



HAL
open science

Analyse de la formation des gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis au moyen de la géométrie fractale : étude comparative

Mohamed El Mustapha Ould Eleya

► To cite this version:

Mohamed El Mustapha Ould Eleya. Analyse de la formation des gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis au moyen de la géométrie fractale : étude comparative. Alimentation et Nutrition. Institut National Polytechnique de Lorraine, 1996. Français. NNT : 1996INPL047N . tel-01776364

HAL Id: tel-01776364

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01776364v1>

Submitted on 24 Apr 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

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.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

13600 86 96 7

98 IN PLO 47 N

[M] 1996 OULD ELEYA, M. EL M.

INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires

Laboratoire de Physico-Chimie et Génie Alimentaires

THESE

présentée à l'I.N.P.L.

par

Mohamed El Mustapha OULD ELEYA

Ingénieur en Génie des Procédés - Ecole Natl. Ing. Gabès (Tunisie)

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : Biotechnologies et Industries Alimentaires

Sujet :

**ANALYSE DE LA FORMATION DES GELS ACIDES DE LAITS DE VACHE,
DE CHEVRE ET DE BREBIS AU MOYEN DE LA GEOMETRIE FRACTALE :
ETUDE COMPARATIVE.**

Soutenue publiquement le 30 Mai 1996 devant la commission d'examen :

<i>Président :</i>	M. J. HARDY	Professeur (I.N.P.L. - E.N.S.A.I.A., Nancy)
<i>Rapporteurs :</i>	M. J. L. CUQ M. D. PAQUET	Professeur (I.S.I.M., Montpellier II) Directeur de Recherche (Danone, Paris)
<i>Examineurs :</i>	Mme. M. DJABOUROV Mme. A. JAUBERT M. J.P. RAMET M. F. REMEUF	Professeur (E.S.P.C.I., Paris) Directeur de Recherche (I.T.P.L.C., Surgères) Maître de Conférences (E.N.S.A.I.A., Nancy) Maître de Conférences (I.N.A.P.G., Paris)

Service Commun de la Documentation
INPL
Nancy-Brabois

À la mémoire

À mes frères

AVANT PROPOS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Physicochimie et Génie Alimentaires de l'École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, sous la direction de Monsieur Joël HARDY, Professeur de Physicochimie Alimentaire. Je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance pour avoir guidé mes premiers pas dans ce monde fascinant qu'est la recherche et surtout pour la confiance qu'il m'a témoignée tout le long de cette étude.

Mes vifs remerciements vont à Madame Sylvie DESOBRY-BANON, Maître de Conférences à l'IUT de l'Université Nancy I et Chargée de Recherche au Laboratoire de Physicochimie et Génie Alimentaires, pour son soutien permanent et pour les discussions fructueuses que nous avons eues.

Je remercie sincèrement Monsieur Jean Paul RAMET, Maître de Conférences à l'ENSAIA-INPL, pour avoir mis à ma disposition sa disponibilité et ses connaissances en matière de technologie laitière et pour avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie également tous les autres membres du jury, qui ont accepté de juger ce travail, malgré leurs nombreuses charges : Monsieur J. L. CUQ, Professeur de Biochimie Appliquée à l'Université Montpellier II; Madame M. DJABOUROV, Professeur de Physique de la Matière Condensée à l'ESPCI de Paris, Madame A. JAUBERT Responsable Scientifique à l'ITPLC de Surgères; Monsieur D. PAQUET, Directeur de Recherche au Centre International de Recherche Daniel Carasso du Groupe Danone, à Paris; Monsieur F. REMEUF, Maître de Conférences à l'INA de Paris-Grignon.

Que Claude, Nathalie et Yacouba trouvent ici l'expression de toute mon amitié. Leur soutien, leur bonne humeur et les discussions tantôt philosophiques tantôt terre à terre que nous avons eues pendant la pause café de midi vont me manquer.

Je remercie également Nathalie VÉTIER en témoignage de ma reconnaissance pour sa gentillesse et sa disponibilité.

Que Madame Angèle COLAS trouve ici toute ma reconnaissance pour sa disponibilité et pour m'avoir toujours aidé chaque fois que j'en ai eu besoin durant ces quatre années de mon séjour au laboratoire.

Je remercie particulièrement Monsieur Jean Pierre JACQUOT, Agent technique au Laboratoire de Physico-chimie et Génie Alimentaires pour les services qu'il m'a rendus.

Je remercie également l'ensemble des doctorants et permanents du Laboratoire de Physicochimie et Génie Alimentaires : Nathalie, Karine, Christian, Michel, José Maria, Mohammed, Catherine, Raquel, Marie Caroline, Marie Noëlle, Michel, Christophe, Philippe, Stéphane, Mme Novak, MM.. Fanni, Parmentier, Scher, pour tous les services rendus.

Mes remerciements vont également à toute ma famille, à mes amis qui n'ont pas pu être là : Ely, Mohamed, Filaly, Abdellah, Tourad, Sidaty, et surtout à quelqu'un qui a supporté avec beaucoup de compréhension mes moments de mauvaise humeur et de lassitude durant ces six mois de rédaction : Sandrine.

Que toute la petite communauté mauritanienne de Nancy trouve ici l'expression de mon amitié en témoignage de leur sympathie.
Enfin, je ne peux terminer cet avant-propos sans remercier l'état mauritanien pour avoir financé mes études supérieures.

SOMMAIRE

	Page
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
PARTIE 1 : COAGULATION ACIDE DU LAIT.....	4
1.1. Les laits.....	4
1.1.1. Composition chimique des laits.....	4
1.1.2. Matières azotées.....	5
1.1.3. Minéraux.....	7
1.2. Les micelles de caséines.....	8
1.2.1. Composition.....	8
1.2.2. Caractéristiques des micelles de caséines.....	10
1.2.3. Structure de la micelle de caséines bovine.....	12
1.2.4. Stabilité colloïdale des micelles de caséines.....	20
1.3. Influences de l'acidification et de la température sur les micelles de caséines.....	22
1.3.1. Variation de la taille micellaire avec le pH et la température.....	22
1.3.2. Variation de l'hydratation micellaire avec le pH et la température.....	24
1.3.3. Variation du potentiel zéta avec le pH et la température.....	24
1.3.4. Effets du pH et de la température sur la dissociation des caséines colloïdales.....	27
1.3.5. Solubilisation des minéraux colloïdaux en fonction du pH et de la température.....	29
PARTIE 2 : AGREGATION ET GELIFICATION COLLOIDALES.....	31
2.1. Agrégation colloïdale.....	31
2.1.1. Fractales.....	31
2.1.2. Simulations numériques de l'agrégation.....	35
2.1.3. Etudes expérimentales de l'agrégation en milieu dilué.....	39

2.2. Gélification des micelles de caséines.....	41
2.2.1. Gels acides de caséines.....	42
2.2.2. Rappels sur la théorie de la percolation.....	42
2.2.3. Fractalité des gels colloïdaux	44
3. CONCLUSIONS ET OBJECTIFS.....	51
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	52
1. Produits et technologies employés.....	52
1.1. Laits.....	52
1.2. Glucono-delta-lactone.....	53
1.3. Procédure d'acidification.....	53
1.4. Expériences réalisées	56
2. Méthodes.....	56
2.1. Méthodes optiques	56
2.1.1. Mesures turbidimétriques.....	58
2.1.2. Diffusion dynamique de la lumière	59
2.1.3. Détermination de la dimension fractale des agrégats caséiques au moyen de la diffusion statique de la lumière	64
2.2. Méthodes rhéologiques	66
2.2.1. Viscosimétrie capillaire.....	66
2.2.2. Méthodes rhéologiques dynamiques.....	68
2.3. Méthodes analytiques.....	72
2.3.1. Mesure du pH.....	72
2.3.2. Séparation des phases soluble et micellaire du lait	72
2.3.3. Analyse des caséines.....	72
2.3.4. Analyse des minéraux.....	73
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	74.
PARTIE 1 : ETUDE COMPARATIVE DE LA COAGULATION ACIDE DES LAITS DE VACHE, DE CHEVRE ET DE BREBIS.....	74

1.1. Résultats	74
1.1.1. Compositions minérale et protéique des laits	74
1.1.2. Cinétiques d'acidification des laits	75
1.1.3. Evolution de la turbidité au cours de l'acidification.....	78
1.1.4. Evolution de la viscosité dynamique des laits au cours de l'acidification	81
1.1.5. Evolution de la taille des micelles de caséines au cours de l'acidification	83
1.1.6. Dissociation des caséines de la micelle au cours de l'acidification	87
1.1.7. Solubilisation des minéraux colloïdaux au cours de l'acidification	88
1.2. Discussion	92
1.2.1. Coagulation acide "basses températures"	92
1.2.2. Coagulation acide "hautes températures".....	95
1.2.3. Explication des différences de coagulation acide entre les trois types de lait.....	97
1.2.4. Explication de l'effet de la température	97
1.3. Conclusions.....	98

**PARTIE 2 : QUANTIFICATION DE LA STRUCTURE DES AGREGATS ET
DES GELS AU MOYEN DES FRACTALES** 99

2.1. Etude de la structure des agrégats de micelles de caséines.....	99
2.1.1. Détermination expérimentale de la dimension fractale des agrégats caséiques.....	99
2.1.2. Discussion.....	101
2.1.2.1. Comparaison des résultats expérimentaux avec ceux des modèles numériques de l'agrégation amas-amas.....	101
2.1.2.2. Mécanismes de l'agrégation des micelles de caséines..	103
2.1.2.3. Explication des différences de la dimension fractale des agrégats caséiques	104
2.1.2.4. Effet de la température sur la dimension fractale des agrégats caséiques	105
2.1.3. Conclusion.....	106

2.2. Etude rhéologique et structurale des gels acides de laits.....	107
2.2.1. Comparaison des modules viscoélastiques des gels acides de lait.....	107
2.2.2. Spectres mécaniques des gels acides.....	109
2.2.3. Effet de la concentration caséique sur les spectres mécaniques des gels acides	111
2.2.4. Effet de la concentration caséique sur les modules viscoélastiques des gels acides	113
2.2.5. Détermination de la dimension fractale des gels acides.....	116
2.2.6. Conclusions	119
PARTIE 3 : DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS.....	120
3.1. Réflexions sur les mécanismes de la coagulation acide : aspects cinétiques.....	120
3.1.1. Comportement aux "basses températures" (15 - 20°C).....	120
3.1.2. Comportement aux "hautes températures" (35 - 40°C).....	122
3.1.3. Comparaison des laits.....	123
3.2. Interprétation en terme d'organisation structurale de la micelle de caséines native des différents laits	126
3.3. Relation entre la dimension fractale des agrégats et celle des gels acides finaux.....	128
3.4. Perspectives.....	131
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	132
PUBLICATIONS.....	150

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Le lait est un des produits de base de l'alimentation humaine. Il est, comme la plupart des matières premières d'origine biologique, très périssable : il s'altère rapidement par voie enzymatique et par voie microbienne. Sa forte dégradabilité naturelle, a contraint l'homme à inventer des moyens de différer son altération. Ainsi plusieurs procédés de transformation du lait en produits dérivés (fromages, laits fermentés, laits en poudre) sont connus depuis des siècles. Ces procédés ancestraux sont encore de nos jours utilisés dans la préparation des produits laitiers fabriqués dans les usines ultra-modernes.

Ces produits sont en général formés après une phase de coagulation du lait, provoquée par acidification au moyen de bactéries lactiques et par l'addition d'enzymes protéolytiques.

La coagulation du lait résulte des modifications physico-chimiques de ses composants azotés (principalement les caséines) et minéraux.

La coagulation enzymatique a été largement étudiée et ses mécanismes sont, dans l'ensemble, actuellement connus. Ils comprennent une phase enzymatique dite "primaire", correspondant à l'hydrolyse de la caséine κ par l'enzyme et une phase d'agrégation et de gélification, impliquant le paracaséinate formé et les ions Ca^{2+} (Walstra et Jenness, 1984).

En revanche, la coagulation acide du lait, qui est à la base de la préparation des laits fermentés et de certains types de fromages, a été beaucoup moins étudiée. Toutefois, si l'on se réfère au nombre de thèses soutenues ces dernières années (Roefs, 1986; Bringe, 1988; Desobry-Banon, 1991; Bremer, 1992; Vespérini-Jaubert, 1992; Gastaldi-Bouabid, 1994), on remarque qu'il existe un intérêt croissant pour le sujet.

Le mécanisme de la coagulation acide n'est pas encore complètement élucidé. On sait déjà que durant l'acidification du lait, les micelles de caséines subissent de profondes modifications physico-chimiques (neutralisation de la charge, déminéralisation, changement de l'hydratation, perte partielle du contenu caséique etc...). Ces modifications physico-chimiques dépendent également de la température et de la force ionique.

A l'exception des travaux récents de Vespérini-Jaubert (1992) sur l'influence des paramètres physico-chimiques (pH, température, force ionique) sur la micelle caprine, la plupart des études concernent la micelle bovine. Sur la micelle du lait de brebis, aucune étude similaire n'existe, à notre connaissance, dans la littérature.

Nous posant la question de "l'universalité" des mécanismes de la coagulation acide, nous avons choisi d'étudier l'influence de l'acidification et de la température sur trois types de lait : le lait de vache (*Bos taurus*), le lait de chèvre (*Capra hircus*) et le lait de brebis (*Ovis aries*), très différents par leur composition et par les propriétés et caractéristiques de leur micelles. Quelques études (non présentées) ont été également réalisées sur un quatrième lait : le lait de chamelle (*Camelus dromedarius*).

Ceci nous a permis de :

- contribuer à une meilleure compréhension des mécanismes mis en jeu.
- apporter des connaissances supplémentaires sur des laits encore très peu étudiés comme le lait de chèvre ou le lait de brebis.

Dans le chapitre I, une revue bibliographique sur le sujet est présentée. Cette revue comprend une première partie, où nous avons rassemblé et synthétisé les connaissances actuellement acquises sur ces trois laits, en mettant l'accent particulièrement sur la micelle, sa structure, sa stabilité et ses comportements vis-à-vis des modifications du pH et de la température. Une seconde partie est consacrée à une synthèse des études quantitatives récentes sur les processus d'agrégation et de gélification colloïdales, au moyen des fractales et des simulations numériques; l'accent est naturellement porté sur les travaux particuliers aux micelles de caséines. On y présente en outre les informations nécessaires pour la compréhension des théories relatives aux fractales.

Le chapitre II est réservé à la description des expériences réalisées, du matériel et des méthodes utilisées pour l'étude des mécanismes conduisant à la formation des gels acides de laits. Les laits ont été acidifiés par hydrolyse d'un acidifiant chimique : la glucono- δ -lactone. Pour étudier de tels mécanismes, des méthodes optiques (turbidimétrie, diffusions dynamique et statique de la lumière), rhéologiques (essais en mode harmonique, viscosimétrie) et analytiques ont été employées.

Le chapitre III, structuré en trois parties, est consacré à la présentation et à la discussion de l'ensemble des résultats obtenus. Dans la Partie 1, nous avons décrit et comparé les mécanismes sous-jacents à l'agrégation des micelles de caséines des différents laits, au cours de l'acidification, en s'intéressant particulièrement à ce qui se passe au niveau de la micelle. Dans la Partie 2, les méthodes récemment développées pour la dynamique des systèmes complexes ont été utilisées afin d'étudier la dynamique d'élaboration des gels, à partir de la formation d'agrégats lors de l'abaissement du pH du lait. On discutera de leur intérêt. Enfin, dans la Partie 3, on engage des réflexions nouvelles sur les aspects cinétiques de la coagulation acide, sur la structure des micelles caprine et ovine comparées avec la micelle bovine et enfin sur les relations entre phases d'agrégation et de gélification.

Ce travail a donné lieu aux publications et communications scientifiques suivantes :

Publications

OULD ELEYA, M. M., S. DESOBRY-BANON and J. HARDY. 1995. A comparative study of pH and temperature effects on the acidic coagulation of milks from cows, goats and sheep. *Journal of Dairy Science* Vol. 78 (12) 2675-2682.

OULD ELEYA, M. M., N. VETIER, S. DESOBRY-BANON and J. HARDY. 1996. Measurement of the fractal dimension using static light scattering: application to the pH-induced aggregation of caseins from cow, goat, and sheep milks. 6th Food Colloids meeting, 24-26 Avril, Lund, Suède (Soumise à *Food Hydrocolloids*).

VETIER, N., M. M. OULD ELEYA, S. DESOBRY-BANON and J. HARDY. 1996. Fractal dimension of casein aggregates obtained during milk acidification at different temperature. (Soumise à *Journal of Dairy Science*).

Communications

OULD ELEYA, M. M., S. DESOBRY-BANON. and J. HARDY 1994. Physicochemical changes in casein Micelles during slow acidification of skim milk from different species: a comparative study. 5th Food Colloids meeting, 23-25 Mars , Dijon, France.

OULD ELEYA, M. M., S. DESOBRY-BANON, J. SCHER and J. HARDY. 1994. A comparative study of cow's, ewe's and goat's milk acidification. B25, Page 50 in Proc. 24th Int. Dairy. Congr. Melbourne. Australie.

OULD ELEYA, M. M., S. DESOBRY-BANON, J. P. RAMET and J. HARDY. 1995. The acidic coagulation of milks from cows and goats : a turbidimetric and a rheological study. Int. Dairy Fed. Seminar on "Production & Utilization of Ewes and Goats Milk". 19-21 Octobre, Crète, Grèce.

HARDY, J., K. MAURER., M. M. OULD ELEYA et S. DESOBRY-BANON. 1995. Complexité des aliments et dimensions fractales : des outils pour prédire la qualité texturale? Récents Progrès en Génie des Procédés Vol. 9 (41) 19-24.

VETIER, N., M. M. OULD ELEYA, S. DESOBRY-BANON et J. HARDY. 1996. Détermination de la dimension fractale au moyen de la diffusion statique de la lumière : application à l'agrégation, induite par acidification, des micelles de caséines. Séminaire de l'Ecole Doctorale PROMEN sur "Chaos, Bifurcation, Fractales". INPL, 20-21 Mai, Nancy, France.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Ce chapitre est structuré en deux parties : la première partie synthétise les connaissances actuellement acquises sur la coagulation acide des laits de vache, de chèvre et de brebis et la seconde partie est consacrée aux études quantitatives (numériques et expérimentales) de l'agrégation et de la gélification colloïdales; en particulier celles relatives aux micelles de caséines.

Partie 1 : Coagulation acide du lait

Dans cette première partie, nous avons rassemblé et synthétisé les connaissances actuellement acquises sur ces trois laits, en mettant l'accent particulièrement sur la micelle, sa structure, sa stabilité et ses comportements vis-à-vis des modifications du pH et de la température.

1.1. Les laits

Le lait a été défini, lors du Congrès International de la répression des fraudes qui s'est tenu à Paris en 1909, comme : "le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière, bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum". Cette définition à caractère général est applicable aux laits de vache, de chèvre, de brebis, et, bien qu'ancienne, reste valable (Le Mens, 1985).

Les laits des différentes familles de mammifères ont dans l'ensemble des compositions semblables. Toutefois, les proportions des principaux constituants peuvent varier de façon notable d'une famille à l'autre, et au sein d'une même famille d'une espèce à l'autre. En revanche, les variations sont moindres d'une race à l'autre au sein d'une même espèce (Jenness et Sloan, 1970).

Le lait est composé principalement d'eau, de matière grasse, de protéines, de lactose et de sels minéraux. D'un point de vue physico-chimique, il peut être considéré comme une suspension colloïdale polydisperse, dans laquelle les particules de matière grasse (globules gras) et de caséines (micelles de caséines) sont en suspension. Le lactose, la plupart des minéraux et une faible partie des protéines sont solubilisés dans la phase aqueuse non micellaire du lait : le lactosérum.

1.1.1. Composition chimique des laits

En raison de son importance commerciale considérable, le lait de vache a été beaucoup plus largement étudié que le lait des autres espèces de mammifères. A partir d'une analyse de la

littérature spécialisée, entre 1975 et 1977, Downey et Fox (1977) ont recensé plus de 10000 papiers, revues et autres publications techniques et scientifiques, sur le lait, les procédés et les produits laitiers. Entre 94 et 97% de ce total concerne uniquement le lait de vache, ses procédés et produits dérivés. L'ensemble des publications sur les laits de chèvre, de brebis et de bufflonne ne représente que moins de 0,4% de ce total.

Ces statistiques bien qu'anciennes décrivent relativement bien la situation d'aujourd'hui.

Le lait de chèvre a fait l'objet de quelques études bibliographiques détaillées (Jenness, 1980; Juarez et Ramos, 1986). Comme l'indique Anifantakis (1986), très peu de travaux traitent de la composition et des caractéristiques physico-chimiques du lait de brebis.

Nous avons regroupé dans le Tableau I.1 les données les plus récentes de la littérature concernant les compositions moyennes des laits de vache, de chèvre et de brebis.

Au vu de ces résultats, il apparaît que le lait de brebis, comparativement aux laits de chèvre et de vache, présente des teneurs supérieures en matières sèches (MS), en matières grasses (MG), en matières azotées totales (MAT) et en cendres. Sa teneur en lactose est comparable à celle du lait de vache. Le lait de chèvre contient, en revanche, des teneurs en MS, en MAT et en lactose inférieures à celles du lait de vache.

Il est également à noter que le lait de chèvre, et à un degré moindre le lait de brebis, présentent une grande variabilité de composition, selon les races et les conditions d'élevage.

1.1.2. Matières Azotées

Les distributions de la matière azotée des laits de vache, de chèvre et de brebis sont présentées dans le Tableau I.2. Il ressort de ce tableau que la distribution de la matière azotée du lait de brebis est sensiblement différente de celles des deux autres laits. Le lait de brebis présente des teneurs en azote total et en caséines beaucoup plus importantes que celle du lait de chèvre; sa teneur en caséines est environ le double de celle du lait caprin, et le pourcentage de caséines (par rapport à la matière azotée totale) y est aussi supérieur. Le lait de brebis, par rapport au lait de vache, contient plus d'azote total et de caséines, mais présente un pourcentage caséique identique.

Le lait de chèvre montre, en revanche, une distribution de la matière azotée proche de celle du lait de vache, avec toutefois des teneurs en azote total et en caséines légèrement inférieures.

Par ailleurs, le lait de chèvre se caractérise, comparativement aux deux autres laits, par un pourcentage de NPN plus élevé. En effet, Grappin (1986) a montré que le NPN du lait de chèvre représente 8,7% de la matière azotée totale, contre 4,7% pour le lait de brebis et 5,2% pour le lait de vache.

Tableau I.1. Composition chimique des laits de vache, de chèvre et de brebis. Les différents composants sont exprimés en g/100g ou en g/100ml* de lait.

	Pays	Races	MS	MG	MAT	Lactose	Cendres	Références
	Arabie Saoudite		16,20	5,10	4,90	4,39	0,86	Sawaya et al., 1984
Lait	Ecosse	Friesland	19,36	7,53	6,35	4,21		D'après Muir et al., 1993
de	Egypte	Rahmani	16,93	5,98	5,45		0,92	D'après Abou Dawood, 1980
Brebis	France		18,40	7,19	5,69	4,53	0,90	Assenat, 1985
	France			7,40*	5,63*	4,66*		Pellegrini et al., 1994
	Grèce		19,98	7,92	6,19	4,86	0,91	Anifantakis, 1986
	Arabie Saoudite	Aardi	11,15	2,83	3,28	4,12	0,77	Sawaya et al., 1984
		Masri	11,13	3,06	3,41	4,12	0,77	
	Egypte	Baladi	14,90	6,00	4,13		0,81	D'après Abou Dawood, 1980
Lait	Espagne	Murciano-Granadina	12,82	4,59	3,21	4,37		Lopez et al., 1995
de	France	Alpine Saanen			3,38	3,09		Grappin et al., 1981
	Grèce	Alpine	11,76	3,44	3,35	4,30	0,79	Voustinas et al., 1990
Chèvre	Inde		12,48	3,80	2,90	4,08	0,79	Saini et al., 1991
	Irlande		12,27	3,63	3,39		0,78	Espie et Mullan, 1990
	Israël	Saanen	11,18	2,88	3,21		0,78	D'après Merin et al., 1988
	Portugal	Alpine Saanen	12,10	3,60	3,30	4,60	0,80	Barbosa et Miranda, 1986
Lait de			12,50	3,50	3,40	4,70	0,80	Alais, 1984
Vache			12,70	3,90	3,30	4,60	0,65	Walstra et Jenness, 1984

MS : Matières sèches

MG : Matières grasses

MAT : Matières azotées totales = azote total \times 6,38

Tableau I.2 Distribution des fractions azotées des laits de vache, de chèvre et de brebis, exprimées en g/100g ou en g/100ml* de lait.

	Pays	Races	MAT	MP	Caséi -nes	PS	NPN	Caséi -nes (%) ¹	Références
Lait de Brebis	France		5,78	5,51	4,55	0,97	0,27	79	Assenat, 1985
	France		5,63*	5,35*	4,41*	0,95*	0,44*	82	Pellgrini et al., 1994
	France	Alpine Saanen	3,08	2,81	2,33	0,63	0,27	75	Grappin et al., 1981
Lait de Chèvre	France	Alpine Saanen	3,00*	2,81*	2,20*		0,20*	73	Remeuf, 1988
	France	Alpine Saanen	3,06		2,21			72	Vesperini-Jaubert, 1992
	Grèce	Saanen - race indigène	3,14		2,41	0,73		77	Anifantakis, 1980
Lait de Vache			3,20*		2,50*	0,54*	0,16*	78	Alais, 1984
			3,30	3,25	2,60	0,63		79	Walstra et Jenness, 1984

MAT : Matières azotées totales

MP : Matières protéiques

¹Les caséines sont exprimées en % de la MAT

PS : protéines solubles

NPN : azote non protéique

1.1.3. Minéraux

Le Tableau I.3 montre la composition en calcium, magnésium et phosphore des laits de vache, de chèvre et de brebis, ainsi que la répartition de ces minéraux entre les phases colloïdale et soluble du lait. Il apparaît, que le lait de brebis, comparativement aux deux autres laits, contient plus de calcium, de magnésium et de phosphore. Les compositions minérales des laits de chèvre et de vache sont, en revanche, assez proches.

D'après les résultats du Tableau I.3, il apparaît également que la répartition des minéraux dans le lait de brebis est différente de celle des autres laits étudiés, alors que celles des laits de chèvre et de vache sont similaires.

Tableau I.3. Répartition des minéraux des laits de vache, de chèvre et de brebis entre les phases soluble et colloïdale. Les données sont exprimées en mg/100ml ou en mg/100g* de lait.

	Calcium			Phosphore			Magnésium			Références
	Total	Soluble	Soluble en % du total	Total	Soluble	Soluble en % du total	Total	Soluble	Soluble en % du total	
Lait de Brebis	228	21	9	123	36	29	22	7	32	Holt et Jenness, 1984
	182	26	14	95	38	41				D'après Muir et al., 1993
	241	64	27	107	43	40				Richardson et al., 1974
	132	37	28	95	30	32	8	2	25	Ahmed, 1979
Lait de Chèvre	93	32	35	48	28	58	12	8	69	Holt et Jenness, 1984
	116	36	31	65	32	49				Remeuf, 1988
	139	48	35	72	32	44				Richardson et al., 1974
	111*	32*	29	94*	44*	46	13*	8*	65	Vesperini-Jaubert, 1992
Lait de Vache	116	37	32	65	35	54	12	8	64	Holt et Jenness, 1984
	127	60	47	72	37	52				Richardson et al., 1974
	117*	37*	32	203*	108*	53	11*	7*	66	Walstra et Jenness, 1984

1.2. Les micelles de caséines

Les micelles de caséines sont des particules colloïdales, dont la matière sèche est constituée de 93% de protéines (caséines) et de 7% de minéraux (essentiellement du phosphate de calcium colloïdal).

1.2.1. Composition

1.2.1.1. Les caséines

Constituant protéique majeur du lait, les caséines se présentent, au pH naturel du lait, essentiellement sous forme de particules approximativement sphériques, en suspension : les micelles de caséines.

Les caséines bovines, qui sont les plus étudiées parmi celles des laits de mammifères, se divisent en quatre grandes espèces : les caséines α_{s1} , α_{s2} , β et κ . Ce sont des chaînes polypeptidiques phosphorylées et pour la dernière d'entre elles glycosylée. La caséine γ est parfois considérée, mais il s'agit en réalité d'un simple fragment de la caséine β (Alais, 1984). Des espèces équivalentes aux quatre caséines bovines, α_{s1} , α_{s2} , β et κ , ont été retrouvées dans les laits de chèvre et de brebis (Boulangier et *al.*, 1984; Assenat, 1985; Ono et *al.*, 1989; Kaminarides et Anifantakis, 1993; Law et *al.*, 1993;). La caséine β , dans les laits caprin et ovin, se trouve sous forme de deux fractions β_1 et β_2 , qui ne diffèrent entre elles que par le nombre de résidus phosphorylés (6 P pour β_1 contre 5 P pour β_2) (Kaminarides et Anifantakis, 1993).

Tableau I.4. Distribution des différentes fractions caséiques des laits de vache, de chèvre et de brebis en % des caséines totales.

Références		α_s		β		γ	κ
		α_{s1}	α_{s2}	β_1	β_2		
Lait de brebis	Assenat, 1985	16	15	19	28	15	7
	Law et <i>al.</i> , 1992		34		50		11
	Ono et <i>al.</i> , 1989		48		38		13
Brebis	Pellegrini et <i>al.</i> , 1994	34	13		42		10
Assenat, 1985			13	36	39	4	8
Lait de chèvre	Mora-Gutierrez et <i>al.</i> , 1993	11	13		49		16
	Ono et <i>al.</i> , 1989		50		43		6
	Remeuf et Lenoir, 1986	6	19		55		20
Chèvre	Vesperini-Jaubert, 1992	11	11		62		16
Lait de vache	Mora-Gutierrez et <i>al.</i> , 1993	38	10		40		12
de	Ono et <i>al.</i> , 1989		50		37		13
Vache	Remeuf et Lenoir, 1986	38	12		36		14

Le Tableau I.4 montre la distribution des différentes fractions des caséines des laits de vache, de chèvre et de brebis. La plupart des auteurs ont montré que les caséines caprines,

comparativement aux caséines bovines, contiennent moins de caséine α_{s1} , une proportion semblable de caséine α_{s2} , beaucoup plus de caséine β et légèrement plus de caséine κ . En revanche, Ono *et al.* (1989) ont montré que la proportion de la caséine κ est plus faible dans le lait de chèvre que dans le lait de vache. Comparativement aux caséines ovines, les caséines caprines contiennent moins de constituant α_s (α_{s1} et α_{s2}), plus de β et de κ .

Les caséines ovines contiennent moins de constituant α_s , plus de caséine β et légèrement moins de κ que les caséines bovines (Assenat, 1985; Law *et al.*, 1992). Les résultats de Ono *et al.* (1989) montrent, en revanche, que la caséine ovine est semblable en composition à la caséine bovine.

1.2.1.2. Le phosphate de calcium

La présence de minéraux dans la micelle de caséines a été mise en évidence à partir des expériences de sédimentation et d'ultrafiltration du lait (Pyne et Ryan, 1950). Une faible part des minéraux micellaires (Ca, Mg) est directement liée à la micelle en formant principalement un sel de phosphate de calcium jouant le rôle de liant dans l'édifice micellaire. Le phosphate de calcium colloïdal est défini comme le sel formé par les petits ions (Ca, Mg, P inorganique et citrate) présents à l'intérieur de la micelle de caséines bovine native (Holt, 1985). Pour le phosphore, on distingue le phosphore organique (P_o) lié aux résidus séryls des caséines et le phosphore inorganique (P_i) présent dans le complexe colloïdal phosphate-citrate-calcium-magnésium.

La détermination exacte de la composition du phosphate de calcium colloïdal est délicate parce qu'il est difficile de déterminer la part du calcium micellaire directement liée aux caséines. En effet, les dosages effectués prennent en compte le calcium global, dont le calcium lié directement aux caséines (Schmidt, 1982; Holt, 1989).

La micelle de caséines bovine fixe 55-70% du Ca, 45-50% du P et 30-35% de Mg (Tableau I.3). La micelle caprine fixe 60-65% de Ca, 50-55% de P et 30-35% de Mg. La micelle ovine fixe 80-90% de Ca, 60-70% de P et 70% de Mg.

1.2.2. Les caractéristiques des micelles de caséines

Dans le Tableau I.5, nous avons regroupé les valeurs des principales caractéristiques physico-chimiques des micelles de caséines bovine, caprine et ovine; à savoir la taille, la voluminosité, les degrés d'hydratation et de minéralisation.

La taille moyenne et la distribution de taille des micelles de caséines sont déterminées couramment par diffusion dynamique de la lumière (Dalglish et Hallett, 1995), microscopie électronique et chromatographie hydrodynamique (Dodds, 1982). Une revue détaillée sur ce sujet a été réalisée par Holt (1985).

Richardson *et al.* (1974) et Buchheim *et al.* (1989), ont montré, par microscopie électronique, que les micelles caprines présentent une distribution de taille large, avec de nombreuses particules de 40 nm de diamètre et des particules, dont le diamètre moyen dépasse 250 nm. Les micelles ovines présentent, par contre, une distribution réduite : de 80 à 100 nm. La distribution de taille des micelles bovines est intermédiaire, avec un diamètre micellaire moyen de 150 nm. Remeuf et Lenoir (1986) et Vesperini Jaubert (1992), ont mesuré, par diffusion dynamique de la lumière, une taille de 250 nm pour la micelle caprine et de 180 nm pour la micelle bovine.

Tableau I.5. Caractéristiques physico-chimiques des micelles de caséines bovine, caprine et ovine.

Caractéristiques physico-chimiques	Lait de Vache	Lait de Chèvre	Lait de Brebis	Références
Diamètre moyen des micelles (nm)	182	282	122	Buchheim <i>et al.</i> , 1989 Pellegriani <i>et al.</i> , 1994 Remeuf, 1988
	175	255	193	
Degré d'hydratation (g H ₂ O/g micelle sèche)	1,89	1,67	1,82	Pellegriani <i>et al.</i> , 1994 Richardson <i>et al.</i> , 1974 Sood et Sidhu, 1979
	3,50	3,41	1,80 3,08	
Voluminosité (ml / g de caséines)	4,20	4,11	3,78	Sood et Sidhu, 1979
Minéralisation Ca (mg/g de caséines)	31	38,50		Irlam <i>et al.</i> , 1985 Pellegriani <i>et al.</i> , 1994 Remeuf, 1988 Richardson <i>et al.</i> , 1974 Sood et Sidhu, 1979
	28,90	36	33,4	
	24,50	29	28,20	
	27	30	19	
P (mg/g de caséines)	11,10	16,40		Irlam <i>et al.</i> , 1985 Remeuf, 1988 Richardson <i>et al.</i> , 1974
	12	15		
	9,30	11,20	11,30	
$\frac{Ca}{Pi}$ (mole / mole)	2,15	1,81		Irlam <i>et al.</i> , 1985 Remeuf, 1988 Richardson <i>et al.</i> , 1988
	1,87	1,85		
	2,05	2,02	1,93	

La voluminosité élevée des micelles de caséines serait due à l'existence de chaînes macromoléculaires flexibles à leur surface (Walstra, 1979). La voluminosité de la micelle, exprimée en ml de solvant par g de caséines, peut être déterminée par différentes techniques, telles que la diffusion de la lumière, la microscopie électronique, l'ultracentrifugation ou encore la viscosimétrie (Walstra, 1979).

L'hydratation (δ), exprimée en g d'eau par g de caséine deshydratée, est reliée à la voluminosité par la relation de Tanford (Sood et Sidhu, 1977) : $v = v_m + \delta v_e$, où v_m et v_e sont respectivement les volumes spécifiques des micelles deshydratées et de l'eau. Une variation du degré d'hydratation de la micelle s'accompagne souvent d'une modification de sa voluminosité.

La différence entre les valeurs d'hydratation des micelles, obtenues par Richardson *et al.* (1974) et celles obtenues par Sood et Sidhu (1979), s'explique par le fait que deux méthodes différentes ont été utilisées. En effet, Richardson *et al.* (1974) ont déterminé l'hydratation des micelles dans des culots d'ultracentrifugation alors que Sood et Sidhu (1979) ont calculé la valeur de l'hydratation micellaire à partir de mesures viscosimétriques. Durant l'ultracentrifugation, la micelle de caséines subirait un effondrement de sa couche "chevelue" externe, qui entraînerait une élimination du solvant et par conséquent une réduction de la quantité d'eau liée à la micelle. Un tel phénomène n'a pas lieu au cours des mesures viscosimétriques (Walstra, 1979).

1.2.3. La structure de la micelle de caséines

La structure de la micelle de caséines bovine est l'objet de nombreuses études depuis plus de 30 ans. En revanche, rares sont celles consacrées à la structure des micelles de caséines des laits des autres mammifères. Nous présentons ainsi les principaux modèles de structure proposés dans la littérature sur la micelle de caséines bovine soit les modèles noyau - enveloppe, les modèles à structure interne et les modèles submicellaires. La structure du phosphate de calcium, engagé dans la micelle de caséine, est également détaillée.

1.2.3.1. Modèles micellaires

Modèles noyau - enveloppe

Le modèle de Waugh (1970) est constitué d'un noyau de caséines α_s et β , et d'une enveloppe composée de caséine κ . La caséine κ se situe à la surface de la micelle et prévient ainsi la précipitation, due au calcium, des caséines formant le noyau.

L'une des principales critiques de ce modèle est de ne pas prendre en considération le rôle important du phosphate de calcium dans le maintien de l'intégrité micellaire.

Un autre modèle du même type est proposé par Parry et Carroll (1969). Dans ce modèle, la caséine κ est le point de nucléation sur lequel viennent se grouper les caséines α_s et β . L'ensemble est stabilisé par le phosphate de calcium colloïdal. Ce modèle considère que les trois caséines occupent la surface de la micelle, dans des proportions proches de celles qu'elles

ont dans le lait, ce qui est en contradiction avec le fait que la surface micellaire est constituée exclusivement de caséine κ (Schmidt, 1982).

Le modèle micellaire le plus récent est proposé par Visser (1991). Dans ce modèle, la caséine α_{S1} forme la trame de la structure micellaire. Les caséines β , faiblement liées à la micelle de caséine par des liaisons hydrophobes et par des ponts salins, peuvent se déplacer à l'intérieur ou à l'extérieur de la micelle sans en altérer la structure. La caséine κ est localisée à la périphérie. Le calcium et le phosphate sous forme d'un complexe spécifique Ca-PO_4 lié aux groupements ammonium de la lysine des caséines, induisent des forces d'interactions non ioniques entre les différentes molécules de protéines, stabilisant alors la structure micellaire finale.

Modèles à structure interne

Rose (1969) propose un modèle, où l'édifice micellaire est formé de polymères de caséine β auxquels les caséines α_S et κ sont liées par des interactions hydrophobes. L'ensemble est maintenu par des ponts de phosphate de calcium colloïdal.

Ce modèle devrait donc prédire une désintégration micellaire, qui n'est pas observée expérimentalement, par suite de la solubilisation de la caséine β au cours de la réfrigération du lait (Schmidt, 1982).

Garnier et Ribadeau Dumas (1970) proposent également un modèle à structure interne, dans lequel les trimères de caséine κ jouent le rôle de noeuds polyfonctionnels pour un réseau de copolymères de caséines α_{S1} et β . La localisation, à présent admise, de la caséine κ à la surface de la micelle remet en cause ce modèle (Schmidt, 1982).

Modèles submicellaires

Morr (1967) a développé un modèle, en supposant l'existence de submicelles à l'intérieur de la micelle. Ces submicelles consistent en un noyau formé par un complexe $\beta - \alpha_{S1}$ et d'une couche externe formée par un complexe $\kappa - \alpha_{S1}$. Elles sont liées entre elles, à l'intérieur de la micelle, par des ponts de calcium et de phosphate de calcium colloïdal.

L'existence de submicelles à l'intérieur de la micelle a été mise en évidence par les observations directes de microscopie électronique de Schmidt et Buchheim (1970) et de Buchheim et Welsch (1973). Elle a été récemment confirmée par les expériences de diffraction des rayons X aux petits angles (SAXS) par Pessen *et al.* (1989).

En 1973, Slattery et Evard ont développé un modèle submicellaire, dans lequel la caséine κ est localisée en surface de la micelle. Les submicelles interagiraient entre elles par des liaisons hydrophobes, jusqu'à ce que la surface micellaire entière soit recouverte de caséine κ .

Schmidt (1982) adapte l'idée de Slattery et Evard d'une distribution inégale de la caséine κ et propose des submicelles à noyau hydrophobe recouvert d'une couche hydrophile dans laquelle les groupes polaires des molécules de caséine κ sont isolés. Les parties polaires des autres caséines, principalement leur résidus phosphoséryls, constituent l'autre partie de cette couche hydrophile. Les liaisons entre les molécules de caséines dans la submicelle sont de nature hydrophobe et électrostatique (ponts salins).

Les submicelles sont liées entre elles par des amas de phosphate de calcium. La caséine κ , pauvre en phosphosérines, n'engage pas de liaisons avec les particules de phosphate de calcium qui interagissent préférentiellement avec les caséines α_{S1} , α_{S2} et β , par leur résidus phosphorylés. Les submicelles qui contiennent peu ou pas de caséine κ , sont enfouies à l'intérieur de la micelle.

Ce modèle a légèrement été modifié par Walstra et Jenness (1984), qui considèrent que la partie C-terminale du macropeptide de la caséine κ "sort" du noyau micellaire dans le solvant pour constituer une enveloppe "chevelue" ("hairy outer layer"). L'existence de cette couche, d'épaisseur variant entre 7 et 12 nm (Holt et Dalgleish, 1986; Walstra, 1990), a été mise en évidence par des études hydrodynamiques (Walstra, 1979; Holt et Dalgleish, 1986; Horne, 1986) et des études de résonance magnétique nucléaire au D_2O de la micelle de caséines (Griffin, 1987; Rollema et al., 1988). Son rôle dans la stabilisation de la micelle, par la répulsion stérique qu'elle engendre, a été souligné par plusieurs auteurs (Horne, 1986; Walstra, 1990).

Ce modèle a récemment été considéré par Visser (1991), comme une grande simplification de la réalité micellaire. En effet Visser (1991) critique la méthode d'obtention des micrographies électroniques de la micelle, qui ont permis de mettre en évidence l'existence de submicelles. Cette méthode, consistant en un ombrage unidirectionnel des micelles "cryo-fracturées", fournirait des informations erronées sur la structure interne de la micelle. Visser (1991), en utilisant une technique de cryo-fracture avec ombrage rotatoire, moyen plus efficace pour la visualisation de la structure interne de la micelle (Heertje et al., 1985), n'observe pas de submicelles, et conclue que la micelle de caséines serait plutôt formée de molécules de caséines individuelles. Cependant, Harwalker et al. (1989), par une technique d'ombrage métallique rotatoire, montrent que les micelles de caséines apparaissent comme des particules plutôt sphériques composées de submicelles.

D'autre part, le modèle submicellaire de Walstra et Jenness (1984) suggère que l'addition au lait d'un agent complexant tel que l'EDTA ou l'acidification du lait entraîneraient une désintégration de la micelle en submicelles, ce que ne révèlent ni les mesures de taille par diffusion dynamique de la lumière ni les observations en microscopie électronique (Visser, 1991).

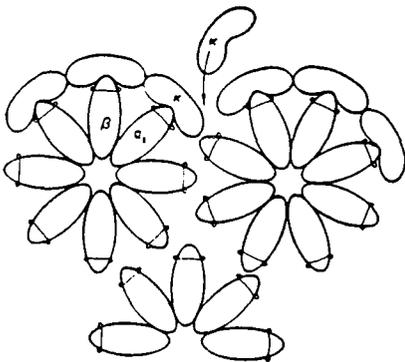
Conclusions

Les deux modèles de référence représentant la micelle de caséines, sont ceux de Walstra et Jenness (1984) et de Visser (1991). Ces deux modèles ne permettent, cependant, pas d'expliquer l'ensemble des observations faites sur la micelle de caséine.

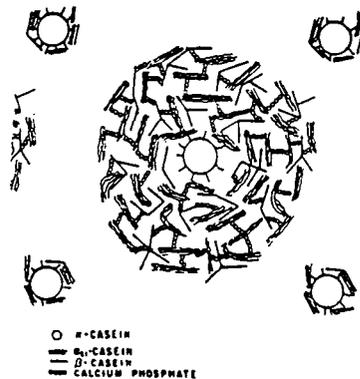
Le modèle de Walstra et Jenness (1984), permet d'expliquer la très bonne stabilité colloïdale de la micelle de caséines, mais ne permet pas de bien expliquer les effets de l'acidification, de la réfrigération ou de l'addition d'un agent complexant sur la micelle. D'autre part la présence du phosphate de calcium micellaire (PCM), sous forme de petits amas de formule chimique $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$ a été jugée improbable par van Dijk (1990).

Le modèle de Visser (1991) ne définit pas clairement les interactions entre les différentes molécules de caséines, ni le rôle exact du PCM. Le PCM, sous forme de complexe lys- CaPO_4 est apparemment inadapté (van Dijk, 1990a). D'autre part, l'absence de la couche chevelue sur la surface de la micelle, signifie la disparition de la stabilisation stérique qu'elle assure et par conséquent une réduction considérable de la stabilité micellaire. Par ailleurs, la présence de faibles quantités de caséine α_{s1} dans certains laits (lait de chèvre, lait de brebis) (Tableau I.4) rend l'application de ce modèle pour les micelles d'autres espèces assez douteuse. Ono et Creamer (1986) ont, en effet, montré que la caséine α_{s1} ne joue pas de rôle structural dans la micelle caprine.

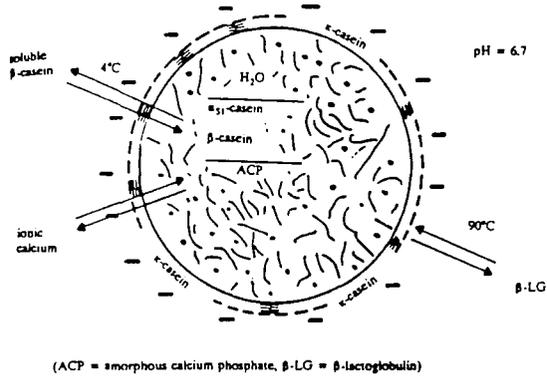
En résumé, nous pouvons dire que les deux modèles sont complémentaires, mais que celui de Walstra et Jenness, malgré ses limites, demeure le plus accepté par les chercheurs actuels du domaine laitier.



a : D'après Waugh (1971).

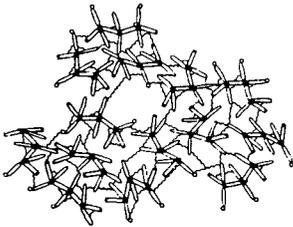


b : D'après Parry et Carroll (1969).

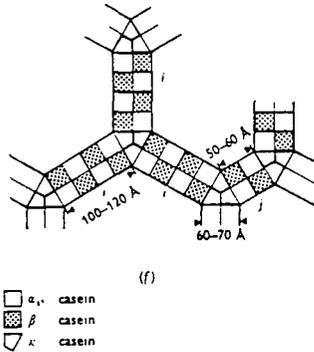


c : D'après Visser (1991).

Figure I.1. Modèles micellaires noyau - enveloppe.

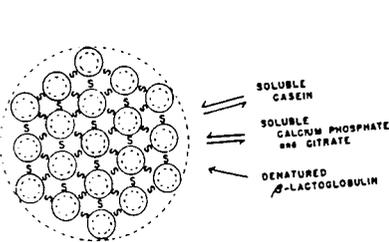


a : D'après Rose (1968).

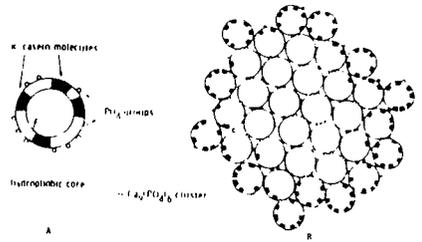


b : D'après Garnier et Ribadeau Dumas (1970).

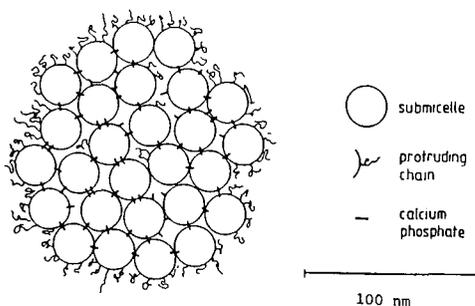
Figure I.2. Modèles micellaires de structure interne.



a : D'après Morr (1967).



b : D'après Schmidt (1982).
A Submicelle; B Micelle



c : D'après Walstra et Jenness (1984).

Figure I.3. Modèles submicellaires.

1.2.3.2. Structure du phosphate de calcium micellaire et interactions avec les caséines

Il est actuellement admis que le phosphate de calcium micellaire joue un rôle important dans le maintien de la structure micellaire (Schmidt, 1982; Walstra et Jenness, 1984; Visser, 1986). Beaucoup de controverses demeurent, par contre, sur l'état dans lequel le phosphate de calcium micellaire est présent dans la micelle et la manière avec laquelle il est lié aux caséines. van Dijk (1990a) distingue trois types de modèles structuraux du phosphate de calcium micellaire : les modèles à phase solide, les modèles à échange d'ions et les modèles combinés.

Le premier type de modèle considère le phosphate de calcium micellaire comme une entité solide séparée, en équilibre avec la solution saline. Ainsi, dans la micelle selon Schmidt (1982), le phosphate de calcium colloïdal est assimilé à du phosphate tricalcique amorphe, sous forme de petits amas sphériques, de formule $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$. Ces amas sont liés aux groupes phosphoséryls des caséines par des cations Ca (Figure I.4).

Un autre modèle de ce type, est celui proposé par Holt (1989), dans lequel le phosphore des groupements phosphoséryls (P_O) est considéré comme faisant partie intégrante de la structure du phosphate de calcium micellaire. Le PCM est, dans ce cas, un phosphate dicalcique dihydraté amorphe acide, de formule, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (brushite) (Figure I.5).

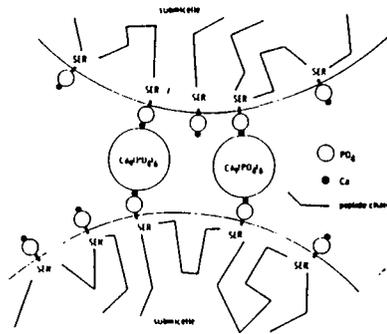


Figure I. 4. Représentation schématique des ponts salins entre deux submicelles par les clusters $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$. D'après Schmidt (1982).

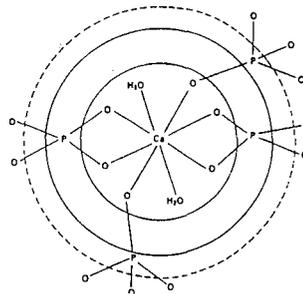


Figure I.5. Représentation schématique du phosphate dicalcique amorphe, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (brushite). D'après Holt (1989).

Le second type de modèle est celui où la caséine est considérée comme une substance échangeuse d'ions, dont les sites d'interactions pour le Ca et le P_i seraient les groupements carboxyliques, le phosphate organique (P_o) et les résidus aminés (Ter Horst, 1963; Visser 1979). Ter Horst (1963) propose un modèle dans lequel un complexe, de type lys-Ca PO_4 , est formé entre le groupement NH_3^+ de la lysine, le Ca et le P_i . Le Ca est, par ailleurs, lié aux groupes carboxyliques et aux phosphosérines dans la caséine. Selon van Dijk (1990a), ce modèle est incomplet parce qu'il ne permet pas d'expliquer qu'environ la moitié du calcium micellaire est très lentement ou pas du tout échangée. De plus, l'aptitude à l'interconnexion du PCM reste inexpliquée.

Le troisième type de modèles est celui proposé récemment par van Dijk (1990 a, b), dans lequel le PCM est organisé en amas ioniques, constitués de deux groupes P_O , quatre ions P_i et huit ions divalents (essentiellement du Ca). Les amas sont liés aux chaînes peptidiques des caséines par les groupements phosphoséryls. van Dijk (1990) considère que ces clusters sont uniques, dans la mesure où ils ne ressemblent à aucun des sels de phosphate de calcium connus. Ce modèle inclut des "bras" stables et des "bras" instables (Figure I.6) permettant d'expliquer l'équilibre dynamique de cette structure (en particulier les échanges rapides en ions Mg^{2+} et Ca^{2+}). Les "bras" instables sont susceptibles de se dissocier rapidement; en revanche la destruction des "bras" stables provoque la désintégration de l'édifice micellaire.

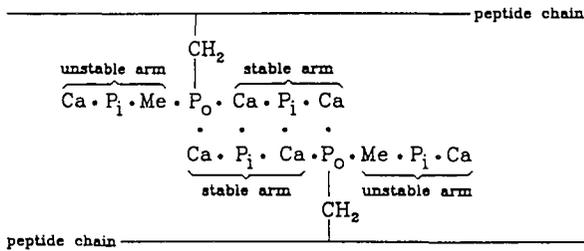


Figure I.6. Modèle du phosphate de calcium micellaire. D'après van Dijk (1990a).

1.2.3.3. Cas des micelles de caséines caprine et ovine

Les micelles de caséines caprine et ovine ont été en général peu étudiées. Quelques travaux concernant leur caractéristiques physico-chimiques et rares sont ceux consacrés à l'étude de la structure de ces micelles.

Selon Ono et Creamer (1986), la micelle de caséines caprine serait constituée d'agrégats caséiques liés entre eux par des interactions ioniques impliquant le calcium et le phosphate. Des complexes formés par les caséines α_s et κ , d'une part et les caséines β , d'autre part, sont prédominants dans la micelle caprine. La caséine β serait faiblement liée à la micelle, et la caséine κ localisée à la surface de la micelle. Ces dernières observations ont été confirmées récemment par Vesperini Jaubert (1992). Ono et Creamer (1986) ont également montré que la caséine caprine α_{s1} ne joue pas de rôle spécial dans la structure de la micelle caprine.

Richardson et *al.* (1974) et Bucheim et *al.* (1989), ont mis en évidence, par microscopie électronique, que les micelles caprines se présentent sous forme de particules granuleuses formées de submicelles de 10 à 15 nm.

Pour le phosphate de calcium colloïdal (PCC), Irlam et *al.* (1985) suggèrent l'existence d'une structure type brushite ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), analogue à celle du PCC de la micelle bovine.

La structure de la micelle de caséine ovine a été peu étudiée. Les travaux de Richardson et *al.* (1974) et de Buchheim et *al.* (1989) montrent qu'elle présente une structure particulière homogène, semblable à celles des micelles bovine et caprine.

1.2.4. La stabilité colloïdale de la micelle de caséines

Les micelles de caséines dans leur environnement naturel ont une remarquable stabilité. Elles peuvent résister à des traitements thermiques élevés avant que n'apparaisse une floculation; la concentration du lait par évaporation et le séchage du lait n'altère pas la micelle. Après ce traitement, lorsque les conditions originales sont rétablies (ce qui nécessite parfois un certain temps), le comportement des micelles n'est pas modifié de façon significative (Schmidt, 1982). D'autres techniques, telles que l'ultrafiltration n'altère pas non plus la micelle.

La stabilité d'une dispersion colloïdale est déterminée par les forces agissant entre les particules. On peut distinguer trois types : les interactions attractives, dues aux forces de van der Waals, les interactions répulsives dues aux forces électrostatiques et les forces dues à l'adsorption de macromolécules, qui peuvent conduire à une attraction ou à une répulsion (Schmidt, 1982; Israëlchvili, 1985).

Les forces de van der Waals sont toujours attractives, et leur domaine d'action s'étend sur une distance, à partir de la surface de la particule, de l'ordre de la taille des particules. Ces interactions diminuent proportionnellement à l'inverse du carré de la distance interparticulaire.

Les forces électrostatiques dues aux interactions entre doubles couches électriques entourant les particules conduisent toujours à une répulsion. Cette répulsion diminue comme une fonction exponentielle de la distance, et agit seulement sur des distances comparativement plus courtes, de l'ordre de l'épaisseur de la double couche électrique. L'intensité des interactions est déterminée par la charge de surface des particules.

La théorie dite DLVO (1949) (Deryaguin, Landau, Verwey et Overbeek) (cités par Thompson et Farrell, 1973) prend en considération la répulsion électrostatique et l'attraction de van der Waals, pour calculer l'énergie libre nécessaire pour amener deux particules d'une distance infinie à une distance plus proche l'une de l'autre. Si cette énergie libre d'interaction est négative sur toutes les distances, les particules peuvent se toucher. Si l'énergie libre d'interaction est positive aux petites distances, sa valeur maximale peut être approximativement prise comme l'énergie libre d'activation pour l'agrégation (Figure 1.7).

Cette théorie a souvent été appliquée aux micelles de caséines, mais selon Payens (1979) elle ne permet pas d'expliquer leur remarquable stabilité. Le potentiel zéta des micelles de caséines (de l'ordre de -15 mV) est trop faible pour expliquer la stabilité micellaire uniquement par l'effet des forces électrostatiques. De plus les hypothèses de départ de la théorie DLVO ne sont pas complètement valables (Walstra, 1990). En effet, les particules de caséines ne sont pas des sphères homogènes parfaites, et la répulsion d'hydratation (Israëlchvili, 1985), qui se manifeste à des distances d'environ 1 nm, à partir de la surface de la particule, n'est pas prise en compte.

Les forces de répulsion stérique constituent le troisième type de forces impliquées dans la stabilisation micellaire. Ces forces de répulsion sont dues à la présence d'une couche chevelue sur la surface de la micelle (modèle de Walstra et Jenness), qui prévient le rapprochement des micelles. Plusieurs auteurs (Walstra et Jenness, 1984; Holt et Dalgleish, 1986; Horne, 1986; Griffin, 1987) ont souligné le rôle de stabilisateur stérique, joué par cette couche chevelue. La répulsion stérique résulte de l'action de deux effets (Figure I.8), un effet osmotique causé par la concentration élevée des éléments de chaînes dans la région de chevauchement et un effet de volume de restriction (ou volume d'exclusion) dû à la perte de conformations possibles, adoptées par les chaînes, dans l'espace étroit entre les deux surfaces (Overbeek, 1982).

Par ailleurs, il faut signaler que la couche chevelue externe (formée de caséine κ), contribue également et de manière prédominante à la stabilisation type DLVO de la micelle de caséines. En effet, à la force ionique du lait, l'épaisseur de la double couche électrique est de l'ordre de 1 nm alors que celle de la couche chevelue externe est de plusieurs nanomètres. Ce qui signifie que la stabilisation type DLVO de la micelle est principalement déterminée par la charge des chaînes hydrophiles de caséine κ de la couche externe, plutôt que par les charges de surface. Ces charges sont d'ailleurs masquées par les contre-ions présents à l'intérieur de la couche de stabilisation stérique (Dickinson, 1992).

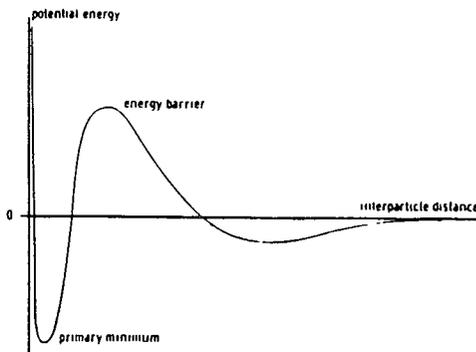


Figure I.7. Représentation schématique de l'énergie d'interaction entre deux particules sphériques en fonction de la distance interparticulaire. D'après Schmidt (1982).

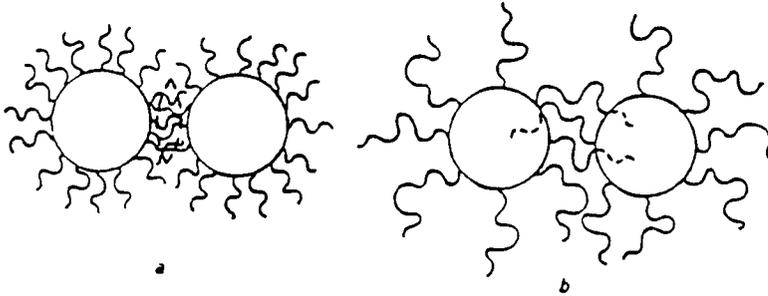


Figure I.8. Illustration schématique des deux aspects de la répulsion stérique.
a : Effet osmotique; b : Effet de volume de restriction. D'après Overbeek (1982).

1.3. Influences de l'acidification et de la température du lait sur les micelles de caséines

Le pH et la température sont les deux paramètres principaux induisant des modifications profondes de la structure de la micelle. Leurs effets sur la micelle de caséines bovine ont été largement étudiés. En revanche, peu d'études ont été consacrées à l'influence de ces paramètres sur les micelles caprine et ovine.

1.3.1. Variation de la taille micellaire avec le pH et la température

L'évolution de la taille moyenne micellaire dans le lait de vache, à 8°C, a été étudiée par Roefs et *al.* (1985). Une légère diminution est observée jusqu'à un minimum à pH 5,2 suivie d'une augmentation sensible de la taille (Figure I.9a). Banon et Hardy (1992) ont observé, à 15, 20, 30 et 42°C un profil en deux phases : phase de légère diminution et phase d'augmentation (Figure I.9b)

Par ailleurs, Darling (1982) et Banon et Hardy (1992) ont montré qu'une augmentation de la température entraîne une diminution de la taille micellaire.

L'évolution de la taille moyenne des micelles au cours de l'acidification du lait de chèvre, à récemment été étudiée par Vesperini-Jaubert (1992), qui a observé un profil en deux phases (Figure I.10). Une première phase, de pH 6,7 à pH 5,5-5,3, au cours de laquelle la

taille décroît légèrement, avec un écart de 10 à 20 nm, suivie d'une seconde phase d'augmentation sensible de la taille micellaire à $\text{pH} < 5,5$.

Vesperini-Jaubert a également noté une diminution de la taille moyenne des micelles caprine avec une augmentation de la température, mais avec des allures assez identiques (Figure I.10).

Concernant la micelle ovine, aucune étude similaire n'existe dans la littérature, à notre connaissance.

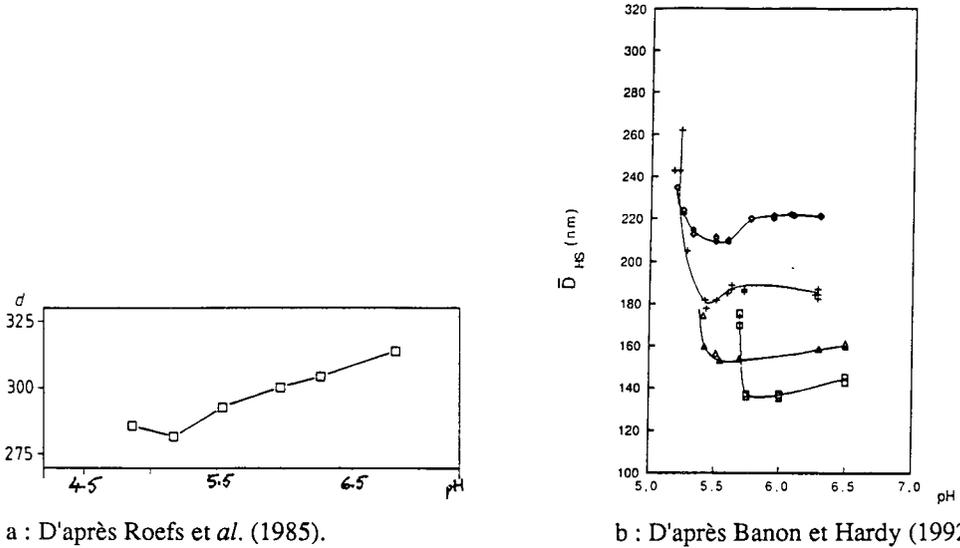


Figure I.9. Evolution de la taille des micelles de caséines bovines au cours de l'acidification du lait reconstitué à : (a) 8°C et (b) : 15°C (◆), 20°C (+), 30°C (▲) et 42°C (□).

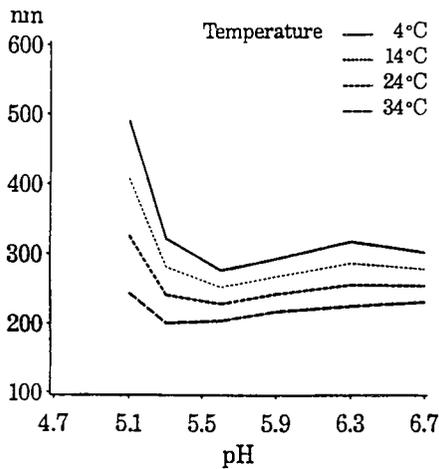


Figure I.10. Evolution de la taille des micelles de caséines caprines en fonction du pH et de la température. D'après Vesperini Jaubert (1992).

1.3.2. Variation de l'hydratation micellaire avec le pH et la température

La variation de l'hydratation des micelles de caséines au cours de l'acidification du lait de vache a été étudiée par plusieurs auteurs (Tarodo de la Fuente et Alais, 1975; Darling, 1982; Snoeren et *al.*, 1984; van Hooydonk et *al.*, 1986; Gastaldi-Bouabid, 1994).

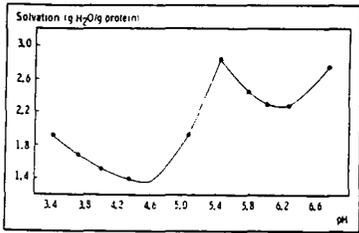
Snoeren et *al.* (1984) ont observé un profil d'hydratation micellaire, à 20°C, constitué de quatre phases (Figure 1.11a) : une première diminution de l'hydratation jusqu'à un minimum vers pH 6,0, suivie d'un accroissement jusqu'à un maximum à pH 5,45, puis une diminution, dont le minimum correspond à pH 4,6 et de nouveau une augmentation. La valeur minimale de l'hydratation micellaire correspond au pH isoélectrique des caséines (pH 4,6). Tarodo de la Fuente et Alais (1975), van Hooydonk et *al.* (1986) et Gastaldi-Bouabid (1994) ont observé, jusqu'à pH 4,6, des profils similaires. Darling (1982) a observé, à 10°C, un profil différent, sans la phase de décroissance initiale mais avec, comme précédemment, une phase d'augmentation jusqu'à pH 5,5, suivie d'une diminution de l'hydratation micellaire jusqu'à pH 4,6.

Par ailleurs, au pH naturel du lait, une augmentation de la température entraîne une diminution linéaire de l'hydratation micellaire (Figure 1.11b) (Darling, 1982; Snoeren et *al.*, 1984). Aux pH acides, l'hydratation micellaire diminue toujours avec l'augmentation de la température, mais la relation linéaire ne serait plus valable (Darling, 1982). A 30°C et à 55°C, cet auteur met en évidence une variation quasi-sigmoïdale de l'hydratation avec le pH.

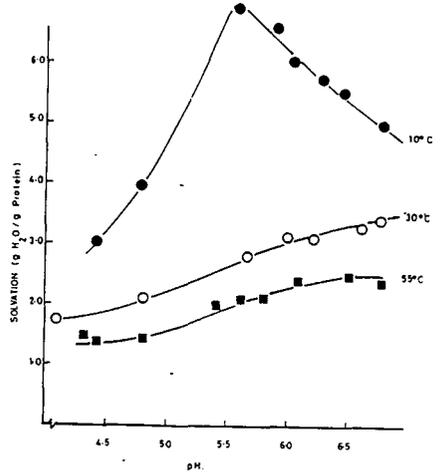
Vesperini Jaubert (1992), en étudiant l'évolution de l'hydratation micellaire au cours de l'acidification du lait de chèvre, a obtenu un profil identique à ceux observés par Tarodo de la Fuente et Alais (1975), Snoeren et *al.* (1984), van Hooydonk et *al.* (1986) et Gastaldi (1994), pour les micelles de caséines bovines. Le profil représenté, à la Figure I.12, est constitué d'une phase de diminution initiale jusqu'à un minimum aux environs de pH 5,9, suivie d'une augmentation jusqu'à un maximum correspondant à pH 5,3, puis de nouveau une diminution jusqu'à pH 4,7. S'agissant des micelles de caséines ovines, aucune étude sur l'évolution de l'hydratation micellaire en fonction du pH n'existe dans la littérature, à notre connaissance.

1.3.3. Variation du potentiel zéta avec le pH et la température

Le potentiel zéta, ζ , est une mesure approximative de la charge de surface des particules colloïdales (Bringe et Kinsella, 1987). L'évolution du potentiel zéta des micelles de caséines bovines a été mesurée par plusieurs auteurs (Darling et Dickson, 1979; Walstra et Jenness, 1984; Schmidt et Poll, 1986; Banon et Hardy, 1992). Darling et Dickson (1979) et Banon et Hardy (1992) ont étudié l'évolution du potentiel zéta, des micelles de caséines entre environ pH



a : D'après Snoeren *et al.* (1984)
(20°C)



b : D'après Darling (1982).

Figure I.11. Influence du pH et de la température sur l'hydratation des micelles de caséines dans le lait de vache.

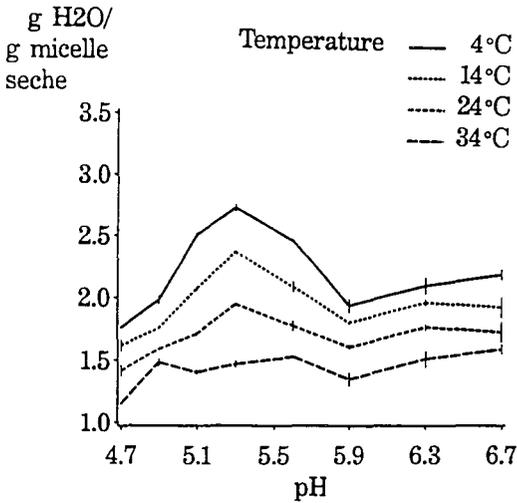


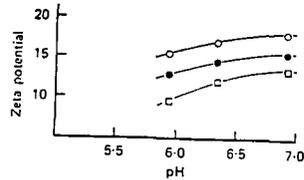
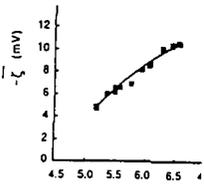
Figure I.12. Evolution de l'hydratation des micelles de caséines caprines en fonction du pH et de la température. D'après Vesperini Jaubert (1992).

7,0-6,7 et pH 6,0-5,5 et ont observé une diminution nette et continue de celui-ci (Figure I. 13a et b).

Walstra et Jenness (1984) et Schmidt et Poll (1986) ont suivi l'évolution du potentiel ζ jusqu'à des valeurs de pH faibles (4,4-4,0). Ils ont observé un profil plus complexe avec des valeurs de ζ presque nulles à pH 5,2 et pH 4,6 (Figure I. 13c et d).

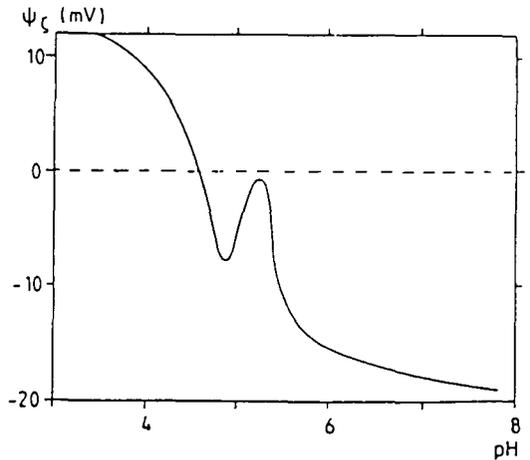
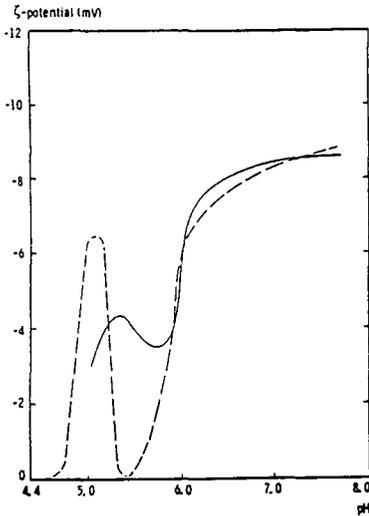
Ces deux derniers profils montrent l'importance de la région de pH 5,5-4,5. Des événements, ayant des effets antagonistes sur la charge micellaire, y ont apparemment lieu.

Concernant l'effet de la température sur le potentiel ζ , Darling et Dickson (1979), Dalgleish (1984) et Banon et Hardy (1992) ont observé une augmentation du potentiel zéta avec l'accroissement de la température.



a : D'après Banon et Hardy (1992).
20°C

b : D'après Darling et Dickson (1979) : 30°C (○), 20°C (●) et 10°C (□).



c : D'après Poll et Schmidt (1986).
—— : micelles préchauffées
----- : micelles non préchauffées

d : D'après Walstra et Jenness (1984)

Figure I.13. Evolution du potentiel zéta des micelles bovines en fonction du pH et de la température.

1.3.4. Effets du pH et de la température sur la dissociation des caséines colloïdales

L'acidification du lait de vache peut entraîner une dissociation importante des caséines de la micelle (Rose, 1968; Roefs et *al.*, 1985; Dalgleish et Law, 1988). Snoeren et *al.* (1984) et van Hooydonk et *al.* (1986) ont montré que la dissociation concerne surtout la caséine β . Roefs et *al.* (1985) et plus récemment Dalgleish et Law (1988) ont, en revanche, montré que toutes les caséines sont susceptibles de se dissocier de la micelle au cours de la diminution du pH, avec toutefois des concentrations élevées en caséine β . Le pH auquel la dissociation maximale a lieu, dépend de la température; il est égal à 5,4 à 20°C et à 5,1 à 4°C (Dalgleish et Law, 1988).

La solubilisation des caséines, au cours de l'acidification, est d'autant plus importante que la température diminue (Figure I.14) (Snoeren et *al.*, 1984; Dalgleish et Law, 1988). A 30°C, environ 3% de la caséine totale est dissociée de la micelle alors que 60% sont dissociées à 4°C (Dalgleish et Law, 1988). A 4°C, les caséines se dissocient partiellement de la micelle, même au pH naturel du lait; dans ce cas la protéine principale libérée est la caséine β (Rose, 1968; Davies et Law, 1983). Aux hautes températures, la dissociation des caséines est inhibée même si le pH est bas (Rose, 1968).

Les quantités et les proportions de toutes les caséines dissociées dépendent du pH et de la température, plus particulièrement pour la caséine β . Dalgleish et Law (1988) ont montré qu'à une température définie, les proportions des caséines α_{s2} et κ (en % de la caséine soluble) sont indépendantes du pH tandis que celles des caséines β et α_{s1} sont variables; l'augmentation (ou la diminution) de la proportion de la caséine β dissociée est compensée par la diminution (ou l'augmentation) de la proportion de la caséine α_{s1} dissociée. La manière avec laquelle les proportions de ces deux caséines (α_{s1} et β) varient avec le pH, dépend de la température.

Vesperini-Jaubert (1992) en étudiant la solubilisation des caséines au cours de l'acidification du lait de chèvre à 4, 14, 24 et 34°C (Figure I.15), a montré que toutes les caséines peuvent se dissocier de la micelle; le facteur déterminant étant la température. A 4°C et à pH 5,55, toutes les caséines sont solubilisées alors qu'à 34°C, et quelque soit le pH, seules les caséines β et κ sont dissociées de la micelle.

La solubilisation des caséines caprines, comme celles des caséines bovines est d'autant plus importante que la température diminue. L'influence de la température est particulièrement marquée en ce qui concerne la caséine β , qui constitue la fraction caséique majoritairement solubilisée. A 4°C, par exemple, Vesperini-Jaubert (1992) a montré que 55% environ de la caséine totale est dissociée entre pH 5,3 et 5,6, dont 80% représentant la caséine β .

Les proportions des différentes caséines solubilisées évoluent en fonction du pH et de la température. Les différences significatives entre les laits de chèvre et de vache résident

principalement dans les quantités de caséine β et α_{s1} solubilisées en fonction du pH et de la température (Vesperini Jaubert, 1992).

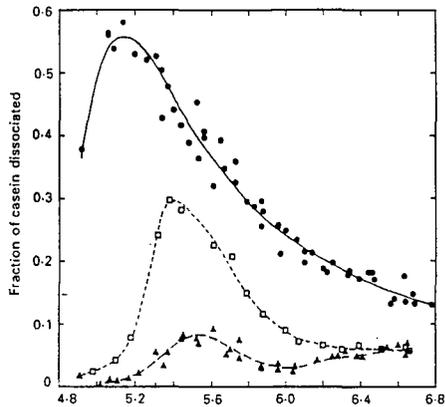


Figure I. 14. Dissociation des caséines bovines de la micelle en fonction du pH et de la température : 4°C (●); 20°C (□); 30°C (▲). D'après Dalgleish et Law (1988).

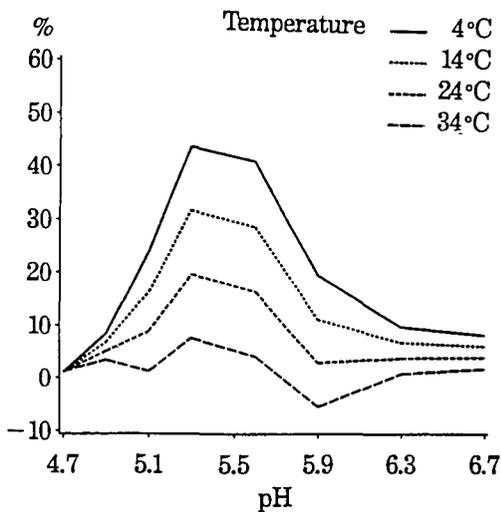


Figure I. 15. Dissociation des caséines caprines de la micelle en fonction du pH et de la température. D'après Vesperini-Jaubert (1992).

1.3.5. Solubilisation des minéraux colloïdaux en fonction du pH et de la température

L'acidification du lait de vache entraîne une solubilisation des minéraux (Davies et White, 1960; Brulé *et al.*, 1974). Les profils de solubilisation des minéraux (Ca, Mg et P_i) sont de forme sigmoïde (Figure I.16). L'allure des courbes de solubilisation de ces minéraux est identique, avec toutefois une solubilisation du P_i à des pH plus élevés (Dalglish et Law, 1989; Le Graët et Brulé, 1993). Le calcium et le magnésium se solubilisent de manière identique, toutefois les quantités de Mg sont plus faibles (Dalglish et Law, 1989; Le Graët et Brulé, 1993). Le phosphate micellaire minéral est entièrement solubilisé de la micelle à pH 5,2-5,3 (van Hooydonk *et al.*, 1986; Dalglish et Law, 1989; Le Graët et Brulé, 1993). A ce pH, van Hooydonk *et al.* (1986) ont observé que 14% du calcium restent encore présents dans la micelle. D'autre part, Dalglish et Law (1989) ont montré qu'à pH 4,9, du calcium reste lié à la micelle. Récemment, Le Graët et Brulé (1993) ont montré qu'il faut atteindre un pH très bas (pH 3,5) pour solubiliser complètement le Ca et le Mg micellaires.

Le Graët et Brulé (1993) ont par ailleurs déterminé la fraction du calcium du phosphate de calcium micellaire et celle liée aux phosphosérines et aux groupements carboxyliques des caséines, et ont par la suite conclu que le phosphate de calcium minéral serait solubilisé en premier lieu lorsque le pH diminue. Le calcium associé aux phosphosérines et aux groupements carboxyliques serait alors libéré, lorsque le pH du lait atteint des valeurs inférieures à 5,2. L'influence de la température sur la solubilisation minérale induite par acidification du lait serait faible. Dalglish et Law (1989) ont observé qu'à pH > 6,0 la solubilisation minérale est légèrement plus importante à 4°C qu'à 20 et à 30°C.

L'acidification du lait de chèvre entraîne aussi une solubilisation du calcium, du magnésium et du phosphore inorganique. Ce phénomène est accentué en réduisant la température (Figure I.17). Le Ca et le Mg se solubilisent de manière similaire; la solubilisation complète de ces minéraux a lieu à pH 5,3 et pH 4,9 respectivement à 4°C et 34°C. Rajput *et al.* (1983) ont noté une solubilisation complète du Ca micellaire à pH 5,0, avec une libération très prononcée entre pH 6,0 - 5,0. Quant au phosphore, il se solubilise entièrement à pH 5,3. Aux valeurs de pH inférieures à 5,3, Vesperini-Jaubert (1992) a noté une refixation du phosphore dans la micelle, notamment sur les groupes ammonium (NH_3^+).

Selon Vesperini-Jaubert (1992), la fraction minérale du lait de chèvre se caractérise par un comportement tout à fait comparable à celui observé avec le lait de vache. D'autre part, Rajput *et al.* (1983) ont observé un profil de solubilisation du Ca colloïdal identique, dans le cas des laits de chèvre et de vache.

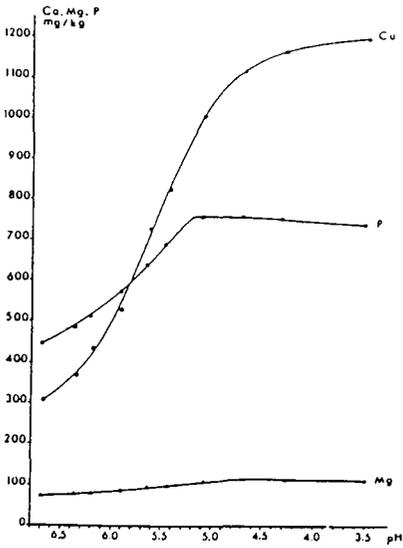


Figure I. 16. Evolution de la teneur en calcium, magnésium et phosphore de la phase soluble au cours de l'acidification du lait de vache. D'après Le Graët et Brulé (1993).

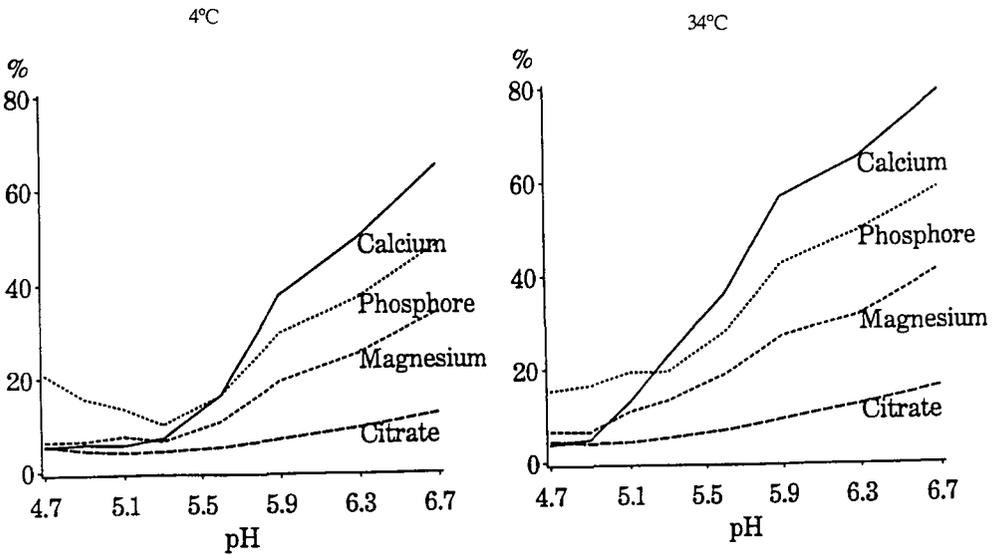


Figure I. 17. Evolution des minéraux micellaires (calcium, magnésium, phosphore et citrate) dans le lait de chèvre en fonction du pH à 4 et 34°C. D'après Vesperini-Jaubert (1992).

Partie 2 : Agrégation et gélification colloïdales

Cette seconde partie est consacrée à une synthèse des études quantitatives récentes sur les processus d'agrégation et de gélification colloïdales, au moyen des fractales et des simulations numériques. L'accent est naturellement porté sur les travaux particuliers aux micelles de caséines. On y présente en outre, les informations nécessaires pour la compréhension des théories relatives aux fractales. Les autres théories (Théorie de la percolation, Théorie de Smoluchowski), utilisées en général pour l'étude de l'agrégation colloïdale, sont également brièvement présentées.

2.1. Agrégation colloïdale

Le phénomène d'agrégation consiste à édifier des structures macroscopiques, appelées agrégats, à partir de structures élémentaires (particules ou micro-agrégats) possédant des interactions mutuelles attractives (Gouyet, 1992). Les processus d'agrégation conduisent à des structures bien spécifiques, étudiées depuis longtemps.

La théorie de Smoluchowski (1917) (cité par Walstra, 1990) a longtemps été utilisée pour l'étude des aspects cinétiques de l'agrégation. Cette théorie considère que si deux particules entrent en contact, elles fusionnent complètement et se comportent alors (au niveau des interactions) comme une nouvelle particule (sphérique) ayant un volume double de celui des particules originales. Et ainsi, pour les interactions ultérieures des oligomères, entre eux ou avec des particules primaires, le même raisonnement s'applique. Par ailleurs, il est actuellement connu que l'agrégation des particules colloïdales conduit à la formation d'agrégats de nature fractale. Comme le montrent Walstra (1990) et Bremer *et al.* (1993), ces agrégats se comportent différemment des présomptions de la théorie de Smoluchowski, particulièrement dans le cas de l'agrégation lente.

L'étude quantitative des processus d'agrégation est récente. Elle n'a pu se faire que grâce au développement de deux domaines, les fractales avec les notions de lois d'échelle, et les simulations numériques permettant d'engendrer des agrégats en partant d'un processus élémentaire de croissance.

Dans un premier temps, la notion de fractale sera présentée puis seront développés les travaux expérimentaux et numériques relatifs à l'étude de l'agrégation fractale.

Dans cette étude, nous avons utilisé la terminologie recommandée par l'IUPAC (Everett, 1972; Mewis, 1976). Toutefois, les termes "agrégat" et "floc" sont utilisés comme synonymes.

2.1.1. Fractales

Le concept de géométrie fractale a été introduit par Mandelbrot, dans les années soixante dix. Il s'agissait d'une généralisation de nombreux travaux antérieurs (Cantor, Poincaré,

Julia,...) sur les fonctions non dérivables en tout point. L'utilisation de la théorie des fractales connaît, depuis, un développement important dans de nombreux domaines de la physique, de la chimie et de la biologie (Gouyet, 1992); son impact dans le secteur alimentaire est en plein développement. Les applications citées dans la littérature concernent, par exemple, la caractérisation des contours d'agglomérats de particules de café instantané (Peleg, 1993), la morphologie des particules d'amidon traité (Peleg, 1993), la microstructure des gels de caséines et de protéines sériques (Horne, 1987, 1989; Bremer *et al.*, 1989, 1990; Stading *et al.*, 1993; Gimel *et al.*, 1994; Hardy *et al.*, 1995; Renard *et al.*, 1995) et les réponses mécaniques des aliments craquants secs ou semi-solides (Peleg, 1993; Hardy *et al.*, 1995; Maurer et Hardy, 1996). Ces notions de fractales sont aussi appliquées aux processus, régulés par des dynamiques non linéaires, tels que le mélange de fluides visqueux, la turbulence, la cristallisation, l'agglomération ou la diffusion (Gouyet, 1992; Peleg, 1993).

Les fractales sont des systèmes désordonnés, dont le désordre peut être décrit en terme de dimension non entière (Mandelbrot, 1975, 1977). Une définition à la fois précise et générale d'un objet fractal est difficile. Mandelbrot (1975, 1977) définit une fractale comme un objet géométrique présentant des irrégularités à toutes les échelles d'observation. Elle est caractérisée par la propriété d'auto-similarité ou d'invariance par changement d'échelle ou encore d'invariance par dilatation. Cette dernière est une caractéristique de "symétrie" des fractales tout comme l'invariance par rotation est caractéristique d'une sphère (Sander, 1987). Dans les systèmes physiques réels, il y a cependant toujours une limite inférieure et une limite supérieure, au-delà desquelles le régime fractal ne s'applique plus. Un système peut, par exemple être fractal aux faibles échelles de longueur et euclidien aux plus grandes échelles (matériaux microporeux) et vice versa (agrégats de colloïdes) (Pfeifer et Obert, 1989).

2.1.1.1 Dimension fractale

La théorie des fractales introduit un nombre, la dimension fractale D , en général non entier, qui permet de quantifier l'aspect plus ou moins irrégulier de l'objet. Plusieurs définitions mathématiques de la dimension fractale ont été proposées : on peut citer la dimension de Hausdorff - Besicovitch ou dimension de recouvrement, la dimension de Bouligand - Minchowski ou encore la dimension d'entassement ou de dimension de Tricot. Nous ne présenterons pas ici le détail de ces différentes définitions, le lecteur intéressé pourra se référer au livre de Gouyet (1992) ou au traité d'Avnir (1989) entre autres. Pour une structure fractale donnée, ces définitions fournissent en général la même valeur de dimension fractale, avec cependant des exceptions (Gouyet, 1992). L'une des plus simples définitions est la dimension de masse, qui consiste à calculer la masse à l'intérieur d'une boule de rayon R , le centre de la boule étant sur la structure fractale. $M(R)$ croît comme :

$$M(R) \propto R^D \quad (I.1)$$

D étant la dimension fractale.

La masse $M(R)$ exprime le nombre de sites (qui peuvent être, par exemple, des particules primaires dans un agrégat colloïdal, des monomères dans une chaîne polymérique ou encore des sites d'adsorption dans une surface) situés à l'intérieur d'une distance R , à partir d'un site donné (Figure I.18).

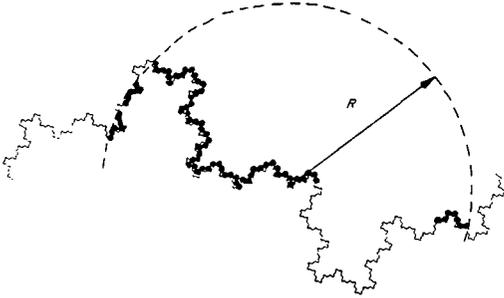


Figure I.18. Illustration du nombre de sites $M_{\text{sites}}(R)$.

2.1.1.2. Fractale de masse, fractale de pore et fractale de surface

Pfeiffer et Obert (1989) ont proposé de distinguer trois grandes variétés de structure fractale : les fractales de masse, les fractales de pore et les fractales de surface. Si uniquement la surface est fractale, le système est dit *fractale de surface* (Figure I.19a); si la masse et la surface sont fractales, le système est dit *fractale de masse* (Figure I.19b); si l'espace poreux et la surface sont fractals, il est dit *fractale de pore* (Figure I.19c).

Dans le cas de l'agrégation des colloïdes, on rencontre surtout des fractales de masse (Gouyet, 1992).

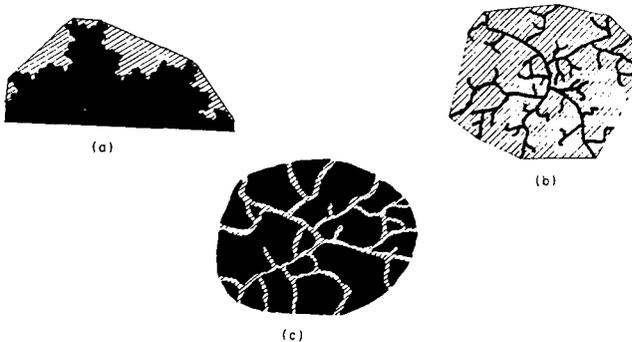


Figure I.19. Fractale de surface (a); Fractale de masse (b); Fractale de pore (c).

2.1.1.3. Agrégats fractals

Un exemple de fractale, utilisée pour modéliser un floc (agrégat), est représentée sur la Figure I.20. Cette fractale est construite comme suit : à partir de cinq motifs identiques, on construit cinq répliques du motif tout entier et on continue de la sorte indéfiniment. La figure ainsi obtenue est invariante par changement d'échelle; n'importe quel fragment de longueur égale au tiers de celui du motif entier est une copie conforme de celui-ci (à la réduction d'échelle près). La fractale de la figure a une dimension fractale égale à $\frac{\log 5}{\log 3}$ (= 1,46). Elle est caractérisée par une limite supérieure de longueur (R) qui est égale au rayon de l'amas et une limite inférieure de longueur (a) qui est égale au rayon de la particule primaire. Le régime fractal s'applique entre ces deux limites.

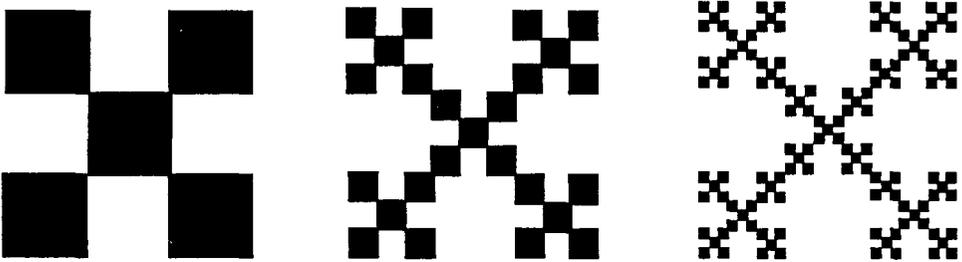


Figure I.20. Exemples de fractales déterministes bidimensionnelles de diverses tailles et divers degrés d'agrandissement.

Le nombre de particules dans un floc fractal, N_p , peut être décrit par :

$$N_p = \left(\frac{R}{a}\right)^D \quad (I.2)$$

avec D, la dimension fractale.

Si les agrégats remplissaient entièrement l'espace, le nombre maximal de particules qui peuvent être logées, N_a , serait :

$$N_a = \left(\frac{R}{a}\right)^3 \quad (I.3)$$

Par conséquent, la fraction volumique ϕ_a des particules dans un floc est :

$$\phi_a = \frac{N_p}{N_a} = \left(\frac{R}{a}\right)^{D-3} \quad (I.4)$$

Puisque la dimension fractale, D , des flocs est inférieure à 3, l'équation (I.4) montre que les flocs fractals tridimensionnels ont une structure ouverte et que leur densité décroît lorsque leur taille augmente.

Les flocs issus de l'agrégation des particules colloïdales sont statistiquement (et non parfaitement) auto-similaires. L'objet obtenu après agrandissement d'une partie n'est pas une copie exacte de l'objet de départ comme par exemple pour la fractale déterministe de la Figure I.20, mais est statistiquement équivalent à celui-ci (on aurait pu le rencontrer avec la même probabilité que l'objet de départ) (Gouyet, 1992).

2.1.2. Simulations numériques de l'agrégation

Les simulations numériques ont contribué considérablement à la compréhension de la relation entre les mécanismes d'agrégation et les structures des flocs formés. Les deux principaux processus de croissance d'agrégats sont l'agrégation amas-amas et l'agrégation particule-amas. Dans le processus amas-amas, on a essentiellement agrégation entre amas de taille comparable. Dans le processus particule - amas, on forme à partir d'un amas de grande taille, un nouvel amas de taille supérieure. Ces deux processus engendrent des agrégats ayant des propriétés différentes. En outre, chacun de ces processus peut suivre l'une des trois voies suivantes. En effet, l'agrégation peut être limitée par la diffusion, c'est le cas lorsque les forces répulsives entre les entités (particule ou amas) sont négligeables; les deux entités diffusent alors dans l'espace et se collent instantanément dès qu'elles se rencontrent. Elle peut être limitée par la réaction, c'est le cas lorsqu'il y a des forces de répulsion substantielles mais non insurmontables entre les entités; il faut donc franchir une barrière de potentiel pour que le collage ait lieu. Enfin, l'agrégation peut aussi être balistique, avec des entités qui évoluent librement dans l'espace, en suivant des trajectoires rectilignes, avant de s'agréger (Jullien, 1986; Meakin, 1989; Gouyet, 1992).

2.1.2.1. Modèles d'agrégation balistique

Les premiers modèles de simulation étudiant la structure d'un flocc sont ceux de Vold (1963) et de Sutherland (1967). Vold (1963) a construit son modèle en ajoutant l'une après l'autre une particule sphérique uniforme, qui entre en collision avec l'amas, en suivant au préalable une trajectoire rectiligne aléatoirement choisie dans l'espace. La particule est fixée à l'amas au premier point de contact. Le modèle de Sutherland (1967) considère le concept de "collision entre amas" au lieu "d'une addition de particule singulière". Deux amas se déplacent, comme précédemment, en suivant des trajectoires rectilignes aléatoires, puis entrent en collision; ils sont alors fixés de manière rigide par leur premier point de contact. Ces deux modèles "pré-fractals" (le concept de la géométrie fractale n'était pas alors connu) conduisent à

la formation de structures poreuses mais uniformes sur des échelles de longueur suffisamment grandes.

Les deux modèles de Vold et de Sutherland sont en fait respectivement deux cas particuliers des modèles d'agrégations particule - amas et amas - amas limitées par la diffusion.

2.1.2.2 Modèle d'agrégation particule - amas et ses extensions

L'introduction du concept de géométrie fractale dans le domaine de la simulation de l'agrégation, a vu naître le modèle d'agrégation particule-amas limitée par la diffusion (DLA : Diffusion Limited Aggrégation), introduit par Witten et Sander en 1981. Ce modèle a été développé pour expliquer la nature fractale de certains objets; en particulier, il s'agissait alors d'expliquer la structure fractale de certaines fumées (agrégats de fines particules) observée expérimentalement par Forest et Witten (1979).

Dans la version bidimensionnelle de ce modèle, les particules se déplacent sur un plan carré, en suivant une marche aléatoire, simulant la diffusion brownienne. On choisit tout d'abord un site origine dans lequel, une première particule est placée. Celle-ci constituera le germe à partir duquel va pousser l'agrégat. Une seconde particule est alors lâchée. Lorsque celle-ci atteint un site proche voisin du site occupé par le germe, elle s'immobilise et reste collée au germe : l'agrégat contient déjà deux particules. De nouveau, une nouvelle particule brownienne est lâchée; elle ne s'arrête que lorsqu'elle atteint un site voisin des deux particules de l'agrégat. On recommence l'opération jusqu'à ce qu'on obtienne le nombre de particules désiré (Jullien, 1986; Sander, 1987; Meakin, 1989; Gouyet, 1992). Les flocs ainsi obtenus sont de nature fractale et ont des dimensions fractales de 1,7 et 2,4, respectivement, en simulations bidimensionnelle et tridimensionnelle.

Deux types d'extension du modèle de Witten et Sander (1981), physiquement intéressantes, ont été développés. La première extension consiste à introduire une certaine probabilité de collage p différente de 1, c'est à dire que lorsque la particule diffusante arrive au voisinage d'une particule de l'agrégat, elle n'a plus qu'une probabilité $p < 1$, de se coller. Cependant le collage est irréversible (quand la particule a franchi la barrière au collage elle est définitivement piégée). Ce modèle simule un processus de diffusion-réaction : il convient donc à l'agrégation des colloïdes en écrantage faible (Gouyet, 1992). Dans ce modèle il y a un changement de régime "crossover". En effet, aux temps longs, quand l'agrégat est assez grand, la dimension fractale est indépendante de p et identique à celle de Witten et Sander. Par contre, au début de l'agrégation, l'amas apparaît plus compact, en particulier pour p tendant vers zéro (Jullien, 1986; Gouyet, 1992).

Une autre extension intéressante consiste à modifier le libre parcours moyen. En effet Bensimon et *al.* (1984) ont remarqué que dans le modèle de Witten et Sander (1981), le libre

parcours moyen de la diffusion brownienne est égal à la distance interparticulaire (le pas du réseau si l'on choisit le réseau) et ont proposé de choisir un libre parcours moyen plus grand que la distance interparticulaire. Un cas limite intéressant est le cas où le libre parcours moyen tend vers l'infini c'est à dire lorsqu'il est toujours plus grand que la taille de l'agrégat lui-même. On retrouve là le modèle balistique de Vold (1963), précédemment cité. Les calculs numériques récents ont montré que des dimensions proches de 2 et de 3 sont obtenues en simulation bidimensionnelle et tridimensionnelle : les agrégats formés sont donc compacts. Pour des libres parcours moyens finis, les agrégats seront compacts jusqu'à une certaine portée, de l'ordre de ce parcours moyen, puis on passera à une structure de type Witten-Sander.

Le modèle de Witten et Sander (1981), bien qu'il ait trouvé un très grand nombre d'applications (électrodéposition, poussée liquide en milieu poreux ou en milieu visqueux, filtration, éclairs, etc...) (Sander, 1987) ne décrivait pas les processus courants d'agrégation tels qu'ils se rencontrent dans les colloïdes et les aérosols. La dimension fractale, égale à 2,4 en simulation tridimensionnelle, est supérieure à celle mesurée expérimentalement, environ 1,75, pour de tels systèmes. L'inconvénient essentiel vient du fait que le modèle de Witten et Sander, considère que seules les particules élémentaires se déplacent et se collent sur le gros amas alors que, dans les colloïdes et les aérosols, les amas eux-même diffusent dans l'espace et se collent entre eux (Jullien, 1986).

2.1.2.3. Modèle d'agrégation amas-amas limitée par la diffusion et ses extensions

Le modèle d'agrégation amas-amas limité par la diffusion (DLCA : Diffusion-Limited Cluster Aggregation) a été développé indépendamment et simultanément par Meakin et Kolb, en 1983. Ce modèle peut être considéré comme une généralisation du modèle de Witten et Sander (Jullien, 1986). En effet, cela se voit bien dans sa version simplifiée (modèle monodispersé ou modèle hiérarchique) où, au lieu d'envoyer une particule en diffusion brownienne sur un agrégat, on y envoie un autre agrégat contenant le même nombre de particules, mais construit de façon indépendante. Les dimensions fractales obtenues avec ce modèle, sont de 1,44 dans le cas de la simulation bidimensionnelle et de 1,75 en simulation tridimensionnelle (Jullien, 1986; Meakin, 1989; Gouyet, 1992).

Contrairement au modèle particule - amas, où le passage d'une trajectoire brownienne à une trajectoire rectiligne affecte la dimension fractale des agrégats (qui deviennent plus compacts), la dimension fractale des agrégats dans le cas du modèle de collage d'amas, n'est que très faiblement affectée. En effet les agrégats issus du modèle DLCA, en simulation bidimensionnelle, ressemblent à ceux de la simulation balistique (modèle de Sutherland). Ceci s'explique par le fait que l'effet du mouvement brownien est négligeable en comparaison avec

l'effet de l'addition d'amas à amas (Adachi et Ooi, 1990). Ces agrégats ont, en revanche, des dimensions fractales plus faibles que celles des agrégats du modèle de Witten et Sander; en simulation bidimensionnelle, la valeur de la dimension fractale issue du modèle DLCA est de 1,44 alors que celle issue du modèle DLA est de 1,70. Cette différence s'explique par le fait que lorsque deux amas se collent entre eux, ils ont moins de chance de s'interpénétrer que lorsqu'il s'agit d'un gros amas et d'une particule. La structure des agrégats de DLCA doit donc être plus ouverte et leur dimension fractale plus faible (Jullien, 1986).

L'extension la plus importante du modèle DLCA est le modèle d'agrégation amas - amas limitée par la réaction (RLCA : Diffusion-Limited Clusters Aggregation), qui a été introduit par Jullien et Kolb (1984) pour étudier le cas où la probabilité de collage tendrait vers zéro (à cause d'une barrière de potentiel, à franchir avant le collage définitif). En effet, lorsque la probabilité tend vers zéro, les amas ont le temps de recenser toutes les situations possibles de collage avant d'en choisir une définitivement. Le modèle de RLCA consiste donc, étant donné deux amas, à répertorier toutes les possibilités de collage puis à en choisir une au hasard (Jullien et Kolb, 1984; Kolb, 1986; Jullien, 1986; Meakin, 1989). L'interpénétration est plus importante et par conséquent les flocs formés sont plus denses et leur dimension fractale plus grande. Elle est de 1,55 en simulation bidimensionnelle et 2,00 en simulation tridimensionnelle, dans le cas de systèmes monodispersés et de 1,59 et 2,11 en simulations bi et tridimensionnelle respectivement, dans le cas de systèmes polydispersés. La dispersité des amas joue ici un rôle important : la polydispersité rend plus denses les agrégats (Brown et Ball, 1985).

2.1.2.4 Modèles d'agrégation avec réarrangement d'amas

D'autres modèles plus réalistes, prenant en considération le phénomène de réarrangement ou restructuration des amas, après leur collision, ont été développés récemment par Meakin et Jullien (1988) et Adachi et Ooi (1990). Le réarrangement des amas est un paramètre important dans la structure du flocc; il conduit à une augmentation de la dimension fractale du flocc jusqu'à des valeurs supérieures à 2,3, selon la liberté de restructuration (Adachi et Ooi, 1990; Bremer, 1992).

Ce phénomène de réarrangement des amas dans les systèmes réels serait la raison pour laquelle les structures de certains agrégats colloïdaux (agrégats de grosses particules de latex de polystyrène, agrégats de caséines) sont plus compactes que celles prédites par les modèles de simulation "classiques" (Horne, 1987; Adachi et Ooi, 1990; Bremer, 1992). Ceci se comprend dans la mesure où, dans les systèmes réels, les amas entrant en collision ne restent pas fixés de manière rigide par leur premier point de contact (comme dans le modèle de Sutherland (1967)), mais se réarrangent, ce qui entraîne un accroissement du nombre de contact entre eux et par conséquent la formation d'une structure plus dense. Le processus de réarrangement des amas

dans les floccs réels n'est pas encore strictement déterminé. Adachi et Ooi (1990) ont classé les différents types de réarrangement des amas, en terme de degré de liberté. Les amas peuvent être liés par des liaisons rigides (on a alors zéro degré de liberté et par conséquent un seul point de contact, c'est le cas des modèles "classiques"). Ils peuvent tourner, l'un par rapport à l'autre (on a un seul degré de liberté et donc deux points de contact), ou onduler (on a alors deux degrés de liberté et donc trois points de contact), ou glisser (on a alors trois points de contact) ou effectuer à la fois une rotation, une ondulation et un glissement (on alors six points de contacts) (Adachi et Ooi, 1990).

2.1.2.5. Modèles d'agrégation dans les systèmes non dilués

La plupart des simulations numériques et des expérimentations ont été réalisées à faible concentration. La situation devient beaucoup plus complexe lorsqu'il s'agit de systèmes non dilués, du fait de l'interpénétration des amas et de la formation d'un état de gel. Ces gels sont homogènes aux échelles macroscopique et moléculaire mais hétérogènes et de nature fractale à une échelle intermédiaire. Les études de simulation numérique à grande échelle de l'effet de la fraction volumique sur la structure des agrégats et des gels particuliers, sont très rares. Très récemment van Garderen et *al.* (1995), ont proposé une étude de simulation d'agrégation DLCA, sur un réseau bidimensionnel, et ont suggéré l'existence de deux régimes fractals distincts. Sur une échelle de longueur relativement courte (à partir de quatre fois le diamètre de particule jusqu'à une certaine longueur de corrélation structurale caractéristique), la dimension fractale est la même que celle des systèmes dilués (environ 1,45). Sur des échelles de longueur plus grandes, une autre dimension fractale apparaît. Elle croît graduellement avec la fraction volumique de 1,45 jusqu'à 2,0 (la dimension euclidienne de l'espace de simulation). Pour des fractions volumiques, $\phi > 0,25$, la région de régime fractale à faible portée disparaît complètement. Le processus d'agrégation est alors dit "limité par l'espace", c'est à dire qu'il n'y a simplement pas d'espace disponible dans le système pour bâtir des structures fractales propres.

D'autre part, Bijsterbosch et *al.* (1995) ont montré que lorsque la fraction volumique, dans les systèmes simulés, est supérieure ou égale à $\phi = 0,3$, aucun régime fractal convaincant n'est trouvé.

2.1.3. Etudes expérimentales de l'agrégation colloïdale en milieu dilué

2.1.3.1. Cas des colloïdes chimiques

Les techniques généralement employées pour déterminer la dimension fractale des agrégats colloïdaux sont la diffusion des rayons X et des neutrons aux petits angles, la diffusion de la lumière (détaillée dans le chapitre suivant), l'analyse d'image et la microscopie

électronique (Kaye, 1989; Schmidt, 1989). Ces techniques donnent en général des résultats comparables à ceux des modèles de simulation "classiques". Weitz *et al.* (1985) ont observé, par microscopie électronique, les agrégats de particules colloïdales d'or formés à partir de processus d'agrégation lent et rapide, et ont montré qu'ils ont des structures similaires à celles prédites par les modèles de simulation DLCA et RLCA; les dimensions fractales sont très proches de 1,8 et 2,1 (valeurs généralement obtenues pour les modèles DLCA et RLCA, en simulation tridimensionnelle) (Tableau I.6). Lin *et al.* (1989) sont parvenus aux mêmes conclusions, en étudiant l'agrégation, à deux régimes (diffusion limitée et réaction limitée), de trois sols chimiquement différents (solutions colloïdales de particules d'or, de silice et de polystyrène) par diffusion statique de la lumière et par microscopie électronique. Ils ont, d'autre part, montré que les agrégats formés à partir d'un processus d'agrégation limitée par la diffusion sont plus ouverts et plus ténus, ce que reflète leur dimension fractale inférieure à 2, alors que ceux issus de l'agrégation limitée par la réaction sont plus compacts et ont une dimension fractale supérieure à 2.

Par ailleurs, Lin *et al.* (1989) ont conclu que l'agrégation des colloïdes est universelle c'est à dire indépendante de la nature chimique des systèmes. En effet, les dimensions fractales ainsi que les micrographies électroniques des agrégats formés à partir de ces trois sols, pour chacun des deux régimes (diffusion limitée et réaction limitée) sont identiques.

2.1.3.2. Cas des micelles et de caséines et autres molécules biologiques

Cette universalité de l'agrégation colloïdale ne s'applique cependant pas dans le cas des molécules biologiques, telles que les caséines et les immunoglobulines, où les dimensions fractales obtenues sont en général considérablement plus élevées (Tableau I.6). L'agrégation en milieu dilué des caséines (micelles de caséines) induite par l'addition d'éthanol, de présure (Horne, 1987) ou d'un acide (Desobry-Banon, 1991), conduit à la formation d'agrégats fractals ayant des dimensions supérieures à celles dérivées des modèles de simulation "classiques". Cette différence serait due à la restructuration (ou réarrangement) des amas de caséines en cours d'agrégation (Horne, 1987; Meakin et Jullien, 1988; Lin *et al.*, 1989, 1990).

La restructuration des amas en cours d'agrégation a été observé expérimentalement par Aubert et Cannell (1986) sur des agrégats de silice formés à partir d'un processus rapide. Ils ont obtenu des dimensions fractales de 2,08 dans le cas de l'agrégation lente et 1,75 ou 2,08 dans le cas de l'agrégation rapide, et ont observé que les amas ayant une dimension fractale de 1,75 se restructurent toujours (ce qui peut prendre quelques minutes ou quelques heures) pour donner naissance à d'autres amas, ayant une dimension fractale de 2,08.

Tableau I.6. Dimension fractale des agrégats colloïdaux dans les systèmes dilués.

Auteurs	Produit	Régime	D
Aubert et Cannell, 1986	Particules colloïdales de silice	Agrégation rapide	2,08 1,75
		Agrégation lente	2,08
Desobry-Banon, 1991	Lait dilué acidifié à 20°C et à 30 et 42°C		2,50 2,20
Feder <i>et al.</i> , 1984	Immunoglobuline humaine		2,56
Gimel <i>et al.</i> , 1994	β lactoglobuline		2,02
Home, 1987	Lait dilué : agrégation par addition d'éthanol		2,21
Home, 1987	Lait dilué, agégation présure		2,40
Lin <i>et al.</i> , 1989	Particules colloïdales d'or, de silice et de latex de polystyrène	Diffusion limitée	1,85
		Réaction limitée	2,10
Raper et Amal, 1993	Particules colloïdales d'hématite	Agrégation lente	2,8
		Agrégation rapide	2,3
Schaefer <i>et al.</i> , 1984	Particules colloïdales de silice		2,12
Weitz et Oliveira, 1984	Particules colloïdales d'or	Diffusion limitée	1,75
Weitz <i>et al.</i> , 1985	Particules colloïdales d'or	Réaction limitée	2,0

2.2. La gélification des micelles caséines

Les gels sont des solides mous (la "matière molle de De Gennes") élastiques et déformables formés à partir d'un réseau connecté de particules ou de macromolécules (Dickinson, 1990). Les gels possèdent la propriété d'élasticité, qui est l'essence même d'un solide, et ont également des propriétés visqueuses caractéristiques des fluides : ce sont des corps *viscoélastiques*.

D'un point de vue composition, les gels contiennent comme composant principal une substance de poids moléculaire relativement faible, sous forme d'un simple liquide (l'eau par exemple), et un composant secondaire de poids moléculaire élevé (par exemple un polymère ou une particule colloïdale). Quelque soit la nature de cette seconde substance, l'élasticité du gel implique qu'au moins une partie de cette substance s'assemble en un réseau tridimensionnel couvrant tout le

système. D'un point de vue structure, Flory (1974) distingue quatre types de gels : des structures lamellaires bien ordonnées (gels de savon, argiles, etc...), des réseaux polymériques covalents complètement désordonnés (caoutchoucs vulcanisés, films de peinture, etc...), des réseaux polymériques formés par agrégation physique avec désordre prédominant mais avec des régions d'ordre local (gels de gélatine, gels d'agar, de pectine et d'alginate, etc...) et des réseaux particuliers désordonnés (gels de caséines et de protéines sériques, etc...).

Concernant la formation de cette dernière catégorie de gels, on distingue en général les étapes suivantes :

- Une déstabilisation brutale ou graduelle de la dispersion colloïdale. Ceci peut être induit par le pH, un sel, la température, la pression, d'autres colloïdes ou polymères, etc...
- Une agrégation faible ou forte des particules dispersées.
- La percolation et la gélification des particules de la dispersion.

2.2.1. Gels acides de caséines

Les gels acides de caséines sont des gels particuliers "bio-colloïdaux" formés à partir de l'agrégation des micelles de caséines, du lait ou d'une autre dispersion de caséines (*i.e.* caséinate de sodium), par acidification du milieu. Ils font partie, tout comme les gels présure de caséines et les gels de protéines sériques, de la famille des gels de protéines laitières, qui occupent le premier rang, en quantité et en valeur, dans la production mondiale de gels (de Kruf et *al.*, 1995). Bremer et *al.* (1990) et Roefs et *al.* (1990a) considèrent que les gels de lait sont essentiellement formés de molécules de caséines; les protéines sériques et le lactose ne jouent pas de rôle important dans leur édification.

Le mécanisme exact de la formation du gel acide de caséines est difficile à élucider. Roefs et *al.* (1990a et b) font l'hypothèse, à partir de mesures en microscopie électronique, que les petites particules de caséines se coagulent en premier lieu pour former d'autres plus grosses qui par la suite prennent part à la formation d'agrégats et de fils formant en fin de compte le gel. Après la formation du gel, des liaisons semi-permanentes s'établissent entre les molécules de caséines à l'interface des particules adjacentes (Roefs et *al.*, 1990a; Arshad et *al.*, 1993). Ces forces d'interactions peuvent être de types électrostatique (essentiellement attractives) et hydrophobe, en plus des attractions de Van der Waals toujours présentes et des effets stériques et entropiques liés aux conformations des protéines (Roefs et van Vliet, 1990b).

2.2.2. Rappels sur la théorie de la percolation

Le concept de percolation a été proposé en 1956 par un mathématicien anglais Hammersley et permet une description statistique des systèmes constitués d'un grand nombre d'objets qui peuvent être reliés entre eux. Dans un tel système, la communication à grande

distance est soit possible soit impossible, suivant le nombre d'objets et de liaisons : il existe un seuil de transition précis entre ces deux régimes. On peut ainsi décrire dans des termes identiques la conduction dans certains types d'alliages, la viscosité de matériaux polymérisés, l'entretien d'un réseau téléphonique ou la formation d'un continent par exhaussement d'un archipel...(De Gennes, 1976).

Lorsque la fraction volumique des particules dans la dispersion est très faible ($\phi \ll 1$), l'agrégation conduit à la formation d'amas de taille finie, possédant en général une structure fractale. En accroissant la fraction volumique, un amas infini (macroscopique) apparaît, résultant de l'interconnexion des particules dans l'ensemble de la dispersion; la taille de l'amas est limitée seulement par la taille du récipient où se fait la réaction. Cette transition sol - gel est très analogue dans son principe au seuil de percolation. A ce seuil ($\phi \equiv \phi_g$), ϕ_g étant la concentration correspondant à la gélification, l'agrégation conduit à des réseaux désordonnés caractérisés par une large distribution de taille d'amas (un amas infini avec d'autres amas de taille finie). La théorie de la percolation prédit que la dimension fractale du réseau est égale à 2,52, quelle que soit l'échelle (Tokita et *al.*, 1985; Chaplain et *al.*, 1994). D'autre part, la concentration seuil dépend fortement de la taille et de la forme des particules. Pour des particules sphériques, elle peut être partout entre 0,05 et 0,3, selon la taille des particules. Dans le cas de particules très anisométriques, elle peut être de l'ordre de 0,01 (Buscall et *al.*, 1987). Au voisinage du seuil de percolation, les principales mesures que l'on peut effectuer sont d'ordre mécanique : lorsqu'on approche la transition du côté sol, la viscosité croît et devient infiniment grande au seuil. Lorsque le seuil est dépassé, on peut mesurer le module d'élasticité G de la phase gel (De Gennes, 1976).

La théorie de la percolation prédit la dépendance en concentration de l'élasticité au voisinage du seuil de gélification. Le module du gel suit une loi d'échelle du type $G \sim (\phi - \phi_g)^t$, avec t l'exposant d'échelle (appelé aussi exposant de conductivité) égal à 2 pour l'élasticité scalaire et égal à 4 pour l'élasticité vectorielle (Tokita et *al.*, 1985; Chaplain et *al.*, 1994).

L'énergie élastique d'un réseau de particules subissant une déformation est, en effet, souvent exprimée par deux contributions. L'une est un terme scalaire, attribuée à la compression des liaisons entre particules, considérées comme des ressorts, et la seconde est un terme vectoriel qui rend compte de leur déformation angulaire (Tokita et *al.*, 1985; Chaplain et *al.*, 1994). Les contributions scalaires à l'énergie élastique induites par la contrainte jouent un rôle important dans la détermination des propriétés élastiques des structures ténues telles que le gel dans la région critique. Elles tendent d'ailleurs à dominer au voisinage du point critique (Alexander, 1984). A des concentrations très au dessus du point de gélification, Tokita et *al.* (1985) considèrent que l'énergie élastique dûe aux contributions vectorielles devient dominante. A des concentrations intermédiaires, la structure du réseau de gel varie d'une structure ténue à une structure dense lorsque la concentration particulaire augmente. Les changements

structuraux du réseau s'accompagnent d'un changement de la nature de l'élasticité, qui varie d'une nature à dominante scalaire à une autre à dominante vectorielle (Tokita et *al.*, 1985).

Tokita et *al.* (1985, 1989) suggèrent, par ailleurs, d'interpréter la structure des gels particulières dans le contexte de la théorie de la percolation. Ils observent expérimentalement que la loi d'échelle précédente décrit bien le module élastique du gel présure de lait, à faible fréquence, avec un exposant t de 2,06 au voisinage immédiat de la gélification et un exposant de 3,47 aux concentrations très au dessus du seuil de percolation. Cette approche est récemment critiquée par Bremer et *al.* (1993), qui font remarquer qu'elle n'arrive pas à expliquer pourquoi les gels sont déjà formés à des concentrations du composant dispersé très en dessous de la concentration seuil prédite par cette théorie.

2.2.3. Fractalité des gels colloïdaux

Lorsque la fraction volumique des particules est très grande par rapport à celle correspondant au seuil de percolation ($\phi \gg \phi_g$), l'agrégation conduit à un réseau qui paraît homogène aux échelles macroscopique (supérieure à une certaine longueur caractéristique, R_a) et moléculaire (à des distances inférieures à la taille des particules) mais hétérogène et ayant une structure de type fractal à des longueurs d'échelle intermédiaires (inférieures à R_a mais supérieures à la taille des particules primaires) (Bremer et *al.*, 1989). La longueur caractéristique R_a représente la taille moyenne des flocs fractals composant le réseau du gel (Figure I.21).

Il a été suggéré (Bremer et *al.*, 1989; Shih et *al.*, 1990; Walstra et van Vliet, 1991) que le comportement fractal des gels particuliers a son origine dans la sous-structure fractale des agrégats précurseurs du réseau.

Plusieurs auteurs (Bremer et *al.*, 1989, 1990; Shih et *al.*, 1990; Chaplain, et *al.*, 1994) ont alors essayé de relier une propriété macroscopique caractéristique du gel à la sous-structure fractale, en dérivant des lois d'échelle du type :

$$\text{propriété} \propto \phi \left(\frac{K}{3 \cdot D} \right) \quad (\text{I. 5})$$

où K est en général une constante.

Les propriétés macroscopiques, en général utilisées, sont les modules viscoélastiques G' et G'' , la déformation critique, γ_{crit} , au-delà de laquelle le gel perd ses propriétés viscoélastiques linéaires, et le coefficient de perméabilité, B_p , mesuré à partir de la loi de Darcy.

Lorsque les propriétés macroscopiques du gel ne sont pas déterminées par la sous-structure fractale mais par d'autres éléments structuraux, alors ces lois d'échelle ne s'appliquent pas.

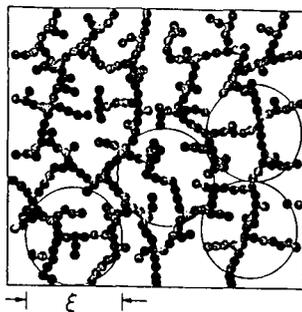


Figure I.21. Structure schématique d'un gel colloïdal. Les cercles désignent les floccs fractals de taille R_a . Les régions entre les floccs sont considérées comme des liaisons. D'après Shih et *al.* (1990).

2.2.3.1. Modèles théoriques et expérimentaux

La théorie de la percolation ne permet pas de décrire les gels colloïdaux, lorsque la fraction volumique particulaire est largement supérieure à celle du seuil de gélification. Différents modèles théoriques permettent de prédire l'élasticité des gels colloïdaux. Dans ces modèles, La structure du gel est considérée comme un entassement homogène de floccs fractals. Le flocc peut être considéré comme l'élément structural le plus petit possédant les propriétés du gel.

Parce que le gel est formé au moment où les floccs remplissent le volume disponible, la fraction volumique moyenne des floccs ϕ_a est alors égale à la fraction volumique totale dans le système, ϕ , ainsi le rayon moyen des agrégats à la formation du gel, R_a , est obtenu en introduisant ϕ dans l'équation (I.4) :

$$R_a = a \left(\frac{1}{\phi} \right)^{\frac{1}{D-3}} \quad R_a \gg a \quad (\text{I. 6})$$

où a est le rayon des particules primaires et D la dimension fractale des floccs.

La taille caractéristique, R_a , est une mesure du rayon moyen des agrégats formant le gel et correspond à la longueur maximale sur laquelle le comportement fractal existe. A des longueurs d'échelle plus grandes que R_a le gel apparaît comme homogène ($D = 3$).

Il est évident que la taille des agrégats formant le gel, R_a , a un effet sur ses propriétés *e.g.* la perméabilité et les propriétés rhéologiques. Dans les diverses équations reliant les propriétés

mesurées du gel à R_a , l'équation (I.6) peut être utilisée pour convertir cette variable (R_a), en général inconnue, en une variable contrôlable ϕ , en l'introduisant par exemple dans l'expression du coefficient de perméabilité B_p de l'équation de Darcy (I.7) ou dans l'expression du module du gel (I. 12 et I.13) (Bremer et *al.*, 1989, 1990, 1991).

$$B_p = \left(\frac{a^2}{k}\right) \phi^{\left(\frac{2}{3-D}\right)} \quad (I.7)$$

où k est une constante adimensionnelle.

Modèle de Brown et Ball (1987)

Ball et Brown (1987) (cités par Buscall et *al.*, 1988) sont les premiers à avoir proposé une expression reliant l'élasticité d'un réseau de flocs à la fraction volumique des particules. Leur méthode consiste à calculer l'élasticité des flocs fractals individuels et par la suite à supposer que, dans un système constitué de flocs, le comportement fractal est décrit par : $R \propto \phi^{3-D}$. Ils prédisent alors que le module de cisaillement du gel, G , suit la loi d'échelle suivante :

$$G \propto \phi^\mu; \quad \phi > \phi_g \quad (I.8)$$

avec

$$\mu = \frac{3 - d_{\text{chim}}}{3 - D} \quad (I.9)$$

où d_{chim} est appelé exposant de la longueur chimique. Sa valeur est généralement proche de 1 (Buscall et *al.*, 1988).

L'indice théorique de la loi de puissance précédente μ est égal à 4,5 dans le cas de l'agrégation limitée par la réaction (en trois dimensions) et 3,5 dans le cas de l'agrégation limitée par la diffusion. Buscall et *al.* (1988) ont obtenu des résultats expérimentaux en accord avec les prédictions théoriques de Brown et Ball. En effet, une forte dépendance en fraction volumique du module du gel, avec un exposant μ égal à 4, est observée pour des particules de latex de 0,16 et 0,5 μm de rayon, sur une gamme de fraction volumique ϕ , de 0,05 à 0,3 (Buscall et *al.*, 1987).

Modèles de Shih et al. (1990)

Plus récemment, Shih et *al.* (1990), en considérant l'élasticité du réseau de gel, ont distingué deux régimes :

(i) un régime de liaisons interflocs fortes, où l'élasticité du réseau est essentiellement déterminée par l'élasticité des floccs individuels. Les liaisons entre les floccs ont une constante d'élasticité plus élevée que celles des floccs. Le module de cisaillement des gels varie alors comme suit :

$$G \propto \phi^{\left(\frac{3+y}{3-D}\right)} \quad \text{avec} \quad 1 < y < D \quad (\text{I.10})$$

où y est la dimension fractale de la chaîne de particules, constituant la "colonne vertébrale" des floccs. Shih et *al.* (1990) considèrent que l'élasticité des floccs est dominée par celle de leur "colonne vertébrale". La "colonne vertébrale" est approximée à une chaîne linéaire de ressorts; chaque ressort représente une liaison entre deux particules adjacentes dans le flocc.

(ii) un régime de liaisons interflocs faibles, où l'élasticité du réseau est dominée par la constante élastique des liaisons interflocs. Dans ce cas, Shih et *al.* (1990) obtiennent une loi d'échelle du type :

$$G \propto \phi^{\left(\frac{1}{3-D}\right)} \quad (\text{I.11})$$

Shih et *al.* (1990) ont mesuré le module élastique et la déformation critique, correspondant à la limite de la région de viscoélasticité linéaire, pour deux gels d'alumine boehmite (Catapal et Dispal) obtenus par addition d'un excès d'électrolyte. Le gel de Catapal est étudié à un pH constant, alors que le gel de Dispal est étudié à une concentration en électrolyte constante. La fraction volumique des particules varie de 0,03 à 0,1; le seuil de gel étant à $\phi_g \approx 0,01$. Ces auteurs ont obtenu des résultats expérimentaux, en accord avec leurs prédictions théoriques dans le cas du régime à liaisons fortes. Les modules des gels varient comme : $G \propto \phi^{4,1}$ et $G \propto \phi^{4,2}$ pour les gels de Dispal et Catapal respectivement. La dimension fractale des floccs, D , et la dimension fractale des "colonnes vertébrales" des floccs, y , sont respectivement de 1,95 et 1,4 pour les gels de Dispal et de 2,0 et 1,1 pour les gels de Catapal.

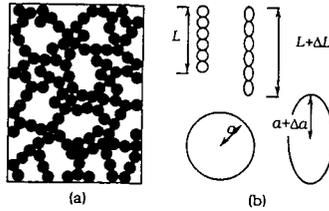
Modèles de Bremer et al. (1989, 1990)

Bremer et *al.* (1989), en s'inspirant du modèle de Brown et Ball (1987), ont proposé un modèle qui considère le réseau du gel entier au lieu d'un flocc. Du fait de l'invariance d'échelle des floccs et de l'auto-préservation de la distribution de taille des floccs au cours de l'agrégation, les gels particuliers sont invariants d'échelle, dans le sens qu'un gel formé à partir d'une dispersion concentrée ressemble à un gel formé à partir d'une dispersion diluée, seule l'échelle est différente. Bremer et *al.* (1989, 1990, 1991) en négligeant la contribution entropique et en

considérant la contribution de l'élasticité scalaire, proposent deux lois d'échelle pour deux types de réseaux de gels particuliers : avec des fils rigides et des fils courbes (Figure I. 22).

Pour les fils rigides droits :

$$G \propto \phi \left(\frac{2}{3-D} \right) \quad (\text{I. 12})$$



Pour les fils courbes :

$$G \propto \phi \left(\frac{3}{3-D} \right) \quad (\text{I. 13})$$

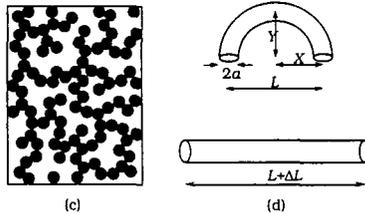


Figure I.22. Représentation schématique d'un gel de caséines avec fils étirés (a); Modèle de fils étirés de particules de caséines, avant et après déformation du gel (b); Représentation schématique d'un gel de caséines avec fils courbes (c); Modèle de fils courbes avant et après déformation du gel (d). D'après Bremer et *al.* (1990).

Bremer et *al.* (1989, 1990) ont mesuré les modules élastique et visqueux de deux types de gels acides de caséinate de sodium formés selon deux procédures différentes. Le gel de Type 1 est obtenu en chauffant, de 4°C à 30°C, la solution à pH 4,6. Le gel de Type 2 est formé, en variant le pH de la dispersion à 30°C de 6,7 à 4,6. Une dépendance des modules du gel en fonction de la concentration caséique, sous forme de loi de puissance, est observée. L'exposant de cette loi de puissance est égal respectivement à 2,6 et 4,6 pour les gels de Type 1 et de Type 2.

Ils ont par la suite appliqué le modèle correspondant aux fils étirés (équation I. 12) aux gels de Type 1 et le modèle de fils courbes aux gels de Type 2. La dimension fractale ainsi calculée est égale à 2,24 pour les gels de Type 1 et 2,35 pour les gels de Type 2.

Selon eux, la différence entre ces deux types de gels provient de la différence d'évolution de la voluminosité des particules de caséines au cours de la formation du gel.

Bremer *et al.* (1989) ont également obtenu une dimension fractale de 2,24 et de 2,17, respectivement pour des gels acides de lait écrémé, formés selon la même procédure que les gels de Type 1 et des gels presure de lait écrémé.

En réalité, les gels presure de lait paraissent perdre leur fractalité, du fait de la forte microsynchronisation qui a lieu après la gélification. Ces modèles ne sont donc pas valables pour de tels systèmes et le terme de dimension fractale n'a ici qu'une signification très limitée.

Les valeurs de la dimension fractale de quelques gels colloïdaux sont présentées au Tableau I.7.

Tableau I.7. Dimension fractale des gels colloïdaux.

Auteurs	Produits	Mesures	D
Bremer <i>et al.</i> , 1989	Gels de caséines Type 1*	Coefficient de perméabilité	2,39
Bremer <i>et al.</i> , 1990	Gels de caséines Type 1	Module élastique	2,24
Bremer <i>et al.</i> , 1990	Gels de caséines Type 1	Contrainte de fracture	2,20
Walstra <i>et al.</i> , 1991	Gels de caséines Type 1	Taille des agrégats	2,35
Bremer <i>et al.</i> , 1989	Gels de caséines Type 2**	Coefficient de perméabilité	2,36
Bremer <i>et al.</i> , 1990	Gels de caséines Type 2	Module élastique	2,36
Bremer <i>et al.</i> , 1990	Gels de caséines Type 2	Contrainte de fracture	2,19
Bremer <i>et al.</i> , 1989	Gels de caséines Type 2	Turbidité	2,27
Walstra <i>et al.</i> , 1991	Gels de caséines Type 2	Taille des agrégats	2,35
Bremer <i>et al.</i> , 1993	Gels de polystyrène	Coefficient de perméabilité	2,21
Bremer <i>et al.</i> , 1993	Gels de polystyrène	Module élastique	2,27
Nieuwenhuijse et Walstra, 1991	Gels "thermiques" de lait	Temps de coagulation	2,30
Stading <i>et al.</i> , 1993	Gels de β -lactoglobuline	Module élastique	2,50
Shih <i>et al.</i> , 1990	Gels d'alumine Catapal	Module élastique	2,00
Shih <i>et al.</i> , 1990	Gels d'alumine Dispal	Module élastique	1,95

*formé par acidification du caséinate de Na (ou du lait) par HCl dans le froid (4°C) suivi d'un chauffage jusqu'à 30°C

**formés par acidification du caséinate de Na (ou du lait) par GDL à 30°C

Modèle de Chaplain et al. (1994)

D'autre part, Chaplain et *al.* (1994) ont observé expérimentalement une dépendance, selon la fraction volumique, des modules viscoélastiques des gels présure de lait, différente de celles observées par Zoon et *al.* (1988) et Bremer et *al.* (1989). Un modèle alternatif, dérivé de celui de Bremer et *al.* (1989, 1990), a été alors développé. Ils négligent toujours la contribution entropique mais prennent en compte l'élasticité vectorielle. Ils ont obtenu alors une relation reliant le module viscoélastique et la fraction volumique, valable pour des fractions volumiques supérieures à ϕ_g :

$$G \propto \phi^{\left(\frac{8-2D}{3-D}\right)} \quad \phi \gg \phi_g \quad (\text{I. 14})$$

Chaplain et *al.* (1994) ont obtenu expérimentalement un exposant μ de la loi de puissance $G \propto \phi^\mu$, égal à 3 et 2,7 pour G' et G'' respectivement, sur une échelle de ϕ allant de 0,1 à 0,3.

3. Conclusions et objectifs

Les connaissances actuelles montrent que la coagulation acide des micelles de caséines est un processus complexe, comprenant différentes étapes : dissociation, association, agrégation et gélification. Certains auteurs (Desobry-Banon, 1991; Gastaldi-Bouabid, 1994) ont proposé une description phénoménologique des mécanismes de la coagulation acide. Ces études intéressantes sont cependant insuffisantes. Dans un cas, elles ne décrivent que partiellement l'ensemble de ces mécanismes, comme l'étude de Desobry-Banon (1991) et dans l'autre, elles sont limitées à l'étude d'un seul paramètre, comme celle de Gastaldi-Bouabid (1994), qui a travaillé à une seule température (20°C).

Compte tenu de telles observations, nous avons décidé, dans le cadre de cette étude, d'étudier l'ensemble des mécanismes conduisant à la formation du gel acide, en portant l'accent sur les effets de la température et de la nature de la micelle de caséines sur ces mécanismes. Ainsi, nous avons choisi trois dispersions micellaires, très différentes par la nature et la distribution de taille de leurs micelles : le lait écrémé de vache, le lait écrémé de chèvre et le lait écrémé de brebis.

D'autre part, comme il a été récemment montré par plusieurs auteurs, l'utilisation des méthodes adaptées à l'étude de la dynamique des systèmes complexes (fractales), peut apporter des connaissances nouvelles sur les mécanismes de l'agrégation et de la gélification colloïdales. Nous avons utilisé ces méthodes, pour quantifier d'une part la structure des agrégats caséiques lorsqu'ils évoluent librement (en milieu dilué) et d'autre part leur structure dans le gel acide. Ces méthodes ont d'ailleurs déjà été utilisées, pour décrire la structure des gels acides de caséines, par le groupe de Wageningen (Bremer, van Vliet et Walstra).

Par ailleurs, cette revue bibliographique permet de voir que la majeure partie des travaux réalisés sur les laits concernent le lait de vache. Exceptée, l'étude de Vesperini-Jaubert (1992) sur l'effet de l'acidification sur la micelle caprine, l'ensemble des travaux traitant de la coagulation acide sont relatifs à la micelle bovine. Sur la micelle ovine, aucune étude analogue n'existe à notre connaissance dans la littérature.

Le chapitre suivant est consacré à la description des expériences réalisées, du matériel et des méthodes employés.

CHAPITRE II : MATERIEL & METHODES

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

Le choix de la méthode d'acidification du lait s'est porté sur l'utilisation d'un acidifiant chimique : la glucono- δ -lactone (GDL). La GDL est largement utilisée dans l'industrie alimentaire, comme correcteur de pH par exemple (Serpeloni, 1986; Lablée, 1988; Sepeloni et al., 1990). Elle permet, d'une part, une acidification progressive du lait simulant assez bien l'acidification par les bactéries lactiques (Trop, 1984) et d'autre part, une bonne maîtrise de la cinétique d'acidification. En outre, son utilisation permet d'éviter les problèmes liés à la présence de bactéries lactiques comme leur activité protéolytique ou encore la production de polysaccharides (Visser et al., 1986; Gastaldi-Bouabid, 1994; Zuniga, 1995). Ces deux derniers effets influencent fortement les propriétés physico-chimiques du milieu et sont donc indésirables dans notre cas. Par ailleurs, des travaux antérieurs sur le lait reconstitué de vache (Kim et Kinsella, 1989; Bremer et al., 1990; Desobry-Banon, 1991), qui nous ont servi de référence, ont utilisé la GDL comme moyen d'acidification. Les produits utilisés, les expériences réalisées et les méthodes optiques, rhéologiques et analytiques employées, pour l'étude de la formation des gels acides de laits écrémés de vache, de chèvre et de brebis, sont présentés ci-après.

1. Produits et technologies employés

1.1. Les laits

Les laits de chèvre et de vache sont des laits frais de mélange issus de la traite de troupeaux de chèvres (race Alpine chamoise, 80 individus) et de vaches (race Frisonne Holstein, 100 individus) appartenant au domaine expérimental de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires (Bouzule, Nancy). Le lait de brebis provient de la traite d'un troupeau (plus de 100 individus) de brebis (race Manech) appartenant à un exploitant agricole situé dans les Vosges (88).

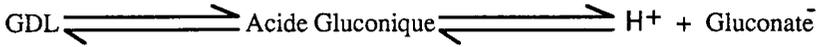
Les laits ont été écrémés par centrifugation à 4°C pendant 30 min à une force de 1000 x g. Puis, 0,01% d'azoture de sodium (NaN₃) ont été ajoutés au lait, afin d'éviter un développement microbien.

D'autre part, afin d'avoir des échantillons de lait de différentes concentrations en caséines (ou différentes fractions volumiques), les laits écrémés ont été ultrafiltrés à température ambiante et à une pression d'environ 2,5 bars, pendant des temps différents, sur un module d'ultrafiltration de laboratoire, équipé d'une membrane YM100 (Amicon, Epernon, France), ayant un seuil de coupure de 100000 Da.

1.2. La glucono- δ -lactone

La glucono- δ -lactone (GDL) est un ester interne ou lactone de l'acide gluconique, obtenue par cristallisation de ce dernier. L'acide gluconique est lui-même issu de l'oxydation du glucose par voie fermentaire (Figure II.1).

Quand la GDL est mise en milieu aqueux, elle s'hydrolyse progressivement en acide gluconique, pour aboutir à un équilibre acide / lactone de l'ordre de 80 / 20 :



La GDL utilisée, dans notre étude, est sous forme de poudre, fournie par la société Merck (Darmstadt, Allemagne).

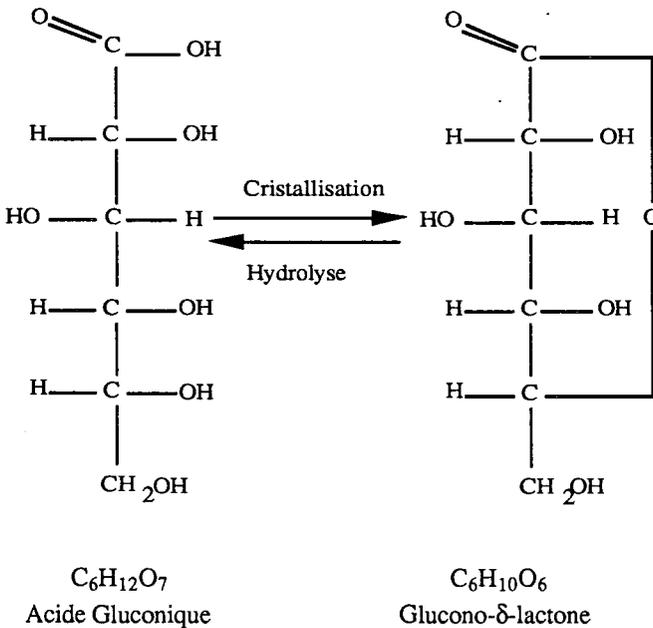


Figure II.1. Représentation chimique de l'Acide Gluconique et de la Glucono- δ -lactone.

1.3. La procédure d'acidification du lait

L'acidification a été réalisée par hydrolyse d'une quantité définie de glucono- δ -lactone. La dose optimale a été choisie, afin que les trois types de laits puissent se coaguler, dans un temps raisonnable, à chaque température. La quantité de 1,5% (p/v), proposée par Desobry-

Banon (1991) dans le cas du lait reconstitué de vache, s'est avérée insuffisante pour coaguler le lait de brebis à 15°C. En conséquence, c'est une dose supérieure (2,25% (p/v)), qui a été sélectionnée pour acidifier les laits jusqu' à la formation des gels acides. Les acidifications ont été réalisées à 15, 20, 30 et 40°C.

Dans le Tableau II.1, nous présentons les valeurs du temps nécessaire pour atteindre un pH d'environ 4,50, au cours de l'acidification des trois types de lait à 15, 20, 30 et 40°C, par hydrolyse de cette même dose de GDL.

Tableau II.1. Temps d'acidification (h) des laits écrémés de vache, de chèvre et de brebis à 15, 20, 30 et 40°C, nécessaires pour atteindre un pH de 4,50, lorsque la dose de GDL utilisée est de 2,25% (p/v).

Types de lait	Temps (h) nécessaire pour atteindre un pH de 4,50 aux températures :			
	15°C	20°C	30°C	40°C
Lait de vache	5,2	3,7	2,2	1,1
Lait de chèvre	4,3	3,0	1,5	0,8
Lait de brebis	15,1	12,4	6,7	2,1

Par ailleurs, pour étudier les modifications des paramètres physico-chimiques intervenues au cours de l'acidification (viscosité, caséines et minéraux solubles), d'autres quantités de GDL ont été dissoutes dans le lait afin d'atteindre des valeurs de pH intermédiaires (Tableau II.2). Le lait subit alors une agitation rapide pendant 1 min, puis laissé au repos pendant 20-24h à la température de mesure, pour atteindre un pH stable.

D'autres quantités de GDL ont été également utilisées pour former les trois types de gels acides à partir de laits, dont les concentrations caséiques ont été modifiées par ultrafiltration (Tableau II.3). Le pH final du gel acide choisi, égal à pH 4,2, correspond au pH isoélectrique des caséines caprines (Vespiri-Jaubert, 1992), et la température de mesure sélectionnée est égale à 30°C.

Tableau II.2. pH final des laits acidifiés de vache, de chèvre et de brebis à 20 et à 30°C après addition d'une certaine quantité de GDL (en % (p/v)).

GDL %	Lait de vache		Lait de chèvre		Lait de brebis	
	20°C	30°C	20°C	30°C	20°C	30°C
0,0	6,62	6,55	6,70	6,60	6,54	6,47
0,1	6,30	-	6,28	6,12	6,40	6,29
0,2	6,12	6,05	6,02	-	6,13	-
0,3	5,99	5,80	5,83	5,72	-	-
0,4	5,83	5,64	5,70	-	5,87	5,80
0,5	5,71	-	5,48	5,33	-	-
0,6	5,60	-	5,33	-	5,67	-
0,7	5,47	5,22	5,15	5,01	-	-
0,8	5,28	-	4,97	4,85	5,34	5,41
0,9	5,16	4,84	4,84	-	-	-
1,0	5,09	-	4,68	-	4,95	5,15
1,2	4,92	-	4,43	-	-	4,82

Tableau II.3. Quantités de GDL, en % (p/v), suffisantes pour acidifier les laits écrémés de vache, de chèvre et de brebis, concentrés et/ou dilués dans leur perméat d'ultrafiltration, jusqu'à un pH égal à $4,20 \pm 0,05$. T = 30°C.

Lait de vache		Lait de chèvre		Lait de brebis	
GDL (%)	Concentration caséique (g/Kg)	GDL (%)	Concentration caséique (g/Kg)	GDL (%)	Concentration caséique (g/Kg)
1,60	25,3	1,25	19,4	1,85	32,5
1,80	27,2	1,65	22,8	2,05	37,2
2,10	42,2	1,70	24,5	2,20	45,2
2,30	45,8	1,75	27,2	2,30	54,2
2,50	58,5	1,80	30,7	2,60	70,0
2,60	63,5	2,05	39,4	3,2	90,6

1.4. Expériences réalisées

Les cinq facteurs retenus pour l'étude sont regroupés dans le Tableau II.4. Les facteurs pH et température, pour les trois types de lait, ont été étudiés à trois différentes classes de niveaux. En effet, pour suivre de manière complète le processus de coagulation acide du lait, de son pH naturel jusqu'à la formation du gel acide, un nombre important de niveaux de pH doit être considéré : dans notre cas 13 à 90 selon la température et le type de lait.

L'étude des modifications des caractéristiques physico-chimiques des micelles au cours de l'acidification du lait, peut en revanche être réalisée en considérant un nombre de niveaux moindre (6 dans notre cas). Les propriétés mécaniques et structurales des trois types de gel acide de lait peuvent également être étudiées à l'aide d'un nombre très réduit de niveaux du facteur pH, en l'occurrence 1 dans notre cas.

D'autre part, pour étudier l'effet de la température sur la coagulation acide du lait, nous avons choisi, dans un premier temps, quatre niveaux de température. Il nous est apparu, par la suite, que deux niveaux de température (20°C et 30°C) suffisent pour étudier les différents comportements de ces trois types de lait au cours de l'acidification.

Pour l'étude des propriétés rhéologiques et structurales des gels acides de lait, nous nous sommes limités à un seul niveau du facteur température (30°C). Ces propriétés du gel acide ont été étudiées à l'aide de 6 niveaux de concentration caséique. Enfin, tous les résultats expérimentaux présentés sont la moyenne de trois mesures; trois étant le nombre de niveaux du facteur répétition des expériences.

Les variables mesurées sont également rassemblées dans le Tableau II.4.

2. Méthodes

La coagulation acide du lait est couramment étudiée par une variété de méthodes : analytiques, conductimétriques, microscopiques, optiques, rhéologiques, ultrasonores, etc... (Roefs, 1986; Kim et Kinsella, 1989; Desobry-Banon, 1991; Ay et Gunakaseran, 1994; Gastaldi-Bouabid, 1994; Latrille, 1994; Muchetti et *al.*, 1994). Ces méthodes exploitent, en général, le fait que la transition sol/gel s'accompagne d'un changement des propriétés du milieu. Dans le présent travail, des méthodes optiques, rhéologiques et analytiques ont été employées en vue d'étudier les mécanismes de formation des gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis. Ces méthodes sont développées ci-après.

2.1. Méthodes optiques

Les méthodes optiques employées, dans le cadre de cette étude, sont la turbidimétrie, la diffusion dynamique de la lumière et la diffusion statique de la lumière.

Tableau II.4. Facteurs et variables du plan des expériences.

Facteurs	Nombre de niveaux	Valeurs des niveaux	Symbole
Type de lait	3	lait de vache-lait de chèvre-lait de brebis	(a)-(b)-(c)
pH	13-90	du pH naturel du lait jusqu'à pH 4,2	-
	6	voir Tableau II.2	-
	1	4,20 ± 0,05	-
Température	4	15°C-20°C-30°C-40°C	-
	2	20°C-30°C	-
	1	30°C	-
Concentration du lait (g/Kg)	6	C = 25,3-27,2-42,2-45,8-58,5-63,5 (a)	-
		C = 19,4-22,8-24,5-27,2-30,7-39,4 (b)	-
		C = 32,5-37,2-45,2-54,2-70,0-90,6 (c)	-
Répétition des expériences	3	-	-

Caractéristiques physico-chimiques	Variables mesurées	Symbole	Unités
Propriétés optiques du lait	Turbidité	$\Delta\tau$	NTU
Fraction volumique micellaire	Viscosité	η	Pa.s
Taille micellaire	Diamètre hydrodynamique	d	nm
Composition caséique	Proportion caséine soluble	caséine	%
Minéralisation	Proportion Ca soluble	Ca	%
	Proportion Mg soluble	Mg	%
	Proportion P soluble	P	%
Dimension fractale des agrégats caséiques	Intensité de lumière diffusée	I	nombre de photons
Spectre mécanique et dimension fractale du gel acide de lait	Module élastique	G'	Pa
	Module visqueux	G''	Pa
	Tangente de perte	tg δ	-

Les mesures turbidimétriques permettent d'avoir une vue d'ensemble du processus de coagulation acide du lait. La diffusion dynamique de la lumière permet de mesurer la taille des micelles de caséines, au cours de l'acidification du lait et celle des agrégats caséiques formés. La diffusion statique de la lumière, permet de déterminer la dimension fractale de ces mêmes agrégats caséiques.

2.1.1. Mesures turbidimétriques

La méthode turbidimétrique, précédemment décrite par Banon et Hardy (1991), est basée sur le phénomène de rétrodiffusion de la lumière. Cette méthode a été développée par Hardy et Scher (1986), pour l'étude de la coagulation présure du lait. Elle est sensible, non-destructive, d'usage facile et relativement bon marché. Elle est actuellement utilisée comme capteur dans une unité de fabrication fromagère de la Compagnie Fromagère de la Vallée de l'Ance et Cie à Piroilles (43).

Principe

Le turbidimètre portable, modèle NTM NOVASINA (Zürich, Suisse) est muni d'une sonde optique immergeable, constituée de réseaux de fibres optiques, émetteur et récepteur. Le rayonnement lumineux incident provenant d'une source monochromatique (860 nm) est conduit par le réseau de fibres optiques, émetteur, puis transmis dans la dispersion. La lumière rétrodiffusée par les particules dispersées ou par le réseau de gel, à 180°, est captée par le réseau de fibres optiques récepteur et l'intensité lumineuse est alors transformée en unités néphélométriques de turbidité (NTU).

Protocole

Nous avons adapté le montage expérimental utilisé par Hardy et Scher (1986) et Banon et Hardy (1991), en y introduisant une centrale d'acquisition de données (Data Logger CA100, Chauvin Arnoux, Paris, France) permettant d'obtenir une mesure toutes les 0,5s.

La sonde turbidimétrique est placée horizontalement dans une cuve thermostatée à $\pm 0,1^\circ\text{C}$ contenant le lait, elle même posée sur un agitateur magnétique destiné à assurer une répartition homogène de la GDL, au moment de son addition.

La cuve présente un volume de 600 ml, le volume de lait ajouté est fixé à 400 ml. La sonde est placée à environ 10 cm sous la surface du liquide (Figure II.2).

La variation de la turbidité, $\Delta\tau$, du lait est mesurée au cours de l'acidification.

$$\Delta\tau = \tau - \tau_0 \quad (\text{II.1})$$

avec τ_0 , la turbidité initiale du lait.

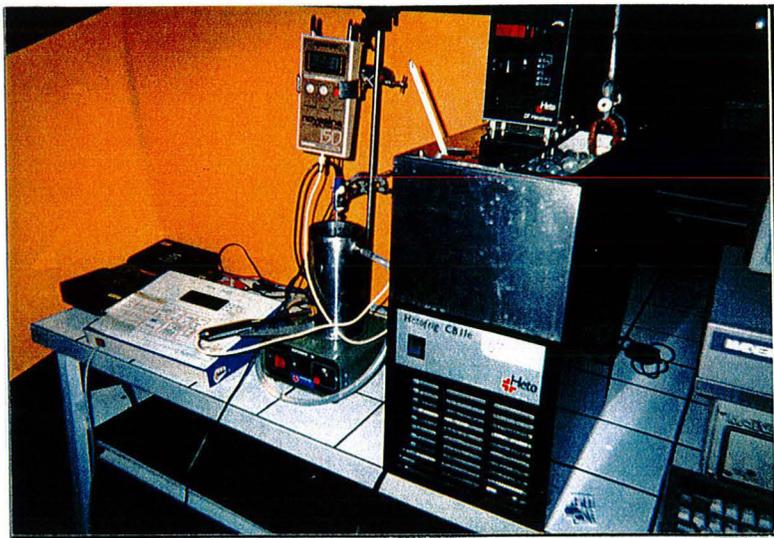


Figure II.2. Photographie du montage expérimental de mesure de la turbidité.

2.1.2. Diffusion dynamique de la lumière

Cette technique est couramment employée dans la mesure de la distribution de taille des micelles de caséines (Holt, 1985; Dalgleish et Hallett, 1995). Elle a l'avantage d'être relativement rapide, non-destructive mais présente l'inconvénient de nécessiter des concentrations très faibles en particules (Burchard, 1994; Hallett, 1994; Dalgleish et Hallett, 1995).

Principe

La diffusion dynamique de la lumière, appelée également diffusion quasi-élastique de la lumière ou spectroscopie de corrélation de photons, est basée sur le phénomène de diffusion de la lumière par des particules en mouvement. Les techniques de diffusion dynamique de la lumière utilisent le fait que la dépendance temporelle des fluctuations de l'intensité de lumière diffusée (calculée à partir de la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée) peut être reliée au coefficient de diffusion translationnel, D_t , des particules, qui est à son tour relié au rayon

hydrodynamique des particules, a , via l'équation de Stokes Einstein : $a = \frac{kT}{6\pi\eta D_t}$ (Burchard, 1994; Hallett, 1994), où kT est l'énergie de Boltzmann et η la viscosité de la phase continue (Pa.s). Les deux inconnues de l'équation précédente sont donc D_t et a . Nous présentons brièvement ci-après le principe théorique de la détermination de D_t à partir des fluctuations temporelles de l'intensité de lumière diffusée par les particules dispersées.

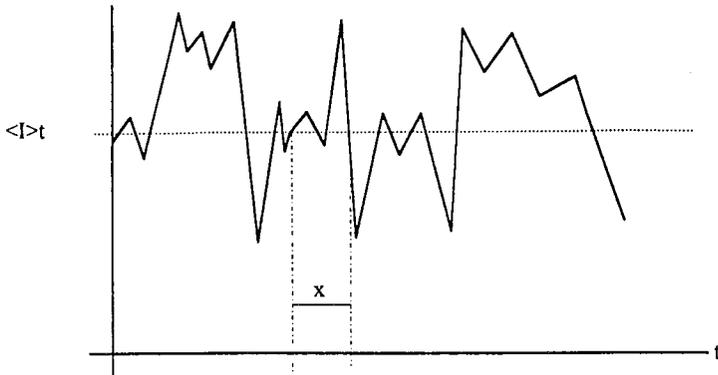


Figure II.3. Fluctuations dans le temps de l'intensité de lumière diffusée, dues aux mouvements browniens des particules dans la dispersion.

Aspects théoriques

Les particules submicroniques dans une dispersion sont soumises au mouvement brownien. Par conséquent, lorsqu'une telle suspension colloïdale est illuminée par une source de lumière, telle que celle émanant d'un laser, les phases de chaque onde lumineuse diffusée par les particules et arrivant au détecteur, fluctuent aléatoirement dans le temps. L'intensité nette de la lumière diffusée fluctue dans le temps autour d'une valeur moyenne $\langle I \rangle_t$ (Figure II.3). Ces fluctuations sont caractérisées par la fonction d'autocorrélation, $G^{(2)}(x)$, de l'intensité de lumière diffusée, qui est donnée par :

$$G^{(2)}(x) = \langle I(t)I(t+x) \rangle \quad (\text{II.2})$$

Elle mesure la corrélation moyenne de l'intensité lumineuse diffusée entre les instants t et $t+x$. Si, pendant le temps x , et à l'échelle spatiale d'observation Q^{-1} (voir équation II.8), la configuration de la dispersion est peu modifiée, la corrélation est importante. Par contre, si les

fluctuations observées à l'échelle Q^{-1} sont rapides comparées à x , la corrélation devient minimale. Pour $x = 0$, $G^{(2)}(x)$ est au maximum et égale à l'intensité carrée moyenne de lumière diffusée :

$$G^{(2)}(0) = \langle I(t)I(t) \rangle = \langle I(t)^2 \rangle \quad (\text{II.3})$$

Pour $x \rightarrow \infty$, les intensités de lumière diffusée aux instants t et $t + x$ deviennent indépendantes :

$$G^{(2)}(\infty) = \langle I(t)I(t+x) \rangle = \langle I(t) \rangle^2 \quad (\text{II.4})$$

La fonction d'autocorrélation est alors égale au carré de l'intensité moyenne diffusée. Cette valeur est considérée comme la ligne de base de la fonction d'autocorrélation.

La fonction d'autocorrélation temporelle normalisée $g^{(1)}(x)$ du champ électrique diffusé, $g^{(1)}(x) = \frac{G^{(1)}(x)}{\langle I(t) \rangle}$, peut être calculée à partir de la fonction d'autocorrélation de l'intensité de lumière diffusée mesurée, grâce à la relation suivante :

$$G^{(2)}(x) = B(1 + \beta |g^{(1)}(x)|^2) \quad (\text{II.5})$$

où $B = \langle I(t) \rangle^2$ est la ligne de base de la fonction d'autocorrélation de l'intensité de lumière diffusée et β ($0 < \beta < 1$) une constante instrumentale.

Calcul de D_t : cas de systèmes monodisperses

Pour les systèmes de taille de particules uniforme, $g^{(1)}(x)$, est une simple fonction exponentielle décroissante de x :

$$g^{(1)}(x) = e^{-\Gamma x} \quad (\text{II.6})$$

La constante Γ est reliée au coefficient de diffusion translationnel D_t par :

$$\Gamma = D_t Q^2 \quad (\text{II.7})$$

où Q est la norme du vecteur d'onde de diffusion, qui dépend de la longueur d'onde (dans le vide) de la source de lumière, λ , de l'indice de réfraction du solvant, n , et de l'angle de détection (ou de diffusion), θ .

$$Q = \frac{4\pi n \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)}{\lambda} \quad (\text{II.8})$$

Q^{-1} (nm) fixe l'échelle spatiale d'observation.

Ainsi, le coefficient de diffusion translationnel d'une particule est obtenu à partir des équations (II.6 à II.8).

Calcul du rayon hydrodynamique particulaire a

Pour une diffusion aléatoire de particules non interagissantes, le rayon hydrodynamique des particules, a , est calculé, à partir de D_t via l'équation de Stokes-Einstein :

$$a = \frac{kT}{6\pi\eta D_t} \quad (\text{II.9})$$

où k est la constante de Boltzmann, T la température (°K), et η , la viscosité de la phase continue.

Ainsi, la taille des particules d'une suspension colloïdale monodisperse peut facilement être obtenue à partir de la fonction d'autocorrélation mesurée, via les équations (II.2 à II.9).

Calcul de D_t : cas de systèmes polydisperses

Pour une suspension colloïdale polydisperse, $g^{(1)}(x)$ est une somme pondérée des fonctions exponentielles décroissantes, chacune d'elles caractérisant un diamètre de particule différent, d_i avec la constante correspondante Γ_i :

$$g^{(1)}(x) = \int_0^\infty G(\Gamma) e^{-\Gamma x} d\Gamma \quad (\text{II.10})$$

$G(\Gamma)$ est la distribution normalisée des constantes, Γ , des objets diffusant dans la dispersion.

La méthode d'analyse des résultats est celle dite des cumulants, qui consiste à ajuster le signal mesuré à un développement limité de l'équation (II.11). Dans cette approche, $\ln g^{(1)}(x)$ (qui est une droite pour une suspension colloïdale monodisperse) est interpolé par un polynôme d'ordre 3 ou 4, dans le cas d'une population polydisperse. Pour un polynôme d'ordre 3, on obtient :

$$\ln[g^{(1)}(x)] = -\bar{\Gamma}x + \left(\frac{1}{2!}\right)\mu_2x^2 - \left(\frac{1}{3!}\right)\mu_3x^3 \quad (\text{II.11})$$

où $\bar{\Gamma}$ est la valeur moyenne de la distribution et μ_i les moments de $G(\Gamma)$.

La diffusivité moyenne de la dispersion est calculée à partir de $\bar{\Gamma}$ avec : $\bar{\Gamma} = \bar{D}_t Q^2$.

Le rayon hydrodynamique moyen a , correspondant au coefficient de diffusion translationnel moyen, \bar{D}_t , est calculé, comme précédemment, à partir de l'équation (II.9). L'écart-type de la distribution des coefficients de diffusion peut être calculé à partir de μ_2 . Il caractérise la polydispersité de la distribution de tailles des particules.

Protocole

Pour réaliser les mesures de la taille des micelles de caséines par la technique de diffusion dynamique de la lumière, il est nécessaire de diluer le lait. Dans la présente étude, nous avons choisi de diluer le lait, au $\frac{1}{50}$ ème, dans son perméat d'ultrafiltration afin de permettre aux micelles de caséines de demeurer dans le même environnement ionique. Le lait dilué a été ensuite filtré sur une membrane millipore (afin d'éliminer les éventuelles particules parasites *e.g.* les poussières), avant d'être transféré dans la cellule du granulomètre Malvern Zetasizer 3 (Malvern Instruments Ltd, Worcs., Grande Bretagne). Ce granulomètre est constitué de quatre éléments : une source de lumière (laser He - Ne, de 5mW de puissance et 633 nm de longueur d'onde), une unité de détection, un corrélateur et un ordinateur. L'intensité diffusée par les particules dispersées arrive sur le détecteur, placé à 90° par rapport au rayon incident (Figure II.4).

Dix mesures sont réalisées sur l'échantillon, chacune ayant une durée de 120s. Le diamètre hydrodynamique moyen ainsi que la distribution de taille sont alors déterminés. Pour les expériences du suivi de l'évolution de la taille des micelles de caséines au cours de l'acidification, le lait dilué (au $\frac{1}{50}$ ème) est acidifié avec une faible quantité de GDL (0,40%). Etant donné l'évolution progressive du pH de la dispersion micellaire, trois mesures de la taille micellaire sont réalisées sur l'échantillon, pour chaque valeur de pH. Le diamètre moyen est alors déterminé. D'autre part, la cinétique d'acidification de la dispersion micellaire, à la température de mesure, est mesurée en parallèle. Les expériences ont été réalisées à 20, 30 et 40°C.



Figure II.4. Photographie du dispositif expérimental de la technique de diffusion dynamique (ou statique) de la lumière.

2.1.3. Détermination de la dimension fractale des agrégats caséiques au moyen de la diffusion statique de lumière

La diffusion statique de la lumière, des rayons X ou des neutrons aux petits angles sont les techniques les plus employées pour déterminer la dimension fractale d'un échantillon dont on ne peut digitaliser une image bidimensionnelle (Schmidt, 1989; Gouyet, 1992). Elles ont été couramment utilisées sur les agrégats (Schmidt, 1989). La diffusion des rayons X et des neutrons, aux petits angles, sont utilisées, en général, pour caractériser les agrégats de fines particules colloïdales telles que les protéines globulaires alors que la diffusion statique de la lumière est, en général, employée pour des agrégats de particules plus grosses, par exemple les micelles de caséines (Clark, 1994). Dans tous les cas, la dimension fractale des agrégats est calculée à partir de la dépendance de l'intensité de lumière (ou de neutrons) diffusée en fonction de l'angle de détection (θ). L'intensité de lumière diffusée par une fractale de masse en fonction du nombre d'onde diffusionnelle Q est en effet de la forme : $I(Q) \propto Q^{-D}$.

Aspect théorique de la méthode

Contrairement à la diffusion dynamique, où l'on s'intéresse aux fluctuations dans le temps de l'intensité de lumière diffusée, ici, on mesure la valeur moyenne de l'intensité de

lumière diffusée, $\langle I \rangle$, par les particules dispersées (Figure II.3). La variation de l'angle de détection (θ) permet d'observer les agrégats à différentes échelles d'observation Q (équation II.8).

Dans un volume de diffusion contenant un nombre d'amas N de masse M , ayant des interactions négligeables entre eux, l'intensité totale diffusée est donnée par (Schmidt, 1989; Raper et Amal, 1993) :

$$I(Q) = \sum_M N(M) M^2 S_M(Q) \quad (\text{II. 12})$$

avec $S_M(Q)$, le facteur de structure des amas de masse M , inférieur ou égal à 1 et fonction de l'échelle d'observation (Q) ainsi que du rayon de gyration de l'amas, R_g .

Lorsque les amas sont très petits devant l'échelle d'observation ($QR_g \ll 1$), l'amas apparaît alors au niveau du détecteur comme un point lumineux diffusant de manière isotrope et donc indépendante de Q . Le facteur de structure $S_M(Q)$ est égal à 1 et l'intensité diffusée est alors proportionnelle à la masse, M au carré.

Lorsque les amas sont très gros devant l'échelle spatiale d'observation ($QR_g \gg 1$), les interférences augmentent et l'intensité dépend (en plus de la masse de l'amas) du facteur de structure de l'amas. Ce dernier varie comme : $S_M(Q) \propto Q^D$, dans le cas de fractales de masse. L'intensité de lumière diffusée est, par conséquent, donnée par :

$$I(Q) \propto Q^{-D} \quad (\text{II. 13})$$

où D est la dimension de la fractale de masse, avec $D \leq 3$.

En réalité, la relation précédente (II.13) est vérifiée dans un domaine de Q^{-1} intermédiaire : compris entre la taille d'une particule, a , et le rayon de l'amas, R_g ($Qa \ll 1 \ll QR_g$). Elle renseigne par conséquent sur la dimension fractale de l'objet diffusant ainsi que sur l'extension du domaine fractal.

Protocole

L'intensité de lumière diffusée a été mesurée à des angles de diffusion allant de 50° à 110° . La sensibilité insuffisante du Malvern Zetasizer 3 aux petits angles nous a contraint à imposer un angle minimum de 50° . La durée de la mesure, pour chaque angle, est fixée à 5s. Afin de rester dans la région de validité du régime fractal, les expériences de diffusion statique de lumière sont réalisées sur des agrégats d'au moins $1\mu\text{m}$ de diamètre hydrodynamique moyen

(Raper et Amal, 1993). L'appareillage utilisé est le même que celui de la diffusion dynamique de la lumière (Figure II.4). L'échantillon de lait étudié est le même que celui ayant servi pour les mesures de l'évolution de la taille micellaire au cours de l'acidification (voir paragraphe 2.1.2). Les expériences ont été réalisées à 20, 30 et 40°C.

2.2. Méthodes rhéologiques

Deux méthodes rhéologiques ont été employées dans le cadre de cette étude : la viscosimétrie capillaire et les tests rhéologiques en mode harmonique. La première méthode a permis de mesurer la viscosité des laits au cours de l'acidification et de déterminer la fraction volumique des micelles de caséines dans les laits concentrés et/ou dilués. La seconde méthode a permis la caractérisation des gels acides de laits et la détermination de leur dimension fractale.

2.2.1. Viscosimétrie capillaire

Un viscosimètre capillaire (Viscomatic, Le Mesnil, Saint Denis, France) a été utilisé pour mesurer la viscosité des laits, à différents pH, et des perméats d'ultrafiltration.

2.2.1.1. Détermination de la viscosité du lait au cours de l'acidification

L'appareil mesure le temps que met un liquide newtonien pour s'écouler dans un capillaire, sous l'effet de la gravité. Ce temps est relié à la viscosité par la relation suivante :

$$\frac{\eta}{\eta_e} = \frac{t_l}{t_e} \frac{\rho_e}{\rho_l} \quad (\text{II. 14})$$

η : viscosité (mPa. s)

t : temps de descente (s)

ρ : masse volumique (kg/m³)

Les indices "l" et "e" désignent respectivement le lait et l'eau distillée.

Le liquide d'étalonnage utilisé est l'eau distillée. Le réservoir et le capillaire du viscosimètre sont thermostatés par circulation d'eau.

Dans les présentes conditions de pH, de température et de concentration, nous avons considéré que les laits sont des liquides newtoniens. La relation précédente n'est en effet valable que pour un liquide newtonien.

2.2.1.2. Détermination de la fraction volumique des caséines dans le lait

Aspect théorique

La viscosité, η , d'une dispersion monodisperse diluée de particules sphériques, compactes et non déformables, est donnée par la relation d'Einstein :

$$\eta = \eta_0 (1 + 2,5 \phi) \quad (\text{II. 15})$$

η_0 : viscosité de la phase continue

ϕ : fraction volumique de la phase dispersée

La relation d'Einstein s'applique uniquement pour les dispersions très diluées. Dans le cas des dispersions moins diluées, comme le lait écrémé par exemple, des interactions hydrodynamiques apparaissent entre les particules, et il est difficile d'avoir une relation théorique entre la viscosité et la fraction volumique (Snoeren et *al.*, 1982).

Pour de tels systèmes, Eilers (1941) a développé une relation empirique reliant ces paramètres :

$$\eta = \eta_0 \left(1 + \frac{1,25 \phi}{1 - \frac{\phi}{\phi_{\max}}} \right)^2 \quad (\text{II. 16})$$

η : viscosité de la dispersion concentrée (dans notre cas, il s'agit de la viscosité du lait)

η_0 : viscosité de la phase continue (dans notre cas, elle est considérée comme celle du perméat d'ultrafiltration)

ϕ : fraction volumique des particules

ϕ_{\max} : fraction volumique maximale

La valeur de ϕ_{\max} dépend de la forme et de la taille des particules ainsi que du choix du solvant de référence (Snoeren et *al.*, 1982; Hallström et Dejmek, 1988). Snoeren et *al.* (1982) ont obtenu une valeur de ϕ_{\max} , égale à 0,79, pour le lait écrémé. Dans une série d'expériences où ils étudient l'effet de la concentration caséique sur le temps de gélification thermique du lait écrémé, cette valeur (ϕ_{\max}) correspondrait à un temps de gélification nul.

La relation (II.16) a été déjà appliquée au lait écrémé par Snoeren (1982) et Hallström et Dejmek (1988) pour déduire la fraction volumique des protéines, ϕ . Cette dernière est, en fait, la somme de la fraction volumique des caséines, ϕ_c , des protéines du sérum natives, ϕ_{psn} et des protéines du sérum dénaturées, ϕ_{psd} (Snoeren et *al.*, 1982; Hallström et Dejmek, 1988).

$$\phi = \phi_c + \phi_{psn} + \phi_{psd} = C_c v_c + C_{psn} v_{psn} + C_{psd} v_{psd} \quad (\text{II. 17})$$

avec :

C : la concentration massique des protéines (g/g)

v : la voluminosité des protéines (ml/g)

les indices "c", "psn" et "psd" désignent respectivement les caséines, les protéines sériques natives et les protéines sériques dénaturées.

Dans notre cas, les laits n'étant pas chauffés au-dessus de 40°C, il n'y a donc pas de dénaturation des protéines sériques (Alais, 1984), et l'équation (II. 17) devient :

$$\phi = \phi_c + \phi_{psn} = \phi_c + C_{psn} v_{psn} \quad (\text{II. 18})$$

Selon Snoeren et *al.* (1982), la voluminosité des protéines du sérum est de 1,07ml/g.

Protocole

Les viscosités des différents laits écrémés concentrés ou dilués et du perméat d'ultrafiltration, qui sert de milieu de dilution, ont été mesurées par viscosimétrie capillaire. Les teneurs en caséines et en protéines sériques dans les échantillons de lait ont été déterminées par la méthode de micro-Kjeldhal (FIL20B : 1993). Calculant la fraction volumique totale des protéines dans le lait à partir de la relation d'Eilers (équation II.14) et connaissant la concentration en protéines sériques (C_{psn}) et leur voluminosité (v_{psn}), la fraction volumique des caséines, ϕ_c , est déduite aisément de l'équation (II.18).

2.2.2. Méthodes rhéologiques dynamiques

Les méthodes rhéologiques dynamiques appelées également spectroscopie mécanique sont largement employées pour la caractérisation des matériaux viscoélastiques tels que les gels, les dispersions concentrées, les émulsions, etc... (Clark et Ross-Murphy, 1987). Dans le présent travail, les tests en mode harmonique, à faible déformation, ont permis d'étudier les propriétés viscoélastiques des gels acides de laits écrémés de vache, de chèvre et de brebis.

Principe

L'échantillon subit en général un simple cisaillement, dont le principe est illustré par la Figure II.5. La force par unité de surface, appelée la contrainte σ (Pa), entraîne une déformation, appelée déformation de cisaillement, γ qui est égale à $tg\alpha$ (Figure II. 5). Durant

une expérience dynamique sinusoïdale, une déformation (ou une contrainte) variant sinusoïdalement au cours du temps à une fréquence angulaire ω , est appliquée à l'échantillon.

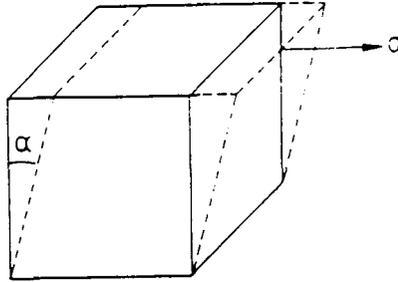


Figure II.5 : Illustration du simple cisaillement. σ est la contrainte de cisaillement et γ est la déformation de cisaillement ($= \tan \alpha$).

Dans le cas d'une déformation imposée, celle-ci est donnée par :

$$\gamma(t) = \gamma_0 \sin \omega t \quad (\text{II.19})$$

où γ_0 est le maximum de la déformation sinusoïdale. La réponse de l'échantillon, à cette déformation sinusoïdale, est une contrainte de cisaillement (σ), qui varie elle aussi sinusoïdalement.

$$\sigma(t) = \sigma_0 \sin(\omega t + \delta) \quad (\text{II.20})$$

ou encore

$$\sigma(t) = \sigma_0 (\sin(\omega t) \cos \delta + \cos(\omega t) \sin \delta) \quad (\text{II.21})$$

où σ_0 est la contrainte maximale, et δ l'angle de phase (ou déphasage) entre la déformation et la contrainte.

Cette différence de phase prend son origine dans les propriétés visqueuses du matériau. En effet, pour un solide élastique idéal, σ est en phase avec γ , parce que σ est au maximum quand γ est au maximum et δ est alors égal à 0. Pour un fluide visqueux idéal, σ est en opposition de phase avec γ , parce que σ est à son maximum lorsque la vitesse de cisaillement $\left(\frac{d\gamma}{dt}\right)$ est à son

maximum, ce qui est le cas lorsque γ est à son minimum; δ est alors égale à $\frac{\pi}{2}$. Pour un matériau viscoélastique tel que le gel, δ a une valeur entre 0 et $\frac{\pi}{2}$ (Figure II. 6).

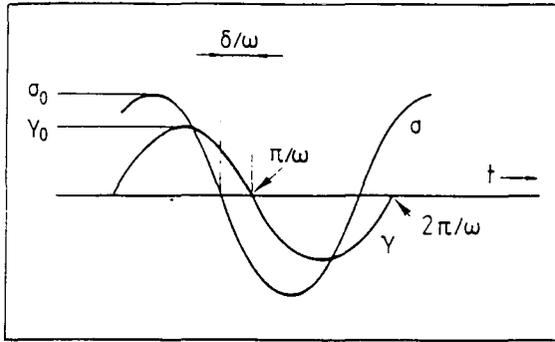


Figure II.6 : Variation sinusoïdale de la contrainte et de la déformation en fonction du temps, pour un matériau viscoélastique.

Dans la région de viscoélasticité linéaire, σ_0 est par définition proportionnelle à γ_0 . L'équation (II.21) peut être écrite comme suit :

$$\sigma(t) = \gamma_0 \left[\frac{\sigma_0}{\gamma_0} (\cos \delta \sin(\omega t)) + \frac{\sigma_0}{\gamma_0} (\sin \delta \cos(\omega t)) \right] \quad (\text{II.22})$$

La partie de la contrainte, en phase avec la déformation, est égale à la partie élastique de la contrainte et correspond au module de conservation ou module élastique G' :

$$G'(\omega) = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) \cos \delta \quad (\text{II.23})$$

C'est une mesure de l'énergie stockée et, par la suite, libérée par cycle de déformation.

La partie de la contrainte en opposition de phase avec la déformation est la partie visqueuse de la contrainte et correspond au module de perte ou module visqueux G'' :

$$G''(\omega) = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) \sin \delta \quad (\text{II.24})$$

G'' représente l'énergie dissipée par cycle de déformation.

La tangente de perte $\tan \delta$, exprime le rapport entre le caractère visqueux et le caractère élastique :

$$\tan \delta(\omega) = \frac{G''(\omega)}{G'(\omega)} \quad (\text{II.25})$$

Protocole

Les laits ont été acidifiés en ajoutant, sous agitation rapide, des quantités définies de GDL, permettant d'atteindre le pH souhaité (Tableau II.3). Un volume de 2,4 ml, imposé par la géométrie plan - cône utilisée, a été alors prélevé puis transféré dans le rhéomètre et laissé à 30°C pendant 16 h afin d'atteindre un pH stable. Afin d'éviter l'évaporation dans l'échantillon de gel, l'ensemble plan - cône est placé dans une chambre, dont la saturation en eau est assurée par la présence d'eau sur la face supérieure du cône. Un échantillon témoin a été conservé en parallèle, à la même température de mesure, pour permettre la mesure du pH final.



Figure II.7. Photographie du rhéomètre à contrainte imposée Carri-med CS1000.

L'appareil utilisé, pour les mesures dynamiques, est un rhéomètre à contrainte imposée, Carri-Med CS1000 (Rhéo, Massy, France) muni d'une géométrie plan - cône, dont l'angle d'inclinaison du cône est égal à 2° et le diamètre du cône égal à 6 cm (Figure II.7). Le logiciel d'oscillation (Rhéo, Massy, France) permet de travailler en mode de déformation fixée. Des essais préliminaires ont permis de choisir une valeur de cette déformation imposée égale à 10

milliradians soit 1% de déformation. Cette valeur permet de demeurer dans la région de viscoélasticité linéaire, et par conséquent d'éviter la destructuration du gel.

Les modules élastique et visqueux des gels ont alors été mesurés à une fréquence de 1Hz. En ce qui concerne, l'étude de la dépendance des modules du gel en fonction de la fréquence, les mesures ont été effectuées dans l'intervalle de fréquence 10^{-3} -10 Hz.

2.3. Méthodes analytiques

Ces méthodes ont été employées dans le but de mesurer l'évolution, au cours de l'acidification, de certaines propriétés et caractéristiques physico-chimiques des laits utilisés.

2.3.1. Mesure du pH

Le pH du lait, en cours d'acidification, a été mesuré à une précision de 0,02 unités de pH par un pH-mètre portable CG 838 (Schott Geräte GmbH, Cologne, Allemagne). Le pH-mètre a été aussi relié, comme le turbidimètre, à la centrale d'acquisition des données Data Logger CA 100, permettant une mesure toutes les 0,5 s.

2.3.2. Séparation des phases soluble et micellaire du lait

La séparation des phases soluble et micellaire des laits de vache, de chèvre et de brebis, à différents pH, a été réalisée par centrifugation à $70000 \times g$, pendant 2h, dans une ultracentrifugeuse Beckman L5-50B (Beckman Instruments, Palo Alto, CA, USA). A la fin de la centrifugation, le surnageant est recueilli, pour le dosage des caséines et des minéraux solubles. Les conditions de centrifugation sont similaires à celles utilisées par Dalglish et Law (1988, 1989), pour le dosage des caséines et des minéraux solubilisés au cours de l'acidification du lait.

2.3.3. Analyse des caséines

Les teneurs en azote total (NT), en azote non caséique (NCN) et en azote non protéique (NPN) dans les laits de vache, de chèvre et de brebis, acidifiés à différents pH, ont été dosées par la méthode de micro-Kjeldhal (FIL 20B : 1993). Les quantités de protéines et de caséines présentes dans le lait ont été calculées respectivement à partir des relations : $(NT - NPN) \times 6,38$ et $(NT - NCN) \times 6,38$. Ces résultats sont exprimés en gramme de protéines par litre de lait et en gramme de caséines par litre de lait respectivement. La proportion de NPN est exprimée en pourcentage de la matière azotée totale. La teneur en azote soluble (NS) a été dosée sur les surnageants de centrifugation. La quantité de caséines solubilisées a été calculée à partir de la relation suivante : $(NS - NCN) \times 6,38$, en considérant que le NCN reste invariant (Dalglish et

Law, 1988). On considère, également, que toutes les caséines solubles sont dissociées de la micelle.

2.3.4. Analyse des minéraux

Les quantités de calcium et de magnésium présents dans les laits acidifiés et dans les surnageants ont été déterminées par spectrométrie à absorption atomique (Spectromètre à absorption atomique 1100, Perkin Elmer Instruments, Bois d'Arcy, France), selon la méthode préconisée par la FIL (FIL 154: 1992). Les quantités de phosphore dans les laits et les surnageants ont été dosées par spectrophotométrie (Spectrophotomètre UV/Visible, Pharmacia LKB Ultrospec III, Pharmacia Ltd, Londres, Royaume-Uni), selon la méthode de la FIL (FIL 42B : 1990). Le partage des minéraux entre les phases soluble et micellaire a été, par la suite, calculé.

Dans le chapitre suivant, les résultats expérimentaux de l'étude de la formation des gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis sont présentés et discutés.

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSION

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

Dans une première partie (Partie 1), on étudie les évolutions des mécanismes physico-chimiques sous-jacents à l'agrégation des micelles de caséines, au cours de l'acidification des laits de vache, de chèvre et de brebis, en s'intéressant particulièrement à ce qui se passe au niveau de la micelle.

Dans une seconde partie (Partie 2), les méthodes récemment développées pour la dynamique des systèmes complexes sont utilisées afin d'étudier la dynamique d'élaboration des gels, à partir de la formation d'agrégats lors de l'abaissement du pH du lait.

Enfin, dans une troisième partie (Partie 3), on engage des réflexions nouvelles sur les mécanismes de la coagulation acide du lait, la structure des micelles de caséines caprine et ovine comparée avec celle de la micelle bovine ainsi que sur les relations entre phases d'agrégation et de gélification.

Partie 1 : Etude comparative de la coagulation acide des laits de vache, de chèvre et de brebis

Les effets du pH et de la température sur la coagulation acide des laits de vache, de chèvre et de brebis sont étudiés. L'accent est particulièrement mis sur les modifications des caractéristiques physico-chimiques de la micelle de caséines (composition caséique, minéralisation, taille).

1.1. Résultats

1.1.1. Composition minérale et protéique des laits

Les compositions minérale et protéique des échantillons de laits sont présentées dans le Tableau III.1. Ces résultats montrent que le lait de brebis contient plus de caséines et de minéraux (Ca, Mg et P) que les laits de vache et de chèvre. Le lait de chèvre contient, comparativement au lait de vache, moins de caséines, environ les mêmes teneurs en calcium et en magnésium, et des teneurs moindres en phosphore. Il contient, en revanche, une proportion d'azote non protéique (NPN) plus élevée que celles des laits de vache et de brebis. Ces résultats sont proches de ceux obtenus par Anifantakis (1986) sur du lait de brebis, Holt et Jenness (1984) sur des laits de vache, de chèvre et de brebis et Vesperini-Jaubert (1992) sur du lait de chèvre.

Tableau III.1. La composition minérale et protéique des laits de vache, de chèvre et de brebis¹.

Variables	Lait de vache	Lait de chèvre	Lait de brebis
Protéines, g/l	31,1	28,8	49,5
Caséines, g/l	23,2	19,3	37,3
² NPN, %	4,7	11,5	4,8
Ca, g/l	1,14	1,34	2,06
Mg, g/l	0,11	0,10	0,21
P, g/l	1,07	0,79	1,34

¹les données sont les moyennes de trois mesures

²exprimé en pourcentages de la matière azotée totale.

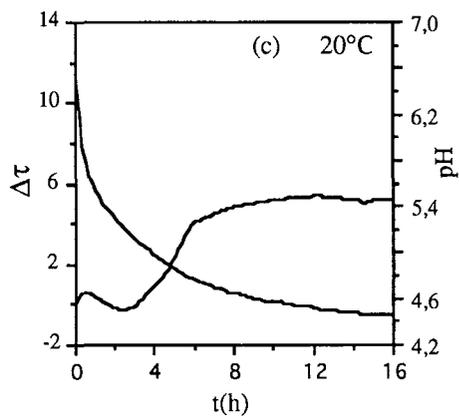
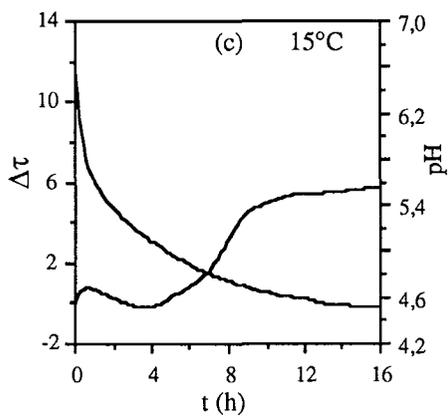
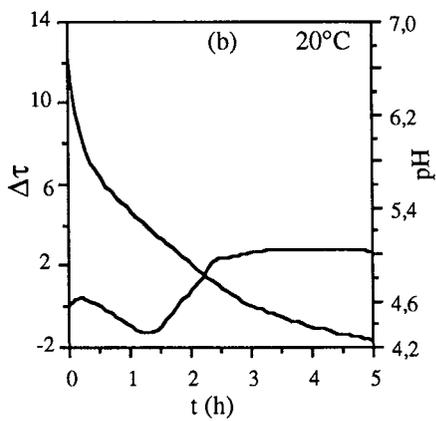
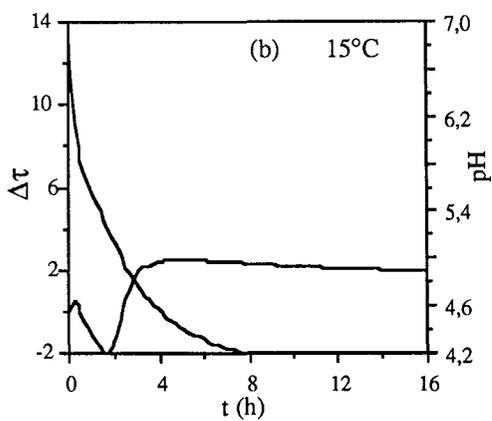
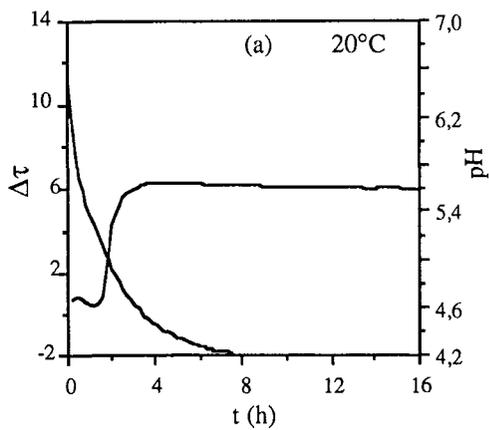
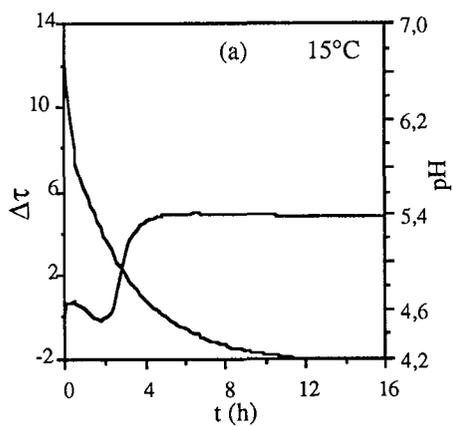
1.1.2. Cinétiques d'acidification des laits

Les profils d'acidification de laits écrémés de vache, de chèvre et de brebis à 15, 20, 30 et 40°C, par hydrolyse de 2,25% (p/vol) de glucono- δ -lactone, sont présentés à la Figure III.1. La cinétique d'acidification du lait de chèvre apparaît la plus rapide comparativement à celles des deux autres types de lait. Celle du lait de brebis est par contre la plus lente. A 15°C par exemple, le lait de chèvre atteint un pH de 4,2, au bout de huit heures d'acidification alors qu'il faut environ douze heures pour atteindre le même pH, dans le cas du lait de vache. Le lait de brebis, dans les mêmes conditions d'acidification, ne descend pas jusqu'à un tel pH. Il se stabilise au bout de seize heures à environ pH 4,5.

Ces différences de cinétique d'acidification du lait peuvent s'expliquer par les différences de pouvoir tampon du lait. Un pouvoir tampon élevé signifie une résistance plus marquée à l'acidification du lait. En effet, le lait de brebis, comparativement aux laits de vache et de chèvre, présente le pouvoir tampon le plus élevé (Assenat, 1985). Le pouvoir tampon du lait de chèvre est supérieur ou inférieur à celui du lait de vache, suivant les auteurs (Le Mens, 1985).

D'autre part, pour chacun des trois types de lait, la cinétique d'acidification est d'autant plus rapide que la température est élevée. A 15°C, le temps d'acidification du lait, nécessaire pour atteindre un pH de 4,2, par exemple, est respectivement de douze et huit heures pour les laits de vache et de chèvre alors qu'il n'est que respectivement de deux et une heure pour ces deux types de lait lorsque la température d'acidification est de 40°C. Le lait de brebis atteint cette valeur de pH (4,2) au bout d'environ trois heures et demie d'acidification à 40°C.

Un accroissement de la température entraîne, en effet, une augmentation de la vitesse de la réaction d'hydrolyse de GDL en acide gluconique et par conséquent de la cinétique d'acidification du lait.



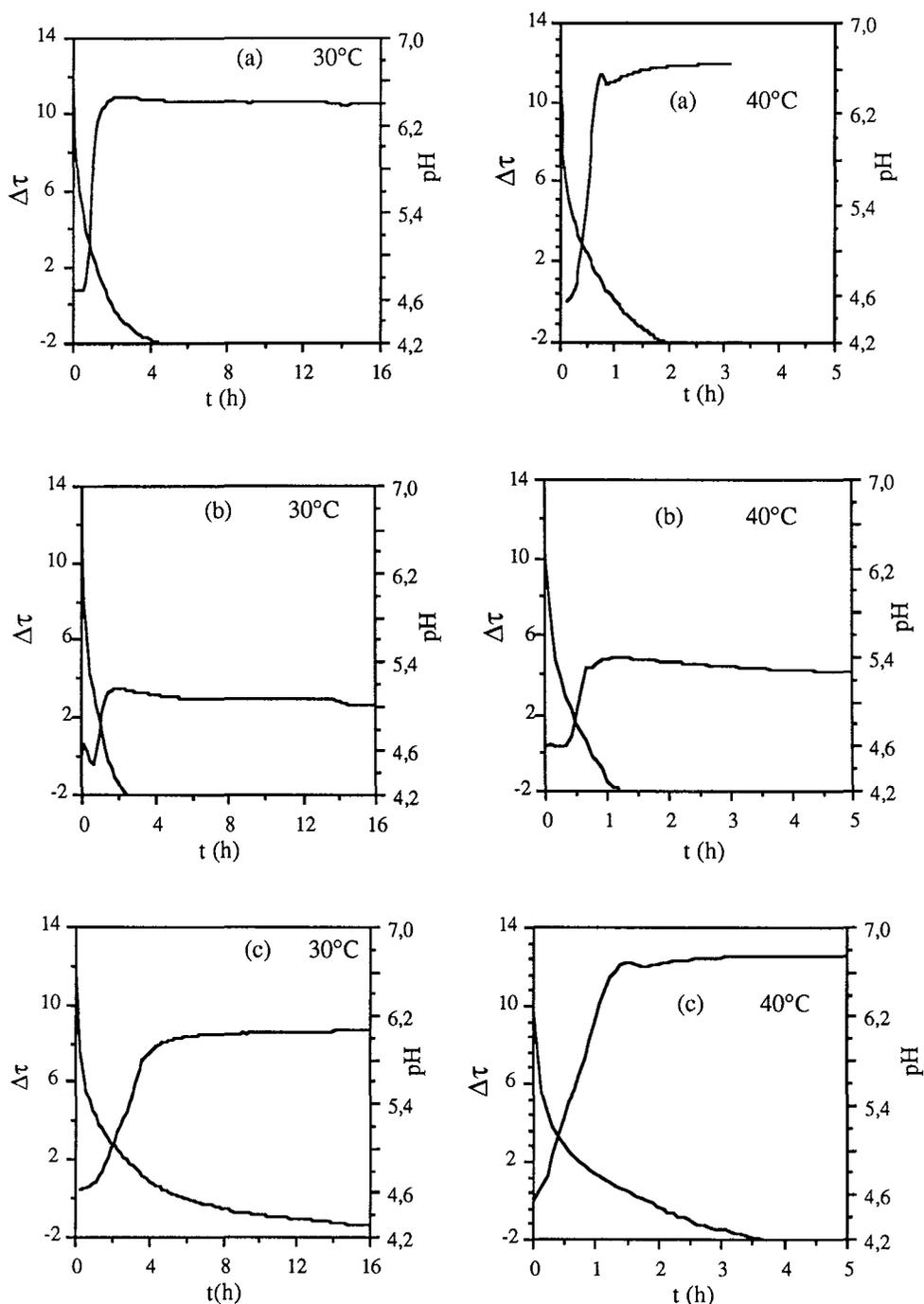


Figure III.1. Evolution de la turbidité et du pH au cours de l'acidification des laits de vache (a), de chèvre (b) et de brebis (c) à 15, 20, 30 et 40°C. (D'après les enregistrements obtenus).

1.1.3. Evolution de la turbidité du lait au cours de l'acidification

Les profils typiques de variation de la turbidité des laits de vache, de chèvre et de brebis en fonction du temps, à 15, 20, 30 et 40°C sont présentés à la Figure III.1. Deux types de profils peuvent être distingués, selon la température.

Le premier profil turbidimétrique typique dit à "basses températures" est observé à 15 et à 20°C pour les trois types de lait et à 30°C pour le lait de chèvre. Il présente trois phases (I, I' et II) : un accroissement initial de la turbidité, suivi d'une diminution significative et par la suite d'une augmentation logarithmique de la turbidité (Figure III.2). La diminution de la turbidité est d'autant plus prononcée que la température est plus faible. Elle apparaît également beaucoup plus marquée pour le lait de chèvre que pour les deux autres types de lait (Figure III.1).

Le second profil turbidimétrique caractéristique est observé à 30 et à 40°C pour les laits de vache et de brebis et à 40°C pour le lait de chèvre. Il peut être divisé en deux phases (I et II) : une légère augmentation initiale de la turbidité suivie d'un accroissement logarithmique de la turbidité. Il y a, dans ce cas, une extinction d'une partie du signal turbidimétrique (baisse de la turbidité) observé dans le cas du premier profil (Figure III.2).

D'autre part, quel que soit le type de lait, l'accroissement final de la turbidité est beaucoup plus rapide et plus important à 40 et 30°C qu'à 20 et 15°C. Il apparaît également plus rapide et plus marqué dans le cas des laits de vache et de brebis que dans le cas du lait de chèvre (Figure III.1).

Pour chacun de ces deux profils, une légère diminution continue de la turbidité est observée, après la phase d'augmentation logarithmique du signal turbidimétrique. Cette baisse de turbidité est particulièrement prononcée dans le cas du lait de chèvre (Figure III.1).

Par ailleurs, il semble plus judicieux de présenter l'évolution de la turbidité du lait, au cours de l'acidification, en fonction de la variable pH au lieu de la variable temps. Ainsi, les diagrammes dits acido-turbidimétriques, pour les trois types de laits à 15, 20, 30 et 40°C, sont élaborés (Figure III.3). Comme pour l'évolution du signal turbidimétrique au cours du temps, les profils acido-turbidimétriques des trois types de laits peuvent être divisés en deux types : "basses températures" et "hautes températures".

Des profils acido-turbidimétriques analogues ont été observés par Banon et Hardy (1991, 1992) sur du lait écrémé reconstitué de vache à 15, 20, 30 et 42°C, en utilisant une dose de GDL . moindre (1,5% p/vol).

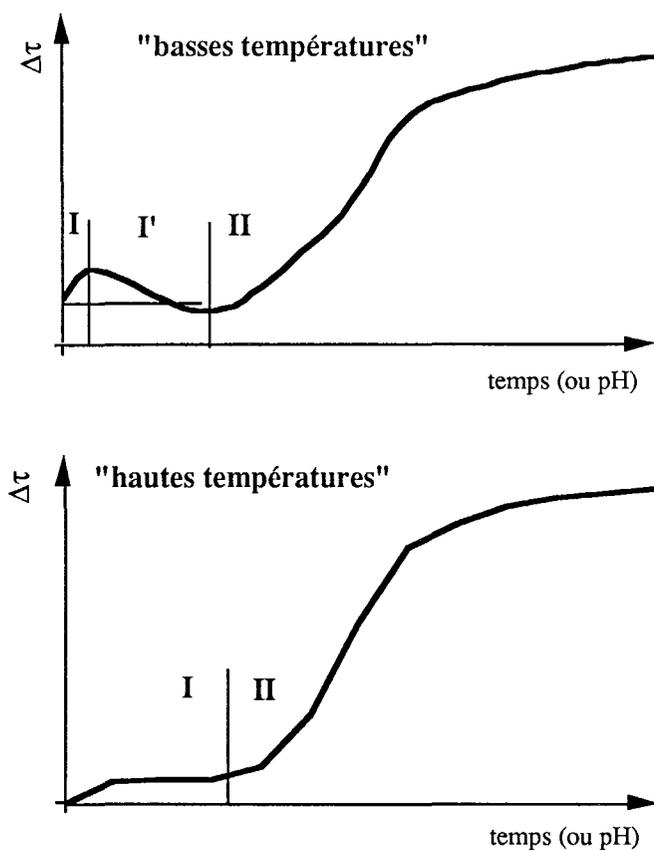


Figure III.2. Allures caractéristiques des deux profils d'évolution de la turbidité du lait en fonction du temps (ou du pH), aux "basses températures" et "hautes températures".

D'autre part, les valeurs de la turbidité initiale (τ_0) des laits écrémés de vache, de chèvre et de brebis à 15, 20, 30 et 40°C, sont présentées au Tableau III.2. Ces valeurs sont les plus faibles pour le lait de vache et les plus élevées pour le lait de brebis.

En revanche, les valeurs de la turbidité finale des gels acides ($\Delta\tau_f$) de lait de vache, à chacune des températures étudiées, sont comparables à celles des gels acides de lait de brebis. Celles du gel acide de lait de chèvre sont beaucoup plus faibles (Tableau III.2). Pour les trois types de lait, les valeurs des turbidités initiale et finale augmentent avec la température.

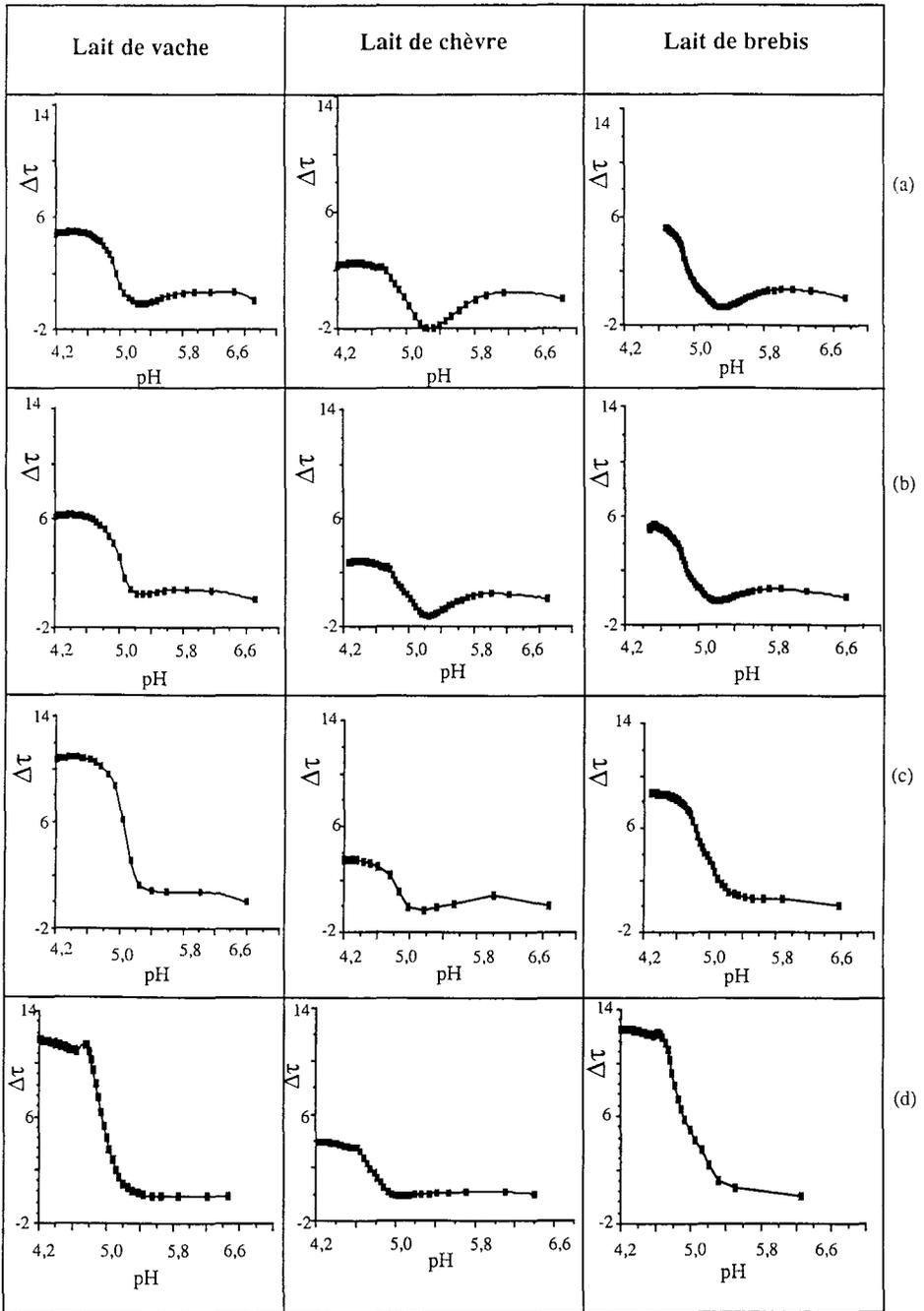


Figure III.3. Courbes caractéristiques de l'évolution de la turbidité $\Delta\tau$ ($1000 \times$ NTU), des laits écrémés de vache, de chèvre, et de brebis en fonction du pH à 15°C (A), 20°C (B), 30°C (C) et 40°C (D).

Tableau III.2. pH initial (pH_0) et turbidités initiale τ_0 ¹ et finale $\Delta\tau_f$ ² ($1000 \times NTU$), des laits écrémés de vache, de chèvre et de brebis à 15, 20, 30 et 40°C.

Température (°C)	Lait de vache		Lait de chèvre		Lait de brebis	
	τ_0	$\Delta\tau_f$	τ_0	$\Delta\tau_f$	τ_0	$\Delta\tau_f$
15	6,64	4,79	9,52	2,31	10,83	5,38
20	6,92	6,08	9,93	2,70	11,30	5,90
30	7,35	10,68	10,48	3,46	11,71	8,11
40	7,63	11,13	10,75	4,65	12,43	11,92

¹Lait à pH naturel (pH_0)

²Lait acidifié à pH 4,6

1.1.4. Evolution de la viscosité dynamique des laits au cours de l'acidification

Les viscosités des laits de vache, de chèvre et de brebis à 20°C sont mesurées entre le pH initial du lait et pH 5,0. A cause des limites instrumentales, aucune mesure n'a pu être effectuée en dessous de pH 4,9. Les profils de viscosité en fonction du pH pour les trois types de lait sont de forme parabolique, avec un minimum autour de pH 5,9 (Figure III.4).

Banon et Hardy (1991, 1992) ont obtenu, pour du lait écrémé reconstitué de vache à 15, 20, 30 et 42°C, des profils similaires. Ces profils de viscosité dynamique en fonction du pH sont également en accord avec les évolutions de l'hydratation micellaire au cours de l'acidification des laits de vache et de chèvre mesurées respectivement par Snoeren et *al.* (1984) et Vesperini-Jaubert (1992).

D'autre part, les viscosités du lait de brebis, à des valeurs de pH identiques, sont plus élevées que celles des laits de vache et de chèvre. Au pH naturel du lait, la viscosité du lait de chèvre est légèrement plus faible que celle du lait de vache. En revanche, la diminution de la viscosité du lait avec l'abaissement du pH est moins prononcée pour le lait de chèvre que pour le lait de vache (Figure III.4).

Par ailleurs, Assenat (1985) signale que le lait de brebis présente une viscosité nettement plus élevée que celle du lait de vache. Parkash et Jenness (1968) montrent, d'autre part, que la viscosité du lait de chèvre est plus faible que celle du lait de vache. Ces différences de viscosité des trois types de lait s'expliquent par les différences de composition du lait; le lait de brebis étant le plus riche (en matières sèches) alors que le lait de chèvre est le moins riche, parmi les trois types de lait (Tableau III.1).

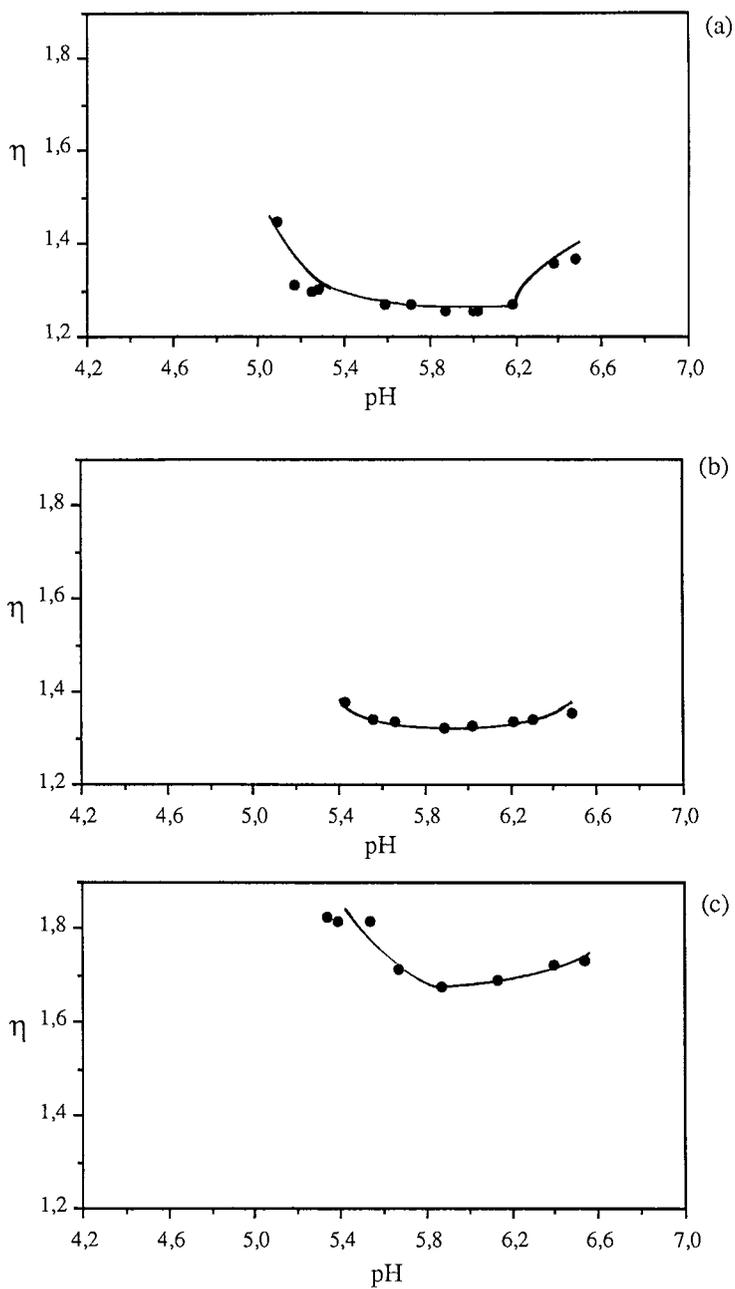


Figure III. 4. Variation de la viscosité dynamique (mPa.s) des laits écrémés de vache (a), de chèvre (b) et de brebis (c) au cours de l'acidification à 20°C.

1.1.5. Evolution de la taille des micelles de caséines au cours de l'acidification

Les mesures de la taille moyenne et de la distribution de taille des micelles de caséines des laits de vache, de chèvre, et de brebis montrent que les micelles caprines sont les plus grosses et présentent la distribution de taille la plus large; elles se répartissent entre environ 140 et 450 nm. Les micelles ovines sont, en revanche, les plus petites et leur distribution de taille est la plus étroite : entre environ 120 et 200 nm (Tableau III.3 et Figure III.5).

Tableau III.3. Diamètre hydrodynamique moyen d (nm) des micelles de caséines de laits de vache, de chèvre et de brebis, à pH naturel du lait et à 20, 30 et 40°C¹.

Température (°C)	Micelles bovines	Micelles caprines	Micelles ovines
20	170	230	140
30	105	160	120
40	50	75	60

¹Les données sont les moyennes de cinq mesures

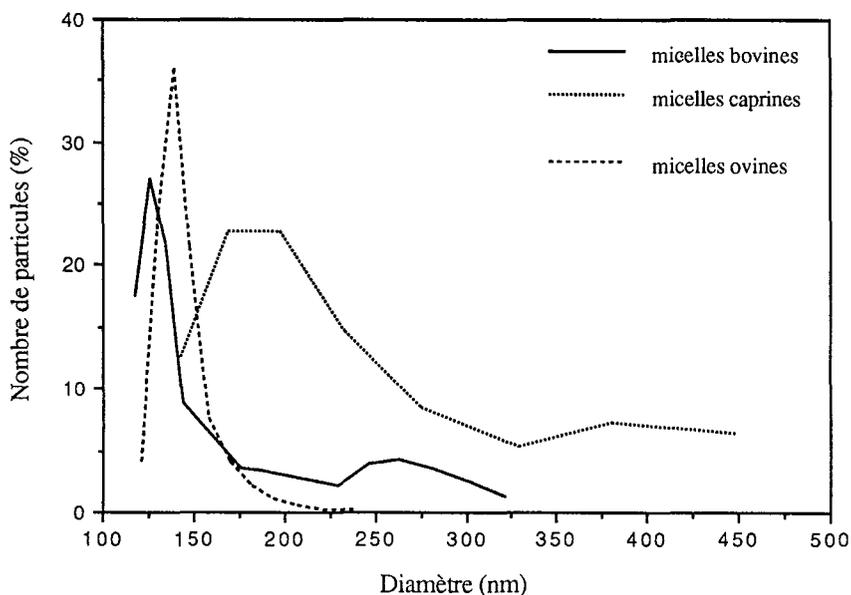


Figure III.5. Distribution de taille des micelles de caséines dans les laits écrémés de vache, de chèvre, et de brebis à pH naturel du lait et à 20°C.

Les valeurs de la taille moyenne ainsi que la forme de la distribution de taille des micelles de caséines des laits de vache et de chèvre sont en accord avec les observations de Remeuf (1988), de Buchheim et *al.* (1989) et de Vesperini-Jaubert (1992). Une distribution de taille des micelles ovines analogue à celle de la Figure III.5, est observée par Richardson et *al.* (1974) et par Buchheim et *al.* (1989). Ces auteurs obtiennent, par contre, des valeurs de la taille moyenne des micelles ovines, respectivement égales à 120 nm et 80 nm, inférieures à celle mesurée dans la présente étude (140 nm). Ces différences pourraient s'expliquer par les différences de techniques de mesure utilisées et de "type" de diamètre considéré. En effet, Richardson et *al.* (1974) et Buchheim et *al.* (1989) ont mesuré, par microscopie électronique, la taille des micelles de caséines sans leur couche "chevelue" externe, qui a disparu suite à la compression des micelles au cours de la préparation de l'échantillon (Walstra, 1979). La diffusion dynamique de la lumière permet, en revanche, de mesurer le diamètre hydrodynamique de la micelle; c'est-à-dire le diamètre représentant le coeur de la micelle de caséines avec sa couche "chevelue" externe et sa double couche électrique (couche d'hydratation).

D'autre part, le Tableau III.3 met en évidence que la taille moyenne des micelles de caséines bovines, ovines et caprines diminue considérablement avec l'augmentation de la température. Cette diminution de la taille micellaire est la plus importante dans le cas des micelles bovines et la plus faible dans le cas des micelles ovines. L'augmentation de la température entraîne, en effet, une diminution de la voluminosité micellaire (Darling, 1982; Vesperini-Jaubert, 1992) et par conséquent une réduction du diamètre hydrodynamique micellaire.

Il faut signaler également que dans la présente étude, la diminution de la taille moyenne micellaire avec l'augmentation de la température est beaucoup plus prononcée que dans les travaux de Desobry Banon (1991) et Vesperini Jaubert (1992) sur les micelles bovine et caprine respectivement.

Par ailleurs, les profils d'évolution de la taille moyenne des micelles de caséines bovines, caprines et ovines, en fonction du pH, à 20, 30 et 40°C, sont présentés à la Figure III. 6B, Figure III.7B et Figure III.8B respectivement.

Quelque soit la température, l'évolution de la taille des micelles bovines, caprines et ovines, en fonction du pH, se déroule en deux phases. Une première phase, entre le pH initial du lait et environ pH 5,2-5,0, au cours de laquelle la taille moyenne micellaire diminue légèrement (10 à 20 nm) suivie d'une seconde phase d'augmentation exponentielle de la taille micellaire, à des pH inférieurs.

Ces profils de la taille micellaire en fonction du pH sont assez proches de ceux observés par Banon et Hardy (1992) et par Vesperini-Jaubert (1992) dans le cas des micelles bovines et caprines respectivement.

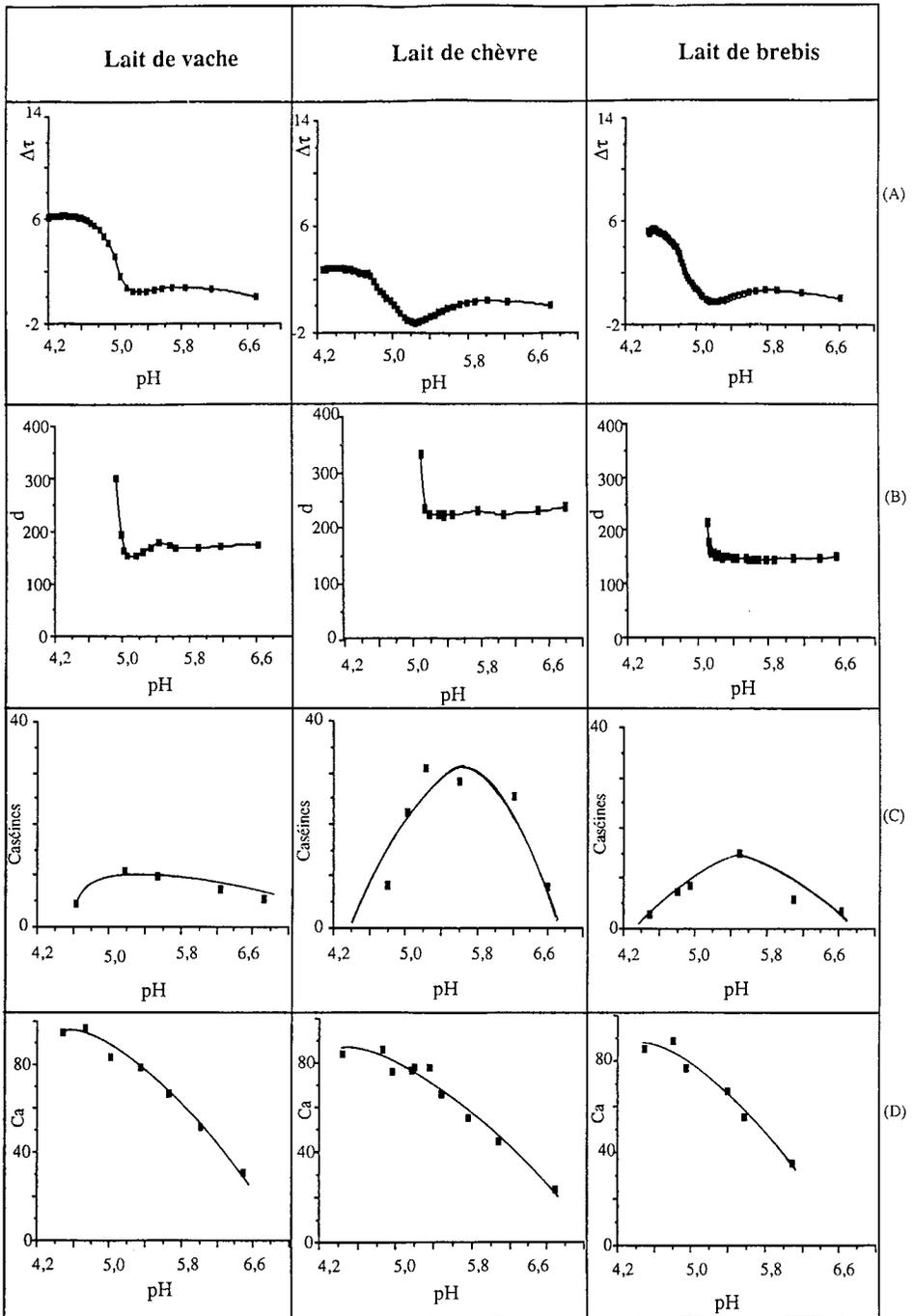


Figure III.6. Evolution des propriétés physico-chimiques des laits écrémés de vache, de chèvre, et de brebis en fonction du pH à 20°C : turbidité $\Delta\tau$ ($1000 \times \text{NTU}$) (A), diamètre hydrodynamique moyen (nm) des micelles de caséines (B), caséines dissociées de la micelle en % de la caséine totale (C) et calcium colloïdal solubilisé en % du calcium total (D).

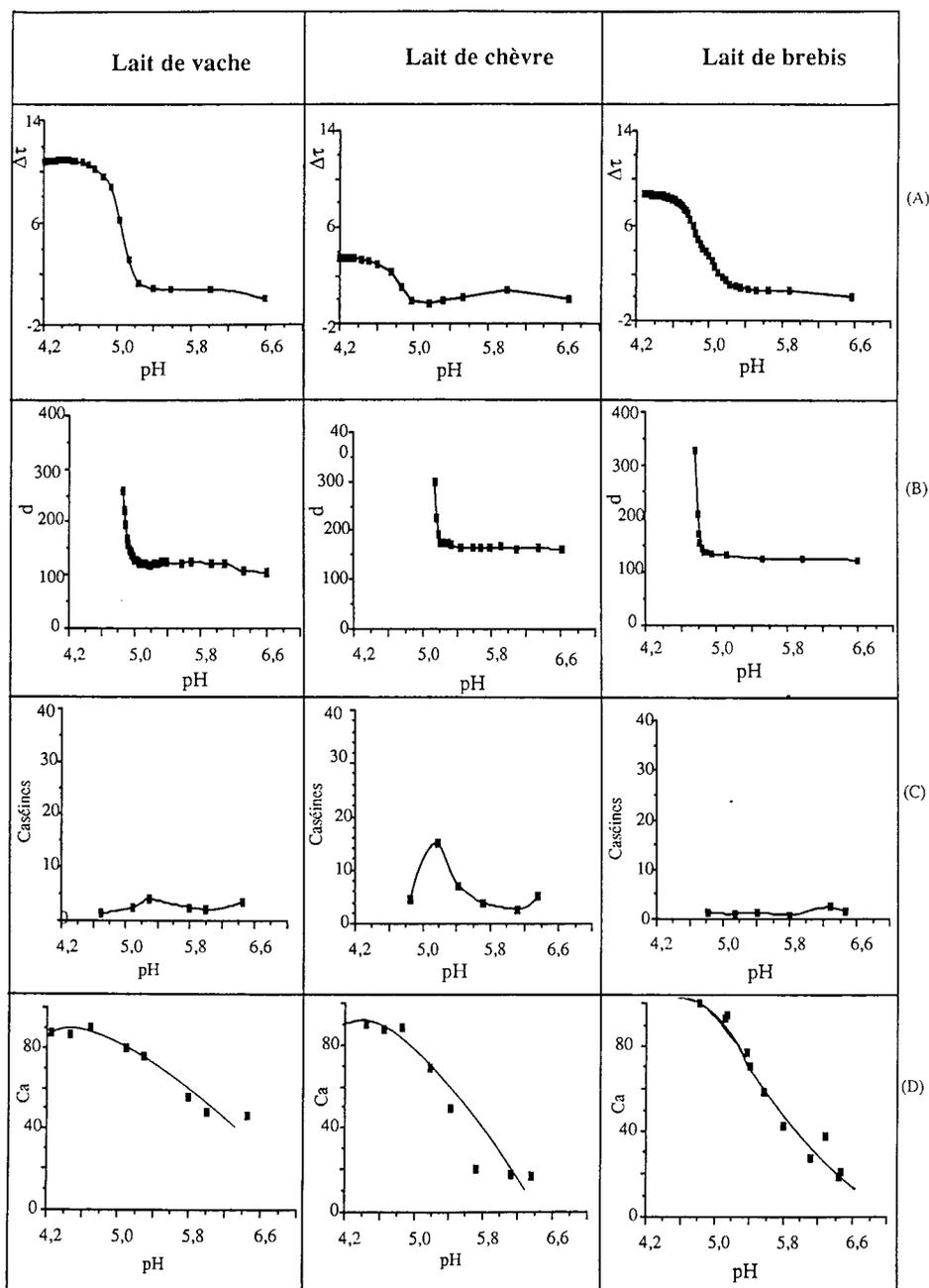


Figure III.7. Evolution des propriétés physico-chimiques des laits écrémés de vache, de chèvre, et de brebis en fonction du pH à 30°C : turbidité $\Delta\tau$ ($1000 \times \text{NTU}$) (A), diamètre hydrodynamique moyen (nm) des micelles de caséines (B), caséines dissociées de la micelle en % de la caséine totale (C) et calcium colloïdal solubilisé en % du calcium total (D).

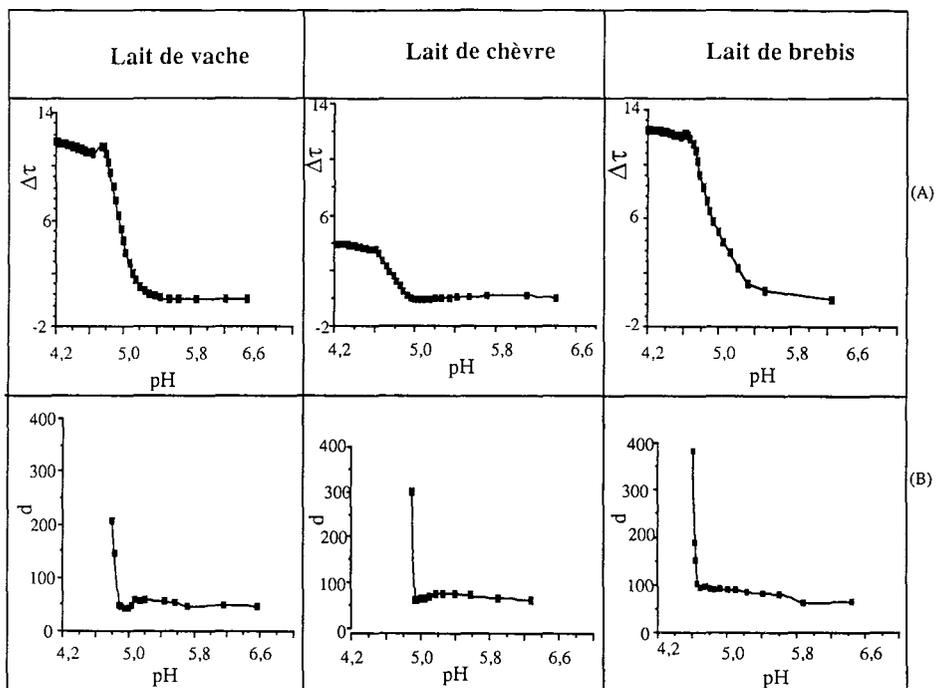


Figure III.8. Evolution des propriétés physico-chimiques des laits écrémés de vache, de chèvre, et de brebis en fonction du pH à 40°C : turbidité $\Delta\tau$ ($1000 \times \text{NTU}$) (A) et diamètre hydrodynamique moyen (nm) des micelles de caséines (B).

1.1.6. Dissociation des caséines à partir de la micelle au cours de l'acidification

La dissociation des caséines de la micelle, au cours de l'acidification des laits de vache, de chèvre et de brebis à 20°C, est présentée à la Figure III.6C. Il apparaît ainsi que la dissociation maximale a lieu autour de pH 5,5, et que les caséines caprines se dissocient plus facilement de la micelle que les caséines bovines et ovines. Des pourcentages de caséines dissociées d'environ 10, 30 et 15 sont obtenus respectivement pour les laits de vache, de chèvre et de brebis (Figure III. 6C). Par ailleurs, les pourcentages de caséines bovines dissociées sont plus faibles que ceux observés (30%) par Dalgleish et Law (1988).

A 30°C, seules les caséines caprines sont apparemment dissociées de la micelle (Figure III.7C), avec un maximum de dissociation, d'environ 15% de la caséine totale, autour de pH 5,2. D'une manière voisine, Vespérini-Jaubert (1992) montre, dans son étude sur le lait de chèvre, qu'environ 20 et 7% des caséines caprines sont dissociées à 24 et à 34°C respectivement, et à un pH proche de 5,5-5,3.

D'autre part, moins de 4% des caséines bovine et ovine sont dissociées (Figure III.7C) à 30°C. Ceci est en accord avec les résultats de Dalglish et Law (1988), qui montrent qu'à cette température la caséine bovine n'est pratiquement pas solubilisée.

1.1.7. Solubilisation des minéraux colloïdaux au cours de l'acidification

Les valeurs de la minéralisation des micelles de caséines bovines, caprines et ovines, présentées dans le Tableau III.4, montrent que la micelle caprine est la plus minéralisée et la micelle bovine la moins minéralisée, des trois micelles étudiées.

Pour ces trois types de lait, les teneurs en calcium colloïdal sont proches de celles obtenues par Irlam *et al.* (1985) et Remeuf (1988), dans le cas des laits de vache et de chèvre, et par Sood et Sidhu (1979), dans le cas des laits de vache, de chèvre et de brebis. En revanche, nos valeurs du phosphore colloïdal sont légèrement supérieures à celles obtenues par les auteurs précédents.

Tableau III.4. Valeurs de la minéralisation des micelles de caséines de laits de vache, de chèvre et de brebis¹.

Minéraux colloïdaux	Lait de vache	Lait de chèvre	Lait de brebis
Ca (mg/g de caséines)	31	40	36
Mg (mg/g de caséines)	1,8	2,2	1,9
P (mg/g de caséines)	23	31	23

¹Les données sont les moyennes de trois mesures

D'autre part, les courbes de solubilisation du calcium, du magnésium et du phosphore colloïdaux, au cours de l'acidification des laits de vache, de chèvre et de brebis à 20°C et à 30°C sont présentées dans les Figures III.9 et III.10.

Pour les trois types de lait et pour chacun de ces trois minéraux, les profils de solubilisation sont proches. Pour un même type de lait, le profil de solubilisation du Ca et du Mg sont assez similaires; les quantités de Mg solubilisé sont toutefois plus faibles. Le profil de solubilisation du phosphore est, en revanche, différent.

Dalglish et Law (1989) et Le Graët et Brulé (1993) ont observé des profils similaires, dans le cas du lait de vache. Les profils de calcium et de magnésium solubles en fonction du pH

obtenus par Vespirini-Jaubert (1992) sur du lait de chèvre sont également similaires. En revanche, pour le phosphore colloïdal, on n'observe pas sa refixation sur la micelle, comme le signale ce dernier auteur.

Entre le pH initial du lait et environ pH 5,0, la solubilisation du Ca est plus prononcée que celle du Mg; les pourcentages de Mg initialement solubles étant supérieurs. A pH 5,3, par exemple, plus de 75% du calcium et plus du 80% de magnésium micellaires sont solubilisés. A des valeurs de pH inférieures à pH 5,0, la solubilisation du calcium et du magnésium colloïdaux continue mais de manière beaucoup plus réduite (Figure III.9).

D'autre part, la solubilisation du phosphore est considérable, entre le pH initial du lait et environ pH 5,3. A pH 5,2, pour les trois types de lait, la quasi-totalité du phosphore micellaire est transféré au sérum.

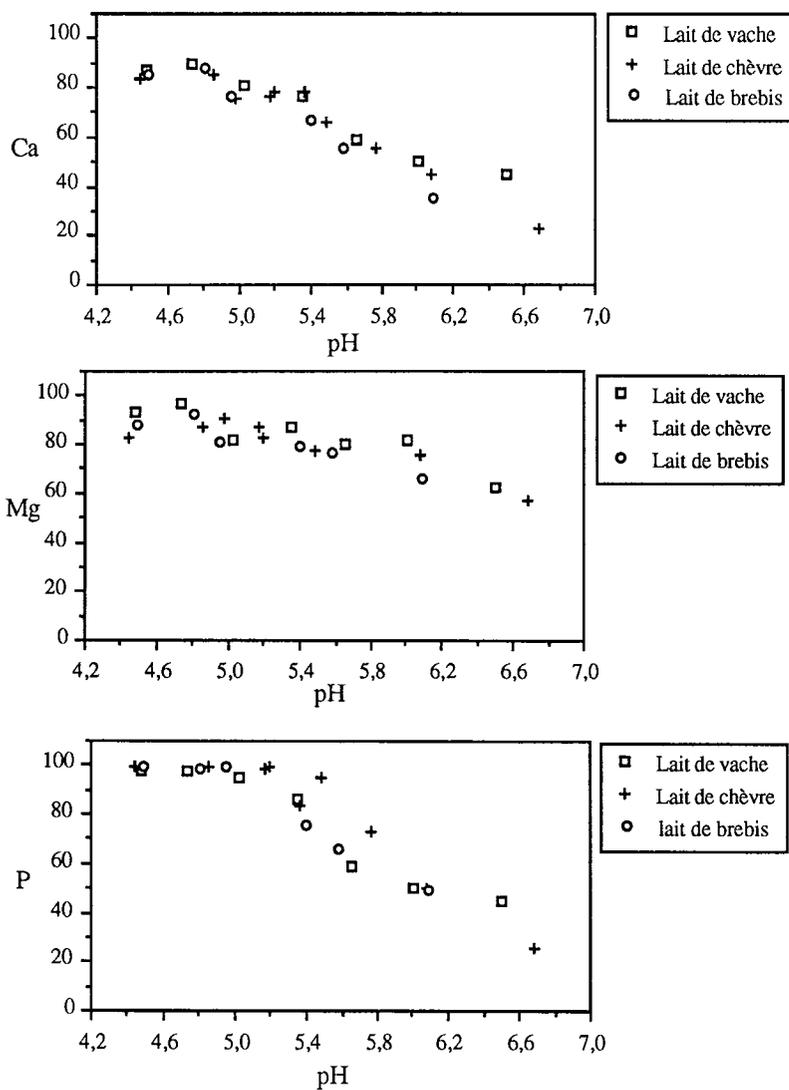


Figure III.9. Solubilisation du calcium, du magnésium et du phosphore colloïdaux (en %) au cours de l'acidification des laits de vache, de chèvre et de brebis à 20°C.

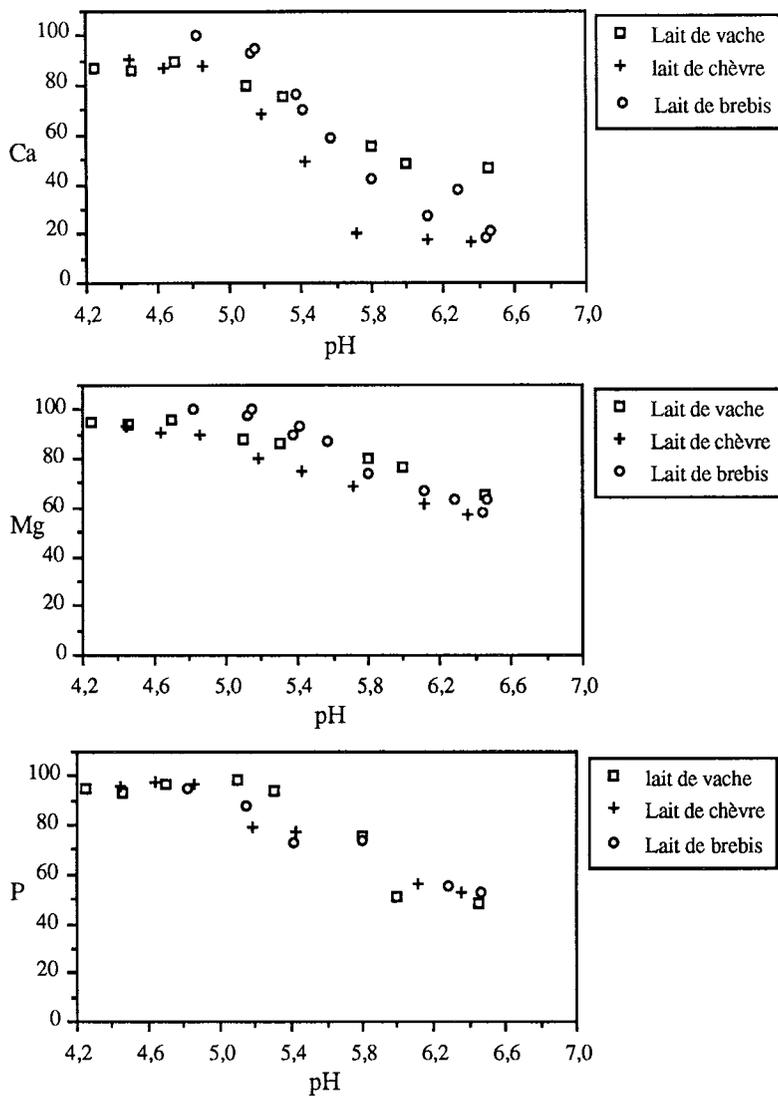


Figure III.10. Solubilisation du calcium, du magnésium et du phosphore colloïdaux (en %) au cours de l'acidification des laits de vache, de chèvre et de brebis à 30°C.

1.2. Discussion

Si dans le cas du lait de vache et parfois du lait de chèvre, l'effet de l'acidification sur la micelle de caséine était prévisible ou connu, en revanche, à notre connaissance, dans le cas du lait de brebis aucune étude similaire n'existe dans la littérature.

Les différences de turbidité initiale des laits de vache, de chèvre et de brebis (Tableau III.2) sont reliées aux différences de concentration caséique, de taille micellaire et de propriétés optiques de ces laits. La turbidité du lait peut, en effet, être considérée comme dépendante, entre autres, du poids moléculaire moyen et du facteur moyen de diffusion des micelles de caséines. Le facteur de diffusion est lui-même inversement proportionnel au carré du rayon particulaire moyen (Parker et Dalglish, 1977; Horne, 1984). L'augmentation de la turbidité initiale du lait avec la température, pour les trois types de lait (Tableau III.2), peut ainsi s'expliquer par la diminution de la taille micellaire (Tableau III. 3), suite à la réduction de la voluminosité des micelles de caséines lorsque la température croît (Darling, 1982; Walstra et Jenness, 1984; Vespini-Jaubert, 1992).

Par ailleurs, les profils acido-turbidimétriques (Figure III.3), montrent que les laits de vache, de chèvre et de brebis, au cours de l'acidification, ont un comportement général analogue avec cependant des différences qui leur sont spécifiques. En outre, selon la température, deux types de profils peuvent être distingués : le premier dit à "basses températures", correspond à un profil acido-turbidimétrique en trois phases et le second dit à "hautes températures" correspond à un profil acido-turbidimétrique en deux phases. Les deux profils sont détaillés ci-après.

1.2.1. Coagulation acide "basses températures"

Ce profil d'acidification, en trois phases, est observé pour les laits de vache et de brebis à 15 et 20°C et pour le lait de chèvre à 15, 20 et 30°C.

Phase I: du pH naturel du lait jusqu'à environ pH 5,9

Qu'il s'agisse du lait de vache, de chèvre ou de brebis, l'acidification du lait, de son pH naturel jusqu'à environ pH 5,9, entraîne une légère augmentation de turbidité (Figure III.3 A, B et C), une diminution de la viscosité dynamique (Figure III.4), une très légère réduction de la taille micellaire (Figure III.6B et Figure III.7B), une légère augmentation de la dissociation caséique (Figure III.6C et Figure III.7C) et de la solubilisation minérale (Figure III.9 et Figure III.10). A cette région de pH dominée par les attractions croissantes entre les groupes chargés positivement et négativement (van Hooydonk et al., 1986), Visser et al. (1986) ont montré que les micelles de caséines bovines conservent leur intégrité, leur forme et leur dimension. D'une manière voisine, Gastaldi-Bouabid (1994) a observé une diminution de l'hydratation micellaire, une solubilisation progressive du phosphate de calcium colloïdal et un début d'altération de

l'individualité des micelles de caséines au voisinage de pH 5,9. Vesperini-Jaubert (1992), dans son étude sur le lait de chèvre, montre une légère solubilisation minérale, une faible dissociation caséique, une diminution de l'hydratation micellaire et une légère diminution de la taille micellaire, à cette région de pH.

Pour tous les laits, l'accroissement de turbidité observé dans la présente étude est corrélée à une diminution simultanée de la viscosité dynamique (Figure III.4) et de la taille micellaire (Figures III. 6B et III.7B).

L'apport de protons dans le milieu, suite à l'acidification du lait jusqu'à environ pH 5,9, entraînerait un effondrement partiel de la couche "chevelue" externe des micelles (Banon et Hardy, 1992). Par conséquent, la voluminosité et la taille micellaires diminueraient ainsi que la viscosité dynamique. De faibles changements de la taille des micelles de caséines entraînent, en effet, une variation appréciable de la viscosité des dispersions micellaires concentrées telles que le lait écrémé (Griffin *et al.*, 1989). Cette contraction de l'enveloppe micellaire est supposée conduire à des particules plus denses, qui diffusent plus de lumière. En se référant à nos résultats l'hypothèse de l'effondrement partiel de la couche micellaire "chevelue" externe pourrait s'appliquer à la première phase d'acidification des laits de vache, de chèvre et de brebis aux "basses températures".

En effet, selon Walstra (1990), si la surface du noyau micellaire dispose d'une charge électrique, les "cheveux" eux-mêmes de la couche externe de la micelle sont chargés. La conformation de ces "cheveux" est affectée par la charge qu'ils portent eux-mêmes. Au pH naturel du lait, les charges présentes sur les "cheveux" sont majoritairement négatives, ceci conduirait à un étirement des cheveux à des distances éloignées de la surface particulaire. A mesure que le pH du milieu diminue, de plus en plus de charges positives sont présentes sur les "cheveux", ce qui conduirait à un repli des "cheveux" sur la surface du noyau micellaire et donc à un effondrement de la couche chevelue externe.

Phase I' : d'environ pH 5,9 à pH 5,2-5,0

Quels que soient les laits, la réduction du pH de 5,9 à 5,2-5,0, entraîne une baisse de turbidité (Figure III.3 A, B et C) et de la taille micellaire (Figure III.6B et Figure III.7B) et une augmentation de la viscosité (Figure III.4), de la dissociation caséique (Figure III.6C et III.7C) et de la solubilisation minérale (Figure III.9 et III.10). La baisse de la turbidité, qui atteint un minimum autour de pH 5,2, est une conséquence de l'expansion (ou relâchement) micellaire (Banon et Hardy, 1992). En effet, l'hydratation des micelles est considérable aux environs de ce pH (Tarodo de la Fuente et Alais, 1974; Snoeren *et al.*, 1984; Vesperini-Jaubert, 1992, Gastaldi-Bouabid, 1994). D'autre part, le phosphate de calcium micellaire et les cations divalents (Ca^{2+} et Mg^{2+}), qui forment des ponts salins entre les différentes molécules de caséines colloïdales sont largement solubilisés à partir des micelles, dans cette région de pH. En

outre, les interactions hydrophobes, qui contribuent au maintien de l'intégrité micellaire, deviennent beaucoup plus faibles aux basses températures (Walstra et Jenness, 1984). L'affaiblissement des liaisons électrostatiques et hydrophobes conduit à la dissociation de toutes les caséines avec un maximum aux environs de pH 5,3 (Dalglish et Law, 1988; Vesperini-Jaubert, 1992). A ce pH, la presque totalité du phosphate micellaire est transféré vers la phase non colloïdale (Figure III.9, Figure III.10). Cette désintégration micellaire progressive conduit à des particules poreuses très hydratées, avec des propriétés de diffusion de lumière plus réduites (Banon et Hardy, 1991, 1992), révélées par la diminution de turbidité, dans cette région de pH (Figure II.3 A, B et C).

La baisse de la turbidité observée à 30°C, uniquement pour le lait de chèvre (Figure III.3C), s'explique ainsi par la dissociation appréciable des caséines caprines comparée à celles des caséines bovines et ovines (Figure III.7C).

Phase II : à partir de pH 5,2-5,0

En dessous de cette région de pH (5,2-5,0), pour les trois types de lait, on assiste à une augmentation logarithmique de la turbidité (Figure III.3A, B et C), un accroissement exponentiel de la viscosité (Figure III.4) et de la taille moyenne micellaire (Figure III.6B et Figure III.7B), une diminution de la dissociation des caséines à partir de la micelle (Figure III.6C et Figure III.7C) et une solubilisation quasi-complète des minéraux micellaires (Figure III.9 et Figure III.10). L'augmentation sensible de la turbidité et de la viscosité des laits acidifiés signale le début de l'agrégation des particules de caséines. Une telle hypothèse est confirmée par l'augmentation exponentielle de la taille micellaire dans cette région de pH (Figure III.6B et Figure III.7B).

Par ailleurs, l'augmentation de la viscosité du lait acidifié s'explique par la formation d'amas de particules de caséines et non par une augmentation de la voluminosité des particules de caséines. En effet, dans cette région de pH, la voluminosité (ou l'hydratation) des particules de caséines diminue (Snoeren et al., 1984; Vesperini-Jaubert, 1992). D'autre part, la diminution de la proportion des caséines solubles, qui tend vers zéro aux valeurs de pH faibles (Figure III.6C et Figure III.7C), est le signe d'une réincorporation des molécules de caséines dans la structure "micellaire". Selon Heertje et al. (1985), la caséine β bovine serait la première à s'associer à la "micelle" car son pH_i se situe aux environs de pH 5,1-4,8. Sa réassociation à la "micelle" entraînerait celle des autres molécules de caséines particulièrement la caséine α_{s1} bovine, dont le pH_i est le plus bas.

Du fait de la présence de molécules de caséines solubles (capables de se réassocier avec les particules de caséines) et de particules de caséines de différentes tailles, l'agrégation pourrait avoir lieu entre amas ou entre amas et particules. Récemment, Horne (1987, 1989), Bremer et

al. (1989, 1990) et Nieuwenhuijse et Walstra (1991) ont montré que l'agrégation des "micelles" de caséines, induites par l'addition de présure, d'éthanol ou d'un acide ou par traitement thermique, conduit à la formation de flocs fractals. Ces flocs forment un réseau tri-dimensionnel continu lorsqu'ils occupent le volume total disponible. La formation d'un tel réseau peut être reliée à la stabilisation finale de la turbidité à sa valeur maximale (Figure III.3).

Conclusion

Les trois phases (I, I' et II) mises en évidence au niveau de la micelle de caséines, au cours de l'acidification des trois types de lait sont :

-la contraction de la structure micellaire suite à l'effondrement partiel de la couche "chevelue" externe

-l'expansion de la micelle, due à la dissociation des molécules de caséines et des minéraux

-l'agrégation des particules de caséines, conduisant à la formation du gel, en raison de l'affaiblissement important des répulsions stérique et électrostatique.

Une quatrième phase dite de contraction de la micelle, précédant ou ayant lieu simultanément avec l'agrégation, pourrait également être considérée. Cette contraction serait due à la réincorporation des molécules de caséines dans la structure micellaire.

Les différences entre les laits seront discutées dans le paragraphe 1.2.3.

1.2.2. Coagulation acide "hautes températures"

Ce profil d'acidification, en deux phases, est observé pour les laits de vache et de brebis à 30 et 40°C et pour le lait de chèvre à 40°C. Dans ce cas, la phase I' correspondant à la baisse de turbidité entre pH 5,9 et 5,2, n'est plus observée.

Phase I : du pH naturel du lait jusqu'à pH 5,2-5,0

L'acidification des trois types de lait s'accompagne, dans ce cas, d'une légère augmentation de turbidité (Figure III.3 C et D), d'une très légère diminution de la taille micellaire (Figure III.7B et Figure III.8B) et d'une solubilisation sensible des minéraux micellaires (Figure III.10). En revanche, la dissociation des caséines de la micelle est négligeable (Figure III.7C), ce qui peut expliquer l'absence de la baisse de turbidité observée pour les laits de vache et de brebis à 30 et à 40°C et pour le lait de chèvre à 40°C, dans cette région de pH (Figure III.3 C et D). En effet, Dalgleish et Law (1988) ont montré qu'à 30°C, la dissociation des molécules de caséines bovines à partir de la micelle est très faible (environ 4 %). D'une manière voisine, Vespérini-Jaubert (1992) a montré qu'à 34°C, seules environ 7% des caséines caprines sont solubles.

D'autre part, Banon et Hardy (1992) ont montré que la viscosité dynamique du lait reconstitué de vache à 30 et 42°C, passe initialement par un minimum aux environs de pH 5,70. Un phénomène similaire est supposé avoir lieu dans le cas des laits de chèvre et de brebis à 30 et 40°C.

L'accroissement initial de la turbidité, la diminution de la viscosité dynamique du lait acidifié ainsi que la faible réduction de la taille micellaire, nous amène à considérer que l'hypothèse précédente de l'effondrement partiel de la couche "chevelue" externe s'applique également, dans ce cas, à la première phase d'acidification des trois types de laits.

Phase II : à partir de pH 5,2-5,0

En dessous de cette région de pH, on assiste, comme pour le profil précédent, à une augmentation logarithmique de la turbidité (Figure II.3 C et D), à un accroissement exponentiel de la taille micellaire (Figure II.7B) et à une solubilisation complète des minéraux colloïdaux, particulièrement, le phosphore qui se solubilise entièrement de la micelle aux environs de pH 5,2.

L'augmentation de la turbidité et de la taille micellaire sont le signe d'une agrégation entre particules de caséines.

Comparativement au cas précédent, l'agrégation se fera cette fois-ci entre des particules de caséines plus petites (Tableau III.3), plus "rigides" (interactions hydrophobes plus importantes) et n'ayant pas subi au préalable une perte de leur contenu caséique.

Corrélativement, les gels formés apparaissent avoir une structure plus dense dans ce cas. En effet, les valeurs de la turbidité finale, qui peuvent fournir un renseignement global sur la structure du réseau de gel sont plus élevées que dans le cas précédent. Ces différences de la turbidité finale du gel acide sont à relier aux différences de températures d'acidification et de types de laits, qui seront discutées par la suite.

Conclusion

Dans le cas de la coagulation acide "hautes températures" les micelles de caséines ne mettent en évidence que deux phases :

- une légère contraction, suite à l'effondrement partiel de leur couche "chevelue" externe
- une agrégation, conduisant à la formation du gel acide.

1.2.3. Explication des différences de coagulation acide entre les trois types de lait

Les différences de concentration caséique, du type de caséines et d'équilibre minéral dans les trois types de lait peuvent expliquer les différences de dissociation et d'agrégation caséiques au cours de l'acidification.

En effet, comparativement aux autres types de caséines, la caséine β est la fraction caséique majoritairement dissociée (Dalglish et Law, 1988; Vesperini-Jaubert, 1992). Elle constitue environ le tiers des caséines bovines, les deux tiers des caséines caprines et la moitié des caséines ovines (Assenat, 1985; Anifantakis, 1986; Vesperini-Jaubert, 1992). D'autre part, Ono et Creamer (1986) et Vesperini-Jaubert (1992) ont montré que la caséine β caprine se dissocie facilement à partir de la micelle. La bonne solubilisation des caséines caprines à partir de la micelle (30 et 15% à 20 et 30°C respectivement), comparativement aux caséines bovines et ovines (Figure III.6C) peut expliquer l'importance de la baisse de la turbidité (phase I) du lait de chèvre comparativement à celles des laits de vache et de brebis (Figure III.3, A et B).

L'équilibre minéral dans le lait pourrait également affecter la dissociation des caséines. En effet, le partage des caséines entre les phases soluble et micellaire, est peu altéré lorsque il y a plus d'1 mM de Ca^{2+} libres dans le milieu. A des concentrations plus faibles, la proportion de caséines solubles croît considérablement. La dissociation est plus élevée pour les caséines κ et β que pour les caséines α_{s1} et α_{s2} (Holt et al., 1986). L'activité du Ca^{2+} dans le sérum, à pH naturel du lait, varie de 2 mM pour le lait de vache, à 2,6 mM pour le lait de chèvre et à 1,2 mM pour le lait de brebis (Holt et Jenness, 1984). Ces différences sont-elles suffisantes pour avoir une influence sur la dissociation des caséines?

Par ailleurs, l'accroissement de la turbidité du lait acidifié (qui renseigne sur la cinétique d'agrégation caséique) et les valeurs de la turbidité finale du gel acide, plus importants dans le cas des laits de vache et de brebis que dans le cas du lait de chèvre, peuvent être reliés à la concentration caséique du lait. En effet, une concentration caséique élevée, comme celle des laits de brebis et de vache comparée à celle du lait de chèvre (Tableau III.1), entraîne un accroissement de la tendance des particules de caséines à s'associer et à former par la suite des gels plus fermes (Walstra et Jenness, 1984).

D'autre part, l'équilibre minéral du lait ainsi que le type de caséines peuvent affecter l'agrégation des particules de caséines (Walstra et Jenness, 1984; Bringe et Kinsella, 1991). Toutefois leur influence exacte reste à déterminer.

1.2.4. Explication de l'effet de la température

La température affecte considérablement la dissociation des molécules de caséines, l'agrégation et la gélification (Rose, 1968, Walstra et Jenness, 1984, Dalglish et Law, 1988).

En effet, l'augmentation de la température du lait entraîne principalement un accroissement des liaisons hydrophobes et par conséquent un renforcement de la structure micellaire. Les molécules de caséines sont alors beaucoup plus retenues dans la micelle. Un tel phénomène peut expliquer l'absence de dissociation caséique dans les laits de vache et de brebis à 30°C (alors qu'à 20°C elle est appréciable) et sa diminution dans le lait de chèvre entre 20°C et 30°C. D'autre part, l'augmentation de la température accélère la diffusion particulaire (mouvement brownien) et par conséquent favorise l'agrégation des particules de caséines et renforce la fermeté du gel formé, en raison de l'accroissement des interactions hydrophobes (Walstra et Jenness, 1984; Bringe et Kinsella, 1990). Ceci permet d'expliquer d'une part, l'augmentation, plus rapide et plus importante, de la turbidité à 40 et 30°C qu'à 20 et à 15°C, pour les trois types de laits (Figure III.2) et d'autre part, l'importance des valeurs de la turbidité finale du gel aux températures élevées (Tableau III.2).

I.3. Conclusions

Selon notre étude, on constate que les différences de composition des micelles de caséines et d'équilibre minéral, n'altèrent pas l'allure du processus d'acidification des laits de vache, de chèvre et de brebis. Toutefois, les gels acides formés semblent avoir des structures différentes. Le coagulum acide du lait de chèvre à 15 et 20°C ressemble plus à une dispersion de grosses particules qu'à un réseau continu. Aux températures plus élevées (30 et 40°C), le technologue constatera que les gels acides de lait de chèvre apparaissent lors de leur manipulation les plus fragiles, en comparaison avec ceux des laits de vache et de brebis. Dans la seconde partie de ce chapitre, la caractérisation du comportement viscoélastique des gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis, par les méthodes rhéologiques dynamiques, sera présentée. Auparavant, la structure des agrégats caséiques constituant le gel acide sera quantifiée au moyen de la détermination de leur dimension fractale.

Partie 2 : Quantification de la structure des agrégats caséiques et des gels acides de laits au moyen des concepts de la géométrie fractale

Dans la partie 1, on a décrit les évolutions des mécanismes physico-chimiques sous-jacents à l'agrégation des micelles de caséines, au cours de l'acidification du lait, en s'intéressant particulièrement à ce qui se passe au niveau de la micelle. Ces mécanismes, nombreux et complexes, évoluent selon la température et le type de lait. Ils conduisent apparemment à la formation de gels, ayant des caractéristiques technologiques différentes. Dans cette seconde partie, les méthodes récemment développées pour la dynamique des systèmes complexes sont utilisées afin d'étudier la dynamique d'élaboration des gels, à partir de la formation d'agrégats lors de l'abaissement du pH du lait.

2.1. Etude de la structure des agrégats de micelles caséines

Les dimensions fractales permettent de décrire quantitativement les structures désordonnées telles que les agrégats colloïdaux. Comme on l'a vu dans la synthèse bibliographique, elle peuvent renseigner sur les mécanismes conduisant à la formation des agrégats. Les dimensions fractales des agrégats de micelles de caséines formés par acidification des laits de vache, de chèvre et de brebis à 20, 30 et 40°C sont déterminées expérimentalement au moyen de la diffusion statique de la lumière.

2.1.1. Détermination expérimentale de la dimension fractale des agrégats caséiques

La Figure III.11 montre une dépendance linéaire entre le logarithme de l'intensité moyenne de la lumière diffusée $I(Q)$ et celui du nombre de diffusion Q , pour des agrégats caséiques formés par acidification des laits écrémés de vache, de chèvre et de brebis, dilués au 50^{ème}, à 20, 30 et 40°C. Une telle dépendance dite loi de puissance signifie que les agrégats formés sont de nature fractale; la pente de la droite $\log I$ vs. $\log Q$ est égale à la dimension fractale des agrégats. A noter que cette loi n'est vérifiée que si les agrégats formés sont déjà suffisamment grands par rapport à leurs particules primaires. Dans notre cas, l'exploitation d'une telle loi s'effectue sur des agrégats de taille moyenne comprise entre 1000 et 2000 nm alors que les micelles d'origine sont entre 50-250 nm. On peut estimer par un calcul géométrique simple (Chapitre I, équation I.2) que dans de tels agrégats on a environ 50 à 1500 particules de caséines.

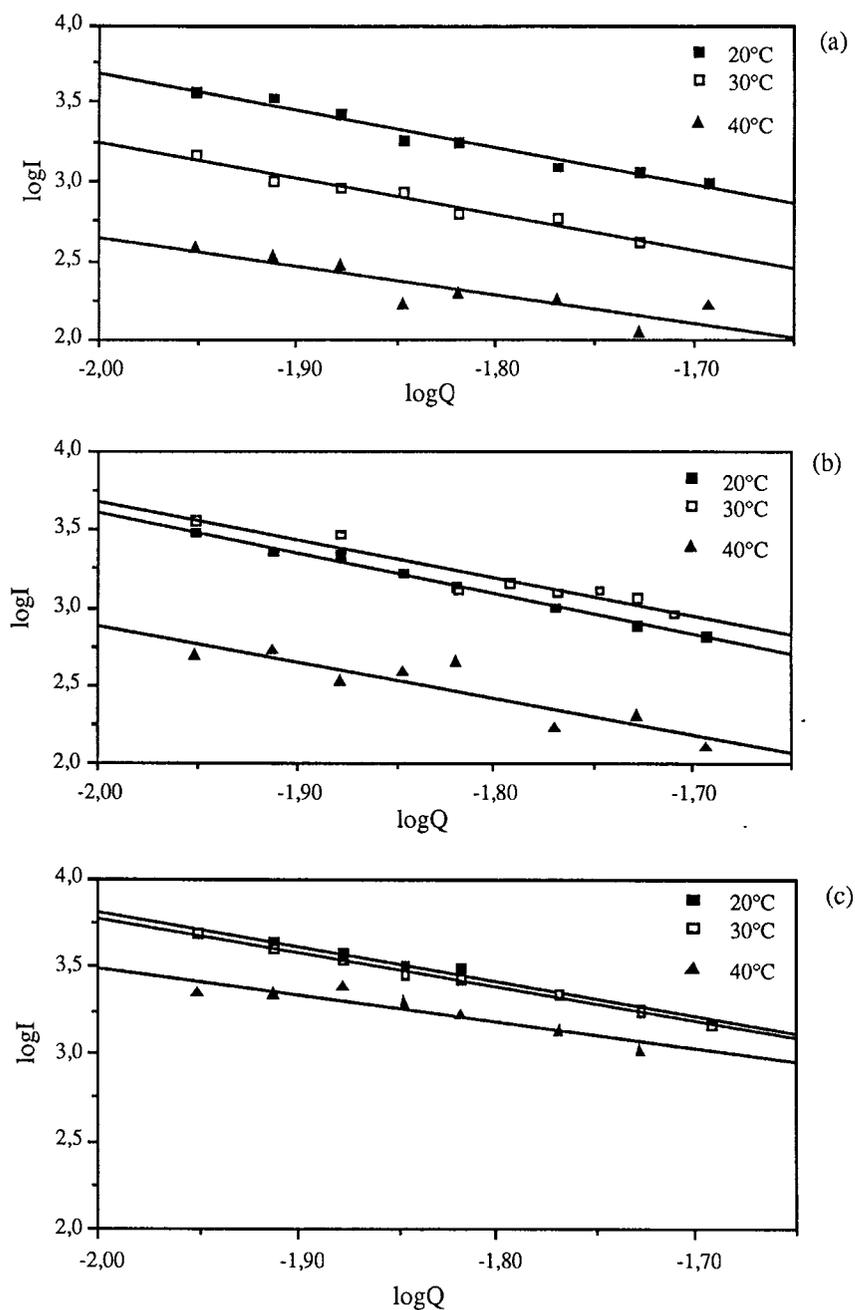


Figure III.11. Dépendance de l'intensité moyenne de lumière diffusée I (en $1000 \times$ nombre de photons) en fonction du nombre d'onde de diffusion Q (nm^{-1}) pour des agrégats caséiques, de plus de 1000 nm de diamètre hydrodynamique, formés par acidification des laits écrémés de vache (a), de chèvre (b) et de brebis (c), dilués au 50^{ème}, à 20, 30 et à 40°C.

Les valeurs de la dimension fractale des agrégats des "micelles" caséines de ces trois types de lait, à 20, 30 et 40°C sont présentées au Tableau III.5. Il apparaît ainsi, qu'à une température donnée, la dimension fractale des agrégats caséiques de lait de chèvre est supérieure à celle des agrégats caséiques de laits de vache et de brebis. La dimension fractale des agrégats de micelles de caséines de lait ovin est sensiblement plus faible que celle des agrégats des deux autres types de lait. Il apparaît également que la dimension fractale des agrégats de micelles de caséines est d'autant plus élevée que la température est faible, particulièrement, pour les agrégats caséiques de laits de vache et de chèvre.

Tableau III.5. Dimension fractale des agrégats de micelles de caséines, de plus de 1000 nm de diamètre hydrodynamique, formés par acidification des laits écrémés de vache, de chèvre et de brebis, dilués au 50^{ème}, à 20, 30 et 40°C¹.

Température (°C)	Agrégats caséiques de lait de vache	Agrégats caséiques de lait de chèvre	Agrégats caséiques de lait de brebis
20	2,41 ± 0,08	2,61 ± 0,04	1,94 ± 0,04
30	2,26 ± 0,02	2,41 ± 0,04	1,91 ± 0,06
40	1,88 ± 0,10	2,24 ± 0,07	1,70 ± 0,09

¹Les données sont les moyennes de trois mesures

2.1.2. Discussion

De nombreux auteurs (Jullien, 1986; Meakin, 1989; Gouyet, 1992) s'accordent à dire que l'agrégation colloïdale est essentiellement un processus d'agrégation amas-amas. En effet, dans de tels systèmes, les amas eux-mêmes diffusent dans l'espace et se collent entre eux. Ce phénomène n'est pas pris en considération dans les modèles d'agrégation particule-amas, où seules les particules diffusent. Nous considérons donc que l'agrégation des "micelles" de caséines est de type amas - amas. Nous allons par la suite comparer nos valeurs expérimentales de dimension fractale avec celles obtenues à partir des différents modèles numériques de l'agrégation colloïdale en cherchant à répondre à la question suivante :

-Peut-on à partir du choix d'un modèle particulier expliquer la structure des agrégats caséiques obtenus et donc apporter une connaissance supplémentaire sur le mécanisme d'agrégation des micelles de caséines par acidification?

2.1.1.2. Comparaison des résultats expérimentaux avec ceux des modèles numériques de l'agrégation amas-amas

Dans les modèles numériques dits classiques (voir synthèse bibliographique), on suppose que les amas se collent de manière irréversible les uns aux autres par des liaisons

rigides. La situation est, cependant, sensiblement différente dans les systèmes réels, où les agrégats fractals sont susceptibles de se tordre et/ou de se fragmenter, résultat de l'effet des fluctuations thermiques et/ou des champs externes *e.g.* cisaillement, les forces de gravité (Lindsay *et al.*, 1987; Meakin et Jullien, 1988). Dans plusieurs cas, l'agrégation peut être considérée comme un processus en deux étapes : dans la première étape, les amas entrent en contact les uns les autres et sont liés par des forces, relativement faibles, de van der Waals. Dans la seconde étape, les amas deviennent attachés plus fermement les uns aux autres suite à la formation, par exemple, de liaisons covalentes. C'est particulièrement dans la première étape que la réorganisation structurale des amas a lieu (Meakin et Jullien, 1988). Dans les modèles numériques récents (Meakin et Jullien, 1988) où la possibilité de réarrangement des amas en cours d'agrégation est prise en compte, on observe une densification des agrégats et par conséquent une augmentation de leur dimension fractale avec le degré de réarrangement (Tableau III.6). Dans ces modèles, les réarrangements structuraux entraînent un accroissement du nombre de contacts entre les amas, en cours d'agrégation, et conduisent à la formation de boucles de particules (Meakin et Jullien, 1988).

Tableau III.6. Dimension fractale obtenue à partir des modèles numériques d'agrégation amas-amas.

Régime d'agrégation	Modèles "classiques"	Modèles avec réarrangement d'amas
DLCA*	1,78 ¹	2,20 ⁴
Agrégation balistique	1,95 ⁴	2,19 ⁴
RLCA**		
-systèmes monodisperses	2,00 ²	
-systèmes polydisperses	2,11 ^{2,3}	2,25 ⁴

¹Meakin (1983)

²Brown et Ball (1985)

³Jullien *et al.* (1984)

⁴Meakin et Jullien (1988)

*Agrégation amas-amas limitée par la diffusion

**Agrégation amas-amas limitée par la réaction

Quelque soit la température d'acidification considérée, les valeurs de la dimension fractale des agrégats de micelles de caséines du lait de chèvre (Tableau III.5) sont supérieures à celles prédites par les modèles numériques d'agrégation "simples" ou avec réarrangement. Les valeurs de la dimension fractale des agrégats caséiques du lait de vache sont également

supérieures à celles calculées à partir des modèles numériques. En revanche, la dimension fractale des agrégats caséiques du lait de vache à 40°C et celle des agrégats caséiques du lait de brebis à 20, 30 et 40°C peuvent être considérées comme proches de celles des modèles précédents.

Tous ces modèles, même ceux avec réarrangement des amas, ne permettent pas d'expliquer les valeurs élevées de dimension fractale que nous obtenons, par exemple, dans le cas de l'agrégation des micelles de caséines du lait de vache (2,41) et du lait de chèvre (2,61) à 20°C ou celle obtenue par Feder et *al.* (1984) pour des agrégats d'immunoglobuline humaine (2,56). Dans le cas de l'agrégation des molécules biologiques, telles que les protéines, Meakin et Jullien (1988) et Lin et *al.* (1989, 1990) considèrent qu'il existe des restructurations supplémentaires au cours desquelles les boucles de particules se plient, se tordent et/ou se fragmentent avec la possibilité de formation de nouveaux amas. Les particules colloïdales de molécules biologiques sont en général moins rigides que les autres systèmes colloïdaux comme les particules colloïdales d'or, de silice ou de latex de polystyrène. Les liaisons qu'elles forment sont également légèrement plus faibles. Ces deux effets peuvent conduire à une densification de la structure d'amas et par conséquent à un accroissement de la dimension fractale des agrégats (Lin et *al.*, 1990).

2.1.2.2. Les mécanismes d'agrégation des "micelles" de caséines

En comparant les valeurs expérimentales de la dimension fractale du Tableau III.5 avec celles générées par les modèles numériques (Tableau III.6), il semble que l'agrégation des micelles de caséines du lait de vache à 20 et 30°C et du lait de chèvre à 20, 30 et 40°C peut être de type RLCA, avec des réarrangements d'agrégats, plus importants que ne l'indiquent les modèles. En revanche, dans le cas du lait de vache à 40°C et du lait de brebis à 20, 30 et 40°C, la dimension fractale étant beaucoup plus faible, il est plus difficile, de prédire le mécanisme d'agrégation uniquement à partir de la valeur de la dimension fractale des agrégats. Le processus d'agrégation caséique peut en effet être du type RLCA, dans le cas d'un système monodisperse sans réarrangement d'amas ($D = 2,00$) ou du type DLCA, avec un léger réarrangement des amas.

Dans ce cas, des mesures de la cinétique de croissance des agrégats seraient nécessaires. En effet, dans le cas de systèmes de particules rigides, l'agrégation DLCA se caractérise par une cinétique de croissance des amas sous forme de loi de puissance alors que dans le cas de la RLCA, le rayon moyen des amas croît exponentiellement avec le temps (Lin et *al.*, 1989, 1990). Dans nos conditions expérimentales, deux problèmes limitent les possibilités de mesure des cinétiques de croissance des amas. Le premier est la sédimentation des agrégats, due aux forces de gravité, dont la vitesse est d'autant plus rapide que la taille des agrégats est grande et que la température est élevée. La sédimentation des agrégats est particulièrement rapide à 40°C.

Le second est lié à l'appareil (Malvern Zetasizer III), dont la limite en mesure de taille de particules, est atteinte aux environs de $2\mu\text{m}$.

Par ailleurs, les cinétiques d'agrégation, dans les présentes conditions de dilution et d'acidification, peuvent être considérées comme lentes : elles durent environ entre deux à huit heures selon la température et le type de lait. D'autre part, des résultats récents du laboratoire montrent que la cinétique d'acidification du lait par hydrolyse de GDL n'affecte pas la dimension fractale des agrégats caséiques. Ceci se comprend dans la mesure où même en utilisant des doses de GDL élevées, le temps d'acidification sera toujours très important par rapport au temps d'agrégation. Le temps d'acidification est défini comme le temps nécessaire pour abaisser le pH du lait dilué jusqu'au pH correspondant à l'agrégation; le temps d'agrégation correspond au temps entre le moment où la taille des particules commence à grandir et le moment où l'on ne peut plus mesurer.

La vitesse d'agrégation des "micelles" de caséines sera donc toujours limitée par le temps que mettent les micelles de caséines pour réduire suffisamment leur répulsion stérique et électrostatique. Pour se placer dans les conditions où la diffusion sera limitante, il faudrait une déstabilisation très rapide de la dispersion micellaire, par exemple, par acidification par HCl. En conséquence, nous considérons, dans le cas présent, que quels que soient le lait et la température, le régime d'agrégation est le même (lent) et qu'il est de type RLCA. Les différences de la dimension fractale des agrégats sont reliées aux différences du type de lait et de l'effet de la température d'acidification sur les trois micelles de caséines. Ces deux effets sont discutés ci-après.

2.1.2.3. Explication des différences de la dimension fractale des agrégats caséiques

La dimension fractale des agrégats caséiques du lait de chèvre, plus élevée que celle des agrégats du lait de vache, pourrait s'expliquer par les différences de dispersité de la taille des micelles de caséines dans le lait, de dissociation des molécules de caséines à partir de la micelle et d'environnement ionique des particules de caséines durant l'agrégation.

Le lait de chèvre présente, en effet, la distribution de taille micellaire la plus large (Figure III.5) et se caractérise par la dissociation caséique la plus importante (Figure III.6C et III.7C). Brown et Ball (1985) montrent, par ailleurs, qu'un modèle polydisperse conduit à la formation d'amas avec une dimension fractale plus élevée que celle des amas générés par un modèle monodisperse.

D'autre part, les molécules de caséines dissociées pourraient, s'associer entre elles pour former des petits amas, qui interpénétreraient les autres gros amas, et/ou s'incorporer directement dans la structure des agrégats, ce qui résulte dans les deux cas en une augmentation de la compacité de la structure des agrégats et par conséquent de leur dimension fractale. Ceci est en accord avec le

fait que la dimension fractale des agrégats est plus faible à 40 et à 30°C qu'à 20°C. A cette dernière température la dissociation caséique, pour les trois types de lait, est beaucoup plus importante (Figure III.6C et III.7C).

L'équilibre minéral, initialement différent selon le type de lait, et la solubilisation minérale, dont les profils sont par contre assez proches pour les trois types de lait (Figure III.9 et III.10) affectent l'environnement ionique des particules de caséines en cours d'agrégation autrement dit les interactions interparticulaires dans les agrégats et donc la structure de ces derniers. L'influence exacte des minéraux solubles n'est, cependant, pas facile à prévoir.

Les valeurs de la dimension fractale des agrégats de micelles de caséines de lait de brebis sont inférieures à 2. Ces agrégats sont donc plus ténus et plus ouverts que ceux des laits de chèvre et de vache, dans les mêmes conditions de température et d'acidification.

Une explication simple de cette structure spécifique des agrégats des "micelles" de caséines du lait de brebis n'est pas évidente. On peut penser que les particules de caséines ovines petites (en comparaison avec les particules de caséines bovines et caprines) sont rigides et que les liaisons qu'elles forment entre elles sont fortes et irréversibles, comme dans le cas des agrégats de particules colloïdales d'or, de silice et de latex de polystyrène (Lin *et al.*, 1989). L'agrégation de telles particules conduirait à la formation d'agrégats ténus et ouverts, avec peu de boucles de particules. La faible dispersité des micelles de caséines dans le lait de brebis limite les possibilités d'interpénétration d'amas et donc la compacité des agrégats.

2.1.2.4. Effet de la température sur la dimension fractale des agrégats caséiques

Les valeurs de la dimension fractale des agrégats caséiques, pour les trois types de lait sont plus élevées à 20°C qu'à 30°C; elles sont également plus faibles à 40°C qu'aux deux autres températures. Raper et Amal (1993) ont observé également une diminution nette de la dimension fractale des agrégats de particules colloïdales d'hématite, formés par addition de KCl, avec l'augmentation de la température, pour les deux régimes lent (RLCA) et intermédiaire. Dans le cas du régime rapide (DLCA), la dimension fractale des agrégats de particules colloïdales d'hématite ne varie pas avec la température.

L'effet de la température sur la structure des agrégats (et donc sur la dimension fractale) peut se comprendre dans le sens où l'augmentation de la température entraîne, d'une part, un accroissement de la tendance des particules de caséines à s'agréger et des forces de liaisons (notamment hydrophobes) entre ces particules (Walstra et Jenness, 1984) et d'autre part une diminution de la voluminosité (et par conséquent de la taille) des particules de caséines (Darling, 1982; Vesperini-Jaubert, 1992). L'accroissement de la température favoriserait la tendance à la croissance des amas par rapport à leur restructuration. Horne (1989) parle, en effet, de la

présence d'un processus de restructuration des amas en concurrence avec leur croissance. Les particules de caséines constituant les agrégats formés à température plus élevée seront, par ailleurs, plus rigides et leur liaisons interparticulaires plus fortes, ce qui réduit les possibilités de réarrangement des amas et par conséquent la dimension fractale des agrégats.

2.1.3. Conclusions

L'agrégation des micelles de caséines des laits de vache, de chèvre et de brebis, dans les présentes conditions (température, dilution, acidification) conduit à la formation d'agrégats fractals. La valeur de la dimension fractale des agrégats peut renseigner sur le mécanisme d'agrégation, particulièrement dans le cas de l'agrégation des micelles de caséines caprines. Il apparaît, en revanche, difficile de prédire un tel mécanisme dans le cas de l'agrégation des micelles ovines. Par ailleurs, une diminution de la température d'acidification entraîne un accroissement de la dimension fractale des agrégats. Les différences entre les valeurs de la dimension fractale des agrégats caséiques des trois types de lait peuvent s'expliquer par les différences de dispersité, d'environnement ionique des micelles de caséines dans les dispersions micellaires initiales et de comportement des micelles de caséines vis-à-vis des changements des paramètres physico-chimiques (pH, température).

D'autre part, la diffusion statique de la lumière apparaît comme une technique bien adaptée à la détermination de la dimension fractale de tels agrégats. Malheureusement, elle nécessite une dilution importante du lait et ne permet pas par conséquent d'observer les agrégats caséiques tels qu'ils se présentent dans le gel acide de lait. D'autres techniques comme les méthodes rhéologiques dynamiques permettent de déterminer la dimension fractale des agrégats dans le gel. La partie suivante est consacrée à l'étude de la structure de ces trois types de gels acides de lait par cette dernière technique.

2.2. Etude rhéologique et structurale des gels acides de laits

La structure des gels acides formés par addition de GDL aux laits écrémés de vache, de chèvre et de brebis a été étudiée au moyen des méthodes rhéologiques dynamiques. Le pH final choisi, égal à pH 4,2, correspond au pH isoélectrique des caséines caprines, et la température de mesure sélectionnée (30°C) correspond à un cas particulier où le lait de chèvre se comporte différemment des laits de vache et de brebis (voir Partie 1). De plus à cette température, on a vu dans le paragraphe 2.1 que l'agrégation des micelles dans le lait de brebis dilué conduit à une dimension fractale différente de celles des deux autres types d'agrégats caséiques.

Les dépendances des modules viscoélastiques de ces gels en fonction de la fréquence des oscillations (de la contrainte imposée) et de la concentration caséique sont déterminées. Les dimensions fractales de ces trois types de gels sont calculées à partir de cette dernière dépendance et en utilisant les modèles d'élasticité des réseaux existant dans la littérature.

2.2.1. Comparaison des modules viscoélastiques des gels acides de laits

Le Tableau III.7 montre les valeurs des modules viscoélastiques de gels acides de laits écrémés de vache, de chèvre et de brebis à 30°C et à pH 4,2, pour une fréquence de 1 Hz et une amplitude de déformation de 1%. Les modules (G' et G'') du gel acide de lait de brebis sont plus élevés, comparativement à ceux des gels de laits de vache et de chèvre. Le gel de lait de chèvre présente, en revanche, les modules G' et G'' les plus faibles. Dans l'ensemble, les valeurs du module complexe G^* ($G^* = \sqrt{G'^2 + G''^2}$) de ces trois types de gel sont faibles, signe que ces gels ne sont pas très fermes.

Tableau III.7. Modules élastique (G') et visqueux (G'') et tangente de perte ($\text{tg}\delta$) des gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis à la concentration caséique naturelle du lait. Les laits ont été acidifiés pendant 16h à 30°C pour atteindre un pH égal à 4,2. $f = 1$ Hz. Déformation = 1%.

Type de gels de lait	Concentration caséique ¹ (g.Kg ⁻¹)	G'^2 (N.m ⁻²)	G''^2 (N.m ⁻²)	$\text{tg}\delta^2$
Lait de vache	27,2	29,49	6,92	0,24
Lait de chèvre	19,4	11,74	4,37	0,37
Lait de brebis	32,5	38,95	10,66	0,27

¹Les données sont les moyennes de trois mesures

²Les données sont les moyennes de dix mesures

Les différences entre les valeurs des modules de ces trois types de gel peuvent s'expliquer par les différences de concentration caséique et de la taille des micelles de caséines.

En effet, le lait de brebis est le plus riche en caséines (32,5 g/kg) et présente des micelles de caséines de taille moyenne faible (120 nm à 30°C). En revanche, le lait de chèvre est le plus pauvre en caséines (19,4 g/Kg) et se caractérise par une taille moyenne micellaire plus grande (160 nm).

Par ailleurs, les modules G' et G'' d'un tel gel sont proportionnels au nombre de liaisons "efficaces". Celui-ci dépend de la concentration et de la distribution spatiale des particules. Parce que la distribution des particules sur l'espace disponible n'est pas homogène au cours de la formation du réseau, toutes les particules coagulées ne contribuent pas de manière égale aux propriétés macroscopiques du gel c'est le cas par exemple des particules incorporées dans les gros agrégats. Par conséquent, le nombre de liaisons "efficaces" est plus faible que le nombre total des liaisons.

Les valeurs de G' et de G'' , à une certaine fréquence f , dépendent de la distribution spatiale des particules de caséines et du comportement de relaxation (ou durée de vie) des liaisons "efficaces" (Roefs, 1986; Zoon *et al.*, 1988; Arshad *et al.*, 1993).

Le temps de relaxation (durée de vie) des liaisons peut, en effet, être corrélé avec le temps d'oscillation (inverse de la fréquence) de la sollicitation mécanique imposée. Les liaisons fortes avec un contenu énergétique important ont un temps de relaxation long. Elles établissent le caractère permanent ou élastique du gel. Les liaisons faibles se rompent et se reforment spontanément sur une échelle de temps beaucoup plus courte et contribuent au caractère temporaire du gel. Les liaisons qui ont des temps de relaxation dans l'échelle-temps des mesures contribuent à la fois à G' et à G'' . Comme l'avait mentionné Roefs (1986) dans sa thèse, on entend ici par liaison tous les contacts protéines-protéines et protéines-eau qu'ils soient de nature permanente ou temporaire. Ces liaisons sont à la fois intermoléculaires et intramoléculaires.

L'accroissement de la concentration caséique signifie une augmentation du nombre de micelles de caséines et donc un accroissement du nombre de liaisons "efficaces" et par conséquent des modules du gel.

La taille des micelles de caséines peut également affecter les propriétés rhéologiques du gel de lait. Les micelles de caséines petites formeront des gels plus fermes. Un tel comportement a déjà été observé par Buscall *et al.* (1988) et Bremer *et al.* (1992) sur des gels de polystyrène et par Niki *et al.* (1994) et Horne (1995) sur des gels présure de lait. Buscall *et al.* (1988) ont obtenu une relation du type $G \propto a^{-2}$, entre le module G du gel et le diamètre particulaire a .

D'autre part, il apparaît également que le gel de lait de chèvre est le moins élastique ou le plus visqueux des trois types de gels de lait. En revanche, pour les gels acides de laits de vache et de brebis, l'importance relative du caractère visqueux par rapport au caractère élastique du gel est comparable. En effet, la tangente de perte ($\tan \delta$), qui exprime ce rapport, est respectivement

égale à 0,24, 0,37 et 0,27 pour les gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis, soit un angle de déphasage δ de 13, 20 et 15° respectivement.

2.2.2. Spectre mécanique des gels acides

La dépendance en fréquence des modules élastique (G') et visqueux (G'') du gel, appelée également spectre mécanique du gel, est présentée à la Figure III.12 (a, b et c), pour ces trois types de gels. Les deux modules G' et G'' croissent légèrement avec l'augmentation de la fréquence, sous forme de deux plateaux parallèles presque horizontaux avec G' plus grand que G'' . Toutefois, aux fréquences élevées (5-10 Hz), le module visqueux (G'') du gel acide de lait de chèvre semble se rapprocher du module élastique (G') et tend à se confondre avec lui aux environs de 10 Hz.

Un léger changement de pente des droites G' et G'' vs. f (en échelles logarithmiques) est également observé à ces fréquences élevées, particulièrement pour les gels acides de laits de vache et de chèvre.

Dans l'ensemble, la dépendance en fréquence des modules de gels de ces trois types de lait, dans les présentes conditions, peut être représentée par une loi de puissance sous forme de $G \propto f^n$; l'exposant n est déduit à partir de la pente de la courbe $\log G$ vs. $\log f$. Cet exposant n est égal à 0,18, 0,13 et 0,21, lorsqu'il est déduit à partir de la dépendance en fréquence de G' , et égal à 0,16, 0,16 et 0,18 lorsqu'il est déduit à partir de la dépendance en fréquence de G'' , pour les gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis respectivement. Ces valeurs de l'exposant n peuvent être considérées comme identiques, pour les trois types de gels. Elles sont d'ailleurs très proches de la valeur (0,16) obtenue par van Marle et Zoon (1995) sur des gels acides de lait écrémé de vache acidifiés par GDL et par voie microbienne et de celle obtenue (0,15) par Roefs et *al.* (1990b) sur les gels formés par acidification de lait écrémé ou de solutions de caséinate.

Les courbes d'évolution de la tangente de perte des gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis sont également présentées à la Figure III.12. Les profils de $\tan \delta$ vs. f , pour les gels de laits de vache et de brebis sont proches, avec des valeurs de $\tan \delta$ qui varient peu avec la fréquence.

Ce profil est identique à celui observé, entre $1,6 \cdot 10^{-4}$ et 16 Hz, par van Marle et Zoon (1995), pour quatre types de gels acides à 32°C et à environ pH 4,2. Arshad et *al.* (1993) observent également, pour un gel acide de lait écrémé reconstitué de vache à pH 4,4 et à 30°C, un profil de $\tan \delta$ vs. f assez proche du notre. D'autre part, Roefs et van Vliet (1990b) montrent aussi que $\tan \delta$ des gels formés par acidification de lait de vache reconstitué ou de dispersion de caséinate de

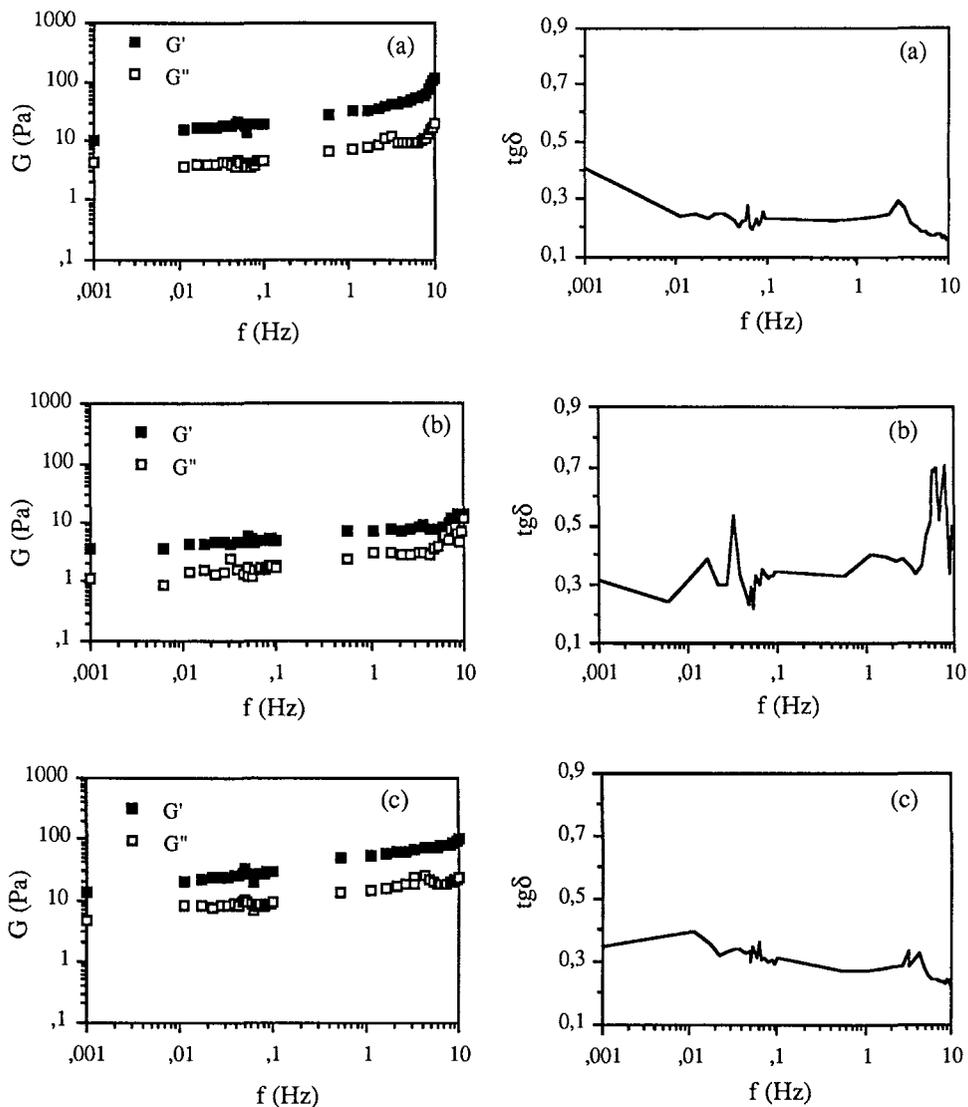


Figure III. 12. Spectres mécaniques et dépendance en fréquence de la tangente de perte ($\text{tg}\delta$) des gels acides de laits écrémés de vache (a), de chèvre (b) et de brebis (c). Les laits ont été acidifiés pendant 16h à 30°C pour atteindre un pH de 4,2. Déformation = 1%.

sodium à 4°C suivie d'un chauffage jusqu'à 30°C, est indépendante de la fréquence angulaire dans un intervalle de f de $1,6 \cdot 10^{-4}$ à 1,6 Hz, et égale à environ 0,25.

Les valeurs de la tangente de perte du gel acide de lait de chèvre fluctuent beaucoup en fonction de la fréquence autour d'une valeur moyenne d'environ 0,35. Ceci est relié à la faible fermeté de ce gel (Tableau III.7) et à la sensibilité limitée du rhéomètre.

Par ailleurs, le spectre mécanique d'un gel caractérise le type du gel. Si le gel est fort (par exemple avec de fortes liaisons transversales covalentes), ses modules viscoélastiques sont indépendants de la fréquence. Ils sont légèrement dépendants de la fréquence dans le cas des gels physiques faibles *e.g.* gels de gélatine (Clark et Ross-Murphy, 1987). Selon la même approche que celle de Stading *et al.* (1992), à partir des valeurs de l'exposant n des spectres mécaniques des gels, on peut considérer que nos trois types de gels sont tous des gels faibles.

D'autre part, l'accroissement des modules G' et G'' avec la fréquence, pour ces trois types de gels de lait, est le signe de l'existence de différentes liaisons physiques, avec des temps de relaxation de l'ordre du temps de la sollicitation mécanique imposée (inverse des fréquences). En effet, pour ces trois types de gels, G' et G'' croissent chacun d'un facteur d'environ 4 à 11 lorsque f est variée de 10^{-3} à 10 Hz, ce qui signifie qu'un nombre important de liaisons "efficaces", ayant un temps de relaxation (durée de vie) de 0,1 à 10^3 s, sont présentes dans ces trois types de gels acides de lait.

Ces résultats sont en accord avec les travaux précédents (Roefs *et al.*, 1990a et b) qui ne concernaient que le lait de vache.

2.2.3. Effet de la concentration caséiques sur les spectres mécaniques des gels acides

Les spectres mécaniques des gels acides à différentes concentrations caséiques sont présentés sur la Figure III.13. La dépendance en fréquence des modules G' et G'' , sous forme de loi de puissance $G \propto f^n$, est observée pour toutes les concentrations caséiques étudiées. Les valeurs de G' et G'' sont plus élevées aux concentrations caséiques plus grandes. Néanmoins, pour le gel acide de lait de chèvre, les valeurs du module G' (ou de G''), pour les trois concentrations caséiques, sont proches les unes les autres, particulièrement aux fréquences élevées (1 à 10 Hz).

D'autre part, les valeurs de n , déduites des courbes $\log G'$ vs. $\log f$ et $\log G''$ vs. $\log f$ sont présentées dans le Tableau III.8. Ces valeurs sont parfois légèrement différentes suivant qu'elles soient calculées à partir de la dépendance en fréquence de G' ou de G'' . Dans tous les cas, l'exposant n semble diminuer avec l'accroissement de la concentration caséique du lait. Ceci signifie que l'augmentation de la concentration caséique du lait entraîne un accroissement de la fermeté du gel acide. Selon Stading *et al.* (1992), un exposant n faible est, en effet, le signe d'un gel fort.

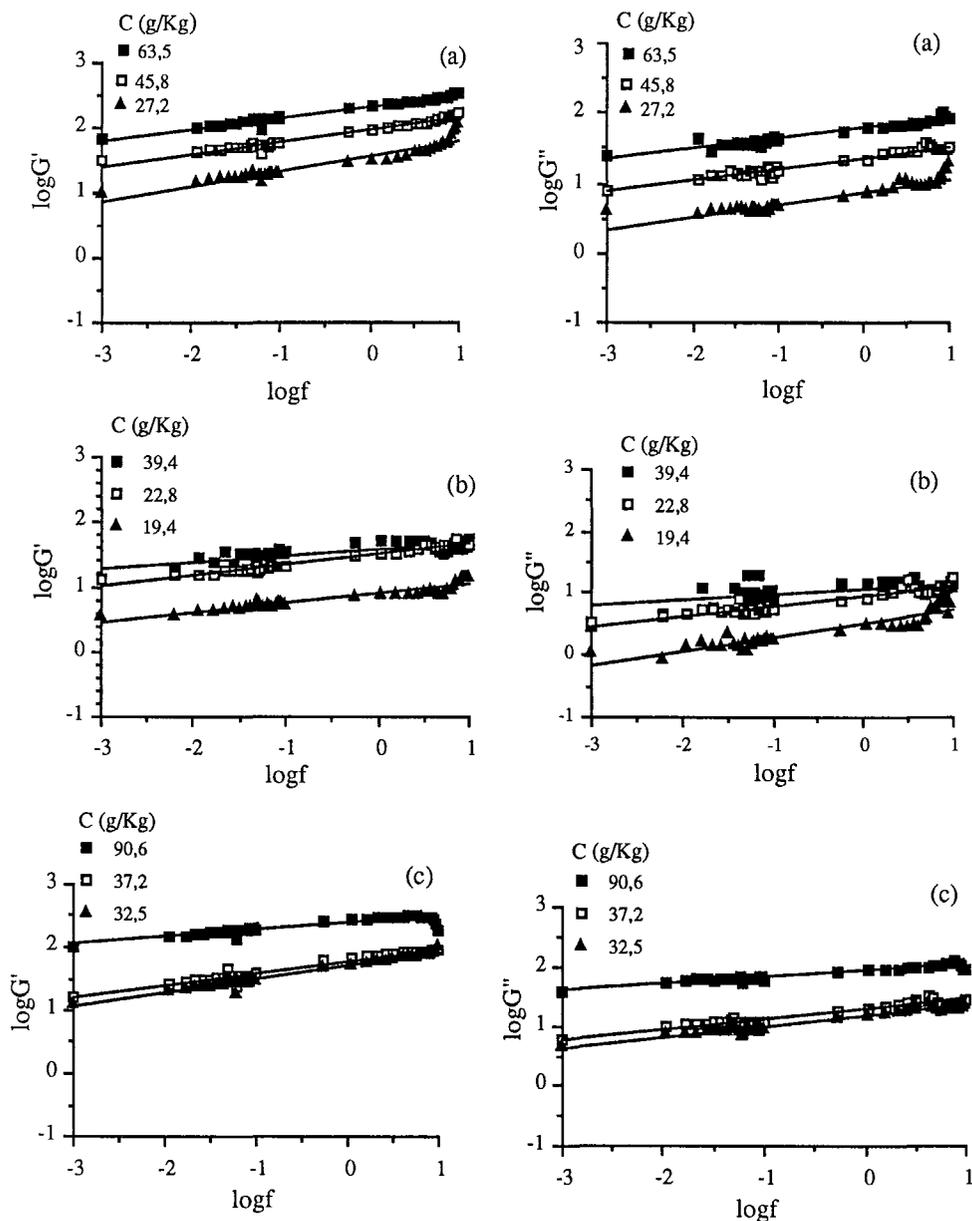


Figure III.13. Spectres mécaniques typiques de gels acides de laits écrémés de vache (a), de chèvre (b) et de brebis (c), à différentes concentrations caséiques C (g/Kg). Les laits ont été acidifiés pendant 16h à 30°C. pH = 4,2. Déformation = 1%.

Tableau III.8. Effet de la concentration caséique du lait sur les valeurs de l'exposant n de la loi de puissance $G \propto f^n$ ($G' \propto f^{n'}$ et $G'' \propto f^{n''}$) des gels acides de lait de vache, de chèvre et de brebis. Les laits ont été acidifiés pendant 16 h à 30°C. pH = 4,2. Déformation = 1%.

Type de gels acides de laits	C^1 (g/Kg)	n'^1	n''^1
Lait de vache	27,2	0,18	0,16
	45,8	0,17	0,16
	63,5	0,16	0,13
Lait de chèvre	19,4	0,13	0,16
	22,8	0,16	0,16
	39,4	0,12	0,13
Lait de brebis	32,5	0,21	0,18
	37,2	0,20	0,18
	90,6	0,13	0,10

¹Les données sont les moyennes de trois mesures

2.2.4. Effet de la concentration caséique sur les modules viscoélastiques des gels acides

Les modules viscoélastiques G' et G'' des gels acides à 30°C et à pH 4,2 croissent fortement et de manière parallèle lorsque la concentration caséique du lait augmente; les valeurs de G' étant toujours plus grandes que celles de G'' (Figure III.14). Ces modules montrent une dépendance en fonction de la concentration caséique du lait, sous forme de loi de puissance $G \propto C^\mu$. L'exposant μ , déduit de la relation $\log G' \text{ vs. } \log C$ est respectivement égal à 2,4, 2,7 et 2,2 pour les gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis. Les exposants déduits à partir de la relation $\log G'' \text{ vs. } \log C$, pour les gels acides de laits de vache et de brebis sont identiques aux précédents; seul l'exposant μ correspondant au gel acide de lait de chèvre (2,4) est légèrement différent.

Nous présentons dans le Tableau III.9, les valeurs de μ , pour différents types de gels caséiques. Il apparaît ainsi que certaines de nos valeurs de μ sont proches de celles de la littérature. Ce tableau met en évidence que le type de lait, le mode de coagulation et le pré-traitement du lait ont une influence sur l'exposant μ .

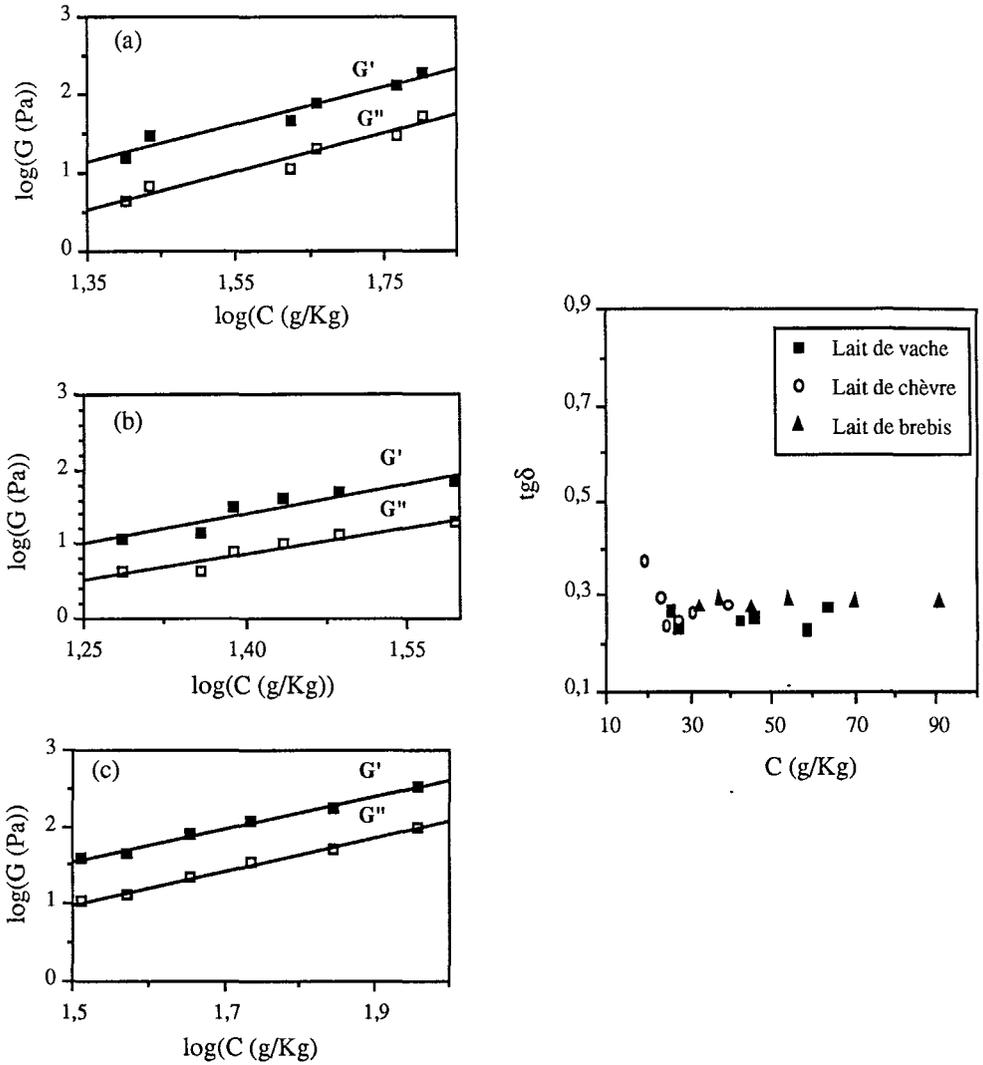


Figure III.14. Module élastique (G'), module visqueux (G'') et tangente de perte ($tg\delta$) des gels acides en fonction de la concentration en caséines des laits de vache (a), de chèvre (b) et de brebis (c). Les laits ont été acidifiés pendant 16h à 30°C. pH = 4,2. $f = 1$ Hz. Déformation = 1%.

Tableau III.9. Comparaison des exposants μ (de la loi de puissance $G \propto C^\mu$) des gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis avec ceux de la littérature.

Auteurs	Produit	Mode de coagulation	Exposant μ
Zoon et <i>al.</i> , 1988	lait de vache	présure	2,4
Roefs, 1986	lait de vache "low-heat"	HCl	2,6
Roefs, 1986	lait de vache "low-heat"	GDL	4,6
Bremer et <i>al.</i> , 1990	caséinate de Na	GDL	4,6
van Vliet et Keetels, 1995	lait de vache "high-heat"	GDL	2,5
van Vliet et Keetels, 1995	lait de vache "high-heat"	HCl	2,5
nos travaux	lait de vache	GDL	2,4
	lait de chèvre	GDL	2,7
	lait de brebis	GDL	2,2

L'évolution de $tg\delta$ du gel en fonction de la concentration caséique du lait est présentée également à la Figure III.14. La tangente de perte du gel acide de laits de vache et de brebis est apparemment indépendante de la concentration caséique du lait, dans cette gamme de concentration : on obtient une valeur moyenne de $tg\delta$ de 0,25 et de 0,28 pour les gels de lait de vache et de brebis respectivement. Pour les gels de lait de chèvre, $tg\delta$ est élevée (0,37) à la concentration caséique naturelle du lait puis diminue et se stabilise aux concentrations caséiques supérieures : elle est alors égale à 0,27.

Arshad et *al.* (1993) ont observé également un tel comportement sur des gels acides de lait écrémé de vache. L'évolution de $tg\delta$ indépendante de la concentration caséique s'explique par le fait que la tangente de perte ne dépend que de la nature des liaisons et de l'importance relative des différents types de liaisons et non du nombre total de liaisons efficaces. D'autre part, l'accroissement de la concentration caséique entraîne essentiellement une augmentation du nombre de liaisons et n'affecte pas a priori le type de liaisons présentes dans le gel. Toutefois certains types de liaisons peuvent être renforcées, après l'acidification du lait. La force ionique à pH final (pH 4,2) est en effet plus élevée pour les gels avec une concentration caséique élevée,

à cause de la solubilisation du phosphate de calcium micellaire (Roefs et *al.*, 1990; van Vliet et Keetels, 1995).

D'autre part, on peut considérer que les valeurs de $tg\delta$, pour ces trois types de gels à une fréquence de 1 Hz et lorsque la concentration caséique du lait est supérieure à environ 20 g/Kg, sont identiques, ce qui signifie que le rapport entre les liaisons permanentes (comportement élastique) et les liaisons susceptibles de se rompre (comportement visqueux) est le même pour ces trois types de gels acides de lait.

2.2.5. Détermination de la dimension fractale des gels acides

Comme l'ont déjà démontré plusieurs auteurs, l'existence d'une relation sous forme de loi de puissance entre le module élastique du gel colloïdal et la fraction volumique particulaire est la preuve que ces gels sont de nature fractale, dans le domaine de fraction volumique considéré. La dimension fractale effective des gels acides de laits écrémés de vache, de chèvre et de brebis est calculée à partir de l'exposant μ de cette loi de puissance et en utilisant les modèles d'élasticité présents dans la littérature.

Les modèles considérés ici sont ceux de Bremer et *al.* (1989, 1990), dans le cas de fils étirés et courbes, celui de Shih et *al.* (1990), dans le cas du régime de liaisons interflocs faibles et celui de Chaplain et *al.* (1994). Un autre modèle proposé par Shih et *al.* (1990), dans le cas du régime de liaisons interflocs fortes, n'a pu être utilisé parce qu'on ne connaît pas la valeur x de la dimension fractale de la chaîne de particules constituant la "colonne vertébrale" des flocs. Les différents modèles sont décrits de manière suffisamment détaillée au Chapitre I (équations I.9 à I.14).

A noter que les valeurs de D sont calculées à partir de la dépendance des modules du gel en fonction de la concentration en caséines ($G \propto C^\mu$) et non à partir de leur dépendance en fonction de la fraction volumique des micelles de caséines ($G \propto \phi^\mu$). En raison de la difficulté de détermination précise de la fraction volumique des protéines, plusieurs auteurs (Bremer et *al.*, 1989, 1990; Stading et *al.*, 1993; Renerad et *al.*, 1995) ont utilisé l'exposant μ de la loi de puissance $G \propto C^\mu$, en considérant qu'il existe une linéarité entre la concentration protéique et la fraction volumique. Une relation linéaire entre la concentration caséique et la fraction volumique des micelles de caséines a en effet été observée par Chaplain et *al.* (1994), sur une gamme de fraction volumique allant jusqu'à 0,30. Dans le cas des laits de vache, de chèvre et de brebis, nous avons également observé une relation similaire, avec des écarts plus ou moins importants. Les valeurs de la dimension fractale de ces trois types de gels acides sont ainsi regroupées dans le Tableau III.10.

Nous ne conservons pas le modèle de Shih et *al.* (1990) parce qu'il conduit à des valeurs relativement élevées en comparaison avec les valeurs 2,20-2,36, obtenues par Bremer et *al.* (1989, 1990, 1993) pour des gels acides de caséines en utilisant différentes mesures permettant la détermination de D (taille moyenne des agrégats, turbidité, coefficient de perméabilité, contrainte de fracture, module élastique).

2.2.6. Conclusions

Les spectres mécaniques du gel acide de lait et la dépendance des modules viscoélastiques du gel en fonction de la concentration caséique fournissent des informations sur la nature des liaisons et la distribution spatiale des particules de caséines dans le réseau de gel. Il apparaît ainsi que les liaisons "efficaces" présentes dans les gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis sont de même nature. Un nombre important de ces liaisons efficaces ont des temps de relaxation (durée de vie) de 0,1 à 10^3 s. D'autre part, l'importance relative des liaisons susceptibles de se rompre par rapport aux liaisons permanentes dans ces trois types de gels, exprimée par $\text{tg}\delta$, est identique lorsque la concentration caséique du lait est supérieure à une certaine valeur (20 g/Kg).

Par ailleurs, l'application des concepts récents de la géométrie fractale a permis une quantification de la distribution spatiale des particules de caséines dans le réseau de gel. Il apparaît ainsi que ces trois types de gels sont formés par des agrégats caséiques de nature fractale. Le modèle de Bremer et *al.* (1989, 1991), dans le cas de réseaux avec des fils particuliers linéaires, semble le plus réaliste pour décrire le comportement d'échelle de ces trois types de gels acides de lait. La dimension fractale est légèrement différente selon le type de lait : elle est respectivement égale à 2,16, 2,25 et 2,08 pour les gels de laits de vache, de chèvre et de brebis. Les agrégats caséiques dans le gel acide de lait de brebis sont les plus ramifiés et les plus ténus alors que ceux dans le gel de lait de chèvre sont les plus denses. Les agrégats caséiques dans le gel acide de lait de vache sont intermédiaires entre les deux précédents. Toutefois, les différences entre ces trois types de gels acides ne sont pas considérables. D'autre part, pour les trois types de gels acides, les valeurs de D sont proches de celles calculées à partir des modèles numériques d'agrégation amas-amas limitée par la réaction, avec et sans réarrangement d'amas : 2,10-2,25. Le mécanisme d'agrégation sous-jacent à la formation de nos gels acides peut donc être considéré comme de type RLCA, avec des phénomènes de réarrangement d'amas plus ou moins importants selon le type de lait.

Partie 3. Discussion générale et conclusions

Dans cette dernière partie, on engage des réflexions nouvelles sur les mécanismes de la coagulation acide du lait, sur la structure des micelles de caséines caprine et ovine comparées à la micelle bovine ainsi que sur la relation entre phases d'agrégation et de gélification.

3.1. Reflexions sur les mécanismes de la coagulation acide : aspects cinétiques

Pour les trois types de lait étudiés et pour les deux comportements d'acidification "basses températures" et "hautes températures", les mécanismes conduisant à la formation du gel acide, à partir des "micelles" de caséines, peuvent être regardés comme un ensemble de "réactions" successives et parallèles (Schéma III.1).

L'acidification des laits se fait par une réaction (lente) d'hydrolyse de la glucono- δ -lactone en acide gluconique.

3.1.1. Comportement aux basses températures (15-20°C)

Dans le comportement d'acidification "basses températures", on peut distinguer, au niveau de la micelle, les "réactions" suivantes :

(i) Une neutralisation de la charge des micelles de caséines, dû à l'apport de protons dans le milieu suite à la réaction d'hydrolyse de la GDL en acide gluconique. Cette neutralisation de la charge micellaire entraîne initialement une contraction de la micelle et conduit à l'affaiblissement des répulsions stérique et électrostatique entre les micelles de caséines.

Comme on l'a déjà vu, cette contraction micellaire, suite à l'effondrement partiel de la couche "chevelue" externe, se manifeste par une légère augmentation de la turbidité du lait, une diminution de sa viscosité dynamique et de la taille micellaire au cours de la première phase d'acidification des laits (entre le pH naturel du lait et environ pH 5,9)

(ii) Une dissociation des molécules de caséines à partir de la micelle.

Comme l'a fait remarqué Gastadi-Bouabid (1994), une énigme de taille subsiste encore concernant l'état dans lequel les molécules de caséines se dissocient de la micelle : sous forme de molécules individuelles ou de complexes submicellaires?

(iii) Une solubilisation des minéraux colloïdaux, qui a lieu parallèlement avec la dissociation caséique mais qui continue jusqu'à des valeurs de pH beaucoup plus faibles, particulièrement pour le calcium et le magnésium micellaires (voir Partie 1, Figure III.9).

La déminéralisation de la micelle et surtout la dissociation des molécules de caséines, particulièrement la caséine fortement hydrophobe β , conduisent à une expansion de la structure interne de la micelle. Cette phase d'expansion micellaire se manifeste par une baisse de la turbidité du lait et de la taille micellaire.

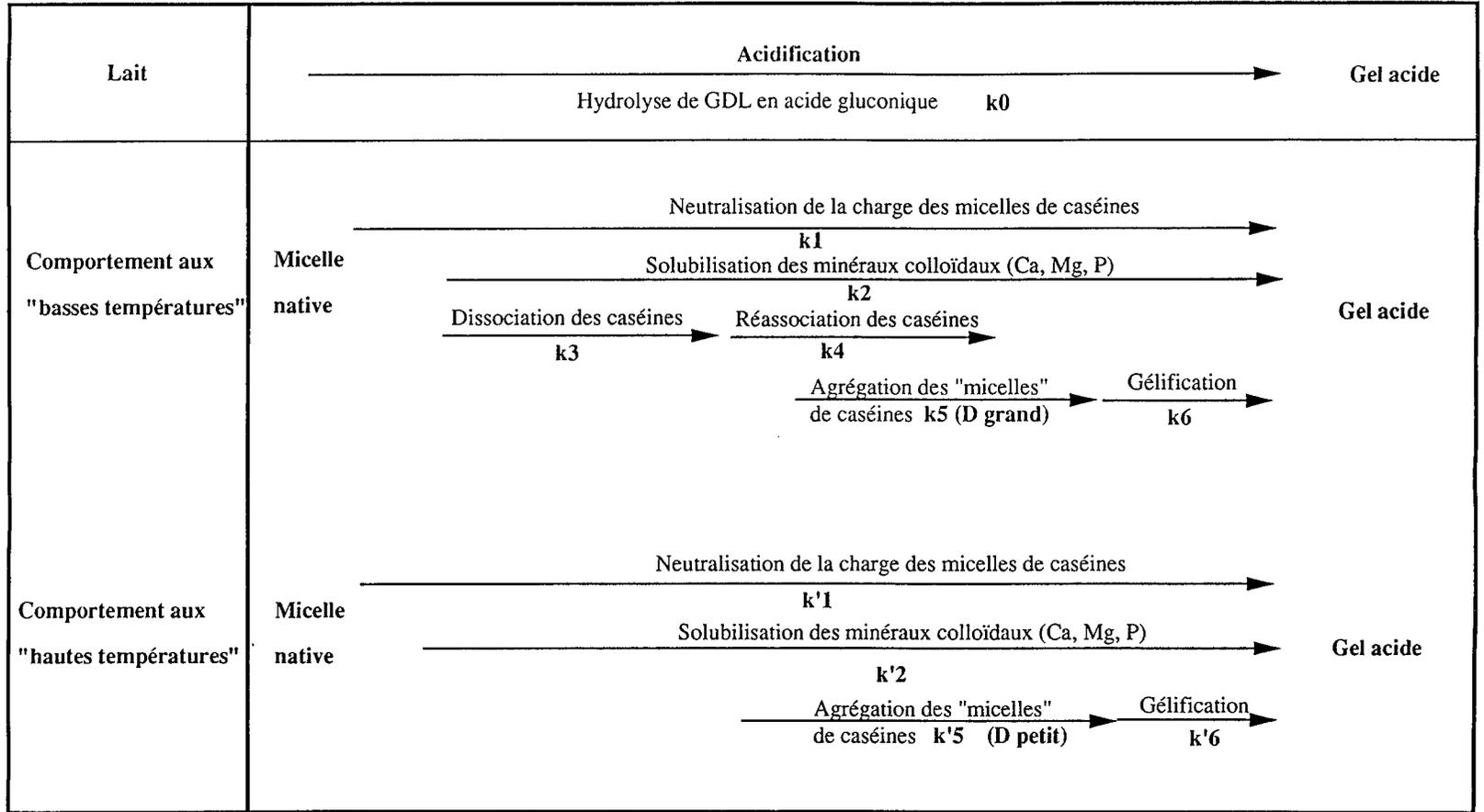


Schéma III.1. Représentation simplifiée des mécanismes de la coagulation acide du lait par hydrolyse de glucono-delta-lactone

Dans cette région de pH (5,8-5,2) et à 20°C, Gastaldi-Bouabid (1994), a montré par microscopie électronique, que les micelles de caséines fusionnent pour former une sorte de pseudo-réseau. Cet état de fusion micellaire serait le reflet des réarrangements des molécules de caséines au sein de la micelle, suite à la dissociation partielle de ces molécules de caséines et au relâchement de la structure micellaire.

(iii) Une réassociation des molécules de caséines dans la structure micellaire. Cette réaction succéderait à celle de la dissociation des molécules de caséines. Ceci a été également mis en évidence dans la thèse de Gastaldi-Bouabid (1994), où elle a montré qu'à 20°C, cette "réaction" de réassociation entraîne une diminution de l'hydratation micellaire.

(iiii) Une agrégation des "micelles de caséines", qui a lieu lorsque les interactions attractives entre les "micelles" deviennent fortes en comparaison avec les répulsions stérique et électrostatique.

Cette phase d'agrégation se manifeste par une augmentation exponentielle de la turbidité du lait acidifié et de la taille micellaire.

Aux "basses températures", l'agrégation se fait entre des "micelles" de caséines déminéralisées et plus ou moins hydratées.

(iiiii) une "réaction" de gélification, qui se manifeste par la stabilisation finale de la turbidité du lait acidifié à sa valeur maximale.

3.1.2. Comportement aux "hautes températures" (35-40°C)

Dans le comportement d'acidification "hautes températures", on distingue les étapes suivantes :

(i) Une neutralisation de la charge des micelles de caséines.

Dans ce cas, on assiste également à une légère augmentation de la turbidité et une faible réduction de la taille micellaire, ce qui indique que les micelles subissent toujours une contraction. En revanche la phase de l'expansion micellaire disparaît. En effet, la dissociation des molécules de caséines à partir de la micelle et par conséquent leur réincorporation dans la structure "micellaire" disparaissent aux "hautes températures". Comme le montre la Figure III.6C et la Figure III.7C, la dissociation caséique encore appréciable à 20°C devient négligeable dès 30°C, particulièrement dans le cas des laits de vache et de brebis. Dans le cas du lait de chèvre, la dissociation caséique disparaît à des températures plus élevées. A 34°C, Vesperini-Jaubert (1992) a montré qu'environ 7% de la caséine caprine peuvent être dissociées de la micelle.

(ii) Une solubilisation des minéraux colloïdaux.

(iii) Une agrégation des "micelles de caséines".

En comparaison avec le comportement précédent, l'agrégation se fera cette fois-ci entre des "micelles" de caséines toujours déminéralisées mais plus petites, plus "rigides" et n'ayant pas

connu de dissociation caséique. Elle conduit à la formation d'agrégats de dimension fractale plus faible.

(iiii) Une gélification.

3.1.3. Comparaison des laits

Les différences de composition des laits et des caractéristiques des micelles de caséines (hydratation, minéralisation, proportion et type de caséine, taille) n'affecte pas l'allure générale du processus d'acidification mais peuvent influencer les vitesses et les rendements des "réactions". Ainsi, la dissociation des caséines (k_3), plus importante dans le cas du lait de chèvre que dans les deux autres laits s'explique, d'une part, par la présence d'une proportion importante de caséine β dans le lait de chèvre et, d'autre part, par la facilité de la dissociation de la caséine β caprine (Ono et Creamer, 1986).

Comme on l'a vu dans la Partie 1, la "réaction" d'agrégation des "micelles" de caséines (k_5 ou k'_5) est plus rapide et plus importante dans le cas des laits de vache et de brebis que dans le cas du lait de chèvre (Figure III.3).

Nous proposons d'expliquer ces divergences par les différences du nombre de micelles de caséines présentes dans le lait et de la distance libre moyenne entre ces micelles. En effet, le nombre des micelles de caséines par volume de lait, N_{tm} , qui est fonction de la concentration caséique et de la taille micellaire, est respectivement quatre et huit fois plus élevé dans les laits de vache et de brebis que dans le lait de chèvre (Tableau III.11). La distance libre moyenne, x , entre les micelles de caséines dans les laits de vache et de brebis est respectivement d'environ la moitié et le tiers de celle des micelles caprines.

On peut penser qu'un nombre de micelles élevé et une distance "intermicellaire" moyenne faible entraînent une agrégation rapide et importante.

Les deux méthodes de calcul de N_{tm} et de x sont présentées ci-après.

Par ailleurs, ce schéma simplifié des mécanismes de la coagulation acide s'applique également dans le cas d'un autre lait très différent : le lait de chamelle. Les évolutions de la turbidité du lait, de la taille micellaire au cours de l'acidification ainsi que celles de la dissociation caséique et de la solubilisation minérale (résultats non présentés) montrent en effet que l'acidification du lait de chamelle, dans la gamme de température 15-40°C, peut être décrite par les "réactions" du comportement "basses températures"(schéma III.1). Toutefois, la gélification est dans ce cas très faible.

Comparativement aux autres laits habituellement transformés, le lait de chamelle se distingue par une faible aptitude aux coagulations acide et enzymatique (Ramet, 1987; Farah, 1993). Ces différences résultent d'une part de sa composition spécifique en caséines et en minéraux et d'autre part de la taille de sa micelle de caséines. Celle-ci est très grosse (260-300 nm) et est

faiblement minéralisée (la teneur en Ca colloïdal est d'environ 35%) (Farah, 1993; Ramet, 1993).

Par ailleurs, sur la question de "l'universalité" de la coagulation acide du lait, nous pouvons dire que les différents laits étudiés montrent un comportement général analogue avec cependant des différences spécifiques à chaque lait. L'effet de la température est notamment plus marqué pour certains types de lait.

Tableau III.11. Diamètre moyen volume/surface des micelles de caséines d_{vs} (nm), distance libre moyenne entre les micelles de caséines x (nm) et nombre total des micelles de caséines par millilitre de lait (N_{tm}) dans les laits écrémés de vache, de chèvre et de brebis non dilués (normaux) et dilués au 50^{ème}. $T = 20^\circ\text{C}$.

Variables	Laits non dilués de			Laits dilués de		
	vache	chèvre	brebis	vache	chèvre	brebis
d_{vs} (nm)	200	260	145	200	260	145
x (nm)	280	520	170	16000	29000	10000
$\frac{x}{d_{vs}}$	1,4	2,0	1,1	80	110	70
$N_{tm} (\times 10^{11})$	400	100	800	8	2	16

Calcul de N_m

La fraction volumique des micelles de caséines ϕ_c dans le lait (calculée à partir des mesures viscosimétriques, voir Chapitre II) est définie comme suit :

$$\phi_c = \frac{\text{Volume total occupé par les micelles}}{\text{Volume total du lait}} = \frac{V_{tm}}{V_t} \quad (\text{III.1})$$

Le nombre de micelles de caséines N_{tm} sera calculé par rapport à un millilitre de lait. On a donc : $V_t = 1 \text{ ml}$.

A partir de l'équation III.1, on a :

$$V_{tm} = \phi_c \cdot V_t \quad (\text{III.2})$$

En considérant que les micelles de caséines se présentent dans le lait sous forme d'une distribution polydispersée de particules sphériques, on peut écrire que :

$$V_{tm} = N_{tm} \cdot V_m \quad (\text{III.3})$$

avec :

N_{tm} : nombre total de micelles de caséines dans un volume de lait

V_m : volume moyen d'une micelle de caséines

où V_m peut être considéré comme égal à :

$$V_m = \frac{\sum_i N_i v_i}{\sum_i N_i} = \frac{\sum_i N_i \frac{\pi d_i^3}{6}}{\sum_i N_i} \quad (\text{III.4})$$

où N_i , v_i et d_i sont respectivement le nombre, le volume et le diamètre des micelles de caséines dans la classe i .

Les valeurs de N_i et d_i sont celles des distributions de tailles présentées dans la Figure III.5 (Partie 1).

Connaissant V_m , on peut donc aisément calculer N_{tm} , à partir des équations III.2 et III.3 :

$$N_{tm} = \frac{\phi_c V_t}{V_m} \quad (\text{III.5})$$

Ainsi le nombre de micelles de caséines par millilitre de lait a été calculé en utilisant les valeurs expérimentales de la fraction volumique des caséines suivantes :

fraction volumique	Lait de vache	Lait de chèvre	Lait de brebis
ϕ_c	0,11	0,08	0,13

Calcul de la distance libre moyenne x

La distance libre moyenne entre les micelles de caséines dans le lait a été estimée en utilisant la même procédure de calcul que celle employée par Walstra (1969), pour déterminer la distance libre entre les globules gras dans le lait. Cette distance libre moyenne x est donnée par :

$$x = 0,225d_{vs} \left(\frac{\phi_{\max}}{\phi_c} - 1 \right) \quad (\text{III.6})$$

où

d_{vs} : diamètre moyen volume/surface des micelles de caséines

ϕ_{\max} : fraction volumique maximale

ϕ_c : fraction volumique des micelles de caséines dans le lait

Connaisant la distribution de taille des micelles de caséines, on peut déterminer d_{vs} à partir de la relation suivante :

$$d_{vs} = \frac{\sum_i N_i d_i^3}{\sum_i N_i d_i^2} \quad (\text{III.7})$$

Comme on l'a vu dans le chapitre II, la fraction volumique maximale ϕ_{\max} (correspondant à l'empilement total) a été estimée à 0,79, dans le cas des micelles de caséines, par Snoeren et al. (1982).

Nous utiliserons cette valeur au lieu de la valeur 0,74 utilisée par Walstra (1969). Cette dernière valeur correspond à l'empilement total par des sphères parfaites.

Les valeurs de N_i , d_i et ϕ_c sont celles utilisées précédemment pour le calcul de N_{tm} .

3.2. Interprétation en termes d'organisation structurale de la micelle native des différents laits

Comme il a été déjà mentionné, nos résultats relatifs à la taille et à la minéralisation des micelles de caséines bovines, caprines et ovines sont proches de ceux de la littérature.

La micelle bovine (170 nm en moyenne) apparaît plus petite que la micelle caprine (230 nm) et plus grosse que la micelle ovine (140 nm). Elle est également la moins minéralisée (Tableau III.4) et la plus hydratée (Richardson *et al.*, 1974; Sood et Sidhu, 1979). En revanche, la micelle caprine est la plus minéralisée et la moins hydratée des trois autres micelles. Selon Vesperini-Jaubert (1992), l'hydratation plus faible de la micelle caprine s'explique par sa richesse en caséine β .

Malgré les différences de composition et de caractéristiques micellaires, notre étude comparative de ces trois micelles en relation avec la variation du pH et de la température n'a pas mis en évidence un comportement fondamentalement différent entre elles. On peut donc faire l'hypothèse que leur structure micellaire est semblable.

Pour les micelles des trois types de lait, nos résultats semblent en cohérence avec le modèle submicellaire, proposé par Schmidt (1982) et Walstra et Jenness (1984) pour décrire la structure de la micelle bovine (voir synthèse bibliographique). En effet, l'existence d'une couche "chevelue" externe, qui s'effondre lors de l'abaissement du pH du lait, explique bien l'augmentation de la turbidité, la diminution de la viscosité dynamique du lait et de la taille micellaire, que nous observons entre le pH naturel du lait et environ pH 5,9. L'importance du phosphate de calcium colloïdal et des interactions électrostatiques et hydrophobes dans le maintien de la structure micellaire est également mise en évidence. La solubilisation des minéraux colloïdaux (particulièrement celle du phosphate de calcium colloïdal) et l'affaiblissement des liaisons électrostatiques et hydrophobes, qui conduit à une dissociation maximale des molécules de caséines à partir de la micelle vers pH 5,4-5,2, entraînent un relâchement de la structure interne de la micelle, révélé par la baisse de la turbidité et de la taille micellaire (Figure III.6).

En revanche, sur le modèle structural proposé récemment par Visser (1991) dans le cas de la micelle bovine, nous émettons des réserves, en particulier sur sa généralisation, aux micelles caprine et ovine. Ce modèle considère que la caséine α_{s1} forme la trame de la structure micellaire (voir synthèse bibliographique). Or plusieurs auteurs (Assenat, 1985; Remeuf et Lenoir, 1986; Vesperini-Jaubert, 1992; Mora-Gutierrez *et al.*, 1993) ont montré que la proportion de cette caséine dans les laits de chèvre et de brebis est très faible (voir Chapitre I, Tableau I.4). Elle est particulièrement faible dans le lait de chèvre, où elle est soumise à de fortes variations quantitatives selon le polymorphisme génétique de cette caséine (Grosclaude *et al.*, 1987). Nous pensons donc qu'il est improbable que la structure de la micelle soit formée principalement de caséine α_{s1} . D'autre part, l'absence d'une couche "chevelue" externe sur la surface de la micelle dans le cas de ce modèle signifierait la disparition de la stabilisation stérique et électrostatique qu'elle assure et par conséquent une réduction de la stabilité micellaire. Or nos résultats montrent que l'agrégation (suite à la déstabilisation des micelles) n'est initiée qu'à des valeurs de pH relativement faibles (5,2-5,0).

3.3. Relation entre la dimension fractale des agrégats et celle des gels acides finaux

Comme nous l'avons précédemment signalé, nous faisons l'hypothèse que le modèle de Bremer et *al.* (1989, 1991), avec fils étirés droits, convient pour décrire la structure de nos gels acides de lait. On remarque dans ce cas que quelque soit le type de lait, la dimension fractale des gels acides, déterminée à partir des mesures rhéologiques, diffère de celle des agrégats caséiques formés dans le lait dilué, calculée au moyen de la diffusion statique de la lumière (Tableau III.12). On constate en particulier qu'il existe une évolution entre la dimension fractale des agrégats (formés en milieu dilués) et celle des gels, différente selon le type de lait. Toutefois les deux méthodes montrent que les dimensions fractales des agrégats et des gels sont les plus élevées dans le cas du lait de chèvre et les plus faibles dans le cas du lait de brebis.

Par ailleurs, l'évolution précédente peut également être observée si l'on compare la valeur de la dimension fractale obtenue, par exemple, par Horne (1987) pour des agrégats caséiques formés par addition de présure au lait dilué, et celles déterminées par Bremer et *al.* (1989) et par Chaplain et *al.* (1994) sur des gels présure de lait à partir des mesures rhéologiques (Tableau III.12).

Pour un même ordre de grandeur de concentration, la valeur de la dimension fractale diffère aussi selon la technique employée pour déterminer D . Par exemple, Renard et *al.* (1995) ont montré que les valeurs de la dimension fractale des gels de β -lactoglobuline, déterminées par diffusion des neutrons aux petits angles (SANS) diffèrent sensiblement de celles calculées à partir des mesures rhéologiques (Tableau III.12).

Un certain nombre d'hypothèses, ont été proposées pour expliquer ces divergences :

(i) Selon Chaplain et *al.* (1994), la gamme de fraction volumique dans laquelle la structure est développée influence considérablement les propriétés mécaniques des gels colloïdaux. En conséquence, les comportements d'échelle de ces gels dépendent de la gamme de fraction volumique considérée. Au voisinage du seuil de percolation ($\phi \approx \phi_g$), la théorie de la percolation prédit que la dimension fractale du réseau hétérogène est de 2,52. Aux fractions volumiques plus élevées ($\phi_g \ll \phi < \phi_{crit}$), mais inférieures à une certaine fraction volumique critique ϕ_{crit} , la dimension fractale du gel doit être égale à celle des agrégats. Au dessus de cette fraction volumique critique ($\phi > \phi_{crit}$), la dimension fractale des agrégats révèle la structure du réseau à une très courte échelle (autour de la taille particulière). La dimension fractale doit alors être différente de celle des agrégats primaires. Chaplain et *al.* (1994), ont estimé cette fraction volumique critique à environ 0,1 dans le cas des gels présure de lait. Si on applique le raisonnement de ces auteurs aux cas de nos laits acidifiés, la dimension fractale des gels acides est naturellement différente de celle des agrégats.

Tableau III.12. Comparaison des valeurs de la dimension fractale des agrégats formés en milieu dilué et celles des gels colloïdaux.

Auteurs	Agrégats formés en milieu dilué			Gels		
	D	Technique	Produit	D	Technique	Produit
Nos valeurs expérimentales	2,26	SLS*	agrégats acides de caséines bovines	2,16	Rhéologie	gel acide de lait de vache
	2,41	SLS	agrégats acides de caséines caprines	2,25	Rhéologie	gel acide de lait de chèvre
	1,91	SLS	agrégats acide de caséines ovines	2,08	Rhéologie	gel acide de lait de brebis
Horne, 1987	2,4	Turbidimétrie	agrégats présure de caséines bovines	-	-	-
Bremer et al., 1989	-	-	-	2,17	Rhéologie	gel présure de lait de vache
Chaplain et al., 1994	-	-	-	1	Rhéologie	gel présure de lait de vache
Renard et al., 1995	-	-	-	1	SANS**	gels de β -lactoglobuline
Renard et al., 1995	-	-	-	2,29	Rhéologie	gels de β -lactoglobuline

* Diffusion statique de la lumière (Static Light Scattering)

**Diffusion des neutrons aux petits angles (Small-Angle Neutron Scattering)

(ii) Dans le même ordre d'idée, Renard et al. (1995) pensent que les gels pourraient ne pas être fractals, particulièrement dans la gamme de concentration élevée. Le comportement d'échelle du module G' vs. concentration pourrait être fortuit, la relation n'étant vérifiée que sur une gamme très réduite de concentration.

(iii) Les différences dans l'échelle d'observation des techniques employées (diffusion statique de la lumière, rhéologie), pourraient également expliquer les divergences observées entre les valeurs de la dimension fractale. Selon la classification de Clark et Ross-Murphy (1987), la diffusion statique de la lumière examine la structure globale des agrégats sur une échelle "macromoléculaire" (10-2000 nm) alors que la rhéologie mesure une conséquence de la connectivité du réseau, à un niveau "supramoléculaire" (> 2000 nm).

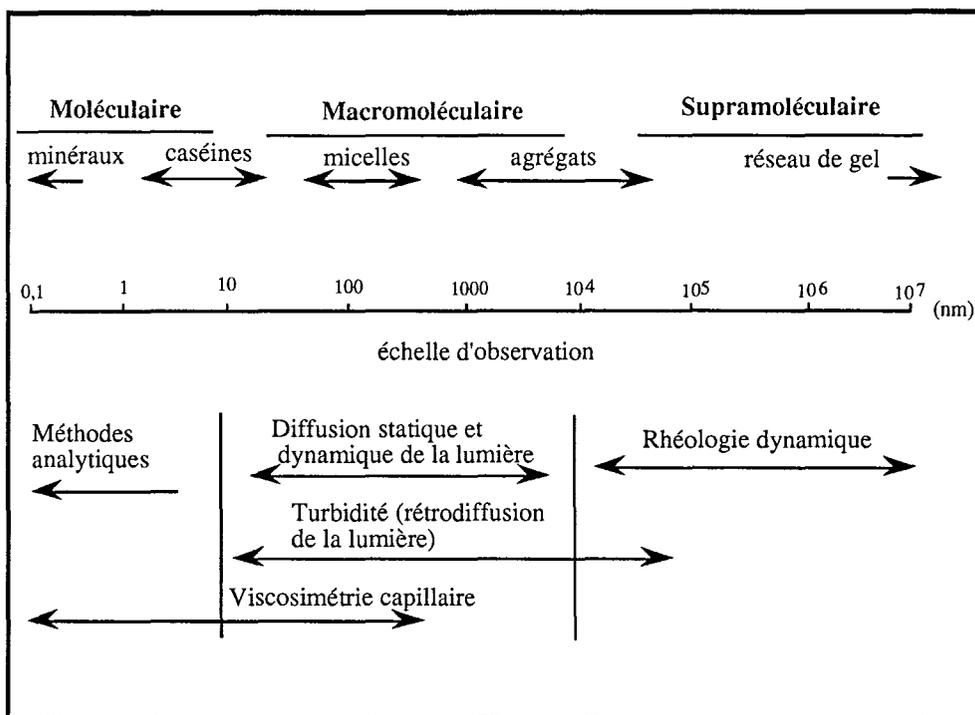


Schéma III.2. Echelles d'observation et techniques employées dans le cadre de cette étude. Nous avons utilisé la terminologie employée par Clark et Ross-Murphy (1987).

3.4. Perspectives

Les suites que l'on peut envisager de donner à ce travail sont nombreuses. Il serait intéressant de :

- (i) Déterminer les proportions des différentes molécules de caséines ovines dissociées au cours de l'acidification du lait.
- (ii) Elargir l'étude à d'autres facteurs, par exemple, étudier l'influence de la force ionique sur la structure des agrégats caséiques.
- (iii) Etudier la structure des agrégats lorsque la diffusion est limitante.
- (iiii) Déterminer la dimension fractale des agrégats caséiques au cours du temps.
- (iiiii) Développer des modèles numériques d'agrégation qui prendraient en compte davantage ces mécanismes de réarrangements d'amas et qui pourront ainsi expliquer les dimensions fractales élevées, observées dans cette étude.
- (iiiii) Développer de nouveaux modèles plus adaptés pour prédire l'élasticité des gels acides de lait.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abou-Dawood, A. E., Ghita, I. I. et Taha, S. M. 1980. Major and minor components and trace elements of the egyptian ewe's and goat's milk. *Egyptian J. Dairy Sci.* **8** 109-115
- Adachi, Y. et Ooi, S. 1990. Geometrical structure of a floc. *J. Colloid Interface Sci.* **135** 375-384
- Ahmed, N. S. 1979. The chemical composition and properties of goat milk. III. Partition of some mineral salts. *Egyptian J. Dairy Sci.* **7** 137-140
- Alais, C. 1984. *Science du lait. Principe des techniques laitières. IV^{ème} édition.* Editions SEPAIC, Paris
- Alexander, S. 1984. Is the elastic energy of amorphous materials rotationnaly invariant? *J. Physique* **45** 1939-1945
- Anifantakis, E. M. 1986. Physico-chemical properties of ewe milk compared to cow milk. *Bull. FIL.* **202** 42-53
- Anifantakis, E. M. et Kandarakis, J. G. 1980. Contribution to the study of the composition of goat's milk. *Milchwissenschaft* **30** 617-619
- Arshad, M., Paulson, M. et Dejmek, P. 1993. Rheology of buildup, breakdown and reboying of acid casein gels. *J. Dairy Sci.* **76** 3310-3316
- Assenat, L. 1985. Le lait de brebis. *In* *Laits et Produits Laitiers. Vache. Brebis. Chèvre. Vol I. Partie II.* pp 281-392. Technique et Documentation Lavoisier, Paris, France
- Aubert, C. et Cannell, D. S. 1986. Restructuring of colloidal silica aggregates. *Phys. Rev. Lett.* **56** 738-741
- Avnir, D. 1989. The fractal approach to heterogeneous chemistry. *Surfaces, Colloids, Polymers.* Ed. Avnir, D. John Wiley et Sons, New York, USA
- Ay, C. et Gunasekaran, S. 1994. Ultrasonic attenuation measurements for estimating milk coagulation time. *Trans. Amer. Soc. Agri. Eng.* **37** 857-862

- Banon, S. et Hardy, J. 1991. Study of acid milk coagulation by an optical method using light reflection. *J. Dairy Res.* **58** 75-84
- Banon, S. et Hardy, J. 1992. A colloidal approach of milk acidification by glucono- δ -lactone. *J. Dairy Sci.* **75** 935-941
- Barbosa, R. et Miranda, R. 1986. A contribution towards the study of goat milk in Portugal. *Bull. FIL.* 202 84-93
- Bensimon, D., Shraiman, B. et Kadanoff, L. 1984. Mean-field theory for a ballistic model of aggregation. *In Kinetics of aggregation and gelation*. Ed. Landau, D. P. et Family, F., North Holland, Amsterdam, Pays-Bas.
- Bijsterbosch, B. H., Bos, T. H. A., van Opheusden, J. H. J., Walstra, P. et Dickinson, E. 1995. Brownian dynamics simulation of particle gel formation : from argon to yoghurt. *In Faraday Discuss. No 101 : Gels*. Paris, 6-8 Septembre
- Boulanger, A., Grosclaude, F. et Mahé, M. F. 1984. Polymorphisme des caséines α_{S1} et α_{S2} de la chèvre (*Capra taurus*). *Génét. Sél. Evol.* **16** 157-175
- Bremer, L. G. B. 1992. Fractal Aggregation in relation to formation and properties of particle gels. Thèse, Wageningen Agricultural University, Wageningen, Pays-Bas
- Bremer, L. G. B., van Vliet, T. et Walstra, P. 1989. Theoretical and experimental study of the fractal nature of the structure of acid casein gels. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I.* **85** 3359-3372
- Bremer, L. G. B., Bijsterbosch, B. H., Schrijvers, R., van Vliet, T. et Walstra, P. 1990. On the fractal nature of the structure of acid casein gels. *Colloids and Surfaces* **51** 159-170
- Bremer, L. G. B. et van Vliet, T. 1991. The modulus of particle networks with stretched strands. *Rheol. Acta* **30** 98-101
- Bremer, L.G.B., Bijsterbosch, B. H., Walstra, P. et van Vliet, T. 1993. Formation, properties and fractal structure of particle gels. *Adv. Colloid. Interface Sci.* **46** 117-128
- Bringe, N. A. 1988. The mechanisms of the acidic coagulation of casein micelles. Thèse, Cornell University, Ithaca, USA

Bringe, N. A. et Kinsella, J. E. 1987. Forces involved in the enzymatic and the acidic coagulation of casein micelles. pp. 159-194. *In* Development in food proteins. Ed. Hudson, B. J. F. Elsevier Applied Sci. Publ., Londres, Grande-Bretagne

Bringe, N. A. et Kinsella, J. E. 1990. Acidic coagulation of casein micelles : mechanisms inferred from spectrophotometric studies. *J. Dairy Res.* **57** 365-375

Bringe, N. A. et Kinsella, J. E. 1991. Effects of cations and anions on the rate of acidic coagulation of the casein micelles : the possible role of the different forces. *J. Dairy Res.* **58** 195-209

Brown, W. D. et Ball, R. C. 1985. Computer simulation of chemically limited aggregation. *J. Phys. A : Math. Gen.* **18** L517-L521

Brulé, G., Maubois, J. L., et Fauquant, J. 1974. Etude de la teneur en éléments minéraux des produits obtenus lors de l'ultrafiltration du lait sur membrane. *Lait* **54** 600-615

Buchheim, W. et Welsch, U. 1973. Evidence for the submicellar composition of casein micelles on the basis of electron microscopical studies. *Neth. Milk Dairy J.* **27** 163-180

Buchheim, W. Lund, S. et Scholtissek, J. 1989. Comparative studies on the structure and size of casein micelles in milk from different species. *Kiel. Milchwirtschaft. Forschungsber.* **41** 253-265

Burchard, W. 1994. Light scattering. pp 151-214. *In* Physical techniques for the study of food biopolymers. Ed. Ross-Murphy, S. B. Chapman et Hall, Glasgow, Grande Bretagne

Buscall, R., Mc Gowan , I. J., Mills, P. D. A., Stewart, R. F., Sutton, D., White, L. R. et Yates, G. E. 1987. The rheology of strongly - flocculated suspension. *J. Non-Newtonian Fluid Mechanics* **24** 183- 202

Buscall, R., Mills, P. D. A., Goodwin, J. W. et Lawson, D. W. 1988. Scaling behaviour of the rheology of aggregate networks formed from colloidal particles. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I.* **84** 4249-4260

Chaplain, V., Mills, P. et Djabourov, M. 1994. Elastic properties of networks of fractal clusters. *Colloid Polym. Sci.* **272** 991- 999

- Clarck, A. et Ross-Murphy, S. 1987. Structural and mechanical properties of biopolymer gels. *Adv. Polymer Sci.* **83**:60-184
- Clark, A. H. 1994. X-ray and diffraction. pp 65-150. *In* Physical techniques for the study of food biopolymers. Ed. Ross-Murphy, S. B. Chapman et Hall, Glasgow, Grande Bretagne
- Dalgleish, D. G. 1984. Measurements of electrophoretic mobility and zeta potential from milk using laser doppler electrophoresis. *J. Dairy Res.* **51** 425-438.
- Dalgleish, D. G. et Law, A. J. R. 1988. pH-induced dissociation of bovine casein micelles. I. Analysis of liberated caseins. *J. Dairy Res.* **51** 529-538
- Dalgleish, D. G. et Law, A. J. R. 1989. pH-induced dissociation of bovine casein micelles. II. Mineral solubilization and its relation to casein release. *J. Dairy Res.* **56** 727-735
- Dalgleish, D. G. et Hallett, F. R. 1995. Dynamic light scattering: applications to food systems. *Food Res. Int.* **28** 181-193
- Darling, D. F. 1982. The effect of environmental conditions on the steric stabilization of casein micelles in milk. pp. 285-300. *In* The effects of polymers on dispersion properties. Ed. Tadros, D. F., Academic Press, New York, USA
- Darling, D. F. et Dickson, J. 1979a. The determination of the zeta potential of casein micelles. *J. Dairy Res.* **46** 329-332
- Darling, D. F. et Dickson, J. 1979b. Electrophoretic mobility of casein micelles. *J. Dairy Res.* **46** 441-451
- Davies, D. T. et White, J. C. D. 1960. the use of ultrafiltration and dialysis in isolating the aqueous phase of milk and in determinating the partition of milk constituents between the aqueous and disperse phases. *J. Dairy Res.* **27** 171-190
- Davies, F. L. et Law, A. J. R. 1983. Variation in the composition of bovine casein micelles and serum casein in relation to micellar size and milk temperature. *J. Dairy Res.* **50** 67-75
- De Gennes, P. G. 1976. La percolation : un concept unificateur. *La Recherche* **72** 919 -927

- De Kruf, K. G., Hoffmann, M. A. M., van Marle, M. E., van Mil, P. J. J. M., Roefs, S. P. F. M., Verheul, M. et Zoon, N. 1995. Gelation of proteins from milk. *In* Faraday Discuss. No **101** : Gels. Paris, 6-8 Septembre
- Desobry-Banon, S. 1991. Modification de la structure des micelles de caséine lors de l'acidification du lait par hydrolyse de glucono- δ -lactone. Thèse, Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France
- Dickinson, E. 1990. Particle Gels. *Chem. Ind.* 595- 599
- Dickinson, E. 1992. An introduction to food colloids. Oxford University Press, New York, USA
- Dodds, J. 1982. La chromatographie hydrodynamique. *Analysis* **10** 111-119
- Downey, W. K. et Fox, P. F. 1977. Milk processing - R & D focus and needs. pp. 41-106. *In* Food quality and nutrition. Research priorities for thermal processing. Ed. Downey, W. K. Applied Science Publishers, Londres, Grande-Bretagne
- Eilers, H. 1941. Die Viskosität von emulsionen hochviskoser stoffe als funktion der konzentration. *Kolloid, Z.* **97** 313-321
- Espie, W. E. et Mullan, W. M. A. 1990. Compositional aspects of goat milk in Northern Ireland. *Milchwissenschaft* **45** 361-362
- Everett, D. H. 1972. Manual of symbols and terminology for physicochemical quantities and units. *Pure Appl. Chem.* **31** 579-638
- Farah, F. 1993. Composition and characteristics of camel milk. Review article. *J. Dairy Res.* **60** 603-626
- Feder, J., Jossang, T. et Rosenqvist, E. 1984. Scaling behavior and cluster fractal dimension determined by light scattering from aggregating proteins. *Phys. Rev. Lett.* **53** 1403-1406
- FIL. 1990. Lait. Détermination de la teneur en phosphate total (Méthode spectrométrique). Norme No 42B : 1990. Fédération Internationale de Laiterie, Bruxelles, Belgique

FIL. 1992. Lait et lait en poudre. Détermination de la teneur en calcium : méthode spectrométrique d'absorption atomique. Norme No 154 : 1992. Fédération Internationale de Laiterie, Bruxelles, Belgique

FIL. 1993. Lait. Détermination de la teneur en azote. Norme No 20B : 1993. Fédération Internationale de Laiterie, Bruxelles, Belgique

Flory, P. J. 1974. Gels and gelling processes. Introductory lecture. Faraday Discuss. Chem. Soc. **57** 7-18

Forrest, S. R. et Witten, T. A. Jr. 1979. Long-range correlations in smoke-particle aggregates. J. Phys. A : Math. Gen. **12** L109-L117

Garnier, J. et Ribadeau-Dumas, B. 1970. Structure of the casein micelle. A proposed model. J. Dairy Res. **37** 493-504

Gastaldi-Bouabid, E. 1994. Etude de l'évolution des micelles de caséines au cours de l'acidification : mise en évidence d'un état de transition entre pH 5,5 et pH 5,0. Thèse, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, France

Gimel, J. C., Durand, D. et Nicolai, T. 1994. Structure and distribution of aggregates formed after heat-induced denaturation of globular proteins. Macromolecules **24** 583-589

Gouyet, J. F. 1992. Physique et structures fractales. Editions Masson, Paris.

Grappin, R. 1986. Composition and variations of the protein contents of ewe and goat milk (non protein nitrogen, casein and soluble proteins). Bull. FIL. **202** 76-80

Griffin, M. C. A. 1987. Structural studies of casein micelles using photon correlation spectroscopy. J. Colloid Interface Sci. **115** 499-506

Griffin, M. C. A. 1989. Steric stabilization and flow properties of concentrated casein micellar suspensions. *In* Food colloids, Ed. Bee, R. D., Richmond, P. et Mingins, J. Special Publication. **75** 110-122. Royal Soc. Chem., Londres, Grande Bretagne

Griffin, M. C. A., Price, J. C. et Griffin, W. G. 1989. Variation of the viscosity of a concentrated sterically stabilized colloid : effect of ethanol on casein micelles of bovine of milk. J. Colloid Interface Sci. **128** 223-229.

- Grosclaude, F., Mahé, M. F., Brignon, G., di Stasio, L. et Jeunet, R. 1987. A mendelian polymorphism underlying quantitative variations of goat α_{s1} -casein. *Génét. Sel. Evol.* **19** 399-411
- Hallett, F. R. 1994. Particle size analysis by dynamic light scattering. *Food Res. Int.* **27** 195-198
- Hallström, et Dejmek, P. 1988. Rheological properties of ultrafiltrated skim milk. II. Protein voluminosity. *Milchwissenschaft* **43** 95-97
- Hardy, J. et Scher, J. 1986. Mesure en continu de la coagulation du lait par une méthode optique. pp. 357-363. *In Automatic Control and optimisation of Food Process. Symp. ACOFOP. Paris. Elsevier, Londres, Grande Bretagne*
- Hardy, J., Maurer, K., Ould Eleya, M. M. et Desobry-Banon, S. 1995. Complexité des aliments et dimensions fractales : des outils pour prédire la qualité texturale? *Récents Progrès en Génie des Procédés* **9** 19-24
- Harwalkar, V. R., Wojtas, P. A. et Kalab, M. 1989. Effect of heating to 200°C on casein micelles in milk : a metal shadowing and negative staining electron microscope study. *Food Microstructure* **8** 217-224
- Heertje, I., Visser, J. et Smits, P. 1985. Structure formation in acid milk gels. *Food Microstructure* **4** 267-277
- Holt, C. 1982. Inorganic Constituents of milk. III. the colloidal calcium phosphate of cow's milk. *J. Dairy Res.* **49** 29-38
- Holt, C. 1985. The size distribution of bovine casein micelles : a review. *Food Microstructure* **24** 1-10
- Holt, C., Parker, T. et Dalgleish, D. G. 1975. Measurements of particle sizes by elastic and quasi-elastic light scattering. *Biochim. Biophys. Acta* **400** 283-292
- Holt, C. et Jenness, R. 1984. Interrelationships of constituents and partition of salts in milk samples from eight species. *Comp. Bioch. Physiol.* **77 A** 275-282

- Holt, C. et Dalgleish, D. G. 1986. Electrophoretic and hydrodynamic properties of bovine casein micelles interpreted in terms of particle with an outer hairy layer. *J. Colloid Interface Sci.* **114** 513-524
- Holt, C., Davies, D. T. et Law, A. J. R. 1986. Effects of colloidal calcium phosphate content and free calcium ion concentration in the milk serum on the dissociation of bovine casein micelles. *J. Dairy Res.* **53** 557-572
- Holt, C., van Kemenade, M. J. J. M., Nelson Jr., L. S., Sawyer, L., Harries, J. E., Bailey, R. T. et Hunkis, D.W.L. 1989. Composition and structure of micellar calcium phosphate. *J. Dairy Res.* **56** 411-416
- Horne, D. S. 1984. Steric effect in the coagulation of casein micelles by ethanol. *Biopolymers* **23** 989-993
- Horne, D. S. 1986. Steric stabilization and casein micelles stability. *J. Colloid Interface Sci.* **111** 250-260
- Horne, D. S. 1987. Determination of the fractal dimension using turbidimetric techniques. *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **83** 259-270
- Horne, D. S. 1989. Application of fractal concepts to the study of caseinate aggregation phenomena. *J. Dairy Res.* **56** 535-541
- Horne, D. S. 1995. Scaling behaviour in the kinetics of particle gel formation. *In Faraday Discuss. No 101 : Gels. Paris. 6-8 Septembre*
- Horne, D. S. et Davidson, C. M. 1986. The effect of environmental conditions on the steric stabilization of casein micelles. *Colloid Polymer Sci.* **264** 727-734
- Irlam, J. C., Holt, C. Hasnain, S. S. et Hukins, D. W. L. 1985. Comparison of the structure of micellar calcium phosphate in milk from six species by extended X-ray absorption fine structure spectroscopy. *J. Dairy Res.* **52** 267-273
- Israëlchvili, J. 1985. Intermolecular and surface forces. Ed. Academic press, New York, USA
- Jenness, R. 1980. Composition and characteristics of goat milk : review 1968 -1979. *J. Dairy Sci.* **63** 1605-1630

- Jenness, R. et Sloan, R. E. 1970. The composition of milks from various species : a review. *Dairy Sci. Abst.* **32** 599-612
- Juarez, M. et Ramos, M. 1986. Physico-chemical characteristics of goat milk as distinct from those of cow milk. *Bull. FIL.* **202** 54-67
- Jullien, R. 1986. Les phénomènes d'agrégation et les agrégats fractals. *Ann. Télécomm.* **41** 263-290
- Jullien, R. et Kolb, M. 1984. Hierarchical model for chemically limited cluster-cluster aggregation. *J. Phys. A.* **17** L639-L643
- Kaminarides, S. E. et Anifantakis, E. M. 1993. Comparative study of the separation of casein from bovine, ovine and caprine milks using HPLC. *J. Dairy Res.* **60** 495-504
- Kaye, B. H. 1989. Image analysis techniques for characterizing fractal structures. pp. 55-65. *In* The fractal approach to heterogeneous chemistry. Surfaces, colloids, polymers. Ed. Avnir, D. John Wiley et Sons, New York, USA
- Kim, B. Y. et Kinsella, J. E. 1989. Rheological changes during slow acid induced gelation of milk by D-glucono- δ -lactone. *J. Food Sci.* **54** 894-898
- Kolb, M. 1986. Aggregation : growth processes in physics, chemistry and biology. Cassette vidéo VHS 22 min. ZEAM, Berlin, Allemagne
- Kolb, M., Botet, R. et Jullien, R. 1983. Scaling of kinetically growing clusters. *Phys. Rev. Lett.* **51** 1123-1126
- Lablée, J. 1988. Evolution de la théorie fromagère et utilisation de la glucono- δ -lactone. *Bull. Acad. Vét. France* **61** 191-198
- Latrille, E. 1994. Suivi de la fabrication du yaourt brassé : instrumentation, mesure indirecte et modélisation prédictive par réseaux de neurones. Thèse, Institut National Agronomique Paris-Grignon, France
- Law, A. J. R. 1995. Heat denaturation of bovine, caprine and ovine whey proteins. *Milchwissenschaft* **50** 384-388

Law, A. J. R. et Tziboula, A. 1993. Fractionation of caprine κ -casein and examination of polymorphism by FPLC. *Milchwissenschaft* **48** 68-71

Law, A. J. R., Papoff, C. M., Dalgleish, D. G. et Campus, R. L. 1992. Quantitative fractionation of ovine casein by cation - exchange FPLC. *Milchwissenschaft* **47** 279-282

Le Graët, Y. et Brulé, G. 1993. Les équilibres minéraux du lait : influence du pH et de la force ionique. *Lait* **73** 51-60

Le Mens, P. 1985. Propriétés physico-chimiques, nutritionnelles et chimiques du lait de chèvre. pp 349-387. *In* Laits et Produits Laitiers. Vache. Brebis. Chèvre. Vol 1. Partie 3. Technique et Documentation Lavoisier, Paris, France

Lin, M. Y., Lindsay, H. M., Weitz, D. A., Ball, R. C., Klein, R. et Meakin, P. 1989. Universality in colloid aggregation. *Nature* **339** 360-362

Lin, M. Y., Lindsay, H. M., Weitz, D. A., Ball, R. C., Klein, R. et Meakin, P. 1990. Universal reaction-limited colloid aggregation. *Phys. Rev. A* **41** 2005-2020

Lindsay, H. M., Lin, M. Y., Weitz, D. A., Sheng, P., Chen, Z., Klein, R. et Meakin, P. 1987. Properties of colloid aggregates. *Faraday Soc. Discuss.* **83** 153-164

Lopez, M. B., Botet, M. J., Hellin, P., Luna, A. et Laencina, J. 1995. Effect of thermal treatment on goat milk clotting time. *Milchwissenschaft* **50** 126-129

Mahieu, H., Le Jaouen, J. C., Luquet, F. M. et Mouillet, L. 1977a. Etude comparative de la composition et de la contamination des laits des espèces laitières bovines, ovines et caprines. 1^{ère} partie. Laits de producteurs. *Lait* **57** 287-300

Mahieu, H., Le Jaouen, J. C., Luquet, F. M. et Mouillet, L. 1977b. Etude comparative de la composition et de la contamination des laits des espèces laitières bovines, ovines et caprines. 1^{ère} partie. Laits de grand mélange. *Lait* **57** 561-571

Mandelbrot, B. B. 1975. Les objets fractals, forme, hasard et dimension. 1^{ère} édition, Flammarion, Paris.

Mandelbrot, B. B. 1977. The fractal geometry of nature. Ed. Freeman, W. H., New York, USA

- Matshushita, M. 1989. Experimental observations of aggregations. pp 161-177. *In* The Fractal approach to heterogeneous chemistry. Surfaces, Colloids, Polymers. Ed. Avnir, D. John Wiley et Sons, New York, USA
- Maurer, K. et Hardy, J. 1995. Rheological and sensoriel characterization of semi-solid foods products : a fractal approach. *J. Texture Stud.* **27** 41-59
- Meakin, P. 1983. Formation of fractal structures and networks by irreversible diffusion-limited aggregation. *Phys. Rev. Lett.* **51** 1119-1122
- Meakin, P. et Jullien, R. 1988. The effects of restructuring on the geometry of clusters formed by diffusion-limited, ballistic, and reaction-limited cluster-cluster aggregation. *J. Chem. Phys.* **89** 246-250
- Merin, U., Rosenthal, I. et Meltz, E. 1988. The composition of goat milk as affected by nutritional parameters. *Milchwissenschaft* **43** 363-365
- Mewis, J. 1976. rheology of concentrated dispersions. *Adv. Colloid Interface Sci.* **6** 173-200
- Mora-Gutierrez, A., Farrell Jr., H. M. et Kumosinski, T. F. 1993. Comparison of calcium-induced association of bovine and caprine caseins and the relationship of α_S1 -casein content to colloidal stabilization : a thermodynamic linkage analysis. *J. Dairy Sci.* **76** 3690-3697
- Morr, C. V. 1967. The effect of oxalate and urea upon centrifugation properties of raw and heated skim milk casein micelles. *J. Dairy Sci.* **50** 1744-1751
- Muchetti, G., Gatti, M. et Neviani, E. 1994. Electrical conductivity changes in milk caused by acidification : determining factors. *J. Dairy Sci.* **77** 940-944
- Muir, D. D., Horne, D. S., Law, A. J. R. et Steele, W. 1993. Ovine milk. I. Seasonal changes in composition of milk from a commercial scottish flock. *Milchwissenschaft* **48** 363-366
- Nieuwenhuijse, J. A. et Walsra, P. 1991. Application of fractal aggregation theory to the heat coagulation of milk products. pp 523-530. *In* Food polymers, gels and colloids. Ed. Dickinson, E., Royal Soc. Chem., Cambridge, Grande Bretagne

Niki, R., Kim, G.Y., Kimura, T., Takahashi, K., Kohyama, K. et Nishinari, K. 1994. Physical properties and microstructure of rennet gels from casein micelles of different sizes. *Milchwissenschaft* **49** 325-329

Ono, T. et Creamer, L. K. 1986. Structure of goat casein micelles. *New Zealand J. Dairy Sci. Technol.* **21** 57-64

Ono, T., Kohno, H., Odagiri, S. et Takagi, T. 1989. Subunit components of casein micelles from bovine, ovine caprine and equine milks. *J. Dairy Res.* **56** 61-68

Overbeek, J. T. G. 1982. Colloids, a fascinating subject : introductory lecture. pp. 1-22. *In* Colloidal dispersions. Ed. Goodwin, J. W., Royal Soc. Chem., Londres, Grande-Bretagne.

Parkash, S. et Jenness, R. 1968. The composition and characteristics of goat's milk : a review. *Dairy Sci. Abst.* **30** 67-87

Parker, T. G. et Dalgleish, D. G. 1977. The use of light-scattering and turbidity measurements to study the kinetics of extensively aggregating proteins : α_s -casein. *Biopolymers* **16** 2533-2543

Parry, R.M. Jr. et Carroll, R. J. 1969. Location of κ -casein in milk micelles. *Biochem. Biophys. Acta* **194** 138-150

Payens, T. A. J. 1979. Casein micelles: the colloidal-chemical approach. *J. Dairy Res.* **46** 291-300

Peleg, M. 1993. Fractals and foods. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.* **33** 149-165

Pellegrini, O., Remeuf, F. et Rivemale, M. 1994. Evolution des caractéristiques physico-chimiques et des paramètres de coagulation du lait de brebis collecté dans la région de Roquefort. *Lait* **74** 425-442

Pessen, H., Kumosinski, T. F. et Farrell Jr., H. M. 1989. Small-angle X-ray scattering investigation of the micellar and submicellar forms of bovine casein. *J. Dairy Res.* **56** 443-451

Pfeiffer, P. et Obert, M. 1989. Fractals : basic concepts and terminology. pp. 11-40. *In* The fractal approach to heterogeneous chemistry. Surfaces, colloids, polymers. Ed. Avnir, D. John Wiley et Sons, New York, USA

- Rajput, Y. S., Bhavadasan, M. K. et Ganguli, N. C. 1983. Changes in the chemical status of calcium in casein micelles with the pH of milk. *Milchwissenschaft* **38** 211-213
- Ramet, J. P. 1987. Use of bovine calf rennet to coagulate raw camel milk. *World Animal Rev.* **61** 11-16
- Ramet, J. P. 1993. Camel cheese processings. *FAO Animal Production and Health Paper* **113** 1-118
- Raper, J. A. et Amal, R. 1993. Measurement of aggregate fractal dimensions using static light scattering. *Part. Part. Syst. Charact.* **10** 239-245
- Remeuf, F. 1988. Contribution à l'étude des aptitudes fromagères du lait de chèvre. Thèse, Institut National Agronomique Paris-Grignon, Paris, France
- Remeuf, F. et Lenoir, J. 1986. Relationships between physicochemical characteristics of goat milk and its rennetability. *Bull. FIL* **202**. 68-72
- Renard, D., Axelos, M. A. V. et Lefebvre, J. 1995. Investigation of sol-gel transitions of β -lactoglobulin by rheological and small-angle neutron scattering measurements. pp. 390-399. In *Food macromolecules and colloids*. Ed. Dickinson, E. Lorient, D., Roy. Soc. Chem., Cambridge, Grande-Bretagne
- Richardson, B. C., Creamer, L. K. et Pearce, K. N. 1974. Comparative micelle structure. II. Structure and composition of casein micelles in ovine and caprine milk as compared with those in bovine milk. *J. Dairy Res.* **41** 239-247
- Roefs, S. P. F. M. 1986. Structure of acid casein gels. A study of gels formed after acidification in the cold. Thèse, Wageningen Agricultural University, Wageningen, Pays Bas
- Roefs, S. P. F. M., Walstra, P., Dalgleish, D.G. et Horne, D.S. 1985. Preliminary note on the change in casein micelles caused by acidification. *Neth. Milk Dairy J.* **39** 119-122
- Roefs, S. P. F. M., de Groot -Mostert, A. E. A. et van Vliet, T. 1990a. Structure of acid casein gels. I. Formation and model of gel network. *Colloids and Surfaces* **50** 141-159
- Roefs, S. P. F. M. et van Vliet, T. 1990b. Structure of acid casein gels. II. Dynamic measurements and type of interactions forces. *Colloids and Surfaces* **50** 161-175

- Rollema, H. S., Brinkhuis, J. A. et Vreeman, H. J. 1988. H-NMR study of bovine κ -casein and casein micelles. *Neth. Milk Dairy J.* **42** 233-248
- Rönnegard, E. et Dejmek, P. 1993. Development and breakdown of structure in yoghurt studied by oscillatory measurements. *Lait* **73** 371-379
- Rose, D. 1968. Relation between micellar and serum casein in bovine milk. *J. Dairy Sci.* **51** 1897-1902
- Rose, D. 1969. A proposed model of micelle structure in bovine milk. *Dairy Sci. Abstr.* **51** 1897-1902
- Saini, A. L. et Gill, R. S. 1991. Goat milk - an alternative alternate. *Indian Dairyman.* **43** 562-564
- Sander, L. 1987. La croissance fractale. *Pour la Science Mars* 88-96
- Sawaya, W. N., Safi, W. J., Al-Shalhat, A. F. et Al-Mohammad, M. M. 1984. Chemical composition and nutritive value of goat milk. *J. Dairy Sci.* **67** 1655-1659
- Schaefer, D. W., Martin, S. E., Wiltzius et Cannell, D. S. 1984. Fractal geometry of colloid aggregates. *Phys. Rev. Lett.* **52** 2371-2374
- Schmidt, D. G. 1982. Association of caseins and casein micelle structure. pp. 61-86 *In* Developments in dairy chemistry. I. Proteins. Ed. Fox, P. F. Applied Sciences Publishers, Londres
- Schmidt, D. G. et Buchheim, W. 1970. An electron-microscopical investigation of the sub-structure of the casein micelles in cow's milk. *Milchwissenschaft* **25** 597-600
- Schmidt, D. G. et Poll, J. K. 1986. Electrokinetic measurements on unheated and heated casein micelle systems. *Neth. Milk Dairy J.* **40** 269-280
- Schmidt, P. W. 1989. Use of scattering to determine the fractal dimension. pp 67-98. *In* The Fractal approach to heterogeneous chemistry. Surfaces, Colloids, Polymers. Ed. Avnir, D. John Wiley et Sons, New York, USA

- Serpeloni, M. 1986. Glucono- δ -lactone. Applications alimentaires. Document de la Société Roquette (93), France
- Serpeloni, M., Lefebvre, P. et Duscantois, C. 1990. Glucono- δ -lactone in milk ripening. Dairy Ind. Int. **55** 35-41
- Shih, W. H., Shih, W. Y., Kim, S. I., Liu, J. et Aksay, I. A. 1990. Scaling behavior of the elastic properties of colloidal gels. Phys. Rev. A **42** 4472-4479
- Slattery, C. W. et Evard, R. 1973. A model for the formation and structure of casein micelles from subunits of variable composition. Biochim. Biophys. Acta **317** 529-538
- Snoeren, T. H. M. , Klok, H. J., van Hooydonk, A. C. M. et Damman, A. J. 1984. The voluminosity of casein micelles. Milchwissenschaft **39** 461-463
- Snoeren, T. H. M., Damman, A. J. et Klock, H. J. 1982. The viscosity of skim-milk concentrates. Neth. Milk dairy J. **36** 305-316
- Sood, S. M. et Sidhu, K. S. 1977. Voluminosity of ovine and caprine casein micelles. Milchwissenschaft **32** 71-93
- Sood, S. M. et Sidhu, K. S. 1979. Heat stability, voluminosity and hydration of casein micelles from milks of different species. New Zealand J. Dairy Sci. Technol. **14** 217-225
- Stading, M., Langton, M. et Hermansson, A.M. 1992. Inhomogeneous fine-stranded β -lactoglobulin gels. Food Hydrocoll. **6** 455-470
- Stading, M., Langton, M. et Hermansson, A.M. 1993. Microstructure and rheological behaviour of particulate β -lactoglobulin gels. Food Hydrocoll. **7** 195-212
- Sutherland, D. N. 1967. A theoretical model of floc structure. J. Colloid Interface Sci. **25** 373-380
- Tarodo de la fuente, B. et Alais, C. 1974. Solvation of casein in bovine milk. J. Dairy Sci. **58** 293-300
- Ter Horst, M. G. 1963. A new theory on the caseinate complex in milk. Neth. Milk Dairy J. **17** 185-192

- Thompson, M. P. et Farell Jr., M. P. 1973. The casein micelle-the forces contributing to its integrity. *Neth. Milk Dairy J.* **27** 220-239
- Tokita, M. 1989. Gelation mechanism and percolation. *Food Hydrocoll.* **3** 263-274
- Tokita, M., Niki, R. et Hickichi, K. 1985. Critical behaviour of modulus of gel. *J. Chem. Phys.* **83** 2583-2586
- Trop, M. 1984. Simulation of bacterial fermentation of milk and possible acylation of its protein by acidogen hydrolysis. *J. Dairy Sci.* **67** 1381-1383
- van Dijk, H. J. M. 1990a. The properties of casein micelles. I. The nature of the micellar calcium phosphate. *Neth. Milk Dairy J.* **44** 65-81
- van Dijk, H. J. M. 1990b. The properties of casein micelles. II. Formation and degradation of the micellar calcium phosphate. *Neth. Milk Dairy J.* **44** 111-124
- van Garderen, H. F., Dokter, W. H., Beelen, T.P.M., van Santen, R. A., Pantos, E., Michels, M. A. J. et Hilbers, P. A. J. 1995. Volume fraction dependence and reorganization in cluster-cluster aggregation processes. *J. Chem. Phys.* **102** 480-495
- van Hooydonk, A. C. M., Hagedoorn, H. G. et Boerrigter, I. J. 1986. pH-induced physico-chemical changes of casein micelles in milk and their effect on renneting. 1. Effect of acidification on physico-chemical properties. *Neth. Milk Dairy J.* **40** 281-296
- van Marle, M. E. et Zoon, P. 1995. Permeability and rheological properties of microbially and chemically acidified skim-milk gels. *Neth. Milk dairy J.* **49** 47-65
- van Vliet, T. et Keetels, C. J. A. M. 1995. Effect of preheating of milk on the structure of acidified milk gels. *Neth. Milk Dairy J.* **49** 27-35
- Vespirini-Jaubert, A. 1992. Composition et caractéristiques structurales de la micelle de caséine caprine. Influence de divers paramètres physico-chimiques (pH, température, force ionique). Thèse, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, Rennes, France
- Visser, H. 1991. A new casein micelle model and its consequences for pH and temperature effects on the properties of milk. pp 135-161. *In Protein interactions*. Ed. Visser, H. VCH Verlagsgessellschaft, Weinheim, Allemagne

- Visser, J. Schaier, R.W. et Gorkom, M.W. 1979. The role of calcium, phosphate and citrate ions in the stabilization of casein micelles. *J. Dairy Res.* **46** 333-335
- Visser, J., Minihan, A., Smits, R., Tjan, S. B. et Heertje, I. 1986. Effects of pH and temperature on the milk salt system. *Neth. Milk Dairy J.* **40** 351-368
- Vold, M. J. 1963. Computer simulation of the floc formation in a colloid suspension. *J. Colloid Sci.* **18** 684-695
- Voutsinas, L., Pappas, C. et Katsiari, M. 1990. The composition of alpine goat's milk during lactation in Greece. *J. Dairy Res.* **57** 41-51
- Walstra, P. 1969. Studies on milk fat dispersion. V. The mean distance between fat globules. *Neth. Milk Dairy J.* **23** 245-249
- Walstra, P. 1979. The voluminosity of bovine casein micelle and some of its implications. *J. Dairy Res.* **46** 317-323
- Walstra, P. 1990. On the stability of casein micelles. *J. Dairy Sci.* **73** 1965-1979
- Walstra, P. et Jenness, R. 1984. Dairy chemistry and physics. Ed. John Wiley et Sons, Inc., New York, USA
- Walstra, P., van Vliet, T. et Bremer, L. G. B. 1991. On the fractal nature of particle gels. pp. 369-375. *In* Food Polymers, Gels and Colloids, Ed. E. Dickinson, Royal Society of Chemistry, Cambridge, Grande-Bretagne
- Waugh, D. F. Creamer, L. K. Slattery, C. W. et Dresdner, G. W. 1970. Core polymers of casein micelles. *Biochemistry* **9** 786-795
- Weitz, D. A. et Oliveria, M. 1984. Fractal structures formed by kinetic aggregation of aqueous gold colloids. *Phys. Rev. Lett.* **52** 1433-1436
- Weitz, D. A., Lin, M. Y. et Sandroff, C. J. 1985. Colloid aggregation revisited : new insights based on fractal structure and surface-enhanced raman scattering. *Surface Sci.* **158** 147-164
- Witten, T. A. Jr. et Sander, L. M. 1981. Diffusion-limited aggregation, a kinetic critical phenomenon. *Phys. Rev. Lett.* **47** 1400-1403

Zoon, P., van Vliet, T. et Walstra, P. 1988. Rheological properties of rennet-induced skim milk gels. I. Introduction. *Neth. Milk Dairy J.* **42** 249-269

Zuniga, R. 1995. Etude comparative de l'acidification du lait par hydrolyse de GDL et par fermentation lactique. DEA, Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France

PUBLICATIONS

A Comparative Study of pH and Temperature Effects on the Acidic Coagulation of Milks from Cows, Goats, and Sheep

M. M. OULD ELEYA, S. DESOBRY BANON, and J. HARDY

Laboratoire de Physico-Chimie et Génie Alimentaires
Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires
Institut National Polytechnique de Lorraine
2, Avenue de la Forêt de Haye
54500 Vandœuvre Lès Nancy, France

ABSTRACT

The acidic coagulation of milk from cows, goats, and sheep was studied at various temperatures by a turbidimetric method based on light reflection and capillary viscosimetry. Milk was acidified by hydrolysis of a defined amount of glucono- δ -lactone. Two characteristic behaviors of milk were distinguished by turbidimetry. The first was observed at 15 and 20°C for the three types of milk and at 30°C for goat milk. The typical turbidimetric pattern as a function of pH could be divided into three stages. The first stage, from initial pH of milk to approximately pH 5.9, showed an initial increase in turbidity and a decrease in viscosity. The second stage, from pH 5.9 to approximately pH 5.2, corresponded to a decrease of milk turbidity associated with an increase in viscosity. The third stage was a logarithmic increase in turbidity. The second typical behavior of milk during acidification was obtained at 30 and 40°C for cow and sheep milks and at 40°C for goat milk. The turbidimetric and pH profiles could be divided into two parts: a slight turbidity increase and a rise in turbidity until a plateau was reached.

(Key words: acidic coagulation, cow milk, goat milk, sheep milk)

INTRODUCTION

The strong commercial importance of cow milk has caused it to be studied more exten-

sively than goat and sheep milks. In recent years, the growing consumption of dairy products from goat and sheep milks, especially cheese, has required more knowledge of the raw materials. Detailed literature concerning the composition and physicochemical characteristics (1, 17) has been published, but only a few papers dealt with acidification of goat and sheep milks (24, 32).

Sheep milk contains more caseins and minerals (Ca, Mg, and inorganic P) than do cow and goat milks (1, 12, 29); goat milk has the lowest protein and casein contents and the highest proportion of NPN (17, 32). The proportion of calcium and magnesium in goat milk is comparable with that of cow milk, but the quantity of inorganic phosphorus is generally less. The major components of ovine and caprine caseins were identified as α_{s1} -, α_{s2} -, β -, and κ -caseins (16, 19, 20, 22, 23). β -Caseins are, quantitatively, the major protein component of goat milk (17, 20, 22, 23). Compared with bovine caseins, caprine caseins contain much less α_{s1} -casein, a similar amount of α_{s2} -casein, and more β - and κ -caseins (20). Compared with ovine caseins, caprine caseins contain less α_s -casein (α_{s1} - and α_{s2} -) and more β - and κ -caseins (8). According to Richardson et al. (26), the submicelles from milk of cows, goats, and sheep are similar, but the micelles that the submicelles form are different. The caprine casein micelles have a greater diameter (and greater size dispersion) than do bovine and ovine casein micelles (8, 26). Ovine micelles have the narrowest size distribution and smallest particles (about 80 nm in diameter) (8, 26). Furthermore, the mineralization values of casein micelles are, in the order of greatest to least, ovine, caprine, and bovine casein micelles (2, 22, 29, 32). The hydration of casein micelles, which was determined by ultracentrifugation (22, 32) or by viscometry

Received February 22, 1995.

Accepted August 9, 1995.

(29) varied in the opposite direction (2, 22, 29, 32).

The acidic coagulation of casein micelles reflects interactions among proteins that are important in the manufacture of many dairy products. The most important effects of lowering the pH of milk are the solubilization of micellar calcium phosphate (10, 31), the decrease of the net charge of casein molecules (31), and the temperature-dependent dissociation of caseins from micelles (9, 27, 31). Previous studies (27, 30, 31) revealed that some important properties of the casein micelles, such as voluminosity and zeta potential (4), show a particular dependence on pH. Temperature and pH are the two major parameters that affect acidic milk coagulation (18, 33), and their effects on cow milk have been extensively studied (4, 9, 10, 18, 33). However, no studies were carried out on the effects of these parameters on milk with various compositions and different size distributions of casein micelles. The objective of this work was to compare the behavior of cow, goat, and sheep milks during acidification at different temperatures in order to understand more clearly the mechanisms of acidic coagulation of sheep and goat milks.

MATERIALS AND METHODS

Milk Samples

Fresh bulk cow (Holstein-Friesian) and goat milk (French Alpine) samples were collected from the herds of Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires (Nancy, France). Bulk sheep milk was obtained from a commercial herd of French Manech sheep. Before use, milk was skimmed by centrifugation at 4°C for 30 min at a centrifugal force of $1000 \times g$.

Acidification of Milk

To alter the pH of milk, a defined amount of glucono- δ -lactone (Merck, Darmstadt, Germany) was added. The amount of glucono- δ -lactone used for turbidimetric experiments equaled 2.25% (wt/vol) to coagulate milk from various species in 16 h at 15, 20, 30, and 40°C. For casein and mineral analysis and for measurements of viscosity, milk samples were

acidified with different amounts of glucono- δ -lactone and left for about 24 h at 20°C for pH equilibration. To prevent bacterial growth, milk was treated with .01% sodium azide.

Turbidimetric Measurements

The turbidimetric method (Analite Novasina, Zurich, Suisse), detailed by Banon and Hardy (3) and Dalgleish and Law (10), has been used in this study. The change in turbidity, $\Delta\tau$, was calculated:

$$\Delta\tau = \tau - \tau_0$$

where τ_0 indicates initial milk turbidity.

Viscosity Measurements

A capillary viscosimeter (Viscosimatic-MS Fica; Le Mesnil Saint-Denis, France) was used to measure dynamic viscosity of milk during acidification at 20°C.

Solubilization of Caseins and Minerals

Ultracentrifugation at $70,000 \times g$ for 2 h at 20°C was used to separate soluble caseins from micellar caseins in milk samples (ultracentrifuge L5-50B; Beckman Instruments, Palo Alto, CA). After centrifugation, the supernatant liquid was carefully removed. The total N (TN) and noncasein N (NCN) of milk samples and the total N of ultracentrifugation supernatant (TSN) were determined by the Kjeldahl standard method. Assuming that NCN was constant (9), the total casein N (TCN) and the soluble casein N (SCN) were calculated as follows:

$$\begin{aligned} \text{TCN} &= \text{TN} - \text{NCN} \\ \text{SCN} &= \text{TSN} - \text{NCN} \end{aligned}$$

The partition between soluble and micellar casein was then calculated.

An ultrafiltration technique was used to prepare serum at 20°C. About 200 ml of milk were ultrafiltered on a membrane (YM10; Amicon, Epernon, France) with a cutoff at molecular mass of 10,000 Da. The first 5 ml were discarded, and the next 5 ml were retained for analysis. Total Ca and Mg contents of the original milk and of permeates from ultrafiltration were determined by atomic ab-

TABLE 1. The mineral and protein composition of cow, goat, and sheep milks.¹

Variable	Cow		Goat		Sheep	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
Protein, g/L	31.01	.45	28.76	.56	49.51	.75
Casein, g/L	23.16	.30	19.31	1.26	37.34	.30
NPN, %	4.75	.31	11.54	.20	4.73	.69
Ca, g/L	1.14	.04	1.34	.06	2.06	.01
Mg, g/L	.11	.01	.10	.01	.21	.02
P, g/L	1.07	.05	.79	.04	1.34	.06

¹Data are the means of triplicate measurements.

sorption (1100 Atomic Absorption Spectrophotometer; Perkin-Elmer Instruments, Bois d'Arcy, France). The partition of Ca and Mg between micelles and serum was then calculated.

RESULTS

Milk Composition

The mineral and protein compositions of milk samples are summarized in Table 1. These results show that sheep milk contained more casein and minerals (Ca, Mg, and inorganic P) than did cow and goat milks. Goat milk contained less casein, about the same amounts of Ca and Mg, less inorganic P than cow milk, and a particularly high proportion of NPN, 11.5%, in agreement with literature results (1, 12, 32).

Turbidity and pH Recordings

The changes in turbidity of cow, goat, and sheep milks as a function of pH at 15, 20, 30, and 40°C are shown in Figure 1. Depending on the temperature, two types of profiles could be distinguished. At 15 and 20°C for the three types of milk and at 30°C for goat milk, the first typical turbidimetric and pH pattern presented three stages: an initial increase in turbidity, followed by a significant decrease, and then a logarithmic increase in turbidity. The turbidity decrease became more pronounced as temperature decreased. Moreover, the turbidity decrease appeared to be more marked for goat milk than for other milks. At 30 and 40°C for cow and sheep milks and at 40°C for goat milk, the second characteristic profile for turbidity and pH could be divided

into two parts: an initial slight increase in turbidity and then a logarithmic increase in turbidity.

The initial turbidity for cow, goat, and sheep milks at 15, 20, 30, and 40°C is presented in Table 2. At all temperatures, turbidity was apparently least for cow milk and highest for sheep milk. Turbidity of milk gels, at the same temperature, was least for goat milk gels; turbidities for cow and sheep milk gels were comparable (Figure 1). Initial and final turbidity values increased with temperature (Table 2; Figure 1), in agreement with earlier observations (11).

Dynamic Viscosity

Viscosities of cow, goat, and sheep milks at 20°C were measured between pH 6.7 and 5.0. The viscosity and pH profiles shown in Figure 2b had a parabolic shape with a minimum around pH 5.9 for milk from various species. Because of the instrumental limitation, no test was carried out below pH 4.9. The viscosities of sheep milk were generally greater than those of cow and goat milks at similar pH conditions.

Caseins and Minerals Dissociation

Figure 2c shows the dissociation of micellar caseins when pH was lowered for cow, goat, and sheep milks at 20°C. The maximal solubilization occurred around pH 5.5, and caprine casein micelles apparently dissociated more easily than did ovine and bovine casein micelles. Solubilizations of casein of about 30, 15, and 10% were achieved for goat, sheep, and cow milks (Figure 2c). The percentages of solubilized bovine caseins were lower than

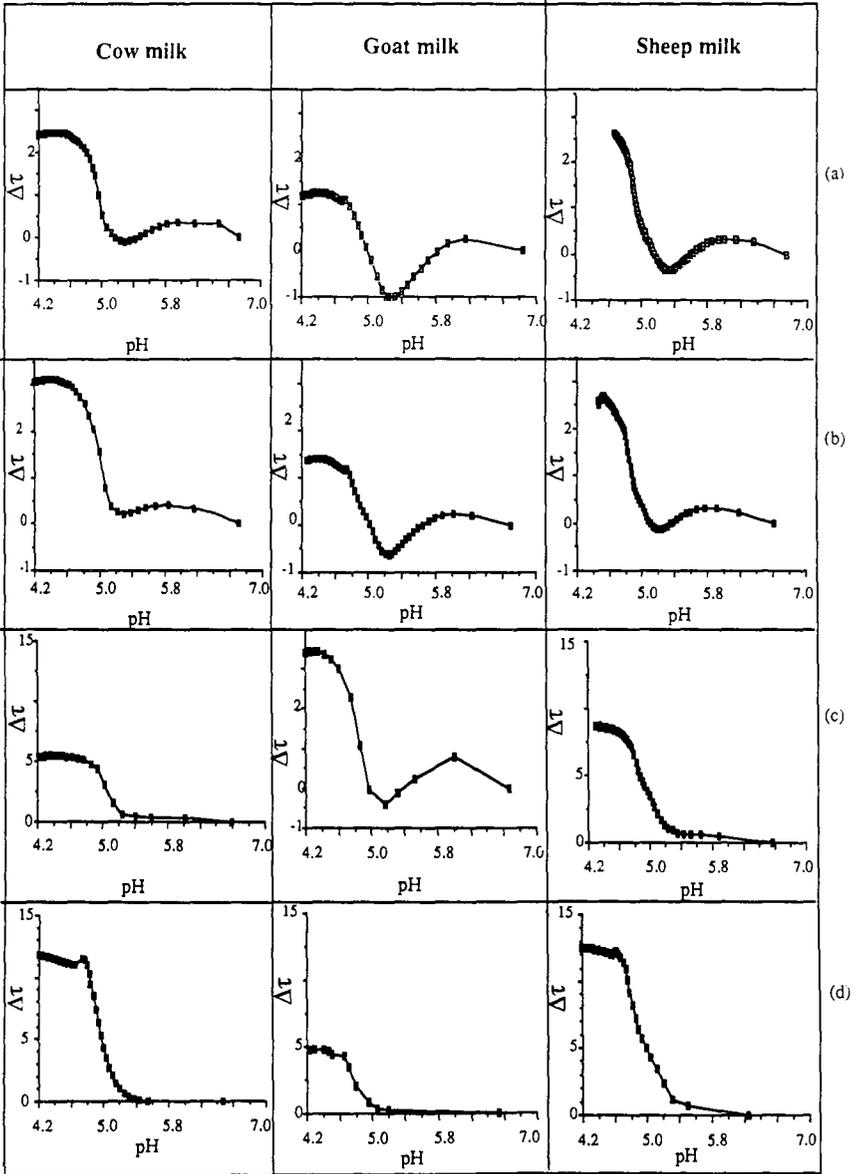


Figure 1. Typical curves of changes in turbidity ($\Delta\tau$) in turbidity units ($1000 \times \text{NTU}$) of cow, goat, and sheep skim milks as a function of pH at a) 15°C, b) 20°C, c) 30°C, and d) 40°C.

TABLE 2. Initial turbidity of cow, goat, and sheep skim milks at various temperatures.¹

Temperature (°C)	Cow		Goat		Sheep	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
15	6.64	.21	9.52	.28	10.83	.35
20	6.92	.26	9.93	.29	11.30	.21
30	7.35	.21	10.48	.30	11.71	.44
40	7.63	.17	10.75	.31	12.43	.22

¹Data are the means of triplicate measurements.

those reported (30%) by Dagleish and Law (9). The extent of dissolution of colloidal Ca as a function of pH at 20°C for cow, goat, and sheep milks is shown in Figure 2d. Apparently, about 70% of colloidal Ca was solubilized at pH 5.3. Results (not shown) revealed that Ca and Mg dissociated similarly; however, the amount of dissociated Mg was smaller.

DISCUSSION

The differences in turbidity of cow, goat, and sheep milks (Table 2) were related to the differences in casein concentration, in micellar size, and in the optical properties of milks. Indeed, turbidity of milk was a linear function of the product of weight average molecular mass and the mean scattering factor of casein micelles (14, 25). The casein micelles scattering factor was a function of the square of the mean radius. The increase of turbidity with increasing temperature for the three types of milk (Table 2) could be explained then by the reductions in micellar voluminosity and in micellar size. Indeed, Banon and Hardy (4) showed that the size of bovine casein micelles decreased as temperature increased. So, the voluminosity of the casein micelles varied (34). Conversely, the decrease of the mean particle radius led to denser particles with a higher scattering factor (14).

According to the turbidimetric and pH profiles (Figure 1), cow, goat, and sheep milks behaved similarly during acidification. Depending on temperature, two types of profiles were distinguished: the first corresponded to a three-stage turbidimetric and pH profile, and the second corresponded to a two-stage turbidimetric and pH profile. The same differences in turbidity profiles associated with temperature were observed in a recent study (24)

on milk acidification from the three species, using 1.5% (wt/vol) of glucono- δ -lactone, an amount lower than that used in the present study.

The acidification of milk from the initial pH to approximately pH 5.9 caused a slight increase in turbidity for the three types of milk at 15, 20, 30, and 40°C. At that pH region, dominated by the increased attraction between positively and negatively charged groups (31), bovine casein micelles retained their integrity, shape, and dimension (33). Vespirini Jaubert (32), in a study of goat milk, showed a dissolution of minerals, a slight solubilization of caseins, a decrease in micellar hydration, and a slight reduction in micellar dimension at this pH region. The increase in turbidity observed in our study was related to a simultaneous decrease in dynamic viscosity at 20°C for cow, goat, and sheep milks (Figure 2b). A similar phenomenon was observed by Banon and Hardy (3, 4) during acidification of reconstituted bovine skim milk at 15, 20, 30, and 42°C. From the initial pH to approximately pH 5.9, the supply of protons was hypothesized to cause partial collapse of the hairy outer layer of micelles (3, 4). Consequently, voluminosity and then dynamic viscosity of micelles decreased according to Eiler's relationship. Moreover, this micellar shrinkage was expected to lead to dense particles that reflect more light. According to our results, the hypothesis of a micellar hairy layer collapse could apply to the first acidification of cow, goat, and sheep milks at 15, 20, 30, and 40°C.

Lowering the pH from 5.9 to 5.2 for cow, goat, and sheep milks at 15 and 20°C caused a decreased turbidity (Figure 1, a and b) and increased viscosity (Figure 2b), casein solubilization (Figure 2c), and mineral dissolution (Figure 2d). The turbidity decrease, which reached a minimum around pH 5.2, has been

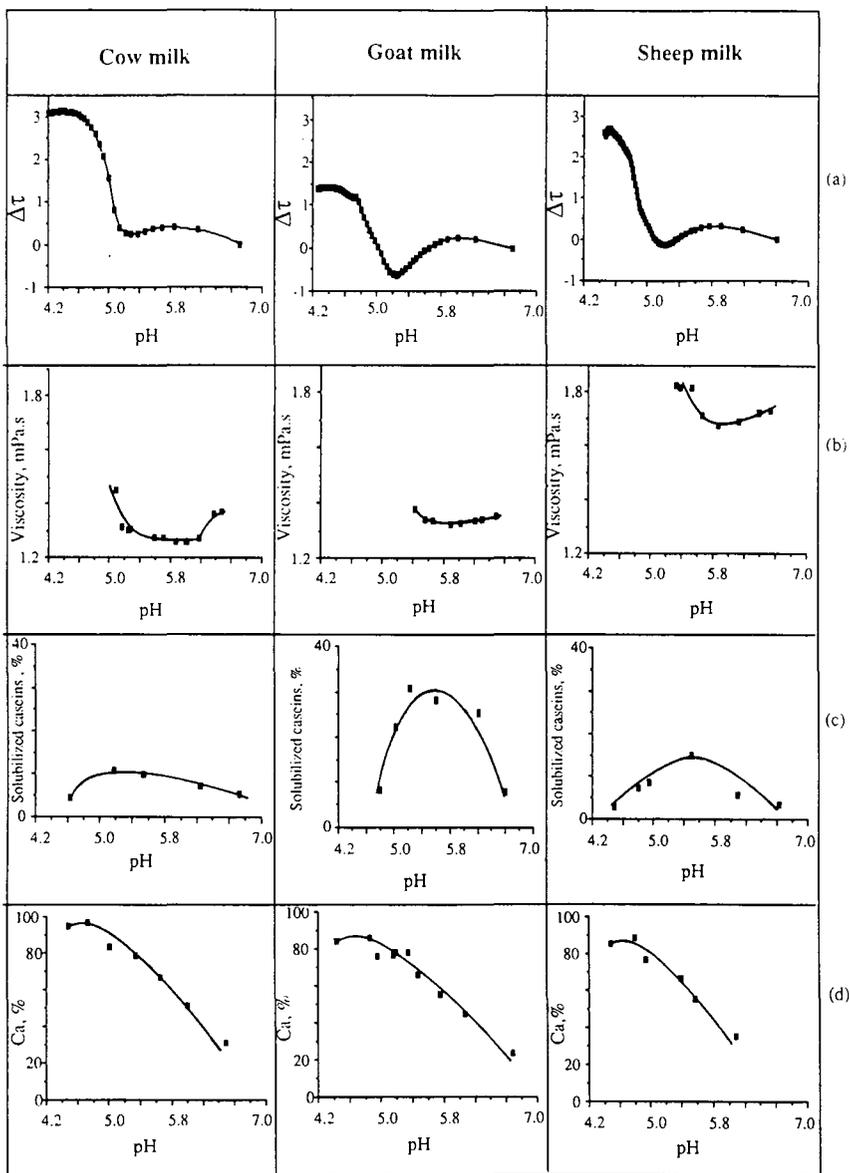


Figure 2. Physicochemical properties of cow, goat, and sheep skim milks at 20°C as a function of pH: a) changes in turbidity ($\Delta\tau$) in turbidity units ($1000 \times \text{NTU}$), b) dynamic viscosity ($n = 3$; SEM = .02), c) percentage of solubilized caseins ($n = 3$; SEM = .3), and d) percentage of dissociated calcium ($n = 3$; SEM = 1.8).

explained as being a consequence of micelle expansion for reconstituted cow milk (3, 4). Indeed, micellar calcium phosphate and cations (Ca^{2+} and Mg^{2+}), which form salt bridges between the different colloidal casein molecules, were largely dissolved from micelles in this pH range. Moreover, hydrophobic interactions, which contribute to maintain the micellar integrity, became weaker at lower temperatures (34). Weakness of electrostatic and hydrophobic bonds led to the solubilization of all caseins, especially β -casein (9, 32), with a maximum at about pH 5.3 (10, 26, 29, 30). At this pH, all inorganic micellar phosphate has been transferred to serum (10, 21, 31, 32). This progressive micellar disintegration produced porous particles with reduced light reflection properties (3, 4) in accordance with the turbidity decrease. The rise in dynamic viscosity was in agreement with the increase of casein hydration measured in this pH range for cow and goat milks (30, 32).

The turbidity decrease was more pronounced with acidified goat milk than with cow and sheep milks (Figure 1, a and b), which could be explained by the differences in the dissociation of the individual caseins from the various micelles (Figure 2c). Compared with other caseins, β -casein dissociated easily from the caprine micelles (22, 32) and constituted about two-thirds of caprine caseins, half of ovine caseins, and one-third of bovine caseins (1, 32). Therefore, good solubilization of caseins from caprine micelles was expected. Indeed, Vespirini Jaubert (32) showed that about 7.5% of all caseins was dissociated from caprine micelles at 34°C close to the pH range 5.3 to 5.5, but no casein solubilization occurred for bovine micelles (9) or ovine micelles at 30 or 40°C in this pH range (results not shown). This result could explain the decrease in turbidity that was observed only for goat milk at 30°C (Figure 1c).

Little change in the partitioning of bovine casein occurred in the presence of more than 1 mM free Ca^{2+} , but, at lower concentrations, soluble casein increased markedly, and the dissociation was in the order, from greatest to least, κ -, β -, α_{s1} -, and α_{s2} -casein (13). Because the Ca^{2+} activity of the serum at the natural pH of milk varied from 1.2 mM for sheep milk, to 2 mM for cow milk, and to 2.6 mM for goat milk (12), further studies are necessary for

determination of the influence of mineral balance on casein dissociation.

Below pH 5.2, the turbidity increase for the three types of milk at 15, 20, 30, and 40°C indicated the onset of aggregation. This result was confirmed by the increase in micellar size observed by Banon and Hardy (4) and Vespirini Jaubert (32) for cow and goat milks, respectively. The differences in the turbidity increase and in the final turbidity values (Figure 1) were related not only to the acidification temperature but also to the variations in casein concentration and type and in the salt balance of the three types of milk. Because of the high brownian motion and increasing hydrophobic interactions, coupled with high temperature, casein particle aggregation was favored (6), and gels became firmer (34). The higher casein concentration of sheep milk than that of goat milk, could lead to an increase in the tendency of the casein particles to associate and, subsequently, to form firmer gels (34). Micellar casein composition (34) and mineral balance (7) were very important during the aggregation phenomenon.

According to the occurrence of casein solubilization, aggregation may be between clusters or between clusters and particles. Bringe and Kinsella (6), in their study on dilute milk systems, suggested that aggregation kinetics were typical of coagulation reactions that were limited by diffusion. Horne (15) and Bremer et al. (5) showed that milk aggregation led to flocs of a fractal nature, which formed the network when they occupied the total volume. The formation of a continuous network could be related to the final stabilization of turbidity at a maximum value. According to Roefs et al. (28) and Bremer et al. (5), the acid bovine casein gels have a particulate and heterogeneous structure built of large agglomerates and large cavities filled with serum.

CONCLUSIONS

Despite the differences in casein micelles composition and mineral balance, cow, sheep, and goat milks behaved similarly during acidification in our study. The hypothetical model proposed by Banon and Hardy (4) for acidification of cow milk could then apply to goat and sheep milks. However, the resulting gel structure is expected to be different. The

result of goat milk coagulation at 15 and 20°C appeared to be a dispersion of coarse particles rather than a continuous network; at higher temperatures, goat milk gels were the weakest. Future studies on dynamic rheology will enable the quantification of the viscoelastic behavior of gels from milks of cows, goats, and sheep.

REFERENCES

- 1 Anyfantakis, E. M. 1986. Physicochemical properties of ewe's milk compared to cow's milk. Page 42 in *IDF Bull. 202. Int. Dairy Fed., Brussels, Belgium.*
- 2 Assenat, L. 1986. Le lait de brebis. Page 281 in *Laits et Produits Laitiers. Vache. Brebis. Chèvre. Vol 1. Partie 2. Technique et Documentation Lavoisier, Paris, France.*
- 3 Banon, S., and J. Hardy. 1991. Study of acid milk coagulation using light reflexion. *J. Dairy Res.* 58:75.
- 4 Banon, S., and J. Hardy. 1992. A colloidal approach of milk acidification by glucono- Δ -lactone. *J. Dairy Sci.* 75:935.
- 5 Bremer, L.G.B., T. van Vliet, and P. Walstra. 1989. Theoretical and experimental study of the fractal nature of the structure of casein gels. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1.* 85:3359.
- 6 Bringe, N. A., and J. E. Kinsella. 1990. Acidic coagulation of casein micelles: mechanisms inferred from spectrophotometric studies. *J. Dairy Res.* 57:365.
- 7 Bringe, N. A., and J. E. Kinsella. 1991. Effects of cations and anions on the rate of the acidic coagulation of casein micelles: the possible role of the different forces. *J. Dairy Res.* 58:195.
- 8 Bucheim, V. W., S. Lund, and J. Scholtissek. 1989. Comparative studies on the structure and size of casein micelles in milk from different species. *Kiel. Milchwirtschaft. Forschungsber.* 41:253.
- 9 Dalgleish, D. G., and A.J.R. Law. 1988. pH-induced dissociation of bovine casein micelles. I. Analysis of liberated caseins. *J. Dairy Res.* 55:529.
- 10 Dalgleish, D. G., and A.J.R. Law. 1989. pH-induced dissociation of bovine casein micelles. II. Mineral solubilization and its relation to casein release. *J. Dairy Res.* 56:727.
- 11 Desobry-Banon, S. 1991. Modification de la structure des micelles de caséines lors de l'acidification du lait par hydrolyse de glucono- δ -lactone. Thesis, Inst. Natl. Polytechnic Lorraine, Nancy, France.
- 12 Holt, C., and R. Jenness. 1984. Interrelationships of constituents and partition of salts in milk samples from eight species. *Comp. Biochem. Physiol.* 77:275.
- 13 Holt, C., T. Davies, and A.J.R. Law. 1986. Effects of colloidal calcium phosphate content and free calcium ion concentration in the milk serum on the dissociation of bovine casein micelles. *J. Dairy Res.* 53:557.
- 14 Home, D. S. 1984. Steric effects in the coagulation of casein micelle by ethanol. *Biopolymers* 23:989.
- 15 Home, D. S. 1987. Determination of the fractal dimension using turbidimetric techniques. *Faraday Discuss. Chem. Soc.* 83:259.
- 16 Jaubert, A., and P. Martin. 1992. Reverse-phase HPLC analysis of goat caseins. Identification of α_{s1} and α_{s2} genetic variants. *Lait* 72:235.
- 17 Jenness, R. 1980. Composition and characteristics of goat milk: review 1968-1979. *J. Dairy Sci.* 63:1605.
- 18 Kim, B. Y., and J. E. Kinsella. 1989. Effect of temperature and pH on the coagulation of casein. *Milchwissenschaft* 44:622.
- 19 Law, A.J.R., C. M. Papoff, D. G. Dalgleish, and R. L. Campus. 1992. Quantitative fractionation of ovine casein by cation-exchange FPLC. *Milchwissenschaft* 47:279.
- 20 Law, A.J.R., and A. Tziboula. 1992. Quantitative fractionation of caprine casein by cation-exchange FPLC. *Milchwissenschaft* 47:558.
- 21 Le Graet, Y., and G. Brûlé. 1993. Les équilibres minéraux du lait: influence du pH et de la force ionique. *Lait* 73:51.
- 22 Ono, T., and L. K. Creamer. 1986. Structure of goat casein micelles. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 21:57.
- 23 Ono, T., H. Kohno, S. Odagiri, and T. Takagi. 1989. Subunit components of casein micelles from bovine, ovine, caprine and equine milks. *J. Dairy Res.* 56:61.
- 24 Ould Eleya, M. M., S. Desobry Banon, J. Scher, and J. Hardy. 1994. A comparative study of cow, ewe, and goat milks acidification. Page 50 in *Proc. 24th Int. Dairy Congr., Melbourne, Australia.*
- 25 Parker, T. G., and D. G. Dalgleish. 1977. The use of light-scattering and turbidity measurements to study the kinetics of extensively aggregating proteins: α_s -casein. *Biopolymers* 16:2533.
- 26 Richardson, B. C., L. K. Creamer, and K. N. Pearce. 1974. Comparative micelle structure. II. Structure and composition of casein micelles in ovine and caprine milk as compared with those in bovine milk. *J. Dairy Res.* 41:239.
- 27 Roefs, S.P.F.M., P. Walstra, D. G. Dalgleish, and D. S. Home. 1985. Preliminary note on the change in casein micelle caused by acidification. *Neth. Milk Dairy J.* 39:119.
- 28 Roefs, S.P.F.M., A.E.A. de Groot-Mostert, and T. van Vliet. 1990. Structure of acid caseins gels. I. Formation and model of gel network. *Colloids Surf.* 50:141.
- 29 Sood, S. M., K. S. Sidhu, and R. K. Dewan. 1979. Heat stability and the voluminosity and hydration of casein micelles from milk of different species. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 14:217.
- 30 Tarodo de la Fuente, B., and C. Alais. 1974. Solvation of casein in bovine milk. *J. Dairy Sci.* 58:293.
- 31 van Hooydonk, A.C.M., H. G. Hagedoorn, and I. J. Boerrigter. 1986. pH-induced physicochemical changes of casein micelles in milk and their effect on renneting. 1. Effect of acidification on physicochemical properties. *Neth. Milk Dairy J.* 40:281.
- 32 Vespérin Jaubert, A. 1992. Composition et caractéristiques structurales de la micelle de caséine caprine. Influence des divers paramètres physico-chimiques. Thesis, Ecole Natl. Supérieure Agron., Rennes, France.
- 33 Visser, J., A. Minihan, P. Smits, S. B. Tjan, and I. Heertje. 1986. Effect of pH and temperature on the milk salt system. *Neth. Milk Dairy J.* 40:351.
- 34 Walstra, P., and R. Jenness. 1984. *Dairy Chemistry and Physics.* John Wiley and Sons, New York, NY.

**AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE
DE LORRAINE**

o o o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :

**Monsieur CUQ Jean-Louis, Professeur, USTL/ISIM Montpellier,
Monsieur PAQUET Denis, Docteur d'Etat, Centre de Recherche
Daniel Carasso (DANONE) Le Plessis Robinson**

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

Monsieur OULD ELEYA Mustapha

à soutenir devant l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE,
une thèse intitulée :

**"Analyse de la formation des gels acides de laits de vache, de chèvre
et de brebis au moyen de la géométrie fractale : étude comparative".**

en vue de l'obtention du titre de :

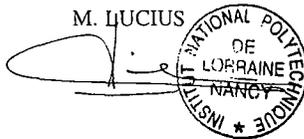
**DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE
LORRAINE**

Spécialité : **"BIOTECHNOLOGIES & INDUSTRIES ALIMENTAIRES"**

Fait à Vandoeuvre le, 16 Mai 1996

Le Président de l'I.N.P.L.,

M. LUCIUS



**Service Commun de la Documentation
INPL
Nancy-Brabois**

Résumé

Les mécanismes de la coagulation acide du lait seraient-ils les mêmes pour tous les types de laits? Pour répondre à une telle question, on a choisi d'étudier l'influence de l'acidification et de la température sur trois types de lait : le lait de vache (*Bos taurus*), le lait de chèvre (*Capra hircus*) et le lait de brebis (*Ovis aries*), différents par leur composition et par les caractéristiques de leur micelles. Dans une première partie, on décrit et on compare les mécanismes sous-jacents à l'agrégation des micelles de caséines des différents laits. On y montre que quelque soit le lait, l'acidification du lait par hydrolyse de glucono- δ -lactone peut être décrite par l'un des deux comportements suivants : "basses températures" (15 - 20°C) et "hautes températures" (35 - 40°C). Ces deux comportements peuvent être considérés comme un ensemble de "réactions" successives et parallèles. Dans une seconde partie, les méthodes récemment développées pour la dynamique des systèmes complexes ont été utilisées afin d'étudier la dynamique d'élaboration des gels, à partir de la formation d'agrégats lors de l'abaissement du pH du lait. Pour les trois types de lait, on montre que la structure des agrégats caséiques et celle des gels est de nature fractale. La dimension fractale des agrégats caséiques diminue avec l'augmentation de la température d'acidification. Ces résultats sont discutés par rapport aux données de la littérature sur les études numériques et expérimentales de l'agrégation colloïdale. Dans une troisième et dernière partie, on engage des réflexions nouvelles sur les aspects cinétiques de la coagulation acide, sur la structure des micelles caprine et ovine comparée avec la micelle bovine et sur les relations entre phases d'agrégation et de gélification.

Abstract

The effects of acidification and temperature on three types of milk: cow milk (*Bos taurus*), goat milk (*Capra hircus*) and sheep milks (*Ovis aries*) were studied to understand the influences of casein micelles' compositions and characteristics on milk acidic coagulation. In the first part of this study, the mechanisms underlying the aggregation of casein micelles from the three types of milk were described and compared. It was also shown that milk acidification by hydrolysis of glucono- δ -lactone can be described by two characteristics behaviours: "low temperature" (15 - 20°C) and "high temperature" (35 - 40°C). These behaviours can be considered as a set of successive and parallel reactions. In the second part of the thesis, the methods recently developed for studying the complex systems dynamics were used to investigate the formation of acid milk gels from casein aggregate during pH reductions of milk. For the three types of milk, the structure of casein aggregates and gels was fractal in nature. Decreasing acidification temperatures leads to an increase in fractal dimension of casein aggregates. These results were discussed in relation with numerical and experimental literature results of colloid aggregation. In the final part of the thesis, new ideas on kinetic aspects of acidic coagulation, structure of caprine and ovine casein micelles and on relation between aggregation and gelation phases were presented.