



HAL
open science

**Filtration de dispersions de micelles de caséine. :
Propriétés physiques, rhéologiques et cohésives des
couches concentrées accumulées à la surface de la
membrane.**

Floriane Doudies

► **To cite this version:**

Floriane Doudies. Filtration de dispersions de micelles de caséine. : Propriétés physiques, rhéologiques et cohésives des couches concentrées accumulées à la surface de la membrane.. Alimentation et Nutrition. Agrocampus Ouest, 2019. Français. NNT : 2019NSARB332 . tel-03192725

HAL Id: tel-03192725

<https://theses.hal.science/tel-03192725>

Submitted on 8 Apr 2021

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.

THESE DE DOCTORAT DE

L'INSTITUT NATIONAL D'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR POUR L'AGRICULTURE, L'ALIMENTATION ET
L'ENVIRONNEMENT
ECOLE INTERNE AGROCAMPUS OUEST

ECOLE DOCTORALE N° 600
Ecole doctorale Ecologie, Géosciences, Agronomie et Alimentation
Spécialité : « Génie des procédés agroalimentaires »

Par

Floriane DOUDIES

Filtration de dispersions de micelles de caséine

Propriétés physiques, rhéologiques et cohésives des couches concentrées
accumulées à la surface de la membrane

Thèse présentée et soutenue à Rennes, le 18.12.2019
Unité de recherche : STLO, INRA, Agrocampus Ouest
Thèse N° : n° de série B-332 et n° d'ordre : 2019-30

Rapporteurs avant soutenance :

Paul MENUT Professeur, GENIAL, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay
Philippe MOULIN Professeur, M2P2, CNRS, Aix Marseille Université, Ecole Centrale Marseille

Composition du Jury :

Président :	Thomas CROGUENNEC	Professeur, STLO, INRA, Agrocampus Ouest
Examineurs :	Patrice BACCHIN	Professeur, LGC, CNRS, INP Toulouse, Univ. Paul Sabatier
	Murielle RABILLER-BAUDRY	Professeur, ISCR, CNRS, Univ. de Rennes 1
	Marieke VAN AUDENHAEGE	Chargée de Recherche, SODIAAL
Dir. de thèse :	Geneviève GESAN-GUIZIOU	Directrice de recherche, STLO, INRA, Agrocampus Ouest
Co-dir. de thèse :	Frédéric PIGNON	Directeur de recherche, LRP, CNRS, Grenoble INP, Univ. Grenoble-Alpes

Remerciements

Mes premiers remerciements s'adressent à Paul Menut, Philippe Moulin, Patrice Bacchin, Thomas Croguennec, Murielle Rabiller-Baudry et Marieke Van Audenhaege, pour avoir accepté d'être rapporteurs et membres de mon jury, pour leurs lectures critiques et évaluations de ce travail de thèse.

Je tiens aussi à adresser mes remerciements à Geneviève Gésan-Guiziou, ma directrice de thèse, responsable de l'équipe Procédés de Séparation par Membranes (PSM). Merci pour tes disponibilités, ton expertise, ta bienveillance, la clarté dans tes explications et idées. Ton aide et ton écoute étaient un vrai support pour avancer. Ton bureau était toujours grand ouvert en cas de problèmes, d'incertitudes et de questions. Merci pour tout !

Un immense merci également à Frédéric Pignon, mon co-directeur de thèse. Merci à lui pour son encadrement, son expertise, ses conseils, sa gentillesse et sa disponibilité. Ton aide, tes explications et ton expertise sur les analyses SAXS ont été un vrai secours pour moi qui découvrait cela.

Je remercie l'ensemble des institutions, leurs représentants, qui ont permis l'existence et le bon déroulement de ce projet. Merci à Agrocampus Ouest et à Grégoire Thomas, à l'école doctorale EGAAL, Françoise Prigent, ainsi qu'à l'INRA et Philippe Mauguin, pour avoir offert un cadre propice au déroulement de ces travaux. Merci à l'INRA et la Région Bretagne pour le financement de cette thèse.

Yves Le Loir, je suis sincèrement reconnaissante de ton accueil au sein du laboratoire STLO. Merci de savoir en faire un lieu si chaleureux, où il fait bon travailler et d'être à l'écoute de chacun.

Merci à toutes les personnes du STLO qui font de ce laboratoire un lieu privilégié de travail scientifique et d'aventures humaines.

Merci : A Marie-Hélène, pour son expertise rhéologie, son aide inestimable sur les manips de Rhéologie, ses discussions scientifiques passionnantes. A Stéphane Pézennec pour son expertise compression osmotique et son aide précieuse sur le calcul de la pression osmotique. A Florence Rousseau, merci pour ton aide et tes formations sur les appareils que j'ai utilisés. A Pascaline Hamon, merci pour ta formation sur le spectrophotomètre et sur le prêt de plusieurs mois de la salle climatisée pour mes manips à longueur. Merci à Jessica pour ton aide dans toutes mes petites demandes du quotidien. Merci à Anne Giboulot, pour subvenir à mes besoins biblio très rapidement. Merci à Rachel Boutrou pour son aide avec ses petits modules doctorants et à cette séance aide à la rédaction d'un article qui m'a été d'un grand secours. Merci à Danielle Guilloux, pour toutes les petites aides du quotidien et Laurence Adamandidis pour ces petites discussions en même temps que les inscriptions aux divers congrès et autres joyusetés administratives. Merci à Françoise Boissel pour ton

Remerciements

accompagnement lors des pesées de toutes mes capsules et surtout pour toutes les discussions devant les balances. Merci à Arlette Leduc et Marielle Harel-Oger pour les encouragements et les discussions. Merci à tous les autres que je ne peux citer un par un, merci pour les sourires, les encouragements, les petites discussions, merci pour le quotidien.

Merci à toute l'équipe PSM, pour nos petits goûters, votre aide inestimable lors des « expéditions » et les longs week-ends aux Synchrotrons. A Fabienne, merci pour ces petits moments de discussion et de détente et de m'avoir souvent tenue compagnie lors de mes repas tardifs à 14h, pour ton aide inestimable pour les analyses que je t'ai demandé et surtout pour la compression osmotique et le remplissage de ces centaines de sacs de dialyse, nous en sommes venues à bout ! A Nadine, merci pour toutes les discussions et surtout pour ton aide précieuse sur l'aspect procédé, tes explications claires et passionnées ont été une source de motivation sans fond pour moi ! A Maksym, merci pour toutes les discussions scientifiques passionnantes, les petites « blagues » toujours très drôles et les découvertes artistiques que tu m'as fait partager. A Manon, merci pour tous ces bons moments passés, notamment un week-end épique à SOLEIL et un congrès Euromembrane que j'ai pris plaisir à partager avec toi. A Maëllis, merci pour ta sympathie et ton aide à ce fameux week-end à SOLEIL. A Xiaoxi, merci pour ces petits moments de discussion et ta gentillesse. A Anaëlle, merci de ta gentillesse et ta sympathie. A Anne-Sophie, merci pour ce dense et productif, pour la quantité et la qualité de tous les résultats obtenus lors de ton stage, pour les petites discussions qui détendent, merci d'avoir été une stagiaire au top !

Je pars aussi avec de très bons souvenirs de tous les petits moments avec les doctorants, post-doc, etc. du STLO et notamment les barbecues, les sorties, les soirées et repas : Merci à Floriane n°2, les Manon (H. et G-D.), Domitille, Linda, Ming, Elham, Ashkan, Carlos, Sameh, Jun, Léa, Wenfan, Jordane, Jonathan, Houem, Elma, Maëllis, Olivier, Amira, Vinicius, Alberto, Fanny, Alexia, Elise, Samira, Nataym, Oumaima, ...

J'ai à cœur de remercier les personnes d'autres institutions qui ont accepté de faire partie de mon projet et qui ont fortement contribué à son avancement.

Merci aux deux synchrotrons SOLEIL et ESRF pour avoir financé chacun un week-end d'expérimentations sur des lignes de mesures SAXS. Ces expérimentations ont été une source d'aventure incroyable, passionnante et enrichissante d'un point de vue scientifique.

Merci l'équipe du synchrotron SOLEIL pour leur accueil, leur accompagnement et leur aide lors d'un week-end interminable mais riche en résultats. Et plus particulièrement merci à Javier Perez pour son aide inestimable et ses réponses à toute heure du jour et de la nuit durant ce week-end.

Remerciements

Merci à Theyencheri Narayanan et son équipe du synchrotron ESRF, qui nous a accompagné et aidé lors de nos expérimentations. Je remercie particulièrement Lewis Sharpnack qui a été présent jour et nuit à nos côtés pour nous aider et nous accompagner.

Je tiens à remercier le laboratoire Rhéologie et Procédés, où j'ai fait des petites expéditions et où j'ai à chaque fois été très bien accueillies, merci à toutes les personnes que j'ai croisées là-bas mais plus particulièrement je suis sincèrement reconnaissante à Candice Rey, pour son accueil, son intégration, ses explications lors des essais des manips PIV, son aide sur les mesures SAXS mais plus particulièrement sa sympathie et sa gentillesse. Un grand merci à Nicolas Hengl, pour sa gentillesse, sa sympathie, son accompagnement lors d'un week-end et de plusieurs nuits sur les manips et résultats SAXS, et les discussions enrichissantes qui en découlèrent.

Un immense merci également à Antoine Bouchoux pour ton accompagnement en comité de thèse, tes réponses à toutes mes questions, toutes ces discussions enrichissantes et tout ce savoir.

Les amis, la famille comptent, diluent les peines et remplissent de réconfort, de joie et de fous rires.

Un petit clin d'œil à Mirabelle, Myrtille et Oggy pour leur présence réconfortante au quotidien !

Je remercie tout d'abord mes amis qui m'ont soutenue, encouragée et accompagné durant toutes ces études par des petits mots, des petits gestes et leur écoute inconditionnelle. Merci à ma meilleure amie Jessica, qui même à l'autre bout du monde, a toujours été présente pour moi, pour m'écouter et est un pilier dans ma vie. Merci à toutes les Audrey de ma vie : Audrey G., qui me connaît et m'accompagne depuis si longtemps, merci d'être là et de me soutenir depuis si longtemps et merci également à Laurent pour son soutien ; Audrey S., merci à toi de m'avoir toujours soutenue et épaulé ces dernières années, ces week-ends à Paris ont été les meilleurs moments me permettant de m'évader des soucis quotidiens ; Audrey V. et Juline merci de me soutenir. Morgane et Camille, merci à vous d'avoir été là pour écouter mes interminables soucis et pour nos longues discussions qui mettent du baume au cœur. Merci à Delphine et Alexandre d'avoir été là pour moi, pour ces week-ends d'évasion et de détente. Merci à Mélodie de m'avoir accompagnée, épaulée, soutenue même à l'autre bout du monde et d'être là pour moi. Merci à mon ex-coloc Marie, tu as su m'épauler, m'écouter et me soutenir toutes ces années. Merci à toi Sandrine de m'avoir soutenue toutes ces années et c'est un plaisir de se retrouver à chaque fois.

A ma très grande famille qui m'a toujours soutenue, même à l'autre bout de la France, et plus particulièrement merci à toi mamie Jacqueline sans quoi tout cela n'aurait définitivement pas été possible et mes tendres pensées vont bien sûr à papy Roger qui je l'espère aurait été fier de moi et qui

Remerciements

m'a accompagné à chaque étape de mes études. Merci à vous papy Jojo et mamie Dédé pour les encouragements. Merci à tatan Valérie et tonton Bernard, pour m'avoir suivie durant toutes ces années et m'avoir rendu visite à l'autre bout de la France. Un énorme merci à Amélie qui m'a accompagnée et toujours encouragée durant ces longues années, merci également à ta petite famille, Damien, Livio et bien sûr ma jolie filleule Tina pour tous ces bons moments et ces soirées/week-ends où vous m'accueillez tous. Merci à Aude et sa petite famille pour le soutien. Enfin j'ai une pensée toute particulière pour Geoffrey, cet ange qui m'accompagne à chaque instant. Je remercie fort tous les autres membres de ma famille qui m'ont soutenue toutes ces années : Mémé, Tatan Sylvie, Tonton Pascal, Julie, Romain, Tonton Régis, Lucas, Cassandra, Tatan Jo, Tonton Noël, Sandrine, Tonton Guy, Aurélien, Gaëlle,,...

Je tiens à remercier ma moitié, Rudolph, qui a su m'épauler, me soutenir, me donner le sourire et être là toujours pour moi, à chaque instant. Merci de m'avoir supporté ces derniers mois lors des soirées et week-end de rédaction intensive. Je t'aime infiniment et je suis tellement reconnaissante de t'avoir à mes côtés. Un grand merci également à ta famille qui m'a permis de m'évader pour quelques instants et est un peu devenue ma deuxième famille. Merci Delphine pour ces bons moments, ces rigolades, cette complicité et cette gentillesse que vous m'offrez. Merci Joël pour me taquiner de temps en temps, me faire rire (même si vos jeux de mots ne sont pas tous bons), m'avoir tant appris sur la mécanique et évidemment d'avoir « sauvé » ma voiture. Merci Chloé et Vincent, pour tous ces bons moments, merci Viji pour ton soutien et ta gentillesse. Merci beaucoup à toute cette deuxième famille pour ces week-ends formidables, ces expéditions paintball qui permettent de se défouler et de s'amuser, les réparations de voitures ou buggy, les sorties escalade, escape game, bateau, ... ou tout simplement les week-ends détente.

Papa, Maman, Mélanie, Ophélie, Nathanaël et Aïden, rien n'aurait été possible sans vous, vous êtes les piliers de ma vie. Les mots ne suffisent pas à exprimer toute ma gratitude d'être toujours là pour moi, malgré la distance, pour m'épauler à chaque instant de ma vie et m'avoir guidé jusqu'ici. Je vous aime. A Mélanie, ma grande sœur, merci d'être toujours là pour moi, de me soutenir, de m'aider, de répondre à chaque instant, tu as toujours été ma bonne étoile. A Ophélie, ma petite sœur, merci de me soutenir et me supporter à chaque instant, merci à ton fils Aïden d'apporter de la joie dans nos vies, je suis une tata gaga et heureuse de l'avoir parmi nous. A Nathanaël, mon petit frère, merci de me soutenir et d'avoir partagé quelques soirées jeux (trop courtes) pour se changer les idées. Merci Papa et Maman pour m'avoir épaulée, soutenue, suivie durant toutes mes études et traversé la France de trop nombreuses fois, j'ai de la chance de vous avoir eu à mes côtés toutes ces années, merci infiniment.

Sommaire

Remerciements2

Sommaire7

Introduction 13

Chapitre I : Synthèse bibliographique 19

 I.1. Le lait et les micelles de caséine : composition et caractéristiques22

 Lait22

 La matière grasse22

 La fraction minérale23

 I.1.1. Les protéines de lactosérum24

 I.1.2. Les micelles de caséine24

 I.1.3. I.1.5.1. Composition et caractéristiques générales24

 I.1.4. I.1.5.2. Caractéristiques des caséines individuelles25

 I.1.5. I.1.5.3. Caractéristiques de la surface des micelles de caséine26

 I.1.5.4. Cœur des micelles de caséine27

 I.1.5.5. Propriétés des micelles de caséine31

 I.1.6. Conclusions33

 I.2. La filtration membranaire33

 I.2.1. Présentation générale33

 I.2.2. Modes de filtration35

 I.2.2.1. Frontal/Tangentiel35

 I.2.2.2. Pression transmembranaire/Flux constant(e)36

 I.2.3. Rappels fondamentaux36

 I.2.4. I.2.3.1. Transfert de matière à travers la membrane36

 I.2.3.2. Limitation au transfert par accumulation de matière à la membrane36

 I.3.1. Conclusion41

 I.3.2. I.3. La filtration membranaire de micelles de caséines : formation et propriétés du dépôt de micelles de caséine41

 I.3.3. Performances de filtration41

 Formation et propriétés du dépôt42

 I.3.2.1. Formation du dépôt42

 I.3.2.2. Propriétés du dépôt de micelles de caséines43

 Conclusions43

 I.4. Conclusions, objectifs et stratégies de thèse44

Chapitre II : Matériels et Méthodes.....	47
II.1. Dispersions de micelles de caséines	50
Poudre de micelles de caséine.....	50
Solvant : perméat d'ultrafiltration	50
Préparation des dispersions de micelles de caséine	51
Détermination de la concentration en caséine et de la fraction volumique des	
II.1.1. dispersions	52
II.1.2. Mesures de pression osmotique (Chapitres III et IV)	53
II.1.3. Principe.....	53
II.1.4. Solutions de polymères stresseurs	54
II.2.1. Développement théorique pour la détermination de la pression osmotique	55
II.2.2. Protocole expérimental	57
II.2.3. Mesures des propriétés rhéologiques (Chapitre III)	58
II.2.4. Principe.....	58
II.3.1. II.3.1.1. Mesures en cisaillement simple.....	58
II.3.1.2. Mesures dynamiques.....	60
II.3.2. Choix des appareils	60
II.3.3. Préparation et mise en place des échantillons	61
II.3.4. Mesures en écoulement – DHR2 et Low Shear 400	61
II.3.5. Mesures en oscillation - DHR2	62
II.3.6. Résultats complémentaires des propriétés rhéologiques après changement de	
température	62
II.4.1. II.4. Mesures de cohésion et d'irréversibilité des gels (Chapitre IV)	63
II.4.2. Principe.....	63
II.4.3. Fabrication du gel de micelles de caséine.....	64
II.4.4. Redispersion des gels.....	65
II.5.1. Résultats complémentaires de caractérisation des gels de micelles	66
II.5.2. Filtration et procédures expérimentales (Chapitres V et VI).....	68
II.5.3. Cellule de filtration et installation expérimentale	68
II.5.4. Membrane et conditionnement	71
II.5.5. Procédure de filtration et acquisition des données	71
II.5.6. Nettoyage	72
Mesures de résistances	72
Mesures et analyses SAXS.....	73
II.5.6.1. Principes de diffusion de rayons X aux petits angles (SAXS)	73
II.5.6.2. Installation SAXS et position de la membrane	74

II.5.6.3.	Analyse des spectres SAXS.....	75
	Grandeurs calculées.....	78
II.5.7.1.	Flux de perméation, pression transmembranaire et vitesse d'écoulement tangential	78
II.5.7.2.	Evaluation des résistances	79
II.5.7.	II.5.7.3. Evaluation de la masse accumulée et de l'épaisseur du gel.....	79
II.6.	Analyses physico-chimiques	81
	Dosage des protéines	81
II.6.1.1.	Kjeldahl	81
II.6.1.2.	Bradford.....	81
II.6.1.	Dosage des minéraux.....	82
	Extrait sec total	82
II.6.2.	Turbidité	82
II.6.3.	Mesures de taille	83
II.6.4.		
II.6.5.		

Chapitre III: Propriétés physiques et rhéologiques des micelles de caséines à 7 et 20 °C 85

III.1.	Introduction.....	90
III.2.	Materials and Methods	91
III.2.1.	Casein micelle dispersion preparation	91
III.2.2.	Osmotic stress experiments.....	92
III.2.2.1.	Stressing solutions	92
III.2.3.	III.2.2.2. Theoretical development for osmotic pressure determination	93
III.2.4.	III.2.2.3. Experimental protocol	94
III.3.1.	Casein concentration and effective volume fraction calculations	95
	Rheology.....	96
III.3.	Results	97
III.3.2.	Equation of state of casein micelle dispersions	97
III.3.1.1.	Equation of state at 20 °C	97
III.3.1.2.	Effect of temperature on equation of state.....	98
	Influence of temperature on rheology and sol-gel transition of casein micelle dispersions	98
III.3.2.1.	Flow measurements	98
III.3.2.2.	Oscillation measurements	102
III.4.	Discussion.....	105

	Influence of the nature of casein micelles dispersions on their compressive and rheological properties at 20°C	105
	Influence of the equilibrium conditioning temperature of casein micelle dispersions on their compressive and rheological properties	106
III.5.	Conclusions.....	109
III.4.1	III.6. Résultats complémentaires	110
III.4.2.	Introduction	110
	Rappels méthodologiques	110
	III.6.2.1. Dispersions de micelles de caséine	110
III.6.1.	III.6.2.2. Préparation de gels par compression osmotique	110
III.6.2.	III.6.2.3. Propriétés rhéologiques après une réversibilité de 24 h	110
	Résultats	110
	Discussion	114
III.6.3.	Conclusions.....	114
III.6.4.		
III.6.5.		
	Chapitre IV : Propriétés cohésives des micelles de caséines à 7 et 20 °C.....	117
IV.1.	Introduction.....	120
IV.2.	Material and methods	121
IV.2.1.	Casein micelle dispersion preparation	121
IV.2.2.	Making the gel via osmotic stress experiments	122
IV.2.3.		
IV.2.4.	Casein concentration and effective volume fraction calculations	123
IV.2.5.	Characteristics of casein micelle gels	124
IV.2.6.	Cohesion test	124
	Analyses.....	125
	IV.2.6.1. Protein content analysis by Bradford reaction	125
	IV.2.6.2. Turbidity	125
IV.3.1.	IV.2.6.3. Particle size.....	126
IV.3.	Results	126
IV.3.2.	Influence of gel production and redispersion temperatures on the gel redispersion rate	126
	IV.3.1.1. Influence of gel production and redispersion on gel redispersion rate	127
	IV.3.1.2. Nature of the redispersed objects	130
	Influence of production and redispersion temperatures on gel hydration	131
	IV.3.2.1. General features.....	132
	IV.3.2.2. Influence of gel production temperature	133
	IV.3.2.3. Influence of gel redispersion temperature	134

IV.4.	Discussion.....	135
IV.5.	Conclusions.....	138
IV.6.	Résultats complémentaires	139
	Introduction.....	139
	Rappels méthodologiques	139
	IV.6.2.1. Dispersions de micelles de caséine.....	139
	IV.6.2.2. Préparation de gels par compression osmotique	139
IV.6.1.	IV.6.2.3. Réversibilité de dispersions concentrées.....	139
IV.6.2.	Résultats	139
	IV.6.3.1. Influence des conditions opératoires sur la compression des dispersions concentrées	139
IV.6.3.	IV.6.3.2. Influence des conditions opératoires sur la réversibilité des dispersions concentrées.....	141
	Conclusions.....	142
IV.6.4.		
	Chapitre V : Influence des conditions opératoires sur les phénomènes d'accumulation et de relaxation lors de la filtration tangentielle de micelles de caséine : caractérisation <i>in-situ</i> par SAXS	143
V.1.	Effet de la température de mise en oeuvre: projet de publication	147
V.1.1.	Introduction.....	147
V.1.2.	Material and method.....	149
	V.1.2.1. Casein micelle dispersion preparation.....	149
	V.1.2.2. In-situ SAXS crossflow filtration.....	150
V.1.3.	V.1.2.3. Calculations	155
	Results and discussion	157
	V.1.3.1. Influence of temperature on SAXS pattern of casein micelles.....	157
V.1.4.	V.1.3.2. Casein micelle accumulation during crossflow filtration step	158
	V.1.3.3. Casein micelle removal during pressure relaxation and erosion steps.....	164
	Conclusions.....	170
V.2.	Influence de la pression transmembranaire et de la vitesse d'écoulement tangentiel	172
	V.2.1. Introduction	172
	V.2.2. Rappels méthodologiques.....	172
	V.2.3. Résultats et discussions.....	173
	V.2.3.1. Influence de la pression transmembranaire.....	173
	V.2.3.2. Influence de l'écoulement tangentiel.....	181
	V.2.4. Conclusions	187

Chapitre VI : Etude des propriétés de micelles de caséine en filtration frontale : phénomènes d'accumulation et de relaxation caractérisés par SAXS <i>in-situ</i>.....	189
VI.1. Introduction	192
VI.2. Material and methods	193
VI.3. Results and discussion	195
Accumulation of casein micelles during frontal filtration step	195
VI.3.1.1. Casein micelles concentration profiles	195
VI.3.1.2. Casein micelles mass accumulation and gel thickness.....	196
VI.3.1. Removal of casein micelles during pressure relaxation step	197
VI.3.2.1. Casein concentration profiles.....	197
VI.3.2. VI.3.2.2. Casein mass accumulation and gel thickness	199
VI.4. Conclusions.....	200
VI.5. Relâchement des dépôts par relaxation de la pression transmembranaire	201
Conclusions générales	203
Liste de publications issues de cette thèse.....	211
Liste des Figures et Tables.....	213
Références	227
Annexes.....	246

Introduction

Les opérations d’ultra- et micro- filtration sont actuellement très utilisées en industrie agroalimentaire et plus particulièrement en industrie laitière pour concentrer et fractionner les protéines du lait aux remarquables propriétés technologiques et nutritionnelles. Aujourd’hui, on peut considérer que 40% de la surface membranaire utilisée en agroalimentaire est dédiée au secteur laitier. Deux grands types de membranes sont principalement utilisés dans le secteur laitier : les membranes céramiques, de manière historique, principalement à des températures de l’ordre de 48-53°C ; et les membranes organiques spiralées mises en œuvre au milieu des années 90, majoritairement à basse température (8-12°C) pour limiter le développement bactérien. Le développement des opérations à membrane dans le secteur laitier a été très rapide au début des années 70, mais en dépit de l’expérience acquise, les conduites des installations ne sont pas toujours maîtrisées et généralement pas optimisées.

Comme illustré en Figure 1, lors de la filtration tangentielle (ultrafiltration ou microfiltration 0.1 µm) de lait écrémé, l’application de la pression transmembranaire induit l’accumulation et la concentration des micelles de caséine, espèces colloïdales retenues à la surface de la membrane. Dans certaines conditions de filtration (température, écoulement tangentiel, pression transmembranaire, etc.), ces couches concentrées de micelles de caséine peuvent passer de l’état liquide (solution ou sol) à l’état solide (gel). Le gel formé est la conséquence de la formation d’interactions cohésives entre micelles de caséine et est difficile à éliminer puisqu’il ne disparaît pas quand la pression transmembranaire est relâchée mais nécessite un nettoyage qui requiert une grande quantité d’eau, d’énergie et de produits chimiques (basiques et acides) afin de le redisperser et l’éliminer. De plus, la formation de ce gel est un problème sérieux lors de la microfiltration 0.1 µm de lait écrémé car le gel agit comme une barrière supplémentaire impliquant une réduction du flux de perméat et de la transmission des protéines sériques altérant ainsi le volume de perméat et sa qualité (Le Berre et Daufin 1996 ; Gésan-Guiziou *et al.* 1999c ; Jimenez-lopez *et al.* 2008).

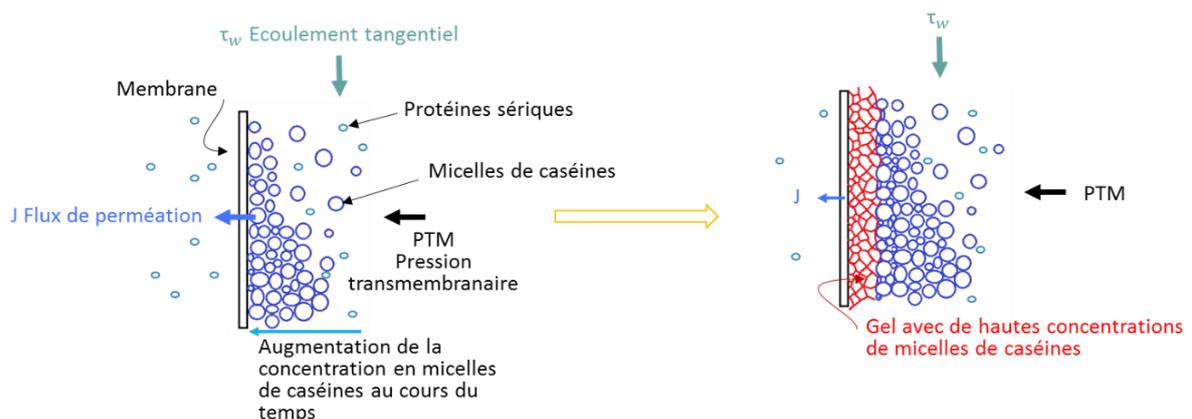


Figure 1. Représentation schématique de l’accumulation des micelles de caséine à la surface de la membrane durant la microfiltration tangentielle 0.1 µm de lait écrémé ; PTM : Pression Transmembranaire, τ_w : contrainte de cisaillement à la membrane.

Les micelles de caséine sont des particules colloïdales dynamiques dont la composition et la structure changent lorsque la température varie. A l’heure actuelle, aucune étude ne s’est intéressée à l’influence de la température (en particulier les basses températures utilisées lors de la filtration sur membranes organiques) sur les mécanismes d’accumulation des micelles de caséine qui se concentrent à la surface de la membrane durant la filtration.

Ainsi, afin d'améliorer la maîtrise des opérations de filtration en industrie laitière, il est alors nécessaire de mieux connaître les mécanismes de concentration de micelles de caséine au voisinage des membranes et leurs évolutions avec la température de mise en œuvre.

Dans ce contexte, l'objectif de thèse est de répondre aux questions suivantes :

- (i) Il est établi que les micelles de caséine changent de composition et de structure lors d'un changement de température (Creamer *et al.* 1977 ; Pierre et Brule 1981 ; Davies et Law 1983 ; Marchin *et al.* 2007 ; Nöbel *et al.* 2012 ; Liu *et al.* 2013). Cependant cet effet de la température sur les propriétés physiques et rhéologiques (respectivement équation d'état et transition sol-gel) de dispersions concentrées de micelles de caséine est encore peu étudié. Comment évolue l'équation d'état de dispersions de micelles de caséine à basse température (7 °C) et à température ambiante (20 °C) ? Quelle est l'influence de la température sur le comportement de transition sol-gel des dispersions de micelles de caséine ?
- (ii) L'accumulation de micelles de caséine à la surface de la membrane conduit à un gel plus ou moins difficile à éliminer provenant probablement d'une augmentation des interactions cohésives entre des micelles de caséine (Bouchoux *et al.* 2009a ; Qu *et al.* 2015). Actuellement, l'influence de la température sur le renforcement ou l'atténuation de ces interactions cohésives reste inconnue. Or une meilleure connaissance de l'influence de la température permettrait d'adopter une meilleure conduite de la filtration des micelles de caséine pour limiter, voire éviter la formation d'un dépôt irréversible et aussi pouvoir l'éliminer plus facilement. Quelle est l'influence de la température sur le renforcement des interactions cohésives ? Lors de la redispersion du gel de micelles de caséine, quelle est l'influence de la température sur l'atténuation des liaisons cohésives ? L'intensité ou le nombre de forces cohésives mises en jeu à chaque température est-elle la même ? Si non, quelles sont les différences d'interactions induites par la température ?
- (iii) Il est connu que les micelles de caséine peuvent former un dépôt difficile à éliminer durant la filtration tangentielle. Cependant, le suivi *in-situ* de l'organisation structurale et du comportement des couches concentrées de micelles de caséine accumulées à la surface de la membrane et l'influence des conditions opératoires sur ce dépôt durant la filtration tangentielle a été jusqu'à présent peu étudié, étant donné la complexité des méthodes de caractérisation qu'il est nécessaire de mettre en œuvre. Quelle est l'influence des conditions opératoires (température, pression transmembranaire, vitesse d'écoulement tangentiel) sur les propriétés du dépôt de micelles de caséine (concentration, transition sol-gel, cohésion) au cours de la filtration tangentielle ? Est-il possible d'éliminer en partie ou complètement le dépôt de micelles de caséine formé en relâchant la pression ? Est-il possible d'identifier les mécanismes qui sont mis en jeu lors du relâchement du dépôt ? Les conditions opératoires, en particulier la température, influencent-elles alors la relaxation et les mécanismes de relâchement du dépôt ?
- (iv) Il est connu que les dépôts de colloïdes peuvent se gonfler et se redisperser lorsqu'ils ne sont plus soumis à une pression transmembranaire après une filtration. Cependant le suivi *in-situ* du gonflement du dépôt de micelles de caséine après une filtration frontale est peu

étudié. Comment se comporte un dépôt de micelles de caséine après relâchement de la pression après une filtration ? S'élimine-t-il totalement ou partiellement ?

Ces questions sont traitées successivement dans les quatre principaux chapitres de ce manuscrit qui comporte au total six chapitres.

Le premier chapitre est une synthèse bibliographique qui fournit une vue d'ensemble des connaissances concernant les micelles de caséine et plus particulièrement leur comportement en milieu concentré, ainsi que les modifications engendrées par un changement de température. Cette revue de la littérature fait aussi état des connaissances scientifiques acquises sur la filtration de micelles de caséine avec une attention particulière portée à la formation d'un dépôt gélifié, ainsi que sur l'influence des conditions opératoires de la filtration sur la formation du dépôt gélifié.

Le second chapitre du manuscrit présente les matériels utilisés durant ce travail ainsi que les principales techniques et les protocoles.

Les quatre chapitres suivants présentent les résultats de ce travail sous forme d'articles scientifiques en anglais préalablement introduits par un court résumé en français des objectifs et des principaux résultats de ce chapitre. Le matériel et méthodes n'est pas systématiquement répété. Certains chapitres sont parfois accompagnés d'une partie présentant des expérimentations et résultats complémentaires.

Le troisième chapitre s'intéresse à l'influence de la température sur les propriétés physiques et rhéologiques de dispersions de micelles de caséine. Le quatrième chapitre s'attache à l'étude de l'influence de la température sur le renforcement et l'atténuation des interactions cohésives de gels de micelles de caséine. Le cinquième chapitre se concentre sur l'étude *in-situ* de la formation et des propriétés notamment de réversibilité de couches concentrées de micelles de caséine (via une étape de relaxation de la pression transmembranaire) au cours de la filtration tangentielle et sur l'influence de différentes conditions opératoires (température, pression transmembranaire, vitesse d'écoulement tangentiel). Enfin, le sixième chapitre s'intéresse à l'étude *in-situ* de la formation et des propriétés de réversibilité de couches concentrées de micelles de caséine au cours de la filtration frontale et plus particulièrement s'attache à décrire le gonflement du dépôt lors d'un relâchement de pression.

Enfin le manuscrit se termine par une partie « Conclusions générales » qui rappelle et lie les principaux résultats présentés dans chacune des parties du manuscrit, démontre comment ces résultats répondent aux différentes questions de recherche, discute les limites de ces résultats et suggère des recommandations pour leurs applications ou des perspectives à cette étude.

Chapitre I: Synthèse bibliographique

I.1. Le lait et les micelles de caséine : composition et caractéristiques	16
I.2. La filtration membranaire	27
I.3. La filtration membranaire de micelles de caséines	34
I.4. Conclusions, objectifs et stratégies de thèse	37

Dans ce chapitre, une revue de la littérature est réalisée afin de positionner le travail de ce projet de thèse par rapport à l'état des connaissances actuel et plus particulièrement par rapport à un manque de connaissances sur certains aspects des travaux existants.

La première partie s'intéresse à la composition du lait en se focalisant nettement sur les micelles de caséine qui sont les objets d'intérêts de ce projet de thèse. Cette partie présente alors les caractéristiques et propriétés des micelles de caséine, leur structure et leur dynamique de comportement en milieu concentré ou lors d'un changement de température. Il apparaît alors un manque de connaissance de certaines des propriétés physiques, rhéologiques et cohésives des micelles de caséine en milieu dense à basse température (7 – 12 °C) et haute température (48 – 53 °C). De telles informations sont en effet capitales pour comprendre les opérations de concentration telles que les opérations de filtration dans le secteur laitier qui se font soit à basse ou haute température.

La seconde partie s'attache à présenter les opérations de filtration de manière générale ainsi que les mécanismes de transport régissant ces opérations. Il apparaît alors que durant la filtration, de la matière s'accumule à la surface de la membrane et entraîne l'altération des performances de filtration. Une telle compréhension des opérations de filtration est nécessaire avant de s'intéresser plus spécifiquement à la filtration des micelles de caséine qui est l'objet de ce projet de thèse.

La troisième partie présente alors l'état actuel des connaissances sur la filtration membranaire de micelles de caséine et plus particulièrement la formation et les propriétés des dépôts de micelles de caséine et enfin l'influence des conditions opératoires sur ces dépôts. Il apparaît alors l'absence de connaissances sur l'influence des conditions opératoires (température, pression transmembranaire et vitesse d'écoulement tangentiel) dans le suivi de la formation, de l'organisation, des propriétés (concentration, transition sol-gel et cohésion) et de l'élimination du dépôt de micelles de caséine à la surface de la membrane au cours de la filtration.

Enfin, dans une dernière partie, sera résumé l'état des connaissances des travaux existants et les voies de progrès envisageables, afin de positionner le travail de ce projet de thèse, les principaux objectifs ainsi que les stratégies dégagées pour conduire nos expériences.

I.1. Le lait et les micelles de caséine : composition et caractéristiques

Ce travail a été effectué sur des dispersions de micelles de caséine, aussi le lait et ses composés majeurs seront succinctement présentés contrairement aux micelles de caséine qui seront plus longuement présentées.

Lait

Le lait est un fluide biologique sécrété par les mammifères pour fournir tous les nutriments nécessaires au développement du jeune mammifère tels que des acides aminés, des acides gras essentiels, des vitamines, etc. Le lait de vache est à la fois une solution riche en sels minéraux et lactose, une suspension de protéines avec les micelles de caséines et les protéines du lactosérum, et une émulsion de matière grasse sous forme de globule gras. La concentration et la taille des composés majeurs du lait de vache est donnée dans la Table I.1. Le pH du lait de vache à température ambiante est entre 6.4 – 6.8.

Table I.1. Composition du Lait de vache (adapté de Walstra *et al.* (2005) ; Dalgleish (2011) ; Dalgleish et Corredig (2012))

Composé du lait	Concentration (g/L)	Taille
Eau	871	
Globules gras	40	0.1 - 10 μm , moyenne 3.4 μm
Micelles de caséines	26	80 - 400 nm, moyenne 150 - 200 nm
Protéines solubles :	7	3 - 6 nm
α -Lactalbumine	1.2	14 kD
β -Lactoglobuline	3.2	18 kD
Albumine sérique	0.1	66 kD
Protéose peptone	0.8	4 - 40 kD
Immunoglobulines	0.8	150 - 900 kD
Lactoferrine	0.1	86 kD
Transferrine	0.1	76 kD
Autres	0.7	
Lactose	46	0.35 kD
Minéraux	7	
Vitamines, molécules organiques, urée, etc.	3.2	

La matière grasse

La matière grasse du lait est principalement composée de triglycérides sous forme de gouttes de triglycérides entourées d'une membrane interfaciale de phospholipides et protéines (Shipe *et al.* 1978 ; Ruiz-Sala *et al.* 1996 ; Walstra *et al.* 2005) formant les globules gras. Les globules gras ont des tailles variant de 0.1 à 10 μm avec une moyenne autour de 3.4 μm . Leur membrane interfaciale permet une stabilisation des globules gras en une émulsion avec la phase aqueuse du lait.

Les opérations de filtration s'effectuent généralement sur des laits écrémés car les globules gras pénalisent les performances de la filtration et leur mise en œuvre dans les opérations de filtration peut

conduire à des risques d'oxydation de la matière grasse. Les globules gras sont alors séparés du lait entier par une étape d'écémage, une centrifugation, qui est une opération très bien maîtrisée et très utilisée en industrie laitière. Les opérations de filtration sont donc majoritairement réalisées sur des laits écrémés.

La fraction minérale

Le lait est riche en minéraux même si cette fraction minérale est mineure (moins de 7 % de la matière sèche, cf. Table I.1). Les minéraux se répartissent essentiellement en trois fractions :

I.1.3.

- La fraction soluble, non associée à des protéines, cette fraction est dialysable et ultrafiltrable.
- La fraction soluble, associée aux protéines solubles, cette fraction n'est pas dialysable.
- La fraction micellaire associée aux micelles de caséine.

La distribution des minéraux à pH 6.7 à température ambiante est présentée dans la Table I.2. Les ions monovalents (Cl^- , K^+ et Na^+) sont essentiellement présents dans la phase aqueuse alors que les phosphates, et les ions divalents (Ca^{2+} et Mg^{2+}) sont en grande partie associés à la micelle de caséine. Il est à noter que dans la phase aqueuse du lait, les ions calcium existent majoritairement sous forme associée avec les ions citrate et phosphate et ils sont peu présents sous forme libre (Ca^{2+}).

Table I.2. Composition minérale du lait de vache (adapté d'après Gaucheron (2005) ; Lucey et Horne (2009)).

Minéral	Concentration (mmol/kg)	Concentration (mg/kg)	Quantité associée à la micelle de caséine (%)
Calcium	26 – 32	1043 – 1283	69
Phosphate inorganique	19 – 23	1805 – 2185	53
Phosphore total	30 – 32	930 – 922	53
Magnésium	4 – 6	97 – 146	47
Citrate	7 - 11	1323 – 2079	14
Sodium	17 - 28	391 – 644	5
Potassium	31 – 43	1212 – 1681	6
Chlorures	22 - 34	772 - 1207	5

Les minéraux des phases aqueuse et micellaire sont en équilibre et les échanges sont permanents entre ces deux phases (Figure I.1). Cet équilibre dépend de l'environnement physico-chimique influencé par la température, le pH, la force ionique, etc. Les équilibres minéraux sont assez bien décrits dans la littérature (Gaucheron 2005) et les équilibres du calcium et du phosphate qui nous intéressent particulièrement sont explicités dans la section I.1.5.5.2 relatif à la dynamique micellaire lors d'un changement de température.

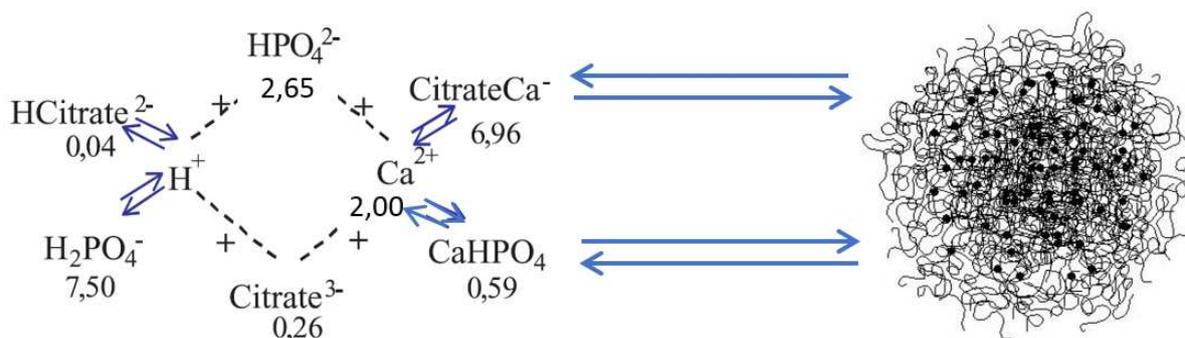


Figure I.1. Equilibre des minéraux entre les phases aqueuse et micellaire (adapté de Gaucheron, (2005) avec une représentation schématique de la micelle de caséine issue de Holt et Horne (1996). Les concentrations des différentes associations de minéraux sont indiquées en mM à pH 6.7 et température ambiante.

Les protéines de lactosérum

I.1.4. Les protéines de lactosérum, monomères ou oligomères de petite taille entre 3 et 6 nm, constituent environ 20% de la masse totale des protéines dans le lait. Elles sont appelées communément protéines « solubles », en opposition aux micelles de caséine qui sont coagulables à pH 4.6. Les principales protéines sériques sont la β -lactoglobuline à hauteur d'environ 50% des protéines solubles, l' α -lactalbumine à hauteur d'environ 20 %, l'albumine sérique, la lactoferrine, l'immunoglobuline, etc. (cf. Table I.1). Elles sont très utilisées en agroalimentaire pour leurs propriétés technologiques (fonctions émulsifiantes, moussantes, gélifiantes, de conservation, etc.) ou nutritionnelles (nutrition infantile et sportive) (Królczyk *et al.* 2016).

I.1.5.

Les micelles de caséine

I.1.5.1. Composition et caractéristiques générales

Les micelles de caséines sont des structures supramoléculaires, assimilées à des colloïdes en suspension dans le lait, qui résultent de l'association de quatre types de caséines : α_{s1} , α_{s2} , β et κ en proportion moyenne de 4 : 1 : 4 : 1 respectivement (McMahon et Brown 1984). Les micelles de caséine sont responsables de l'aspect blanc turbide du lait et sont sécrétées par l'appareil de Golgi des glandes mammaires de chaque espèce de mammifères (Farrell *et al.* 2006). Elles sont naturellement présentes dans le lait sous forme d'une dispersion de particules polydisperses de taille entre 80 et 400 nm avec une taille moyenne de 150 à 200 nm (Dalglish 2011 ; Dalglish et Corredig 2012). Elles ont un potentiel de surface négatif ou potentiel zêta d'environ -20 mV à l'état natif, dans les conditions du lait (Darling et Dickson 1979 ; Dalglish 1984).

Les principales caractéristiques des micelles de caséine sont reportées dans la Table I.3.

Table I.3. Les caractéristiques principales de la micelle de caséine à l'état natif à température ambiante (McMahon et Brown 1984 ; Gaucheron 2005).

Caractéristique	Valeur
Diamètre	130 – 160 nm
Surface	$8 \times 10^{-10} \text{ cm}^2$
Volume	$2.1 \times 10^{-15} \text{ cm}^3$
Densité (hydraté)	1.0632 g/cm^3
Masse	$2.2 \times 10^{-15} \text{ g}$
Teneur en eau	63 %
Hydratation	3.7 g d'eau/g de protéine
Voluminosité	$4.4 \text{ cm}^3/\text{g}$
Masse moléculaire (hydratée)	$1.3 \times 10^9 \text{ Da}$
Masse moléculaire (déshydratée)	$5 \times 10^8 \text{ Da}$
Nombre de chaînes peptidiques	10^4
Nombre de particules par mL de lait	$10^{14} - 10^{16}$
Surface micellaire par mL de lait	$5 \times 10^4 \text{ cm}^2/\text{mL de lait}$
Masse de minéraux	$\sim 0.8 \text{ g/kg micelles}$

Les micelles de caséines contiennent 8% en masse de minéraux constitués essentiellement de phosphate inorganique et calcium associés entre eux (Table I.2) (McMahon et Brown 1984 ; Gaucheron 2005).

Elles sont fortement hydratée avec 3.7 g d'eau/g de protéine ce qui correspond à une voluminosité de 4.4 mL/g de protéines à 20 °C pour des micelles de caséines natives (De Kruif 1998) en tenant compte du volume partiel spécifique moyen pondéré des caséines de $0.733 \pm 0.002 \text{ mL/g}$ (Morris *et al.* 2000). Cette valeur a été calculée à partir de chaque séquence d'acides aminés des quatre caséines individuelles en tenant compte des proportions 4 : 1 : 4 : 1 de ces caséines dans la micelle de caséine. Il est à noter que les micelles de caséine changent de structure et de composition sous l'effet de la température et la valeur de la voluminosité et d'hydratation de la micelle de caséine évolue donc avec la température. L'évolution de la voluminosité avec la température sera notamment discutée dans le paragraphe sur la dynamique micellaire (cf. I.5.5.2).

Leur forte hydratation ainsi que leur masse volumique qui est peu supérieure à celle de la phase solvant permet une limitation des phénomènes de décantation. De plus, leur potentiel de surface (potentiel zêta) élevé assure des répulsions entre micelles de caséines. Ainsi, les micelles de caséines sont très stables en phase aqueuse et sont sous forme de dispersion.

1.1.5.2. Caractéristiques des caséines individuelles

Les quatre caséines individuelles, qui composent la micelle, appartiennent aux protéines phosphorylées car des groupes phosphoryles sont présents sur leurs résidus de sérines (Farrell *et al.* 2004). Les caséines contiennent des proportions significatives d'acides aminés hydrophobes parfois sous la forme de grandes régions hydrophobes, en particulier pour les caséines β et κ . Les caséines ne

possèdent pas beaucoup de structure secondaire ou tertiaire, ce qui leur confère une capacité à adapter leur structure aux conditions environnementales (Holt et Sawyer 1993 ; Gaspar *et al.* 2008).

La propriété d'auto-association est commune aux quatre caséines mais l'influence des paramètres physico-chimiques (pH, température, force ionique) sur le processus de polymérisation est dépendante de la nature des interactions mises en jeu. La polymérisation des caséines β et κ qui sont des protéines très amphiphiles, est ainsi dirigée essentiellement par des interactions de nature hydrophobe alors que la polymérisation des caséines α_{s1} et α_{s2} est plutôt régie par des interactions électrostatiques.

L'auto-association des caséines α_s est dépendante du pH et de la force ionique mais peu influencée par la température. Les caséines β sont capables de s'auto-associer par interactions hydrophobes entre leurs extrémités C-terminales pour former des micelles « néoformées ». Les micelles ainsi obtenues sont de forme sphérique et ont un rayon de giration de 7 à 13 nm de diamètre avec un cœur hydrophobe entouré de chaînes hydrophiles (Kajiwara *et al.* 1988 ; Leclerc et Calmettes 1997 ; O'Connell *et al.* 2003). Le processus de micellisation est fonction de la température et de la concentration en caséines β . Ainsi à basse température (< 4 – 5 °C) et faible force ionique, seuls des monomères de caséine β s'associent et l'auto-association est amorcée dès que la température augmente (8.5 °C) (Payens et Van Markwijk 1963 ; Swaisgood 2003) car une augmentation de la température favorise les interactions hydrophobes et induit le processus de micellisation. Le processus de micellisation ne peut cependant avoir lieu que si la concentration en caséines atteint une concentration suffisante : la concentration micellaire critique (CMC) (O'Connell *et al.* 2003). La CMC est dépendante du pH, de la force ionique et de la température. L'auto-association de la caséine κ est également caractérisée par une CMC qui, à pH 6,7, ne dépend ni de la force ionique, ni de la température (Vreeman *et al.* 1981).

1.1.5.3. Caractéristiques de la surface des micelles de caséine

Malgré de nombreuses études durant plus de 50 ans, la structure de la micelle de caséine fait toujours l'objet de nombreuses controverses. La composition de surface des micelles de caséine fait quant à elle, l'objet d'un certain consensus. Il est communément accepté que les caséines κ sont situées majoritairement en surface des micelles, avec une partie hydrophile C-terminale qui s'étend dans la phase aqueuse du lait. Cette partie hydrophile d'une épaisseur de 5 – 10 nm d'épaisseur agit à la manière des brosses d'un polyélectrolyte (Horne 1986) et assure une stabilisation des micelles de caséines par des phénomènes de répulsions électrostatiques et stériques (De Kruif et Zhulina 1996 ; De Kruif 1998). Il semblerait que la caséine κ ne recouvre pas entièrement la surface de la micelle de caséine. Leur quantité est insuffisante. D'autres caséines (α_{s1} , α_{s2} et β) seraient alors également situées à la surface et donc exposées à la phase aqueuse (Dalglish 1998 ; Dalglish *et al.* 2004 ; Dupont *et al.* 2011).

La surface de la micelle de caséine n'est pas lisse (Figure I.2) car une certaine hétérogénéité est observée par différentes techniques de microscopies (Kalab *et al.* 1982 ; Dalglish *et al.* 2004 ; Ouanezar *et al.* 2012) et cela indique qu'il existe une variation spatiale en densité des masses au sein de la micelle de caséine.

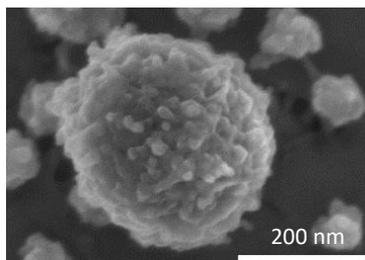


Figure I.2. Image d'une micelle de caséine sous « Scanning Electron Microscopy (SEM) » (Dalglish *et al.* 2004)

1.1.5.4. Cœur des micelles de caséine

La structure interne des micelles de caséine fait toujours l'objet de débats et plusieurs modèles plus ou moins complets ont été proposés. Tous les modèles considèrent que la micelle est constituée d'une matrice composée de caséines dans laquelle le phosphate de calcium est incorporé sous forme de nanoclusters. Les modèles se différencient essentiellement par l'homogénéité/inhomogénéité de la matrice et par la localisation des nanoclusters. Une description exhaustive de ces modèles n'est pas le but de ce manuscrit et des revues assez complètes existent déjà (Holt *et al.* 2013 ; De Kruijff 2014). Par conséquent, seuls les principaux modèles sont abordés.

Le modèle de sous-micelles est introduit par Waugh (1958) puis amélioré au cours des années (Slattery et Evard 1973 ; Schmidt 1982 ; Walstra 1999). Ce modèle représente la micelle de caséine comme l'association de petits agrégats appelés sous-micelles, de forme sphérique et de 20 nm de diamètre contenant 25 – 30 monomères des quatre caséines. Les caséines tiennent dans les sous-micelles par interactions hydrophobes. Cependant, la distribution des caséines est asymétrique avec des parties hydrophobes et hydrophiles à la surface des sous-micelles. Les caséines κ (hydrophiles) sont entourées d'eau alors que les parties caséines α_s et β (hydrophobes et sensibles au calcium) servent de point d'ancrage pour le calcium et le phosphate qui lie les sous-micelles entre elles. Il en résulte un assemblage poreux.

Le modèle des nanoclusters (Holt et Horne 1996) est représenté comme un réseau homogène de caséines et ce modèle ne postule pas l'existence de sous-micelles. L'accent est mis sur le rôle des nanoclusters de calcium et de phosphate (Holt *et al.* 1998).

De nouvelles techniques de microscopies électroniques et de diffusion ont permis d'apporter plus d'informations sur la structure interne des micelles de caséines. La contribution de la microscopie électronique (cryo-TEM) a démontré l'existence de petites régions denses en électrons ne dépassant pas 12 nm, d'environ 2-3 nm et uniformément distribuées dans la phase micellaire (McMahon et McManus 1998 ; Marchin *et al.* 2007 ; McMahon et Oommen 2008 ; Trejo *et al.* 2011). Ces résultats sont alors en accord avec le modèle nanoclusters de phosphate de calcium mais ils ne vont pas dans le sens du modèle de sous-micelles car les sous micelles seraient de plus grosse taille. De plus, des reconstructions tomographiques (Trejo *et al.* 2011) mettent en évidence la présence de cavités remplies d'eau de 20 – 30 nm et de canaux de 5 nm qui n'ont jamais été considérés par les modèles précédents. Cela avait été envisagé par McMahon et Oommen (2008) qui ont décrit les micelles de caséines comme une sorte d'enchevêtrement de chaînes de protéines entrelacées de nanoclusters ce qui en fait des supramolécules colloïdales spongieuses et ouvertes.

Ces dernières années, la contribution des techniques de diffusion de rayonnements (Small-Angle Neutrons Scattering ou SANS, Small-Angle X-ray Scattering ou SAXS, etc.) a permis la proposition de nouveaux modèles et une meilleure compréhension de l'organisation des différents éléments constitutifs des micelles de caséine (De Kruif *et al.* 2012).

Par exemple, une avancée importante a été obtenue sur la structuration interne des micelles par des mesures de diffusion de rayons X aux petits angles (SAXS) et ultra petits angles (USAXS) qui ont permis d'observer, pour la première fois, la structure des micelles de caséines sur un domaine étendu d'échelles de longueurs allant de 2 nm à 1000 nm.

L'ensemble des résultats obtenus sur les dispersions de laits écrémés modèles (Low heat, PPCN) ou de laits frais écrémés, présentent les mêmes profils de l'intensité diffusée en fonction du vecteur d'onde $I(q)$ avec un point d'inflexion aux grands vecteurs d'onde et un épaulement aux plus petits vecteurs d'onde qui révèle une organisation des micelles de caséines à plusieurs niveaux hiérarchiques d'échelles de longueurs (Figure II.3a).

Les résultats mettent en évidence deux échelles de longueurs caractéristiques de la structure des micelles de caséines. Pour les petits vecteurs d'ondes correspondant aux structures à grande échelle, l'intensité diffusée diminue selon une loi en q^{-4} . Les grandes structures (micelles de caséine) s'apparentent donc à des objets globulaires avec un rayon de giration de 100 nm correspondant à la taille moyenne des micelles globulaires. Dans la région à grands vecteurs d'ondes, l'intensité diffusée décroît suivant une loi en $q^{-2.6}$, puis se termine par un plateau d'intensité diffusée aux grands vecteurs d'ondes (supérieurs à 4 nm^{-1}). La décroissance en $q^{-2.6}$ se rapproche de celle d'un enchevêtrement de protéines (en q^{-2}). La différence est expliquée par la diffusion supplémentaire due à la présence de particules nanométriques de phosphate de calcium à l'intérieur de la matrice des micelles de caséine. La présence d'un plateau d'intensité n'est pas compatible avec le modèle de sous-micelles. En effet, leur présence entraînerait une décroissance continue de l'intensité diffusée à ces échelles. Cette analyse a permis d'apporter un argument fort en faveur d'une organisation des caséines selon le modèle de chaînes de pelotes statistiques conduisant à une matrice de protéines uniforme et démontre l'absence de structures "submicellaires" (Pignon *et al.* 2004).

Cette organisation est en accord avec des mesures de cryo-microscopie électronique à transmission qui ont permis d'observer la structure interne des micelles constituées d'un réseau complexe hétérogène de caséines dans lequel sont distribués les grains nanométriques de phosphate de calcium (Figure II.3b) (Marchin *et al.* 2007). Dans ce même travail, les caractérisations par SAXS ont permis d'apporter des informations sur l'influence du pH et de la température sur la structure de ces suspensions. Une diminution du pH de 6.6 à 6 ou une augmentation de la température de 20 à 70 °C, entraînent une augmentation de $I(q)$ aux petits vecteurs d'onde. Ces variations de $I(q)$ suggèrent une agrégation croissante des micelles globulaires alors que leur structure interne n'est pas perturbée.

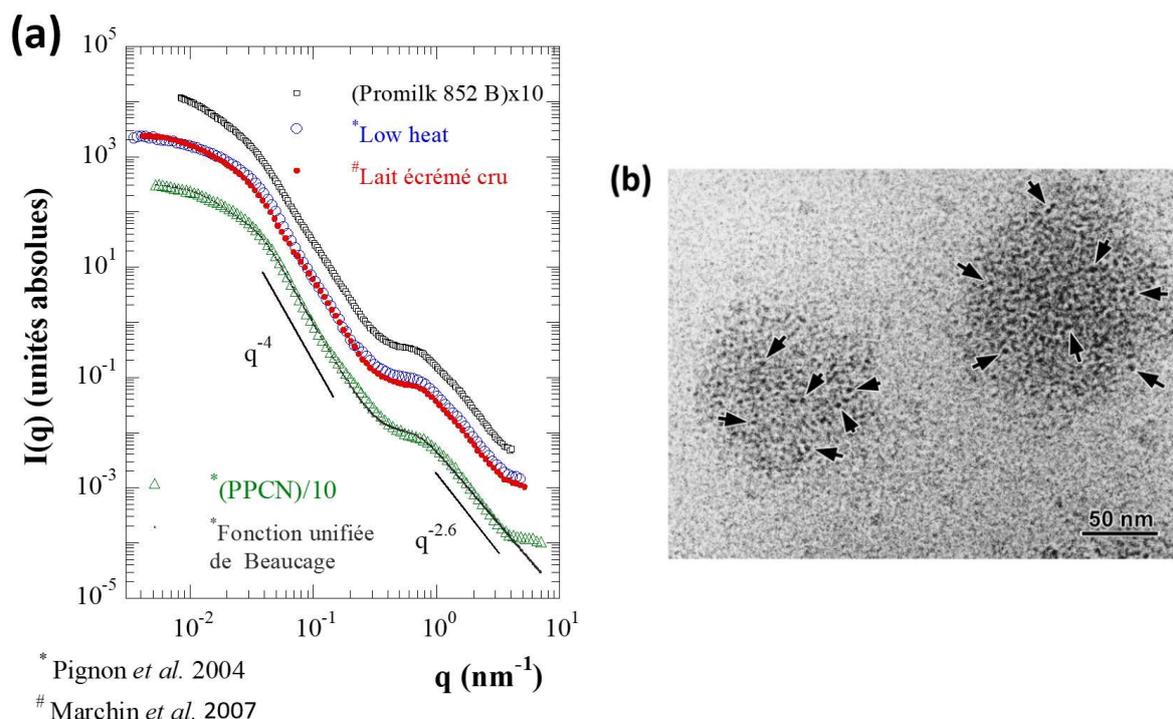


Figure I.3. (a) Courbes de diffusion de rayons X aux petits angles de différentes suspensions de micelles de caséines. (Promilk 852 B dans de l’ultrafiltrat, *Low Heat *PPCN et #Lait écrémé cru). $T = 25\text{ °C}$; (b) Micelles de caséine de lait écrémé cru observée par cryo-microscopie électronique à transmission (Marchin *et al.* 2007).

Plus récemment ces caractérisations par SAXS ont permis de proposer le modèle d’éponge développé par Bouchoux *et al.* (2010). Ce modèle considère trois niveaux d’organisation de la structure des micelles de caséine. Il a été développé à partir de mesures SAXS sur des gels fabriqués par compression osmotique (Figure I.4). Le premier niveau de structure correspond à la micelle de caséine entière ($\sim 100\text{ nm}$ de diamètre) et est responsable de l’intensité dans la région des petits q (jusqu’à $6 \times 10^{-3}\text{ \AA}^{-1}$) (Figure I.5). Ce modèle définit la coexistence de régions dures et molles dans les micelles de caséine (second niveau). Les régions molles sont remplies de solvant et seraient équivalentes aux canaux d’eau déjà décrit dans la littérature (McMahon et Oommen 2008 ; Trejo *et al.* 2011). Ces régions disparaissent sous l’effet de la compression car le solvant est expulsé de la micelle de caséine alors que les régions dures restent incompressibles. Les régions molles ne contribuent alors pas au signal d’intensité du profil SAXS alors que les régions dures (10 – 40 nm) sont responsables de la présence d’un décrochement (encadré Figure I.4) dans la région de 6×10^{-3} à $2 \times 10^{-2}\text{ \AA}^{-1}$. Enfin, les régions dures sont composées de nanoclusters de phosphate de calcium (2 – 3 nm), dernier niveau visible dans les hautes régions de q ($7 - 8 \times 10^{-2}\text{ \AA}^{-1}$).

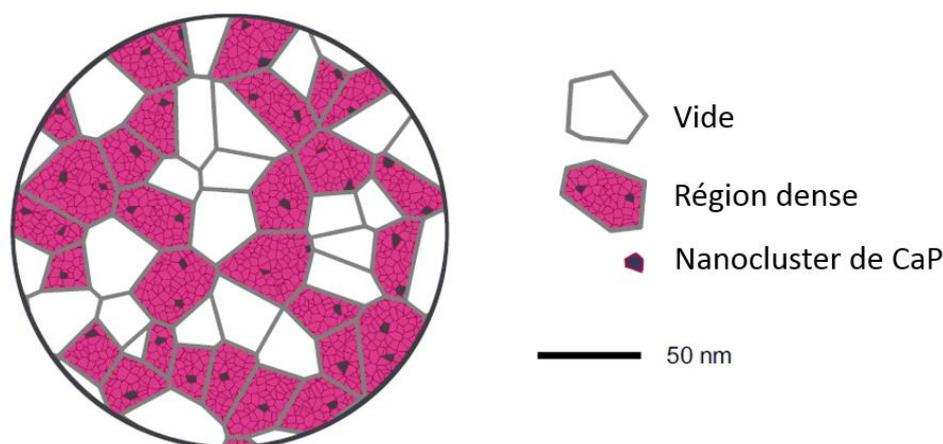


Figure I.4. Représentation schématique d'une coupe transversale d'une micelle de caséine selon le modèle éponge (Bouchoux *et al.* 2010)

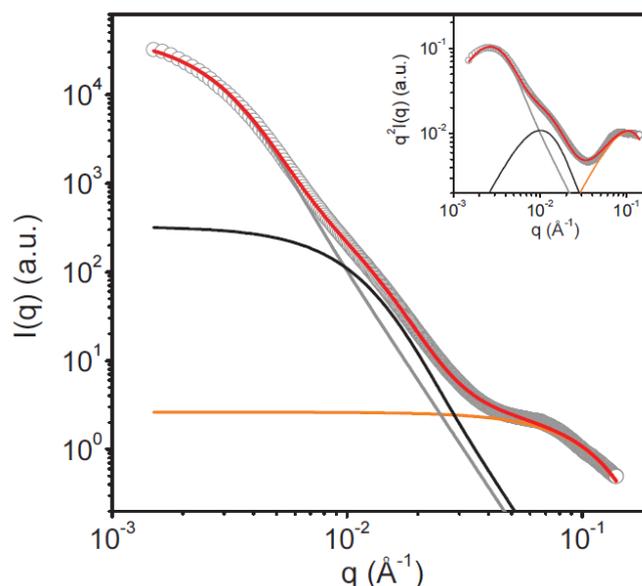


Figure I.5. Profil SAXS d'une dispersion de micelles de caséine dans du perméat d'ultrafiltration concentrée à 25 g/L (Bouchoux *et al.* 2010). Gris = micelles de caséine ; noir = régions dures ; orange = nanoclusters de phosphate de calcium.

Le modèle d'Ingham *et al.* (2016) vient compléter le modèle éponge en considérant cette fois-ci quatre niveaux de contributions en SAXS. Ils définissent par rapport à Bouchoux *et al.* (2010) une attribution différente des hautes valeurs de q pour les nanoclusters CaP (Figure I.6). Un pic d'intensité à $q = 3.5 \times 10^{-2} \text{ \AA}^{-1}$ est présent en utilisant du SAXS par résonance alors que ce pic n'est pas mis en évidence par SAXS classique. Ce pic correspond à la diffusion d'objet contenant du calcium c'est-à-dire les nanoclusters CaP. L'intensité observée aux hautes valeurs de q ($7 - 8 \times 10^{-2} \text{ \AA}^{-1}$) en SAXS classique est faiblement présente en résonance et n'est donc pas due aux nanoclusters. Les auteurs attribuent cela à la présence d'inhomogénéités de protéines déjà suggérée dans la littérature (De Kruif *et al.* 2012 ; De Kruif 2014).

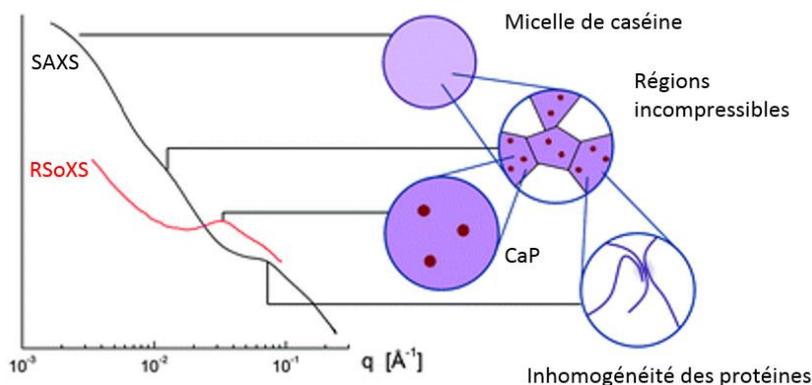


Figure I.6. Représentation schématique d'un profil SAXS de lait écrémé et des 4 niveaux de contributions des différents composants de la micelle de caséine. Adapté du travail d'Ingham *et al.* (2016).

1.1.5.5. Propriétés des micelles de caséine

1.1.5.5.1. Micelles de caséine en milieu dense

Les micelles de caséines en milieu dense ont été assez bien étudiées ces dernières années (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b ; Dahbi *et al.* 2010 ; Nöbel *et al.* 2012, 2016 ; Nair *et al.* 2013, 2014 ; Qu *et al.* 2015).

Notamment, l'équation d'état à 20 °C qui présente la relation entre la pression osmotique et la concentration en caséine de dispersions de micelles de caséine a été bien définie par Bouchoux *et al.* (2009a, 2014) en association à des mesures de rhéologie à 20 °C (Bouchoux *et al.* 2009b) pour des concentrations allant de 20 à 800 g/L. Trois régimes de concentration ont été mis en évidence :

- Le régime dilué, où les micelles de caséine sont séparées les unes des autres et n'interagissent pas entre elles.
- La transition sol-gel, où les interactions entre micelles de caséine deviennent de plus en plus fortes et le comportement rhéologique change de liquide (sol) à solide (gel). La concentration de transition sol-gel est définie à 178 – 185 g/L à 20 ± 3 °C par différentes études (Bouchoux *et al.* 2009b ; Jin *et al.* 2014b).
- Le régime concentré, où les dispersions se comportent comme des solides et les micelles de caséine sont au contact les unes des autres, déformées et compressées.

De plus, des études sur les propriétés rhéologiques à 20 – 25°C de dispersions de micelles de caséine (Bouchoux *et al.* 2009b ; Dahbi *et al.* 2010 ; Nöbel *et al.* 2012 ; Nair *et al.* 2014 ; Jin *et al.* 2014b) montrent un comportement newtonien des dispersions de micelles de caséine ou de lait écrémé jusqu'à 92-108 g/L, puis ces dispersions montrent un comportement rhéofluidifiant (de 100 à 185 g/L) avant de présenter le comportement d'un fluide avec seuil d'écoulement à partir de 189 g/L (Jin *et al.* 2014b). Ainsi les laits écrémés et les dispersions de micelles de caséines se comportent de plus en plus comme un solide quand leur fraction volumique effective approche de la valeur critique de 0.68 – 0.8. Cette valeur présente une grande fourchette car elle est dépendante des fluides utilisés (lait écrémé ou dispersion de micelles de caséine) de la température exacte de mesure (allant de 20 à 25 °C suivant les différentes études) et de la méthode de détermination. En prenant une voluminosité de 4.4 mL/g à 20 °C, cette plage de valeur critique correspond à une plage de concentration de 154 à 182 g/L, en

accord alors avec les concentrations déterminés par certains auteurs (Bouchoux *et al.* 2009b ; Jin *et al.* 2014b).

Enfin, des études s'intéressant aux propriétés cohésives de dispersions concentrées de micelles de caséines à 20 °C via la compression osmotique (Bouchoux *et al.* 2010 ; Qu *et al.* 2015) ont permis de mettre en évidence que des liaisons cohésives entre micelles de caséine s'établissent entre certaines régions de surface des micelles de caséine et que la force de ces interactions est affectée par les conditions de compression (niveau, vitesse et temps). Il a en effet été démontré que plus le niveau de compression est élevé, plus le gel est cohésif jusqu'à un certain point puisque pour des niveaux très élevés et supérieurs à $100 \cdot 10^5$ Pa, les gels sont moins cohésifs. De plus, il a également été montré que les liaisons cohésives sont favorisées quand la compression se faisait graduellement ou quand le temps de contact entre micelles de caséine est long.

I.1.5.5.2. Influence de la température sur les micelles de caséine

Les micelles de caséine sont des structures dynamiques, qui échangent des minéraux (calcium et phosphate principalement) et des caséines avec la phase solvant en fonction des paramètres physico-chimiques du milieu tels que la température, le pH, la concentration des différents ions, etc. Seul l'effet de la température sur la dynamique micellaire, dans une plage de 4 à 50°C, est présenté ici car c'est le seul effet étudié dans ce travail de thèse.

Il a été largement montré dans la littérature que la diminution de la température (de 50 vers 4°C) entraîne une dissociation des ensembles macromoléculaires par affaiblissement des interactions hydrophobes et cela implique alors la libération de la caséine β dans la phase soluble (Creamer *et al.* 1977 ; Davies et Law 1983 ; Walstra 1990 ; Holt 1995 ; Marchin *et al.* 2007 ; Liu *et al.* 2013). Le relâchement du réseau protéique ainsi que des interactions hydrophobes induit alors également la libération de calcium et de phosphate dans la phase aqueuse (Pierre et Brule 1981 ; Koutina *et al.* 2014 ; Broyard et Gaucheron 2015). Tout cela résulte en une augmentation de l'hydratation et de la voluminosité apparente des micelles de caséine (Nöbel *et al.* 2012 ; Liu *et al.* 2013).

L'effet de la température, dans la gamme de 5 à 50 °C est réversible et une augmentation de température induit alors un recouvrement des propriétés initiales (Nöbel *et al.* 2012, 2016 ; Liu *et al.* 2013).

Liu *et al.* (2013) ont de plus mis en évidence qu'un réchauffement de 10 à 40 °C permettait de retrouver les conditions initiales (pH et turbidité) assez rapidement (< 40 min) alors qu'un refroidissement de 40 °C à 10 °C permettait de revenir aux conditions initiales de pH assez rapidement (< 40 min) et de revenir aux conditions initiales de turbidité mais après un temps beaucoup plus long (>16h) traduisant alors des équilibres minéraux qui se font rapidement alors que les changements de structure (traduit par la turbidité) à froid sont beaucoup plus longs à se faire.

L'influence de la température sur les micelles de caséine a été très étudiée pour les dispersions diluées ou peu concentrées, alors qu'il existe très peu d'études en milieu concentré (Concentration > 200 g/L). Des études de l'influence de la température sur la voluminosité des micelles de caséine ont été réalisées via des mesures de rhéologie sur une large gamme de température, de 5 à 70°C (Nöbel *et al.* 2012, 2016), mais ces auteurs se sont seulement intéressés à des dispersions peu concentrées avec des concentrations ne dépassant pas 200g/L obtenues par dissolution de poudre dans le solvant de lait. Ils ont pu alors déterminer que la voluminosité des micelles de caséine augmente lors de la diminution de température, par exemple les voluminosité de la micelle de caséine sont 4.85 mL/g à 7 °C, 4.52 mL/g à 12 °C, 4.1 mL/g à 20 °C, 3.9 mL/g à 25 °C et 3.8 mL/g à 42 °C (Nöbel *et al.* 2012, 2016).

Ils ont attribué cette augmentation de voluminosité avec la diminution de température au gonflement de la micelle et à l'augmentation de l'eau immobilisée dans les micelles de caséine.

Ainsi l'influence de la température sur les micelles de caséine est très bien étudiée en milieu dilué ou faiblement concentré sur des dispersions obtenues par dissolution de poudre (< 200 g/L). En revanche, en milieu concentré, aucune information n'est disponible sur l'influence de la température sur les propriétés des micelles de caséine, notamment sur leurs propriétés physiques, rhéologiques et cohésives à des températures autres que la température ambiante de 20 °C.

Conclusions

Le lait est un fluide complexe contenant de nombreux composés et ce projet s'est particulièrement intéressé aux micelles de caséine, des colloïdes poreux et déformables, présents dans le lait.

Les micelles de caséine ont été très étudiées en tant qu'objet que ce soit du point de vue de leur structure, leur taille, leurs interactions, leur dynamique, etc. Lorsqu'on s'intéresse aux opérations de filtration, il est primordial de connaître le comportement des micelles de caséine en milieu concentré et notamment leurs propriétés physiques (équation d'état), rhéologiques et cohésives afin de s'approcher du comportement que peuvent avoir les micelles de caséine dans les couches accumulées à la surface de la membrane. **Cependant, les micelles de caséine ont été très étudiées en dispersions diluées et très peu en dispersions concentrées si ce n'est à 20 – 25 °C où leurs propriétés physiques, rhéologiques et cohésives sont très bien caractérisées. En filtration, cette plage de température n'est jamais utilisée pour des raisons bactériologiques : les opérations sont conduites soit à basse température (7-12 °C) soit à hautes températures (48 – 53 °C). Un manque de connaissances à ces températures-là sur les propriétés physiques, rhéologiques et cohésives de dispersions de micelles de caséine concentrées est alors à compléter afin de mieux maîtriser le procédé.**

1.2. La filtration membranaire

Cette partie s'attache à présenter la filtration membranaire ainsi que les grandeurs caractéristiques de l'opération et des mécanismes de transport qui ont lieu au cours du procédé.

Présentation générale

La filtration membranaire permet une séparation de constituants dispersés dans un solvant à travers une membrane poreuse et semi-perméable par l'application de forces telles qu'un gradient de pression, ou des potentiels chimique ou électrique. Les composés qui traversent la membrane constituent le perméat alors que les constituants retenus par la membrane constituent le rétentat (Figure 1.7). Ces deux fractions sont généralement valorisées en industrie et cette opération permet alors de concentrer, purifier ou fractionner les constituants dispersés dans un solvant. En industrie laitière, c'est exclusivement l'application d'un gradient de pression, pression transmembranaire, qui est utilisé et c'est pourquoi c'est ce type de force motrice qui sera seulement présenté.

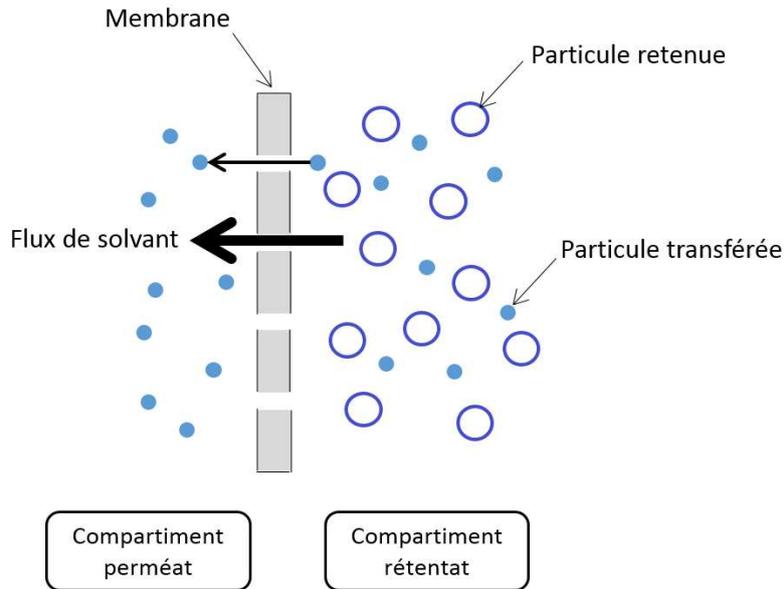


Figure I.7. Représentation schématique d'une opération de séparation par membrane.

Il existe différents types de filtration utilisés en industrie laitière qui sont généralement classés selon le seuil de coupure ou le diamètre des pores de la membrane et du niveau de la force motrice appliquée (Figure I.8) (Gésan-Guiziou 2010). Quatre types de filtration peuvent être distingués : la microfiltration, l'ultrafiltration, la nanofiltration et l'osmose inverse.

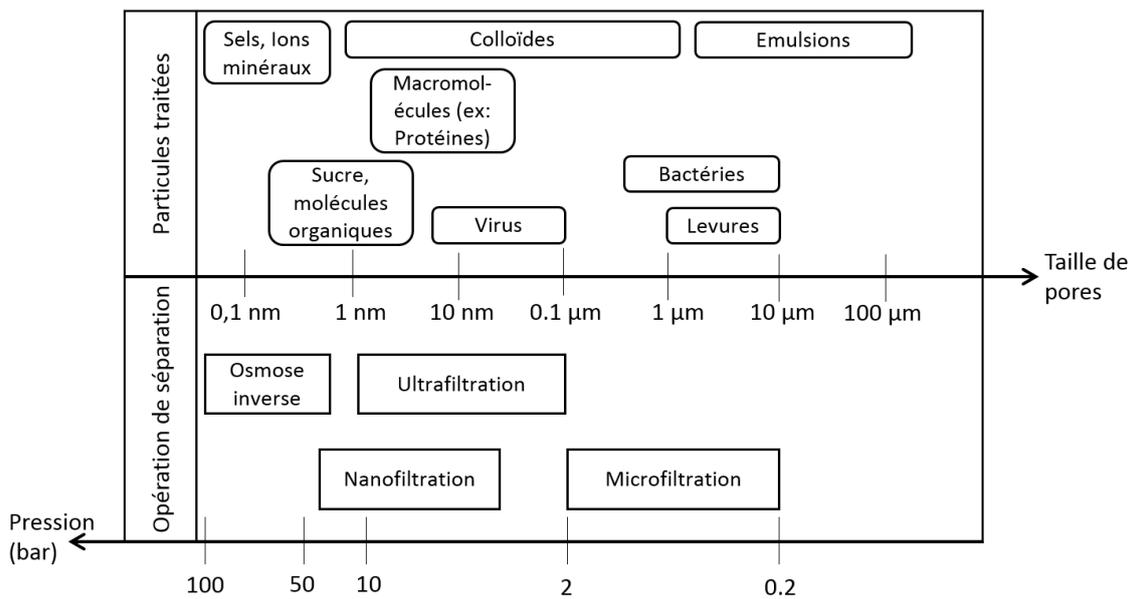


Figure I.8. Classification des opérations de séparations membranaires selon la taille des pores et des particules traitées.

La microfiltration est généralement utilisée pour la séparation des particules ou des objets colloïdaux de l'ordre du micromètre avec des tailles de pores dont le diamètre varie de 100 à 10 µm. Typiquement la microfiltration en industrie laitière est utilisée pour l'épuration bactérienne (1.4 µm) ou pour séparer les micelles de caséine des protéines du lactosérum (0.1 µm) et elle utilise des pressions de l'ordre de 0,2 à 1 bar.

L'ultrafiltration utilise des diamètres de pores plus petits que ceux de la microfiltration et dont les dimensions varient de 1 à 50 nm et nécessite une pression plus élevée (2 – 10 bar) que la microfiltration. Pour les membranes d'ultrafiltration, l'utilisation du terme « seuil de coupure » est préférée. L'ultrafiltration est généralement utilisée pour concentrer et purifier des solutions macromoléculaires. En industrie laitière, l'ultrafiltration est utilisée pour concentrer les protéines du lactosérum ou les protéines totales.

La nanofiltration utilise des diamètres de pores de l'ordre de 0.5 – 2 nm et est effectuée à des pressions assez élevées (5 – 50 bar) mais qui restent faibles en comparaison de celles utilisées en osmose inverse (50 – 100 bar). Ces deux opérations sont utilisées pour séparer des composés de faible poids moléculaire et elles sont principalement utilisées pour la concentration totale ou partiellement déminéralisée des produits.

En industrie laitière, le lait est filtré à « haute » température (48 – 53 °C) ou « basse » température (7 – 12 °C). Des membranes en céramiques sont préférentiellement utilisées pour la filtration de lait à « haute » température pour bénéficier de la faible viscosité des produits et ainsi diminuer la surface membranaire à mettre en œuvre. Les membranes organiques sont de plus en plus utilisées dans la filtration de lait pour leur faible coût par comparaison aux membranes céramiques. Du fait de leur géométrie complexe, les membranes organiques sont préférentiellement utilisées à « basse » température pour éviter les difficultés de nettoyage et désinfection qui pourraient exister en cas de contamination bactérienne de l'installation.

Du fait du colmatage des membranes durant la filtration de lait et pour respecter les qualités sanitaires des produits, les installations sont régulièrement nettoyées. Cette phase de nettoyage dure de 2 – 3 h, utilise de l'eau, des détergents, du temps et de l'énergie et sépare des phases de production qui sont généralement de 6 – 8 h avec membranes céramiques à chaud, et peuvent durer jusqu'à 20 h lorsqu'il s'agit de filtration utilisant des membranes organiques à froid.

1.2.2.

Modes de filtration

1.2.2.1. *Frontal/Tangentiel*

La filtration membranaire conduite sous gradient de pression peut être réalisée en mode frontal ou en mode tangentiel (Figure 1.9).

En filtration frontale, le fluide traverse la membrane perpendiculairement et cela conduit via le flux convectif à une accumulation continue des espèces retenues par la membrane au cours du temps entraînant alors une baisse progressive de la productivité. Ce mode de filtration est souvent conduit en batch et il est peu onéreux mais en industrie laitière, il n'est pas utilisé.

Le mode tangentiel est alors le plus utilisé car le fluide circule parallèlement à la membrane ce qui permet de limiter l'accumulation de matière à la surface de la membrane. En fait le mouvement du rétentat qui passe tangentiellement à la surface de la membrane peut avoir un rôle « érosif » en enlevant des couches de dépôt ou même empêchant la formation d'un dépôt. Son principal avantage est alors de limiter la diminution du flux de perméat au cours du temps par rapport au mode frontal. Ce mode de filtration est donc préférentiellement utilisé à l'échelle industrielle car il permet d'obtenir des flux de perméation supérieurs à ceux du mode « frontal », de limiter les phénomènes de colmatage et d'obtenir une meilleure sélectivité de l'opération. De plus, ce mode tangentiel a l'avantage d'être effectué en continu.

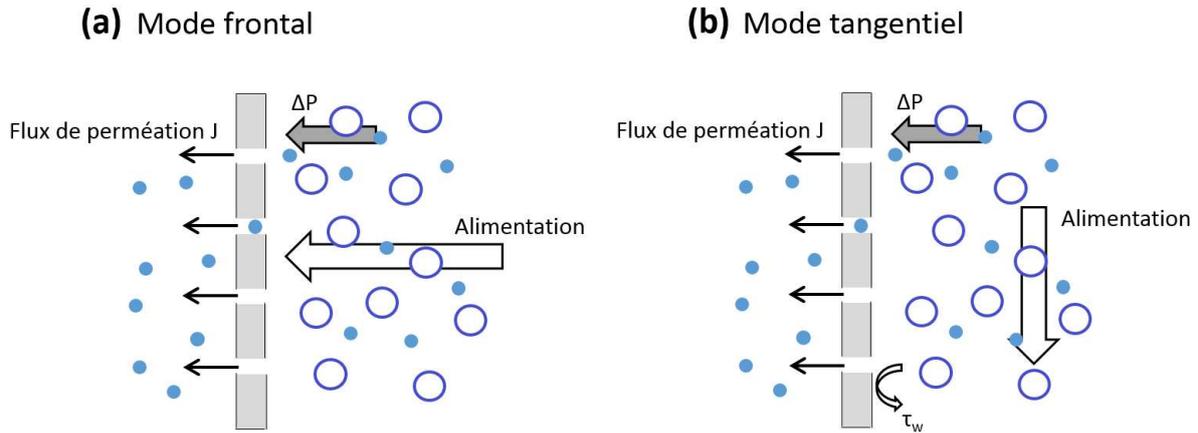


Figure I.9. Modes de filtration a) frontal et b) tangential. ΔP est la pression transmembranaire et τ_w est la contrainte de cisaillement à la paroi.

1.2.2.2. Pression transmembranaire/Flux constant(e)

En industrie laitière, les opérations de filtration peuvent s'effectuer soit à pression transmembranaire (ΔP) constante, soit à flux de perméation (J) constant. Le choix d'un mode dépend principalement des contraintes d'utilisation industrielle puisque le mode à flux de perméation constant permet d'alimenter en continu les opérations en aval de la filtration, alors que le mode à pression constante permet de choisir une valeur de pression en deçà des forts niveaux de pression qui conduisent à des niveaux de colmatage élevés.

1.2.3. Rappels fondamentaux

1.2.3.1. Transfert de matière à travers la membrane

Lors de la filtration d'un solvant pur, la loi de Darcy est utilisée pour traduire le lien de proportionnalité entre le flux de perméation (J , $\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) et la pression transmembranaire (ΔP , Pa) :

$$J = \frac{\Delta P}{\mu \times R_m} \quad \text{Eq.I.1}$$

avec μ (Pa.s) la viscosité du solvant et R_m (m^{-1}) la résistance hydraulique de la membrane propre.

1.2.3.2. Limitation au transfert par accumulation de matière à la membrane

1.2.3.2.1. Adsorption et blocage de pores

L'adsorption résulte d'interactions physico-chimiques telles que les interactions hydrophobes, électrostatiques ou covalentes entre membrane et soluté. L'adsorption dépend de la nature de la membrane (matériau), des caractéristiques physico-chimiques des solutés et de leur concentration ainsi que de la nature de la phase aqueuse (pH, force ionique, nature des ions). Elle peut intervenir tant à la surface des membranes qu'à l'intérieur des pores, dès le contact du fluide avec la membrane, la conséquence étant la formation de couches conduisant à une diminution de la section de passage dans les pores conduisant à une résistance hydraulique supplémentaire à la résistance propre de la membrane. L'adsorption se met en place dès les premiers instants de contact entre le fluide et la membrane, elle atteint une valeur limite en fonction du temps.

Le blocage des pores découle généralement de propriétés stériques : des particules de diamètre similaire ou inférieur à la taille des pores sont susceptibles de rentrer dans les pores et de

créer un blocage ou obstruer l'entrée des pores, diminuant ainsi la surface disponible pour l'écoulement. Le flux net à travers la membrane dépendra donc de la nature du blocage, complet ou partiel, et donc de la fraction des pores restés libres à l'écoulement. Ce phénomène entraîne également une résistance supplémentaire à l'écoulement du fluide.

On peut considérer que l'adsorption et le blocage des pores résultent en une résistance hydraulique additionnelle R_{add} à la membrane et si on prend en compte les phénomènes d'adsorption, de blocage de pores, la loi de Darcy modifiée et généralisée permet alors de décrire l'écoulement selon :

$$J = \frac{\Delta P}{\mu \times (R_m + R_{add})} \quad \text{Eq.I.2}$$

I.2.3.2.2. Mise en évidence d'accumulation de matière en surface de membrane

Lors de la filtration de solutés, un écart à la loi de Darcy est observé (Figure I.10) : au-delà d'une certaine valeur de pression transmembranaire, il n'y a plus de proportionnalité entre pression transmembranaire et flux de perméation (Zone II sur la Figure I.10b) et le flux de perméation atteint une valeur limite J_{lim} qui dépend des conditions opératoires (Zone III sur la Figure I.10b) pour laquelle une augmentation de pression transmembranaire ne conduit plus à une augmentation du flux de perméation.

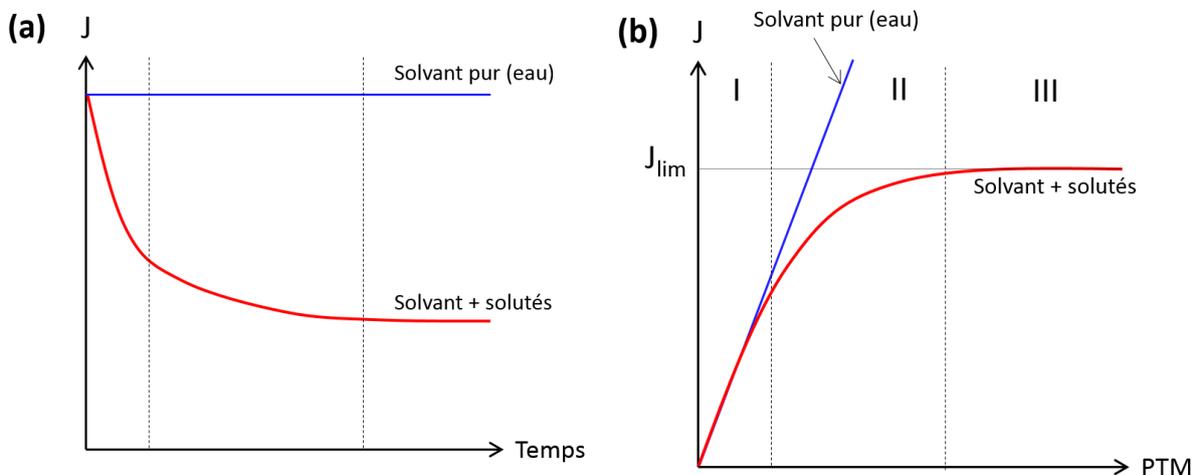


Figure I.10. Courbes typiques de filtration : (a) évolution du flux de perméation J en fonction du temps à une pression transmembranaire (PTM) fixée, (b) évolution du flux de perméation en fonction de la pression transmembranaire.

Ces phénomènes sont inhérents au procédé de séparation par membrane et mettent en évidence les phénomènes d'accumulation de matière à la membrane (flux de soluté inférieur au flux de solvant) et les phénomènes de rétro-transport (J_{lim}) qui contrebalancent le flux de matière apporté par convection.

Parmi l'ensemble des phénomènes d'accumulation de matière à la surface de la membrane, deux types d'accumulation peuvent être distingués, l'accumulation dite réversible et l'accumulation dite irréversible.

L'accumulation dite réversible s'élimine dès arrêt de la pression. En pratique, cela correspond à la matière éliminée après rinçage à l'eau de la membrane après l'arrêt de la filtration. Cependant, la

nature de la matière éliminée après l'arrêt de la pression et après le rinçage peut être différente car on peut supposer que le rinçage peut éliminer une partie de la matière restée accumulée à la membrane lors de l'arrêt de la pression transmembranaire.

Pour la suite de ce projet de thèse, l'accumulation gélifiée est considérée comme l'accumulation irréversible.

I.2.3.2.3. Polarisation de concentration

Lors de la filtration, les solutés et le solvant sont apportés vers la membrane sous l'effet du flux de convection. Les solutés partiellement ou intégralement retenus s'accumulent alors à la surface de la membrane. Un gradient de concentration s'établit alors dans la zone entre la membrane et la veine liquide (Figure I.11) et les concentrations atteintes dans cette zone deviennent supérieures à la concentration de la veine liquide. Ce gradient de concentration génère alors un flux diffusif appelé « rétro-diffusion » (première loi de Fick) de la membrane vers la veine liquide (Figure I.11). Ce phénomène est connu comme la polarisation de concentration qui s'établit dès les premiers instants de la filtration et qui est responsable de la grande décroissance initiale du flux.

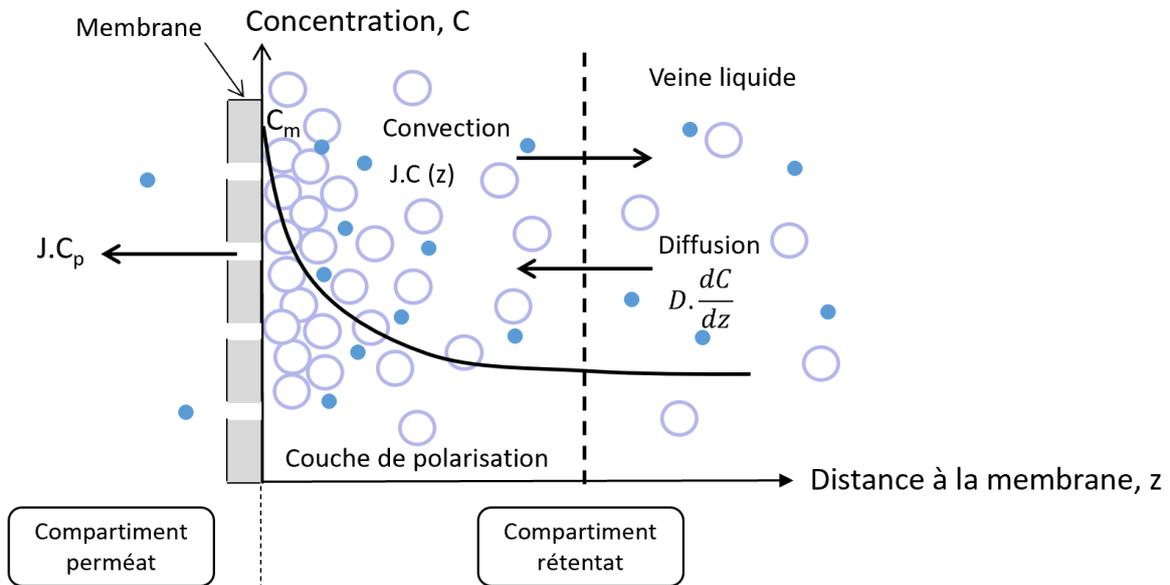


Figure I.11. Polarisation de la concentration : profil de concentration à l'intérieur de la couche de polarisation de concentration

La variation de concentration d'une espèce dans l'espace (z , m) et dans le temps (t , s) est alors décrite par la seconde loi de Fick, l'équation de continuité des flux :

$$\frac{dC}{dt} = \frac{dN}{dz} \quad \text{Eq.I.3}$$

avec C la concentration en solutés (kg.m^{-3}), z la distance normale à la membrane (m), et N ($\text{kg.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) le flux de matière correspondant à la différence entre le flux de matière des solutés arrivant par convection et celui repartant par diffusion. L'équation devient alors :

$$N = J \times C - D \times \frac{dC}{dz} \quad \text{Eq.I.4}$$

avec D ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$) le coefficient de diffusion brownienne des espèces en présence.

L'accumulation des solutés à la surface de la membrane avec la polarisation de concentration entraîne une résistance hydraulique supplémentaire au transfert. Cette limitation peut s'exprimer via une différence de pression osmotique π_m , opposée au gradient de pression ΔP , induite par la différence de concentration de part et d'autre de la membrane.

En tenant compte du phénomène de polarisation de concentration, la loi de Darcy est donc modifiée comme suit :

$$J = \frac{\Delta P - \pi_m}{\mu \times (R_m + R_{add})} \quad \text{Eq.1.5}$$

1.2.3.2.4. Spécificités des colloïdes : accumulation irréversible et modèle de pression osmotique

Il a été montré pour la première fois par Cohen et Probstein (1986) que la filtration de colloïdes présente des spécificités, ce qui conduit à ce qu'ils ont appelé le paradoxe du flux colloïdal. En effet, ils ont observé que le flux de perméation obtenu durant l'osmose inverse d'oxyhydroxyde de fer, est plus élevé que celui attendu, induit par les phénomènes décrits précédemment (mouvement brownien, polarisation de concentration, etc.). Ce paradoxe s'explique par les interactions de surfaces entre colloïdes qui dictent le flux de perméation (Bacchin *et al.* 2006) et il faut alors considérer pour la filtration de colloïdes l'effet de diffusion collective qui tient compte des interactions entre particules (Bowen *et al.* 1996).

Lorsque les colloïdes se concentrent au voisinage des membranes, leur concentration augmente ainsi que leurs interactions colloïdales (répulsives et/ou attractives). Afin de tenir compte de l'effet de la concentration sur les interactions entre particules, la pression osmotique colloïdale a été introduite (Bacchin *et al.* 2006). Les relations existantes entre pression osmotique et forces d'interactions colloïdales, ont été mises en évidence pour différents types de particules : latex (Bonnet-Gonnet *et al.* 1994), argiles (Martin *et al.* 2006), silice (Parneix *et al.* 2009). Une définition de la pression osmotique a été proposée par Jönsson *et al.* (2011) : c'est la résistance qu'exerce la dispersion lorsqu'on cherche à extraire le liquide qui se trouve au sein des particules en dispersion. Pour des dispersions colloïdales stables, la pression osmotique augmente avec la fraction volumique occupée par les particules, et cette augmentation définit l'équation d'état de la dispersion. Cette équation d'état a été étudiée en détails pour les micelles de caséine par Bouchoux *et al.* (2009b, 2009b) et révèle les changements de pente de cette équation d'état associés aux transitions sol-gel des dispersions.

Au cours de la filtration des colloïdes, lorsque des concentrations élevées sont atteintes dans la couche de polarisation, la pression osmotique ne peut être négligée et rend compte de l'augmentation de la compression des couches de particules polarisées à la membrane par la pression solide, associée à une diminution des distances entre les particules et à une augmentation de leurs interactions colloïdales. Près de la membrane, lorsque les forces de compression sont supérieures aux forces répulsives des particules, la transition sol-gel des colloïdes est dépassée et il y a formation d'un gel à la surface de la membrane, part irréversible du dépôt, très difficile à éliminer (Figure 1.12).

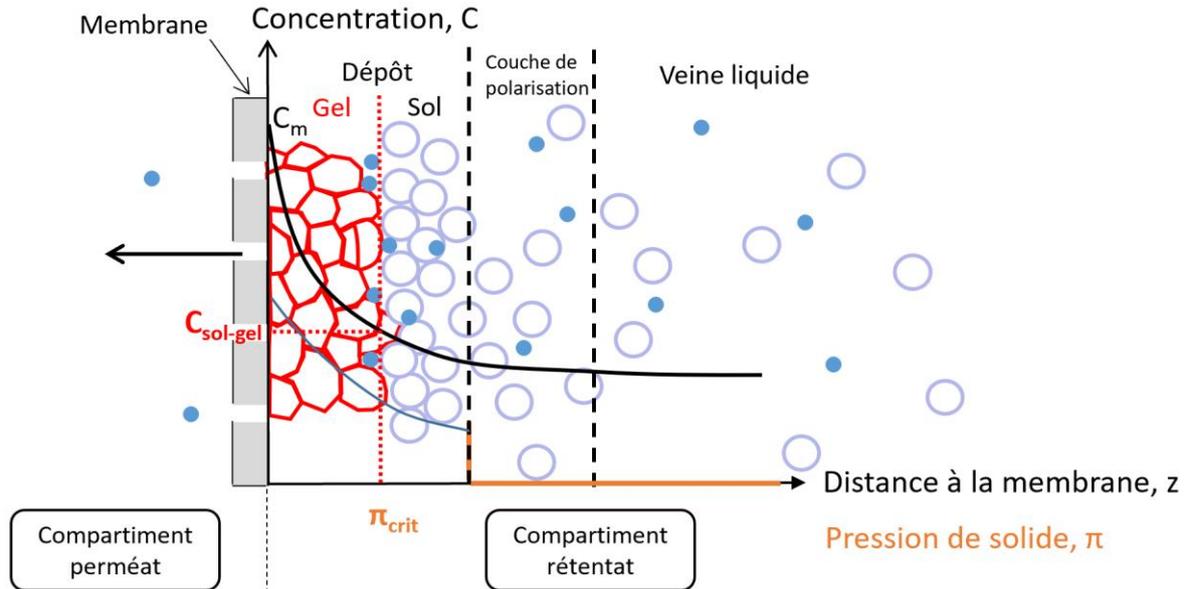


Figure I.12. Formation d'un dépôt avec une partie gélifiée : évolution de la pression de solide π dans le dépôt (adapté de Bacchin (2007))

Un modèle de pression osmotique a été développé afin de tenir compte des effets d'interactions colloïdales dans les équations de la filtration, qui décrivent les évolutions des flux de perméation (Bacchin *et al.* 1995, 2002 ; Harmant et Aimar 1996 ; Aimar et Bacchin 2010). Il considère qu'en régime stationnaire, l'équation Eq I.4 s'écrit alors :

$$J \times C - D \times \frac{dC}{dz} = 0 \quad \text{Eq.I.6}$$

Ce modèle utilise alors la loi de Stokes-Einstein généralisée qui permet de relier la diffusion des colloïdes $D(C)$ à leurs interactions de surface via la pression osmotique $\pi(C)$ et de relier la diffusion des colloïdes au coefficient hydrodynamique $K(C)$ selon la relation ci-dessous, avec D_0 la diffusion brownienne en milieu dilué :

$$\frac{D(C)}{D_0} \times dC = K(C) \times d\pi \quad \text{Eq.I.7}$$

L'intégration de l'équation I.7 dans la relation I.6 conduit alors à l'équation qui détermine le profil de concentration à la membrane pendant la filtration :

$$\frac{J \times dC}{D_0} = \frac{K(C)}{C} \times d\pi \quad \text{Eq.I.8}$$

Ce dépôt forme une couche dense qui engendre une résistance additionnelle (R_d) d'importance variable en fonction de la compressibilité du dépôt. Pour les dépôts constitués de colloïdes déformables (Pignon *et al.* 2004), telles que les micelles de caséine, le dépôt est compressible, une augmentation de pression transmembranaire induit une diminution de la porosité et une augmentation de la résistance intrinsèque (James *et al.* 2003).

Si on prend en compte les phénomènes d'adsorption, de blocage des pores, de polarisation de concentration et de dépôt, la loi de Darcy modifiée et généralisée permet alors de décrire l'écoulement selon :

$$J = \frac{\Delta P - \pi_{crit}}{\mu \times (R_m + R_{add} + R_d)} \quad \text{Eq.I.6}$$

Par simplification, les résistances individuelles (R_{add} et R_d) créées par les différents types de colmatage seront englobées sous une résistance totale de colmatage R_f dans la suite du manuscrit.

Conclusion

La filtration membranaire conduit sous certaines conditions à l'accumulation de matière réversible et irréversible à la surface de la membrane résultant de différents mécanismes de transport. L'accumulation de matière irréversible à la surface de la membrane altère les performances de la filtration et nécessite un nettoyage chimique ou mécanique. **Dans le cas de la filtration de colloïdes, cette accumulation irréversible est principalement attribuée à la formation d'un dépôt/gel à la surface de la membrane, qui est l'objet de ce travail de thèse.**

Les principes généraux de la filtration membranaire étant établis, il est nécessaire à présent de s'intéresser à la filtration membranaire de lait et plus particulièrement de micelles de caséine afin d'identifier les spécificités de cette opération en industrie laitière.

I.3. La filtration membranaire de micelles de caséines : formation et propriétés du dépôt de micelles de caséine

Dans ce paragraphe, les particularités inhérentes à la filtration de micelles de caséine seront présentées en mettant l'accent sur les performances de la filtration puis la formation et les propriétés des dépôts de micelles de caséine durant la filtration sous différentes conditions opératoires.

I.3.1.

Performances de filtration

Lors de la filtration de lait écrémé, principalement lors de la microfiltration et de l'ultrafiltration, les performances de la filtration (perméabilité, sélectivité, nettoyage) sont altérées par l'accumulation de micelles de caséine à la surface de la membrane. L'adsorption ou le blocage des pores principalement dus aux protéines du lactosérum qui sont des petites protéines (Vetier *et al.* 1986 ; Tong *et al.* 1988) ou dus à la précipitation de minéraux à l'intérieur des pores de la membrane (Hanemaaijer *et al.* 1989) sont négligeables face aux phénomènes d'accumulation de matière à la surface de la membrane (Le Berre et Daufin 1996 ; Gésan-Guiziuo *et al.* 1999c ; Krstic *et al.* 2002 ; James *et al.* 2003 ; Krstic *et al.* 2004 ; Kromkamp *et al.* 2007 ; Jimenez-lopez *et al.* 2008 ; Kühnl *et al.* 2010). La polarisation de concentration et le dépôt sont principalement attribués aux micelles de caséine complètement retenues à la fois en ultrafiltration et en microfiltration (Rabiller-Baudry *et al.* 2006 ; Jimenez-lopez *et al.* 2008 ; Qu *et al.* 2012). Ce projet de thèse s'est exclusivement intéressé à la filtration de micelles de caséine et c'est pourquoi, en l'absence des protéines de lactosérum, l'adsorption et le blocage des pores ne seront pas évoqués dans la suite du travail. Ce projet de thèse est focalisé sur l'étude de la formation et des propriétés du dépôt de micelles de caséine à la surface de la membrane.

Il a été montré dans plusieurs travaux de filtration (Gésan-Guiziou *et al.* 1999a ; Grandison *et al.* 2000) que les performances de la filtration de lait écrémé dépendent des conditions opératoires et notamment des conditions hydrodynamiques telles que la pression transmembranaire et la vitesse de l'écoulement tangentiel. Ainsi une augmentation de la vitesse de l'écoulement tangentiel (ou la contrainte de cisaillement) à pression transmembranaire constante a été reliée à une augmentation du flux de perméation et donc une amélioration des performances de filtration. De même, une diminution de pression transmembranaire à flux de perméation constant a été reliée à une augmentation du flux de perméation et donc une amélioration des performances de filtration.

L'effet de la température durant le procédé sur les performances de filtration de lait écrémé reste lui peu étudié sur un même type de membrane même si ces dernières années quelques études ont été effectuées (Liu *et al.* 2013, 2014 ; Ng *et al.* 2018). Il a été ainsi montré que le calcium colloïdal augmente et que la taille des micelles de caséine augmente de 200 à 220 nm entre 10 et 40 °C (Liu *et al.* 2013) impliquant une composition différente des rétentats après une ultrafiltration tangentielle de lait écrémé à différentes températures (Liu *et al.* 2014). Une seule étude semble avoir étudié les performances d'ultrafiltration tangentielle de lait écrémé à 10, 30 et 50 °C sur membrane organique de poly éther sulfone 10 kDa (Ng *et al.* 2018) et il a été montré que les flux de perméation sont plus élevés lorsque la température augmente mais aussi que le colmatage irréversible augmente quand la température augmente. Ils ont attribué cela à la dénaturation des protéines sériques à haute température qui viennent colmater les pores de la membrane.

1.3.2. Formation et propriétés du dépôt

1.3.2.1. Formation du dépôt

Plusieurs études ont montré que le dépôt de micelles de caséine se forme lorsque certaines conditions opératoires sont atteintes. Il a par exemple été montré que la conduite de la microfiltration tangentielle de lait écrémé à haute température (48 – 50 °C) ne doit pas dépasser un rapport critique $(J/\tau_w)_{crit} = 0.9 - 1.0 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{Pa}$ pour éviter la formation d'un dépôt irréversible et une altération des performances de filtration (Le Berre et Daufin 1996 ; Gésan-Guiziou *et al.* 1999c ; Jimenez-lopez *et al.* 2008). Ces conditions critiques correspondent également à une concentration critique ou une pression osmotique critique de la transition sol-gel des micelles de caséine permettant alors de déterminer les conditions critiques auxquelles le dépôt gélifié apparaît (Bacchin *et al.* 2006). En l'absence de filtration, à 20 °C via des expériences de compression osmotique sur des durées longues, ces conditions critiques ont été déterminées autour de 180 g/L et 10 kPa (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b). Cependant, une étude récente en filtration frontale à 20 °C a mis en évidence une pression osmotique critique autour de 35 kPa, bien supérieure à celle trouvée en l'absence de filtration, ce qui peut suggérer un effet des conditions hydrodynamiques ou de la cinétique de concentration dans la formation et la structuration du dépôt gélifié (Qu *et al.* 2012).

D'autre part, la diffusion de rayons X à petits angles (SAXS) a permis de suivre la formation de dépôt au cours du temps d'ultrafiltration tangentielle à 25 °C (Pignon *et al.* 2004 ; Jin *et al.* 2014b) avec une amélioration de la résolution spatiale de caractérisation grâce aux développements techniques successifs. La résolution est passée de la centaine de micromètres à 20 micromètres, avec une distance minimale d'accès aux premières couches près des membranes de 20 micromètres également. L'accumulation de micelles de caséine a ainsi pu être suivie dès les premières minutes au voisinage de la membrane.

Bien que la formation du dépôt soit bien caractérisée dans certaines conditions, il manque toutefois des informations plus détaillées sur l'effet des conditions opératoires (température, pression transmembranaire et vitesse de l'écoulement tangentiel) sur la formation des dépôts de micelles de caséine en filtration tangentielle.

1.3.2.2. Propriétés du dépôt de micelles de caséines

1.3.2.2.1. Concentration et part gélifiée du dépôt

Plusieurs auteurs ont observé par différentes techniques (Microscopie électronique à balayage, microscopie à force atomique, GISAXS) (James *et al.* 2003 ; Gebhardt *et al.* 2011, 2012) que le dépôt et la taille des micelles de caséine diminue au cours de la filtration. Cela traduit le fait que les micelles de caséine sont compressibles et qu'elles se déforment sous l'application de pressions fortes.

De nombreuses études ont été menées *in-situ* par SAXS à 20 – 25 °C et des profils de concentration ont pu être déterminés dans les dépôts durant la filtration tangentielle (Pignon *et al.* 2004 ; Jin *et al.* 2014b) ou frontale (David *et al.* 2008) de micelles de caséine ou de lait écrémé. Cependant ces études n'ont pas permis de suivre la formation des couches gélifiées puisque la fraction volumique ne dépasse jamais 0.7 (Pignon *et al.* 2004) ou la concentration ne dépasse jamais 3.5 fois la concentration initiale en micelles ce qui correspond à environ 90 g/L en filtration tangentielle (Jin *et al.* 2014b) et la plus haute concentration atteinte en filtration frontale près de la membrane est de 190 g/L après plus de 250 min de filtration (David *et al.* 2008).

A notre connaissance, aucun suivi de la concentration et de la proportion gélifiée du dépôt de micelles de caséine n'a été effectué sous différentes conditions opératoires (température, pression transmembranaire, vitesse d'écoulement tangentiel).

1.3.2.2.2. Cohésion

Plusieurs auteurs se sont intéressés à la cohésion des dépôts formés après filtration de lait écrémé ou de micelles de caséine et notamment de la part d'irréversibilité. Il a été montré que le dépôt présente plus ou moins d'irréversibilité selon les conditions opératoires qui sont appliquées (Le Berre et Daufin 1996 ; Gésan-Guizieu *et al.* 1999a ; Jimenez-lopez *et al.* 2008 ; Kühnl *et al.* 2010, 2010 ; Bouchoux *et al.* 2010). Par exemple, via l'observation de l'hystérésis du flux, il a été montré que plus la pression transmembranaire est forte (de 0.1×10^5 Pa à 1.0×10^5 Pa), plus le temps de filtration est long et plus le dépôt est cohésif à 50 °C (Gésan-Guizieu *et al.* 1999a). Et plus la température augmente plus le dépôt est cohésif après ultrafiltration tangentielle de lait écrémé (Ng *et al.* 2018).

D'autre part, il a également été montré que la partie irréversible d'un dépôt de micelles de caséine formé après une filtration frontale pouvait partiellement être éliminé par relâchement de la pression et que plus le temps de l'étape de relaxation est long, plus la partie irréversible éliminée est grande (Gésan-Guizieu *et al.* 2006).

1.3.3. Malgré quelques études qui s'intéressent à la cohésion du dépôt après filtration tangentielle et frontale de lait écrémé ou de micelles de caséine, des informations sont manquantes notamment sur l'influence des conditions opératoires sur la cohésion du dépôt de micelles de caséine et sur le suivi du gonflement et de la redispersion du dépôt après relaxation de la pression.

Conclusions

De nombreux travaux ont été menés sur différents aspects de la filtration membranaire de micelles de caséine et de lait écrémé, tels que les performances de la filtration ainsi que la formation et les

propriétés du dépôt de micelles de caséine à la surface de la membrane. **Cependant, il reste encore tout un domaine de connaissances à explorer notamment sur l'influence des conditions opératoires sur les performances de la filtration et sur la formation et les propriétés du dépôt de micelles de caséine (concentration, transition sol-gel et cohésion).** Quelques études ont été menées sur la relaxation de la pression transmembranaire afin de laisser regonfler et redisperser le dépôt formé mais **aucun suivi de structure et de concentration *in-situ* par SAXS n'existe actuellement, sur les mécanismes impliqués dans la relaxation lors de la mise en œuvre des procédés de filtration tangentielle ou frontale de micelles de caséine.**

I.4. Conclusions, objectifs et stratégies de thèse

Lors de la filtration de lait écrémé, les micelles de caséine s'accumulent à la surface de la membrane pouvant même mener à la formation d'un dépôt gélifié irréversible au-delà de certaines conditions opératoires ce qui altère les performances de la filtration. La conduite de la filtration est principalement dictée par la température, la pression transmembranaire et la vitesse de l'écoulement tangentiel et il est nécessaire sous ces conditions opératoires de déterminer les propriétés physiques, rhéologiques et cohésives des dispersions de micelles de caséines que ce soit *ex-situ* ou *in-situ* afin de mieux maîtriser le procédé et plus particulièrement la formation et l'élimination du dépôt irréversible (Figure I.12). Après analyse de la littérature, il reste encore des questions en suspens qui orientent les travaux de ce projet de thèse selon 4 axes.

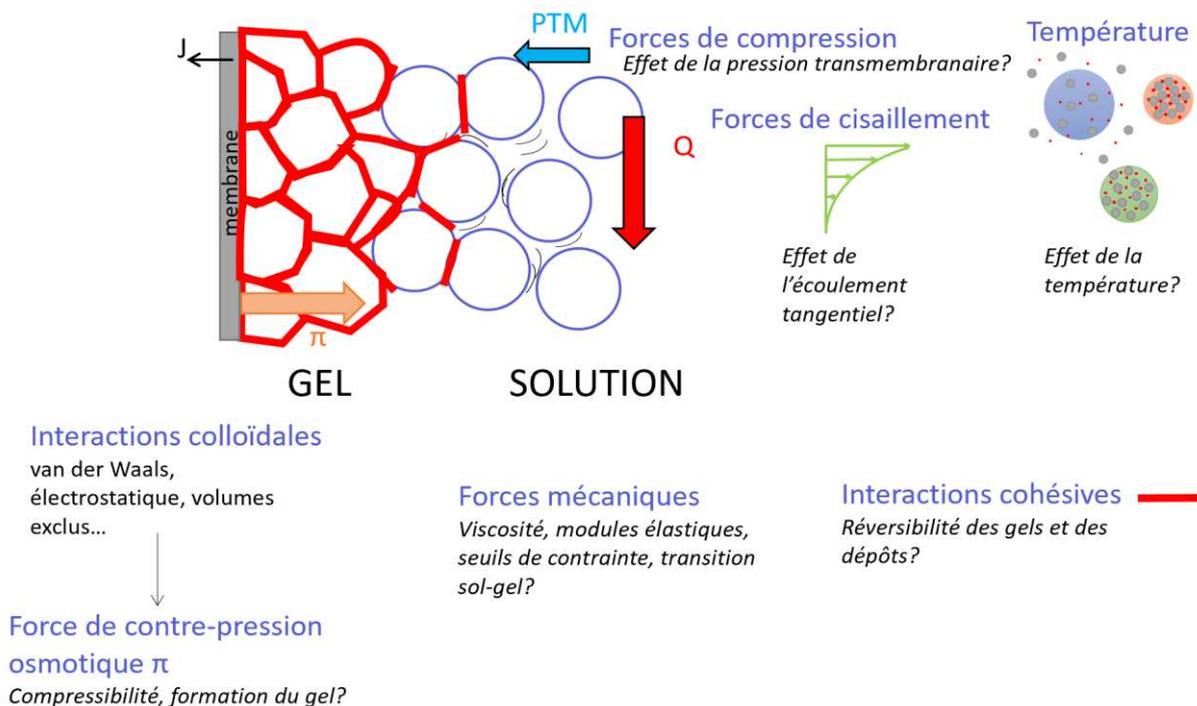


Figure I.13. Schéma décrivant l'état de l'art sur la filtration de lait et les problématiques abordées durant ce projet de thèse. Les micelles de caséine sont schématisées en bleu lorsqu'elles sont sphériques et ne sont pas déformées, et en rouge lorsqu'elles sont sous état gélifié et qu'elles sont déformées.

De nombreuses études ont été menées à 20 °C afin de caractériser les propriétés physiques, rhéologiques et cohésives des micelles de caséine. Cependant, les filtrations de lait écrémé en industrie ne se font jamais à cette température mais majoritairement à froid (7 – 12 °C) à cause de l'utilisation croissante de membranes organiques et à chaud (48 – 53 °C). Or, des études montrent que les micelles de caséine changent de structure et de composition sous l'effet de la température.

La première partie de ce travail (Chapitre III) s'attache donc à répondre aux questions essentielles dégagées par la synthèse bibliographique : **Quelles sont les propriétés physiques, à savoir la compressibilité des micelles de caséine, via leur équation d'état, à 7 et 20 °C ? Quelles sont les propriétés rhéologiques, principalement la transition sol-gel des micelles de caséine à 7 et 20 °C ?**

Afin de répondre à ces questions, des expériences de compression osmotique ont permis de déterminer la relation entre la pression osmotique et la concentration en caséine, à savoir l'équation d'état de dispersions de micelles de caséines sur une large gamme de concentration (30 – 700 g/L) et de pression osmotique (2 à 100 kPa) à 7 et 20 °C. De plus la caractérisation des propriétés rhéologiques de dispersions concentrées obtenues par compression osmotique et de dispersions de micelles de caséine obtenues par dissolution de poudre dans du perméat d'ultrafiltration, PUF a permis de déterminer les comportements rhéologiques et plus particulièrement les transitions sol-gel de dispersions de micelles de caséine à 7 et 20 °C.

Par ailleurs, les propriétés cohésives des micelles de caséine ont déjà été caractérisées à 20 °C mais aucune information sur la cohésion de gel formé à d'autres températures n'existe.

La seconde partie de ce travail (Chapitre IV) est alors dédiée à répondre aux questions suivantes : **Quelle est l'influence de la température sur les interactions cohésives ?** Lors de la redispersion de ce gel de micelles de caséine, quelle est l'influence de la température sur le renforcement ou le relâchement des liaisons cohésives ? L'intensité ou le nombre des forces cohésives mises en jeu à chaque température est-elle la même ? Si non, quelles sont les différences d'interactions induites par la température ?

Pour déterminer la cohésion des micelles de caséine à 7 ou 20 °C, des gels ont été fabriqués par compression osmotique puis ils ont été redispersés dans du PUF à 7 et 20 °C permettant à la fois d'étudier l'influence de la température de production du gel et à la fois l'influence de la température de redispersion. Des expériences complémentaires ont également permis de caractériser les propriétés rhéologiques des gels après redispersion et l'influence de conditions opératoires (niveau et temps de compression et température) sur la cohésion de dispersions de micelles de caséine.

Dans la littérature, très peu d'informations sont disponibles sur les propriétés physiques (concentration), rhéologiques (transition sol-gel) et cohésives des dépôts de micelles de caséine durant la filtration tangentielle sous différentes conditions opératoires (température, pression transmembranaire et vitesse de l'écoulement tangential).

Nos questions de recherche sont alors dans une troisième partie (Chapitre V):

Quelle est l'influence des conditions opératoires (température, écoulement tangential, pression transmembranaire) sur les propriétés du dépôt de micelles de caséine (concentration, transition sol-gel, cohésion) au cours de la filtration tangentielle ? Est-il possible d'éliminer en partie ou complètement le dépôt de micelles de caséine formé en relâchant la pression ? Est-il possible d'identifier un mécanisme de relâchement du dépôt ? Les conditions opératoires influencent-elles alors la relaxation et le mécanisme de relâchement du dépôt ?

Pour répondre à ces problématiques, des mesures de diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) ont été effectuées *in-situ* afin de suivre la concentration des micelles de caséine dans l'espace et dans le temps au cours de la filtration tangentielle. De plus, une étape originale a été développée : après la filtration tangentielle de micelles de caséine, une étape de relaxation de la pression transmembranaire est effectuée afin que les dépôts formés se relâchent permettant alors d'évaluer leur cohésion et de suivre la redispersion et le regonflement du dépôt de micelles de caséine.

Dans la littérature, le suivi de l'accumulation des micelles de caséine en filtration frontale n'est pas assez précis au voisinage de la membrane et aucune information n'est disponible sur les propriétés cohésives des micelles de caséine après une filtration frontale. Il est en effet primordial de s'intéresser à la filtration frontale pour avoir une meilleure compréhension des phénomènes ayant lieu au voisinage de la membrane sans l'influence de l'écoulement tangentiel. Les résultats en filtration frontale peuvent en effet être le point de départ d'une meilleure compréhension de la filtration tangentielle ainsi que de la modélisation de cette opération (Bouchoux *et al.* 2014).

La dernière partie (Chapitre VI) s'attache donc à répondre aux questions de recherche suivantes :

Comment s'accumulent les micelles de caséine lors de la filtration frontale ? **Comment se comporte un dépôt de micelles de caséine après relâchement de la pression après une filtration frontale ? S'élimine-t-il totalement ou partiellement ?**

Pour répondre à cela, des mesures SAXS ont été effectuées *in-situ* afin de suivre la concentration des micelles de caséine dans l'espace et dans le temps au cours de la filtration frontale. De plus, la pression transmembranaire a été relâchée après la filtration frontale afin d'évaluer la cohésion et de suivre la redispersion et le regonflement du dépôt de micelles de caséine.

Chapitre II: Matériels et Méthodes

II.1. Dispersions de micelles de caséine	41
II.2. Mesure de pression osmotique	44
II.3. Mesures de propriétés rhéologiques	49
II.4. Mesure de cohésion et d'irréversibilité des gels	54
II.5. Filtration et procédures expérimentales	59
II.6. Analyses physico-chimiques	72

Ce chapitre s'attache à présenter les différents matériels et les techniques utilisés durant ce projet de thèse.

La première partie présente les produits utilisés pour la préparation des dispersions de micelles de caséine.

La seconde partie présente le principe des mesures de pression osmotique, le matériel utilisé, la méthode de calcul de la pression osmotique et le protocole mis en place.

Dans une troisième partie, les mesures des propriétés rhéologiques sont présentées et notamment le principe, le matériel et les appareils utilisés ainsi que les protocoles mis en place durant ces mesures.

La quatrième partie s'attache à présenter les mesures de cohésion et de réversibilité des gels de micelles de caséine en commençant par le principe de ces mesures, le matériel et techniques utilisés ainsi que les protocoles expérimentaux mis en place pour ces mesures.

La cinquième partie présente l'installation de filtration *in-situ* couplée aux mesures de diffusion de rayons X aux petits angles (SAXS) ainsi que le principe de ces mesures et les protocoles expérimentaux utilisés.

Enfin dans une dernière partie sont présentées les différentes analyses physico-chimiques utilisées dans ce travail.

II.1. Dispersions de micelles de caséines

Poudre de micelles de caséine

L'objectif de ce projet de thèse est d'étudier le comportement des micelles de caséines seules, en éliminant au maximum l'influence des autres constituants du lait et en particulier les protéines sériques du lait. C'est dans ce cadre que nous avons choisi de travailler sur une poudre de micelles de caséine achetée auprès d'un industriel (Promilk 852B, Ingredia, Arras, France).

II.1.1.

La production de cette poudre a été faite à partir de lait écrémé pasteurisé, microfiltré puis diafiltré sur des membranes de diamètres de pores 0,1 μm . La pasteurisation a été réalisée à basse température sur un temps court (vraisemblablement 72°C, 30 s – données producteur confidentielles). En effet une haute température de pasteurisation entraîne l'association de la protéine sérique majeure du lait (β -lactoglobuline) avec les micelles de caséine (Ferron-Baomy *et al.* 1991 ; Oldfield *et al.* 2005 ; Martin *et al.* 2007) ce qui conduit à un impact négatif sur les performances de la microfiltration 0.1 μm . Le concentré de micelles de caséines ainsi obtenu a probablement été séché par atomisation dans des conditions de faible dénaturation (données producteur confidentielles) qui permettrait de maintenir les micelles de caséine dans un état proche de l'état « natif », c'est-à-dire avec des propriétés physico-chimiques globalement proche de celles de micelles de caséine dans le lait. La composition de cette poudre est donnée dans la Table II.1. Les valeurs moyennes de la matière azotée totale (MAT), de la matière azotée non caséique (NCN) et de la matière azotée non protéique (NPN) de la poudre ont été déterminées par la méthode de Kjeldahl (cf. II.6). La proportion de caséines a été déterminée comme la différence entre le MAT et le NPN. Les caséines représentent près de 76 % de la matière sèche totale de la poudre. La proportion de protéines sériques a, quant à elle, été déterminée par la différence entre le NCN et le NPN. Les minéraux ont été déterminés par la méthode des cendres présentée en section II.6. Les proportions de lactose et de matière grasse ont été déterminées par l'industriel et sont respectivement de 4 et 1.5 % g/g.

Table II.1. Composition de la poudre de micelles de caséines Promilk 852B. Les valeurs moyennes des concentrations relatives sont données en % g/g de l'extrait sec total (% EST) avec un écart type de \pm 0.2%.

EST (% g/g)	MAT (% EST)	Caséines (% EST)	Minéraux (% EST)	NCN (% EST)	Protéines sériques (% EST)	NPN (% EST)
94.5	83.9	75.9	8.4	8.0	7.2	0.8

EST: extrait sec total; MAT : Matière azotée totale ; NCN: matière azotée non caséique; NPN: matière azotée non protéique.

Solvant : perméat d'ultrafiltration

Pour maintenir l'état « natif » des micelles de caséines et en particulier respecter les équilibres ioniques entre phases aqueuse et colloïdale des micelles de caséines, du perméat d'ultrafiltration de lait (PUF), de composition semblable à la phase aqueuse du lait écrémé, a été utilisé pour la préparation des dispersions de micelles de caséine. Deux lots de PUF ont été utilisés, le lot 16061 fabriqué en février 2017 et le lot 17-S46-A fabriqué en octobre 2017. Le mode de fabrication de ces deux lots de PUF est le même. Le lait écrémé a subi au STLO une épuration bactérienne par

microfiltration sur membrane minérale 1.4 μm à 50 °C (membrane P1940 mode UTP, Pall, Saint-Germain-en-Laye, France) et il a ensuite été microfiltré avec une membrane 0.1 μm à 50°C (membrane P1940 mode UTP, Pall, Saint-Germain-en-Laye, France) pour séparer les micelles de caséines des autres constituants du lait. Le microfiltrat a ensuite été ultrafiltré à froid (12°C) sur membrane de seuil de coupure 5 kDa (membrane 6338 HFK 328, Koch Membranes Systems, Pays-Bas) pour retirer les protéines sériques, et le perméat de cette opération constitue le PUF. À ce PUF, 0.5 g/L d'azotate de sodium (Sigma-Aldrich, St. Louis, Etat-Unis) ont été ajoutés pour éviter le développement bactérien. Le PUF est conservé au froid (4-6°C) pendant plusieurs mois.

La composition ionique des PUF a été déterminée (cf. section II.6) et est la suivante : 3.3 mM Mg^{2+} , 18.0 mM Na^+ , 42.7 mM K^+ , 7.5 mM Ca^{2+} , 29.0 mM Cl^- , 7.5 mM citrate, 9.9 mM phosphate (cf. Jenness et Koops (1962) pour une description complète). Toutes les valeurs sont moyennées avec une erreur-type de 5%.

Préparation des dispersions de micelles de caséine

La poudre de micelles de caséine a été réhydratée dans du perméat d'ultrafiltration de lait à des concentrations comprises entre 20 et 160 g/L. Pour les dispersions de concentration en caséine comprises entre 1 et 120 g/L, la réhydratation de la poudre dans le PUF a été faite en suivant les protocoles proposés par de précédentes études (Gaiani *et al.* 2006 ; Qu *et al.* 2015). Les poudres de micelles de caséines ont été ajoutées progressivement en pluie dans du PUF préalablement chauffé à 35°C sous agitation ~ 700 tr/min à l'aide d'un agitateur à barreau magnétique. La dispersion a ensuite été laissée sous cette même agitation pendant une nuit (15-16h) à 35°C. Grâce à ce protocole, Gaiani *et al.* (2006) montrent que pour des concentrations inférieures à 120 g/L, les micelles de caséines natives sont complètement réhydratées. L'état de réhydratation de la poudre dans le PUF a été vérifié en mesurant la taille des particules dans les dispersions préparées par diffusion de la lumière (cf. section II.6). La Figure II.1 présente la distribution de taille des dispersions de micelles de caséine de 100 et 120 g/L qui se situe entre 50 et 500 nm avec une taille moyenne de 130 nm, ce qui correspond à la taille des micelles de caséine (De Kruif 1998 ; Dalgleish 2011 ; De Kruif *et al.* 2012 ; Dalgleish et Corredig 2012).

Pour des concentrations supérieures à 120 g/L, la poudre de micelles de caséines a été dispersée dans une dispersion « fraîche » de micelles de caséines de concentration 120 g/L sous agitation ~ 700 tr/min à 35°C pendant 15h. La Figure II.1 montre également l'état de solubilisation de la poudre à des concentrations supérieures à 120 g/L. Des dispersions de micelles de caséine à 147 et 158 g/L présentent une distribution de taille attendue des micelles de caséine.

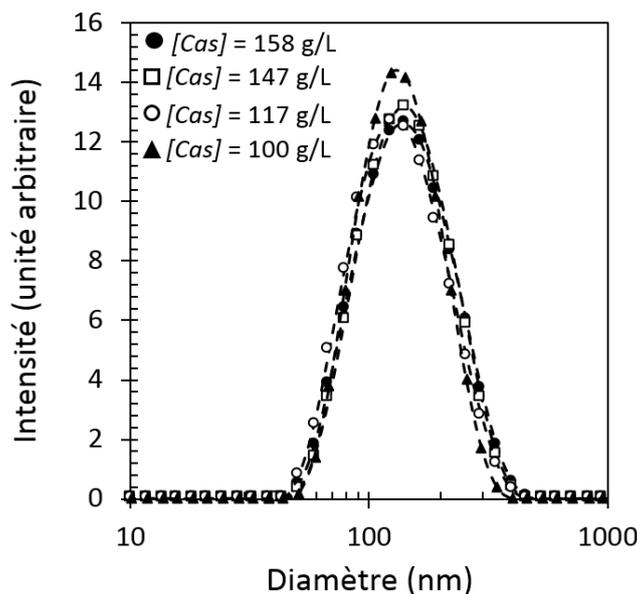


Figure II.1. Distribution de taille mesurée à 20 °C des objets dans les dispersions de micelles de caséine préparées à quatre concentrations différentes.

Dans la plupart des cas, les dispersions de micelles de caséines ont été utilisées pour faire des expériences dans les 48 h suivants leur préparation. Elles ont été conservées à 4 °C et ont été mises aux températures étudiées 4 à 24 h avant leur utilisation. Elles ont donc été considérées comme à l'équilibre et stables d'un point de vue physico-chimique et structural. Le pH de ces suspensions finales est de 6.7 ± 0.1 à 20 ± 2 °C.

II.1.4.

Détermination de la concentration en caséine et de la fraction volumique des dispersions

La concentration en caséines des dispersions de micelles de caséine [Cas] (g/g) a été déterminée à partir de la mesure de l'extrait sec total (cf. II.6) selon :

$$[\text{Cas}] = \frac{\text{EST}_{\text{poudre}} \cdot (1 - \text{NCN}) \cdot (\text{EST}_{\text{disp}} - \text{EST}_{\text{PUF}})}{(1 - \text{EST}_{\text{PUF}})} \quad \text{Eq.II.1}$$

avec $\text{EST}_{\text{poudre}}$, EST_{disp} et EST_{PUF} , les extraits sec totaux (% g/g) respectivement de la poudre, la dispersion et le PUF. NCN est la proportion de matière azotée non caséique dans la poudre (Table II.1).

La concentration en caséine exprimée en g de caséine par L de dispersion est alors calculée selon:

$$[\text{Cas}]_{\text{g/L}} = \frac{1000}{0.733 + (1 - \text{EST}_{\text{disp}})/[\text{Cas}]} \quad \text{Eq.II.2}$$

Il est alors supposé que la dispersion est composée de PUF dont la densité est assimilée à celle de l'eau pure et de caséine dont la densité est l'inverse de son volume partiel spécifique pondéré de 0.733 mL/g. Cette valeur a été déterminée à partir des séquences d'acides aminés des caséines individuelles (Morris *et al.* 2000).

La fraction volumique effective en micelles de caséine est alors déterminée par:

$$\phi_{\text{eff}} = \nu \times [\text{Cas}]_{\text{g/L}} \quad \text{Eq.II.3}$$

avec ν (L/g) la voluminosité apparente des micelles de caséine égale à 4.85 mL/g à 7 °C, 4.52 mL/g à 12 °C, 4.1 mL/g à 20 °C, 3.9 mL/g à 25 °C (Nöbel *et al.* 2012) et 3.8 mL/g à 42 °C (Nöbel *et al.* 2016) pour du lait écrémé pasteurisé. Il est toutefois à noter que d'autres auteurs ont pris une valeur différente de

voluminosité apparente tel que $v = 4.4$ mL/g à 20 °C, qui correspond à la valeur pour des micelles de caséine native (non-pasteurisée) (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b ; De Kruif *et al.* 2012). Puisque la poudre de micelles de caséine utilisée dans ce travail a été obtenue à partir d'un lait écrémé pasteurisé, les valeurs de voluminosité apparente reportée par (Nöbel *et al.* 2012) ont alors été utilisées pour le calcul de la fraction volumique.

La fraction volumique des micelles de caséine donne une indication de la déformation et de la compression subie par les micelles de caséine aux hautes concentrations (Bouchoux *et al.* 2009a). Quand $\phi_{eff} > \phi_{eff,max}$, où $\phi_{eff,max}$ est la fraction volumique du "random close-packing", point où les micelles de caséine entrent en contact, $\phi_{eff,max} = 0.68 - 0.8$ (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b ; Dahbi *et al.* 2010 ; Nair *et al.* 2014 ; Jin *et al.* 2014b), les micelles de caséine commencent à être partiellement déformées. Puis, $\phi_{eff} > 1$ indique que les micelles de caséine sont compressées à un volume plus petit, i.e. qu'elles sont partiellement dégonflées et compressées.

II.2. Mesures de pression osmotique (Chapitres III et IV)

L'objectif des mesures de la compression osmotique est de caractériser les dispersions de micelles de caséines sur une large gamme de concentration (120 - 700 g/L) à faible température (7-20 °C). Le but est d'établir l'équation d'état à 7 °C et à 20 °C afin de comparer la compressibilité des micelles de caséine à ces deux températures. La technique de compression osmotique est aussi utilisée pour préparer des dispersions concentrées (150 - 350 g/L) pour les mesures de propriétés rhéologiques (cf. II.3) et les mesures de cohésion de gels de micelles de caséines (190 à 700 g/L) (cf. II.4).

II.2.1. Principe

La compression osmotique repose sur les échanges d'eau entre la dispersion de micelles de caséine et une solution de polymère de pression osmotique connue, dite solution de "polymère stresser" (Parsegian *et al.* 1986). Le niveau de pression osmotique dicte alors l'intensité des échanges d'eau entre la solution de polymère stresser et l'intérieur du sac de dialyse. La dispersion et la solution de polymère sont séparées par la membrane semi-perméable du sac de dialyse, dont le seuil de coupure est choisi afin de permettre d'échanger l'eau et certaines molécules de faible masse moléculaire présentes dans le PUF (minéraux, lactose, etc.), tout en retenant les micelles de caséine. A l'équilibre la pression osmotique de la dispersion dans le sac est identique à celle du polymère dans le flacon (Figure II.2). L'objectif de ces expériences était alors de fabriquer des dispersions concentrées de micelles de caséine à une pression osmotique fixée puis de déterminer la concentration de ces dispersions (cf. II.1.4) afin d'établir la courbe d'état des micelles de caséine à 7 et 20 °C, d'étudier leurs propriétés rhéologiques (cf. II.3) ainsi que leur propriétés cohésives (cf. II.4) à ces deux températures.

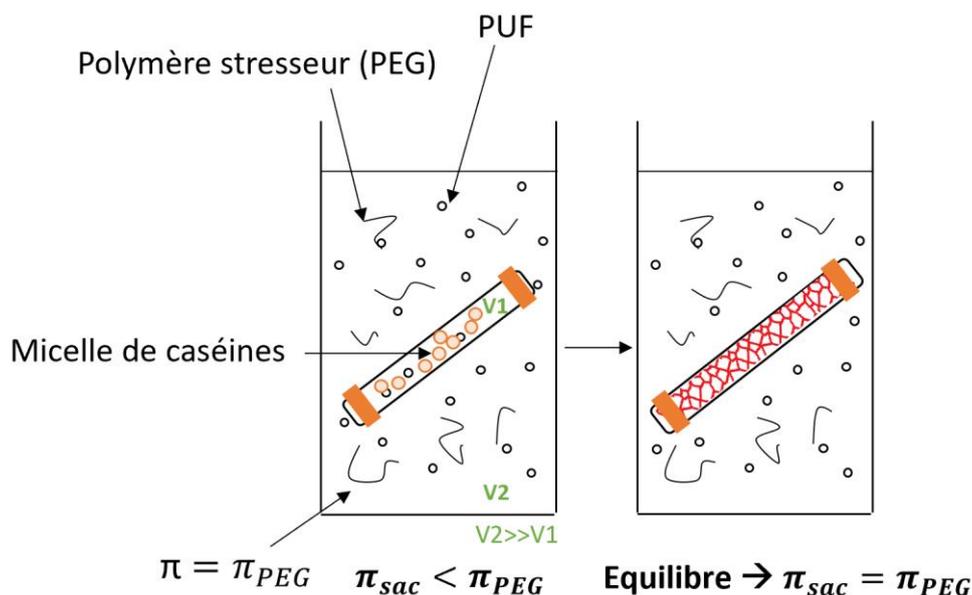


Figure II.2. Représentation schématique du principe de la compression osmotique (schéma non à l'échelle). V_1 et V_2 représentent respectivement les volumes du sac et du bécher. π_{sac} et π_{PEG} sont respectivement les pressions osmotiques du sac et du polymère stressant, le polyéthylène glycol (PEG).

Solutions de polymères stressants

II.2.2.

Les solutions de polymères stressants ont été préparées par dilution de PEG dans du PUF. Du thiomersal à 0.2 g/L (Sigma-Aldrich, St Louis, Etats-Unis) a été ajouté au PUF avant la préparation des solutions de polymère stressant, en complément de l'azote de sodium déjà présent, pour améliorer l'action antibactérienne de l'azote car les temps de compression sont très longs. Deux types de PEG avec des masses moléculaires de 35 et 20 kDa (Sigma-Aldrich, St. Louis, Etats-Unis) ont été utilisés. Le polymère de 35 kDa a été utilisé pour la compression osmotique au-dessous de 500 kPa. Nous avons choisi ce PEG parce que la taille des molécules de polymère est très grande par rapport au seuil de coupure de 12-14 kDa: l'infiltration de PEG dans le sac dialyse peut donc être totalement évitée. Cependant la solubilité du PEG 35 kDa est à saturation à 20 % g/g, ce qui correspond à une pression osmotique d'environ 500 kPa. Afin d'atteindre des pressions osmotiques plus élevées, le polymère de 20 kDa avec une solubilité plus grande de 50 % g/g a été choisi, il permet de réaliser des pressions osmotiques supérieures à 500 kPa et d'atteindre des pressions osmotiques de 1200 kPa. Même si la fuite de PEG à travers le sac dialyse peut se produire pour les polymères de petite taille, cette possibilité est peu probable dans notre cas, car le PEG de petite taille est utilisé pour obtenir des degrés de compression élevés conduisant à des dispersions de caséine qui gélifient rapidement. Les dispersions dépassent la transition sol-gel rapidement, ce qui la rend plus visqueuse et plus « consistante », limitant ainsi la possible migration de PEG dans les dispersions contenues dans les sacs.

Développement théorique pour la détermination de la pression osmotique

Actuellement, deux équations reliant la pression osmotique de la solution de PEG et la concentration en PEG existent dans la littérature.

La première équation, Eq II.4, a été utilisée par plusieurs études (Parsegian *et al.* 1986 ; Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b, 2010, 2014 ; Qu *et al.* 2015), et elle utilise seulement la concentration en PEG pour le calcul de la pression osmotique :

$$\log(\pi) = a + b [\text{PEG}]^c \quad \text{Eq.II.4}$$

avec π la pression osmotique (Pa), [PEG] la concentration en PEG (% g/g), et les paramètres de l'équation a, b et c sont égaux à :

a = 0.49, b = 2.50, c = 0.24 pour le PEG 35 kDa à 20 °C (Bouchoux *et al.* 2009a),

a = 0.57, b = 2.75, c = 0.21 pour le PEG 20 kDa à 20 °C (Parsegian *et al.* 1986).

Malheureusement cette équation s'applique uniquement à 20 °C et pas à 7 °C qui est une de nos températures d'étude.

La seconde équation d'état pour des PEG de différents poids moléculaires a été proposée par Cohen *et al.* (2009) afin de déterminer la pression osmotique π (Pa) :

$$\pi N^{9/5} = \pi \left(\frac{M}{M_m \times 1000} \right)^{9/5} = \frac{RT}{M_m \bar{V}} \left[\left(\frac{C}{C_N^*} \right) + \alpha \left(\frac{C}{C_N^*} \right)^{9/4} \right] \quad \text{Eq.II.5}$$

avec N le nombre de monomères par chaîne de polymère, M la masse molaire du PEG (Da), M_m la masse moléculaire du monomère de PEG, R la constante universelle des gaz parfaits ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$), T la température (K), \bar{V} le volume spécifique partiel du polymère (m^3/g), C la concentration en PEG (g/m^3), α l'indice de recouvrement (paramètre de l'équation), et C_N^* la concentration critique de recouvrement du polymère qui est caractéristique et dépendant de N. Toutes les spécificités chimiques apparaissent en un seul paramètre, l'indice de recouvrement α qui est lié à un certain nombre de propriétés physiques : la structure microscopique, le rayon de Flory, la taille et le volume du monomère et la force et la portée des interactions. Le paramètre C_N^* est associé à la transition entre les régimes dilué et semi-dilué et est défini comme $C_N^* \sim N^{-4/5} \bar{V}^{-1}$. Il correspond à une concentration de recouvrement définie de manière semi-quantitative (Yamakawa 1971 ; de Gennes 1979). Selon Cohen *et al.* (Cohen *et al.* 2009), C_N^* is défini comme la concentration où $\pi_{vH} = \pi_{dC}$ (avec π_{vH} et π_{dC} les valeurs de pression osmotique calculées à partir respectivement des lois de van't Hoff et de des Cloizeaux (1975)), et ainsi, $C_N^* = \alpha^{-4/5}$. Quand $\pi N^{9/5}$ est représenté en fonction de C/C_N^* , les données expérimentales pour le PEG, quel que soit son poids moléculaire compris entre 300 Da et 20 kDa forment une unique courbe maîtresse. Cela donne alors $\alpha = 0.490$ pour $\bar{V} = 0.825 \text{ mL/g}$ et $M_m = 44 \text{ g/mol}$ à 20 °C pour des PEG de 300 à 20 kDa. Cependant, contrairement à l'étude de Cohen *et al.* (2009), des publications récentes (Cohen *et al.* 2012 ; Li *et al.* 2015) ont montré qu'il y a une dépendance systématique de α avec la longueur de la chaîne polymère N et que α diminue de façon monotone vers une valeur asymptotique α^* :

$$\alpha(N) = \alpha^* [1 + bN^{-p}] \quad \text{Eq.II.6}$$

avec $\alpha^* = 0.43 \pm 0.02$, $b = 5.3 \pm 1.4$ et $p = 0.84 \pm 1.5$. Selon l'équation Eq.II.5, les valeurs calculées sont $\alpha = 0.434$ et $\alpha = 0.432$ à 20 °C pour les PEG de respectivement 20 kDa et 35 kDa.

Dans la littérature, il n'existe pas d'équation reliant π et C pour le PEG à 7°C. Seulement des données expérimentales sont disponibles pour le PEG 20 kDa à 20 et 7 °C sur internet et fournies par Rand (n.d.) (Les données sont reportées textuellement en Annexe 1 à partir du site internet). Ces données ont été modélisées avec l'équation Eq.II.5 et sont présentées en Figure II.3 pour le PEG 20 kDa

à 7 et 20 °C. Pour les données obtenues à 7 °C, la valeur du paramètre \bar{V} , qui dépend de la température, est pris égal à 0.813 mL/g et a été obtenu par extrapolation à partir des données expérimentales $\bar{V}(T)$ d'une précédente étude (Cruz *et al.* 2009), et la valeur de α à 7 °C a été obtenue par ajustement du modèle aux données expérimentales.

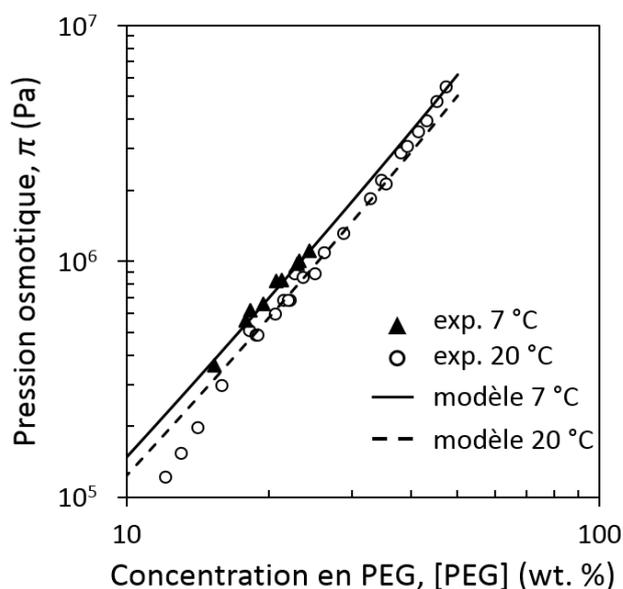


Figure II.3. Pression osmotique en fonction de la concentration en PEG 20 kDa. Les données expérimentales de Rand (n.d.) fournies sur internet (symboles) sont modélisées par l'équation Eq.II.5 (courbes).

L'application de l'Eq.II.5 assure une assez bonne modélisation des données expérimentales de Rand (n.d.) fournies sur internet que ce soit à 7 ou 20 °C. A 7 °C, la valeur du paramètre de l'équation α est égale à 0.573. Il a été supposé qu'à 7 °C la valeur de α , déterminée par le modèle pour le PEG 20 kDa, est valable pour le PEG 35 kDa, puisque α change très peu dans cette gamme de poids moléculaire, comme le prédit l'équation Eq.II.6. Ainsi, la valeur $\alpha = 0.573$ a été utilisée pour le calcul de la pression osmotique à l'aide de l'équation Eq.II.5 à 7 °C pour les PEG 20 et 35 kDa dans les expériences de compression osmotique.

Des travaux antérieurs (Jönsson *et al.* 2011 ; Li *et al.* 2015) ont comparé les pressions osmotiques de dispersions de silice obtenues par la compression osmotique avec un PEG de 35 kDa à des pressions osmotiques théoriques calculées par la méthode de simulation de Monte-Carlo. Ils ont montré une contradiction entre les résultats de la simulation et les données expérimentales quand ces données étaient traitées via l'Eq.II.4. Ils ont aussi montré qu'il y avait une parfaite adéquation des données expérimentales avec les prédictions théoriques si l'Eq.II.5 était utilisée pour le traitement des données expérimentales. Ils ont expliqué cette différence par une erreur dans les données expérimentales de Bouchoux *et al.* (2009a) qui a abouti à une valeur erronée des paramètres de l'Eq.II.4 pour le polymère stresser PEG de 35 kDa. Cette erreur n'influence toutefois pas les conclusions générales des études utilisant l'Eq.II.4 (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b, 2009b, 2010, 2014 ; Qu *et al.* 2015). Cependant, dans ce travail, l'Eq.II.5 sera utilisée afin de déterminer la pression osmotique des PEG à 7 et 20 °C.

Protocole expérimental

Des sacs de dialyse Spectra/Por 2 à base de cellulose régénérée (Repligen, Waltham, Etats-Unis) avec un seuil de coupure de 12-14 kDa et des diamètres de 16 et 29 mm et une longueur de 11-12 cm ont été utilisés. Les seuils de coupure des sacs de dialyse ont été choisis pour permettre l'échange de petites molécules (eau, ions et lactose principalement dans notre cas) et la rétention des micelles de caséines et du polymère stresser respectivement dans les sacs de dialyse et le flacon. Les sacs de dialyse de 29 mm ont été utilisés pour les mesures des propriétés rhéologiques des dispersions de micelles de caséine car de plus grandes quantités de dispersions étaient nécessaires. Avant utilisation, les sacs de dialyse ont été réhydratés pendant au moins 30 minutes dans du perméat d'ultrafiltration.

Pour remplir les sacs, des dispersions de micelles de caséine liquides de 20 ou 100 g/L ont été utilisées afin d'atteindre respectivement des concentrations de 20 à 100 g/L ou de 100 à 700 g/L. Ces dispersions ont tout d'abord été introduites à l'aide d'une pipette dans les sacs de dialyse, en faisant particulièrement attention à bien chasser les bulles d'air bloquées dans les sacs. Les sacs ont ensuite été fermés à l'aide de pinces et plongés dans les solutions de PEG correspondant aux différentes pressions osmotiques choisies. Le système a été maintenu aux températures $7 \pm 1^\circ\text{C}$ et $20 \pm 1^\circ\text{C}$ sous faible agitation d'environ 100 tr/min. Les sacs ont été remplis plusieurs fois durant 2 à 7 jours de manière à obtenir une masse suffisante nécessaire aux analyses de concentration des dispersions contenues dans les sacs de dialyse (Extrait sec total (EST)) et aux mesures de propriétés rhéologiques. Après 7-15 jours, les solutions de polymères stressers étaient renouvelées afin de limiter les effets dus à la dilution des solutions de PEG par le solvant extrait des dispersions de micelles de caséines et/ou les variations de pH. Le pH cible était de 6.7 ± 0.1 .

Afin d'éviter la protéolyse des micelles de caséine qui se produit après 7 jours de dialyse pour des pressions osmotiques inférieures à 5 kPa (Bouchoux *et al.* 2009a), les expériences de compression osmotique effectués à basse pression osmotique était équilibrées durant 7 jours. Une mesure après 14 jours de compression, similaire à celle obtenue après 7 jours de dialyse, a confirmé que l'équilibre était effectivement atteint après 7 jours. Pour des pressions osmotiques supérieures à 5 kPa, puisque la concentration était plus rapide, la protéolyse était négligeable aux hautes concentrations (Bouchoux *et al.* 2009a) et les expériences étaient donc équilibrées durant 30 jours.

Toutes les mesures de pressions osmotiques ont été répétées au minimum deux fois.

A la fin des expériences de compression osmotique, les concentrations en caséine des dispersions de micelles de caséine étaient calculées (cf. II.1.4) après la détermination de l'extrait sec total du contenu du sac (cf. II.6).

II.3. Mesures des propriétés rhéologiques (Chapitre III)

Les analyses des propriétés rhéologiques des différentes dispersions obtenues par dissolution de poudre ou par compression osmotique à différentes concentrations permettent de caractériser la transition de l'état liquide (sol) vers l'état solide (gel) ou transition sol-gel des micelles de caséine et de comparer la viscosité et les propriétés viscoélastiques des liquides et gels formés sous différentes conditions opératoires (température, pression).

Principe

La Rhéologie est l'étude de la déformation et de l'écoulement de la matière sous l'effet d'une contrainte appliquée. Les propriétés rhéologiques permettent de caractériser les contraintes et/ou la viscosité d'un matériau soumis à un écoulement de cisaillement simple ou dynamique (cisaillement en oscillations).

II.3.1.1. Mesures en cisaillement simple

Dans le cas du cisaillement simple on cherche à caractériser les propriétés d'écoulement en grande déformation du matériau. L'échantillon est placé dans un entrefer entre deux géométries (plan-plan, cône-plan ou cylindres coaxiaux) l'une étant mobile et l'autre fixe (Figure II.4). On impose une vitesse de rotation à l'une des géométries. La contrainte est calculée à partir de la mesure du couple transmis par l'échantillon à la seconde géométrie. Le rhéomètre permet d'imposer un mouvement à l'une des géométries et de mesurer simultanément le couple transmis à l'autre géométrie.

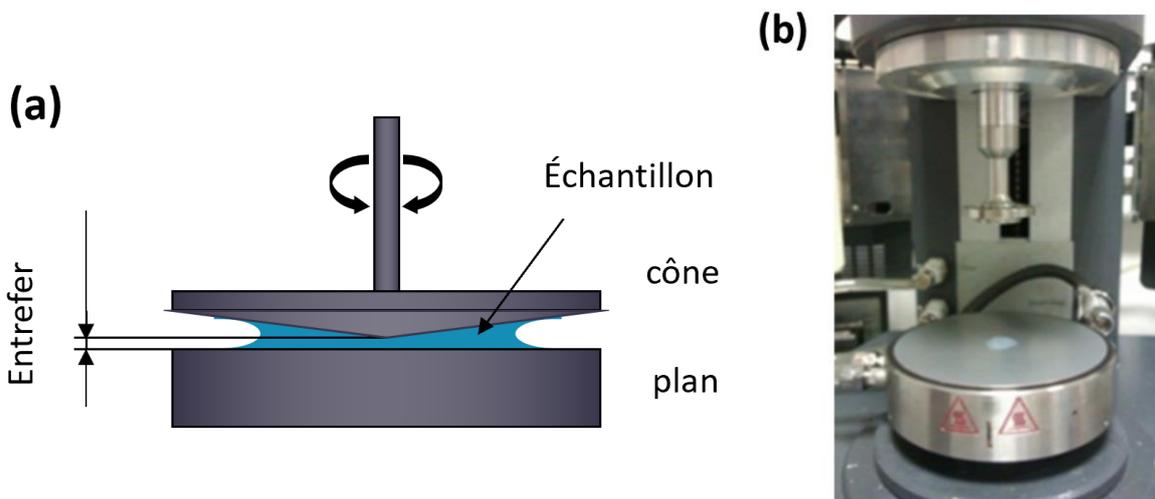


Figure II.4. Présentation de la mesure des propriétés rhéologiques par (a) la schématisation d'une géométrie cône-plan et par (b) la photo de l'équipement.

Les régimes permanents sont obtenus en imposant un gradient de cisaillement donné et jusqu'à atteindre un équilibre des contraintes. La Figure II.5 montre le type de courbe que l'on obtient lorsqu'on impose une vitesse de rotation au plan. On observe dans un premier temps un régime transitoire pendant lequel la contrainte croît et passe quelque fois par un maximum. On obtient ensuite le régime permanent correspondant à une stabilisation du niveau de contrainte. Ainsi à chaque vitesse de rotation et donc à chaque gradient de cisaillement, est associée une valeur de contrainte en régime permanent. La mesure successive des contraintes pour plusieurs gradients de cisaillement permet de construire la courbe d'écoulement.

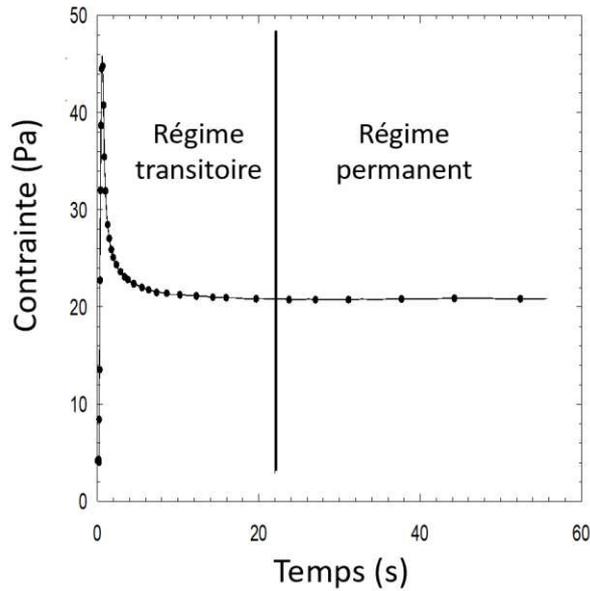


Figure II.5. Exemple de courbe de la contrainte en fonction du temps pour un gradient de cisaillement fixé.

Pour la géométrie cône-plan, la valeur du gradient de cisaillement $\dot{\gamma}$ (s^{-1}) dans l'entrefer est liée à la vitesse de rotation ω ($rad.s^{-1}$) imposée par le rhéomètre et à l'angle α du cône, exprimé en radian :

$$\dot{\gamma} = \frac{\omega}{\alpha} \quad \text{Eq.II.7}$$

On déduit aussi la valeur de la contrainte à partir de la mesure de couple M (N.m) et du rayon R_2 (m) du cône/plan par la relation :

$$\tau = \frac{3M}{2\pi R_2^3} \quad \text{Eq.II.8}$$

Pour la géométrie couette, l'expression de la vitesse de cisaillement est obtenue en rapportant la vitesse de déplacement (ω , $rad.s^{-1}$) à la distance séparant deux couches ($R_e - R_i$, m):

$$\dot{\gamma} = r \frac{\omega}{(R_e - R_i)} \quad \text{Eq.II.9}$$

avec r (m) le rayon moyen ($r = (R_e + R_i)/2$).

On déduit aussi la valeur de la contrainte à partir de la mesure de couple M , du rayon R_i et de la hauteur h du cylindre intérieur par la relation suivante:

$$\tau = \frac{M}{2\pi R_i^3 h} \quad \text{Eq.II.10}$$

II.3.1.2. Mesures dynamiques

Les mesures de propriétés rhéologiques en dynamique consistent à imposer à un échantillon une déformation $\gamma(t)$ sinusoïdale, oscillant autour d'une position d'équilibre. L'amplitude de la déformation est faible.

$$\dot{\gamma}(t) = \gamma_0 \sin \omega t \quad \text{Eq.II.11}$$

avec γ_0 l'amplitude maximale de la déformation et ω la pulsation.

Le couple $M(t)$ résultant est alors mesuré et la valeur de la contrainte, dans le domaine de comportement linéaire du matériau, est de la forme :

$$\tau(t) = \frac{\tau_0}{\gamma_0} (G' \sin \omega t + G'' \cos \omega t) \quad \text{Eq.II.12}$$

où G' est le module élastique, représentant la partie de la déformation qui est en phase avec la contrainte et qui correspond à l'énergie élastique stockée, alors que G'' est le module de perte, représentant la partie de la déformation en opposition de phase avec la contrainte et qui correspond à l'énergie visqueuse dissipée. Pour être interprétées convenablement, ces mesures doivent être réalisées dans le domaine de comportement linéaire du matériau. Dans ce domaine, la relation entre la contrainte imposée $\tau(t)$ et la déformation $\gamma(t)$ mesurée est linéaire et la réponse G' indépendante de l'amplitude de la déformation. Ainsi, avant d'effectuer des mesures en régime dynamique, on cherchera à identifier le « domaine linéaire » pour le matériau considéré. Pour cela, on imposera, pour une pulsation donnée, des déformations dans la gamme autorisée par le rhéomètre considéré, entre 0.1 et 100%. Le domaine de viscoélasticité linéaire correspond à la plage de déformations pour laquelle G' est constant. Dans ce domaine de déformations, on peut alors déterminer les variations des modules viscoélastiques G' et G'' avec la pulsation ω appliquée. Ces mesures permettent de rendre compte du caractère plutôt « solide » ou plutôt « liquide » des produits selon la pulsation imposée.

II.3.2.

Choix des appareils

Les mesures des propriétés rhéologiques ont été réalisées sur deux appareils, un rhéomètre DHR2 (TA Instruments France, Guyancourt, France) ainsi qu'un rhéomètre Low Shear 400 (Lamy Rheology, Champagne au Mont d'Or, France). Le Low Shear 400 permet des mesures de viscosité plus précises sur une gamme de cisaillement inférieures (0,1 à 120 s^{-1}) comparativement à la viscosité mesurée par le DHR2 sur une gamme de cisaillement plus étendue de 0,1 à 1000 s^{-1} . Le Low Shear 400 a en effet une précision de 0,1 – 0,2. 10^{-2} Pa.s sur les faibles cisaillements (0,1 - 10 s^{-1}) contre une précision de 0,5 – 1. 10^{-2} Pa.s pour le DHR2. Alors que le Low Shear 400 fonctionne à vitesse imposée (couple mesuré), le DHR2 fonctionne à contrainte imposée (mesure de la déformation). Les mesures sur dispersions liquides ont été réalisées en appliquant au fluide un cisaillement par rotation permanente à vitesse variable. Ces mesures ont été réalisées sur les deux appareils, le Low Shear étant plus adapté aux dispersions les plus fluides. Lorsque la présence de propriétés solides dans une dispersion très concentrée était suspectée, un cisaillement oscillatoire de faible amplitude, en rotation harmonique était appliqué sur le DHR2, car le Low Shear n'était plus assez précis.

Les mesures sur les dispersions liquides de 101 à 135 g/L ont été réalisées sur le Low Shear 400 avec une géométrie Couette de 0,5 mm d'entrefer dont la température peut être contrôlée par cryostat.

Les dispersions fluides obtenues par compressions osmotiques ont été réalisées sur le DHR2 en géométrie cône-plan de diamètre 5 cm, 2° (7°C : 147 g/L et 150 g/L ; 20°C : de 134 g/L à 174 g/L) dont la température peut être contrôlée par le plan Peltier. Pour les gels, une géométrie plan-plan striée de 2 cm de diamètre a été utilisée.

Les mesures de propriétés rhéologiques ont été effectuées à la même température que celle à laquelle les dispersions de micelles de caséine ont été fabriquées, soit à 20 °C ou à 7 °C.

Pour les mesures en cône-plan, un couvercle avec piège à huile a été utilisé pour limiter l'évaporation (Bouchoux *et al.* 2009b). Pour la géométrie plan-plan striée, un couvercle simple a été utilisé.

La viscosité du PUF a également été mesurée avec le Low Shear 400 et vaut respectivement 1.795 et 1.242 mPa.s à 7 et 20°C.

Préparation et mise en place des échantillons

Les dispersions de micelles de caséine ont été fabriquées soit par dissolution de poudre Promilk 852 B dans du PUF (cf. II.1) soit par compression osmotique (cf. II.2) dans des sacs de dialyse de 29 mm de diamètre.

Les liquides obtenus par dissolution ou compression osmotique sont mis en flacon avant mesure et transportés en chambre isotherme jusqu'au rhéomètre DHR2 ou Low Shear 400 pour mesure. Les dispersions liquides obtenues par dissolution sont à chaque fois laissées 24 h à la température de mesure avant les mesures des propriétés rhéologiques. Pour les gels obtenus par compression osmotique, le sac était délicatement découpé afin de le libérer. Un cylindre de 2 cm de diamètre (diamètre du plan strié supérieur) était alors découpé à l'aide d'un emporte-pièce de 4 mm de hauteur. Une lamelle de 4 mm d'épaisseur était découpée au centre du cylindre en découpant l'excédent au-dessus de l'emporte-pièce. Le gel était découpé dans la partie centrale du boudin pour éviter les zones plus hétérogènes proches des pinces. La lamelle de gel était alors amenée jusqu'au rhéomètre et placée au centre du plan strié. Le plan supérieur était alors descendu jusqu'à ce que l'échantillon soit bien maintenu dans l'entrefer sans être écrasé (striures visibles des deux côtés du gel), correspondant à un entrefer aux alentours de 3 mm. L'entrefer retenu était alors maintenu tout au long de la mesure.

II.3.4. Les mesures des propriétés rhéologiques étaient au minimum dupliquées.

Mesures en écoulement – DHR2 et Low Shear 400

Les mesures d'écoulement ont été réalisées à l'équilibre, c'est à dire au bout du temps nécessaire à la stabilisation de la mesure (entre 2 et 15 min).

Sur le DHR2, les gradients de cisaillements suivants 0,1 ; 0,3 ; 1 ; 3 ; 10 ; 30 ; 100 ; 300 et 1000 s⁻¹ étaient appliqués. Pour cela, la viscosité était suivie en fonction du temps à chaque cisaillement et relevée à l'équilibre final. Le passage d'un cisaillement à un autre était réalisé manuellement lorsque la viscosité était jugée stable en fonction du temps. La courbe d'écoulement était ainsi reconstituée à partir de la viscosité moyenne à l'équilibre final à chaque gradient de cisaillement. Deux points de retour à 3 et 30 s⁻¹ ont été effectués afin d'évaluer si la dispersion était déstructurée par l'application des gradients de cisaillements de 0,1 à 1000 s⁻¹. Les dispersions n'ont pas été déstructurées par les mesures.

Sur le Low Shear 400, un protocole similaire était appliqué en réalisant les mesures à l'équilibre aux gradients de cisaillements 0,1 ; 0,3 ; 1 ; 3 ; 10 ; 30 ; 70 ; 100 ; 120 s⁻¹, avec deux points de retour à

30 et $0,3 \text{ s}^{-1}$. La viscosité était mesurée durant un temps de 300 s aux plus petits gradients de cisaillements et 180 s aux plus importants afin d'assurer une mesure de viscosité à l'équilibre. Les contraintes mesurées n'étaient parfois pas fiables aux valeurs extrêmes des vitesses de cisaillement, soit trop faibles aux basses vitesses, soit trop fortes aux fortes vitesses. Dans ce cas, elles étaient éliminées.

On définit pour la suite la viscosité relative η_r comme le rapport entre la viscosité mesurée de la dispersion η (Pa.s) et celle du PUF η_s (Pa.s) à 20 ou 7°C :

$$\eta_r = \eta/\eta_s \quad \text{Eq.II.13}$$

Mesures en oscillation - DHR2

Un premier balayage en contrainte à 1 Hz de 0,1 à 1000 Pa était réalisé sur les dispersions afin de déterminer le pourcentage de déformation à appliquer lors des mesures de balayage en fréquence pour être dans le domaine viscoélastique linéaire, un prérequis pour la méthode harmonique. Le balayage en fréquence était ainsi réalisé à 1% de déformation de 10 Hz à 0,1 Hz avec 8 points/décade. Ce même échantillon était conservé pour la réalisation du balayage en contrainte, en fréquence ainsi que les mesures en écoulement.

II.3.6. Résultats complémentaires des propriétés rhéologiques après changement de température

L'objectif de ces expérimentations supplémentaires était d'étudier l'impact de la température de maintien du gel, identique ou différente de sa température de préparation sur le comportement rhéologique du gel.

L'objectif est de comprendre l'influence de la température (7 ou 20 °C) sur la cohésion des gels de micelles de caséines via des mesures des propriétés rhéologiques des gels après maintien 24 h à température identique ou différente de celle de sa préparation. Pour cela, le flacon contenant un gel compressé (protocole présenté en II.2 avec des sacs de dialyse de 29 mm de diamètre) à une température T1 (soit 7 °C soit 20 °C) pendant 4 semaines à une pression osmotique π fixée a été transféré pendant 24 h à une température T2 (Figure II.6). Cette température T2 est soit la même que T1 soit différente. Les propriétés rhéologiques de ce gel transféré pendant 24 h à une température T2 ont alors été comparées à celles d'un gel qui est resté pendant 24 h supplémentaires à la même température T1. Des mesures des propriétés rhéologiques ont été réalisées sur les deux gels ainsi obtenus à la température des dernières 24 h.

On définit pour la suite l'annotation suivante : T1 - T2 avec T1 la température de préparation (7 ou 20 °C) et T2 la température de mesure (après 24h de maintien du gel) (7 ou 20°C).

Le comportement rhéologique des dispersions est étudié suivant le même protocole que développé plus haut dans cette section II.3. La concentration en caséine de chaque dispersion obtenue après 24 h est déterminée par extrait sec total (cf. II.1).

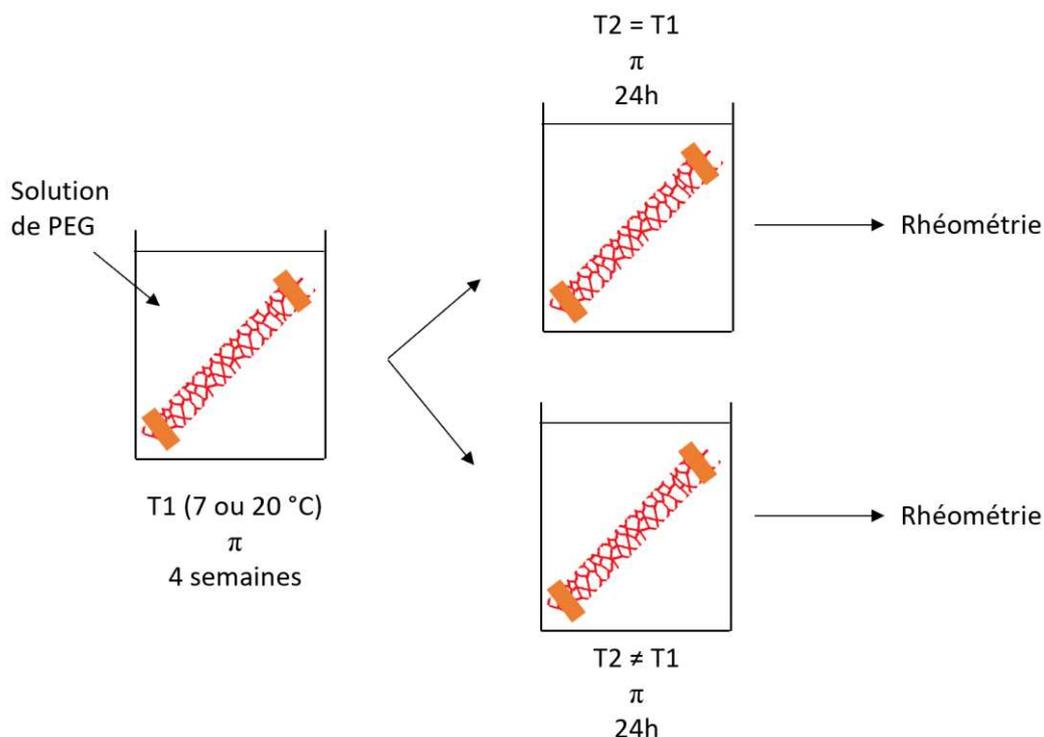


Figure II.6. Représentation schématique du principe de réversibilité d'un gel fabriqué par compression osmotique à une pression osmotique donnée π pendant 4 semaines à une température fixée T (pour rappel soit T_1 ou T_2 , i.e. soit 7°C soit 20°C) ; Les sacs de dialyse sont transférés dans des flacons à la même pression osmotique π pendant 24h à T_1 et à T_2 .

II.4. Mesures de cohésion et d'irréversibilité des gels (Chapitre IV)

II.4.1. Principe

L'objectif de ces expériences est de comprendre d'une part comment la température influence les liaisons cohésives qui se forment entre les micelles de caséine et au sein des gels de micelles et d'autre part comment la température influence la rupture de ces liaisons. Pour répondre à cet objectif, l'idée a été de fabriquer un gel de micelles de caséines à une température maîtrisée puis d'essayer de le dissocier à deux températures différentes. Le principe des expériences est présenté en Figure II.7. Les expériences consistaient donc, dans un premier temps, à fabriquer les gels concentrés de micelles de caséines à deux températures (7 ou 20°C) ; l'objectif de cette étape était de former les liaisons cohésives entre micelles de caséines ; puis dans un second temps, de remettre le gel en suspension dans la phase aqueuse du lait (perméat d'ultrafiltration) pour le regonfler / redisperser sans agitation aux deux températures d'études (7 et 20°C). Différentes durées de redispersion de 4 à 240 h ont été appliquées afin de suivre la cinétique de regonflement et de redispersion du gel de micelles de caséines. La redispersion des gels a été suivie par analyse de la quantité et des propriétés (turbidité, taille) des objets redispersés, ce qui donne des indications sur les liaisons cohésives dans les gels.

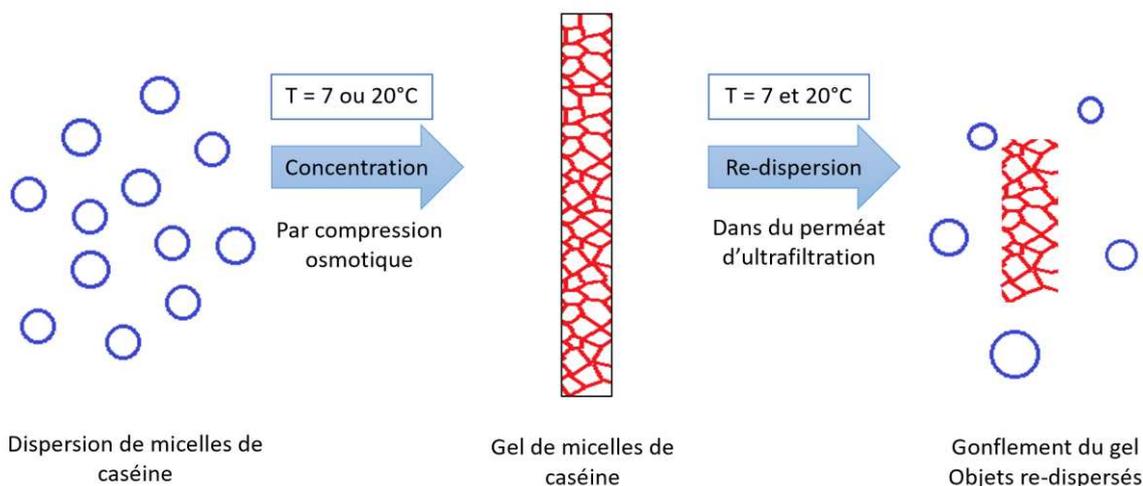


Figure II.7. Représentation schématique du principe des expériences de cohésion d'un gel fabriqué à deux températures (7 ou 20°C). La redispersion d'un gel fabriqué à une température fixée est dans une seconde étape effectuée aux deux températures d'étude (7 et 20°C).

Fabrication du gel de micelles de caséine

II.4.2. Pour fabriquer les gels de micelles de caséine concentrés, nous avons utilisé la compression osmotique (cf. II.2) sur des sacs de dialyse de 16 mm.

Cette méthode permet de comprendre comment les liaisons cohésives dans les gels de micelles de caséine sont affectées par la température et par le niveau de compression. Deux températures ont été utilisées (7 et 20°C) et plusieurs niveaux de compression allant de 20 à 1200 kPa ont été réalisés, ce qui a permis de fabriquer des gels de micelles de caséine de différentes concentrations allant d'environ 200 g/L à environ 700 g/L (Table II.2). Les concentrations des différents sacs ont été calculées (cf. II.1.4) après la détermination de l'extrait sec total du contenu du sac (cf. II.6).

Table II.2. Dispersion préparées à 7 et 20 °C et utilisées pour les expériences de cohésion. π : pression osmotique appliquée ; [Cas] : concentration en caséine des dispersions obtenues.

20°C		7°C	
π (10^5 Pa)	[Cas] (g/L)	π (10^5 Pa)	[Cas] (g/L)
0.2	214	0.2	190
0.5	310	0.4	280
1.4	439	1.1	356
5.5	619	2.7	457
10.1	709	6.7	560
		12.4	636

Redispersion des gels

La redispersion des gels de micelles de caséine a été réalisée en se basant sur les travaux de Bouchoux *et al.* (2009a) et Qu *et al.* (2015). Les gels fabriqués par compression osmotique ont été immergés dans la phase aqueuse du lait (PUF pour maintenir les conditions « natives » du lait) en respectant un rapport masse de gel / masse de solvant de 1/200. Afin de comprendre l'influence de la température sur le regonflement et la redispersion des gels, deux températures de redispersion ont été testées (7 et 20 °C) (Figure II.8). La durée de redispersion variait de 4 à 240 h (t1 à ti sur la Figure II.5).

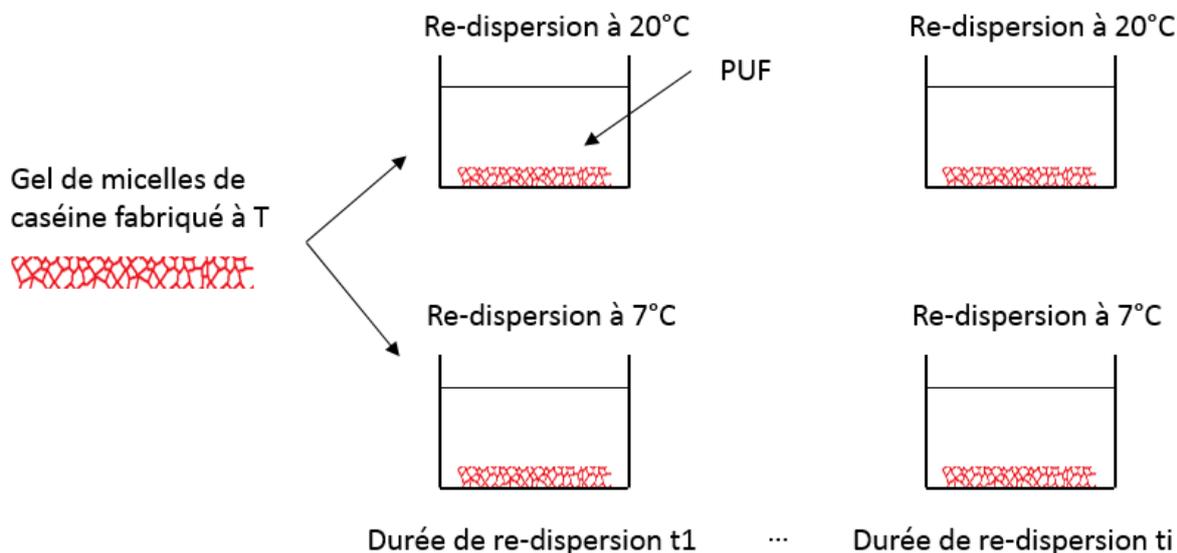


Figure II.8. Représentation schématique du principe de redispersion d'un gel fabriqué à une température fixée T (pour rappel soit 7°C soit 20°C) ; des morceaux de ce gel étaient prélevés et plongés dans du perméat d'ultrafiltration (PUF) à deux températures différentes (7 et 20°C). Chaque morceau de gel était redispersé pendant plusieurs durées de redispersions t1, ..., ti. Le schéma n'est pas à l'échelle : la masse de gel est beaucoup plus petite que celle du PUF, dans une proportion 1/200.

A la fin des expériences de redispersion, les gels résiduels, non-redispersés, ont été séparés des surnageants manuellement, à l'aide d'une spatule. Les surnageants ont été légèrement agités en tournant les flacons doucement pour homogénéiser la concentration des caséines (dans les surnageants) et un échantillon a été prélevé à la pipette.

Le gel résiduel prélevé a été caractérisé par extrait sec total (EST) (cf. II.6) après avoir été très légèrement épongé sur un papier absorbant. L'EST permet de déterminer la concentration en caséine du gel résiduel (cf. II.1.4) ainsi que sa teneur en eau ou l'hydratation, H. L'hydratation des dispersions de micelles de caséines ou des gels de caséines (g/g), exprimées en gramme d'eau par gramme de caséines est alors :

$$H = \frac{1 - EST_{produit}}{[Cas]_{produit}} \quad \text{Eq.II.14}$$

Afin de comparer l'état d'hydratation des dispersions concentrées de micelles de caséine, des valeurs de référence d'hydratation d'une micelle de caséine seule, h en g/g ont été calculées à 7 et 20°C en considérant les travaux (Dewan *et al.* 1973 ; Morris *et al.* 2000) :

$$h = (v - \rho_{Cas}) \times \rho_s \quad \text{Eq.II.15}$$

avec ρ_{Cas} la masse volumique d'une micelle de caséine sèche en mL/g égale à 0,733mL/g (Morris *et al.* 2000), v la voluminosité de la micelle en mL/g et ρ_s la masse volumique du solvant assimilée à de l'eau en mL/g. Les valeurs d'hydratation de micelles de caséine seules considérées ici ont été calculées en utilisant des voluminosités de 4.85 et 4.1 mL/g à 7 et 20 °C des micelles (Nöbel *et al.* 2012) ; elles sont égales à 4,2 et 3,4 g/g à 7°C et 20°C respectivement.

La fraction redispersée a également été caractérisée : la teneur en caséines des surnageants $[Cas]_s$ (% g/g) a été déterminée par la méthode de Bradford (cf. II.6) ; la taille des objets redispersés et la turbidité dans les surnageants ont été analysés pour appréhender la nature des objets redispersés (cf. II.6). Le taux de redispersion du gel R est alors exprimé selon :

$$R = \frac{[Cas]_s}{[Cas]_t} \quad \text{Eq.II.16}$$

avec $[Cas]_t$ (% g/g) la concentration initiale dans tout le système (i.e. gel + PUF) déterminée à partir de la masse de gel et sa concentration au temps zéro, juste avant le début de la redispersion.

Résultats complémentaires de caractérisation des gels de micelles

II.4.4. Des expérimentations complémentaires ont été réalisées afin de comprendre l'impact de la température de préparation du gel (7 ou 20°C) sur la réversibilité de la structure du gel de micelles.

Les mesures de réversibilité cherchent à mettre en lumière l'intensité des interactions responsables de la cohésion des gels en fonction de la température, de la pression et de la durée de compression.

Pour cela, une dispersion de micelles de caséine, équilibrée durant une semaine à basse pression osmotique π_i (7 kPa à 7°C, 6 kPa à 20°C) a été soumise à une forte pression π (de 1 à 15 kPa à 7°C et de 3 à 24 kPa à 20°C) durant un temps donné (de 6, 72 et 168 h) (Figure II.9b). Le passage à forte pression conduisait à la formation d'un gel. Ces choix de pressions ont été faits afin d'obtenir des niveaux de concentration similaires à 7 et 20 °C puisque les pressions osmotiques correspondent à des concentrations précises et suivent l'équation d'état. La réversibilité de ces dispersions est ensuite étudiée en remettant les sacs de dialyse (et donc les dispersions concentrées ainsi formées à 7 ou à 20°C) dans la solution stresseuse initiale de 6 kPa à 20°C durant 72 h (Figure II.9a). Une unique température de réversibilité (20 °C) a été choisie afin de pouvoir étudier seulement l'influence de la température de préparation des dispersions et éviter l'effet supplémentaire d'une température de réversibilité différente.

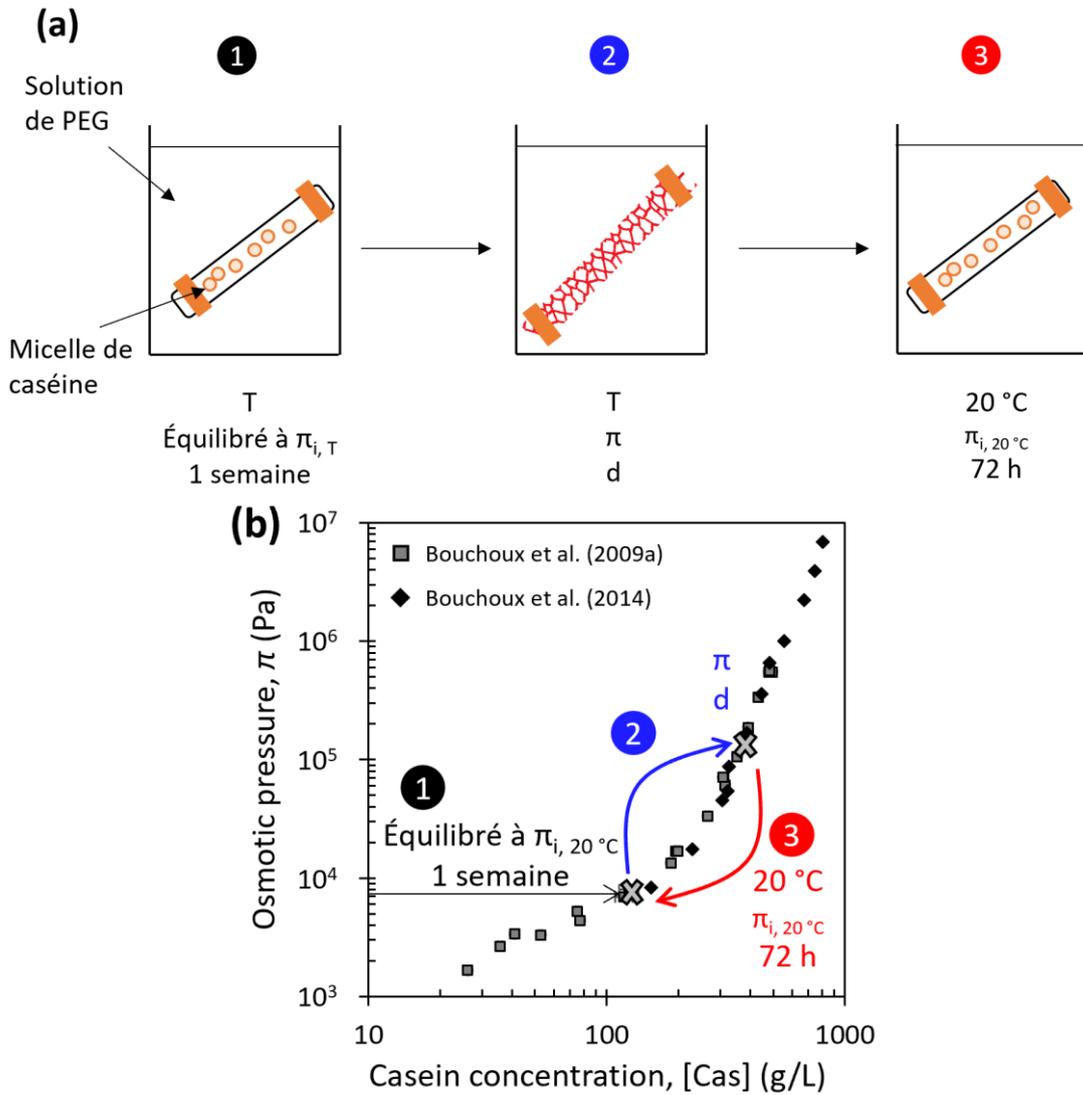


Figure II.9. (a) Représentation schématique du principe de réversibilité des dispersions de micelles de caséine. Un sac de dialyse contenant des micelles de caséine est en étape 1 équilibré pendant 1 semaine à une température T (soit 7 °C soit 20 °C) et à une pression osmotique initiale $\pi_{i,T}$ sans remplissage du sac ; ce sac est ensuite transféré, en étape 2 à une pression osmotique π élevée, à la même température, durant différentes durées de compression, d . Enfin après la fin de compression, le sac est transféré à la pression osmotique initiale de 20 °C pendant 72 h (Etape 3). (b) Le protocole expérimental est illustré pour les trois étapes sur la courbe d'état des micelles de caséine à 20 °C .

Des sacs Spectra/Por 2 de seuil de coupure 12-14 kDa (Repligen, Waltham, Etats-Unis) en diamètre 16 mm et de longueur 11-12 cm ont été utilisés pour effectuer la compression osmotique suivant le même protocole qu'en paragraphe II.2 mais sans remplissage intermédiaire.

La concentration en caséine a été déterminée à chaque étape par extrait sec total (cf. II.1) et l'hydratation des dispersions a aussi été déterminée comme décrit précédemment (cf. II.4.3).

La réversibilité (Rev, %) pour chaque condition testée a été déterminée selon :

$$Rev = 100 \times \left(1 - \frac{[Cas]_f - [Cas]_i}{[Cas]_i} \right) \quad \text{Eq.II.17}$$

avec $[Cas]_i$ et $[Cas]_f$ les concentrations en caséine respectivement après équilibre à basse pression et en fin de réversibilité en g/L.

II.5. Filtration et procédures expérimentales (Chapitres V et VI)

Afin de comprendre les propriétés des couches concentrées de micelles de caséine au cours de la filtration tangentielle et frontale, nous avons utilisé un équipement développé au Laboratoire Rhéologie et Procédés, Grenoble (Pignon *et al.* 2012 ; Jin *et al.* 2014a, 2014b, 2015 ; Rey *et al.* 2019) dédié à la mesure *in-situ* de la concentration et de l'organisation structurale de colloïdes en fonction du temps et de la distance à la membrane par diffusion aux petits angles de rayons X (Small-Angle X-Ray Scattering ou SAXS).

Les mesures SAXS *in-situ*, permettent d'accéder aux profils de concentration en fonction de la distance à la membrane au cours du temps et de suivre la masse accumulée et l'épaisseur de gel au cours du temps, pendant les phases de filtration et de relaxation de pression (regonflement et redispersion des dépôts).

Cellule de filtration et installation expérimentale

II.5.1. La cellule de filtration (Figure II.10) est fabriquée en polycarbonate matériau qui absorbe peu les rayons X. Elle contient une membrane plane de (100 x 4) mm (Polyéthersulfone (PES) 100 kDa, Pleiade, Orelis Environnement, Salindres, France). La cellule est composée de deux parties : la partie supérieure constitue le compartiment réténtat ou veine liquide où le fluide circule ; la partie inférieure constitue le compartiment perméat. Le canal de réténtat fait 100 mm de long dans la direction de l'écoulement tangential, 4 mm de large et 8 mm de hauteur. Un support en métal perforé sépare les deux compartiments sur lequel la membrane est déposée évitant ainsi un effondrement de la membrane sous la pression appliquée durant la filtration. La membrane est enserrée entre les deux compartiments. La cellule présente trois fenêtres latérales de 3 mm de largeur, 5.5 mm de hauteur et 0.3 mm d'épaisseur écartées de 43 mm les unes des autres qui sont positionnées à l'entrée, au milieu et à la sortie du canal de réténtat. Lors des expérimentations en filtration tangentielle (Chapitre V), seule la fenêtre du centre a été utilisée. Lors des expérimentations en filtration frontale (Chapitre VI), les fenêtres du milieu et de la sortie ont été utilisées.

L'installation de filtration est représentée en Figure II.11. La dispersion de micelles de caséine est introduite dans un réservoir de 4 L (Millipore) fermé hermétiquement. Ce réservoir est relié à de l'air comprimé purifié qui permet d'appliquer une pression contrôlée par deux capteurs de pression P_{in} et P_{out} (FP 110 FGP Sensors & Instrument, Les Clayes sous-bois, France) placés respectivement en amont et en aval de la cellule de filtration. La dispersion est mise en circulation par une pompe volumétrique (Pompe centrifuge monobloc série LF, Grosclaude, Bron, France) dans la cellule de filtration (partie réténtat). La solution passe au préalable dans un bain thermostaté (Eco Silver RE 620 SW Lauda, Lauda-Königshofen, Allemagne) pour maintenir la température à 12 ± 1 , 25 ± 1 ou 42 ± 1 °C. La température est mesurée par deux capteurs à l'entrée et à la sortie de la cellule, respectivement T_{in} et T_{out} (YC-747D avec thermocouples K, Yu Ching technology, Taipei, Taïwan). La température de la cabine SAXS était fixée à 25 °C. Les températures de mesures régulées par le bain thermostaté lors de la filtration ont été fixés à 42 °C, 25°C et 12 °C.

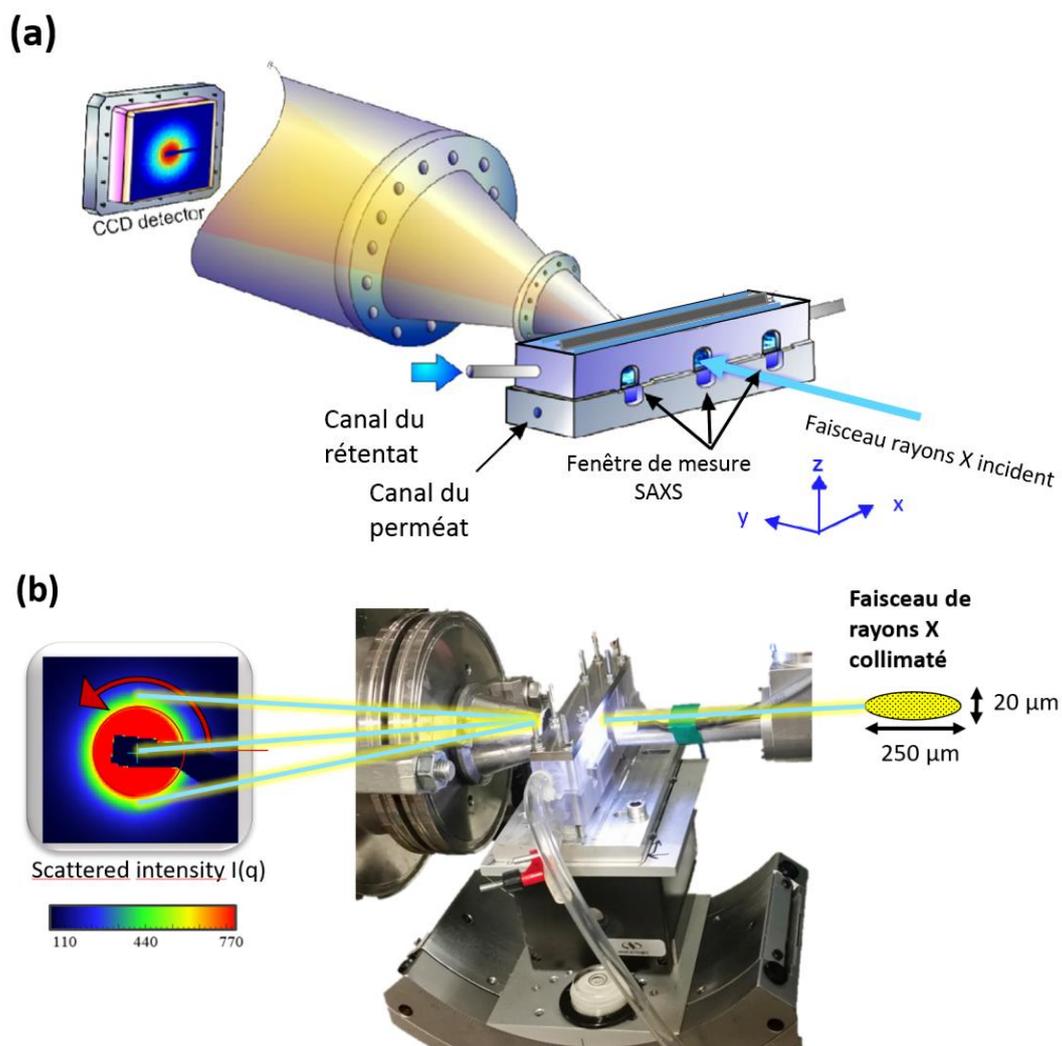


Figure II.10. Cellule de filtration couplée au SAXS (a) Schéma adapté de Jin *et al.* (2014b); (b) Photo prise sur la ligne SAXS au synchrotron SOLEIL (Source Optimisée de Lumière d'Énergie Intermédiaire du LURE) de Gif sur Yvette sur la ligne SWING (Small and Wide angle X-ray scattering).

La circulation s'effectue en circuit fermé avec un retour du rétentat dans le réservoir. Le débit de circulation est mesuré (FI sur la Figure II.11) avec un débitmètre magnétique (Optiflux 6300 Khrono, Duisburg, Allemagne). La variation de masse dans le bécher qui recueille le perméat est mesurée toutes les 3 s avec une précision de 0.001 g (Balance PB 303-S/FACT, Mettler Toledo, France).

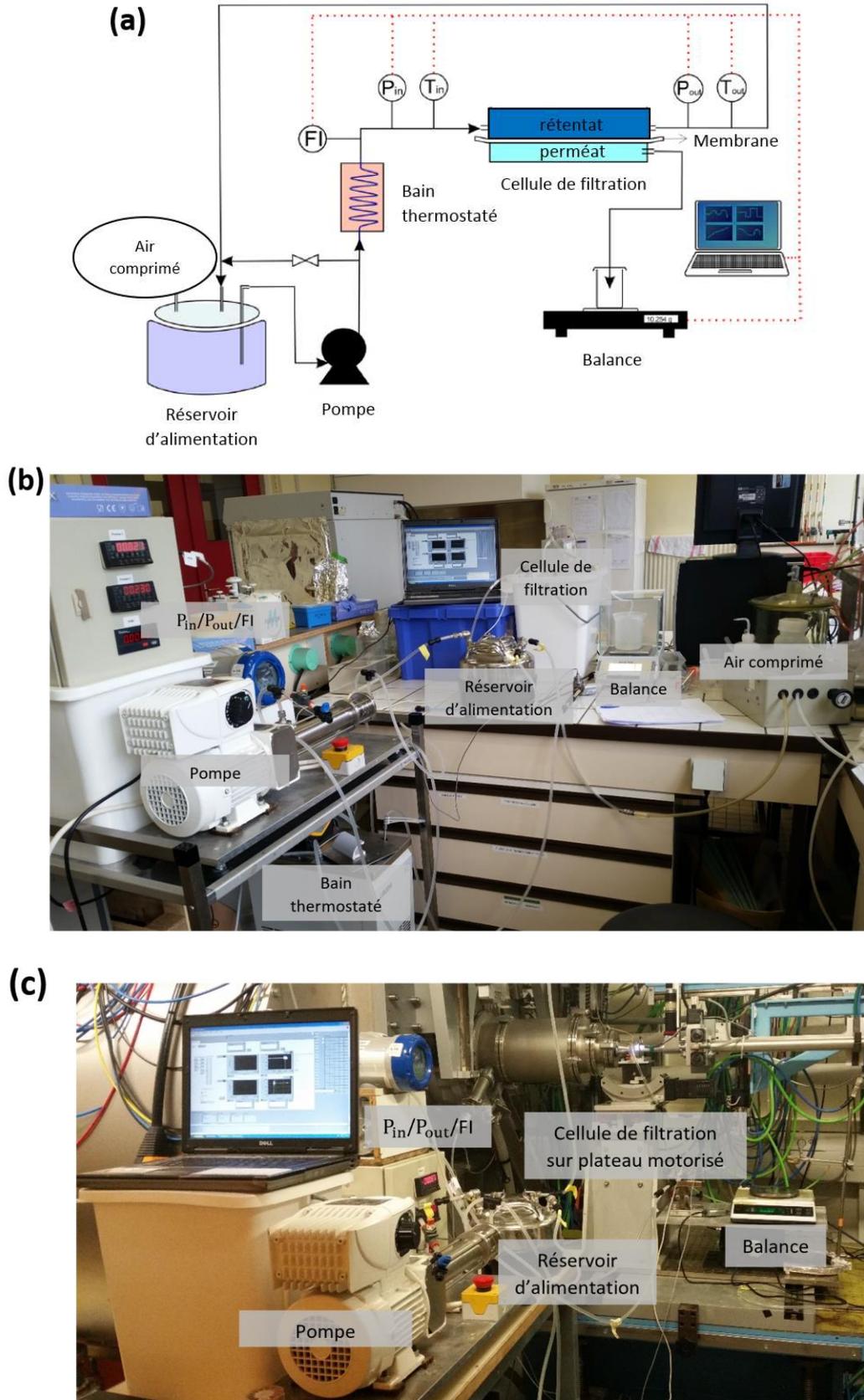


Figure II. 11. Installation de filtration a) schéma de principe adapté de Jin *et al.* (2014b); b) photo au laboratoire STLO ; c) photo dans la cabine SAXS de la ligne SWING au synchrotron SOLEIL.

Membrane et conditionnement

La membrane choisie est une membrane plane en polyéthersulfone (PES) de seuil de coupure 100kD (Membrane Pléiade Orelis Environnement, Salindres, France). Les membranes sont fournies en feuilles A4 « sèches » dans lesquelles des bandelettes de 7 mm de largeur et de 15 cm de long sont découpées afin d'être adaptées aux dimensions de la cellule de filtration. Les bandelettes ainsi découpées sont plongées au minimum 30 minutes dans du PUF contenant 0.5 g/L d'azoture de sodium afin de les conditionner avant leur utilisation. Une bandelette « neuve » est utilisée pour chaque nouvel essai. Sur tous les essais effectués, la résistance moyenne de la membrane propre était : $R_m = 4.9 \pm 1.1 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$.

Procédure de filtration et acquisition des données

Afin d'étudier les couches concentrées de micelles de caséines accumulées à la membrane (concentration, cohésion et réversibilité), un protocole de filtration en trois étapes pour la filtration tangentielle a été mis en place (Figure II.12a).

Une montée en pression graduelle par pas de 0,1 bar a préalablement été effectuée sur un temps de deux minutes. Cette montée en pression était régulée par l'air comprimé (Figure II.11 a et b).

Filtration. Dans un premier temps, une phase de filtration a été effectuée durant 150 min, à une pression transmembranaire, PTM, une vitesse d'écoulement tangentiel, v et une température, fixées afin de créer un dépôt de micelles de caséines près de la membrane. Au cours de cette première étape, l'évolution de la concentration en fonction de la distance à la membrane est déterminée à partir des mesures d'intensité SAXS. Plusieurs conditions opératoires ont été imposées afin d'étudier l'influence de la pression transmembranaire, la vitesse d'écoulement tangentiel et la température sur la formation du dépôt et sur sa cohésion/réversibilité. Les essais ont été réalisés à 12 ± 1 , 25 ± 1 ou 42 ± 1 °C, à pression transmembranaire de 50 à 100 kPa et à vitesse d'écoulement tangentiel de 3.1 et 15.6 cm.s^{-1} .

Relaxation. En deuxième étape, la pression transmembranaire a été relâchée à 10 kPa pendant 45 minutes en gardant les autres paramètres (v et T) constants. Nous avons choisi de garder une faible PTM et de ne pas relâcher totalement la pression à zéro Pa pour éviter un « saut » de la membrane. Cette seconde phase permet de suivre le regonflement et la redispersion du dépôt formé à l'étape précédente grâce à l'évolution des profils de concentration.

Erosion. Enfin, dans une dernière étape, durant les dix dernières minutes, la vitesse d'écoulement tangentiel a été augmentée à une valeur supérieure afin d'augmenter l'érosion du dépôt et suivre l'impact sur le dépôt en gardant la PTM à 10 kPa et la température fixe. La vitesse a été augmentée à 15.6 cm.s^{-1} pour tous les essais excepté pour l'essai dont la phase de filtration est faite à $v = 15.6 \text{ cm.s}^{-1}$, l'érosion s'est alors faite à $v = 31.2 \text{ cm.s}^{-1}$.

Pour la filtration frontale, un protocole légèrement différent a été mis en place (Figure II.12b), puisque le protocole est en deux étapes : une première phase de filtration à 100 kPa à 25 °C de 160 min puis une seconde étape de relaxation de la pression à 0 Pa de 120 min. Le perméat est récupéré dans un bécher à la pression atmosphérique. Le perméat n'a pas été recyclé vers le réservoir, mais compte tenu du faible volume récupéré (< 10 mL) par comparaison au volume de dispersion présent dans l'installation (environ 2 L), la concentration du rétentat est considérée comme constante.

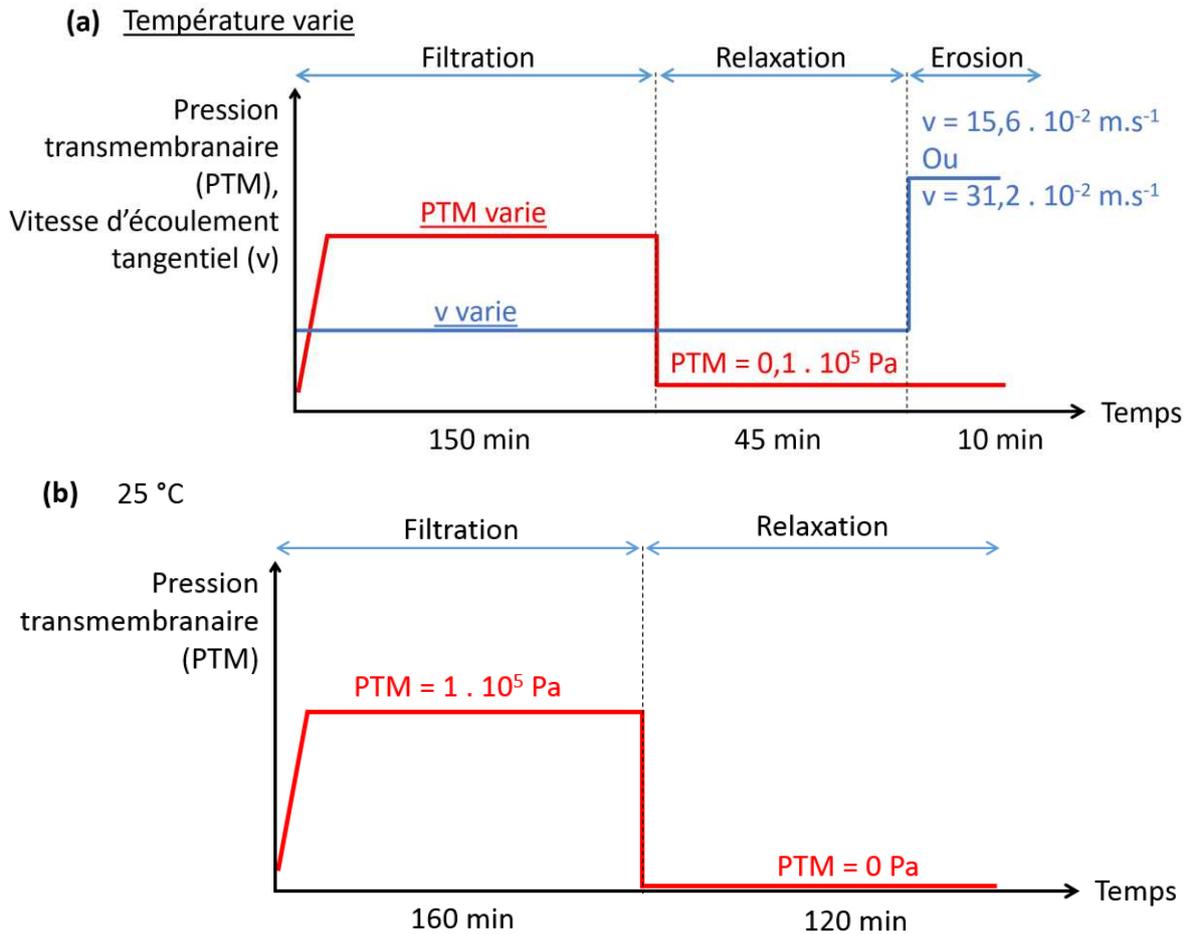


Figure II.12. Représentation schématique des protocoles de (a) filtration tangentielle en trois étapes et de (b) filtration frontale en deux étapes.

II.5.4.

Nettoyage

A la fin de chaque essai, l'installation a été vidée et rincée avec de l'eau déminéralisée en grande quantité (10L) à la vitesse de cisaillement d'étude et à la température d'étude. Enfin, après cette étape, l'installation est remplie d'eau déminéralisée (10L) et un nettoyage alcalin à l'Ultrasil 25F (Ecolab SNC, Arcueil, France) (0.5 % v/v) à 50 °C avec $v = 52.1 \text{ m.s}^{-1}$ et $\text{PTM} = 1.5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ a été effectué pendant 30 minutes. Enfin, l'installation est vidée puis rincée avec de l'eau déminéralisée à 50°C avec $v = 52.1 \text{ m.s}^{-1}$ et $\text{PTM} = 1.5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$. Après chaque essai, la cellule de filtration a été démontée afin de retirer la membrane colmatée et la remplacer par une nouvelle membrane pour l'essai suivant. La cellule est rincée avec de l'eau déminéralisée puis remontée avec une nouvelle membrane.

Mesures de résistances

Les résistances ont été déterminées indépendamment des essais en cabine SAXS car ce sont des expérimentations longues et les flux de perméation récoltés en cabine SAXS n'étaient pas assez précis à cause du plateau vibrant sur lequel la balance était placée et de la climatisation (25°C) qui perturbait en permanence les mesures.

En plus de la procédure de filtration développée ci-dessus, les résistances des membranes propres R_m étaient déterminées avant l'essai par filtration d'eau déminéralisée à la température de l'essai, à $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ et à des PTM différentes et croissantes (de 0.1 à $1.2 \times 10^5 \text{ Pa}$).

A la fin de l'étape de filtration, le circuit était vidé et rincé avec de l'eau déminéralisée pendant 10 min à PTM = 0 Pa, à la température de l'essai et à la vitesse de l'essai. Ensuite les résistances de la couche de colmatage après la filtration étaient déterminées en filtrant de l'eau déminéralisée à la température d'étude, à $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ et à des PTM différentes et croissantes (de 0.1 à 1.2×10^5 Pa).

De la même manière, les résistances hydrauliques de la couche de colmatage après relaxation de la pression étaient déterminées en filtrant de l'eau déminéralisée à la température d'étude, à $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ et à des PTM différentes et croissantes (de 0.1 à 1.2×10^5 Pa) après un rinçage de 10 min à PTM = 0 Pa, à la température de l'essai et à la vitesse de l'essai.

Mesures et analyses SAXS

Les mesures SAXS ont été effectuées à SOLEIL (Source Optimisée de Lumière d'Énergie Intermédiaire du LURE) de Gif sur Yvette sur la ligne SWING (Small and Wide angle X-ray scatterING).
II.5.6.

II.5.6.1. Principes de diffusion de rayons X aux petits angles (SAXS)

La diffusion est une technique qui consiste à envoyer un rayonnement d'une longueur d'onde λ (X, neutrons, lumière), sur un échantillon, qui est réémis par chaque centre diffuseur de la matière (Figure II.13). On récupère alors l'intensité diffusée sur la surface d'un détecteur. L'analyse de cette intensité diffusée collectée, permet de caractériser les hétérogénéités de répartition de la matière distribuée dans le volume de l'échantillon, sur des échelles de longueurs allant de 1 à environ 1000 nm. C'est en définissant cette distribution d'hétérogénéités dans l'échantillon que la structure du système étudié peut être révélée.

La diffusion de rayons X aux petits angles, en anglais small angle X rays scattering (SAXS), est basée sur la diffusion élastique qui est souvent exploitée pour analyser la microstructure et la dynamique en état transitoire d'un matériau et des systèmes reliés.

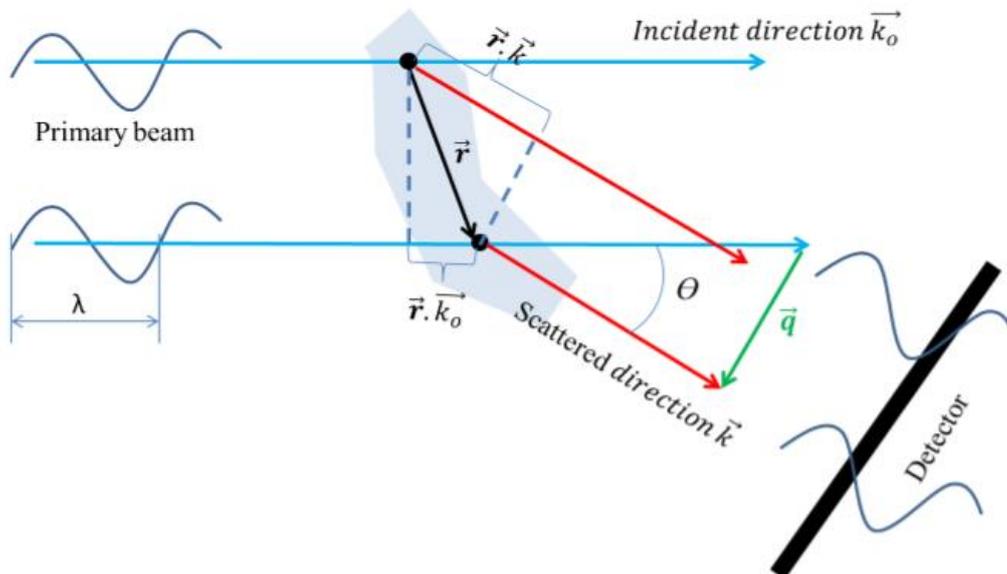


Figure II.13. Représentation schématique d'une diffusion élastique (adapté de Jin (2014)).

Lorsque les rayons X frappent les atomes, des électrons vont se libérer car l'énergie délivrée par le faisceau est bien plus importante que l'énergie de liaison d'un atome, et ils deviennent la source de l'onde diffusée. Chaque électron va diffuser une onde qui produit un spectre d'interférence sur le détecteur, comme le montre la Figure II.13. Comme les électrons proviennent de positions différentes, ils atteignent le détecteur avec un certain retard les uns par rapport aux autres en empruntant des chemins différents.

Plusieurs appellations définissent q dans la littérature, comme « longueur de vecteur de diffusion », ou « moment de transfert » ou « vecteur d'onde ». La dimension de q est en nm^{-1} , ce qui explique que le spectre de diffusion soit généralement appelé « structure dans l'espace inverse ».

II.5.6.2. Installation SAXS et position de la membrane

Le faisceau de rayons X incident de longueur d'onde 0.1 nm, a été focalisé à 20 μm verticalement et 150 μm horizontalement en utilisant des fentes. La distance de la cellule au détecteur était de 3 m, ce qui a permis d'avoir des vecteurs d'ondes dans une plage de 0.05 à 3 nm^{-1} :

$$q = (4\pi/\lambda) \sin(\theta/2) \quad \text{Eq.II.18}$$

avec θ l'angle de diffusion.

La cellule de filtration est montée sur un plateau motorisé et un berceau micrométrique qui permet de basculer la cellule autour de l'axe vertical. Ce plateau motorisé permet la mesure par SAXS (Figure II.8) de la concentration des micelles de caséine à différentes distances de la membrane et différentes positions le long de la membrane au cours de la filtration. Tous les instruments décrits section II.5.1 ont été installés dans la cabine de mesure SAXS (Figure II.9).

Dans un premier temps, le faisceau de rayons X qui présente par construction un angle légèrement montant par rapport à l'horizontal devait être aligné avec la surface plane de la membrane. Une rotation de la cellule de filtration a alors été effectuée grâce au berceau micrométrique afin de trouver l'angle pour lequel le faisceau de rayon X était aligné avec la surface de la membrane. Cet angle est fixé pour toute la suite des mesures.

Dans un deuxième temps, pour mesurer les profils de concentration en micelles de caséine à la surface de la membrane, il est nécessaire de déterminer la position 0 de la membrane suivant l'axe z , distance qui va de la surface de la membrane jusque dans la veine liquide (Figure II.14). Pour cela, la cellule remplie de PUF était déplacée verticalement, selon l'axe z , devant le faisceau depuis le bas vers le haut et un scan en intensité transmise était effectué. Plusieurs zones peuvent alors être identifiées (Figure II.14) : la première zone (Z1) correspond à l'épaisseur du polycarbonate de la cellule de filtration. La fin de la zone est définie par la diminution de l'intensité transmise ($z = -160 \mu\text{m}$) où les rayons X commencent à passer à travers les pores de la membrane. Ainsi la seconde zone (Z2) représente la membrane qui fait 160 μm d'épaisseur. La troisième zone (Z3) est une zone intermédiaire dont l'intensité transmise est produite par le PUF mais qui est affectée par l'absorption de la membrane. Cette zone est déterminée de manière précise par la dérivée de l'intensité transmise par rapport à la distance à la membrane car elle présente un point d'inflexion à cet endroit-là. Cette zone intermédiaire dépend de la largeur du faisceau de rayons X, elle fait environ 20 μm . Enfin, dans la dernière zone (Z4), l'intensité transmise est constante suggérant alors que la membrane n'a plus d'influence. Cette zone correspond alors à la zone de mesures SAXS (de $z = 20 \mu\text{m}$ à $z = 2000 \mu\text{m}$). Cette calibration de la position de la membrane a été faite à chaque nouvel essai si un démontage et changement de la membrane a été effectué.

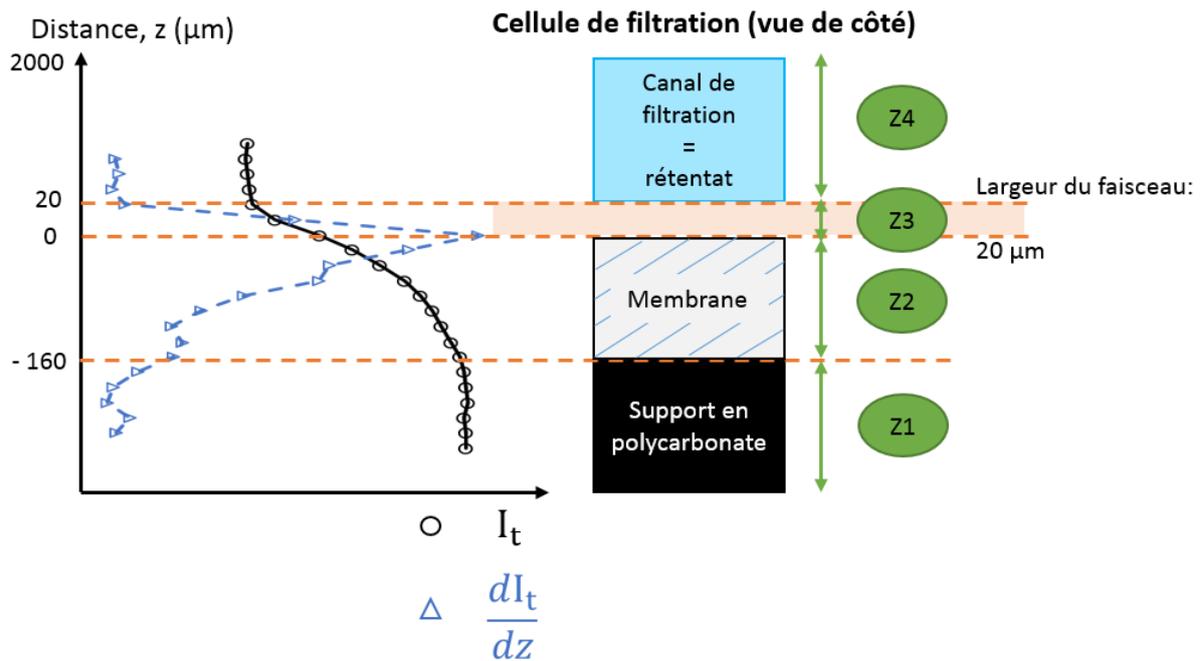


Figure II.14. Exemple du placement de la position de la membrane avec une vue de côté schématique de la cellule de filtration. Evolution de l'intensité transmise du signal de rayons X (I_t rond noir vide et trait plein noir) en fonction de la distance à la membrane z à travers la cellule de filtration. Evolution de la dérivée de l'intensité transmise par rapport à la distance à la membrane en fonction de la distance à la membrane ($\frac{dI_t}{dz}$ triangle bleu vide et tirets bleu). Les zones Z1, Z2, Z3 et Z4 correspondent respectivement aux intensités transmises par la cellule en polycarbonate, la membrane, le PUF affectée par l'adsorption de la membrane et le PUF du compartiment rétentat.

II.5.6.3. Analyse des spectres SAXS

Un exemple de spectres de diffusion 2D obtenus après une mesure de SAXS sur une dispersion de micelles de caséines durant la filtration tangentielle le long de l'axe z , est présenté en Figure II.15. Ce spectre présente une répartition isotrope de l'intensité diffusée ce qui est cohérent avec le fait que les micelles de caséine sont globulaires sans forme anisotrope ni orientation préférentielle devant le faisceau. Plusieurs analyses peuvent être faites à partir de ces spectres et elles sont détaillées dans cette partie.

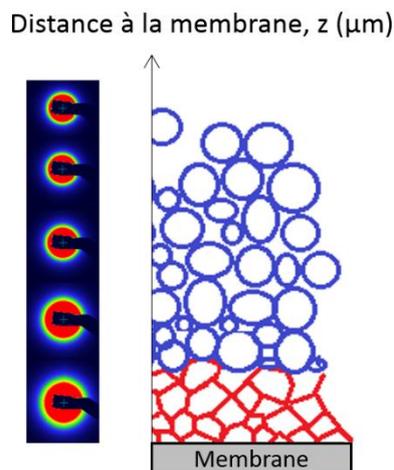


Figure II.15. Spectres 2D relevé à différentes positions z dans les couches concentrées de micelles de caséines représentées schématiquement.

Les spectres de diffusion ont été normalisés en intensité absolue après avoir appliqué les corrections standards du détecteur et puis moyenné de manière azimutale afin d'obtenir des profils d'intensité à une dimension notés $I(q)$. Cette courbe $I(q)$ peut donner accès à des informations quantitatives comme la taille des particules, leur forme et leur organisation structurale (Pignon *et al.* 2004 ; David *et al.* 2008 ; Bouchoux *et al.* 2010 ; Jin *et al.* 2014b ; Rey *et al.* 2019). Cependant, du fait de l'anisotropie des micelles de caséine, de telles données n'ont pu être extraites des spectres SAXS. Des essais au synchrotron European Synchrotron Radiation Facility (ESRF) à Grenoble ont été effectués à une plus grande distance du détecteur (31 m) permettant alors d'accéder à des plages de vecteurs d'ondes allant de 0.02 à 2.5 nm^{-1} . L'objectif de ces essais à l'ESRF était alors d'accéder à l'échelle où les micelles de caséine interagissent mais ces expérimentations n'ont pas été concluantes. Des spectres de diffusion, seule la concentration correspondante à une intensité donnée a été extraite.

Avant les essais de filtration, la cellule a été remplie de PUF (phase aqueuse du lait contenant du lactose et des minéraux) et cela a permis d'associer un profil d'intensité au PUF et à la cellule servant de fond et qui a été systématiquement soustrait aux profils d'intensité des dispersions de micelles de caséine obtenus pendant la filtration. La présence de lactose et de minéraux influence en effet les profils SAXS des micelles de caséine, et principalement aux hauts vecteurs d'ondes ($q > 0.7 \text{ nm}^{-1}$) (Jin *et al.* 2014b). Dans cette gamme de vecteurs d'ondes, l'intensité diffusée n'est pas affectée ni par le changement d'interactions entre particules (décrit par le facteur de structure) ni par la possible anisotropie du spectre SAXS. L'intensité diffusée dans cette gamme de vecteurs d'ondes est donc proportionnel au nombre de particules par unité de volume comme discuté par certains auteurs, la concentration de la suspension peut donc être déterminée à partir de l'intensité diffusée pour une valeur donnée du vecteur d'onde q (David *et al.* 2008 ; Pignon *et al.* 2012 ; Jin *et al.* 2014a).

Une courbe de calibration a été déterminée pour accéder aux concentrations en caséines au cours de la filtration : des mesures SAXS sur dix dispersions de micelles de caséine de concentrations connues de 2 à 180 g/L ont été effectuées au repos à température contrôlée ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) dans la cellule de filtration. La courbe de calibration ainsi déterminée à un vecteur d'onde donné ($q = 1 \text{ nm}^{-1}$) ($R^2 = 0.999$) (Figure II.16) permet de relier l'intensité diffusée à la concentration en caséine :

$$I(q = 1 \text{ nm}^{-1}) = 0.0032 [\text{Cas}]_{\text{g/L}} \quad \text{Eq.II.19}$$

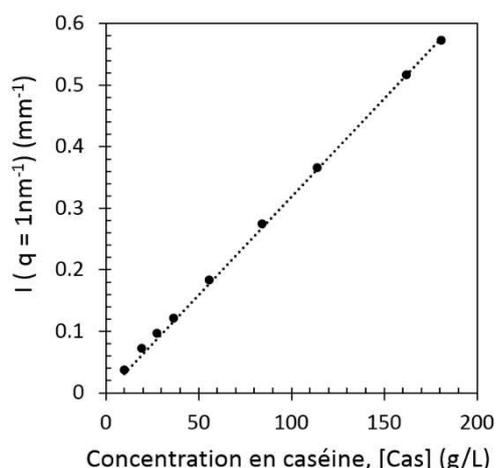


Figure II.16 : Courbe de calibration de l'intensité I des micelles de caséines mesurée à 25 °C. Les intensités diffusées sont normalisées par l'épaisseur du contenant (mm^{-1}). La courbe en pointillés correspond à l'équation Eq.II.14 ($R^2 = 0.999$). Cette courbe de calibration a été vérifiée à 12 et 42 °C (données non montrées).

Cette équation de calibration a été établie à $q = 1 \text{ nm}^{-1}$ car cela correspond à une partie relativement plate de la courbe en représentation de Kratky ($q^2 I(q)$ en fonction des vecteurs d'ondes, Figure II.17) et qui correspond au facteur de forme des particules. Dans ce domaine de vecteurs d'ondes élevés l'intensité diffusée n'est pas influencée par la diffusion provenant des interactions entre les particules et ceci même pour des concentrations plus élevées (Pignon *et al.* 2012) car cette gamme de vecteurs d'ondes correspond à la structure interne des micelles de caséine et plus spécifiquement des régions denses (Bouchoux *et al.* 2010) ou des inhomogénéités des protéines (Ingham *et al.* 2016). Cette relation a été vérifiée et validée sur des dispersions de micelles de caséine de concentration connue à 50 g/L à 12 et 42 °C.

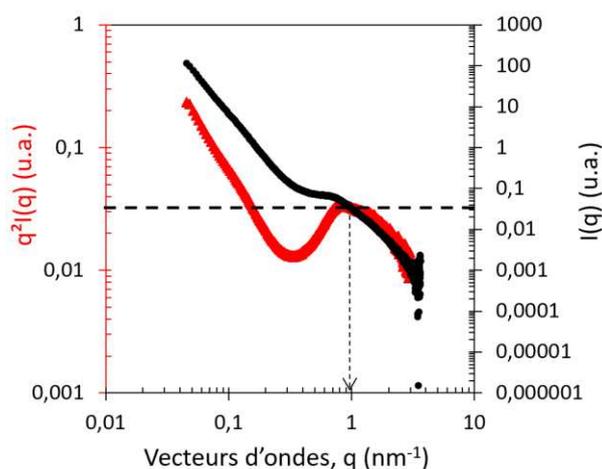


Figure II.17 : Courbe de l'intensité $I(q)$ (symboles ronds noirs) et en représentation de Kratky ($q^2 I(q)$) (symboles triangles rouges) d'une dispersion de micelles de caséines à la concentration $[Cas] = 27.5 \text{ g/L}$ ($T = 25^\circ\text{C}$). Choix du vecteur d'onde $q = 1 \text{ nm}^{-1}$ pour la courbe de calibration.

Avec cette courbe de calibration, la concentration d'un échantillon de micelles de caséines à une certaine distance z de la surface de la membrane dans la cellule de filtration peut être déduite à partir de l'intensité diffusée mesurée *in-situ* à un certain vecteur d'onde ($q = 1 \text{ nm}^{-1}$). Cette méthode a déjà été utilisée (Pignon *et al.* 2004, 2012 ; Marchin *et al.* 2007 ; David *et al.* 2008 ; Jin *et al.* 2014a, 2014b, 2015 ; Rey *et al.* 2019) pour déterminer l'évolution de la concentration de diverses dispersions en fonction de la distance à la membrane z durant la filtration. A partir de ces profils de concentrations, la masse accumulée de micelles de caséine ainsi que l'épaisseur des couches gélifiées ont pu être déduites (cf. II.5.7.3), permettant le suivi de ces deux grandeurs au cours du temps durant les différentes étapes de filtration, relaxation et érosion.

Grandeurs calculées

II.5.7.1. Flux de perméation, pression transmembranaire et vitesse d'écoulement tangentiel

II.5.7. Les mesures de flux de perméation effectuées lors de mesures de SAXS, ont été répétées au laboratoire STLO en dehors des essais en cabine SAXS. En effet, les enregistrements de la masse au cours des mesures dans la cabine SAXS ont présenté des erreurs d'enregistrements et un manque de précision à cause du mouvement du plateau qui maintenait la balance et de l'air expulsé par la climatisation de la cabine SAXS. Ces essais au STLO ont été effectués dans les mêmes conditions de filtration avec le même équipement et en suivant exactement le même protocole que lors des mesures en cabine SAXS.

Pour chaque filtration, le flux de perméation était déterminé par variation de la masse (Δm , g) durant un certain intervalle de temps (Δt , s), décrit par l'équation suivante :

$$J(\Delta t) = \frac{1}{\rho_{eau,T} \times A} \times \frac{\Delta m}{\Delta t} \quad \text{Eq.II.20}$$

avec $\rho_{eau,T}$ ($\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$) est la masse volumique de l'eau dépendant de la température T , A (m^2) est la surface membranaire effective qui était égale à 3.10^{-4} m^2 , $J(\Delta t)$ ($\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) est le flux de perméation pendant l'intervalle de temps Δt .

La masse de perméat a été enregistrée toutes les 3 secondes par la balance et le flux de perméation instantané est calculé en moyennant les masses de 10 mesures.

La pression transmembranaire était calculée via les deux pressions mesurées P_{in} et P_{out} (cf. II.5.1) selon :

$$PTM = \frac{(P_{in} + P_{out})}{2} - P_p \quad \text{Eq.II.21}$$

avec P_p la pression au perméat (pression atmosphérique).

Enfin, la vitesse d'écoulement tangentiel v ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$) était calculée à partir du débit tangentiel Q ($\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$) selon :

$$v = \frac{Q \times 10^{-3}}{60 \times S} \quad \text{Eq.II.22}$$

avec S (m^2) la section du canal égale à $3.2 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2$.

II.5.7.2. Evaluation des résistances

Les résistances des membranes propres, du colmatage réversible et du colmatage irréversible ont été évaluées en utilisant le modèle de résistances en séries (Jönsson 1993) par la mesure des flux aux différentes étapes des essais de filtration (cf. II.5.5).

1. Le flux à l'eau mesuré avant la filtration (J_0) est dû à la résistance de la membrane propre seulement (R_m):

$$R_m = \frac{TMP}{\mu \times J_0} \quad \text{Eq.II.23}$$

2. Le flux de filtration des dispersions de micelles de caséine (J) est dû aux résistances de la membrane propre, du colmatage réversible (R_{rf}) et du colmatage irréversible (R_{if}) :

$$R_{rf} + R_{if} + R_m = \frac{TMP}{\mu \times J} \quad \text{Eq.II.24}$$

3. Le flux à l'eau mesuré après le rinçage de l'installation comme développé en II.5.5 après l'essai de filtration ($J_{\text{water flush}}$) est dû aux résistances de la membrane propre et du colmatage irréversible:

$$R_{if} + R_m = \frac{TMP}{\mu \times J_{\text{water flush}}} \quad \text{Eq.II.25}$$

avec μ la viscosité de l'eau aux températures étudiées (12 °C, 25 °C or 42 °C) (Korson *et al.* 1969).

Pour les flux à l'eau des étapes 1 et 2, de l'eau déminéralisée a été utilisée car l'utilisation de grandes quantités de PUF n'était pas possible pour ces étapes. La pression transmembranaire (PTM) a été augmentée par seuil de 20 kPa de 0 à 120 kPa à la température et à la vitesse d'écoulement de l'essai. Les valeurs à l'état stationnaire du flux de perméation J ont été prises pour chaque PTM appliquée afin de tracer la courbe du flux de perméation en fonction de la PTM dont la pente est l'inverse de la résistance de la membrane multiplié par la viscosité de l'eau.

II.5.7.3. Evaluation de la masse accumulée et de l'épaisseur du gel

II.5.7.3.1. Masse accumulée en excès de micelles de caséine

A partir des profils de concentration (concentration en caséines en fonction de la distance z à la membrane), la masse accumulée de micelles de caséines dans le dépôt peut être calculée.

La masse totale de micelles de caséines accumulées ($m_{tot,t}$ in g.m^{-2}) à un temps donné t de la filtration est déterminée par le calcul de l'aire totale (A_{tot}) sous le profil de concentration à ce temps-là (Figure II.18) selon :

$$m_{tot,t} = A_{tot} = \sum_i A_i = \sum_i \left(\frac{([Cas]_i + [Cas]_{i+1}) \times (z_{i+1} - z_i)}{2} \right) \quad \text{Eq.II.26}$$

avec une concentration en caséine $[Cas]$ (g.m^{-3}) reliée à une distance à la membrane z (m) en i .

La masse accumulée dans le dépôt m_t , en excès par rapport à la couche initiale en un temps donné est calculé selon :

$$m_t = m_{tot,t} - m_{i,t} \quad \text{Eq.II.27}$$

avec $m_{i,t}$, la masse accumulée de micelles de caséine initiale au temps initial (avant la filtration).

Cette masse accumulée de micelles de caséine dans le dépôt était suivi au cours des temps de filtration, relaxation et érosion.

Durant les étapes de relaxation et d'érosion, la masse éliminée ($m_{\text{éliminée}}$) était calculée en soustrayant la masse accumulée de micelles de caséine à chaque instant de la relaxation, et de

l'érosion ($m_{t\text{ relaxation}}$) à la masse accumulée de micelles de caséine au temps zéro de la relaxation, $m_{t\text{ relaxation}=0}$:

$$m_{\text{éliminée}} = m_{t\text{ relaxation}} - m_{t\text{ relaxation}=0} \quad \text{Eq.II.28}$$

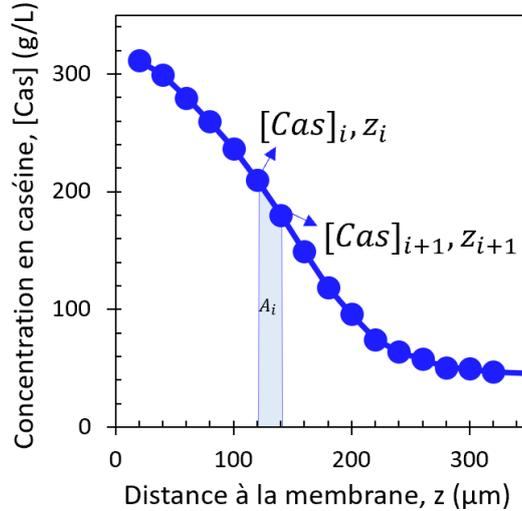


Figure II.18 : Représentation schématique du calcul de la masse accumulée de micelles de caséines via un profil de concentration à 25 °C à un temps t donné. $[Cas]_i / z_i$ et $[Cas]_{i+1} / z_{i+1}$ sont les concentrations et distances à la membrane des deux points expérimentaux délimitant l'aire sous la courbe A_i .

II.5.7.3.2. Epaisseur de gel théorique

L'épaisseur de gel théorique dans les dépôts a été déterminée à partir des profils de concentration et il est défini comme le point z sur le profil de concentration qui correspond à la concentration de transition sol-gel théorique (Figure II.19). La fraction volumique de transition sol-gel a été prise à $\phi_{\text{eff, max}} = 0.71$ selon les résultats présentés en Chapitre III des propriétés rhéologiques des dispersions de micelles de caséine utilisées et les concentrations de transition sol-gel à 12, 25 et 42 °C ont été déduites via l'équation Eq.II.3. Les concentrations de transition sol-gel ($[Cas]_{\text{sol-gel}}$) ainsi calculées à 12, 25 et 42 °C sont respectivement 157, 182 et 189 g/L.

L'épaisseur du gel (e) a été interpolée grâce aux points expérimentaux déjà existants (i et $i+1$) entre lesquels se trouvait la transition sol-gel :

$$e = \frac{([Cas]_{\text{sol-gel},T} - [Cas]_i) \times (z_i - z_{i+1})}{([Cas]_i - [Cas]_{i+1})} + z_i \quad \text{Eq.II.29}$$

Cette épaisseur de gel théorique a été suivie en fonction des temps de filtration, relaxation et érosion.

Durant les étapes de relaxation et d'érosion, l'épaisseur de gel relative (e_r) a été calculée en faisant le rapport de l'épaisseur de gel à un instant ($e_{t\text{ relaxation}}$) du temps de relaxation et d'érosion par l'épaisseur de gel au début de l'étape de relaxation ($e_{t\text{ relaxation}=0}$) :

$$e_r = \frac{e_{t\text{ relaxation}}}{e_{t\text{ relaxation}=0}} \quad \text{Eq.II.30}$$

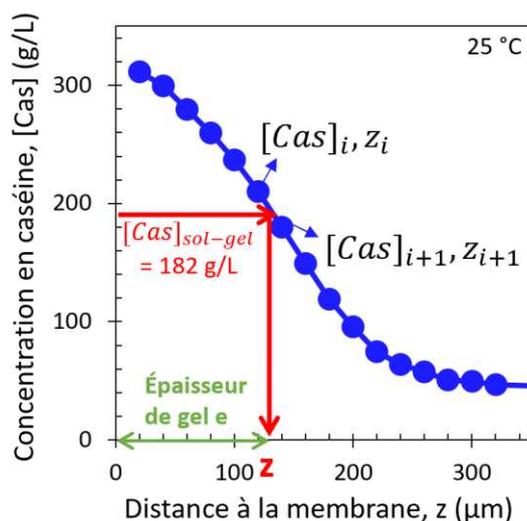


Figure II.19 : Représentation schématique de la détermination de l'épaisseur du gel du dépôt formé via un profil de concentration à 25 °C à un temps t donné. $[Cas]_i / z_i$ et $[Cas]_{i+1} / z_{i+1}$ sont les concentrations et distances à la membrane des deux points expérimentaux entourant la transition sol-gel théorique à 25 °C à 182 g/L. e est l'épaisseur de gel théorique.

II.6. Analyses physico-chimiques

II.6.1. Dosage des protéines

II.6.1.1. Kjeldahl

Les dosages de la matière azotée totale (MAT), de la matière azotée non caséique (NCN) ainsi que la matière azotée non protéique (NPN) ont été effectués sur la poudre de micelles de caséine utilisée via la méthode de Kjeldahl avec une précision de 1%. Des facteurs de conversion de 6.38, 625 et 6.19 ont été respectivement utilisés pour les différents teneurs de matière azotée déterminées.

Les teneurs en caséines et en protéines sériques de la poudre de micelles de caséine ont pu être déduites des teneurs de matière azotée par la différence entre respectivement MAT et NCN, et entre NCN et NPN.

II.6.1.2. Bradford

Lors de la redispersion de gels de micelles de caséine, la concentration en protéine dans le surnageant est déterminée par la méthode de Bradford car c'est une méthode rapide et sensible pour déterminer de faibles concentrations en protéines. Il s'agit d'un dosage colorimétrique utilisant le réactif de Bradford contenant du bleu de Coomassie qui peut se lier à certains acides aminés des protéines. Cette complexation du bleu de Coomassie avec les protéines est identifiée par un changement de couleur détectée par une mesure d'absorbance à 595 nm en utilisant le spectromètre UV-Visible (Uvikon 922, Milan, Italie).

0.1 mL de surnageant est prélevé après faible agitation du flacon afin d'homogénéiser le surnageant. 1 mL de réactif de Bradford (Bradford reagent Sigma-Aldrich, St. Louis, Etats Unis) a été ajouté au surnageant dans une cuve de spectrophotométrie. La cuve est laissée au repos 15 min afin de laisser la complexation se faire. L'absorbance de la cuve est ensuite mesurée à 595 nm (Abs_{595nm}). Une mesure de l'absorbance à 595 nm d'une cuve remplie avec 0.1 mL de PUF et 1 mL de réactif de

Bradford a été réalisée dans les mêmes conditions afin de soustraire l'influence de la valeur d'absorbance du PUF sur l'absorbance du surnageant. À partir de la valeur de l'absorbance du surnageant, la concentration des caséines est obtenue grâce à une courbe étalon (Figure II.17) qui a été initialement déterminée avec des dispersions de micelles de caséines de concentrations connues (0 - 0.5 g/kg). L'équation qui régit cette courbe étalon est :

$$[Cas] = 0.76 \times (e^{0.45 \times Abs_{595nm}} - 1) \quad \text{Eq.II.31}$$

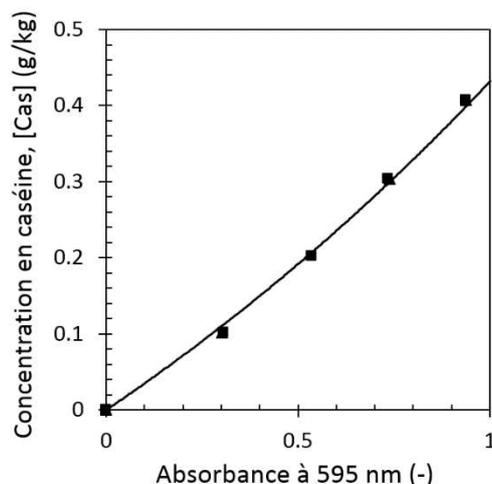


Figure II.20. Evolution de la concentration des caséines en fonction de l'absorbance à longueur d'onde 595 nm des dispersions de micelles de caséine. La courbe correspond à l'équation Eq.II.25.

II.6.2. Dosage des minéraux

Les dosages des minéraux et acides organiques (calcium, sodium, phosphates, citrates, ...) ont été réalisés sur les PUF. Le dosage des ions calcium, magnésium et sodium a été réalisé par spectrométrie d'absorption atomique (SAA 220 FS Varian, Les Ulis, France) suivant le protocole de (Brule *et al.* 1974). Le dosage des anions citrate, phosphate et chlorure a été réalisé par chromatographie liquide échangeuse d'ions (Dionex DX-500, Jouy-en-Josas, France) (Gaucheron *et al.* 1996).

II.6.3. Les minéraux totaux sur la poudre ont été déterminés par séchage de la poudre à 550 °C pendant 5 h afin d'obtenir la proportion de cendres (AFNOR Norme française NF V04-208 1989).

Extrait sec total

La concentration en caséine et l'hydratation des gels micelles de caséines ont été déterminées par mesure de l'extrait sec total (EST) (7 h, 105°C à l'étuve) (AFNOR Norme française NF V04-348 1978).

II.6.4. L'extrait sec total a été mesuré sur les poudres (EST_{poudre}), les dispersions de micelles de caséine liquides obtenues par dissolution de la poudre et des dispersions de micelles de caséines gélifiées obtenues par compression osmotique (EST_{disp}) et les perméats d'ultrafiltration (EST_{PUF}).

Turbidité

La turbidité (τ) des surnageants de redispersion des gels a été déterminée par mesure de l'absorbance sous des longueurs d'onde entre 400-800 nm en utilisant le spectromètre UV-Visible (Uvikon 922, Milan, Italie). L'appareil délivre l'intensité de transmission (I_t) qui traverse la dispersion

dans une cuve d'épaisseur L (cm) (des cuves de 1 cm ont exclusivement été utilisées). Un blanc sur du PUF permet de déterminer l'intensité de transmission qui traverse le solvant (I_0). La turbidité (τ , cm^{-1}) est alors calculée selon l'Eq.II.32 :

$$\tau = \ln\left(\frac{I_0}{I_t}\right) \frac{1}{L} \quad \text{Eq.II.32}$$

Grâce à la mesure de la turbidité, l'intégrité des micelles de caséine peut être estimée comme décrit dans le travail de Pitkowski *et al.* (2008) et Qu *et al.* (2015). Il existe en effet une relation de linéarité entre la turbidité et la longueur d'onde λ (nm) décrite par :

$$\tau = A \times [Cas] \times \lambda^n \quad \text{Eq.II.33}$$

où A est une constante liée à la masse molaire des particules, n dépend du facteur de structure des particules. Pour les dispersions de micelles de caséine (PPCN + UF) dans une gamme de concentration de 0.5 - 5 mg/g, "A" et "n" sont constants avec $A = 5.0 - 6.0 \times 10^7$ et $n = -2.8$.

Lors de la redispersion des gels de micelles de caséine, des objets sont libérés dans le surnageant et il est alors possible de vérifier s'il s'agit de micelles de caséine ou d'autres objets par la mesure de la turbidité. En effet, si le facteur de structure n est du même ordre que -2.8, lors de la mesure de la turbidité dans le surnageant sur des longueurs d'ondes allant de 400 à 800 nm, alors il s'agit de micelles de caséine. Dans le cas contraire, si le facteur de structure n est éloigné de la valeur -2.8, alors les objets libérés ne sont pas des micelles de caséine, ou alors elles ont changé de structure.

Mesures de taille

II.6.5.

Après dissolution de poudre dans du PUF pour fabriquer les dispersions de micelles de caséine et lors des redispersions de gels de micelles de caséine pour les tests de cohésion, des mesures de distribution de taille ont été réalisées à 20 °C à l'aide d'un DLS- zetasizer 3000 HS (Malvern, UK). Cette technique d'analyse est non destructive et permet d'accéder à la taille de particules en suspension dans un liquide. Le principe repose sur des fluctuations temporelles de l'intensité diffusée par les particules en suspension.

Un laser He-Ne de longueur d'onde de 633 nm est émis sur une suspension. Les particules vont diffuser de la lumière et ces données vont être enregistrées par un détecteur en zone de rétrodiffusion des particules. Or ces particules sont soumises au mouvement brownien. Il en résulte alors des interférences constructives ou destructives au cours du temps, qui vont se traduire par une courbe d'auto-corrélation en intensité puis en vitesse et ainsi remonter au rayon hydrodynamique de la particule. La méthode de Contin (Provencher 1982) a été utilisée pour évaluer les données expérimentales et déterminer la distribution de taille moyenne des particules. Les paramètres utilisés pour ces mesures de taille sont ceux préconisés par Regnault *et al.* (2004) et recalculés pour T = 20 °C: les paramètres sont donnés dans la Table II.3.

Table II.3. Paramètres utilisés pour les mesures de la distribution de taille à 20°C.

	Viscosité (cp)	Index de réfraction
Micelle de caséines	-	1.570
PUF à 20°C	1.1868	1.340

Chapitre III: Propriétés physiques et rhéologiques des micelles de caséines à 7 et 20 °C

1. Introduction	79
2. Matériels et Méthodes	80
3. Résultats	86
4. Discussion	94
5. Conclusions	98
6. Résultats complémentaires	100

Ce chapitre est présenté sous la forme d'un article scientifique. Cet article a été publié dans la revue « Foods ». Il est complété d'une partie « résultats complémentaires » présentant les propriétés rhéologiques de gels de micelles de caséine après un changement de température.

L'objectif de ce chapitre s'attache à répondre à nos premières questions de recherche :

- Comment évolue l'équation d'état des dispersions de micelles de caséine avec la température d'équilibrage à 7 et 20 °C ?
- Quelle est l'influence de la température d'équilibrage à 7 et 20 °C sur le comportement de transition sol-gel des dispersions de micelles de caséine ?
- Comment évoluent les propriétés rhéologiques des gels de micelles de caséine après un changement de température ?

De ce chapitre il ressort que :

- (i) Quelle que soit la température d'équilibrage (7 ou 20°C) et comme cela avait déjà été montré à 20°C (Bouchoux *et al.* 2009a), les dispersions de micelles de caséine passent par trois régimes lors de leur compression avec d'abord un régime dilué dans lequel les micelles de caséine ne sont pas en contact les unes avec les autres ; un régime de transition sol-gel dans lequel les micelles de caséine commencent à interagir ; puis un régime concentré dans lequel les micelles de caséine se déforment et se comportent comme des solides. Par comparaison à 20°C, les micelles de caséine sont moins facilement compressées à 7 °C.
- (ii) Quelle que soit la température (7 ou 20°C), les dispersions de micelles de caséine passent successivement par différents comportements rhéologiques lors de l'augmentation de concentration. Aux faibles concentrations, les dispersions de micelles de caséine se comportent comme un fluide newtonien puis elles ont un comportement rhéofluidifiant avant de présenter un seuil d'écoulement et une transition sol-gel. A 7°C, les changements de comportements rhéologiques ont lieu à des concentrations inférieures à celles mises en évidence à 20 °C. Notamment la transition sol-gel est observée à une concentration plus faible à 7°C (150 g/L) qu'à 20°C (170 g/L). Par ailleurs cette transition est plus brutale à 7 °C qu'à 20 °C avec une variation plus forte des paramètres rhéologiques 'consistance' et 'indice de rhéofluidification' de la loi puissance et du modèle de Herschel-Bulkley en fonction de la concentration.
- (iii) Le changement de structure et de composition des micelles de caséine induit par la baisse de température (7°C) explique les modifications observées, en particulier la compressibilité plus faible des micelles de caséines et la concentration de transition sol-gel plus faible à 7 °C, par comparaison à 20 °C. Une diminution de température à 7°C entraîne en effet une libération de caséine β et de nanoclusters de phosphates de calcium, une augmentation de l'hydratation et de la voluminosité apparente de la micelle de caséine à 7 °C comparé à 20 °C.
 - En régime dilué, une sortie d'environ 20% des caséines β totales explique l'augmentation de la pression osmotique à 7 °C par rapport à 20 °C. Dans ce régime, l'augmentation de voluminosité des micelles de caséine à 7 °C comparé à 20 °C traduit le fait qu'elles sont

plus « encombrantes » dans la dispersion et qu'elles engendrent une augmentation de la viscosité relative des dispersions de micelles de caséine à même concentration.

- Dans le régime de transition sol-gel, et si on considère la transition sol/gel comme un phénomène régit par l'encombrement des particules, la plus grande voluminosité des micelles de caséine à 7 °C par rapport à 20 °C, entraîne une mise en contact des micelles de caséine à une concentration plus faible et donc explique le décalage de la transition sol-gel vers les plus faibles concentrations à 7°C. Cependant, en tenant compte de la voluminosité des micelles de caséine qui augmente lorsque la température diminue, une seule fraction volumique de transition sol-gel égale à 0.71 est mise en évidence à 7 et 20 °C traduisant l'encombrement plus grand des micelles de caséine plus grand à 7 °C comparé à 20 °C.

- Dans le régime concentré, l'augmentation de l'hydratation du cœur des micelles de caséine à 7 °C comparé à 20 °C est cohérente avec le fait que les micelles de caséine à 7 °C ont plus d'affinité pour l'eau qu'à 20 °C et résistent ainsi davantage à leur propre compression.

- (iv) Le changement de température d'un gel de micelles de caséine entraîne sa restructuration puisqu'un changement des propriétés rhéologiques, à savoir leur viscosité et leur transition sol-gel, a été observé. Cette réorganisation est due au changement de structure et de composition des micelles de caséine sous l'effet de la température. De plus, cette réorganisation du gel est plus prononcée lors d'un réchauffement que lors d'un refroidissement car la mobilité des particules est plus faible lorsque la température diminue.

Les résultats de cette troisième partie de thèse montrent clairement que les micelles de caséine, qui sont des particules colloïdales protéiques poreuses et compressibles changent de structure et de composition sous l'influence de la température et entraînent alors une compressibilité inférieure et une concentration de transition sol-gel plus basse à 7 °C qu'à 20 °C. Ces différences vont alors se traduire durant des opérations de filtration par la formation de dépôts de compressibilités variables et des propriétés de gélification différentes selon la température. De plus, la température peut probablement induire une différence de cohésion des dépôts formés et il est alors important de s'intéresser aux interactions cohésives qui se forment lors de la concentration des micelles de caséine à différentes températures. Ce sera l'objet du chapitre suivant qui s'intéresse à mieux comprendre la formation et la rupture des liaisons cohésives entre micelles de caséine à 7 et 20 °C.

Major role of voluminosity in the compressibility and sol-gel transition of casein micelle dispersions concentrated at 7 °C and 20 °C

Floriane Douidiès^{1,3}, Anne-Sophie Arsène¹, Fabienne Garnier-Lambrouin¹, Marie-Hélène Famelart¹, Antoine Bouchoux², Frédéric Pignon³ and Geneviève Gésan-Guizou¹

¹ STLO, INRA, AGROCAMPUS OUEST, 35000 Rennes, France;

² TBI, Université de Toulouse, CNRS, INRA, INSA, 31000 Toulouse, France;

³ Univ. Grenoble Alpes, CNRS, Grenoble INP (Institute of Engineering Univ. Grenoble Alpes), LRP, F-38000 Grenoble, France

Abstract: *The objective of this work is to bring new information about the influence of temperatures (7 °C and 20 °C) on the equation of state and sol-gel transition behavior of casein micelle dispersions. Casein micelle dispersions have been concentrated and equilibrated at different osmotic pressures using equilibrium dialysis at 7 °C and 20 °C. The osmotic stress technique measured the osmotic pressures of the dispersions over a wide range of concentrations. Rheological properties of concentrated dispersions were then characterized, respectively at 7 °C and at 20 °C. The essential result is that casein micelle dispersions are less compressible at 7 °C than at 20 °C and that concentration of sol-gel transition is lower at 7 °C than at 20 °C. From our interpretations, these two features were fully consistent with a release of soluble β -casein and nanoclusters CaP and an increased casein micelle hydration and apparent voluminosity at 7°C as compared to 20°C.*

Keywords: casein micelle; osmotic pressure; sol-gel transition; rheology; temperature

III.1. Introduction

Casein micelles are colloidal particles that account for 80 % of the total protein content of cow milk. They are largely used in the dairy industry, for example, in cheese and yogurt manufacturing and play an important role in milk processing, especially in concentration operations. Casein micelles are large assemblies composed of four different caseins (α_{s1} , α_{s2} , β and κ in proportion of 4 : 1 : 4 : 1) and 8 wt. % of phosphate and calcium ions (McMahon and Brown, 1984). The structure of casein micelles is still controversial, but it is commonly accepted that they have roughly spherical shape and a core-shell structure, with the outer diameter ranging from 50 to 500 nm (De Kruif 1998 ; Dalgleish 2011 ; De Kruif *et al.* 2012 ; Dalgleish et Corredig 2012). The core is generally described as a matrix of proteins in which the ionic nanoclusters of calcium and phosphate, randomly distributed, act as connecting points (Horne 1998, 2006 ; Pignon *et al.* 2004 ; Farrell *et al.* 2006 ; Marchin *et al.* 2007). There is a consensus on the casein micelle shell that is essentially made of κ -caseins protruding into the aqueous phase as a polyelectrolyte brush, and stabilizing casein micelles through electrostatic and steric repulsions and insuring its hydration (De Kruif et Zhulina 1996 ; Dalgleish 1998). Moreover, casein micelles contain 76 wt. % of water. They look like some kind of natural sponge-like microgels that are porous, deformable, compressible and dynamic (Bouchoux *et al.* 2010).

Most of important mass exchange operations including milk filtration, evaporation and drying involve concentrating casein micelles. The efficiency of these operations is then strongly dependent on colloidal compressibility and permeability and on rheological properties of concentrated dispersions of casein micelles. Therefore, the behavior of casein micelles in concentrated dispersions has been extensively studied over the last years. The equation of state (relationship between concentration and applied osmotic pressure during an osmotic stress experiment) of casein micelles was obtained at 20 °C for the wide range of casein concentrations from 20 to 800 g/L (Bouchoux *et al.* 2009a ; Qu *et al.* 2015). The rheological behavior of casein micelles was also investigated at 20 – 25 °C (Bouchoux *et al.* 2009b ; Dahbi *et al.* 2010 ; Nöbel *et al.* 2012 ; Nair *et al.* 2014 ; Jin *et al.* 2014b). Both approaches have shown that casein micelle dispersions behave more and more like a solid (sol-gel transition) when their volume fraction reaches a critical value. It was found that at 20 – 25 °C the sol-gel transition is in the range of effective particle volume fractions of 0.68 – 0.8 (Bouchoux *et al.* 2009b ; Dahbi *et al.* 2010 ; Nöbel *et al.* 2012 ; Nair *et al.* 2014 ; Jin *et al.* 2014b), with a specific concentration of sol-gel transition of 178 and 185 g/L respectively for Bouchoux *et al.* (2009b) and Jin *et al.* (2014b). Previous works described three compression regimes and rheological behaviors at 20°C (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b):

- (1) a dilute regime, where casein micelles do not interact and behave as hard spheres;
- (2) a sol-gel transition regime, where interactions between casein micelles become stronger and rheological behavior changes from liquid-like (sol) to solid-like (gel);
- (3) a concentrated regime, where dispersions behave as a coherent solid made of directly contacting de-swelled and deformed casein micelles.

As it follows from the literature review, concentrated dispersions of casein micelles were predominantly characterized at the temperature of 20 – 25 °C, but there is an increasing interest to low temperature (7 – 12 °C) milk filtration because of the increasing use of polymeric spiral membranes that are less expensive than ceramic ones. Due to their complex geometry, these polymeric membranes are preferably used at low temperature to limit bacterial growth.

It is well known that lowering the temperature induces structural and composition changes in casein micelles such as: i) the dissociation of macromolecular assemblies by weakening hydrophobic

interactions; ii) the release of β -casein and of colloidal calcium and phosphate in the serum phase (Creamer *et al.* 1977 ; Davies et Law 1983 ; Walstra 1990 ; Holt 1995 ; Marchin *et al.* 2007 ; Liu *et al.* 2013); iii) the increase of hydration and apparent voluminosity of casein micelles (Nöbel *et al.* 2012 ; Liu *et al.* 2013). Rheological measurements of concentrated casein micelle dispersions were carried out at temperature from 5 to 35 °C (Nöbel *et al.* 2012), but the casein concentration investigated was lower than 200 g/L, that is far below the range of concentrations encountered at the membrane surface, for example, in milk filtration.

To the best of the authors' knowledge, physical and rheological properties of concentrated casein micelle dispersions have not been studied in details at low temperature. In this work, properties at 7 °C were measured and compared to that at 20 °C in regimes from semi-dilute to highly concentrated. Two approaches were applied: (i) a thermodynamic approach in order to characterize the equation of state, and (ii) a rheological approach in order to characterize the sol-gel transition. The aim of this work was to answer two following questions:

- (1) How does the equation of state of casein micelle dispersions change with the equilibrium temperature at 20 °C or 7 °C?
- (2) How does the sol-gel transition behavior of casein micelle dispersions change with the equilibrium temperature at 20 °C or 7 °C?

III.2. Materials and Methods

Casein micelle dispersion preparation

III.2.1. Experiments were done with casein isolate powder, i.e. a milk fraction enriched in micellar casein (Promilk 852B, Ingredia, Arras, France) dispersed in a permeate obtained by ultrafiltration of skim milk (UF permeate). It is commonly accepted that the use of UF permeate as an aqueous phase for casein reconstitution allows to recover the main properties of casein micelles, such as their size distribution (Famelart *et al.* 1996). The casein isolate powder was obtained from a pasteurized skim milk by microfiltration with a 0.1 μm membrane and analyzed according to standard methods. It was supposed that the pasteurization was done at low time and temperature as high temperature conditions would result in high association of whey proteins with casein micelle and subsequent detrimental impact on microfiltration performance.

The average composition of the casein isolate powder is given in Table III.1.

The average total, non-casein and non-protein nitrogen matter contents in the powder were determined through the Kjeldahl method (International IDF Standard 20B 1990 ; Gaucher *et al.* 2008) using 6.38, 6.25 and 6.19 as respective converting factors. The casein content was determined as the difference between the total nitrogen matter content and non-casein nitrogen matter content. Casein represents more than 75% of the powder total solids. The serum protein content was determined as a difference between the non-casein nitrogen matter content and the non-protein nitrogen matter content. The non-protein nitrogen fraction contains most of the small peptides (i.e. molecular mass < 10 kDa) present in solution. The mineral content was determined as the ash content by drying the powder to 550 °C during 5h (AFNOR Norme française NF V04-208 1989).

The lactose (4 wt. %) and fat (1.5 wt. %) content, expressed on the total dry solid basis, were determined by the powder manufacturer.

Table III.1. Composition of casein isolate powder. Average values of relative concentration are given in wt. % of total solids content (% TS) with a standard deviation of ± 0.2 wt. %.

Total solids (TS) (wt. %)	Total nitrogen matter (% TS)	Casein (% TS)	Minerals (% TS)	Non-casein nitrogen matter (NCN) (% TS)	Serum proteins (% TS)	Non-protein nitrogen matter (% TS)
94.5	83.9	75.9	8.4	8.0	7.2	0.8

The UF permeate was prepared by ultrafiltration of a fresh skim milk at 12 °C (membrane 6338 HFK 328, cut-off of 5 kDa, Koch Membranes Systems, The Netherlands). Caseins and whey proteins were eliminated through this operation. The ionic composition of UF permeate was: 3.3 mM Mg²⁺, 18.0 mM Na⁺, 42.7 mM K⁺, 7.5 mM Ca²⁺, 29.0 mM Cl⁻, 7.5 mM citrate, 9.9 mM phosphate (all values are given as averages with ± 5 % standard deviations) (see Jenness et Koops (1962) for a full description of methods). Cations (Ca, Na, Mg, K) were determined by atomic absorption spectrophotometer (SpectrAA 220FS, Agilent Technologie, Les Ulis, France) and anions (inorganic phosphates, citrates and chlorides) by chromatography method (Dionex ICS 3000 HPLC, Thermo Fischer Scientific, Villebon Courtaboeuf, France). Thiomersal and sodium azide, both purchased from Sigma-Aldrich (ST. Louis, MO, USA), were added to the UF permeate as preservatives at 0.02 wt. % and 0.05 wt. %, respectively.

The casein micelle dispersions were prepared by thoroughly mixing the casein isolate powder with UF permeate at 35 °C for 15 h as previously suggested (Gaiani *et al.* 2006). The dynamic light scattering analysis of casein micelle dispersions confirmed that casein micelle dispersions had a particle size distribution from 50 to 500 nm with an average diameter of 130 nm that is similar to that of native casein micelles. The pH of dispersions was 6.7 ± 0.1 at 20 °C, i.e. the pH value of a fresh skim milk.

III.2.2.

Osmotic stress experiments

The osmotic stress technique is based on water exchange between casein micelle dispersions in a dialysis bag and a reservoir of known osmotic pressure made of polyethylene glycol (PEG) solutions prepared in UF permeate (Parsegian *et al.* 1986 ; Bouchoux *et al.* 2009a ; Nair *et al.* 2014 ; Qu *et al.* 2015). After pressure equilibrium was reached between the bag and the reservoir, the water content in the dispersion was measured and the relation between osmotic pressure and casein concentration was obtained.

III.2.2.1. Stressing solutions

The stressing solutions were prepared by diluting PEG in UF permeate. Two PEGs were used, both purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). A PEG with molecular weight of 35 kDa was used for the osmotic stress experiments at pressures under 500 kPa. According to Bouchoux *et al.* (2009a), 500 kPa corresponds to a casein concentration of 500 g/L at 20 °C. For osmotic pressures higher than 500 kPa, PEG 35 kDa could not be used because of its low solubility: 500 kPa corresponds to a concentration of 20 wt. % of PEG 35 kDa, which is almost the saturation concentration. Therefore, PEG 20 kDa was chosen for stressing solutions at osmotic pressure above 500 kPa, as its solubility goes up to 50 wt. %.

III.2.2.2. *Theoretical development for osmotic pressure determination*

Currently, two different equations that relate osmotic pressure of PEG solution with PEG concentration were presented in the literature.

Firstly, in several works (Parsegian *et al.* 1986 ; Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b, 2010, 2014 ; Qu *et al.* 2015), authors used Eq.III.1 in order to calculate osmotic pressure by using only PEG concentration:

$$\log(\pi) = a + b [PEG]^c \quad \text{Eq.III.1}$$

where π is the osmotic pressure (Pa), [PEG] is PEG concentration (wt. %), and fitting parameters are equal to:

$a = 0.49, b = 2.50, c = 0.24$ for PEG 35 kDa at 20 °C (Bouchoux *et al.* 2009a),

$a = 0.57, b = 2.75, c = 0.21$ for PEG 20 kDa at 20 °C (Parsegian *et al.* 1986).

Unfortunately, this equation applies only at 20°C.

Secondly, an equation of state for PEGs with different molecular weights, was proposed by Cohen *et al.* (2009) to determine the osmotic pressure π (Pa) :

$$\pi N^{9/5} = \pi \left(\frac{M}{M_m \times 1000} \right)^{9/5} = \frac{RT}{M_m \bar{V}} \left[\left(\frac{C}{C_N^*} \right) + \alpha \left(\frac{C}{C_N^*} \right)^{9/4} \right] \quad \text{Eq.III.2}$$

where N is the number of monomers per polymer chain, M is the molar mass of PEG (Da), M_m is the monomer molecular weight of PEG (g/mol), R is the universal gas constant ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$), T is the temperature (K), \bar{V} is the polymer partial specific volume (m^3/g), C is the PEG concentration (g/m^3), α is the crossover index (fitting parameter), and C_N^* is the characteristic N-dependent polymer concentration. All chemical specificities appear in only one parameter, the crossover index α , which is related to a number of physical properties: microscopic structure, Flory radius, monomer size and volume, and strength and range of interactions. The parameter C_N^* is associated with the crossover between dilute and semi-dilute regimes. It is defined as $C_N^* \sim N^{-4/5} \bar{V}^{-1}$ and corresponds to a semi-quantitatively defined polymer overlap concentration (Yamakawa 1971 ; de Gennes 1979). According to Cohen *et al.* (2009), C_N^* is defined as the concentration where $\pi_{vH} = \pi_{dC}$ (with π_{vH} and π_{dC} the values of osmotic pressure calculated from the van't Hoff's law and des Cloizeaux (1975) osmotic pressure expression respectively), and therefore, $C_N^* = \alpha^{-4/5}$. When plotting $\pi N^{9/5}$ versus C/C_N^* , experimental data for PEG of any molecular weights from 300 Da to 20 kDa collapse to a single master curve. This gives $\alpha = 0.490$ for $\bar{V} = 0.825 \text{ mL/g}$ and $M_m = 44 \text{ g/mol}$ at 20 °C for PEG of 300 to 20 kDa.

Contrary to the study of Cohen *et al.* (2009), recent publications (Cohen *et al.* 2012 ; Li *et al.* 2015) have shown that there is a systematic dependence of α on the polymer chain length N and that α decreases monotonically toward an asymptotic value α^* :

$$\alpha(N) = \alpha^* [1 + bN^{-p}] \quad \text{Eq.III.3}$$

where $\alpha^* = 0.43 \pm 0.02$, $b = 5.3 \pm 1.4$ and $p = 0.84 \pm 1.5$. According to Eq.III.3, the calculated values of $\alpha = 0.434$ and $\alpha = 0.432$ are obtained at 20 °C for 20 kDa and 35 kDa PEG respectively

In the literature, there is no equation relating π and C for PEG at 7 °C. Only experimental data provided on a website by Rand (n.d.) (data are reported verbatim from the website in the supporting information in Appendix 1) are available for PEG 20 kDa at 20 and 7 °C. These data were fitted with the help of Eq.III.2 and presented in Figure III.1 together for the same PEG at 20 °C. For the data obtained at 7 °C, the value of temperature-dependent parameter $\bar{V} = 0.813 \text{ mL/g}$, which is required for the fitting, was derived from the experimental $\bar{V}(T)$ data of a previous work (Cruz *et al.* 2009) by extrapolation, and the value of α was obtained by the fitting.

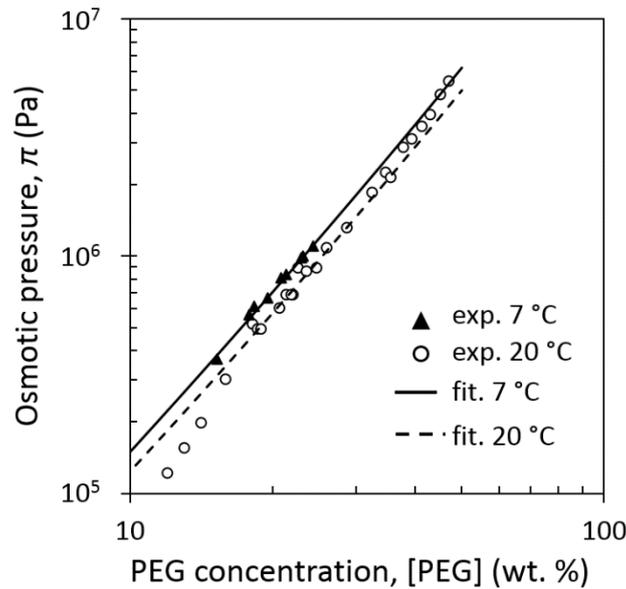


Figure III.1. Osmotic pressure versus concentration of PEG 20 kDa. Experimental results of Rand website (Rand (n.d.)) (symbols) and least square fits with the help of Eq.III.2 (curves).

Application of Eq.III.2 results in a fairly good fitting of experimental data on Rand website (Rand (n.d.)) both for 7 °C and 20 °C. For 7 °C, the obtained value of fitting parameter is $\alpha = 0.573$. It was assumed that at 7 °C the values of α determined by the fitting for 20 kDa is equal to that for 35 kDa PEG, as soon as α only slightly changes in this range of molecular weight, as predicted from Eq.III.3. Therefore, the value $\alpha = 0.573$ was used for the calculation of osmotic pressure with the help of Eq.III.2 at 7 °C both for 20 and 35 kDa PEG solutions in our experiments.

Previous works (Jönsson *et al.* 2011 ; Li *et al.* 2015) compared osmotic pressures of silica dispersions obtained by osmotic stress technique with PEG 35 kDa with those theoretically calculated via Monte Carlo simulations. They showed a discrepancy of a factor of around two between the results of simulation and the experimental data, when the latter was treated with the help of Eq.III.1. They also showed that there was a perfect match of experimental data with the theoretical predictions, if Eq.III.2 was used for the data treatment. They explained this difference by a flaw in the experimental data of Bouchoux *et al.* (2009a) that resulted in erroneous values of fitting parameters of Eq.III.1 for the stressing polymer PEG 35 kDa. This error does not influence general conclusions of previous studies (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b, 2009b, 2010, 2014 ; Qu *et al.* 2015). However, in the present study, Eq.III.2 was used in order to determine osmotic pressures from PEG equilibrium concentrations.

III.2.2.3. Experimental protocol

Standard regenerated cellulose Spectra/Por 2 dialysis bags of 16 and 29 mm diameters with a cut-off of 12 – 14 kDa were used (Repligen, Waltham, Mass, USA). These bags were chosen to allow exchange of water, ions and lactose but not casein micelles or PEG. Dialysis bags were washed with UF permeate and conditioned during at least thirty minutes in UF permeate. Casein micelle liquid dispersions at 20 or 100 g/L were used to reach concentrations from 20 to 100 g/L or 100 to 700 g/L, respectively. Those casein micelle dispersions were introduced into thoroughly closed dialysis bags and then immersed in the stressing solutions kept at 7 °C or 20 °C under a low agitation of 100 rpm. In order to obtain a sufficient amount of concentrated dispersion, the bags were refilled with casein micelle

dispersions several times during 2 – 7 d. The polymer stressing solution was changed after 7 – 15 d to limit its dilution and/or pH variation. The target pH was 6.7 ± 0.1 .

To avoid the proteolysis of casein micelles that occurs after 7 d of dialysis for osmotic stress under 5 kPa (Bouchoux *et al.* 2009a), osmotic stress experiments performed at low pressures were equilibrated during 7 d. A measurement after 14 d, similar to the one obtained after 7 d, confirmed that the equilibrium was effectively reached after 7 d. For osmotic stress beyond 5000 Pa, since the concentration was quicker, the proteolysis was negligible at high concentrations (Bouchoux *et al.* 2009a) so the samples were equilibrated during 30 d.

All measurements were repeated at least two times.

Casein concentration and effective volume fraction calculations

After equilibrium was reached, the casein concentration in dialysis bags [Cas] (in wt. %) was calculated with the help of Eq.III.4 :

$$\text{III.2.3.} \quad [\text{Cas}] = \frac{TS_{\text{powder}} \cdot (1 - \text{NCN}) \cdot (TS_{\text{disp}} - TS_{\text{uf}})}{(1 - TS_{\text{uf}})} \quad \text{Eq.III.4}$$

where TS_{powder} , TS_{disp} and TS_{uf} are the total solid contents in the powder, in the dispersion and in the UF permeate, in wt. %, respectively and NCN is the amount of non-casein nitrogen matter in the isolate casein powder (Table III.1). The total solid contents in the casein isolate powder, all dispersions, and UF permeate were obtained by weighing the sample after drying for 7 h at 105 °C (AFNOR Norme française NF V04-348 1978).

The casein concentration in the sample (expressed in g of casein per L of sample), is then calculated as

$$[\text{Cas}]_{\text{g/L}} = \frac{1000}{0.733 + (1 - TS_{\text{disp}})/[\text{Cas}]} \quad \text{Eq.III.5}$$

For the derivation of Eq.III.5, it is assumed that dispersion consisted in a dispersion medium, having density of pure water, and casein, which density is inverse to its weighted average partial specific volume 0.733 mL/g. This value is determined from the individual casein amino acid sequences (Morris *et al.* 2000).

Finally, the effective volume fraction ϕ_{eff} of casein micelles in dispersion is defined as:

$$\phi_{\text{eff}} = v[\text{Cas}]_{\text{g/L}} \quad \text{Eq.III.6}$$

where v is the apparent voluminosity of casein micelle equals to 4.85 mL/g at 7 °C and 4.1 mL/g at 20 °C (Nöbel *et al.* 2012) for pasteurized skim milk. It should be noted that other authors took a different value of apparent voluminosity such as $v = 4.4$ mL/g at 20 °C, which is the value for native (non-pasteurized) casein micelles (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b ; De Kruif *et al.* 2012). As the casein isolate powder used in the current study was obtained from pasteurized milk, the values of apparent voluminosity reported by Nöbel *et al.* (2012) were used in the following calculations.

The so-called effective volume fraction gives an indication of the deformation and compression experienced by casein micelles at high concentrations (Bouchoux *et al.* 2009a). When $\phi_{\text{eff}} > \phi_{\text{eff,max}}$, where $\phi_{\text{eff,max}}$ is the volume fraction at random close-packing of casein micelles, $\phi_{\text{eff,max}} = 0.68 - 0.8$ (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b ; Dahbi *et al.* 2010 ; Nair *et al.* 2014 ; Jin *et al.* 2014b), casein micelles start to be partially deformed. Then, $\phi_{\text{eff}} > 1$ indicates that the casein micelles are compressed to a lower volume, i.e. partially de-swelled and compressed.

Rheology

Rheological behavior of concentrated casein micelle dispersions was studied through flow and oscillatory experiments. Samples were either prepared by dissolution of casein isolate powder in UF permeate for concentrations below 140 g/L or by osmotic stress in dialysis bags of 45 mm diameter for concentrations above 140 g/L. Steady shear viscosities were measured for liquid-like casein micelle dispersions, say in the compression regimes 1 and 2. Oscillatory experiments were performed for dispersions in a large range of concentrations from 101 g/L to 350 g/L, being in the regimes 2 and 3.

Flow measurements were performed using a Low Shear 400 viscometer (Lamy Rheology, Champagne au Mont d'Or, France) using a Couette geometry (inner and outer radii = 5.5 and 6.0 mm, shear rate = 0.1208-120 s⁻¹) for dispersions from 101 to 135 g/L and a DHR2 rheometer (TA Instruments France, Guyancourt, France) with a cone-plate geometry (diameter = 25 mm, angle of 2°, shear rate = 0.1 to 1000 s⁻¹) for dispersions from 147 to 174 g/L. The viscosity of the UF permeate, defined as η_s , was measured with the Low Shear 400 and was 1.795 mPa·s at 7 °C and 1.242 mPa·s at 20 °C.

The rheometric measurements were performed at the same temperature as the one for production of casein micelle dispersions, either at 20 or at 7 °C. A closed cover and mineral oil were used in order to prevent evaporation.

Viscosity was measured at increasing shear rates at steady state, i.e. after a time of stabilization between 1 and 20 minutes. On the DHR2 device, after the measurement at the highest shear rate, measurements at 3 and then 30 s⁻¹ were performed to check if the initial sample structure was irreversibly damaged by the measurements. It was concluded that the samples were not damaged irreversibly since values obtained after the shear rate decreasing to 3 and 30 s⁻¹ were consistent with that obtained during shear rate increasing.

The dimensionless relative viscosity of dispersions was calculated as:

$$\eta_r = \eta / \eta_s \quad \text{Eq.III.7}$$

where η is the sample viscosity (Pa·s).

Oscillatory shear measurements were performed with the DHR2 rheometer using the same cone-plate geometry than above. At higher concentrations, the dispersions behaved as solids, and parallel plates with grooved surfaces (diameter = 20 mm) were used. Solid-like samples were cut in cylindrical pieces of 2 cm of diameter and 4 mm height at the studied temperature. Then the sample was quickly transferred onto the lower plate, and the upper plate was gently lowered until the sample filled the gap and a constant normal force of around 0.2 N was reached. The sample initially stored at the measured temperature (7 °C or 20 °C) was conditioned at rest at the corresponding studied temperature during 10 – 15 min before measurement. Viscoelastic moduli were first measured as a function of stress at the frequency of 1Hz. A strain of 1%, located in the linear viscoelastic region, was applied in a frequency sweep (10 – 0.1 Hz).

All measurements were repeated at least two times.

III.3. Results

Equation of state of casein micelle dispersions

III.3.1.1. Equation of state at 20 °C

In order to compare in details our data at 20 °C to those from previous publications, osmotic pressures of Bouchoux *et al.* (2009a, 2014) have been recalculated by using Eq.III.2 and represented in Figure III.2. The $\pi([Cas])$ dependency (Figure III.2) followed the typical trend with three compression regimes already described in literature (Bouchoux *et al.* 2009a). In the current work,

(1) until around 170 g/L, osmotic pressure was proportional to the casein concentration, $\pi \propto [Cas]_{g/L}^1$, which corresponds to the dilute regime, where casein micelle dispersions are liquids;

(2) from 170 to 214 g/L osmotic pressure was no longer directly proportional to casein concentration and started to rise faster, which corresponds to the transition phase, where casein micelle interactions become stronger;

(3) beyond 214 g/L osmotic pressure rose much faster, as around the sixth power of casein concentration, $\pi \propto [Cas]_{g/L}^6$, that corresponds to the concentrated regime, where casein micelles behave as soft solids.

Our results were similar to those from the literature (Bouchoux *et al.* 2009a, 2014) for casein concentrations from 25 to around 350 g/L. But beyond 350 g/L, i.e., in the concentrated regime, casein micelle dispersions studied in the current work became more concentrated (by a factor of about 1.3) than those studied previously at the same values of osmotic pressure. It means that casein micelles used in the current work were easier to concentrate than those studied by previous authors (Bouchoux *et al.* 2009a, 2014).

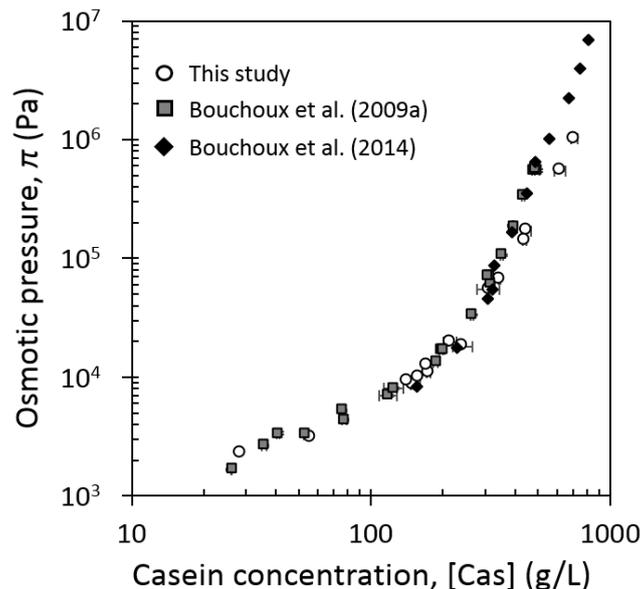


Figure III.2. Osmotic pressure of casein micelle dispersions in UF permeate as a function of casein concentration at 20 °C. Results of the current work with casein isolate powder obtained from pasteurized milk (open circles); results of Bouchoux *et al.* (2009a) recalculated with Eq.III.2 for native (non-pasteurized) casein isolate (called Native PhosphoCaseinate, NPC) (solid squares); results of Bouchoux *et al.* (2014) recalculated with Eq.III.2 for non-pasteurized NPC (solid diamonds).

III.3.1.2. *Effect of temperature on equation of state*

Figure III.3 shows the comparison of the equations of state of casein micelles at 7 °C and 20 °C.

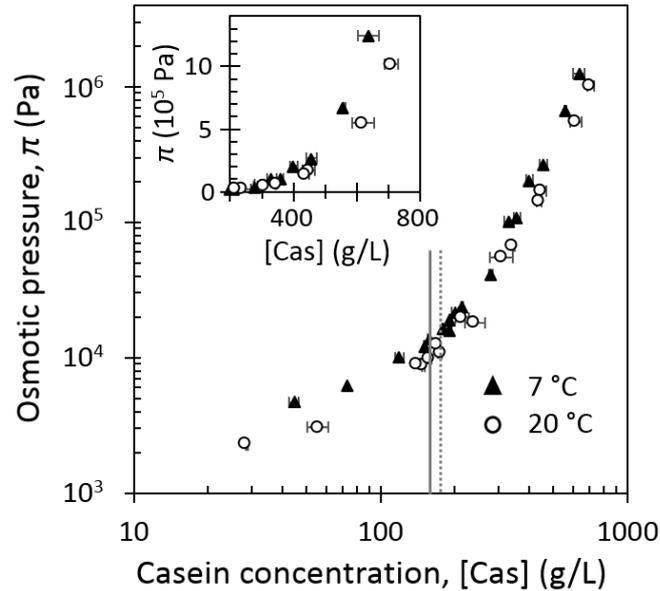


Figure III.3. Osmotic pressure π of casein micelle dispersions in UF permeate at 7 °C (solid triangles) and at 20 °C (open circles) as a function of casein concentration (in g/L), vertical lines correspond roughly to changes of slope at 7 °C (solid line) and 20 °C (dashed line). Insert details high-concentration regions in linear coordinates.

As well as at 20 °C (Figure 2), three different compression regimes could be identified at 7 °C (Figure III.3). However, at 7 °C the corresponding border concentrations, i.e. at slope changes, seemed to be shifted to lower concentrations, as compared to those at 20 °C. At 7 °C the border between the dilute and the transition regimes was located around 150 g/L, while concentrated regime began at around 170 g/L.

Regardless of the π value, casein concentration was higher at 20 °C than at 7 °C. This difference increased at high casein concentration (insert in Figure III.3). At 7 °C, casein micelle dispersions needed an osmotic pressure twice higher than at 20 °C in order to reach the concentration of 600 g/L. This emphasized a novel important information: at 20 °C casein micelles were easier to concentrate than at 7 °C.

Influence of temperature on rheology and sol-gel transition of casein micelle dispersions

III.3.2.1. *Flow measurements*

III.3.2.1.1. *Influence of temperature on viscous flow*

The influence of temperature on the flow properties of casein micelles dispersions has been investigated by rheometric measurements (Figure III.4) performed at the same temperature as the one for production of dense dispersions, respectively at 7 °C (Figure III.4a) and 20 °C (Figure III.4b).

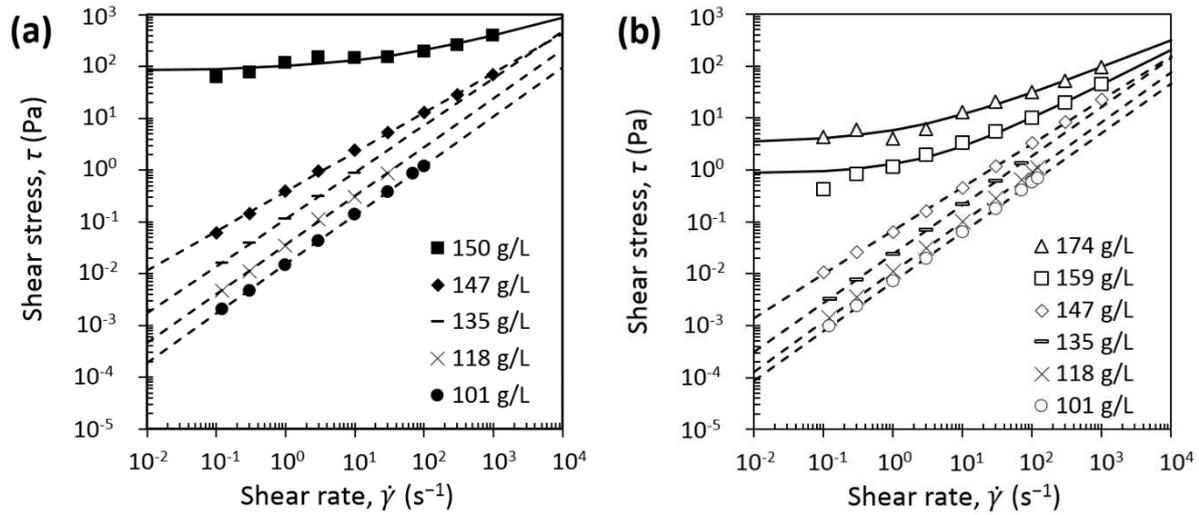


Figure III.4. Flow curves of casein micelle dispersions in UF permeate at (a) 7 °C and (b) 20 °C. Dashed lines correspond to power law fitting with Eq.III.8 and solid lines correspond to Herschel-Bulkley law fitting with Eq.III.9. The rheometric measurements were performed at the same temperature as the one for fabrication of casein micelle dispersions, respectively at 7 and at 20 °C.

The steady state flow curves (Figure III.4) exhibited changes in rheological behaviors with the increase of casein micelles concentration. A change from Newtonian to shear thinning to a yield stress fluid is evidenced at increasing casein micelle concentrations regardless of the measured temperature (7 °C and 20 °C) that is in a good agreement with the literature data at 20 °C (Bouchoux *et al.* 2009b ; Dahbi *et al.* 2010 ; Nair *et al.* 2014 ; Jin *et al.* 2014b). For the two studied temperatures, at the lowest studied casein micelle concentration [Cas] = 101 g/L, the dispersions behaved quite as Newtonian fluids over the studied range of shear rates with slopes of 0.95 at 7 °C and 0.96 at 20 °C. At higher concentrations (118, 135 and 147 g/L), both casein micelle dispersions at 7 and 20 °C exhibited a shear thinning behavior. At higher concentrations, a yield stress is detected from 150 g/L for the dispersions measured at 7 °C (Figure III.4a) and from 159 g/L for the dispersions measured at 20 °C (Figure III.4b). Remarkably the yield stress measured at 20 °C at 159 g/L was equal to 1 Pa, which is significantly lower than the one measured at 7 °C, equal to 83.2 Pa, even at a lower concentration of 150 g/L. This huge difference in the two yield stress values measured at the two equilibrium temperatures would certainly be linked to a deep change in the structural organization or internal mutual interactions within the casein micelle dispersions. In order to better quantify these changes, flow curves (Figure III.4) were fitted with rheological models such as the power (Eq.III.8) or the Herschel-Buckley (Eq.III.9) law depending on the casein micelle concentration and conditioning temperature. Shear-thinning at high shear rates is a common phenomenon and has already been pointed out by previous works for casein dispersions at 20 °C (Bouchoux *et al.* 2009b ; Jin *et al.* 2014b). This behavior can be described by a power law:

$$\tau = K \dot{\gamma}^n \quad \text{Eq.III.8}$$

where τ is the shear stress (Pa), K is the consistency (Pa·s^{*n*}), $\dot{\gamma}$ is the shear rate (s⁻¹), and n is the shear-thinning index. This model was successfully applied to our experimental data (dashed lines in Figure III.4). At higher concentrations, dispersions exhibited a gel consistency and yield stresses emerged on the flow curves. In this case, Herschel-Bulkley viscoplastic model was used for curve fitting:

$$\tau = \tau_0 + K \dot{\gamma}^n \quad \text{Eq.III.9}$$

where τ_0 is the yield stress (Pa). The results of the fitting are presented in Figure III.4 by solid curves.

III.3.2.1.2. Influence of temperature on viscosity of the solvent

Another way to present the effect of temperature on the rheological properties of casein micelles dispersions, is to calculate from the rheometric data of Figure III.4 the relative viscosity as a function of the shear rate applied (Figure III.5).

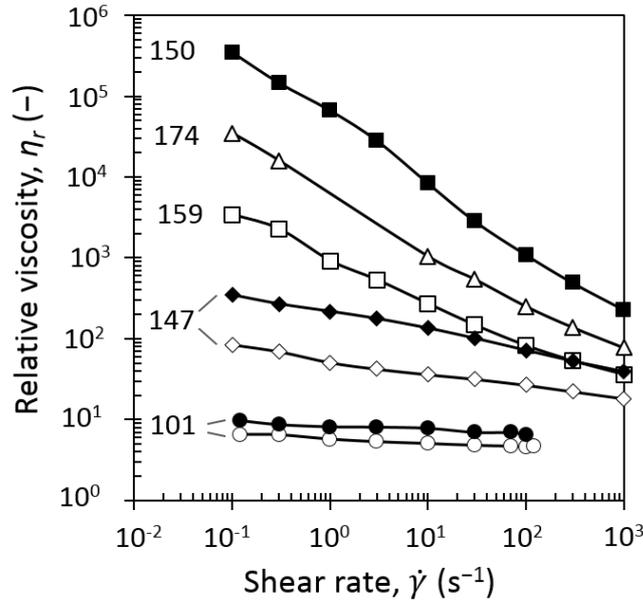


Figure III.5. Shear rate dependence of relative viscosity for casein micelle dispersions in UF permeate at 7 °C (solid symbols) and at 20 °C (open symbols). Casein dispersions concentrations $[Cas]_{g/L}$ are shown near the curves. The curves serve as a guide to the eye. The rheometric measurements were performed at the same temperature as the one for fabrication of casein micelle dispersions, respectively at 7 and at 20 °C.

Application of relative viscosity allows to eliminate the explicit influence of the temperature on the viscosity of the solvent phase. For the studied range of casein concentration, relative viscosities of casein micelle dispersions were higher at 7 °C than at 20 °C, which reinforced the conclusions obtained on the changes in yield stress values for these dispersions.

III.3.2.1.3. Changes in consistency and shear-thinning index at 7 °C and 20 °C

Figure III.6 represents the fitted parameters of rheological models as a function of the casein concentration obtained at 20 °C in the current work in comparison with previously published data (Bouchoux *et al.* 2009b ; Jin *et al.* 2014b).

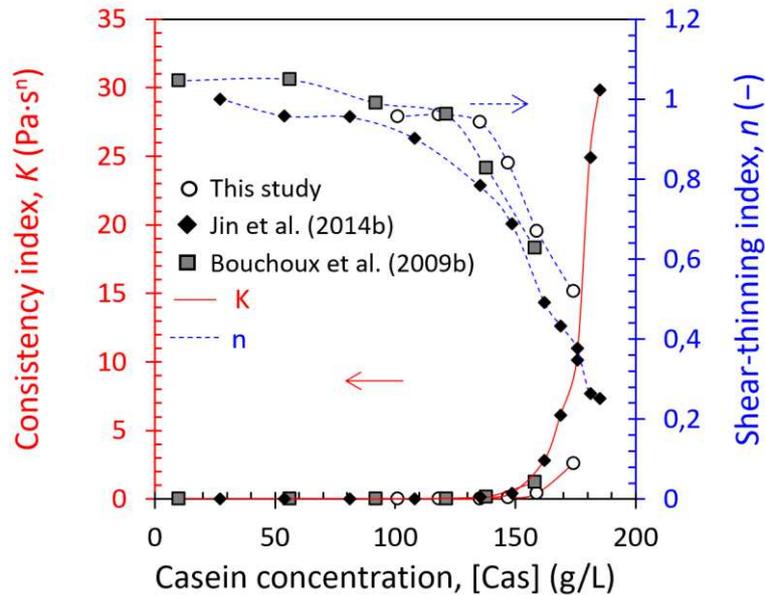


Figure III.6. Consistency K (solid red curves) and shear thinning index n (dashed blue curves) as a function of casein concentration at 20 ± 3 °C obtained in this work (open circles), by Bouchoux *et al.* (2009b) (solid squares) and Jin *et al.* (2014b) (solid diamonds). The curves serve as guides to the eye. (For interpretation of the references to color in this figure, the reader is referred to the web version of this article).

Regardless of the authors, results were quite similar. The values of consistency and shear-thinning index remained respectively low and stable (K under 1 and n close to 1) until around 160 g/L. Beyond this critical concentration, the consistency increased and the shear-thinning index decreased strongly with the increase in the casein concentration. Jin *et al.* (2014b) determined an estimated value of sol-gel transition concentration of 185 g/L through a percolation law on their yield stress data. Unfortunately, Bouchoux *et al.* (2009b) and the current work did not present sufficient experimental points beyond 170 g/L to determine the sol-gel transition concentration through a percolation law. Another method used by Bouchoux *et al.* (2009b) has been preferred to determine sol-gel transition concentration and will be presented in III.3.2.2.2. Regardless of the methods used, a same sol-gel transition at 178 - 185 g/L was obtained.

Despite the use of different casein micelle materials, the trend of the current work at 20 °C was quite similar to the literature. In these experiments, Bouchoux *et al.* (2009b) used 'native' casein isolate powder (manufactured from non-pasteurized milk and called Native PhosphoCaseinate, NPC by the authors) solubilized in a UF permeate and Jin *et al.* (2014b) used the same casein isolate powder as in the current work, but solubilized in water.

Figure III.7a shows the comparison of consistency and shear-thinning index at equilibrium conditioning temperature of 7 and 20 °C as a function of the casein concentration. At 7 °C, 150 g/L appeared as the critical concentration of the strong increase of K and the decrease of n and was lower than at 20 °C that is around 160 g/L. The respective decrease of shear-thinning and increase of consistency were quite soft and stable at 20 °C at the critical value compared to 7 °C which were very strong as detailed in the insert by the derivatives of K and n on casein concentration. Figure III.7b takes into account the correction of casein micelle apparent voluminosity by plotting the consistency and the shear-thinning index versus the

casein volume fraction at 7 and 20 °C. Therefore, from our results at 7 and 20 °C, an effective volume fraction of around 0.7 - 0.72 corresponded to the critical value of a behavior change. This estimated value is in accordance with the literature in the range of 0.68 - 0.8 (Bouchoux *et al.* 2009b ; Dahbi *et al.* 2010 ; Nöbel *et al.* 2012 ; Nair *et al.* 2014 ; Jin *et al.* 2014b). However, depending on the authors, the voluminosity used for the calculation of the effective volume fraction is different. By using sol - gel transition concentration determined by Bouchoux *et al.* (2009b) and Jin *et al.* (2014b), respectively 178 and 185 g/L, and using a voluminosity of 4.1 mL/g at 20 °C, the effective volume fraction was equal respectively to 0.73 and 0.76, values very close to the value found in this work.

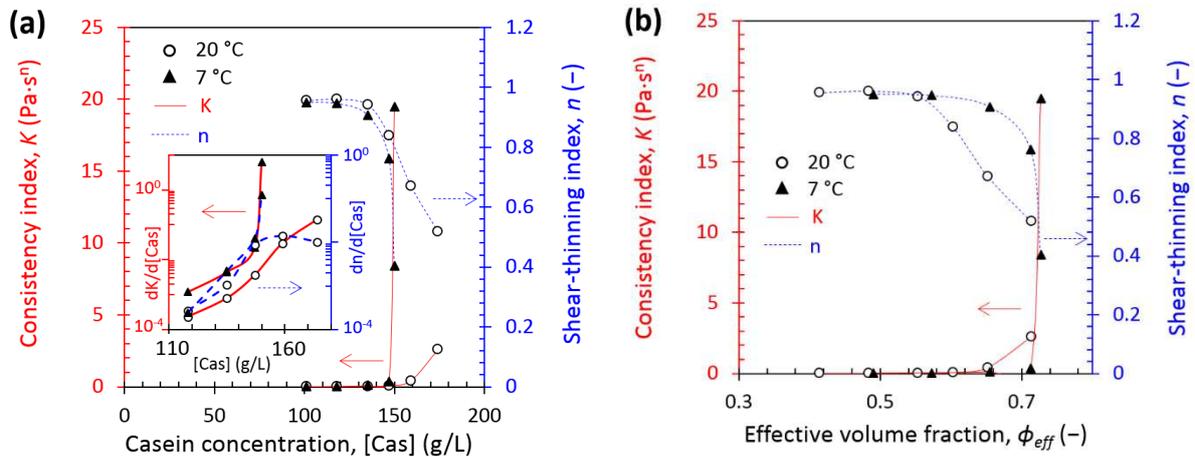


Figure III.7. Consistency K (solid red curves) and shear thinning index n (dashed blue curves) at equilibrium conditioning temperature of 7 °C (solid triangles) and 20 °C (open circles) as a function of (a) casein concentration and (b) casein effective volume fraction. The curves serve as guides to the eye. Insert details derivative of K and n within the concentration. (For interpretation of the references to color in this figure, the reader is referred to the web version of this article).

III.3.2.2. Oscillation measurements

III.3.2.2.1. Viscoelastic properties in the sol-gel transition and above

Figure III.8 shows the frequency dependence of the elastic modulus G' and the loss modulus G'' of casein micelle dispersions with casein concentrations ranging from 137 to 338 g/L. For better readability, only a few concentrations are presented. At [Cas] = 135 g/L casein micelle dispersions behaved as a viscoelastic liquids at 7 and 20 °C with a strong frequency dependence. Then at 7 °C (Figure III.8a), at the concentration of 150 g/L, results showed a dominance of the elastic modulus and a much lower frequency dependence than at 135 g/L. At 20 °C (Figure III.8b) the change of regime with the dominance of elastic modulus did not happen yet at 159 g/L, but at least at 174 g/L. At the highest concentrations, 331 g/L at 7 °C and 345 g/L at 20 °C, G' and G'' slightly varied on frequency, G' clearly dominated G'' and dispersions behaved as viscoelastic solids. Therefore, at 7 °C the change of regime from viscoelastic liquid to viscoelastic solid happened at a lowest concentration than at 20 °C.

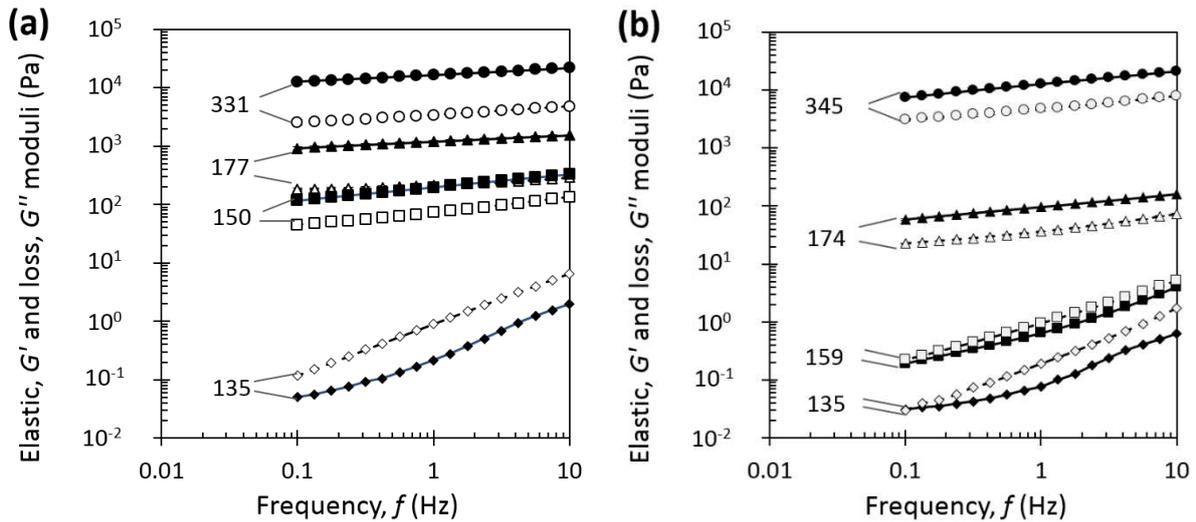


Figure III.8. Frequency dependence of the elastic G' (solid symbols) and loss G'' (open symbols) moduli for casein micelle dispersions in UF permeate at different casein concentrations at equilibrium conditioning temperature of (a) 7 °C and at (b) 20 °C. Casein dispersions concentrations $[Cas]_{g/L}$ are shown near the curves.

III.3.2.2.2. Determination of sol-gel transition

From Figure III.8, elastic and loss moduli at low-frequency (0.1 Hz) and high-frequency (10 Hz) were extracted for each concentration. Figure III.9 gives the concentration dependence at 0.1 Hz and 10 Hz of the elastic modulus at 20 °C from the current work and from literature (Bouchoux *et al.* 2009b). Loss modulus followed the same trend than elastic modulus (results not shown). Curves at both frequencies were very similar and showed a strong increase of elastic modulus with the increase of casein concentration in the range ~ 145 to ~ 180 g/L. At $[Cas] = 174$ g/L in the current work, the elastic G' moduli at 0.1 and 10 Hz have come closer compared to the low concentrations and from this point, they remained in the same ratio. This change in frequency dependence at $[Cas] = 174$ g/L in the current work was taken as the “gel point” of the dispersion and it was in great agreement with previous work finding the “gel point” by this method at $[Cas] = 178$ g/L (Bouchoux *et al.* 2009b). It was also similar to the sol-gel transition concentration found by other authors equals to 185 g/L (Jin *et al.* 2014b).

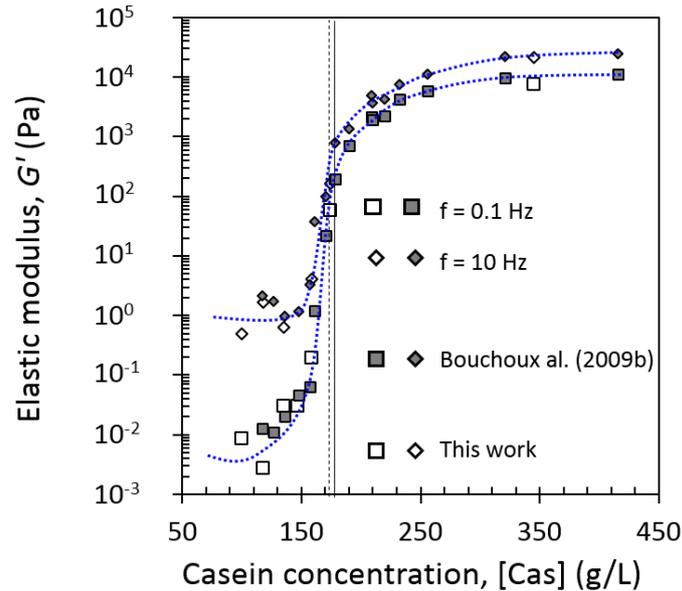


Figure III.9. The low-frequency ($f = 0.1$ Hz, squares) and high - frequency ($f = 10$ Hz, diamonds) elastic moduli of casein micelle dispersions in UF permeate as a function of casein concentration at 20 °C. Results of this work (open symbols) are compared to literature (solid symbols) (Bouchoux *et al.* 2009b). Dashed line corresponds to sol-gel transition concentration at $[Cas] = 174$ g/L. Solid line corresponds to sol-gel transition concentration at $[Cas] = 178$ g/L. The dotted curves serve as guides to the eye.

Figure III.10a gives the concentration dependence of the elastic modulus at 0.1 and 10 Hz for casein micelle dispersions at equilibrium conditioning temperature of 7 °C and 20 °C. In both cases, G' at 0.1 and 10 Hz strongly increased when casein concentration increased. But the steep increase of the modulus happened at a lower range of concentration from 135 to 150 g/L at 7 °C compared to 145 – 174 g/L at 20 °C. In the same way than above, elastic moduli at 0.1 and 10 Hz have come much closer at a lower concentration equals to 150 g/L at 7 °C against 174 g/L at 20 °C and beyond this concentration, they remained in the same ratio. We took those concentrations as “gel points” at 7 and 20 °C. Figure III.10b takes into account the correction of casein micelle apparent voluminosity at 7 and 20 °C and gives the casein effective volume fraction dependence of the elastic modulus obtained at 0.1 and 10 Hz for casein micelle dispersions at 7 °C and 20 °C. Such a correction revealed that at 7 and 20 °C the steep increase of the moduli is observed at the same particle volume fraction of $\phi_{eff\ max} = 0.71$, that is in great agreement with the previously reported data for ambient temperature of 0.68 – 0.8 (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b ; Dahbi *et al.* 2010 ; Nöbel *et al.* 2012, 2016 ; Nair *et al.* 2014 ; Jin *et al.* 2014b) or even of the recalculated effective volume fraction of 0.73 and 0.76 for the respective works of Bouchoux *et al.* (2009b) and Jin *et al.* (2014b) with a voluminosity of 4.1 mL/g at 20 °C.

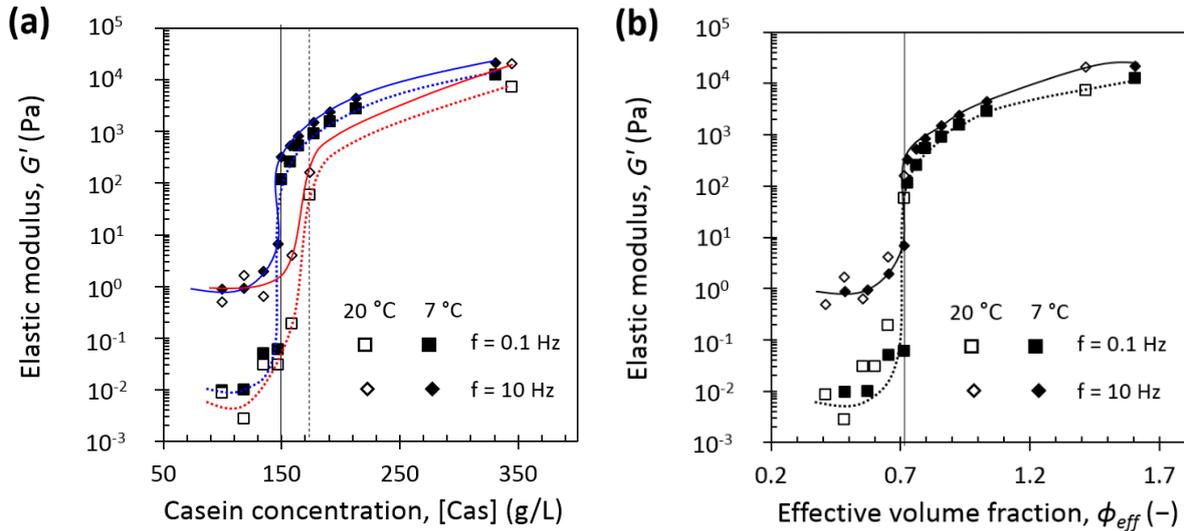


Figure III.10. The low-frequency ($f = 0.1$ Hz, squares) and high-frequency ($f = 10$ Hz, diamonds) elastic G' modulus of casein micelle dispersions in UF permeate at equilibrium conditioning temperature of 7 °C (solid symbols) and at 20 °C (open symbols) as (a) a function of casein concentration. Vertical lines correspond to sol-gel transition concentration of $C = 150$ g/L at 7 °C (solid line) and $C = 174$ g/L at 20 °C (dashed line); (b) a function of effective volume fraction. Solid line corresponds to $\phi_{eff\ max} = 0.71$. The solid and dotted curves serve as guides to the eye.

III.4. Discussion

III.4.1. Influence of the nature of casein micelles dispersions on their compressive and rheological properties at 20°C

Previous works (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b ; Jin *et al.* 2014b) studied compressive and rheological properties of casein micelle dispersions at 20 °C. Bouchoux *et al.* (2009a, 2009b) used NPC powder ('native' casein isolate powder manufactured from non-pasteurized milk) solubilized in a UF permeate and Jin *et al.* (2014b) used the same casein isolate powder as in the current work (casein isolate powder manufactured from pasteurized milk), but solubilized in water. The current work consolidated the results previously obtained by these authors but highlighted also some differences in the concentrated regime.

The results obtained in the current work showed that, below a casein concentration of 350g/L and regardless of the nature of the casein micelle dispersions used in the experiments, the compressive and rheological properties of the casein micelles did not show any difference : the equation of state of casein micelle dispersions of the current work at 20 °C was identical to the one of NPC dispersion under 350 g/L (Figure III.2); the values of consistency and shear-thinning indexes (casein concentration < 200 g/L, Figure III.6), the sol-gel transition and elastic G' moduli (casein concentration < 350 g/L) were quite consistent with values from these previous works.

On the contrary, beyond 350 g/L, at 20 °C (Figure III.2), casein micelle dispersions used in the current work were more easily concentrated than native casein micelles (NPC) used by Bouchoux *et al.* (2009a). The NPC powder contains a lower content in small species, such as serum proteins (4.0 – 5.1 % TS) compared to the casein powder used in the current work (7.2 % TS), but no difference in casein dispersions were observed in the dilute regime from 25 to 150 g/L (Figure III.2) where the osmotic pressure of the dispersion is dominated by the contribution from small peptides (Bouchoux *et*

al. 2009a). As a result, the potential higher content in serum proteins in our dispersions had no significant effect on osmotic pressure changes and the difference in compositions of small species (serum proteins, lactose, etc.) contained in the casein powders cannot explain the observed differences in compressive properties. The cause of difference of compressibility could likely be attributed to difference in casein micelles structure resulting from the difference of casein micelle preparation and heat treatment (pasteurization in our case) applied to the milk prior to microfiltration. High pasteurization temperature results in a denaturation of whey proteins that partly associate with casein micelles (Oldfield *et al.* 2005 ; Martin *et al.* 2007), but such an association does not seem conceivable in our work since the pasteurization is probably done at low time and temperature where too few whey proteins associate with casein micelles (Oldfield *et al.* 2005 ; Martin *et al.* 2007). Some studies suggest that increasing storage temperature implies a decrease of voluminosity of casein micelles (Nöbel *et al.* 2012 ; Liu *et al.* 2013), but a change of total voluminosity of casein micelles is an unlikely possibility because such change in the structure of casein micelles would have been observed on the whole concentrated regime and in the transition regime of the equation of state, and not only in the very high concentrations (i.e. where casein micelles are deformed and de-swelled). However, heat treatment of milk is also responsible for the decrease of soluble calcium phosphate, CaP and therefore for the increase in CaP nanoclusters within the micelles (Brule et Fauquant 1981). Casein micelles are constituted of dense regions made of nanoclusters of CaP and void regions that are filled of water (Bouchoux *et al.* 2010 ; Dalgleish 2011). The higher the number of CaP nanoclusters in the casein micelle, the higher the number of dense regions resulting in less water in the casein micelle core and therefore this could lead to a higher ability to lose water when casein micelles are compressed at high pressures.

Therefore, differences of compressibility at high concentrations are likely due to small differences of structure and composition induced by pasteurization, especially water content of casein micelle core that is revealed during compression but investigations to support this conclusion are still needed.

III.4.2.

Influence of the equilibrium conditioning temperature of casein micelle dispersions on their compressive and rheological properties

An interesting result is the fact that the equilibrium conditioning temperature (7 or 20°C) impacted the compressibility and rheological behavior of casein micelle dispersions. As a reminder, the structure of casein micelles undergoes modifications induced by a low temperature (7°C): hydrophobic interactions are weakened, β -casein and nanoclusters of CaP are released, and thus more water can enter into casein micelles implying a rise in their hydration, diameter and voluminosity.

The differences observed at 7 and 20 °C will be examined in the three concentration regimes defined previously in section III.3.1: dilute, transition and concentrated regimes.

At low casein concentration (dilute regime), casein micelle dispersions behaved as Newtonian fluids both at 7 and 20 °C and the viscosity of casein micelles dispersions was higher at 7°C than at 20°C. Equilibrium conditioning at 7 °C led also to dispersions that were less easy to concentrate compared to 20 °C (Figure III.3).

In this range of concentration, the osmotic pressure only measures the numbers of species and is the sum of contributions from all the non-interacting species in the dispersion (Van't Hoff law). The

shift of the equation of state observed in this regime between 20 and 7°C could be attributed to the release of free soluble casein, mainly β -casein at 7 °C. Indeed, a release of around 35% of total β -casein after 50 h at 4 °C has been reported (Marchin *et al.* 2007). Similarly to Bouchoux *et al.* (2009a), the contribution of β -casein on the osmotic pressure can be estimated by using the Van't Hoff law :

$$\pi = RT \sum_i C_i \quad \text{Eq.III.10}$$

with C_i the concentrations of non-interacting species i , expressed in moles per unit, R , the universal gas constant ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) and T , the temperature (K). We have estimated the osmotic pressure by using two simulations of β -casein release (Figure III.11): (i) a simulation with a 'low' release of 20% of β -casein; (ii) a simulation with a 'high' release of 40% of β -casein to overestimate it. For the simulations, β -casein at 7 °C is considered as a molecule from 7 to 8 nm (Dauphas *et al.* 2005). 'Low' or 'high' contribution (20 and 40 %) of β -casein was added to the contribution of experimental osmotic pressure at 20 °C extrapolated to the solid line. Figure III.11 shows that osmotic pressure calculated with the 'low' contribution reached experimental osmotic pressure at 7 °C whereas the 'high' contribution overestimated experimental osmotic pressure at 7 °C. Therefore, the release of β -casein in the solvent phase could explain the shift between the two equations of state at 7 and 20 °C in the dilute regime.

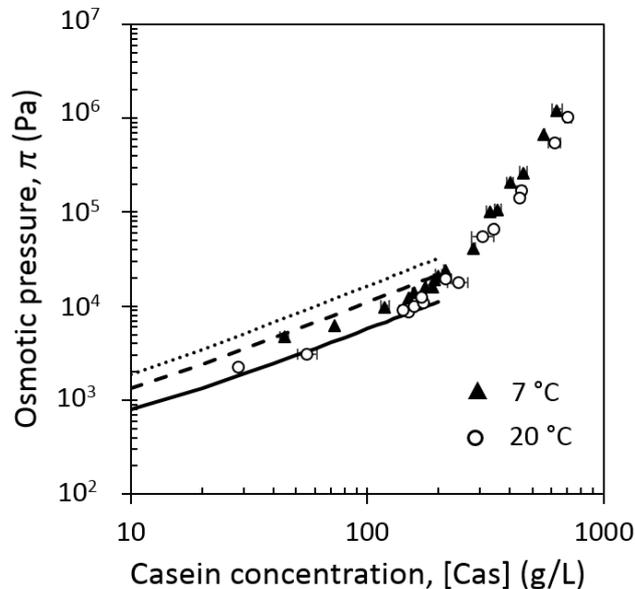


Figure III.11. Osmotic pressure of casein micelle dispersions in UF permeate as a function of casein concentration at 7 °C (solid triangles) and at 20 °C (open circles and solid line) and the predictions of van't Hoff law in the dilute regime. The osmotic pressures were calculated through Eq.III.10, using the estimated number concentrations of: experimental osmotic pressure at 20 °C and β -casein release estimated to 20% of total β -casein (dashed line) and experimental osmotic pressure at 20 °C and β -casein release estimated to 40% of total β -casein (dotted line).

Moreover, in the dilute regime, the differences of viscosity observed between 7 and 20°C could not be attributed to the difference in solvent viscosity with the temperature change, as shown in Figure III.5. The differences in relative viscosities could be explained more probably by an increase of voluminosity of the casein micelles induced by a decrease of temperature as a temperature of 7°C results in higher hydration, higher voluminosity of the casein micelle. The relative viscosity in function of casein concentration or volume fraction is usually modeled with Quemada's equation:

$$\eta_r = \left(1 - \frac{\phi_{eff}}{\phi_{eff\ max}}\right)^{-2} \quad \text{Eq.III.11}$$

In our case, η_r at 7 °C and 20 °C follows Eq.III.12, with $\phi_{eff\ max} = 0.71$ (Figure III.12a). Figure III.12b shows that in the dilute regime, when casein micelle apparent voluminosity is taken into account, a unique Quemada's fit is obtained at 7 and 20 °C. Therefore, a decrease of temperature implies that casein micelles take more space at 7 °C than at 20 °C resulting in an increase of relative viscosity at the same casein concentration.

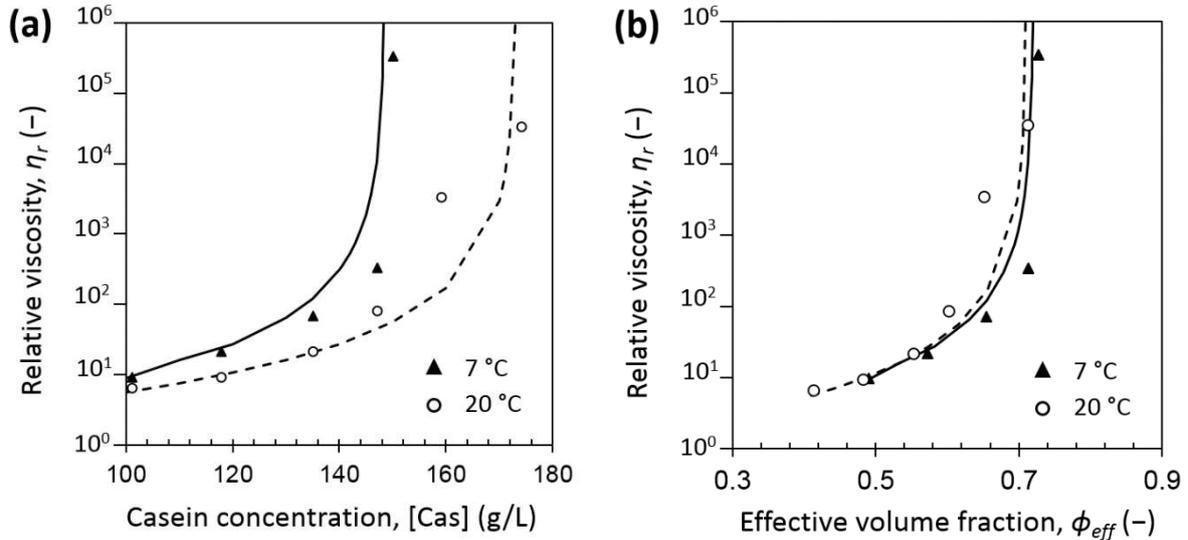


Figure III.12. Relative viscosity at low shear ($0.1\ s^{-1}$) of casein micelle dispersions in UF permeate at 7 °C (solid triangles) and at 20 °C (open circles) as a function of (a) casein concentration and (b) effective volume fraction. The solid and dashed lines are calculated through the Quemada's equation, Eq.III.11, with $\phi_{eff\ max} = 0.71$ at 7 °C and 20 °C respectively.

In the transition regime, casein micelles start to be in contact with each other and a sol-gel transition is observed, due to attractive attraction overcoming repulsive interactions between κ -casein brushes (Bouchoux *et al.* 2009a). In this regime, regardless of the temperature, casein micelle dispersions exhibited a shear-thinning behavior and a yield stress in the transition regime. But remarkably, changes in shear-thinning and consistency behavior (Figure III.4 and Figure III.7a), yield stress values (Figure III.4) and shift from viscoelastic liquid to viscoelastic solid (Figure III.8) were observed at lower concentrations and with stronger intensities at 7 °C compared to 20 °C. Both the osmotic stress experiments and rheological measurements also confirmed a border between the dilute and the transition regimes located around 150 g/L at 7°C and around 160-170 g/L at 20°C.

These results can be explained considering the increase in hydration and voluminosity of the casein micelles with the temperature decrease at 7°C.

The lower sol-gel transition concentration determined at 7 °C compared to 20 °C can be explained by the fact that a particle of higher voluminosity leads to a sol-gel transition regime at lower concentration. When the voluminosity is taken into account, a unique effective volume fraction of 0.71 is found for the sol-gel transition at 7 and 20 °C (Figure III.10b). This result is consistent with the fact that the transition is a jamming transition, ruled by the crowding of the constituent particles and occurring at a same volume fraction for particles of similar polydispersity.

Moreover, the difference of rheological behaviors of casein micelles between 7 and 20 °C is consistent with voluminosity changes of casein micelles at 7 °C compared to 20 °C. In the transition regime, casein micelle dispersions at 7 and 20 °C exhibited a shear-thinning behavior with shear-thinning indexes at 7 °C and 20 °C having very similar values when voluminosity is taken into account (Figure III.7b).

In the concentrated regime, most of the water that separates casein micelles has been removed and compression constrains casein micelles to deform and deswell (Bouchoux *et al.* 2009a). Therefore, in this regime, the applied osmotic pressure corresponds to the compression resistance of casein micelle core that is consistent with an increase in water content in the micellar core (native hydration) due to a decrease in temperature. This increase in native hydration of the core is consistent with the fact that the casein micelle has more affinity with water at 7°C than at 20°C, and this is why it resists more to its own compression in this last regime.

III.5. Conclusions

In this work, we have studied the properties of concentrated casein micelles at 7 and 20 °C by measuring the equation of state, the sol-gel transition and the rheological properties of dense dispersions. Osmotic stress technique is a convenient and non-destructive method to make dense casein micelle dispersions.

Regardless of the temperature, casein micelle dispersions followed the typical three compression regimes with first a dilute regime where casein micelles are not in contact, then a sol-gel transition regime where casein micelles begin to interact and finally a concentrated regime where casein micelles behave as soft solids. The remarkable result of the current work is that casein micelles were less easy to compress at 7 compared to 20 °C.

Identically, regardless of the temperature, dense casein micelle dispersions followed successive rheological behaviors with the rise of concentration. First casein micelle dispersions behave quite as Newtonian fluids, then they exhibit a shear-thinning behavior and a yield stress, and finally a sol-gel transition. The remarkable result of this work is that the changes in shear-thinning behavior, appearance of yield stress and sol-gel transition were observed at lower concentrations and with stronger intensity at 7 °C compared to 20 °C.

Moreover, this work has pointed out that these differences of compressibility and sol-gel transition concentration observed between 7 and 20 °C were fully consistent with a release of soluble β -casein and nanoclusters CaP and an increased casein micelle hydration and apparent voluminosity at 7 °C compared to 20 °C. Therefore, changes in casein micelle structure at 7 and 20 °C were responsible for the lower compressibility and lower sol-gel transition concentration at 7 °C compared to 20 °C.

However, investigations are still needed to support these last conclusions and attempt to quantify and explain the differences of compressibility at 7 and 20 °C, such as a modeling approach.

III.6. Résultats complémentaires

Introduction

Les premiers résultats de ce chapitre montrent que des gels fabriqués à 7 et 20 °C présentent des comportements rhéologiques et des transitions sol-gel différents. Ces différences sont expliquées par un changement de structure et de composition des micelles de caséine sous l'influence de la température. Les gels de micelles de caséine formés sont structurés et mesurés à une température donnée mais aucune comparaison entre les gels obtenus à 7 °C et ceux obtenus à 20 °C ne peut être faite puisque les températures de mesures sont différentes. Il serait alors intéressant de structurer un gel à une température donnée puis de l'équilibrer à une autre température afin de pouvoir comparer les comportements rhéologiques des gels à 7 et 20 °C. A notre connaissance, aucune étude ne s'est intéressée aux propriétés rhéologiques de gels de micelles de caséine après un changement de température. L'objectif de ce paragraphe est d'apporter des éléments de compréhension sur les propriétés rhéologiques de gels de micelles de caséine après un changement de température de 24 h.

Afin de répondre à cet objectif, des gels de micelles de caséine formés par compression osmotique à une température donnée, soit 20 °C soit 7 °C, étaient transférés à 20 °C et à 7 °C pendant 24 h. Les propriétés rhéologiques (en écoulement et en oscillation) des gels étaient alors déterminées à la fin des 24 h afin de comprendre comment évoluent les gels lors d'un changement de température.

Rappels méthodologiques

III.6.2. Pour une description complète et détaillée des matériels et méthodes utilisés dans ce paragraphe « résultats complémentaires », cf. Chapitre II.

III.6.2.1. *Dispersions de micelles de caséine*

Des dispersions de micelles de caséine ont été préparé suivant le protocole développé en chapitre II par dissolution de poudre de micelles de caséine dans du PUF. Ces dispersions sont insérées dans les sacs de dialyse.

III.6.2.2. *Préparation de gels par compression osmotique*

Des dispersions concentrées et gels sont fabriqués par compression osmotique selon le protocole détaillé dans le chapitre II. Les sacs de dialyse sont immergés dans une solution de polymère stresser à une température donnée (soit 20 °C soit 7 °C) afin de concentrer les micelles de caséine à l'intérieur des sacs.

III.6.2.3. *Propriétés rhéologiques après une réversibilité de 24 h*

Le flacon contenant le gel compressé pendant 4 semaines à une température donnée (soit 20 °C soit 7 °C) est transféré pendant 24 h à 7 et 20°C. Ce temps de 24 h a été choisi afin d'équilibrer les gels à la nouvelle température. Les propriétés rhéologiques (en écoulement et en oscillation, cf. Chapitre II et section III.2.4) après les 24 h sont déterminées à la température à laquelle les dispersions étaient soumises pendant 24 h.

Résultats

Le comportement rhéologique de dispersions concentrées à une température T1 (7 ou 20°C) et conditionnées 24 h à une température T2 (7 et 20°C) a été étudié pour mettre en évidence la réorganisation possible des dispersions concentrées sous un changement de température. Les situations de « référence » considérées ont été 20 °C – 20 °C et 7 °C – 7 °C car le conditionnement de 24 h doit être évalué pour savoir si la réorganisation des micelles de caséines au sein du gel sous l'influence de la température est totale ou partielle.

La Figure III.13 représente la viscosité relative, qui permet d'éliminer l'influence de la température sur la viscosité du solvant, en fonction du taux de cisaillement appliqué pour les quatre situations étudiées.

Les dispersions préparées à 20 °C et mesurées à 7 °C après 24h de conditionnement (Figure III.13b), montrent des viscosités supérieures à celles préparées à 20 °C et mesurées à 20 °C (Figure III.13a). Cette augmentation n'est cependant pas suffisante pour retrouver la viscosité d'une dispersion préparée et mesurée à 7 °C (Figure III.13d). De la même manière, des dispersions préparées à 7 °C et mesurées à 20 °C après 24h de conditionnement (Figure III.13c) montrent des viscosités inférieures à celles préparées et mesurées à 7 °C (Figure III.13d). Ces diminutions de viscosités ne sont cependant pas assez fortes pour égaler les viscosités de celles préparées et mesurées à 20°C (Figure III.13a).

Etant donné que la viscosité du solvant (PUF) ne corrige pas totalement les courbes de viscosité (cf. Figure III.5), les résultats observés peuvent être attribués à une réorganisation des gels et de la structure micellaire des caséines avec les changements de température.

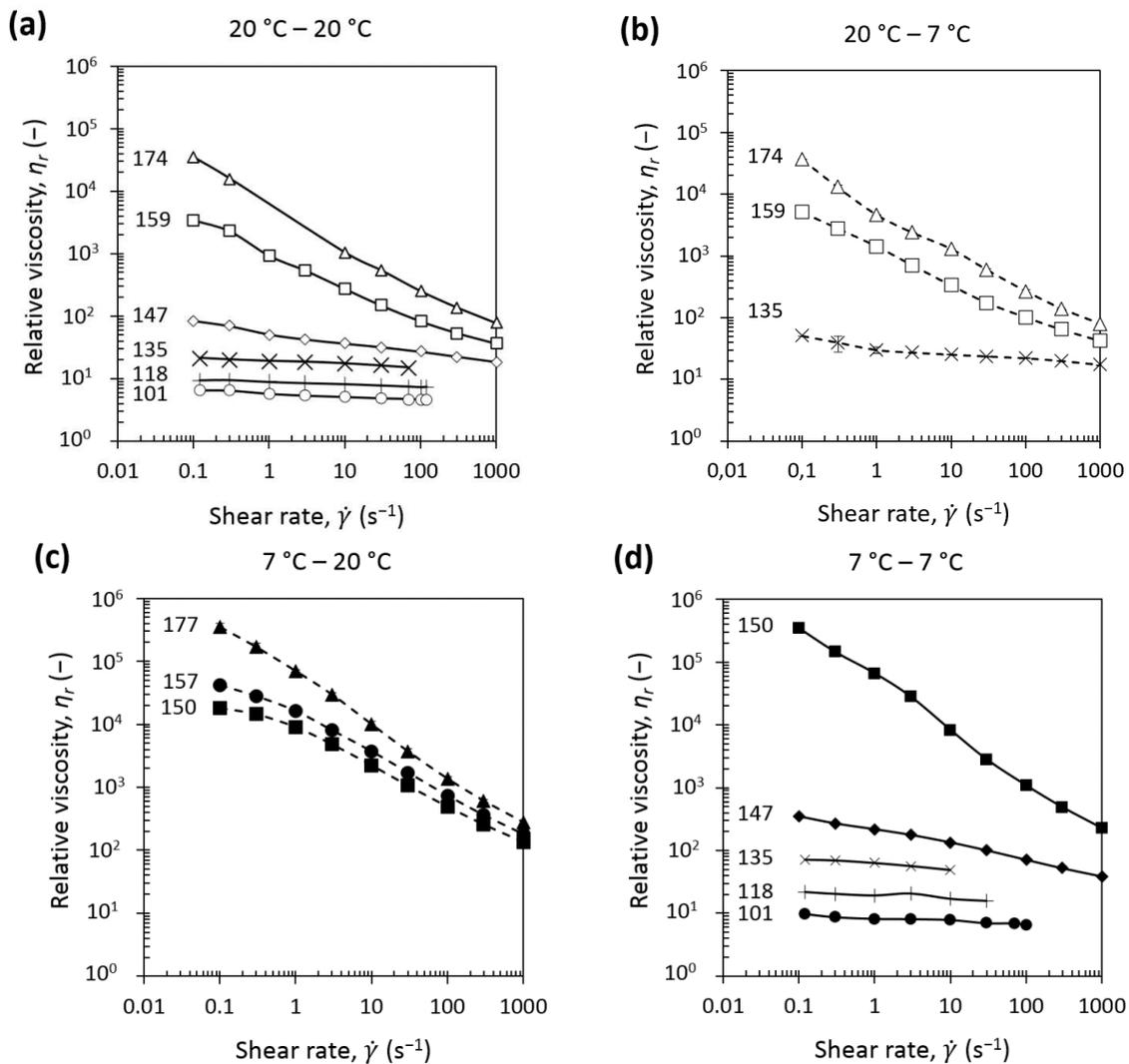


Figure III.13. Shear rate dependence of relative viscosity for casein micelle dispersions in UF permeate produced at (a) 20 °C and after 24 h at 20 °C; (a) 20 °C and after 24 h at 7 °C; (a) 7 °C and after 24 h at 20 °C; (a) 7 °C and after 24 h at 7 °C. Casein dispersions concentrations $[Cas]_{g/L}$ are shown near the curves. The curves serve as a guide to the eye.

La Figure III.14 représente les viscosités relatives des dispersions de micelles de caséine à bas cisaillement (0.1 s^{-1}) pour les quatre situations étudiées. Les résultats sont similaires à ceux observés sur la Figure III.13, un changement de température de 24 h mène à des modifications de structure des dispersions de micelles de caséine. Le changement de comportement rhéologique a lieu vers 175-180 g/L pour 7 °C -20 °C, ce qui est plus élevé que le changement à 150 g/L pour 7 °C – 7 °C et du même ordre de grandeur que la valeur (170 g/L) pour 20 °C – 20 °C. Le changement de comportement rhéologique a lieu vers 170 g/L pour 20 °C – 7 °C ce qui est identique au changement pour 20 °C – 20 °C mais très loin du changement de comportement rhéologique qui a lieu à 150 g/L pour 7 °C – 7 °C.

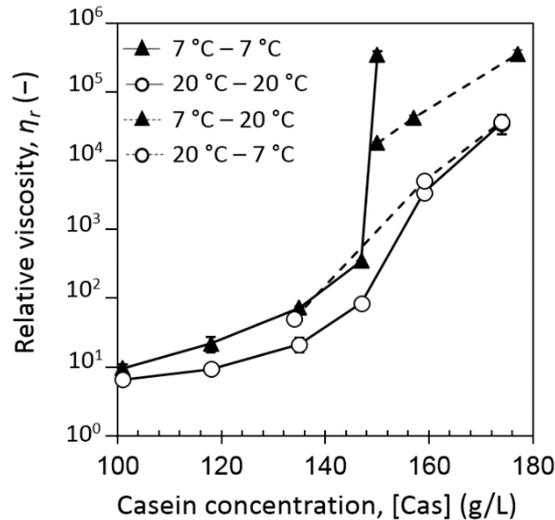


Figure III.14. Relative viscosity at low shear (0.1 s^{-1}) of casein micelle dispersions in UF permeate at 7 °C – 7 °C (solid triangles and solid line), at 20 °C – 20 °C (open circles and solid line), at 7 °C – 20 °C (solid triangles and dashed line) and at 20 °C – 7 °C (open circles and dashed line) as a function of casein concentration.

De manière similaire à la section III.3.2.2, les courbes des modules élastique G' et de perte G'' en fonction de la fréquence (pour plus de clarté, ces graphes ne sont pas représentés) ont été traités afin de ne tenir compte que du module élastique à basse ($f = 0.1 \text{ Hz}$) et haute ($f = 10 \text{ Hz}$) fréquence en fonction de la concentration afin de faire ressortir la concentration de transition sol-gel qui correspond au rapprochement des modules élastiques à faible et haute fréquence qui restent ensuite du même ordre de grandeur (Figure III.15).

Une modification de la concentration en caséine de transition sol-gel a été observée (Table III.2) puisque pour des dispersions 20 °C – 20 °C (pour rappel, ces dispersions ont été compressées 4 semaines à 20 °C puis 24 h à 20 °C), la transition sol-gel se trouve à une concentration d'environ 170 g/L (Figure III.15a) contre environ 170 g/L pour 20 °C – 7 °C (Figure III.15b), environ 180 g/L pour 7 °C – 20 °C (Figure III.15c) et environ 150 g/L pour 7 °C – 7 °C (Figure III.15d). De la même manière que précédemment, des dispersions concentrées préparées à 7 °C et conditionnées pendant 24 h puis mesurées à 20 °C ont une transition sol-gel à environ 175 – 180 g/L qui est augmentée par rapport à la transition à 150 g/L pour 7 °C – 7 °C et s'est rapprochée de la transition vers 170 g/L à 20 °C – 20 °C. Au contraire, des dispersions concentrées produites à 20 °C puis refroidie pendant 24 h à 7 °C n'ont pas changé de transition sol-gel par rapport à 20 °C – 20 °C (170 g/L) et ne se sont pas rapprochées de la transition à 150 g/L à 7 °C – 7 °C.

Table III.2. Concentration de transition sol-gel en fonction de la température de préparation des gels et de la température de conditionnement pendant 24 h.

Température de fabrication T1 (°C)	Température de conditionnement et de mesure T2 (°C)	Concentration de transition sol-gel (g/L)
20	20	170
20	7	170
7	20	180
7	7	150

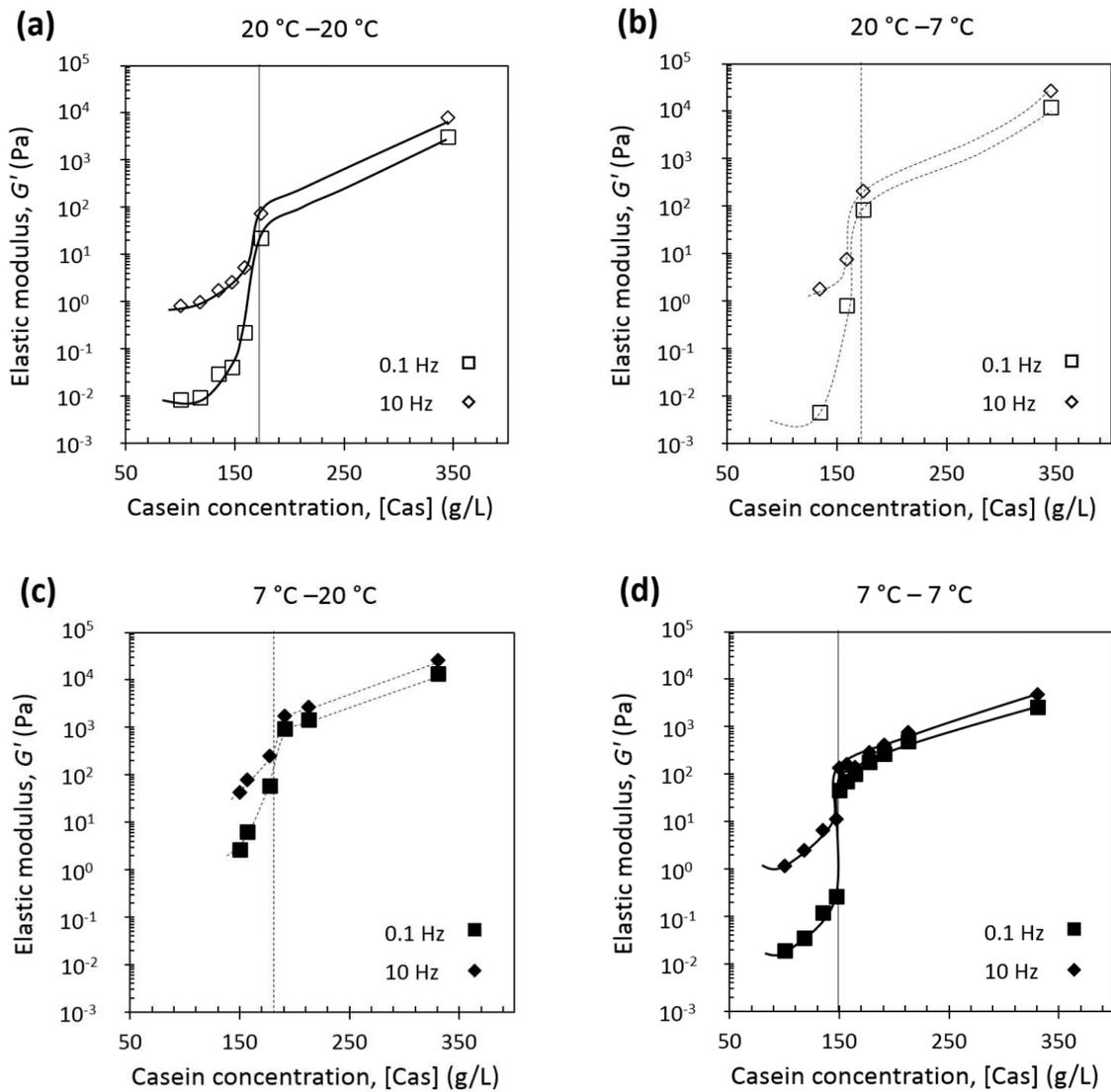


Figure III.15. The low-frequency ($f = 0.1$ Hz, squares) and high-frequency ($f = 10$ Hz, diamonds) elastic G' modulus of casein micelle dispersions in UF permeate produced at (a) 20 °C and after 24 h at 20 °C; (a) 20 °C and after 24 h at 7 °C; (a) 7 °C and after 24 h at 20 °C; (a) 7 °C and after 24 h at 7 °C as a function of casein concentration. Vertical lines correspond to sol-gel transition concentration. The solid and dashed curves serve as guides to the eye.

Discussion

Ainsi il a été montré que lorsque des dispersions concentrées de micelles de caséine sont conditionnées 24h et mesurées à une température différente de leur température de préparation, elles tendent à se restructurer pour se rapprocher du comportement des dispersions préparées et mesurées à leurs températures de préparation (20 °C – 20 °C et 7 °C – 7 °C) puisque des variations de viscosité relative et de transition sol-gel ont été observées lors de ces changements de température. Cependant, ce changement de comportement rhéologique ou de transition sol-gel est plus prononcé lors d'un réchauffement des gels que lors d'un refroidissement car la transition sol-gel des dispersions 7 °C – 20 °C se rapproche de la transition sol-gel des dispersions 20 °C – 20 °C alors qu'aucun changement de transition sol-gel et une faible augmentation de la viscosité relative ont été observés pour les dispersions 20 °C – 7 °C par rapport aux dispersions 20 °C – 20 °C.

Plusieurs explications peuvent être avancées pour comprendre les phénomènes mis en avant par ces résultats. Dans un premier temps, les restructurations des gels de micelles de caséine lors de changements de température peuvent s'expliquer par une réorganisation des micelles de caséine. Lors du réchauffement des gels 7 °C (7 °C – 20 °C), sous l'influence d'une augmentation de la température par une entrée de caséine β et de nanoclusters CaP ; et une sortie d'eau dans la micelle de caséine et donc une diminution de sa voluminosité (Creamer *et al.* 1977 ; Davies et Law 1983 ; Walstra 1990 ; Holt 1995 ; Marchin *et al.* 2007 ; Nöbel *et al.* 2012 ; Liu *et al.* 2013). Les micelles de caséines occupent alors moins de place dans le gel à 20 °C ce qui entraîne une diminution de la viscosité (Figure III.13) et une augmentation de la concentration de la transition sol-gel (Figure III.15 et Table III.2). Ce phénomène est réversible (Liu *et al.* 2013) et cela entraîne lors d'un refroidissement, une sortie de caséine β et de nanoclusters CaP ; et une entrée d'eau dans la micelle de caséine et donc une augmentation de sa voluminosité. Les micelles de caséine prennent alors plus de place dans le gel et la viscosité et la concentration de transition sol-gel augmentent.

Toutefois, il est nécessaire de considérer l'effet de l'agitation thermique des molécules dans ces gels qui est plus faible à basse température ce qui peut expliquer pourquoi aucun changement de transition sol-gel à 20 °C – 7°C n'a été observé par rapport à 20 °C – 20 °C. En effet, la réorganisation des gels sous l'effet de la température est beaucoup plus faible lorsqu'on passe de 20 °C à 7 °C pendant 24h car la mobilité des molécules est ralentie à 7 °C.

Conclusions

Dans ce paragraphe « résultats complémentaires », les propriétés rhéologiques de gels après un changement de température ont été étudiées.

Un changement de température de gels formés à une certaine température et équilibrés pendant 24 h à une température différente entraîne un changement des propriétés rhéologiques de ces gels, à savoir leur viscosité et leur transition sol-gel, traduisant probablement une réorganisation des micelles de caséines sous l'influence de la température (sortie de caséine β et de nanoclusters CaP lors de la diminution de la température, entraînant une augmentation de la voluminosité). Cette réorganisation des micelles de caséine dans le gel est plus prononcée lors d'un réchauffement que lors d'un refroidissement car la mobilité des particules est plus faible lorsque la température diminue.

La durée de 24 h choisie n'est probablement pas suffisante pour atteindre un équilibre puisque les dispersions qui ont subi un changement de température tendent à rejoindre le comportement des dispersions références mais ne l'atteignent jamais en 24 h. Il serait alors intéressant de comparer plusieurs durées de conditionnement afin de mieux comprendre leur influence sur la restructuration

des gels. Notamment, il aurait été intéressant d'avoir des temps très courts, de l'ordre de quelques minutes afin d'étudier l'influence de la température de mesure sur les gels de micelles de caséine pour éliminer l'influence des températures de mesure sur les propriétés rhéologiques obtenues en section III.3.2 à 7 et 20 °C.

Enfin, dans ces expérimentations, il a été supposé que la concentration en caséine ne variait pas dans le gel car la pression osmotique appliquée pendant les 24 h était la même que celle appliquée pendant les 4 semaines, seule la température variait et il était alors supposé qu'en 24 h, le temps était trop court pour que la pression osmotique ne varie sous l'influence de la température. Cependant, il aurait été intéressant de mesurer la concentration pour chaque changement de température pour savoir s'il s'agit uniquement d'une réorganisation du gel sous l'influence du changement de température ou s'il s'agit également d'une réorganisation du gel sous l'influence d'un changement de pression osmotique induit par un changement de température. Cela signifie que dans ce dernier cas, la concentration du gel peut avoir varié en 24 h si la pression osmotique variait. Il serait donc intéressant d'approfondir les investigations sur l'effet exact de la température dans la réorganisation des gels de micelles de caséine en étant plus précis sur les concentrations après changement de température.

Chapitre IV: Propriétés cohésives des micelles de caséines à 7 et 20 °C

IV.1. Introduction	110
IV.2. Matériels et Méthodes	111
IV.3. Résultats	116
IV.4. Discussion	125
IV.5. Conclusions	128
IV.6. Résultats complémentaires	129

Ce chapitre est présenté sous la forme d'un projet d'article scientifique suivi d'un paragraphe présentant des résultats complémentaires.

L'objectif de ce chapitre s'attache à répondre aux questions de recherche suivantes :

- Quel est l'influence de la température sur les interactions cohésives entre micelles ?
- Lors de la redispersion du gel de micelles de caséine, quelle est l'influence de la température sur le relâchement des liaisons cohésives ?
- L'intensité des forces cohésives mises en jeu à chaque température est-elle la même ? Si non, quelles sont les différences d'interactions induites par la température ?

De ce chapitre il ressort alors que :

- (i) Les résultats obtenus par de précédents travaux (Bouchoux *et al.* 2009a ; Qu *et al.* 2015) à 20 °C sont confirmés et les mêmes tendances ont été montrés à 7°C, à savoir : que les gels soient formés à 20 °C ou à 7 °C, la cohésion/l'irréversibilité des gels est due à des interactions cohésives de surface entre micelles, et qu'à partir d'un niveau de compression suffisant, plus les gels sont comprimés, plus leur cohésion est forte.
- (ii) Les gels formés à 7°C sont plus cohésifs qu'à 20°C et cela pourrait être attribué à la formation d'interactions cohésives plus fortes ou plus nombreuses à 7 °C qu'à 20 °C, probablement du fait d'un changement de la structure de surface des micelles de caséine avec la température. Toutefois, la nature des interactions formées à 7 °C en comparaison des interactions formées à 20 °C reste inconnue et plus d'investigations sont nécessaires afin d'appuyer ces résultats.
- (iii) Lors de la redispersion des gels de micelles de caséine, les gels résiduels étaient plus hydratés à 7 °C qu'à 20 °C du fait de « trous d'eau » qui se forment dans la structure du gel lors de son gonflement. Plus de « trous d'eau » semblent se former dans les gels qui se réhydratent à 7 °C qu'à 20 °C car les forces cohésives sont plus nombreuses ou plus fortes entre micelles de caséine à 7 °C qu'à 20 °C et empêchent alors la libération des micelles de caséine.
- (iv) Les gels se redispersent moins bien à 7 °C qu'à 20 °C et là aussi la nature des interactions doit être recherchée. Il est, en tous les cas, peu probable que la mobilité moléculaire plus faible à 7 qu'à 20°C soit la cause de ce manque de redispersion. En effet, même à des durées de redispersion très longue ($t > 240\text{h}$) le gel ne se regonfle pas et les micelles ne se redispersent pas.

Les résultats dans cette quatrième partie de thèse montrent clairement que les gels de micelles de caséine formés à 7 °C sont plus cohésifs qu'à 20°C, de même pour les gels redispersés à 7 °C comparé à ceux redispersés à 20 °C. Ces différences de cohésion à 7 °C et à 20 °C vont très certainement se traduire durant les opérations de filtration par la formation de dépôts plus cohésifs à froid qu'à haute température. Des expérimentations *in-situ* de filtration peuvent permettre de vérifier ce point. C'est l'objet du chapitre suivant qui s'intéresse à l'influence des conditions opératoires (température, pression transmembranaire et vitesse d'écoulement tangentiel) sur la formation, les propriétés et l'élimination d'un dépôt de micelles de caséine au cours de la filtration tangentielle.

Cohesive properties of concentrated casein micelle dispersions at 7 and 20 °C

IV.1. Introduction

Concentration operations that lead to highly concentrated dispersions of casein micelles, porous and deformable colloidal particles contained in milk, are now largely used in the dairy industry. They are typically used for the manufacture of cheeses that often requires concentration using filtration operations, or for the manufacture of spray-dried products such as skimmed milk powder that requires evaporative concentration of milk up to 40 – 50 % total solids prior to spray drying. Especially during filtration, casein micelles accumulate at the membrane surface and can turn from liquid state (sol) to solid state (gel) under some operating conditions (Gésan-Guiziou *et al.* 1999a ; Bouchoux *et al.* 2009a, 2014; Chapter III). This leads to significant alterations of the filtration performances and has a crucial impact on the macroscopic and functional properties of the obtained products. However, information is still scarce about how the casein micelles behave and interact in such concentrated regimes in the operating conditions similar to the filtration (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b, 2012, 2014 ; Dahbi *et al.* 2010 ; Dalgleish et Corredig 2012 ; Qu *et al.* 2012, 2015 ; Nair *et al.* 2014).

Casein micelles, colloidal particles contained in milk, are largely used in the dairy industry for the manufacture of cheeses or yoghurts and play an important role in dairy processing, especially in concentration operations. They account for 80% of the total protein content of cow milk. They are globular aggregates of smaller assemblies of four distinct caseins, α_{s1} , α_{s2} , β and κ (in proportion of 4 : 1 : 4 : 1) and 8 wt. % of phosphate and calcium ions (McMahon et Brown 1984). The structure of casein micelles is still controversial, but it is commonly accepted that they are roughly spherical, core-shell structure, with outer diameter ranging from 50 to 500 nm (De Kruif 1998 ; Dalgleish 2011 ; De Kruif *et al.* 2012 ; Dalgleish et Corredig 2012). The core is generally described as a matrix of proteins in which the ionic nanoclusters of calcium and phosphate act as connecting points for casein assembly and are randomly distributed (Horne 1998, 2006 ; Pignon *et al.* 2004 ; Farrell *et al.* 2006 ; Marchin *et al.* 2007). Moreover, casein micelles contain 76% of water, which makes them some kind of natural sponge-like microgels that are porous, deformable, compressible and dynamic (Bouchoux *et al.* 2010). There is a consensus on the casein micelle shell, which is essentially made of κ -caseins that protude into the aqueous phase as a polyelectrolyte brush which stabilizes the casein micelles through electrostatic and steric repulsions and insures its hydration (De Kruif et Zhulina 1996 ; Dalgleish 1998).

Casein micelles are cohesive particles. When repulsive barrier provided by the κ -casein polyelectrolyte brush is overcome (Dalgleish 1998), casein micelle interactions turn into attractive bonds and gelation occurs. In milk filtration, gelation is induced by the high concentrations reached after accumulation of casein micelles at the membrane surface (Le Berre et Daufin 1996 ; Gésan-Guiziou *et al.* 1999a ; Jimenez-lopez *et al.* 2008 ; Qu *et al.* 2012 ; Bouchoux *et al.* 2014). Similarly to filtration, osmotic stress experiments have been done to prepare high concentration gels of casein micelles (Bouchoux *et al.* 2009a ; Qu *et al.* 2015) in order to study the cohesiveness of casein micelle gels at 20 °C. In that case, the distance between the casein micelles is small enough to “defeat” the κ -casein repulsive barrier, so that attractive forces are favored and gelation is provoked. The authors suppose that the gelation is due to bridging/binding forces between certain cohesive regions located on the surface of casein micelles (Bouchoux *et al.* 2010). Previous work also showed that cohesive bonds formed at 20 °C can be affected by the condition (degree, rate, time) of the compression used for forming the gels at 20 °C (Qu *et al.* 2015).

As it follows from the literature review, cohesiveness of concentrated casein micelle dispersions were predominantly characterized at the temperature of 20 °C, but there is an increasing interest to low temperature (7 – 12 °C) milk filtration because of the increasing use of polymeric spiral membranes that are less expensive than ceramic ones. Due to their complex geometry, these polymeric membranes are preferably used at low temperature to limit bacterial growth. However, it is well known that lowering the temperature induces structural and composition changes in casein micelles such as: i) the dissociation of macromolecular assemblies by weakening hydrophobic interactions; ii) the release of β -casein and of colloidal calcium and phosphate in the serum phase (Creamer *et al.* 1977 ; Davies et Law 1983 ; Walstra 1990 ; Holt 1995 ; Marchin *et al.* 2007 ; Liu *et al.* 2013); iii) the increase of hydration and apparent voluminosity of casein micelles (Nöbel *et al.* 2012 ; Liu *et al.* 2013).

To the best of the authors' knowledge, interaction forces that are involved in the gelation of casein micelle dispersions at high concentration has not been yet studied at low temperature compared to ambient temperature. In this work, cohesive properties of casein micelle gels made through osmotic stress at 7 °C or 20 °C were investigated by placing these gels in an adequate solvent at 7 °C and 20 °C and the extent of gel redispersion and/or gel swelling was examined. The aim of this work was to answer the following important questions:

- (1) How does the production temperature influence cohesive properties of casein micelle gels?
- (2) How does the redispersion temperature influence cohesive properties of casein micelle gels?

IV.2. Material and methods

IV.2.1. Casein micelle dispersion preparation

Experiments were done with casein isolate powder, i.e. a milk fraction enriched in micellar casein (Promilk 852B, Ingredia, Arras, France) dispersed in a permeate obtained by ultrafiltration of skim milk (UF permeate). It is commonly accepted that the use of UF permeate as an aqueous phase for casein reconstitution allows to recover the main properties of casein micelles, such as their size distribution (Famelart *et al.* 1996). The casein isolate powder was obtained from a pasteurized skim milk by microfiltration with a 0.1 μm membrane and analyzed according to standard methods. It was supposed that the pasteurization was done at low time and temperature as high temperature conditions would result in high association of whey proteins with casein micelle and subsequent detrimental impact on microfiltration performance.

The average composition of the casein isolate powder is given in Table IV.1.

The average total, non-casein and non-protein nitrogen matter contents in the powder were determined through the Kjeldahl method (International IDF Standard 20B 1990 ; Gaucher *et al.* 2008) using 6.38, 6.25 and 6.19 as respective converting factors. The casein content was determined as the difference between the total nitrogen matter content and non-casein nitrogen matter content. Casein represents more than 75% of the powder total solids. The serum protein content was determined as a difference between the non-casein nitrogen matter content and the non-protein nitrogen matter content. The non-protein nitrogen fraction contains most of the small peptides (i.e. molecular mass < 10 kDa) present in solution. The mineral content was determined as the ash content by drying the powder to 550 °C during 5h (AFNOR Norme française NF V04-208 1989).

The lactose (4 wt. %) and fat (1.5 wt. %) content, expressed on the total dry solid basis, were determined by the powder manufacturer.

Table IV.1. Composition of casein isolate powder. Average values of relative concentration are given in wt. % of total solids content (% TS) with a standard deviation of ± 0.2 wt. %.

Total solids (TS) (wt. %)	Total nitrogen matter (% TS)	Casein (% TS)	Minerals (% TS)	Non-casein nitrogen matter (NCN) (% TS)	Serum proteins (% TS)	Non-protein nitrogen matter (% TS)
94.5	83.9	75.9	8.4	8.0	7.2	0.8

The UF permeate was prepared by ultrafiltration of a fresh skim milk at 12 °C (membrane 6338 HFK 328, cut-off of 5 kDa, Koch Membranes Systems, The Netherlands). Caseins and whey proteins were eliminated through this operation. The ionic composition of UF permeate was: 3.3 mM Mg^{2+} , 18.0 mM Na^+ , 42.7 mM K^+ , 7.5 mM Ca^{2+} , 29.0 mM Cl^- , 7.5 mM citrate, 9.9 mM phosphate (all values are given as averages with ± 5 % standard deviations) (see Jenness et Koops (1962) for a full description of methods). Cations (Ca, Na, Mg, K) were determined by atomic absorption spectrophotometer (SpectrAA 220FS, Agilent Technologie, Les Ulis, France) and anions (inorganic phosphates, citrates and chlorides) by chromatography method (Dionex ICS 3000 HPLC, Thermo Fischer Scientific, Villebon Courtaboeuf, France). Thiomersal and sodium azide, both purchased from Sigma-Aldrich (ST. Louis, MO, USA), were added to the UF permeate as preservatives at 0.02 wt. % and 0.05 wt. %, respectively. The casein micelle dispersions were prepared by thoroughly mixing the casein isolate powder with UF permeate at 35 °C for 15 h as previously suggested (Gaiani *et al.* 2006). The dynamic light scattering analysis of casein micelle dispersions confirmed that casein micelle dispersions had a particle size distribution from 50 to 500 nm with an average diameter of 130 nm that is similar to that of native casein micelles. The pH of dispersions was 6.7 ± 0.1 at 20 °C, i.e. the pH value of a fresh skim milk.

IV.2.2.

Making the gel via osmotic stress experiments

The gel were prepared using osmotic stress technique that is based on water exchange between casein micelle dispersions in a dialysis bag and a reservoir of known osmotic pressure made of polyethylene glycol (PEG) solutions prepared in UF permeate (Parsegian *et al.* 1986 ; Bouchoux *et al.* 2009a ; Nair *et al.* 2014 ; Qu *et al.* 2015). After pressure equilibrium was reached between the bag and the reservoir, the water content in the dispersion was measured and the relation between osmotic pressure and casein concentration was obtained.

The stressing solutions were prepared by diluting PEG in UF permeate. Two PEGs were used, both purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). A PEG with molecular weight of 35 kDa was used for the osmotic stress experiments at pressures under 500 kPa. According to Bouchoux *et al.* (2009a), 500 kPa corresponds to a casein concentration of 500 g/L at 20 °C. For osmotic pressures higher than 500 kPa, PEG 35 kDa could not be used because of its low solubility: 500 kPa corresponds to a concentration of 20 wt. % of PEG 35 kDa, which is almost the saturation concentration. Therefore, PEG 20 kDa was chosen for stressing solutions at osmotic pressure above 500 kPa, as its solubility goes up to 50 wt. %.

Calculation of osmotic pressure was detailed previously (cf. Chapter III).

Standard regenerated cellulose Spectra/Por 2 dialysis bags of 16 mm diameters with a cut-off of 12 – 14 kDa were used (Repligen, Waltham, Mass, USA). These bags were chosen to allow exchange of water, ions and lactose but not casein micelles or PEG. Dialysis bags were washed with UF permeate and conditioned during at least thirty minutes in UF permeate. Casein micelle liquid dispersions at 100 g/L were used to reach concentrations from ~ 200 to ~ 700 g/L. Those casein micelle dispersions were introduced into thoroughly closed dialysis bags and then immersed in the stressing solutions kept at 7 °C or 20 °C under a low agitation of 100 rpm. In order to obtain a sufficient amount of concentrated dispersion, the bags were refilled with casein micelle dispersions several times during 2 – 7 d. The polymer stressing solution was changed after 7 – 15 d to limit its dilution and/or pH variation. The target pH was 6.7 ± 0.1 .

For osmotic stress beyond 5000 Pa, since the concentration was quicker, the proteolysis was negligible at high concentrations (Bouchoux *et al.* 2009a) so the samples were equilibrated during 30 d.

All measurements were repeated at least two times.

Casein concentration and effective volume fraction calculations

After equilibrium was reached, the casein concentration in dialysis bags [Cas] (in wt. %) was calculated with the help of Eq.IV.3:

$$[\text{Cas}] = \frac{TS_{\text{powder}} \cdot (1 - \text{NCN}) \cdot (TS_{\text{disp}} - TS_{\text{uf}})}{(1 - TS_{\text{uf}})} \quad \text{Eq.IV.1}$$

where TS_{powder} , TS_{disp} and TS_{uf} are the total solid contents in the powder, in the dispersion and in the UF permeate, in wt. %, respectively and NCN is the amount of non-casein nitrogen matter in the isolate casein powder (Table IV.1). The total solid contents in the casein isolate powder, all dispersions, and UF permeate were obtained by weighing the sample after drying for 7 h at 105 °C (AFNOR Norme française NF V04-348 1978).

The casein concentration in the sample (expressed in g of casein per L of sample), is then calculated as:

$$[\text{Cas}]_{\text{g/L}} = \frac{1000}{0.733 + (1 - TS_{\text{disp}})/[\text{Cas}]} \quad \text{Eq.IV.2}$$

For the derivation of Eq.IV.4, it is assumed that dispersion consisted in a dispersion medium, having density of pure water, and casein, which density is inverse to its weighted average partial specific volume 0.733 mL/g. This value is determined from the individual casein amino acid sequences (Morris *et al.* 2000).

Finally, the effective volume fraction ϕ_{eff} of casein micelles in dispersion is defined as:

$$\phi_{\text{eff}} = v[\text{Cas}]_{\text{g/L}} \quad \text{Eq.IV.3}$$

where v is the apparent voluminosity of casein micelle equals to 4.85 mL/g at 7 °C and 4.1 mL/g at 20 °C (Nöbel *et al.* 2012) for pasteurized skim milk. It should be noted that other authors took a different value of apparent voluminosity such as $v = 4.4$ mL/g at 20 °C, which is the value for native (non-pasteurized) casein micelles (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b ; De Kruif *et al.* 2012 ; Qu *et al.* 2015). As the casein isolate powder used in the current study was obtained from pasteurized milk, the values of apparent voluminosity reported by (Nöbel *et al.* 2012) were used in the following calculations.

The so-called effective volume fraction gives an indication of the deformation and compression experienced by casein micelles at high concentrations (Bouchoux *et al.* 2009a). When $\phi_{\text{eff}} > \phi_{\text{eff,max}}$, where $\phi_{\text{eff,max}}$ is the volume fraction at random close-packing of casein micelles taken as $\phi_{\text{eff,max}} = 0.71$

(cf. Chapter III), casein micelles start to be partially deformed. Then, $\phi_{eff} > 1$ indicates that the casein micelles are compressed to a lower volume, i.e. partially de-swelled and compressed.

Characteristics of casein micelle gels

Several gels of casein micelle were prepared and their characteristics are indicated in Table IV.2. Gels compressed from 20 to 124 kPa reached range of concentrations from 190 to 700 g/L.

At low compression degree, or at 214 and 190 g/L at respectively 20 and 7 °C, $\phi_{eff} < 1$ but $\phi_{eff} > \phi_{eff\ max}$, in that case, casein micelles are almost in direct contact since ϕ_{eff} is higher than random close packing of 0.71 but they are not yet compressed since $\phi_{eff} < 1$ and they have still their original volume with remaining inter-micellar voids that represents around 5 % of the total volume (Bouchoux *et al.* 2010). Therefore, the gel is made of closely packed casein micelles that have slightly deformed from sphere to dodecahedrons as already pointed out in literature (Menut *et al.* 2012 ; Qu *et al.* 2015).

At medium compression degree, or at 310 and 280 g/L at respectively 20 and 7 °C, ϕ_{eff} is around 1.3 and also slightly above 1. In that case, casein micelles are in direct contact but compression did not force them to deform a lot.

At high compression degrees or at higher concentrations, 439, 619 and 709 g/L at 20°C and at 356, 457, 560, 636 g/L at 7°C, ϕ_{eff} is far above 1, from 1.73 to 3.08. In that case, casein micelles are in direct contact and osmotic compression forced them to deform and compress to a lower volume (Bouchoux *et al.* 2010).

Table IV.2. Osmotic pressure π and casein concentration [Cas] of casein micelle gels prepared at 7 °C and 20 °C.

	20°C			7°C		
	π (10 ⁵ Pa)	[Cas] (g/L)	ϕ_{eff} (-)	π (10 ⁵ Pa)	[Cas] (g/L)	ϕ_{eff} (-)
	0.2	214	0.88	0.2	190	0.92
	0.5	310	1.27	0.4	280	1.36
	1.4	439	1.8	1.1	356	1.73
	5.5	619	2.54	2.7	457	2.22
IV.2.5.	10.1	709	2.91	6.7	560	2.72
				12.4	636	3.08

Cohesion test

To investigate the influence of temperature on the cohesiveness of the casein gels, simple re-swelling experiments were carried out as follows. A piece of solid (~ 0.5 g) was cut out from each gel and immersed at 20 °C or 7 °C in a fixed volume of UF permeate (100 mL), without agitation. The gel was then allowed to re-swell and/or dissolve during various “redispersion” times, i.e. 4, 16, 64, 120 and 240 h. At the end of this time, the residual non-redispersed gel was withdrawn carefully from the solution using a spatula and it was delicately sponged on an absorbent paper. The casein concentration

of the residual gel ($[Cas]_{gel}$ in % w/w) was then determined through total solid content of gel (TS_{gel} in % w/w) (cf. section IV.2.2.4). A hydration content (H) of the gel was deduced as:

$$H = \frac{1 - TS_{gel}}{[Cas]_{gel}} \quad \text{Eq.IV.4}$$

Some hydration references (h in % w/w) for only casein micelles at 7 and 20 °C were calculated using an expression from a previous work (Dewan *et al.* 1973):

$$h = \frac{v - V_2}{V_1} \quad \text{Eq.IV.5}$$

with V_2 (mL/g) partial specific volume of dry a casein micelle equals to 0,733 mL/g (Morris *et al.* 2000), v (mL/g) voluminosity of casein micelles (cf. IV.2.1), and V_1 (mL/g) partial specific volume of solvent which was assimilated to pure water equals to 1.000 mL/g. Therefore, hydration references values at 7 and 20 °C are respectively 4.1 % w/w and 3.4 % w/w.

The redispersed fractions or the supernatants were also analyzed: casein content in supernatants $[Cas]_s$ (% w/w) was evaluated through the Bradford method; particle size and integrity of redispersed objects were also evaluated through respectively Diffusion Light Scattering (DLS) and turbidity (cf. IV.2.4). A redispersion rate (R) of the amount of casein from the gel redispersed in the supernatants was expressed as:

$$R = \frac{[Cas]_s}{[Cas]_t} \quad \text{Eq.IV.6}$$

with $[Cas]_t$ (% w/w) the initial casein concentration in the whole system (i.e. gel + UF permeate), as determined from the mass of gel, and its concentration at time zero (cf. IV.2.2.5).

IV.2.6.

Analyses

IV.2.6.1. Protein content analysis by Bradford reaction

0.1 mL sample of supernatants was mixed with 1 mL of Bradford reagent (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) at room temperature during 15 min. The relative absorbance of the solution was then measured at 595 nm using a UV-visible spectrometer (Uvikon 922, Milan, Italy). The casein concentration $[Cas]_s$ was evaluated through relations between absorbance at 595 nm and concentrations that were initially determined over the range of concentrations from 0 to 0.5 g/kg of fresh casein micelle dispersions.

IV.2.6.2. Turbidity

The turbidity (τ) of redispersion supernatants was measured as a function of the wavelength (λ in the range 400-800 nm, at 20 °C, and using a UV-visible spectrometer (Uvikon, 922, Milan Italy). The turbidity is calculated by comparing the transmitted intensity (I_t), through a sample of thickness L (10 mm in this study) with that through the solvent, I_0 :

$$\tau = \ln\left(\frac{I_0}{I_t}\right) \frac{1}{L} \quad \text{Eq.IV.7}$$

The « integrity » of the casein micelles was evaluated through the evolution of turbidity with wavelength (Pitkowski *et al.* 2008). For a system consisting of casein micelles dispersed in UF permeate, the turbidity is indeed known to decrease as a power law of the wavelength:

$$\tau = A \times [Cas] \times \lambda^n \quad \text{Eq.IV.8}$$

with $n \approx -2.8$, A being the proportionality constant between turbidity and casein concentration; in this study $A = 5.0 - 6.0 \times 10^7$. n values other than -2.8 suggest that particles are not sized, shaped and/or structured as native casein micelles (Pitkowski *et al.* 2008).

IV.2.6.3. Particle size

Particle size analysis was performed using dynamic light scattering (DLS) at temperature of 20 °C on a Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Orsay, France). The laser was a He-NE laser, with 633 nm wavelength. Each sample was analyzed three times and the data were computerized into a particle size distribution using a Contin modeling routine. The viscosity and refractive index of UF permeate was taken as 1.2 mPa.s and 1.340 respectively. For all the samples, analyzed, the casein concentration was adjusted so that it was in a range where DLS size distributions are not poorly affected by multiple scattering, i.e. for casein concentrations < 1 g/L, with the instrument cited above and using the manufacturer default algorithm.

IV.3. Results

Influence of gel production and redispersion temperatures on the gel redispersion rate

In this first part of results section, redispersion of gel will be examined with a special focus on the redispersion rate and the nature of the redispersed objects in the supernatant. Figure IV.1 shows the measured redispersion rate of casein fraction in the supernatant (R) as a function of initial casein concentration of the gel for different redispersion times. Two gel production temperatures (7 and 20 °C) and two gel redispersion temperatures (7 and 20 °C) were studied. Redispersion rate gives the total relative quantity of casein molecules (micellar or not) that has been released from the gel (cf. Eq.IV.6).

It should be noted that redispersion rate was never equal to zero due likely to the uncertainty of the measure.

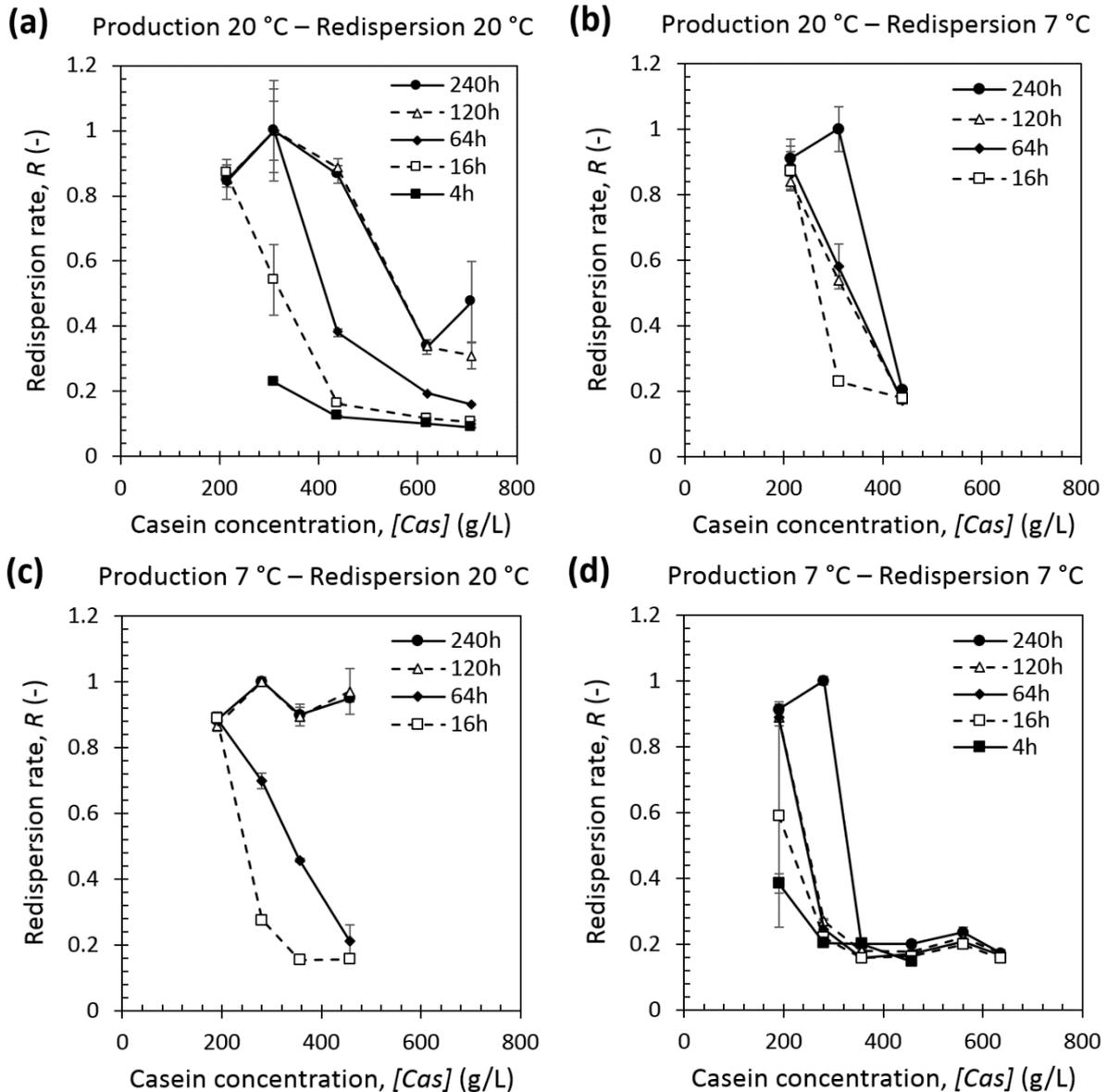


Figure IV.1. Redispersion rates (R) measured from cohesion tests performed with gels prepared (a) at 20 °C and redispersed at 20 °C; (b) at 20 °C and redispersed at 7 °C; (c) at 7 °C and redispersed at 20 °C and (d) at 7 °C and redispersed at 7 °C. The results are plotted as a function of the initial casein concentration in the gels (cf. Table IV.2) and for the five different redispersion times investigated. The redispersion time “4 h” has only been investigated for (a) and (d). The curves serve as a guide to the eye.

IV.3.1.1. Influence of gel production and redispersion on gel redispersion rate

IV.3.1.1.1. General features

Figure IV.1a shows redispersion rate of gels produced at 20 °C and redispersed at 20 °C in function of the initial casein concentration of the gels. In these conditions, a gel obtained at a low compression degree, leading to a concentration of around 200 g/L, was fully redispersed ($R = 0.90$) at a redispersion time, $t > 16$ h. A gel obtained at a medium compression degree, with a concentration around 300 g/L, was fully dissociated ($R = 1.00$) at $t > 64$ h. Gels obtained at high compression degrees,

from around 430 to 700 g/L, were fully redispersed ($R > 0.90$) only at $t > 120$ h. For these highly concentrated gels, R ranged from 0.90 to 0.30 when initial casein concentration of gel increased. Therefore, as already pointed out in the literature (Qu *et al.* 2015), the extent of gel redispersed depends on the initial concentration of the gel and the authors supposed that a sufficient compression degree is necessary for collapsing the κ -casein brush located at the surface of casein micelles.

Figure IV.1b shows redispersion rate of gels produced at 20 °C and dissociated at 7 °C in function of the initial casein concentration of the gels. A gel obtained at a low compression degree, at around 200 g/L, was fully redispersed at $t > 16$ h with $R = 0.90$. A gel obtained at a medium compression degree, at around 300 g/L, was fully dissociated at $t > 240$ h with $R = 1.00$. A gel obtained at a high compression degree, at around 430 g/L, was not dissociated after $t > 240$ h with $R = 0.17$.

Figure IV.1c shows redispersion rate of gels produced at 7 °C and dissociated at 20 °C in function of the initial casein concentration of the gels. A gel obtained at a low compression degree, at around 200 g/L, was fully redispersed at $t > 16$ h with $R = 0.92$. A gel obtained at a medium compression degree, at around 300 g/L, was fully dissociated at $t > 120$ h with $R = 1.00$. Gels obtained at high compression degrees, at around 460 and 560 g/L, were fully redispersed also after $t > 120$ h with redispersion rates of respectively 0.89 and 0.97.

Figure IV.1d shows redispersion rate of gels produced at 7 °C and dissociated at 7 °C in function of the initial casein concentration of the gels. A gel obtained at a low compression degree, at around 200 g/L, was fully redispersed at $t > 64$ h with $R = 0.92$. A gel obtained at a medium compression degree, at around 300 g/L, was fully dissociated at $t > 240$ h with $R = 1.00$. Gels obtained at high compression degrees, from around 360 to 640 g/L, were not dissociated after $t > 240$ h with $R = 0.20$.

To sum-up, regardless of the production and redispersion temperatures, there was clearly an influence of the compression degrees on the cohesiveness of casein micelle gel as already pointed out in the literature (Qu *et al.* 2015). But remarkably, some differences were emerging with the production and redispersion temperatures and this will be looked in details in the next sections.

IV.3.1.1.2. Influence of gel production temperature

To highlight the influence of gel production temperature, the comparison 'in columns' of the Figure IV.1 is necessary, since the redispersion temperature is the same in each column of the figure (Comparison of Figure IV.1a with IV.1c for a redispersion temperature of 20°C; and Figure IV.1b with IV.1d for a redispersion temperature of 7°C).

The comparison of Figures IV.1a and 1c showed that at low concentration, regardless of the production temperature, the gels were fully redispersed at 20°C after 16 h of redispersion. The comparison was more discriminant for the medium compression degree: gels concentrated at around 300 g/L were less easily dissociated (full redispersion after $t > 120$ h) when produced at 7 °C compared to 20 °C (full redispersion after $t > 64$ h).

Similarly, the comparison of Figures IV.1b and 1d shows a difference of cohesiveness of the gels compressed at low and medium degrees. At low compression degree (corresponding to around 200 g/L), gel of casein micelles needed a higher time of redispersion (full redispersion after $t > 64$ h) to be fully redispersed when produced at 7 °C compared to 20 °C (full redispersion after $t > 16$ h). In the same way, for the medium compression degree (corresponding to around 300 g/L), gels were less easily dissociated (after $t > 64$ h, redispersion was null) when produced at 7 °C compared to 20 °C (half redispersion after $t > 64$ h)).

Figure IV.2 shows the comparison of redispersion rates for three relevant compression degrees, respectively around 200, 300 and 450 g/L for low, medium and high compression degrees, in function of the redispersion time. As already pointed out with Figure IV.1, Figure IV.2a shows that at low compression degree, the gel production temperature has nearly no influence. It seemed that casein micelle gels formed at 7 and 20 °C have similar global interaction forces or same number of bonds between casein micelles. With gels of intermediate casein concentration (Figure IV.2b), kinetics of dissociation of gels produced at 7 °C were slower than the one obtained at 20 °C meaning that more cohesive gels were produced at 7 °C compared to 20 °C. Finally, at a high compression degree (Figure IV.2c), it seemed that kinetics of cohesive interaction dissociation of gels produced at 7 °C was slightly lower than the one produced at 20 °C meaning that the gels produced at 7 °C were slightly more cohesive compared to 20 °C. It should have been more redispersion times between 64 and 120 h, to observe more differences.

Therefore, the results showed that a decrease of gel production temperature from 20 to 7 °C, at medium and high compression degree, induced an increase of attractive forces (increase of the number of cohesive interactions and/or intensity of interactions) between casein micelles.

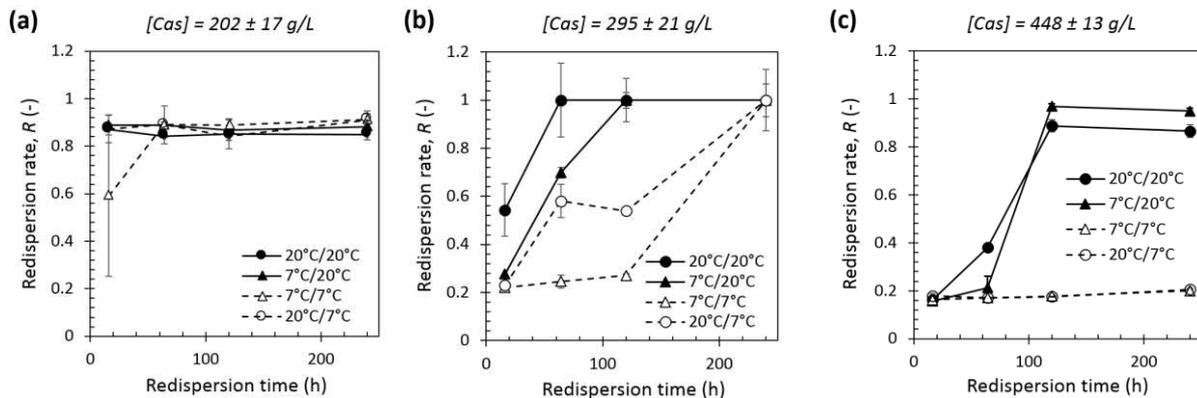


Figure IV.2. Comparison of the redispersion rate in function of the redispersion time for three gels prepared (a) at low compression degree with casein concentration $[Cas] = 202 \pm 17$ g/L; (b) at medium compression degree with casein concentration $[Cas] = 295 \pm 21$ g/L and (c) at high compression degree with casein concentration $[Cas] = 448 \pm 13$ g/L. Temperature process were presented with first the gel production temperature and then the gel redispersion temperature (for example 20°C/20°C means a gel produced at 20 °C and redispersed at 20 °C). The curves serve as a guide to the eye.

IV.3.1.1.3. Influence of gel redispersion temperature

To point out the influence of redispersion temperature, the comparison 'in lines' of the Figure IV.1 is necessary, since the production temperature is the same 'in lines' (Comparison of Figure IV.1a with IV.1d for a production temperature of 20°C; and Figure IV.1c with IV.1d for a production temperature of 7°C).

The comparison of Figures IV.1a and 1b was discriminant for the medium and high compression degrees. At low compression degree, gels were fully redispersed regardless of the redispersion temperature. At medium compression degree, gels of casein micelles were less easily dissociated (full redispersion after $t > 240$ h) when the redispersion temperature was 7 °C compared to 20 °C (full redispersion after $t > 64$ h). In the same way, at high compression degree, gels of casein

micelles were not dissociated at all after $t > 240$ h at 7°C whereas gels were fully dissociated after $t > 120$ h when the redispersion temperature was 20 °C.

Similarly, the comparison of Figures IV.1c and 1d shows a difference of cohesiveness of the gels for all compression degrees. At low compression degree, gels of casein micelles needed a higher time of redispersion (full redispersion after $t > 64$ h) to be fully redispersed when the redispersion temperature was 7 °C compared to 20 °C (full redispersion after $t > 16$ h). In the same way, for the medium compression degree, gels were less easily dissociated (full redispersion after $t > 240$ h) when the redispersion temperature was 7 °C compared to 20 °C (full redispersion after $t > 120$ h). Finally, for the high compression degree, gels of casein micelles were not dissociated at all after $t > 240$ h at 7 °C whereas gels were fully dissociated after $t > 120$ h when redispersion temperature was 20 °C.

Figure IV.2 shows influence of redispersion temperature on gel redispersion by comparing the gel redispersion at three relevant concentrations taken in the three compression degree ranges. As already pointed out with Figure IV.1, the influence of gel redispersion temperature was not very relevant for the comparison at low compression degree (Figure IV.2a): it seemed that casein micelle gels were easy to dissociate regardless of the redispersion temperature. For intermediate gel concentration, kinetics of dissociation of cohesive interactions of gels were much slower when redispersion occurred at 7 °C compared to 20 °C (Figure IV.2b). At a high compression degree, gels were much less easy to dissociate at 7°C than at 20 °C since no gels dissociated at 7 °C (Figure IV.2c).

Therefore, the results clearly showed that regardless of the concentration and compression degrees, dissociation of gels, was much more difficult when the gels were redispersed at 7 °C compared to 20 °C

IV.3.1.2. Nature of the redispersed objects

Some indications about the nature of the redispersed objects could be obtained from the size distribution and turbidity measurements performed on the supernatants after redispersion. For simplicity and since the redispersed objects were very similar (cf. Appendix 2), the results for a unique concentration after 240 h of redispersion are presented in Figure IV.3.

Figure IV.3a gives the turbidity of the supernatant as function of wavelength (between 400 and 800 nm) of the redispersed objects. Regardless of the temperature, evolution of turbidity with the wavelength followed quite the same -2.8 power-law as the one obtained with a dispersion of fresh casein micelles. Therefore, regardless of the temperature, after 240 h of redispersion, the object released from the gel into the supernatant could be assimilated to casein micelles that were similar in size and shape to native ones (Pitkowski *et al.* 2008).

Figure IV.3b shows the DLS size distributions (in intensities) of the redispersed objects. For each temperature, the objects released from the gels had similar size distributions compared to the one obtained with a fresh dispersion of casein micelle.

These results were in good agreement with previous results of the literature (Qu *et al.* 2015) that have already investigated the redispersion (at 20°C) of gel casein micelles produced at 20°C.

In total, all these results suggest that regardless of the temperature, the objects released from the gels were similar to casein micelles in terms of structure, mass and size distribution.

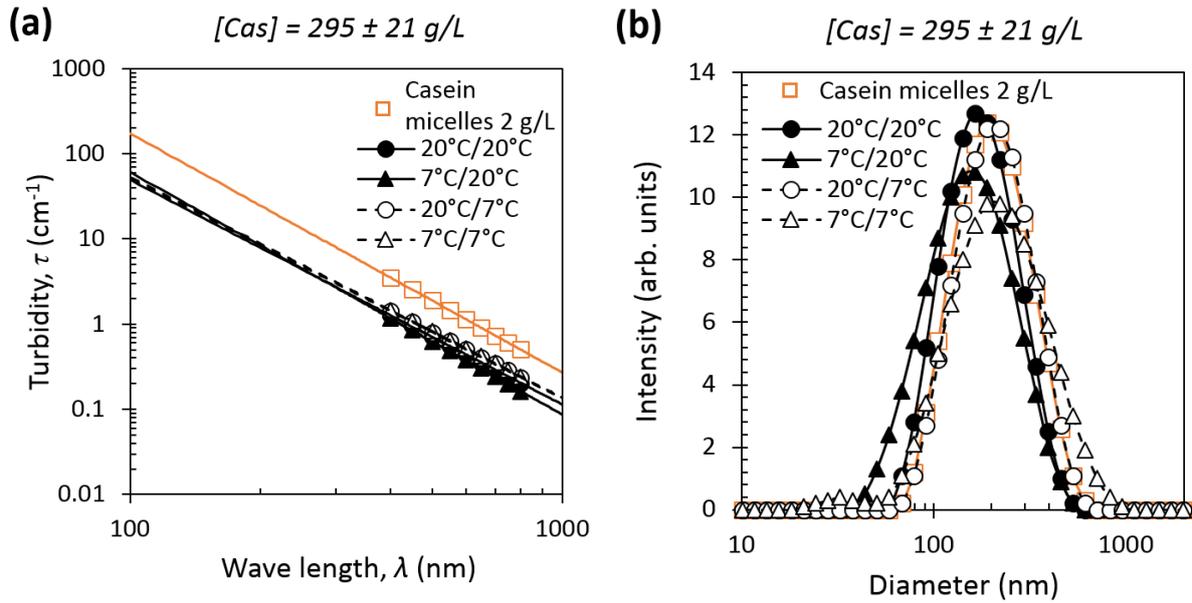


Figure IV.3. Nature of redispersed objects after 240 h of redispersion of the gels prepared at a medium compression degree with casein concentration of $[Cas] = 295 \pm 21 \text{ g/L}$. Turbidity-wavelength relations (a) and size distributions (b) as measured in the supernatants. The results are compared with those obtained with casein micelle dispersion concentrated at 2 g/L and prepared at 20 °C. The straight lines in Figure IV.3a have slope ~ -2.8 . The curves in Figure IV.3b serve as a guide to the eye.

IV.3.2. Influence of production and redispersion temperatures on gel hydration

In this second part of results section, hydration of residual gel will be examined. Figure IV.4 shows the hydration of residual gels of casein micelles as a function of initial casein concentration of the gel and redispersion times. The curve named “0 h” corresponds to initial water content of the gels, i.e., before immersion in UF permeate and redispersion. The points not shown in Figure IV.4 corresponded to situations where the gels were too soft or breakable or even split in small pieces to be collected, or to situations where the gels were fully dissociated. The reference water content in a single individual casein micelle was also reported: 4.1 and 3.4 g/g when gels were redispersed at 7 and 20 °C respectively.

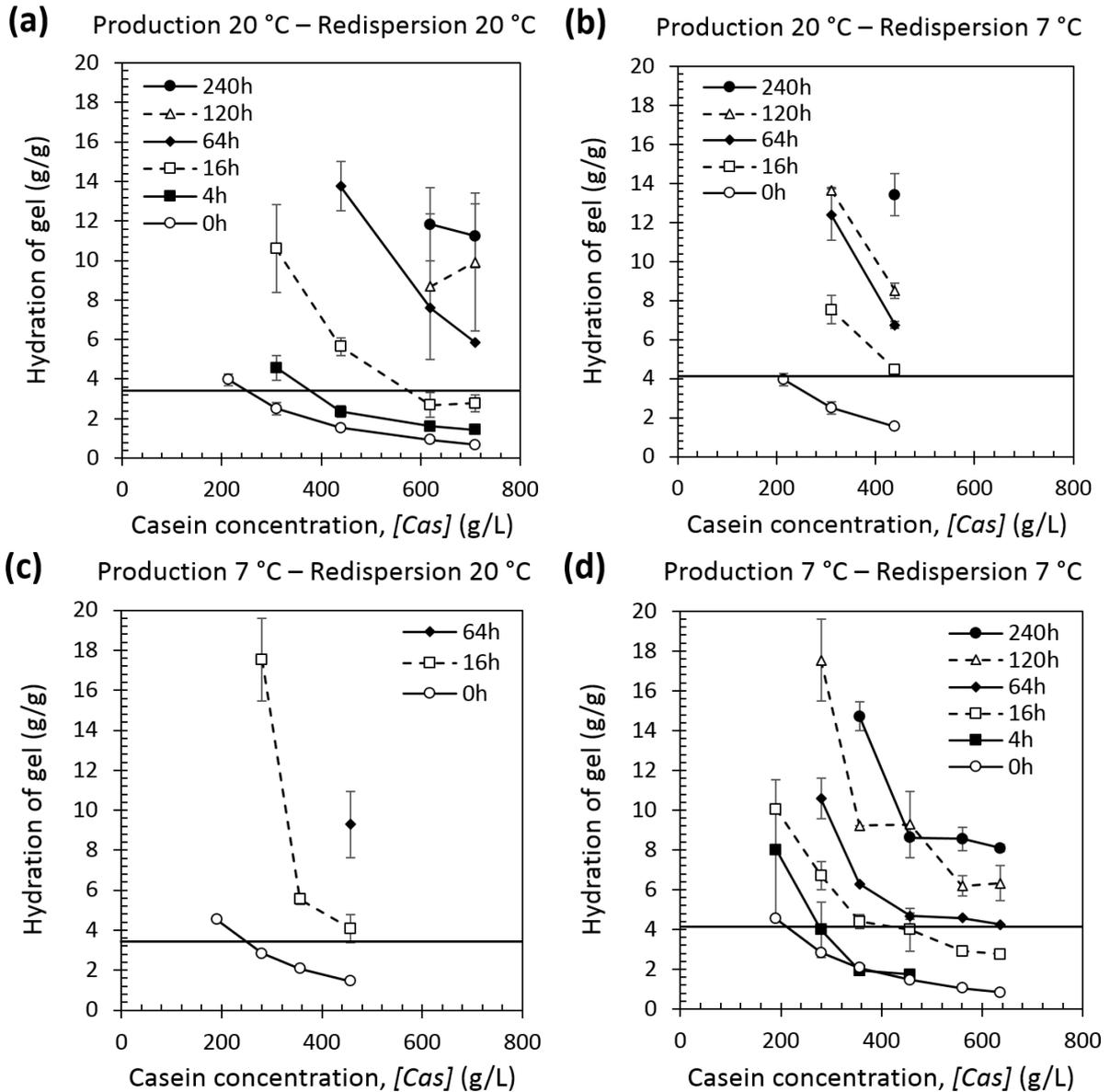


Figure IV.4. The hydration of residual gels measured from residual gels after cohesion test with gels prepared (a) at 20 °C and redispersed at 20 °C; (b) at 20 °C and redispersed at 7 °C; (c) at 7 °C and redispersed at 20 °C and (d) at 7 °C and redispersed at 7 °C. The results are plotted as a function of the initial casein concentration in the gels (cf. Table IV.2) and for the five different redispersion times investigated. Time ‘0 h’ corresponds to the initial gel of casein micelle before redispersion. The redispersion time “4 h” has only been investigated for (a) and (d). The curves serve as a guide to the eye. The horizontal lines correspond to the reference water content in a single, individual casein micelle as determined in section IV.2.3, equal to 4.1 and 3.4 g/g when gels were redispersed respectively at 7 and 20 °C.

IV.3.2.1. General features

Figure IV.4a shows hydration of gels produced at 20 °C and redispersed at 20 °C in function of the initial casein concentration of the gels. Hydration of gels followed a typical trend already pointed out in the literature (Qu *et al.* 2015): first hydration of gels approached the reference water content of a single casein micelle without releasing any material, for instance after 4 h of redispersion, hydration

of the gel for a medium compression degree was around 5 g water/g casein but the redispersion rate was very low (Figure IV.1). This suggests that after a time, the casein micelles that form the gels have swollen to their native volume while remaining stuck to each-other in a close-packed configuration. Secondly, hydration of gels largely exceeded the reference content water of a single casein micelle to reach very high values, for instance, gel initially concentrated at around 430 g/L reached a hydration of 14 g water/g casein after 64 h of redispersion, which corresponds to a hydration almost 3 times higher than the one of individual casein micelles, while its redispersion rate was quite low and equal to 0.40 (Figure IV.1). In that case, the gel was no longer filled with close-packed casein micelles but contains some “water holes” in its structure while casein micelle cohesive interactions stay strong.

Figure IV.4b shows hydration of gels produced at 20 °C and dissociated at 7 °C in function of the initial casein concentration of the gels. The hydration of the residual gels followed the same typical trend but remarkably, hydration values were quite low at 7°C compared to 20°C : For instance a gel initially concentrated at around 430 g/L reached a hydration of only 7 g water/g casein after 64 h of redispersion à 7 °C.

Figure IV.4c shows water content of residual gels produced at 7 °C and dissociated at 20 °C in function of the initial casein concentration of the gels. The hydration of the gels followed also the same trend. But remarkably, the hydration of gels was very high. For instance, the hydration of a gel compressed at a medium degree (280 g/L) after 16 h of redispersion at 7°C reached almost 18 g water/g casein which is more than 4 times higher than the water content of an individual casein micelle.

Figure IV.4d shows hydration of gels produced at 7 °C and dissociated at 7 °C in function of the initial casein concentration of the gels. Similarly, the hydration of gels followed the typical trend, but the hydration values were very low. For example, a gel initially concentrated at around 460 g/L reached a hydration of only 9 g water/g casein after 240 h of redispersion.

To sum-up, regardless of the production and redispersion temperatures, there was clearly a similar swelling of casein micelle gels as already pointed out in the literature (Qu *et al.* 2015). But remarkably, some differences were emerging with the production and redispersion temperatures and this will be looked in details in the next sections.

IV.3.2.2. Influence of gel production temperature

To highlight the influence of gel production temperature, the comparison ‘in columns’ of the Figure IV.4 is necessary, since the redispersion temperature is the same ‘in columns’.

The comparison of Figures IV.4a and 4c was quite relevant and discriminant for the medium compression degree, where gels concentrated at around 300 g/L were much more hydrated (18 g water/g casein) when produced at 7 °C compared to 20 °C (11 g water/g casein) after 16 h of redispersion.

Similarly, the comparison of Figures IV.4b and 4d shows a difference of hydration of the gels compressed for instance at medium degree: a gel initially concentrated at around 300 g/L was more hydrated (17 g water/g casein) when produced at 7 °C compared to 20 °C (14 g water/g casein) after 64 h of redispersion.

Figure IV.5 shows the comparison of gel hydration for two relevant compression degrees, respectively around 300 and 450 g/L for medium and high compression degrees, in function of the redispersion time. The points that are not shown in Figure IV.5 corresponds to situations where the gels were too soft or breakable or even split in small pieces to be collected, or to situations where the gels were fully dissociated. Figure IV.5 seems to show that for medium compression degree, and before

the gel completely disappears, hydration of gels was higher when the gels were produced at 7 °C compared to 20 °C (Figure IV.5a). For the high compression degree (Figure IV.5b) this trend was less clear.

Therefore, the results seemed show that a decrease of gel production temperature, regardless of the concentration and compression degree, induced an increase of hydration of casein micelle gels.

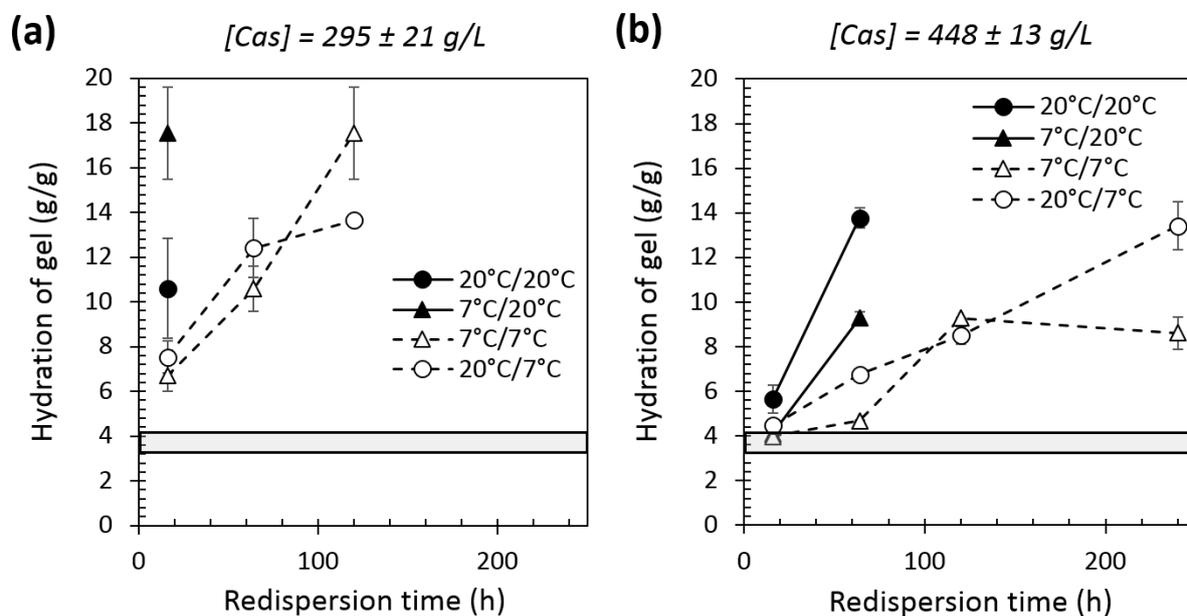


Figure IV.5. Comparison of the hydration of residual gels in function of the redispersion time of two gels prepared (a) at medium compression degree with casein concentration $[Cas] = 295 \pm 21$ g/L and (b) at high compression degree with casein concentration $[Cas] = 448 \pm 13$ g/L. The curves serve as a guide to the eye. The gray zones correspond to the reference water content in a single, individual casein micelle as determined in section IV.2.3, equal to 4.1 and 3.4 g/g when gels were redispersed respectively at 7 and 20 °C.

IV.3.2.3. Influence of gel redispersion temperature

To point out the influence of gel redispersion temperature, the comparison ‘in lines’ of the Figure IV.4 is necessary, since the production temperature is the same ‘in lines’.

The comparison of Figures IV.4a and 4b was very relevant and discriminant for each concentration regimes. The residual gels were more hydrated when the redispersion temperature was 20°C instead of 7°C. For example, gels of casein micelles initially concentrated at around 430 g/L were twice more hydrated (14 g water/g casein) when redispersed at 20 °C compared to 7 °C (7 g water/g casein).

Similarly, the comparison of Figures IV.4c and 4d shows a difference of hydration of the gels. Gels of casein micelles initially concentrated, for instance, at around 300 g/L were more than twice more hydrated (17 g water/g casein) when redispersed at 20 °C compared to 7 °C (6 g water/g casein).

Figure IV.5 shows influence of gel redispersion temperature by comparing symbols between them at two relevant concentrations. As already pointed out with Figure IV.4, Figure IV.5a shows that at medium compression degree, the influence of gel redispersion temperature was quite relevant for the comparison. Casein micelle gels were much more hydrated when redispersed at 20 °C compared

to 7 °C. Figure IV.5b shows also clearly that hydration of gels redispersed at 7 °C were much lower than the one redispersed at 20 °C.

Therefore, the results showed clearly that swelling of gels, regardless of the concentration and compression degrees, was much more difficult when the gels were redispersed at 7 °C than at 20 °C, which is likely due to the influence of temperature on particles thermal agitation.

IV.4. Discussion

The objective of this work was to understand cohesive interactions at 7 and 20 °C.

The current work supports previous results obtained with a production of gel at 20°C and redispersion at 20°C (20 °C/ 20 °C) but also highlighted the same trends for gels produced at a lower temperature.

Previous works (Bouchoux *et al.* 2009a ; Qu *et al.* 2015) have already studied cohesive interactions at 20 °C and showed that the extent of redispersed gel depends on the initial concentration of the gel. The authors supposed that a sufficient compression degree was necessary for collapsing the κ -casein brush located at the surface of casein micelles. They also showed that when compression degree increased, cohesive interactions increased. At very high compression degrees (>800 g/L), they observed that the stability of the gel was affected because gel concentrated at 806 g/L were easily redispersed compared to gel concentrated at 557 g/L. This result was not observed in the current work, because gels studied in this work were not concentrated enough to observe such a phenomenon. These works also showed that during redispersion, native casein micelles were released by the gel, indicating that cohesive interactions between casein micelles in the gel were mainly surface interactions. The current work consolidated the results previously obtained by these authors at 20 °C/20 °C and also showed that the same phenomenon was observed when gel is produced at 7 °C : a sufficient compression need to be reached to form cohesive interactions and cohesive interaction are mainly surface forces since there was a release of casein micelles similar in terms of shape and size to native casein micelle after the redispersion of casein micelle gels produced at 7 °C.

More importantly, this work highlighted new insights on the cohesiveness of casein micelles gel with changes of gel production temperature and gel redispersion temperature.

As shown previously, regardless of the gel production or gel redispersion temperatures, casein micelle gels were more cohesive at 7 °C than at 20 °C.

There are strong indications that gels produced at 7 °C were more cohesive than the ones produced at 20 °C and this is particularly striking when looking at the results obtained with medium compression degree, for gels concentrated at around 300 g/L. Gels produced at 20 °C dispersed very quickly while the redispersion kinetic of gels made at 7 °C was much slower than at 20 °C (Figures IV.1 and 2b).

A possible reason for explaining this phenomenon is a change of the composition / characteristics of the casein micelles surface with temperature decrease. It is known that there is a migration of β -casein from the core to the surface of the casein micelle when temperature decreases (Creamer *et al.* 1977). To our knowledge, no information in the literature is reported on the redistribution of other caseins such as α_{s1} -casein when temperature decreases. The characteristics of the casein micelle may change with the temperature decrease and some regions, not identified yet, could preferably create cohesive interactions. This could imply more connection points to form cohesive interaction with other

casein micelles at 7 °C compared to 20 °C. More investigations to support this conclusion and to identify changes of casein micelle surface at low temperature are still needed.

The higher hydration of casein micelle gels observed after redispersion was fully consistent with the higher cohesiveness of casein micelles at low temperature (cf. IV.3.2.2). Indeed, we can assume that during redispersion step, highly cohesive casein micelle gel (case at 7 °C compared to 20 °C) were more able to form “water holes” in the gel structure. During the redispersion, casein micelles gel gets hydrated by swelling and absorbing water but at 7 °C, gel was more hydrated than at 20 °C just before full redispersion. Stronger cohesive interactions at 7 °C compared to 20 °C keep casein micelles between them even if water is entering in the gel (Figure IV.4). Therefore, casein micelles stay linked together and ‘water holes’ form in the gel that although stay structured by strong cohesive interactions between casein micelles. This phenomenon has already been showed at 20 °C and this work consolidated this result and highlighted that casein micelle gel produced at 7 °C formed stronger cohesive interaction and more ‘water holes’ during the redispersion compared to 20 °C.

Moreover, from our results, it clearly appears that gel redispersion temperature had a great influence on the redispersion and swelling of the gels : redispersion rate and hydration of gels were very low when gels were redispersed at 7 °C compared to 20 °C (Figures IV.1 and IV.4).

We believe that these results cannot be simply explained by the thermal agitation (or molecular mobility) of molecules. Molecular mobility is limited at 7 °C compared to 20 °C and could imply less molecular mobility in the gel that does not swell much or even that does not swell at all (Figures IV.1b and d). However, in some cases the time of redispersion was very long ($t = 240$ h) and casein micelle gel redispersed at 7 °C did not swell at all (Figure IV.1.d). It could then be barely conceivable that during such a long time, even with a low molecular mobility, the casein micelle gel did not absorb water and swell.

Therefore, we believe that in the case of redispersion at 7 °C, swelling of gels was partially limited by the low thermal agitation but at the same time was more likely limited by strong cohesive interactions.

To sum up, Figure IV.6 presents in a scheme the different cohesive interaction forces at 7 °C and 20 °C depending on the compression degree and the redispersion/swelling of casein micelle gels.

At low compression degree, for initial casein concentration of around 200 g/L ($\phi = 0.90$), casein micelle gels at 7 and 20 °C have low cohesive interactions and equivalent cohesive interaction strengths resulting in gels that were easily and fully redispersed after 16 h of redispersion except for the gel produced at 7 °C and redispersed at 7 °C due to a gel that was likely strongly cohesive.

At medium compression degree, for initial casein concentration of around 300 g/L ($\phi = 1.32$), casein micelle gels have developed more or stronger cohesive interactions when produced at 7 °C than at 20 °C resulting in gels produced at 20 °C that were fully redispersed after 64 h of redispersion at 20 °C but gels were not yet fully redispersed when produced at 7 °C and redispersed at 20 °C. Furthermore, stronger cohesive interactions when gel was produced at 7 °C implied more water holes in the gel since casein micelle were strongly linked together.

At high compression degree, for initial casein concentration of around 450 g/L ($\phi = 1.77$), casein micelle gels have developed slightly higher cohesive interaction at 7 °C compared to 20 °C resulting in gels that were slightly less redispersed and less hydrated after 64 h of redispersion at 20 °C.

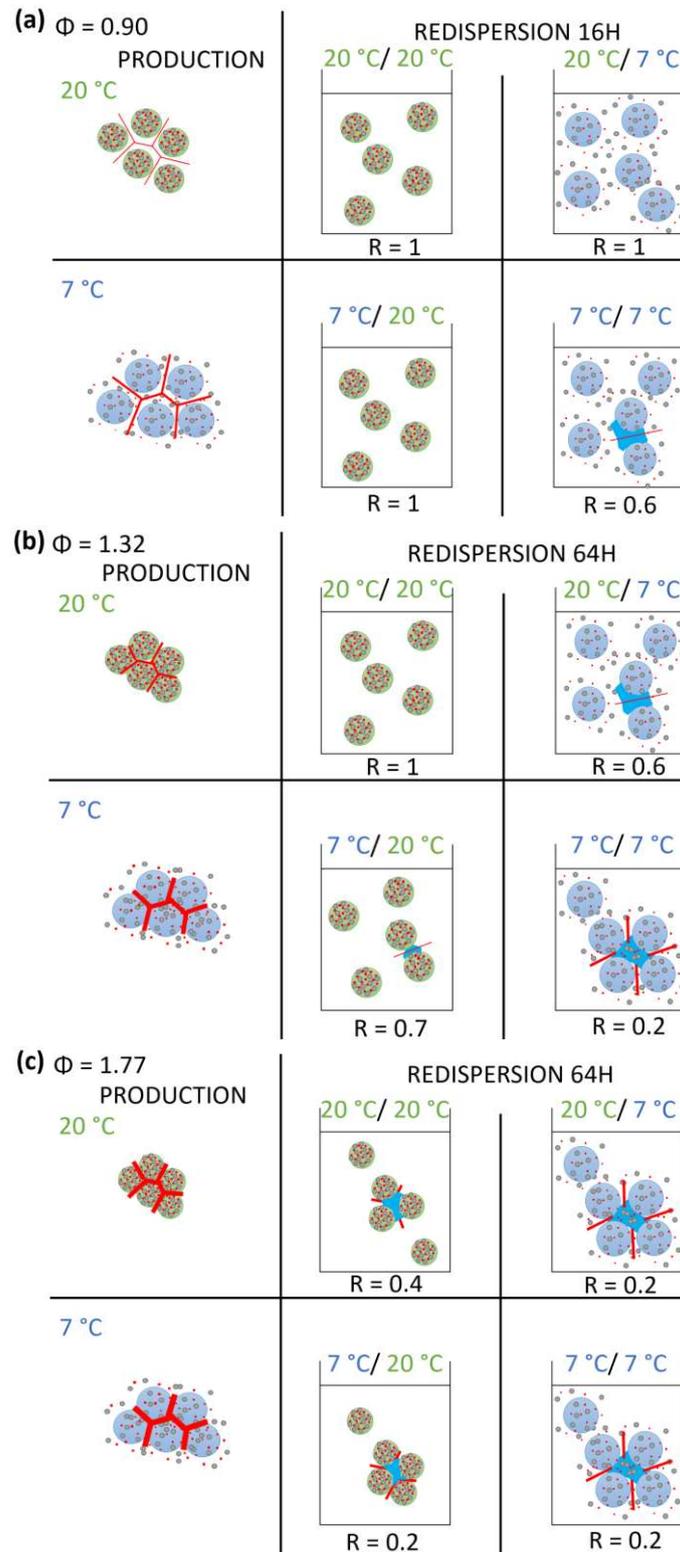


Figure IV.6. Schematic representation of casein micelle gels compressed at three different degrees at 7 °C and 20 °C and re-dispersed in UF permeate at different temperatures (7 and 20 °C). R is the redispersion rate. Casein micelle gels were produced at a volume fraction of (a) 0.90, (b) 1.32 and (c) 1.77. Cohesive interactions are represented by red bonds between casein micelles. The more a cohesive interaction is strong the more the red bond is thick. Water holes are represented by blue zone in the gels during redispersion.

IV.5. Conclusions

In the current work, cohesive properties of casein micelle gels at 7 and 20 °C have been studied by making gels through osmotic stress experiments and then by studying their redispersion/swelling in a solvent close of the aqueous phase of milk.

Regardless of the temperature, same trends were obtained at 7 °C and 20 °C than the results obtained by previous works (Bouchoux *et al.* 2009a ; Qu *et al.* 2015) : a sufficient compression degree needs to be reached to form cohesive interactions; the more concentrated a gel is, the more cohesive the interactions are. Furthermore, these interactions are surface forces since native casein micelles are released from the gel.

This work has pointed out that casein micelle gels are more cohesive when produced at 7 °C than at 20 °C since it seemed that more or stronger cohesion interactions have been formed at 7 °C than at 20 °C. This leads to casein micelle gels that were less easily redispersed in solvent of milk at 7 °C compared to 20 °C. But these gels can be more hydrated at 7 °C than at 20 °C since casein micelles stay strongly linked leading to the formation of 'water holes' inside the gel.

Furthermore, the current work showed that casein micelle gels were more cohesive when redispersed at 7 °C than at 20 °C because mainly cohesive interactions were stronger at 7 °C compared to 20 °C. This leads to gels that swelled less at 7 °C than at 20 °C or even that did not swell at all after 240 h of redispersion at 7 °C.

IV.6. Résultats complémentaires

Introduction

L'objectif de ce paragraphe est d'étudier des dispersions concentrées dans des conditions proches de celles utilisées en industrie (température basse, niveaux de compression bas, temps courts) afin de tester l'irréversibilité des dispersions formées.

La stratégie adoptée a été la suivante, concentrer des dispersions de micelles de caséine via la compression osmotique à des temps courts de compression, à deux températures (7 et 20 °C) puis étudier la réversibilité de ces dispersions à 20 °C après 3 jours de relâchement de la pression.

Rappels méthodologiques

Pour une description complète et détaillée des matériels et méthodes utilisés dans ce paragraphe « résultats complémentaires », cf. chapitre II.

IV.6.2.

IV.6.2.1. *Dispersion de micelles de caséine*

Des dispersions de micelles de caséine ont été préparées suivant le protocole développé en chapitre II par dissolution de poudre de micelles de caséine dans du PUF. Ces dispersions sont insérées dans les sacs de dialyse.

IV.6.2.2. *Préparation de gels par compression osmotique*

Des dispersions concentrées et gels sont fabriqués par compression osmotique selon le protocole détaillé dans le chapitre II. Les sacs de dialyse sont immergés dans une solution de polymère stressant à une température donnée (soit 20 °C soit 7 °C) afin de concentrer les micelles de caséine à l'intérieur des sacs. Il n'y a pas de remplissage intermédiaire pour ajouter de la dispersion de micelles de caséine dans les sacs.

IV.6.2.3. *Réversibilité de dispersions concentrées*

Des dispersions de micelles de caséines sont équilibrées à 7 et 20 °C dans des sacs de dialyse pendant 1 semaine à une faible pression osmotique (7 kPa à 7°C, 6 kPa à 20°C). Ces dispersions sont ensuite compressées à 3 niveaux de compression différents (de 1 à 15 kPa à 7°C et de 3 à 24 kPa à 20°C) pendant 3 durées de compression différentes (de 6 h, 72h et 168 h) toujours à 7 ou 20 °C et sans remplissage du sac de dialyse. La réversibilité de ces dispersions est étudiée après 72 h à 20 °C à la même pression osmotique de départ (7 kPa à 7°C, 6 kPa à 20°C).

Résultats

IV.6.3.1. *Influence des conditions opératoires sur la compression des dispersions concentrées*

Différentes conditions opératoires (température, durées et niveaux de compression) proches des conditions de filtration en industrie ont été utilisées via la compression osmotique. La Figure IV.7 représente les courbes d'état à 20 et 7 °C en compression osmotique classique de 4 semaines sur lesquelles les points obtenus à plus courtes durées de compression (de 6 à 168 h) ont été placés. Des résultats assez connus sont retrouvés : plus une dispersion est compressée, plus elle est concentrée (Bouchoux *et al.* 2009a ; Qu *et al.* 2015); les dispersions à 7 °C sont moins compressibles qu'à 20 °C (cf. chapitre III). Ces résultats montrent que, à 20 ou à 7 °C et quel que soit le niveau de compression imposé, la durée de compression de 6 h est trop courte pour obtenir des dispersions concentrées

équilibrées car aucun des points 6 h ne sont sur les courbes d'état. En revanche, les durées de compression de 72 et 168 h semblent suffisantes pour obtenir des dispersions concentrées équilibrées puisque les points se trouvent sur les courbes d'état obtenues à l'équilibre.

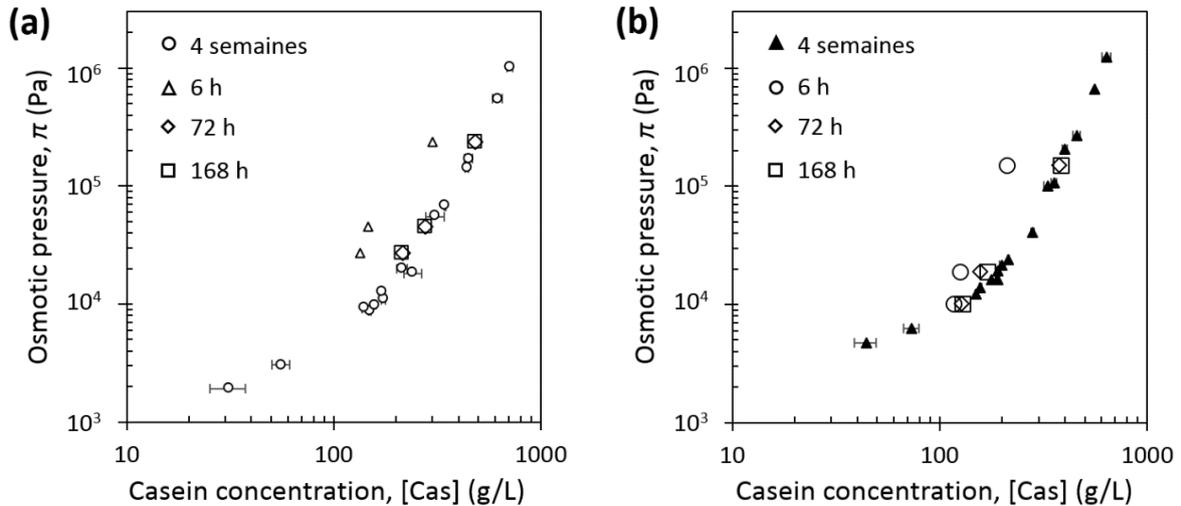


Figure IV.7. Osmotic pressure π of casein micelle dispersions in UF permeate at (a) 20°C during 4 weeks (open circles), during 6 h (open triangles), during 72 h (open diamonds) and during 168 h (open squares) and at (b) 7°C during 4 weeks (solid triangles), during 6 h (open circles), during 72 h (open diamonds) and during 168 h (open squares) as a function of casein concentration (in g/L)

La Figure IV.8 représente l'hydratation des différentes dispersions obtenues aux durées de compression 4 semaines, 72 h et 168 h en ajoutant les observations visuelles des dispersions. Si l'aspect n'était pas différent selon les durées de compression, un seul terme est utilisé (liquide et gel dur translucide sur le graphe) alors que lorsque les observations visuelles étaient différentes en fonction des durées de compression, elles sont clairement indiquées sur le graphe. Sur les différents niveaux de compressions étudiés, les dispersions très concentrées ($[Cas] > 350$ g/L) sont très peu hydratées et ressemblent à des gels durs translucides ce qui est en accord avec la littérature (Qu *et al.* 2015), et cela quelle que soit la température et les durées de compression ; les dispersions moyennement concentrées à 20 °C (entre 200 et 300 g/L), ont des structurations différentes selon la durée de compression puisqu'après 168 h de compression, l'aspect visuel des dispersions semble le même que celui après 4 semaines de compression alors qu'après 72 h de compression, le gel n'a pas le même aspect (gel mou blanc au lieu d'un gel dur translucide). Cela signifie que même si les points 72 h et 168 h sont alignés sur la courbe d'état après 4 semaines de compression, les dispersions après 72 h ont une structuration différente des dispersions obtenues après 168 h et 4 semaines de compression. Les dispersions après 72 h de compression ne sont donc pas à l'équilibre d'un point de vue structuration des dispersions. Les dispersions après 168 h de compression semblent à l'équilibre d'un point de vue équation d'état et d'un point de vue structuration des dispersions mais pour s'en assurer complètement, il faudrait vérifier par des mesures des propriétés rhéologiques le comportement des dispersions de micelles de caséine après 168 h de compression en comparaison des dispersions compressées 4 semaines.

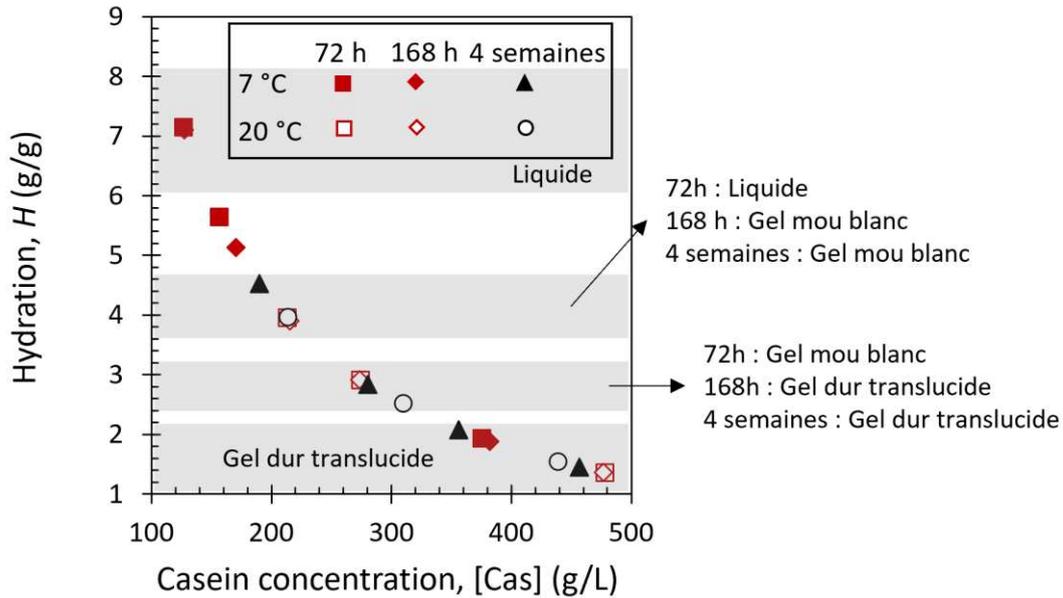


Figure IV.8. The hydration of casein micelle dispersions after osmotic stress with gels prepared at 20 °C and 7 °C during various osmotic stress duration as a function of casein concentration of compressed dispersions. Aspect of dispersion for each osmotic stress duration is indicated.

IV.6.3.2. Influence des conditions opératoires sur la réversibilité des dispersions concentrées

Suite à l'étape de compression, la réversibilité à 20 °C des dispersions compressées (pour rappel pendant 6, 72 et 168 h) est étudiée en transférant les sacs de dialyse pendant 72 h dans des flacons de pression osmotique très faible. A la suite de cette étape de réversibilité, un taux de réversibilité des dispersions est estimé. La Figure IV.9 présente le taux de réversibilité et l'hydratation après réversibilité des dispersions de micelles de caséine en fonction de la concentration en caséine après compression. Plus les dispersions sont compressées/concentrées, moins elles sont hydratées (Figure IV.9b), moins elles sont réversibles (Figure IV.9a) ce qui est largement connu et en accord avec la littérature (Bouchoux *et al.* 2009a ; Qu *et al.* 2015) quelle que soit la température et quelle que soit la durée de compression. Les dispersions compressées à 7 °C sont moins hydratées (Figure IV.9b) et moins réversibles (Figure IV.9a) que les dispersions compressées à 20 °C quelle que soit la durée de compression et quel que soit le niveau de compression ce qui est en accord avec les résultats obtenus dans le paragraphe IV.3. Enfin, les différences entre les deux durées de compression sont peu significatives et ne permettent pas de mettre en évidence un effet de la durée de compression. Une explication peut être le temps de réversibilité choisi de 72h qui est probablement trop grand pour observer des différences significatives ou la structuration différente entre 72 et 168 h n'a probablement pas permis la création de liaisons cohésives significativement différentes. Il serait alors intéressant de poursuivre les investigations sur l'effet de la durée de compression de dispersions de micelles de caséine en mettant en place plusieurs temps de réversibilité.

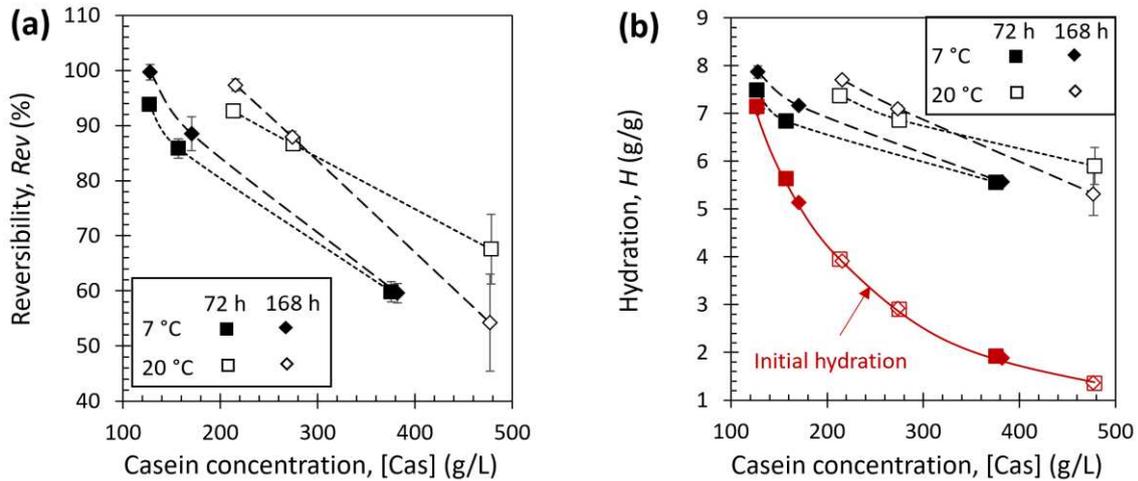


Figure IV.9. Comparison of (a) reversibility of casein micelle dispersions produced at 7 °C (solid symbols) and 20 °C (open symbols) during 72 h (squares) and 168 h (diamonds) and after reversibility step of 72 h at 20 °C and (b) hydration of casein micelle dispersions produced at 7 °C (solid symbols) and 20 °C (open symbols) during 72 h (squares) and 168 h (diamonds) and after reversibility of 72 h at 20 °C as a function of casein concentration in dispersions after compression. Initial hydration (after compression) is represented in red.

Ainsi il a été retrouvé des résultats assez classiques tels que plus des dispersions sont compressées, plus elles sont concentrées et moins elles sont réversibles ainsi que les dispersions à 7 °C sont moins compressibles et moins réversibles qu'à 20 °C, mais ces résultats ont été démontrés également sur des temps courts de compression osmotique, à savoir 72 h et 168 h qui sont plus en accord avec la filtration en industrie même si ce sont des temps de concentration assez élevés comparé aux temps de filtration en industrie. De plus, il semble qu'après 72 h de compression, certaines dispersions ne sont pas à l'équilibre puisqu'une structuration des dispersions se passe entre 72 h et 168 h ce qui est en accord avec les travaux de Sudre *et al.* (2012) qui montrent une augmentation du nombre de liaisons et donc un renforcement de la cohésion avec le temps entre un hydrogel et un polymère. Bien que cet effet soit visible après compression, il reste difficile à évaluer après réversibilité des dispersions à cause d'un temps de relaxation choisi probablement trop long (72 h à 20°C). En effet, si les mesures de réversibilité ne s'effectuaient pas au bout de 72 h mais de 2h de réversibilité par exemple, une différence serait probablement visible entre les gels ayant subi 168 h de compression et ceux ayant subi 72 h de compression, illustrant cet effet du temps de compression graphiquement. Il est alors nécessaire de poursuivre les investigations sur l'influence de la durée de compression en adaptant les protocoles d'expérimentations.

Conclusions

Dans ce paragraphe « résultats complémentaires », l'influence de conditions opératoires proches de celles utilisées en filtration en industrie sur la compression et la réversibilité de dispersions de micelles de caséine a été étudiée. Des durées de compression beaucoup plus faibles que 4 semaines où l'équilibre est atteint peuvent être utilisées en compression osmotique à 7 et 20 °C, cependant le protocole de réversibilité mis en place n'a pas pu démontrer l'influence de ces plus faibles durées de compressions sur la cohésion des dispersions formées et il est nécessaire de poursuivre les investigations sur ces aspects.

Chapitre V: Influence des conditions opératoires sur les phénomènes d'accumulation et de relaxation lors de la filtration tangentielle de micelles de caséine : caractérisation *in-situ* par SAXS

V.1. Effet de la température mise en œuvre : projet de publication	138
V.2. Influence de la pression transmembranaire et de la vitesse d'écoulement tangential	163

Ce chapitre est présenté sous la forme d'un projet d'article scientifique. Puis une partie « résultats supplémentaires » vient compléter la publication scientifique.

L'objectif de ce chapitre s'attache à répondre aux questions de recherche :

- Quelle est l'influence des conditions opératoires (température, vitesse de l'écoulement tangentiel, pression transmembranaire) sur les propriétés des couches de polarisation de concentration et du dépôt de micelles de caséine (concentration, transition sol-gel, cohésion) au cours de la filtration tangentielle ?
- Est-il possible d'éliminer en partie ou complètement le dépôt de micelles de caséine formé en relâchant la pression ? Est-il possible d'identifier un mécanisme de relâchement du dépôt ?
- La variation des conditions opératoires (température, vitesse de l'écoulement tangentiel, pression transmembranaire) de mise en œuvre de la filtration influence-t-elle les mécanismes de relaxation et d'érosion du dépôt lorsque la pression transmembranaire est relâchée et qu'un écoulement tangentiel est appliqué ?

De ce chapitre, il ressort que :

- (i) L'augmentation de la température du procédé à 42 °C induit à l'échelle macroscopique un flux de perméation plus élevé qu'à 12 et 25 °C, en partie dû à une viscosité plus faible à haute température qu'à basse température ce qui entraîne alors à l'échelle nano, une accumulation plus rapide, plus de matière accumulée et un gel plus épais à la surface de la membrane à 42 °C qu'à 12 et 25 °C.
A 12 °C, le flux de perméation est plus faible qu'à 25 °C mais plus de matière accumulée et un gel plus épais à la surface de la membrane ont été observés à 12 °C comparé à 25 °C et ceci peut être lié au changement de structure induit par la diminution de la température et notamment une concentration de transition sol-gel plus basse à 12 °C qu'à 25 °C ce qui pourrait alors mener à un gel plus épais et une concentration à la membrane plus élevée car les micelles de caséine prennent plus de place à 12 °C qu'à 25 °C.
Etonnamment, un optimum de faible accumulation a été observé à 25 °C.
Il apparaît alors nécessaire de compléter ces premiers résultats à d'autres températures afin d'avoir une description complète des changements de structures des dépôts.
- (ii) L'augmentation de pression transmembranaire de 50 à 110 kPa a permis la formation de dépôts plus concentrés et avec des parties gélifiées plus épaisses à 110 kPa qu'à 50 kPa ce qui est en accord avec les données macroscopiques de la littérature car plus la pression transmembranaire est élevée, plus le dépôt est compressé, concentré.
- (iii) L'augmentation de vitesse d'écoulement tangentiel de 3.1 à 15.6 cm/s, n'a pas permis la formation d'un dépôt, et aucun gel n'a été observé à la surface de la membrane lorsque la vitesse était de 15.6 cm/s comparé à 3.1 cm/s. Cela est en accord avec la littérature car plus la vitesse d'écoulement tangentiel est élevée, plus le dépôt est érodé.
- (iv) Excepté pour la vitesse d'écoulement tangentiel de 15.6 cm/s qui n'a pas permis la formation d'un dépôt, dans tous les autres cas, l'étape de relaxation de la pression après la filtration de micelles de caséine a permis le relâchement et l'élimination des dépôts

créés après la phase de filtration. Aucun produit chimique n'a été utilisé, seulement un relâchement de la pression sur un temps tout de même assez long de 45 min.

Le mécanisme de relâchement reste inconnu mais une vitesse d'écoulement tangentiel restée constante permet d'éliminer en continu les micelles de caséine redispersées.

- (v) Durant la relaxation sous différentes températures, plus de matière et de gel étaient éliminés à 42 °C comparé à 12 et 25 °C. Cela est probablement dû à la mobilité des molécules qui est dépendante de la température et augmente lorsque la température augmente. De plus, une limitation de l'élimination du dépôt a clairement été observée à 12 °C comparé à 25 et 42 °C et c'est également dû à la mobilité des molécules qui est largement diminuée quand la température diminue (cf. Chapitre IV) en plus de l'augmentation de la viscosité (cf. Chapitre III) et de la cohésion (cf. Chapitre IV) du gel de micelles de caséine à froid.
- (vi) Des dépôts formés à 110 kPa s'éliminaient plus facilement car plus de matière et de gel étaient éliminés au cours de la phase relaxation comparé à 50 kPa. Cela est probablement dû au fait que plus de matière avait été accumulée durant la phase de filtration à 110 kPa et donc plus de matière est disponible pour être libérée qu'à 50 kPa.

Les résultats de ce cinquième chapitre montrent clairement qu'après la filtration de micelles de caséine et la formation d'un dépôt en partie gélifié, la relaxation de la pression permet de relâcher et d'éliminer partiellement le dépôt et ce quelles que soient les conditions opératoires testées. Toutefois, une certaine limitation du relâchement et de l'élimination du dépôt formé et relâché à 12 °C a été mise en évidence. Les résultats de cette partie peuvent alors justifier la nécessité d'une adaptation de la conduite de la filtration. Il pourrait être intéressant de mettre en place des cycles alternés entre filtration puis relaxation de la pression afin d'éliminer après une filtration une partie du dépôt formé par relaxation de la pression avant de reprendre la filtration et ce sans avoir à arrêter la production et sans utiliser de nettoyage chimique permettant alors un gain de temps, de détergent, d'eau et d'énergie ce qui est plus respectueux de la nature. Or cela nécessite une étude plus approfondie des conditions opératoires exactes nécessaires pour optimiser les cycles successifs de filtration et relaxation. De plus, il semble qu'une conduite de la filtration à haute température soit préférable car en plus de meilleures performances de filtration, les dépôts formés sont plus facilement éliminés lors d'une relaxation de la pression, i.e. qu'ils sont moins cohésifs, qu'à basse température. Cependant la conduite de la filtration à haute température se fait sur des membranes céramiques coûteuses contre des membranes organiques moins chères à faible température et il est alors nécessaire d'effectuer la balance des avantages et inconvénients avec les nouveaux résultats mis en évidence dans ce travail pour choisir une meilleure conduite de la filtration.

V.1. Effet de la température de mise en oeuvre: projet de publication

Influence of processing temperature on casein micelles accumulated layers at the membrane surface during crossflow ultrafiltration probed by SAXS: build-up and relaxation phenomena.

Floriane Doudiès^{1, 2}, Maksym Loginov¹, Nicolas Hengl², J. Perez³, Frédéric Pignon², Geneviève Gésan-Guiziou¹

¹ STLO, INRA, AGROCAMPUS OUEST, 35000 Rennes, France

² Univ. Grenoble Alpes, CNRS, Grenoble INP (Institute of Engineering Univ. Grenoble Alpes), LRP, F-38000 Grenoble, France

³ Beamline SWING, Synchrotron SOLEIL, 91192 Gif-sur-Yvette, France

Introduction

Skimmed milk crossflow filtration is widely used in the dairy industry as means of concentration and fractionation of milk proteins for the production of cheese, milk protein concentrate, and for protein standardization (Brans *et al.* 2004 ; Pouliot 2008 ; Gésan-Guiziou 2010). One of the main limiting factors of the process is the accumulation of matter on the membrane surface which alters filtration performance (permeability, selectivity) and therefore filtration throughput is reduced and product quality is altered. It is now established that the performances of skimmed milk filtration is directly related to the presence of casein micelles (Le Berre et Daufin 1996 ; Gésan-Guiziou *et al.* 1999a ; Pignon *et al.* 2004 ; David *et al.* 2008 ; Jimenez-lopez *et al.* 2008 ; Jimenez-Lopez *et al.* 2011), soft colloids, which make up to 80% of the protein content of cow milk. In addition, rinsing and chemical cleaning are necessary for removing fouling, implying significant water and chemicals consumption and process downtime (Rabiller-Baudry *et al.* 2006). To further optimize filtration and cleaning step, a better understanding of structural organization of casein accumulated layers at the membrane surface is required. Some previous studies have already investigated the impact of processing parameters on filtration performances (Liu *et al.* 2014 ; Ng *et al.* 2018) but the influence of processing temperature on casein micelles accumulated layers at the membrane surface is not completely understood until now.

Casein micelles are roughly spherical aggregates, which consist of smaller assemblies of four different caseins (α_{s1} , α_{s2} , β and κ in proportion of 4 : 1 : 4 : 1) and 8 wt. % of phosphate and calcium ions (McMahon et Brown 1984). The structure of casein micelles is still controversial, but it is commonly accepted that they have roughly spherical shape and core-shell structure, with the outer diameter ranging from 50 to 500 nm (De Kruif 1998 ; Dalgleish 2011 ; De Kruif *et al.* 2012 ; Dalgleish et Corredig 2012). The core is generally described as a matrix of proteins in which the ionic nanoclusters of calcium and phosphate act as connecting points for casein assembly and are randomly distributed (Horne 1998, 2006 ; Pignon *et al.* 2004 ; Farrell *et al.* 2006 ; Marchin *et al.* 2007). There is a consensus on the casein micelle shell, which is essentially made of κ -caseins that protrude into the aqueous phase as a polyelectrolyte brush, which stabilizes casein micelles through electrostatic and steric repulsions and insures its hydration (De Kruif et Zhulina 1996 ; Dalgleish 1998). Moreover, casein micelles contain

76 wt. % of water, which makes them some kind of natural sponge-like microgels that are porous, deformable, compressible and dynamic (Bouchoux *et al.* 2010).

It has been showed that casein micelles can gel under certain operating filtration conditions (Bouchoux *et al.* 2009a ; Qu *et al.* 2012) at the membrane surface, causing irreversible fouling (Gésan-Guiziou *et al.* 1999b, 2006 ; Grandison *et al.* 2000 ; Youravong *et al.* 2003). It is then often necessary to clean the surface and the internal membrane material with chemical products to recover initial operating conditions. These chemical cleaning procedures induce consequent time, water and energy consumption, which is a barrier to the development and optimization of filtration processes. An alternative way to help the efficiency of the chemicals and subsequent water cleaning treatments is to use pressure relaxation step with crossflow, to allow a partial fouling removal. Indeed, some studies have demonstrated that fouling removal can be achieved and improved after a crossflow or dead-end filtration, when a relaxation step is applied and when its duration is increased (Nakanishi et Kessler 1985 ; Chua *et al.* 2002 ; Gésan-Guiziou *et al.* 2006 ; van der Marel *et al.* 2009 ; Jørgensen *et al.* 2014, 2019 ; Zhang *et al.* 2017). But to our knowledge the potential of pressure relaxation steps to induce fouling removal after casein micelles crossflow filtration processes, have not been explored in details until now.

Another important parameter, which control accumulation of casein micelles during filtration and its subsequent removal by pressure release or chemical cleaning, is the processing temperature. Consequently, this parameter has yet to be fully investigated. Indeed, industrial skim milk filtration is typically conducted at either 8 – 12 °C with the use of polymeric spiral membranes or 48 – 53 °C with the use of mineral membranes. Operation at the higher temperatures (48 – 53 °C) is traditionally favored due to higher fluxes resulting from lower retentate viscosity. But there is an increasing interest to operate milk filtration at low temperature (8 – 12 °C) due to the lower cost of spiral polymeric membranes compared to mineral membranes. However, spiral polymeric membranes are difficult to clean and therefore to prevent bacterial growth, operation is conducted at low temperature.

Processing temperature affects the physico-chemical properties of casein micelles. It is well known that lowering the temperature induces structural and composition changes in casein micelles. Decreasing the temperature results in the dissociation of macromolecular assemblies by weakening hydrophobic interactions, in the release of β -casein and of colloidal calcium and phosphate in serum phase (Creamer *et al.* 1977 ; Davies et Law 1983 ; Walstra 1990 ; Holt 1995 ; Marchin *et al.* 2007 ; Liu *et al.* 2013) and in the increase of hydration and apparent voluminosity of casein micelles (Nöbel *et al.* 2012 ; Liu *et al.* 2013). However, despite the temperature-sensitive nature of casein micelles and the common practice of the skim milk filtration at 8 – 12 °C in some parts of the world, the vast majority of the skim milk filtration fouling characterization studies have been conducted at 48 – 53 °C (Jimenez-lopez *et al.* 2008 ; Hurt *et al.* 2015 ; Jørgensen *et al.* 2016), which is more widely used. Furthermore, as far as we know, there are no studies related to the comparison of casein micelle crossflow filtration at different temperatures, only limited to skim milk filtration (Liu *et al.* 2014 ; Luo *et al.* 2015 ; Ng *et al.* 2018) and there are also no studies related to the impact of processing temperature on the pressure relaxation removal of casein micelle layers accumulated at the membrane surface.

At micro-scale, some authors studied structural organization of colloids at the membrane surface thanks to real-time *in-situ* Small Angle X-ray Scattering (SAXS) (Pignon *et al.* 2004, 2012 ; David *et al.* 2008 ; Jin *et al.* 2014a, 2014b, 2015 ; Rey *et al.* 2019). To the best of author's knowledge, casein micelle structural organization accumulated at the membrane surface has only been determined during frontal ultrafiltration (David *et al.* 2008) or during crossflow filtration (Pignon *et al.* 2004 ; Jin *et al.* 2014b) but

the effect of processing temperature on structural organization of casein micelle and the changes induces inside the accumulated layers during pressure relaxation remain unstudied.

Therefore, structural organization at nanometer length scale during filtration, revealed by SAXS will be combined with macroscopic filtration measurements giving access to permeate flux and deposit resistances. It is the first time that evolution of structural organization and properties (cohesiveness through pressure relaxation) of casein accumulated layers at the membrane surface over time, during crossflow filtration of casein micelles at different temperatures, is observed by *in-situ* measurement. The aim of this work was to answer the following questions:

- (1) How processing temperature affect the mechanisms of accumulation of casein micelles during theirs crossflow filtration?
- (2) Could casein micelles accumulated layers be removed by pressure relaxation? What is the mechanism of relaxation? What is the impact of the processing temperature?

Material and method

V.1.2.1. Casein micelle dispersion preparation

V.1.2. Experiments were done with casein isolate powder, i.e. a milk fraction enriched in micellar casein (Promilk 852B, Ingredia, Arras, France) dispersed in a milk permeate obtained by ultrafiltration of skim milk (UF permeate). It is commonly accepted that the use of UF permeate as an aqueous phase for casein reconstitution allows to recover the main properties of casein micelles, such as their size distribution (Famelart *et al.* 1996). The casein isolate powder was obtained from a pasteurized skim milk by microfiltration on a 0.1 μm membrane and analyzed according to standard methods.

The average composition of the casein isolate powder is given in Table V.1.

The average total, non-casein and non-protein nitrogen matter contents were determined through the Kjeldahl method (International IDF Standard 20B 1990 ; Gaucher *et al.* 2008) using 6.38, 6.25 and 6.19 as converting factors, The casein content was determined as the difference between the total nitrogen matter content and non-casein nitrogen matter content. Casein represents more than 75% of the powder total solids. The serum protein content was determined as a difference between the non-casein nitrogen matter content and the non-protein nitrogen matter content. The non-protein nitrogen fraction contains most of the small peptides (i.e. molecular mass < 10 kDa) present in solution. The mineral content was determined as the ash content by drying the powder to 550 °C during 5h (AFNOR Norme française NF V04-208 1989).

The lactose (4 wt. %) and fat (1.5 wt. %) content, expressed on the total dry solid basis, were determined by the powder manufacturer.

Table V.1. Composition of casein isolate powder. Average values of relative concentration are given in wt. % of total solids content (% TS) with a standard deviation of ± 0.2 wt. %.

Total solids (TS) (wt. %)	Total nitrogen matter (% TS)	Casein (% TS)	Minerals (% TS)	Non-casein nitrogen matter (NCN) (% TS)	Serum proteins (% TS)	Non-protein nitrogen matter (% TS)
94.5	83.9	75.9	8.4	8.0	7.2	0.8

The UF permeate was prepared by ultrafiltration of a fresh skim milk at 12 °C through a membrane (6338 HFK 328, MWCO of 5 kDa, Koch Membranes Systems, The Netherlands). Caseins and whey proteins were eliminated through this operation. The ionic composition of UF permeate is: 3.3 mM Mg^{2+} , 18.0 mM Na^+ , 42.7 mM K^+ , 7.5 mM Ca^{2+} , 29.0 mM Cl^- , 7.5 mM citrate, 9.9 mM phosphate (all values are given as averages with $\pm 5\%$ standard deviations) (see Jenness et Koops (1962) for a full description of methods). Cations (Ca, Na, Mg, K) were determined by atomic absorption spectrophotometer (SpectrAA 220FS, Agilent Technologie, Les Ulis, France) and anions (inorganic phosphates, citrates and chlorides) by chromatography method (Dionex ICS 3000 HPLC, Thermo Fischer Scientific, Villebon Courtaboeuf, France). Thiomersal and sodium azide, both purchased from Sigma-Aldrich (ST. Louis, MO, USA), were added to the UF permeate as preservatives at 0.02 wt. % and 0.05 wt. %, respectively.

The casein micelle dispersions were prepared by thoroughly mixing the casein isolate powder with UF permeate at 35 °C for 15 h as previously suggested (Gaiani *et al.* 2006). The dynamic light scattering analysis of casein micelle dispersions confirmed that dispersions had a particle size distribution from 50 to 500 nm with an average diameter of 130 nm that is similar to that of native casein micelles. The pH of dispersions was 6.7 ± 0.1 at 20 °C, i.e. the pH value of a fresh skim milk.

V.1.2.2. *In-situ SAXS crossflow filtration*

V.1.2.2.1. Experimental set-up

A SAXS coupled to crossflow filtration cell was previously designed to measure *in-situ* concentration profiles and structural organization of the concentrated accumulated layer of colloidal suspensions during crossflow filtration by SAXS (Jin *et al.* 2014a, 2014b, 2015 ; Rey *et al.* 2019). This cell (Figure V.1) is made of transparent polycarbonate and contains a flat polyethersulfone membrane of (100 x 4) mm (PES 100 kDa, Peliade, Orelis Environnement, France). The filtration cell is composed of two polycarbonate pieces with a retentate or feed channel for the upper part and the permeate channel for the lower part. The retentate channel is 100 mm long in tangential flow direction and 4 mm y large and 8 mm z high in the flow section. A perforated metal membrane support separates the both channels. The membrane is deposited on this support to avoid its deformation under the weight of matter accumulated layer and the transmembrane pressure applied. The membrane is strengthened between these two upper and lower parts of the cell. Three windows of observation of 3 mm x 5.5 mm x 0.3 mm (width x height x thickness) were positioned at the entrance, the middle and the outlet in the retentate channel with a distance of 43 mm from each other. In this work, only the window in the middle is used.

During the filtration, the feed suspensions were pumped by a progressive cavity pump (Mono Pump LF series, Grosclaude, France) from a high-pressure resistant vessel (Millipore 5 L, Merck Millipore, France) to the filtration cell as already detailed by Jin *et al.* (2014b). The crossflow rate is quantified constantly by a magnetic flowmeter (Optiflux 6300C, Krohne, France). Pressure was applied to the rig via purified compressed air and was monitored by two pressures gauges (FP 110 FGP Sensors & Instrument, France) at both the inlet and outlet of the filtration cell. The permeate flux J was monitored by measuring the mass variation in the reservoir vessel every 3 s with an accuracy of 0.001 g (Balance PB 303-S/FACT, Mettler Toledo, France). The filtration temperature was maintained at 12 °C, 25 °C or 42 ± 1 °C by a thermostatic bath (Eco Silver RE 620 SW, Lauda, Germany) and verified constantly by two sensors (YC-747D with K thermocouples, Yu Ching technology, Taiwan) at both inlet and outlet the filtration cell.

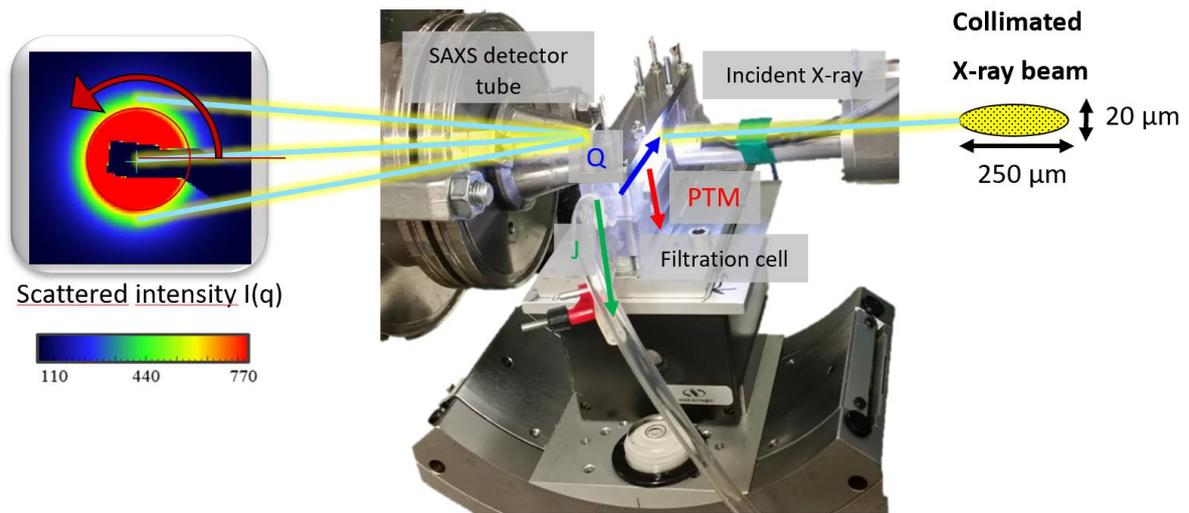


Figure V.1. SAXS crossflow filtration cell during *in-situ* SAXS measurement.

V.1.2.2.2. Filtration procedure

New PES membranes were used for each run. Before experiments, membranes were conditioned during at least thirty minutes in UF permeate.

A three steps filtration protocol was performed (Figure V.2) in order to follow the casein accumulated layers and their cohesiveness properties through concentration profiles by SAXS or by evaluation of the filtration resistance after the two first steps. A first step of filtration of 150 min at a transmembrane pressure (TMP) of 1.1×10^5 Pa and crossflow velocity (v) of $3.1 \times 10^{-2} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ allowed to follow the accumulation of casein micelles. Then a pressure relaxation step of 45 min at 0.1×10^5 Pa at the same crossflow velocity allowed to characterize the cohesiveness and reversibility of these accumulated layers. Finally, a short erosion step during 10 min was performed at $v = 15.6 \times 10^{-2} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$.

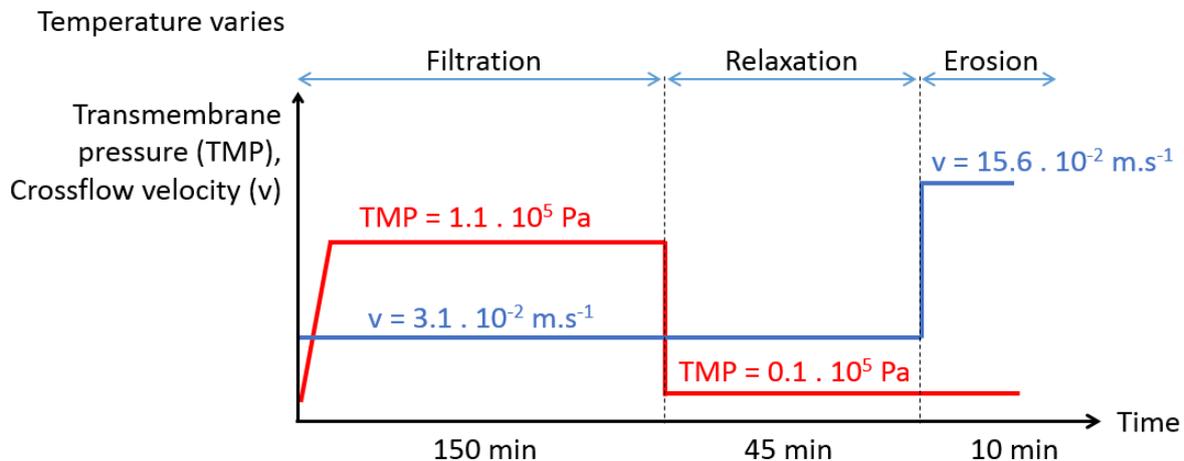


Figure V.2. Scheme of filtration protocol performed during the runs with first a filtration step, a pressure relaxation step and an erosion step.

At the end of each run, the filtration cell was disassembled to remove the fouled membrane and replace it by a new membrane for the next run. The filtration cell was thoroughly rinsed with deionized water and reassembled. 10 L of Ultrasil 25F (0.5 % vt) (Ecolab SNC, France) was then recirculated

through the filtration rig at 50 °C, TMP = 1.5×10^5 Pa and $v = 52.1 \text{ m.s}^{-1}$ during 30 min and finally flushed with deionized water in the same conditions.

Permeate flux and cake or membrane resistances determination were performed secondly independently of SAXS measurements in exactly the same conditions and protocol used during SAXS. The mean values of these measurements were comparable with the one registered on-line during SAXS experiment. Indeed the permeate flux obtained during SAXS measurements were not enough accurate due to the movement of motorized vertical stage positioning the filtration cell in front of the x-ray beam to scan the evolution of structure and concentration profiles in the accumulated layers. This recurrent vertical movement perturbs the permeate flow in the tube which is used to collect the permeate mass on the balance, inducing some oscillation of the registered mass during time.

In addition to the previous detailed filtration procedure, hydraulic resistances of clean membrane were determined by filtering pure deionized water at the studied temperature and at 5 different TMP (from 0.1 to 1×10^5 Pa), $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ prior to the filtration rig. At the end of filtration step, the rig was emptied and rinsed with deionized water at the studied temperature during 10 min at TMP = 0 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$. Then hydraulic resistance of fouling layer after filtration step was determined by filtering pure deionized water at the studied temperature and at 5 different TMP (from 0.1 to 1×10^5 Pa), $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$. In the same way, hydraulic resistance of fouling layer after relaxation step was determined by filtering pure deionized water at the studied temperature and at 5 different TMP (from 0.1 to 1×10^5 Pa), $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ after 10 min at TMP = 0 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$.

V.1.2.2.3. SAXS measurements

SAXS experiments were performed at the French national synchrotron facility (SOLEIL, Gif sur Yvette, France), at the SWING Beamline. The incident X-ray beam of wavelength (λ) of 0.1 nm, was collimated to 20 μm vertically and 150 μm horizontally using slits. Sample to detector distance was fixed at 3 m which provided a scattering vector q range from 0.05 to 3 nm^{-1} :

$$q = (4\pi/\lambda) \sin(\theta/2) \quad \text{Eq.V.1}$$

with θ the scattering angle.

The filtration cell was mounted on motorized stages. A rotational stage was used to align the incident beam parallel with the membrane surface and a vertical translation stage allowed monitoring by SAXS the concentration and structural organization of dispersions at different distances from the membrane surface. The incident beam passed through the sample and the two-dimensional scattered intensity patterns were recorded on a high-resolution charge coupled device (CCD) detector (Figure V.1 and Figure V.3a).

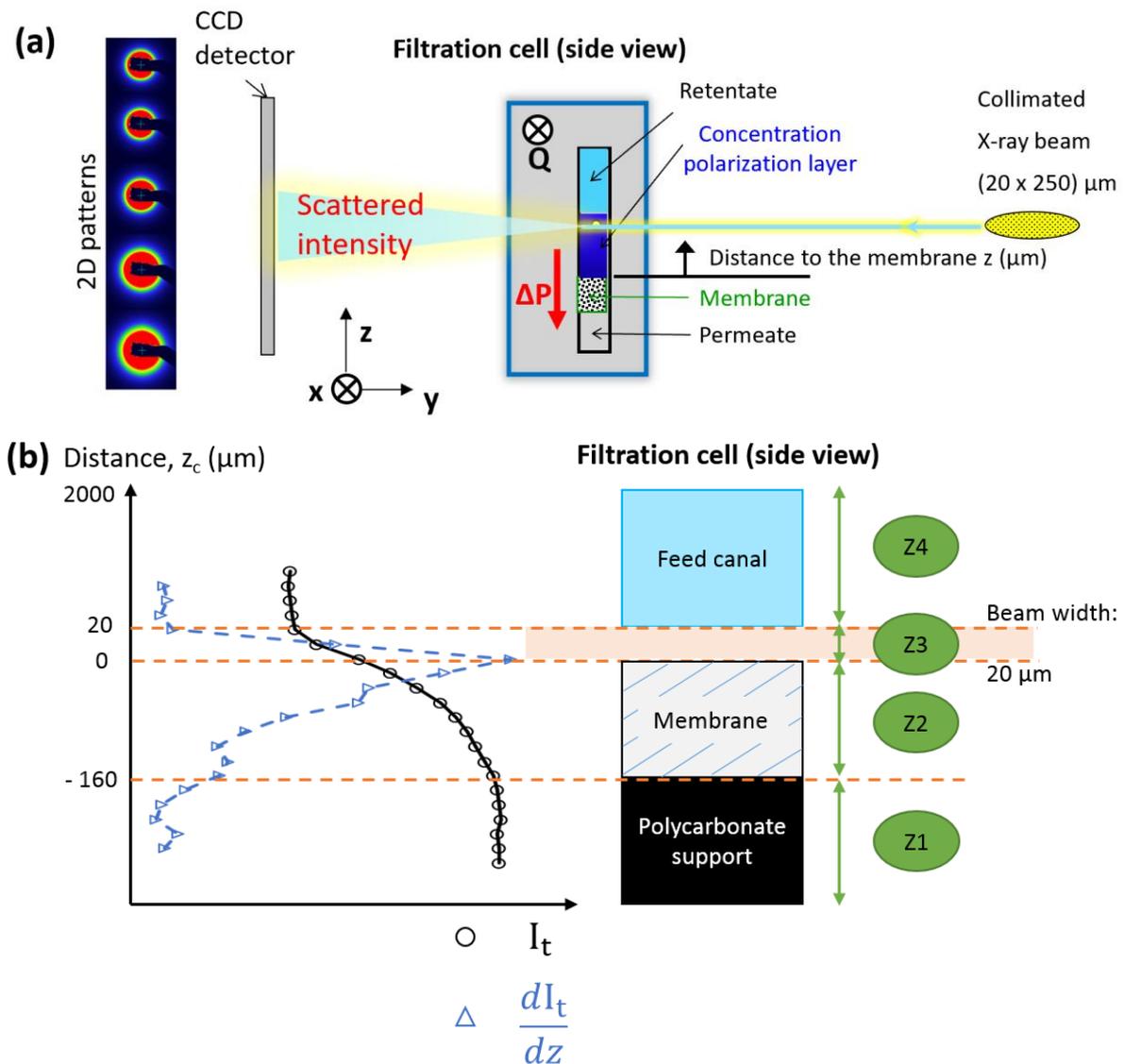


Figure V.3. Scheme of the cell in side view for (a) *in-situ* SAXS measurement and (b) zero membrane determination.

V.1.2.2.3.1. Determination of membrane position

The analysis of the SAXS patterns registered in the crossflow cell is the same that has already been described in previous works (Jin *et al.* 2014a, 2014b, 2015 ; Rey *et al.* 2019). Four different zones were defined by measuring the transmitted X-ray signal as a function of the distance through the cell (z_c) and especially by calculating the derivative of this transmitted intensity on the distance (Figure V.3b). The description of these zones has allowed to define the minimal distance z_c above which the scattered intensity is not influence by the X-ray beam partially crossing the polycarbonate permeate channel and the membrane. The detection of this minimal z_c position for which the scattered intensity can be properly registered (without influence of the polycarbonate permeate channel and the membrane) is fixed at zero ($z_c = 0$). Thanks to a new design of the windows of observation and also with the use of the angular motion stage, the minimal distance above this z_c position for obtaining exploitable SAXS data was reduce to 20 μm. To clarify the location of the zero position corresponding to the edge of the membrane surface, the description in Figure V.3b is the following: four areas are defined depending

on the vertical distance in the filtration cell. A first zone Z1 corresponds to the permeate channel in the polycarbonate matter. The X-ray beam is totally absorbed in this region. A second area Z2 is defined as being the membrane since a transmitted signal is received, with a peak of the variation of transmitted intensity on distance at the end of the presence of the membrane. This means that the X-ray beam starts to pass through the membrane, positioned on the permeate channel. The signal increases for increasing vertical distance. In the third area Z3, the signal received is provided by the sample but is still affected by the membrane signal. This area measures a determined thickness depending on the beam width, here 20 μm . When the scattering intensities received are constant, any influences from the membrane are detected and the area Z4 corresponding to the measure area is configured. So, this area starts from $z = 20 \mu\text{m}$ above the membrane surface in our experiments and $z_c = 0$ is fixed at the bottom of the area Z3.

V.1.2.2.3.2. Analysis of SAXS results

Scattering patterns were normalized to an absolute intensity scale after applying standard detector corrections and then azimuthally averaged to obtain the one-dimensional intensity profiles denoted by $I(q)$. It should be noted that the main SAXS signal of milk comes from casein micelles. Before the filtration experiments, the cell was filled with UF permeate (containing lactose and minerals) and the normalized background scattering associated was systemically subtracted to the scattering of casein micelle dispersions during filtration experiments because the presence of lactose and minerals influences the SAXS profiles of casein micelles, mainly at high scattering vectors q value range ($q > 0.7 \text{ nm}^{-1}$) (Jin *et al.* 2014b). In this range of scattering vectors, the scattering intensity is not affected by neither the change in inter-particle interactions (described by the structure factor) nor the possible anisotropy of the SAXS pattern. The scattered intensity of this range is therefore proportional to the number of particles per unit of volume, as already discussed by previous authors (David *et al.* 2008 ; Pignon *et al.* 2012 ; Jin *et al.* 2014a).

V.1.2.2.3.3. Calibration curve

In order to determine the casein micelle concentrations within concentrated layer during filtration, a calibration curve was firstly established. Ten dispersions of known casein micelle concentrations, from 2 to 180 g/L, were prepared and measured by SAXS in the filtration cell at a controlled temperature ($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$). A relation between the scattering intensity at $q = 1 \text{ nm}^{-1}$ ($I(q = 1 \text{ nm}^{-1})$) of these dispersions and their casein micelle concentration [Cas] in g/L ($R^2 = 0.999$):

$$I(q = 1 \text{ nm}^{-1}) = 0.0032 [\text{Cas}]_{\text{g/L}} \quad \text{Eq.V.2}$$

This law has been established in the flat level in the Kratky plot (q^{-2} power law decay) corresponding to the form factor of the particles and therefore valid at higher concentrations (Pignon *et al.* 2012) since it corresponds to the internal structure of casein micelles, hard regions defined by Bouchoux *et al.* (2010) or protein inhomogeneity as pointed out by Ingham *et al.* (2016). This relation has been verified and validated at $12 \text{ }^\circ\text{C}$ and $42 \text{ }^\circ\text{C}$ with casein micelle dispersions of known concentration of 50 g/L.

V.1.2.2.3.4. Concentration profile as a function of filtration time deduced from *in-situ* SAXS

With the calibration curve, the concentration of any casein micelle dispersion inside the filtration cell at a certain distance z and a certain filtration time, could be determined. From the scattering intensity curve $I(q)$ registered inside the filtration cell, the absolute scattered intensity I ($q = 1 \text{ nm}^{-1}$) at a scattering vector $q = 1 \text{ nm}^{-1}$, can be evaluated. Thanks to calibration curve Eq.V.2; one can deduce reliably the corresponding casein micelle concentration. This method has already been used (Pignon *et al.* 2004, 2012 ; David *et al.* 2008 ; Jin *et al.* 2014a, 2014b, 2015 ; Rey *et al.* 2019) to determine the concentration evolution of colloidal dispersions as a function of the distance z from the membrane surface, which corresponds to the concentration profiles of the colloidal dispersions in the accumulated layers during filtration.

From the casein micelle concentration profiles, accumulated mass and gel thickness were deduced (see V.2.3.2), allowing to follow the accumulation of mass and the formation of a casein micelle gel during the time of filtration and then to follow the changes of mass and gel thickness during the time of relaxation and erosion steps.

V.1.2.3. Calculations

V.1.2.3.1. Casein concentration and effective volume fraction calculations

The casein concentration [Cas] (in wt. %) of casein micelle dispersions was calculated with the help of :

$$[\text{Cas}] = \frac{TS_{\text{powder}} \cdot (1 - \text{NCN}) \cdot (TS_{\text{disp}} - TS_{\text{uf}})}{(1 - TS_{\text{uf}})} \quad \text{Eq.V.3}$$

where TS_{powder} , TS_{disp} and TS_{uf} are the total solid contents in the powder, in the dispersion and in the UF permeate, in wt. %, respectively and NCN is the amount of non-casein nitrogen matter in the isolate casein powder (Table 1); The total solid contents in the casein isolate powder, all dispersions, and UF permeate were obtained by weighing the sample after drying for 7 h at 105 °C (AFNOR Norme française NF V04-348 1978).

The casein concentration in the sample (expressed in g of casein per L of sample), is then calculated as:

$$[\text{Cas}]_{\text{g/L}} = \frac{1000}{0.733 + (1 - TS_{\text{disp}}) / [\text{Cas}]} \quad \text{Eq.V.4}$$

For the derivation of Eq. (5) it is assumed that dispersion consisted in a dispersion medium, having density of pure water, and casein, which density is inverse to its weighted average partial specific volume 0.733 mL/g. This value is determined from the individual casein amino acid sequences (Morris *et al.* 2000).

Finally, the effective volume fraction ϕ_{eff} of casein micelles in dispersion is defined as:

$$\phi_{\text{eff}} = v[\text{Cas}]_{\text{g/L}} \quad \text{Eq.V.5}$$

where v is the apparent voluminosity of casein micelle, equal to 4.52 mL/g at 12 °C, 3.9 mL/g at 25 °C and 3.8 mL/g at 42 °C (Nöbel *et al.* 2012, 2016) for pasteurized skimmed milk.

The so-called effective volume fraction gives an indication of the deformation and compression experienced by casein micelles at high concentrations (Bouchoux *et al.* 2009a). When $\phi_{\text{eff}} > \phi_{\text{eff,max}}$, where $\phi_{\text{eff,max}}$ is the volume fraction at random close-packing of casein micelles taken as $\phi_{\text{eff,max}} = 0.71$ (cf. Chapter III) casein micelles start to be partially deformed. Then, $\phi_{\text{eff}} > 1$ indicates that the casein micelles are compressed to a lower volume, i.e. partially de-swelled and compressed.

V.1.2.3.2. Evaluation of resistance components

Contributions of individual filtration resistance components (membrane, reversible fouling and irreversible fouling) were evaluated using the resistance-in-series model (Jönsson 1993) using fluxes measured at different stages of the filtration run.

2. The pure water flux measured prior to filtration (J_0) is due to the resistance of the clean membrane only (R_m):

$$R_m = \frac{TMP}{\mu \times J_0} \quad \text{Eq.V.6}$$

4. The casein micelle dispersion filtration flux (J) is due to resistances contributed by reversible fouling (or r_f), irreversible (or i_f) fouling and the membrane (total resistance):

$$R_{rf} + R_{if} + R_m = \frac{TMP}{\mu \times J} \quad \text{Eq.V.7}$$

5. The water flux measured following the water flush after filtration run or after filtration then relaxation run ($J_{\text{water flush}}$) is due to the combined resistances of the irreversible fouling and the membrane:

$$R_{if} + R_m = \frac{TMP}{\mu \times J_{\text{water flush}}} \quad \text{Eq.V.8}$$

where μ is viscosity of water at the temperature studied (12 °C, 25 °C or 42 °C), values were taken from Korson *et al.* (1969).

V.1.2.3.3. Evaluation of accumulated mass and gel thickness from SAXS concentration profiles

V.1.2.3.3.1. Casein accumulated mass in excess

Total casein accumulated mass ($m_{tot,t}$ in g.m^{-2}) at one time t of the filtration is determined through the total area (A_{tot}) under the concentration profile at this fixed time:

$$m_{tot,t} = A_{tot} = \sum_i A_i = \sum_i \left(\frac{([Cas]_i + [Cas]_{i+1}) \times (z_{i+1} - z_i)}{2} \right) \quad \text{Eq.V.9}$$

with one concentration related to one distance to the membrane i at casein concentration $[Cas]$ in g.m^{-3} and distance to the membrane z in m .

Casein accumulated mass in excess in the fouling layer m_t , compared to the initial fouling layer, at one time t is deduced as:

$$m_t = m_{tot,t} - m_{i,t} \quad \text{Eq.V.10}$$

with $m_{i,t}$, the casein accumulated mass at initial time, before filtration.

This accumulated mass in excess in the fouling layer was followed over the time of filtration, relaxation and erosion. Therefore, casein mass accumulated in excess m in the fouling layer was presented as a function of time.

During relaxation and erosion steps, removed mass was calculated by subtracting accumulated mass at any time of the relaxation and erosion time to the accumulated mass at the begin of the relaxation step in order to follow the mass removed during the time of relaxation and erosion.

V.1.2.3.3.2. Gel thickness

Theoretical gel thickness of fouling layer was defined as the point z on the concentration profile curve that corresponded to the sol-gel transition concentration. Sol-gel transition was taken as $\phi_{eff,max} = 0.71$ (cf. Chapter III) and sol-gel transition concentrations at 12 °C, 25 °C and 42 °C were deduced by calculating voluminosities at these temperatures with expressions provided by previous works (Nöbel

et al. 2012, 2016). Sol-gel transition casein concentrations ($[Cas]_{sol-gel}$) calculated at 12 °C, 25 °C and 42 °C were respectively 157, 182 and 189 g/L.

Gel thickness e was interpolated with the existing points i and $i+1$ between which the sol-gel transition was contained through:

$$e = z_{sol-gel} = \frac{([Cas]_i - [Cas]_{sol-gel,T}) \times (z_i - z_{i+1})}{([Cas]_i - [Cas]_{i+1})} + z_i \quad \text{Eq.V.11}$$

This theoretical gel thickness in the fouling layer was followed over the time of filtration, relaxation and erosion. Therefore, casein mass accumulated m in the fouling layer was presented as a function of time.

During relaxation and erosion steps, relative gel thickness was calculated by derivation of gel thickness at any time of the relaxation and erosion time by the gel thickness at the begin of the relaxation step in order to follow the relative gel thickness during the time of relaxation and erosion.

Results and discussion

V.1.3.1. Influence of temperature on SAXS pattern of casein micelles

V.1.3. Casein micelles dispersions 2D-SAXS patterns were not represented because in the contrary to others colloidal 2D-SAXS patterns that are anisotropic near the membrane surface due to the effect of transmembrane pressure and shear flow forces (Pignon *et al.* 2012 ; Rey *et al.* 2019), Casein micelles dispersions 2D-SAXS patterns were always isotropic.

Figure V.4 displays the scattering intensity and the Kratky plot representation of casein micelle dispersions obtained after 150 min of filtration at a same effective volume fraction of 0.93 ± 0.07 for three different temperatures, 12, 25 and 42 °C (respectively 224, 224 and 236 g/L at 12, 25 and 42 °C) after adequate subtraction of the UF permeate pattern. Regardless of the temperature, the scattering intensities and the Kratky plot representation as a function of scattering vectors were in good agreement with the SAXS patterns for casein micelles and skim milk obtained by previous works (Pignon *et al.* 2004 ; David *et al.* 2008 ; Bouchoux *et al.* 2010 ; Jin *et al.* 2014b ; Ingham *et al.* 2016). In Figure V.4a, all the curves are superposed but in the Kratky plot representation (Figure V.4b) some differences are observed: at around 0.3 nm^{-1} and from 0.05 to 0.09 nm^{-1} , the curves were slightly shifted. In the q -region from 0.05 to 0.09 nm^{-1} , curve at 12 °C is the lowest and curve at 25 °C is close to the one at 42 °C that is the highest. In the q -region of 0.3 nm^{-1} the Kratky plot curve at 12 °C is the highest compare to the ones at 25 and 42 °C that are very close. According to previous works (Pignon *et al.* 2004 ; Marchin *et al.* 2007 ; Bouchoux *et al.* 2010 ; Ingham *et al.* 2016), this q -region corresponds to the nanoclusters of calcium phosphates, CaP and dense regions in the casein micelles and it is now well known that nanoclusters CaP are released from the casein micelle when the temperature decreased, and therefore there are less dense regions (Walstra 1990 ; Holt 1995 ; Marchin *et al.* 2007 ; Dalgleish 2011 ; Liu *et al.* 2013). However, the differences observed in the Kratky plot representation seem too low to conclude to a structural change of casein micelles at low temperature.

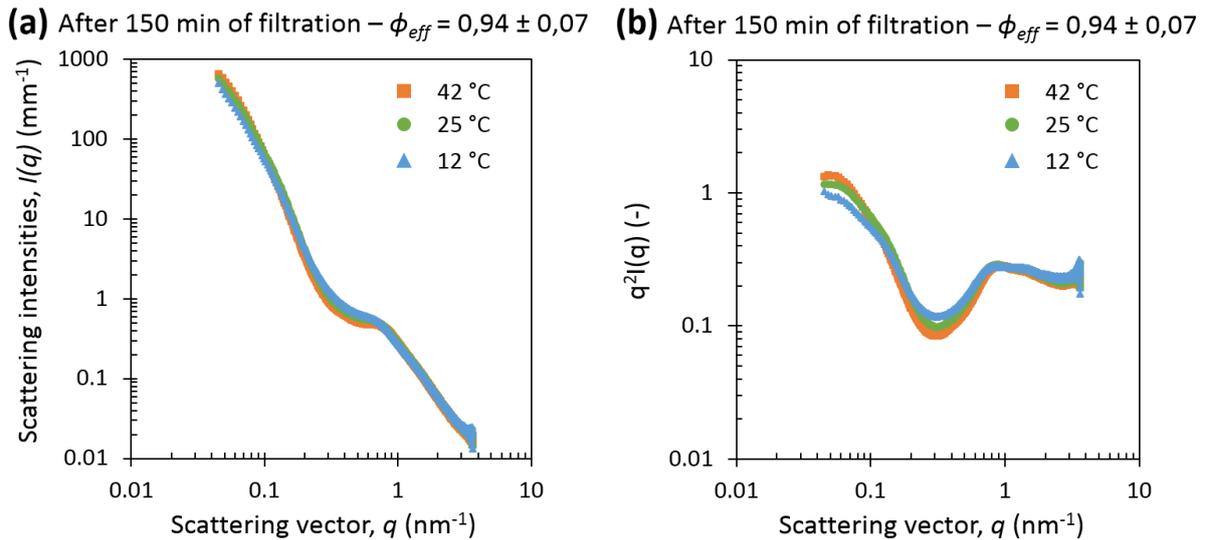


Figure V.4. Comparison of (a) scattering intensities and (b) Kratky plot representation ($q^2 I(q)$) as a function of scattering vectors at the end of filtration step for $\phi_{eff} = 0.94 \pm 0.07$ at different temperatures: 12 °C (solid blue triangles), 25 °C (solid green circles) and 42 °C (solid orange squares). $\text{TMP} = 1.1 \times 10^5 \text{ Pa}$ and $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$. (For interpretation of the references to color in this figure, the reader is referred to the web version of this article).

V.1.3.2. Casein micelle accumulation during crossflow filtration step

V.1.3.2.1. Crossflow filtration at macro-scale

Fluxes and resistances for casein micelles crossflow filtration conducted at 12, 25 and 42 °C under similar hydrodynamic conditions ($\text{TMP} = 1.1 \times 10^5 \text{ Pa}$, $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) over a period of 150 min were evaluated.

During the filtration of casein micelles, evolution of permeate flux (J) over time was monitored and is displayed in Figure V.5a for the three temperatures studied. Regardless of the temperature, permeate curves exhibited an arc-like shape with a forepart decline phase. It is a classic filtration curve shape related to the formation of a reversible layer or deposit on the membrane surface. Fluxes increased with the increase of temperature from 12 °C to 42 °C, which is in good agreement with the literature (Ng *et al.* 2018) but remarkably when viscosity of water at the temperature studied is taken into account (Figure V.5b), a similar flux is found meaning that viscosity of filtrate due to the temperature reduces the difference of flux obtained at different temperatures but differences still exists since much more matter have probably been filtered due to the higher permeate flux at 42 °C compared to 25 and 12 °C.

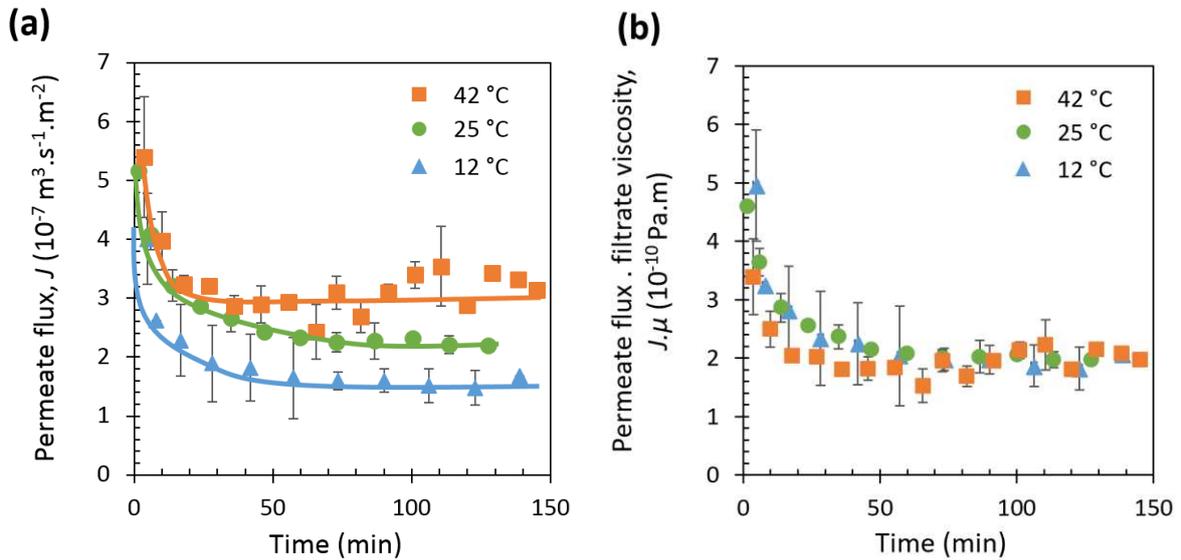


Figure V.5. Comparison of (a) permeate flux and (b) permeate flux corrected with filtrate viscosity over time during filtration step at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). $TMP = 1.1 \times 10^5 \text{ Pa}$ and $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$. The curves serve as a guide to the eye.

However according to Darcy's law (Eq.V.12), if $J \cdot \mu$ is similar at 12, 25 and 42 °C, it would signify that, for experiments performed at constant transmembrane pressure, TMP the sum of resistances (membrane resistance R_m , reversible fouling resistance R_{rf} and irreversible fouling resistance R_{if}) at these three temperatures would be similar.

$$J \cdot \mu = \frac{TMP}{R_m + R_{rf} + R_{if}} \quad \text{Eq.V.12}$$

Figure V.6a displays the contributions of these resistances that were evaluated using the resistance-in-series approach. Membrane resistance was in the same magnitude of order at the three temperatures ($R_m = 3.8 - 5.4 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$). Although the variability observed between each membrane was relatively high, they were far below the resistance of reversible and irreversible fouling and could be neglected (Figure V.6). Reversible fouling resistance after filtration was also in the same magnitude of order for the three temperatures, from 5.14 to 5.45 $\times 10^{14} \text{ m}^{-1}$. In the contrary, the irreversible fouling resistance after filtration was higher at 42 °C and 12 °C compared to 25 °C (Figure V.6b). This means that a gel or a stronger irreversible fouling was formed at 42 and 12 °C compared to 25 °C while the reversible fouling or polarization concentration was similar for the three temperatures.

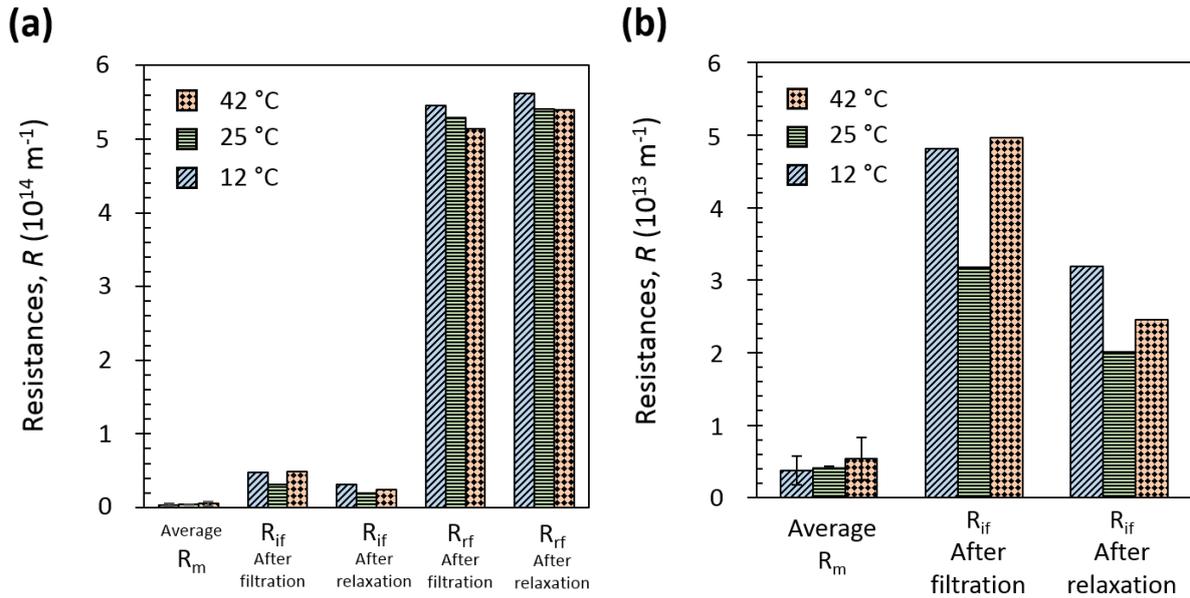


Figure V.6. Comparison of hydraulic resistances of the membrane (R_m), (a) of the reversible fouling (R_{rf}) and of the irreversible fouling (R_{if}) at 12, 25 and 42 °C. (b) Only R_m and R_{if} are represented. R_{if} and R_{rf} are obtained after filtration and after relaxation steps respectively.

Table V.2 shows the calculation of the right term of Eq.V.12 compared to left term which is the permeate flux corrected with the permeate viscosity presented above (Figure V.5b). Regardless of the temperature, both terms were significantly similar, around $1.8\text{-}2.0 \times 10^{-10} \text{ Pa}\cdot\text{m}$. Permeate flux corrected with filtrate viscosity allowed to obtain a similar $J\cdot\mu$ for the three temperatures, even if the irreversible fouling at these temperatures were different. In fact, despite the difference of irreversible fouling layer at the three temperatures studied, the reversible fouling resistance was so high that the irreversible fouling resistance was not discriminant in the calculation of the right term of Eq.V.12.

Table V.2. Calculation of the terms of Darcy's law for the three temperatures studied.

Temperature	$J\cdot\mu$	TMP
		$R_m + R_{rf} + R_{if}$
12 °C	$2.07 \pm 0.08 \times 10^{-10}$	1.84×10^{-10}
25 °C	$1.96 \pm 0.04 \times 10^{-10}$	1.95×10^{-10}
42 °C	$1.98 \pm 0.11 \times 10^{-10}$	1.93×10^{-10}

Therefore, coincidentally, permeate viscosity different at the three studied temperatures seemed to explain the difference of permeate flux at these temperatures but in the contrary, the resistance of irreversible fouling showed that the fouling layer was higher at 12 and 42 °C than at 25 °C and some clarification is needed concerning the influence of temperature on the fouling layers and this has been investigated at nano-scale with SAXS in the next sections.

V.1.3.2.2. Crossflow filtration at nano-scale

V.1.3.2.2.1. Casein micelle concentration profiles

The concentration profiles at 12, 25 and 42 °C have been obtained during the crossflow filtration step. The concentration profiles at 25 °C is presented over the filtration time in Figure V.7. The concentration profiles over time at 12 and 42 °C were similar to the one obtained at 25 °C and were not represented here. Accumulation of casein micelle layers could be followed within time and was very similar to the literature (Jin *et al.* 2014b). Nevertheless, the development of the metallic membrane support and the set-up used at Synchrotron Soleil, has allowed to reach a better accuracy on the first points accessible near the membrane surface allowing to reach information at a distance z as small as 20 μm . Finally, at the end of filtration step (150 min), a concentration of around 310 g/L near the membrane and a total fouling layer thickness of around 280 μm were reached at 25 °C.

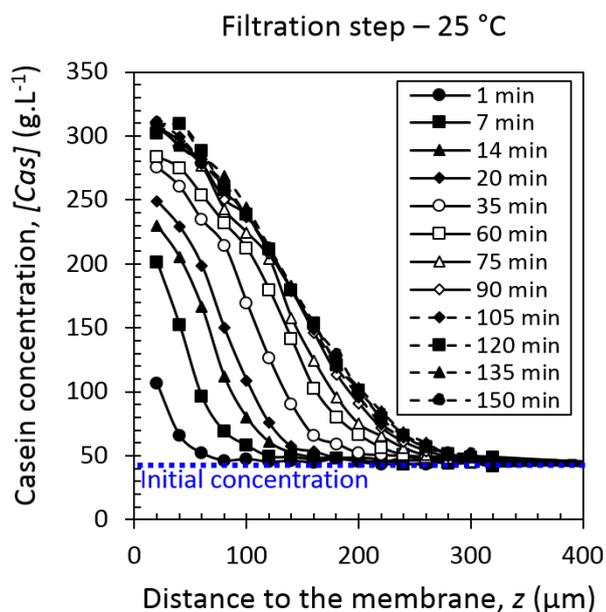


Figure V.7. Evolution of casein concentration profiles within the accumulated layer over time during casein micelle filtration. The initial concentration represents the initial state before the filtration. $\text{TMP} = 1.1 \times 10^5 \text{ Pa}$ and $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$. The curves serve as a guide to the eye.

To compare the influence of temperature on the accumulation of casein micelles during the crossflow filtration, the concentration profiles at the end of filtration at the three studied temperatures are presented on Figure V.8a. The results show a greater and more concentrated accumulation at 42 °C than at 12 °C and 25 °C. At 42 °C the concentration near the membrane surface ($z = 20 \mu\text{m}$) is around 450 g/L and the total fouling layer thickness was 300 μm . For comparison at 12 °C the concentration near the membrane surface was lower, around 350 g/L and the total fouling layer thickness reduced to around 280 μm . To consider the voluminosity of the casein micelle, which is higher when temperature decreases, these concentration profiles were transformed in effective volume fraction profiles for each temperature in Figure V.8b. These profiles show quasi-identical effective volume fraction profiles at the end of filtration at 12 and 42 °C that were higher near the membrane than at 25 °C. Moreover, this figure allows to determine easily sol – gel transition of casein micelles fouling layer because a unique effective volume fraction at sol – gel transition at 0.71 was previously determined (cf. Chapter III). Therefore, a gel thickness of around 140 μm at 25 °C and 160 μm at 12

and 42 °C were found meaning a greater irreversible fouling at 12 and 42 °C than at 25 °C, which is in good agreement with the irreversible fouling resistances presented in the previous section.

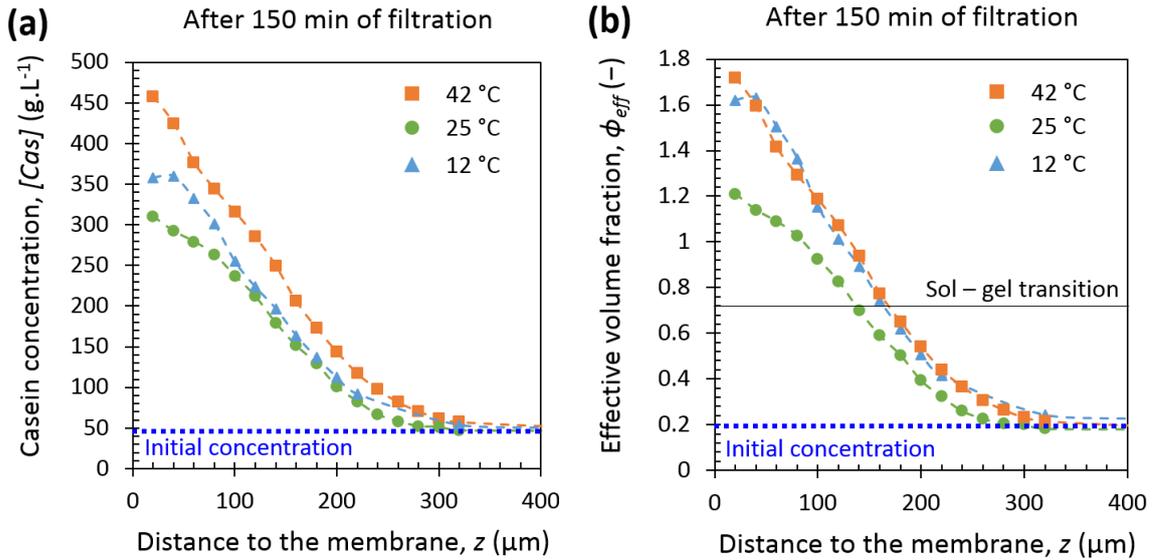


Figure V.8. Comparison of (a) casein concentration profiles and (b) casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 150 min of filtration at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{eff\ max} = 0.71$. $TMP = 1.1 \times 10^5$ Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹. The curves serve as a guide to the eye.

V.1.3.2.2.2. Casein micelles mass accumulation and gel thickness

From the concentration profiles, accumulated mass and gel thickness can be obtained as presented in section V.1.2.3.3. Figure V.9 shows that the casein micelles accumulated mass in excess as a function of time was faster and greater at 42 °C (equals to 48 g/cm² at the end of filtration step) compared to 12 and 25 °C (equals to 35 g/cm² at the end of filtration step).

Figure V.10 follows gel thickness as a function of time and shows that gel formation was faster at 42 °C than at 12 and 25 °C to finally reach 160 μm at 42 and 12 °C and 140 μm at 25 °C.

Both, casein micelles accumulated mass in excess and gel thickness, that increased faster at 42 °C than at 12 and 25 °C could be due to the higher permeate flux at 42 °C that allows to bring more casein micelles and faster at the membrane surface than at 12 and 25 °C.

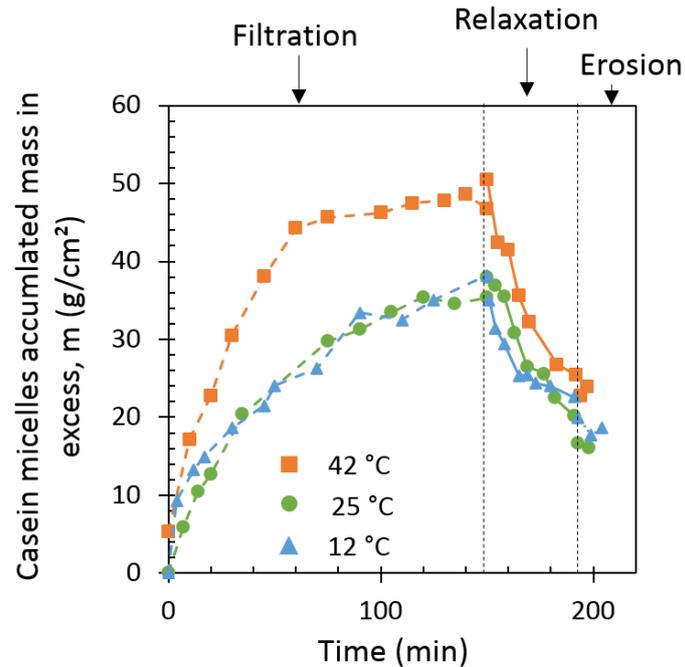


Figure V.9. Casein micelles accumulated mass in excess over time during filtration (TMP = 1.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s $^{-1}$), pressure relaxation (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s $^{-1}$) and then erosion (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 15.6 \times 10^{-2}$ m.s $^{-1}$) steps at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). The curves serve as a guide to the eye.

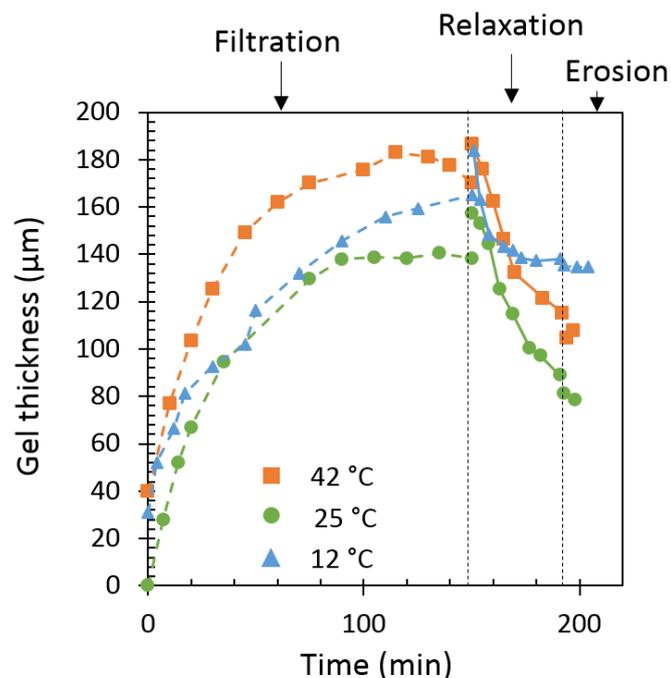


Figure V.10. Casein micelles gel thickness over time during filtration (TMP = 1.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s $^{-1}$), pressure relaxation (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s $^{-1}$) and then erosion (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 15.6 \times 10^{-2}$ m.s $^{-1}$) steps at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). The curves serve as a guide to the eye.

To sum up, permeate flux is higher at 42 °C than at 12 and 25 °C, which could be due partially to a lower filtrate viscosity. This high permeate flux at 42 °C implied a faster and greater casein micelles accumulation with a thick and concentrated gel or irreversible fouling layer at the membrane surface during crossflow filtration.

Permeate flux is low at 12 °C and did not induce a great mass of accumulated casein micelles at the membrane surface. However, low temperature implies structure changes of casein micelles and especially a sol – gel transition that happened at a lower concentration than at high temperatures (cf. Chapter III) leading to a gel or irreversible fouling that is thicker and with a higher effective volume fraction near the membrane surface compared to 25 °C.

Surprisingly, at 25 °C, an optimum of low accumulation and low gel thickness was observed.

After a crossflow filtration step, casein micelles accumulated at the membrane surface and temperature influenced this accumulation, then a pressure relaxation step at 0.1×10^5 Pa was applied at the same crossflow velocity and temperature than in the filtration step to study if the removal of casein micelles accumulated layers was possible and which was the influence of temperature on this removal.

V.1.3.3. Casein micelle removal during pressure relaxation and erosion steps

V.1.3.3.1. Pressure relaxation step at macro-scale

Due to the transmembrane pressure that was very low, the permeate flux was also too low to be measured. In macro-scale, the contributions of resistances of reversible and irreversible fouling after the relaxation step and is presented in Figure V.6.

Figure V.6a shows that reversible fouling resistance has slightly risen to reach $5.4 - 5.6 \times 10^{14} \text{ m}^{-1}$ after relaxation step compared to 'after filtration step'. The irreversible fouling resistance has decreased after relaxation compared to after filtration step leading to a reduction of 50, 37 and 34 % of irreversible fouling resistances at respectively 42, 25 and 12 °C. In the contrary to 'after filtration step', irreversible fouling resistance was higher at 12 °C than at 42 and 25 °C after filtration.

Relaxation step allowed in all the case to remove partially the casein micelle fouling layer with a higher removal at 42 °C and more limited removal at 12 °C. As a reminder, temperature of relaxation was the same than during filtration step and the relaxation temperature could be the cause of the more difficult removal at 12 °C compared to 42 °C because we have previously showed (cf. Chapter IV) that a low redispersion temperature during the redispersion and swelling steps of a casein micelle gel was responsible for a low redispersion rate and low hydration of the residual gel, mainly due to a low thermal agitation of proteins at low temperature.

V.1.3.3.2. Pressure relaxation and erosion steps at nano-scale

In the case of gel layer formation, filtration performance depends on gel layer properties (permeability, compressibility, cohesiveness). Information about local properties of concentrated casein micelles layer on the membrane surface can be obtained via proper analysis of local concentration profiles, which are measured during filtration and pressure relaxation steps of the in situ SAXS-filtration-relaxation experiments. However, in the case of cross-flow filtration, the rigorous analysis requires a complex modeling that takes into account solid concentration distribution and solid transport along the membrane (in addition to the normal solid concentration distribution). Nevertheless, some useful conclusions about the gel properties can be obtained from a simplified analysis of SAXS profiles; this approach is demonstrated in the following part of this chapter. An attempt of more rigorous, quantitative analysis of SAXS-filtration-relaxation experiment in the frame of filtration-consolidation theory is presented in the Appendix 3. It should be noted that both approaches yield similar conclusions about the partial irreversibility of compression of casein micelles gel during the crossflow filtration, which significantly slows down the gel swelling and removal.

V.1.3.3.2.1. Casein concentration profiles

Similarly than during the filtration step, the concentration profiles and particularly the effective volume fraction profiles over time at 12, 25 and 42 °C have been obtained during the relaxation step (Figure V.11). Relaxation pressure of a casein micelle deposit is an original result and can be followed within the time. Regardless of the operating temperature, relaxation pressure step allowed to remove a part of the casein micelle fouling layers during the time of relaxation without using chemical products. However, the removal was slow and relaxation time was in the same order of magnitude than the filtration time. From our results, we could differentiate two relaxation behaviors of the fouling layers at different distances from the membrane. These two different behaviors have allowed us to define what we call an "internal part" near the membrane surface, corresponding to the gelled part of the fouling layers and an "external part" far away from the membrane surface. These two "internal" and "external" parts evolve differently as a function of relaxation time and temperature.

Figure V.11a shows a removal and swelling of casein micelle deposit during relaxation step at 12 °C that seems quite limited near the membrane since effective volume fraction near the membrane (from $z = 20$ to $100 \mu\text{m}$) did not vary significantly during time of relaxation while far from the membrane (from $z = 100$ to $300 \mu\text{m}$) the effective volume fraction profiles decreased with the time of relaxation meaning a removal of casein micelle external fouling layer.

Figure V.11b and Figure V.11c show a removal of casein micelle deposit during relaxation step at respectively 25 and 42 °C with the effective volume fraction profiles that decreased with the time of relaxation all along the distance to the membrane. At 25 and 42 °C, swelling of casein micelle internal part (gel) and removal of external part of the fouling layer happened during the relaxation step. Furthermore, gel part was redispersed and liberated casein micelles in the external part because during the relaxation time, an amount of the internal part (gel) was removed.

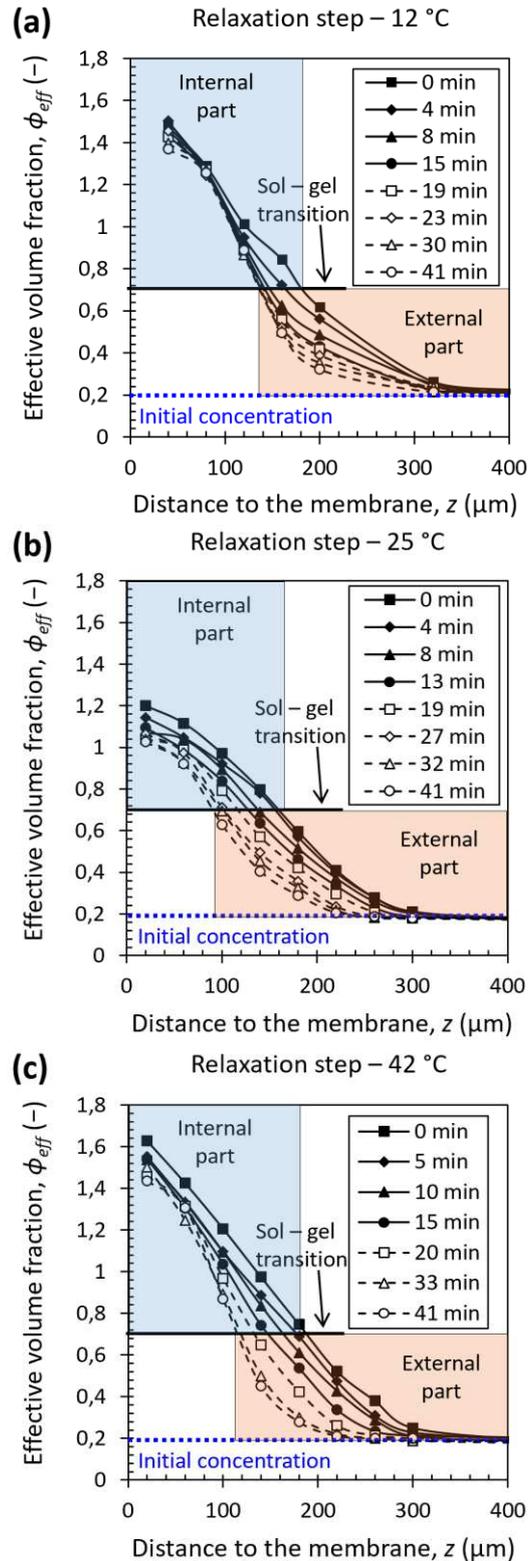


Figure V.11. Evolution of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer over time during casein micelle relaxation pressure step at (a) 12 °C, (b) 25 °C and (c) 42 °C. The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid lines correspond to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. $\text{TMP} = 0.1 \times 10^5 \text{ Pa}$ and $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$. The curves serve as a guide to the eye. Internal and external parts are represented respectively in blue and orange zones.

For comparison, Figures V.11 a,b and c have been plotted on the same line in Figure V.12. This allowed highlighting the differences in terms of levels of concentrations reached at the membrane surface and relaxation behaviors.

At 25 and 42 °C, removal mechanism of casein micelle fouling seem to be a removal of the external and internal fouling simultaneously (Figure V.11b and c) : swelling of the gel (see Loginov *et al.* (2020) in Appendix 4 for the gel swelling model) is assisted by removal of the swelled part of the gel and the external part of fouling by the crossflow circulation of fluid. .

At 12 °C, the limited swelling on the internal part of the fouling could be attributed to the cohesiveness of the casein micelle gel that is high at low temperature (cf. Chapter IV) and act as a barrier for the permeate inflow across the membrane (Loginov *et al.* (2020), Appendix 4) which is also likely lower due to a higher viscosity of the permeate and lower thermal agitation at 12 °C than at 42 and 25 °C.

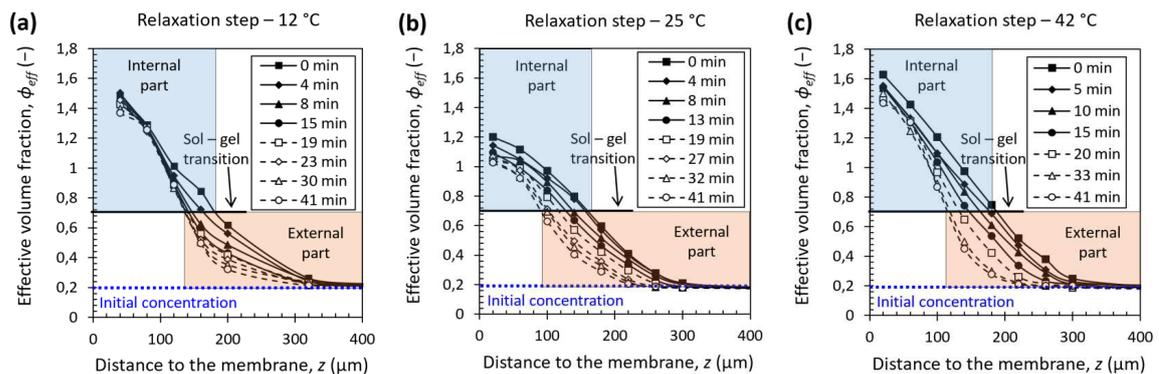


Figure V.12. Evolution of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer over time during casein micelle relaxation pressure step at (a) 12 °C, (b) 25 °C and (c) 42 °C. The initial concentration represents the initial state before the filtration. $TMP = 0.1 \times 10^5$ Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$. The curves serve as a guide to the eye.

Figure V.13 presents the comparison of effective volume fraction profiles at the end of the relaxation step at 12, 25 and 42 °C. The results show a more concentrated fouling layer at 12 and 42 °C compared to 25 °C with an effective volume fraction of around 1.4 near the membrane surface at 12 and 42 °C against around 1 at 25 °C. Furthermore, at 12 °C, the total fouling layer thickness was around 250 μm and was higher than the total fouling layer thickness of 200 μm at 25 and 42 °C. Gel or irreversible fouling thickness was also higher at 12 °C than at 25 and 42 °C since gel thicknesses were of around 150, 120 and 100 μm at respectively 12, 42 and 25 °C.

Therefore, removal of casein micelle fouling layers is possible by a pressure release step but is quite slow and seems limited at 12 °C probably due to the high viscosity, low thermal mobility and high cohesiveness of the casein micelle gel at this temperature.

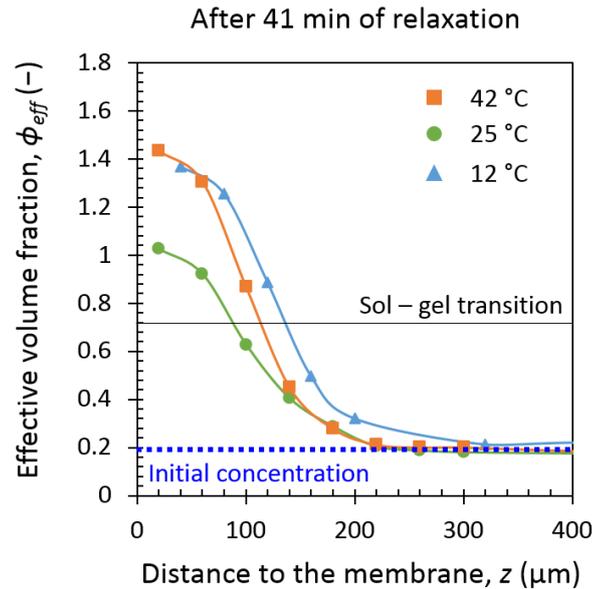


Figure V.13. Comparison of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 41 min of relaxation pressure step at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. $\text{TMP} = 0.1 \times 10^5 \text{ Pa}$ and $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$. The curves serve as a guide to the eye.

V.1.3.3.2.2. Casein micelles mass accumulation and gel thickness

Figure V.9 shows that the casein micelles accumulated mass in excess as a function of time, decreased during the time of relaxation and erosion. Accumulated mass in excess was easily removed at 42 °C compared to 25 and 12 °C since a half of the accumulated mass in excess was eliminated at 42 °C against around 40 % at 25 and 12 °C after the relaxation step. The erosion step did not allow to remove much more accumulated casein micelle probably due to the short time of this step.

Another way to understand the removal of casein micelle layers accumulated at the membrane surface is presented in Figure V.14 with the removed mass in function of the pressure relaxation and erosion time. The removal of casein accumulated was faster at 42 °C than at 25 and 12 °C and there was clearly a limitation of casein micelle removal at 12 °C after only 10 min of relaxation since a plateau is reached. However, erosion step seemed more efficient at 12 °C by removing casein accumulated mass than at 42 °C and 25 °C.

Figure V.10 follows gel thickness as a function of time and shows a reduction of gel thickness over time of pressure relaxation since gel at 42 °C reduced from 180 to 120 μm , gel at 25 °C reduced from 155 to 90 μm and gel at 12 °C reduced from 180 to 140 μm .

Another way to understand the removal of casein micelle gel is presented in Figure V.15 with relative gel thickness as a function of pressure relaxation and erosion time. The removal of the casein micelle gel is faster and higher at 42 and 25 °C than at 12 °C and there was clearly a limitation of the removal of casein micelle gel after 10 min of relaxation step since only 20 % of the gel was eliminated until this time and no gel was eliminated after this time. Erosion step did not change anything to this phenomenon at 12 °C compared to 25 and 42 °C where erosion step allowed the removal of a part of the residual gel (around 5 % of the gel was released).

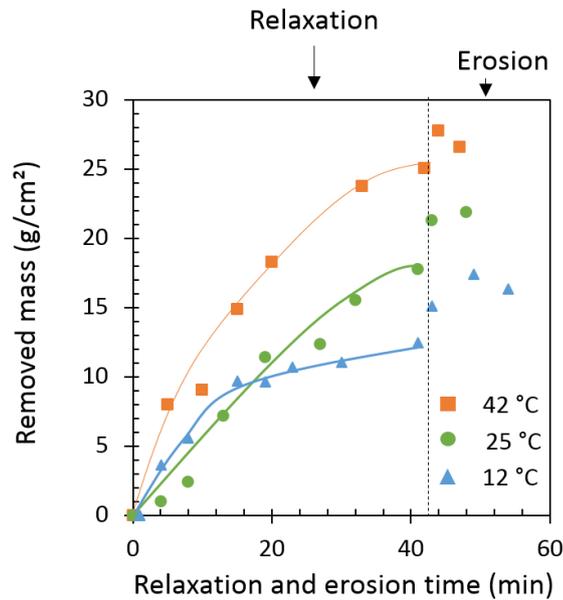


Figure V.14. Casein micelles removed mass over relaxation and erosion time during pressure relaxation ($TMP = 0.1 \times 10^5$ Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s $^{-1}$) and erosion ($TMP = 0.1 \times 10^5$ Pa and $v = 15.6 \times 10^{-2}$ m.s $^{-1}$) steps at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). The curves serve as a guide to the eye.

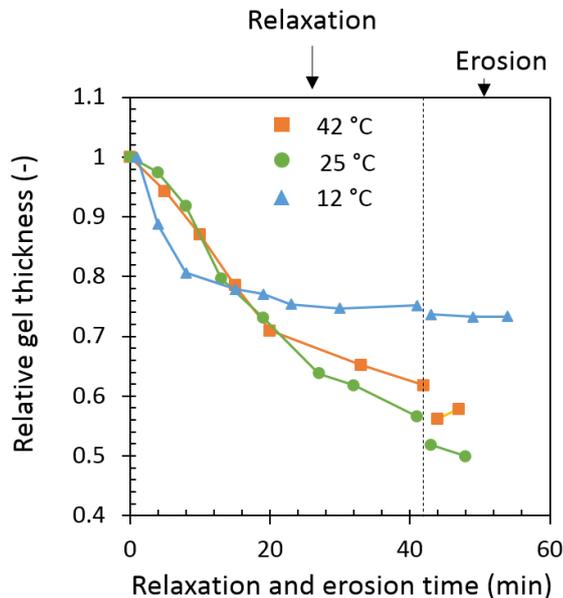


Figure V.15. Casein micelles relative gel thickness over relaxation and erosion time during relaxation ($TMP = 0.1 \times 10^5$ Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s $^{-1}$) and erosion ($TMP = 0.1 \times 10^5$ Pa and $v = 15.6 \times 10^{-2}$ m.s $^{-1}$) steps at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). The curves serve as a guide to the eye.

To sum up, the external part of the fouling layer was easily removed after pressure relaxation step at 42 °C compared to 25 and then 12 °C while the internal part (gel) of the fouling layer is eliminated in the same order at 42 and 25 °C compared to 12 °C (Figure V.16). At 12 °C, it was clear that a limitation of the removal of external and internal part of the fouling layer occurred. For a

reminder, the removal occurred at the same temperature than the one of filtration. However, the mobility of molecules decreased and the viscosity increased when temperature decreased implying a limitation of the mobility of particles in the gel at 12 °C compared to 25 and 42 °C.

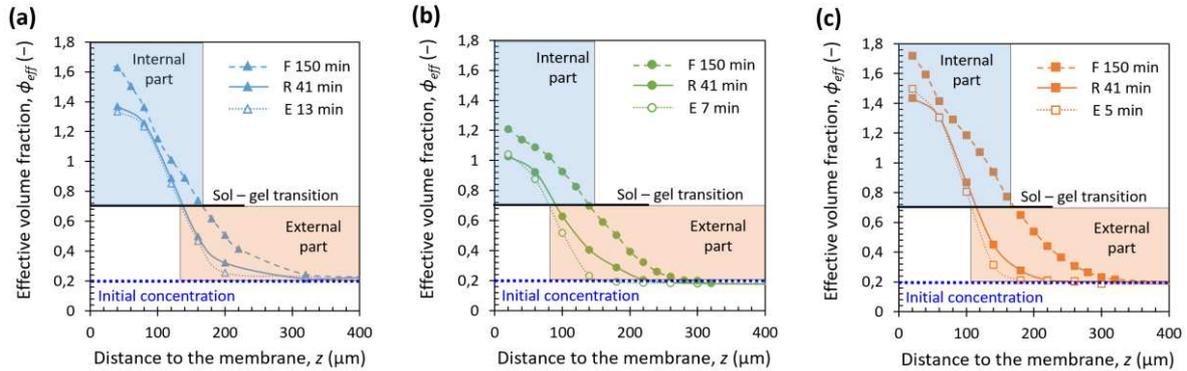


Figure V.16. Comparison of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 150 min of filtration ($TMP = 0.1 \times 10^5$ Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) (solid symbols and dashed lines), after 41 min of relaxation pressure ($TMP = 0.1 \times 10^5$ Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) step (solid symbols and solid lines) and after 5 – 13 min of erosion ($TMP = 0.1 \times 10^5$ Pa and $v = 15.6 \times 10^{-2} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) step (open symbols and dotted lines) at (a) 12 °C, (b) 25 °C and (c) 42 °C. The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. The curves serve as a guide to the eye.

V.1.4. Conclusions

In the current work, casein micelle structural organizations during crossflow ultrafiltration, pressure relaxation and erosion steps were followed at three different temperatures (12, 25 and 42 °C) by *in-situ* SAXS measurement, a powerful and non-destructive structural characterization. These structural evolutions were linked to filtration performances via permeation flux measurements.

Specific crossflow filtration cells were developed and adapted to X-rays to access originally to the time and spatial evolutions of the casein micelle concentrations during the process, under controlled crossflow, transmembrane pressure and temperature parameters. The challenge overcome was to access to these time resolved spatial information within the concentration polarization layers and their kinetic evolutions during the process, in the vicinity of the membrane surface on distances as small as a few hundreds of micrometers with an accuracy of 20 μm . The nanometer length scales probed by the X-ray has allowed to relate the scattering intensity of the casein micelles to their concentration levels as it was calculated in the q range corresponding to their form factor and was not affected by eventual casein micelle aggregations. This structural information has been linked to the simultaneously registered permeate flux evolutions in order to bring an understanding of the mechanisms of accumulation or relaxation of the filtration processes.

From these *in-situ* SAXS measurements the concentration profile evolutions as a function of filtration, relaxation or erosion time, at three different processing temperatures, have allowed to highlight some interesting phenomena:

During casein micelle crossflow filtration, a higher permeate flux is measured at 42 °C than at 12 or 25 °C. This increase of the permeate flux at 42 °C induces a faster and greater casein micelles accumulation with a thicker and more concentrated gel at the membrane surface than at 12 and 25

°C. The decrease of viscosity at 42°C could be an explanation of this change in the dynamic of accumulation of the casein micelles as for the same crossflow, the lower viscosity of the suspension at 42 °C would allow a better and quicker convection of the casein micelles toward the membrane surface thanks to the combination of the forces induced by the transmembrane pressure and the crossflow velocity.

At 12 °C the permeate flux is lower than at 25°C and did not induce a great mass of accumulated casein micelles at the membrane surface. Lower temperature implies structure changes of casein micelles and especially a sol – gel transition that happened at a lower concentration than at high temperatures (cf. Chapter III). This could lead to a gel or irreversible fouling that is thicker and with a higher effective volume fraction near the membrane surface compared to 25 °C.

Surprisingly, at 25 °C, an optimum of low accumulation and low gel thickness was observed.

These results as a function of the processing temperature needs more investigations at several intermediate temperature to consider a complete description of the changes induced by the complex interlaced effects which control the permeation properties of the gradient concentrated casein micelles layers. These interlaced effects of firstly the thermal evolutions of the rheological and structural behavior and secondly of the thermal evolutions of the osmotic pressure, are complexified by a continuous or discontinuous variation of the crossflow velocity from layers at rest near the membrane surface towards layers under high shear flow at increasing distances from the membrane.

During the relaxation pressure step, the removal of casein micelle fouling layers was possible but quite slow. Removal of deposit was the highest at 42 °C compared to 12 and 25 °C. likely due to high thermal mobility of molecules at 42 °C. A limitation of deposit removal have been pointed out at 12 °C probably due to the decrease of thermal mobility of molecules the increase of viscosity and the increase of cohesiveness of the casein micelle gel when temperature decrease,.

The removal mechanism during relaxation/erosion steps seems to occur by two ways. Firstly, a diffusion of solvent in the fouling layer that allowed the deposit to swell in the internal part. Secondly, in the external part of the accumulated layer, the erosion step allowed to evidence a removal of the swelled part of the fouling layer by the crossflow circulation.

These methods of *in-situ* structural characterization linked to the macroscopic filtration performances will allowed to improve the way to conduct filtration operations in industry, in order to reduce the use of chemical products and the amounts of water and energy.

V.2. Influence de la pression transmembranaire et de la vitesse d'écoulement tangentiel

Dans ce paragraphe, il a été étudié l'influence de la pression transmembranaire et de l'écoulement tangentiel sur l'organisation structurale et le comportement de relaxation des micelles de caséines accumulées à la surface de la membrane durant la filtration tangentielle caractérisé par SAXS.

V.2.1. Introduction

Les premiers résultats de ce chapitre ont montré que les dépôts de micelles de caséine formés à la surface de la membrane après la filtration tangentielle se gonflaient lors de la relaxation de la pression et étaient en partie éliminés par l'écoulement tangentiel. Ceci était observé pour toutes les températures étudiées mais avec une limitation de l'élimination du dépôt à 12 °C du fait de la diminution de la mobilité des molécules à cette température. Ces résultats permettent d'envisager d'ajouter une phase de relaxation de la pression avant un nettoyage pour faciliter l'élimination du dépôt ou entre plusieurs cycles de filtration afin de limiter la formation d'un dépôt cohésif. Cependant, l'influence de l'écoulement tangentiel et l'influence de la pression transmembranaire n'ont pas été étudiées et il est intéressant de compléter les résultats précédents par des informations complémentaires vis-à-vis de l'écoulement tangentiel et de la pression transmembranaire.

Il est assez bien connu dans la littérature que la pression transmembranaire et la vitesse d'écoulement tangentiel ont une influence sur les performances de filtration et donc sur l'accumulation de matière à la surface de la membrane (Gésan-Guiziou *et al.* 1999a ; Grandison *et al.* 2000). Par exemple, une augmentation de la vitesse d'écoulement tangentiel à pression transmembranaire induit une amélioration des performances de filtration via l'augmentation du flux de perméation. Cependant, seules des données de filtration à l'échelle macroscopique existent puisqu'à notre connaissance, aucun suivi *in-situ* en SAXS n'a été effectué pour comprendre l'influence de la pression transmembranaire et de la vitesse de l'écoulement tangentiel sur la formation et les propriétés (notamment cohésives via la relaxation de la pression) des dépôts de micelles de caséine formés dans ces conditions en filtration tangentielle.

L'objectif de ces « résultats complémentaires » est de valider les résultats sur la relaxation des dépôts de micelles de caséines étudiée à différentes températures avec différentes conditions d'écoulement tangentiel et de la pression transmembranaire, en suivant par SAXS la formation du dépôt lors de la filtration tangentielle, son regonflement puis son élimination lors de la relaxation de la pression.

V.2.2. Rappels méthodologiques

Pour une description complète des matériels et des méthodes utilisés dans ces expérimentations, se référer au chapitre II et à la section V.2 de ce chapitre.

Les seules différences de protocole concernent les procédures de filtration qui sont présentées ci-dessous qui se sont effectuées soit à pression variable entre 50 et 110 kPa (Figure V.17) soit à vitesse d'écoulement tangentiel variable entre 3.1 et 15.6 cm/s (Figure V.18).

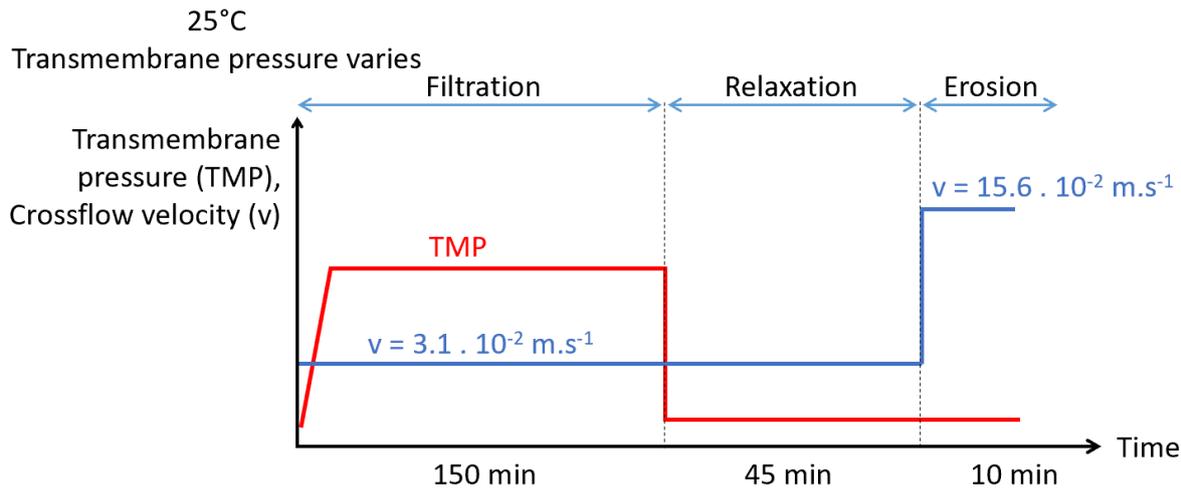


Figure V.17. Scheme of filtration protocol performed during the runs where transmembrane pressure was modified. There was first a filtration step of 150 min at $v = 3.1 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$, then a pressure relaxation step at $0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ at the same crossflow velocity and finally an erosion step where the crossflow velocity was risen at $v = 15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$, still at $0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ during 10 min.

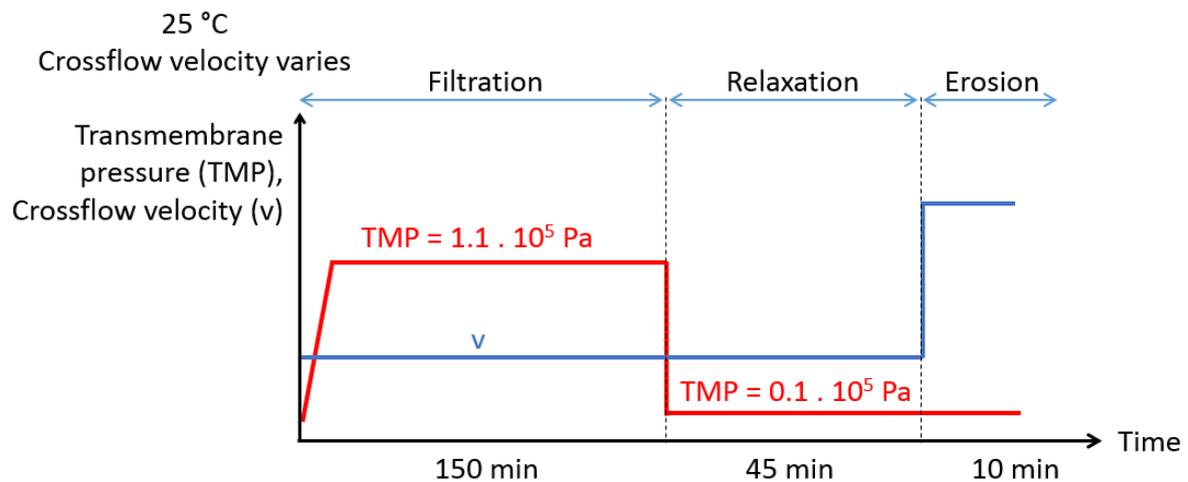


Figure V.18. Scheme of filtration protocol performed during the runs where crossflow velocity was varied. There was first a filtration step of 150 min at $\text{TMP} = 1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$, then a pressure relaxation step at $0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ at the same crossflow velocity and finally an erosion step where the crossflow velocity was risen, still at $0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ during 10 min.

V.2.3. Résultats et discussions

V.2.3.1. Influence de la pression transmembranaire

V.2.3.1.1. Accumulation

Les flux et résistances hydrauliques pour la filtration tangentielle de micelles de caséine conduites à 110 kPa et à 50 kPa à 25 °C et avec $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ sur une période de 150 min ont été évalués.

Durant la filtration tangentielle de micelles de caséine, l'évolution du flux en fonction du temps est présentée en Figure V.19 pour les deux pressions transmembranaires étudiées. Pour les deux pressions, le flux était identique et diminuait classiquement lors de la filtration, traduisant l'accumulation de matière à la surface de la membrane. Les flux de perméation étant identiques pour

les deux pressions transmembranaires appliquées, le flux limite était probablement atteint ce qui est en accord avec la littérature sur de la filtration de lait écrémé (Jin *et al.* 2014b).

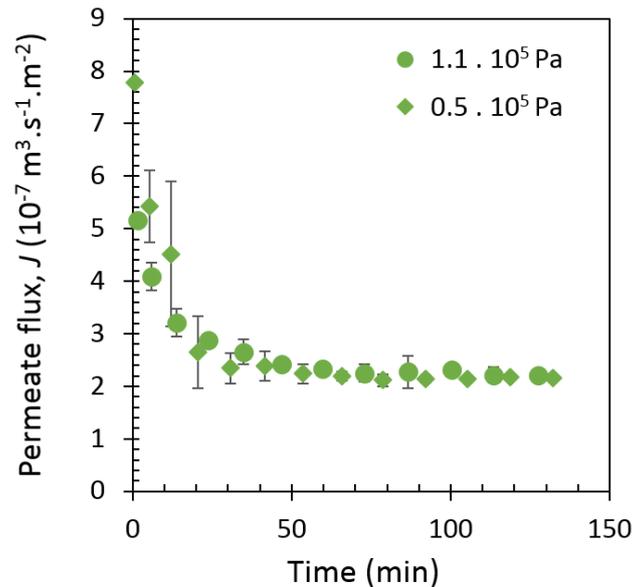


Figure V.19. Permeate flux over time during filtration step with a transmembrane pressure applied of $1.1 \cdot 10^5$ Pa (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5$ Pa (solid diamonds). $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$.

La Figure V.20 présente les contributions des différentes résistances qui ont été évaluées en utilisant l'approche des résistances en série. La résistance de la membrane propre était de $5.4 \pm 1.7 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$. La résistance de la partie réversible du colmatage était très similaire après la filtration ($5.28 - 5.29 \times 10^{14} \text{ m}^{-1}$) quelle que soit la pression transmembranaire appliquée et la résistance de la partie irréversible ($3.2 - 3.3 \times 10^{13} \text{ m}^{-1}$) n'était également pas significativement différente aux deux pressions transmembranaires étudiées. Cela signifie alors que des dépôts de micelles de caséine se sont formés de façon similaire aux deux pressions étudiées. Ceci est en contradiction avec la littérature car les dépôts de micelles de caséine sont compressibles, i.e. plus la pression transmembranaire est élevée, plus le dépôt est comprimé et donc probablement plus cohésif. Cependant, aucune différence significative de la cohésion des dépôts irréversibles n'a été observée aux deux pressions transmembranaires étudiées. Une explication peut être le fait que la cohésion des dépôts formés aux deux pressions est très proche dans ces deux conditions ou cela peut être le fait que durant le protocole de détermination des résistances hydrauliques, une étape de rinçage précède la mesure de la résistance après la filtration. Le dépôt a alors pu être éliminé en partie durant cette étape. Il est alors nécessaire de compléter ces mesures macroscopiques qui peuvent être quelque peu destructrices par des mesures à l'échelle nano via des mesures SAXS qui sont non invasives et non destructrices.

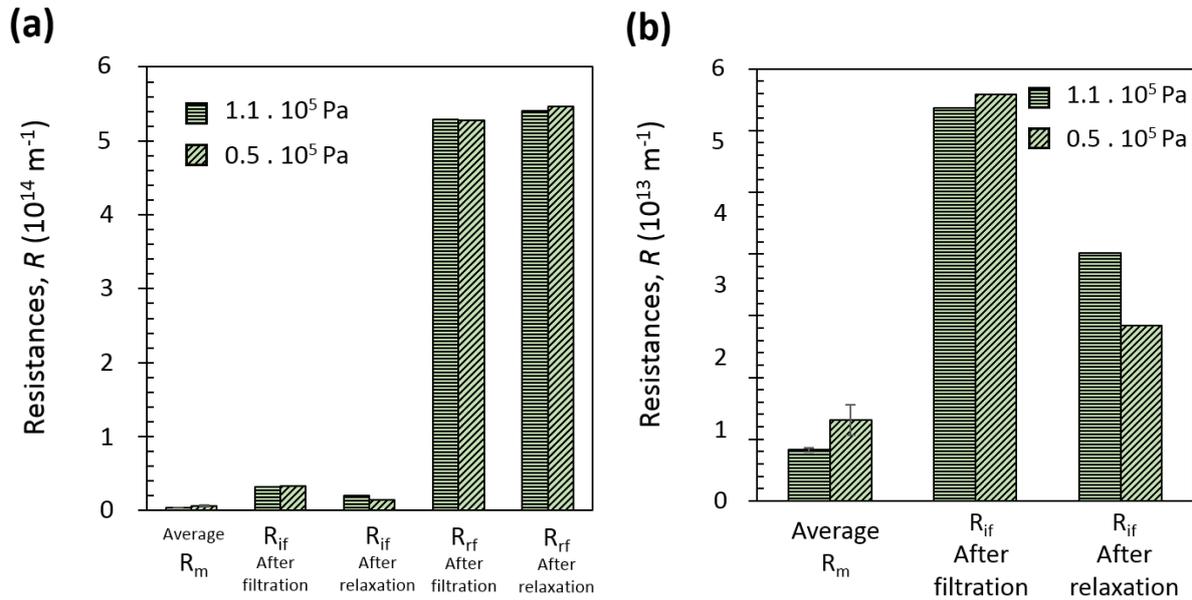


Figure V.20. Comparison of resistances of the membrane (R_m), (a) of the reversible fouling (R_{rf}) and of the irreversible fouling (R_{if}) with a transmembrane pressure applied during filtration step of $1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ and $0.5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$. (b) Only R_m and R_{if} are represented. R_{if} and R_{rf} are obtained after filtration and after relaxation steps.

Les profils des fractions volumiques effectives aux deux pressions étudiées ont été obtenus durant la filtration tangentielle. En Figure V.21, les profils à la fin de l'étape de filtration sont présentés et les résultats montrent des accumulations de micelles de caséine similaires aux deux pressions étudiées avec une accumulation toutefois légèrement plus concentrée et plus gélifiée à 110 kPa qu'à 50 kPa. C'est un résultat un peu plus cohérent avec la littérature contrairement à la mesure des résistances hydrauliques après filtration. La filtration à 110 kPa permettait ainsi une accumulation avec une fraction volumique de 1.2 à la surface de la membrane et une épaisseur de gel autour de 140 μm contre une fraction volumique de 1.15 près de la membrane et une épaisseur de gel d'environ 100 μm à 50 kPa. Ce phénomène peut probablement être attribué à la pression transmembranaire plus élevée qui induit des dispersions de micelles de caséine plus concentrées et plus compressées (Bouchoux *et al.* 2009a, 2014).

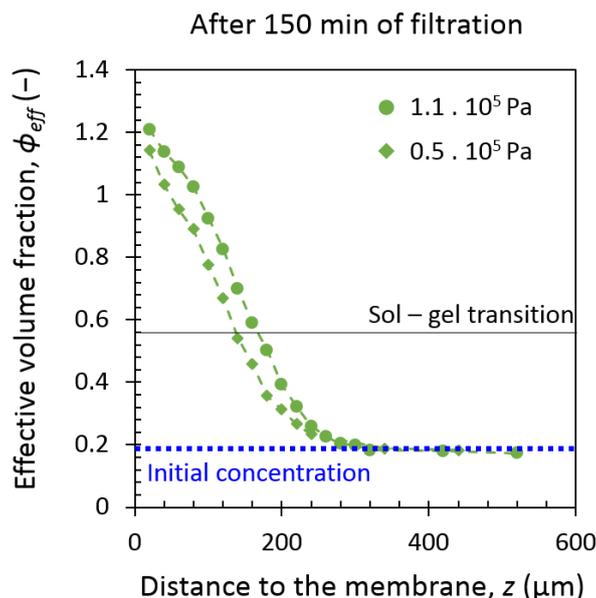


Figure V.21. Casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 150 min of filtration with a transmembrane pressure applied of $1.1 \cdot 10^5$ Pa (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5$ Pa (solid diamonds). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$. The curves serve as a guide to the eye.

La masse accumulée et l'épaisseur du gel sont présentées respectivement en Figures V.22 et V.23. Les résultats montrent que l'accumulation de micelles de caséine en fonction du temps de filtration était plus rapide et plus de masse était accumulée à 110 kPa (égale à 35 g/cm^2 à la fin de la filtration) qu'à 50 kPa (égale à environ 20 g/cm^2 à la fin de la filtration).

La Figure V.23 suit l'épaisseur de la partie gélifiée du dépôt en fonction du temps de filtration. Les résultats montrent que la formation du gel était plus rapide et le gel était plus épais à 110 kPa qu'à 50 kPa pour finalement atteindre une épaisseur de gel d'environ $140 \mu\text{m}$ à 110 kPa et d'environ $100 \mu\text{m}$ à 50 kPa.

Les deux pressions transmembranaires appliquées induisaient l'établissement d'un flux similaire car le flux limite était atteint. Cependant la différence de pression transmembranaire s'est traduite par une accumulation qui était plus rapide et plus élevée à 110 kPa qu'à 50 kPa ce qui s'explique par une modification de la compression des micelles de caséine sous l'effet de la pression transmembranaire puisque plus la pression augmente, plus les micelles se concentrent et se compressent.

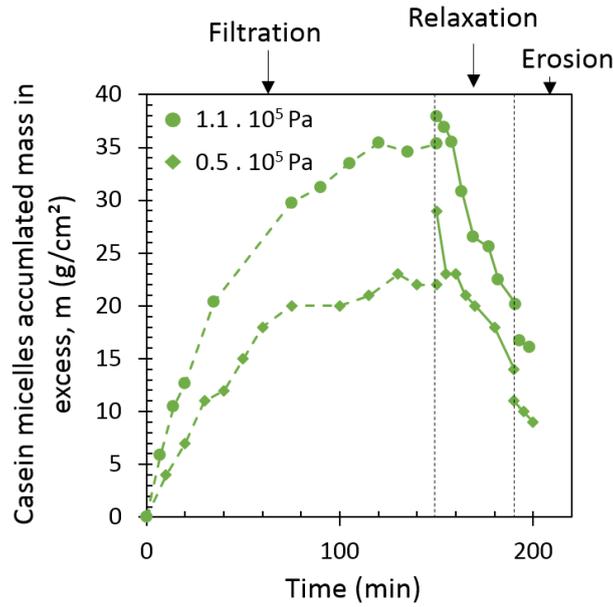


Figure V.22. Casein micelles accumulated mass in excess over time during filtration ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$), pressure relaxation ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) and then erosion ($v = 15.6 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) steps with a transmembrane pressure applied during filtration step of $1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ (solid diamonds). The curves serve as a guide to the eye.

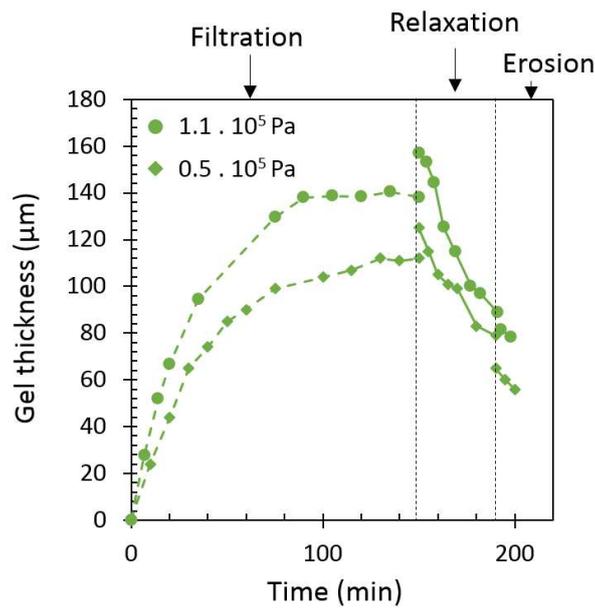


Figure V.23. Casein micelles gel thickness over time during filtration ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$), pressure relaxation ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) and then erosion ($v = 15.6 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) steps with a transmembrane pressure applied during filtration step of $1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ (solid diamonds). The curves serve as a guide to the eye.

V.2.3.1.2. Relaxation de la pression

La Figure V.20a montre que la résistance hydraulique de colmatage réversible était similaire pour les deux pressions appliquées avec des valeurs de l'ordre de $5.4 - 5.5 \times 10^{14} \text{ m}^{-1}$ après la phase de relaxation. La résistance hydraulique de colmatage irréversible a diminué après la relaxation, comparativement à après la filtration menant à des réductions respectives de 50 et 57 % des résistances de colmatage irréversible pour des dépôts formés respectivement à 110 kPa et 50 kPa. Contrairement aux résistances de colmatage irréversible après filtration qui étaient similaires pour les deux pressions étudiées ce qui était probablement dû aux limites du protocole utilisé, après relaxation elles étaient différentes avec une résistance de colmatage irréversible plus élevée à 110 kPa qu'à 50 kPa.

La relaxation de pression a permis ainsi l'élimination d'une grande partie du dépôt irréversible pour les deux pressions étudiées avec notamment une élimination du dépôt irréversible plus grande quand le dépôt était formé à basse pression transmembranaire signifiant que ce dépôt était probablement moins cohésif que celui à haute pression transmembranaire.

Quelle que soit la pression appliquée, la relaxation permet l'élimination d'une partie du dépôt puisque les profils de fraction volumique effective diminuaient au cours du temps de relaxation (Figure V.24) mais le temps nécessaire est très long.

Quelle que soit la pression transmembranaire appliquée, le mécanisme d'élimination du dépôt semble se faire par gonflement de la partie gélifiée, qui permet la redispersion des micelles de caséine relarguées par le gel. Enfin l'écoulement tangentiel constant lors de l'étape d'érosion, permet l'élimination au fur et à mesure des micelles de caséine qui sont redispersées. Ceci est en accord avec le mécanisme dégagé dans la section V.3 de ce chapitre.

La Figure V.24a montre que la relaxation du dépôt formé à 110 kPa semble plus étendue spatialement vis à vis de la distance à la membrane qu'à 50 kPa (Figure V.24b).

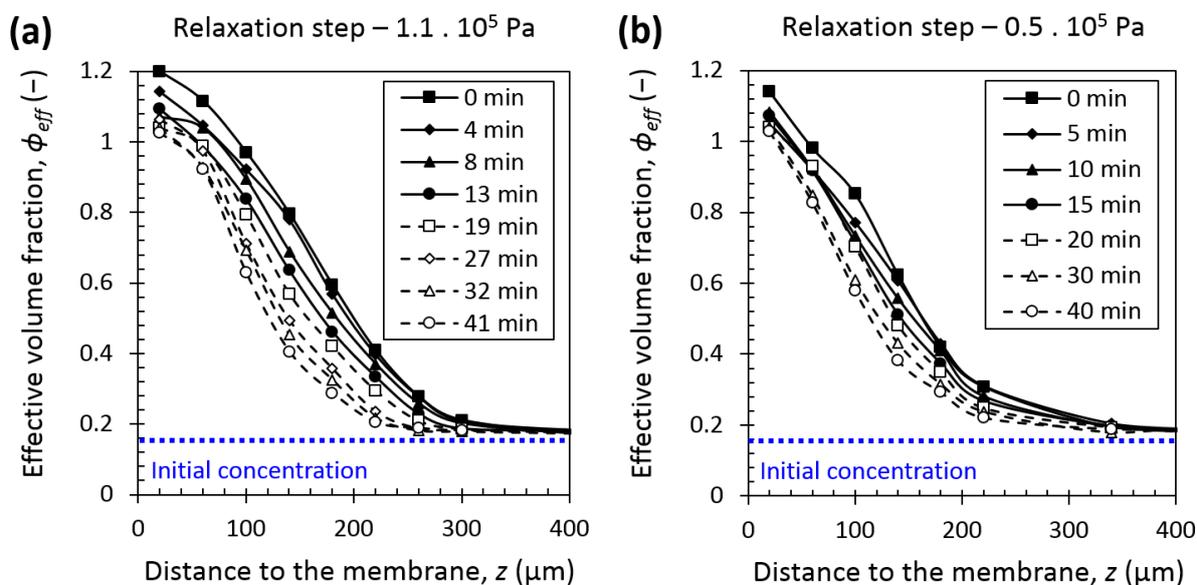


Figure V.24. Evolution of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer over time during casein micelle relaxation pressure step with a transmembrane pressure applied during filtration step of (a) $1.1 \cdot 10^5$ Pa (solid circles) and (b) $0.5 \cdot 10^5$ Pa (solid diamonds). The initial

concentration represents the initial state before the filtration. $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$. The curves serve as a guide to the eye.

Les profils de fraction volumique effective à la fin de l'étape de relaxation sont similaires pour les deux pressions transmembranaires (Figure V.25).

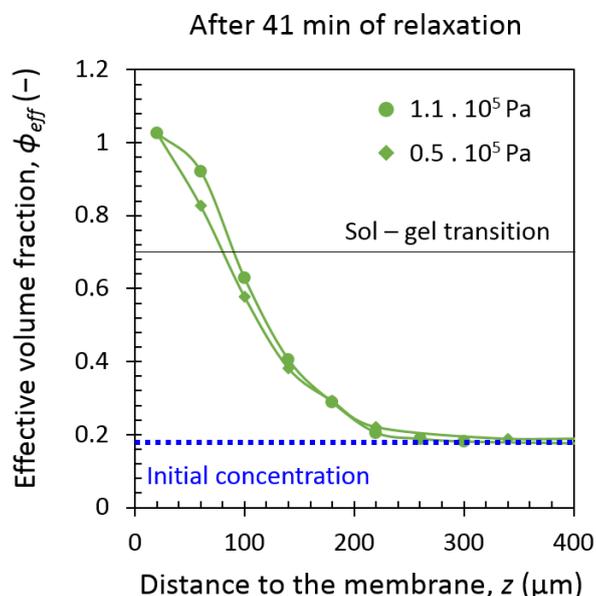


Figure V.25. Comparison of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 41 min of relaxation pressure step with a transmembrane pressure applied during filtration step of $1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ (solid diamonds). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{eff \text{ max}} = 0.71$. $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$. The curves serve as a guide to the eye.

La Figure V.22 montre que les micelles de caséine accumulées à la surface de la membrane en fonction du temps diminuaient au cours du temps de relaxation et d'érosion quelle que soit la pression appliquée. Cette élimination de la masse totale accumulée à la surface de la membrane semble être du même ordre de grandeur à 110 et 50 kPa même si la masse accumulée reste plus élevée à 110 kPa qu'à 50 kPa ce qui est en accord avec les résultats de résistance présentés précédemment.

L'élimination de la masse totale accumulée en fonction du temps de relaxation et d'érosion est présentée en Figure V.26. L'élimination de la masse accumulée était, durant les vingt premières minutes, du même ordre de grandeur pour les deux pressions étudiées, puis l'élimination devient plus élevée pour le dépôt formé à 110 kPa que celui formé à 50 kPa. Une explication à ce résultat est probablement le fait que plus de matière s'était accumulée durant la phase de filtration donc plus de matière est disponible pour être éliminée. Les deux dépôts formés à deux pressions différentes tendent à rejoindre un profil de fraction volumique similaire (Figure V.25). De plus l'étape d'érosion a permis d'éliminer une proportion élevée de la masse accumulée et qui semble du même ordre de grandeur pour les dépôts formés à 110 et 50 kPa.

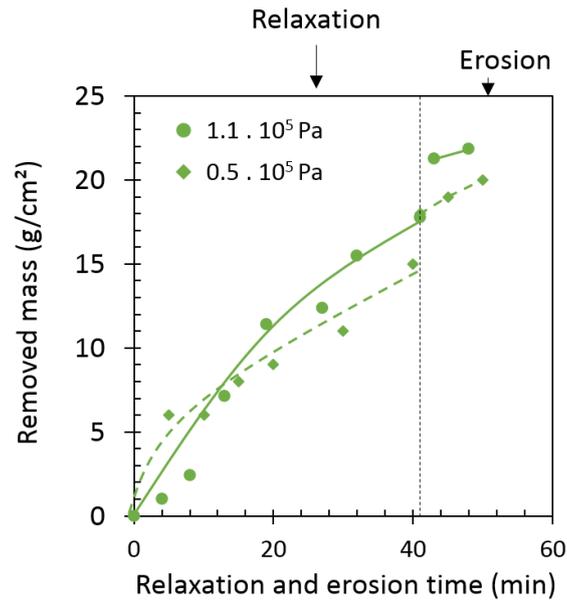


Figure V.26. Casein micelles removed mass over relaxation and erosion time during pressure relaxation ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) and erosion ($v = 15.6 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) steps with a transmembrane pressure applied during filtration step of $1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ (solid diamonds). The curves serve as a guide to the eye.

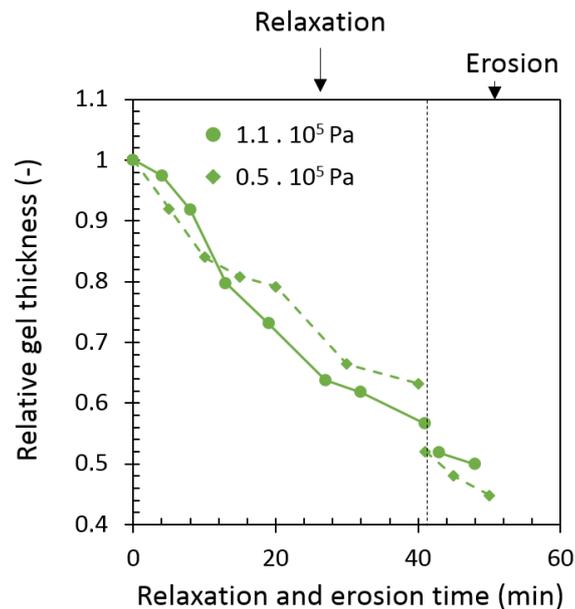


Figure V.27. Casein micelles gel thickness over relaxation and erosion time during pressure relaxation ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) and erosion ($v = 15.6 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) steps with a transmembrane pressure applied during filtration step of $1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ (solid diamonds). The curves serve as a guide to the eye.

L'épaisseur de la partie gélifiée des dépôts formés aux deux pressions étudiées diminuait durant le temps de relaxation et d'érosion (Figure V.23). Quelle que soit la pression appliquée durant

la phase de filtration, la partie gélifiée éliminée semblait être la même durant les phases de relaxation et d'érosion.

L'élimination de la partie gélifiée était similaire durant les dix premières minutes quelle que soit la pression appliquée lors de la formation du dépôt (Figure V.27), puis l'élimination du gel formé à 110 kPa était plus rapide et plus de gel était éliminé que lorsque le gel était formé à 50 kPa puisque 45 % du gel était éliminé pour le gel formé à 110 kPa contre 35 % pour celui formé à 50 kPa. L'étape d'érosion a permis d'éliminer une plus grande partie (33 % de gel éliminé en plus de la proportion éliminée en relaxation) du gel formé à 50 kPa alors que celui formé à 110 kPa est beaucoup moins diminué (5 % de gel éliminé en plus de la proportion éliminée en relaxation).

Ainsi, l'élimination du dépôt par relaxation de la pression semble facilitée lorsque le dépôt a été plus compressé (110 kPa) puisque les profils de fraction volumique étaient moins concentrés après le même temps de relaxation (Figure V.28a) que lorsque le dépôt était formé à 50 kPa (Figure V.28b) même si les profils de fraction volumique des dépôts après relaxation pour les deux pressions étudiées étaient similaires.

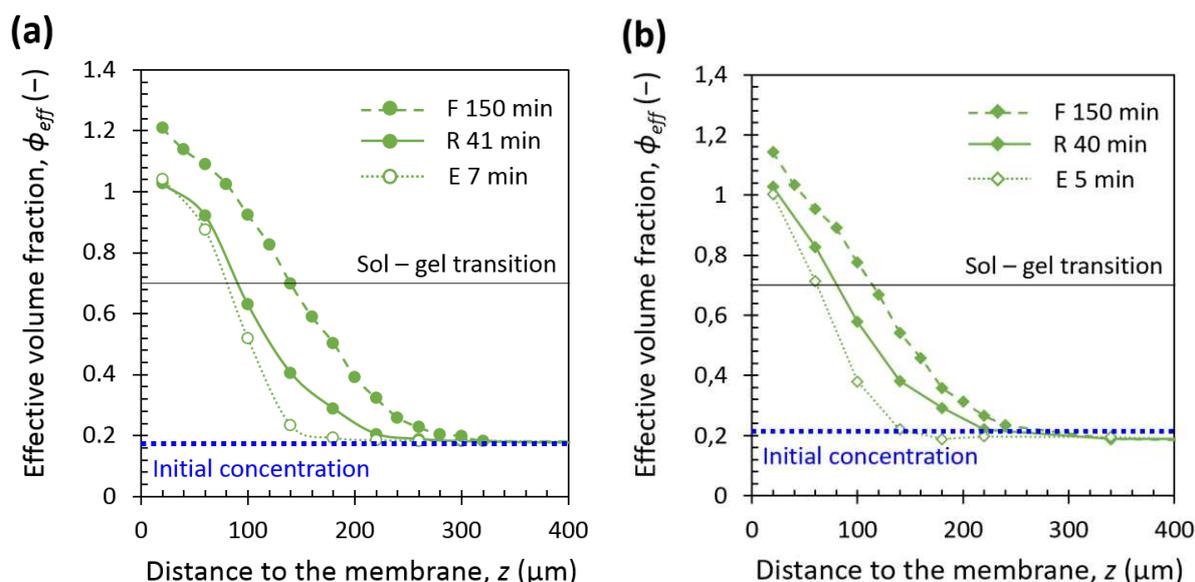


Figure V.28. Comparison of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 150 min of filtration ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) (solid symbols and dashed lines), after 40-41 min of relaxation pressure ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) step (solid symbols and solid lines) and after 5 – 7 min of erosion ($v = 15.6 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) step (open symbols and dotted lines) with a transmembrane pressure applied during filtration step of (a) $1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ and (b) $0.5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$. The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. The curves serve as a guide to the eye.

V.3.3.2. Influence de l'écoulement tangentiel

V.2.3.2.1. Accumulation

Les flux et résistances pour la filtration tangentielle de micelles de caséine conduites à 25 °C à 3.1 et 15.6 cm/s à 110 kPa sur une période de 150 min ont été évalués.

Le flux à haute vitesse d'écoulement tangentiel était beaucoup plus élevé qu'à basse vitesse ce qui est aussi assez connu (Gésan-Guiziou *et al.* 1999b ; Grandison *et al.* 2000) puisque l'accumulation de matière à la surface de la membrane est limitée par l'érosion continue de la matière accumulée.

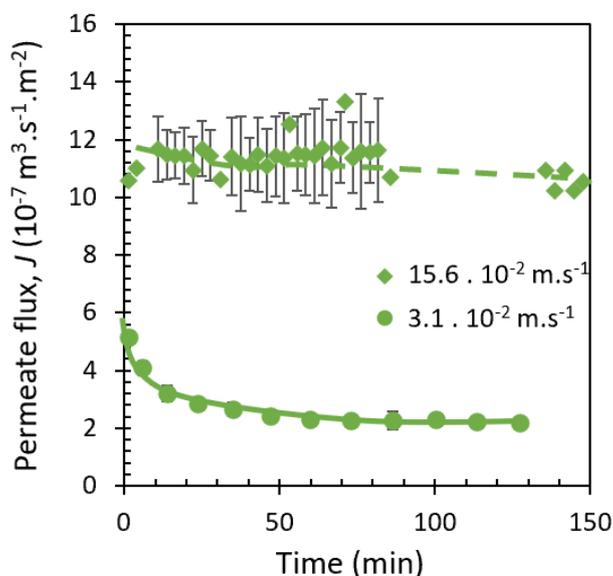


Figure V.29. Permeate flux over time during filtration step with a crossflow velocity applied of $3.1 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid circles) and $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid diamonds). $\text{TMP} = 1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$.

La résistance de la membrane propre était de $4.5 \pm 0.5 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$. Les résistances des parties réversible (Figure V.30a) et irréversible (Figure V.30b) du colmatage après la filtration étaient beaucoup plus élevées à basse vitesse d'écoulement tangentiel qu'à haute vitesse. Comme attendu, cela signifie que les dépôts de micelles de caséine étaient plus concentrés à basse vitesse qu'à haute vitesse.

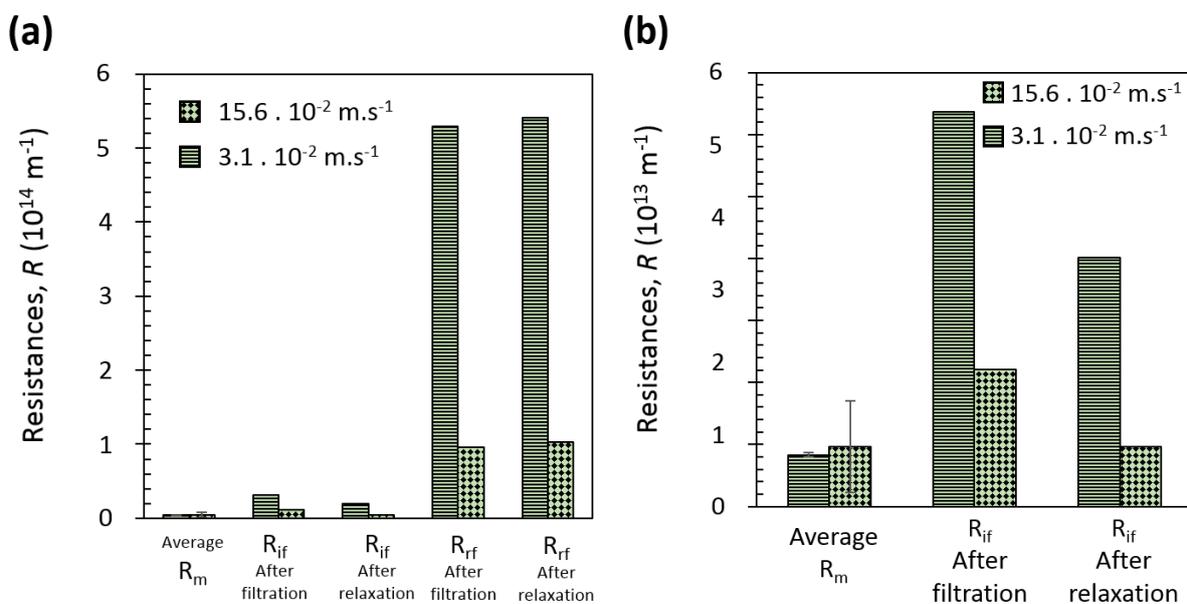


Figure V.30. Comparison of resistances of the membrane (R_m), (a) of the reversible fouling (R_{rf}) and of the irreversible fouling (R_{if}) with a crossflow velocity applied during filtration step of $3.1 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$.

¹ and $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$. (b) Only R_m and R_{if} are represented. R_{if} and R_{rf} are obtained after filtration and after relaxation steps.

Les profils des fractions volumiques effectives à la fin de l'étape de filtration sont présentés en Figure V.31, et montrent des accumulations de micelles de caséine complètement différentes aux deux vitesses étudiées avec une accumulation de matière plus élevée et gélifiée à 3.1 cm/s qu'à 15.6 cm/s où quasiment aucune accumulation de matière n'a été observée. La filtration à 3.1 cm/s permettait une accumulation avec une fraction volumique de 1.2 à la surface de la membrane et une épaisseur de gel autour de 180 μm contre une fraction volumique autour de 0.25 près de la membrane et aucun gel formé à 15.6 cm/s.

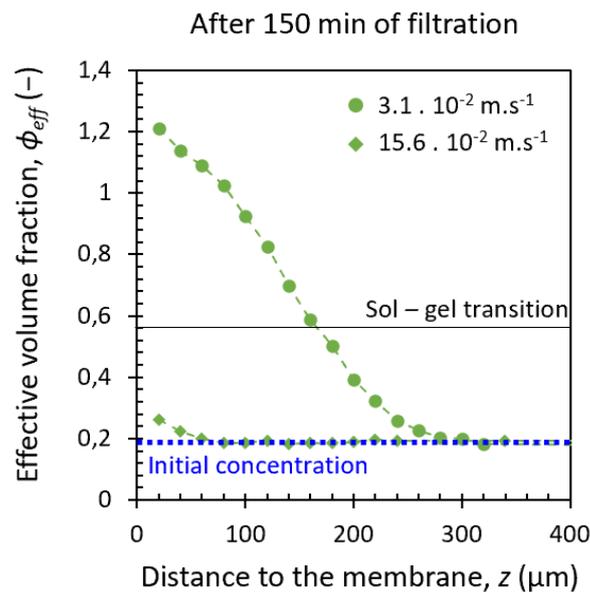


Figure V.31. Casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 150 min of filtration with a crossflow velocity applied of $3.1 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$ (solid circles) and $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid diamonds). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{eff \text{ max}} = 0.71$. $\text{TMP} = 1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$. The curves serve as a guide to the eye.

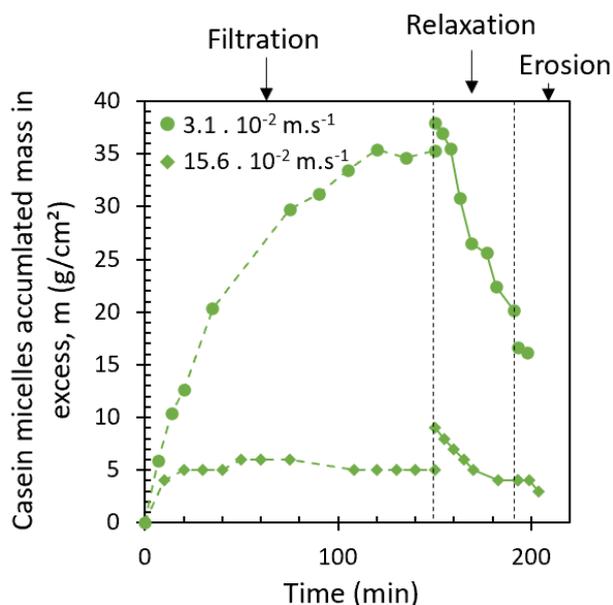


Figure V.32. Casein micelles accumulated mass in excess over time during filtration (TMP = $1.1 \cdot 10^5$ Pa), pressure relaxation (TMP = $0.1 \cdot 10^5$ Pa) and then erosion (TMP = $0.1 \cdot 10^5$ Pa) steps with a crossflow velocity applied of $3.1 \cdot 10^{-2}$ m.s⁻¹ (solid circles) and $15.6 \cdot 10^{-2}$ m.s⁻¹ (solid diamonds). The curves serve as a guide to the eye.

En accord avec les résultats précédents, les masses accumulées de micelles de caséine en fonction du temps de filtration étaient bien plus rapides et élevées à 3.1 cm/s (égale à 35 g/cm² à la fin de la filtration) qu'à 15.6 cm/s (égale à environ 5 g/cm² à la fin de la filtration) (Figure V.32).

Aucun dépôt gélifié n'a été observé avec la résolution actuelle de la technique à 15.6 cm/s comparé à une vitesse de 3.1 cm/s qui a conduit à la formation d'un dépôt gélifié. Cela se traduit alors par des flux de perméation beaucoup plus élevé à haute vitesse d'écoulement tangentiel.

V.2.3.2.2. Relaxation de la pression

La résistance de colmatage réversible a augmenté pour les deux vitesses étudiées après la phase de relaxation (Figure V.30a). Les résistances de colmatage irréversible ont diminué grâce l'étape de relaxation puisque des réductions respectivement de 50 et 56 % ont été observées pour des dépôts formés respectivement à 3.1 cm/s et 15.6 cm/s. Cependant la résistance de colmatage irréversible reste beaucoup plus élevée lorsque le dépôt a été formé à 3.1 cm/s qu'à 15.6 cm/s.

Ainsi la relaxation de la pression a permis l'élimination d'une grande partie du dépôt irréversible pour les deux vitesses étudiées.

De la même façon que pour l'étape de filtration, les profils de fraction volumique effective ont été obtenus durant l'étape de relaxation. La relaxation permet l'élimination d'une partie du dépôt formé à 3.1 cm/s puisque les profils diminuaient au cours du temps de relaxation (Figure V.33) mais le temps nécessaire est très long. Le mécanisme d'élimination du dépôt est le même pour le dépôt formé à 3.1 cm/s (Figure V.33a) que celui décrit en section V.3.3 (cf. Figure V.11c). Pour l'accumulation formée à 15.6 cm/s, il y a eu également une très faible élimination des micelles de caséine (Figure V.33b).

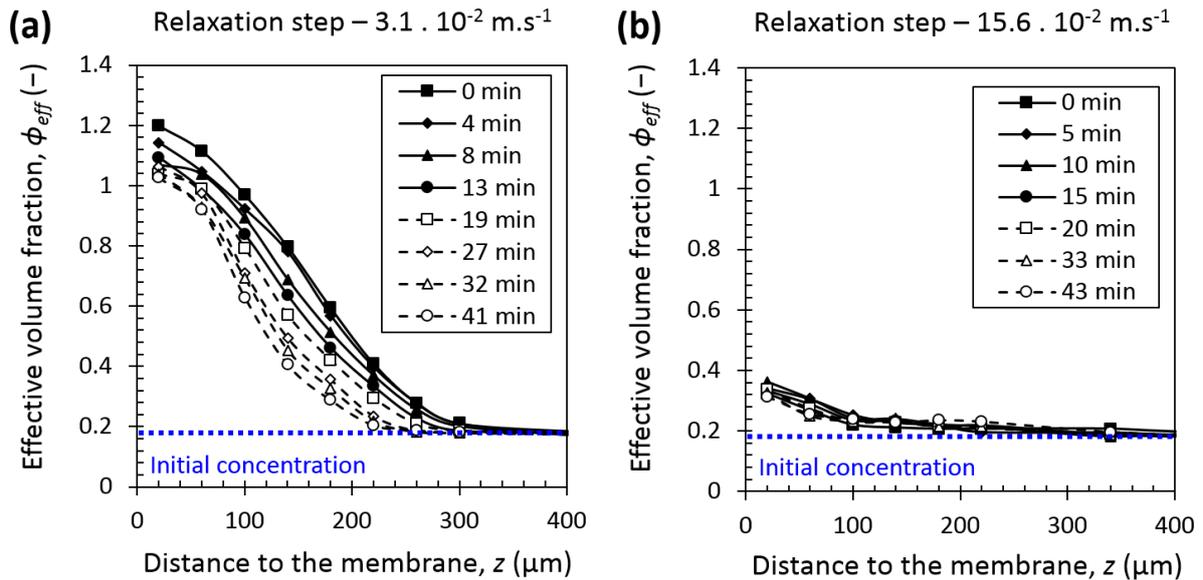


Figure V.33. Evolution of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer over time during casein micelle relaxation pressure step with a crossflow velocity applied during filtration step of (a) $3.1 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$ (solid circles) and (b) $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid diamonds). The initial concentration represents the initial state before the filtration. $\text{TMP} = 0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$. The curves serve as a guide to the eye.

Les profils de fraction volumique effective à la fin de l'étape de relaxation aux deux vitesses étudiées montrent un profil nettement plus concentré et l'existence d'un dépôt gélifié pour le colmatage formé à 3.1 cm/s comparé à celui formé à 15.6 cm/s (Figure V.34).

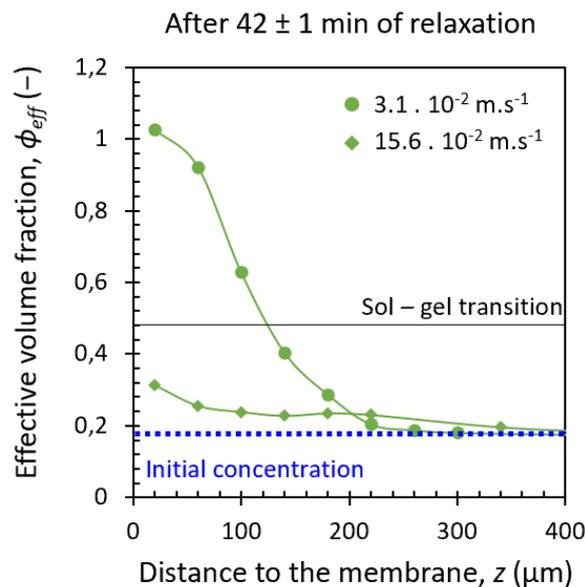


Figure V.34. Comparison of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 41 min of relaxation pressure step with a crossflow velocity applied during filtration step of (a) $3.1 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid circles) and (b) $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid diamonds). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{eff \text{ max}} = 0.71$. $\text{TMP} = 0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$. The curves serve as a guide to the eye.

La Figure V.32 montre que les micelles de caséine accumulées à la surface de la membrane en fonction du temps diminuaient au cours du temps de relaxation et d'érosion, pour le dépôt formé à 3.1 cm/s.

L'élimination de la masse accumulée était plus rapide et plus de masse était éliminée lorsque le dépôt était formé à 3.1 cm/s comparé à 15.6 cm/s puisqu'à cette dernière vitesse, l'accumulation était trop faible pour engendrer une relaxation conséquente et mesurable (Figure V.35). De plus l'étape d'érosion a permis d'éliminer une proportion élevée de la masse accumulée quand le dépôt était formé à 3.1 cm/s.

L'érosion a seulement été possible pour le dépôt formé à 3.1 cm/s (Figure V.36a) car trop peu de matière s'était accumulée lors de la filtration à 15.6 cm/s pour pouvoir suivre une quelconque érosion du dépôt (Figure V.36b).

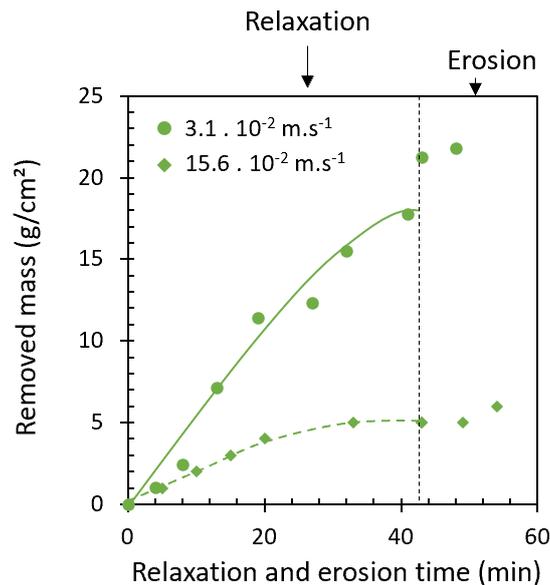


Figure V.35. Casein micelles removed mass over relaxation and erosion time during pressure relaxation and erosion steps with a crossflow velocity applied of $3.1 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid circles) and $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid diamonds). $\text{TMP} = 0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$. The curves serve as a guide to the eye.

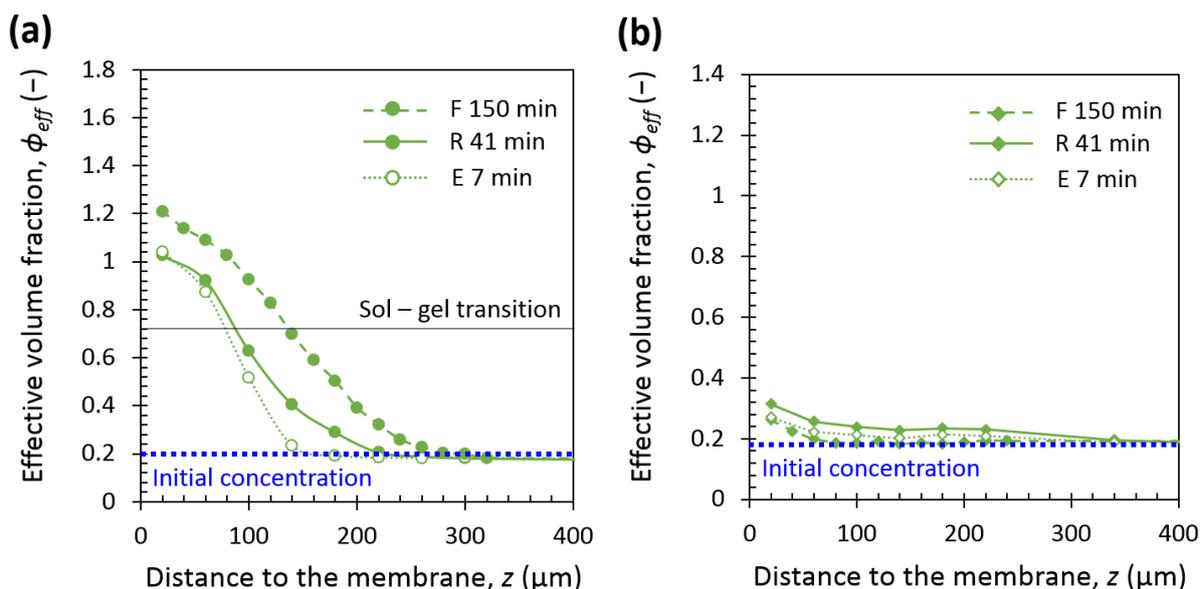


Figure V.36. Comparison of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 150 min of filtration (TMP = $1.1 \cdot 10^5$ Pa) (solid symbols and dashed lines), after 40-41 min of relaxation pressure (TMP = $0.1 \cdot 10^5$ Pa) step (solid symbols and solid lines) and after 5 – 7 min of erosion (TMP = $0.1 \cdot 10^5$ Pa) step (open symbols and dotted lines) with a crossflow velocity applied during filtration step of (a) $3.1 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$ (solid circles) and (b) $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid diamonds). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{eff \text{ max}} = 0.71$. The curves serve as a guide to the eye.

V.2.4. Conclusions

Dans cette deuxième section, l'influence de la pression transmembranaire et de la vitesse d'écoulement tangentiel sur la formation, les propriétés (concentration, transition sol-gel et cohésion) et l'élimination du dépôt de micelles de caséine *in-situ* en filtration tangentielle couplée à SAXS a été étudiée.

Durant la filtration tangentielle de micelles de caséine, des résultats à l'échelle macroscopique assez classiques de filtration à deux pressions transmembranaires et à deux vitesses d'écoulement tangentiel différentes ont pu être reliés aux structures à l'échelle nano formées à la surface de la membrane.

Une pression transmembranaire de 110 kPa a induit plus de masse accumulée et une concentration plus forte à la surface de la membrane ainsi qu'un gel de micelles de caséine plus épais qu'à 50 kPa. Cela est en accord avec la littérature et notamment le fait que plus la pression transmembranaire est élevée, plus le dépôt formé est compressé et concentré.

D'autre part, une vitesse d'écoulement tangentiel de 15.6 cm/s a induit une très faible accumulation de matière, qui était très peu concentrée, à la surface de la membrane et une telle vitesse d'écoulement n'a pas permis la formation d'un gel de micelles de caséine (observable avec la résolution actuelle de la technique) comparé à une vitesse de 3.1 cm/s. Ce phénomène est également en accord avec la littérature et les données macroscopiques car l'érosion induite par la vitesse d'écoulement tangentiel élevée ne permet pas la formation de dépôt et il en résulte des performances de filtration nettement meilleures avec notamment un flux de perméation plus élevé à 15.6 cm/s qu'à 3.1 cm/s.

D'autre part, la vitesse d'écoulement tangentiel à 15.6 cm/s n'ayant pas permis la formation d'un dépôt conséquent, l'étape de relaxation était peu intéressante pour cette condition.

Cependant, l'étape de relaxation a permis le relâchement des dépôts formés à 110 et 50 kPa et de mettre en évidence une différence de comportement de ce relâchement. Un dépôt formé à 110 kPa élimine plus de matière qu'un dépôt formé à 50 kPa dû probablement au fait que plus de matière avait été accumulée durant la phase de filtration à 110 kPa qu'à 50 kPa. Enfin, un mécanisme de relâchement et d'élimination du dépôt similaire à celui décrit en première partie de chapitre (cf. V.4) a été observé lors de la relaxation de la pression après une filtration à deux pressions transmembranaires différentes.

Chapitre VI: Etude des propriétés de micelles de caséine en filtration frontale : phénomènes d'accumulation et de relaxation caractérisés par SAXS *in-situ*.

VI.1. Introduction	181
VI.2. Material et methods	182
VI.3. Results and discussion	183
VI.4. Conclusions	189

Ce chapitre présente des essais réalisés en filtration frontale et caractérisés par SAXS *in-situ*.

L'objectif de ce chapitre s'attache à répondre aux questions de recherche suivantes :

- Comment se comporte un dépôt de micelles de caséine après relâchement de la pression après une filtration frontale ? S'élimine-t-il totalement ou partiellement ?
- Quel est le mécanisme de relâchement et d'élimination du dépôt ?

De ce travail il ressort que :

- (i) Le suivi des mesures SAXS *in-situ* durant la filtration frontale a été fait avec une résolution de 20 μm au voisinage de la membrane jamais obtenue jusqu'à présent. Cela a permis de suivre pour la première fois les couches de micelles de caséine gélifiées au cours du temps de filtration. De plus, deux positions ont été étudiées le long de la membrane, par des fenêtres au centre et à la sortie de la cellule. Quelques différences entre ces deux positions ont été observées puisque la position du centre présentait des dépôts plus concentrés et plus gélifiés que ceux se trouvant à la sortie de la cellule. Différentes hypothèses sur cette variabilité d'accumulation le long de la membrane peuvent être proposées : soit il s'agit d'une variabilité locale de la perméabilité de la membrane, soit des effets de bords liés au design de la cellule peuvent perturber l'écoulement et modifier la perméation. Mais il est difficile de conclure sur l'une ou l'autre des hypothèses. Cependant il reste intéressant de noter que globalement les cinétiques de croissance des dépôts et les phénomènes de réversibilité restent équivalents en plusieurs positions de la membrane.
- (ii) La relaxation du dépôt et notamment de sa partie gélifiée est possible sans avoir recours aux produits chimiques, seulement en relâchant la pression transmembranaire, mais cela nécessite un temps très long. Le suivi de mesures SAXS *in-situ* durant l'étape de relaxation a permis de mettre en évidence que le mécanisme de relaxation du dépôt semble s'effectuer selon trois étapes. Tout d'abord, la partie gélifiée et la partie non gélifiée de ce dépôt se gonflent simultanément dès le début de la relaxation, à la fois parce que la pression relâchée a induit un relâchement des micelles de caséine et du gel de micelles de caséine qui réagissent comme un ressort ou une éponge ; puis par rétrodiffusion de solvant à travers la membrane pour la partie gélifiée proche de la membrane et enfin par diffusion de solvant des couches de la veine fluide au cœur du rétentat vers le dépôt.

Les résultats dans ce sixième chapitre montrent alors que l'élimination d'une partie du dépôt de micelles de caséine (partie gélifiée) formé après la filtration frontale est possible sans utiliser le moindre produit chimique mais que le temps nécessaire est relativement long. Cependant, la partie gélifiée s'élimine mais les micelles de caséine s'accumulent dans les couches de colmatage car il n'y a pas d'agitation ou d'écoulement tangentiel (Chapitre V) qui pourrait permettre l'élimination de ces couches par redispersion dans le solvant ou par érosion. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus dans le précédent chapitre et appuient donc le fait que la conduite de la filtration peut être modifiée, en alternant des cycles de filtration et de relaxation de pression afin d'éviter la formation de dépôts trop cohésifs et d'allonger le temps total de filtration sans avoir à arrêter la production pour nettoyer la membrane.

Structural organization and behavior of casein micelles accumulated layers during frontal ultrafiltration probed by SAXS: build-up and relaxation phenomena

VI.1. Introduction

Skimmed milk filtration is widely used in the dairy industry as means of concentration and fractionation of milk proteins for the production of cheese, milk protein concentrate, and for protein standardization (Brans *et al.* 2004 ; Pouliot 2008 ; Gésan-Guiziou 2010). One of the main limiting factors of the process is the accumulation of matter on the membrane surface which alters filtration performance (permeability, selectivity) and therefore filtration throughput is reduced and product quality is altered. It is now established that the performances of the filtration of skimmed milk is directly related to the presence of casein micelles (Pignon *et al.* 2004 ; David *et al.* 2008 ; Jimenez-lopez *et al.* 2008 ; Jimenez-Lopez *et al.* 2011), soft colloids, which make up to 80% of the protein content of cow milk. In addition, chemical cleaning is necessary for removing fouling, implying significant water and chemical amount consumption, and process downtime (Rabiller-Baudry *et al.* 2006). To further optimize filtration and cleaning, a better understanding of structural organization of casein accumulated layers at the membrane surface is required, and particularly their removal, but for now it is not completely understood.

Casein micelles are roughly spherical aggregates, which consist of smaller assemblies of four different caseins (α_{s1} , α_{s2} , β and κ in proportion of 4 : 1 : 4 : 1) and 8 wt. % of phosphate and calcium ions (McMahon et Brown 1984). The structure of casein micelles is still controversial, but it is commonly accepted that they have roughly spherical shape and core-shell structure, with the outer diameter ranging from 50 to 500 nm (De Kruif 1998 ; Dalgleish 2011 ; De Kruif *et al.* 2012 ; Dalgleish et Corredig 2012). The core is generally described as a matrix of proteins in which the ionic nanoclusters of calcium and phosphate act as connecting points for casein assembly and are randomly distributed (Horne 1998, 2006 ; Pignon *et al.* 2004 ; Farrell *et al.* 2006 ; Marchin *et al.* 2007). There is a consensus on the casein micelle shell, which is essentially made of κ -caseins that protrude into the aqueous phase as a polyelectrolyte brush, which stabilizes casein micelles through electrostatic and steric repulsions and insures its hydration (De Kruif et Zhulina 1996 ; Dalgleish 1998). Moreover, casein micelles contain 76 wt. % of water, which makes them some kind of natural sponge-like microgels that are porous, deformable, compressible and dynamic (Bouchoux *et al.* 2010).

It has been showed that casein micelles can gel under certain operating filtration conditions (Bouchoux *et al.* 2009a ; Qu *et al.* 2012) at the membrane surface, causing irreversible fouling (Gésan-Guiziou *et al.* 1999b, 2006 ; Grandison *et al.* 2000 ; Youravong *et al.* 2003). It is then often necessary to clean the surface and the internal porosity of the membrane with chemical products to recover initial operating conditions. These chemical cleaning procedures induce consequent time, water and energy consumption, which is a barrier to the development and optimization of filtration processes. An alternative way to help the efficiency of the chemicals and subsequent water cleaning treatments is to use pressure relaxation step, to allow a partial fouling removal. Indeed, some studies have demonstrated that fouling removal can be achieved and improved after a crossflow or dead-end filtration, when a relaxation step is applied and when its duration is increased (Nakanishi et Kessler 1985 ; Chua *et al.* 2002 ; Gésan-Guiziou *et al.* 2006 ; van der Marel *et al.* 2009 ; Jørgensen *et al.* 2014, 2019 ; Zhang *et al.* 2017). But to our knowledge the potential of pressure relaxation steps to induce

fouling removal after casein micelles frontal filtration processes, have not been explored in details until now.

At micro-scale, some authors studied structural organization of colloids at the membrane surface thanks to real-time *in-situ* Small Angle X-ray Scattering (SAXS) (Pignon *et al.* 2004, 2012 ; David *et al.* 2008 ; Jin *et al.* 2014a, 2014b, 2015 ; Rey *et al.* 2019). To the best of author's knowledge, casein micelle structural organization accumulated at the membrane surface has been determined during frontal filtration (David *et al.* 2008) but the precision of the measurements (250 μm) did not allow to access to the gelled part of the fouling layers since the highest concentration reached was around 175 g/L near the membrane surface. Moreover, the changes induce inside the accumulated layers during pressure relaxation remains unstudied.

Therefore, in this work, structural organization at nanometer length scale during frontal filtration will be revealed by SAXS with a precision of 20 μm near the membrane surface. As far as we know, it is the first time that evolution of structural organization and properties (cohesiveness through pressure relaxation) of casein accumulated layers at the membrane surface over time, during frontal filtration of casein micelles, is observed by *in-situ* measurement with such a precision. The aim of this work was to answer the following questions:

Could casein micelles accumulated layers be removed by pressure relaxation after frontal filtration? What is the mechanism of relaxation?

VI.2. Material and methods

Casein micelle dispersion preparation, the experimental device and methods of characterizations (SAXS measurements and analysis, calculation of concentration inside the accumulated layers, effective volume fraction, calculation of accumulated mass, gel thickness, removed mass,...) are the same as the one described in Materials and Methods of chapter V.

The only changes in the installation and filtration procedure are described thereafter.

During the SAXS experiment, the filtration cell is the same cell used in crossflow filtration and the cell is designed with three windows of observation positioned at the entrance, the middle and the outlet in the retentate channel with a distance of 43 mm from each other. In this work, the structural organization will be analyzed along the membrane direction, to follow the distribution of the concentration evolutions during relaxation phenomena (Figure VI.1).

New PES membrane was used for the run. Before experiment, membrane was conditioned during at least thirty minutes in UF permeate.

A two steps filtration protocol was performed (Figure VI.2) in order to follow the casein accumulated layers and their cohesiveness properties through concentration profiles by SAXS measurements. A first step of filtration of 160 min at a transmembrane pressure (TMP) of 1×10^5 Pa allowed to follow the accumulation of casein micelles. Then a pressure relaxation step of 120 min at 0 Pa allowed to characterize the cohesiveness and reversibility of these accumulated layers.

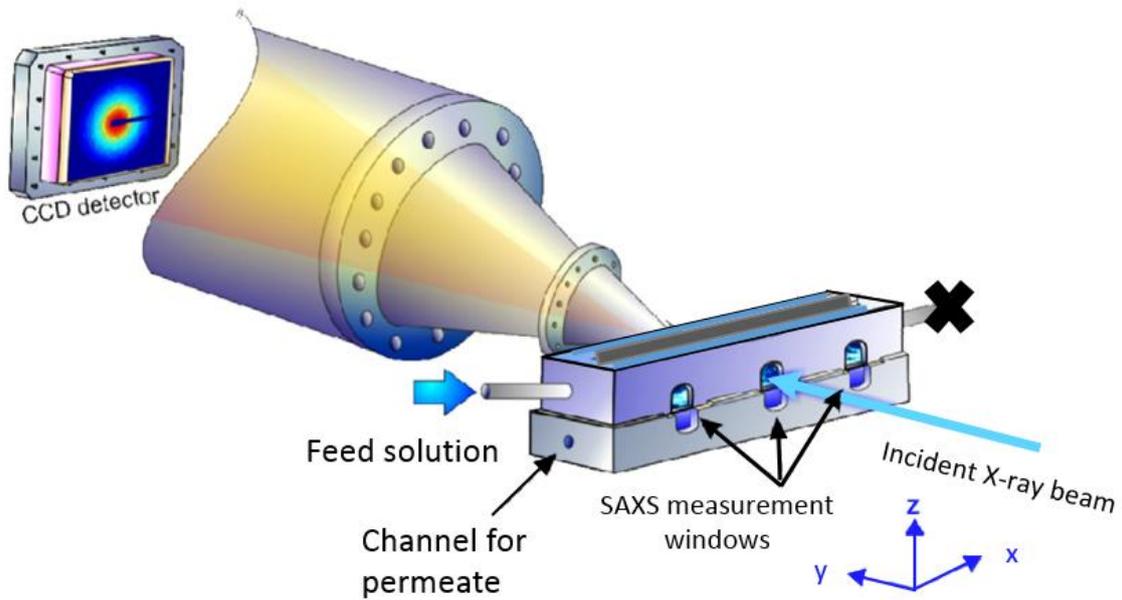


Figure VI.1. SAXS crossflow filtration cell in a scheme with the three windows represented (adapted from Jin *et al.* (2014b)).

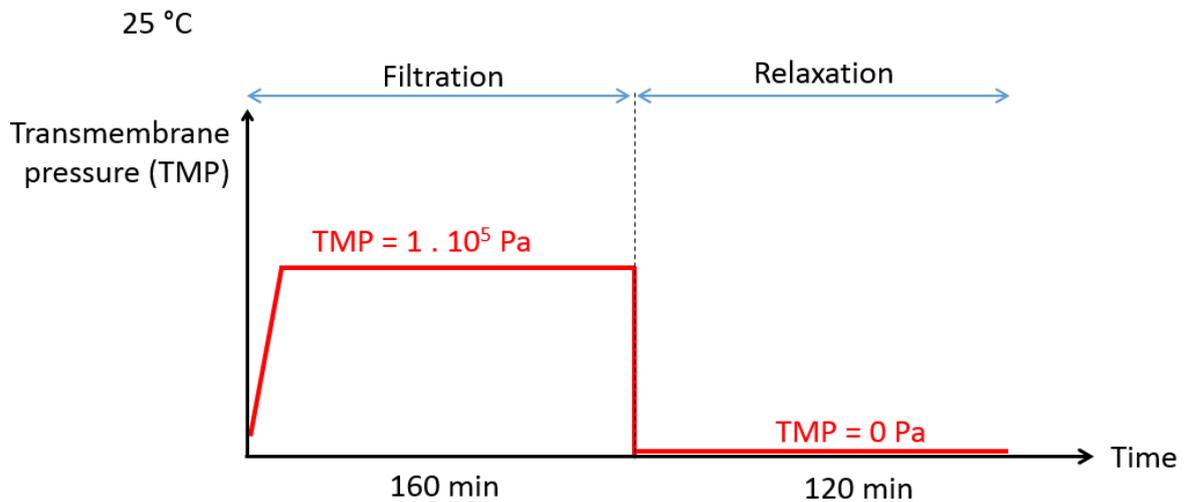


Figure VI.2. Scheme of filtration protocol performed during the runs with first a filtration step and then a pressure relaxation step.

VI.3. Results and discussion

Accumulation of casein micelles during frontal filtration step

VI.3.1.1. Casein micelles concentration profiles

The effective volume fraction profiles in frontal filtration on two windows have been obtained over the time of filtration and are presented in Figure VI.3. Accumulation of casein micelle layers can be followed within time during frontal filtration and is very similar to the literature (David *et al.* 2008). Nevertheless, the development of the metallic membrane support and the set-up used at Synchrotron SOLEIL, has allowed to reach a better accuracy on the first points accessible near the membrane surface allowing to reach information at a distance z as small as $20\ \mu\text{m}$ against around $250\ \mu\text{m}$ in the previous study (David *et al.* 2008). Therefore, this new resolution allowed to follow the gelled part of the fouling layers with growing layers that reached until $225\ \mu\text{m}$ and $200\ \mu\text{m}$ of thickness after 160 min of filtration respectively in the middle and outlet windows. Finally, at the end of the frontal filtration (160 min), effective volume fractions of around 1.4 and 1.2 near the membrane were reached for respectively the middle and outlet windows.

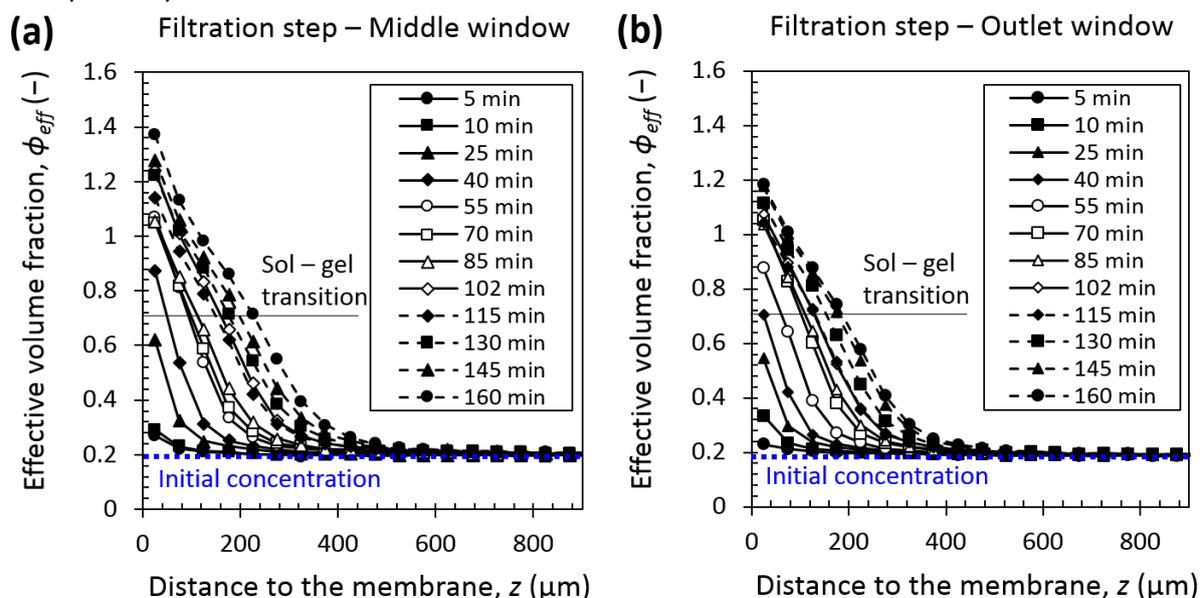


Figure VI.3. Evolution of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer over time during casein micelle frontal filtration (a) in the middle window and (b) in the outlet window. The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid lines correspond to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. $\text{TMP} = 1.10^5$ Pa. The curves serve as a guide to the eye.

To compare the position (middle or outlet window) along the membrane, the effective volume fraction profiles at the end of frontal filtration for both windows are presented in Figure VI.4. The results show a greater and more concentrated accumulation in the middle of the cell. In the middle window, the effective volume fraction near the membrane was 1.4 with total fouling layer thickness of around $420\ \mu\text{m}$ while in the outlet window, the effective volume fraction near the membrane was 1.2 and the total fouling layer thickness was around $400\ \mu\text{m}$. There are two main hypotheses on such an accumulation variability along the membrane that can be proposed: it could be a local variability of membrane permeability or it could be the way this cell was designed because the outlet window is at an extremity of the cell and flow could be alterate leading to an alteration of the accumulation. But it

is difficult to conclude on one hypothesis or the other. However, the trend of the curves are very similar: accumulation kinetics and reversibility phenomenon are very similar.

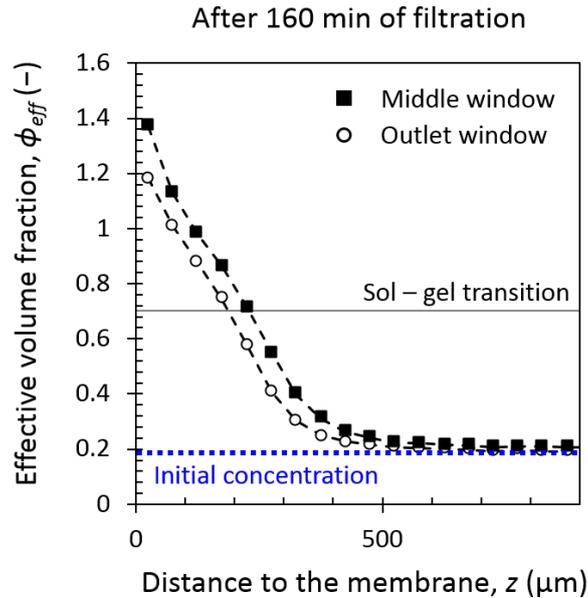


Figure VI.4. Casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 160 min of frontal filtration in the middle window (solid squares) and in the outlet window (open circles). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. $\text{TMP} = 1.10^5$ Pa. The curves serve as a guide to the eye.

VI.3.1.2. *Casein micelles mass accumulation and gel thickness*

From the concentration profiles, accumulated mass and gel thickness have been obtained. Figure VI.5 shows that the casein micelles accumulated in excess as a function of time was increasing during relaxation time and then reaching casein micelles accumulated mass of 55 g/cm² at the end of the frontal filtration step.

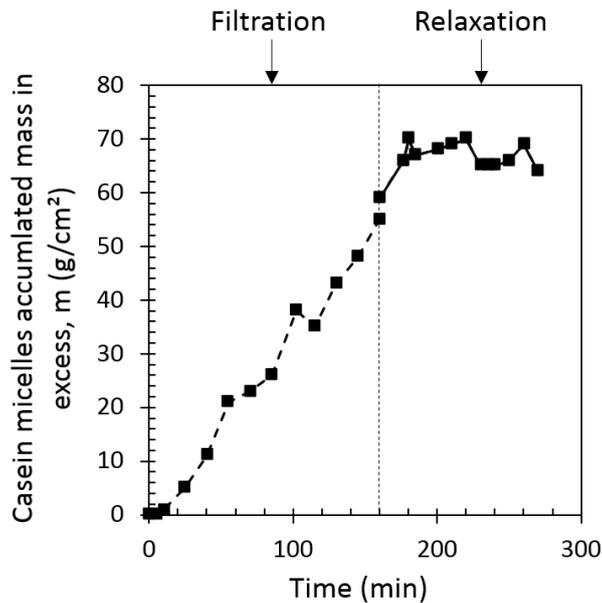


Figure VI.5. Casein micelles accumulated mass in excess over time during frontal filtration (TMP = 1.10^5 Pa) step and then pressure relaxation (TMP = 0 Pa) step in the middle window. The curves serve as a guide to the eye.

Figure VI.6 follows gel thickness as a function of time and shows that gel thickness was also increasing during the relaxation time and reached around 225 μm at the end of filtration step.

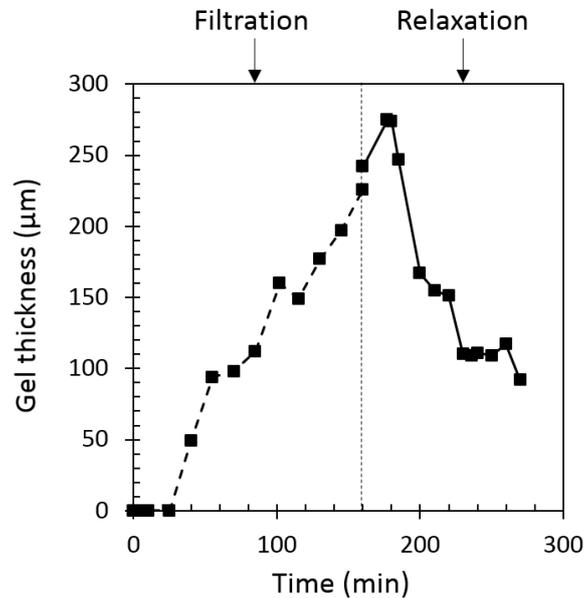


Figure VI.6. Casein micelles gel thickness over time during frontal filtration (TMP = 1.10^5 Pa) step and then pressure relaxation (TMP = 0 Pa) step in the middle window. The curves serve as a guide to the eye.

To sum up, during the filtration step, casein micelles accumulation has been followed and these results allowed to differentiate two types of fouling layers at different distances from the membrane: a gelled part near the membrane and a concentrated but non-gelled part near the bulk.

Removal of casein micelles during pressure relaxation step

VI.3.2.1. Casein concentration profiles

Similarly than during the filtration step, the effective volume fraction profiles were followed over time in the both windows of the cell during the relaxation step (Figure VI.7). Relaxation pressure of casein micelle deposit after a frontal filtration is an original result and can be followed within the time. For both windows, relaxation step allowed to remove a part of the gelled casein micelles fouling layer during the time of relaxation without using chemical products. However, the removal is slow and relaxation time is in the same order of magnitude than the filtration time. From our results, we can differentiate different relaxation behaviors of the fouling layers at different distances from the membrane. These three behaviors have allowed us to define what we call an “internal part” near the membrane which corresponds to the gelled part of the fouling layers when effective volume fraction is above $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$, an “intermediate part” and an “external part” far away from the membrane surface which corresponds to the non-gelled part of the fouling layers. These three zones evolve with relaxation time since gelled part is progressively removed. These three parts evolved differently as a function of relaxation time. For both windows, the effective volume fraction decreased with the time

of relaxation from $z = 20 \mu\text{m}$ to $400 \mu\text{m}$ in the internal and intermediate parts, which was approximately the initial total fouling layers at the end of frontal filtration; and the effective volume fraction increased with the time of relaxation from $z = 400$ to $700\text{-}800 \mu\text{m}$ in the external part. The effective volume fraction of the internal part was also decreasing immediately after the beginning of the relaxation step meaning that gelled part near the membrane was allowed to swell while the effective volume fraction of intermediate part that was also decreasing, was likely redispersed by the diffusion of solvent from the retentate bulk far away from the membrane towards the membrane into the fouling (Loginov *et al.* 2020). Finally, the increase of effective volume fraction of the external part is probably due to the release of casein micelles from the deposit by the swelling and redispersion of the internal and intermediate parts.

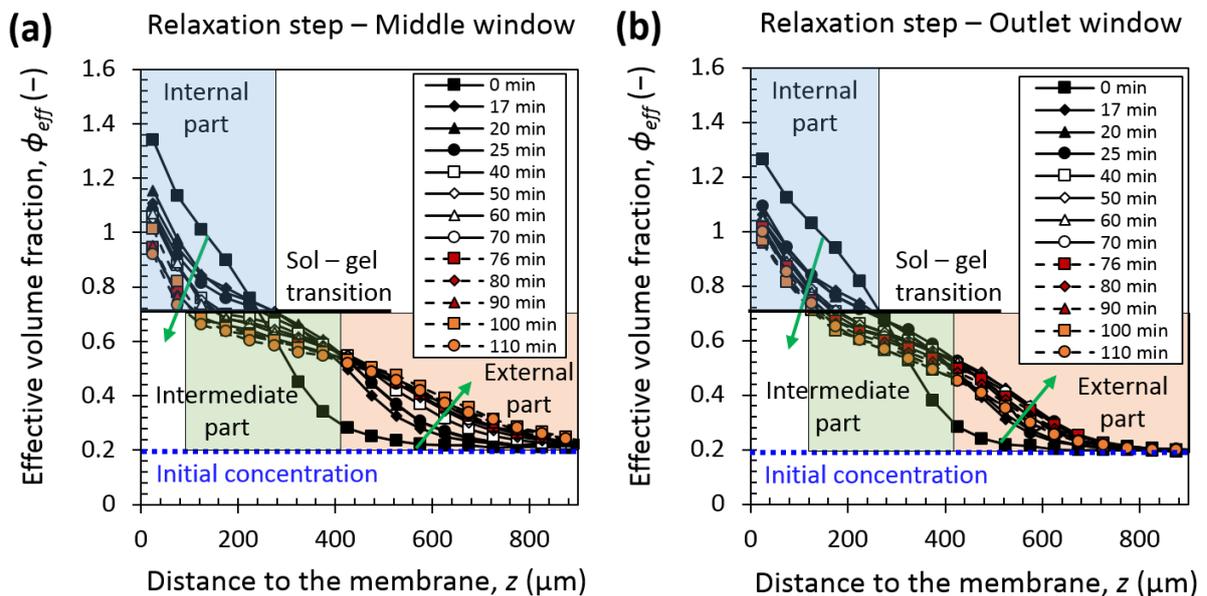


Figure VI.7. Evolution of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer over time during casein micelle relaxation pressure step (a) in the middle window and (b) in the outlet window. The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid lines correspond to sol – gel transition at $\phi_{eff \max} = 0.71$. TMP = 0 Pa. The curves serve as a guide to the eye. Arrows indicate the evolution of the profiles over relaxation time.

Figure VI.7a shows that the external part of the middle window was thicker than the one of the outlet window (Figure VI.7b) probably due to a higher initial casein micelles concentration in the deposit to release in the external part in the middle of the cell compared to the outlet of the cell.

Figure VI.8 presents the comparison of effective volume fraction profiles at the end of the relaxation step in the middle and in the outlet of the cell. The results show that the internal part in the outlet window is slightly more concentrated than in the middle window and the external part in the outlet window is slightly less concentrated than in the middle window. This phenomenon could be due to the initial gelled part before the relaxation that was less concentrated in the outlet window than in the middle window. Both curves follow a very similar trend.

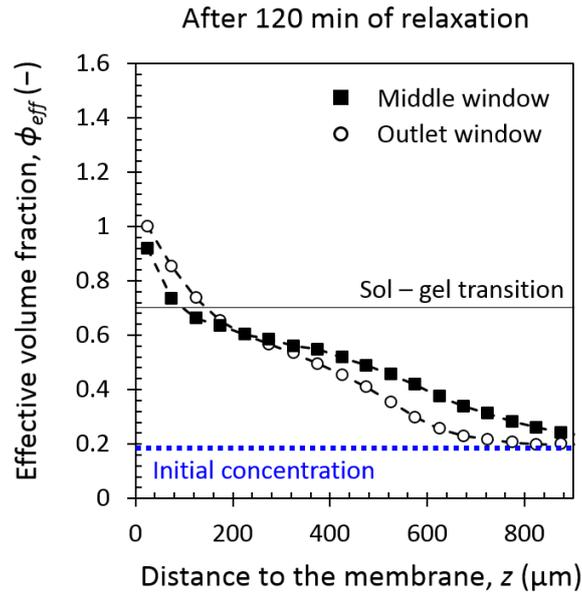


Figure VI.8. Casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 120 min of pressure relaxation step in the middle window (solid squares) and in the outlet window (open circles). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. TMP = 0 Pa. The curves serve as a guide to the eye.

VI.3.2.2. Casein mass accumulation and gel thickness

Figure VI.5 shows first that at the beginning of the relaxation step, a gap between last point of filtration step and first point of relaxation step was observed meaning that casein accumulated mass “appeared” between these two points. It could be due to a “jump” of the membrane when the pressure was released but SAXS patterns have been verified and there was no alteration of the patterns due to the membrane influence. We preferably supposed that the gel deposit acted as a spring or a sponge that relax when pressure was released since casein micelles and gel of casein micelles are considered as sponge material (Bouchoux *et al.* 2009a, 2010 ; Qu *et al.* 2015). Moreover, Figure VI.5 shows that the casein micelles accumulated mass in excess as a function of time stayed quite stable during relaxation time. This means that a very small proportion of the total casein micelles accumulated mass was removed after the relaxation step, the accumulated mass rather stayed at the membrane surface since there was no agitation applied.

Figure VI.6 follows gel thickness as a function of time and shows at the beginning of the relaxation step a small increase of the gel thickness between the last point of filtration step and the first point of relaxation step. This result was fully consistent with a relaxation of the gel of casein micelles that is acting as a spring or a sponge. Moreover, in the middle window the gel thickness increased during the first twenty minutes before strongly decrease during the relaxation step. This result was consistent with a swelling of the internal or gelled part that released casein micelles.

Another way to understand the removal of casein micelle gel is presented in Figure VI.9 with relative gel thickness as a function of relaxation time for both windows studied. The relative gel thickness decreased over relaxation time allowing a removal of 65 % of the initial gel thickness before the relaxation step.

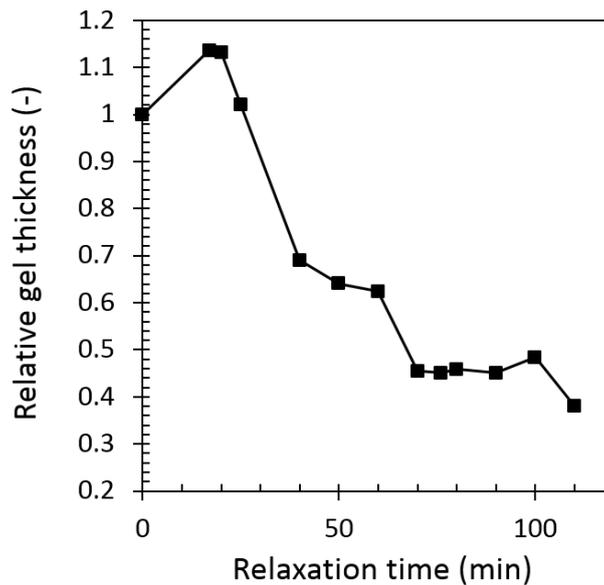


Figure VI.9. Casein micelles relative gel thickness over relaxation time during pressure relaxation step in the middle window. TMP = 0 Pa. The curves serve as a guide to the eye.

Therefore, during relaxation step, the gelled part of the deposit is greatly removed while the casein micelles accumulated mass is quite stable. These results are fully consistent with the swelling of the gelled or internal part that releases casein micelles in the intermediate part staying briefly there before moving to the external part and staying there since there was no agitation. In the contrary, the external part of the fouling layer has been removed by a crossflow circulation during crossflow filtration (chapter V).

VI.4. Conclusions

In the current work, casein micelle structural organizations during frontal filtration and pressure relaxation steps were followed in two positions along the membrane by *in-situ* SAXS measurements, a powerful and non-destructive structural characterization.

From these *in-situ* SAXS measurements, the concentration profile evolutions as a function of filtration and relaxation step at two positions along the membrane allowed to point out some interesting phenomena:

During frontal filtration, there was a great accumulation of casein micelles that was quite similar along the membrane even if in the middle of the cell, the casein micelle deposit was more concentrated and with a thicker gelled part than in the outlet position. This is probably due to the design of the cell or the local permeability variability.

During the relaxation pressure step, the relaxation of casein micelle deposit was possible without using chemical products, but the deposit has not been removed since there was no agitation.

The relaxation of casein micelle fouling layers seems to occur by three ways. Firstly, there is a simultaneously swelling of the internal part and intermediate part of the deposit together by relaxation of casein micelles and the gel when the pressure is released, acting as a sponge and by respectively for internal and intermediate parts, by diffusion of the solvent from the flowing layers of the retentate into the fouling layer. Then, casein micelles are released by the gelled part and the intermediate part

that moving to the external part. Finally, as a result, the accumulation of casein micelles increased in the external part.

These methods of in-situ structural characterization linked to the macroscopic filtration performances will allow to improve the way to conduct filtration operations in industry, in order to reduce the use of chemical products, the amounts of water and energy.

VI.5. Relâchement des dépôts par relaxation de la pression transmembranaire

Il a été vu dans les Chapitres V et VI que par la seule relaxation de la pression transmembranaire, il est possible d'éliminer une partie des dépôts formés durant respectivement les filtrations tangentielle et frontale.

La figure VI.10 schématise les différentes conclusions obtenues dans les deux chapitres. Dans le Chapitre V (Figure VI.10 a), il a été démontré qu'une partie du dépôt gélifié est éliminée suite à la relaxation de la pression transmembranaire mais le mécanisme du relâchement du dépôt reste inconnu. On peut supposer soit qu'une partie du gel a pu se détacher et a pu être éliminée sous l'effet du cisaillement ou alors on peut faire l'hypothèse que le gel se relâche progressivement, libère des micelles de caséine dans la partie solution, permettant alors la diminution de la partie gélifiée. Les expériences entreprises au Chapitre V n'ont donc pas permis de conclure de façon certaine sur le mécanisme de relâchement des dépôts de micelles de caséine formés en filtration tangentielle, lors de la relaxation de la pression transmembranaire.

Néanmoins, en étudiant le relâchement d'un dépôt formé après filtration frontale dans le Chapitre VI (Figure VI.10 b), plus d'informations ont pu être apportées sur ce mécanisme de relâchement. En éliminant l'action de l'érosion par la suppression de l'étape d'écoulement tangentiel, le relâchement du dépôt a pu être suivi au cours du temps. Dans le Chapitre VI, il a alors été démontré que la partie gélifiée du dépôt s'élimine simultanément à la partie liquide et ceci dès le début du relâchement de la pression. Le gel de micelles de caséine se gonfle alors probablement sous l'effet de la retro-diffusion du perméat à travers la membrane et de la diffusion du rétentat à travers les couches gélifiées. Puis la concentration en micelles de caséine transite depuis le domaine où elles sont en phase gel vers le domaine correspondant à la phase sol : les micelles de caséine se regonflent alors et sont redispersées dans la partie liquide du dépôt.

Enfin, en réunissant les conclusions de ces deux chapitres (Figure VI.10 c), il est alors possible de comprendre précisément les mécanismes qui ont lieu durant le relâchement du dépôt de micelles de caséine par relaxation de la pression transmembranaire. Dans un premier temps, dès que la pression transmembranaire est relâchée, le gel de micelles de caséine capte du solvant provenant du côté perméat et du côté rétentat lui permettant de gonfler. Dans un second temps, le gel libère des micelles de caséine quand la concentration de transition gel-sol est dépassée. Enfin, les micelles de caséine libérées sont érodées par le cisaillement dans le cas de la filtration tangentielle.

L'étude de la filtration frontale et particulièrement l'étude de la relaxation de la pression transmembranaire après une étape de filtration frontale a permis de mieux comprendre et déterminer les mécanismes de relâchement des dépôts de micelles de caséine après des phases de filtration (tangentielle et frontale).

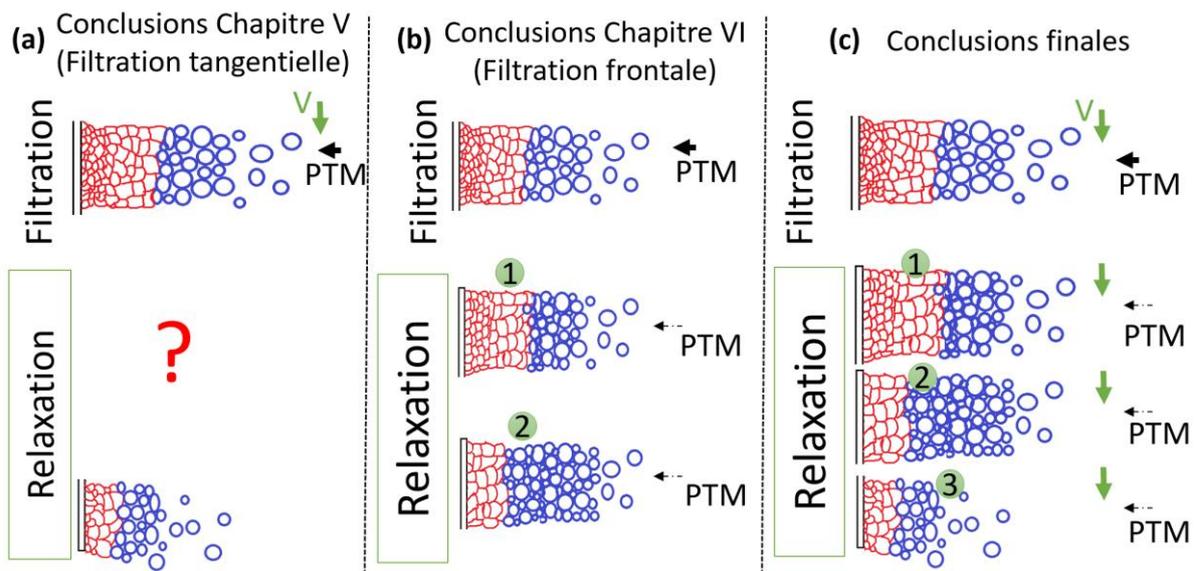


Figure VI.10. Schéma bilan des conclusions des chapitres V (a) et VI (b) et du lien entre les deux chapitres (c). V est l'écoulement tangentiel, PTM est la pression transmembranaire. 1) représente le gonflement de la partie gélifiée; 2) est le relargage et la redispersion des micelles de caséine; 3) schématise l'érosion des micelles de caséine grâce au cisaillement appliqué par l'écoulement tangentiel.

Conclusions générales

La micro et l'ultrafiltration sont des opérations de séparation très largement utilisées en industrie laitière mais elles restent mal maîtrisées notamment du fait de la formation d'un dépôt formé de micelles de caséine qui gélifient sous certaines conditions opératoires (température, pression transmembranaire, vitesse d'écoulement tangentiel). Ces opérations de filtration sont conduites soit à basses températures (7 – 12 °C), soit à hautes températures (48 – 53 °C) suivant le type de membrane utilisé (respectivement organique ou céramique). Afin de mieux maîtriser ces opérations, il est nécessaire de mieux comprendre les propriétés physiques, rhéologiques et cohésives des micelles de caséine au cours de la filtration sous différentes conditions opératoires.

L'objectif de ce projet de thèse était alors de mieux comprendre les propriétés physiques, rhéologiques et cohésives des micelles de caséine accumulées à la surface de la membrane lors de la filtration sous différentes conditions opératoires et plus particulièrement sous l'effet de la température. De nombreuses questions ont été soulevées suite à un état de l'art :

- (i) Quelles sont les propriétés physiques et rhéologiques de dispersions concentrées de micelles de caséine à 7 et 20 °C ?
- (ii) Quelles sont les propriétés cohésives de dispersions de micelles de caséine concentrées à 7 et 20 °C ?
- (iii) Quelles sont les propriétés (concentration, transition sol-gel, cohésion) des dépôts de micelles de caséine formés au cours de la filtration tangentielle ? Est-il possible d'éliminer le dépôt par relaxation de la pression après une filtration tangentielle ? Quel en est le mécanisme ? Quelle est l'influence de différentes conditions opératoires (température, pression transmembranaire, vitesse de l'écoulement tangentiel) sur la formation, les propriétés des dépôts et leur élimination ?
- (iv) De la même manière, quelles sont les propriétés des dépôts de micelles de caséine formés au cours de la filtration frontale ? Est-il possible d'éliminer les dépôts par relaxation de la pression après une filtration frontale ? Quel en est le mécanisme ?

Pour cela, deux axes majeurs ont été adoptés : des expérimentations *ex-situ* permettant de mieux comprendre les propriétés physiques, rhéologiques et cohésives de dispersions de micelles de caséine concentrées à 7 et 20 °C (Chapitres III et IV) ; et des expérimentations *in-situ* permettant de suivre au cours des filtrations tangentielle et frontale la formation, les propriétés (concentration, transition sol-gel et cohésion) et l'élimination du dépôt de micelles de caséine sous différentes conditions opératoires (pour le mode tangentiel seulement) (Chapitres V et VI). Ces deux axes ont permis de répondre aux questions soulevées et les résultats majeurs obtenus dans ce projet de thèse sont les suivants.

Conclusions majeures :

Les gels de micelles de caséine sont moins compressibles à froid (7 et 12 °C) qu'à plus hautes températures (20, 25 et 42 °C) et conduisent à une concentration de transition sol-gel plus faible et une cohésion entre micelles de caséine plus élevée pouvant s'expliquer par des modifications de structure et de composition de la micelle de caséine.

Les dispersions concentrées et les gels de micelles de caséine sont moins compressibles à basse température qu'à haute température.

Il a été montré que les micelles de caséine sont moins facilement compressées à 7 °C qu'à 20 °C (Chapitre III) et à 12 °C comparé à 25 et 42 °C (Chapitre V), i.e. que pour une pression osmotique identique, les concentrations en caséine atteintes dans les sacs de dialyse ou dans le dépôt de micelles de caséine sont plus faibles à basses températures qu'à hautes températures. Ce changement de comportement peut s'expliquer par des évolutions de la structure et de l'équilibre des espèces interne-externe des micelles de caséine sous l'effet de la température. C'est par exemple, à basse température, une sortie partielle de la caséine β (estimée autour de 20 % à 7 °C) et du phosphate de calcium ; ou encore l'augmentation de l'hydratation des micelles de caséine et particulièrement de leur voluminosité qui sont principalement responsables de la moindre compressibilité des micelles.

Les dispersions concentrées et les gels de micelles de caséine conduisent à une concentration de transition sol-gel inférieure à basse température, comparé à haute température.

La concentration de transition sol-gel, déterminée par l'analyse des propriétés rhéologiques des micelles de caséine varie sous l'influence de la température. Les dispersions concentrées de micelles de caséine ont une viscosité plus élevée et passent de propriétés rhéofluidifiantes (sol) à des propriétés viscoélastiques (gel) à des concentrations plus basses à 7 qu'à 20 °C (Chapitre III). Expérimentalement, la transition sol-gel a été trouvée autour de 150 g/L à 7 °C et autour de 170 g/L à 20 °C (Chapitre III). De plus, il a été démontré qu'à 7 et 20 °C, il existe une unique valeur de fraction volumique de transition sol-gel égale à environ 0.71 (Chapitre III). En tenant compte des voluminosités qui augmentent quand la température diminue et fournies par la littérature aux différentes températures étudiées (Nöbel *et al.* 2012, 2016), les concentrations en caséine de transition sol-gel peuvent être calculées : 146 g/L à 7 °C, 157 g/L à 12 °C, 174 g/L à 20 °C, 182 g/L à 25 °C et 189 g/L à 42 °C. En utilisant ces valeurs théoriques de transition sol-gel, il a été trouvé des couches gélifiées plus épaisses à 12 °C qu'à 25 °C (Chapitre V). Ces modifications de comportement rhéologique des micelles de caséine (incluant leur transition sol-gel) sont régies par l'encombrement des particules. La voluminosité des micelles de caséine et donc leur encombrement augmente lorsque la température diminue ce qui explique la concentration de transition sol-gel plus faible et des dépôts gélifiés à la surface de la membrane plus épais.

Les dispersions concentrées et les gels de micelles de caséine sont plus cohésifs à basse température qu'à haute température.

Nos travaux ont clairement montré que les gels de micelles de caséine, formés *ex-situ*, sont plus cohésifs à 7 °C qu'à 20 °C (Chapitre IV) et que les dépôts de micelles de caséine formés *in-situ* lors de la filtration tangentielle sont plus cohésifs à 12 °C qu'à 25 °C et qu'à 42 °C (Chapitre V). Cette cohésion plus forte peut être attribuée à un nombre plus élevé de liaisons cohésives ou des liaisons cohésives plus fortes, et elles se forment à basse température du fait probablement de la modification structurale de la micelle : migration de la caséine β et des phosphates de calcium du cœur de la micelle de caséine vers l'extérieur lorsque la température diminue. Le mécanisme qui explique cette plus forte cohésion n'a pas été élucidé et reste à investiguer.

Le relâchement des interactions cohésives entre micelles de caséine est plus 'difficile' à basse température qu'à haute température.

Nos travaux ont également montré que les gels de micelles de caséine formés sont systématiquement plus difficilement à éliminer à 7 °C qu'à 20 °C (Chapitre IV). Cette tendance semble confirmée avec les dépôts de micelles de caséine formés après la filtration tangentielle qui sont plus difficilement éliminés à 12 °C qu'à 25 °C et qu'à 42 °C (Chapitre V), mais dans ce cas les températures de formation des gels n'étant pas similaires pour les différentes conditions, la conclusion est davantage sujette à discussion. Ces résultats peuvent être attribués à un nombre plus grand d'interactions cohésives ou à une intensité plus forte des interactions. La nature même de ces interactions n'a pas été élucidée, mais la plus faible mobilité moléculaire n'est vraisemblablement pas à incriminer car les phénomènes observés l'ont été sur des jours entiers d'expérimentation.

Le relâchement et l'élimination d'une partie du dépôt de micelles de caséine est possible lors de la relaxation de la pression après une phase de filtration sans arrêter l'opération et sans utiliser de nettoyage chimique.

Il a été montré que la relaxation de la pression transmembranaire à 0 Pa après une phase de filtration frontale permet le regonflement du dépôt (Chapitre VI) en plusieurs étapes :

- La partie gélifiée du dépôt, au voisinage de la membrane, regonfle. Les micelles de caséine et le gel regonflent alors (Bouchoux *et al.* 2009a ; Qu *et al.* 2015; Chapitre IV), libérant des micelles de caséine dans la couche concentrée.
- La partie 'externe' du dépôt, coté dépôt gélifié augmente en concentration, du fait du relâchement des micelles de caséine libérées par le gel ; la partie 'externe' du dépôt, côté veine liquide quant à elle se redispense par diffusion de solvant de la veine liquide dans la couche concentrée.

Le regonflement du dépôt durant la phase de relaxation permet donc de redisperser les gels, i.e. d'éliminer une partie du dépôt gélifié et de libérer les micelles de caséine du gel. Cependant, en l'absence d'agitation ou d'écoulement tangentiel, la couche concentrée et le dépôt gélifié restent accumulés à la surface de la membrane.

Après une phase de filtration tangentielle, la relaxation de la pression transmembranaire à 10 kPa, avec maintien de la vitesse d'écoulement tangentielle, permet également le regonflement du dépôt, comme observé en filtration frontale, mais avec une élimination d'une partie du dépôt sous l'effet de l'érosion (Chapitre V). Le regonflement du dépôt semble suivre le même mécanisme de regonflement de la partie gélifiée et à la redispersion des micelles de caséine.

Retombées des travaux :

Les résultats de ce projet de thèse permettent de suggérer plusieurs pistes de réflexion pour adapter la conduite de la filtration.

Cycles successifs de Filtration puis Relaxation de la pression

Les résultats de filtration (Chapitres V et VI) ont montré qu'une étape de relaxation de 45 min de la pression après une phase de filtration de 2h30 pouvait réduire jusqu'à 50 % le dépôt total initial. Il pourrait être alors intéressant de mettre en place des cycles successifs de filtration puis de relaxation (voire de rétro-filtration forcée) permettant après un temps donné de filtration de relâcher et redisperser une partie du dépôt afin de limiter la formation du gel cohésif et de limiter l'arrêt du procédé et le nettoyage chimique de l'installation à son strict minimum (raisons hygiéniques). Cela permettrait d'adopter une conduite plus respectueuse de l'environnement.

Des cycles successifs de filtration puis relaxation de la pression à haute température

Si l'on assimile la filtration du lait à celle des micelles de caséines, les conclusions de ce travail montrent que la filtration à haute température est préférable :

- - Flux de perméation et productivité plus élevée, ce qui était attendu.
- Formation de dépôts de micelles de caséine moins cohésifs à haute température. Travailler en filtration à haute température permettrait alors de former des dépôts de faible cohésion qui seraient alors plus facilement éliminés.
- Redispersions et regonflements facilités à haute température. Travailler à haute température permettrait lors des phases de relaxation, durant les cycles successifs, de redisperser et regonfler plus facilement les dépôts de micelles de caséine.

Perspectives de ces travaux :

Ces travaux mettent en évidence des résultats originaux sans avoir pu apporter toutes les explications nécessaires. Des travaux complémentaires pourraient être réalisés.

Expérimentations supplémentaires à d'autres températures

Les résultats de ce projet de thèse ont montré des différences des propriétés physiques, rhéologiques et cohésives des micelles de caséine en milieu dense de manière *ex-situ* à 7 et 20 °C. Il serait intéressant d'avoir des résultats à d'autres températures intermédiaires mais particulièrement à des températures beaucoup plus hautes que 20 °C. Lors de ce projet de thèse des essais avec les mêmes protocoles qu'à 7 et 20 °C avaient été mis en place et effectués. Cependant, les durées de compression très longues ne permettaient pas d'obtenir des dispersions de micelles de caséine viables à haute température car elles étaient dégradées du fait de ce long temps à haute température (réaction de Maillard).

Les résultats complémentaires du Chapitre III ont montré qu'il serait intéressant d'effectuer des mesures des propriétés rhéologiques à d'autres températures que les températures de fabrication afin d'éliminer l'effet de la température de la mesure et d'avoir seulement l'effet de la température de compression.

Enfin, des essais supplémentaires en SAXS à d'autres températures intermédiaires sont nécessaires afin de valider les résultats obtenus et mieux comprendre pourquoi un optimum de propriétés du dépôt (faible accumulation de matière et faible épaisseur du gel) est trouvé à 25 °C.

Cohésion de gels de micelles de caséine à des temps de compression osmotique plus courts

Les résultats supplémentaires du Chapitre IV ont montré qu'il serait intéressant d'utiliser la compression osmotique sur des temps courts pour se rapprocher des temps de filtration. Cependant plus d'investigations sont nécessaires afin d'optimiser le protocole mis en place, et s'assurer de l'équilibre des données obtenues.

Structure des dépôts via SAXS en filtration

La technique SAXS est un outil puissant afin d'étudier la structure des micelles de caséine et leur structure interne a notamment été étudiée grâce à cet outil. Obtenir des informations sur les structures des dépôts de micelles de caséine lors des mesures *in-situ* pendant la filtration, i.e. les interactions que peuvent avoir les micelles de caséine entre elles, les modifications des tailles des micelles, des informations sur les coefficients de diffusion collectif, ... serait une avancée importante. Des essais au synchrotron ESRF à Grenoble durant ce projet de thèse ont été mis en place dans ce sens. Cependant la précision de la mesure n'était pas assez bonne pour accéder à ces niveaux de structure et aucune information n'a pu en être tirée. Des travaux sont en cours à l'ESRF pour améliorer les niveaux de précision, et il pourrait alors être possible avec cette nouvelle précision d'accéder à la structure du dépôt et aux interactions entre micelles de caséine.

Modèle de prédiction du gonflement et de l'élimination du dépôt en filtration tangentielle

Afin de mieux maîtriser le regonflement et la redispersion du dépôt, il serait intéressant d'élaborer un modèle de prédiction d'une même manière similaire à ce qui a été fait en filtration frontale mais cette fois-ci en filtration tangentielle afin de tenir compte de la vitesse d'écoulement tangentiel qui est présente et érode au fur et à mesure les micelles de caséine redispersées.

Conditions optimales des cycles successifs de Filtration puis Relaxation de la pression

Afin d'adopter une conduite de la filtration plus respectueuse de l'environnement, des cycles successifs de filtration puis de relaxation de la pression ont été proposés, préférentiellement à haute température. Tout un travail de détermination de conditions opératoires, de temps de chaque phase et d'optimisation de tels cycles est à réaliser avant de pouvoir mettre un tel protocole en place.

Liste de publications issues de cette thèse

1) Articles

Doudières, F., Arsène, A-S., Garnier-Lambrouin, F., Famelart, M-H., Bouchoux, A., Pignon, F., Gésan-Guiziou, G. (2019) Major role of voluminosity in the compressibility and sol-gel transition of casein micelle dispersions concentrated at 7 °C and 20 °C. *Foods*, 8(12), 652.

<https://doi.org/10.3390/foods8120652>

Loginov, M., Doudières, F., Hengl, N., Pignon, F., Gésan-Guiziou, G. (2020) Influence of membrane resistance on swelling and removal of colloidal filter cake after filtration pressure release. *Journal of Membrane Science*, 595, 117498.

<https://doi.org/10.1016/j.memsci.2019.117498>

Doudières, F., Bouchoux, A., Gésan-Guiziou, G. Changes of cohesive properties of concentrated casein micelle dispersions at 7 °C and 20 °C. *To be submitted to Food Hydrocolloids*.

Doudières, F., Loginov, M., Hengl, N., Perez, J., Pignon, F., Gésan-Guiziou, G. Influence of processing temperature on casein micelles accumulated layers at the membrane surface during crossflow ultrafiltration probed by SAXS: build-up and relaxation phenomena. *To be submitted to Journal of Membrane Science*.

2) Communications orales

Doudières, F., Arsène, A-S., Famelart, M-H., Garnier-Lambrouin, F., Bouchoux, A., Pignon, F., Gésan-Guiziou, G. Effet de la température sur les interactions et le comportement rhéologique de dispersions de micelles de caséine concentrées. 54^{ème} Congrès du GFR (Groupe Français de Rhéologie), 23-25 Octobre 2019, Montpellier, France.

Doudières, F., Garnier-Lambrouin, F., Bouchoux, A., Loginov, M., Pignon, F., Gésan-Guiziou, G. Impact of low temperature on interactions and cohesiveness of casein micelles dispersions. EuroFoodChem XX, 17-19 Juin 2019, Porto, Portugal.

Doudières, F., Loginov, M., Hengl, N., Pignon, F., Leconte, N., Garnier-Lambrouin, F., Pérez, J., Granger-Delacroix, M., Belna, M., Gésan-Guiziou, G. Small-Angle X-Ray Scattering (SAXS) analyses of build-up, relaxation and erosion of casein micelles fouling layer during cross-flow ultrafiltration. Fluid Particle Separation, 15-17 Octobre 2018, Lyon, France.

Doudières, F., Loginov, M., Garnier-Lambrouin, F., Leconte, N. Sharpnack, L., Pignon F., Gésan-Guiziou, G. Structural organization of casein micelles in concentrated layer during cross-flow ultrafiltration. Fouling and Cleaning in Food Processing, 17-20 Avril 2018, Lund, Suède.

3) Poster

Doudiès, F., Loginov, M., Gésan-Guiziou, G. Gonflement et élimination du dépôt après filtration: impact de la résistance hydraulique de la membrane. 17^{ème} édition du congrès SFGP (Société Française de Génie des procédés), 15-17 Octobre 2019, Nantes, France.

Doudiès, F., Loginov, M., Garnier-Lambrouin, F., Leconte, N. Sharpnack, L., Hengl, N., Pignon F., Gésan-Guiziou, G. Understanding of casein micelles concentrated layer properties during cross-flow ultrafiltration by *in-situ* Small Angle X-ray Scattering (SAXS). Journées scientifiques de l'école doctorale EGAAL (Ecologie, Géosciences, Agronomie et ALimentation), 04-05 Juillet 2019, Rennes, France.

Doudiès, F. Understanding properties of casein micelles concentrated layers during cross-flow filtration. STLOpen days, 19-21 Mars 2019, Rennes, France.

Doudiès, F., Loginov, M., Garnier-Lambrouin, F., Leconte, N. Sharpnack, L., Hengl, N., Pignon F., Gésan-Guiziou, G. Understanding of casein micelles concentrated layer properties during cross-flow ultrafiltration by *in-situ* Small Angle X-ray Scattering (SAXS). Euromembrane, 09-13 Juillet 2018, Valence, Espagne.

4) Supervision de stage

Supervision d'Anne-Sophie Arsène en stage ingénieur de fin d'étude (INSA Rouen et ENSCL), du 4 mars au 31 août 2019. Elle a travaillé sur un projet de stage intitulé « Propriétés colloïdales et comportement rhéologique de suspensions de micelles de caséine à froid » qui a constitué une partie des résultats obtenus en Chapitre III et les résultats supplémentaires du Chapitre IV.

Liste des Figures et Tables

Figures

Figure 1. Représentation schématique de l'accumulation des micelles de caséine à la surface de la membrane durant la microfiltration tangentielle 0.1 μm de lait écrémé ; PTM : Pression Transmembranaire, τ_w : contrainte de cisaillement à la membrane.15

Figure I.1. Equilibre des minéraux entre les phases aqueuse et micellaire (adapté de Gaucheron, (2005) avec une représentation schématique de la micelle de caséine issue de Holt et Horne (1996). Les concentrations des différentes associations de minéraux sont indiquées en mM à pH 6.7 et température ambiante.24

Figure I.2. Image d'une micelle de caséine sous « Scanning Electron Microscopy (SEM) » (Dalgleish *et al.* 2004)27

Figure I.3. (a) Courbes de diffusion de rayons X aux petits angles de différentes suspensions de micelles de caséines. (Promilk 852 B dans de l'ultrafiltrat, *Low Heat *PPCN et #Lait écrémé cru). T = 25 °C ; (b) Micelles de caséine de lait écrémé cru observée par cryo-microscopie électronique à transmission (Marchin *et al.* 2007).....29

Figure I.4. Représentation schématique d'une coupe transversale d'une micelle de caséine selon le modèle éponge (Bouchoux *et al.* 2010)30

Figure I.5. Profil SAXS d'une dispersion de micelles de caséine dans du perméat d'ultrafiltration concentrée à 25 g/L (Bouchoux *et al.* 2010). Gris = micelles de caséine ; noir = régions dures ; orange = nanoclusters de phosphate de calcium.30

Figure I.6. Représentation schématique d'un profil SAXS de lait écrémé et des 4 niveaux de contributions des différents composants de la micelle de caséine. Adapté du travail d'Ingham *et al.* (2016).31

Figure I.7. Représentation schématique d'une opération de séparation par membrane.34

Figure I.8. Classification des opérations de séparations membranaires selon la taille des pores et des particules traitées.34

Figure I.9. Modes de filtration a) frontal et b) tangentiel. ΔP est la pression transmembranaire et τ_w est la contrainte de cisaillement à la paroi.36

Figure I.10. Courbes typiques de filtration : (a) évolution du flux de perméation J en fonction du temps à une pression transmembranaire (PTM) fixée, (b) évolution du flux de perméation en fonction de la pression transmembranaire.37

Figure I.11. Polarisation de la concentration : profil de concentration à l'intérieur de la couche de polarisation de concentration38

Figure I.12. Formation d'un dépôt avec une partie gélifiée : évolution de la pression de solide π dans le dépôt (adapté de Bacchin (2007))40

Figure I.13. Schéma-décrivant l'état de l'art sur la filtration de lait et les problématiques abordées durant ce projet de thèse. Les micelles de caséine sont schématisées en bleu et sphériques lorsqu'elles ne sont pas déformées et libres et en rouge lorsqu'elles sont sous état gélifié et qu'elles sont déformées.44

Figure II.1. Distribution de taille mesurée à 20 °C des objets dans les dispersions de micelles de caséine préparées à quatre concentrations différentes.....	52
Figure II.2. Représentation schématique du principe de la compression osmotique (schéma non à l'échelle). V1 et V2 représentent respectivement les volumes du sac et du bécher. π_{sac} et π_{PEG} sont respectivement les pressions osmotiques du sac et du polymère stresseur, le polyéthylène glycol (PEG).	54
Figure II.3. Pression osmotique en fonction de la concentration en PEG 20 kDa. Les données expérimentales de Rand (n.d.) fournies sur internet (symboles) sont modélisées par l'équation Eq.II.5 (courbes).	56
Figure II.4. Présentation de la mesure des propriétés rhéologiques par (a) la schématisation d'une géométrie cône-plan et par (b) la photo de l'équipement.	58
Figure II.5. Exemple de courbe de la contrainte en fonction du temps pour un gradient de cisaillement fixé.....	59
Figure II.6. Représentation schématique du principe de réversibilité d'un gel fabriqué par compression osmotique à une pression osmotique donnée π pendant 4 semaines à une température fixée T (pour rappel soit T1 ou T2, i.e. soit 7°C soit 20°C) ; Les sacs de dialyse sont transférés dans des flacons à la même pression osmotique π pendant 24h à T1 et à T2.	63
Figure II.7. Représentation schématique du principe des expériences de cohésion d'un gel fabriqué à deux températures (7 ou 20°C). La redispersion d'un gel fabriqué à une température fixée est dans une seconde étape effectuée aux deux températures d'étude (7 et 20°C).	64
Figure II.8. Représentation schématique du principe de redispersion d'un gel fabriqué à une température fixée T (pour rappel soit 7°C soit 20°C) ; des morceaux de ce gel étaient prélevés et plongés dans du perméat d'ultrafiltration (PUF) à deux températures différentes (7 et 20°C). Chaque morceau de gel était redispersé pendant plusieurs durées de redispersions t1, ..., ti. Le schéma n'est pas à l'échelle : la masse de gel est beaucoup plus petite que celle du PUF, dans une proportion 1/200.....	65
Figure II.9. (a) Représentation schématique du principe de réversibilité des dispersions de micelles de caséine. Un sac de dialyse contenant des micelles de caséine est en étape 1 équilibré pendant 1 semaine à une température T (soit 7 °C soit 20 °C) et à une pression osmotique initiale $\pi_{i,T}$ sans remplissage du sac ; ce sac est ensuite transféré, en étape 2 à une pression osmotique π élevée, à la même température, durant différentes durées de compression, d. Enfin après la fin de compression, le sac est transféré à la pression osmotique initiale de 20°C pendant 72 h (Etape 3). (b) Le protocole expérimental est illustré pour les trois étapes sur la courbe d'état des micelles de caséine à 20 °C. ...	67
Figure II.10. Cellule de filtration couplée au SAXS (a) Schéma adapté de Jin <i>et al.</i> (2014b); (b) Photo prise sur la ligne SAXS au synchrotron SOLEIL (Source Optimisée de Lumière d'Énergie Intermédiaire du LURE) de Gif sur Yvette sur la ligne SWING (Small and Wide angle X-ray scattering).	69
Figure II. 11. Installation de filtration a) schéma de principe adapté de Jin <i>et al.</i> (2014b); b) photo au laboratoire STLO ; (c) photo dans la cabine SAXS de la ligne SWING au synchrotron SOLEIL.	70
Figure II.12. Représentation schématique des protocoles de (a) filtration tangentielle en trois étapes et de (b) filtration frontale en deux étapes.....	72
Figure II.13. Représentation schématique d'une diffusion élastique (adapté de Jin (2014)).	73

Figure II.14. Exemple du placement de la position de la membrane avec une vue de côté schématique de la cellule de filtration. Evolution de l'intensité transmise du signal de rayons X (It rond noir vide et trait plein noir) en fonction de la distance à la membrane z à travers la cellule de filtration. Evolution de la dérivée de l'intensité transmise par rapport à la distance à la membrane en fonction de la distance à la membrane (dI/dz triangle bleu vide et tirets bleu). Les zones Z1, Z2, Z3 et Z4 correspondent respectivement aux intensités transmises par la cellule en polycarbonate, la membrane, le PUF affectée par l'adsorption de la membrane et le PUF du compartiment rétentat. .75

Figure II.15. Spectres 2D relevé à différentes positions z dans les couches concentrées de micelles de caséines représentées schématiquement.76

Figure II.16 : Courbe de calibration de l'intensité I des micelles de caséines mesurée à 25 °C. Les intensités diffusées sont normalisées par l'épaisseur du contenant (mm^{-1}). La courbe en pointillés correspond à l'équation Eq.II.14 ($R^2 = 0.999$). Cette courbe de calibration a été vérifiée à 12 et 42 °C (données non montrées).77

Figure II.17 : Courbe de l'intensité $I(q)$ (symboles ronds noirs) et en représentation de Kratky ($q^2 I(q)$) (symboles triangles rouges) d'une dispersion de micelles de caséines à la concentration $[\text{Cas}] = 27.5 \text{ g/L}$ ($T = 25^\circ\text{C}$). Choix du vecteur d'onde $q = 1 \text{ nm}^{-1}$ pour la courbe de calibration.77

Figure II.18 : Représentation schématique du calcul de la masse accumulée de micelles de caséines via un profil de concentration à 25 °C à un temps t donné. $[\text{Cas}]_i / z_i$ et $[\text{Cas}]_{i+1} / z_{i+1}$ sont les concentrations et distances à la membrane des deux points expérimentaux délimitant l'aire sous la courbe A_i80

Figure II.19 : Représentation schématique de la détermination de l'épaisseur du gel du dépôt formé via un profil de concentration à 25 °C à un temps t donné. $[\text{Cas}]_i / z_i$ et $[\text{Cas}]_{i+1} / z_{i+1}$ sont les concentrations et distances à la membrane des deux points expérimentaux entourant la transition sol-gel théorique à 25 °C à 182 g/L. e est l'épaisseur de gel théorique.81

Figure II.20. Evolution de la concentration des caséines en fonction de l'absorbance à longueur d'onde 595 nm des dispersions de micelles de caséine. La courbe correspond à l'équation Eq.II.25. .82

Figure III.1. Osmotic pressure versus concentration of PEG 20 kDa. Experimental results of Rand website (Rand (n.d.)) (symbols) and least square fits with the help of Eq.III.2 (curves).94

Figure III.2. Osmotic pressure of casein micelle dispersions in UF permeate as a function of casein concentration at 20 °C. Results of the current work with casein isolate powder obtained from pasteurized milk (open circles); results of Bouchoux *et al.* (2009a) recalculated with Eq.III.2 for native (non-pasteurized) casein isolate (called Native PhosphoCaseinate, NPC) (solid squares); results of Bouchoux *et al.* (2014) recalculated with Eq.III.2 for non-pasteurized NPC (solid diamonds).97

Figure III.3. Osmotic pressure π of casein micelle dispersions in UF permeate at 7°C (solid triangles) and at 20°C (open circles) as a function of casein concentration (in g/L), vertical lines correspond roughly to changes of slope at 7 °C (solid line) and 20 °C (dashed line). Insert details high-concentration regions in linear coordinates.98

Figure III.4. Flow curves of casein micelle dispersions in UF permeate at (a) 7 °C and (b) 20 °C. Dashed lines correspond to power law fitting with Eq.III.8 and solid lines correspond to Herschel-Bulkley law fitting with Eq.III.9. The rheometric measurements were performed at the same temperature as the one for fabrication of casein micelle dispersions, respectively at 7 and at 20 °C.99

Figure III.5. Shear rate dependence of relative viscosity for casein micelle dispersions in UF permeate at 7 °C (solid symbols) and at 20 °C (open symbols). Casein dispersions concentrations $[\text{Cas}]_{\text{g/L}}$ are

shown near the curves. The curves serve as a guide to the eye. The rheometric measurements were performed at the same temperature as the one for fabrication of casein micelle dispersions, respectively at 7 and at 20 °C.100

Figure III.6. Consistency K (solid red curves) and shear thinning index n (dashed blue curves) as a function of casein concentration at 20 ± 3 °C obtained in this work (open circles), by Bouchoux *et al.* (2009b) (solid squares) and Jin *et al.* (2014b) (solid diamonds). The curves serve as guides to the eye. (For interpretation of the references to color in this figure, the reader is referred to the web version of this article).101

Figure III.7. Consistency K (solid red curves) and shear thinning index n (dashed blue curves) at equilibrium conditioning temperature of 7 °C (solid triangles) and 20 °C (open circles) as a function of (a) casein concentration and (b) casein effective volume fraction. The curves serve as guides to the eye. Insert details derivative of K and n within the concentration. (For interpretation of the references to color in this figure, the reader is referred to the web version of this article).102

Figure III.8. Frequency dependence of the elastic G' (solid symbols) and loss G'' (open symbols) moduli for casein micelle dispersions in UF permeate at different casein concentrations at equilibrium conditioning temperature of (a) 7 °C and at (b) 20 °C. Casein dispersions concentrations $[Cas]_{g/L}$ are shown near the curves.103

Figure III.9. The low-frequency ($f = 0.1$ Hz, squares) and high - frequency ($f = 10$ Hz, diamonds) elastic moduli of casein micelle dispersions in UF permeate as a function of casein concentration at 20 °C. Results of this work (open symbols) are compared to literature (solid symbols) (Bouchoux *et al.* 2009b). Dashed line corresponds to sol-gel transition concentration at $[Cas] = 174$ g/L. Solid line corresponds to sol-gel transition concentration at $[Cas] = 178$ g/L. The dotted curves serve as guides to the eye.104

Figure III.10. The low-frequency ($f = 0.1$ Hz, squares) and high-frequency ($f = 10$ Hz, diamonds) elastic G' modulus of casein micelle dispersions in UF permeate at equilibrium conditioning temperature of 7 °C (solid symbols) and at 20 °C (open symbols) as (a) a function of casein concentration. Vertical lines correspond to sol-gel transition concentration of $C = 150$ g/L at 7 °C (solid line) and $C = 174$ g/L at 20 °C (dashed line); (b) a function of effective volume fraction. Solid line corresponds to $\phi_{eff\ max} = 0.71$. The solid and dotted curves serve as guides to the eye.105

Figure III.11. Osmotic pressure of casein micelle dispersions in UF permeate as a function of casein concentration at 7 °C (solid triangles) and at 20 °C (open circles and solid line) and the predictions of van't Hoff law in the dilute regime. The osmotic pressures were calculated through Eq.III.10, using the estimated number concentrations of: experimental osmotic pressure at 20 °C and β -casein release estimated to 20% of total β -casein (dashed line) and experimental osmotic pressure at 20 °C and β -casein release estimated to 40% of total β -casein (dotted line).107

Figure III.12. Relative viscosity at low shear ($0.1\ s^{-1}$) of casein micelle dispersions in UF permeate at 7 °C (solid triangles) and at 20 °C (open circles) as a function of (a) casein concentration and (b) effective volume fraction. The solid and dashed lines are calculated through the Quemada's equation, Eq.III.11, with $\phi_{eff\ max} = 0.71$ at 7 °C and 20 °C respectively.108

Figure III.13. Shear rate dependence of relative viscosity for casein micelle dispersions in UF permeate produced at (a) 20 °C and after 24 h at 20 °C; (a) 20 °C and after 24 h at 7 °C; (a) 7 °C and after 24 h at 20 °C; (a) 7 °C and after 24 h at 7 °C. Casein dispersions concentrations $[Cas]_{g/L}$ are shown near the curves. The curves serve as a guide to the eye.111

Figure III.14. Relative viscosity at low shear (0.1 s^{-1}) of casein micelle dispersions in UF permeate at $7^\circ\text{C} - 7^\circ\text{C}$ (solid triangles and solid line), at $20^\circ\text{C} - 20^\circ\text{C}$ (open circles and solid line), at $7^\circ\text{C} - 20^\circ\text{C}$ (solid triangles and dashed line) and at $20^\circ\text{C} - 7^\circ\text{C}$ (open circles and dashed line) as a function of casein concentration. 112

Figure III.15. The low-frequency ($f = 0.1 \text{ Hz}$, squares) and high-frequency ($f = 10 \text{ Hz}$, diamonds) elastic G' modulus of casein micelle dispersions in UF permeate produced at (a) 20°C and after 24 h at 20°C ; (a) 20°C and after 24 h at 7°C ; (a) 7°C and after 24 h at 20°C ; (a) 7°C and after 24 h at 7°C as a function of casein concentration. Vertical lines correspond to sol-gel transition concentration. The solid and dashed curves serve as guides to the eye. 113

Figure IV.1. Redispersion rates (R) measured from cohesion tests performed with gels prepared (a) at 20°C and redispersed at 20°C ; (b) at 20°C and redispersed at 7°C ; (c) at 7°C and redispersed at 20°C and (d) at 7°C and redispersed at 7°C . The results are plotted as a function of the initial casein concentration in the gels (cf. Table IV.2) and for the five different redispersion times investigated. The redispersion time "4 h" has only been investigated for (a) and (d). The curves serve as a guide to the eye. 127

Figure IV.2. Comparison of the redispersion rate in function of the redispersion time for three gels prepared (a) at low compression degree with casein concentration $[\text{Cas}] = 202 \pm 17 \text{ g/L}$; (b) at medium compression degree with casein concentration $[\text{Cas}] = 295 \pm 21 \text{ g/L}$ and (c) at high compression degree with casein concentration $[\text{Cas}] = 448 \pm 13 \text{ g/L}$. Temperature process were presented with first the gel production temperature and then the gel redispersion temperature (for example $20^\circ\text{C}/20^\circ\text{C}$ means a gel produced at 20°C and redispersed at 20°C). The curves serve as a guide to the eye. 129

Figure IV.3. Nature of redispersed objects after 240 h of redispersion of the gels prepared at a medium compression degree with casein concentration of $[\text{Cas}] = 295 \pm 21 \text{ g/L}$. Turbidity-wavelength relations (a) and size distributions (b) as measured in the supernatants. The results are compared with those obtained with casein micelle dispersion concentrated at 2 g/L and prepared at 20°C . The straight lines in Figure IV.3a have slope ~ -2.8 . The curves in Figure IV.3b serve as a guide to the eye. 131

Figure IV.4. The hydration of residual gels measured from residual gels after cohesion test with gels prepared (a) at 20°C and redispersed at 20°C ; (b) at 20°C and redispersed at 7°C ; (c) at 7°C and redispersed at 20°C and (d) at 7°C and redispersed at 7°C . The results are plotted as a function of the initial casein concentration in the gels (cf. Table IV.2) and for the five different redispersion times investigated. Time '0 h' corresponds to the initial gel of casein micelle before redispersion. The redispersion time "4 h" has only been investigated for (a) and (d). The curves serve as a guide to the eye. The horizontal lines correspond to the reference water content in a single, individual casein micelle as determined in section IV.2.3, equal to 4.1 and 3.4 g/g when gels were redispersed respectively at 7 and 20°C 132

Figure IV.5. Comparison of the hydration of residual gels in function of the redispersion time of two gels prepared (a) at medium compression degree with casein concentration $[\text{Cas}] = 295 \pm 21 \text{ g/L}$ and (b) at high compression degree with casein concentration $[\text{Cas}] = 448 \pm 13 \text{ g/L}$. The curves serve as a guide to the eye. The gray zones correspond to the reference water content in a single, individual casein micelle as determined in section IV.2.3, equal to 4.1 and 3.4 g/g when gels were redispersed respectively at 7 and 20°C 134

Figure IV.6. Schematic representation of casein micelle gels compressed at three different degrees at 7 °C and 20 °C and re-dispersed in UF permeate at different temperatures (7 and 20 °C). R is the redispersion rate. Casein micelle gels were produced at a volume fraction of (a) 0.90, (b) 1.32 and (c) 1.77. Cohesive interactions are represented by red bonds between casein micelles. The more a cohesive interaction is strong the more the red bond is thick. Water holes are represented by blue zone in the gels during redispersion.....137

Figure IV.7. Osmotic pressure π of casein micelle dispersions in UF permeate osmotic stress at (a) 20°C during 4 weeks (open circles), during 6 h (open triangles), during 72 h (open diamonds) and during 168 h (open squares) and at (b) 7°C during 4 weeks (solid triangles), during 6 h (open circles), during 72 h (open diamonds) and during 168 h (open squares) as a function of casein concentration (in g/L)140

Figure IV.8. The hydration of casein micelle dispersions after osmotic stress with gels prepared at 20 °C and 7 °C during various osmotic stress duration as a function of casein concentration of compressed dispersions. Aspect of dispersion for each osmotic stress duration is indicated on the graph.141

Figure IV.9. Comparison of (a) reversibility of casein micelle dispersions produced at 7 °C (solid symbols) and 20 °C (open symbols) during 72 h (squares) and 168 h (diamonds) and after reversibility step of 72 h at 20 °C and (b) hydration of casein micelle dispersions produced at 7 °C (solid symbols) and 20 °C (open symbols) during 72 h (squares) and 168 h (diamonds) and after reversibility of 72 h at 20 °C as a function of casein concentration in dispersions after compression. Initial hydration (after compression) is represented in red.142

Figure V.1. SAXS crossflow filtration cell during *in-situ* SAXS measurement.151

Figure V.2. Scheme of filtration protocol performed during the runs with first a filtration step, a pressure relaxation step and an erosion step.151

Figure V.3. Scheme of the cell in side view for (a) *in-situ* SAXS measurement and (b) zero membrane determination.153

Figure V.4. Comparison of (a) scattering intensities and (b) Kratky plot representation ($q^2I(q)$) as a function of scattering vectors at the end of filtration step for $\varphi_{\text{eff}} = 0.94 \pm 0.07$ at different temperatures: 12 °C (solid blue triangles), 25 °C (solid green circles) and 42 °C (solid orange squares). $\text{TMP} = 1.1 \times 10^5 \text{ Pa}$ and $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$. (For interpretation of the references to color in this figure, the reader is referred to the web version of this article).158

Figure V.5. Comparison of (a) permeate flux and (b) permeate flux corrected with filtrate viscosity over time during filtration step at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). $\text{TMP} = 1.1 \times 10^5 \text{ Pa}$ and $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$. The curves serve as a guide to the eye.159

Figure V.6. Comparison of hydraulic resistances of the membrane (R_m), (a) of the reversible fouling (R_{rf}) and of the irreversible fouling (R_{if}) at 12, 25 and 42 °C. (b) Only R_m and R_{if} are represented. R_{if} and R_{rf} are obtained after filtration and after relaxation steps respectively.160

Figure V.7. Evolution of casein concentration profiles within the accumulated layer over time during casein micelle filtration. The initial concentration represents the initial state before the filtration. $\text{TMP} = 1.1 \times 10^5 \text{ Pa}$ and $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$. The curves serve as a guide to the eye.161

Figure V.8. Comparison of (a) casein concentration profiles and (b) casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 150 min of filtration at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). The initial concentration represents the initial state before the

filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. TMP = 1.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹. The curves serve as a guide to the eye.....162

Figure V.9. Casein micelles accumulated mass in excess over time during filtration (TMP = 1.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹), pressure relaxation (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹) and then erosion (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 15.6 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹) steps at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). The curves serve as a guide to the eye.....163

Figure V.10. Casein micelles gel thickness over time during filtration (TMP = 1.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹), pressure relaxation (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹) and then erosion (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 15.6 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹) steps at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). The curves serve as a guide to the eye.163

Figure V.11. Evolution of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer over time during casein micelle relaxation pressure step at (a) 12 °C, (b) 25 °C and (c) 42 °C. The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid lines correspond to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹. The curves serve as a guide to the eye. Internal and external parts are represented respectively in blue and orange zones.....166

Figure V.12. Evolution of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer over time during casein micelle relaxation pressure step at (a) 12 °C, (b) 25 °C and (c) 42 °C. The initial concentration represents the initial state before the filtration. TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹. The curves serve as a guide to the eye.167

Figure V.13. Comparison of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 41 min of relaxation pressure step at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹. The curves serve as a guide to the eye.....168

Figure V.14. Casein micelles removed mass over relaxation and erosion time during pressure relaxation (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹) and erosion (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 15.6 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹) steps at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). The curves serve as a guide to the eye.169

Figure V.15. Casein micelles relative gel thickness over relaxation and erosion time during relaxation (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹) and erosion (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 15.6 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹) steps at 12 °C (solid triangles), 25 °C (solid circles) and 42 °C (solid squares). The curves serve as a guide to the eye.169

Figure V.16. Comparison of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 150 min of filtration (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹) (solid symbols and dashed lines), after 41 min of relaxation pressure (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 3.1 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹) step (solid symbols and solid lines) and after 5 – 13 min of erosion (TMP = 0.1×10^5 Pa and $v = 15.6 \times 10^{-2}$ m.s⁻¹) step (open symbols and dotted lines) at (a) 12 °C, (b) 25 °C and (c) 42 °C. The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. The curves serve as a guide to the eye.170

Figure V.17. Scheme of filtration protocol performed during the runs where transmembrane pressure was modified. There was first a filtration step of 150 min at $v = 3.1 \cdot 10^{-2}$ m.s⁻¹, then a pressure relaxation step at $0.1 \cdot 10^5$ Pa at the same crossflow velocity and finally an erosion step where the crossflow velocity was risen at $v = 15.6 \cdot 10^{-2}$ m.s⁻¹, still at $0.1 \cdot 10^5$ Pa during 10 min.173

Figure V.18. Scheme of filtration protocol performed during the runs where crossflow velocity was varied. There was first a filtration step of 150 min at TMP = $1.1 \cdot 10^5$ Pa, then a pressure relaxation step at $0.1 \cdot 10^5$ Pa at the same crossflow velocity and finally an erosion step where the crossflow velocity was risen, still at $0.1 \cdot 10^5$ Pa during 10 min.....173

Figure V.19. Permeate flux over time during filtration step with a transmembrane pressure applied of $1.1 \cdot 10^5$ Pa (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5$ Pa (solid diamonds). $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ 174

Figure V.20. Comparison of resistances of the membrane (R_m), (a) of the reversible fouling (R_{rf}) and of the irreversible fouling (R_{if}) with a transmembrane pressure applied during filtration step of $1.1 \cdot 10^5$ Pa and $0.5 \cdot 10^5$ Pa. (b) Only R_m and R_{if} are represented. R_{if} and R_{rf} are obtained after filtration and after relaxation steps.175

Figure V.21. Casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 150 min of filtration with a transmembrane pressure applied of $1.1 \cdot 10^5$ Pa (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5$ Pa (solid diamonds). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$. The curves serve as a guide to the eye.176

Figure V.22. Casein micelles accumulated mass in excess over time during filtration ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$), pressure relaxation ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) and then erosion ($v = 15.6 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) steps with a transmembrane pressure applied during filtration step of $1.1 \cdot 10^5$ Pa (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5$ Pa (solid diamonds). The curves serve as a guide to the eye.177

Figure V.23. Casein micelles gel thickness over time during filtration ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$), pressure relaxation ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) and then erosion ($v = 15.6 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) steps with a transmembrane pressure applied during filtration step of $1.1 \cdot 10^5$ Pa (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5$ Pa (solid diamonds). The curves serve as a guide to the eye.177

Figure V.24. Evolution of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer over time during casein micelle relaxation pressure step with a transmembrane pressure applied during filtration step of (a) $1.1 \cdot 10^5$ Pa (solid circles) and (b) $0.5 \cdot 10^5$ Pa (solid diamonds). The initial concentration represents the initial state before the filtration. $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$. The curves serve as a guide to the eye.....178

Figure V.25. Comparison of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 41 min of relaxation pressure step with a transmembrane pressure applied during filtration step of $1.1 \cdot 10^5$ Pa (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5$ Pa (solid diamonds). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. $v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$. The curves serve as a guide to the eye.....179

Figure V.26. Casein micelles removed mass over relaxation and erosion time during pressure relaxation ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) and erosion ($v = 15.6 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) steps with a transmembrane pressure applied during filtration step of $1.1 \cdot 10^5$ Pa (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5$ Pa (solid diamonds). The curves serve as a guide to the eye.....180

Figure V.27. Casein micelles gel thickness over relaxation and erosion time during pressure relaxation ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) and erosion ($v = 15.6 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) steps with a transmembrane pressure applied during filtration step of $1.1 \cdot 10^5$ Pa (solid circles) and $0.5 \cdot 10^5$ Pa (solid diamonds). The curves serve as a guide to the eye.....180

Figure V.28. Comparison of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 150 min of filtration ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) (solid symbols and dashed lines), after 40-41 min of

relaxation pressure ($v = 3.1 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) step (solid symbols and solid lines) and after 5 – 7 min of erosion ($v = 15.6 \times 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$) step (open symbols and dotted lines) with a transmembrane pressure applied during filtration step of (a) $1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ and (b) $0.5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$. The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. The curves serve as a guide to the eye.....181

Figure V.29. Permeate flux over time during filtration step with a crossflow velocity applied of $3.1 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid circles) and $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid diamonds). $\text{TMP} = 1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$182

Figure V.30. Comparison of resistances of the membrane (R_m), (a) of the reversible fouling (R_{rf}) and of the irreversible fouling (R_{if}) with a crossflow velocity applied during filtration step of $3.1 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$ and $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$. (b) Only R_m and R_{if} are represented. R_{if} and R_{rf} are obtained after filtration and after relaxation steps.182

Figure V.31. Casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 150 min of filtration with a crossflow velocity applied of $3.1 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$ (solid circles) and $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid diamonds). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. $\text{TMP} = 1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$. The curves serve as a guide to the eye.183

Figure V.32. Casein micelles accumulated mass in excess over time during filtration ($\text{TMP} = 1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$), pressure relaxation ($\text{TMP} = 0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$) and then erosion ($\text{TMP} = 0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$) steps with a crossflow velocity applied of $3.1 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid circles) and $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid diamonds). The curves serve as a guide to the eye.....184

Figure V.33. Evolution of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer over time during casein micelle relaxation pressure step with a crossflow velocity applied during filtration step of (a) $3.1 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$ (solid circles) and (b) $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid diamonds). The initial concentration represents the initial state before the filtration. $\text{TMP} = 0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$. The curves serve as a guide to the eye.....185

Figure V.34. Comparison of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 41 min of relaxation pressure step with a crossflow velocity applied during filtration step of (a) $3.1 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid circles) and (b) $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid diamonds). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. $\text{TMP} = 0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$. The curves serve as a guide to the eye.185

Figure V.35. Casein micelles removed mass over relaxation and erosion time during pressure relaxation and erosion steps with a crossflow velocity applied of $3.1 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid circles) and $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid diamonds). $\text{TMP} = 0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$. The curves serve as a guide to the eye.186

Figure V.36. Comparison of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 150 min of filtration ($\text{TMP} = 1.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$) (solid symbols and dashed lines), after 40-41 min of relaxation pressure ($\text{TMP} = 0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$) step (solid symbols and solid lines) and after 5 – 7 min of erosion ($\text{TMP} = 0.1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$) step (open symbols and dotted lines) with a crossflow velocity applied during filtration step of (a) $3.1 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$ (solid circles) and (b) $15.6 \cdot 10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$ (solid diamonds). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. The curves serve as a guide to the eye.187

Figure VI.1. SAXS crossflow filtration cell in a scheme with the three windows represented (adapted from Jin *et al.* (2014b)).194

Figure VI.2. Scheme of filtration protocol performed during the runs with first a filtration step and then a pressure relaxation step. 194

Figure VI.3. Evolution of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer over time during casein micelle frontal filtration (a) in the middle window and (b) in the outlet window. The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid lines correspond to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. TMP = 1.10^5 Pa. The curves serve as a guide to the eye. 195

Figure VI.4. Casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 160 min of frontal filtration in the middle window (solid squares) and in the outlet window (open circles). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. TMP = 1.10^5 Pa. The curves serve as a guide to the eye. 196

Figure VI.5. Casein micelles accumulated mass in excess over time during frontal filtration (TMP = 1.10^5 Pa) step and then pressure relaxation (TMP = 0 Pa) step in the middle window. The curves serve as a guide to the eye. 197

Figure VI.6. Casein micelles gel thickness over time during frontal filtration (TMP = 1.10^5 Pa) step and then pressure relaxation (TMP = 0 Pa) step in the middle window. The curves serve as a guide to the eye. 197

Figure VI.7. Evolution of casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer over time during casein micelle relaxation pressure step (a) in the middle window and (b) in the outlet window. The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid lines correspond to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. TMP = 0 Pa. The curves serve as a guide to the eye. Arrows indicate the evolution of the profiles over relaxation time. 198

Figure VI.8. Casein effective volume fraction profiles within the accumulated layer after 120 min of pressure relaxation step in the middle window (solid squares) and in the outlet window (open circles). The initial concentration represents the initial state before the filtration. Solid line corresponds to sol – gel transition at $\phi_{\text{eff max}} = 0.71$. TMP = 0 Pa. The curves serve as a guide to the eye. 199

Figure VI.9. Casein micelles relative gel thickness over relaxation time during pressure relaxation step in the middle window. TMP = 0 Pa. The curves serve as a guide to the eye. 200

Figure VI.10. Schéma bilan des conclusions des chapitres V (a) et VI (b) et du lien entre les deux chapitres (c). V est l'écoulement tangentiel, PTM est la pression transmembranaire. 1) représente le gonflement de la partie gélifiée; 2) est le relargage et la redispersion des micelles de caséine; 3) schématise l'érosion des micelles de caséine grâce au cisaillement appliqué par l'écoulement tangentiel. 202

Figure AN.2.1. Turbidity-wavelength relations from supernatants after cohesion tests performed with gels prepared (a) at 20 °C and re-dispersed at 20 °C; (b) at 20 °C and re-dispersed at 7 °C; (c) at 7 °C and re-dispersed at 20 °C and (d) at 7 °C and re-dispersed at 7 °C. The straight lines have slope ~ - 2.8. 248

Figure AN.2.2. Size distributions from supernatants after cohesion tests performed with gels prepared (a) at 20 °C and re-dispersed at 20 °C; (b) at 20 °C and re-dispersed at 7 °C; (c) at 7 °C and re-dispersed at 20 °C and (d) at 7 °C and re-dispersed at 7 °C. The curves serve as a guide to the eye. 249

Figure AN.3.A1. Explanatory scheme for the model of cross-flow filtration with external membrane fouling: filtration of a feed suspension with colloidal solid concentration $c = c_0$ through a fully

retentive membrane results in formation of filtrate ($c = 0$) and CP layer with the thickness $h_{CP}(x)$ and local concentration $c(x, z) > c_0$ followed by formation of a gel (deposit) with the thickness $h_g(x)$ and local concentration $c(x, z) > c_{sg}$, where c_{sg} is a concentration of sol-gel transition. Local particle concentration on the membrane surface is denoted as $c_m(x)$ 251

Figure AN.3.B1. Filtrate flux versus filtration time at $T = 25^\circ\text{C}$ obtained at constant applied pressure ΔP of 0.5 bar (open symbols, dashed curve) and 1.1 bar (solid symbols, solid curve). Error bars present standard deviations, curves serve to indicate trends. 256

Figure AN.3.B2. (a) Steady-state $c(z)$ profiles measured in SAXS-filtration experiments at $T = 25^\circ\text{C}$, the insert presents same data in transformed coordinates $(z - h_g, c)$. Open symbols and dashed curve correspond to filtration pressure of 0.5 bar (points are average values from three $c(z)$ profiles obtained at $t = 130 - 150$ min); solid symbols and solid curve correspond to filtration pressure of 1.1 bar (points are average values from four $c(z)$ profiles obtained at $t = 105 - 150$ min). Error bars present standard deviations, curves correspond to least-square fitting of SAXS-filtration data with the help of proper “best-fit” equations. 257

Figure AN.3.B3. Values of $1/(kd\pi/dc)$ obtained at 25°C for $\Delta P = 0.5$ bar (open symbols, dashed curve) and $\Delta P = 1.1$ bar (filled symbols, solid curve); these curves correspond to the fitting curves presented in Fig. B2 after their treatment with Eq. (B3). Dotted curve presents the data of Bouchoux *et al.* (2014). 258

Figure AN.3.B4. Concentration distribution profiles $c(z)$ during the swelling at 25°C after the filtration at $\Delta P = 0.5$ bar: (a) SAXS-relaxation data under the cross-flow rate of $3 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ (symbols are experimental points, broken lines guide the eye); (b) model results without filtrate uptake across the membrane (boundary condition Eq. (B8)); (c) model results with filtrate uptake across the membrane, $R_m = 4\cdot 10^{13} \text{ m}^{-1}$ (boundary condition Eq. (B9)). Swelling duration is shown near the curves (in minutes). Dependencies $kd\pi/dc$ and $\pi(c)$, which are required for the modeling, were taken from the present SAXS-filtration data (Fig. B3) and osmotic stress experiments (Chapter III), respectively. The pressure of $\Delta P = 0.1$ bar is applied during the swelling in order to maintain the membrane position. 259

Figure AN.3.S1. Concentration distribution profiles $c(z)$ during the swelling at 25°C after the filtration at $\Delta P = 1.1$ bar: (a) SAXS-relaxation data under the cross-flow rate of $3 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ (symbols are experimental points, broken lines guide the eye); (b) model results without filtrate uptake across the membrane (boundary condition Eq. (B8)); (c) model results with filtrate uptake across the membrane, $R_m = 4\cdot 10^{13} \text{ m}^{-1}$ (boundary condition Eq. (B9)). Swelling duration is shown near the curves (in minutes). Dependencies $kd\pi/dc$ and $\pi(c)$, which are required for the modeling, were taken from the present SAXS-filtration data (Fig. B3) and osmotic stress experiments (Chapter III), respectively. The pressure of $\Delta P = 0.1$ bar is applied during the swelling in order to maintain the membrane position. 260

Figure AN.3.S2. Values of $1/(kd\pi/dc)$ calculated from SAXS-filtration data obtained at $\Delta P = 1.1$ for different temperatures (shown near the curves). Symbols correspond to the values calculated from averaged $c(z)$ profiles measured at the steady-state of SAXS-filtration (Fig. V.8.a), solid curves correspond to the least-square fitting of SAXS-filtration data with the help of proper “best-fit” equations (further used for the swelling modeling). Arrows indicate concentrations of sol-gel transition (evaluated as it is explained in Materials and methods of the thesis). 261

Figure AN.3.S3. Concentration distribution profiles $c(z)$ during the swelling at 12°C (a) and 42°C (b) after the filtration at $\Delta P = 1.1$ bar. Symbols correspond to SAXS-relaxation data (obtained under the

crossflow rate of $3 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$); solid lines represent model results (the model solution with Eq. (B8) only). Swelling duration is shown near the curves (in minutes). Dependencies $kd\Pi/dc$ and $\Pi(c)$, which are required for the modeling, were taken from the present SAXS-filtration data (Fig. S2). The pressure of $\Delta P = 0.1 \text{ bar}$ is applied during the swelling in order to maintain the membrane position.262

Figure AN.4.1. Liquid p_l and solid p_s pressures (dashed and solid curves, respectively) in a system of a particulate filter cake on a membrane surface at the moments (a) before and (b) after the release of filtration pressure ΔP ; arrows show the liquid flow direction. The initial solid pressure in the cake p_{si} varies from the membrane-cake ($\omega = 0$) to the cake-suspension interface ($\omega = \omega_0$), where is ω the material coordinate. For colloidal objects, distribution of the local osmotic pressure π in cake and suspension is equivalent to distribution of p_s in particulate filter cake, while the liquid pressure p_l is not determined.269

Figure AN.4.2. Solid pressure distribution during the swelling of a thick filter cake ($\omega_0 = 100 \mu\text{m}$) formed at the membrane surface with $r_m = 10^{13} \text{ m}^{-1}$: (a) without filtrate inflow across the membrane ($r_{in} = \infty$); (b) with filtrate inflow across the membrane with $r_{in} = 10^{13} \text{ m}^{-1}$. The time after the pressure release (in seconds) is shown near the curves.274

Figure AN.4.3. Solid volume fraction distribution during the filter cake swelling: (a) thick filter cake without filtrate inflow across the membrane ($r_{in} = \infty$); (b) thick filter cake with filtrate inflow across the membrane with $r_{in} = 10^{13} \text{ m}^{-1}$; (c) thin filter cake with filtrate inflow across the membrane with $r_{in} = 10^{13} \text{ m}^{-1}$. The time after the pressure release (in seconds) is shown near the curves; in each case $r_m = 10^{13} \text{ m}^{-1}$274

Figure AN.4.4. Solid volume fraction at the cake-membrane interface versus the swelling duration for the thick filter cake (example for $\omega_0 = 100 \mu\text{m}$) for different values of outside-in membrane resistance r_{in} (shown near the curves). The inside-out membrane resistance is $r_m = r_{in}$ (except of $r_m = 10^{13} \text{ m}^{-1}$ for $r_{in} = \infty$). Dashed horizontal corresponds to the concentration of sol-gel transition φ_{sg} for the studied system.275

Figure AN.3.5. Time required for filter cake swelling ϑ at different conditions: (a) ϑ versus the membrane hydraulic resistance r_m for thin ($\omega_0 = 10 \mu\text{m}$, dashed curves) and thick ($\omega_0 = 100 \mu\text{m}$, solid curves) filter cakes for the cases with ($r_{in} = r_m$, curves) and without ($r_{in} = \infty$, horizontals) filtrate inflow across the membrane; (b) ϑ versus the filter cake thickness ω_0 and initial filter cake resistance r_{ci} for the cases with (example for $r_{in} = 10^{13} \text{ m}^{-1}$) and without ($r_{in} = \infty$) filtrate inflow across the membrane with $r_m = 10^{13} \text{ m}^{-1}$276

Figure AN.4.6. To the experiment on membrane rinsing after the cake swelling: filter cakes with different particle concentration distribution (cake 1 with $\varphi_m > \varphi_{sg}$ and cake 2 with $\varphi_m < \varphi_{sg}$); dashed horizontal corresponds to the concentration of sol-gel transition, φ_{sg} , shaded parts can be removed from the surface (at left) by small tangential force, because $\varphi \leq \varphi_{sg}$ at their left borders.277

Figure AN.4.7. Relative residual cake resistance r_r/r_{ci} when the sweeping force is applied after the swelling duration t in the absence (solid curves $r_{in} = \infty$) and presence (dashed curves, $r_{in} = r_m$) of filtrate inflow across the membrane: (a) thin filter cakes, $\omega_0 = 10 \mu\text{m}$; (b) thick filter cakes, $\omega_0 = 100 \mu\text{m}$. The values of r_m are shown near the curves.278

Figure AN.4.8. Solid concentration distribution $\varphi(x)$ and corresponding yield stress distribution $\tau_0(x)$ in a swelled gel. In the vicinity of membrane the part of the gel with $\tau_0(x) < \tau_{ext}$ can flow under the external shear force, that cause the movement of the denser part of the gel with $\tau_0(x) > \tau_{ext}$279

Figure AN.4.9. Estimated values of the gap thickness h (dashed curves) and the tangential velocity of the gel v (solid curves) versus the swelling duration for (a) thin ($\omega_0 = 10 \mu\text{m}$) and (b) thick ($\omega_0 = 100 \mu\text{m}$) filter cakes under the external tangential shear $\tau_{ext} = 20 \text{ Pa}$. The values of the membrane resistance to filtrate inflow r_{in} are indicated near the curves. The curves end, when the solid gel disappears because of the swelling: $\varphi_{max} = \varphi(\tau_0 = \tau_{ext})$. Horizontals correspond to the moment of the solid gel disappearance in the absence of filtrate inflow across the membrane: $r_{in} = \infty$, $\varphi_m = \varphi(\tau_0 = \tau_{ext})$280

Figure AN.4.C1. Pressure dependency of solids volume fraction and specific filtration resistance for aqueous dispersions of casein micelles (calculated from the data reposted by Bouchoux *et al.* (2014)). Dotted vertical corresponds to the solid pressure in the point of sol-gel transition; dashed vertical corresponds to the solid pressure required for “irreversible” gel formation.287

Figure AN.4.C2. Values of parameters of Herschel-Bulkley model for casein micelles dispersions at different solid concentrations: symbols – data obtained by least-square fitting of experimental dependencies $\tau(\gamma, \varphi)$ (presented by Jin *et al.* (Jin *et al.* 2014b)) with the help of Eq. (C3), curves – result of best curve fitting for these data. Dotted vertical corresponds to the concentration of sol-gel transition.288

Tables

Table I.1. Composition du Lait de vache (adapté de Walstra <i>et al.</i> (2005) ; Dalgleish (2011) ; Dalgleish et Corredig (2012))	22
Table I.2. Composition minérale du lait de vache (adapté d'après Gaucheron (2005) ; Lucey et Horne (2009)).....	23
Table I.3. Les caractéristiques principales de la micelle de caséine à l'état natif à température ambiante (McMahon et Brown 1984 ; Gaucheron 2005).....	25
Table II.1. Composition de la poudre de micelles de caséines Promilk 852B. Les valeurs moyennes des concentrations relatives sont données en % g/g de l'extrait sec total (% EST) avec un écart type de $\pm 0.2\%$	50
Table II.2. Dispersions préparées à 7 et 20 °C et utilisées pour les expériences de cohésion. π : pression osmotique appliquée ; [Cas] : concentration en caséine des dispersions obtenues.	64
Table II.3. Paramètres utilisés pour les mesures de la distribution de taille à 20°C.	83
Table III.1. Composition of casein isolate powder. Average values of relative concentration are given in wt. % of total solids content (% TS) with a standard deviation of ± 0.2 wt. %.	92
Table III.2. Concentration de transition sol-gel en fonction de la température de préparation des gels et de la température de conditionnement pendant 24 h.....	113
Table IV.1. Composition of casein isolate powder. Average values of relative concentration are given in wt. % of total solids content (% TS) with a standard deviation of ± 0.2 wt. %.	122
Table IV.2. Osmotic pressure π and casein concentration [Cas] of casein micelle gels prepared at 7 °C and 20 °C.	124
Table V.1. Composition of casein isolate powder. Average values of relative concentration are given in wt. % of total solids content (% TS) with a standard deviation of ± 0.2 wt. %.	149
Table V.2. Calculation of the terms of Darcy's law for the three temperatures studied.	160

Références

- Aguiar, I. B. de, M. Meireles, A. Bouchoux & K. Schroën 2019 « Microfluidic Model Systems Used to Emulate Processes Occurring during Soft Particle Filtration », *Scientific Reports* 9.1 : 1-9. doi : 10.1038/s41598-019-39820-z.
- Aimar, P. & P. Bacchin 2010 « Slow Colloidal Aggregation and Membrane Fouling », *Journal of Membrane Science* 360.1-2 : 70-76. doi : 10.1016/j.memsci.2010.05.001.
- Akhondi, E., F. Zamani, A. W. K. Law, W. B. Krantz, A. G. Fane & J. W. Chew 2017 « Influence of backwashing on the pore size of hollow fiber ultrafiltration membranes », *Journal of Membrane Science* 521 : 33-42. doi : 10.1016/j.memsci.2016.08.070.
- Akhtar, N., J. Bowen, K. Asteriadou, P. T. Robbins, Z. Zhang & P. J. Fryer 2010 « Matching the nano- to the meso-scale: Measuring deposit–surface interactions with atomic force microscopy and micromanipulation », *Food and Bioprocess Processing* 88.4 : 341-348. doi : 10.1016/j.fbp.2010.08.006.
- Ali, A., D. de'Ath, D. Gibson, J. Parkin, Z. Alam, G. Ward & D. I. Wilson 2015 « Development of a 'millimanipulation' device to study the removal of soft solid fouling layers from solid substrates and its application to cooked lard deposits », *Food and Bioprocess Processing* 93 : 256-268. doi : 10.1016/j.fbp.2014.09.001.
- Arndt, F., U. Roth, H. Nirschl, S. Schütz & G. Guthausen 2016 « New Insights into Sodium Alginate Fouling of Ceramic Hollow Fiber Membranes by NMR Imaging », *AIChE Journal* 62.7 : 2459-2467. doi : 10.1002/aic.15226.
- Arndt, F., S. Schuhmann, G. Guthausen, S. Schütz & H. Nirschl 2017 « In situ MRI of alginate fouling and flow in ceramic hollow fiber membranes », *Journal of Membrane Science* 524 : 691-699. doi : 10.1016/j.memsci.2016.11.079.
- Bacchin, P. 2007 *Génie des interactions physico chimiques: Applications à la transformation de la matière molle*, Université Paul Sabatier (Toulouse III). [En ligne] : https://www.researchgate.net/profile/Patrice_Bacchin/publication/27812694_Gnie_des_interaction_s_physico_chimiques__Applications__la_transformation_de_la_matiere_molle/links/00b49515b4428dd891000000.pdf.
- Bacchin, P., P. Aimar & R. Field 2006 « Critical and Sustainable Fluxes: Theory, Experiments and Applications », *Journal of Membrane Science* 281.1-2 : 42-69. doi : 10.1016/j.memsci.2006.04.014.
- Bacchin, P., P. Aimar & V. Sanchez 1995 « Model for Colloidal Fouling of Membranes », *AIChE Journal* 41.2 : 368-376. doi : 10.1002/aic.690410218.
- Bacchin, P., D. Si-Hassen, V. Starov, M. J. Clifton & P. Aimar 2002 « A unifying model for concentration polarization, gel-layer formation and particle deposition in cross-flow membrane filtration of colloidal suspensions », *Chemical Engineering Science* 57.1 : 77-91. doi : 10.1016/S0009-2509(01)00316-5.
- Banks, P. J. 1985 « Theory of Constant-Rate Expression and Subsequent Relaxation », in R. Toei & A. S. Mujumdar dir. *Drying '85*, Springer Berlin Heidelberg : 102-108.

- Benkahla, Y. K., A. Ould-Driss, M. Y. Jaffrin & D. Si-Hassen 1995 « Cake growth mechanism in cross-flow microfiltration of mineral suspensions », *Journal of Membrane Science* 98.1 : 107-117. doi : 10.1016/0376-7388(94)00182-X.
- Berkelaar, R. P., P. Bampoulis, E. Dietrich, H. P. Jansen, X. Zhang, E. S. Kooij, D. Lohse & H. J. W. Zandvliet 2015 « Water-Induced Blister Formation in a Thin Film Polymer », *Langmuir* 31.3 : 1017-1025. doi : 10.1021/la504002w.
- Blandin, G., H. Vervoort, P. Le-Clech & A. R. D. Verliefde 2016 « Fouling and cleaning of high permeability forward osmosis membranes », *Journal of Water Process Engineering* 9 : 161-169. doi : 10.1016/j.jwpe.2015.12.007.
- Bonn, D., M. M. Denn, L. Berthier, T. Divoux & S. Manneville 2017 « Yield stress materials in soft condensed matter », *Reviews of Modern Physics* 89.3 : 035005. doi : 10.1103/RevModPhys.89.035005.
- Bonnet-Gonnet, C., L. Belloni & B. Cabane 1994 « Osmotic Pressure of Latex Dispersions », *Langmuir* 10.11 : 4012-4021. doi : 10.1021/la00023a019.
- Bouchoux, A., P.-E. Cayemite, G. Gésan-Guizieu & B. Cabane 2009a « Casein Micelle Dispersions under Osmotic Stress », *Biophysical Journal* 96.2 : 693-706. doi : 10.1016/j.bpj.2008.10.006.
- Bouchoux, A., B. Debbou, M.-H. Famelart, J.-L. Doublier & B. Cabane 2009b « Rheology and Phase Behavior of Dense Casein Micelle Dispersions », *The Journal of Chemical Physics* 131.16 : 165106. doi : 10.1063/1.3245956.
- Bouchoux, A., G. Gésan-Guizieu, J. Pérez & B. Cabane 2010 « How to Squeeze a Sponge: Casein Micelles under Osmotic Stress, a SAXS Study », *Biophysical Journal* 99.11 : 3754-3762. doi : 10.1016/j.bpj.2010.10.019.
- Bouchoux, A., P. Qu, P. Bacchin & G. Gésan-Guizieu 2014 « A General Approach for Predicting the Filtration of Soft and Permeable Colloids: The Milk Example », *Langmuir* 30.1 : 22-34. doi : 10.1021/la402865p.
- Bouchoux, A., D. Schorr, A. Daffé, M. Cambert, G. Gésan-Guizieu & F. Mariette 2012 « Molecular Mobility in Dense Protein Systems: An Investigation through ¹H NMR Relaxometry and Diffusometry », *The Journal of Physical Chemistry B* 116.38 : 11744-11753. doi : 10.1021/jp306078k.
- Bouquerand, P. E., S. Maio, V. Normand, S. Singleton & D. Atkins 2004 « Swelling and Erosion Affecting Flavor Release from Glassy Particles in Water », *AIChE Journal* 50.12 : 3257-3270. doi : 10.1002/aic.10267.
- Bowen, W. R., A. Mongrue & P. M. Williams 1996 « Prediction of the rate of cross-flow membrane ultrafiltration: a colloidal interaction approach », *Chemical Engineering Science* 51.18 : 4321-4333.
- Brans, G., C. G. P. H. Schroën, R. G. M. van der Sman & R. M. Boom 2004 « Membrane Fractionation of Milk: State of the Art and Challenges », *Journal of Membrane Science* 243.1-2 : 263-272. doi : 10.1016/j.memsci.2004.06.029.

- Briffaz, A., P. Bohuon, J. M. Méot, B. Matignon-Pons & C. Mestres 2018 « Modelling of water transport with convection effects on amylose transfer in a swelling, eroding and gelatinizing starchy matrix », *Journal of Food Engineering* 221 : 132-140. doi : 10.1016/j.jfoodeng.2017.10.014.
- Broyard, C. & F. Gaucheron 2015 « Modifications of structures and functions of caseins: a scientific and technological challenge », *Dairy Science & Technology* 95.6 : 831-862. doi : 10.1007/s13594-015-0220-y.
- Brule, G. & J. Fauquant 1981 « Mineral Balance in Skim-Milk and Milk Retentate: Effect of Physicochemical Characteristics of the Aqueous Phase », *Journal of Dairy Research* 48.01 : 91. doi : 10.1017/S0022029900021506.
- Brule, G., J. L. Maubois & J. Fauquant 1974 « Etude de la teneur en éléments minéraux des produits obtenus lors de l'ultrafiltration du lait sur membrane », *Le Lait* 54.539-540 : 600-615. doi : 10.1051/lait:1974539-54030.
- Chen, V., H. Li & A. G. Fane 2004 « Non-invasive observation of synthetic membrane processes – a review of methods », *Journal of Membrane Science* 241.1 : 23-44. doi : 10.1016/j.memsci.2004.04.029.
- Chua, H. C., T. C. Arnot & J. A. Howell 2002 « Controlling fouling in membrane bioreactors operated with a variable throughput », *Desalination* 149.1 : 225-229. doi : 10.1016/S0011-9164(02)00764-6.
- des Cloizeaux, J. 1975 « The Lagrangian Theory of Polymer Solutions at Intermediate Concentrations », *Journal de Physique* 36.4 : 281-291. doi : 10.1051/jphys:01975003604028100.
- Cohen, J. A., R. Podgornik, P. L. Hansen & V. A. Parsegian 2009 « A Phenomenological One-Parameter Equation of State for Osmotic Pressures of PEG and Other Neutral Flexible Polymers in Good Solvents », *The Journal of Physical Chemistry B* 113.12 : 3709-3714. doi : 10.1021/jp806893a.
- Cohen, J. A., R. Podgornik & V. A. Parsegian 2012 « Finite Length Effects for Osmotic Pressures of PEG Polymers », *Biophysical Journal* 102.3, Supplement 1 : 400a. doi : 10.1016/j.bpj.2011.11.2183.
- Cohen, R. D. & R. F. Probstein 1986 « Colloidal fouling of reverse osmosis membranes », *Journal of Colloid and Interface Science* 114.1 : 194–207.
- Collier, N., P. Debreyne, G. Delaplace, B. Chen, D. Callens, P. Campistron & B. Nongaillard 2018 « Contribution of the shear wave ultrasonic reflectometry to the stickiness measurements », *Ultrasonics* 89 : 187-194. doi : 10.1016/j.ultras.2018.05.001.
- Crank, J. & E. P. J. Crank 1979 *The Mathematics of Diffusion*, Clarendon Press.
- Creamer, L. K., G. P. Berry & O. E. Mills 1977 « Study of the Dissociation of Beta Casein from the Bovine Casein Micelle at Low Temperature », *New Zealand journal of dairy science and technology*. [En ligne] : <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302510101>.
- Cruz, R. da C., R. J. Martins, M. J. E. de M. Cardoso & O. E. Barcia 2009 « Volumetric Study of Aqueous Solutions of Polyethylene Glycol as a Function of the Polymer Molar Mass in the Temperature Range 283.15 to 313.15 K and 0.1 MPa », *Journal of Solution Chemistry* 38.8 : 957-981. doi : 10.1007/s10953-009-9388-1.

- D. Stickland, A., C. Burgess, D. R. Dixon, P. J. Harbour, P. J. Scales, L. J. Studer & S. P. Usher 2008 « Fundamental Dewatering Properties of Wastewater Treatment Sludges from Filtration and Sedimentation Testing », *Chemical Engineering Science* 63.21 : 5283-5290. doi : 10.1016/j.ces.2008.07.016.
- Dahbi, L., M. Alexander, V. Trappe, J. K. G. Dhont & P. Schurtenberger 2010 « Rheology and Structural Arrest of Casein Suspensions », *Journal of Colloid and Interface Science* 342.2 : 564-570. doi : 10.1016/j.jcis.2009.10.042.
- Dalgleish, D. G. 1984 « Measurement of Electrophoretic Mobilities and Zeta-Potentials of Particles from Milk Using Laser Doppler Electrophoresis », *Journal of Dairy Research* 51.3 : 425-438. doi : 10.1017/S0022029900023724.
- 1998 « Casein micelles as colloids: surface structures and stabilities », *Journal of dairy science* 81.11 : 3013–3018.
- 2011 « On the Structural Models of Bovine Casein Micelles—Review and Possible Improvements », *Soft Matter* 7.6 : 2265-2272. doi : 10.1039/C0SM00806K.
- Dalgleish, D. G. & M. Corredig 2012 « The Structure of the Casein Micelle of Milk and Its Changes During Processing », *Annual Review of Food Science and Technology* 3.1 : 449-467. doi : 10.1146/annurev-food-022811-101214.
- Dalgleish, D. G., P. A. Spagnuolo & H. Douglas Goff 2004 « A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy », *International Dairy Journal* 14.12 : 1025-1031. doi : 10.1016/j.idairyj.2004.04.008.
- Darling, D. F. & J. Dickson 1979 « The Determination of the Zeta Potential of Casein Micelles », *Journal of Dairy Research* 46.2 : 329-332. doi : 10.1017/S0022029900017258.
- Dauphas, S., N. Mouhous-Riou, B. Metro, A. R. Mackie, P. J. Wilde, M. Anton & A. Riaublanc 2005 « The supramolecular organisation of β -casein: effect on interfacial properties », *Food Hydrocolloids* 19.3 : 387-393. doi : 10.1016/j.foodhyd.2004.10.005.
- Davey, M. J., K. A. Landman, M. J. McGuinness & H. N. Jin 2002 « Mathematical modeling of rice cooking and dissolution in beer production », *AIChE Journal* 48.8 : 1811-1826. doi : 10.1002/aic.690480821.
- David, C., F. Pignon, T. Narayanan, M. Sztucki, G. Gésan-Guiziou & A. Magnin 2008 « Spatial and Temporal “in Situ” Evolution of the Concentration Profile during Casein Micelle Ultrafiltration Probed by Small-Angle X-Ray Scattering », *Langmuir* 24.9 : 4523-4529. doi : 10.1021/la703256s.
- Davies, D. T. & A. J. R. Law 1983 « Variation in the Protein Composition of Bovine Casein Micelles and Serum Casein in Relation to Micellar Size and Milk Temperature », *Journal of Dairy Research* 50.1 : 67-75. doi : 10.1017/S0022029900032532.
- De Kruif, C. G. 1998 « Supra-aggregates of casein micelles as a prelude to coagulation », *Journal of Dairy Science* 81.11 : 3019–3028.
- 2014 « The structure of casein micelles: a review of small-angle scattering data », *Journal of Applied Crystallography* 47 : 1479-1489. doi : 10.1107/S1600576714014563.

- De Kruif, C. G., T. Huppertz, V. S. Urban & A. V. Petukhov 2012 « Casein Micelles and Their Internal Structure », *Advances in Colloid and Interface Science* 171-172 : 36-52. doi : 10.1016/j.cis.2012.01.002.
- De Kruif, C. G. & E. B. Zhulina 1996 « *Kappa-casein as a polyelectrolyte brush on the surface of casein micelles* ».
- Defrance, L. & M. Y. Jaffrin 1999 « Reversibility of fouling formed in activated sludge filtration », *Journal of Membrane Science* 157.1 : 73-84. doi : 10.1016/S0376-7388(98)00356-1.
- Devotta, I., V. D. Ambeskar, A. B. Mandhare & R. A. Mashelkar 1994 « The life time of a dissolving polymeric particle », *Chemical Engineering Science* 49.5 : 645-654. doi : 10.1016/0009-2509(94)85010-0.
- Dewan, R. K., V. A. Bloomfield, A. Chudgar & C. V. Morr 1973 « Viscosity and Voluminosity of Bovine Milk Casein Micelles », *Journal of Dairy Science* 56.6 : 699-705. doi : 10.3168/jds.S0022-0302(73)85236-1.
- Doudies, F., M. Loginov, N. Hengl, F. Lambrouin, N. Leconte, J. Pérez, L. Sharpnack, F. Pignon & G. Gesan-Guiziu 2018a « *Understanding of casein micelles concentrated layers properties during cross flow ultrafiltration by in-situ small-angle X-ray scattering (SAXS)* », . [En ligne] : <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01855435>.
- Doudies, F., M. Loginov, N. Hengl, F. Pignon, N. Leconte, F. Lambrouin, J. Perez, M. Granger-Delacroix, M. BELNA & G. Gesan-Guiziu 2018b « Small-Angle X-Ray Scattering (SAXS) analyses of build-up, relaxation and erosion of casein micelles fouling layer during cross-flow ultrafiltration », in *European Conference on Fluid-Particle Separation*, Lyon, France. [En ligne] : <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01899844> : np.
- Doudies, F., M. Loginov, F. Lambrouin, N. Leconte, L. Sharpnack, F. Pignon & G. Gesan-Guiziu 2018c « Structural organization of casein micelles concentrated layer during cross-flow ultrafiltration », in *FCFP2018 Fouling and Cleaning in Food Processing*, Lund, Sweden. [En ligne] : <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01791812> : np.
- Dupont, D., A. Johansson, S. Marchin, O. Rolet-Repecaud, S. Marchesseau & J. Leonil 2011 « Topography of the Casein Micelle Surface by Surface Plasmon Resonance (SPR) Using a Selection of Specific Monoclonal Antibodies », *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59.15 : 8375-8384. doi : 10.1021/jf2024038.
- Elimelech, M. & S. Bhattacharjee 1998 « A novel approach for modeling concentration polarization in crossflow membrane filtration based on the equivalence of osmotic pressure model and filtration theory », *Journal of Membrane Science* 145.2 : 223-241. doi : 10.1016/S0376-7388(98)00078-7.
- Espinasse, B., P. Bacchin & P. Aimar 2002 « On an experimental method to measure critical flux in ultrafiltration », *Desalination* 146.1 : 91-96.
- Famelart, M. H., F. Lepasant, F. Gaucheron, Y. L. Graet & P. Schuck 1996 « PH-Induced Physicochemical Modifications of Native Phosphocaseinate Suspensions: Influence of Aqueous Phase », *Le Lait* 76.5 : 445-460. doi : 10.1051/lait:1996534.

- Farrell, H. M., R. Jimenez-Flores, G. T. Bleck, E. M. Brown, J. E. Butler, L. K. Creamer, C. L. Hicks, C. M. Hollar, K. F. Ng-Kwai-Hang & H. E. Swaisgood 2004 « Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk--Sixth Revision », *Journal of Dairy Science* 87.6 : 1641-1674. doi : 10.3168/jds.S0022-0302(04)73319-6.
- Farrell, H. M., E. L. Malin, E. M. Brown & P. X. Qi 2006 « Casein Micelle Structure: What Can Be Learned from Milk Synthesis and Structural Biology? », *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 11.2-3 : 135-147. doi : 10.1016/j.cocis.2005.11.005.
- Ferron-Baумы, C. (Union L. N., J. L. Maubois, G. Garric & J. P. Quiblier 1991 « Milk and retentate rennet coagulation. Effects of several heat treatments », *Lait (France)*. [En ligne] : <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR9104581>.
- Gaddis, J. L. 1992 « Effects of Pressure and Crossflow Velocity on Ultrafiltration Flux », *Chemical Engineering Communications* 116.1 : 153-169. doi : 10.1080/00986449208936050.
- Gaiani, C., J. Scher, P. Schuck, J. Hardy, S. Desobry & S. Banon 2006 « The dissolution behaviour of native phosphocaseinate as a function of concentration and temperature using a rheological approach », *International Dairy Journal* 16.12 : 1427-1434. doi : 10.1016/j.idairyj.2005.12.004.
- Gao, Y., S. Haavisto, W. Li, C. Y. Tang, J. Salmela & A. G. Fane 2014 « Novel Approach To Characterizing the Growth of a Fouling Layer during Membrane Filtration via Optical Coherence Tomography », *Environmental Science & Technology* 48.24 : 14273-14281. doi : 10.1021/es503326y.
- Gaspar, A. M., M.-S. Appavou, S. Busch, T. Unruh & W. Doster 2008 « Dynamics of Well-Folded and Natively Disordered Proteins in Solution: A Time-of-Flight Neutron Scattering Study », *European Biophysics Journal* 37.5 : 573-582. doi : 10.1007/s00249-008-0266-3.
- Gaucher, C., P. Jaouen, J. Comiti & P. Legentilhomme 2002a « Determination of cake thickness and porosity during cross-flow ultrafiltration on a plane ceramic membrane surface using an electrochemical method », *Journal of Membrane Science* 210.2 : 245-258. doi : 10.1016/S0376-7388(02)00355-1.
- Gaucher, C., P. Legentilhomme, P. Jaouen, J. Comiti & J. Pruvost 2002b « Hydrodynamics Study in a Plane Ultrafiltration Module Using an Electrochemical Method and Particle Image Velocimetry Visualization », *Experiments in Fluids* 32.3 : 283-293. doi : 10.1007/s003480100317.
- Gaucher, I., D. Mollé, V. Gagnaire & F. Gaucheron 2008 « Effects of storage temperature on physico-chemical characteristics of semi-skimmed UHT milk », *Food Hydrocolloids* 22.1 : 130-143. doi : 10.1016/j.foodhyd.2007.04.007.
- Gaucheron, F. 2005 « The minerals of milk », *Reproduction Nutrition Development* 45.4 : 473-483. doi : 10.1051/rnd:2005030.
- Gaucheron, F., Y. L. Graet, M. Piot & E. Boyaval 1996 « Determination of Anions of Milk by Ion Chromatography », *Le Lait* 76.5 : 433-443. doi : 10.1051/lait:1996533.
- Gebhardt, R., W. Holzmüller, Q. Zhong, P. Müller-Buschbaum & U. Kulozik 2011 « Structural Ordering of Casein Micelles on Silicon Nitride Micro-Sieves during Filtration », *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 88.1 : 240-245. doi : 10.1016/j.colsurfb.2011.06.038.

Gebhardt, R., T. Steinhauer, P. Meyer, J. Sterr, J. Perlich & U. Kulozik 2012 « Structural Changes of Deposited Casein Micelles Induced by Membrane Filtration », *Faraday Discussions* 158.0 : 77-88. doi : 10.1039/C2FD20022H.

de Gennes, P.-G. de 1979 *Scaling Concepts in Polymer Physics*, Cornell University Press.

Gésan-Guiziou, G. 2010 « Separation technologies in dairy and egg processing Part II. Separation technologies in the processing of particular foods and nutraceuticals », in *Separation, extraction and concentration processes in the food, beverage and nutraceutical industries*, Oxford : Woodhead Publishing Limited : 341-380.

Gésan-Guiziou, G., E. Boyaval & G. Daufin 1999a « Critical stability conditions in crossflow microfiltration of skimmed milk: transition to irreversible deposition », *Journal of Membrane Science* 158.1-2 : 211-222. doi : 10.1016/s0376-7388(99)00017-4.

— 1999b « Critical Stability conditions in crossflow microfiltration of skimmed milk: transition to irreversible deposition » : 211-222.

Gésan-Guiziou, G., G. Daufin, E. Boyaval & O. Le Berre 1999c « Wall shear stress: effective parameter for the characterisation of the cross-flow transport in turbulent regime during skimmed milk microfiltration », *Le Lait* 79.3 : 347–354.

Gésan-Guiziou, G., A. Jimenez & C. Arcelin 2006 « Cake properties in dead-end ultrafiltration of casein micelles: determination of critical operating conditions », *Desalination* 199.1 : 20-22. doi : 10.1016/j.desal.2006.03.134.

Gholami, M., A. Rashedi, N. Lenoir, D. Hautemayou, G. Ovarlez & S. Hormozi 2018 « Time-resolved 2D concentration maps in flowing suspensions using X-ray », *Journal of Rheology* 62.4 : 955-974. doi : 10.1122/1.4994063.

Gillham, C. R., P. J. Fryer, A. P. M. Hasting & D. I. Wilson 1999 « Cleaning-in-Place of Whey Protein Fouling Deposits: Mechanisms Controlling Cleaning », *Food and Bioproducts Processing* 77.2 : 127-136. doi : 10.1205/096030899532420.

Gordon, P. W., A. D. M. Brooker, Y. M. J. Chew, D. I. Wilson & D. W. York 2010 « Studies into the swelling of gelatine films using a scanning fluid dynamic gauge », *Food and Bioproducts Processing* 88.4 : 357-364. doi : 10.1016/j.fbp.2010.08.012.

Gordon, P. W., M. Schöler, H. Föste, M. Helbig, W. Augustin, Y. M. J. Chew, S. Scholl, J.-P. Majschak & D. I. Wilson 2014 « A comparison of local phosphorescence detection and fluid dynamic gauging methods for studying the removal of cohesive fouling layers: Effect of layer roughness », *Food and Bioproducts Processing* 92.1 : 46-53. doi : 10.1016/j.fbp.2013.07.010.

Grandison, A. S., W. Youravong & M. J. Lewis 2000 « Hydrodynamic Factors Affecting Flux and Fouling during Ultrafiltration of Skimmed Milk », *Le Lait* 80.1 : 165-174. doi : 10.1051/lait:2000116.

Güell, C., M. Ferrando & F. López 2009 *Monitoring and Visualizing Membrane-Based Processes*, John Wiley & Sons.

- Hanemaaijer, J. H., T. Robbertsen, Th. van den Boomgaard & J. W. Gunnink 1989 « Fouling of ultrafiltration membranes. The role of protein adsorption and salt precipitation », *Journal of Membrane Science* 40.2 : 199-217. doi : 10.1016/0376-7388(89)89005-2.
- Harmant, P. & P. Aimar 1996 « Coagulation of Colloids Retained by Porous Wall », *AIChE Journal* 42.12 : 3523-3532. doi : 10.1002/aic.690421221.
- Hirsch, H. R. 1980 « Negative Solvent Pressure in Osmosis: A Gedanken Experiment », *Journal of Biological Physics* 8.1 : 11-17. doi : 10.1007/BF02250939.
- Höfgen, E., S. Kühne, U. A. Peuker & A. D. Stickland 2019 « A Comparison of Filtration Characterisation Devices for Compressible Suspensions Using Conventional Filtration Theory and Compressional Rheology ». [En ligne] : <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/6281703>.
- Holt, C., J. A. Carver, H. Ecroyd & D. C. Thorn 2013 « Invited review: Caseins and the casein micelle: Their biological functions, structures, and behavior in foods », *Journal of Dairy Science* 96.10 : 6127-6146. doi : 10.3168/jds.2013-6831.
- Holt, C. (Hannah R. I. 1995 « *Effect of Heating and Cooling on the Milk Salts and Their Interaction with Casein* ». [En ligne] : <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BE9500696>.
- Holt, C. & D. S. Horne 1996 « The hairy casein micelle: Evolution of the concept and its implications for dairy processing », *Netherlands Milk and Dairy Journal* 50 : 1-27.
- Holt, C. & L. Sawyer 1993 « Caseins as Rheomorphic Proteins: Interpretation of Primary and Secondary Structures of the α S1 -, β - and κ -Caseins », *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions* 89.15 : 2683-2692. doi : 10.1039/FT9938902683.
- Holt, C., P. A. Timmins, N. Errington & J. Leaver 1998 « A Core-Shell Model of Calcium Phosphate Nanoclusters Stabilized by β -Casein Phosphopeptides, Derived from Sedimentation Equilibrium and Small-Angle X-Ray and Neutron-Scattering Measurements », *European Journal of Biochemistry* 252.1 : 73-78. doi : 10.1046/j.1432-1327.1998.2520073.x.
- Hooper, R. J., W. Liu, P. J. Fryer, W. R. Paterson, D. I. Wilson & Z. Zhang 2006 « Comparative Studies of Fluid Dynamic Gauging and a Micromanipulation Probe for Strength Measurements », *Food and Bioproducts Processing* 84.4 : 353-358. doi : 10.1205/fbp06038.
- Horne, D. S. 1986 « Steric stabilization and casein micelle stability », *Journal of Colloid and Interface Science* 111.1 : 250-260. doi : 10.1016/0021-9797(86)90024-X.
- Horne, D. S. 1998 « Casein interactions: casting light on the black boxes, the structure in dairy products », *International Dairy Journal* 8.3 : 171-177.
- 2006 « Casein Micelle Structure: Models and Muddles », *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 11.2-3 : 148-153. doi : 10.1016/j.cocis.2005.11.004.
- Hurt, E. E., M. C. Adams & D. M. Barbano 2015 « Microfiltration of skim milk and modified skim milk using a 0.1- μ m ceramic uniform transmembrane pressure system at temperatures of 50, 55, 60, and 65°C », *Journal of Dairy Science* 98 : 765-780. doi : 10.3168/jds.2014-8775.

- Ingham, B., A. Smialowska, G. D. Erlangga, L. Matia-Merino, N. M. Kirby, C. Wang, R. G. Haverkamp & A. J. Carr 2016 « Revisiting the interpretation of casein micelle SAXS data », *Soft Matter* 12.33 : 6937-6953. doi : 10.1039/c6sm01091a.
- Iritani, E., N. Katagiri & G. Inagaki 2018a « Compression and expansion properties of filter cake accompanied with step change in applied pressure in membrane filtration », *Separation and Purification Technology* 198 : 3-9. doi : 10.1016/j.seppur.2016.11.067.
- Iritani, E., N. Katagiri & S. Kanetake 2012 « Determination of cake filtration characteristics of dilute suspension of bentonite from various filtration tests », *Separation and Purification Technology* 92 : 143-151. doi : 10.1016/j.seppur.2011.05.011.
- Iritani, E., N. Katagiri & H. Masuda 2018b « Evaluation of variable pressure dead-end ultrafiltration behaviors of nanocolloids based on filter cake properties », *Chemical Engineering Research and Design* 134 : 528-539. doi : 10.1016/j.cherd.2018.04.026.
- Iritani, E., N. Katagiri, Y. Takaishi & S. Kanetake 2011 « Determination of Pressure Dependence of Permeability Characteristics from Single Constant Pressure Filtration Test », *JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING OF JAPAN* 44.1 : 14-23. doi : 10.1252/jcej.10we186.
- Iritani, E., N. Katagiri, M. Tsukamoto & K.-J. Hwang 2014 « Determination of Cake Properties in Ultrafiltration of Nano-Colloids Based on Single Step-up Pressure Filtration Test », *AIChE Journal* 60.1 : 289-299. doi : 10.1002/aic.14262.
- Iritani, E., N. Katagiri, K.-M. Yoo & H. Hayashi 2007 « Consolidation and Expansion of a Granular Bed of Superabsorbent Hydrogels », *AIChE Journal* 53.1 : 129-137. doi : 10.1002/aic.11045.
- Iwata, M. & M. S. Jami 2007 « Theoretical analysis of centrifugal dewatering of superabsorbent hydrogels using Terzaghi–Voigt combined model », *European Polymer Journal* 43.12 : 5026-5033. doi : 10.1016/j.eurpolymj.2007.10.002.
- Iwata, M., S. Koda & H. Nomura 1999 « Theory of Compression and Expansion of Hydrogels », *JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING OF JAPAN* 32.5 : 684-688. doi : 10.1252/jcej.32.684.
- Iwata, M. & T. Murase 1993 « Expansion and Stress Relaxation of Expressed Cake », *Drying Technology* 11.4 : 749-767. doi : 10.1080/07373939308916862.
- James, B. J., Y. Jing & X. D. Chen 2003 « Membrane fouling during filtration of milk—a microstructural study », *Journal of Food Engineering* 60.4 : 431-437. doi : [http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00066-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00066-9).
- Jenness, R. & J. Koops 1962 « Preparation and properties of a salt solution which simulates milk ultrafiltrate », *Netherlands Milk and Dairy Journal* 16 : 153-164.
- Jimenez-Lopez, A. J. E., N. Leconte, F. Garnier-Lambrouin, A. Bouchoux, F. Rousseau & G. Gésan-Guiziou 2011 « Ionic Strength Dependence of Skimmed Milk Microfiltration: Relations between Filtration Performance, Deposit Layer Characteristics and Colloidal Properties of Casein Micelles », *Journal of Membrane Science* 369.1-2 : 404-413. doi : 10.1016/j.memsci.2010.12.026.

- Jimenez-lopez, A., N. Leconte, O. Dehainault, C. Geneste, L. Fromont & G. Gésan-Guiziou 2008 « Role of Milk Constituents on Critical Conditions and Deposit Structure in Skimmilk Microfiltration (0.1µm) », *Separation and Purification Technology* 61.1 : 33-43. doi : 10.1016/j.seppur.2007.09.023.
- Jin, Y. 2014 *Procédés de séparation membranaire de colloïdes: caractérisation des mécanismes aux échelles nanométriques et intensification par ultrasons*, Grenoble. [En ligne] : <http://www.theses.fr/2014GRENI063>.
- Jin, Y., N. Hengl, S. Baup, F. Pignon, N. Gondrexon, A. Magnin, M. Sztucki, T. Narayanan, L. Michot & B. Cabane 2014a « Effects of Ultrasound on Colloidal Organization at Nanometer Length Scale during Cross-Flow Ultrafiltration Probed by in-Situ SAXS », *Journal of Membrane Science* 453 : 624-635. doi : 10.1016/j.memsci.2013.12.001.
- Jin, Y., N. Hengl, S. Baup, F. Pignon, N. Gondrexon, M. Sztucki, G. Gésan-Guiziou, A. Magnin, M. Abyan, M. Karrouch & D. Blésès 2014b « Effects of Ultrasound on Cross-Flow Ultrafiltration of Skim Milk: Characterization from Macro-Scale to Nano-Scale », *Journal of Membrane Science* 470 : 205-218. doi : 10.1016/j.memsci.2014.07.043.
- Jin, Y., N. Hengl, S. Baup, F. Pignon, N. Gondrexon, M. Sztucki, A. Romdhane, A. Guillet & M. Aourousseau 2015 « Ultrasonic Assisted Cross-Flow Ultrafiltration of Starch and Cellulose Nanocrystals Suspensions: Characterization at Multi-Scales », *Carbohydrate Polymers* 124 : 66-76. doi : 10.1016/j.carbpol.2015.01.073.
- Jing, B., J. Zhao, Y. Wang, X. Yi & H. Duan 2010 « Water-Swelling-Induced Morphological Instability of a Supported Polymethyl Methacrylate Thin Film », *Langmuir* 26.11 : 7651-7655. doi : 10.1021/la1004566.
- Jönsson, A.-S. 1993 « Influence of Shear Rate on the Flux during Ultrafiltration of Colloidal Substances », *Journal of Membrane Science* 79.1 : 93-99. doi : 10.1016/0376-7388(93)85020-W.
- Jönsson, B., J. Persello, J. Li & B. Cabane 2011 « Equation of State of Colloidal Dispersions », *Langmuir* 27.11 : 6606-6614. doi : 10.1021/la2001392.
- Jørgensen, C. E., R. K. Abrahamsen, E.-O. Rukke, A.-G. Johansen, R. B. Schüller & S. B. Skeie 2016 « Optimization of protein fractionation by skim milk microfiltration: Choice of ceramic membrane pore size and filtration temperature », *Journal of Dairy Science*. doi : 10.3168/jds.2016-11090.
- Jørgensen, M. K., B. H. Hede & M. L. Christensen 2019 « Modeling approach to describe fouling removal during relaxation », *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 94 : 119-123. doi : 10.1016/j.jtice.2018.01.052.
- Jørgensen, M. K., K. Keiding & M. L. Christensen 2014 « On the reversibility of cake buildup and compression in a membrane bioreactor », *Journal of Membrane Science* 455 : 152-161. doi : 10.1016/j.memsci.2013.12.052.
- Kajiwara, K., R. Niki, H. Urakawa, Y. Hiragi, N. Donkai & M. Nagura 1988 « Micellar structure of β -casein observed by small-angle X-ray scattering », *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* 955.2 : 128-134. doi : 10.1016/0167-4838(88)90186-0.
- Kalab, M., B. Phipps Todd & P. Allan-Wojtas 1982 « Milk gel structure XIII. Rotary shadowing of casein micelles for electron microscopy », *Milchwissenschaft* 37.9 : 513-518.

- Kaunisto, E., M. Marucci, P. Borgquist & A. Axelsson 2011 « Mechanistic modelling of drug release from polymer-coated and swelling and dissolving polymer matrix systems », *International Journal of Pharmaceutics* 418.1 : 54-77. doi : 10.1016/j.ijpharm.2011.01.021.
- Kim, C., S. Lee & S. Hong 2012 « Application of osmotic backwashing in forward osmosis: mechanisms and factors involved », *Desalination and Water Treatment* 43.1-3 : 314-322. doi : 10.1080/19443994.2012.672215.
- Korson, L., W. Drost-Hansen & F. J. Millero 1969 « Viscosity of water at various temperatures », *The Journal of Physical Chemistry* 73.1 : 34-39. doi : 10.1021/j100721a006.
- Koutina, G., J. C. Knudsen, U. Andersen & L. H. Skibsted 2014 « Temperature effect on calcium and phosphorus equilibria in relation to gel formation during acidification of skim milk », *International Dairy Journal* 36.1 : 65-73. doi : 10.1016/j.idairyj.2014.01.003.
- Królczyk, J. B., T. Dawidziuk, E. Janiszewska-Turak & B. Sołowiej 2016 « Use of Whey and Whey Preparations in the Food Industry - a Review. », *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 66.3 : 157-165.
- Kromkamp, J., S. Rijnsent, R. Huttenhuis, K. Schroën & R. Boom 2007 « Differential Analysis of Deposition Layers from Micellar Casein and Milk Fat Globule Suspensions onto Ultrafiltration and Microfiltration Membranes », *Journal of Food Engineering* 80.1 : 257-266. doi : 10.1016/j.jfoodeng.2006.05.020.
- Krstic, D. M., M. N. Tekic, M. D. Caric & S. D. Milanovic 2002 « The effect of turbulence promoter on cross-flow microfiltration of skim milk », *Journal of Membrane Science* 208.1-2 : 303-314. doi : 10.1016/s0376-7388(02)00308-3.
- 2004 « Static turbulence promoter in cross-flow microfiltration of skim milk », *Desalination* 163.1-3 : 297-309. doi : 10.1016/s0011-9164(04)90203-2.
- de Kruif, C. G. (Kees) & T. Huppertz 2012 « Casein Micelles: Size Distribution in Milks from Individual Cows », *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60.18 : 4649-4655. doi : 10.1021/jf301397w.
- Kühnl, W., A. Piry, V. Kaufmann, T. Grein, S. Ripperger & U. Kulozik 2010 « Impact of Colloidal Interactions on the Flux in Cross-Flow Microfiltration of Milk at Different PH Values: A Surface Energy Approach », *Journal of Membrane Science* 352.1-2 : 107-115. doi : 10.1016/j.memsci.2010.02.006.
- Lalrinsanga, R. K., N. B. Bejgam & S. Ganguly 2013 « Effect of Pressure Pulsing on Concentration Boundary Layer over Membrane—a Numerical Investigation », *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* 8.4 : 519-526. doi : 10.1002/apj.1690.
- Le Berre, O. & G. Daufin 1996 « Skimmilk crossflow microfiltration performance versus permeation flux to wall shear stress ratio », *Journal of Membrane Science* 117.1-2 : 261-270.
- Leclerc, E. & P. Calmettes 1997 « Structure of β -casein micelles », *Physica B: Condensed Matter* 241-243 : 1141-1143. doi : 10.1016/S0921-4526(97)00850-8.
- Lee, D. J. & C. H. Wang 2000 « Theories of cake filtration and consolidation and implications to sludge dewatering », *Water Research* 34.1 : 1-20. doi : 10.1016/S0043-1354(99)00096-2.

- Lee, H.-R. & Y.-D. Lee 1991 « Mathematical models and experiments for swelling phenomena before dissolution of a polymer film », *Chemical Engineering Science* 46.7 : 1771-1779. doi : 10.1016/0009-2509(91)87023-6.
- Lee, P. I. & N. A. Peppas 1987 « Prediction of polymer dissolution in swellable controlled-release systems », *Journal of Controlled Release* 6.1 : 207-215. doi : 10.1016/0168-3659(87)90077-0.
- Lewis, W. J. T., T. Mattsson, Y. M. J. Chew & M. R. Bird 2017 « Investigation of cake fouling and pore blocking phenomena using fluid dynamic gauging and critical flux models », *Journal of Membrane Science* 533 : 38-47. doi : 10.1016/j.memsci.2017.03.020.
- Li, J., M. Turesson, C. A. Haglund, B. Cabane & M. Skepo 2015 « Equation of state of PEG/PEO in good solvent. Comparison between a one-parameter EOS and experiments », *Polymer* 80 : 205-213. doi : 10.1016/j.polymer.2015.10.056.
- Liu, D. Z., M. G. Weeks, D. E. Dunstan & G. J. O. Martin 2013 « Temperature-dependent dynamics of bovine casein micelles in the range 10–40°C », *Food Chemistry* 141.4 : 4081-4086. doi : 10.1016/j.foodchem.2013.06.130.
- 2014 « Alterations to the composition of casein micelles and retentate serum during ultrafiltration of skim milk at 10 and 40 degrees C », *International Dairy Journal* 35.1 : 63-69. doi : 10.1016/j.idairyj.2013.10.017.
- Liu, W., G. K. Christian, Z. Zhang & P. J. Fryer 2006 « Direct measurement of the force required to disrupt and remove fouling deposits of whey protein concentrate », *International Dairy Journal* 16.2 : 164-172. doi : 10.1016/j.idairyj.2005.02.008.
- Loginov, M., F. Doudiès, N. Hengl, F. Pignon & G. Gésan-Guiziou 2020 « Influence of membrane resistance on swelling and removal of colloidal filter cake after filtration pressure release », *Journal of Membrane Science* 595 : 117498. doi : 10.1016/j.memsci.2019.117498.
- Loginov, M., F. Samper, G. Gésan-Guiziou, T. Sobisch, D. Lerche & E. Vorobiev 2019 « Characterization of membrane fouling via single centrifugal ultrafiltration », *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 94 : 18-23. doi : 10.1016/j.jtice.2017.10.027.
- Lu, W.-M., K.-L. Tung, C.-H. Pan & K.-J. Hwang 2002 « Crossflow microfiltration of mono-dispersed deformable particle suspension », *Journal of Membrane Science* 198.2 : 225-243. doi : 10.1016/S0376-7388(01)00660-3.
- Lucey, J. A. & D. S. Horne 2009 « Milk Salts: Technological Significance », in P. McSweeney & P. F. Fox dir. *Advanced Dairy Chemistry: Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents*, New York, NY : Springer New York : 351-389. doi : 10.1007/978-0-387-84865-5_9.
- Luo, X., L. Ramchandran & T. Vasiljevic 2015 « Lower Ultrafiltration Temperature Improves Membrane Performance and Emulsifying Properties of Milk Protein Concentrates », *Dairy Science & Technology* 95.1 : 15-31. doi : 10.1007/s13594-014-0192-3.
- Marchin, S., J.-L. Putaux, F. Pignon & J. Léonil 2007 « Effects of the Environmental Factors on the Casein Micelle Structure Studied by Cryo Transmission Electron Microscopy and Small-Angle x-Ray Scattering/Ultrasmall-Angle x-Ray Scattering », *The Journal of Chemical Physics* 126.4 : 045101. doi : 10.1063/1.2409933.

- van der Marel, P., A. Zwijnenburg, A. Kemperman, M. Wessling, H. Temmink & W. van der Meer 2009 « An improved flux-step method to determine the critical flux and the critical flux for irreversibility in a membrane bioreactor », *Journal of Membrane Science* 332.1 : 24-29. doi : 10.1016/j.memsci.2009.01.046.
- Martin, C., F. Pignon, A. Magnin, M. Meireles, V. Lelièvre, P. Lindner & B. Cabane 2006 « Osmotic Compression and Expansion of Highly Ordered Clay Dispersions », *Langmuir* 22.9 : 4065-4075. doi : 10.1021/la052605k.
- Martin, G. J. O., R. P. W. Williams & D. E. Dunstan 2007 « Comparison of Casein Micelles in Raw and Reconstituted Skim Milk », *Journal of Dairy Science* 90.10 : 4543-4551. doi : 10.3168/jds.2007-0166.
- Mattsson, T., W. J. T. Lewis, Y. M. J. Chew & M. R. Bird 2015 « In situ investigation of soft cake fouling layers using fluid dynamic gauging », *Food and Bioproducts Processing* 93 : 205-210. doi : 10.1016/j.fbp.2014.09.003.
- 2018 « The use of fluid dynamic gauging in investigating the thickness and cohesive strength of cake fouling layers formed during cross-flow microfiltration », *Separation and Purification Technology* 198 : 25-30. doi : 10.1016/j.seppur.2017.01.040.
- Mauro, A. 1965 « Osmotic Flow in a Rigid Porous Membrane », *Science* 149.3686 : 867-869. doi : 10.1126/science.149.3686.867.
- McMahon, D. J. & R. J. Brown 1984 « Composition, Structure, and Integrity of Casein Micelles: A Review1 », *Journal of Dairy Science* 67.3 : 499-512. doi : 10.3168/jds.S0022-0302(84)81332-6.
- McMahon, D. J. & W. R. McManus 1998 « Rethinking Casein Micelle Structure Using Electron Microscopy1 », *Journal of Dairy Science* 81.11 : 2985-2993. doi : 10.3168/jds.S0022-0302(98)75862-X.
- McMahon, D. J. & B. S. Oommen 2008 « Supramolecular Structure of the Casein Micelle », *Journal of Dairy Science* 91.5 : 1709-1721. doi : 10.3168/jds.2007-0819.
- Menut, P., S. Seiffert, J. Sprakel & D. A. Weitz 2012 « Does Size Matter? Elasticity of Compressed Suspensions of Colloidal- and Granular-Scale Microgels », *Soft Matter* 8.1 : 156-164. doi : 10.1039/C1SM06355C.
- Mickaily, E. S. & S. Middleman 1993 « Hydrodynamic Cleaning of a Viscous Film from the inside of a Long Tube », *AIChE Journal* 39.5 : 885-893. doi : 10.1002/aic.690390517.
- Morris, G. A., T. J. Foster & S. E. Harding 2000 « Further Observations on the Size, Shape, and Hydration of Casein Micelles from Novel Analytical Ultracentrifuge and Capillary Viscometry Approaches », *Biomacromolecules* 1.4 : 764-767.
- Motsa, M. M., B. B. Mamba, A. D'Haese, E. M. V. Hoek & A. R. D. Verliefde 2014 « Organic fouling in forward osmosis membranes: The role of feed solution chemistry and membrane structural properties », *Journal of Membrane Science* 460 : 99-109. doi : 10.1016/j.memsci.2014.02.035.
- Motsa, M. M., B. B. Mamba, J. M. Thwala & A. R. D. Verliefde 2017 « Osmotic backwash of fouled FO membranes: Cleaning mechanisms and membrane surface properties after cleaning », *Desalination* 402 : 62-71. doi : 10.1016/j.desal.2016.09.018.

- Murase, T., M. Iwata & T. Adachi 1990 « Expansion of Inhomogeneous Cake after Release of Load », *JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING OF JAPAN* 23.1 : 108-110. doi : 10.1252/jcej.23.108.
- Murase, T., M. Iwata, T. Adachi & M. Wakita 1989a « Stress Relaxation of Expressed Cake », *JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING OF JAPAN* 22.6 : 655-659. doi : 10.1252/jcej.22.655.
- Murase, T., M. Iwata, M. Wakita, T. Adachi, N. Hayashi & M. Shirato 1989b « Expansion of Consolidated Material after Release of Load », *JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING OF JAPAN* 22.2 : 195-199. doi : 10.1252/jcej.22.195.
- Nair, P. K., M. Alexander, D. G. Dalgleish & M. Corredig 2014 « Physico-Chemical Properties of Casein Micelles in Unheated Skim Milk Concentrated by Osmotic Stressing: Interactions and Changes in the Composition of the Serum Phase », *Food Hydrocolloids* 34 : 46-53. doi : 10.1016/j.foodhyd.2013.01.001.
- Nair, P. K., D. G. Dalgleish & M. Corredig 2013 « Colloidal Properties of Concentrated Heated Milk », *Soft Matter* 9.14 : 3815. doi : 10.1039/c2sm27540f.
- Nakanishi, K. & H.-G. Kessler 1985 « Rinsing Behavior of Deposited Layers Formed on Membranes in Ultrafiltration », *Journal of Food Science* 50.6 : 1726-1731. doi : 10.1111/j.1365-2621.1985.tb10575.x.
- Ng, K. S. Y., D. E. Dunstan & G. J. O. Martin 2018 « Influence of processing temperature on flux decline during skim milk ultrafiltration », *Separation and Purification Technology* 195 : 322-331. doi : 10.1016/j.seppur.2017.12.029.
- Nöbel, S., C. Kern, A. Sonne, B. Bähler & J. Hinrichs 2016 « Apparent Voluminosity of Casein Micelles in the Temperature Range 35–70 °C », *International Dairy Journal* 59 : 80-84. doi : 10.1016/j.idairyj.2016.03.010.
- Nöbel, S., K. Weidendorfer & J. Hinrichs 2012 « Apparent voluminosity of casein micelles determined by rheometry », *Journal of Colloid and Interface Science* 386 : 174-180. doi : 10.1016/j.jcis.2012.07.075.
- O'Connell, J. E., V. Ya. Grinberg & C. G. de Kruif 2003 « Association behavior of β -casein », *Journal of Colloid and Interface Science* 258.1 : 33-39. doi : 10.1016/S0021-9797(02)00066-8.
- Oldfield, D. J., M. W. Taylor & H. Singh 2005 « Effect of preheating and other process parameters on whey protein reactions during skim milk powder manufacture », *International Dairy Journal* 15.5 : 501-511. doi : 10.1016/j.idairyj.2004.09.004.
- Olivier, J., J. Vaxelaire & E. Vorobiev 2007 « Modelling of Cake Filtration: An Overview », *Separation Science and Technology* 42.8 : 1667-1700. doi : 10.1080/01496390701242186.
- Ouanezar, M., F. Guyomarc'h & A. Bouchoux 2012 « AFM Imaging of Milk Casein Micelles: Evidence for Structural Rearrangement upon Acidification », *Langmuir* 28.11 : 4915-4919. doi : 10.1021/la3001448.
- Parneix, C., J. Persello, R. Schweins & B. Cabane 2009 « How Do Colloidal Aggregates Yield to Compressive Stress? », *Langmuir* 25.8 : 4692-4707. doi : 10.1021/la803627z.
- Parsegian, V. A., R. P. Rand, N. L. Fuller & D. C. Rau 1986 « Osmotic stress for the direct measurement of intermolecular forces », *Methods in Enzymology* : 400-416.

- Payens, T. A. J. & B. W. Van Markwijk 1963 « Some Features of the Association of β -Casein », *Biochimica et Biophysica Acta* 71 : 517-530. doi : 10.1016/0006-3002(63)91124-7.
- Pierre, A. & G. Brule 1981 « Mineral and Protein Equilibria between the Colloidal and Soluble Phases of Milk at Low Temperature », *Journal of Dairy Research* 48.3 : 417-428. doi : 10.1017/S0022029900021890.
- Pignon, F., M. Abyan, C. David, A. Magnin & M. Sztucki 2012 « In Situ Characterization by SAXS of Concentration Polarization Layers during Cross-Flow Ultrafiltration of Laponite Dispersions », *Langmuir* 28.2 : 1083-1094. doi : 10.1021/la201492z.
- Pignon, F., G. Belina, T. Narayanan, X. Paubel, A. Magnin & G. Gésan-Guizieu 2004 « Structure and Rheological Behavior of Casein Micelle Suspensions during Ultrafiltration Process », *The Journal of Chemical Physics* 121.16 : 8138. doi : 10.1063/1.1800931.
- Pitkowski, A., T. Nicolai & D. Durand 2008 « Scattering and Turbidity Study of the Dissociation of Casein by Calcium Chelation », *Biomacromolecules* 9.1 : 369-375. doi : 10.1021/bm7006899.
- Pouliot, Y. 2008 « Membrane processes in dairy technology—From a simple idea to worldwide panacea », *International Dairy Journal* 18.7 : 735-740. doi : 10.1016/j.idairyj.2008.03.005.
- Provencher, S. W. 1982 « CONTIN: a general purpose constrained regularization program for inverting noisy linear algebraic and integral equations » 27 : 229-242.
- Qin, J.-J., B. Liberman, K. A. Kekre & A. Gossan 2009 « Direct Osmosis for Reverse Osmosis Fouling Control: Principles, Applications and Recent Developments », *The Open Chemical Engineering Journal* 3.1. doi : 10.2174/1874123100903010008.
- Qu, P., A. Bouchoux & G. Gésan-Guizieu 2015 « On the Cohesive Properties of Casein Micelles in Dense Systems », *Food Hydrocolloids* 43 : 753-762. doi : 10.1016/j.foodhyd.2014.08.005.
- Qu, P., G. Gésan-Guizieu & A. Bouchoux 2012 « Dead-End Filtration of Sponge-like Colloids: The Case of Casein Micelle », *Journal of Membrane Science* 417-418 : 10-19. doi : 10.1016/j.memsci.2012.06.003.
- Rabiller-Baudry, M., D. Delaunay, L. Paugam, L. Bégoïn & B. Chaufer 2006 « Role of physico-chemical and hydrodynamic aspects in cleaning of spiral PES ultrafiltration membranes of dairy industry », *Desalination* 199.1 : 390-392. doi : 10.1016/j.desal.2006.03.210.
- Ranade, V. V. & R. A. Mashelkar 1995 « Convective Diffusion from a Dissolving Polymeric Particle », *AIChE Journal* 41.3 : 666-676. doi : 10.1002/aic.690410323.
- Rand, R. P. (n.d.) « Rand osmotic data PEG 20K », *Rand data polyethylene glycol MW 20,000*. [En ligne] : <https://scholars.huji.ac.il/danielharries/book/peg-20k>.
- Regnault, S., M. Thiebaud, E. Dumay & J. C. Cheftel 2004 « Pressurisation of raw skim milk and of a dispersion of phosphocaseinate at 9°C or 20°C: effects on casein micelle size distribution », *International Dairy Journal* 14.1 : 55-68. doi : 10.1016/S0958-6946(03)00144-4.
- Rey, C., N. Hengl, S. Baup, M. Karrouch, A. Dufresne, H. Djeridi, R. Dattani & F. Pignon 2019 « Velocity, stress and concentration fields revealed by micro-PIV and SAXS within concentration

polarization layers during cross-flow ultrafiltration of colloidal Laponite clay suspensions », *Journal of Membrane Science* 578 : 69-84. doi : 10.1016/j.memsci.2019.02.019.

Rosner, D. E. 1969 « Lifetime of a highly soluble dense spherical particle », *The Journal of Physical Chemistry* 73.2 : 382-387. doi : 10.1021/j100722a019.

Ruiz-Sala, P., M. T. G. Hierro, I. Martínez-Castro & G. Santa-María 1996 « Triglyceride Composition of Ewe, Cow, and Goat Milk Fat », *Journal of the American Oil Chemists' Society* 73.3 : 283-293. doi : 10.1007/BF02523421.

Sagiv, A. & R. Semiat 2010 « Modeling of backwash cleaning methods for RO membranes », *Desalination* 261.3 : 338-346. doi : 10.1016/j.desal.2010.04.054.

Saikhwan, P., R. Mercadé-Prieto, Y. M. J. Chew, S. Gunasekaran, W. R. Paterson & D. I. Wilson 2010 « Swelling and dissolution in cleaning of whey protein gels », *Food and Bioproducts Processing* 88.4 : 375-383. doi : 10.1016/j.fbp.2010.09.006.

Schmidt, DG. 1982 « Association of caseins and casein micelle structure », *Developments in Dairy Chemistry*. [En ligne] : <https://ci.nii.ac.jp/naid/10020389085/>.

Schork, N., S. Schuhmann, F. Arndt, S. Schütz, G. Guthausen & H. Nirschl 2018 « MRI investigations of filtration: Fouling and cleaning processes », *Microporous and Mesoporous Materials* 269 : 60-64. doi : 10.1016/j.micromeso.2017.05.042.

Seth, J. R., M. Cloitre & R. T. Bonnecaze 2008 « Influence of short-range forces on wall-slip in microgel pastes », *Journal of Rheology* 52.5 : 1241-1268. doi : 10.1122/1.2963135.

Shipe, W. F., R. Bassette, D. D. Deane, W. L. Dunkley, E. G. Hammond, W. J. Harper, D. H. Kleyn, M. E. Morgan, J. H. Nelson & R. A. Scanlan 1978 « Off Flavors of Milk: Nomenclature, Standards, and Bibliography¹ », *Journal of Dairy Science* 61.7 : 855-869. doi : 10.3168/jds.S0022-0302(78)83662-5.

Shirato, M., T. Murase, N. Hayashi & T. Fukushima 1977 « Constant Pressure Expression of Solid-Liquid Mixtures with Medium Resistance », *JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING OF JAPAN* 10.2 : 154-159. doi : 10.1252/jcej.10.154.

Shirato, M., T. Murase, E. Iritani & S. Nakatsuka 1991 « Experimental analysis of flux decline mechanism of batch ultrafiltration (filtration characteristics of gel layer) », *Filtration & Separation* 28.2 : 104-109. doi : 10.1016/0015-1882(91)80317-X.

Shirato, M., T. Murase, M. Negawa & H. Moridera 1971 « Analysis of Expression Operations », *JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING OF JAPAN* 4.3 : 263-268. doi : 10.1252/jcej.4.263.

Slattery, C. W. & R. Evard 1973 « A model for the formation and structure of casein micelles from subunits of variable composition », *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure* 317.2 : 529-538. doi : 10.1016/0005-2795(73)90246-8.

Soodak, H. & A. Iberall 1979 « Forum on osmosis. IV. More on osmosis and diffusion », *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 237.3 : R114-R122. doi : 10.1152/ajpregu.1979.237.3.R114.

- Steinhauer, T., J. Lonfat, I. Hager, R. Gebhardt & U. Kulozik 2015 « Effect of pH, transmembrane pressure and whey proteins on the properties of casein micelle deposit layers », *Journal of Membrane Science* 493 : 452-459. doi : 10.1016/j.memsci.2015.06.007.
- Sudre, G., L. Olanier, Y. Tran, D. Hourdet & C. Creton 2012 « Reversible Adhesion between a Hydrogel and a Polymer Brush », *Soft Matter* 8.31 : 8184-8193. doi : 10.1039/C2SM25868D.
- Swaigood, H. E. 2003 « Chemistry of the Caseins », in P. F. Fox & P. L. H. McSweeney dir. *Advanced Dairy Chemistry—1 Proteins: Part A / Part B*, Boston, MA : Springer US : 139-201. doi : 10.1007/978-1-4419-8602-3_3.
- Tan, K. T., B. D. Vogt, C. C. White, K. L. Steffens, J. Goldman, S. K. Satija, C. Clerici & D. L. Hunston 2008 « On the Origins of Sudden Adhesion Loss at a Critical Relative Humidity: Examination of Bulk and Interfacial Contributions », *Langmuir* 24.17 : 9189-9193. doi : 10.1021/la800632r.
- Tanaka, T. & D. J. Fillmore 1979 « Kinetics of swelling of gels », *The Journal of Chemical Physics* 70.3 : 1214-1218. doi : 10.1063/1.437602.
- Tien, C. 2012 *Principles of Filtration*, Elsevier.
- Tiller, F. M. & J. H. Kwon 1998 « Role of Porosity in Filtration: XIII. Behavior of Highly Compactible Cakes », *AIChE Journal* 44.10 : 2159-2167. doi : 10.1002/aic.690441005.
- Tiller, F. M. & C. S. Yeh 1987 « The Role of Porosity in Filtration. Part XI: Filtration Followed by Expression », *AIChE Journal* 33.8 : 1241-1256. doi : 10.1002/aic.690330803.
- Tong, P. S., D. M. Barbano & M. A. Rudan 1988 « Characterization of Proteinaceous Membrane Fouling and Flux Decline During the Early Stages of Whole Milk Ultrafiltration », *Journal of Dairy Science* 71.3 : 604-612. doi : 10.3168/jds.S0022-0302(88)79597-1.
- Tow, E. W., M. M. Rencken & J. H. Lienhard 2016 « In situ visualization of organic fouling and cleaning mechanisms in reverse osmosis and forward osmosis », *Desalination* 399 : 138-147. doi : 10.1016/j.desal.2016.08.024.
- Trejo, R., T. Dokland, J. Jurat-Fuentes & F. Harte 2011 « Cryo-transmission electron tomography of native casein micelles from bovine milk », *Journal of Dairy Science* 94.12 : 5770-5775. doi : 10.3168/jds.2011-4368.
- Tung, K.-L., S. Wang, W.-M. Lu & C.-H. Pan 2001 « In situ measurement of cake thickness distribution by a photointerrupt sensor », *Journal of Membrane Science* 190.1 : 57-67. doi : 10.1016/S0376-7388(01)00417-3.
- Valois, P., E. Verneuil, F. Lequeux & L. Talini 2016 « Understanding the Role of Molar Mass and Stirring in Polymer Dissolution », *Soft Matter* 12.39 : 8143-8154. doi : 10.1039/C6SM01206J.
- Vetier, C., M. Bannasar, B. T. D. L. Fuente & G. Nabias 1986 « Etude des interactions entre constituants du lait et membranes minérales de microfiltration », *Le Lait* 66.3 : 269-287. doi : 10.1051/lait:1986316.
- Vinther, F., M. Pinelo, M. Brøns, G. Jonsson & A. S. Meyer 2014 « Predicting optimal back-shock times in ultrafiltration hollow fibre modules through path-lines », *Journal of Membrane Science* 470 : 275-293. doi : 10.1016/j.memsci.2014.07.031.

- Vorobiev, E. 2006 « Derivation of filtration equations incorporating the effect of pressure redistribution on the cake–medium interface: A constant pressure filtration », *Chemical Engineering Science* 61.11 : 3686-3697. doi : 10.1016/j.ces.2006.01.010.
- Vreeman, H. J., J. A. Brinkhuis & C. A. Van Der Spek 1981 « Some association properties of bovine SH-k-casein », *Biophysical Chemistry* 14.2 : 185-193. doi : 10.1016/0301-4622(81)85018-1.
- Walstra, P. 1990 « On the Stability of Casein Micelles », *Journal of Dairy Science* 73.8 : 1965-1979. doi : 10.3168/jds.S0022-0302(90)78875-3.
- 1999 « Casein sub-micelles: do they exist? », *International Dairy Journal* 9.3 : 189-192. doi : 10.1016/S0958-6946(99)00059-X.
- Walstra, P., J. T. M. Wouters & T. J. Geurts 2005 *Dairy Science and Technology*, CRC Press. doi : 10.1201/9781420028010.
- Wang, Q. & X. Zhao 2015 « A Three-Dimensional Phase Diagram of Growth-Induced Surface Instabilities », *Scientific Reports* 5 : 8887. doi : 10.1038/srep08887.
- Waugh, D. F. 1958 « The Interactions of As- β - and κ -Caseins in Micelle Formation », *Discussions of the Faraday Society* 25.0 : 186-192. doi : 10.1039/DF9582500186.
- Wemsy Diagne, N., M. Rabiller-Baudry & L. Paugam 2013 « On the actual cleanability of polyethersulfone membrane fouled by proteins at critical or limiting flux », *Journal of Membrane Science* 425-426 : 40-47. doi : 10.1016/j.memsci.2012.09.001.
- White, C., K. T. Tan, D. Hunston, K. Steffens, D. L. Stanley, S. K. Satija, B. Akgun & B. D. Vogt 2015 « Mechanisms of Criticality in Environmental Adhesion Loss », *Soft Matter* 11.20 : 3994-4001. doi : 10.1039/C4SM02725F.
- Xin, H., X. D. Chen & N. Özkan 2002 « Cleaning Rate in the Uniform Cleaning Stage for Whey Protein Gel Deposits », *Food and Bioproducts Processing* 80.4 : 240-246. doi : 10.1205/096030802321154727.
- Xin, H., X. D. Chen & N. Özkan 2004 « Removal of a Model Protein Foulant from Metal Surfaces », *AIChE Journal* 50.8 : 1961-1973. doi : 10.1002/aic.10149.
- Yamakawa, H. 1971 *Modern Theory of Polymer Solutions*, Harper & Row. [En ligne] : <https://repository.kulib.kyoto-u.ac.jp/dspace/handle/2433/50527>.
- Yang, S., K. Khare & P.-C. Lin 2010 « Harnessing Surface Wrinkle Patterns in Soft Matter », *Advanced Functional Materials* 20.16 : 2550-2564. doi : 10.1002/adfm.201000034.
- Youravong, W., M. J. Lewis & A. S. Grandison 2003 « Critical Flux in Ultrafiltration of Skimmed Milk », *Food and Bioproducts Processing* 81.4 : 303-308. doi : 10.1205/09603080322756385.
- Zhang, W., L. Ding, M. Y. Jaffrin & B. Tang 2017 « Membrane cleaning assisted by high shear stress for restoring ultrafiltration membranes fouled by dairy wastewater », *Chemical Engineering Journal* 325 : 457-465. doi : 10.1016/j.cej.2017.05.076.
- Zhou, M., H. Sandström, M.-P. Belioka, T. Pettersson & T. Mattsson 2019 « Investigation of the cohesive strength of membrane fouling layers formed during cross-flow microfiltration: The effects of

pH adjustment on the properties and fouling characteristics of microcrystalline cellulose », *Chemical Engineering Research and Design* 149 : 52-64. doi : 10.1016/j.cherd.2019.06.037.

AFNOR Norme française NF V04-348 1978 *Lait sec - Détermination de la teneur en eau - Méthode par étuvage. Norme française NF V04-348*, AFNOR.

AFNOR Norme française NF V04-208 1989 *Lait - Détermination des cendres - Méthode de référence. Norme française NF V04-208*, AFNOR.

International IDF Standard 20B 1990 *International IDF Standard 20B:1993: Milk : Determination of Nitrogen Content : Inspection by Attributes*, IDF.

Annexes

Annexe 1 : Données expérimentales de pression osmotique de PEG dans de l'eau

Ces données ont été utilisées dans le chapitre II et en matériel et méthodes des chapitres III et IV en tant que « Supporting information ».

The following data are reported verbatim from the website:

<https://scholars.huji.ac.il/danielharries/book/peg-20k>

Data were measured in the laboratory of R. Peter Rand, Department of Biological Sciences, Brock University, St. Catharines, Ontario, Canada. All measurements reported here were done at 20 °C except when it is noticed.

The molecular weights are nominal.

polyethylene glycol MW 20,000

wt%	log P (dynes/cm ²)
1.5	4.59
2.9	4.98
3.6	5.15
4.7	5.34
5.8	5.55
6.3	5.63
7.1	5.76
9.0	5.89
12.1	6.08
13.1	6.18
14.2	6.29
16.0	6.47
18.3	6.70
18.8	6.68
20.8	6.77
21.6	6.83
22.2	6.83
22.8	6.94
19.0	6.68
22.1	6.83
23.7	6.93
25.0	6.94
26.2	7.03
28.8	7.11
32.7	7.26
34.8	7.34
35.6	7.32
38.0	7.45
39.5	7.48
41.7	7.54

43.2	7.59
45.5	7.67
47.5	7.73

polyethylene glycol MW 20,000

At a Temperature of 7-8 degrees C

wt%	log P (dynes/cm ²)
15.3	6.56
17.8	6.75
18.3	6.79
19.5	6.82
20.8	6.91
21.3	6.92
22.9	6.99
23.2	7.00
24.3	7.04

Annexe 2 : Comparaisons des turbidités et des distributions de taille selon les différents processus adoptés en Chapitre IV effectués sur les surnageants après 240 h de re-dispersion de gel.

La Figure AN.2.1 présente les turbidités en fonction de la longueur d'onde des surnageants après 240 h de re-dispersion des différents gels préparés sous différentes conditions à différentes concentrations.

Toutes les courbes suivent plus ou moins la loi puissance en -2.8 ce qui signifie que les objets libérés par les gels lors des redispersions sont des micelles de caséines d'une forme et d'une structure globalement identiques aux micelles de caséine « natives ». Les seuls surnageants qui ne suivaient pas une loi puissance sont ceux qui n'ont pas de courbes, les surnageants des redispersions des gels les plus concentrés (Figure AN.2.1b et d) car ces gels n'ont libéré que peu d'objets et sont restés assez cohésifs (cf. Chapitre IV).

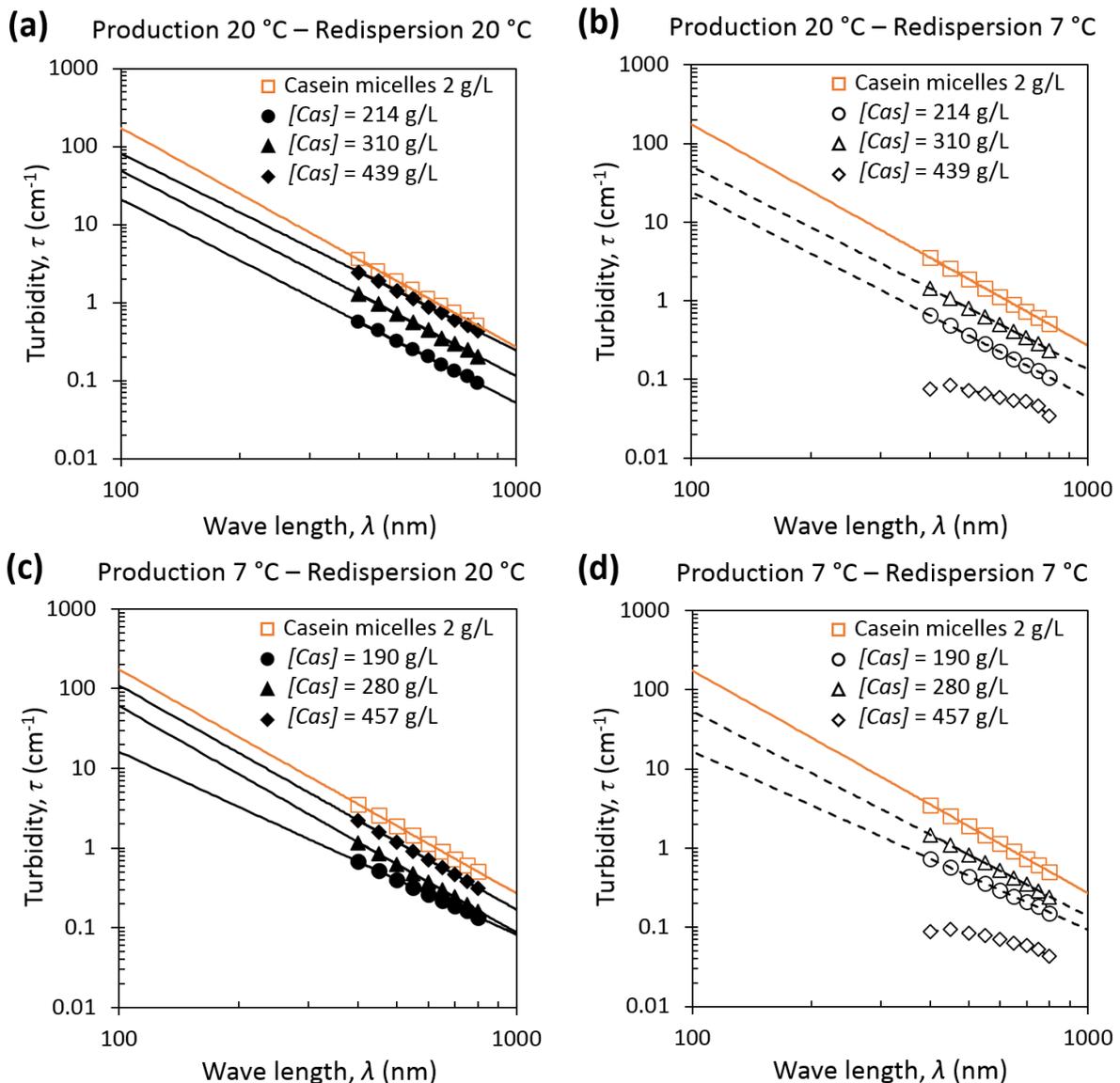


Figure AN.2.1. Turbidity-wavelength relations from supernatants after cohesion tests performed with gels prepared (a) at 20 °C and re-dispersed at 20 °C; (b) at 20 °C and re-dispersed at 7 °C; (c) at 7 °C and re-dispersed at 20 °C and (d) at 7 °C and re-dispersed at 7 °C. The straight lines have slope ~ -2.8 .

La Figure AN.2.2 montre les distributions de taille des surnageants après re-dispersion pendant 240 h de gels préparés sous différentes conditions à différentes concentrations.

Toutes les distributions de taille ressemblent beaucoup à la distribution de taille de la dispersion de micelles de caséine « natives » signifiant que les objets libérés par les gels lors de leur re-dispersion sont des objets globalement identiques à des micelles de caséine « natives ».

Il est cependant à remarquer que pour les gels fabriqués et redispersés à 7 °C, la distribution de taille montre la présence de plus petits objets autour de 30 nm qui sont probablement des agrégats de caséine β qui sont libérés à 7 °C.

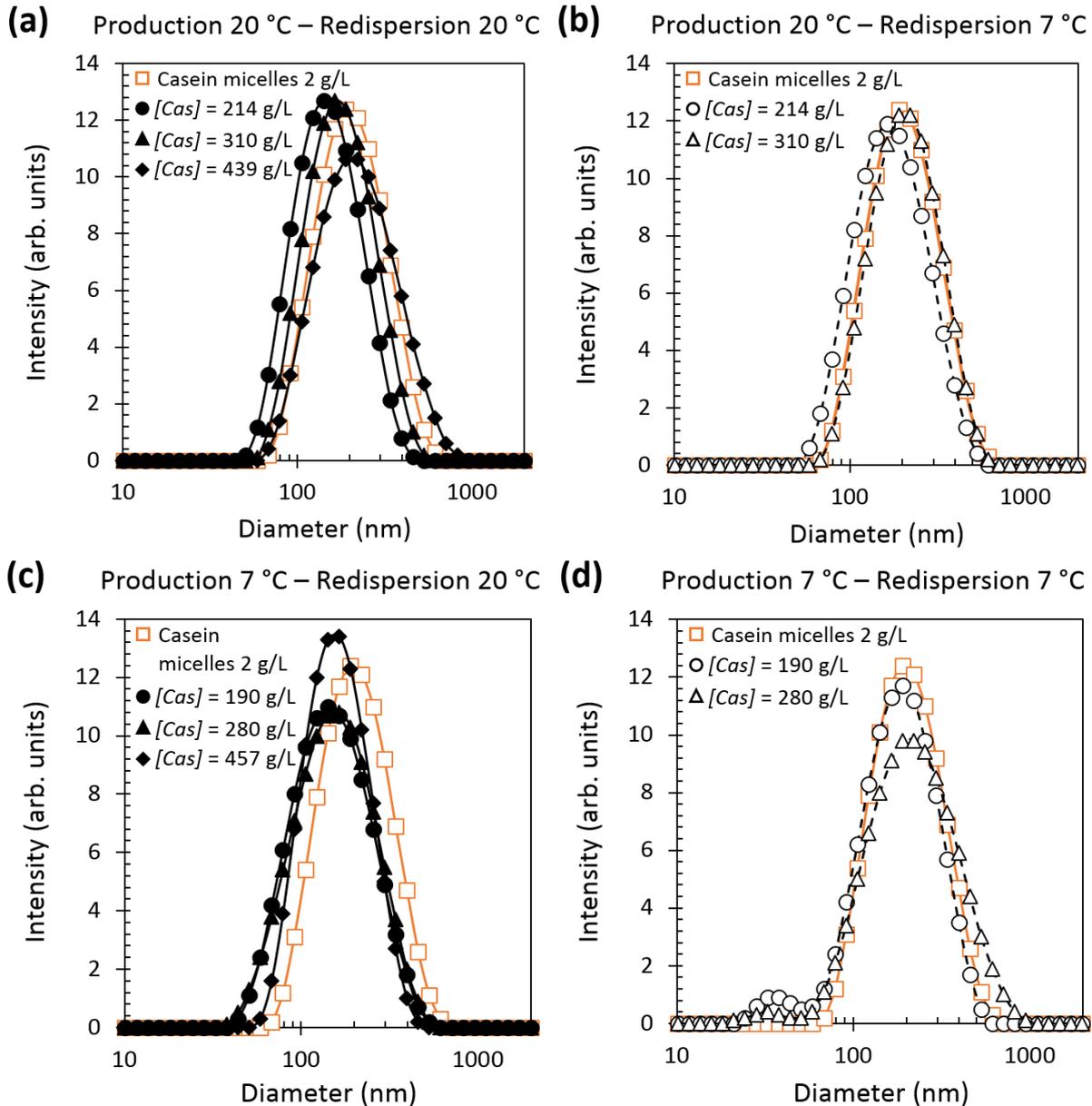


Figure AN.2.2. Size distributions from supernatants after cohesion tests performed with gels prepared (a) at 20 °C and re-dispersed at 20 °C; (b) at 20 °C and re-dispersed at 7 °C; (c) at 7 °C and re-dispersed at 20 °C and (d) at 7 °C and re-dispersed at 7 °C. The curves serve as a guide to the eye.

Annexe 3 : Cette annexe présente un modèle de l'état stationnaire lors de la filtration tangentielle.

Annex A. LGB model of steady-state cross-flow filtration

This Annex is devoted to description of a steady-state cross-flow filtration of colloidal suspension that results in formation of concentration polarization (CP) layer that is optionally followed by formation of compressible deposit (a gel having a yield stress that exceeds an applied wall shear stress). Local solid concentration c and local permeability k of the CP layer and the gel can depend on local osmotic pressure Π (in the CP layer) or local solid compressive pressure p_s (in the gel). The CP layer can exhibit concentration-dependent non-Newtonian rheological behavior, which means that $\dot{\gamma} = \dot{\gamma}(c, \tau)$, where $\dot{\gamma}$ is a shear rate and τ is a shear stress.

A1. Model derivation

The current model derivation follows a general approach used in the model of Gaddis (1992) and Bacchin *et al.* (2002); however, the current model extends the applicability of the Gaddis' and Bacchin's models to the case of non-Newtonian CP layer. It called below LGB model.

The following assumptions, which are usual in cross-flow filtration modeling, were used for the model derivation:

- (1) steady-state filtration is considered;
- (2) the cross-flow is fully developed;
- (3) filtration membrane is a continuum with a constant hydraulic resistance;
- (4) the membrane is fully retentive for colloidal solid;
- (5) pore blocking and other "pore fouling" phenomena are not considered; if they are present, in the following equations the value clean membrane resistance must be replaced by that of fouled membrane resistance (that does not comprise the CP and gel resistance);
- (6) thickness of CP layer (and that of the gel) is negligible as compared to the filter channel dimensions;
- (7) in the CP layer, tangential gradients of cross-flow rate and particle concentration are negligible as compared to respective normal gradients (consequence of assumption (6));
- (8) local values of material properties are unique functions of solid concentration (permeability $k(c)$ and osmotic pressure $\Pi(c)$ or compressive solid pressure $p_s(c)$), these material properties are not affected by tangential flow; while local rheological properties are defined by local concentration and local shear stress;
- (9) the filtrate flux is negligible as compared to the cross-flow flux; therefore, the filtration pressure gradient is practically constant along the filter channel;
- (10) the shear stress across the CP layer is constant and equal to the wall shear stress τ_w (consequence of assumption (6)); the latter is constant along the filter channel (consequence of assumptions (2) and (9));
- (11) for given distance from the filter cell entrance x , the filtrate flux is constant across the CP layer, the gel and the membrane.
- (12) the filtrate permeation across the CP layer can be described by Darcy equation.

Following equations are obtained for filtration channel with simple geometry (straight filter channel with smooth membrane).

Fig. A1.

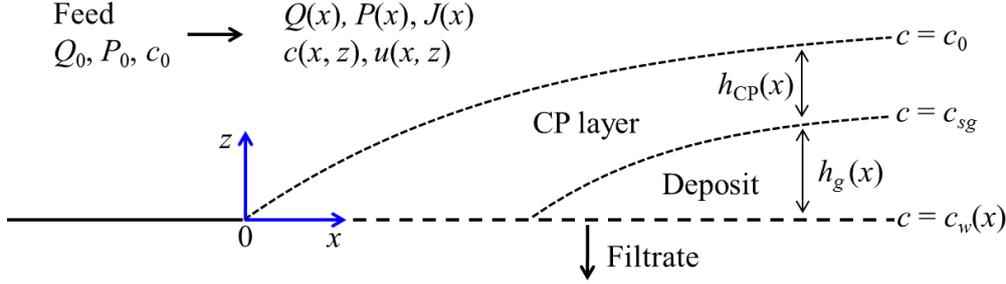


Figure AN.3.A1. Explanatory scheme for the model of cross-flow filtration with external membrane fouling: filtration of a feed suspension with colloidal solid concentration $c = c_0$ through a fully retentive membrane results in formation of filtrate ($c = 0$) and CP layer with the thickness $h_{CP}(x)$ and local concentration $c(x, z) > c_0$ followed by formation of a gel (deposit) with the thickness $h_g(x)$ and local concentration $c(x, z) > c_{sg}$, where c_{sg} is a concentration of sol-gel transition. Local particle concentration on the membrane surface is denoted as $c_m(x)$.

At a steady state, there is no additional particle accumulation inside the filter channel (neither the particle redistribution between the flowing CP layer and the immobile gel (deposit)). The total flux of particles across a transverse section of the filter channel at any distance from the entrance x is equal to the total particle flux at the entrance of the filter channel $Q_0 c_0 / \rho_s$, where Q_0 is the average tangential flow rate at the entrance to the filter channel (at $x = 0$), c_0 is the solid concentration in feed suspension, and ρ_s is the solid density.

Filtration results in a gradual concentrating of particles in the CP layer, where $c(x, z) > c_0$. Following the idea of Gaddis (1992) and Bacchin *et al.* (2002), the total particle flux across a transverse section of the filter channel at any distance from the entrance x is presented as a sum of two virtual components: (1) tangential transport of excess particles in the flowing CP layer and (2) transport of suspension having the initial particle volume fraction c_0 . Therefore, the total transport of particles through any cross section of the filter channel can be written as

$$Q_0 c_0 = a \int_{h_g(x)}^{h_{CP}(x)+h_g(x)} u(x, z) (c(x, z) - c_0) dz + Q(x) c_0 \quad (\text{A1})$$

where $u(x, z)$ is the local tangential flow rate of liquid and particles, $Q(x)$ is the average tangential flow rate through the entire cross section of the channel (including the CP layer), and a is a length of the membrane part of the perimeter of a cross-section of the filter channel (e.g., $a = 2\pi R$ in the case of cylindrical filter channel and $a = 4$ mm in the case of presented SAXS-filtration experiments). The integration in Eq. (A1) is done over the local thickness of CP layer $h_{CP}(x)$, and the lower integration limit $h_g(x)$ is the local gel thickness ($h_g(x) = 0$, if the gel is absent at given x).

Using the definition of shear rate $\dot{\gamma}$, the local tangential flow rate $u(x, z)$ can be presented as

$$u(x, z) = \int_{h_g(x)}^z \dot{\gamma}(x, z) dz \quad (\text{A2})$$

where $\dot{\gamma}(x, z)$ is the normal component of local shear rate (according to assumption (7), its tangential component is neglected). It is assumed that there is no liquid slip at the CP–solid (membrane or gel) boundary.

Further description of particle transport in the CP layer requires the knowledge of its local rheological properties (i.e., shear stress dependence of shear rate at a given particle concentration). In accordance with the model assumptions (8) and (10), in the CP layer

$$\dot{\gamma} = \dot{\gamma}(c, \tau_w) \quad (\text{A3})$$

Therefore, the modeling of filtration requires to determine the local rheological properties in this layer (defined via Eq. (A3)) for a single value of τ_w . For a given value of τ_w , known (either modeled or experimentally measured) dependency $\dot{\gamma}(c, \tau_w)$, can be introduced into Eq. (A2)

$$u(x, z) = \int_{h_g(x)}^z \dot{\gamma}(c, \tau_w) dz \quad (\text{A4})$$

where $c = c(x, z)$ is unknown.

An extension of the usual assumption of conventional filtration theory (assumption (11)) for the case of cross-flow filtration with CP layer formation allows to apply Darcy equation in order to relate the local filtrate flux with local filtration properties of CP layer and gel:

$$\mu_f J(x) = -k(x, z) \frac{d\Pi(x, z)}{dz} \quad (\text{A5})$$

where μ_f is the filtrate viscosity, $k(x, z)$ is the local hydraulic permeability and $\Pi(x, z)$ is the local osmotic pressure in the CP layer (or the solid pressure in the gel, as it is discussed by Loginov *et al.* (2020)). Eq. (A5) is applied for description of gel (immobile) and CP layer (flowing): in the current model, usual presentation of filtrate percolation across the CP layer as a backward diffusion of particles (Gaddis 1992 ; Bacchin *et al.* 2002) is replaced by Darcy equation, where osmotic pressure substitutes for compressive solid pressure.

In accordance with assumption (8), Eq. (A5) can be rewritten as

$$\mu_f J(x) = -k(c) \frac{\partial \Pi(c)}{\partial c} \cdot \frac{dc}{dz} \quad (\text{A6})$$

where $c = c(x, z)$ is unknown.

The following model derivation is equivalent to that done by Bacchin *et al.* (2002). Expression of dz from Eq. (A6)

$$dz = -\frac{k(c)}{\mu_f J(x)} \cdot \frac{\partial \Pi(c)}{\partial c} dc \quad (\text{A7})$$

with its following substitution into Eq. (A4) yields

$$u(x, z) = -\frac{1}{\mu_f J(x)} \int_{h_g(x)}^z \dot{\gamma}(c, \tau) \cdot k(c) \cdot \frac{\partial \Pi(c)}{\partial c} dc \quad (\text{A8})$$

Substitution of Eqs. (A7) and (A8) into Eq. (A1) yields

$$Q_0 c_0 = \frac{a}{\mu_f^2 J(x)^2} \int_{h_g(x)}^{h_g(x)+h_{CP}(x)} (c - c_0) k(c) \frac{\partial \Pi(c)}{\partial c} \left[\int_{h_g(x)}^z \dot{\gamma}(c, \tau_w) k(c) \frac{\partial \Pi(c)}{\partial c} dc \right] dc + Q(x) c_0 \quad (\text{A9})$$

The upper limit of the first integral in Eq. (A9) corresponds to the boundary between the CP layer and the bulk suspension, where $c = c_0$ (it is also assumed that relatively low filtrate flux has no significant influence on the bulk concentration). The lower integration limit $h_g(x)$ corresponds to the “lower” boundary of CP layer. Therefore, when the gel is absent, it corresponds to the membrane surface position, where $c = c_m(x)$. When the gel is present on the membrane, it corresponds to the CP layer–

gel surface position, where $c = c_{sg}$. The particle concentration in the point of sol-gel transition c_{sg} does not depend on x but depends on τ_w (assumption (8)) (i.e., an element of external membrane fouling layer flows, so, belongs sol and not to gel, if its local particle concentration corresponds to the yield stress, which is lower than the wall shear stress τ_w). Hence, Eq. (A9) can be rewritten as

$$Q(x) = Q_0 - \frac{a}{c_0 \mu_f^2 J(x)^2} \int_{c_0}^{c_w(x)} (c - c_0) k(c) \frac{\partial \Pi(c)}{\partial c} \left[\int_c^{c_m(x)} \dot{\gamma}(c, \tau_w) k(c) \frac{\partial \Pi(c)}{\partial c} dc \right] dc \quad (\text{A10a})$$

for values of x corresponding to the membrane covered by flowing CP layer, or

$$Q(x) = Q_0 - \frac{a}{c_0 \mu_f^2 J(x)^2} \int_{c_0}^{c_{sg}} (c - c_0) k(c) \frac{\partial \Pi(c)}{\partial c} \left[\int_c^{c_{sg}} \dot{\gamma}(c, \tau_w) k(c) \frac{\partial \Pi(c)}{\partial c} dc \right] dc \quad (\text{A10b})$$

for values of x corresponding to the membrane covered by solid gel.

Also, the value of $Q(x)$ decreases with x because of filtrate formation

$$\frac{dQ(x)}{dx} = -aJ(x) \quad (\text{A11})$$

where $J(x)$ is the local filtrate flux.

A2. Model solution

The current experimental SAXS-filtration data were obtained for the case of the limiting fluxes, when the gel is formed at the entire surface of the membrane. Therefore, for the sake of place saving and sufficiency, only the part of the LGB model that corresponds to the case described by Eq. (A10b) (i.e., when the gel is present on the membrane surface starting from $x = 0$) is presented in this article. In this case, Eqs. (10b) and (11) are sufficient for the model solution.

For a given suspension (given value of c_0 and given dependencies $k(c)$, $\Pi(c)$ and $\dot{\gamma}(c, \tau_w)$) subjected to a given shear stress τ_w (that determines c_{sg} and $\dot{\gamma}(c, \tau_w)$), the value of the double integral in Eq. (A10b) is a constant, which depends only on c_{sg} and does not vary with x . Therefore, Eq. (A10b) can be rewritten as

$$Q(x) = Q_0 - \frac{aM(c_{sg}, \tau_w)}{c_0 \mu_f^2 J(x)^2} \quad (\text{A12})$$

where $M(c_{sg}, \tau)$ is the said constant

$$M(c_{sg}, \tau_w) = \int_{c_0}^{c_{sg}} (c - c_0) k(c) \frac{\partial \Pi(c)}{\partial c} \left[\int_c^{c_{sg}} \dot{\gamma}(c, \tau_w) k(c) \frac{\partial \Pi(c)}{\partial c} dc \right] dc \quad (\text{A13})$$

In the discussed case of the limiting flux, the filtrate flux distribution is described by the following solution of the system of Eqs. (A11) – (A13):

$$J(x)^{-3} = J(0)^{-3} + \frac{3}{2} \cdot \frac{c_0 \mu_f^2 x}{M(c_{sg}, \tau_w)} \quad (\text{A14})$$

where $J(0)$ is the flux at $x = 0$ (as soon as the case of the limiting flux is discussed, when the gel appears at $x = 0$). This is a usual filtration flux distribution (Gaddis 1992 ; Bacchin *et al.* 2002). The experimentally measured average filtrate flux over the membrane length L , J_L , is then determined by integration of Eq. (A14) as :

$$J_L = \frac{M(c_{sg}, \tau_w)}{c_0 \mu_f^2 L} \left[\left(\frac{3}{2} \cdot \frac{c_0 \mu_f^2 L}{M(c_{sg}, \tau_w)} + J(0)^{-3} \right)^{2/3} - J(0)^{-2} \right] \quad (A15)$$

Eqs. (A14) and (A15) were applied for quantitative analysis of local SAXS-filtration-relaxation data, as it is explained in the Annex B.

Annex B. Quantitative analysis of SAXS-filtration-relaxation data

B1. Method of SAXS-filtration data treatment

When the average filtrate flux J_L is measured at the limiting flux conditions, Eq. (A15) can be used in order to obtain the value of $M(c_{sg}, \tau_w)$ (other parameters of Eq. (A15) are known constants, while $J(0)$ can be equated to the filtrate flux across the clean membrane J_0 in the usual case of relatively permeable CP layer and the gel with significantly lower permeability):

$$(J_L, J_0)_{exp} \rightarrow M(c_{sg}, \tau_w) \quad (B1)$$

(in practice, when $J_0 \gg J_L$, the impact of the value of J_0 on the result of the calculation is not significant).

As it is discussed in the Annex A, the value of $M(c_{sg}, \tau_w)$ is independent of x . Therefore, it can be used in order to obtain the value of the local filtrate flux $J(x)$ with the help of Eq. (A14) for the x corresponding to the position of the observation window in the SAXS-filtration-relaxation experiment ($x = 5$ cm in the current study):

$$(M(c_{sg}, \tau_w), x, J_0) \rightarrow J(x) \quad (B2)$$

Obtained value of $J(x)$ can be used together with the solid concentration gradient dc/dz , which directly is obtained from SAXS-filtration data $c(z)$, in order to obtain the dependency of $k\partial\pi/\partial c$ on c with the help of Eq. (A6):

$$(J(x), c(z)) \rightarrow k(c) d\pi(c)/dc \quad (B3)$$

B2. Modeling of relaxation

The function $k(c)d\pi(c)/dc$, which can be determined from SAXS-filtration data with the help of Eq. (B3), is an integral measure of filterability-compressibility of the object: for example, $k(c)d\pi(c)/dc$ is a major factor in expressions for the consolidation coefficient in conventional filtration-consolidation theory (Olivier *et al.* 2007 ; Tien 2012) and for the solid diffusivity in compressional rheology (D. Stickland *et al.* 2008 ; Höfgen *et al.* 2019). According to the conventional filtration theory, this dependency determines the kinetics of filtration with deposit as well as the kinetics of its relaxation. Therefore, comparison of filtration data (the data obtained with the local pressure increasing) and relaxation data (obtained with the local pressure decreasing) can yield an information about the sample response to the applied pressure variation (e.g., about the reversibility of membrane fouling by the gel).

Modeling of the gel swelling during the pressure relaxation under the cross flow is rather complicated. However, it will be demonstrated that the simple analysis of swelling without the cross flow is sufficient in order to evaluate the gel reversibility in the current study.

In the absence of the cross flow, kinetics of relaxation of colloidal gel in the presence of CP layer can be described with the help of basic consolidation equation (see, for example, Loginov *et al.* (2020) and the references cited therein):

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{c^2}{\mu_f \rho_s^2} \cdot \frac{\partial}{\partial \omega} \left(c \kappa(c) \frac{\partial \Pi(c)}{\partial c} \cdot \frac{\partial c}{\partial \omega} \right) \quad (\text{B4})$$

where t is the swelling duration, and ω is a material coordinate which is related with the distance to the membrane z as

$$d\omega = (c/\rho_s) dz \quad (\text{B5})$$

(therefore, determination of concentration distribution curves $c(z)$ during the swelling with the help of Eqs. (B4) and (B5) does not require the value of ρ_s).

Eq. (B4) can be solved and concentration distribution curves $c(z,t)$ can be obtained, when it is coupled with proper initial and boundary conditions and the dependency of $k\partial\Pi/\partial c$ on c is known (Loginov *et al.* (2020) and the references cited therein). The initial condition is the initial concentration distribution (before the swelling), which is obtained from the SAXS-filtration experimental data $c(z)$ at the steady-state of filtration:

$$c = c(\omega) \quad \text{at } t = 0 \quad (\text{B6})$$

The boundary condition at the interface CP layer – bulk suspension is

$$c = c_0 \quad \text{at } \omega = \omega_0 \quad (\text{B7})$$

Two boundary conditions can be considered at the gel-membrane interface. In the absence of filtrate flow across the membrane (neither in nor out of the filter channel), the condition is

$$dc/d\omega = 0 \quad \text{at } \omega = 0 \quad (\text{B8})$$

This condition can be satisfied, for example, when during the pressure relaxation stage of experiment the membrane pores are blocked by gas bubbles, which appeared after the pressure decrease. Also, application of Eq. (B8) neglects the small pressure that was applied to the system from the bulk side in order to maintain the membrane position during the relaxation step of experiment.

When membrane is permeable for the filtrate flow during the relaxation, the boundary condition is (Loginov *et al.* 2020) :

$$\frac{dc}{d\omega} = \frac{\Pi(c) - \Delta P_r}{R_m} \cdot \frac{\rho_s}{c k(c) \partial \Pi(c) / \partial c} \quad \text{at } \omega = 0 \quad (\text{B9})$$

where ΔP_r is the pressure maintained in the filter channel during the relaxation, and R_m is the membrane resistance to filtrate flow.

B3. SAXS-filtration-relaxation data analysis

The system of Eqs. (B4), (B6) – (B8) or (B9) describes swelling of a gel covered with a CP layer in the absence of cross flow (this follows from the constancy of ω_0 in Eq. (B7)). These condition must lead to a longer swelling as compared to conditions of current SAXS-relaxation experiment, where the cross flow was present: the cross flow partially removed the swelled part of the gel and thus evidently facilitated the liquid permeation into the gel from the bulk side (Rosner 1969 ; Xin *et al.* 2004 ; Valois

et al. 2016 ; Briffaz *et al.* 2018). This inference is based on the assumption that filtration-consolidation properties of the gel (described by $k(c)\partial\Pi(c)/\partial c$) are equal during filtration and relaxation (i.e., the gel compression, is fully reversible).

According to Eq. (B9), when filtrate can flow across the membrane during the pressure relaxation, the higher is R_m , the lower is the swelling rate. In the current study, the local value of fouled membrane resistance (resistance of membrane after the removal of gel layer, before the chemical cleaning) was not measured. However, in order to obtain the lowest estimate for the gel swelling rate, the Eq. (B9) was used with the value $R_m = 4 \cdot 10^{13} \text{ m}^{-1}$, which is the highest value obtained for the average membrane resistance after the relaxation step (Fig. V.6). Therefore, using this value in Eq. (B9) is a sound overestimation of R_m , which must result in the underestimation of the gel swelling rate. The dependency $\Pi(c)$, which is required for the application of Eq. (B9), was taken from the data of Chapter III on the osmotic compression of casein micelles dispersions at 20°C.

The system solution also requires dependency of $k\partial\Pi/\partial c$ on c during the relaxation step. As soon as both k and Π are usually considered as material properties (unique functions of concentration c , and independent of sample history), the dependency $k\partial\Pi/\partial c$ on c obtained from the analysis of steady-state SAXS-filtration data (as it is explained in paragraph B1) can be used for the modeling of *relaxation* kinetics (in Eq. (B4)). The comparison of modeled and experimentally observed gel swelling kinetics can be used in order to confirm or discard the assumption about the independency of the gel properties ($k\partial\Pi/\partial c$ at given c) on the compression history. I.e., it can elucidate, if the compression of casein micelles gel obtained during the cross-flow filtration at different temperatures is reversible, irreversible or partially irreversible in studied filtration conditions.

Below, results of SAXS-filtration-relaxation analysis and modeling are presented and compared. Fig. B1, which presents an example of experimentally measured filtration kinetics at 25°C and filtration pressure of 0.5 and 1.1 kPa, confirms that the steady-state, which was attained after about 60-80 min of filtration, corresponded to the limiting flux conditions (as soon as in the studied pressure range the flux was independent of the applied pressure). This justifies the application of Eqs. (A14) and (A15).

Fig. B1.

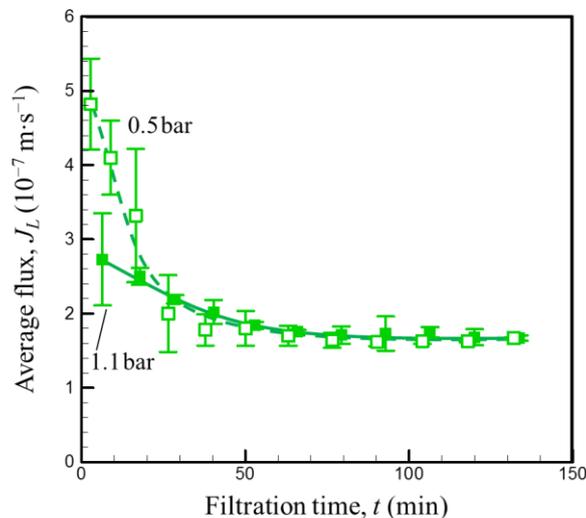


Figure AN.3.B1. Filtrate flux versus filtration time at $T = 25^\circ\text{C}$ obtained at constant applied pressure ΔP of 0.5 bar (open symbols, dashed curve) and 1.1 bar (solid symbols, solid curve). Error bars present standard deviations, curves serve to indicate trends.

Obtained value $J_L = 1.7 \pm 0.1 (10^{-7} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1})$ (Fig. B1) was used in the following analysis with the help of Eqs. (B1) and (B2). Despite of the difference in $J(0)$ calculated from the clean membrane resistance $R_m = 4 \cdot 10^{12} \text{ m}^{-1}$ ($J(0) = 1.4 \cdot 10^{-5} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ and $3.1 \cdot 10^{-5} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ at $\Delta P = 0.5 \text{ bar}$ and 1.1 bar , respectively), practically same values of $M(c_{sg}, \tau_w) = 7.3 \cdot 10^{-27} \text{ Pa}^3 \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}$ and $J(x = 5 \text{ cm}) = 1.4 \cdot 10^{-7} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ were obtained for two different pressures, as it is expected for limiting flux conditions of filtration with formation of relatively permeable CP layer and significantly less permeable gel.

Fig. B2 summarizes concentration distribution profiles obtained at the steady-state stage of SAXS-filtration experiments at 25°C under the pressure of 0.5 bar and 1.1 bar . Expectedly, higher filtration pressure results in denser (because higher osmotic or compressive solid pressure can be attained at the membrane surface) and thicker gel (which ensures limiting filtrate flux and maximal possible particle transport in the CP layer) (the gel thickness is evaluated using the value $c_{sg} = 182 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, as it is explained in Materials and Methods). The CP layer structure is practically unaffected by the ΔP value (Insert in Fig. B2), as soon as at different pressures it is developed at same conditions of filtrate flux and shear stress.

Fig. B2.

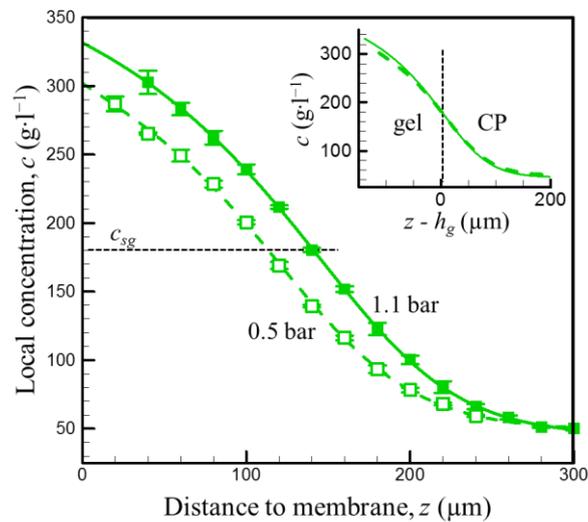


Figure AN.3.B2. (a) Steady-state $c(z)$ profiles measured in SAXS-filtration experiments at $T = 25^\circ\text{C}$, the insert presents same data in transformed coordinates $(z - h_g, c)$. Open symbols and dashed curve correspond to filtration pressure of 0.5 bar (points are average values from three $c(z)$ profiles obtained at $t = 130 - 150 \text{ min}$); solid symbols and solid curve correspond to filtration pressure of 1.1 bar (points are average values from four $c(z)$ profiles obtained at $t = 105 - 150 \text{ min}$). Error bars present standard deviations, curves correspond to least-square fitting of SAXS-filtration data with the help of proper “best-fit” equations.

Fig. B3 presents complex material property $1/(kd\eta/dc)$ obtained from the data presented in Fig. B2 with the help of Eq. (B1) – (B3). The obtained values (symbols) are compared with dependency reported by Bouchoux *et al.* (2014), which was obtained from series of osmotic compression (for determination of dependency of $d\eta/dc$ on c) and dead-end filtration (for determination of dependency of k on c) experiments.

Fig. B3.

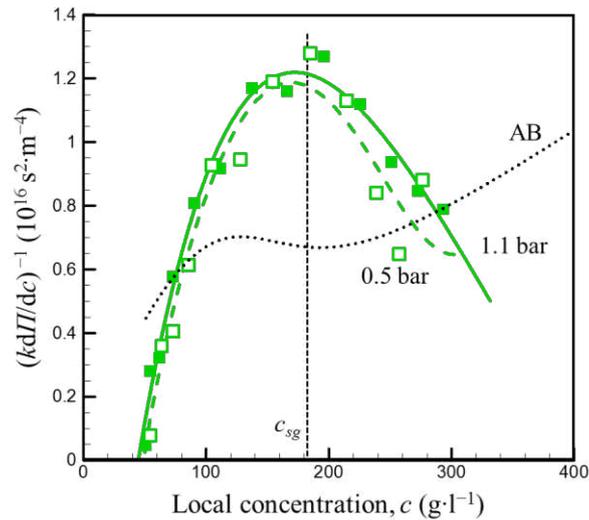


Figure AN.3.B3. Values of $1/(kd\Pi/dc)$ obtained at 25°C for $\Delta P = 0.5$ bar (open symbols, dashed curve) and $\Delta P = 1.1$ bar (filled symbols, solid curve); these curves correspond to the fitting curves presented in Fig. B2 after their treatment with Eq. (B3). Dotted curve presents the data of Bouchoux *et al.* (2014).

Despite of the distinct difference in $c(z)$ profiles obtained at different filtration pressures (Fig. B2), the dependencies of $1/(kd\Pi/dc)$ on c calculated from these profiles practically coincide (symbols in Fig. B3), as it is expected for a material property. It can be speculated that the bell-like shape of obtained dependency $1/(kd\Pi/dc)$ on c is related with the domination of the permeability factor (k decreases as c increases) over the compressibility factor ($d\Pi/dc$ increases as c increases) at $c < c_{sg}$ and vice versa. The critical point of the curve is situated at $c \approx c_{sg} = 182 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, the latter value is deduced by Nöbel *et al.* (2012) from independent (rheological) measurements. This can be related with the expected change in material properties in the point of sol-gel transition (Bacchin *et al.* 2002 ; Bouchoux *et al.* 2014) that indirectly supports validity of the current analysis.

It must be noted that values of $kd\Pi/dc$ obtained at low c (corresponding to the outer part of the CP layer) can be overestimated because of the using of constant value of J ($x = 5 \text{ cm}$) in the calculations. Application of constant $J(x)$ is equivalent to the generally applied assumption of the constancy of solid-liquid velocity in the CP layer (assumptions (11) and (12) in the Annex A); therefore, it does not account for the solid movement towards membrane, which is more important in the CP layer than in the gel (Tiller et Kwon 1998). However, further analysis demonstrated that this factor had no significant influence on obtained conclusions about the gel compression reversibility (the difference in the observed gel and modeled gel swelling kinetics can not be explained by any overestimation of the local permeability in the CP layer).

Interesting that the values obtained in this study via analysis of microscopic SAXS-cross-flow-filtration data (symbols in Fig. B3, rather fast gel formation, $t \approx 1 \text{ h}$, and a steady-state filtration) were of the same order of magnitude as that obtained by Bouchoux *et al.* (2014) via macroscopic methods of osmotic compression (rather long gel formation, $t \approx 10\text{-}100 \text{ h}$) and dead-end filtration (unsteady). Most noticeable deviation between the current data and the data of Bouchoux were observed at high $c > c_{sg}$, when different trends are predicted. This can be related with the difference of the measured

by Bouchoux *et al.* (2014) and predicted in the current study (Fig. B2, fitting curve extrapolation to $z = 0$ for $\Delta P = 1.1$ bar) values of c at high Π . As soon as the local (and average) flux in the SAXS-filtration experiment was significantly lower as compared to filtrate flux across the non-fouled membrane ($J(0)/J(x = 5 \text{ cm}) \approx 220$ at $\Delta P = 1.1$ bar), the local value of osmotic pressure at the membrane surface was practically equal to ΔP (Vorobiev 2006 ; Iritani *et al.* 2011). According to osmotic stress measurements at $\Pi = 1.1$ bar equilibrium concentration of casein micelles at 25°C is equal to 380 g·l⁻¹ (Bouchoux *et al.* 2014) (the value of 403 g·l⁻¹ was reported in Chapter III), while the current extrapolation to $z = 0$ yields the value 331±14 g·l⁻¹ (Fig. B2). Unfortunately, the precision of the ‘best-fit’ extrapolation is limited by the SAXS resolution, while fitting of $c(z)$ profiles with physically meaningful equations requires a priori suppositions about concentration dependencies of material properties. However, further analysis demonstrated that this factor had no significant influence on obtained conclusions about the gel compression reversibility (the difference in the observed gel and modeled gel swelling kinetics can not be explained by any reasonable experimental error in the determination of total gel thickness or gel concentration in the vicinity of the membrane).

Fig. B4 experimental SAXS-relaxation data and model data (obtained by numerical solution of the system (B4), (B6) – (B8) or (B9)) on the gel swelling kinetics at 25°C after the filtration pressure decrease from 0.5 bar to 0.1 bar.

Figs. B4a, B4b, B4c.

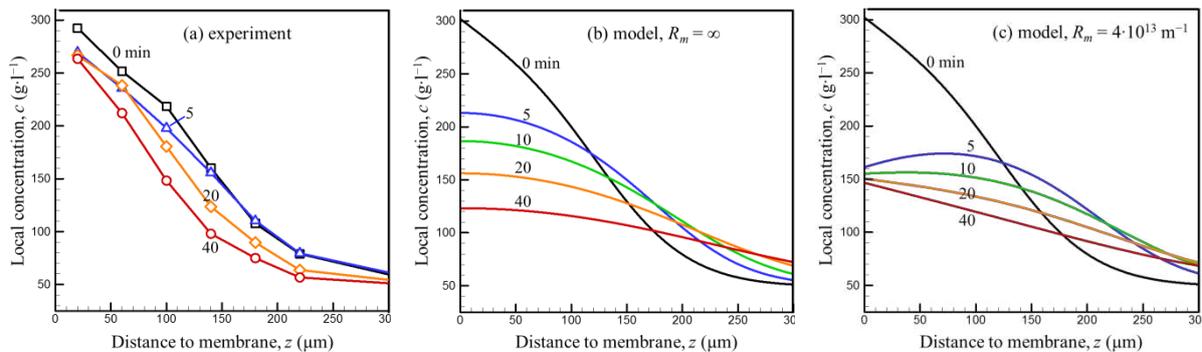


Figure AN.3.B4. Concentration distribution profiles $c(z)$ during the swelling at 25°C after the filtration at $\Delta P = 0.5$ bar: (a) SAXS-relaxation data under the cross-flow rate of 3 cm·s⁻¹ (symbols are experimental points, broken lines guide the eye); (b) model results without filtrate uptake across the membrane (boundary condition Eq. (B8)); (c) model results with filtrate uptake across the membrane, $R_m = 4 \cdot 10^{13} \text{ m}^{-1}$ (boundary condition Eq. (B9)). Swelling duration is shown near the curves (in minutes). Dependencies $kd\Pi/dc$ and $\Pi(c)$, which are required for the modeling, were taken from the present SAXS-filtration data (Fig. B3) and osmotic stress experiments (Chapter III), respectively. The pressure of $\Delta P = 0.1$ bar is applied during the swelling in order to maintain the membrane position.

Regardless the model assumptions, which, as discussed above, must result in underestimating of the swelling rate (absence of cross-flow and high fouled membrane resistance), the modeling predicts significantly faster gel swelling, as compared to the experimental data: roughly, the actual swelling rate is more than 10 times lower as compared to the modeled one. The same is observed for the gel formed at 1.1 bar (Fig. S1 in the Supplementary materials). This conclusion holds for both

assumed filtrate uptake mechanisms (Eq. (B8) and Eq. (B9)). In the current study, more the tenfold deviation between the modeled and experimental data can not be explained by any reasonable experimental error (model results, not shown); it requires more than tenfold erroneous underestimation of the local flux and $k(c)\partial\pi(c)/\partial c$ in the current study (as well in the study of Bouchoux *et al.* (2014), Fig. B3) or more than triple underestimation of the gel thickness (Loginov *et al.* 2020)). More reasonable explanation of the observed slow swelling kinetics is the partial irreversibility of the gel formation and compression : filtration-compression of casein micelles gel is described by different $k(c)\partial\pi(c)/\partial c$ dependencies under the conditions of local pressure increasing (filtration, gel formation) and decreasing (relaxation, gel swelling). In filtration literature such a difference is usually explained in the frame of DLVO theory applied to the case of a filter cake on membrane surface: irreversible particles aggregation, when the critical concentration sol-gel transition is attained and exceeded in the fouling layer (Bacchin *et al.* 1995, 2002 ; Harmant et Aimar 1996 ; Qu *et al.* 2012). This results in the decreasing of particles repulsion, significant lowering of $\pi(c)$ (and corresponding lowering of $\partial\pi(c)/\partial c$ (Murase *et al.* 1989a, 1989b, 1990 ; Iwata et Murase 1993 ; Iwata *et al.* 1999 ; Bacchin *et al.* 2002)) and slowing down of filtrate uptake by osmotic mechanism. Interesting, that contrary to simple case of DLVO theory, in the case of casein micelles, particle repulsion forces ultimately exceeds the attraction forces, since casein micelles gels can swell and completely redisperse even without applied shear (Qu *et al.* 2015 ; Chapter IV). This elucidate the conventionality of the term “irreversibility” in the discussion compression of casein micelles dispersions (and soft aggregating colloids in general).

Similar data and conclusions were obtained for the swelling temperatures of 12°C and 42°C (Figs. S2 and S3).

Supplementary materials

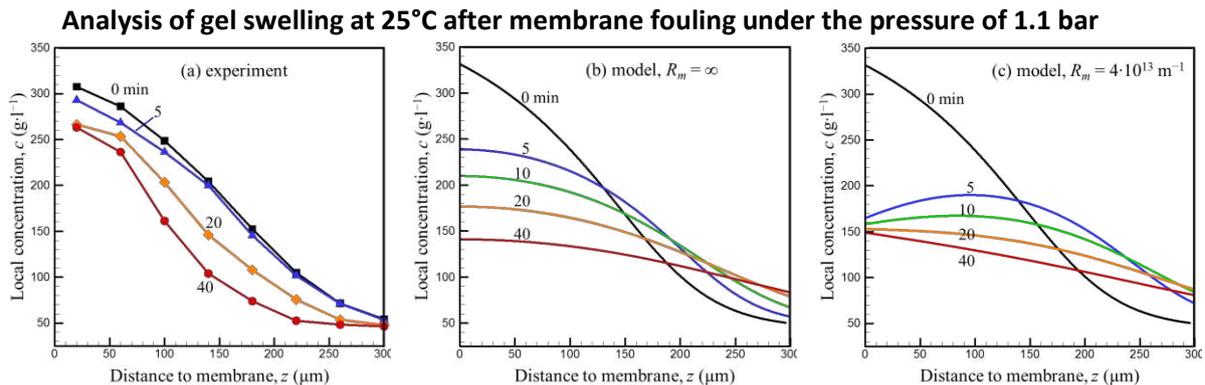


Figure AN.3.S1. Concentration distribution profiles $c(z)$ during the swelling at 25°C after the filtration at $\Delta P = 1.1$ bar: (a) SAXS-relaxation data under the cross-flow rate of $3 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ (symbols are experimental points, broken lines guide the eye); (b) model results without filtrate uptake across the membrane (boundary condition Eq. (B8)); (c) model results with filtrate uptake across the membrane, $R_m = 4 \cdot 10^{13} \text{ m}^{-1}$ (boundary condition Eq. (B9)). Swelling duration is shown near the curves (in minutes). Dependencies $kd\pi/dc$ and $\pi(c)$, which are required for the modeling, were taken from the present SAXS-filtration data (Fig. B3) and osmotic stress experiments (Chapter III), respectively. The pressure of $\Delta P = 0.1$ bar is applied during the swelling in order to maintain the membrane position.

Analysis of gel swelling at 12°C and 42°C

The following values of filtration parameters were used for the modeling of filtration and relaxation.

Parameter	12°C	25°C	42°C	
$J_L, 10^{-7} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$	1.3 ± 0.4	1.7 ± 0.1	2.3 ± 0.3	From Fig. V.5
$\mu_f, 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$	1.234	0.890	0.629	Viscosity of water
$J(x = 5 \text{ cm}), 10^{-7} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$	1.07	1.70	1.92	From Eqs. (B1) and (B2)

Fig. S2 compares the obtained dependencies $k(c)d\pi(c)/dc$ obtained for casein micelles dispersions at different filtration temperatures.

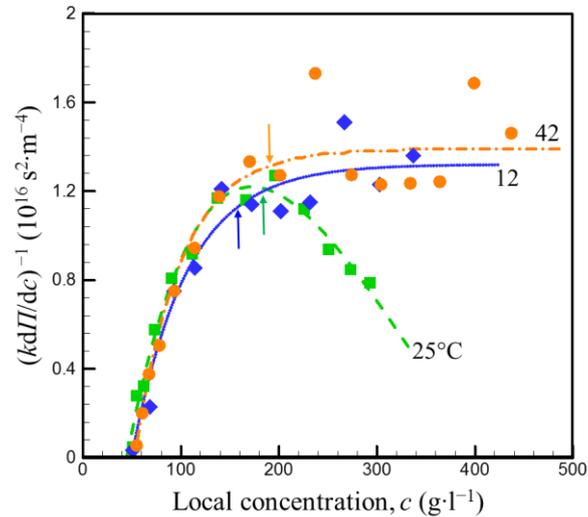


Figure AN.3.S2. Values of $1/(kd\pi/dc)$ calculated from SAXS-filtration data obtained at $\Delta P = 1.1$ for different temperatures (shown near the curves). Symbols correspond to the values calculated from averaged $c(z)$ profiles measured at the steady-state of SAXS-filtration (Fig. V.8.a), solid curves correspond to the least-square fitting of SAXS-filtration data with the help of proper “best-fit” equations (further used for the swelling modeling). Arrows indicate concentrations of sol-gel transition (evaluated as it is explained in Materials and methods of the thesis).

Fig. S3 compares the modeled and experimentally measured $c(z)$ curves at different times of pressure relaxation.

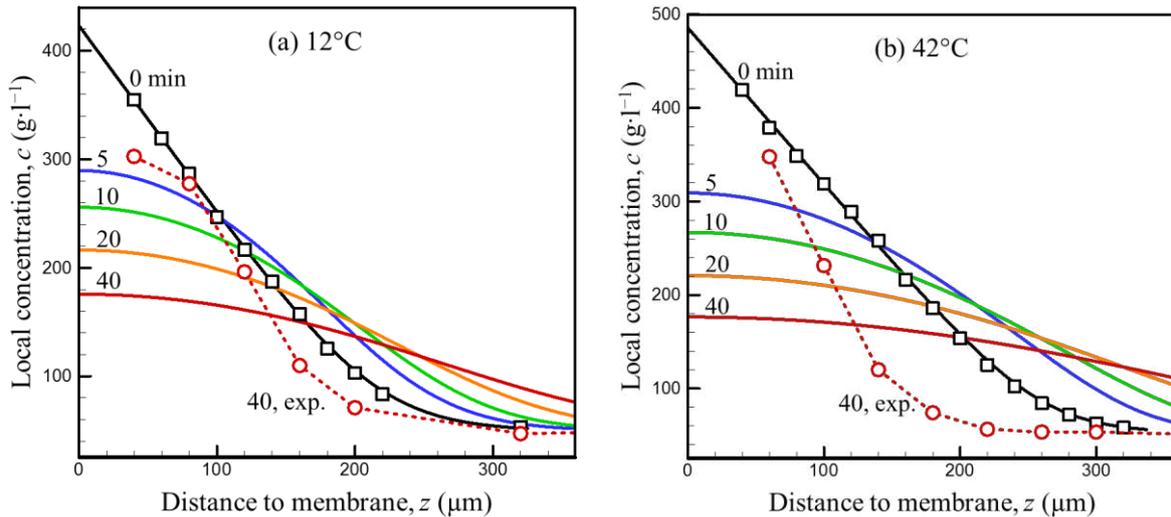


Figure AN.3.S3. Concentration distribution profiles $c(z)$ during the swelling at 12°C (a) and 42°C (b) after the filtration at $\Delta P = 1.1$ bar. Symbols correspond to SAXS-relaxation data (obtained under the crossflow rate of $3 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$); solid lines represent model results (the model solution with Eq. (B8) only). Swelling duration is shown near the curves (in minutes). Dependencies $kd\pi/dc$ and $\pi(c)$, which are required for the modeling, were taken from the present SAXS-filtration data (Fig. S2). The pressure of $\Delta P = 0.1$ bar is applied during the swelling in order to maintain the membrane position.

Abbreviations

CP	concentration polarization
LGB	Loginov – Gaddis – Bacchin
sg	sol-gel transition

Nomenclature

a	length of the membrane part of perimeter of a cross-section of the filter channel (m)
c	local solid concentration ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)
c_0	solid concentration in suspension ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)
c_{sg}	solid concentration of sol-gel transition ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)
c_m	solid concentration on the membrane surface ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)
h_{CP}	local thickness of CP layer (m)
h_g	local thickness of gel (m)
$J(x)$	local filtrate flux ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)
$J(0)$	filtrate flux at the entrance ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)
J_0	filtrate flux across the clean membrane ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)
J_L	average filtrate flux over the entire filter channel ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)
k	local permeability (m^2)
L	length of the filter channel (m)
M	filterability, material function that governs cross-flow filtration ($\text{Pa}^3\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}$)
P	total pressure in the filtration channel (Pa)
P_0	total pressure at the entrance to the filter channel (Pa)

ΔP	pressure applied during filtration (Pa)
ΔP_r	pressure applied during relaxation (Pa)
p_s	local compressive solid pressure (Pa)
Q	average tangential flow rate in the filter channel ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$)
Q_0	average tangential flow rate at the entrance to the filter channel ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$)
R	radius, when the filter channel is cylindrical (m)
R_m	membrane resistance (m^{-1})
T	temperature ($^{\circ}\text{C}$)
u	local tangential flow rate ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$)
x	axial distance from the entrance of the filter channel (m)
z	normal distance from the membrane surface (m)

Greek letters

$\dot{\gamma}$	local shear rate (s^{-1})
μ_f	filtrate viscosity (Pa·s)
Π	local osmotic pressure of particles in CP layer (or solid pressure in gel) (Pa)
ρ_s	density of solid ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)
τ	shear stress (Pa)
τ_w	wall shear stress (Pa)
ω	material coordinate (m)

Annexe 4 : L'article « Influence of membrane resistance on swelling and removal of colloidal filter cake after filtration pressure release » publié dans Journal of Membrane Science, cité et utilisé dans les chapitres V et VI, a été écrit par Maksym Loginov, chargé de recherche de l'équipe PSM (Procédés de Séparation par Membranes) du laboratoire STLO. J'ai participé aux réunions, et discussions scientifiques qui ont mené à l'élaboration du modèle décrit dans l'article. De plus, j'ai relu et corrigé le manuscrit écrit par Maksym.

Influence of membrane resistance on swelling and removal of colloidal filter cake after filtration pressure release

Maksym Loginov^{1,*}, Floriane Doudiès¹, Nicolas Hengl², Frédéric Pignon², Geneviève Gésan-Guiziou¹

¹STLO, UMR 1253, INRA, Agrocampus Ouest, 35000 Rennes, France

²LRP, CNRS, Grenoble INP, Université Grenoble Alpes, 38000 Grenoble, France

*Corresponding author (maksym.loginov@inra.fr; tel. +33 07 02 23 48 70 33)

Highlights

Impact of filtration membrane resistance on colloidal filter cake swelling is modeled

Possibility of filtrate uptake across the membrane during the swelling is considered

The lower is the membrane resistance the faster is the filter cake swelling

Concentration profile in the cake becomes bell-like when membrane resistance is low

Appearance of bell-like solid concentration profile can facilitate the cake removal

Abstract

The influence of filtration membrane resistance on colloidal filter cake swelling after the filtration pressure release is discussed in frame of filtration-consolidation theory. It is argued that in the case of reversibly compressible filter cake, the solid pressure relaxation can result in filtrate inflow across the membrane with the following absorption by the filter cake part adjacent to the membrane surface. According to the model results, the filtrate inflow and the filter cake swelling rates increase with decreasing of the membrane hydraulic resistance. At low membrane resistance, the swelling can result in the non-monotonous bell-like solid concentration distribution in the filter cake (solid concentration on the cake-membrane surface is lower than the maximal solid concentration). In contrast, the filter cake swelling in the absence of filter inflow across the membrane (or the deposit swelling on the impermeable surface) results in the monotonous decrease of the solid concentration. The non-monotonous solid concentration distribution can facilitate the membrane rinsing and cleaning and lead to the filter cake removal before its complete swelling.

Keywords: filtration-consolidation theory, gel swelling, membrane rinsing, membrane fouling reversibility, membrane hydraulic resistance.

Nomenclature

C_e	modified average consolidation coefficient ($m^2 \cdot s^{-1}$)
c	local solid concentration ($kg \cdot m^{-3}$)
c_0	solid concentration in bulk suspension ($kg \cdot m^{-3}$)
c_{mi}	initial solid concentration on cake-membrane interface (at the end of filtration) ($kg \cdot m^{-3}$)
e	void ratio (dimensionless)
h	gap thickness, thickness of a layer on the membrane surface which can flow relatively the membrane and the rigid gel under the applied external shear stress (m)
K	parameter of Herschel-Bulkley equation ($Pa \cdot s^N$)
l	length (m)
N	parameter of Herschel-Bulkley equation (dimensionless)
ΔP	applied pressure (Pa)
p_l	liquid pressure (Pa)
p_m	solid pressure at the membrane surface (Pa)
p_{mi}	initial solid pressure at the membrane surface (at the end of filtration) (Pa)
p_s	compressive solid pressure (Pa)
p_{si}	initial solid pressure (at the end of filtration) (Pa)
r_{ci}	initial filter cake resistance (cake resistance at the end of filtration) (m^{-1})
r_{in}	outside-in membrane hydraulic resistance (m^{-1})
r_m	inside-out membrane hydraulic resistance (m^{-1})
r_r	hydraulic resistance of residual gel (m^{-1})
S	cross-sectional area of filtration membrane (m^2)
t	time (s)
U	completeness of filter cake swelling (dimensionless)
u	apparent liquid velocity relative to solids ($m \cdot s^{-1}$)
V_f	filtrate volume (m^3)
$V_{f\infty}$	final filtrate volume (m^3)
v	tangential velocity of rigid gel relative to membrane ($m \cdot s^{-1}$)
x	distance to membrane surface in Cartesian coordinates (m)

Greek letters

α	specific filtration resistance ($m \cdot kg^{-1}$)
α_e	average specific filtration resistance at the membrane surface ($m \cdot kg^{-1}$)
α_m	specific filtration resistance of a layer on a cake-membrane interface ($m \cdot kg^{-1}$)
$\dot{\gamma}$	shear rate (s^{-1})
ϑ	required swelling duration, duration of swelling required in order to attain $\varphi_m = \varphi_{sg}$ (s)
κ	local permeability (m^2)
λ	variable, root of Eq. (A5) (dimensionless)
μ	filtrate viscosity (Pa·s)
ξ	variable (dimensionless)
ρ_s	specific weight of solids ($kg \cdot m^{-3}$)
τ_0	local yield stress (Pa)
τ_{ext}	external applied shear stress (wall shear stress) (Pa)
φ	solid volume fraction (dimensionless)

φ_m	solid volume fraction on cake-membrane interface (dimensionless)
φ_{max}	maximal instant solid volume fraction in the system (dimensionless)
φ_{sg}	solid volume fraction of sol-gel transition (dimensionless)
ω	distance to membrane surface in material coordinates (m)
ω_0	position of cake-bulk interface in material coordinates (m)
ω_r	thickness of swelled gel in material coordinates (m)

1. Introduction

In the literature, it is commonly accepted to distinguish two components of the external membrane fouling (fouling resistance): reversible fouling (which is removed from the surface by shear after the filtration pressure release/decrease or after the increasing of the shear rate) and irreversible fouling (that corresponds to the difference between the total fouling resistance and the resistance of reversible fouling). The scientific background for this distinction is DLVO theory applied to the case of a filter cake (Bacchin *et al.* 1995, 2002 ; Harmant et Aimar 1996 ; Aimar et Bacchin 2010). Increasing of the local compressive pressure applied to cake particles (solid pressure) in the direction of membrane surface results in the decreasing of local inter-particle distance (increasing of local particle concentration). At the distance to membrane surface, where the local compressive force overcomes the interparticle repulsion force, cake particles undergo an aggregation (sol-gel transition). In contrast to outer part of the cake (sol, concentration polarization layer), the inner part of the cake (rigid gel, deposit) is not removed from the membrane surface by crossflow shear until the shear force overcomes the particle attraction force (Coulomb failure criterion applied to filter cake removal (Benkahla *et al.* 1995)). Therefore, appearance of irreversible external membrane fouling is associated with the gel (or deposit, dense structure) formation on membrane surface.

The extent of irreversible membrane fouling is commonly characterized with the help of cyclic variation of filtration conditions: applied wall shear stress and transmembrane pressure (or imposed filtrate flux) (Benkahla *et al.* 1995 ; Gésan-Guiziou *et al.* 1999b, 2006 ; Defrance et Jaffrin 1999 ; Grandison *et al.* 2000 ; Espinasse *et al.* 2002 ; Youravong *et al.* 2003). The hysteresis of fouling, which is observed in coordinates fouling-resistance vs. pressure (or vs. shear stress), is used in order to determine critical fouling conditions (filtration conditions that result in gel formation). It should be noticed that duration of filtration cycles (fouling formation followed by fouling removal) is typically short, and its influence on results of the experiment (extent of irreversible fouling, irreversibility of fouling in general) is out of the scope of the majority of studies.

However, a number of articles demonstrated that both the rate and the extent of fouling removal after a cross-flow and dead-end filtration increases with the increasing of duration of the pressure relaxation step (Nakanishi et Kessler 1985 ; Chua *et al.* 2002 ; Gésan-Guiziou *et al.* 2006 ; van der Marel *et al.* 2009 ; Jørgensen *et al.* 2014, 2019 ; Zhang *et al.* 2017). In other words, sufficient pressure relaxation duration can result in the following removal of “irreversible” fouling (at least partial). For example, it was demonstrated that the casein micelles gel, which is considered to cause irreversible fouling during the dead-end filtration-stirring experiment (Qu *et al.* 2012), can swell and redisperse in course of time after the osmotic compression experiments (Qu *et al.* 2015) or in a different filtration experiment (Steinhauer *et al.* 2015).

Articles concerning the modelling of the influence of pressure relaxation duration on the fouling extent and removal rate are rather rare in filtration literature (Jørgensen *et al.* 2019). However, significant progress is attained in the modelling of gel dissolution and the hydrodynamic cleaning (i.e., rinsing) of impermeable surface from foulants (deposits), where models consider the time-dependent gel swelling (solvent diffusion into a deposit) that precedes the particles/molecules redispersion by applied flow (e.g., (Rosner 1969 ; Lee et Peppas 1987 ; Lee et Lee 1991 ; Mickailly et Middleman 1993 ; Devotta *et al.* 1994 ; Ranade et Mashelkar 1995 ; Gillham *et al.* 1999 ; Lu *et al.* 2002 ; Davey *et al.* 2002 ; Xin *et al.* 2002, 2004 ; Bouquerand *et al.* 2004 ; Kaunisto *et al.* 2011 ; Valois *et al.* 2016 ; Briffaz *et al.* 2018)). In addition, behavior of filter cakes (and consolidated filter cakes) after the filtration pressure decrease (or release) was modeled in the frame of conventional filtration-consolidation theory and

experimentally characterized in a series of papers by Iritani, Iwata, Katagiri, Murase, and Shirato (Murase *et al.* 1989b, 1989a, 1990 ; Shirato *et al.* 1991 ; Iwata et Murase 1993 ; Iwata *et al.* 1999 ; Iritani *et al.* 2007, 2018a) and Banks (Banks 1985). Particularly, it was experimentally demonstrated that colloidal filter cakes (and hydrogels) can swell and restore lower values of local particle concentration and permeability (at least partially) after the filtration pressure release (Shirato *et al.* 1991 ; Iwata *et al.* 1999 ; Iritani *et al.* 2007, 2018a) and a new definition of filter cake reversibility, based on filtration resistance recovery, was introduced (Iritani *et al.* 2018a). It was demonstrated that the response of filter cake properties (accessed from the experimentally measured filter cake resistance) on the variation of applied pressure is not immediate, and kinetics of cake relaxation is related with local cake properties (compressibility and permeability), initial cake thickness and values of compressive pressure applied during the filter cake formation and cake relaxation (Murase *et al.* 1989b, 1989a, 1990 ; Shirato *et al.* 1991 ; Iwata et Murase 1993 ; Iwata *et al.* 1999 ; Iritani *et al.* 2007, 2018a). Unfortunately, previous articles did not take into consideration any possible influence of filtration membrane resistance on the filter cake relaxation and the following membrane rinsing.

The present article is devoted to the modeling of colloidal filter cake swelling after the filtration pressure release in the frame of filtration-consolidation theory. It is assumed that the filter cake compression is reversible, in particular, the local filter cake concentration can decrease below the concentration of sol-gel transition during the swelling. In this case, the sol-gel transition is defined as the transition from liquid-like to solid-like rheological behavior. The present article considers the influence of the membrane resistance to filtrate inflow into the cake on the cake swelling kinetics, and analyzes the influence of parameters (the filter cake thickness, compressibility and permeability, the membrane hydraulic resistance, the swelling duration, flow behavior of swelled material) on the following membrane rinsing by tangential shear. Several possible methods for the experimental verification of model results are proposed and the importance of swelling duration and membrane resistance for the fouling removal is discussed.

2. Description of a filter cake swelling on membrane surface

When a liquid flows across a porous body under a pressure difference ΔP (e.g., across a filter cake and a membrane during a constant pressure dead-end filtration of particulate suspension, Fig. 1a), the liquid pressure p_l in capillaries between particles and in membrane pores decreases in the flow direction.

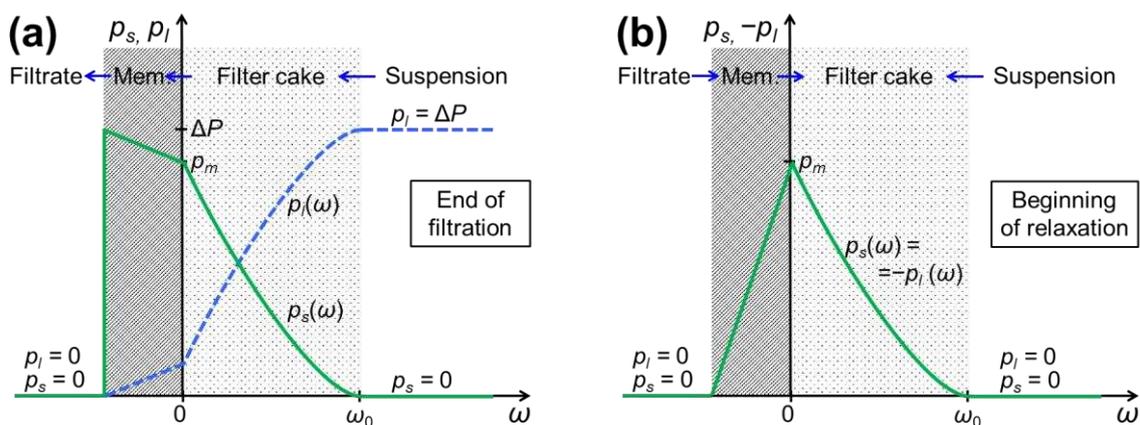


Figure AN.4.1. Liquid p_l and solid p_s pressures (dashed and solid curves, respectively) in a system of a particulate filter cake on a membrane surface at the moments (a) before and (b) after the release of filtration pressure ΔP ; arrows show the liquid flow direction. The initial solid pressure in the cake p_{si} varies from the membrane-cake ($\omega = 0$) to the cake-suspension interface ($\omega = \omega_0$), where is ω the material coordinate. For colloidal objects, distribution of the local osmotic pressure π in cake and suspension is equivalent to distribution of p_s in particulate filter cake, while the liquid pressure p_l is not determined.

The liquid pressure decreases because of the friction (viscous drag), which exists between the moving liquid and stationary particles (pores surface). The same force with an opposite sign is exerted on solids by the moving liquid. In the conventional filtration-consolidation theory, the net force applied to particles or porous body is divided by the cross-sectional area of the whole system and represented as an effective (fictive) solid compressive pressure p_s (e.g., (Olivier *et al.* 2007)). In the case of the pressure filtration, the local force balance (i.e., force balance in a thin cross-sectional layer of the filter cake or filtration membrane) is presented by Eq. (1):

$$dp_s = - dp_l \quad (1)$$

Eq. (1) is used in the majority of pressure filtration models (Tiller et Yeh 1987 ; Lee et Wang 2000 ; Olivier *et al.* 2007). Given that in suspension $p_l = \Delta P$ and $p_s = 0$ (there is no relative solid-liquid movement and friction), integration of Eq. (1) across the system of a filter cake and filtration membrane yields

$$\Delta P = p_l + p_s \quad (2)$$

Eqs. (1) implies that p_s increases with decreasing of p_l (in the flow direction, Fig. 1a). The solid compressive pressure increases because the compressive force is transmitted and accumulated in the flow direction across the porous body (from particle to particle, from filter cake to membrane, and along the membrane pores). At the given moment of filtration, the solid pressure within the cake increases from zero at the cake-suspension interface to a maximum at the cake-membrane interface (which is denoted herein as p_m). It further increases across the membrane (linearly with the depth, if the membrane is homogeneous and incompressible) and reaches $p_s = \Delta P$ at the external membrane surface. In filtrate, both $p_l = 0$ and $p_s = 0$ because the applied pressure is transmitted to a membrane support (Fig. 1a).

Eq. (1) allows substituting the liquid pressure gradient dp_l/dx in the Darcy equation

$$u \propto dp_l/dx \quad (3)$$

with the solid pressure gradient dp_s/dx and applying the Darcy equation for description of liquid flow in compressible filter cakes (i.e., filter cakes with p_s -dependent permeability and particle concentration):

$$u = - \frac{1}{\mu \alpha(p_s) \rho_s} \frac{dp_s}{d\omega} \quad (4)$$

where u is the apparent liquid velocity relative to solids, μ is liquid viscosity, α is local specific resistance, ρ_s is density of the solids, ω is material coordinate. Therefore, Eq. (4) is widely used for description of formation and consolidation of particulate filter cakes (Tiller et Yeh 1987 ; Lee et Wang 2000 ; Olivier *et al.* 2007).

Usually, membrane filtration of colloidal objects that have a considerable osmotic pressure π is not discussed in terms of local values of p_l and p_s , which characterize porous bodies and particulate

filter cakes; in this case Eq. (4) can not be applied immediately. However, Elimelech and Bhattacharjee (Elimelech et Bhattacharjee 1998) demonstrated that the drag force, which is applied by moving liquid to a layer of colloidal particles or solute molecules retained by the membrane during filtration is equal to a thermodynamic force, which is exerted by solvent molecules on these particles (solute molecules). The thermodynamic force is related with the solvent chemical potential (and not with the solvent pressure alone as the drag force applied to the liquid in conventional filtration-consolidation theory for particulate and porous systems), and it is directly proportional to a local osmotic pressure gradient $d\pi/dx$ (Elimelech et Bhattacharjee 1998). Since the drag force is directly proportional to the apparent liquid velocity u (according to Stokes equation), it follows that

$$u \propto -d\pi/dx \quad (5)$$

during the liquid flow across the layer of colloidal particles (solute molecules) (Elimelech et Bhattacharjee 1998). Eq. (5) can be transformed into Eq. (4), where p_s stands for π and local properties of colloidal particle layer are characterized in terms of conventional filtration-consolidation theory (specific cake resistance and solid volume fraction) instead of collective diffusion coefficient and number particle concentration, which are usually employed for description of colloids with considerable osmotic pressure. That is why Eq. (4) was applied for description of membrane filtration and consolidation of colloids with considerable osmotic pressure and without a defined capillary structure: protein solutions (Iritani *et al.* 2014) and hydrogel particles (polymer networks) (Tanaka et Fillmore 1979 ; Iwata et Jami 2007). Distribution of π during filtration of colloidal objects is equivalent to distribution of p_s (which is presented in Fig. 1a), while p_l is usually not determined for colloidal filter cakes.

For majority of materials the increasing of solid pressure causes the filter cake compression, i.e., plastic and elastic structure deformation and increasing of solids concentration (because of the decreasing of inter-particle distance together with deformation and squeezing of aggregates and porous particles). For many materials (especially, for colloids with considerable osmotic pressure, e.g., repulsing nanoparticles, polymer molecules, soft particles having elastic polymer networks), the structure deformation under compression can be reversible, at least partially. After release of the applied pressure, which maintained a solid pressure in the reversibly compressible filter cake, the remaining solid pressure tends to dissipate via the structure expansion, as a compressed spring after the load release. Consequently, the liquid flows inside the filter cake, the filter cake swells (expands) (Fig. 1b). In the case of reversibly compressible particulate filter cake, this liquid inflow can be seen as a result of the momentary liquid pressure reduction in the filter cake: after the release of ΔP , p_l in the filter cake becomes negative (relative to the atmospheric pressure) in accordance to Eq. (2). This decreasing of p_l can be seen as result of a tension created in liquid-filled pores and capillaries by expanding elastic solid structure of compressed particulate filter cake. In the case of reversibly compressible colloidal filter cakes with considerable osmotic pressure, the liquid inflow after the pressure release can be seen as osmotic effect. The liquid is absorbed by colloidal filter cake because its excessive osmotic pressure (relative to the osmotic pressure of filtrate and bulk suspensions, which are assumed to be negligible herein) is not compensated by the applied pressure after the pressure release. In both cases, the liquid flows inside the cake, in the direction of higher solid compressive (or osmotic) pressure areas after the release of applied pressure (Fig. 1b).

Basic equations of filtration-consolidation theory (which are normally used to describe cake formation and compression (Shirato *et al.* 1977 ; Olivier *et al.* 2007 ; Tien 2012)) hold to describe the filter cake swelling as well:

a) the continuity equation for the liquid flow in an infinitesimal layer of a filter cake

$$\left(\frac{\partial e}{\partial t}\right)_{\omega} = -\left(\frac{\partial u}{\partial \omega}\right)_t \quad (6)$$

(where t is time, ω is material coordinate, e is local void ratio, which is equal to porosity divided by solids volume fraction (see Eq. (B3) in Appendix B), u is the apparent liquid velocity relative to solids);

b) the Darcy equation (4);

c) and the force balance Eq. (1).

Their combination yields the basic consolidation equation (Shirato *et al.* 1971)

$$\frac{\partial p_s}{\partial t} = -\frac{\partial p_s}{\partial e} \cdot \frac{\partial}{\partial \omega} \left(\frac{1}{\mu \rho_s \alpha} \frac{\partial p_s}{\partial \omega} \right) \quad (7)$$

which can describe the filter cake swelling, if appropriate initial and boundary conditions are used. In the case of colloidal filter cakes with considerable osmotic pressure, p_s in Eq. (7) and in the following discussion denotes π .

It should be underlined that derivation of Eq. (7) from Eq. (6) is based on the assumption that the local void fraction explicitly depends on the solid pressure only (and does not depend on time). Therefore, it is assumed that the filter cake behaves a Terzaghi element (Iwata et Jami 2007); creep is not considered during the swelling in this model.

Fig. 1b presents the filter cake on the membrane surface at the moment of filtration pressure release. At end of filtration there is a certain solid pressure distribution within the filter cake – the initial solid pressure distribution in the swelling cake $p_{si}(\omega)$

$$p_s = p_{si}(\omega) \quad \text{at } t = 0 \quad (8)$$

At the cake-suspension surface the solid pressure is naught (if suspension is diluted and the sample weight is negligible)

$$p_s = 0 \quad \text{at } \omega = \omega_0 \quad (9)$$

At the moment after filtration pressure release the solid pressure at the cake-membrane surface p_m is maximal (as it was during the filter cake formation), while it is absent at the filtrate side of the membrane (Fig. 1b). It is reasonable to assume that during the swelling, the liquid (filtrate) can flow across the membrane into the filter cake under the solid pressure gradient, which is equal to p_m (this is also a usual presentation of osmotic flow across a semipermeable membrane). If it is assumed that membrane is a thin semipermeable incompressible continuum, this flow can be described using the Darcy equation as

$$u = \frac{p_m}{\mu r_{in}} \quad \text{at } \omega = 0 \quad (10)$$

as soon as $p_s = 0$ in the filtrate. In Eq. (10), r_{in} is the outside-in membrane hydraulic resistance (resistance to the liquid flow across the membrane from the filtrate side into the cell). The value of r_{in} can differ from the value of the usually discussed inside-out membrane resistance r_m (e.g., (Qin *et al.* 2009)). The liquid flow also penetrates an infinitesimal filter cake layer adjacent to the membrane surface that can be described as

$$u = \frac{1}{\mu \alpha_m \rho_s} \frac{dp_s}{d\omega} \quad \text{at } \omega = 0 \quad (11)$$

where α_m is specific resistance of this layer. Combination of Eqs. (10) and (11) yields the second boundary condition required for solution of Eq. (7):

$$\frac{dp_s}{d\omega} = \frac{\alpha_m \rho_s}{r_{in}} p_m \quad \text{at } \omega = 0 \quad (12)$$

In Eq. (12) p_m and α_m change with time (decrease) during the swelling.

Eq. (12) differs the present paper from important works on the filter cake behavior after the filtration pressure release (Banks 1985 ; Murase *et al.* 1989b, 1989a, 1990 ; Iwata et Murase 1993 ; Iwata *et al.* 1999 ; Iwata et Jami 2007), because previous models did not consider the membrane as a hindrance for filtrate inflow into the cake during the swelling (though the value of membrane resistance is usually included in the modeling of cake formation and cake expression (Vorobiev 2006 ; Iritani *et al.* 2011, 2012, 2014, 2018b, 2018a)).

3. On the possibility of filtrate inflow and absorption across the membrane

In the previous section it was assumed that the liquid can flow inside the filter cake after the filtration pressure release due to the existence of solid pressure (or osmotic pressure) gradient across the semipermeable membrane. As it follows from Eqs. (1) and (2), this implies that the liquid pressure in the membrane pores is negative $p_l < 0$ (relative to the atmospheric pressure in filtrate). In the case of particulate filter cakes, the liquid pressure in pores of relaxing cake is negative too (while the liquid pressure in osmotic systems is not determined). Surprisingly, the negative values of liquid pressure in relaxing filter cake or filtration membrane were not pointed out in previous studies on filter cakes expansion during the relaxation (Murase *et al.* 1989b). However, this phenomenon is recognized in discussions on osmotic flow across the semipermeable membrane and clay swelling in soil mechanics (Mauro 1965 ; Soodak et Iberall 1979 ; Hirsch 1980).

It is necessary to discuss the conditions, which enable the water flow across the membrane (and inside the particular filter cake) under the negative liquid pressure. Though purified and degassed water can exist for a certain time even at pressure below 0 Pa (i.e., under the tension above $1.01 \cdot 10^5$ Pa), it is expected that in a real case application of high tension to the liquid inside porous system will result in formation of cavities or dissolved gas bubbles (Mauro 1965 ; Soodak et Iberall 1979). This would reduce the tension and interrupt or slow down the liquid transport across the membrane (Gao, Wang, and Song 2019; Mauro 1965; Menut et al. 2012; Pashley, Francis, and Rzechowicz 2008; Soodak and Iberall 1979; Zhang et al. 2019). The probability of bubbles and cavities formation must be highly dependent on the actual membrane pore structure. We can speculate that it will less likely happen in very small pores (when the pore size is smaller than the critical size of bubble formation) and in membranes with large distant pores (when the actual liquid pressure gradient across the pore is lower than the liquid pressure gradient calculated from the nominal membrane resistance). In any case, the risk of bubbles formation and flow interruption increases with decreasing of the liquid tension (i.e., it increases with the increasing of the pressure applied during the filter cake formation ΔP). For this reason, all calculations in this article were performed for $\Delta P = 10^5$ Pa, which resulted in even lower maximal values of p_m and lower absolute values of p_l inside the membrane during the filter cake swelling (both depend on assumed filter cake thickness and membrane resistance).

4. Solution of basic consolidation equation for compressible filter cakes

Analytical solution of Eq. (7) for actual compressible filter cakes with pressure-dependent specific filtration resistance and void ratio is difficult to obtain. Therefore, these dependencies are usually substituted with a constant effective parameter (an average modified consolidation coefficient). Following this tradition, analytical solution of Eq. (7) with two constant effective parameters was obtained; the solution is presented and the reason of its restricted applicability is discussed in Appendix A.

Eq. (7) was also solved numerically for the actual case of compressible filter cakes, as it is discussed in Appendix B. The values of parameters (pressure dependencies of specific filtration resistance and solids volume fraction, local rheological properties, initial filter cake thickness, as well as applied pressure and membrane resistance) were typical for ultrafiltration of colloids that form highly compressible filter cakes with low permeability. Experimentally obtained constitutive equations for permeability, compressibility and shear stress of aqueous dispersions of casein micelles were used for this purpose; they are discussed in Appendix C.

Both solutions were obtained for a constant value of ω_0 : it was assumed that the weight of solids in a filter cake holds during the swelling. This is a weak assumption for a filter cake that swells on horizontal membrane in the absence of agitation; the assumption means that the swelled part of the cake remains at the cake-suspension interface.

5. Results and discussion

6.1. Particle concentration distribution

Fig. 2 presents two examples of solution of Eq. (7): filter cake swelling kinetics without (a) and with (b) filtrate absorption across the membrane.

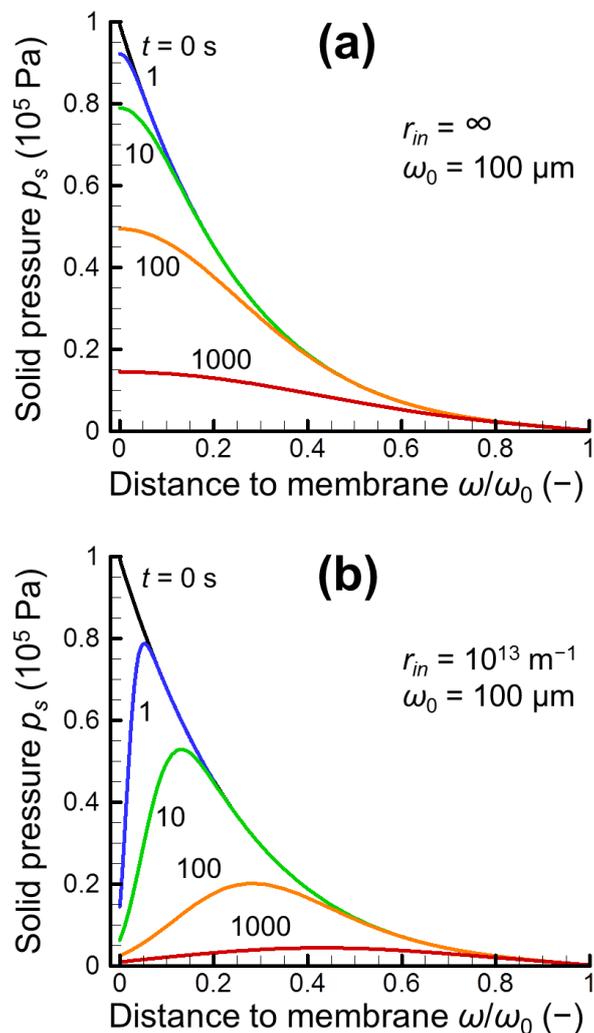


Figure AN.4.2. Solid pressure distribution during the swelling of a thick filter cake ($\omega_0 = 100 \mu\text{m}$) formed at the membrane surface with $r_m = 10^{13} \text{ m}^{-1}$: (a) without filtrate inflow across the membrane ($r_{in} = \infty$); (b) with filtrate inflow across the membrane with $r_{in} = 10^{13} \text{ m}^{-1}$. The time after the pressure release (in seconds) is shown near the curves.

In the case when filtrate inflow into the cake does not happen for any reason (as it would be, for example, for impermeable surface, $r_{in} = \infty$), the solid pressure decreases continuously from the cake-membrane surface to the cake-bulk interface (Fig. 2a). However, when the membrane surface is permeable for filtrate, the solid pressure distribution in the swelling cake is non-monotonic (Fig. 2b), with the lower p_s values near the cake-membrane interface, which is explained by faster solid pressure relaxation in this area because of filtrate inflow across the membrane. Other observed trends (gradual decreasing of the solid pressure with time, slowdown of the pressure relaxation rate) are common for two cases and typical for relaxation processes. It must be noticed that in best of the authors' knowledge similar bell-like $p_s(\omega, t)$ behavior was for the first time reported by Murase (Murase *et al.* 1989b) in the paper devoted to the modeling of expansion of consolidated material after the load release and later discussed in (Murase *et al.* 1990). However, as soon as the membrane resistance was not considered (which is equal to the case $r_{in} = 0$), the solid pressure at the drainage (internal cake-membrane) surface attained $p_s = 0$ and the bell-like $p_s(\omega)$ and $\varphi(\omega)$ profiles appeared immediately on the beginning of cake expansion.

Fig. 3 presents the evolution of local solid concentration in the filter cake caused by the solid pressure decrease during the swelling with consideration of membrane resistance.

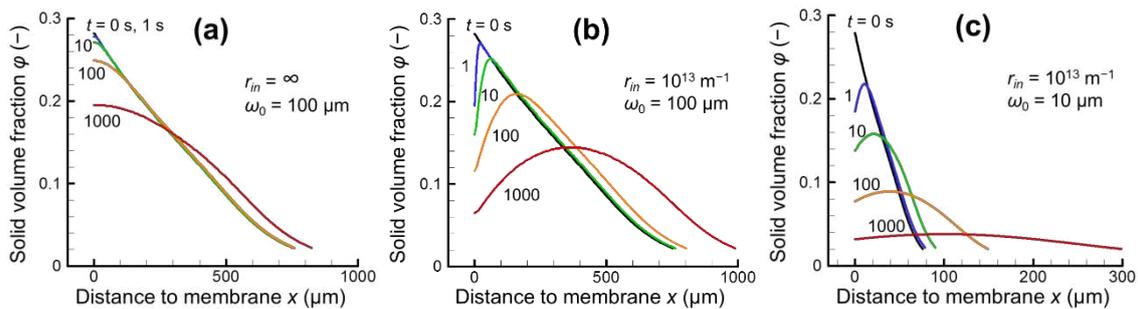


Figure AN.4.3. Solid volume fraction distribution during the filter cake swelling: (a) thick filter cake without filtrate inflow across the membrane ($r_{in} = \infty$); (b) thick filter cake with filtrate inflow across the membrane with $r_{in} = 10^{13} \text{ m}^{-1}$; (c) thin filter cake with filtrate inflow across the membrane with $r_{in} = 10^{13} \text{ m}^{-1}$. The time after the pressure release (in seconds) is shown near the curves; in each case $r_m = 10^{13} \text{ m}^{-1}$.

In the absence of filtrate inflow across the membrane ($r_{in} = \infty$, Fig. 3a), the profiles $\varphi(x)$ have no peculiarities: monotonic decrease of solid pressure with x results in the monotonic decrease of particle concentration from the membrane surface to the cake-bulk interface. While in the case of filtrate inflow across the membrane (Figs. 3b,c), appearance of the low p_s area near the membrane results in the bell-like distribution of solid concentration, i.e., the maximal concentration is observed at a certain distance from the membrane; this distance increases with swelling duration. The maximum of the $\varphi(x)$ curve is more pronounced in the case of initially thick filter cake with $\omega_0 = 100 \mu\text{m}$ as compared to thin cake with $\omega_0 = 10 \mu\text{m}$, which is explained by expectedly faster relaxation of thin cakes due to the faster

liquid absorption across the cake-bulk interface. It can be noticed that in both cases ($r_{in} = \infty$ and $r_{in} \neq \infty$) the swelling of filter cakes results in rather small increase on the filter cake thickness at the beginning of the swelling ($t < 1000$ s), which can be difficult to detect by currently available methods for the filter cake surface visualization (e.g., optical coherence tomography (Gao *et al.* 2014), fluid dynamic gauging (Gordon *et al.* 2014), electrochemical sensors (Gaucher *et al.* 2002a), particle image velocimetry (Gaucher *et al.* 2002b ; Rey *et al.* 2019), x-ray radiography (Gholami *et al.* 2018), magnetic resonance imaging (Arndt *et al.* 2016, 2017 ; Schork *et al.* 2018), ultrasonic (Collier *et al.* 2018), simple optical (Tung *et al.* 2001), etc. (Chen *et al.* 2004 ; Güell *et al.* 2009)). However, the remarkable difference in local solid concentration distribution near the membrane surface in the case of thick filter cakes with and without filtrate inflow across the membrane could be observed, for example, by the method of *in situ* SAXS analysis of local solid concentration in filter cakes, described in (Pignon *et al.* 2004 ; David *et al.* 2008 ; Jin *et al.* 2014b ; Rey *et al.* 2019). In the case of thin filter cakes, the available spatial resolution of SAXS (about 25 μm (Doudies *et al.* 2018c, 2018a, 2018b)) can be insufficient for observation of the bell-like shape of the $\varphi(x)$ (Rey *et al.* 2019). Therefore, the general model verification requires an application of indirect methods of the filter cake analysis.

6.2. Particle concentration on membrane-cake interface

Fig. 4 presents the evolution of particle concentration on the internal membrane surface φ_m during the swelling of thick filter cakes at different values of membrane resistance r_{in} .

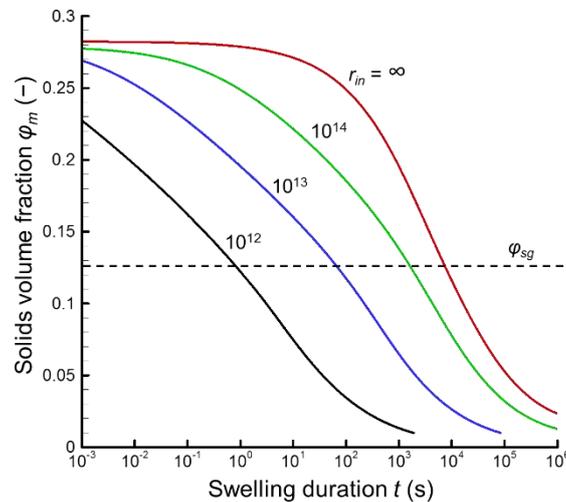


Figure AN.4.4. Solid volume fraction at the cake-membrane interface versus the swelling duration for the thick filter cake (example for $\omega_0 = 100 \mu\text{m}$) for different values of outside-in membrane resistance r_{in} (shown near the curves). The inside-out membrane resistance is $r_m = r_{in}$ (except of $r_m = 10^{13} \text{ m}^{-1}$ for $r_{in} = \infty$). Dashed horizontal corresponds to the concentration of sol-gel transition φ_{sg} for the studied system.

For any nonzero value of membrane resistance (including $r_{in} = \infty$) the value of φ_m gradually decreases with time: the lower is r_{in} , the faster is the concentration decrease that is explained by faster filtrate inflow and its absorption by the filter cake part adjacent to the membrane surface. In the limiting case of $r_{in} = 0$, the solid volume fraction at the membrane surface decreases to the value $\varphi(p_s = 0)$ at the first instance of the swelling (Murase *et al.* 1989b, 1990). However, in the current model it is assumed

that the filter cake compression is reversible ($\varphi \rightarrow 0$ when $p_s \rightarrow 0$), and the value of φ_m can decrease below φ_{sg} , the concentration of sol-gel transition (i.e., transition from liquid-like to solid-like rheological behavior).

Fig. 5 presents the time ϑ , which is required in order to attain $\varphi_m = \varphi_{sg}$ at different conditions of swelling.

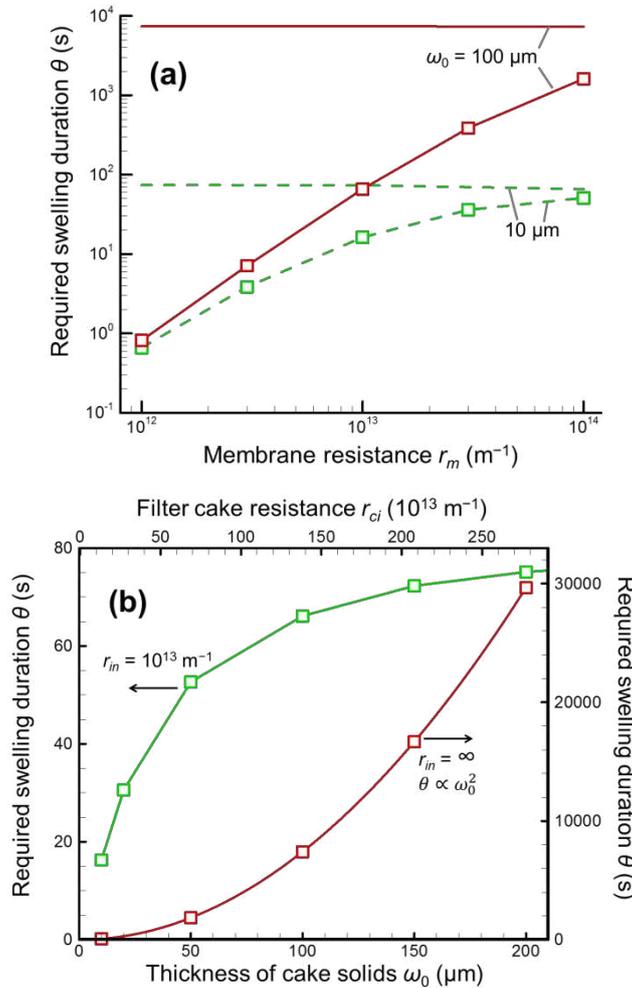


Figure AN.3.5. Time required for filter cake swelling ϑ at different conditions: (a) ϑ versus the membrane hydraulic resistance r_m for thin ($\omega_0 = 10 \mu\text{m}$, dashed curves) and thick ($\omega_0 = 100 \mu\text{m}$, solid curves) filter cakes for the cases with ($r_{in} = r_m$, curves) and without ($r_{in} = \infty$, horizontals) filtrate inflow across the membrane; (b) ϑ versus the filter cake thickness ω_0 and initial filter cake resistance r_{ci} for the cases with (example for $r_{in} = 10^{13} \text{m}^{-1}$) and without ($r_{in} = \infty$) filtrate inflow across the membrane with $r_m = 10^{13} \text{m}^{-1}$.

For any filter cake thickness the value of ϑ increases with r_{in} and asymptotically approaches the value expected for the case of filter cake swelling in the absence of filtrate inflow across the membrane (cake swelling on impermeable surface with $r_{in} = \infty$, horizontals in Fig. 5a). The difference in swelling kinetics in the absence and presence of filtrate inflow is more remarkable for the thick filter cakes as compared to thin filter cakes. It is interesting to note that in the case when filtrate inflow is possible ($r_{in} \neq \infty$), the

required swelling duration ϑ is far less sensitive to the filter cake thickness increase as compared to the case, when filtrate is not absorbed across the membrane ($r_{in} = \infty$). For example, when $r_{in} = 10^{13} \text{ m}^{-1}$ the increasing of ϑ quickly slows down as ω_0 increases, while ϑ continuously increases as ω_0^2 in the case of impermeable membrane (Fig. 5b). This can be explained as follows: in first case the filtrate can be absorbed via two surfaces of the filter cake (Fig. 1), and its flow towards the high p_s area is impeded by membrane resistance r_{in} (which is assumed to be constant) and resistance of the filter cake r_{ci} (which is proportional to ω_0 , Fig. 5b). Therefore, the increasing of r_{ci} in the case of a permeable membrane has only limited impact on the swelling kinetics at the membrane-cake interface. While in the case of impermeable surface with $r_{in} = \infty$, the swelling follows the usual law for swelling and diffusion into a semi-infinite medium $t \propto l^2$ (Crank et Crank 1979 ; Tanaka et Fillmore 1979).

6.3. Membrane rinsing after the filter cake swelling

It must be noticed that for any value of ϑ , when $\varphi_m = \varphi_{sg}$, the $\varphi(x)$ distribution in the swelling cake is distinct in case of the absence and presence of filtrate inflow across the membrane: in the case of $r_{in} = \infty$ the highest particle concentration exists at the membrane surface ($\varphi_{max} = \varphi_m = \varphi_{sg}$), while in the case with filtrate inflow φ_{max} is situated at the certain distance from the membrane surface and a gelled part of the filter cake with $\varphi_{max} > \varphi_{sg}$ remains in the system event when $t > \vartheta$. In principle, this difference can be used for the model verification via the following experiment. When a filter cake with $\varphi_m > \varphi_{sg}$ is present on the membrane, certain minimal value of tangential force is required in order to sweep it from the surface (e.g., (Benkahla *et al.* 1995)). It can be expected that both attraction between cake particles and adhesion of the cake to the membrane decrease with decreasing of local particle concentration (Mattsson *et al.* 2015, 2018 ; Lewis *et al.* 2017) (for example, due to the swelling (Nakanishi et Kessler 1985)). Below, it is assumed that the force, required for the sweeping of the filter cake layer with a local particle concentration φ , significantly decreases, when $\varphi \leq \varphi_{sg}$ (i.e., the gel is rigid and strongly attached to membrane surface, while the sol is liquid and can be easily removed). These are reasonable assumptions for a reversibly compressible filter cake, which is in the focus of the current paper. Fig. 6 schematically presents two filter cakes (after the swelling but before the rinsing): cake 1 with $\varphi_m > \varphi_{sg}$ and cake 2 with $\varphi_m < \varphi_{sg}$.

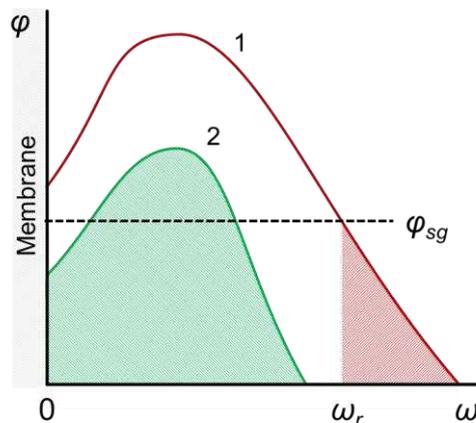


Figure AN.4.6. To the experiment on membrane rinsing after the cake swelling: filter cakes with different particle concentration distribution (cake 1 with $\varphi_m > \varphi_{sg}$ and cake 2 with $\varphi_m < \varphi_{sg}$); dashed

horizontal corresponds to the concentration of sol-gel transition, φ_{sg} , shaded parts can be removed from the surface (at left) by small tangential force, because $\varphi \leq \varphi_{sg}$ at their left borders.

According to the previous reasoning, if small tangential force is applied, only shaded part of the cake 1 with $\varphi \leq \varphi_{sg}$ is removed, the quantity of solids remaining on the membrane surface after the swelling-sweeping operation is defined by the solid pressure distribution profile attained during the sweeping and it is denoted as ω_r , $\omega_r > 0$ (Fig. 6). However, when the value $\varphi_m \leq \varphi_{sg}$ is attained during the swelling (cake 2, Fig. 6), the cake is removed entirely because the adhesion of its part adjacent to membrane surface is small. If the hydraulic resistance of the residual part of the filter cake r_r is measured by liquid percolation at the same applied pressure ΔP as it was used for the cake formation, the value of r_r can be calculated as that of r_{ci} (using Eqs. (B8) – (B9) with the value of ω_0 replaced by ω_r).

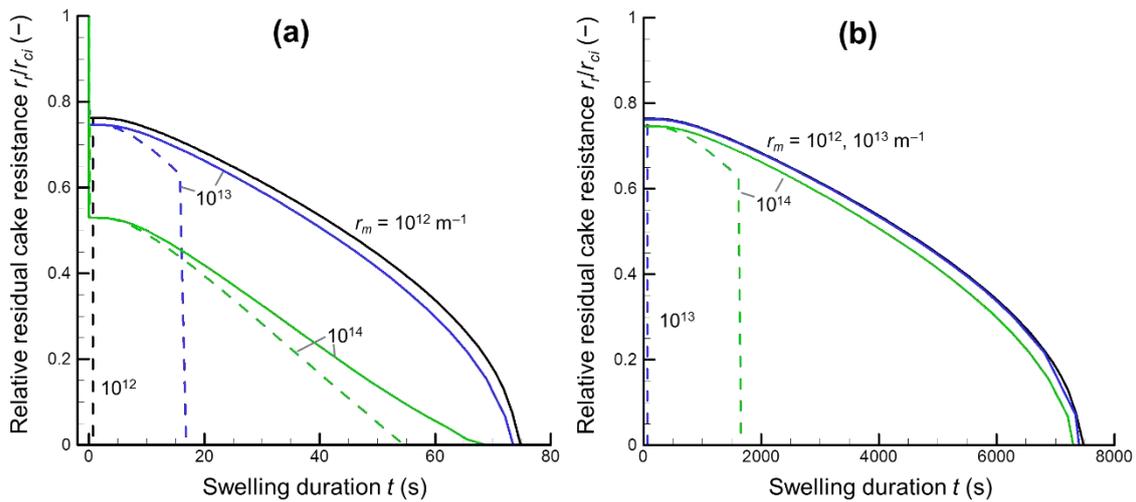


Figure AN.4.7. Relative residual cake resistance r_r/r_{ci} when the sweeping force is applied after the swelling duration t in the absence (solid curves $r_{in} = \infty$) and presence (dashed curves, $r_{in} = r_m$) of filtrate inflow across the membrane: (a) thin filter cakes, $\omega_0 = 10 \mu\text{m}$; (b) thick filter cakes, $\omega_0 = 100 \mu\text{m}$. The values of r_m are shown near the curves.

Fig. 7a compares the values of r_r/r_{ci} attained after the swelling of initially thin ($\omega_0 = 10 \mu\text{m}$) filter cakes different in the absence (solid curves) and presence (dashed curves) of filtrate inflow and absorption across the membrane. The observed immediate decrease of r_r/r_{ci} at $t = 0$ for all filter cakes is explained by the fact that the outer part of the cake has $\varphi < \varphi_{sg}$ and can be easily removed by sweeping without swelling. In the absence of filtrate inflow and absorption across the membrane ($r_{in} = \infty$), the difference in $r_r(t)$ behavior is explained by initially different filter cake structure, when the cakes are formed at different membrane resistances: the lower is r_m , the lower is the initial $\varphi(x)$ distribution (under constant ΔP and ω_0) and the faster is the cake swelling and removal (that corresponds to the small negative slope of horizontals in Fig. 5a). An important common feature for the cakes swelling at $r_{in} = \infty$ is that the decrease of $r_r(t)$ to 0 is gradual. In contrast, when the filtrate inflow and absorption across the membrane are possible, the $r_r(t)$ behavior is different: gradual decreasing is followed by an abrupt drop to 0, because at $t = \vartheta$ the gelled part of the swelling cake is not in a direct contact with the membrane. This difference is less obvious for thin filter cakes at high values of r_{in} (at low ratio of r_{ci}/r_{in} , e.g. for $r_m = 10^{14} \text{ m}^{-1}$ in Fig. 7a) because in this case the swelling behavior at large t approaches to that

in the absence of filtrate inflow (Fig. 3c). However, this difference is distinct in the case of low r_{in} ($r_{in} = 10^{12}$ and 10^{13} m^{-1}). For thick cakes ($\omega_0 = 100 \text{ }\mu\text{m}$), which swell with filtrate inflow across the membrane, an abrupt drop of r_r is observed even in the case of high r_{in} (Fig. 7b).

Though an implementation of the experiment on the swelling followed by the sweeping described above can put in evidence the influence of the membrane resistance on the filter cake swelling kinetics, it is based on the assumption that the swelled gel (with $\varphi_m < \varphi_{sg}$) is instantaneously removed from the surface under the application of a small (infinitesimal) tangential shear force. However, in practice, removal of the swelled gel from the surface in a reasonably short time will require an application of certain minimal force. This can also provoke a tangential movement (“sliding”) of the non-swelled gel that must be considered in predicting of the $r_r(t)$ behavior. It can be assumed that when an external tangential shear force τ_{ext} is applied to the gel after a certain swelling duration, the entire gel can move along the membrane surface in the direction of τ_{ext} , if a part of the swelled gel in vicinity of the membrane attained a concentration, which corresponds to the local yield stress $\tau_0 < \tau_{ext}$ (at $x = 0..h$, Fig. 8).

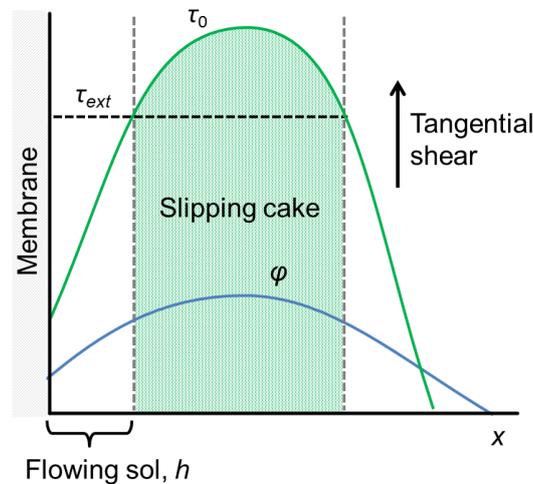


Figure AN.4.8. Solid concentration distribution $\varphi(x)$ and corresponding yield stress distribution $\tau_0(x)$ in a swelled gel. In the vicinity of membrane the part of the gel with $\tau_0(x) < \tau_{ext}$ can flow under the external shear force, that cause the movement of the denser part of the gel with $\tau_0(x) > \tau_{ext}$.

If it is assumed that the part of the gel having local yield stress $\tau_0(x) > \tau_{ext}$ behaves as a rigid body (shaded area in Fig. 8), its velocity can be estimated from the equation for the plate, which moves relatively a parallel fixed surface (membrane) with the gap filled with non-Newtonian liquid having rheological properties depending on a local solid concentration. If the local rheological properties in flowing sol (Fig. 8) are described by Herschel-Bulkley model (Eq. (C3)), the relative velocity v under the external shear stress τ_{ext} can be calculated as

$$v = \int_0^h \left(\frac{\tau_{ext} - \tau_0(x)}{K(x)} \right)^{\frac{1}{N(x)}} dx \quad (13)$$

where h is the thickness of the gap between the membrane and the gel ($\tau_0 = \tau_{ext}$ at $x = h$, Fig. 8), and the local values of parameters of Herschel-Bulkley equation $K(x)$, $N(x)$ and $\tau_0(x)$ are determined by the local solid concentration $\varphi(x)$.

Fig. 9 presents values of the gap thickness h and the velocity v calculated for different swelling durations t . The concentration dependencies of Herschel-Bulkley equation parameters, determined by Jin et al. (Jin *et al.* 2014b) for casein micelles dispersion and presented in the Appendix C, were used for calculations. The data presented in Fig. 9 are calculated for $\tau_{ext} = 20$ Pa, which is a reasonable estimate for the upper level of τ_{ext} available for conventional lab scale tangential and stirred dead-end filtration equipment. At the same time $\tau_{ext} = 20$ Pa is significantly lower than the yield stress of the gelled part of the filter cake on the membrane surface before the swelling (Fig. C2)

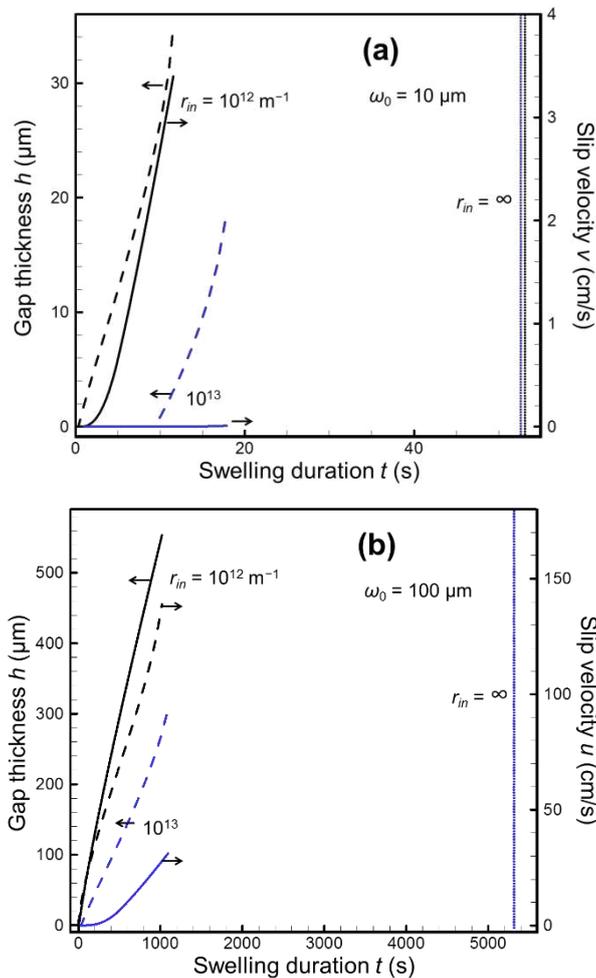


Figure AN.4.9. Estimated values of the gap thickness h (dashed curves) and the tangential velocity of the gel v (solid curves) versus the swelling duration for (a) thin ($\omega_0 = 10 \mu\text{m}$) and (b) thick ($\omega_0 = 100 \mu\text{m}$) filter cakes under the external tangential shear $\tau_{ext} = 20$ Pa. The values of the membrane resistance to filtrate inflow r_{in} are indicated near the curves. The curves end, when the solid gel disappears because of the swelling: $\varphi_{max} = \varphi(\tau_0 = \tau_{ext})$. Horizontals correspond to the moment of the solid gel disappearance in the absence of filtrate inflow across the membrane: $r_{in} = \infty$, $\varphi_m = \varphi(\tau_0 = \tau_{ext})$.

The lower are r_{in} and ω_0 , the faster is the gel swelling (Fig. 5a), and the faster is the increasing of h and v with t . In the case of initially thin filter cake ($\omega_0 = 10 \mu\text{m}$, Fig. 9a) the values of h attained before the moment of the solid gel disappearance (final points of the curves in Fig. 9) are of the order of tenth

of microns. These low values of h are close to the surface roughness of actual membranes that conflicts with the assumption about the parallel membrane-gel alignment (Fig. 8). It can be speculated that in the case of thin filter cakes, the part of the gel with $\varphi(x) > \varphi(\tau_0 = \tau_{ext})$ can not move along the membrane surface because of the membrane roughness. Therefore, in this case $\omega_0 = 10 \mu\text{m}$, the swelled cake is swept from the membrane surface only after sufficient swelling duration, when $\varphi(x) < \varphi(\tau_0 = \tau_{ext})$: $t \approx 10 \text{ s}$ at $r_{in} = 10^{12} \text{ m}^{-1}$ and $t \approx 20 \text{ s}$ at $r_{in} = 10^{13} \text{ m}^{-1}$. This noticeably increases the expected time required for complete gel removal from the membrane in the presence of filtrate inflow, from $\approx 1 \text{ s}$ to $\approx 10 \text{ s}$ at $r_{in} = 10^{12} \text{ m}^{-1}$ and from $\approx 15 \text{ s}$ to $\approx 18 \text{ s}$ at $r_{in} = 10^{13} \text{ m}^{-1}$. Nevertheless, these values are lower as compared to the time required for the gel swelling in the absence of filtrate inflow across the membrane ($\approx 50 \text{ s}$ at $r_{in} = \infty$, Fig. 9a), which suggests the positive influence of filtrate inflow on the gel removal. At high filter cake thickness $\omega_0 = 100 \mu\text{m}$, the gel swelling is slow, however, the gap thickness h can reach the values $h > 100 \mu\text{m}$ and expected gel tangential velocity can exceed $10 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ before the gel disappearance (Fig. 9b). Therefore, in the presence of filtrate inflow and absorption by filter cake, an abrupt decrease of residual resistance r_r (Fig. 7a, b) can be also expected in the case of application of non-infinitesimal τ_{ext} for the gel sweeping both for thick and thin filter cakes. This also implies that in the presence of filtrate inflow and absorption across the membrane, the experiment on the swelling-sweeping of thick filter cakes can result in the appearance of gel lumps in the flushing liquid (Jimenez-lopez *et al.* 2008 ; Wemysy Diagne *et al.* 2013) (in contrast to the case with $r_{in} = \infty$, where the membrane is efficiently cleaned, when the gel swelling is completed). Though the swelling duration required for the thick cake sweeping from the surface is too high to have practical application (Fig. 9b), the proposed experiment can be used for the elucidation of the influence of membrane resistance on the filter cake swelling.

Tangential movement (“sliding”) of the filter cake, which is discussed above, is different from the apparent wall slip (or wall slip) (Bonn *et al.* 2017), which is not included in the current simplified model of the filter cake removal. The discussed “sliding” onsets, when the stress applied to the swelling gel exceeds a minimal local value of the true yield stress in the internal swelling part of the gel ($\tau_{ext} > \min(\tau_0)$). The wall slip appears, when τ_{ext} exceeds an apparent local yield stress τ_{0a} ($\tau_{ext} > \tau_{0a}$). For homogeneous yield stress materials with a given particle volume fraction φ , the apparent yield stress is lower than the true one, $\tau_{0a}(\varphi) < \tau_0(\varphi)$ (Seth *et al.* 2008). The value of τ_{0a} is not a material property, it decreases with the increasing of the smoothness on the fixed wall (Seth *et al.* 2008). The information on τ_{0a} is scarce, however, it was reported that for some materials τ_{0a} (as well as τ_0) strongly decreases with decreasing of φ (Seth *et al.* 2008). Hence, the value of τ_{0a} should also decrease during the filter cake swelling on the membrane surface. If the membrane smoothness is not dependent on membrane resistance, the decreasing of τ_{0a} should be faster for the membrane with lower resistance to filtrate inflow r_{in} because of the faster decreasing of φ in the vicinity of the membrane surface (and φ_m , in particular). Hence, qualitatively, whatever the reason of tangential movement of the swelled filter cake under the external shear stress (wall slip or “sliding”), the decreasing of r_{in} facilitates both (increases the tangential velocity, or decreases τ_{ext} and swelling time required for the onset of tangential movement). The conclusion about easier removal of filter cake in the case of higher membrane permeability and filtrate inflow holds in case of wall slip.

7. Conclusions and final remarks

The model of one-dimensional swelling of colloidal filter cake after the filtration pressure release is developed in the frame of conventional filtration-consolidation theory. The model considers the

filter cake as a Terzaghi element, and it takes into account possible filtrate inflow across the membrane under the solid pressure gradient and its uptake by the cake.

The model predicts that the filter cake swelling mechanism and swelling kinetics are determined by the filter cake properties (compressibility, permeability), the initial filter cake resistance r_{ci} and the membrane resistance to filtrate inflow r_{in} . The rate of the cake swelling on the impermeable surface ($r_{in} = \infty$) significantly decreases with increasing of r_{ci} (or initial cake thickness). While in the presence of filtrate inflow across the membrane ($r_{in} \neq \infty$), the swelling rate is less sensitive to r_{ci} , and it increases with decreasing of the membrane resistance to filtrate inflow r_{in} . This is explained by relatively fast filtrate inflow and absorption across the membrane as compared to slower filtrate flow from the bulk suspension throughout the inner part of the filter cake.

At high values of r_{ci}/r_{in} ratio (relatively thick filter cakes on permeable membrane surface), the swelling results in the non-uniform (bell-like) solid concentration distribution in the swelling cake (in contrast to monotonic decreasing of local solid concentration in the cake swelling on an impermeable surface). At a reasonably high initial cake thickness ($\omega_0 = 100 \mu\text{m}$) this prediction can be verified with the help of in situ SAXS-filtration method (Pignon *et al.* 2004 ; David *et al.* 2008 ; Jin *et al.* 2014b ; Doudies *et al.* 2018c, 2018a, 2018b ; Rey *et al.* 2019).

It is interesting to notice that the positive influence of non-uniform deposit swelling on its removal from non-porous surface is widely discussed, but outside of filtration literature (Tan *et al.* 2008 ; Yang *et al.* 2010 ; Jing *et al.* 2010 ; Berkelaar *et al.* 2015 ; Wang et Zhao 2015 ; White *et al.* 2015). It was demonstrated that formation of more voluminous internal layer under the rigid outer layer of the deposit can result in formation of surface instabilities, which facilitate the deposit detachment. Moreover, an interesting article recently demonstrated that the wrinkles formation during the alginate gel swelling after the reverse osmosis and forward osmosis filtration facilitates the fouling gel detachment and removal from the membrane (Tow *et al.* 2016).

Further calculations, based on actual rheological properties of colloidal dispersions of casein micelles, show that filtrate inflow across the membrane under the solid pressure gradient can have a noticeable influence on the rate of membrane surface rinsing by external shear force, which is applied after the cake swelling: the decreasing of r_{in} results in the decreasing of the swelling duration required for the filter cake elimination. Because of the bell-like solid concentration distribution in the swelling cake with initially high thickness ($\omega_0 = 100 \mu\text{m}$), it can be swept from the surface under the tangential shear stress, which is lower than the yield stress of the gel. This peculiar dependence of the strength of the filter cake adhesion to the membrane on the swelling duration, the filter cake thickness and the membrane resistance to filtrate inflow can be verified with the help of available methods for analysis of deposit properties (Liu *et al.* 2006 ; Hooper *et al.* 2006 ; Akhtar *et al.* 2010 ; Gordon *et al.* 2010, 2014 ; Saikhwan *et al.* 2010 ; Ali *et al.* 2015 ; Mattsson *et al.* 2015, 2018 ; Lewis *et al.* 2017).

It should be noted that the positive effect of filtrate inflow into the cell (filtrate back permeation) on the membrane surface cleaning is widely demonstrated and modeled in the literature on osmotic backwash or reverse osmosis and forward osmosis membranes (e.g., (Sagiv et Semiat 2010 ; Kim *et al.* 2012 ; Motsa *et al.* 2014, 2017 ; Blandin *et al.* 2016)) and hydraulic back pulsing of ultrafiltration membranes (e.g., (Lalrinsanga *et al.* 2013 ; Vinther *et al.* 2014 ; Akhondi *et al.* 2017)). It is discussed that liquid permeation across the membrane (either under the hydraulic pressure application or the osmotic pressure difference between the filtrate and saline bulk solution) reduces the deposit attachment to the membrane and shifts it away from the membrane surface. This facilitates the deposit removal by tangential flow. The present model results suggest that the same effect (filtrate

backflow, gel softening, and its lifting from the membrane surface) can be expected without the hydraulic back-pressure application or increasing the bulk osmotic pressure.

A number of assumptions was used in the current model of filter cake swelling: completely reversible cake compression, absence of creep, one-dimensional cake expansion during the swelling, and simplified consideration of cake adhesion to membrane surface and simplified presentation of filtration membrane. Hence, further development of this model can be focused on partial irreversibility of filter cake compression (e.g., as in (Iritani *et al.* 2018a)) and its limited redispersion (as in (Qu *et al.* 2015)). It also can include more realistic membrane model (porous surface instead of semipermeable continuum) and account for 2D and 3D swelling (in order to be able to describe possible wrinkles formation (Tow *et al.* 2016)).

Despite of used assumptions and conclusion that the influence of the membrane resistance to filtrate inflow on the filter cake swelling and removal is less important for thin filter cakes (which are met in membrane filtration applications) as compared to thick filter cakes (that are mainly used for laboratory analysis of filter cakes), we hope that conclusions of current work can be useful in different cases: for example, during the interpretation of experimental data on reversibility of cake formation and compression (Iritani *et al.* 2018a ; Jørgensen *et al.* 2019 ; Loginov *et al.* 2019 ; Aguiar *et al.* 2019), filter cake adhesion to membrane (Zhou *et al.* 2019), and critical conditions of cake removal from the membrane surface (Wemsy Diagne *et al.* 2013 ; Steinhauer *et al.* 2015).

Acknowledgments

ML thanks department CEPIA of INRA for the financial support provided for his work in the frame of the project ANS “Emomilé: étude et modélisation de la microfiltration du lait”. The authors thank Dr. Javier Pérez, group leader of the beamline SWING of Synchrotron SOLEIL, for his invaluable help with the project realization. ML equally thanks Dr. Alexander Zaderko for invaluable help with osmotic pressure gedanken experiments.

Appendix A. Analytical solution of basic consolidation equation for cake swelling

Solution of Eq. (7) with conditions (8), (9) and (12) requires the knowledge of pressure dependencies of void ratio $e(p_s)$ and specific filtration resistance $\alpha(p_s)$. In the filtration-consolidation literature it became conventional to replace these dependencies with an effective constant, the modified average consolidation coefficient C_e

$$C_e = \frac{1}{\mu \alpha \rho_s (-de/dp_s)} \quad (\text{A1})$$

which value can quantitatively characterize the kinetics of entire consolidation (or swelling) process for moderately compressible filter cakes. Following the traditional approach and introducing another effective constant, the average specific filtration resistance on the membrane surface α_e , instead of $\alpha_m(p_s)$ into Eq. (12), Eq. (7) can be solved analytically (Murase *et al.* 1989b ; Iwata et Murase 1993 ; Iritani *et al.* 2007 ; Iwata et Jami 2007), and solid pressure distribution during the swelling can be presented as

$$p_s(\omega, t) = \int_0^1 p_{si}(\xi) \sum_{k=1}^{\infty} \frac{2\lambda_k \sin^2 \lambda_k}{\lambda_k - \sin \lambda_k \cos \lambda_k} f_n(\omega) f_n(\xi) \exp\left(-\lambda_k^2 \frac{C_e}{\omega_0^2} t\right) d\xi \quad (\text{A2})$$

where functions $f_n(\omega)$ and $f_n(\xi)$ are

$$f_n(\omega) = \cos\left(\lambda_k \frac{\omega}{\omega_0}\right) - \cot \lambda_k \sin\left(\lambda_k \frac{\omega}{\omega_0}\right) \quad (\text{A3})$$

$$f_n(\xi) = \cos(\lambda_k \xi) - \cot \lambda_k \sin(\lambda_k \xi) \quad (\text{A4})$$

and λ_k are roots of equation

$$-\frac{\tan \lambda}{\lambda} = \frac{r_{in}}{\rho_s \alpha_e \omega_0} \quad (\text{A5})$$

in the order of increase of their absolute values.

Eq. (A2) is obtained for an arbitrary initial solid pressure distribution in the filter cake $p_{si}(\omega)$. As soon as the current approach is justified only for moderately compressible filter cakes, one can focus only on the linear initial solid pressure distribution:

$$p_{si}(\omega) = p_{mi}(1 - \omega/\omega_0) \quad (\text{A6})$$

where p_{mi} is the initial value of solid pressure at the membrane surface. Introducing Eq. (A6) into (A2) yields

$$p_s(\omega, t) = p_{mi} \sum_{k=1}^{\infty} \frac{2(\sin^2 \lambda_k - \lambda_k \sin \lambda_k \cos \lambda_k)}{\lambda_k^2 - \lambda_k \sin \lambda_k \cos \lambda_k} f_n(\omega) \exp\left(-\lambda_k^2 \frac{C_e}{\omega_0^2} t\right) \quad (\text{A7})$$

Using Eq. (A2) the solid pressure at cake-membrane surface ($\omega = 0$) can be determined as

$$p_m(t) = p_{mi} \sum_{k=1}^{\infty} \frac{2(\sin^2 \lambda_k - \lambda_k \sin \lambda_k \cos \lambda_k)}{\lambda_k^2 - \lambda_k \sin \lambda_k \cos \lambda_k} \exp\left(-\lambda_k^2 \frac{C_e}{\omega_0^2} t\right) \quad (\text{A8})$$

The value of p_m asymptotically approaches 0 during the filter cake swelling. The volume of filtrate absorbed by the swelling filter cake can be obtained with the help of integration of Darcy equation (10) over the swelling time:

$$\frac{V_f(t)}{S} = \frac{p_{mi}}{\mu r_{in}} \frac{\omega_0^2}{C_e} \sum_{k=1}^{\infty} \frac{2}{\lambda_k^2} \cdot \frac{\sin^2 \lambda_k - \lambda_k \sin \lambda_k \cos \lambda_k}{\lambda_k^2 - \lambda_k \sin \lambda_k \cos \lambda_k} \cdot \left[1 - \exp\left(-\lambda_k^2 \frac{C_e}{\omega_0^2} t\right)\right] \quad (\text{A9})$$

where S is the membrane surface.

The volume of filtrate absorbed by the cake across the membrane increases with time and asymptotically approaches to a certain value $V_{f\infty}$ that is defined as

$$\frac{V_{f\infty}}{S} = \frac{p_{mi}}{\mu r_{in}} \frac{\omega_0^2}{C_e} \sum_{k=1}^{\infty} \frac{2}{\lambda_k^2} \cdot \frac{\sin^2 \lambda_k - \lambda_k \sin \lambda_k \cos \lambda_k}{\lambda_k^2 - \lambda_k \sin \lambda_k \cos \lambda_k} \quad (\text{A10})$$

The ‘‘completeness’’ of filtrate absorption by the filter cake can be characterized with the help of a ratio U

$$U = \frac{V_f(t)}{V_{f\infty}} \quad (\text{A11})$$

which changes from 0 to 1 during the filter cake swelling.

Equations analogous to Eqs. (A9) – (A11) are frequently applied for description of different types of consolidation of moderately compressible materials. Therefore, pressure dependencies of $\alpha(p_s)$ and $e(p_s)$ are generally ignored during the modelling: it is assumed that C_e is constant despite the fact that the solid pressure changes with time and across the sample.

The assumption about the constancy of C_e can be acceptable for the cases where the average solid pressure, that governs the process, does not change significantly with time: for example, during mechanical compression with small pressure increments.

However, in contrast to different consolidation processes, description of a filter cake swelling on a membrane surface requires an additional parameter, the average specific filtration resistance α_e of the filter cake layer adjacent to the membrane surface (parameter α_e appears in Eq. (A2) and following equations via Eq. (A5)). It substitutes an actual pressure dependency $\alpha(p_m)$, where p_m is the solid pressure on the cake-membrane surface. The latter decreases from p_{mi} to 0 (Eq. (A8)), which implies significant decrease of α during the swelling. In the present paper devoted to the role of membrane resistance in the filter cake swelling, this decrease can not be ignored, because, in

accordance to Eq. (A5), the value of specific filtration resistance α on the membrane surface is of the same importance for description of cake swelling as the value of the membrane resistance r_{in} .

Therefore, numerical solution of Eq. (7) was preferred in the current paper in order to avoid the ambiguities concerning the role of membrane resistance in cake swelling.

Nevertheless, it was observed that same trends are predicted for the solid pressure evolution with the help of numerical solution of Eq. (7) and with application of Eqs. (A2) – (A11).

Appendix B. Basic consolidation equation for cake swelling, numerical solution

The dependencies of osmotic pressure (solid pressure) $p_s(c)$ and hydraulic permeability $\kappa(c)$ and on the mass concentration of solid c reported by Bouchoux et al. (Bouchoux *et al.* 2014) for aqueous dispersions of casein micelles were used in numerical solution of Eq. (7):

$$p_s(c) = a_p c + b_p c^2 + c_p c^3 + f_p c^6 \quad (B1)$$

$$\kappa(c) = (a_\kappa c + b_\kappa c^2 + f_\kappa c^6)^{-1} \quad (B2)$$

Here c is expressed in kg/m^3 , and numerical values of polynomial coefficients are $a_p = 8$, $b_p = 3 \cdot 10^{-2}$, $c_p = 10^{-5}$, $f_p = 3 \cdot 10^{-11}$, $a_\kappa = 9.2 \cdot 10^{14}$, $b_\kappa = 1.1 \cdot 10^{12}$, $f_\kappa = 4.6 \cdot 10^3$. These dependencies are discussed in Appendix C.

Introducing the dependencies $\kappa(c)$ and $p_s(c)$ into Eq. (7) with the help of relations (C1) – (C2) and the definition of the void ratio

$$e = (1 - \varphi)/\varphi \quad (B3)$$

yield handy forms of basic consolidation equation

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{c^2}{\mu \rho_s^2} \cdot \frac{\partial}{\partial \omega} \left(c \kappa(c) \frac{\partial p_s(c)}{\partial c} \cdot \frac{\partial c}{\partial \omega} \right) \quad (B4)$$

as well as initial and boundary conditions. When the swelling is preceded by the constant pressure dead-end filtration that results in formation of a filter cake with the solid concentration distributed from c_{mi} (on the membrane surface where $\omega = 0$) to c_0 (on the cake-suspension interface where $\omega = \omega_0$), the initial condition (8) can be rewritten as

$$\int_c^{c_{mi}} c \kappa(c) \frac{\partial p_s(c)}{\partial c} dc = \frac{\omega}{\omega_0} \int_{c_0}^{c_{mi}} c \kappa(c) \frac{\partial p_s(c)}{\partial c} dc \quad \text{at } t = 0 \quad (B5)$$

The boundary conditions (9) and (12) can be represented as

$$c = c_0 \quad \text{at } \omega = \omega_0 \quad (B6)$$

$$\frac{dc}{d\omega} = \frac{p_s(c)}{r_{in}} \cdot \frac{\rho_s}{c \kappa(c) \frac{\partial p_s(c)}{\partial c}} \quad \text{at } \omega = 0 \quad (B7)$$

Eq. (B4) can be solved with initial and boundary conditions (B5) – (B7) for known dependencies $\kappa(c)$ and $p_s(c)$ and given values of parameters r_{in} , c_{mi} and ω_0 . The initial solid concentration on the cake-membrane interface of c_{mi} (in Eq. (B5)) is defined by the pressure applied during the cake formation (i.e., dead-end filtration) ΔP and the ratio of inside-out membrane resistance r_m to the filter cake resistance attained at the end of filtration r_{ci} as

$$p_s(c_{mi}) = \Delta P / (1 + r_m / r_{ci}) \quad (B8)$$

where r_{ci} is defined from

$$r_{ci} = \rho_s \omega_0 \cdot \frac{p_s(c_{mi})}{\int_{c_0}^{c_{mi}} c \kappa(c) \frac{\partial p_s(c)}{\partial c} dc} \quad (B9)$$

Eq. (7) was solved (dependencies $c(\omega/\omega_0, t)$ were obtained) by the Crank-Nicholson method with the help of Maple 18 (Maplesoft). Temporal and spatial step sizes were chosen such that their

reduction would have had no observable effect on the result of calculation of local properties (compressibility, permeability, and further tangential velocity) of the swelling cake.

In order to study the influence of the possibility and intensity of filtrate inflow across the membrane on the filter cake swelling, Eq. (7) was solved for different values of r_{in} , including the case $r_{in} = \infty$, which corresponds to the absence of filtrate absorption by the cake. The value of ω_0 , used for solution, was varied from 10 to 200 μm . Particular attention was focused on the cases $\omega_0 = 10 \mu\text{m}$ and $\omega_0 = 100 \mu\text{m}$. The former corresponds to “thin” filter cakes, which can be met in membrane filtration applications, while the latter simulates rather “thick” filter cakes (or deposits) that are usually obtained in laboratory studies on filtration and/or surface cleaning (Pignon *et al.* 2004 ; David *et al.* 2008 ; Jin *et al.* 2014b ; Mattsson *et al.* 2015, 2018 ; Lewis *et al.* 2017 ; Doudies *et al.* 2018c, 2018a, 2018b ; Rey *et al.* 2019). Other parameters were fixed at reasonable values: the pressure applied during the cake formation $\Delta P = 10^5 \text{ Pa}$, the filtrate viscosity $\mu = 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$, the bulk concentration of casein micelles dispersion $\varphi_0 = 0.02$.

Appendix C. Casein micelles dispersions, material properties

Casein micelles, which properties are used in order to describe colloids typically met in filtration, are well characterized natural spherical porous colloidal particles, highly compressible and deformable, stable against the aggregation at neutral pH (Broyard et Gaucheron 2015). Using the methods of osmotic stress and dead-end filtration, Bouchoux *et al.* obtained dependencies of hydraulic permeability κ and osmotic pressure of casein micelles dispersions on the solids concentration c for a wide range of solid pressure (Bouchoux *et al.* 2014). These dependencies are presented by Eqs. (B1) – (B2). The osmotic pressure of casein micelles dispersions attained in osmotic stress experiments is equivalent to their compressive pressure (solid pressure). The specific filtration resistance and the solids volume fraction can be obtained from the data of Bouchoux *et al.* (Bouchoux *et al.* 2014) as

$$\alpha = 1/\kappa c \quad (\text{C1})$$

$$\varphi = c/\rho_s \quad (\text{C2})$$

The density of solids of casein micelles can be calculated from the values of micelles voluminosity and the micelles density reported by de Kruif and Huppertz (de Kruif et Huppertz 2012): $\rho_s = 1.35 \text{ g/ml}$ (which is close to the value provided by Morris *et al.* (Morris *et al.* 2000)). The obtained dependencies $\alpha(\rho_s)$ and $\varphi(\rho_s)$ presented in Fig. C1.

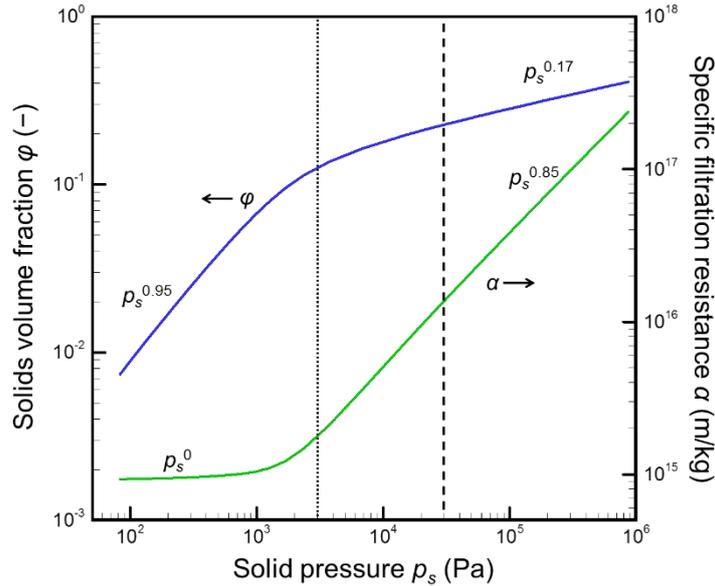


Figure AN.4.C1. Pressure dependency of solids volume fraction and specific filtration resistance for aqueous dispersions of casein micelles (calculated from the data reposted by Bouchoux *et al.* (2014)). Dotted vertical corresponds to the solid pressure in the point of sol-gel transition; dashed vertical corresponds to the solid pressure required for “irreversible” gel formation.

At low particle concentration, casein micelles dispersions are sols with practically linear dependence between solids volume fraction and solid pressure and practically constant and low specific filtration resistance. According to the data of Bouchoux *et al.* (Bouchoux *et al.* 2009a, 2009b), the point of fluid sol to solid gel transition of casein micelles dispersions corresponds to the solid pressure about $p_s \approx 3$ kPa. Further, the increase of solid pressure above 30 kPa results into the “irreversible” gel formation; that is determined from the dead-end ultrafiltration experiments (Qu *et al.* 2012)). As well as many colloidal filter cakes, at high solid pressure, casein micelles gels have moderate compressibility ($\varphi \propto p_s^{0.17}$) and high specific filtration resistance that strongly depends on p_s ($\alpha = 10^{16} \dots 10^{17}$ m/kg, $\alpha \propto p_s^{0.95}$).

According to Jin *et al.* (Jin *et al.* 2014b), for a wide range of solid volume fraction $\varphi = 0.02 - 0.147$ rheological properties of aqueous dispersions of casein micelles can be described by Herschel-Bulkley model

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^N \quad (\text{C3})$$

where τ is the shear stress, $\dot{\gamma}$ is the shear rate, and K , N and τ_0 (yield stress) are parameters that depend on the solid volume fraction. Figure C2 presents these dependencies obtained via the least-square fitting of experimental $\tau(\dot{\gamma})$ data reported by Jin *et al.* (Jin *et al.* 2014b) for different casein micelles concentrations.

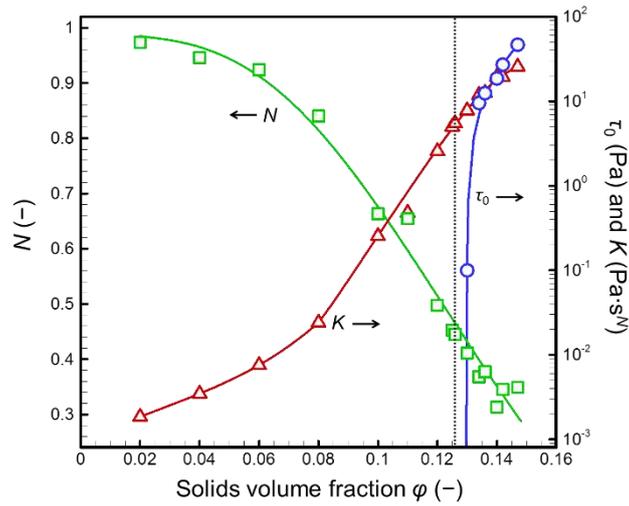


Figure AN.4.C2. Values of parameters of Herschel-Bulkley model for casein micelles dispersions at different solid concentrations: symbols – data obtained by least-square fitting of experimental dependencies $\tau(\dot{\gamma}, \varphi)$ (presented by Jin at al. (Jin *et al.* 2014b)) with the help of Eq. (C3), curves – result of best curve fitting for these data. Dotted vertical corresponds to the concentration of sol-gel transition.

Though dependencies presented in Figs. C1 – C2 were obtained either for equilibrium dispersions (prepared via powder rehydration or osmotic concentration), or dynamically compressed filter cakes (during the dead-end filtration), it was assumed that they are valid for description of local properties of filter cakes during the swelling.

Titre : Filtration de dispersions de micelles de caséine : propriétés physiques, rhéologiques et cohésives des couches accumulées à la surface de la membrane

Mots clés : Filtration, micelles de caséine, gel, relaxation, conditions opératoires, SAXS

Résumé : Lors de l'ultra- ou de la microfiltration de lait écrémé, les micelles de caséine, particules colloïdales poreuses et déformables, viennent s'accumuler à la surface des membranes passant de l'état liquide (sol) à l'état solide (gel) sous certaines conditions. Cela conduit à des altérations notables des performances de la filtration. Afin de mieux maîtriser les opérations de filtration, il est nécessaire de mieux connaître les conditions opératoires qui conduisent à la formation de ces gels et leurs propriétés. Deux stratégies ont été adoptées pour cela : (i) une approche *ex-situ*, pour étudier les propriétés physiques, rhéologiques et cohésives des micelles de caséine concentrées; (ii) une approche *in-situ* par diffusion de rayons X aux petits angles (SAXS) lors de l'ultrafiltration de micelles, afin de suivre les évolutions spatio-temporelles des profils de concentration en micelles de caséines à la surface de la membrane.

Par l'approche *ex-situ*, il a été mis en évidence des différences de comportement entre les dispersions de micelles de caséine à 7 et 20°C : à 7°C les micelles de caséine sont moins compressibles, leur concentration de transition sol-gel est plus basse et elles développent des interactions plus cohésives qu'à 20 °C. Par l'approche *in-situ*, les résultats montrent qu'il est possible d'éliminer partiellement les dépôts formés durant les filtrations tangentielles et frontales, en relâchant la pression appliquée. L'élimination du dépôt semble se faire par gonflement du gel de micelles de caséine par diffusion du solvant. Ceci permet d'envisager des perspectives en termes de rinçage et nettoyage des membranes.

Title: Filtration of casein micelle dispersions: physical, rheological and cohesive properties of accumulated layers at the membrane surface.

Keywords : Filtration, casein micelles, gel, relaxation, operating conditions, SAXS

Abstract: During skim milk ultra- or microfiltration, casein micelles that are porous and deformable colloidal particles, accumulate at the membrane surface and can turn from liquid state (sol) to solid state (gel) under some operating conditions. This leads to significant alterations of the filtration performances. In order to control filtration operations, it is necessary to better understand the operating conditions that lead to the formation of these gels and to their properties. Two approaches have been developed to answer to this problematic: (i) an *ex-situ* approach, to study physical, rheological and cohesive properties of concentrated dispersions of casein micelles; (ii) an *in-situ* approach with Small-Angle X-ray Scattering (SAXS) to follow spatio-temporal evolution of casein micelle concentration profiles

at the membrane surface during casein micelle ultrafiltration. By the *ex-situ* approach, the results show a difference of casein micelle dispersion behavior between 7 and 20 °C: at 7 °C, casein micelles are less compressible, their sol-gel transition concentration is lower and they developed more cohesive interactions than at 20 °C. By the *in-situ* approach, the results show that it is possible to partially remove deposits accumulated during crossflow and frontal filtration by a pressure relaxation. The deposit is removed likely by swelling of the casein micelle gel with diffusion of the solvent. These results allow to consider new perspectives of the rinsing and cleaning steps of membranes.