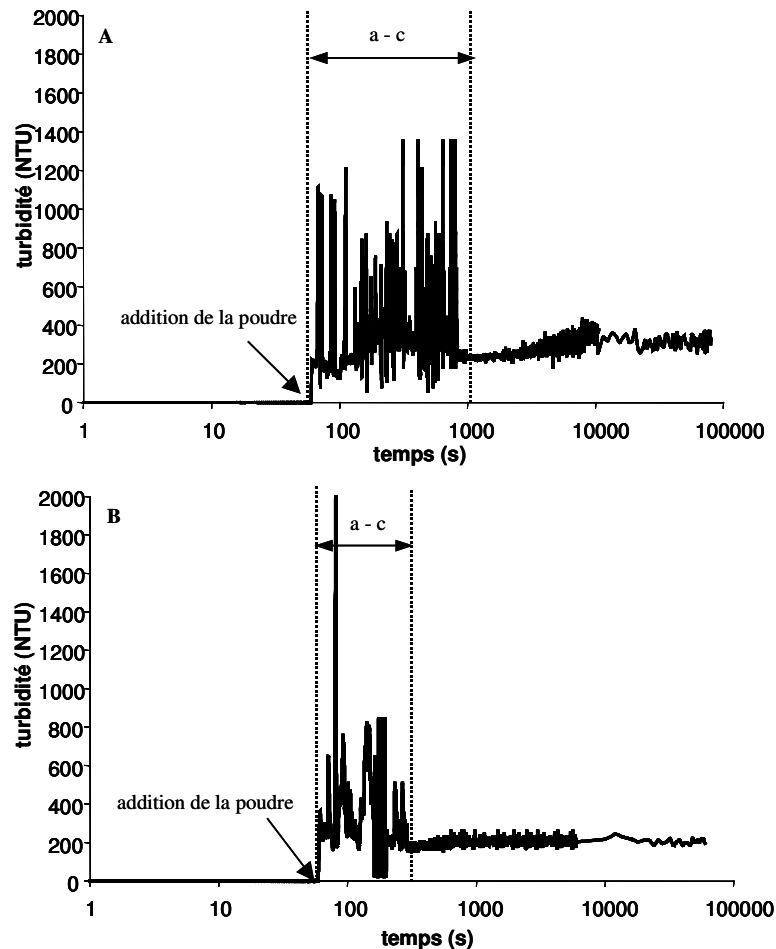


Figure 63 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de PS NG (A) et de PS G (B) à 5% de MAT et à 24°C pendant 80 000 secondes  
a : temps de mouillage ; c : temps de réhydratation

### 3.1.2 Les paramètres de réhydratation : temps de mouillage, de gonflement et de réhydratation

Les temps de mouillage, de gonflement et de réhydratation sont calculés à partir des profils de turbidité et correspondent à la moyenne de trois expérimentations indépendantes (**tableau 20**). Comme la granulation influence directement sur les propriétés de réhydratation, les paramètres de réhydratation sont comparés à état de granulation équivalent soit entre PPCN NG et PS NG et entre PPCN G et PS G.

Tableau 20 : Paramètres de réhydratation obtenus pour les poudres de PPCN et de PS (n=3)

nature des poudres <sup>1</sup>	granulation <sup>2</sup>	paramètres de réhydratation <sup>3</sup>					
		Tm (s)		Tg (s)		Tr (s)	
		moyenne	$\sigma$	moyenne	$\sigma$	moyenne	$\sigma$
PPCN	NG	190	9	1004	9	34293	1260
PS	NG	1009***	27	no	-	1009***	27
PPCN	G	26	2	138	8	48436	337
PS	G	239***	9	no	-	239***	9

<sup>1</sup> PPCN : phosphocasinat natif ; PS : protéine soluble.

<sup>2</sup> G : granulé ; NG : non granulé.

<sup>3</sup> no : non observé ; Tg : temps de gonflement ; Tm : temps de mouillage ; Tr : temps de réhydratation ;  $\sigma$  : écart type.

\*\*\* (P < 0,001) par comparaison des temps entre les PS NG et le PPCN NG et les PS G et le PPCN G.

### 3.1.2.1 Comparaison des temps de mouillage

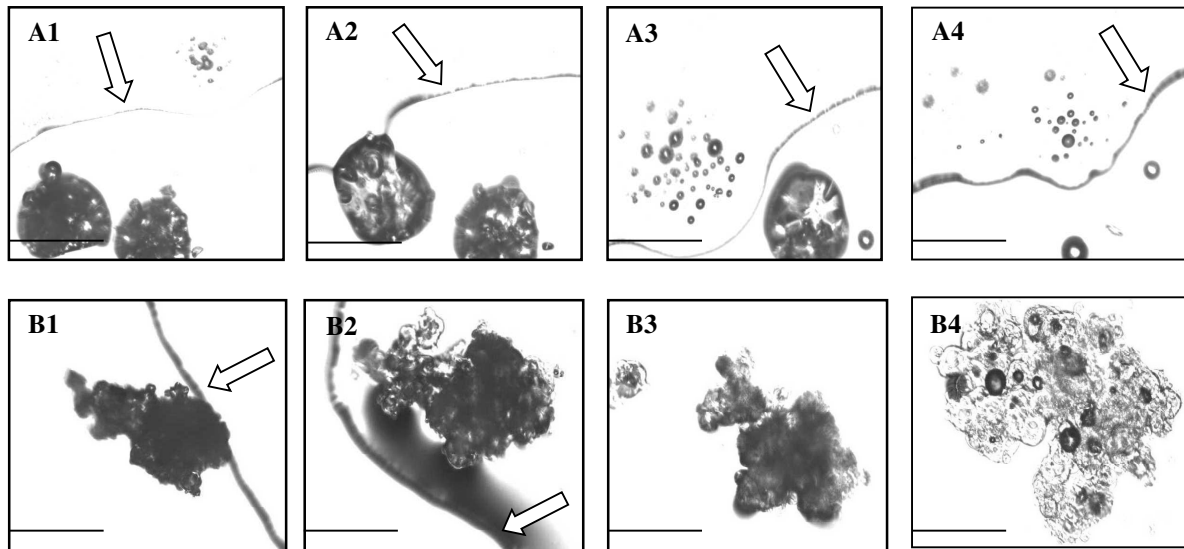
Le temps de mouillage des PS est significativement différent du temps de mouillage des PPCN quelle que soit la granulation. De 190 secondes pour la poudre de PPCN NG, il passe à plus de 1000 secondes pour la poudre de PS NG. La même tendance est observée pour les poudres granulées ; de 26 secondes pour la poudre de PPCN G à 240 secondes pour la poudre de PS G.

### 3.1.2.2 Comparaison des temps de gonflement

Le gonflement des particules est bien marqué sur les profils de turbidité pour les poudres de PPCN (**figure 62**). Le temps de gonflement est de 1000 secondes pour le PPCN NG et de 140 secondes pour le PPCN G. Par contre, cette étape de gonflement n'apparaît pas sur les profils de turbidité des poudres de PS (**figure 63**). Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour comprendre cette absence. Il se peut que les protéines solubles ne présentent pas de gonflement des particules ou que ce gonflement, s'il a lieu, soit si rapide qu'il soit confondu avec le pic de mouillage. Il est également fortement possible que la sensibilité de la sonde de turbidité ne permette pas de voir la diminution de turbidité correspondant au gonflement des particules à de si faibles valeurs de turbidité (i.e. 200 NTU).

La réhydratation des deux familles de protéines est suivie sous microscopie optique pendant 30 minutes sur la **figure 64**. Les **photos A1 à A4** sont prises lors de la réhydratation d'une particule de PS G. Les **photos B1 à B4** concernent la réhydratation d'une particule de PPCN G. Il apparaît une différence de comportement évidente entre ces deux poudres. La particule de PS semble se réhydrater rapidement et aucun gonflement n'est visible alors que la particule de PPCN présente un gonflement très marqué. Au bout de 30 minutes, la particule

de PS est pratiquement réhydratée alors que celle de PPCN est encore en phase de gonflement.



**Figure 64 : Images de microscopie optique (échelle 200  $\mu\text{m}$ ) montrant les premières étapes de la réhydratation d'une particule de poudre de PS G (A1 à A4) et d'une particule de poudre de PPCN G (B1 à B4) ; la flèche blanche indique le front du solvant**

Des profils de granulométrie sont également réalisés sur les quatre poudres et présentés sur la **figure 65**. Pour les poudres de PPCN, les profils mettent en évidence l'étape de gonflement des particules en début de réhydratation. Ainsi, le diamètre des particules de PPCN NG augmente de 38 à 47  $\mu\text{m}$  et celui du PPCN G de 286 à 390  $\mu\text{m}$ . Les poudres de PS, ne présentent pas du tout le même profil. Aucune augmentation de taille n'est visible pour les PS G. L'augmentation de taille observée pour les PS NG est beaucoup trop importante et irrégulière pour être attribuée au simple gonflement des particules. Il s'agirait plutôt de la formation de grumeaux comme cela a été mis en évidence sur les profils de turbidité.

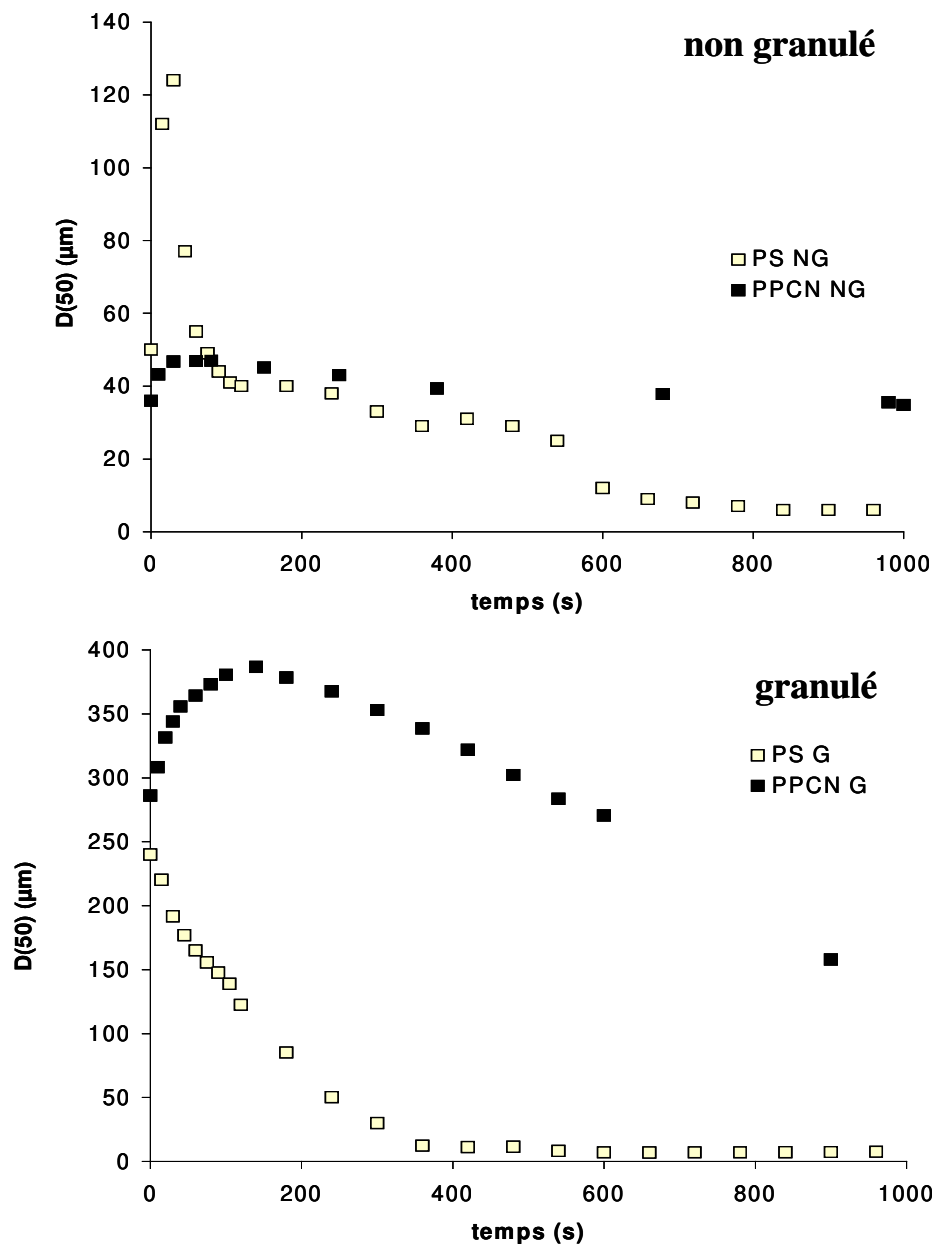


Figure 65 : Profils de granulométrie obtenus lors de la réhydratation des poudres de PS et de PPCN non granulées et granulées

### 3.1.2.3 Le temps de réhydratation

Par comparaison avec le PPCN, le temps de réhydratation est significativement abaissé quand on réhydrate des protéines solubles. Il est ainsi réduit de 34 000 secondes à 1000 secondes pour le PPCN G et les PS G et de 48 000 secondes à 240 secondes pour le PPCN NG et les PS NG. Ces différences sont significatives ( $P < 0,001$ ).

### 3.1.3 Discussion

Le profil de réhydratation des poudres de PPCN peut se décomposer en trois phases : le mouillage, le gonflement et la dispersion des particules. L'ensemble de ces trois phases correspond au temps de réhydratation. Davenel *et al.* (1997) mettent également en évidence par RMN sur du phosphocaséinate natif, la présence d'un gonflement des particules dû à l'absorption d'eau par la poudre à hauteur de 5g d'eau.g<sup>-1</sup> de poudre pendant les 20 premières minutes de la réhydratation. Même si le mouillage des particules semble relativement rapide, il apparaît ensuite une dispersion lente des particules. Par conséquent, le temps de réhydratation est très long et en accord avec les observations de Schuck *et al.* (2002).

La réhydratation des poudres de protéines solubles apparaît par contre très différente. La mouillabilité des poudres est mauvaise et associée à la présence de nombreux « grumeaux » (Freudig *et al.*, 1999). Aucun phénomène de gonflement n'est observé par microscopie optique, granulométrie et turbidité. Ceci peut être lié à la capacité moins importante des poudres de protéines sériques à piéger l'eau que des poudres de caséines (de Moor et Huyghebaert, 1983 ; Kinsella, 1984). Enfin, l'ensemble de la réhydratation est rapide grâce à la phase de dispersion des particules de PS qui est pratiquement instantanée.

Dans le cas du PPCN, le mouillage est donc beaucoup plus rapide que celui des PS. Fäldt (1995) met en évidence que les propriétés d'encapsulation des lipides dépendent de la nature des protéines. Ainsi, un mélange de protéines sériques et de lipides présente de mauvaises propriétés d'encapsulation (50% de lipides en surface) contrairement à son équivalent contenant des caséines (3% de lipides en surface). Cette éventuelle présence de lipides en surface des poudres de protéines solubles pourrait expliquer la dégradation des propriétés de mouillage de ces poudres par rapport aux poudres de caséine micellaire.

Dans le cas du PPCN, l'étape de mouillage est rapide mais il apparaît ensuite clairement que le transfert d'eau est beaucoup plus lent pour les caséines micellaires que pour les protéines solubles. La fixation de l'eau sur les protéines peut en partie expliquer les phénomènes observés. Ainsi, dans un premier temps, l'eau se fixe sur les résidus chargés, puis sur les résidus polaires non ionisés et pour terminer sur les liaisons peptidiques (Blond et Le Meste, 1998). Il semble donc que la composition en acide aminés des protéines influence la capacité à fixer des molécules d'eau d'après la relation suivante (Kuntz, 1971) :

$$A = X_i + 0,4 X_p + 0,2 X_{ap}$$

avec A : la quantité d'eau (g) par g de protéine

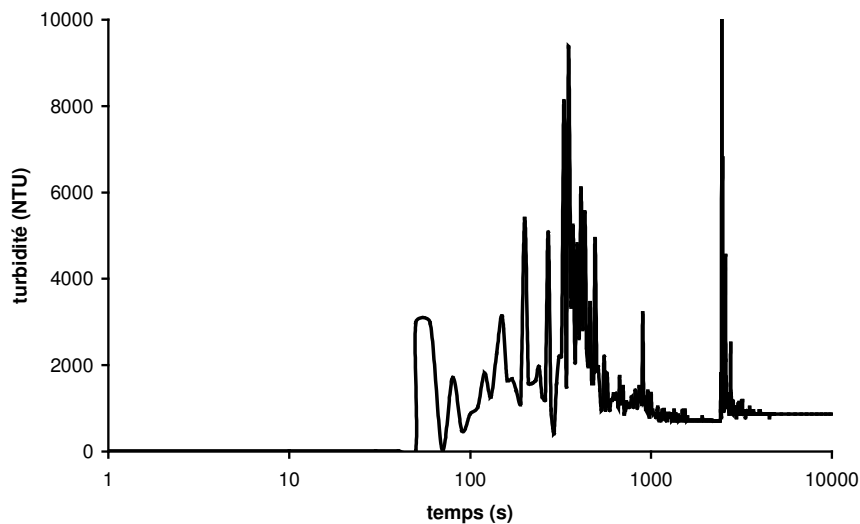
X<sub>i</sub> : fraction de groupes chargés des résidus d'acide aminé

X<sub>p</sub> : fraction de groupes polaires des résidus d'acide aminé

$X_{ap}$  : fraction de groupes apolaires des résidus d'acide aminé

Cependant, il semble que cette formule ne soit plus valable dans le cas de protéines hydratées, la conformation devenant alors plus importante que la nature des acides aminés (Blond et Le Meste, 1998). L'affinité des deux types de protéines pour l'eau ne peut donc pas tout expliquer et leur structuration doit être prise en considération. La **figure 66** représente le profil de turbidité d'une poudre de caséinate. Il s'avère que ce profil (i.e. réhydratation rapide comprenant un temps de mouillage très long) est beaucoup plus proche de celui des PS que du PPCN. Et pourtant il s'agit de la réhydratation d'une poudre de caséine. Berlin *et al.* (1968 ; 1968a) relèvent également des différences d'affinités vis à vis de l'eau du caséinate et de la caséine micellaire et leur structuration. Les caséinates sont constitués de protéines agrégées sous l'influence de liaisons hydrophobes dans des structures très denses (Adachi, 1963). La micelle de caséine à l'opposé, présente une structure ouverte, supramoléculaire, très peu compacte (Ribadeau Dumas et Garnier, 1970 ; Holt et Horne, 1996) dont la voluminosité est de  $4 \text{ mL.g}^{-1}$  de caséines (Holt, 1992). On pourrait alors supposer que cette structure complexe favoriserait l'entrée d'eau dans un premier temps pour ensuite la ralentir fortement.

Tout ceci confirme que l'état structural des protéines semble plus à l'origine des différences de comportement vis à vis de l'eau, que leur nature.



**Figure 66** : Profil de turbidité obtenu lors de la réhydratation d'une poudre de caséinate de sodium à 5% de MAT et à 24°C pendant 10 000 secondes (taille des particules 45  $\mu\text{m}$ )

La poudre de PPCN présente un mouillage rapide suivi d'un gonflement des particules et une réhydratation totale très lente. À l'opposé, la poudre de PS se mouille difficilement avec la présence de nombreux grumeaux mais l'ensemble de la réhydratation est rapide.

Les différences de comportement observées entre les poudres de PS et de PPCN indiquent clairement que les transferts d'eau sont beaucoup plus lents pour les caséines micellaires que pour les protéine solubles. Comme les propriétés physiques des poudres sont similaires, il est probable que les caractéristiques structurales des protéines composant la poudre soient à l'origine des propriétés de réhydratation ; les caséines micellaires présentent une structure ouverte supramoléculaire très peu compacte et les protéines solubles présentent une structure globulaire.

### 3.2 Influence de l'ajout de protéines solubles au phosphocasiné natif

L'influence de l'ajout de protéines solubles sur la réhydratation du PPCN est étudiée. Pour cela, les propriétés de réhydratation de trois poudres sont comparées :

- PPCN à 90% de MAT,
- PS à 90% de MAT,
- (PPCN + PS) à 90% de MAT avec un rapport PPCN/PS d'environ 75/25.

Deux états de granulation sont étudiés pour chaque composition biochimique : poudre granulée (G) et poudre non granulée (NG).

#### 3.2.1 Description des profils de réhydratation obtenus

Les profils de turbidité des poudres de PPCN additionnées de PS sont présentés sur la **figure 67A et 67B**. Pour les poudres non granulées (**figure 67A**), trois phases sont observées correspondant respectivement au temps de mouillage (a), au temps de gonflement (b) et au temps de réhydratation (c) des poudres. Une stabilisation de la turbidité à 18 000 NTU correspondant au temps de réhydratation apparaît après 11 000 secondes de réhydratation.

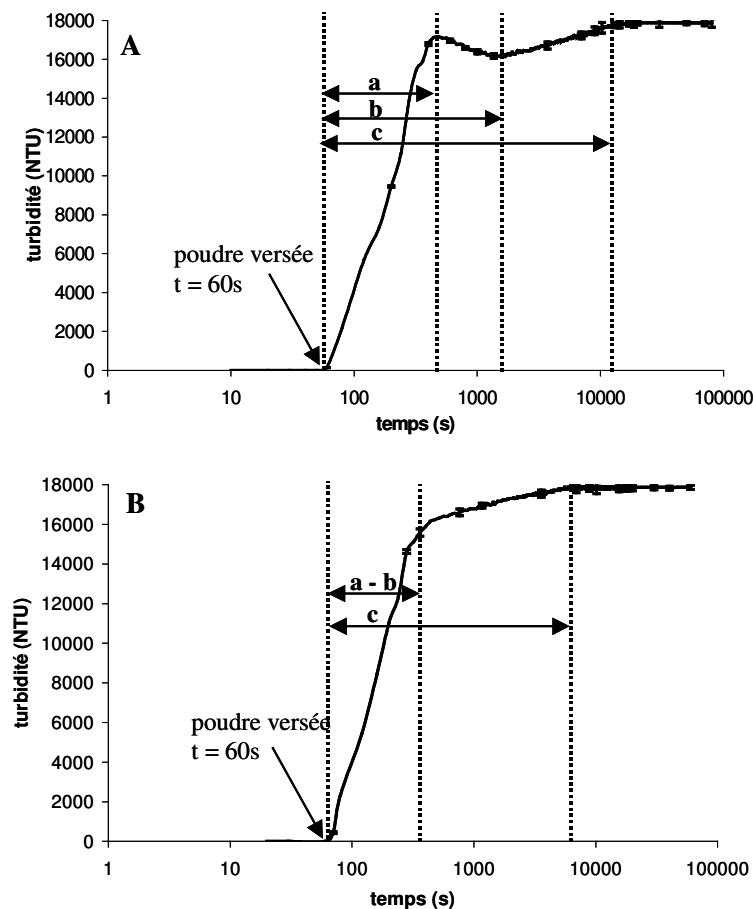


Figure 67 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de (PPCN + PS) NG (A) et de (PPCN + PS) G (B) à 5% de MAT et à 24°C pendant 80 000 secondes  
a : temps de mouillage ; b : temps de gonflement ; c : temps de réhydratation



Pour les poudres granulées (**figure 67B**), le temps de mouillage (a) et de réhydratation (c) sont plus rapides. La stabilisation de la turbidité se fait également à 18 000 NTU, mais survient après seulement 6300 secondes de réhydratation. Par contre aucune diminution de turbidité (b) correspondant au gonflement des particules n'est observée.

Le rhéomètre étant plus sensible que le turbidimètre, nous avons analysé le profil de viscosité du mélange granulé pour comprendre l'absence de l'étape de gonflement. La poudre est réhydratée dans des conditions permettant de ralentir les étapes de réhydratation (diminution de la température ou ajout de glycérol). Trois profils de viscosité sont présentés sur la **figure 68** :

- le mélange granulé réhydraté à 24°C (témoin sans gonflement),
- le mélange granulé réhydraté à 10°C,
- le mélange granulé réhydraté dans une solution aqueuse contenant 1,2% de glycérol.

Il apparaît ainsi un pic de viscosité correspondant au gonflement des particules (b) quand la réhydratation est ralentie.

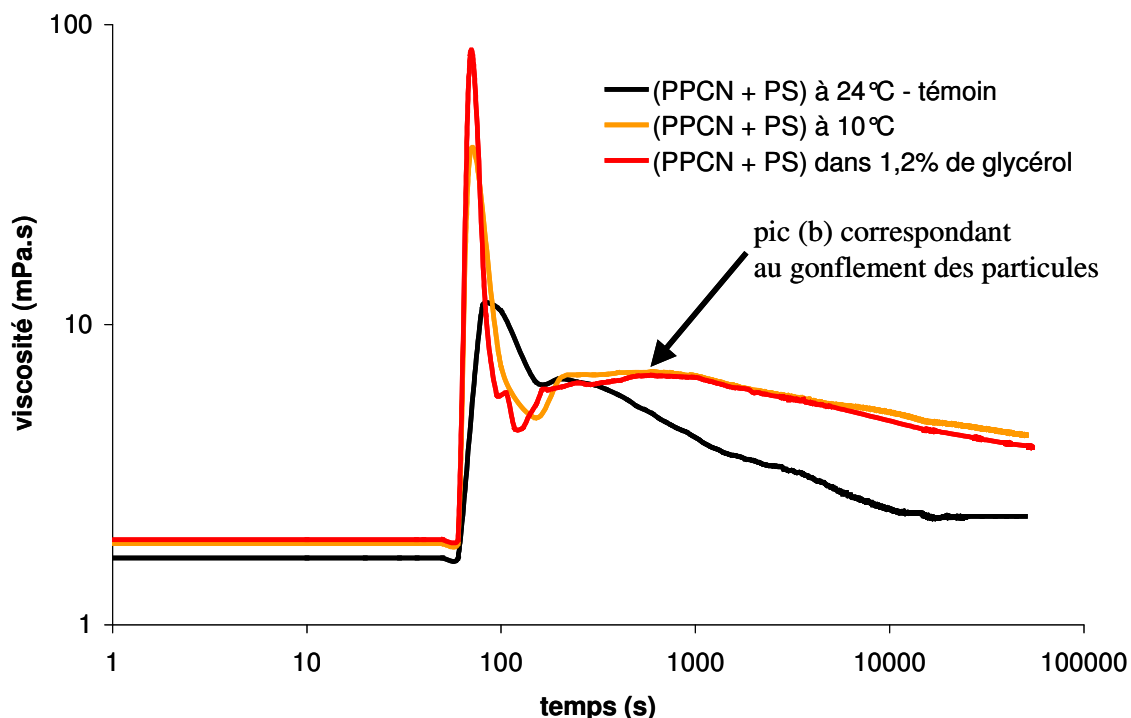


Figure 68 : Profil de viscosité d'une poudre de (PPCN + PS) G réhydratée pendant 80 000 secondes dans de l'eau distillée à 24°C (noir), dans de l'eau distillée à 10°C (orange) et dans 1,2% de glycérol à 24°C (rouge)

### 3.2.2 Les paramètres de réhydratation : temps de mouillage, temps de gonflement et temps de réhydratation

Les moyennes des temps de mouillage, de gonflement et de réhydratation mesurés à partir des profils de turbidité et correspondant à trois expérimentations indépendantes sont présentées dans le **tableau 21**.

**Tableau 21 : Paramètres de réhydratation obtenus pour les six poudres (n=3)**

nature des poudres <sup>1</sup>	granulation <sup>2</sup>	mode d'incorporation <sup>3</sup>	paramètres de réhydratation <sup>4</sup>					
			Tm (s)		Tg (s)		Tr (s)	
			moyenne	$\sigma$	moyenne	$\sigma$	moyenne	$\sigma$
PPCN	NG	-	190	9	1004	9	34 293	1260
PS	NG	-	1009***	27	no	-	1009***	27
(PPCN + PS)	NG	CS	354***	17	1358***	24	11 023***	512
PPCN	G	-	26	2	138	8	48 436	337
PS	G	-	239***	9	no	-	239***	9
(PPCN + PS)	G	CS	201***	7	no	-	6349***	88

<sup>1</sup> PPCN : phosphocasinat natif ; PS : protéine soluble.

<sup>2</sup> G: granule ; NG non granulé.

<sup>3</sup> CS : co-séchage.

<sup>4</sup> no : non observé ; Tg : temps de gonflement ; Tm : temps de mouillage ; Tr : temps de réhydratation ;  $\sigma$  : écart type.

Comparaison entre les paramètres du PPCN NG et les autres poudres NG et du PPCN G et les autres poudres G : \*\*\* (P < 0,001).

#### 3.2.2.1 Comparaison des temps de mouillage

La poudre de (PPCN + PS) NG présente un temps de mouillage intermédiaire entre celui de la poudre de PPCN NG et de la poudre de PS NG. Il est significativement plus long que celui de la poudre de PPCN NG ; 354 secondes au lieu de 190 secondes.

Pour la poudre granulée, le temps de mouillage est toujours significativement différent de celui de la poudre de PPCN ; 201 secondes au lieu de 26 secondes. Il est également toujours intermédiaire entre le temps de mouillage de la poudre de PPCN G et de la poudre de PS G. Par contre, il se rapproche du temps de mouillage obtenu par les PS G.

#### 3.2.2.2 Comparaison des temps de gonflement

Le temps de gonflement du mélange NG est de 1358 secondes. Ce temps est supérieur à celui du PPCN NG. Pour le mélange G, aucun gonflement n'est mis en évidence sur les profils de turbidité. Par contre, en ralentissant les étapes de réhydratation par diminution de la température ou augmentation de la viscosité du milieu, cette étape apparaît (**figure 65**). On

peut en conclure que le gonflement a bien lieu mais qu'il est trop rapide et donc confondu dans le pic du mouillage.

### 3.2.2.3 Comparaison des temps de réhydratation

Le temps de réhydratation du mélange est significativement réduit par rapport à la poudre de PPCN pour les deux granulations. Il est, comme pour le temps de mouillage, intermédiaire entre les temps de réhydratation du PPCN et des PS. Il est très étonnant de constater une telle diminution du temps de réhydratation par rapport à celui du PPCN par l'ajout de seulement 20% de protéines solubles. Le Tr passe ainsi de 34 200 secondes pour le PPCN NG à 11 000 secondes pour le mélange NG et de 48 400 secondes pour le PPCN G à tout juste 6350 secondes pour le mélange G.

### 3.2.3 Discussion

Les poudres de (PPCN + PS) co-séchées présentent un comportement intermédiaire entre celui des deux familles de protéines. Avec seulement 20% de protéines solubles, les temps de réhydratation (Tm ; Tg et Tr) de ces poudres se rapprochent plus de ceux du PS seul que du PPCN seul.

Les temps de mouillages sont ainsi rallongés par rapport à ceux du PPCN. Ce résultat est logique car nous avons déjà mis en évidence les mauvaises propriétés de mouillage des poudres de PS dans le chapitre précédent (§3.1). L'ajout de protéines solubles dans le mélange va donc entraîner un rallongement du temps de mouillage.

Les résultats concernant le temps de gonflement dépendent de la granulation du système. En effet, l'absence de gonflement pour le mélange granulé est expliqué par le fait que cette étape est trop rapide pour apparaître sur le profil. Elle est donc masquée par le pic de mouillage. Par contre, pour le mélange non granulé, le temps de gonflement est plus tardif que pour le PPCN seul. Le délai observé pourrait s'expliquer par le rallongement du temps de mouillage ; la poudre NG se mouillant plus lentement, l'étape suivante est par conséquent décalée.

Il apparaît par contre sans ambiguïté, que l'addition de protéines solubles à la caséine induit une réduction du temps de réhydratation. Ce phénomène pourrait s'expliquer par une augmentation des transferts d'eau en cours de réhydratation. Une amélioration notable de la réhydratation de poudres de PPCN additionnées de 12% de protéines solubles est également notée par des études RMN (Davenel *et al.*, 2002). Les auteurs supposent que l'encombrement stérique des protéines solubles pourrait réduire le repliement des caséines pendant le séchage, permettant ensuite une réhydratation plus rapide. De plus, nous avons mis en évidence qu'une

---

diminution de la concentration en caséine micellaire permet d'obtenir une réhydratation plus rapide (**figure 60**). Nous pouvons donc également supposer que l'ajout de PS dans le concentré diminue la concentration en caséine micellaire qui serait alors un facteur limitant le transfert d'eau.

Dans une émulsion contenant un mélange de protéines sériques et de caséines, ces dernières, de part leurs propriétés interfaciales, vont préférentiellement se localiser aux interfaces au détriment des protéines sériques (Dickinson *et al.*, 1989 ; 1999). Des auteurs ont également relié ces propriétés des interfaces liquides/liquides aux interfaces liquide/air de la gouttelette après pulvérisation et par extrapolation à la surface de la particule sèche (Fäldt, 1995 ; Millqvist-Fureby *et al.*, 2001 ; Kim *et al.*, 2003 ; Nijdam et Langrish, 2005 ; Kentish *et al.*, 2005). Si l'on suit ces modèles, la surface des poudres contenant du PPCN et des PS dans un rapport 80/20 ne devrait présenter pratiquement que des caséines en surface. Dans ce cas, les temps de mouillage des poudres de PPCN et de (PPCN + PS) seraient proches ce qui n'est pas du tout le cas. L'allongement du temps de mouillage dans les poudres contenant le mélange protéique suggère donc la présence de protéines solubles en surface.

**L'ajout de seulement 20% de PS à une poudre de PPCN par co-séchage va significativement rallonger le temps de mouillage et raccourcir le temps de réhydratation.**

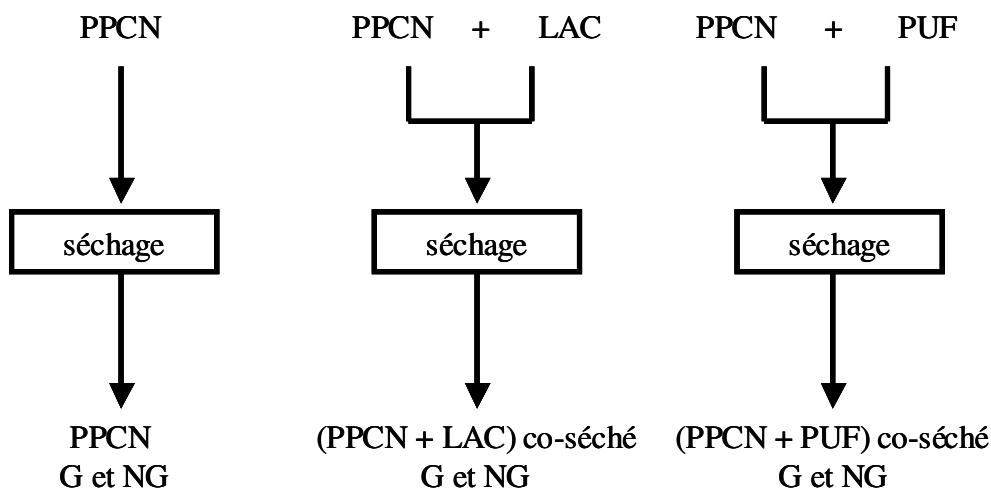
**La présence de protéines solubles en surface, connues pour leurs mauvaises propriétés de mouillage, pourrait expliquer l'augmentation du temps de mouillage par rapport à la poudre de PPCN seule. La réduction du temps de réhydratation pourrait s'expliquer par une réduction du repliement des caséines au contact des PS pendant le séchage, permettant ensuite une réhydratation plus rapide.**

### 3.3 Influence de l'ajout de composés hygroscopiques au phosphocaséinate natif

L'influence de l'ajout de composés hygroscopiques (lactose et perméat d'ultrafiltration) sur la réhydratation du PPCN ainsi que la localisation des ces composés dans la particule sont étudiées à partir de trois compositions de poudres :

- PPCN à 90% de MAT,
- PPCN additionné de lactose (**PPCN + LAC**) à 70% de MAT,
- PPCN additionné de perméat d'ultrafiltration (**PPCN + PUF**) à 70% de MAT.

Chaque composition présente deux types de granulation : poudre granulée (G) et poudre non granulée (NG). Le schéma de fabrication des six poudres analysées dans cette partie est présenté sur la **figure 69**.

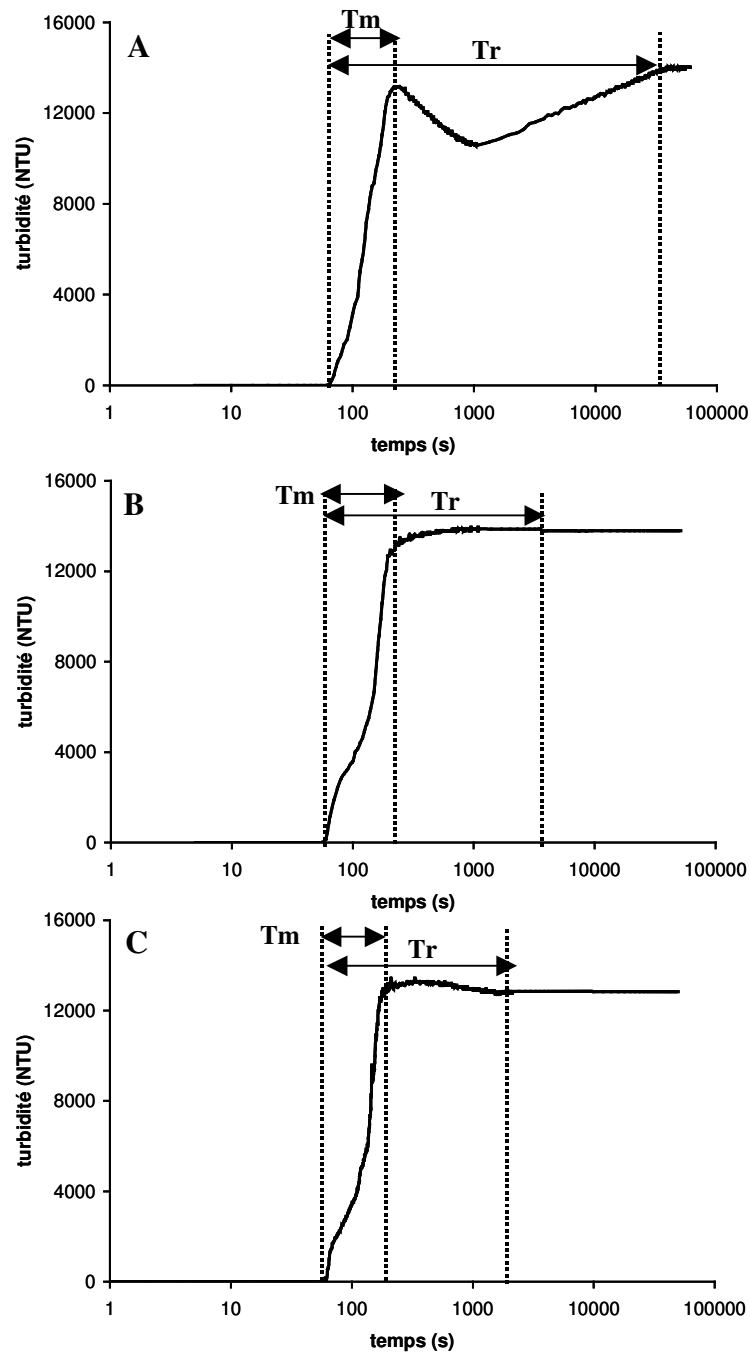


**Figure 69 : Schéma de fabrication des six poudres**  
 G : granulé ; NG : non granulé ; LAC : lactose ; PPCN : phosphocaséinate natif ; PUF : perméat d'ultrafiltration.

#### 3.3.1 Les propriétés de réhydratation des poudres

##### 3.3.1.1 Description des profils de réhydratation obtenus pour les poudres non granulées

Les profils de turbidité des poudres non granulées de PPCN, de (PPCN + LAC) et de (PPCN + PUF) sont présentés respectivement sur la **figure 70A, B et C**. Ceux obtenus pour les poudres granulées présentent exactement les mêmes étapes ; leur durée est juste différente. Pour la poudre de PPCN (**figure 71A**), trois phases sont observées correspondant au temps de mouillage, au temps de gonflement et au temps de réhydratation. Nous ne nous intéresserons pas



**Figure 70 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de poudres non granulées de PPCN (A), (PPCN + LAC) (B) et (PPCN + PUF) (C) à 24°C et à 5% de MAT pendant 60 000 secondes  
 T<sub>m</sub> : temps de mouillage ; T<sub>r</sub> : temps de réhydratation**

au temps de gonflement dans cette partie de l'étude. Une stabilisation de la turbidité (14 000 NTU) correspondant au temps de réhydratation apparaît après 36 000 secondes de réhydratation. Pour la poudre de (PPCN + LAC) (**figure 70B**), le temps de mouillage (T<sub>m</sub>) est légèrement plus rapide et celui de réhydratation (T<sub>r</sub>) est fortement réduit. La stabilisation de la turbidité se fait sur 13 800 NTU et survient après seulement 6000 secondes de réhydratation.

La poudre de (PPCN + PUF) présente un temps de mouillage intermédiaire entre celui des deux autres poudres. Par contre, la stabilisation de la turbidité à 12 900 NTU est très rapide et apparaît après 1700 secondes de réhydratation environ.

### 3.3.1.2 Comparaison des paramètres de réhydratation : temps de mouillage et temps de réhydratation

Le **tableau 22** présente les paramètres de réhydratation obtenus pour les six poudres. Par comparaison avec le PPCN NG, le temps de mouillage du (PPCN + LAC) NG passe de 130 à 100 secondes. Le temps de réhydratation est également réduit de 36 000 à 5800 secondes. Pour la poudre de (PPCN + PUF) NG, le temps de mouillage est intermédiaire entre celui des deux autres poudres. Le temps de réhydratation est encore plus réduit, soit environ 1700 secondes pour réhydrater la poudre.

**Tableau 22 : Paramètres de réhydratation obtenus à partir des profils de turbidité (n=3)**

nature des poudres <sup>1</sup>	mode d'incorporation <sup>2</sup>	paramètres de réhydratation			
		Tm (s)		Tr (s)	
		moyenne	$\sigma$	moyenne	$\sigma$
PPCN NG	-	130	11	35 833	1489
(PPCN + LAC) NG	CS	100*	4	5827***	533
(PPCN + PUF) NG	CS	109*	6	1708***	112
PPCN G	-	82	9	45 013	1902
(PPCN + LAC) G	CS	43*	4	6989***	647
(PPCN + PUF) G	CS	59*	2	3111***	128

<sup>1</sup> G : granulé ; LAC : lactose ; NG : non granulé ; PPCN : phosphocasinat natif ; PUF : perméat d'ultrafiltration.

<sup>2</sup> CS : co-séchage.

Comparaison entre les paramètres du PPCN NG et les autres poudres NG et du PPCN G et les autres poudres G : \*\*\* (P < 0,001).

\* (P < 0,05).

Pour les poudres granulées, l'addition de lactose (PPCN + LAC) ou de perméat d'ultrafiltration (PPCN + PUF) améliore significativement à la fois le temps de mouillage et le temps de réhydratation. Par comparaison avec le PPCN G, le temps de mouillage du (PPCN + LAC) G passe de 82 à 43 secondes et le temps de réhydratation est également réduit de 45 000 à 7000 secondes. Pour la poudre de (PPCN + PUF) G, le temps de réhydratation est encore plus rapide (3100 secondes).

### 3.3.2 Composition de surface des poudres mesurée par spectroscopie de photoélectrons X (SPX)

La technique SPX permet une analyse non-destructive de la composition chimique d'une surface. Elle renseigne sur la nature des atomes présents et des liaisons chimiques. Ces informations couplées aux temps de réhydratation vont nous permettre de mieux évaluer les relations existant entre la localisation des composés et les propriétés de réhydratation des poudres.

Pour cela, la technique sera d'abord validée sur des échantillons de référence avant d'être appliquée aux six poudres de l'étude. Une détermination de la nature des atomes présents en surface et leur quantification nous permettra de remonter à la composition de surface (lactose, protéines, lipides). A partir de la nature des liaisons présentes en surface, des informations sur l'hydrophobicité globale de la surface seront également obtenues.

#### 3.3.2.1 Validation de la technique sur des échantillons de référence : lactose, lipides et protéines

La composition de surface de trois échantillons de référence est évalué par SPX dans le but d'estimer l'exactitude de l'analyse sur des poudres laitières. Pour cela trois références sont choisies : une poudre de lactose monohydraté (VWR-Prolabo, Fontenay sous Bois, France), une poudre de caséine (Sigma-Aldrich Chimie, Lyon, France) et de la matière grasse laitière anhydre obtenue à partir de la centrifugation de beurre fondu.

**Tableau 23 : Composition élémentaire des échantillons de référence analysés par SPX**

Échantillon de référence		composition élémentaire		
		C (%)	O (%)	N (%)
Caséine	Valeur moyenne <sup>a</sup>	68,2	18,5	13,3
	$\sigma$	0,9	2,8	0,6
	Valeur théorique <sup>b</sup>	65,0	19,0	16,0
	Erreur <sup>c</sup>	4,7	2,7	20,3
Matière grasse laitière anhydre	Valeur moyenne <sup>a</sup>	87,0	12,3	0,7
	$\sigma$	0,5	0,5	0,2
	Valeur théorique <sup>b</sup>	89,1	10,9	-
	Erreur <sup>c</sup>	2,3	11,3	-
Lactose	Valeur moyenne <sup>a</sup>	61,6	38,4	-
	$\sigma$	2,8	2,8	-
	Valeur théorique <sup>b</sup>	52,2	47,8	-
	Erreur <sup>c</sup>	15,3	24,5	-

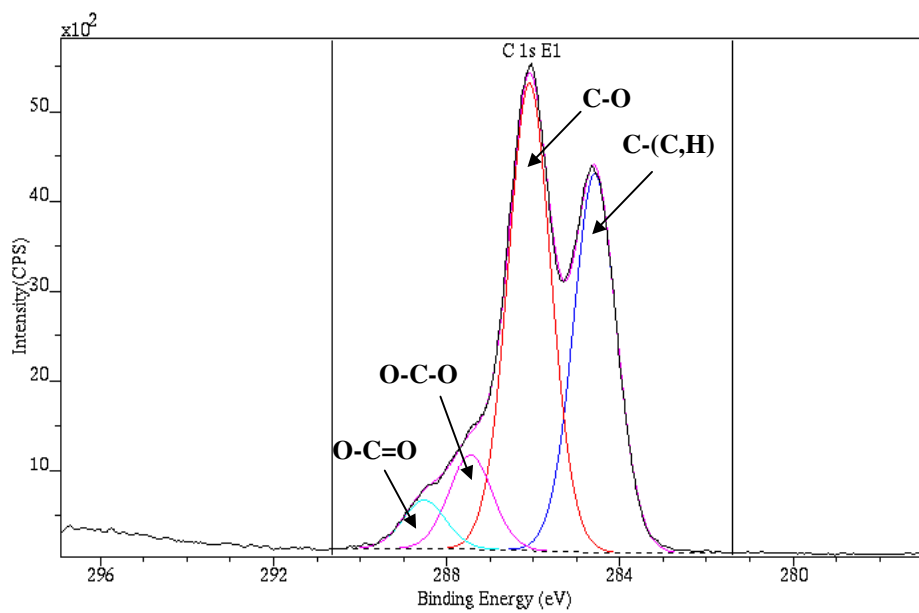
<sup>a</sup> Moyenne de trois mesures indépendantes obtenues par SPX.

<sup>b</sup> Calculé sur la base de la formule chimique.

<sup>c</sup> Erreur (%) = [(valeur moyenne – valeur théorique calculée)/(valeur moyenne)] x 100.

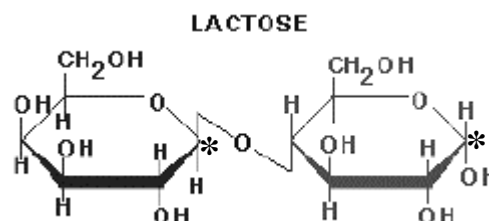


Dans le **tableau 23**, les compositions élémentaires théoriques et obtenues par SPX des échantillons de référence sont comparées. La composition élémentaire de la matière grasse laitière anhydre et de la caséine correspond relativement bien aux valeurs calculées à partir des formules chimiques et/ou utilisées par différents auteurs (Fäldt *et al.*, 1993; Fäldt, 1995; Kim *et al.*, 2002). Les traces d'azote trouvées dans la matière grasse laitière anhydre ne sont par contre jamais mentionnées dans ces études et donc systématiquement négligées. Pourtant, cet azote correspond à des protéines contenues dans la membrane des globules gras comme des glycoprotéines (Mather, 2000; Alzagtat et Alli, 2002). Par contre, la composition élémentaire obtenue par SPX pour le lactose diffère des valeurs théoriques attendues.



**Figure 71 : Décomposition du pic  $C_{1s}$  de la poudre de lactose de référence en 4 pics correspondant aux liaisons : C-(C,H), C-O, O-C-O et O-C=O**

Le spectre du lactose en **figure 71** montre 4 pics. Compte tenu de la formule chimique (**figure 72**) du lactose seulement deux pics sont attendus (C-O et O-C-O) :



**Figure 72 : Formule chimique du lactose contenant deux carbones\* (O-C-O) et dix carbones (C-O)**

Les pics parasites correspondant à des liaisons C-C et O-C=O, seraient dus à une contamination de la surface. C'est en effet ce type de liaisons que l'on retrouve préférentiellement dans la contamination de surface d'après Dengis *et al.* (1995) et Gerin *et al.* (1995). Si l'on recalcule le pourcentage de carbone et d'oxygène en négligeant ces deux pics ; on obtient 53% de carbone et 47% d'oxygène. Ces valeurs sont très proches des valeurs théoriques attendues pour le lactose (**tableau 23**).

Pour minimiser les erreurs dues aux contaminations de surface et inhérentes à l'analyse SPX, les résultats seront traités en utilisant deux types de matrices :

- matrice utilisant les données expérimentales moyennes du **tableau 23** :

$$I^C = \alpha P \times 68,2 + \alpha L \times 61,6 + \alpha F \times 87$$

$$I^O = \alpha P \times 18,5 + \alpha L \times 38,4 + \alpha F \times 12,3$$

$$I^N = \alpha P \times 13,3 + 0 + \alpha F \times 0,7$$

- matrice utilisant les données théoriques du **tableau 23** :

$$I^C = \alpha P \times 65 + \alpha L \times 52,2 + \alpha F \times 89,1$$

$$I^O = \alpha P \times 19 + \alpha L \times 47,8 + \alpha F \times 10,9$$

$$I^N = \alpha P \times 16 + 0 + 0$$

avec : -  $I^C, I^O, I^N$ , les fractions molaires de carbone, d'oxygène et d'azote à la surface de l'échantillon ; ces valeurs sont directement obtenues à partir des aires des pics SPX  $C_{1s}$ ,  $O_{1s}$  et  $N_{1s}$ .

- $\alpha P, \alpha L, \alpha F$ , respectivement la surface en protéines, lactose et lipides (en %).

### 3.3.2.2 Interprétation des spectres

#### ▪ Pour la détermination de la composition de surface

Dans la **figure 73**, un spectre global de la poudre de PPCN non granulée est présenté. Ce spectre permet l'identification et la quantification des pics  $O_{1s}$ ,  $N_{1s}$ ,  $Ca_{2p}$ ,  $C_{1s}$ ,  $S_{2p}$  et  $P_{2p}$ . Les éléments  $Ca_{2p}$ ,  $S_{2p}$  et  $P_{2p}$  étant à l'état de traces et leur addition ne dépassant pas 1%, ils seront négligés dans la mesure de la composition de surface.

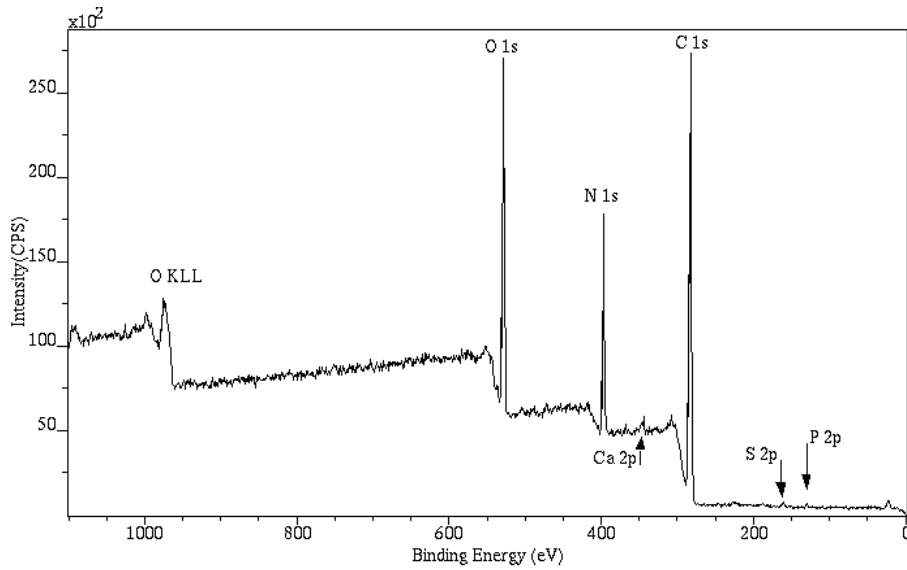


Figure 73 : Spectre global d'une poudre de PPCN non granulée

À partir des pourcentages en carbone, oxygène et azote, le pourcentage de surface en protéines, lactose et lipides est calculé avec les deux matrices d'équations présentées §3.3.3.1.

▪ Pour la détermination de la nature des liaisons de surface

Les pics des trois principaux éléments ( $O_{1s}$ ,  $N_{1s}$ ,  $C_{1s}$ ) sont présentés sur la **figure 74**. Ils sont décomposés à l'aide d'un modèle publié par Gerin *et al.* (1995). Le pic  $O_{1s}$  est décomposé en 3 pics attribués aux liaisons :  $\underline{O}=\underline{C}$ ,  $\underline{O}-\underline{C}$  et  $\underline{H}_2\underline{O}$  ou  $\underline{O}-\underline{C}=\underline{O}$  (**figure 74a**). Le pic  $C_{1s}$  est décomposé en 4 pics correspondant aux liaisons :  $\underline{C}-(\underline{C}, \underline{H})$ ,  $\underline{C}-(\underline{O}, \underline{N})$ ,  $\underline{C}=\underline{O}$  et  $\underline{O}-\underline{C}=\underline{O}$  (**figure 74b**). Le pic  $N_{1s}$  est décomposé en deux pics :  $\underline{C}-\underline{NH}$  et  $\underline{C}-\underline{NH}^{3+}$  (**figure 74c**).

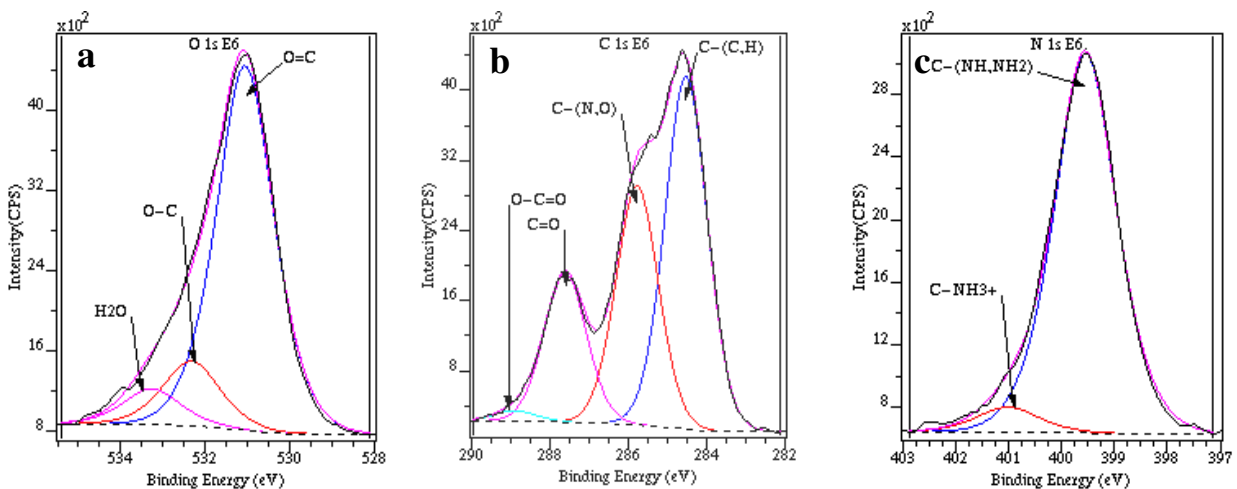


Figure 74 : Spectres de détail des pics de l'oxygène (a), carbone (b) et azote (c)

### 3.3.2.3 Composition de surface obtenue d'après les matrices théoriques et expérimentales

Le **tableau 24** présente la composition de surface calculée à partir des deux matrices (expérimentale et théorique) ainsi que la composition globale des poudres.

#### ▪ Protéines en surface

D'après le **tableau 24**, toutes les poudres sont majoritairement recouvertes de protéines. En utilisant la matrice expérimentale, le PPCN non granulé est entièrement recouvert de protéines alors que pour le PPCN granulé, les protéines recouvrent 94% de la surface. Le pourcentage de protéines en surface des poudres de (PPCN + LAC) et (PPCN + PUF) est d'environ 90 % pour les poudres non granulées et de 80% pour les poudres granulées.

En utilisant les valeurs théoriques dans la matrice, le pourcentage de protéines en surface est systématiquement inférieur de 12% environ par rapport à la matrice expérimentale.

#### ▪ Lipides en surface

Avec la matrice expérimentale, entre 0 et 6% de lipides sont mesurés en surface des poudres. En utilisant la matrice théorique, les pourcentages sont plus importants et avoisinent les 20 % pour les poudres granulées et les 15% pour les poudres non granulées.

#### ▪ Lactose en surface

Comme attendu, la surface des poudre de PPCN ne présente pas de lactose. Par contre, du lactose est présent en surface des poudres de (PPCN + LAC) et de (PPCN + PUF). Quelle que soit la matrice utilisée, les pourcentages en lactose sont du même ordre ; soit 12 et 16% pour les poudres granulées ainsi que 5 et 9% pour les poudres non granulées.

**Tableau 24 : Composition globale et composition de surface calculée avec les deux types de matrices (n=2)**

nature des poudres <sup>1</sup>	composition globale (%)			composition de surface (%)					
	protéine	lactose	lipide	calculée avec la matrice expérimentale			calculée avec la matrice théorique		
protéine				lactose	lipide	protéine	lactose	lipide	
PPCN G	99,2	0,5	0,3	94	0	6	79	0	21
PPCN NG	99,2	0,4	0,4	100	0	0	85,5	0	14,5
(PPCN + LAC) G	74,7	24,8	0,5	74	19	5	62,6	15,7	21,7
(PPCN + LAC) NG	74,7	24,9	0,4	89,4	8,9	1,7	74,4	8,9	16,7
(PPCN + PUF) G	75,0	24,5	0,5	80	14,2	3,8	67,5	11,9	20,6
(PPCN + PUF) NG	75,3	24,3	0,4	91,3	3,4	5,3	76,2	5,1	18,7

<sup>1</sup> G : granulé ; LAC : lactose ; NG : non granulé ; PPCN : phosphocasinat natif ; PUF : perméat d'ultrafiltration.

### ▪ Comparaison composition globale / composition de surface

Il apparaît, quelle que soit la matrice utilisée, que la composition de surface est différente de la composition globale. Tout d'abord, les protéines semblent localisées préférentiellement en surface. Ceci est en accord et complète les observations de Fäldt (1995); Fäldt et Bergenståhl (1996b) et Kim *et al.* (2002). En effet, les caséines qui ont des propriétés tensioactives ont tendance à s'adsorber préférentiellement à l'interface air/liquide des gouttelettes avant le séchage, se retrouvant ensuite en surface des poudres (Millqvist-Fureby *et al.*, 1999). Quelle que soit la matrice utilisée, le pourcentage en lipides est également très élevé par rapport au pourcentage de lipides dans la composition globale (0,4%). A l'opposé, le lactose semble plus localisé au cœur des particules. En effet, peu de lactose est retrouvé en surface des poudres de (PPCN + LAC) et (PPCN + PUF) par rapport à la composition globale.

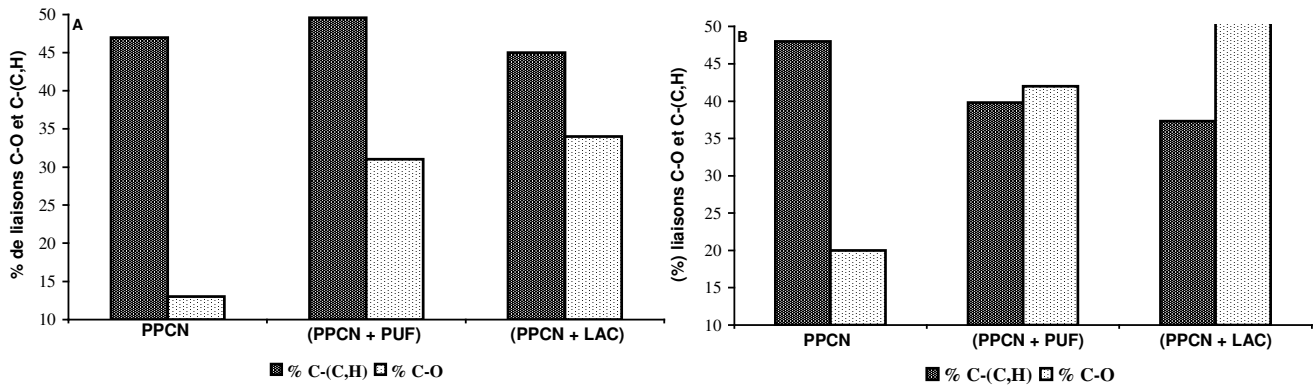
Une tendance liée à la granulation de la poudre semble également apparaître. Les poudres granulées présentent systématiquement plus de lactose en surface alors que les non granulées ont plus de protéines en surface pour une composition globale identique. Cette observation peut être liée au procédé d'obtention des particules et sera développée en détail dans la partie 4 (influence du procédé technologique sur la réhydratation).

#### 3.3.2.4 Nature des liaisons présentes à la surface des particules

Dans les études SPX des poudres laitières, tous les auteurs analysent la composition de surface en utilisant le système d'équations de Fäldt (1995). Néanmoins, certaines approximations sont effectuées en utilisant ce système. Nous avons vu que les pourcentages théoriques et expérimentaux d'échantillons de référence ne sont pas toujours identiques. C'est pour cette raison que nous nous sommes intéressés à l'analyse des liaisons de surface. C'est ce que font par exemple les microbiologistes qui travaillent sur des matériaux plus complexes que les poudres laitières. Sans avoir d'informations précises sur la composition de surface, il est possible d'obtenir des indications sur l'hydrophobicité de surface (Amory *et al.*, 1988 ; Amory et Rouxhet 1988 ; Mozes *et al.*, 1988 ; Rouxhet *et al.*, 1994).

Il apparaît sur la **figure 75**, des différences significatives dans les liaisons de surface selon la poudre analysée. Ainsi, quelle que soit la granulation, le pourcentage de liaisons C-O, c'est à dire de liaisons plutôt hygroscopiques, est plus important pour les poudres de (PPCN + LAC) et (PPCN + PUF) que PPCN. La présence de liaisons C-(C,H), donc plutôt hydrophobes est inversement proportionnelle aux liaisons C-O pour les poudres granulées. Pour les poudres non granulées, le pourcentage en liaisons C-(C,H) est constant (environ

45%). Notons également des différences entre poudre G et NG. Ainsi, le pourcentage de liaisons C-O en surface est systématiquement plus élevé pour les poudres G.

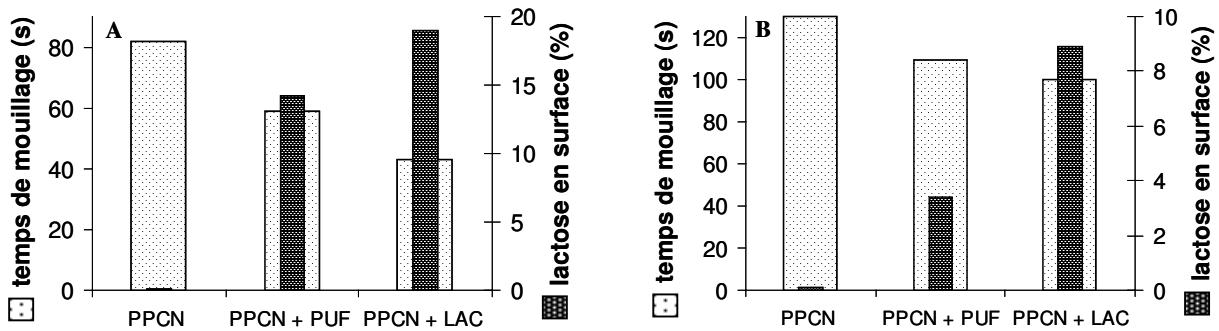


**Figure 75 : Nature de certaines liaisons [C-(C,H) et C-O] à la surface des particules**  
**A : poudres non granulées et B : poudres granulées**  
**LAC : lactose ; PPCN : phosphocasinat natif ; PUF : perméat d'ultrafiltration**

### 3.3.3 Relations entre la composition de surface et les paramètres de réhydratation

#### 3.3.3.1 Relations entre la composition de surface et le temps de mouillage

Pour les six poudres étudiées, nous remarquons une corrélation entre le pourcentage de lactose en surface et le temps de mouillage. Les temps de mouillage les plus courts sont systématiquement obtenus pour les poudres présentant le plus de lactose en surface (**figure 76**). La présence de lactose en surface, qui est un composé hygroscopique, semble donc améliorer le mouillage des poudres de protéines étudiées. Le mouillage a déjà été relié au pourcentage de lactose en surface sur des mélanges PS/lactose/lipides (Faldt et Bergenståhl, 1996b; Kim *et al.*, 2002) mais pas encore sur des poudres de caséine. Le temps de dissolution des poudres étudiées passe ainsi de 4 à 15 et 35 secondes pour une composition de surface en lactose respectivement de 70, 40 et 0%.



**Figure 76 : Relation entre le temps de mouillage et le pourcentage de lactose en surface : A : poudres granulées et B : poudres non granulées  
LAC : lactose ; PPCN : phosphocasinat natif ; PUF : perméat d’ultrafiltration**

La composition de surface en protéine est également inversement corrélée aux temps de mouillage ; les temps de mouillage les plus courts étant obtenus pour les poudres contenant le moins de protéines en surface. Par contre aucune relation nette ne peut être établie entre les temps de mouillage et la composition de surface en lipides contrairement à d’autres études où la présence de lipides en surface semblait détériorer la mouillabilité des poudres (Fäldt et Bergenståhl, 1996b; Kim *et al.*, 2002).

### 3.3.3.2 Relation entre la nature des liaisons de surface et le temps de mouillage

Il apparaît sur la **figure 77**, un lien entre le temps de mouillage et le pourcentage de liaisons C-O. Plus le pourcentage de liaisons hydrophiles est élevé plus le temps de mouillage est rapide. Par contre, aucune relation avec le pourcentage de liaisons C-C n’est mis en évidence pour les poudres non granulées.

### 3.3.3.3 Relations entre la composition de surface et le temps de réhydratation

L’amélioration du temps de réhydratation observé pour les poudres de (PPCN + LAC) et de (PPCN + PUF) peut certainement s’expliquer par la présence de lactose dans le cœur des particules. En effet, le lactose est loin d’être retrouvé en totalité en surface des particules. Pour les poudres non granulées, respectivement 1/3 et 1/6 du lactose est présent en surface du (PPCN + LAC) et du (PPCN + PUF). On peut supposer que la présence dans le cœur de la particule d’un composé hygroscopique tel que le lactose améliore la dispersion des différents éléments et par là même réduise le temps de réhydratation.

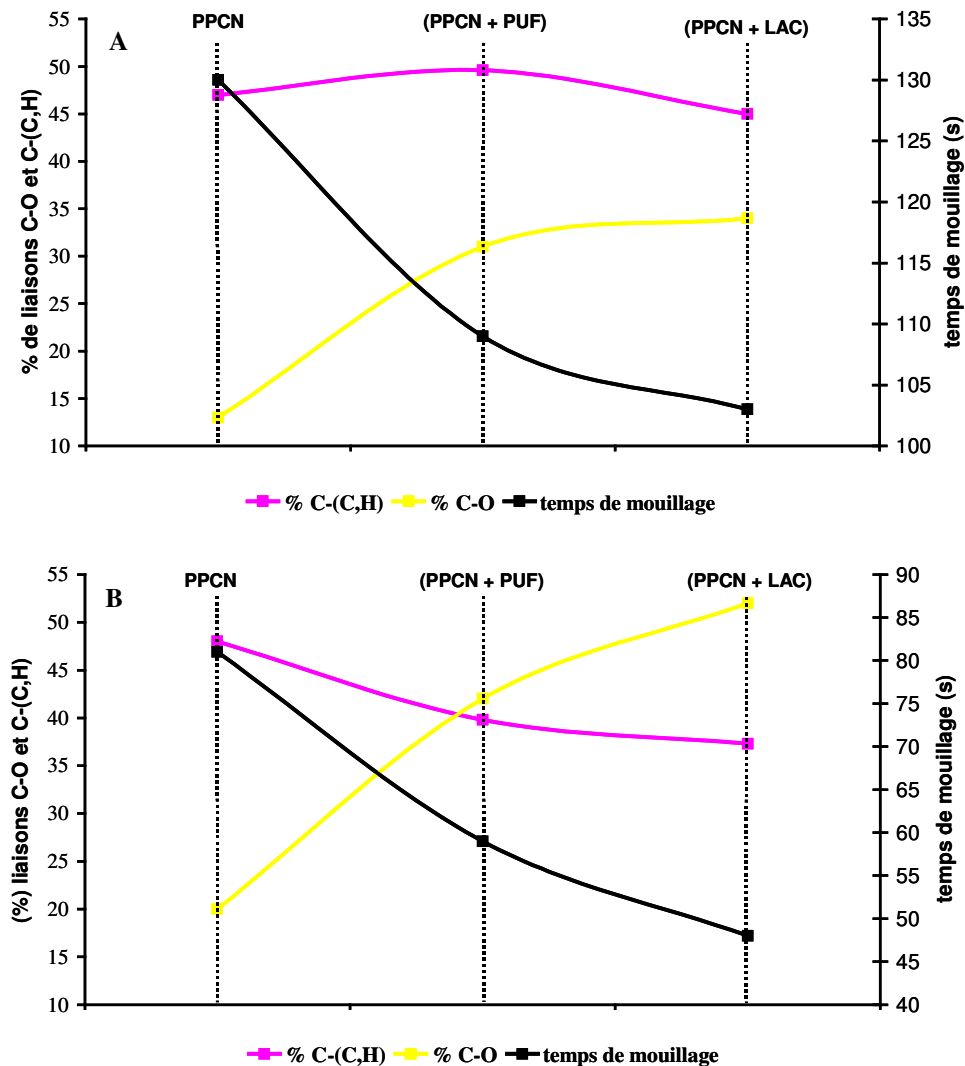


Figure 77 : Mise en évidence des relations entre les temps de mouillage et la nature des liaisons de surface pour les poudres non granulées (A) et granulées (B)

Une analyse de la localisation des minéraux dans les particules peut expliquer l'obtention des temps de réhydratation plus courts pour les poudres de (PPCN + PUF) par rapport aux poudres de (PPCN + LAC). En effet, la poudre de (PPCN + PUF) contient en plus des minéraux colloïdaux, les minéraux solubles du lait. Or, on ne retrouve pas plus de minéraux en surface de ces dernières (**tableau 25**). On peut donc supposer une localisation préférentielle des minéraux dans le cœur de la particule. La présence simultanée de lactose et de minéraux (constituants hygroscopiques) dans le cœur de la particule pourrait donc expliquer les temps de réhydratation du (PPCN + PUF) les plus rapides en favorisant les transferts d'eau et la dispersion des particules.



Tableau 25 : Pourcentage de minéraux en surface des poudres obtenus par XPS

nature de la poudre <sup>1</sup>	% de minéraux en surface (Ca + S + P) <sup>2</sup>
PPCN G	1,2
PPCN NG	1,0
(PPCN + LAC) G	0,9
(PPCN + LAC) NG	0,7
(PPCN + PUF) G	0,7
(PPCN + PUF) NG	0,5

<sup>1</sup> G : granulé ; LAC : lactose ; NG : non granulé ; PPCN : phosphocasinat natif ; PUF : perméat d'ultrafiltration.

<sup>2</sup> Ca : calcium ; P : phosphate ; S : soufre.

### 3.3.4 Discussion

Comme attendu la présence de composés hygroscopiques tels que du lactose et/ou des minéraux du lait entraînent une amélioration générale des propriétés de réhydratation des poudres. A partir des profils de turbidité, nous avons mis en évidence que le temps de mouillage est légèrement raccourci quelle que soit la granulation. Mais c'est principalement une amélioration du temps de réhydratation qui est observé par l'addition de seulement 20% de lactose ou de perméat d'ultrafiltration. Le temps de mouillage étant plutôt influencé par la composition de surface alors que la dispersion le sera plus par la composition du cœur des particules ; il en découle les hypothèses suivantes :

- la composition de surface des poudres de (PPCN + LAC) et de (PPCN + PUF) doit présenter du lactose et/ou des minéraux mais en faible quantité ; le temps de mouillage étant seulement légèrement raccourci.
- le cœur des particules doit contenir la majorité du lactose et/ou des minéraux entraînant une dispersion rapide ; le temps de réhydratation étant fortement raccourci.

La technique SPX nous a permis de valider ces hypothèses. Une structure hypothétique des particules de poudre d'après les données de réhydratation et de composition de surface est présentée sur la **figure 78** :

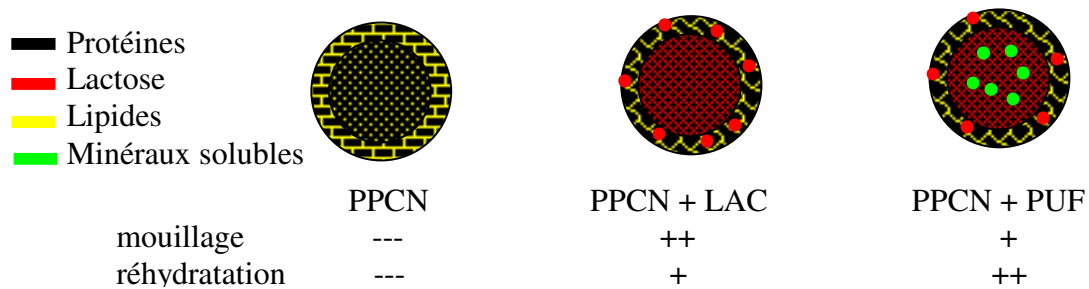


Figure 78 : Structure hypothétique des particules de poudres (les différentes granulations ne sont pas représentées)

La poudre de PPCN, quelle que soit sa granulation, présente une majorité de protéines en surface et également des lipides. Par conséquent, le temps de mouillage est long. Le cœur de la particule est également riche en protéines ce qui entraîne une dispersion lente des composants donc un temps de réhydratation très long. La poudre de (PPCN + LAC) présente en surface des protéines, des lipides mais surtout du lactose. C'est cette poudre qui présente le plus de lactose en surface et par conséquent son temps de mouillage est le plus rapide. Le cœur de la particule contient des protéines mais aussi du lactose puisqu'il n'est pas retrouvé en totalité à la surface. La présence de ce lactose permet une dispersion plus rapide des particules donc un temps de réhydratation plus rapide que pour le PPCN. La poudre de (PPCN + PUF) présente en surface un peu moins de lactose que le (PPCN + LAC) et toujours des lipides et des protéines. Par conséquent, cette poudre va se mouiller rapidement mais moins vite que le (PPCN + LAC). Par contre, le cœur de la particule semble contenir les minéraux solubles du lait et également du lactose. La présence simultanée de ces deux composants va entraîner une dispersion très rapide de la poudre. C'est donc la poudre qui se réhydrate le plus vite.

Indépendamment de la granulation, les poudres additionnées de lactose et/ou de minéraux sont systématiquement moins poreuses que les poudres de PCCN (**tableau 14**). Ceci est en accord avec les travaux de Mistry *et al.* (1992) et Aguilar et Ziegler (1994a ; 1994b). Le transfert d'eau lors de la réhydratation devrait donc être facilité dans les poudres de PPCN qui sont plus poreuses. Or, on voit que dans le cas du PPCN les transferts d'eau sont plus conditionnés par l'hygroscopicité des constituants que par la structure (porosité) des particules.

---

Enfin, il apparaît une bonne adéquation entre les propriétés de réhydratation découlant des profils de turbidité et les interprétations sur la composition de surface ou la nature des liaisons de surface. Globalement, ces six poudres présentent une surface riche en protéines. En effet, les protéines ont tendance à s'adsorber à l'interface air/liquide des gouttelettes avant le séchage et leur composition de surface est ensuite retrouvée en surface des poudres (Millqvist-Fureby *et al.*, 1999). Les composés hygroscopiques tels que le lactose et les minéraux semblent plutôt localisés dans le cœur des particules. Ceci complète les observations de Fäldt et Bergenstahl (1994) ; Landstrom *et al.* (1999) et Mulquevist-Fureby *et al.* (1999) sur des mélanges protéines/lactose. Une sur-représentation de lipides en surface par rapport à la composition globale est également observée. Ceci est en accord avec Fäldt et Bergenstahl (1996) et Nijdam et Langrish (2005). Ces derniers mettent en évidence qu'une augmentation de la composition globale en lipides de 0 à 5% dans une poudre entraîne une augmentation des lipides de surface de 0 à 35%. Par contre, au dessus de 35% de lipides dans la composition globale, cette augmentation serait moins rapide.

**La présence de composés hygroscopiques tel que le lactose et/ou les minéraux du lait permet de raccourcir toutes les étapes de réhydratation. Si ces composés sont localisés en surface, c'est principalement l'étape de mouillage qui sera influencée, alors que s'ils sont dans le cœur de la particule, c'est l'étape de dispersion qui sera modifiée. Les transferts d'eau semblent également plus conditionnés par l'hygroscopicité des constituants que par la structure (porosité) des particules.**

**De plus, quelle que soit la poudre étudiée, les protéines et les lipides seront majoritairement présents en surface alors que le lactose et les minéraux seront plutôt localisés dans la particule. Ces observations complètent les études réalisées à ce jour sur la composition des interfaces des particules de poudre.**



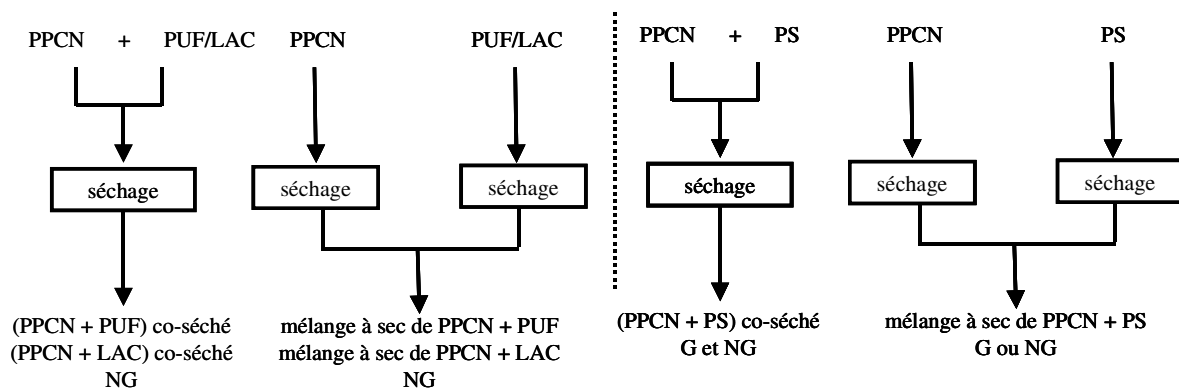
## 4 Influence du procédé technologique sur la réhydratation

### 4.1 Effet du type de mélange : co-séchage (CO) ou mélange à sec (MAS)

Dans le but d'étudier l'influence du type de mélange sur la réhydratation, différentes poudres sont préparées :

- poudres de (PPCN + LAC) obtenues par CS et par MAS
- poudres de (PPCN + PUF) obtenues par CS et par MAS
- poudres de (PPCN + PS) CS obtenues par CS et par MAS

Deux types de granulation (G et NG) sont étudiées pour les mélanges contenant des PS et uniquement des poudres non granulées pour les poudres contenant du PUF ou LAC (**figure 79**).

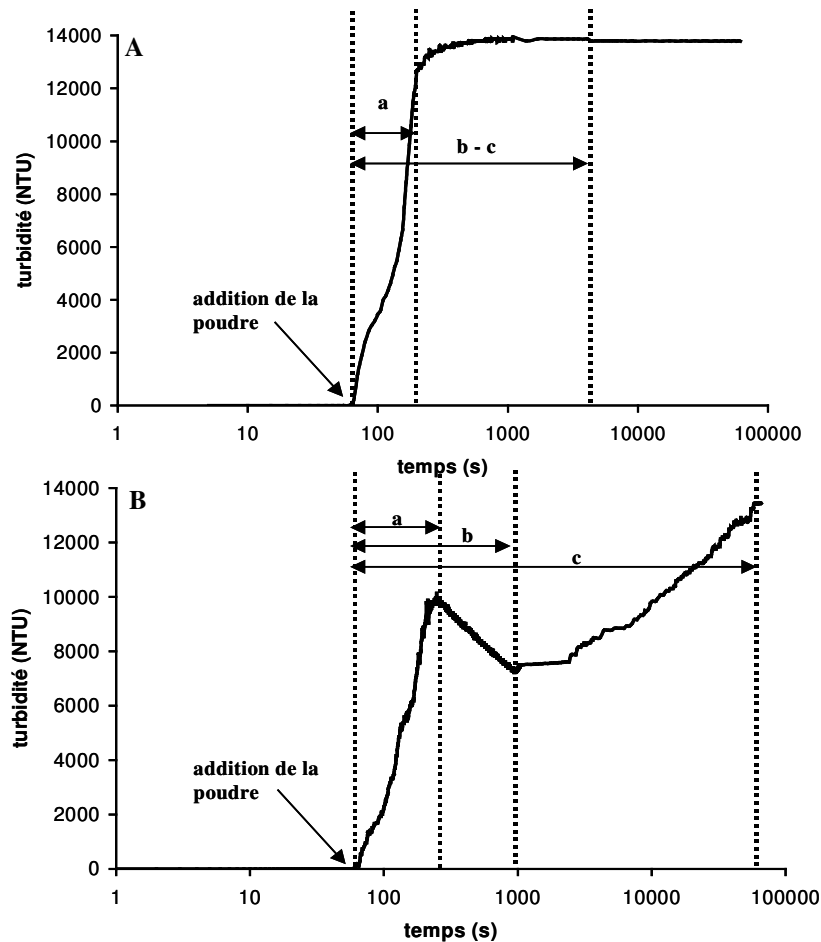


**Figure 79 : Schéma de fabrication des poudres co-séchées et mélangées à sec**  
 G : granulé ; NG : non granulé ; LAC : lactose ; PPCN : phosphocaséinate natif ; PUF : perméat d'ultrafiltration

#### 4.1.1 Influence du type de mélange lors de la réhydratation des caséines micellaires additionnées de composés hygroscopiques

##### 4.1.1.1 Mélange de caséine micellaire et de lactose

Les profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de poudres non granulées de (PPCN + LAC) co-séchées ou mélangées à sec sont présentés sur la **figure 80**. L'influence du type de mélange apparaît clairement. Ainsi, la poudre co-séchée présente un temps de mouillage rapide et surtout un temps de réhydratation beaucoup plus court. Par comparaison, le profil de réhydratation obtenu pour les poudres mélangées à sec présente des temps rallongés. Le temps de mouillage (a) est légèrement plus long, il y également l'apparition du temps de gonflement (b) certainement dû au ralentissement des étapes de réhydratation. Pour terminer, le temps de réhydratation (c) est significativement augmenté. Après 60 000 secondes de réhydratation la poudre n'est toujours pas réhydratée car aucune stabilisation de la turbidité n'est observée.



**Figure 80 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de (PPCN + LAC) NG à 5% de MAT et à 24°C pendant 60 000 secondes ; A : poudre CS ; B : poudre MAS  
a : temps de mouillage ; b : temps de gonflement ; c : temps de réhydratation**

#### 4.1.1.2 Mélange de caséine micellaire et de perméat d'ultrafiltration (lactose + minéraux)

Les profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de poudres non granulées de (PPCN + PUF) co-séchées ou mélangées à sec sont présentés sur la **figure 81**. La poudre co-séchée présente un temps de mouillage et de réhydratation rapide. Par comparaison, le temps de mouillage (a) de la poudre obtenue par mélange à sec est légèrement plus long. Un temps de gonflement (b) apparaît et est certainement dû au ralentissement des étapes de réhydratation. Pour terminer, le temps de réhydratation (c) est significativement augmenté. La poudre ne se réhydrate qu'après 48 000 secondes. Le plateau de turbidité atteint est le même pour les deux poudres soit environ 13 800 NTU.

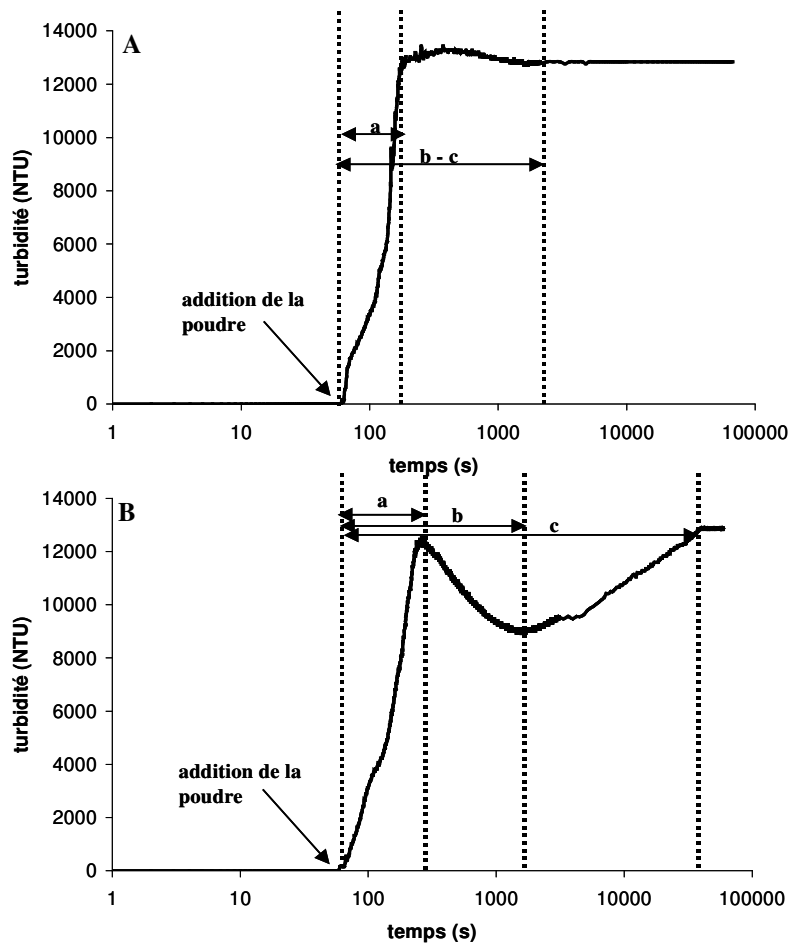
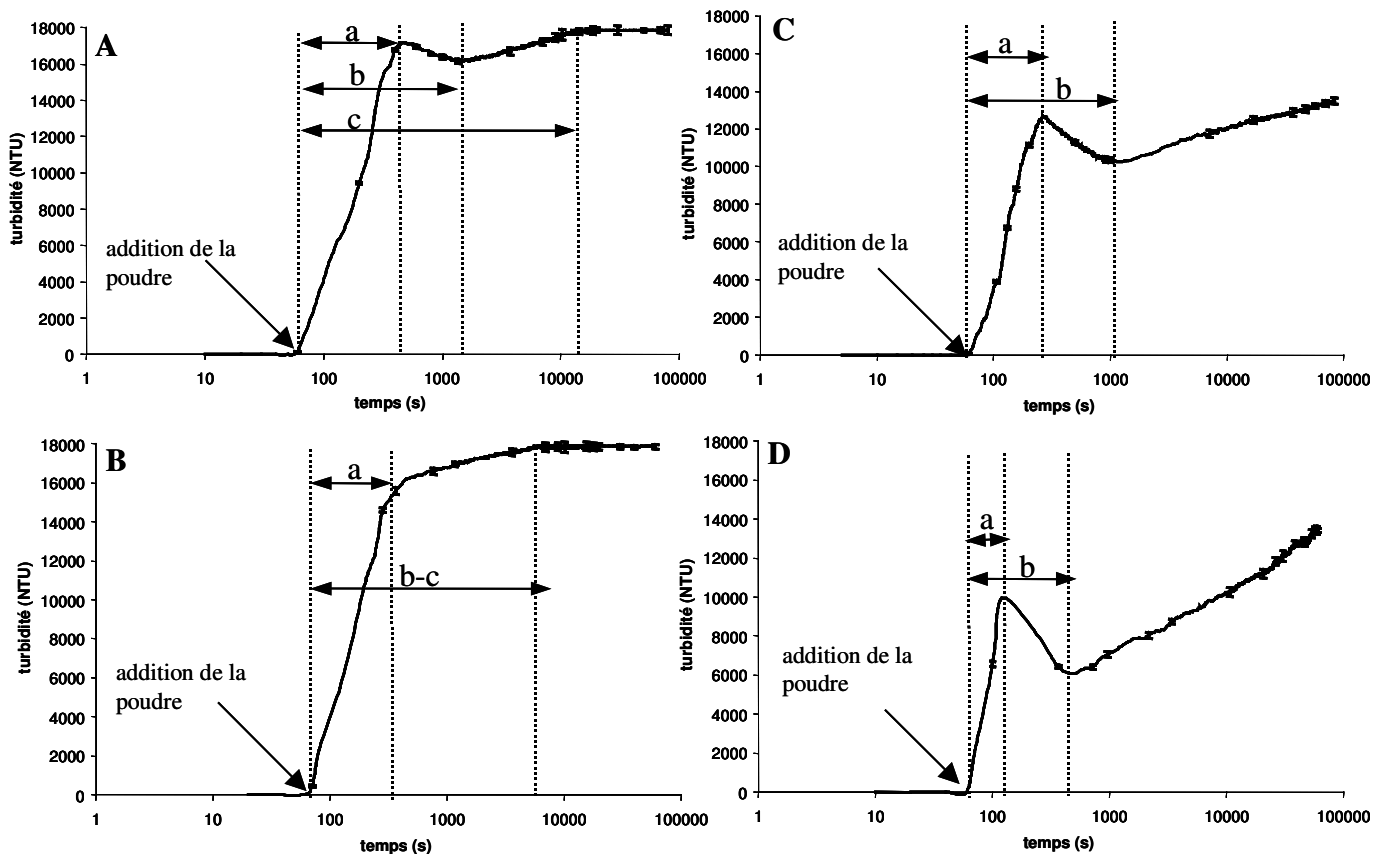


Figure 81 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de (PPCN + PUF) NG à 5% de MAT et à 24°C pendant 60 000 secondes. A : poudre CS ; B : poudre MAS  
 a : temps de mouillage ; b : temps de gonflement ; c : temps de réhydratation

#### 4.1.2 Influence du type de mélange lors de la réhydratation de caséine micellaire additionnée de protéines solubles

Les profils de turbidité des poudres co-séchées (CS) sont présentés sur la **figure 82A et 82B**. Pour les poudres non granulées (**figure 82A**), trois phases sont observées correspondant au mouillage (a), au gonflement (b) et la réhydratation (c) des poudres. Une stabilisation de la turbidité apparaît à 18 000 NTU après 11 000 secondes de réhydratation. Pour les poudres granulées, (**figure 82B**), les temps de mouillage (a) et de réhydratation (c) sont plus rapides puisque la stabilisation de la turbidité à 18 000 NTU survient après 6300 secondes de réhydratation. Aucune diminution de turbidité (b) n'est observée en relation avec un gonflement des particules.

Les profils de turbidité des poudres mélangées à sec (MAS) sont présentés sur la **figure 82C et 82D**. Pour les deux granulations, la phase de stabilisation de la turbidité n'est pas atteinte, même après 80 000 secondes de réhydratation. Par contre, les phases de mouillage (a) et de gonflement (b) sont présentes et plus rapidement atteintes dans le cas de poudres granulées.



**Figure 82 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de (PPCN + PS) à 5% de MAT et à 24°C pendant 80 000 secondes**

**A : poudre CS NG ; B : poudre CS G ; C : poudre NG MAS ; D : poudre NG MAS**  
**a : temps de mouillage ; b : temps de gonflement ; c : temps de réhydratation**

### 4.1.3 Récapitulatif des paramètres de réhydratation obtenus

#### 4.1.3.1 Réhydratation dans de l'eau distillée

Le **tableau 26** résume les paramètres de réhydratation obtenus pour les trois compositions (lactose, perméat d'ultrafiltration et protéines solubles) en fonction du type de mélange (CS ou MAS).

Il apparaît ainsi pour les poudres de (PPCN + LAC) et de (PPCN + PUF) une dégradation légère du temps de mouillage ( $P < 0,05$ ) quand la poudre est mélangée à sec. Par contre, pour les poudres de (PPCN + PS) MAS, le temps de mouillage est légèrement



amélioré. L'influence du temps de mouillage semble ensuite se répercuter sur le temps de gonflement. En effet, le temps de gonflement des poudres de (PPCN + LAC) ou (PPCN + PUF) MAS est significativement rallongé par rapport aux mêmes poudres CS. Pour les poudres de (PPCN + PS) NG, les différences ne sont pas significativement différentes.

Quel que soit le type d'ajout (lactose, perméat ou protéines solubles), le temps de réhydratation est le paramètre le plus significativement modifié par le MAS. Il est systématiquement rallongé. Seule la poudre de (PPCN + PUF) MAS se réhydrate en moins de 60 000 secondes. Toutes les autres poudres MAS ne sont pas réhydratées en fin d'expérimentation.

#### 4.1.3.2 Réhydratation dans des milieux plus complexes

Nous avons également rajouté dans le **tableau 26** les paramètres de réhydratation obtenus lors de la réhydratation de la poudre de PPCN NG dans différents milieux (solution lactosée, perméat d'ultrafiltration et solution de protéines solubles). La solution lactosée est préparée à partir d'une poudre de lactose de manière à obtenir le même pourcentage de lactose que dans la solution de (PPCN + LAC) réhydratée (i.e. 22% de lactose). La même chose est réalisée pour obtenir les solutions de perméat et de protéines solubles.

Les temps obtenus lors de la réhydratation du PPCN NG dans de tels milieux ne sont pas différents des temps obtenus pour leur équivalent mélangé à sec dans de l'eau. Il semble donc que réhydrater une poudre de PPCN dans une solution lactosée revienne au même que réhydrater du (PPCN + LAC) MAS. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse suivante : lors de la réhydratation du MAS, le lactose va se réhydrater le plus vite. Après quelques secondes de réhydratation, le PPCN se retrouvera donc dans une solution lactosée. Il en est de même lors de la réhydratation du (PPCN + PUF) et du (PPCN + PS).

Tableau 26 : Paramètres de réhydratation obtenus pour les différentes poudres (n=3)

nature des poudres <sup>1</sup>	granulation <sup>2</sup>	milieu de réhydratation	incorporation <sup>3</sup>	paramètres de réhydratation <sup>4</sup>					
				Tm (s)		Tg (s)		Tr (s)	
				moyenne	$\sigma$	moyenne	$\sigma$	moyenne	$\sigma$
(PPCN + LAC)	NG	eau	CS	100	4	no	-	5827	533
PPCN + LAC	NG	eau	MAS	180 <sup>a</sup>	12	985 <sup>aaa</sup>	43	nr <sup>aaa</sup>	-
PPCN	NG	eau lactosée	-	195 <sup>a</sup>	21	956 <sup>aaa</sup>	37	nr <sup>aaa</sup>	-
(PPCN + PUF)	NG	eau	CS	109	6	no	-	1708	112
PPCN + PUF	NG	eau	MAS	238 <sup>b</sup>	26	2302 <sup>bbb</sup>	72	35645 <sup>bbb</sup>	3536
PPCN	NG	perméat UF	-	253 <sup>b</sup>	34	3848 <sup>bbb</sup>	99	38182 <sup>bbb</sup>	1997
(PPCN + PS)	NG	eau	CS	354	17	1358	24	11023	512
PPCN + PS	NG	eau	MAS	216 <sup>c</sup>	5	1283 <sup>ns</sup>	43	nr <sup>ccc</sup>	-
PPCN	NG	solution PS	-	209 <sup>c</sup>	2	1401 <sup>ns</sup>	26	nr <sup>ccc</sup>	-
(PPCN + PS)	G	eau	CS	206	7	no	-	6349	88
PPCN + PS	G	eau	MAS	63 <sup>d</sup>	2	448 <sup>ddd</sup>	15	nr <sup>ddd</sup>	-

<sup>1</sup> PPCN : phosphocaséinate natif ; PS : protéine soluble

<sup>2</sup> G : granule ; NG : non granulé.

<sup>3</sup> CS : co-séchage ; MAS : mélange à sec.

<sup>4</sup> no : non observé ; Tg : temps de gonflement ; Tm : temps de mouillage ; Tr : temps de réhydratation ;  $\sigma$  : écart type.

<sup>a</sup> comparaison entre les temps du (PPCN + LAC) NG CS et les autres poudres.

<sup>b</sup> comparaison entre les temps du (PPCN + PUF) NG CS et les autres poudres.

<sup>c</sup> comparaison entre les temps du (PPCN + PS) NG CS et les autres poudres.

<sup>d</sup> comparaison entre les temps du (PPCN + PS) NG CS et les autres poudres.

\*\*\* (P < 0,001) ; \*\* (P < 0,01) ; \* (P < 0,05) ; <sup>ns</sup>(P > 0,05).

#### 4.1.4 Discussion

Nous avons vu dans les paragraphes précédents que le co-séchage du PPCN avec du lactose, du perméat ou des protéines solubles raccourcissait significativement les temps de réhydratation. Par contre, si les poudres sont obtenues à partir de mélanges à sec, les effets positifs observés sur les temps de réhydratation disparaissent. Par rapport à la même composition mais co-séchée, le temps de réhydratation est considérablement détérioré alors que le temps de mouillage n'est que légèrement modifié. Dans le cas d'un mélange à sec, l'eau de réhydratation semble donc préférentiellement réhydrater les composants hygroscopiques comme le lactose au détriment de la caséine. Davenel *et al.* (1997) et Schuck *et al.* (2002) observent également cette tendance par RMN sur le temps de réhydratation quand ils comparent des poudres de PPCN additionnées de sucres par CS ou MAS. Marti *et al.* (2003) étudient l'influence du lactose sur des dispersions de protéines laitières. Ils arrivent ainsi à la conclusion qu'en présence de lactose, les interactions protéines/eau sont bien moins efficaces. Ce phénomène peut en partie expliquer les temps de réhydratation plus long obtenus lors de la réhydratation des poudres dans une solution lactosée par rapport à de l'eau.

**Les propriétés de réhydratation des poudres co-séchées et mélangées à sec sont totalement différentes. Il semble que réhydrater une poudre de PPCN dans une solution lactosée, une solution de perméat d'ultrafiltration ou une solution de protéines solubles revienne au même que réhydrater les mélanges à sec.**

**La porosité importante de la micelle de caséine laisse envisager une répartition uniforme des molécules de lactose, de perméat ou de PS lors du co-séchage. Ce type de répartition semble donc favoriser les transferts d'eau pendant la réhydratation.**

## 4.2 Effet de la granulation sur la réhydratation et la répartition des composés à la surface des particules

### 4.2.1 Influence de la granulation sur la réhydratation

#### 4.2.1.1 Effet de la granulation sur l'étape de mouillage

Pour des poudres fabriquées à partir de la même solution, nous avons mis en évidence que la granulation améliorerait systématiquement le temps de mouillage et cela pour plus de 30 poudres étudiées. Le **tableau 27** présente le temps de mouillage des principales poudres étudiées. Selon la norme FIL (1985), toutes les poudres non granulées sont considérées comme non mouillables. L'influence de la granulation sur le mouillage est généralement connue et il est industriellement courant de granuler dans le but d'améliorer la mouillabilité des poudres (Baldwin et Sanderson, 1973 ; Kinsella, 1984 ; Schubert, 1993 ; Westergaard, 1994 ; Freudig *et al.*, 1999).

**Tableau 27 : Quelques temps de mouillage obtenus pour des poudres granulées et non granulées d'après la norme FIL (1985)**

granulation <sup>1</sup>	nature de la poudre <sup>2</sup>	mode d'incorporation <sup>3</sup>	temps de mouillage (s) selon la norme FIL (1985)	
			moyenne	$\sigma$
G	PPCN	-	454	46
G	(PPCN + PUF)	CS	271	22
G	PPCN + PUF	MAS	507	38
G	PS	-	850	98
G	(PPCN + PS)	CS	580	50
G	PPCN + PS	MAS	323	55
NG	PPCN	-	> 10000	-
NG	(PPCN + PUF)	CS	> 10000	-
NG	PPCN + PUF	MAS	> 10000	-
NG	PS	-	> 10000	-
NG	(PPCN + PS)	CS	> 10000	-
NG	PPCN + PS	MAS	> 10000	-

<sup>1</sup> G : granulé ; NG : non granulé.

<sup>2</sup> PPCN : phosphocasinat natif ; PS : protéine soluble ; PUF : perméat d'ultrafiltration.

<sup>3</sup> CS : co-séchage ; MAS : mélange à sec.

4.2.1.2 Effet de la granulation sur l'étape de gonflement des particules

La granulation des particules semble être un facteur favorisant le gonflement. En effet, une particule granulée semble absorber plus d'eau qu'une poudre non granulée. Quand la poudre de protéine absorbe de l'eau, elle gonfle progressivement tant que l'eau reste piégée dans la matrice. Sur la **figure 83**, la taille des particules de PPCN G augmente ainsi de 35% pendant cette étape alors que la taille des particules de PPCN NG n'augmentera que de 30%.

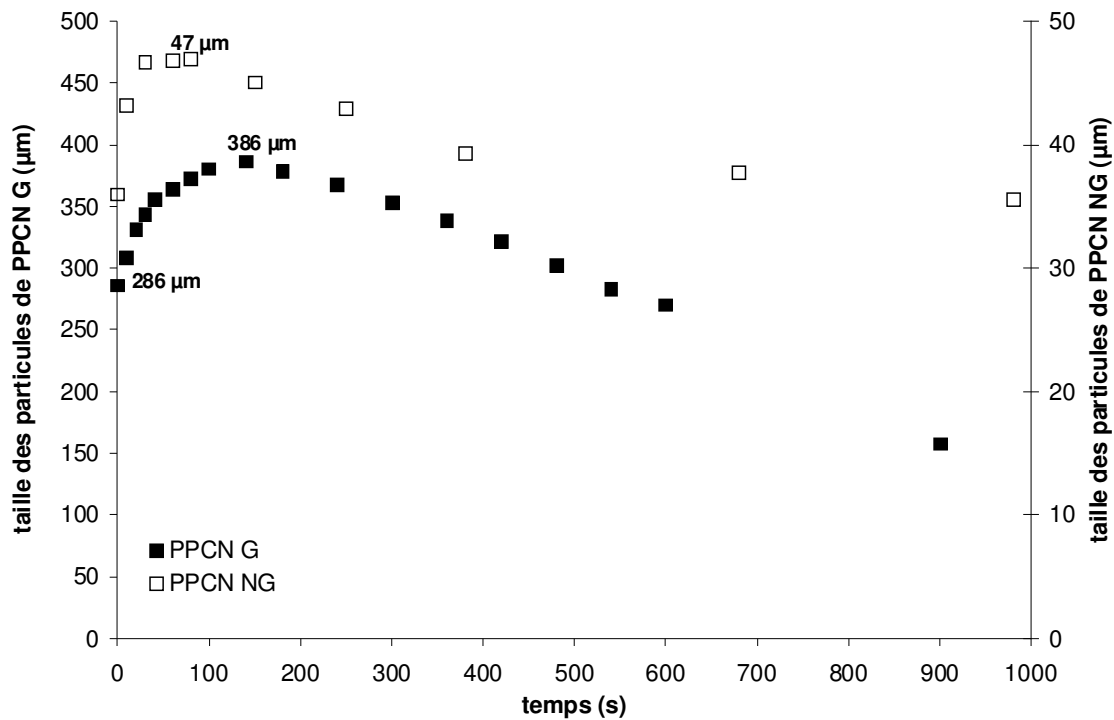


Figure 83 : Mise en évidence de l'étape de gonflement des particules de PPCN (G et NG) en début de réhydratation par granulométrie

Le phénomène de gonflement des particules semble ralentir l'ensemble de la réhydratation. Considérant que dans une particule granulée, le granulat et la particule individuelle peuvent absorber de l'eau ; le gonflement d'une particule granulée sera plus long dans le temps que celui d'une particule non granulée. La **figure 84** montre le profil de viscosité d'une poudre de PPCN G réhydratée à 12% de MAT. Ce profil de réhydratation présente 3 pics : A, B et B'. L'étape de mouillage correspond classiquement au premier pic de viscosité (A). Le pic (B) correspond au gonflement des particules. Comme la poudre est granulée, ce pic (B) correspond plus précisément au gonflement des granulats. Le pic (B') est attribué quant à lui au gonflement des particules nouvellement créés par la dispersion des granulats. Par conséquent, les étapes (C) et (C') correspondent respectivement à la dispersion

des granulats et à la dispersion des particules nouvellement créées. Enfin, la phase D correspondrait à la poudre réhydratée si la réhydratation était poursuivie plus longtemps. À l'inverse une poudre non granulée ne présentera jamais ces deux pics (B) et (B') mais un seul quelle que soit les conditions de réhydratation. Cette étape de gonflement sera donc beaucoup plus rapide pour les particules non granulées de par leur structure.

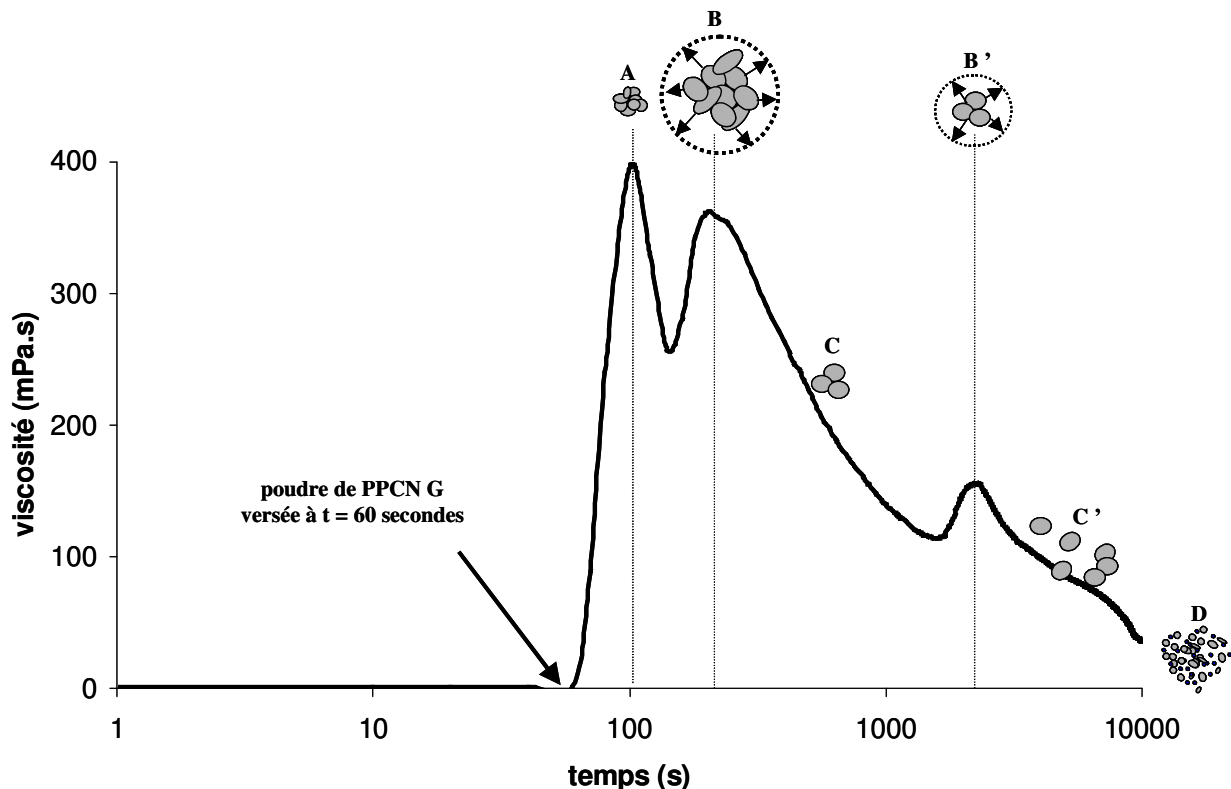


Figure 84 : Profil de viscosité hypothétique obtenu lors de la réhydratation d'une poudre de PPCN G à 12% de MAT et à 24°C pendant 10 000 secondes

A : mouillage de la poudre ; B : gonflement des granulats ; C : dispersion des granulats ; B' : gonflement des particules nouvellement créées ; C' : dispersion des particules nouvellement créées ; D : phase stable correspondant à une stabilisation de la viscosité

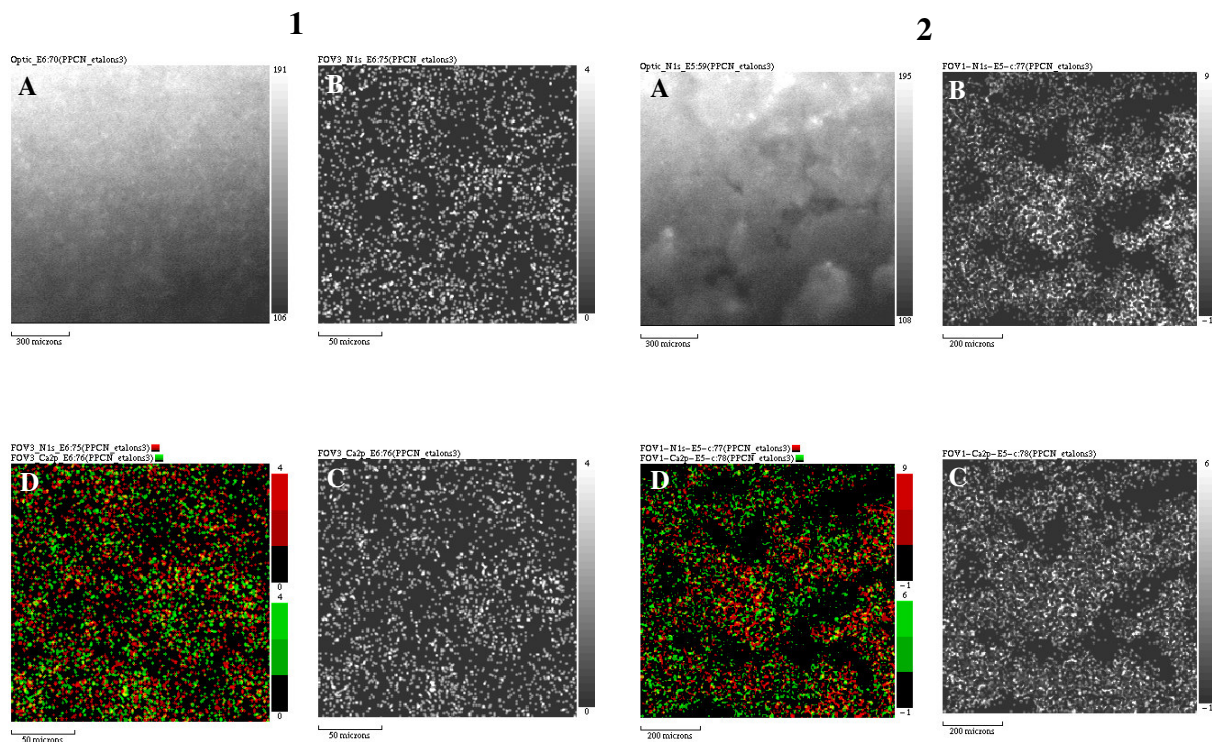
#### 4.2.1.3 Effet de la granulation sur le temps de réhydratation

L'influence de la granulation sur le temps de réhydratation est dépendant de la nature de la protéine réhydratée (voir §2.1.). Nous avons ainsi mis en évidence dans ce chapitre que la granulation raccourcissait le temps de réhydratation d'une poudre de PS mais l'augmentait pour une poudre de PPCN. Pour réhydrater rapidement, il est donc conseillé de granuler les poudres de protéines solubles et de ne pas granuler les poudres de caséine micellaire.

## 4.2.2 Influence de la granulation sur la répartition des composés à la surface de la particule de phosphocaséinate natif

### 4.2.2.1 Distribution des éléments à la surface des particules de phosphocaséinate natif

L'imagerie SPX est actuellement en plein développement. Elle permet des résolutions de l'ordre de 3  $\mu\text{m}$  et une acquisition des images rapide. L'évaluation de la distribution de surface des espèces chimiques est possible par cette technique (Blomfield, 2005). **Les figures 85-1A et 85-2A** sont des images optiques des poudres sur leur support. Des images SPX sont réalisées sur les poudres de PPCN G et NG révélant la présence d'azote ( $\text{N}_{1s}$ ) et de calcium ( $\text{Ca}_{2p}$ ) sur les **figures 85B et 85C** respectivement. Les images révélant l'azote (pixels rouges) et le calcium (pixels verts) sont superposées sur les **figures 85D** dans une couleur jaune.



**Figure 85** : Images XPS réalisées sur les poudres de PPCN NG (1 – échelle de 50  $\mu\text{m}$ ) et de PPCN G (2 – échelle de 200  $\mu\text{m}$ ) ; A : image optique, B : présence d'azote, C : présence de calcium, D : superposition de B et C (azote pixels rouges et calcium pixels verts)

À l'échelle de notre observation, il semble que la distribution de ces deux éléments soit hétérogène sur la particule. En effet, sur les **figures 85D**, peu de coloration jaune signifie peu de superposition des deux éléments. Les images mettent en évidence la présence de zones riches en azote et riches en calcium. Les zones sombres observées correspondent aux espaces entre les particules. C'est une information supplémentaire sur la taille des particules et cela

correspond globalement à la taille moyenne trouvée par granulométrie (i.e. 300 µm pour le PPCN G et 40 µm pour le PPCN NG).

#### 4.2.2.2 Influence de la granulation sur la composition de surface des particules de phosphocaséinate natif

Si l'on compare la surface de poudres granulées et non granulées, on remarque qu'il y a systématiquement plus de protéines en surface des poudres non granulées et plus de lactose en surface des poudres granulées (**tableau 28**). Aucune tendance ne se dessine pour les lipides.

**Tableau 28 : Composition de surface des poudres de PPCN (n=2)**

nature des poudres <sup>1</sup>	composition de surface calculée avec la matrice expérimentale		
	protéine (%)	lactose (%)	lipide (%)
PPCN G	93	0	6
PPCN NG	99	0	0
(PPCN + LAC) G	75	19	5
(PPCN + LAC) NG	88,7	8,8	1,8
(PPCN + PUF) G	81	14,4	3,9
(PPCN + PUF) NG	90,8	3,4	5,3

<sup>1</sup> G : granulé ; LAC : Lactose ; NG : non granulé ; PPCN : phosphocaséinate natif ; PUF : perméat d'ultrafiltration.

Ces différences entre poudres granulées et non granulées ne peuvent s'expliquer que par le procédé de séchage et la structuration des poudres. En effet, pour chaque composition, le concentré avant séchage est le même pour les poudres granulées et non granulées. Comme la poudre de PPCN G est fabriquée à partir de la réintroduction des fines au niveau de la buse de pulvérisation, on peut supposer que la composition de surface des fines est distincte et qu'elle conduit à une composition de surface des particules granulées distincte.

Le **tableau 29** présente la composition de surface de trois types de poudres fabriquées à partir du même concentré. Les fines présentent une surface plus riche en lipides. Les particules non granulées sont plus riches en protéines et les particules granulées présentent une surface intermédiaire entre les deux.



**Tableau 29 : Eléments de surface et composition de surface des trois poudres obtenus par spectrométrie de photoélectrons X**

		PPCN G <sup>1</sup>	PPCN NG <sup>1</sup>	fines
composition de surface (%)	protéine	88,1	98,9	83,6
	lactose	0	0	0
	lipide	10,7	0	15,1
éléments de surface (%)	O	17,0	16,5	16,18
	N	12,12	13,92	11,87
	C	69,7	68,49	70,62
	Ca	0,46	0,42	0,54
	S	0,31	0,32	0,31
	P	0,41	0,35	0,48

<sup>1</sup> G : granulé ; NG : non granulé ; PPCN : phosphocaséinate natif.

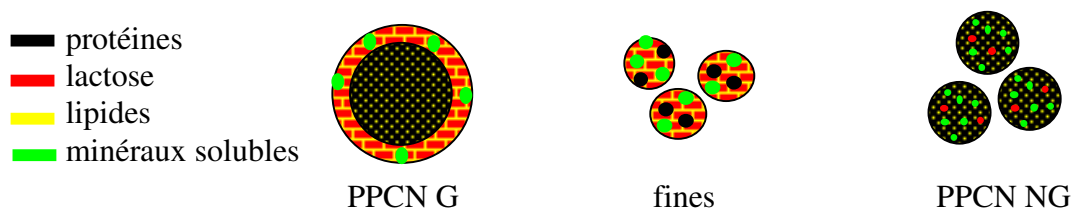
#### 4.2.3 Discussion

Il est généralement admis qu'une taille unique de particules autour de 200  $\mu\text{m}$  (Neff et Morris, 1967) ou 400  $\mu\text{m}$  (Freudig *et al.*, 1999) présente un optimum de mouillage et de dispersion. Seul Pisecky (1986), fait la distinction entre mouillage et dispersion. Il préconise ainsi une taille de 200  $\mu\text{m}$  environ pour un mouillage optimal et une absence de particules au diamètre supérieur à 250  $\mu\text{m}$  pour une bonne dispersion. Notre étude met en évidence que cette taille optimale dépend étroitement de la nature des protéines. En fonction de la nature de la protéine, la granulation a des effets totalement opposés. La réhydratation des PS est plus rapide pour des particules granulées alors que la poudre de PPCN non granulée se réhydratera plus vite que la granulée. Cette observation est inattendue et peut s'expliquer par une étape limitante qui pourrait être différente selon le type de poudre :

- **les poudres de PS** : l'étape limitante est le mouillage (Baldwin *et al.*, 1973; Schubert, 1993). La granulation améliorant systématiquement l'étape de mouillage, le temps de réhydratation est donc plus rapide pour les PS granulées.
- **les poudres de caséine** : l'étape limitante est la dispersion. C'est pourquoi une poudre de PPCN granulée, même si son temps de mouillage est plus rapide se réhydratera plus lentement qu'une particule de PPCN non granulée. La dispersion étant l'étape limitante ; une particule non granulée se dispersera plus vite qu'une granulée où il y a une étape de structuration supplémentaire des particules.

De plus, il semble que le procédé de séchage entraîne une ségrégation des composants biochimiques à la surface des particules en fonction de leur granulation (**figure 86**). A partir du même concentré protéique, il est possible de réaliser trois types de particules de PPCN de

composition de surface distinctes correspondant à trois comportements de réhydratation distincts. Les poudres non granulées présentent plus de protéines en surface, les fines plus de lactose et les poudres granulées ont une composition de surface intermédiaire. On peut supposer que le lactose et la matière grasse vont se retrouver en plus grande quantité dans les fines. Il serait intéressant de refaire les mêmes mesures sur des fines lors du séchage de (PPCN + LAC) et de (PPCN + PUF). Afin de vérifier notre hypothèse, on pourrait par exemple réaliser une granulation sur lit fluidisé uniquement à partir des poudres non granulées et non par réintroduction des fines. On devrait avoir cette fois-ci la même composition de surface pour les poudres granulées et non granulées.



**Figure 86 : Structure hypothétique des particules de poudres en fonction du procédé de séchage ; la particule granulée présente une composition de surface proche des fines et un cœur proche des particules non granulées**

**Pour une optimisation industrielle du temps de réhydratation, il faudra tenir compte de la nature des protéines pour fabriquer des poudres granulées ou pas. Il est donc conseillé de ne pas granuler les poudres de caséines micellaires et de granuler les poudres de protéines solubles.**

**En jouant sur le procédé de séchage, il est également possible d'obtenir à partir d'un même concentré liquide des poudres présentant une structuration (fines, non granulées et granulées) et une composition de surface différente.**

### 4.3 Effet du traitement thermique sur la réhydratation

L'influence du traitement thermique a été évalué sur des poudres de protéines solubles seules et des mélanges de protéines solubles et de caséine micellaire native, soit les poudres suivantes :

- **PS à 90%** de MAT
- **PS à 70%** de MAT
- **(PPCN + PS) à 90%** de MAT

Deux traitements sont appliqués : un traitement thermique du liquide (TTL) qui a lieu avant le séchage ou un traitement thermique de la poudre (TTP) dans la tour de séchage. Deux types de granulations (G et NG) sont également produites pour chaque poudre.

#### 4.3.1 Influence du traitement thermique sur la dénaturation

Pour évaluer l'influence du traitement thermique sur les poudres, nous avons déterminé le pourcentage de dénaturation. La **figure 87** représente des solutions de PS 90 G réhydratées à 5% de MAT. L'image A est obtenue pour une poudre ayant subi un traitement thermique du liquide (TTL) suivi d'un traitement thermique de la poudre (TTP). L'image B est obtenue pour une poudre non traitée thermiquement. Les solutions protéiques de poudres ayant subi une dénaturation sont donc différentes à l'œil nu.



**Figure 87 : Solutions de protéines solubles réhydratées à 5% de MAT**  
**A : PS 90 G TTL-TTP et B : PS 90 G**

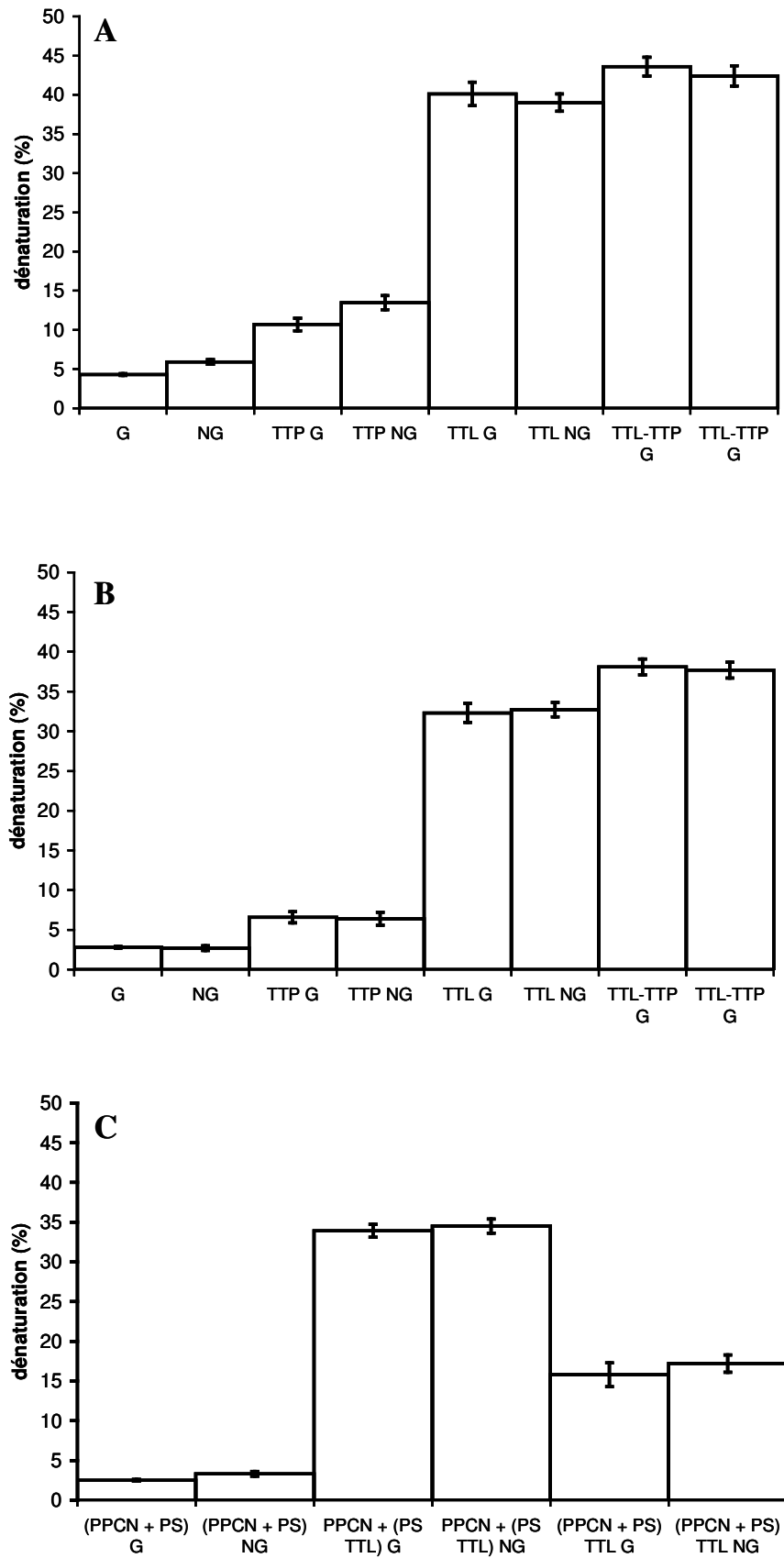


Figure 88 : Pourcentage de dénaturation obtenu pour les poudres de PS 90 (A) ; les poudres de PS 70 (B) et les poudres de mélanges (PPCN + PS) (C)

Le pourcentage de dénaturation de toutes les poudres étudiées est présenté sur la **figure 88**. Le seuil de dénaturation des poudres non traitées thermiquement est inférieur à 5%. Lorsqu'un traitement thermique de la poudre est appliqué, le pourcentage de dénaturation augmente pour atteindre environ 10% pour les PS 90 et 6% pour les PS 70 (**figure 88A et 88B**). Le traitement thermique du liquide a une influence beaucoup plus importante sur la dénaturation qui atteint alors 40% pour les PS 90 et 32% pour les PS 70. Enfin, le double traitement thermique (du liquide et de la poudre) entraîne un cumul des deux dernières dénaturations soit 44% pour les PS 90 et 38% pour les PS 70. Il apparaît une protection de la dénaturation des protéines solubles par le lactose. En effet, le pourcentage de dénaturation est toujours plus important pour les PS 90 que pour les PS 70 contenant du lactose à traitement thermique équivalent.

La **figure 88C** met toujours en évidence une légère dénaturation du mélange (3%) même si aucun traitement thermique supplémentaire n'est appliqué. Le pourcentage de dénaturation est plus important quand les protéines solubles sont traitées seules par rapport à un mélange avec du PPCN. La présence de caséines lors du traitement thermique semble donc fortement protéger les protéines solubles de la dénaturation.

#### **4.3.2 Effet du traitement thermique sur la réhydratation des protéines solubles seules**

##### **4.3.2.1 Normes**

Il apparaît sur le **tableau 30** une amélioration du temps de mouillage avec le traitement thermique pour toutes les poudres étudiées. L'ajout de lactose dans les poudres de PS 70 réduit les temps de mouillage mais l'influence du traitement thermique reste le même.

La dispersibilité semble aussi dépendante du traitement thermique. Contrairement aux propriétés de mouillage, elle est détériorée par le traitement thermique. Ainsi, la poudre non traitée thermiquement se disperse mieux que la poudre ayant subi le double traitement thermique qui est la plus lente à se disperser. La présence de lactose dans les PS 70 est responsable d'une meilleure dispersion, mais l'ordre de dispersibilité reste le même, c'est à dire poudre non traitée thermiquement > poudre TTP > poudre TTL > poudre TTL-TTP.

**Tableau 30 : Norme FIL (1985) de mouillabilité et de dispersibilité pour les poudres de protéines solubles (n=3)**

nature de la poudre <sup>1</sup>	granulation <sup>2</sup>	mouillabilité (s)		dispersibilité (%)	
		moyenne	$\sigma$	moyenne	$\sigma$
PS 90	G	1941	110	57	2
PS 90	NG	nm <sup>3</sup>	-	40	5
PS 90 TTP	G	1679	87	46	6
PS 90 TTP	NG	nm <sup>3</sup>	-	36	5
PS 90 TTL	G	899	90	42	6
PS 90 TTL	NG	nm <sup>3</sup>	-	40	8
PS 90 TTL-TTP	G	645	88	30	9
PS 90 TTL-TTP	NG	nm <sup>3</sup>	-	26	12
PS 70	G	1413	92	71	5
PS 70	NG	nm <sup>3</sup>	-	68	2
PS 70 TTP	G	1197	93	70	3
PS 70 TTP	NG	nm <sup>3</sup>	-	69	8
PS 70 TTL	G	707	130	63	9
PS 70 TTL	NG	nm <sup>3</sup>	-	55	1
PS 70 TTL-TTP	G	435	88	53	13
PS 70 TTL-TTP	NG	nm <sup>3</sup>	-	49	9

<sup>1</sup> PS : protéine soluble ; TTL : traitement thermique du liquide ; TTP : traitement thermique de la poudre.

<sup>2</sup> G : granulé ; NG : non granulé.

<sup>3</sup> nm : non mouillable.

#### 4.3.2.2 Profils de réhydratation

Les profils de réhydratation des PS 90 sont présentés sur la **figure 89**. Pour les poudres non granulées et peu dénaturées (**figure 89A**), le temps de mouillage est difficile à mesurer car la turbidité est faible (< 1000 NTU). Par contre, pour les poudres dénaturées (**figure 89B**), le temps de mouillage est nettement dégradé avec le traitement thermique. Il passe ainsi de 500 secondes environ pour les PS non traitées thermiquement et les PS TTP, à 1400 et 3400 secondes respectivement pour les PS TTL et les PS TTL-TTP. Les temps de mouillage des poudres granulées (**figure 89C et 89D**) sont également plus longs pour les poudres ayant subi le traitement thermique. La tendance est cependant moins nette car les poudres étant granulées, le temps de mouillage est beaucoup plus rapide et les différences entre les poudres moins évidentes.

Le gonflement des particules n'est pas visible sur les profils de turbidité. Cela concorde avec la mise en évidence (§3.1) que les poudres de PS seules ne présentent pas d'étape de gonflement pendant leur réhydratation.

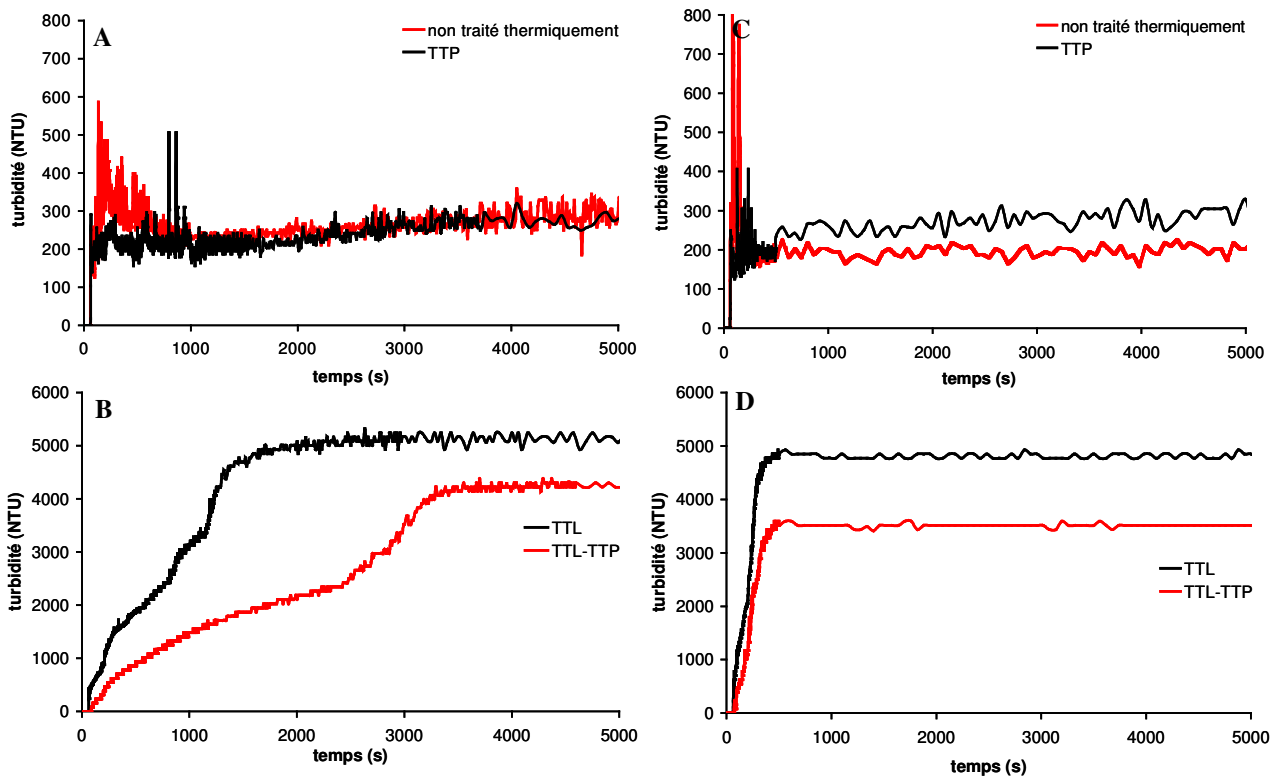


Figure 89 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation de PS 90 à 5% de MAT, à 24°C et pendant 5000 secondes ; A et B : poudres de PS 90 NG ; C et D : poudres de PS 90 G

Il est impossible de déterminer avec précision le temps de réhydratation pour les poudres peu dénaturées. Comme la turbidité est faible, le bruit de fond est important et une stabilisation de la turbidité correspondant au temps de réhydratation est difficile à obtenir. Par contre, pour les poudres traitées thermiquement (**figure 88B et 88D**), le temps de réhydratation correspond au temps de mouillage. Dès que la poudre est mouillée, la turbidité se stabilise signifiant la fin de la réhydratation. Comme pour le temps de mouillage, le temps de réhydratation est rallongé par le traitement thermique.

Les profils de réhydratation obtenus pour les PS 70 sont semblables à ceux présentés sur la **figure 89**. Toutes les étapes sont plus rapidement atteintes de part la présence de lactose (hygroscopique) dans ces poudres. La rapidité de la réhydratation entraîne donc des difficultés plus importantes pour déterminer les paramètres de réhydratation.

### 4.3.3 Effet du traitement thermique sur la réhydratation de mélanges de protéines solubles et de phosphocaséinate natif

#### 4.3.3.1 Normes

Le **tableau 31** présente la mouillabilité et la dispersibilité des mélanges traités thermiquement. Le temps de mouillage des poudres granulées est amélioré quand les

protéines solubles sont traitées thermiquement. Il passe ainsi de 7200 secondes pour la poudre non traitée thermiquement à 5200 secondes pour la poudre de PPCN + (PS TTL). Le traitement thermique du mélange (PPCN + PS) améliore encore plus la mouillabilité (2000 secondes). Les poudres non granulées sont toutes considérées comme non mouillables.

Comme pour les PS seules, la dispersibilité est détériorée par le traitement thermique. Les poudres granulées présentent une dispersibilité systématiquement supérieure à leur équivalent non granulé.

**Tableau 31 : Normes de mouillabilité et de dispersibilité selon la FIL (1985) pour les poudres de (PPCN + PS) ; (n=3)**

poudres <sup>1</sup>	granulation <sup>2</sup>	mouillabilité (s)		dispersibilité (%)	
		moyenne	$\sigma$	moyenne	$\sigma$
(PPCN + PS)	G	7200	123	57	6
(PPCN + PS)	NG	nm <sup>3</sup>	-	40	2
PPCN + (PS TTL)	G	5200	98	46	5
PPCN + (PS TTL)	NG	nm <sup>3</sup>	-	36	9
(PPCN + PS) TTL	G	2040	55	26	4
(PPCN + PS) TTL	NG	nm <sup>3</sup>	-	40	11

<sup>1</sup> PPCN : phosphocasinat natif ; PS : protéines solubles ; TTL : traitement thermique du liquide.

<sup>2</sup> G : granulé ; NG : non granulé.

<sup>3</sup> nm : non mouillable.

#### 4.3.3.2 Profils de viscosité

La **figure 90A** représente les profils de viscosité des **poudres non granulées**. Suite à l'introduction de la poudre dans la cuve du rhéomètre un pic de viscosité apparaît sur les trois profils. Le maximum de ce pic est plus tardif pour la poudre non traitée thermiquement signifiant que pour cette poudre le mouillage nécessite plus de temps. On ne peut pas différencier les temps de mouillage des deux autres poudres. La viscosité maximale atteinte pour la poudre de (PPCN + PS) TTL est d'environ 6 mPa.s. La poudre de PPCN + (PS TTL) présente un maximum de viscosité intermédiaire de 5,5 mPa.s et le mélange non traité thermiquement présente la plus faible viscosité à 3,5 mPa.s.

Le gonflement des particules ne semble apparaître que pour la poudre de (PPCN + PS) TTL car un second pic de viscosité est visible sur les profils après 1600 secondes de réhydratation.

La poudre non traitée thermiquement est la première à présenter une stabilisation du signal de viscosité signifiant que le mélange est réhydraté vers 21 000 secondes. La stabilisation du signal de viscosité des deux autres poudres suit ensuite rapidement. La poudre de PPCN + (PS TTL) présente une viscosité finale plus élevée (2,6 mPa.s) que celle des deux autres poudres (2,2 mPa.s).



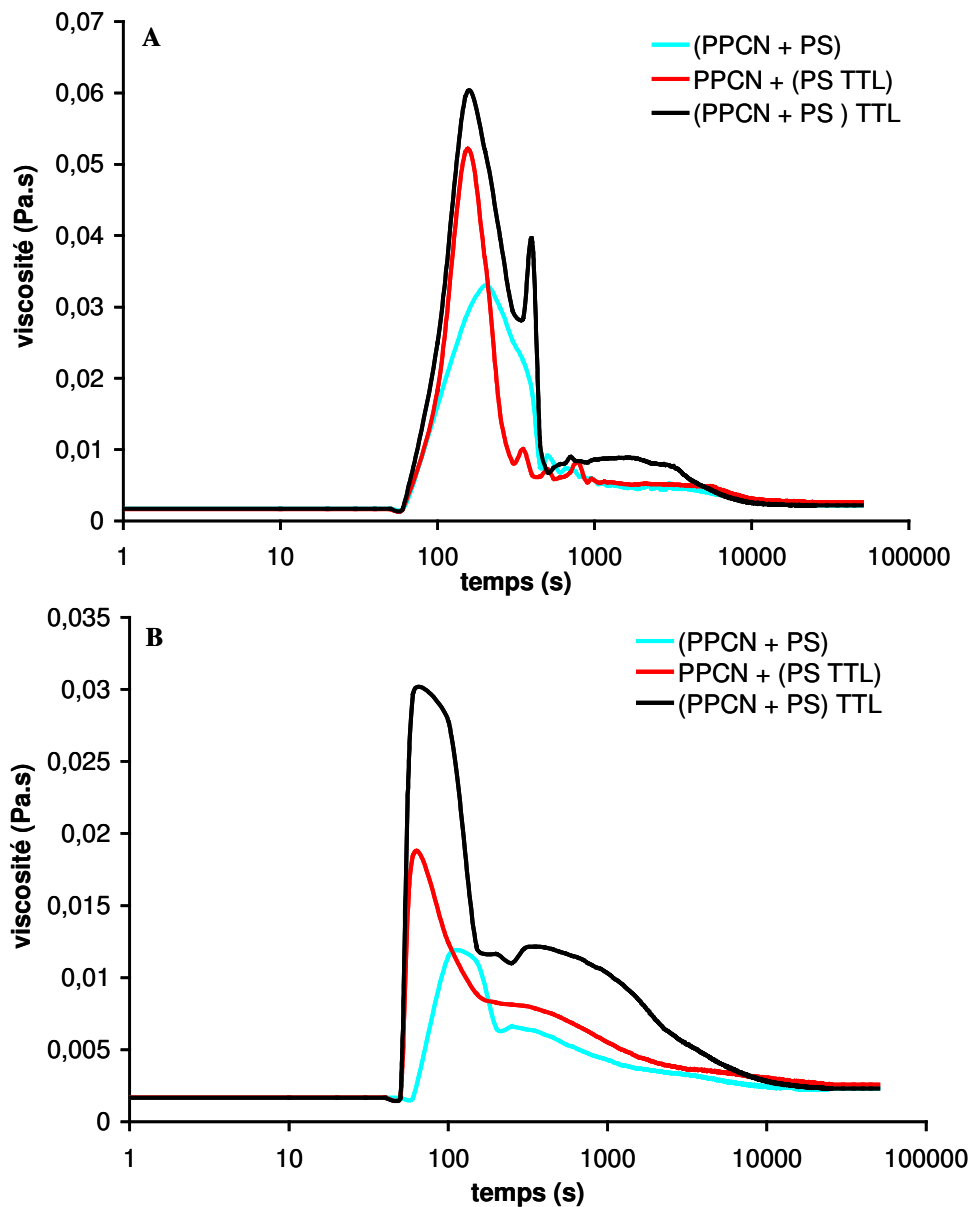


Figure 90 : Profils de viscosité obtenus lors de la réhydratation des poudres à 5% de MAT, à 24°C et pendant 10 000 secondes ; poudres NG (A) et poudres G (B)

Pour les poudres granulées, les interprétations sont les mêmes (figure 90B). Le mouillage des poudres est légèrement plus tardif pour la poudre non traitée thermiquement. On retrouve toujours le même ordre dans les valeurs de maximum de viscosité. Ce maximum est de 3,1 ; 1,9 et 1,1 mPa.s pour les poudres de (PPCN + PS) TTL, PPCN + (PS TTL) et (PPCN + PS) non traité thermiquement respectivement. Le gonflement des particules n'est vraiment net que pour la poudre de (PPCN + PS) TTL. La viscosité finale est toujours identique pour les mélanges de (PPCN + PS) TTL et (PPCN + PS) à 2,2 mPa.s. Par contre, la viscosité du mélange PPCN + (PS TTL) est plus élevée soit 2,6 mPa.s.

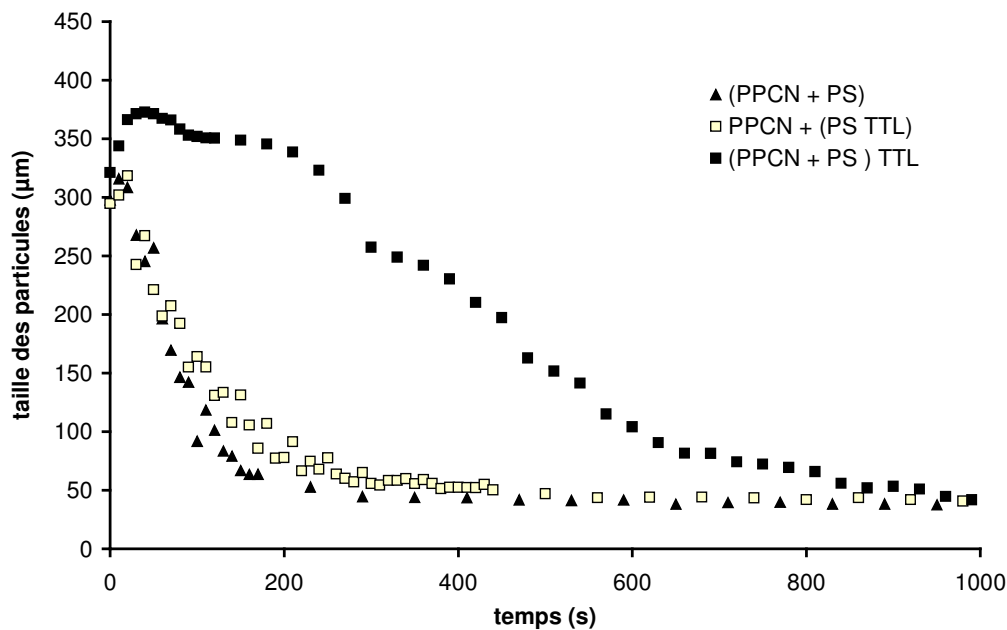


Figure 91 : Evolution de la taille des particules lors de la réhydratation des trois poudres par granulométrie

Il semble que seule la poudre de (PPCN + PS) TTL présente un gonflement des particules sur les profils de viscosité (figure 90). Ce gonflement est caractérisé par granulométrie sur la figure 91. On constate que les deux autres poudres présentent tout de même un gonflement, mais, peu marqué et très rapide. Pour la poudre de (PPCN + PS), les particules gonflent de 297 à 315 µm en moins d'une minute et pour la poudre de PPCN + (PS TTL) de 294 à 332 en moins de deux minutes. Par contre, le gonflement des particules de (PPCN + PS) TTL est beaucoup plus long et marqué. Les tailles de particules augmentent de 277 à 372 µm. Après 300 secondes de réhydratation les particules ont encore une taille supérieure à leur taille d'origine.

#### 4.3.4 Influence de la vitesse d'agitation sur le temps de mouillage

Jusqu'à présent les résultats obtenus entre les méthodologies mises au point et les normes étaient toujours en accord. C'est pour cela qu'une seule méthodologie était présentée à chaque fois. Pour les poudres traitées thermiquement, nous avons constaté des différences dans les temps de mouillage en fonction de la méthodologie utilisée. Sur la figure 92, on voit que le classement des poudres selon les temps de mouillage, obtenus à partir des profils de turbidité, ne concorde pas avec celui obtenu à partir des normes et des profils de viscosité. Pour les poudres non granulées (figure 92A), la poudre non traitée thermiquement est celle qui se mouille le plus vite suivie par la poudre de PPCN + (PS TTL) et par la poudre de

(PPCN + PS) TTL. Cet ordre est répétable ; soit de 440 secondes pour la poudre la plus mouillable à 1200 secondes pour la moins mouillable. La **figure 92B** présente les profils des poudres granulées. Même si les temps sont plus rapides par comparaison avec les poudres non granulées, l'ordre de mouillage des poudres est le même. Or cet ordre est inversé par rapport à la norme et aux résultats obtenus à partir des profils de viscosité.

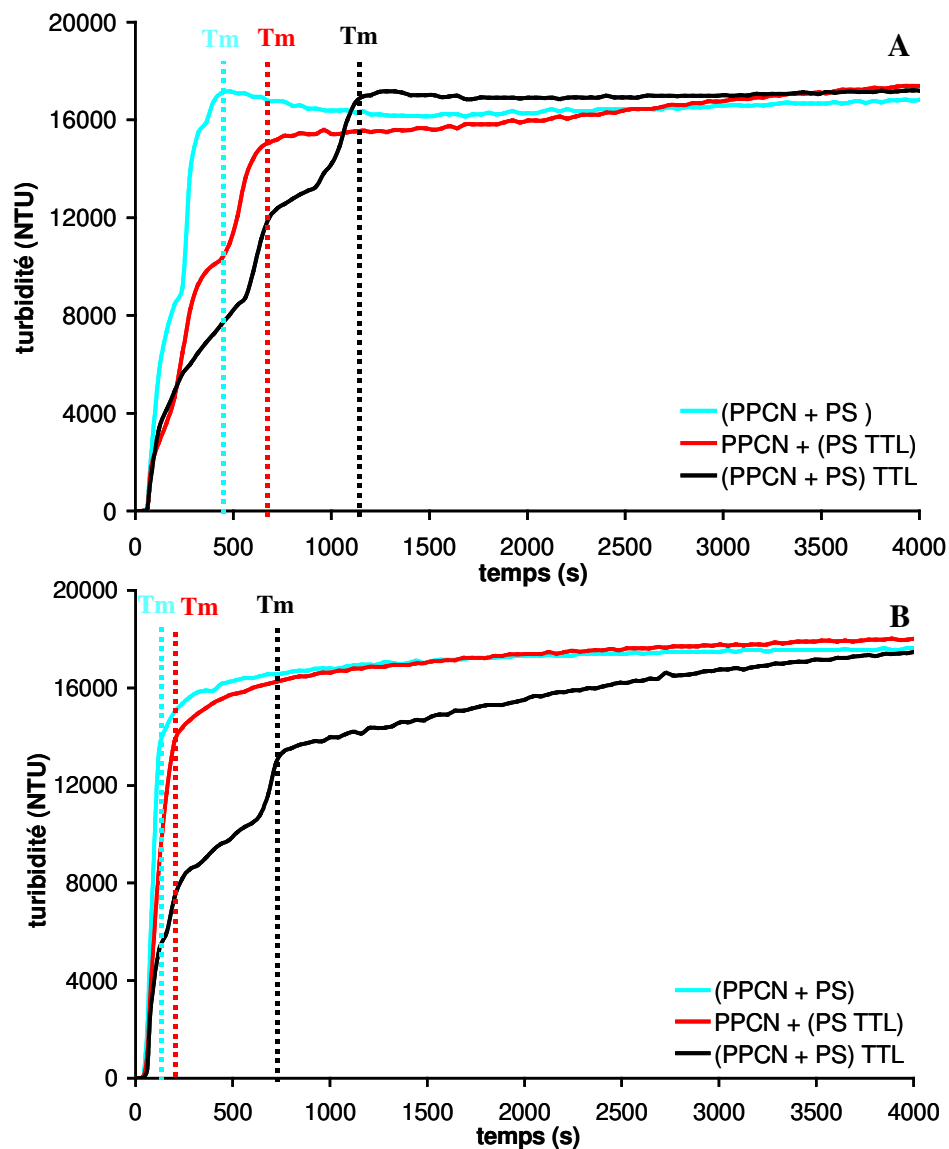


Figure 92 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation des poudres à 5% de MAT et à 24°C pendant 4000 secondes ; poudres NG (A) et poudres G (B)

La principale différence entre les conditions expérimentales mises en œuvre dans la norme et celles du réacteur concerne l'agitation. C'est pourquoi, nous avons réhydraté les poudres de (PPCN + PS) et de (PPCN + PS) TTL dans le réacteur mais sous une agitation de 100 tours.min<sup>-1</sup> au lieu de 400 tours.min<sup>-1</sup> (**figure 93**). À 100 tours.min<sup>-1</sup>, on constate que

l'ordre de mouillage s'inverse par rapport à 400 tours.min<sup>-1</sup> pour nous rapprocher des conditions de la norme.

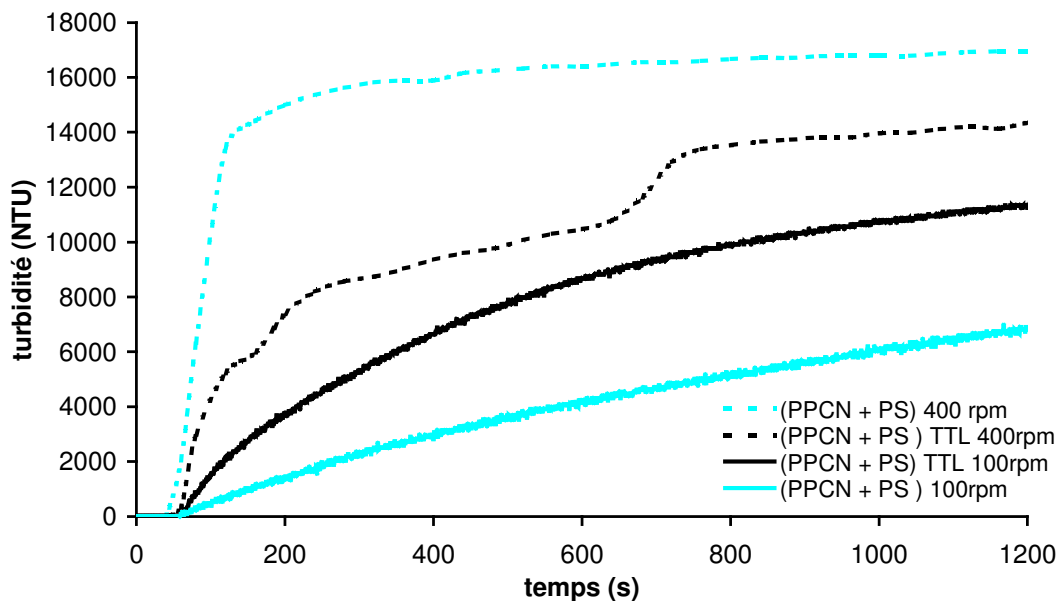


Figure 93 : Profils de turbidité obtenus lors de la réhydratation des deux poudres granulées avec une agitation de 100 tours/minutes et de 400 tours.min<sup>-1</sup>

#### 4.3.5 Discussion

##### 4.3.5.1 Influence de la vitesse d'agitation

Les profils de turbidité mettent clairement en évidence un rallongement du temps de mouillage avec le traitement thermique. Par contre, en appliquant la norme FIL (1985) ou en interprétant les profils de viscosité on obtient des résultats inverses. L'importance de la vitesse d'agitation dans la détermination de ces temps est ainsi mise en évidence. De plus, l'inadéquation entre les normes qui sont statiques et la pratique industrielle qui est toujours sous agitation est évidente. Ainsi, si en laboratoire une poudre est déterminée comme bien mouillable d'après les normes, elle ne le sera pas forcément aussi bien industriellement et inversement.

##### 4.3.5.2 Poudres de protéines solubles

L'ajout de lactose lors de la fabrication des PS 70 semble protéger les protéines de la **dénaturation**. Selon les observations de Jost (1993) et de Wit (1981), l'addition de lactose décalerait la température de transition vitreuse de la  $\beta$ -lactoglobuline de 73°C à quelques degrés de plus et pourrait également affecter les caractéristiques des agrégats et leur mode d'agrégation. Lors de la fabrication des poudres étudiées, le traitement thermique du liquide

est justement de 73°C. Le léger décalage de la Tg dû à la présence de lactose pourrait donc protéger les poudres de PS 70 de la dénaturation.

D'après Nijdam et Langrish (2005), une augmentation de la température de séchage (TTP) semble entraîner une présence plus importante de lactose en surface au détriment des protéines. Selon ces auteurs, la formation de la croûte sèche à la surface des particules étant plus rapide, les protéines ont moins de temps pour diffuser en surface, et par compensation plus de lactose demeura en surface. Selon cette hypothèse, on pourrait imaginer que les PS 70 TTP présentent des temps de mouillage plus courts que les PS 70 natives de part la présence de lactose en surface. Les temps de mouillages obtenus sont tellement rapides que l'on ne peut pas approfondir ce point. En effet, la réhydratation des PS 90 et 70 est rapide quel que soit le traitement thermique appliqué.

Un rallongement du temps de mouillage est observé pour les poudres TTL et TTL-TTP. D'après Millqvist-Fureby *et al.* (2001), le traitement thermique du mélange avant séchage entraîne une diminution de protéines et une augmentation de lipides en surface. Suite au traitement thermique, les agrégats protéiques de plus haut poids moléculaire formés vont migrer moins vite aux interfaces ; leur pouvoir tensioactif semble également moindre. L'élévation résultante de lipides en surface peut être expliquée par ces auteurs par la capacité d'encapsulation des lipides qui est moindre quand les protéines sont dénaturées. La modification de la composition de surface pourrait donc expliquer le rallongement du temps de mouillage observé pour les poudres traitées thermiquement.

#### 4.3.5.3 Mélanges de protéines solubles et de phosphocaséinate natif

Le pourcentage de **dénaturation** pour un traitement thermique équivalent passe de 35% pour les poudres de PPCN + (PS TTL) à seulement 15% pour les poudres de (PPCN + PS) TTL. La présence de caséines lors du traitement thermique permet donc une protection des protéines solubles. De plus, la viscosité des solutions protéiques réhydratées à 5% de MAT est différente : 2,6 mPa.s pour la solution de PPCN + (PS TTL) et 2,2 mPa.s pour la solution de (PPCN + PS) TTL. La viscosité plus élevée de la solution de PPCN + (PS TTL) confirme que ce système est plus agrégé (agrégats de protéines sériques). Les études de Dickinson et Parkinson (2004) et Parkinson et Dickinson (2004) complètent nos observations. L'ajout de seulement 5% de caséines dans une solution de protéines sérique inhibe la déstabilisation de l'émulsion causée par le traitement thermique. Le mécanisme avancé met en jeu les chaînes protéiques protubérantes des caséines qui entraîneraient une stabilisation stérique à la surface de l'émulsion.

Un allongement du **temps de mouillage** avec le traitement thermique est observé en accord avec des études antérieures (Kinsella, 1984 ; Millqvist-Fureby *et al.* 2001). Lors du séchage d'un mélange protéines sériques/caséines (20/80), ces dernières sont plus présentes en surface (Landström *et al.*, 2003). En effet, par comparaison aux protéines globulaires, la caséine grâce à ses propriétés amphiphiles s'adsorbera plus vite à l'interface air/eau des gouttelettes se retrouvant ensuite à la surface de la poudre (Hunt et Dalgleish, 1994). Par contre lors d'un traitement thermique du mélange avant séchage, il y aurait compétition entre les caséines et les protéines sériques ; les protéines sériques se retrouvant alors en surface (Brun et Dalgleish, 1999). Nous avons précédemment mis en évidence que les protéines solubles se mouillent nettement moins bien que les caséines. Par conséquent, le rallongement du temps de mouillage des poudres traitées thermiquement pourrait s'expliquer par plus de protéines solubles présentes en surface des particules de poudre.

La poudre de (PPCN + PS) TTL est la seule à présenter un **gonflement** marqué par rapport aux deux autres poudres. Lors du traitement thermique d'un mélange caséines/protéines solubles à plus de 70°C, il se crée des interactions covalentes entre la  $\beta$ -lactoglobuline et la caséine  $\kappa$  de la micelle (Singh, 1995 ; Beaulieu *et al.*, 1999). Kneifel *et al.* (1991), supposent que les interactions générées entre  $\beta$ -lactoglobuline et la caséine  $\kappa$  entraînent une capacité d'absorption d'eau plus importante de la poudre. La présence de protéines solubles en surface des caséines créerait ainsi une surface « spongieuse » capable de retenir plus d'eau qu'un complexe non traité thermiquement. Dans le cas des poudres de PPCN + (PS TTL), le gonflement des particules est mis en évidence par granulométrie mais il est nettement moins marqué. Ceci complète les observations de Berlin *et al.* (1973) et Knightbridge et Goldman (1975) qui mettent en évidence que le traitement thermique de protéines sériques seules ne modifie pas leurs propriétés de gonflement par rapport aux mêmes protéines non traitées. Seul un traitement thermique extrême peut entraîner une augmentation de cette capacité (Bech, 1980), ce qui n'est pas le cas des protéines solubles étudiées (soumises à un traitement thermique de 73°C pendant 4 minutes).

Il apparaît également un rallongement du **temps de réhydratation** par le traitement thermique. Une étude RMN de ces mêmes poudres confirme les temps de réhydratation obtenus (Mariette et Cambert, 2006). De plus, le traitement thermique du mélange entraîne une cinétique de réhydratation plus lente. Ainsi, l'interaction entre les PS et le PPCN provoquée par le traitement thermique ralentit la réhydratation de la poudre la rendant incomplète en fin de mesure.

**Le traitement thermique des protéines influence les propriétés de réhydratation. Pour les mélanges (PPCN + PS), le traitement thermique rallonge à la fois le temps de mouillage et le temps de réhydratation ; la poudre de PPCN + (PS TT) étant plus sensible que celle de (PPCN + PS) TT. La présence de protéines solubles en surface des particules, liée au traitement thermique, pourrait expliquer le temps de mouillage rallongé pour la poudre de (PPCN + PS) TT. La présence de caséines en surface des mélanges non traités thermiquement semble correspondre aux temps de réhydratation plus rapides.**

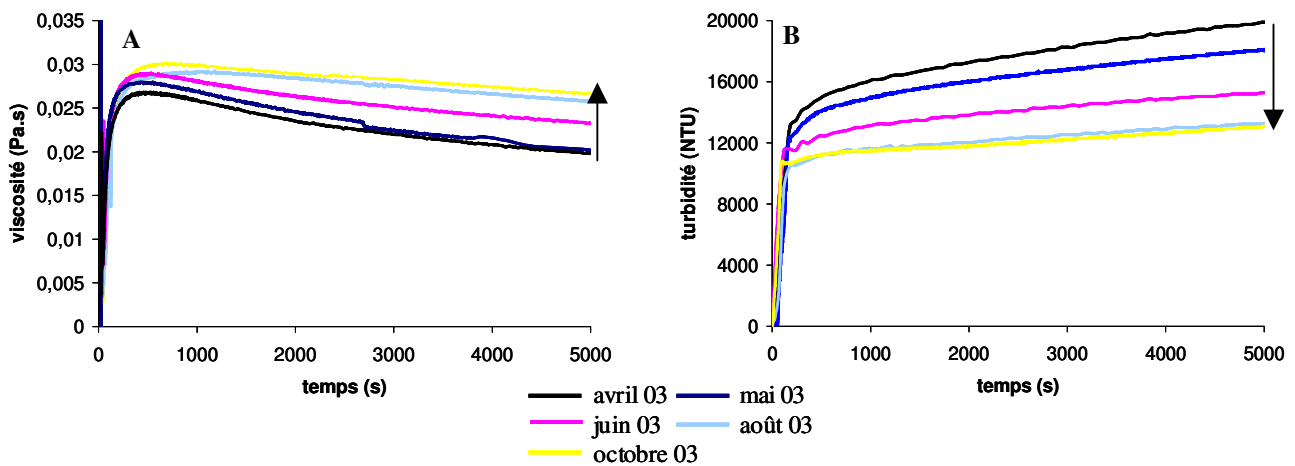
**Pour les protéines solubles seules (PS 90 et PS 70), l'influence du traitement thermique est moins visible car elles se réhydratent rapidement.**





## 5 Influence des conditions de conservation sur la réhydratation

Une étude préalable a mis en évidence une détérioration rapide au cours du temps des propriétés de réhydratation des poudres de PPCN stockées en sac classique et à une température ambiante (**figure 94**). Nous nous sommes donc intéressés à l'étude de l'influence des conditions de conservation de la poudre sur les propriétés de réhydratation.



**Figure 94 : Evolution des profils de viscosité (A) et de turbidité (B) pour une poudre de PPCN réhydratée à 8% de MAT et à 24°C pendant 5000 secondes**

L'évolution du signal de viscosité sur la **figure 94A** est liée à une dégradation des propriétés de réhydratation. La viscosité de la suspension met plus de temps à diminuer. Ceci traduit donc une dispersion plus lente des particules. Une évolution du signal de turbidité sur la **figure 94B** est également observée. L'augmentation du signal de turbidité est beaucoup plus lente après quelques mois, signifiant une mauvaise réhydratation de la poudre.

### 5.1.1 Propriétés de la poudre et conditions de stockage

L'étude n'est réalisée que sur la poudre de PPCN granulée soit la plus sensible aux conditions de conservation. En effet, les poudres de PS et les mélanges (PPCN + PS) semblent moins affectés par les conditions de conservation. Les propriétés physico-chimiques de la poudre sont présentées dans le **tableau 32**. Le pourcentage en eau est assez élevé soit environ 10%. On retrouve également une majorité de protéines et toujours des traces de lactose et de lipides. La taille moyenne des particules est de 270  $\mu\text{m}$  et les densités tassées et aérées sont respectivement de 402 et 346  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ . L'espace chromatique  $L^*a^*b^*$  est également déterminé.

Tableau 32 : Propriétés physico-chimiques de la poudre de PPCN (n=2)

composition (g/100g)	propriétés physiques	couleur
eau : $10,0 \pm 0,1$	densité aérée : $346 \pm 3 \text{ kg.m}^{-3}$	L : $90,3 \pm 0,5$
protéines : $80,2 \pm 0,9$	densité tassée : $402 \pm 4 \text{ kg.m}^{-3}$	a : $2,02 \pm 0,02$
cendres : $7,8 \pm 0,3$	taille moyenne : $271 \pm 1 \mu\text{m}$	b : $4,1 \pm 0,05$
lactose : $1,5 \pm 0,1$		
lipides : $0,5 \pm 0$		

La poudre de PPCN est conditionnée dans des sacs classiques et dans des sacs étanches pour éviter le contact avec l'air (**figure 95**). La première température de conservation est fixée à 20°C car c'est la température à laquelle la plupart des poudres sont stockées industriellement. La seconde est fixée à 50°C, il s'agit de la température de transition vitreuse de la poudre étudiée ( $T_g$  comprise entre 47 et 52°C). Enfin, la poudre est stockée pendant 60 jours sous ces 4 conditions.

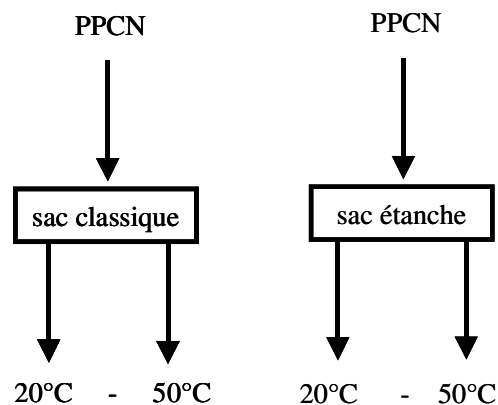


Figure 95 : Conditions de conservation de la poudre de PPCN

### 5.1.2 Détermination des paramètres de réhydratation

#### 5.1.2.1 Détermination du temps de mouillage

Les paramètres de réhydratation sont déterminés à partir des profils de viscosité présentés dans l'**annexe 1**. Le **tableau 33** met en évidence une détérioration du temps de mouillage au cours de la conservation quel que soit le type de conditionnement et la température de stockage.

**En sac étanche.** Les temps de mouillage des poudres stockées à 20 et 50°C ne sont pas significativement différents après 15 et 30 jours. À partir de 60 jours, un décalage est observé

dans le temps de mouillage. Il passe de 12 à 35 secondes pour une conservation à 20°C et de 12 à 148 secondes pour une conservation à 50°C. Ces différences sont significatives.

**En sac classique.** À partir de 30 jours, une augmentation du temps de mouillage commence à apparaître à 20°C comme à 50°C. Si la poudre est stockée plus longtemps, les temps de mouillage sont significativement rallongés surtout à 50°C où il atteint 265 secondes.

**Tableau 33 : Temps de mouillage obtenus à partir des profils de viscosité pour du PPCN G à 5% de MAT et à 24°C (n=2)**

température de stockage (± 1°C)	type de conditionnement	durée de la conservation			
		0	15 jours	30 jours	60 jours
20	sac étanche	12	13 <sup>NS</sup>	19 <sup>NS</sup>	35*
20	sac classique	12	14 <sup>NS</sup>	66*	73**
50	sac étanche	12	19 <sup>NS</sup>	14 <sup>NS</sup>	148***
50	sac classique	12	15 <sup>NS</sup>	68*	265***

Comparaison entre le temps de mouillage du PPCN à t=0 et les autres temps (15, 30 et 60 jours) :

\*\*\* (P < 0,001).

\*\* (P < 0,01).

\* (P < 0,05).

<sup>NS</sup> non significatif.

#### 5.1.2.2 Détermination du temps de réhydratation

**En sac étanche.** Pour la poudre stockée à 20°C, le temps de réhydratation augmente significativement (P < 0,05) à partir de 30 jours de conservation (**tableau 34**). Après 30 et 60 jours, la poudre se réhydrate respectivement en 31 000 et 31 500 secondes au lieu de 21 600 secondes pour la poudre fraîche. La poudre stockée à 50°C présente un temps de réhydratation détérioré dès 15 jours de stockage. Notons que la poudre conservée à cette température ne se réhydrate plus du tout même après 48 heures de réhydratation.

**En sac classique.** Dès 15 jours de conservation, le temps nécessaire pour réhydrater la poudre stockée à 20°C est rallongé. Après 30 jours de conservation, la poudre n'est plus réhydratée. Cependant, si l'on poursuit la réhydratation pendant 48 heures, une réhydratation complète est tout de même obtenue. Par contre, si la poudre est stockée à 50°C, il est impossible de la réhydrater même après 48 heures et dès 15 jours de conservation.

**Tableau 34 : Temps de réhydratation obtenus à partir des profils de viscosité pour une poudre de PPCN G réhydratée à 5% de MAT et à 24°C (n=2)**

température de stockage ( $\pm 1^\circ\text{C}$ )	type de conditionnement	durée de la conservation			
		0	15 jours	30 jours	60 jours
20	sac étanche	21 600	24 800 <sup>NS</sup>	31 000*	31 500*
20	sac classique	21 600	42 500***	>50 000 <sup>2***</sup>	>50 000 <sup>2***</sup>
50	sac étanche	21 600	>50 000 <sup>1***</sup>	>50 000 <sup>1***</sup>	>50 000 <sup>1***</sup>
50	sac classique	21 600	>50 000 <sup>1***</sup>	>50 000 <sup>1***</sup>	>50 000 <sup>1***</sup>

<sup>1</sup> non réhydraté même après 48 heures.

<sup>2</sup> réhydraté après 48 heures.

Comparaison entre le temps de réhydratation du PPCN à t=0 et les autres temps (15, 30 et 60 jours) :

\*\*\* (P < 0,001).

\* (P < 0,05).

<sup>NS</sup> non significatif.

### 5.1.3 Étude de la composition de surface, de l'humidité et de la couleur

**Sac étanche.** Le **tableau 35** représente l'évolution de la composition de surface obtenue par SPX, de la teneur en eau et de la couleur au cours de la conservation des poudres. Après 15 et 30 jours de conservation aucune différence significative dans la composition de surface n'est observée quelle que soit la température de conservation. Les pourcentages de protéines, lactose et lipides sont respectivement de 94, 0 et 6%. Parallèlement, l'humidité de la poudre et la couleur ne sont pas significativement modifiées. Après 60 jours de conservation, une migration des lipides en surface de la poudre commence à apparaître. Ainsi, 11% de lipides sont mesurés à la surface des poudres stockées à 20°C et 14% à la surface des poudres stockées à 50°C. Par conséquent, le pourcentage en protéines à la surface des particules diminue. En même temps, l'humidité de la poudre passe de 10,1 à 11,2% et 11,8% pour les poudres stockées à 20 et 50°C. Le paramètre (+b) indicatif de la variation de couleur augmente uniquement pour la poudre conservée à 50°C.

**Sac classique.** Après 15 jours de conservation et aux deux températures étudiées, aucune différence dans les compositions de surface n'est observée (**tableau 36**). Par contre la reprise d'eau est significative : 12% à 20°C et 12,3% à 50°C. Le paramètre (+b) n'est pas significativement modifié. Après 30 jours de stockage, une migration de lipides en surface des poudres apparaît à hauteur de 13%. Après 60 jours de conservation, les lipides représentent 17% de la surface quelle que soit la température de conservation ; par conséquent le pourcentage de protéines passe de 94% à 83%. En parallèle, le pourcentage d'eau dans la poudre augmente à 14,7 et 16,1% à 20 et 50°C respectivement et le paramètre (+b) augmente également à 6,8 et 8,3.

**Tableau 35 : Composition de surface obtenue par SPX des poudres stockées en sac étanche et évolution de la teneur en eau (%) et de la couleur (+b)**

durée de conservation (jours)	température de stockage (°C)	humidité (%)	couleur (+b)	composition de surface obtenue par SPX (%)		
				protéines	lactose	lipides
0	-	10	4,1	94	0	6
15	20	10,1 <sup>NS</sup>	4,1 <sup>NS</sup>	94 <sup>NS</sup>	0 <sup>NS</sup>	6 <sup>NS</sup>
15	50	10,4 <sup>NS</sup>	4,7 <sup>NS</sup>	94 <sup>NS</sup>	0 <sup>NS</sup>	6 <sup>NS</sup>
30	20	10,5 <sup>NS</sup>	4,8 <sup>NS</sup>	94 <sup>NS</sup>	0 <sup>NS</sup>	6 <sup>NS</sup>
30	50	10,8 <sup>NS</sup>	4,9 <sup>NS</sup>	94 <sup>NS</sup>	0 <sup>NS</sup>	6 <sup>NS</sup>
60	20	11,2*	4,9 <sup>NS</sup>	89*	0 <sup>NS</sup>	11*
60	50	11,8*	6,2*	86*	0 <sup>NS</sup>	14*

Comparaison entre les données obtenues pour la poudre à t=0 et aux autres temps (15, 30 et 60 jours) :

\* (P < 0,05).

<sup>NS</sup> non significatif.

**Tableau 36 : Composition de surface obtenue par SPX des poudres stockées en sac classique et évolution de la teneur en eau (%) et de la couleur (+b)**

durée de conservation (jours)	température de stockage (°C)	humidité (%)	couleur (+b)	composition de surface obtenue par SPX (%)		
				protéines	lactose	lipides
0	-	10	4,1	94	0	6
15	20	12**	4,2 <sup>NS</sup>	94 <sup>NS</sup>	0 <sup>NS</sup>	6 <sup>NS</sup>
15	50	12,3**	4,8 <sup>NS</sup>	94 <sup>NS</sup>	0 <sup>NS</sup>	6 <sup>NS</sup>
30	20	13,8**	5,8*	87*	0 <sup>NS</sup>	13*
30	50	14,3***	6,3*	88*	0 <sup>NS</sup>	12*
60	20	14,7***	6,8**	83**	0 <sup>NS</sup>	17**
60	50	16,1***	8,3**	83**	0 <sup>NS</sup>	17**

Comparaison entre les données obtenues pour la poudre à t=0 et autres temps (15, 30 et 60 jours) :

\*\*\* (P < 0,001).

\*\* (P < 0,01).

\* (P < 0,05).

<sup>NS</sup> non significatif.

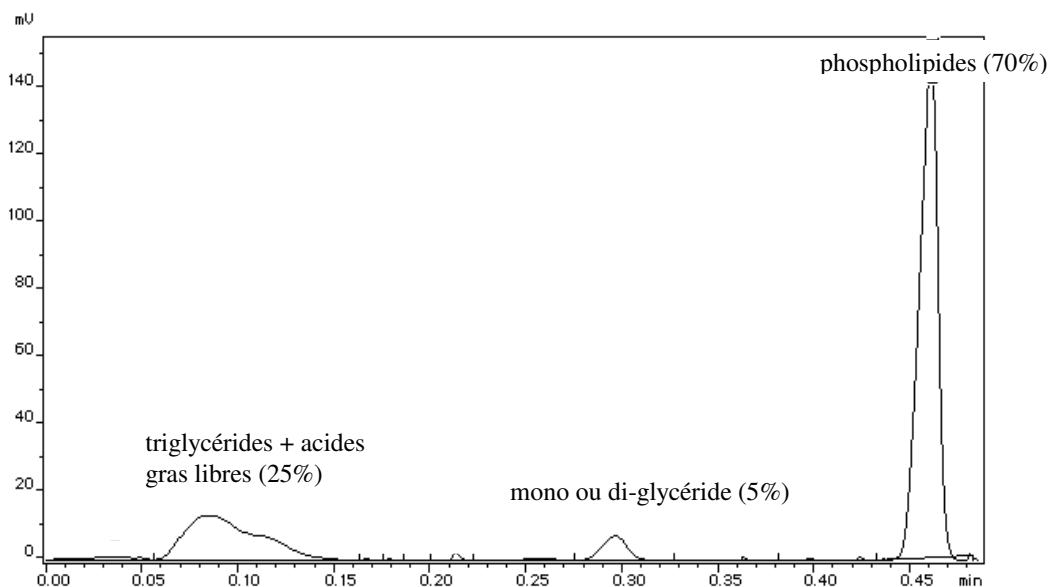
#### 5.1.4 Mesure de la formation des composés de Maillard

L'évolution du paramètre (+b) vers des valeurs élevées correspond en fait à un jaunissement des poudres. Ce jaunissement est souvent associé au brunissement non enzymatique ou réaction de Maillard. Certains produits (furosine et hydroxyméthylfurfural) de la réaction de Maillard sont dosés sur les poudres après 60 jours de conservation. La furosine est un composé intermédiaire de la réaction de Maillard et les HMF sont des composés finaux. Il s'avère que les poudres ne contiennent ni furosine ni HMF. Le jaunissement des poudres ne serait donc pas lié au brunissement non enzymatique.

### 5.1.5 Caractérisation des lipides

#### 5.1.5.1 Nature des lipides présents dans la poudre

Une caractérisation des lipides présents dans la poudre de PPCN conservée à 20°C en sac étanche pendant 60 jours est réalisée. Le profil obtenu sur la **figure 96** met en évidence la répartition suivante des lipides : triglycérides, acides gras libres, mono ou diglycérides et phospholipides (respectivement 20, 5, 5 et 70%). La présence d'acides gras libres met en évidence une certaine oxydation des lipides. Mais c'est surtout la répartition des lipides présents qui est atypique : 70% des lipides sont des phospholipides alors que les lipides du lait n'en contiennent qu'1%. Le procédé de fabrication a donc concentré les phospholipides au détriment des autres lipides. Les phospholipides sont des lipides polaires et principalement présents dans la membrane des globules gras.



**Figure 96** : Composition de la matière grasse d'une poudre de PPCN stockée à 20°C en sac étanche

#### 5.1.5.2 Extraction des lipides de surface

Une extraction des lipides de surface par solvant a également été réalisée afin de relier l'éventuelle coloration des poudres à une migration de lipides en surface. Après extraction des lipides de surface et séchage des poudres (évaporation sous hotte des solvants), le paramètre (+b) demeure constant (**tableau 37**). Par conséquent, les lipides présents à la surface ne semblent pas responsables de la coloration jaune/brune des poudres.

Tableau 37 : Comparaison de la couleur des poudres (+b) avant et après extraction des lipides (n=3)

type de conditionnement	température de stockage (°C)	(+b) avant extraction des lipides	(+b) après extraction des lipides
sac classique	20°C	6,8	6,8
sac classique	50°C	8,3	8,2
sac sous vide	20°C	4,9	4,7
sac sous vide	50°C	6,2	6,3

### 5.1.6 Discussion

Quel que soit le type de conditionnement et la température de conservation, on remarque une détérioration du temps de réhydratation puis, plus tardivement, du temps de mouillage. La détérioration du temps de réhydratation semble indépendante de la composition de surface. Par contre, il apparaît une corrélation entre la migration de lipides en surface et la dégradation du temps de mouillage (**figure 97**).

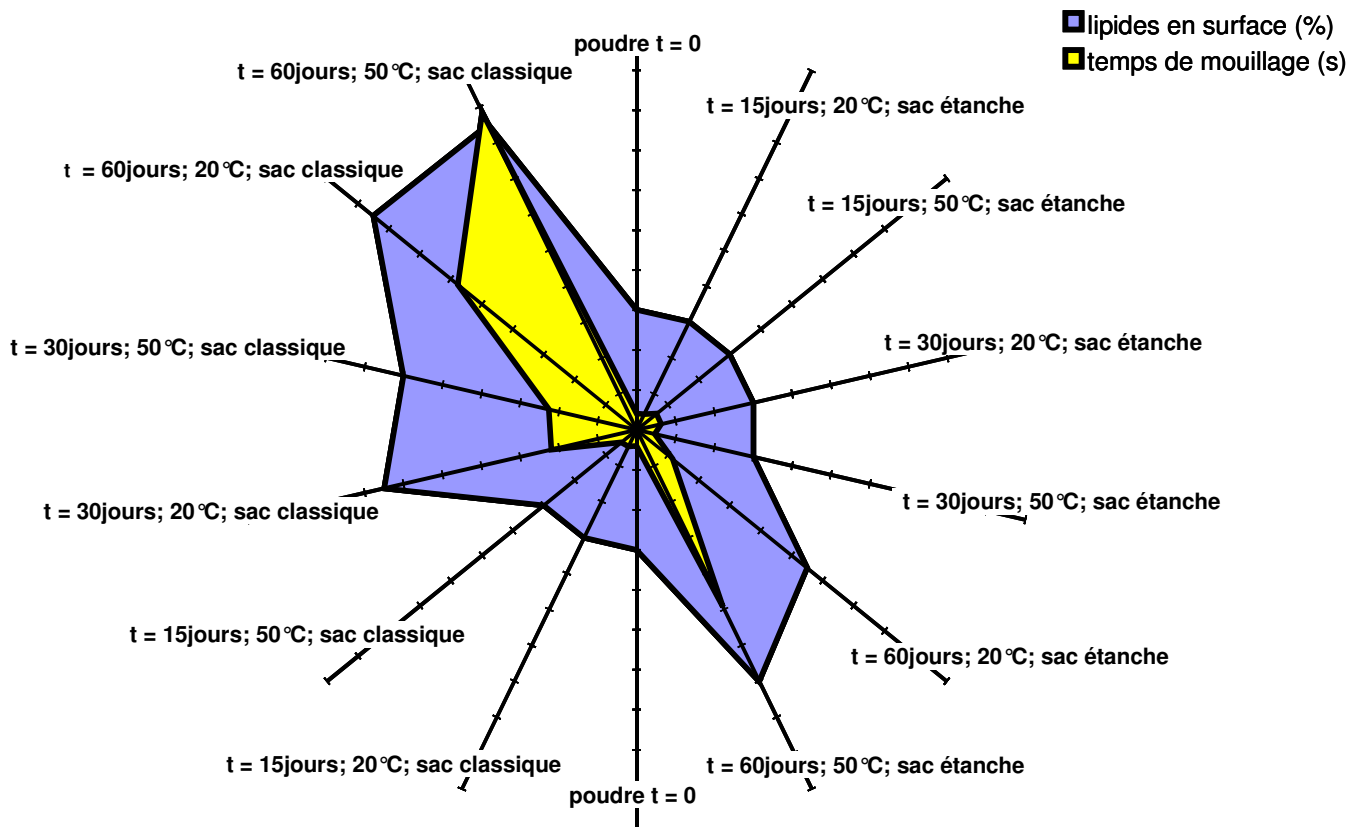


Figure 97 : Relation entre le pourcentage de lipides en surface et l'augmentation du temps de mouillage pour toutes les conditions de conservation

La migration de lipides en surface, lors de la conservation, n'est pas systématiquement observée. Ainsi, il semble qu'un stockage à 37°C diminue le pourcentage de lipides en surface

d'un mélange lactose/caséine/lipides (40/30/30). La raison pourrait être une destruction des îlots lipidiques présents en surface par la cristallisation de la matière grasse (Millqvist-Fureby, 2003). Par contre, Fäldt et Bergenståhl (1996a ; 1996b) observent l'apparition de lipides en surface au cours de la conservation de poudres contenant du lactose, probablement due à une libération des lipides encapsulés par la chaleur et l'humidité relative. Il semble donc que la nature des lipides influe directement sur leur présence en surface. Ainsi, des lipides conservés à une température inférieure à la  $T_f$  seront plus encapsulés que s'ils sont conservés à une température supérieure à la  $T_f$  des lipides (Faldt, 1995). Pour notre poudre, une étude plus approfondie de l'état des lipides (principalement des phospholipides) s'impose. Néanmoins, comme le pourcentage de lipides en surface est pratiquement le même pour les poudres conservées à 20 et à 50°C, on peut supposer que l'état est certainement le même à ces deux températures.

Singh et Newstead (1992) mettent en évidence qu'une teneur en eau des poudres supérieure à 5% entraîne une insolubilisation protéique même si la température de conservation est basse. La poudre étudiée contenant initialement 10% d'eau, la réhydratation dès 15 jours de conservation pourrait être liée à une insolubilisation protéique. De plus, une augmentation du pourcentage d'humidité des poudres est observée au cours du temps. Cette augmentation ne peut pas être expliquée par une prise d'eau atmosphérique pour les poudres conservées en sac étanche. Elle correspond également à une augmentation du paramètre (+b) signifiant un jaunissement des poudres. On pourrait donc supposer que cette augmentation d'humidité provienne de l'eau libérée par la réaction de Maillard. Or, les mesures de la furosine (composé intermédiaire de la réaction de Maillard) et des HMF (produit de dégradation avancé de la réaction de Maillard) sur les poudres après 60 jours de conservation sont négatives. On peut donc supposer que la quantité de lactose dans les poudres (< 2%) n'est pas suffisante pour engendrer ce type de réaction. Ceci est en accord avec Mistry et Pulgar (1996) qui n'observent pas d'HMF lors du stockage de poudres délactosées entre -20 et 45°C.

Certains auteurs préconisent une généralisation de la mesure du paramètre (+b) qui est une mesure simple et rapide (Celestino *et al.*, 1997 ; Nielsen *et al.*, 1997 ; Stapelfeldt *et al.*, 1997) plutôt que le dosage relativement contraignant des HMF pour caractériser la présence de composés de Maillard. Or, dans les poudres étudiées, il n'y a aucun lien entre le brunissement des poudres (donc augmentation du paramètre +b) et la présence de composés de Maillard.

Il est peut être possible que les enzymes du lait soient responsables des modifications de couleur et de réhydratation. En effet, le procédé de fabrication (sans pasteurisation) ne permet



pas une inactivation de ces enzymes (Schuck, communication personnelle). Les protéases (plasmine, catalase, oxydase, phosphatase) et lipases naturellement présentes dans le lait vont dégrader principalement les protéines et les lipides (Singh et Newstead, 1992). Linden (1986) observe ainsi une activité résiduelle des lipases même après une pasteurisation du lait.

Nous avons également noté un mottage des poudres conservées à 50°C en sac classique. Il semble que les principaux facteurs affectant le mottage soient : une température de stockage supérieure ou égale au  $T_g$  de la poudre et une augmentation de l'humidité (Boiros *et al.*, 1985 ; Aguilera *et al.*, 1995 ; Ozkan *et al.*, 2003). On voit donc l'importance d'un conditionnement adéquat pour éviter un mottage des poudres, en effet, les poudres conservées à 50°C et sous vide n'ont pas présentés ce phénomène en 60 jours de conservation. Le mottage altère la microstructure des poudres laitières et par conséquent ses propriétés de réhydratation (Fäldt et Bergenstahl, 1996). Yetismeyen et Deveci (2000), mettent en évidence un lien entre une modification de la microstructure des particules au cours du stockage et l'altération des premières étapes de la réhydratation (mouillage et dispersibilité). Ce mottage peut s'expliquer par la présence de matière grasse en surface des poudres. A température ambiante cette matière grasse est sous forme liquide et va former des ponts qui augmentent la surface de contact entre les particules et favorisent ainsi le mottage (Mac Kenna, 1997). Une augmentation de l'humidité de la poudre au cours du temps est également une autre hypothèse. L'eau en surface va dissoudre les composants laitiers, diminuer localement la viscosité et favoriser la cohésion des particules donc le mottage (Teunou *et al.*, 1999 ; Rennie *et al.*, 1999).

Pour obtenir des conditions de stockage idéales, il semble donc nécessaire de combiner : une température de stockage inférieure à 20°C, un emballage étanche pour éviter toute reprise d'eau et une humidité de la poudre inférieure à 5%.

**Il apparaît une dégradation des propriétés de réhydratation des poudres de PPCN pendant la conservation, même dans les conditions considérées comme optimales. L'humidité de départ élevée de la poudre peut certainement expliquer en partie cette dégradation.**

**Une lien entre le rallongement du temps de mouillage et l'apparition de lipides en surface au cours de la conservation a été mis en évidence. Le jaunissement des poudres observé n'est relié ni au brunissement non enzymatique ni à la migration de lipides en surface. Il est possible que ce jaunissement soit corrélé à une activité enzymatique résiduelle; le procédé de fabrication utilisé (microfiltration du lait au lieu d'une pasteurisation) laissant actif les enzymes présentes dans le lait.**



## **Conclusion générale et perspectives**



## **CONCLUSION GENERALE**

L'objectif du projet était d'étudier les mécanismes et la dynamique de la réhydratation des poudres laitières en vue de mieux maîtriser la qualité des produits reconstitués et de comprendre l'effet de la structure des particules en fonction de la composition d'origine et de la technologie de production des poudres.

La première phase de la thèse a été consacrée à la mise au point d'une méthodologie permettant d'étudier la réhydratation des poudres de protéines laitières. Deux appareils ont été adaptés à cette étude :

- un réacteur de 2 litres agité de manière contrôlée, thermostaté et équipé de capteurs de turbidité, de conductivité et de pH.
- un rhéomètre avec un module constitué d'une cuve et d'un agitateur à pales adapté à l'introduction de poudres en phase liquide.

Une étude préalable de la poudre a tout d'abord permis de valider chaque dispositif indépendamment. Il a été démontré, par ailleurs, que des informations concordantes relatives à la structure des particules de poudre en cours de dispersion sont obtenues par les approches rhéologiques et turbidimétriques. La turbidité et l'inverse de la viscosité sont corrélées à la taille des particules de PPCN en cours de dispersion dans une gamme de 400 à 50  $\mu\text{m}$  environ (tailles déterminées en parallèle par diffusion statique de la lumière sur Mastersizer S, Malvern).

Les profils de réhydratation rhéologique et turbidimétrique ont été interprétés par des techniques complémentaires réalisées en discontinu : microscopie optique, granulométrie par diffusion statique de la lumière et observations visuelles. Ils ont également été confrontés aux données des normes ADPI, FIL ou de la méthode Niro Atomizer usuellement utilisées en Industrie Laitière pour caractériser la réhydratation de poudres laitières (mouillabilité, solubilité, dispersibilité). Une bonne corrélation est mise en évidence entre les résultats turbidimétriques et les normes en ce qui concerne le temps de mouillage, le pourcentage de dispersibilité de la norme et le temps de réhydratation obtenu par nos méthodes.

Globalement ces profils sont constitués de plusieurs phases représentatives des différentes étapes de transformation structurale du milieu :

- le mouillage des particules, avec ou sans formation de « grumeaux »,
- le gonflement éventuel des particules,

- la dispersion des particules.

Les données conductimétriques et pH métriques complémentaires montrent que même au bout de plusieurs heures de réhydratation alors que la stabilité « structurale » du système semble obtenue (signaux constants de turbidité et de viscosité), le pH et la conductivité continuent d'évoluer en relation avec la mise en place plus lente des équilibres salins du milieu.

Les profils de réhydratation turbidimétriques et rhéologiques constituent la base d'étude des points suivants considérés comme éléments clés dans la compréhension des phénomènes de réhydratation de poudres de protéines laitières soit :

- l'influence de la composition biochimique des poudres dans la réhydratation,
- l'influence des procédés technologiques sur la réhydratation,
- l'effet de la conservation sur la réhydratation.

### • **influence de la composition biochimique dans la réhydratation**

*Nature de la protéine réhydratée.* Les profils de réhydratation montrent des comportements différents pour les poudres de PPCN et de PS. La poudre de PPCN présente un mouillage rapide suivi d'un gonflement des particules marqué et une dispersion très lente. À l'opposé, la poudre de PS se mouille difficilement. L'étape de mouillage est associée à la présence de nombreux agrégats, phénomène amplifié pour les poudres non granulées. Aucune phase de gonflement n'est observée, certainement en relation avec la faible capacité d'absorption d'eau de ces poudres. Par contre, l'ensemble de la réhydratation est rapide.

La composition de l'interface (poudre/air) pourrait également expliquer les temps de mouillage obtenus. En effet, les protéines solubles semblent présenter des propriétés d'encapsulation des lipides moindre que les caséines ; leur surface sera donc plus riche en lipides.

Les différences de comportement observées entre les poudres de PS et de PPCN indiquent clairement que les transferts d'eau sont beaucoup plus lents pour les caséines micellaires que pour les protéines solubles. Comme les propriétés physiques des poudres sont similaires, il est probable que les caractéristiques structurales des protéines composant la poudre soient à l'origine des différentes propriétés de réhydratation ; les caséines micellaires présentent une structure supramoléculaire ouverte très peu compacte et les protéines solubles présentent une structure globulaire.

**Ajout de protéines solubles à la caséine micellaire.** L'ajout de 20% de PS à une poudre de PPCN par co-séchage produit une poudre de (PPCN + PS) présentant un comportement intermédiaire entre les deux familles de protéines. Néanmoins, les paramètres de réhydratation obtenus se rapprochent plus de ceux des poudres PS seules que des poudres de PPCN. Ainsi, la présence de PS va significativement rallonger le temps de mouillage et réduire le temps global de réhydratation. La présence de protéines solubles en surface, connues pour ses mauvaises propriétés de mouillage, pourraient expliquer l'augmentation du temps de mouillage par rapport à la poudre de PPCN seule. L'amélioration du temps de réhydratation pourrait quant à lui s'expliquer par une réduction du repliement des caséines au contact des PS pendant le séchage, permettant ensuite une réhydratation plus rapide.

**Ajout de composés hygroscopiques à la caséine micellaire.** La présence de composés hygroscopiques tel que le lactose et/ou les minéraux du lait permet de raccourcir toutes les étapes de réhydratation. Si ces composés sont localisés en surface, c'est principalement l'étape de mouillage qui sera influencée, alors que s'ils sont dans le cœur de la particule, c'est l'étape de dispersion qui sera modifiée. Les transferts d'eau semblent donc plus conditionnés par l'hygroscopicité des constituants que par la structure (poreuse) des particules.

L'analyse de surface des poudres par SPX permet, après calcul, d'appréhender la composition de surface des particules en lipides, protéines et lactose. Selon le type de matrice de calcul, les résultats sont légèrement différents mais répondent aux mêmes tendances : les protéines et les lipides sont localisés préférentiellement en surface alors que le lactose et les minéraux seront plutôt localisés dans la particule. Cela peut refléter la tendance des protéines à s'adsorber à l'interface air/liquide des gouttelettes avant le séchage dans la tour d'atomisation.

- **influence du procédé technologique sur la réhydratation**

**Type de mélange.** Les propriétés de réhydratation des poudres co-séchées et mélangées à sec sont totalement différentes. Il semble que réhydrater une poudre de PPCN dans une solution lactosée, une solution de perméat d'ultrafiltration ou une solution de protéines solubles revienne au même que réhydrater les mélanges à sec. La porosité importante de la micelle de caséine laisse envisager une répartition uniforme des molécules de lactose, de perméat ou de PS lors du co-séchage. Ce type de répartition semble donc favoriser les transferts d'eau pendant la réhydratation.

**Influence de la granulation.** Pour une optimisation industrielle du temps de réhydratation, il faudra tenir compte de la nature des protéines pour fabriquer des poudres granulées ou pas. Il est donc conseillé de ne pas granuler les poudres de caséines micellaires et de granuler les poudres de protéines solubles.

Par analyse de la composition de surface des poudres par SPX, il est également mis en évidence que les poudres granulées ont systématiquement plus de lactose en surface alors que les non granulées présentent relativement plus de protéines en surface dans les conditions de fabrication employées. La cause de l'amélioration des propriétés de mouillage des poudres granulées pourrait ainsi être également relative à la présence de lactose (plutôt que de protéines) préférentiellement en surface. A partir d'une même suspension protéique initiale, il est possible de réaliser trois types de particules de PPCN présentant une structuration (fines, non granulées et granulées) et une composition de surface différentes. Les fines présentent une surface plus riche en lipides, lactose et minéraux. Les particules non granulées sont plus riches en protéines et les particules granulées, réalisées à partir de la réintroduction des fines au niveau de la buse d'atomisation, présentent une surface intermédiaire entre les deux.

**Traitement thermique.** Le traitement thermique des protéines influence les propriétés de réhydratation. Pour les mélanges (PPCN + PS), le traitement thermique rallonge à la fois le temps de mouillage et le temps de réhydratation. La présence de protéines solubles en surface des particules, liée au traitement thermique, pourrait expliquer le temps de mouillage rallongé pour la poudre de (PPCN + PS) TT. La présence de caséines en surface des mélanges non traités thermiquement semble correspondre aux temps de réhydratation plus rapides. Pour les protéines solubles seules (PS 90 et PS 70), l'influence du traitement thermique est moins visible car elles se réhydratent rapidement.

Dans tous les cas, l'ajout de lactose ou de caséines dans le mélange avant séchage entraîne une protection des protéines solubles vis à vis du traitement thermique.

- **influence de la conservation sur la réhydratation**

Il apparaît une dégradation des propriétés de réhydratation des poudres de PPCN pendant la conservation, même dans les conditions considérées comme optimales. L'humidité initiale élevée (~ 10%) de la poudre peut certainement expliquer en partie cette dégradation.

Une lien entre le rallongement du temps de mouillage et l'apparition de lipides en surface au cours de la conservation a été mis en évidence. Le jaunissement des poudres observé n'a pu être relié au brunissement non enzymatique (par absence d'HMF et de



furosine) et à la migration de lipides en surface. Par contre, la teneur en eau des poudres élevée, et le procédé initial d'épuration bactérienne par microfiltration sans traitement thermique (type flash pasteurisation), pourrait expliquer la persistance d'activités enzymatiques type lipases ou protéases dans le milieu qui seraient à l'origine de la dégradation des propriétés de réhydratation des poudres et de leur jaunissement.



## **PERSPECTIVES DE RECHERCHE**

L'étude cinétique de la réhydratation des poudres laitières par les méthodes mises au point (viscosité, turbidimétrie) est nouvelle. Il est désormais possible, au regard de l'expertise que nous avons sur les mécanismes de la réhydratation, d'étudier d'autres poudres alimentaires ou non alimentaires.

Certains résultats sont surprenants et mériteraient d'être approfondis, nous pensons plus particulièrement à l'influence de la granulation sur la réhydratation. En effet, il est bien connu que la granulation permet d'augmenter d'une part la surface spécifique d'échange avec l'eau et d'autre part la porosité de la particule, ces deux effets combinés permettant d'obtenir une meilleure réhydratation (mouillage et dispersion). Or nous avons observé qu'en fonction de la nature des protéines contenues dans la poudre, la granulation (selon le procédé de réintroduction des fines) peut avoir des effets inverses.

L'effet de l'agitation du mélange est également un paramètre important à prendre en compte lors de la réhydratation. Son influence n'a pas été étudiée dans ce travail mais nous avons observé qu'un système statique (normes FIL, ADPI) et un système dynamique (réacteur) ne donnait pas les mêmes résultats en terme d'aptitude de la poudre à la réhydratation. À ce titre, la vitesse d'agitation doit être prise en compte car des résultats contradictoires notamment sur le temps de mouillage sont obtenus en fonction du type de poudre. Une optimisation de la réhydratation par une approche prenant en compte le « génie des procédés » serait donc intéressante à envisager.

Dans la continuité de cette étude, il serait également intéressant d'approfondir l'influence de la conservation sur les propriétés de réhydratation des poudres. Différentes contraintes de température, d'emballage et d'humidité peuvent être envisagées. Les principaux résultats ont bien montré l'évolution négative sur la réhydratation de la durée de conservation et de la température des poudres et ce quelque soit le type de conditionnement. Néanmoins, les mécanismes et les cinétiques de dégradation en fonction des conditions de conservation et de la composition des poudres devraient être approfondis. La nature des lipides présents dans la poudre et leur migration en surface des particules en fonction de leur température de fusion est également un point à étudier plus précisément.

De même la teneur en eau de la poudre au moment de la réhydratation est aussi probablement un élément à prendre en compte. Quel est, au regard de la réglementation, l'optimum de teneur en eau de la poudre pour une meilleure conservation mais également une réhydratation optimale?

D'après les quelques essais réalisés, l'influence du milieu de réhydratation représente également une perspective intéressante. Il me semble ainsi que des essais de réhydratation dans des milieux plus complexes, comme le lait, est sont à envisager. Dans ce cadre, l'utilisation de plans de mélanges prenant en compte les paramètres de composition et de procédé semble être pertinente pour ce travail.

Enfin, les mécanismes de formation des interfaces poudre/air sont également de nouvelles voies d'études. Peu d'études concernent actuellement ce domaine. Les interfaces conditionnent pourtant de nombreuses propriétés fonctionnelles des poudres : réhydratation ou autre. À terme, on peut imaginer, qu'une meilleure connaissance des interfaces pourrait permettre d'orienter la structure des poudres en fonction des propriétés fonctionnelles recherchées.

## Références bibliographiques

- Adachi S.**, Electron microscopic observations of alkaline earth metal-caseinate particle, *Journal of Dairy Science*, (1963) 743-744.
- ADPI** (American Dry Product Institute, Elmhurst, IL), Determination of dispersibility of nonfat dry milk powder, in *Standards for grades of dry milks including methods of analysis*, bulletin 916, (2002a) 36-38
- ADPI** (American Dry Product Institute, Elmhurst, IL), Determination of solubility index, in *Standards for grades of dry milks including methods of analysis*, bulletin 916, (2002b) 30-31.
- ADPI** (American Dry Product Institute, Elmhurst, IL), Determination of total ash, in *Standards for grades of dry milks including methods of analysis*, bulletin 916, (2002c) 40-41.
- AFNOR**, Détermination de la teneur en eau – méthode par étuvage, No : V04-348, (1978).
- Aguilar C. A.** and **G. R. Ziegler**, Physical and Microscopic Characterization of Dry Whole Milk with Altered Lactose Content. 1. Effect of Lactose Concentration, *Journal of Dairy Science*, 77 (1994a) 1189-1197.
- Aguilar C. A.** and **G. R. Ziegler**, Physical and Microscopic Characterization of Dry Whole Milk with Altered Lactose Content. 2. Effect of Lactose Crystallization, *Journal of Dairy Science*, 77 (1994b) 1198-1204.
- Aguilera J. M.**, **J. M. del Valle** and **M. Karel**, Caking phenomena in amorphous food powders, *Trends in Food Science and Technology*, 6 (1995) 149-155.
- Aguilera J. M.**, **D. W. Stanley** and **K. W. Baker**, New dimensions in microstructure of food products, *Trends in Food Science and Technology*, 11 (2000) 3-9.
- Aimar P.** and **G. Daufin**, Separations par membrane dans l'industrie alimentaire, *Techniques de l'ingénieur*, F3 250 (2004)
- Alais C.**, *Science du Lait : Principe des techniques laitières*, 4<sup>ème</sup> édition, Editions SEPAIC, Paris, France, (1984).
- Alexandrescu A. T.**, **P. A. Evans**, **M. Pitkeathly**, **J. Baum** and **C. M. Dobson**, Structure and dynamics of the acid-denatured molten globule state of  $\alpha$ -lactalbumin : a two dimensional NMR study, *Biochemistry*, 32 (1993) 1707-1718.
- Allouche J.**, **E. Tyrode**, **V. Sadtler**, **L. Choplin** and **J-L. Salager**, Emulsion morphology follow up by simultaneous in situ conductivity and viscosity measurements during a dynamic temperature induced transitional inversion, *Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Symposium on Food Rheology and Structure*, (2003).
- Alzagtat A. A.** and **I. Alli**, Protein-lipid interactions in food systems: a review, *International Journal of Food Science and Nutrition*, 53 (2002) 249-260.
- Amory D. E.**, **N. Nozes**, **M. P. Hermesse**, **A. J. Leonard** and **P. G. Rouxhet**, Chemical analysis of the surface of microorganisms by X-ray photoelectron spectroscopy, *FEMS Microbiology Letters*, 49 (1988) 107-110.
- Amory D. E.** and **P. G. Rouxhet**, Surface properties of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces carlsbergensis*: chemical composition, electrostatic charge and hydrophobicity, *Biochimica et Biophysica Acta*, 938 (1988) 61-67.
- Anema S. G.** and **Y. Li**, Effect of pH on the association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk, *Journal of Agricultural of Food Chemistry*, 51 (2003) 1640-1646.
- AOAC** (Association of Official Analytical Chemists), *Official methods of analysis*, 40<sup>ème</sup> édition, Washington DC dans W. Horwitz (Ed.), (1984).
- Ashworth U. S.** and **H. Gunthardt**, A wettability method for powdered milk, *Journal of Dairy Science*, 37 (1954) 863-868.

**Augustin M. A.**, Developing non-fat milk powders with specific functional properties, *Food Research Quarterly*, 51 (1991) 16-22.

**Auty M. A.**, **M. Twomey**, **T. P. Guinee** and **D. M. Mulvihill**, Development and application of confocal scanning laser microscopy methods for studying the distribution of fat and protein in selected dairy products, *Journal of Dairy Research*, 68 (2001) 417-427.

**Baldwin A. J.** and **W. B. Sanderson**, Factors affecting the reconstitution properties of whole milk powder, *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 93:92 (1973) 92-100.

**Baldwin A. J.** and **Woodhams**, The dispersibility of skim milk powder at high total solids, *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 9:140 (1974) 140-151.

**Baldwin A. J.** and **J. D. Ackland**, Effect of preheat treatment and storage on the properties of whole milk powder. Changes in physical and chemical properties, *Netherland Milk Dairy Journal*, 45:3 (1991) 169-181.

**Banon S.** and **J. Hardy**, Study of acid milk coagulation by an optical method using light reflection, *Journal of Dairy Research*, 58 (1991) 75-84.

**Bazinet L.**, **Y. Pouliot** and **F. Castaigne**, 3 - Opérations unitaires, in *Science et Technologie du Lait – Transformation du lait*, Fondation de technologie laitière du Québec inc., Presses internationales Polytechnique, (2002) 153-243.

**Bean M. M.** and **W. T. Yamazaki**, Wheat starch gelatinisation in sugar solutions. I. Sucrose: microscopy and viscosity effects, *Cereals Chemistry*, 55 (1978) 936-944.

**Beaulieu M.**, **Y. Pouliot** and **M. Pouliot**, Composition and microstructure of casein: whey protein aggregates formed by heating model solutions at 95°C, *International Dairy Journal*, 9 (1999) 393-394.

**Bech A. M.**, The physical and chemical properties of whey proteins, *Dairy Industry International*, 46 (1980) 25-33.

**Berlin E.**, **B. A. Anderson** and **M. J. Pallansch**, Water vapor sorption properties of various dried milks and wheys, *Journal of Dairy Science*, 51:9 (1968) 1339-1344.

**Berlin E.**, **B. A. Anderson** and **M. J. Pallansch**, Comparison of vapor sorption by milk powder components, *Journal of Dairy Science*, 51:12 (1968a) 1912-1915.

**Berlin E.**, **P. G. Kliman**, **B. A. Anderson** and **M. J. Pallansch**, Water binding in whey protein concentrates, *Journal of Dairy Science*, 56 (1973) 984-989.

**Blomfield C. J.**, Spatially resolved X-ray photoelectron spectroscopy, *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 143 (2005) 243-251.

**Blond G.** and **M. Le Meste**, Propriétés d'hydratation des macromolécules, relations avec leurs propriétés fonctionnelles, *les cahiers de l'ENSBANA*, 6 (1988) 11-31.

**Bloore C.** and **I. Boag**, The effect of processing variables on spray dried milk powder, *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 17 (1982) 103-120.

**Boiros M.**, **Lancelot**, **Davenas** and **Ilari**, Influence de la technologie sur les propriétés physiques du lait en poudre, *Technicien du lait*, 32 (1985) 10-21.

**Boonaert C. J.** and **P. G. Rouxhet**, Surface of lactic acid bacteria: relationships between chemical composition and physicochemical properties, *Applied and Environmental Microbiology*, 66:6 (2000) 2548-2554.

**Bourriot S.**, **C. Garnier** and **J-L. Doublier**, Phase separation, rheology and structure of micellar casein-galactomannan mixtures, *International Dairy Journal*, 9 (1999) 353-357.

**Briggs D.**, 2 – XPS, in *Surface analysis of polymers by XPS and static SIMS*, Cambridge University Press, (1998a) 14-46.

**Briggs D.**, 3 – Information from polymer XPS, in *Surface analysis of polymers by XPS and static SIMS*, Cambridge University Press, (1998b) 47-155.

**Britten M.**, **S. Gauthier** and **Y. Pouliot**, 9 - Ingrédients laitiers, in *Science et Technologie du Lait - Transformation du Lait*, Fondation de technologie laitière du Québec inc., Presses internationales polytechnique, (2002) 471-525.

**Brownlow S., J. H., Morais Cabral, R. Cooper, D. R. Flower, S. J. Yewdall, I. Polikarpov, A. C. North and L. Sawyer,** Bovine  $\beta$ -lactoglobulin at 1.8 Å resolution - Still an enigmatic lipocalin, *Structure*, 5:4 (1997) 481-495.

**Brun, J. M. and D. G. Dalgleish,** Some effects of heat on the competitive adsorption of caseins and whey proteins in oil-in-water emulsions, *International Dairy Journal*, 9 (1999) 323-327.

**Buchheim W.,** Electron microscopic localization of solvent-extractable fat in agglomerated spray-dried whole milk powder particles, *Food Microstructure*, 1 (1982) 233-238.

**Buma T. J.,** Free fat in spray-dried whole milk. 1 General introduction and brief review of literature, *Netherlands Milk Dairy Journal*, 25 (1971a) 33-41.

**Buma T. J.,** Free fat in spray-dried whole milk. 2 An evaluation of methods for the determination of free-fat content, *Netherlands Milk Dairy Journal*, 25 (1971b) 42-52.

**Buma T. J.,** Free fat in spray-dried whole milk. 3 Particle size. Its estimation, influence of processing parameters and its relation to free fat, *Netherlands Milk Dairy Journal*, 25 (1971c) 53-72.

**Busti P., S. Scarpeci, S. Gatti and N. Delorenzi,** Use of fluorescence methods to monitor transitions in  $\beta$ -lactoglobulin, *Food Research International*, 35 (2002) 871-877.

**Caron A., D. St-Gelais and Y. Pouliot,** Coagulation of milk enriched with ultrafiltered or diafiltered microfiltered milk retentate powders, *International Dairy Journal*, 7 (1997) 445-451.

**Castro G. R., E. P. Andribet, L. M. Ducrey, O. A. Garro and F. Sineriz,** Modelling and operation of a turbidity-meter for on-line monitoring of microbial growth in fermenters, *Process Biochemistry*, 30 :8 (1995) 767-772.

**Cayot P. and D. Lorient,** Les propriétés d'hydratation des protéines, in *Structures et technofonctions des protéines du lait*, Arilait Recherches, Lavoisier Tec et Doc, (1998) 209-227.

**Celestino E. L., M. Iyer and H. Roginski,** Reconstituted UHT-treated milk : effects of raw milk, powder quality and storage conditions of UHT milk on its physico-chemical attributes and flavour, *International Dairy Journal*, 7 (1997) 129-149.

**Chardot V., S. Banon, M. Misiuwianec and J. Hardy,** Growth kinetics and fractal dimension of casein particles during acidification, *Journal of Dairy Science*, 85 (2002) 8-14.

**Cheftel J. C., J-L. Cuq and D. Lorient,** in *Protéines alimentaires*, Tec & Doc, Lavoisier, Paris, (1985).

**Chou D. H. and C. V. Morr,** Protein water interactions and functional properties, *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 56 (1979) 53A.

**Christie W. W.,** The composition and structure of milk lipids, in *Developments in dairy chemistry*, vol. 2, P. F. Fox, Applied science publishers, London, (1983) 1-35.

**Chrysina E. D., K. Brew and K. R. Acharya,** Crystal structures of apo- and holo-bovine alpha-lactalbumin at 2.2-Å resolution reveal an effect of calcium on inter-lobe interactions, *Journal of Biology and Chemistry*, 275 (2000) 37021-37029.

**CNIEL,** *L'économie laitière en chiffres*, Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière, Paris (1998).

**CNIEL,** *L'économie laitière en chiffres*, Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière, Paris (2000).

**CNIEL,** *L'économie laitière en chiffres*, Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière, Paris (2002).

**CNIEL,** *L'économie laitière en chiffres*, Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière, Paris (2004).

**Corredig M. and D. G. Dalgleish,** Effect of temperature and pH on the interactions of whey proteins with casein micelles in skim milk, *Food Research International*, 29 :1 (1996) 49-55.

**Corredig M.** and **D. G. Dalgleish**, The mechanisms of the heat induced interaction of whey proteins with casein micelles in milk, *International Dairy Journal*, 9 (1999) 233-236.

**Crawley G. M.**, **F. Gruy** and **M. Cournil**, In-line study of crystal fragmentation in a stirred reactor, *Chemical Engineering Science*, 51 :20 (1996) 4537-4550.

**Croguennec T.**, **S. Bouhallab**, **D. Molle**, **B. T. O’Kennedy** and **R. Mehra**, Stable monomeric intermediate with exposed Cys-119 formed during heat denaturation of  $\beta$ -lactoglobulin, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 301 (2003) 465–471.

**Dalgleish D. G.**, **H. D. Goff**, and **B. Luan**, Exchange reactions between whey proteins and caseins in heated soya oil-in-water emulsion systems – behaviour of individual proteins, *Food Hydrocolloids*, 16 (2002) 295-302.

**Danthine S.**, **C. Blecker**, **M. Paquot**, **N. Innocente** and **C. Deroanne**, Evolution des connaissances sur la membrane du globule gras du lait : synthèse bibliographique, *Le Lait*, 80 (2000) 209-222.

**Dao L. H.**, **H. M. Nguyen** and **H.H. Mai**, A fiber optic turbidity system for in situ monitoring protein aggregation, nucleation and crystallisation, *Acta Astronautica*, 47 (2000) 399-409.

**Daemen A. L.**, The estimation of the mean particle density, the vacuole volume and the porosity of spray-dried porous powders, *Netherland Milk and Dairy Journal*, 36 (1982) 53-64.

**Davenel A.**, **P. Schuck** and **P. Marchal**, A NMR relaxometry method for determining the reconstitutability and water holding capacity of protein rich milk powders, *Milchwissenschaft*, 52:1 (1997) 35-39.

**Davenel A.**, **P. Schuck** and **P. Marchal**, Cinétiques de réhydratation et capacités de rétention d’eau de poudres mesurées par relaxométrie RMN, *Analysis Magazine*, 25 :1 (1997a)

**Davenel A.**, **P. Schuck**, **F. Mariette** and **G. Brulé**, NMR relaxometry as a non-invasive tool to characterize milk powders, *Le Lait*, 82 (2002) 465-473.

**Dengis P. B.**, **P. A. Gerin** and **P. G. Rouxhet**, X-ray photoelectron spectroscopy analysis of biosurfaces: examination of performances with yeast cells and related model compounds, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 4 (1995) 199-211.

**Dewettinck K.**, **H. De Moor** and **A. Huyghebaert**, The free-fat content of dried milk products and flow properties of milk chocolate, *Milchwissenschaft*, 51 (1996) 25-28.

**Dickinson E.**, Surface and emulsifying properties of caseins, *Journal of Dairy research*, 56 (1989) 471-477.

**Dickinson E.** and **Y. Matsumura**, Time dependent polymerisation of  $\beta$ -lactoglobulin through disulphide bonds at the oil-water interface in emulsions, *International Journal of Biological Macromolecules*, 13 (1991) 26-30.

**Dickinson E.**, Caseins in emulsions : interfacial properties and interactions, *International Dairy Journal*, 9 (1999) 305-312.

**Dickinson E.** and **E. L. Parkinson**, Heat-induced aggregation of milk protein-stabilized emulsions: sensitivity to processing and composition, *International Dairy Journal*, 14:7 (2004) 635-645.

**Ennis M. P.**, **M. M. O’Sullivan** and **D. M. Mulvihill**, The hydration behaviour of rennet caseins in calcium chelating salt solution as determined using a rheological approach, *Food Hydrocolloids*, 12 (1998) 451-457.

**Ennis M. P.** and **D. M. Mulvihill**, Compositional characteristics of rennet caseins and hydration characteristics of the caseins in a model system as indicators of performance in Mozzarella cheese analogue manufacture, *Food Hydrocolloids*, 13 (1999) 325-337.

**Euston S. R.** and **R. L. Hirst**, Comparison of the concentration-dependent emulsifying properties of protein products containing aggregated and non-aggregated milk protein, *International Dairy Journal*, 9:10 (1999) 693-701.



**Fältdt P., B. Bergenståhl** and **G. Carlsson**, The surface coverage of fat on food powders analysed by ESCA (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis), *Food Structure*, 12 (1993) 225-234.

**Fältdt P.** and **B. Bergenståhl**, The surface composition of spray-dried protein-lactose powders, *Colloids and Surfaces A: physicochemical and Engineering Aspects*, 90 (1994) 183-190.

**Fältdt P.**, Surface composition of spray dried emulsions, *Doctoral thesis from Lund University Department of Food Engineering* (1995).

**Fältdt P.** and **B. Bergenståhl**, Fat encapsulation in spray dried food powders, *Journal of American Oil Chemist's Society*, 72:2 (1995) 171-176.

**Fältdt P.** and **I. Sjöholm**, Characterization of spray-dried whole milk, *Milchwissenschaft*, 51:2 (1996) 88-91.

**Fältdt P.** and **B. Bergenståhl**, Changes in surface composition of spray dried food powders due to lactose crystallization, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 29 (1996) 438-446.

**Fältdt P.** and **B. Bergenståhl**, Spray-dried whey protein/lactose/soybean oil emulsions. 1. Surface composition and particle structure, *Food Hydrocolloids*, 10 (1996a) 421-429.

**Fältdt P.** and **B. Bergenståhl**, Spray-dried whey protein/lactose/soybean oil emulsions. 2. dispersability, wettability and particle structure, *Food Hydrocolloids*, 10 (1996b) 431-439.

**Farrell H. M., H. Pessen** and **T. F. Kumosinski**, Water interactions with bovine caseins by hydrogen-2 nuclear magnetic resonance relaxation studies : structural implications, *Journal of Dairy Science*, 72 (1989) 562-574.

**Fauquant J., J. L. Maubois** and **A. Pierre**, Microfiltration du lait sur membrane minérale, *Technique laitière*, 1028 (1988) 21-23.

**FIL** (Fédération Internationale Laitière), Brussels, Belgium, Détermination de la dispersibilité et de la mouillabilité, No : V04-364, (1985).

**FIL** (Fédération Internationale Laitière), Brussels, Belgium, Dried milk, dried whey, dried buttermilk & dried butter serum – Determination of fat content – Röse Gottlieb reference method, No 009C, (1987).

**FIL** (Fédération Internationale Laitière), Brussels, Belgium, Détermination de l'indice de solubilité de l'azote dans les poudres de protéines lactiques, No. 173, (1995).

**FIL** (Fédération Internationale Laitière), Brussels, Belgium, Milk and milk products – Determination of furosine content, No. 193 (2004).

**Fitzpatrick J. J., K. Weidendorfer** and **E. Teunou**, Reconstitution of dairy powders to high solids content in a stirred-tank : the effect of agitation, *Milchwissenschaft*, 55 :8 (2000) 437-440.

**Fitzpatrick J. J., K. Weidendorfer, M. Weber** and **E. Teunou**, Practical considerations for reconstituting dairy powders to high solids content in a stirred-tank, *Milchwissenschaft*, 59 :9 (2001) 512-516.

**Foster K. D., J. E. Bronlund** and **A. H. Paterson**, The contribution of milk fat towards the caking of dairy powders, *International Dairy Journal*, 15 (2005) 85-91.

**Fox P. F.** and **D. M. Mulvihill**, Functional properties of caseins, caséinates and casein co-precipitates, in *Physicochemical aspects of dehydrated protein rich milk products*. Proc. Int. Dairy Fed. Symp., Danish Govt. Res. Inst. Dairy Ind., Helsingor, DK, (1983) 188-259.

**Fox P. F.** and **A. L. Kelly**, Development in the chemistry and technology of milk proteins. 3. Product-related aspects of milk proteins, *Food Australia*, 55:8 (2003) 337-340.

**Freudig B., S. Hoge Kamp** and **H. Schubert**, Dispersion of powders in liquids in a stirred vessel, *Chemical Engineering Processing*, 38 (1999) 525-532.

**de la Fuente M. A., Y. Hemar, M. Tamehana, P. A. Munro** and **H. Singh**, Process-induced changes in whey proteins during the manufacture of whey protein concentrates, *International Dairy Journal*, 12 (2002) 361-369.

**Garem A., P. Schuck** and J-L. **Maubois**, Cheesemaking properties of a new dairy-based powder made by a combination of microfiltration and ultrafiltration, *Le Lait*, 80 (2000) 25-32.

**Gaucheron F., Y. Le Graet** and **P. Schuck**, Equilibres minéraux et conditions physicochimiques, in *Minéraux et produits laitiers*, F. Gaucheron, Editions Tec et Doc, Paris, (2004) 219 - 280.

**St-Gelais D., D. Roy** and **P. Audet**, Manufacture and composition of low fat cheddar cheese from milk enriched with different protein concentrate powders, *Food Research International*, 31:2 (1998) 137-145.

**Gerin P. A., P. B. Dengis** and **P. G. Rouxhet**, Performance of XPS analysis of model biochemical compounds, *Journal de Chimie Physique*, 92 (1995) 1043-1065.

**Goldszal A. and J. Bousquet**, Wet agglomeration of powders: from physics toward process optimisation, *Powder Technology*, 117 (2001) 221-231.

**Goudéranche H., J. Fauquant** and J-L. **Maubois**, Fractionation of globular milk fat by membrane microfiltration, *Le Lait*, 80 (2000) 93-98.

**Gruy F.**, Formation of small silica aggregates by turbulent aggregation, *Journal of Colloid and Interface Science*, 237 (2001) 28-39.

**Guyomarc'h F., F. Warin, D. D. Muir** and J. Leaver, Lactosylation of milk proteins during manufacture and storage of skim milk powders, *International Dairy Journal*, 10 (2000) 863-872.

**Hardy J. and F. Fanni**, Application of reflection photometry to the measurement of milk coagulation, *Journal of Food Science*, 46 (1981) 1956-1957.

**Hardy J., F. Fanni** and **F. Weber**, Study of milk coagulation by means of diffuse reflexion photometry, *Science des aliments*, 1:3 (1981) 351-364.

**Hardy J., J. Fanni** and **J. Scher**, Une étude turbidimétrique de mesure de la coagulation du lait, *Revue Laitière Française*, 441 (1985) 13-18.

**Hardy J. and J. Scher**, Mesure en continu de la coagulation du lait par une méthode optique, in *Automatic control and optimisation of food processes*, ed. M. Renard and J. J. Bimbenet, Elsevier Science, (1986).

**Hardy J., J. Scher** and **S. Banon**, Water activity and hydration of dairy powders, *Le Lait*, 82 (2002) 441-452.

**Haylock S. J.**, Dried dairy ingredients for confectionary, *Manufacturing confectioner*, 75:6 (1995) 65-73.

**Hogekamp S. and M. Pohl**, Porosity measurements of fragile agglomerates, *Powder Technology*, 130 (2003) 385-392.

**Holt C.**, Structure and stability of bovine casein micelles, in *Advances in protein chemistry*, Anfisen, C. B., Richards, F. M., Edsall, J. T. and Eisenberg, D. S. eds, Academic Press, Boston, USA, 43 (1992) 63-151.

**Holt C. and D. Horne**, The hairy casein micelle : evolution of the concept and its implications for dairy technology, *Netherland Milk and Dairy Journal*, 50 (1996) 85-111.

**Horne D. S.**, Casein Interactions : Casting Light on the Black Boxes, the Structure in Dairy Products, *International Dairy Journal*, 8:3 (1998) 171-177.

**Huang C. and G. S. Chen**, Use of the fiber optical monitor in evaluating the state of flocculation, *Water Research*, 30:11 (1996) 2723-2727.

**Hunt J. A. and D. G. Dalgleish**, Adsorption behaviour of whey protein isolate and caséinate in soya oil-in-water emulsions, *Food Hydrocolloids*, 8 (1994) 175-187.

**Jensen G. K. and P. Nielsen**, Reviews of the progress of Dairy Science: Milk powder and recombination of milk and milk products, *Journal of Dairy Research*, 49 (1982) 515-544.

**Jost R.**, Functional characteristics of dairy proteins, *Trends in Food Science and Technology*, 4 (1993) 283-288.

**Jouppila K. and Y. H. Roos**, Glass transitions and crystallization in milk powders, *Journal of Dairy Science*, 77 (1994) 2907-2915.

**Jouppila K.** and **Y. H. Roos**, Water sorption and time-dependent phenomena of milk powders, *Journal of Dairy Science*, 77 (1994a) 1798-1808.

**Jouppila K.**, **J. Kansikas** and **Y. H. Roos**, Glass transition, water plasticization, and lactose crystallization in skim milk powder, *Journal of Dairy Science*, 80:12 (1997) 3152-3160.

**Kalab M.**, Electron microscopy of foods, in *Physical Properties of Foods*, Peleg, M. and Bagley, E.B. (Eds.), Westport, AVI Publishing Co., (1982) 43-104.

**Kelly P. M.**, **J. Kelly**, **R. Mehra**, **D. J. Oldfield**, **E. Raggett** and **B. T. O’Kennedy**, Implementation of integrated membrane processes for pilot scale development of fractionated skim milk components, *Le Lait*, 80 (2000) 139-153.

**Mc Kenna A. B.**, Examination of whole milk powder by confocal laser scanning microscopy, *Journal of dairy research*, 64 :3 (1997) 423-432.

**Mc Kenna A. B.**, **R. J. Lloyd**, **P. A. Munro** and **H. Singh**, Microstructure of whole milk powder and insolubles detected by powder functional testing, *Scanning*, 21 (1999) 305-315.

**Kentish S.**, **M. Davidson**, **H. Hassan** and **C. Bloore**, Milk skin formation during drying, *Chemical Engineering Science*, 60 (2005) 635-646.

**Keogh K.** and **M. Auty**, Assessment of food ingredient functionality using laser microscopy, <http://www.teagasc.ie/research/reports/dairyproduction/4215/eopr-4215.htm>, (1998).

**Keogh K.** and **B. T. O’Kennedy**, Milk fat microencapsulation using whey proteins, *International Dairy Journal*, 9 (1999) 657-663.

**Kim E. H.-J.**, **X. D. Chen** and **D. Pearce**, Surface characterization of four industrial spray dried dairy powders in relation to chemical composition, structure and wetting properties, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 26:3 (2002) 197-212.

**Kim E. H.-J.**, **X. D. Chen** and **D. Pearce**, On the mechanisms of surface formation and the surface compositions of industrial milk powders, *Drying technology*, 21(2) (2003) 265-278.

**Kim E.H.-J.**, **X. D. Chen** and **D. Pearce**, Effect of surface composition on the flowability of industrial spray-dried dairy powders, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 46 (2005a) 182-187.

**Kim E.H.-J.**, **X. D. Chen** and **D. Pearce**, Melting characteristics of fat present on the surface of industrial spray-dried dairy powders, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 42 (2005b) 1-8.

**King N.**, Dispersibility and reconstitutability of dried milk, *Dairy Science Abstracts*, 28:3 (1966) 105-118.

**Kinsella J. E.**, Milk proteins: physicochemical and functional properties, *Critical Review of Food Science and Nutrition*, 21:3 (1984) 197-262.

**Kinsella J. E.** and **P. F. Fox**, Water sorption by proteins : milk and whey proteins, *Critical Review of Food Science and Nutrition*, 24:3 (1986) 91-139.

**Kirby A. R.**, **A. P. Gunning** and **V. J. Morris**, Atomic Force Microscopy in Food Research : A New Technique Comes of Age, *Trends in Food Science and Technology*, 6:11 (1995) 359-365.

**Kneifel W.**, **T. Abert** and **W. Luf**, Influence of preheating skim milk on water holding capacity of sodium salts of caseinates and coprecipitates, *Journal of Food Science*, 55 (1990) 879-880.

**Kneifel W.**, **P. Paquin**, **T. Abert** and **J-P. Richard**, Water-holding capacity of proteins with special regard to milk proteins and methodological aspects – A review, *Journal of Dairy Science*, 74 (1991) 2027-2041.

**Knightbridge J. P.** and **A. Goldman**, Water absorptive capacity of dried milk products, *New Zealand Journal of Food Science and Engineering*, 10 (1975) 152-161.

**Kravtchenko T. P., J. Renoir, A. Parker and G. Brigand**, A novel method for determining the dissolution kinetics of hydrocolloid powders, *Food Hydrocolloids*, 13 (1999) 219-225.

**de Kruif C. G.**, Casein micelle interactions, *International Dairy Journal*, 9 (1999) 183-188.

**Kuntz I. D.**, Hydration of macromolécules. 3-Hydration of polypeptides, *Journal of American Oil Chemist's Society*, 93 (1971) 514-519.

**Landström K., B. Bergenstålh, J. Alsins and M. Almgren**, A fluorescence method for quantitative measurements of specific protein at powder surfaces, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 12 (1999) 429-440.

**Landström K., T. Arnebrant, J. Alsins and B. Bergenstålh**, Competitive protein adsorption between  $\beta$ -casein and  $\beta$ -lactoglobulin during spray drying : effect of calcium induced association, *Food Hydrocolloids*, 17 (2003) 103-116.

**Larsen C. K., O. Gaserød and O. Smidsrød**, A novel method for measuring hydration and dissolution kinetics of alginate powders, *Carbohydrate Polymers*, 51 (2003) 125-134.

**Lascelles D. R. and A. J. Baldwin**, Dispersibility of whole milk powder in warm water, *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 11 (1976) 283-284.

**Lazghab M., K. Saleh, I. Pezron, P. Guigon and L. Komunjer**, Wettability assessment of finely divided solids, *Powder technology*, 157 (2005) 79-91.

**Leveau J-L, J-P. Larpent and M. Bouix**, Sécurité microbiologique des procédés alimentaires, *Techniques de l'ingénieur*, F1-120 (2001).

**Linden G.**, Monograph on pasteurized milk : biochemical aspects, *International Dairy Federation Bulletin*, 200 (1986) 17-21.

**Litman I. I. and U. S. Ashworth**, Insoluble scum-like materials on reconstituted whole milk powders, *Journal of Dairy Science*, 40 (1957) 403-409.

**Livney Y. D., M. Corredig and D. G. Dalgleish**, Influence of thermal processing on the properties of dairy colloids, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 8 (2003) 359-364.

**Mafart P.**, Les procédés physiques de conservation, in *Génie industriel alimentaire*, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, (1996).

**Mahaut M., R. Jeantet, G. Brulé and P. Schuck**, Produits déshydratés, in *Les Produits laitiers industriels*, ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, (2000) 49-90.

**Mc Mahon D. J. and R. J. Brown**, Composition, structure, and integrity of casein micelles : a review, *Journal of Dairy Science*, 67 (1984) 499-512.

**Mc Mahon D. J., B. H. Yousif and M. Kaleb**, Effect of whey protein denaturation on the structure of casein micelles and their rennetability after ultra-high temperature processing of milk with or without ultrafiltration, *International Dairy journal*, 3 (1993) 239-256.

**Mak B.**, Continuous wet agglomeration of milk related products by instant mixing technology, *1st International Symposium on the Spray Drying of Milk Products 16 - 18 october, Rennes*, (2001).

**Mariette F., and M. Cambert**, Caractérisation de la réhydratation des poudres de protéines laitières, *Prestation de service confidentielle Arilait recherches*, (2006).

**Marti I., P. Fischer and E. J. Windhab**, Effect of lactose on rheology of milk protein dispersions, *Proceedings of the 3rd International Symposium on Food Rheology and Structure*, (2003).

**Mather I. H.**, A review and proposed nomenclature for major proteins of the milk-fat globule membrane, *Journal of Dairy Science*, 83 (2000) 203-247.

**Maubois J-L.**, Nouvelles applications des technologies à membranes dans l'industrie laitière, *Proceedings of the XXIII International Dairy Congress, Montréal, Canada*, (1990) 1775-1790.

- Maubois J-L.**, Techniques séparatives appliquées à la valorisation du lait, *Industries Alimentaires & Agricoles*, (2000) 32-37.
- Millqvist-Fureby A., M. Malmsten and B. Bergenståhl**, Surface characterisation of freeze-dried protein/carbohydrate mixtures, *International Journal of Pharmaceutics*, 191 (1999) 103-114.
- Millqvist-Fureby A., U. Elofsson and B. Bergenståhl**, Surface composition of spray-dried milk protein-stabilised emulsions in relation to pre-heat treatment of proteins, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 21 (2001) 47-58.
- Millqvist-Fureby A.**, Characterisation of spray-dried emulsions with mixed fat phases, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 31 (2003) 65-79.
- Mistry V. V. and H. N. Hassan**, Delactosed, high milk protein powder. 1. Manufacture and composition, *Journal of Dairy Science*, 74 (1991) 1163-1169.
- Mistry V. V., H. N. Hassan and D. J. Robinson**, Effect of lactose and protein on the microstructure of dried milk, *Food Structure*, 11 (1992) 73-82.
- Mistry V. V. and J. B. Pulgar**, Physical storage properties of high milk protein powder, *International Dairy Journal*, 6 (1996) 195-203.
- Mistry V. V.**, Manufacture and application of high milk protein powder, *Le Lait*, 82 (2002) 515-522.
- Morgan F., J. Léonil, D. Mollé and S. Bouhallab**, Nonenzymatic lactosylation of bovine  $\beta$ -lactoglobulin under mid heat treatment leads to structural heterogeneity of glycoforms, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 236 (1997) 413-417.
- Morgan F., D. Molle, G. Henry, A. Venien, J. Léonil, G. Peltre, D. Levieux, J-L. Maubois, S. Bouhallab**, Glycation of bovine  $\beta$ -lactoglobulin : Effect on the protein structure, *International Journal of Food Science and Technology*, 34 (1999) 429-435.
- de Moor H., and A. Huyghebaert**, Functional properties of dehydrated protein-rich milk products, in *Physicochemical aspects of dehydrated protein rich milk products*, Proc. Int. Dairy Fed. Symp., Danish Govt. Res. Inst. Dairy Ind., Helsingor, DK, (1983) 276-301.
- Moor C. V.**, Effect of oxalate and urea upon ultracentrifugation properties of raw and heated skim milk casein micelles, *Journal of Dairy Science*, 50 (1967) 174-175.
- Morr C. V., B. German, J. E. Kinsella, J. M. Regenstein, J. P. Van Buren, A. Kilara, B. A. Lewis and M. E. Mangino**, A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure, *Journal of Food Science*, 50 (1985) 1715-1718.
- Morr C. V. and E. Y. Ha**, Whey protein concentrates and isolates : processing and functional properties, *CRC, critical review in food science and nutrition*, 33 (1993) 431-476.
- Moscosa-Santillan M., O. Bals, H. Fauduet, C. Porte and A. Delacroix**, Study of batch crystallization and determination of an alternative temperature-time profile by on-line turbidity analysis – application to glycine crystallization, *Chemical Engineering Science*, 55 (2000) 3759-3770.
- Mozes N., A. J. Léonard and P. G. Rouxhet**, On the relations between the elemental surface composition of yeasts and bacteria and their charge and hydrophobicity, *Biochimica et Biophysica Acta*, 945 (1988) 324-334.
- Müller H. R.**, *Milchwissenschaft*, 19 (1964) 345-352.
- Nassar G., B. Nongillard and Y. Noël**, Study by ultrasound of the impact of technological parameters changes in the milk gelation process, *Journal of Food Engineering*, 63 (2004) 229-236.
- Neff E. and H. A. Morris**, Agglomeration of milk powder and its influence on reconstitution properties, *Journal of Dairy Science*, 51:3 (1967) 330-338.
- Nielsen B. R., H. Stapelfeldt and L. H. Skibsted**, Differentiation between 15 whole milk powders in relation to oxidative stability during accelerated storage : an analysis of variance and canonical variable analysis, *International Dairy Journal*, 7 (1997) 589-599.
- Nijdam J.J. and T. A. Langrish**, The effect of surface composition on the functional properties of milk powders, *Journal of Food Engineering*, (2005) in press corrected proof.

- Niro Atomizer**, *Méthodes d'analyse des produits laitiers déshydratés*, 4 edn, Copenhague, (1978).
- O'Brien J.** and P. A. **Morrissey**, Nutritional and toxicological aspect of Maillard browning reaction in foods, *International Dairy Journal*, 228 (1989) 211-248.
- O'Brien J.**, Heat induced changes in lactose: isomerisation, degradation, Maillard browning, in *Heat induced changes in milk*, vol.2, P. F. Fox, Brussels, IDF, (1995) 134-170.
- Ozkan N.**, B. **Withy** and X. **Dong Chen**, Effects of time, temperature, and pressure on the cake formation of milk powders, *Journal of Food Engineering*, 58 (2003) 355-361.
- Parker A.** and F. **Vigouroux**, Texture profiling with the vane: a general method for characterising the rheology of shear-sensitive soft foods, *Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Symposium on Food Rheology and Structure* (2003).
- Parkinson E. L.** and E. **Dickinson**, Inhibition of heat-induced aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin-stabilized emulsion by very small additions of casein, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 39 (2004) 23-30.
- Pelegrine D. H. G.** and C. A. **Gasparetto**, Whey proteins solubility as function of temperature and pH, *Swiss society of Food Science and Technology*, 38 (2004) 77-80.
- Pierre A.**, J. **Fauquant**, Y. **Le Graet**, M. **Piot** and J-L. **Maubois**, Préparation de phosphocaséinate natif par microfiltration sur membrane, *Le Lait*, 72 (1992) 461-474.
- Pierre A.**, H. **Goudéranche**, A. **Garem** and G. **Daufin**, Le Lait, in *Les séparations par membrane dans les procédés de l'industrie alimentaire*, ed. Lavoisier Tec et Doc, Paris (1998).
- Pisecky J.**, Soluble in cold water, *Dairy Industries*, (1972) 144-147.
- Pisecky J.**, Bulk density of milk powders, *Dairy Industries International*, (1978) 4-11.
- Pisecky J.**, Bulk density of milk powders, *Australian Journal of Dairy Technology*, 35 (1980) 106-111.
- Pisecky J.**, Technology of skimmed milk, *Journal of Society and Dairy Technology*, 34:2 (1981) 57-67.
- Pisecky J.**, Standards, specifications, and test methods for dry milk products, in *Concentration and drying of foods*, Mac Carthy ed., Elsevier Applied Science, London, (1986).
- Pouliot Y.**, M. **Boulet** and P. **Paquin**, Observations on the heat-induced salt balance changes in milk I- Effect of heating time between 4 and 90°C, *International Journal of Dairy Research*, 56 (1989a) 185-192.
- Pouliot Y.**, M. **Boulet** and P. **Paquin**, Observations on the heat-induced salt balance changes in milk II- Reversibility on cooling, *International Journal of Dairy Research*, 56 (1989b) 193-199.
- Povey M. J.**, M. **Golding**, D. **Higgs** and Y. **Wang**, Ultrasonic spectroscopy studies of casein in water, *International Dairy Journal*, 9 (1999) 299-303.
- Rattray W.** and P. **Jelen**, Protein standardization of milk and dairy products, *Trends in Food Science and Technology*, 7 (1996) 227-233.
- Regnault S.**, M. **Thiebaud**, E. **Dumay** and J. C. **Cheftel**, Pressurisation of raw skim milk and of a dispersion of phosphocaseinate at 9°C or 20°C: effects on casein micelle size distribution, *International Dairy Journal*, 14 (2004) 55-68.
- Rennie P. R.**, X. D. **Chen**, C. **Hargreaves** and A. R. **Mackereth**, A study of cohesion of the dairy powders, *Journal of Food Engineering*, 39 :3 (1999) 277-284.
- Ribadeau Dumas B.** and J. **Garnier**, Structure of the micelle. The accessibility of the subunits to various reagents, *Journal of Dairy Research*, 37 (1970) 269-278.
- Ribadeau-Dumas B.**, Actualités dans le domaine de la connaissance de la structure et des propriétés biochimiques des protéines lactières, *Colloque INRA-CNIEL Revue Laitière Française*, 400 (1981) 17-32.
- Ribadeau-Dumas B.** and R. **Grappin**, Milk protein analysis, *Le Lait*, 69 (1989) 357-416.

**Robin O., S. Turgeon and P. Paquin**, Functional proteins of milk proteins, in *Dairy Science and Technology Handbook. 1. Principles and properties*, Ed. VCH publishers Inc, New York, (1993) 277-353.

**Romeu-Nadal M., J. L. Chavez Servin, A. I. Castellote, M. Rivero and M. C. Lopez Sabater**, Oxydation stability of the lipid fraction in milk powders formulas, *Food Chemistry*, (2005) in press.

**Roos Y. H.**, Importance of glass transition and water activity to spray drying and stability of dairy powders, *Le Lait*, 82 (2002) 475-484.

**Rouxhet P. G., N. Mozes, P. D. Dengis, Y. F. Dufrêne, P. A. Gerin and M. J. Genet**, Application of X-ray photoelectron spectroscopy to microorganisms, *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces*, 2 (1994) 347-369.

**Saboya L. V. and J-L. Maubois**, Current developments of microfiltration technology in the dairy industry, *Le Lait*, 80 (2000) 541-553.

**Samuelsson E. G. and B. Hueg**, Nuclear magnetic resonance (NMR) as a method for measuring the rate of solution of dried milk, *Milchwissenschaft*, 28:6 (1973) 329-332.

**Scher J.**, Contribution à l'étude de l'influence de la composition du lait et de la taille des micelles sur la coagulation enzymatique : approche statistique et phénoménologique, *Thèse de l'Institut National Polytechnique de Lorraine*, (1988).

**Schober C. and J. J. Fitzpatrick**, Effect of vortex formation on powder sinkability for reconstituting milk powders in water to high solids content in a stirred-tank, *Journal of Food Engineering*, 71 (2005) 1-8.

**Schokker E. P., H. Singh and L. K. Creamer**, Heat induced aggregation of  $\beta$ -lactoglobuline A and B with  $\alpha$ -lactalbumine, *International Dairy Journal*, 10 (2000) 843-853.

**Schubert H.**, Processing and properties of instant powdered foods, in *Food Process Engineering Vol.1 Food processing systems*, P. Linko, Y. Malkki, J. Olkku and J. Larinkari, applied science publishers, London, (1980) 675-684.

**Schubert H.**, Instantization of powdered food products, *International Chemical Engineering*, 33:1 (1993) 28-45.

**Schuck P., M. Piot, S. Méjean, Y. Le Graet, J. Fauquant, G. Brulé and J-L. Maubois**, Déshydratation des laits enrichis en caséine micellaire par microfiltration, comparaison des propriétés des poudres obtenues avec celles d'une poudre de lait ultra-propre, *Le Lait*, 74 (1994) 47-63.

**Schuck P., M. Piot, S. Méjean, Y. Le Graet, J. Fauquant, G. Brulé and J-L. Maubois**, Déshydratation par atomisation de phosphocaséinate natif obtenu par microfiltration sur membrane, *Le Lait*, 74 (1994a) 375-388.

**Schuck P., M. Roignant, G. Brulé, S. Méjean and J. J. Bimbenet**, Caractérisation énergétique d'une tour de séchage par atomisation multiple effet, *Industries Alimentaires et Agricoles*, 115 (1998) 9-14.

**Schuck P.**, Appréhension des mécanismes de transfert d'eau lors du séchage par atomisation de bases protéiques laitières et lors de leur réhydratation. Effet de l'environnement glucidique et mineral, *Thèse de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes*, (1999).

**Schuck P., A. Davenel, F. Mariette, V. Briard, S. Méjean and M. Piot**, Rehydration of casein powders: effects of added mineral salts and salt addition methods on water transfer, *International Dairy Journal*, 12 (2002) 51.

**Sherrington P. J. and R. Olivier**, 2. Fundamentals of particle size enlargement by granulation, in *Granulation*, (1981) 7-59.

**Shi X. and J. N. BeMiller**, Effects of food gums on viscosities of starch suspensions during pasting, *Carbohydrate Polymers*, 50 (2002) 7-18.

**Singh H. and D. F. Newstead**, Aspects of proteins in milk powder manufacture, in *Advanced dairy chemistry*, Vol. 1, P. F. Fox ed., Elsevier, London, England, (1992) 735-765.

- Singh H.**, Heat-induced changes in casein including interactions with whey proteins, in *Heat induced changes in milk – International Dairy Federation seminar*, P. F. Fox (1995) 86-104.
- Soupe J.**, 10 – Ingrédients laitiers minéralisés industriels, in *Minéraux et produits laitiers*, F. Gaucheron, Editions Tec et Doc, Paris, (2004) 302-320.
- Spector A. A.**, Fatty acid binding to plasma albumin, *Journal of Lipid Research*, 16 (1975) 165-179.
- Stapelfeldt H.**, B. R. **Nielsen** and L. H. **Skibsted**, Effect of heat treatment, water activity and storage temperature on the oxidative stability of whole milk powder, *International Dairy Journal*, 7 (1997) 331-339.
- Strawbridge K. B.**, E. **Ray**, F. R. **Hallett**, S. M. **Tosh** and D. G. **Dalgleish**, Measurement of particle size distributions in milk homogenized by microfluidizer: estimation of populations of particles with radii less than 100nm, *Journal of Colloid and Interface Science*, 171 (1995) 392-398.
- Swaigood H. E.**, Chemistry of the milk proteins, in *Development in dairy chemistry*, vol. 1, P.F. Fox, Elsevier Applied Science, London, (1982) 1-59.
- Teunou E.**, **Fitzpatrick** and **Synnott**, Characterization of food powder flowability, *Journal of Food Engineering*, 39 :1 (1999) 31-37.
- Thomas M. E.**, J. **Scher**, S. **Banon** and S. **Desobry**, Milk powders ageing : effect on physical and functional properties, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 :5 (2004) 297-322.
- Thomas M. E.**, Influence de l'activité de l'eau sur les interactions lactose/ $\beta$ -lactoglobuline de poudres laitières modèles lyophilisées, *Thèse de l'Institut National Polytechnique de Lorraine*, (2004).
- Timasheff S. N.** and H. **Susi**, Infrared investigation of the secondary structure of  $\beta$ -lactoglobulin. *Journal of Biology and Chemistry*, 241 (1965) 249-251.
- Tsuru T.**, T. **Shutou**, S-I. **Nakao** and S. **Kimura**, Peptide and amino acid separation with nanofiltration membranes, *Separation Science and technology*, 29:8 (1994) 971-984.
- Van Mil P. J.** and J. A. **Jans**, Storage stability of whole milk powder : effects of process and storage conditions on product properties, *Netherland Milk Dairy Journal*, 45:3 (1991) 145-167.
- Walstra P.**, Physical chemistry of fat milk globules, *Developments in dairy chemistry vol.2*, P. F. Fox, Applied Science Publisher, (1983) 119-158.
- Walstra P.**, Formation of emulsions, in *Encyclopedia of emulsion technology*, vol. 1, P. Becher, New York, Marcel Dekker, (1983a) 57-127.
- Walstra P.** and R. **Jenness**, *Dairy chemistry and physics*, John Wiley, Sons, New York, (1984).
- Walstra P.** and A. L. **Roos**, Proteins at air-water and oil-water interfaces : static and dynamic aspects, *Food Revue International*, 9 (1993) 503-525.
- Walstra P.**, Sub-micelles : do they exist ?, *International Dairy Journal*, 9 (1999) 189-192.
- Westergaard V.**, *Milk powder technology. Evaporation and spray drying*. 4 edn. Niro A/S. Copenhagen, Denmark (1994).
- Wang Q.**, P. R. **Ellis** and S. B. **Roos-Murphy**, Dissolution kinetics of guar gum powders. I. Methods for commercial polydisperse samples, *Carbohydrate Polymers*, 49:2 (2002) 131-137.
- Wang Q.**, P. R. **Ellis** and S. B. **Roos-Murphy**, Dissolution kinetics of guar gum powders. II. Effect of concentration and molecular weight, *Carbohydrate Polymers*, 53:1 (2003) 75-83.
- Wang Q.**, P. R. **Ellis** and S. B. **Roos-Murphy**, Dissolution kinetics of guar gum powders. III. Effect of particle size, *Carbohydrate Polymers*, 64:2 (2006) 239-246.



**de Wit J. N.**, Structure and functional behaviour of whey proteins, *Netherland Milk Dairy Journal*, 35 (1981) 47-64.

**de Wit J. N.** and **G. Klarenbeek**, Method for the determination of rehydration and solubility of powdered protein-rich milk products, *Milchwissenschaft*, 41:8 (1986) 463-466.

**Yeteismeyen A.** and **O. Deveci**, Some quality characteristics of spray dried skim milk powders produced by two different atomizers, *Milchwissenschaft*, 55:4 (2000) 210-212.

**Zbikowska A.**, and **I. Szerszunowicz**, Effect of whey addition to milk on functional properties of its powder, *Polish Journal of Food Nutrition Science*, 8:4 (1999) 39-48.

**Zbikowski Z.**, **S. Ziajka** and **A. Zbikowska**, Effect of technological parameters on the quality of agglomerated whole milk powder I. Organoleptic properties and biological value of protein, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2:43 (1993) 47-55.

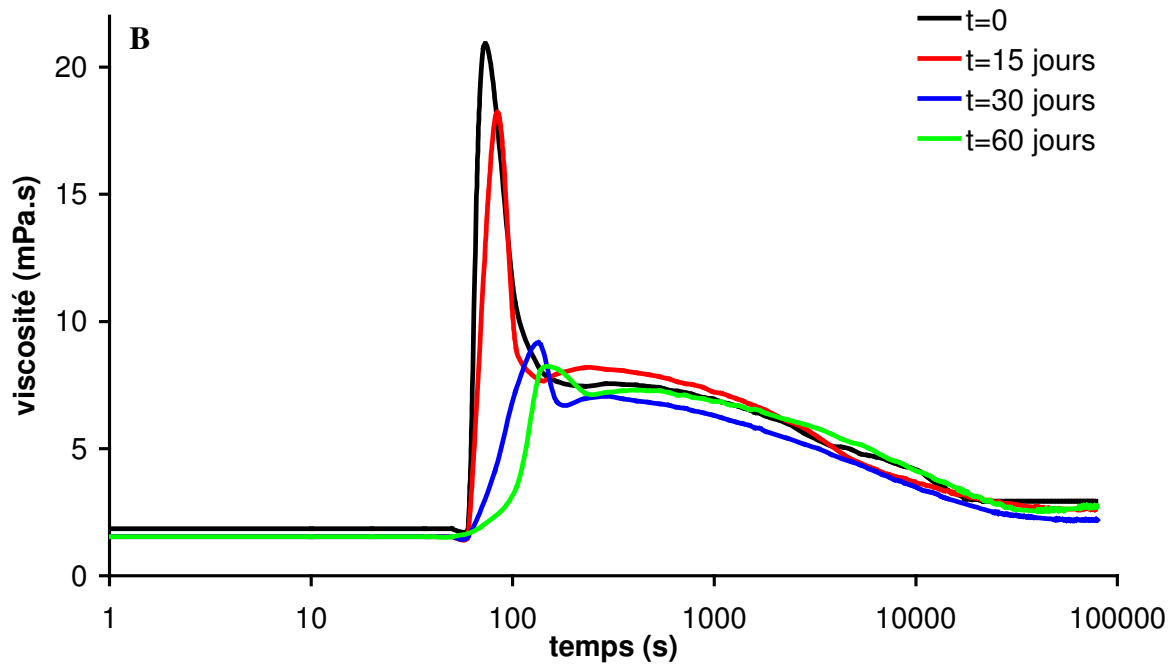
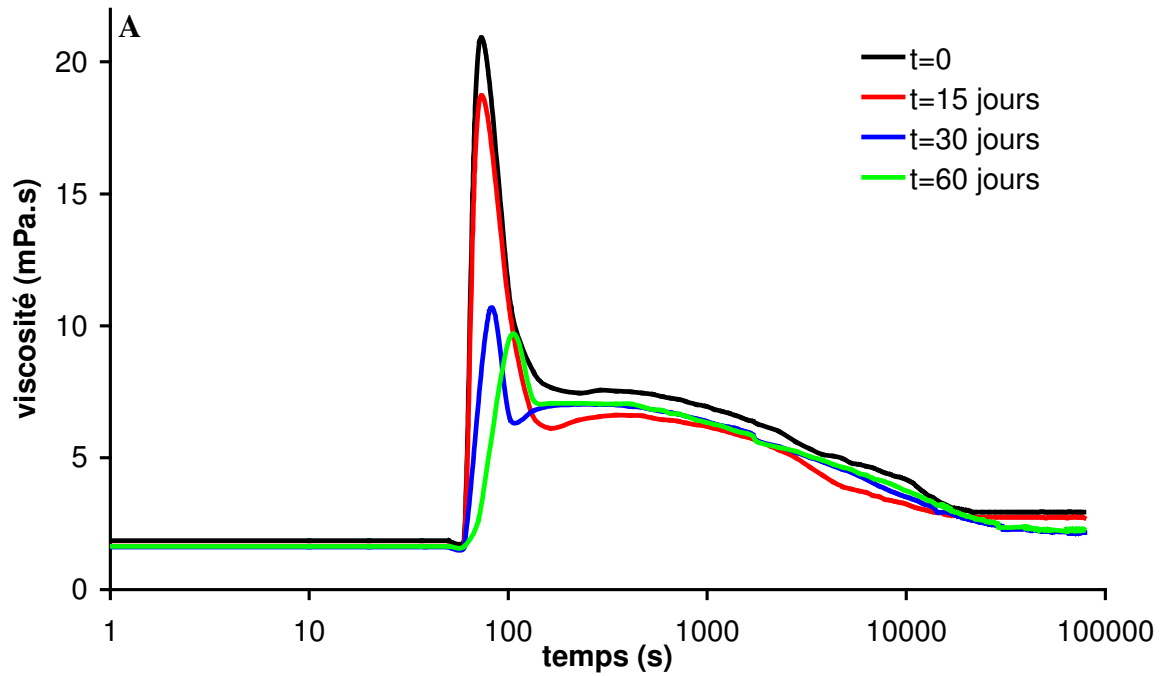
**Zbikowski Z.**, **A. Zbikowska** and **S. Ziajka**, Effect of technological parameters on the quality of agglomerated whole milk powder II. Physico-chemical properties, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2:43 (1993a) 25-32.



## **Annexes**

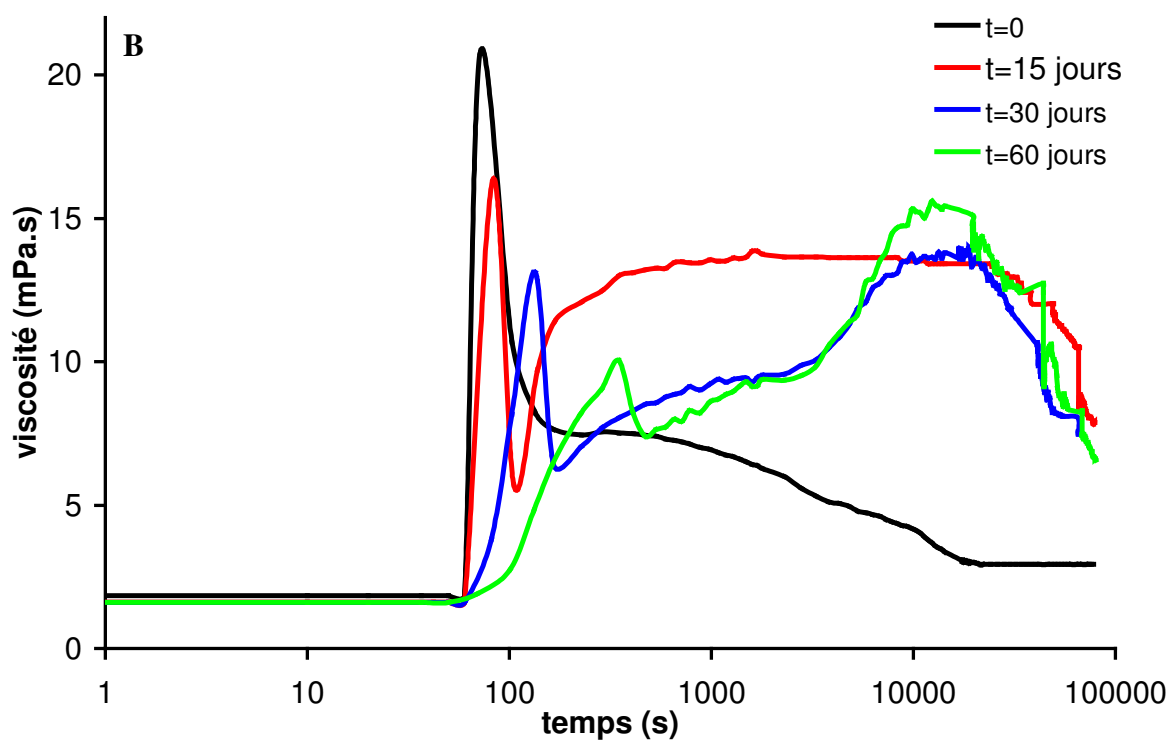
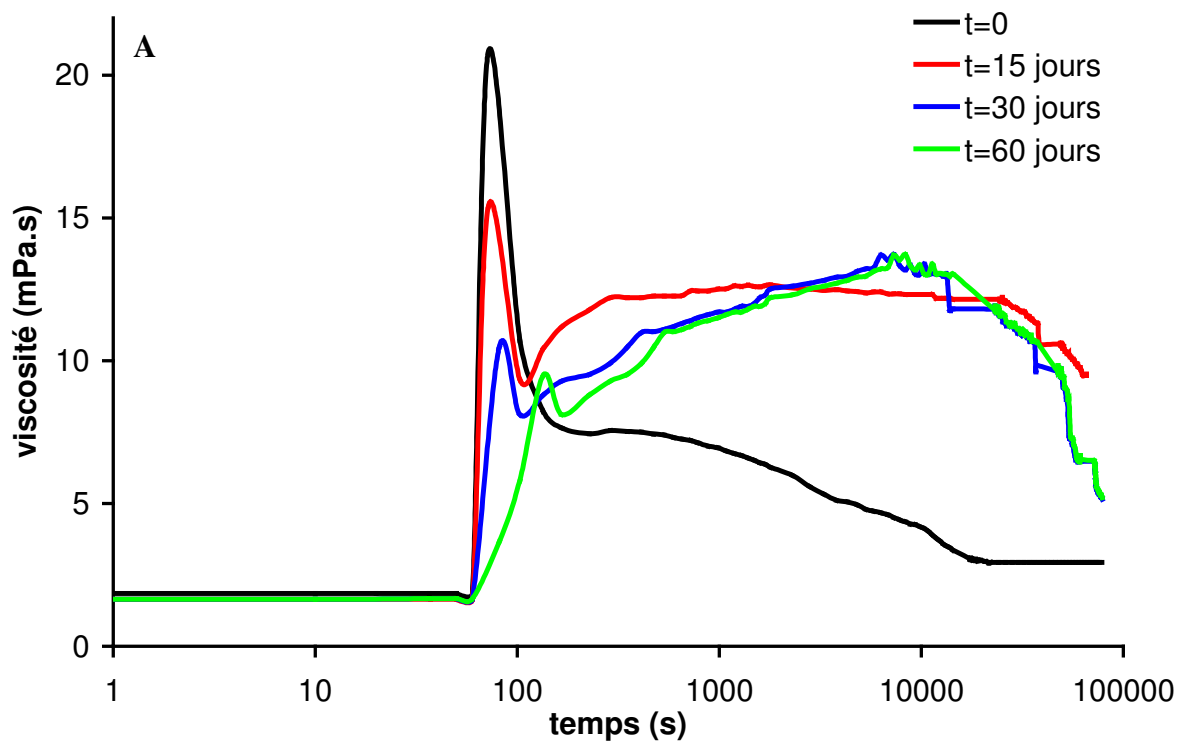
## Annexe 1 :

Profils de viscosité obtenus lors de la réhydratation du PPCN G au cours du temps : A : conservation à 20°C en sac étanche et B : conservation à 20°C en sac classique



## Annexe 1 :

Profils de viscosité obtenus lors de la réhydratation du PPCN G au cours du temps : A : conservation à 50°C en sac étanche et B : conservation à 50°C en sac classique





---

**Résumé :**

---

Deux méthodes permettant une caractérisation de la réhydratation des poudres de protéines laitières *in situ* ont été développées et validées. La première met en jeu un réacteur instrumenté comprenant des sondes de turbidité, de pH et de conductivité. La seconde utilise un rhéomètre équipé d'un système vane adapté à l'étude des systèmes particulaires. Dans une seconde partie, ces méthodologies sont couplées à d'autres techniques (spectroscopie des photoélectrons X, microscopie optique, granulométrie...) dans le but de comprendre l'influence de la composition biochimique des poudres sur la réhydratation. Ainsi, en fonction du type de protéine réhydratée, les propriétés de réhydratation seront totalement opposées. Ces comportements sont attribués à la structure des protéines et à la localisation des composants (protéine, lipides et lactose) dans la particule. L'influence du procédé technologique sur la réhydratation a également été étudiée. La granulation, le traitement thermique des protéines et le type de mélange (mélange à sec ou co-séchage) vont tous influencer les transferts d'eau en cours de réhydratation. Enfin, des modifications importantes des propriétés de réhydratation des poudres au cours de leur conservation ont été reliées à des variations dans la répartition des composants au sein de la particule de poudre.

---

**Abstract :**

---

Two methods allowing the investigation of dairy powders rehydration were developed and validated. The first method involved dispersing powder in a stirred vessel equipped with three sensors (turbidity, pH and conductivity) under standardized conditions. The second one used a Stress Tech Rheometer equipped with a custom built paddle stirrer adapted to particulates systems. In a second part, these methods were coupled with other techniques (X-ray Photoelectron Spectroscopy, microscopy, particle size distribution...) in order to characterize how powder biochemical composition influences on rehydration. Indeed, the rehydration properties were found totally different depending on the rehydrated protein nature. These different behaviours were attributed to the protein structure and to the compound (protein, fat and lactose) localisation in the particle. Some technological effects on powder rehydration were also analysed. The granulation, the protein thermal treatment and the type of mix (dry mixing or co-drying) were found to greatly influence water transfers during rehydration. Finally, a deterioration of the rehydration properties were investigated during powder conservation. The rehydration deterioration was correlated to a modification of compounds repartition in the particle.