



HAL
open science

Modulation de la cristallisation de la matière grasse laitière en phase continue ou dispersée

Mathilde Bayard

► **To cite this version:**

Mathilde Bayard. Modulation de la cristallisation de la matière grasse laitière en phase continue ou dispersée. Autre. Université de Bordeaux, 2018. Français. NNT : 2018BORD0046 . tel-03270857

HAL Id: tel-03270857

<https://theses.hal.science/tel-03270857v1>

Submitted on 25 Jun 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.

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES
Physico-Chimie de la Matière Condensée

Par Mathilde BAYARD

**Modulation de la Cristallisation de la Matière Grasse
Laitière en Phase Continue ou Dispersée**

Sous la direction de Maud CANSELL et Fernando LEAL-CALDERON

Soutenue le 4 Avril 2018

Membres du jury :

M. Gérard CUVELIER	Professeur, Agro ParisTech	Président, Rapporteur
Mme Sabine DANTHINE	Professeur associé, Université de Liège	Rapporteur
Mme Sophie LECOMTE	Directeur de Recherche, CNRS	Examinatrice
M. Alain RIAUBLANC	Chargé de recherche, INRA	Examineur
Mme Maud CANSELL	Professeur, Bordeaux INP	Directrice de thèse
M. Fernando LEAL-CALDERON	Professeur, Bordeaux INP	Directeur de thèse
Mme Olesea MESTDAGH-ROMAN	Chef de projet R&D, Soredab	Invitée
M. Jean-Michel SOULIÉ	Responsable thématique, Soredab	Invité

Modulation de la Cristallisation de la Matière Grasse Laitière en Phase Continue ou Dispersée

La matière grasse laitière anhydre (MGLA) est composée à plus de 98 % de triglycérides. Leur diversité, liée à la nature des acides gras estérifiés, induit un comportement complexe de la MGLA lors de sa cristallisation. Par ailleurs, d'autres composés, dits mineurs, présents de manière endogène ou formés lors de procédés de transformation peuvent moduler le processus de cristallisation. Néanmoins, leurs modes d'action sont encore mal connus, rendant la maîtrise du processus de cristallisation délicat. La mise en œuvre de méthodes de caractérisation à différentes échelles (RMN, diffraction des rayons X, microscopie optique, analyse thermique différentielle, rhéologie) et à différentes températures permet de discriminer les mécanismes d'action des composés mineurs sur la cristallisation de la MGLA en phase continue ou dispersée. Ainsi, les composés mineurs modifient la cinétique de cristallisation de la MGLA, en agissant sur ses deux étapes, la nucléation et la croissance. En accélérant ou en ralentissant la vitesse de cristallisation, ils modifient la nature et/ou la structure du réseau cristallin et, éventuellement, les propriétés macroscopiques de la matière grasse. Les mécanismes d'action des composés mineurs sur la cristallisation de la MGLA dépendent de leur nature chimique (longueur de la chaîne carbonée, degré d'insaturation, estérification) et de leur concentration. Lorsque la matière grasse est émulsionnée, son confinement et la création d'interfaces complexifient le processus de cristallisation : les composés mineurs modulent la cristallisation via l'interface ou la phase grasse selon leur affinité préférentielle pour l'une ou l'autre des deux phases de l'émulsion et induisent des propriétés thermiques et structurales spécifiques. Ce travail permet, donc, de mieux comprendre les facteurs qui modulent la cristallisation de la matière grasse et ainsi de mieux maîtriser l'un des processus déterminants dans l'élaboration de la structure et de la fonctionnalité des produits laitiers.

Mots clés : Matière grasse laitière anhydre, cristallisation, composés mineurs, émulsion, micro- et nano-structure

Modulation of Milk fat Crystallization in Bulk Phase and Emulsion

Anhydrous Milk Fat (AMF) comprises more than 98% triglycerides. The diversity of the esterified fatty acids induces a complex behavior of AMF during crystallization. In addition, other minor components, either endogenously present or added upon processing modulate AMF crystallization. Nevertheless, the mechanisms underlying their mode of action are still poorly understood, making the mastery of fat crystallization difficult. Several characterization methods (NMR, X-ray diffraction, optical microscopy, differential scanning calorimetry, rheology) were implemented to screen a large set of minor components at different scales and temperatures. The approach enabled to gain knowledge about the involved mechanisms, both in bulk and in the emulsified state. Minor components modify the kinetics of AMF crystallization through their impact on the two main stages of the process, nucleation and growth. By accelerating or slowing down the rate of crystallization, they modify the nature and/or the structure of the crystal lattice and, possibly, the macroscopic properties of AMF. The impact of minor components on AMF crystallization depend on their chemical nature (length of the carbon chain, degree of unsaturation, esterification) and on their concentration. When fat is emulsified, confinement and interfacial effects come into play. Minor components modulate crystallization via the oil/water interface or via the fat phase depending on their preferential solubility, which may induce specific thermal and structural properties. On the whole, this study enables a better understanding of the factors that modulate milk fat crystallization and provides useful guidances for a better control of this key process controlling the structure and function of dairy products.

Keywords: Anhydrous Milk Fat, crystallization, minor components, emulsion, nano- & micro-structure

Avant-propos

Je tiens à remercier l'ensemble des membres du jury qui ont accepté d'évaluer mon travail, en particulier Sabine Danthine et Gérard Cuvelier qui ont été les rapporteurs de ce (gros) manuscrit. Merci aussi à Sophie Lecomte et Alain Riaublanc de l'avoir examiné.

Maud Cansell et Fernando Leal-Calderon, je vous remercie d'avoir accepté de diriger ma thèse sans me connaître et pour votre enthousiasme tout au long de ce projet. Merci pour toutes les discussions riches que nous avons pu avoir. J'ai beaucoup appris grâce à vous. Merci pour tout le temps que vous m'avez consacré pendant la période de rédaction, je sais qu'il est précieux.

Je remercie du fond du cœur Olesea Mestdagh-Roman qui a encadré ce travail à Soredab. Je ne pouvais pas rêver meilleure encadrante. Tu as su me guider, me rassurer quand je remets tout en questions et m'impliquer dans ton équipe. Je suis ravie de rester travailler auprès de toi à Soredab pour la suite. Merci Chef !

J'aimerais aussi remercier Jean-Michel Soulié, qui a suivi ce projet depuis le début (et même avant). C'est un honneur d'avoir été « votre dernière thèse » et d'avoir pu profiter de votre savoir encyclopédique. Je vous souhaite de bien profiter du Sud.

Merci à Bertrand Salczer, directeur général de Soredab, de m'avoir permis de rejoindre Soredab, d'abord pour la thèse, puis pour une durée indéterminée. Merci aussi à Éric Mettler, mon supérieur puis directeur d'établissement, et à l'ensemble des membres du comité de direction.

Je n'aurais jamais pu réaliser ce travail seule, et je remercie tous les gens qui m'ont aidée. J'aimerais commencer par Julien Monteil au CBMN, qui gère absolument tout et a bien facilité mes venues au laboratoire. Je remercie aussi Brice Kauffmann, de l'IECB, pour son accueil et son aide pour les expériences de DRX. Merci aussi à François Mariette, de l'Irstea de Rennes, pour son aide en RMN.

À Soredab, un grand merci à Claude Oustric et Jean-Michaël Vauvre, pour l'aide en modélisation et traitement de données et à Marie-Caroline Agogué, pour ta contribution à ce projet au cours de ton stage de fin d'étude. Merci à Virginie Padel pour les applications de ce travail et pour le soutien moral en congrès, et à Blandine Jeannin pour les discussions sur le projet. Merci aussi à Bruno Mansard, Cyrielle Guilloux et Caroline Grall pour votre aide lors des essais au hall, à Virginie Chrétien, Aurélie Chénieux, Nicolas Bizeray et Nicolas Marechal pour la prise en main des techniques expérimentales en physique et en chimie à Soredab, à Cécile Millet pour les dépannages sur R et à David Lebreton pour les composés d'arôme.

Je remercie chaleureusement Philippe Barboux, professeur et directeur de la formation de Chimie Paris, pour m'avoir permis de soutenir ma thèse ~~à la maison~~, à l'école. Merci à Laurine Gonnard pour les molécules.

Enfin j'aimerais remercier mes collègues, ma famille et mes proches pour leur soutien. Je vous invite à consulter les remerciements détaillés à la fin de ce manuscrit, ce qui vous donnera l'occasion de le feuilleter (pour regarder les images, le texte est un peu long).

Table des matières

Introduction	1
Chapitre 1 : État de l'art	3
1. Matière grasse laitière : relation composition / propriétés physiques	3
1.1. Composition chimique de la matière grasse laitière.....	3
1.2. Profil thermique de la matière grasse laitière.....	7
1.3. Réseau cristallin de la matière grasse laitière.....	10
1.3.1. Nanostructure	11
1.3.2. Microstructure	13
1.3.3. Macrostructure : propriétés mécaniques.....	14
1.4. Mécanismes de cristallisation de la matière grasse laitière.....	15
1.4.1. Force motrice de la cristallisation	15
1.4.2. Nucléation	17
1.4.3. Croissance cristalline	19
1.4.4. Influence du procédé de refroidissement sur la cristallisation	19
1.5. Modélisation de la cristallisation	22
1.5.1. Nucléation	22
1.5.2. Cinétique de cristallisation isotherme de la matière grasse laitière	24
1.6. Effet des composés mineurs de la MGLA sur sa cristallisation en phase continue	30
2. Matière grasse laitière émulsionnée	36
2.1. Généralités sur les émulsions	36
2.1.1. Tensioactifs de bas poids moléculaire.....	38
2.1.2. Protéines laitières.....	40
2.1.3. Compétition des émulsifiants à l'interface.....	42
2.1.4. Globule gras laitier natif	43
2.2. Instabilités des émulsions	44
2.2.1. Phénomènes migratoires	44
2.2.2. Interactions attractives et floculation	45
2.2.3. Phénomènes irréversibles	48
2.3. Cristallisation en émulsion	51
2.3.1. Conséquences de l'émulsification sur la cristallisation	51
2.3.2. Conséquences de la cristallisation sur la stabilité des émulsions.....	56
2.3.3. Composés mineurs et cristallisation de la matière grasse laitière en émulsion	59
3. Objectifs et stratégie de l'étude	61
Chapitre 2 : Matériels et Méthodes	73
1. Systèmes d'étude	73
1.1. Préparation des mélanges à base de matière grasse laitière anhydre.....	73
1.2. Formulation des émulsions.....	75
1.2.1. Composition des émulsions.....	75
1.2.2. Techniques d'émulsification.....	75
2. Étude de la cristallisation de la MGLA avec ou sans modulateur	80
2.1. Cristallinité : évaluation du taux de solide par Résonance Magnétique Nucléaire	80
2.2. Nanostructure : détermination de polymorphisme des corps gras par diffraction des rayons X	83
2.3. Microstructure : morphologie des cristaux par microscopie à lumière polarisée.....	85
2.4. Méso-structure : rhéologie aux petites déformations	88
2.5. Profil thermique : Calorimétrie différentielle à balayage	91
3. Caractérisation des émulsions.....	93
3.1. Tailles des gouttes.....	93
3.2. Stabilité macroscopique : Turbiscan	95
3.3. Étude des interfaces : Tensiométrie de surface	96
4. Synthèse des différents systèmes étudiés et analyses réalisées.....	98
5. Traitements statistiques	99

Chapitre 3 : Effet des composés mineurs sur la cristallisation de la matière grasse laitière en phase continue 103

1.	Influence des composés mineurs sur la cinétique de cristallisation de la matière grasse laitière anhydre à 25 °C	103
1.1.	Choix des composés mineurs	103
1.2.	Choix des conditions de cristallisation	104
1.3.	Cinétique de cristallisation de la MGLA en isotherme à 25 °C	105
1.4.	Modélisation des cinétiques de cristallisation isotherme	107
1.5.	Analyse multivariée	110
2.	Impact des composés mineurs sur la structure de la matière grasse laitière à 25 °C	113
2.1.	Étude de la nanostructure de la MGLA en présence ou non de modulateurs	114
2.1.1.	Cristallisation isotherme de la MGLA à 25 °C	114
2.1.2.	Cristallisation isotherme de la MGLA à 25 °C en présence de modulateurs	118
2.2.	Étude de la microstructure de la MGLA en présence ou non de modulateurs	120
2.3.	Étude de la nucléation de la MGLA seule ou en présence de modulateurs	125
2.4.	Étude de la macrostructure de la MGLA en présence ou non de modulateurs	128
2.5.	Conclusions concernant l'impact des modulateurs sur la cristallisation isotherme à 25 °C	132
3.	Influence de la concentration des modulateurs sur la cristallisation de la matière grasse laitière à 25 °C	133
3.1.	Influence de la concentration des modulateurs sur la cinétique de cristallisation de la matière grasse laitière à 25 °C	133
3.1.1.	Cas des inhibiteurs de cristallisation	133
3.1.2.	Cas des promoteurs de cristallisation	137
3.2.	Influence de la concentration en acide palmitique sur la nanostructure de la matière grasse laitière	142
3.3.	Influence de la concentration en acide palmitique sur la microstructure	151
4.	Influence des mélanges de modulateurs sur la cristallisation à 25 °C	152
4.1.	Mélanges de modulateurs accélérateurs ou inhibiteurs	152
4.2.	Mélanges d'un modulateur accélérateur et d'un modulateur inhibiteur	155
4.3.	Hypothèses mécanistiques	159
5.	Influence des modulateurs sur la cristallisation de la matière grasse laitière lors d'un refroidissement dynamique à 5 °C	161
5.1.	Refroidissement de la matière grasse laitière par trempé à 5 °C	161
5.1.1.	Cinétique de cristallisation de la matière grasse laitière	161
5.1.2.	Étude la nanostructure de la matière grasse laitière	167
5.1.3.	Étude de la microstructure de la matière grasse laitière à 5 °C	171
5.1.4.	Profil thermique de cristallisation de la matière grasse laitière	173
5.1.5.	Profil rhéologique de la MGLA au cours de la cristallisation dynamique (-5 °C/min)	177
5.1.6.	Fusion (+5 °C/min) de la matière grasse seule ou en mélange après une cristallisation rapide (-5 °C/min) et une isotherme à 5 °C (30 min)	180
5.2.	Impact des modulateurs de cristallisation sur le profil de fusion RMN, après cristallisation isotherme à 5 °C pendant quatre jours	183
6.	Synthèse de l'action des composés mineurs sur la cristallisation de la matière grasse laitière en phase continue	188

Chapitre 4 : Influence des composés mineurs sur la cristallisation de la matière grasse laitière en milieu dispersé 193

1.	Cristallisation de la MGLA dans des émulsions de faible diamètre moyen (<10 µm)	193
1.1.	Choix des paramètres d'émulsification et des conditions de cristallisation	193
1.2.	Influence de la taille des gouttes sur la cristallisation de la matière grasse laitière en milieu dispersé	195
1.2.1.	Mise en œuvre et caractérisation des émulsions	195
1.2.2.	Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé : rampe de refroidissement linéaire à -5 °C/min	198
1.2.3.	Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé : refroidissement par trempé à 5 °C	200
1.2.4.	Fusion de la MGLA émulsionnée après un palier isotherme à 5 °C pendant 90 min ou 48 h	202
1.3.	Influence de l'acide oléique sur la cristallisation de la matière grasse en milieu dispersé	206
1.3.1.	Caractérisation des émulsions en présence d'acide oléique	206
1.3.2.	Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide oléique : rampe de refroidissement linéaire à -5 °C/min	208
1.3.3.	Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide oléique : refroidissement par trempé à 5 °C	210
1.3.4.	Fusion de la MGLA en milieu dispersée en présence d'acide oléique, après un palier isotherme à 5 °C pendant 90 min ou 48 h	211
1.4.	Influence de l'acide propionique sur la cristallisation de la MGLA en milieu dispersé	213
1.4.1.	Adaptation du protocole de mise en œuvre des émulsions	213
1.4.2.	Caractérisation des émulsions en présence d'acide propionique	214

1.4.3.	Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide propionique : rampe de refroidissement linéaire à -5 °C/min	216
1.4.4.	Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide propionique : refroidissement par trempé à 5 °C	216
1.4.5.	Fusion de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide propionique, après un palier isotherme à 5 °C pendant 90 min ou 48 h.....	217
1.5.	Influence de l'acide palmitique sur la cristallisation de la MGLA en milieu dispersé.....	218
1.5.1.	Caractérisation des émulsions en présence d'acide palmitique	219
1.5.2.	Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide palmitique : rampe de refroidissement linéaire à -5 °C/min	221
1.5.3.	Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide palmitique : refroidissement par trempé à 5 °C.....	223
1.5.4.	Fusion de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide palmitique, après un palier isotherme à 5 °C pendant 90 min ou 48 h.....	225
1.6.	Étude comparative de l'effet de l'acide palmitique et la tripalmitine sur la cristallisation de la MGLA en milieu dispersé	226
1.6.1.	Caractérisation des émulsions en présence d'acide palmitique ou de tripalmitine.....	226
1.6.2.	Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide palmitique ou de tripalmitine : rampe de refroidissement dynamique à -5 °C/min.....	228
1.6.3.	Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide palmitique ou de tripalmitine : refroidissement par trempé à 5 °C	231
1.6.4.	Fusion de la MGLA dispersée en présence d'acide palmitique ou de tripalmitine, après un palier isotherme à 5 °C pendant 90 min ou 48 h.....	233
1.6.5.	Visualisation de la cristallisation dans une goutte de MGLA en présence d'acide palmitique ou de tripalmitine	235
1.7.	Conséquence de l'ajout de modulateurs sur les propriétés macroscopiques des émulsions	238
1.7.1.	Stabilité au crémage des émulsions : influence de la taille des gouttes	238
1.7.2.	Stabilité au crémage des émulsions : effet de l'acide palmitique et de l'acide oléique	240
1.7.3.	Comportement rhéologique des émulsions en présence de modulateurs de cristallisation	242
2.	Cristallisation d'émulsions monodisperses de gros diamètre (> 10 µm)	247
2.1.	Mise en œuvre des émulsions de MGLA monodisperses	247
2.2.	Impact de l'acide palmitique sur les émulsions de MGLA monodisperses	250
2.2.1.	Fabrication et caractérisation des émulsions en présence acide palmitique.....	250
2.2.2.	Propriétés fonctionnelles des crèmes : coalescence partielle.....	252
3.	Synthèse de l'action des modulateurs sur la cristallisation de la matière grasse laitière émulsionnée ...	256
	Conclusions et perspectives	261

Annexes

Remerciements

Introduction

La matière grasse du lait se distingue des autres matières grasses par la complexité de sa composition, qui conduit à des propriétés technologiques largement mises à profit dans l'industrie agroalimentaire. Ainsi, elle contribue au fondant du fromage triple-crème, au foisonnement de la crème chantilly, à la stabilité des crèmes glacées ou au feuilletage des croissants. De plus, elle est à l'origine d'un large éventail d'arômes, du « goût de beurre » des viennoiseries aux notes plus intenses des fromages affinés.

Dans les produits laitiers, la matière grasse se retrouve sous différentes formes. Dans le lait et dans la crème, elle est divisée sous forme de fines gouttes ($< 10 \mu\text{m}$) dans de l'eau, formant ainsi une émulsion de type huile-dans-eau. Dans les fromages, les gouttes de matière grasse sont enchâssées dans un réseau solide formé par les protéines. À l'inverse, dans le beurre, l'eau et les protéines constituent les gouttes dispersées dans le réseau gras, il s'agit d'une émulsion de type eau-dans-huile. Quand le beurre est exempt de phase aqueuse, la matière grasse est concentrée à plus de 99 %, on parle de matière grasse laitière anhydre (MGLA).

Le large spectre d'acides gras de la MGLA, associé à leur répartition dans les triglycérides, entraîne un comportement thermique de cette matière grasse tout à fait particulier. À température ambiante, elle n'est ni complètement liquide comme l'huile d'olive, ni aussi solide que le beurre de cacao. Elle est constituée d'un mélange de liquide et de solide, organisé sous forme d'un réseau cristallin. L'organisation de ce réseau dépend largement de la nature des triglycérides, majoritaires dans la matière grasse, et des conditions de cristallisation. Mais la composition en triglycérides est complexe et peut présenter des fluctuations saisonnières et géographiques. Les propriétés thermiques et structurales de cette matière grasse sont donc difficiles à maîtriser et à orienter. La problématique se complexifie quand on sait que ces propriétés sont aussi influencées par l'état de dispersion de la matière grasse (milieu continu ou émulsionné), et par d'autres molécules présentes naturellement dans la MGLA ou apparaissant au cours des procédés de transformation : les composés mineurs.

Ce travail de thèse, réalisé en collaboration entre l'Institut de Chimie et Biologie des Membranes et des Nano-objets (CBMN) et la société Soredab, s'inscrit dans une démarche d'acquisition de connaissances sur la cristallisation de la matière grasse laitière sous différentes formes (milieu continu, émulsions huile-dans-eau) et en présence de composés mineurs de différentes natures, appelés modulateurs de cristallisation. Les résultats obtenus doivent permettre d'orienter le phénomène de cristallisation de la matière grasse laitière avec l'objectif final d'améliorer la qualité des produits alimentaires contenant de la matière grasse laitière (crèmes, fromages, beurres, etc.), en maîtrisant leurs propriétés rhéologiques et sensorielles.

Le mémoire de thèse est divisé en quatre parties. Le **premier chapitre** présente les mécanismes de cristallisation de la matière grasse laitière en phase continue, à différentes échelles. Une attention particulière est portée sur la modélisation de la cinétique et sur l'action des composés mineurs. Puis, les concepts généraux relatifs aux émulsions et à la cristallisation en émulsion sont décrits. Le **second chapitre** détaille les méthodes expérimentales mises en œuvre pour suivre la cristallisation de la matière grasse laitière à différents niveaux (nanostructure, microstructure, macrostructure), et pour caractériser les émulsions. L'étude de l'influence des composés mineurs sur la cristallisation de la matière grasse laitière en milieu anhydre fait l'objet du **troisième chapitre**. La cristallisation de la matière grasse est étudiée à différentes températures, pour différentes concentrations de composés mineurs, seuls ou en mélange. Elle fait l'objet d'une analyse multi-échelle. Des hypothèses sur les mécanismes d'action des composés mineurs sont proposées. Enfin, dans le **quatrième chapitre**, la matière grasse laitière est étudiée en milieu dispersé. La mise en émulsion complexifie les mécanismes de cristallisation. L'accent est mis sur des composés mineurs dont l'action en phase continue est démontrée. L'influence de leur présence et de leur concentration est analysée en fonction du diamètre moyen de l'émulsion. La **conclusion** a pour vocation de mettre en exergue les grands principes régissant la cristallisation de la MGLA sous différentes formes et en présence des différents modulateurs de cristallisation.

Chapitre 1 : État de l'art

1. Matière grasse laitière : relation composition / propriétés physiques

1.1. Composition chimique de la matière grasse laitière

Dans le lait, la matière grasse représente en moyenne 31 % de la matière sèche, soit 4 % de sa masse totale [1]. La matière grasse laitière anhydre (MGLA) peut être obtenue par séparation de la partie aqueuse du beurre par centrifugation à chaud. Elle est composée de différents lipides présentés dans le Tableau 1 [2].

Tableau 1 : Composition de la matière grasse du lait de vache [2]

Classe de lipides	Proportion (% massique)
Triglycérides	98,3
Diglycérides	0,3
Monoglycérides	0,03
Acides gras libres	0,1
Phospholipides	0,8
Stéroïls	0,3
Caroténoïdes	Traces
Vitamines	Traces

Les triglycérides (TAG) sont les lipides majoritaires de la MGLA. Ils sont constitués de trois acides carboxyliques estérifiés sur un squelette glycérol (Figure 1). Quand la nature de ces acides gras diffère, le carbone central du glycérol est asymétrique. Les trois positions des acides gras ne sont donc pas équivalentes. Par convention, elles sont numérotées sn_1 , sn_2 et sn_3 .

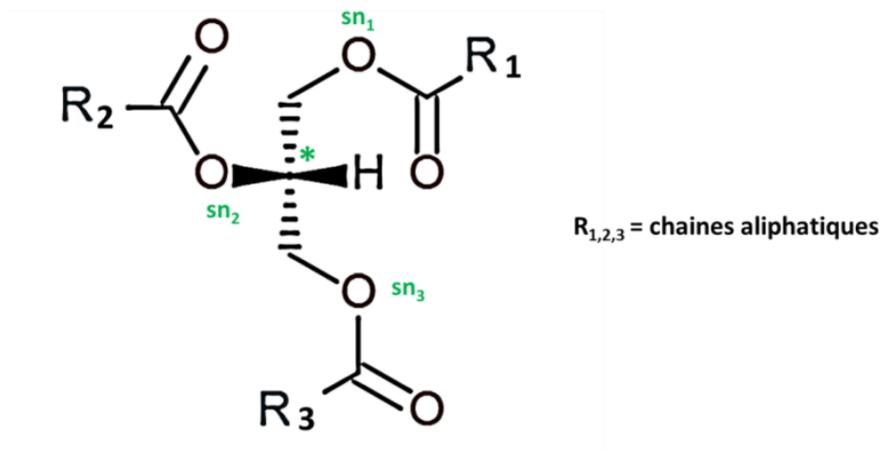


Figure 1 : Projection de Fisher d'un triglycéride

Les TAG du lait combinent plus de 400 acides gras qui diffèrent par leur longueur de chaîne, la présence de doubles liaisons ou de ramifications, la configuration *cis* / *trans* de ces doubles liaisons. Cette diversité de nature des acides gras, associée à leur position sur le glycérol, fait de la MGLA l'une des matières grasses naturelles les plus complexes. Les acides gras prépondérants dans la MGLA sont présentés dans le Tableau 2. Les acides gras saturés sont majoritaires : ils représentent plus de 70 % des acides gras totaux. Parmi eux, les acides gras à chaîne longue sont les plus importants : l'acide palmitique (16:0) à 28 % (Figure 2), l'acide stéarique (18:0) à 12 % et l'acide myristique (14:0) à 11 %. Les chaînes courtes et moyennes saturées, comprises entre 4 et 10 carbones, sont aussi caractéristiques de la MGLA.

Tableau 2 : Principaux acides gras de la MGLA. Adapté de [3,4]

Abré- viation	Nom commun	Longueur de la chaîne aliphatique	Nombre d'insaturation	Proportion (% massique) [3]	Valeurs extrêmes (%) [4]
4:0	butyrique	4	0	3,9	1,4 - 5,05
6:0	hexanoïque	6	0	2,5	1,1 - 3,07
8:0	octanoïque	8	0	1,5	0,9 - 2,1
10:0	décanoïque	10	0	3,2	2,1 - 3,9
12:0	laurique	12	0	3,6	2,4 - 4,31
14:0	myristique	14	0	11,1	8,2 - 14,5
14:1	myristoléique	14	1	0,8	0,8 – 2,0
15:0	pentadécanoïque	15	0	1,2	1,1 - 1,8
16:0	palmitique	16	0	27,9	22,0 - 37,5
16:1	palmitoléique	16	1	1,5	1,11 - 2,8
18:0	stéarique	18	0	12,2	6,6 – 14
18:1	oléique	18	1	21,1	16,2 - 34,5
18:2	linoléique	18	2	1,4	1,3 - 2,9
18:3	α -linoléique	18	3	1,0	0,54 - 4,8

L'acide gras insaturé le plus abondant est l'acide oléique (18:1) à 21 %. C'est un acide gras monoinsaturé *cis* (Figure 2), tout comme les acides myristoléique 14:1 (0,8 %) et palmitoléique 16:1 (1,5 %). Mais la MGLA contient également des acides insaturés à 18 atomes de carbone dont les doubles liaisons sont en configuration *trans*, le principal étant l'acide vaccénique (Figure 2). Ces acides gras 18:1 *trans* résultent de la biohydrogénation incomplète des lipides insaturés dans le rumen et représentent environ 4 % des acides gras totaux [5]. La MGLA compte également des acides gras polyinsaturés, principalement des diènes comme l'acide linoléique (18:2, n-6) et d'autres polyènes comme l'acide

α -linoléique (18:3, n-3). L'originalité de la matière grasse laitière repose également sur ses chaînes grasses à nombre impair de carbone [6] dont l'acide pentadécanoïque (15:0) à plus de 1% et ses chaînes ramifiées, principalement mono-méthylées, qui représentent environ 2,5% des acides gras totaux. Des acides gras hydroxylés et céto-acides ont aussi été identifiés à de plus faibles concentrations [5].

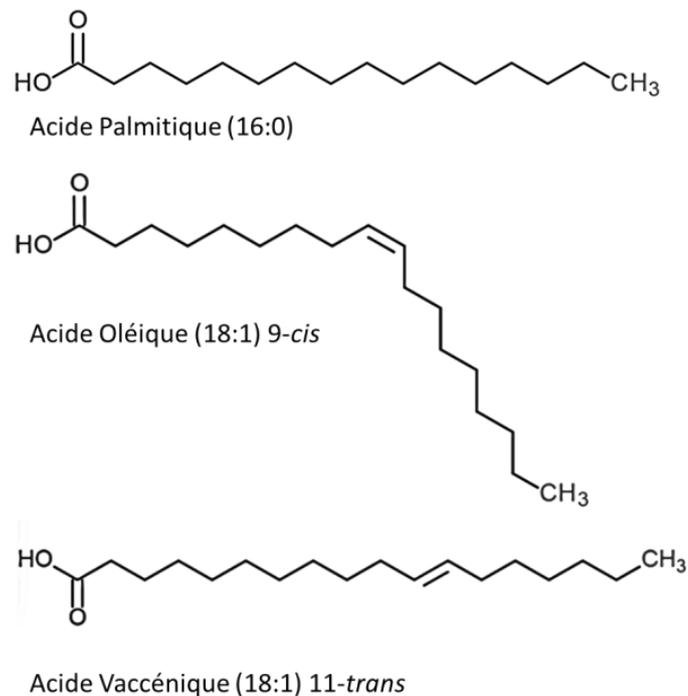


Figure 2 : Acides gras saturés et insaturés *cis* et *trans*

Outre la complexité de la MGLA en termes de types d'acides gras présents, leurs proportions peuvent être très variables (Tableau 2). Cette variabilité dépend notamment de la race de la vache, de sa zone géographique d'élevage, de son stade de lactation, de son alimentation et de la saison [7–9]. Un effet de ce dernier facteur est illustré sur la Figure 3. Le changement d'alimentation des vaches entre l'hiver et l'été, *i.e.* ensilage contre pâturages, induit une augmentation de la teneur en acide oléique et une diminution de la teneur acide palmitique en été. L'acide stéarique et les acides gras *trans* augmentent également. L'herbe fraîche est plus riche en chaînes 18:2 et 18:3 qui, sous l'action de la biohydrogénation dans le rumen, conduisent à l'augmentation des teneurs en 18:0 et 18:1 dans la matière grasse laitière [8].

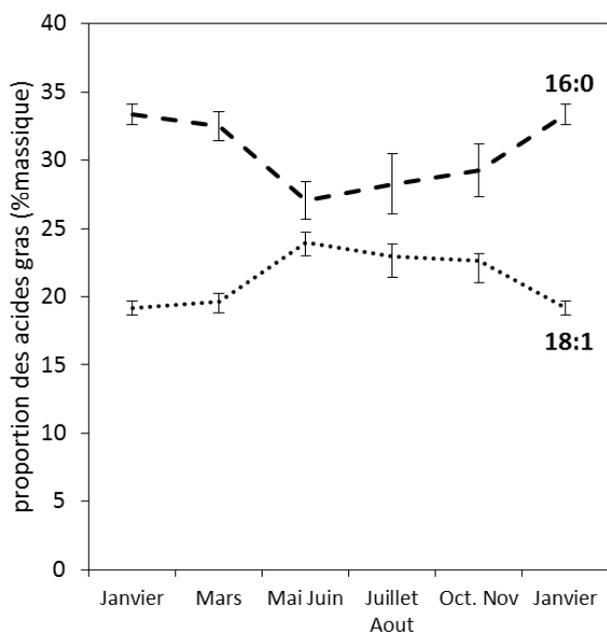


Figure 3 : Effet de la saisonnalité sur le profil en acide palmitique (16:0) et acide oléique (18:1) de la MGLA. Adapté de [9]

Les acides gras ne sont pas combinés aléatoirement dans les triglycérides. Les TAG les plus abondants sont présentés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Proportion (% massique) des principaux triglycérides de la MGLA [4,10,11]

TAG	Moyenne ¹ [10]	Min ¹ [10][4]	Max ¹ [10]	TAG saturés ² [11]	TAG mono insaturés ² [11]	TAG diènes et triènes ² [11]
C26	0,24	0,19	0,33			
C28	0,6	0,49	0,89			
C30	1,18	0,97	1,91	4:0, 10:0, 16:0		
C32	2,61	2,11	3,15	4:0, 12:0, 16:0		
C34	5,95	4,76	6,93	4:0, 14:0, 16:0		
C36	10,94	9,24	12,38	4:0, 14:0, 18:0 4:0, 16:0, 16:0 6:0, 14:0, 16:0	4:0, 14:0, 18:1	
C38	12,78	12,12	13,58	4:0, 16:0, 18:0 6:0, 16:0, 16:0 6:0, 14:0, 18:0	4:0, 16:0, 18:1 6:0, 14:0, 18:1	
C40	10,06	9,49	11,23	6:0, 16:0, 18:0 8:0, 16:0, 16:0 10:0, 14:0, 16:0	4:0, 18:0, 18:1 6:0, 16:0, 18:1	4:0, 18:1, 18:1
C42	7,09	6,20	7,93	10:0, 16:0, 16:0 12:0, 14:0, 16:0	10:0, 14:0, 18:1	6:0, 18:1, 18:1
C44	6,68	5,43	7,83	14:0, 14:0, 16:0	10:0, 16:0, 18:1	
C46	7,41	6,31	8,27	14:0, 16:0, 16:0 14:0, 14:0, 18:1	12:0, 16:0, 18:1	10:0, 18:1, 18:1
C48	9,06	7,99	10,65	14:0, 16:0, 18:0	14:0, 16:0, 18:1	12:0, 18:1, 18:1
C50	10,91	9,72	11,99		14:0, 18:0, 18:1 16:0, 16:0, 18:1	14:0, 18:1, 18:1
C52	9,53	7,15	12,29		16:0, 18:0, 18:1 16:0, 18:1, 18:2	16:0, 18:1, 18:1
C54	4,61	2,65	7,82		18:0, 18:0, 18:1	18:0, 18:1, 18:1 18:1, 18:1, 18:1

¹ Teneurs massiques déterminées sur 440 échantillons de beurre en Allemagne par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

² TAG correspondants, déterminés par chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à la CPG, sur un échantillon de beurre de Normandie. Seuls les TAG présents à plus de 0,5 % sont présentés, sans tenir compte de la position des acides gras sur le squelette glycérol.

La répartition des acides gras sur le squelette glycérol n'est pas aléatoire non plus. L'analyse stéréospécifique des triglycérides a montré que les triglycérides laitiers sont très asymétriques. La fréquence de répartition des acides gras sur les positions du glycérol a été schématisée par Lavigne [4] (Figure 4). Les acides gras saturés à chaîne courte sont préférentiellement en position sn_3 . Les acides palmitique et oléique sont préférentiellement estérifiés en positions sn_1 et sn_3 , alors que les acides gras de longueur intermédiaire sont plutôt en position interne [12].

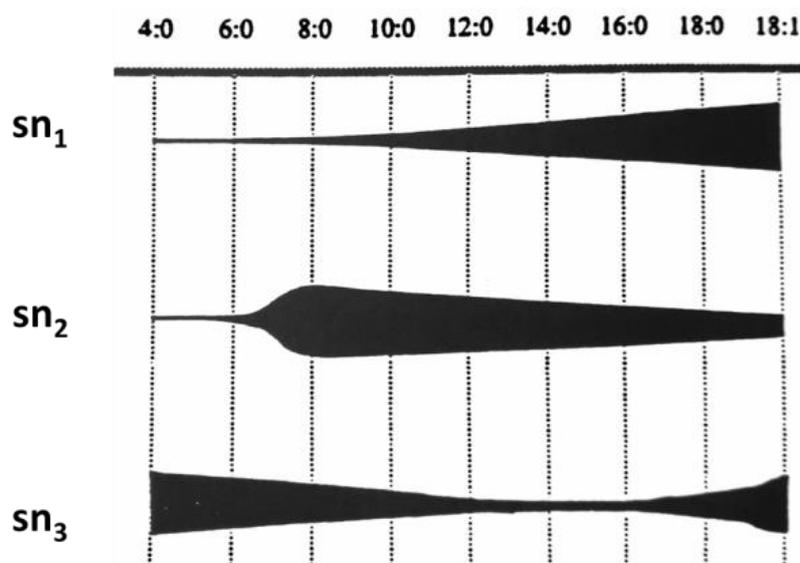


Figure 4 : Fréquence de la répartition des acides gras sur les trois positions du glycérol des triglycérides de la MGLA [4]

1.2. Profil thermique de la matière grasse laitière

La composition lipidique complexe de la matière grasse laitière, tant en termes de nature des acides gras que de nature des lipides, impacte directement ses propriétés physiques.

La température de fusion des acides gras dépend de leur capacité à s'auto-assembler. Plus un empilement de chaînes aliphatiques est dense, plus la température de fusion, *i.e.* l'énergie qu'il faudra pour les dissocier, est élevée. Ainsi, la température de fusion des acides gras dépend de leur longueur de chaîne, de leur degré d'insaturation, de la configuration des doubles liaisons et de la parité du nombre de carbones (Figure 5). Les acides gras voient leur température de fusion augmenter avec la longueur de la chaîne d'acide gras. Les acides gras à nombre pair de carbones ont une température de fusion supérieure à celle des acides gras à nombre impair. Pour une même longueur de chaîne, la température de fusion diminue avec le nombre d'insaturations. La présence d'une double

liaison *cis* conduit à une température de fusion inférieure à celle d'une double liaison *trans*. En effet, cette dernière redonne un caractère linéaire à la chaîne d'acide gras dont le comportement se rapproche alors de celui d'un acide gras saturé (Figure 2).

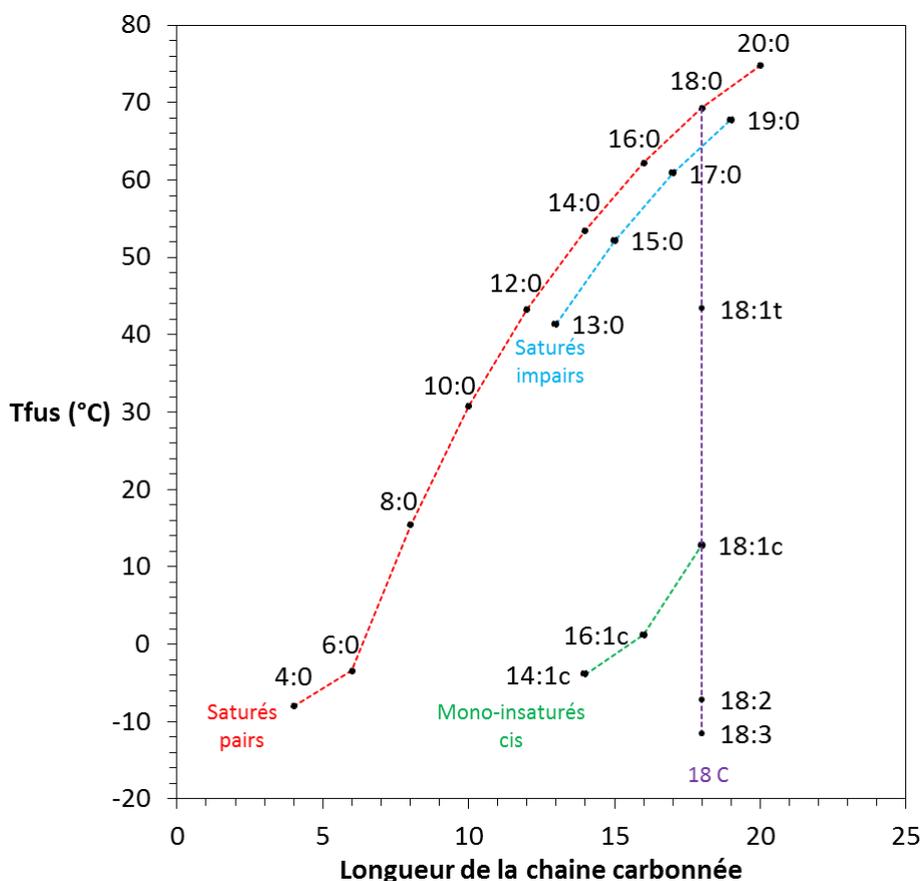


Figure 5 : Point de fusion des principaux acides gras de la MGLA en fonction de la longueur de chaîne, de la parité du nombre de carbones et des insaturations (nombre et configuration) d'après [4,13]

Nous avons vu que la MGLA est un mélange complexe de triglycérides, eux-mêmes combinaisons d'acides gras de nature variée. Aussi, elle ne présente pas un unique point de fusion mais une plage de fusion entre -40 °C et +40 °C (Figure 6). Entre ces deux températures, elle constitue un mélange hétérogène de phases solide et liquide. À 5 °C, la température de conservation habituelle au réfrigérateur, la MGLA contient autant de phase solide que de phase liquide. À température ambiante, elle ne contient plus que 10 à 15 % de phase solide. La variation de composition en acides gras en fonction de la saison modifie le profil de fusion de la MGLA. Pour toutes les températures, la matière grasse d'hiver est plus solide que la matière grasse d'été, du fait d'une plus faible proportion d'acide oléique [7–9].

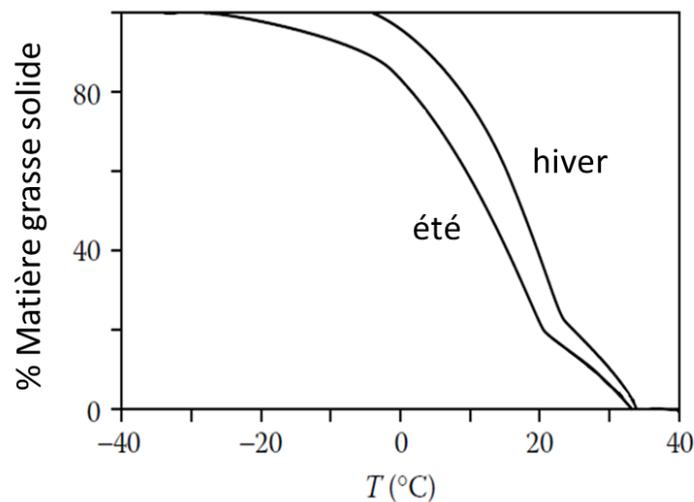


Figure 6 : Profil de fusion de la MGLA en été et en hiver. Adapté de [14]

La courbe de fusion typique de la matière grasse établie par calorimétrie différentielle à balayage (DSC), présentée Figure 7, indique trois pics endothermiques h_1 , h_2 et h_3 que l'on attribue classiquement à la fusion respective de trois fractions de la MGLA : bas point de fusion (h_1 , low-melting fraction, LMF), point de fusion intermédiaire (h_2 , medium-melting fraction, MMF) et haut point de fusion (h_3 , high-melting fraction, HMF). Ces fractions ont une composition en TAG différente. La HMF contient principalement des acides gras saturés à chaîne longue, la MMF deux acides gras saturés pour un acide gras à chaîne courte ou insaturée et la LMF contient deux acides gras à chaîne courte ou insaturée pour un acide gras à chaîne longue et saturée [15].

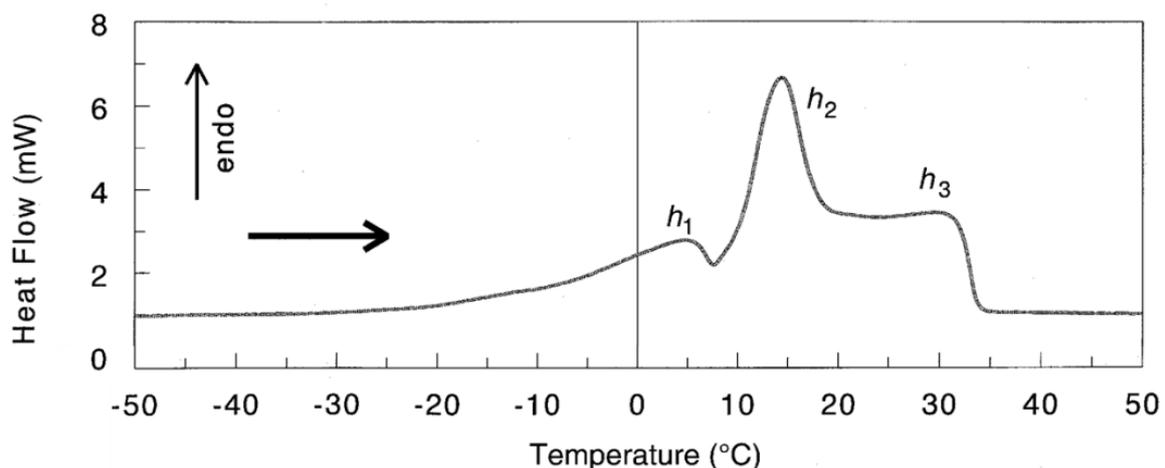


Figure 7 : Profil de fusion de la MGLA établi par analyse calorimétrique différentielle. Adapté de [16]

La température de fusion finale de la MGLA ne correspond pas à la température de fusion maximale des triglycérides qui la composent pris séparément. En effet, les fractions solides de la MGLA sont solubles dans sa partie liquide. La fraction molaire d'un triglycéride soluble

dans la matière grasse liquide peut être calculée pour chaque température par l'équation de Hildebrand :

$$\ln x_i(T) = \frac{\Delta H_{f,i}}{R} \times \left(\frac{1}{T_{f,i}} - \frac{1}{T} \right) \quad (\text{Eq. 1})$$

où x_i est la fraction molaire soluble du triglycéride i , $\Delta H_{f,i}$ est son enthalpie de fusion et $T_{f,i}$ sa température de fusion quand il n'est pas dilué. R est la constante des gaz parfaits. La superposition des plages de fusion des triglycérides correspond au profil de fusion de la MGLA [2].

1.3. Réseau cristallin de la matière grasse laitière

Nous avons vu que la MGLA est un système de composition complexe, dans lequel peuvent coexister des phases solides et une phase liquide sur une large plage de températures. La fraction solide s'organise à différentes échelles, sous forme d'un réseau cristallin. La Figure 8 schématise les différentes échelles de l'organisation de ce réseau et leurs ordres de grandeur. On distingue généralement trois niveaux d'organisation : la nanostructure (0,4 à 100 nm), la microstructure (0,1 à 100 µm) et la macrostructure (>100 µm). Pour chaque niveau, la matière grasse laitière peut s'organiser de différentes manières.

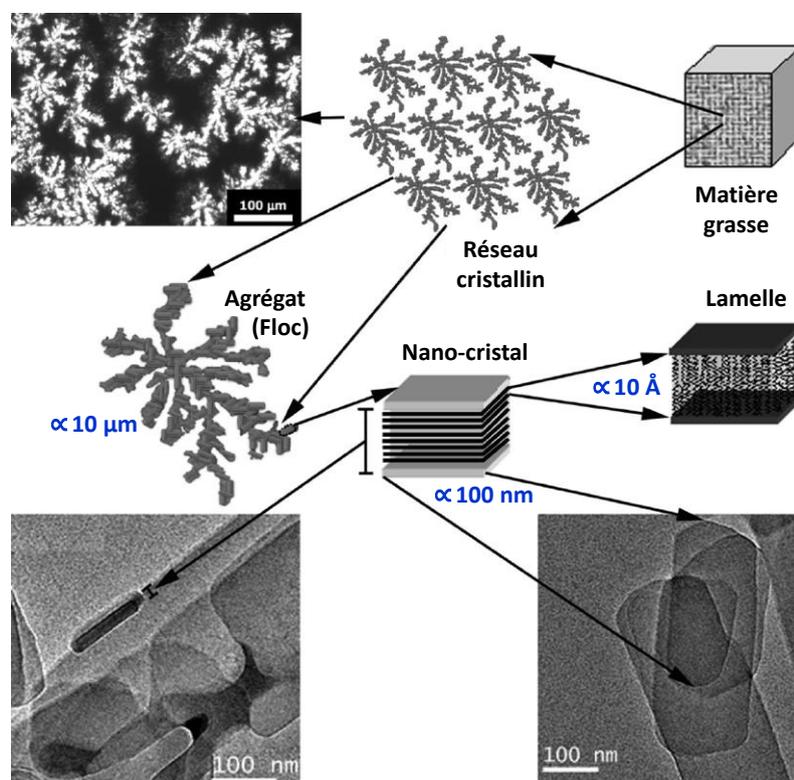


Figure 8 : Organisation multi-échelle du réseau cristallin de la matière grasse laitière, ordres de grandeurs. Adapté de [17]

1.3.1. Nanostructure

Les cristaux de matière grasse laitière peuvent exister à l'échelle du nanomètre sous différentes formes cristallines, appelées polymorphes. Les trois principales formes rencontrées dans les lipides sont la forme hexagonale α , la forme orthorhombique β' et la forme triclinique β . Chaque forme est associée à des distances réticulaires entre plans d'atomes qui lui sont propres (Figure 9). Ces formes polymorphiques correspondent à l'arrangement latéral des chaînes d'acides gras dans l'espace. Les distances caractéristiques des formes polymorphiques sont déterminées par diffraction des rayons X (DRX) aux grands angles (WAXS).

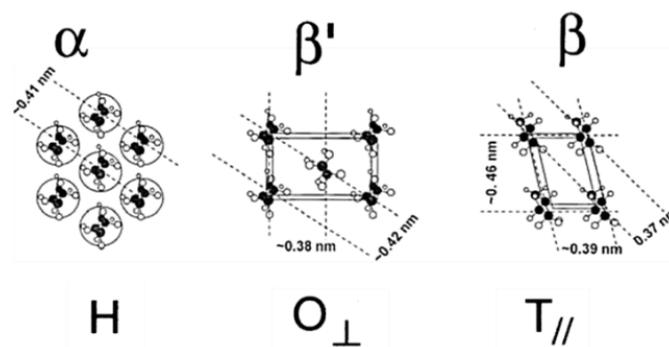


Figure 9 : Polymorphisme de la matière grasse. Adapté de [18]

La forme β est thermodynamiquement la plus stable, car la plus compacte. Les deux autres formes, métastables, sont souvent rencontrées car leur énergie d'activation associée est plus faible (Figure 10). Un quatrième polymorphe, appelé γ ou sub- α , moins courant et très instable, peut se former dans la MGLA à très faible température ($<-8^{\circ}\text{C}$) pour des vitesses de refroidissement rapides ($>2,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$) [16].

Des transitions de phase des formes les plus instables vers les formes plus stables sont possibles. Elles s'accompagnent d'une diminution de l'énergie libre du système et sont donc exothermiques. Le polymorphisme des matières grasses est monotropique, ce qui signifie que les transitions polymorphiques se font toujours d'une forme moins stable vers une forme plus stable. Elles sont irréversibles. Pour passer d'une forme solide stable à une forme solide moins stable, il est indispensable de passer par la forme liquide.

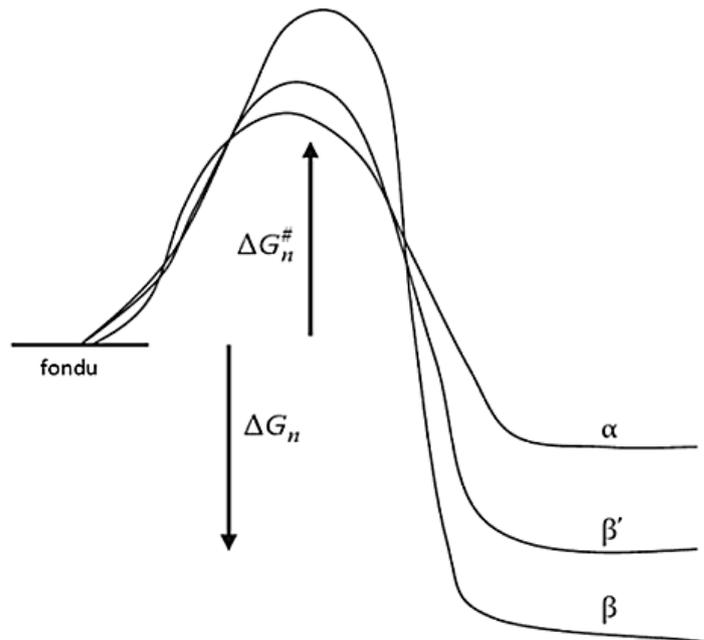


Figure 10 : Énergie d'activation et stabilité thermodynamique des différents polymorphes [19]

Dans la matière grasse laitière, il arrive souvent que des TAG différents s'associent et cristallisent ensemble pour former des cristaux mixtes [20]. Le polymorphe α est favorable à ce type de cristaux car il est assez lâche pour admettre des molécules de composition en acides gras différente. La forme β' le permet également et conduit à des cristaux pouvant être aussi stables qu'une forme β , ce qui pourrait expliquer que cette dernière forme soit peu observée dans la matière grasse laitière [14].

Les triglycérides s'organisent également dans un arrangement dit longitudinal. Ils forment des empilements, généralement sur deux, trois ou six longueurs de chaîne suivant la nature des acides gras qui les composent (Figure 11). Les distances caractéristiques de ces empilements sont déterminées par DRX aux petits angles de diffraction (SAXS).

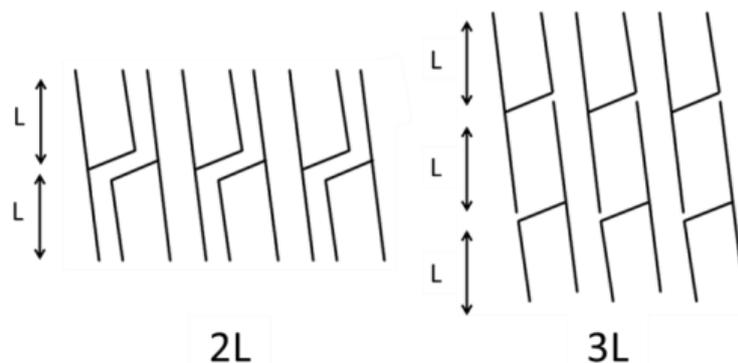


Figure 11 : Empilement longitudinal des triglycérides : 2L ou 3L. Adapté de [21]

Les lamelles de triglycérides forment des nano-plaquettes, longues et très minces, de quelques centaines de nanomètres de long [17] (Figure 12). Elles sont les plus petites unités structurales cristallines isolées jusqu'à présent. Elles sont observées en microscopie électronique à transmission et leurs dimensions peuvent être déterminées au moyen de la largeur des pics de diffraction des rayons X.

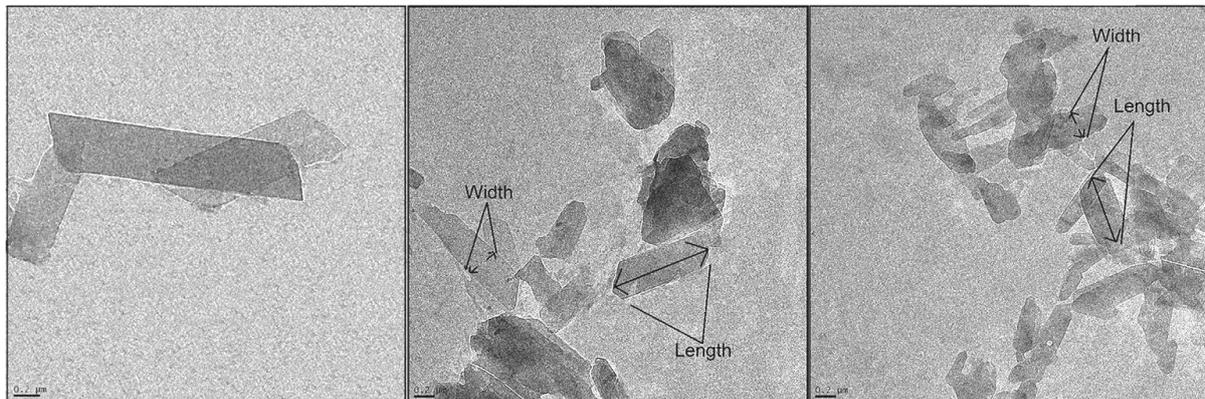


Figure 12 : Observations de cryo-microscopie électronique à transmission de nano-plaquettes cristallines de la MGLA [22] (Barre d'échelle 200 nm)

1.3.2. Microstructure

Les cristaux microscopiques sont des agrégats de nano-plaquettes. Ils peuvent exister sous différentes tailles et différentes formes comme des aiguilles ou des sphérulites [23] (Figure 13), qui ne sont pas corrélées avec leur polymorphisme. Ces cristaux ont des tailles caractéristiques allant du micromètre à la centaine de micromètres. Ils sont agrégés par des forces de van der Waals et forment un réseau cristallin à trois dimensions. La microscopie optique en lumière polarisée permet d'observer ces édifices.

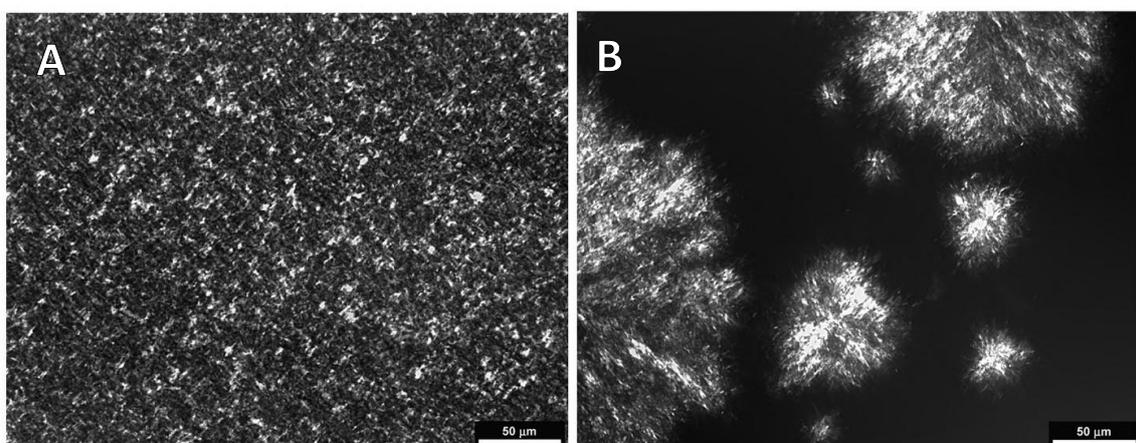


Figure 13 : Observations de microscopie en lumière polarisée de différentes microstructures obtenues pour la MGLA. A. Aiguilles, B. Sphérulites [19]

La masse cristalline de la MGLA s'organise de manière hétérogène et désordonnée et peut être décrite comme un objet fractal : sa microstructure reste globalement inchangée à différents niveaux d'observation. Dans une gamme réduite de grossissement, un motif statistiquement similaire à lui-même se répète lors du changement d'échelle [24]. La distribution de masse dans un réseau fractal est liée à la taille de la région d'intérêt par une loi de puissance :

$$M \sim R^D \quad (\text{Eq. 2})$$

où M est la masse, R la taille et D la dimension fractale. La dimension fractale peut être déterminée par des méthodes microscopiques, comme le comptage des particules ou le comptage des boîtes, ou par la rhéologie [23]. Mais les différentes méthodes de détermination de la dimension fractale conduisent à des valeurs différentes, chaque méthode étant plus ou moins sensible aux paramètres de structure (taille et forme des cristaux), au taux de solide ou à l'homogénéité du réseau [25].

1.3.3. Macrostructure : propriétés mécaniques

Les propriétés macroscopiques de la MGLA dépendent de son organisation aux différentes échelles. La texture de la matière grasse, paramètre primordial lors de sa mise en formulation dans les produits alimentaires en fait partie. La texture dépend de tous les niveaux d'organisation du réseau, mais particulièrement de sa microstructure [19].

La fractalité du réseau de la matière grasse laitière a une influence sur ses propriétés rhéologiques. Le réseau cristallin est un assemblage tridimensionnel de floccs de cristaux. Il existe des liens entre cristaux d'un même flocc et entre les différents floccs (Figure 14). Le module élastique macroscopique du réseau tient compte de l'élasticité des floccs et des liens entre les floccs. Quand le système est très peu concentré en solide (<10 %), les interactions au sein d'un même flocc déterminent le comportement élastique. À l'inverse, dans les systèmes où le taux de solide est plus important, ce sont les liens entre floccs qui sont déterminants. Dans ce cas, l'élasticité du réseau est inversement proportionnelle à la taille des floccs, elle-même liée au taux de solide par une loi de puissance impliquant la dimension fractale. Le module élastique s'exprime alors par :

$$G' = \lambda \cdot \Phi^{\frac{1}{3-D}} \quad (\text{Eq. 3})$$

G' est le module élastique du réseau, Φ son taux de solide, D sa dimension fractale et λ une constante indépendante du taux de solide mais dépendante de paramètres de structure.

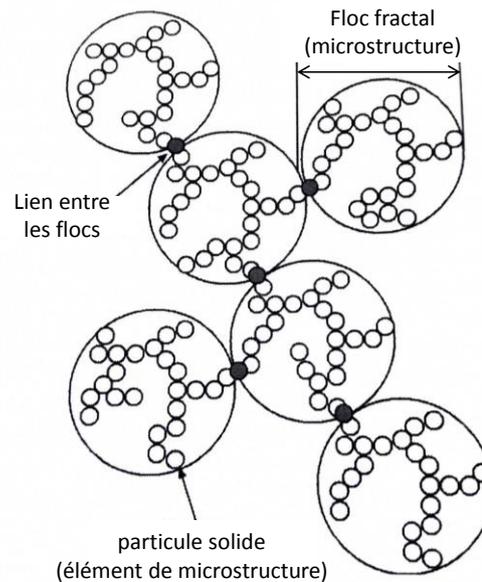


Figure 14 : Schéma de l'organisation des flocs du réseau cristallin de la MGLA. D'après [19]

1.4. Mécanismes de cristallisation de la matière grasse laitière

Nous avons vu, précédemment, que les caractéristiques du réseau cristallin aux différentes échelles dépendent de la composition chimique de la matière grasse laitière. Nous allons maintenant aborder les mécanismes de mise en place de ce réseau au cours de la cristallisation et discuter l'influence des conditions de cristallisation sur la mise en place du réseau.

1.4.1. Force motrice de la cristallisation

La cristallisation est le changement d'état entre un liquide, mélange de triglycérides désorganisés, vers un solide cristallin, organisé. Quand un substrat simple est dissout dans un solvant, il cristallise lorsque sa concentration dépasse sa limite de solubilité. La cristallisation de la matière grasse laitière est plus complexe à conceptualiser, dans la mesure où les triglycérides jouent à la fois le rôle de substrat et de solvant et font individuellement partie de l'une ou de l'autre phase en fonction de la température [26]. La cristallisation est habituellement décrite comme un processus en deux étapes : la nucléation et la croissance. Sa force motrice est la différence de potentiel chimique, $\Delta\mu$, entre la phase liquide et la phase solide.

Quand la concentration en solide dissout dans la phase liquide est supérieure à la concentration de saturation à cette température, le système est dans un état métastable, dit « sursaturé ».

La différence de potentiel chimique est alors :

$$\Delta\mu = RT \ln \frac{C}{C_S(T)} \quad (\text{Eq. 4})$$

où R est la constante des gaz parfaits, T la température absolue, C la concentration en triglycérides cristallisables dissouts dans la phase liquide et C_S la solubilité limite à la température considérée.

La cristallisation survient quand le mélange liquide est porté à une température inférieure à sa température de fusion. La différence entre cette température imposée et la température de fusion est appelée degré de surfusion [19]. La différence de potentiel chimique s'exprime aussi sous la forme :

$$\Delta\mu = \Delta H_f \frac{T_f - T}{T_f} \quad (\text{Eq. 5})$$

où ΔH_f est l'enthalpie de fusion et T_f la température de fusion.

Surfusion et sursaturation sont donc directement liées (Figure 15). Le degré de surfusion est la force motrice de la cristallisation. Il détermine la probabilité de survenue du phénomène de cristallisation et sa vitesse. Plus le degré de surfusion est important, plus la solution est sursaturée, donc plus la cristallisation est probable et rapide. Aux faibles degrés de surfusion, il existe une zone métastable, où la cristallisation a cinétiquement une faible probabilité de se produire alors qu'elle est thermodynamiquement possible. Cette zone de métastabilité s'explique par l'existence d'une barrière d'énergie à outrepasser pour former les premiers germes cristallins appelés aussi nuclei.

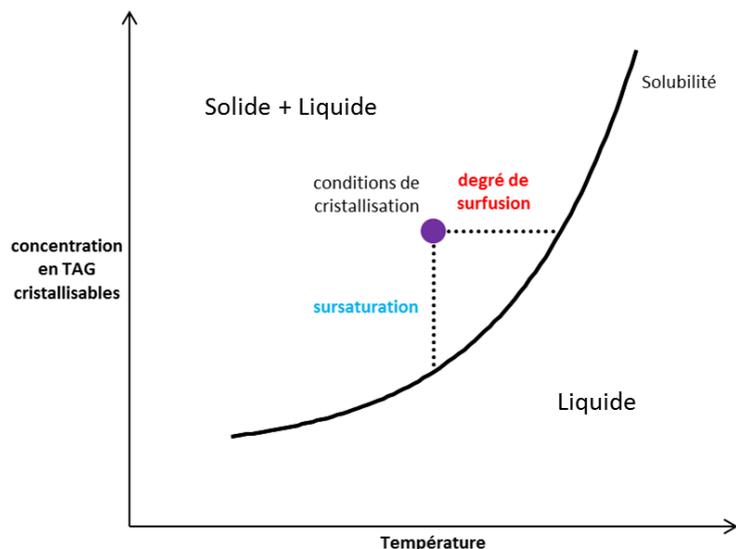


Figure 15 : Diagramme de cristallisation théorique : surfusion et sursaturation

La MGLA est un mélange complexe de TAG, difficile à organiser. Sa zone de métastabilité a été établie en faisant varier les proportions en fractions HMF et LMF (Figure 16).

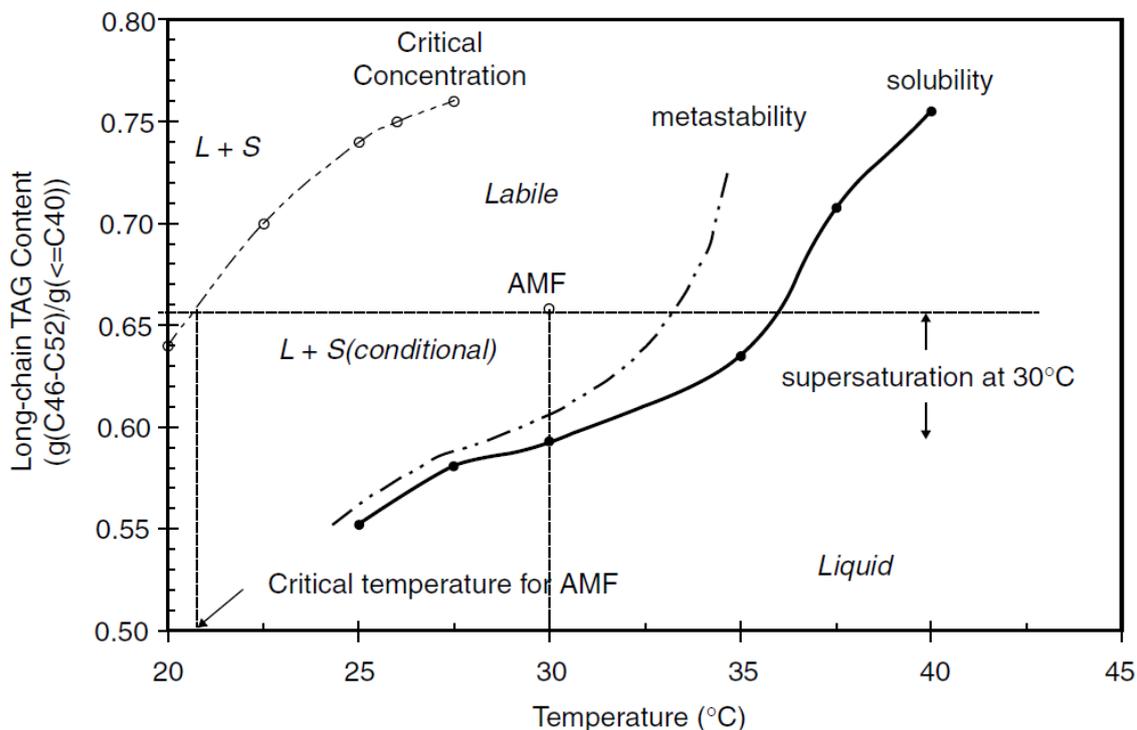


Figure 16 : Solubilité de la fraction haut point de fusion de la MGLA (AMF : anhydrous milk fat) dans la fraction bas point de fusion : surfusion et sursaturation [27]. S : phase solide, L : phase liquide

1.4.2. Nucléation

La transition de phase de l'état solide à l'état liquide est associée à une diminution de l'énergie libre proportionnelle au volume de solide. Mais dans le même temps, ce changement d'état crée une interface solide/liquide. Augmenter l'aire de contact entre un germe cristallin et le mélange fondu est responsable d'une énergie libre positive due à la tension de surface (énergie de surface) et proportionnelle à l'aire du germe. La variation totale de l'énergie libre est donc la somme de ces deux contributions :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{volume}} + \Delta G_{\text{interface}} \quad (\text{Eq. 6})$$

$$\Delta G_n(r) = \frac{4}{3}\pi r^3 \frac{1}{V_m} \Delta\mu + 4\pi r^2 \gamma \quad (\text{Eq. 7})$$

où γ est la tension de surface entre le solide et le liquide et V_m le volume molaire.

Il existe une taille critique r_c du germe pour laquelle ces deux effets se compensent. En dessous de cette taille, les nuclei solides fondent. Au-delà, un nucleus se forme et continue de croître.

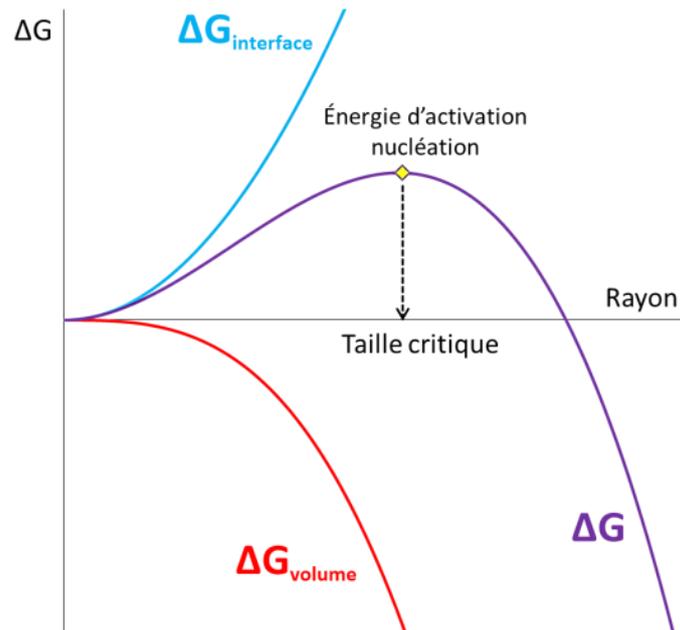


Figure 17 : Énergie libre de nucléation

Cette taille correspond donc à une énergie d'activation de nucléation, $\Delta G_n^\#$, à dépasser pour que le germe puisse croître. Elle explique l'existence d'une zone de métastabilité. Pour déterminer cette taille critique, r_c , il convient de dériver l'équation 7. Quand le rayon atteint r_c , ΔG passe par un maximum et sa dérivée s'annule. Il vient :

$$r_c = \frac{2\gamma \cdot V_m}{\Delta\mu} \quad (\text{Eq. 8})$$

$$\Delta G_n^\# = \Delta G_n(r_c) = \frac{16\pi\gamma^3 \cdot V_m^2 \cdot T_f^2}{3\Delta H_f^2 (T_f - T)^2} \quad (\text{Eq. 9})$$

Ainsi, l'énergie d'activation tend à diminuer avec le degré de surfusion ($T_f - T$). La zone de métastabilité correspond au domaine de surfusion pour lequel l'énergie d'activation reste significativement supérieure à l'énergie thermique $k_B T$, où k_B est la constante de Maxwell-Boltzmann.

Quand le nucleus se forme spontanément dans le volume de matière grasse liquide, on parle de nucléation homogène. En pratique, les nuclei se forment au contact des surfaces des réacteurs, d'impuretés solides ou à partir de molécules autres que les TAG présentes dans le volume. La présence de particules solides réduit la barrière d'énergie de nucléation, on parle alors de nucléation hétérogène.

1.4.3. Croissance cristalline

Une fois que des nuclei stables sont formés, ils croissent par adsorption des triglycérides de la phase liquide à l'interface pour former des cristaux. Les différentes faces du cristal sont susceptibles de croître à des vitesses différentes. La vitesse de croissance peut être limitée, soit par la diffusion des molécules dans la phase liquide, soit par leur incorporation à l'interface solide/liquide. La viscosité de la phase liquide peut influencer la diffusion de molécules cristallisables vers l'interface ainsi que celle de molécules non cristallisables loin de l'interface. Comme la cristallisation est un phénomène exothermique, la diffusion de la chaleur loin de l'interface est aussi importante [27]. La prépondérance de ces deux facteurs limitants est dictée par la surfusion. Pour de faibles degrés de surfusion, l'incorporation des molécules aux nuclei limite la croissance, tandis que pour d'importants degrés de surfusion, la diffusion des TAG dans la phase liquide est limitante [28].

Au cours de la post-cristallisation, des ponts rigides peuvent se mettre en place entre les cristaux, ce qui consolide le réseau selon un processus appelé frittage (Figure 18) [29].

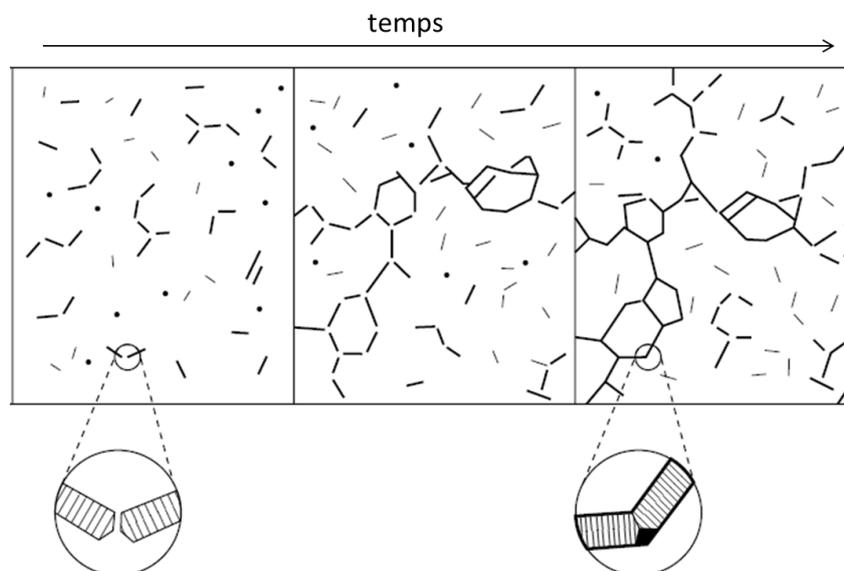


Figure 18 : Consolidation du réseau cristallin par frittage [14]

1.4.4. Influence du procédé de refroidissement sur la cristallisation

1.4.4.1. Température de cristallisation

La cristallisation de la MGLA survient quand le mélange liquide est porté à une température inférieure à sa température de fusion. Pour une température inférieure à 40 °C, une partie des triglycérides de la MGLA est susceptible de cristalliser. La Figure 19 présente l'évolution

cinétique du taux de solide (solid fat content, SFC) de la MGLA pour des températures comprises entre 30 et 10 °C [30]. Le taux de solide dépend de la température de cristallisation. À 120 minutes, il est de l'ordre de 40 % à 10 °C et de 10 % à 25 °C. De plus, le scénario de cristallisation diffère en fonction de la température. Plus la température de cristallisation est basse, plus le temps à attendre pour que la teneur en solide commence à être mesurable est court. Ce temps, aussi appelé temps d'induction, correspond à la phase de nucléation du processus de cristallisation. De plus, la cinétique à 25 °C conduit à une évolution en forme de sigmoïde, alors qu'elle comporte deux étapes pour les températures inférieures. Selon les auteurs, ces deux étapes sont interprétées par la cristallisation successive de deux fractions de la MGLA (HMF puis MMF) aux basses températures [24], ou par une transition polymorphique de la forme α vers la forme β' [31].

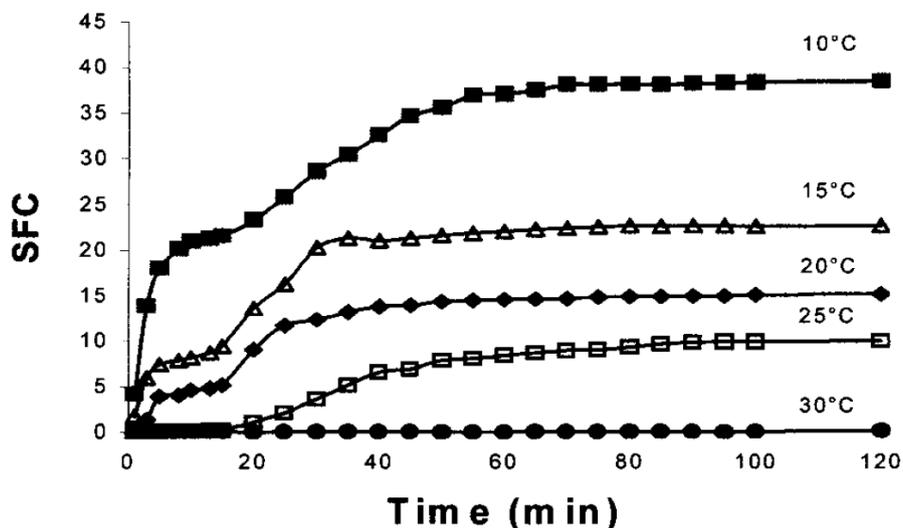


Figure 19 : Évolution du taux de solide (SFC) de la MGLA pour différentes températures de cristallisation.

Reproduit de [30]

Par une évaluation de l'enthalpie de fusion et de la fraction molaire des différentes fractions cristallisables de la MGLA pour leurs différents polymorphes, Vanhoutte [31] a établi le diagramme de solubilité des fractions HMF et MMF en fonction de la température (Figure 20). Au-delà de 21 °C, seule la fraction HMF de la MGLA est susceptible de cristalliser sous sa forme β' . En deçà, la fraction MMF peut cristalliser sous forme β' et la fraction HMF peut cristalliser sous forme α et β' . Bien que la forme α soit moins sursaturée que la forme β' , elle a plus de chances de se former et conduit à la première étape de la cinétique, puis sa transition vers la forme β' occasionne la seconde étape.

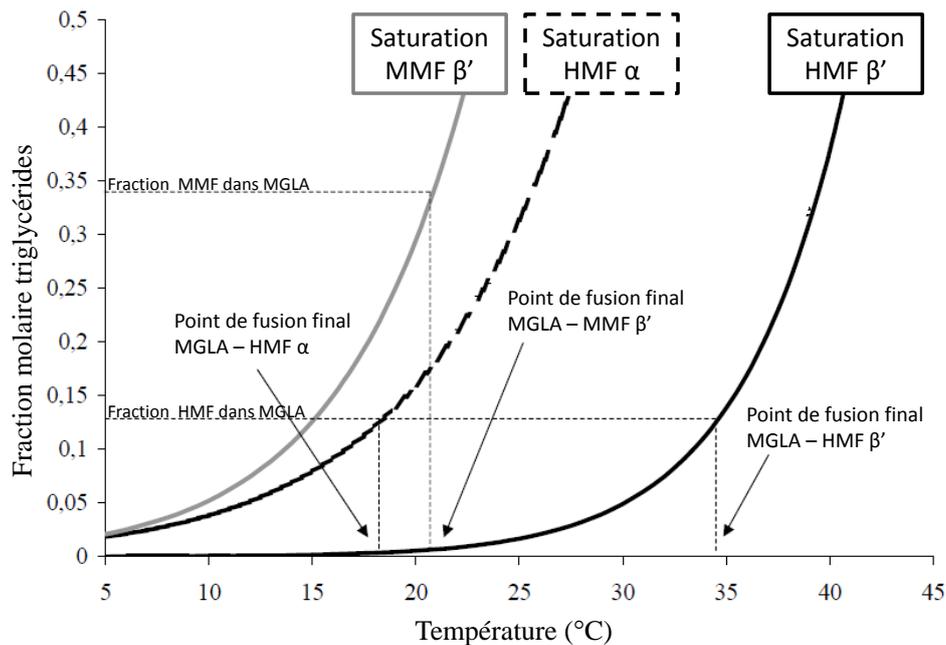


Figure 20 : Diagramme de solubilité de différentes fractions de la MGLA pour différents polymorphes. HMF : fraction haut point de fusion. MMF : fraction point de fusion intermédiaire. Adapté de [31]

Outre le taux de solide, les conditions de cristallisation de la MGLA influencent la nano- et microstructure des cristaux. La Figure 21 illustre l'effet de la vitesse de refroidissement sur la microstructure cristalline. Une vitesse de refroidissement rapide et/ou un degré de surfusion élevé favorisent la forme α au détriment des formes plus compactes [32–35]. Les triglycérides qui s'adsorbent à l'interface solide/liquide n'ont pas le temps de s'organiser dans la forme la plus stable et la cinétique favorise la forme polymorphique de plus faible énergie d'activation. Mais cette forme étant instable, elle évolue dans le temps vers la forme β' et/ou β [32]. La nucléation prévaut sur la croissance, les cristaux sont petits et nombreux et la microstructure en forme d'aiguilles individuelles est favorisée [20]. Ce mode de cristallisation conduit aussi à la formation de cristaux mixtes, car il contraint des triglycérides différents à cristalliser ensemble [20].

À l'inverse, un faible degré de surfusion ou une faible vitesse de refroidissement favorisent un contrôle thermodynamique. La cristallisation est lente et la forme β' est préférentiellement formée [36], dans la mesure où les TAG s'adsorbent à l'interface dans une forme qui minimise l'énergie du système. Les cristaux sont moins nombreux mais plus gros, car la nucléation est plus lente [37]. Ils forment souvent des sphérulites, agglomérats de cristaux en aiguilles [20]. Ce type de cristallisation a tendance à fractionner les TAG, alors qu'un refroidissement rapide favorise les cristaux mixtes [20].

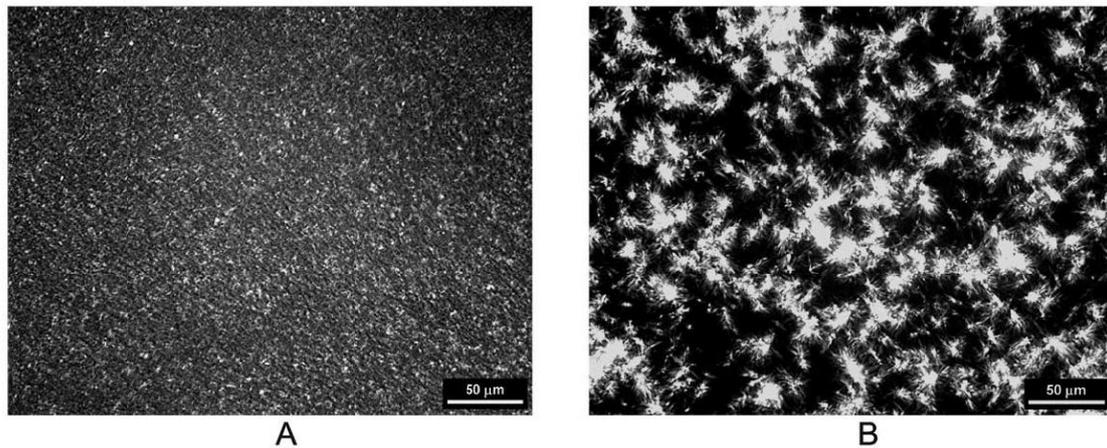


Figure 21 : Observations au microscope en lumière polarisée de MGLA refroidie A) rapidement (5 °C/min) ou B) lentement (0,1 °C/min) [32]

Macroscopiquement, la vitesse de cristallisation impacte les propriétés rhéologiques de la matière grasse laitière, aux petites et aux grandes déformations. Un refroidissement rapide conduit à une matière grasse de nature plus rigide, avec une contrainte à la rupture plus importante [24].

1.4.4.2. Cisaillement

Le cisaillement au cours de la cristallisation modifie les propriétés de la MGLA. Les cristaux formés sous cisaillement s'orientent dans le champ de vitesse imposé [38], cette orientation étant d'autant plus marquée que le cisaillement est important. Le cisaillement accélère la transition de phase de la forme α vers la forme β' [38] et diminue la taille des cristaux [37,39]. Les ultrasons à haute intensité modifient aussi le réseau cristallin. Utilisés en cours de cristallisation, ils diminuent le temps d'induction de cristallisation, conduisant à des cristaux plus petits et à une MGLA plus visqueuse [40,41].

1.5. Modélisation de la cristallisation

La modélisation apporte des éléments de compréhension utiles pour appréhender les mécanismes mis en jeu lors de la cristallisation. Par exemple, elle peut être utilisée pour calculer les énergies d'activation de nucléation apparentes [30,42–44].

1.5.1. Nucléation

Le temps d'induction est le temps qui précède l'apparition des premiers germes cristallins. La vitesse de nucléation J , définie comme le nombre de nuclei formés par unité de temps,

est inversement proportionnelle au temps d'induction, τ . L'équation de Fischer-Turnbull permet d'évaluer expérimentalement l'énergie de nucléation [30,44] :

$$J = \frac{1}{\tau} = \frac{Nk_B T}{h} \exp\left(\frac{-\Delta G_d^\#}{k_B T}\right) \cdot \exp\left(\frac{-\Delta G_n^\#}{k_B T}\right) \quad (\text{Eq. 10})$$

où N est le nombre de molécules par unité de volume de phase liquide, h la constante de Planck, $\Delta G_d^\#$ l'énergie d'activation de diffusion et $\Delta G_n^\#$ l'énergie d'activation de nucléation.

La diffusion est rarement le facteur limitant et la principale barrière pour l'incorporation de TAG dans un nucleus est la conformation moléculaire. La première exponentielle devient [30,44] :

$$\exp\left(\frac{-\Delta G_d^\#}{k_B T}\right) = \exp\left(\frac{-\alpha \Delta S}{R}\right) \quad (\text{Eq. 11})$$

où α est la fraction de molécules dans la conformation requise pour s'adsorber au nucleus et ΔS la variation d'entropie due à la cristallisation.

En combinant les équations 9 , 10 et 11, et en prenant le logarithme, il vient :

$$\ln(\tau T) = \ln\left(\frac{h}{Nk_B}\right) + \left(\frac{R}{-\alpha \Delta S}\right) + \frac{16\pi\gamma^3 \cdot V_m^2 \cdot T_f^2}{3k_B \Delta H_f^2} \frac{1}{T(T_f - T)^2} \quad (\text{Eq. 12})$$

La représentation graphique de la fonction suivante est une droite de coefficient directeur m :

$$\frac{1}{T(T_f - T)^2} \mapsto \ln(\tau T) \quad (\text{Eq. 13})$$

$$\text{Avec} \quad m = \frac{16\pi\gamma^3 \cdot V_m^2 \cdot T_f^2}{3k_B \Delta H_f^2} \quad (\text{Eq. 14})$$

Or sachant que:

$$\Delta G_n^\# = \frac{16\pi\gamma^3 \cdot V_m^2 \cdot T_f^2}{3\Delta H_f^2 (T_f - T)^2} \quad (\text{Eq. 9})$$

Il vient donc :

$$\Delta G_n^\# = \frac{m \cdot k_B}{(T_f - T)^2} \quad (\text{Eq. 15})$$

En théorie, la mesure expérimentale des temps d'induction permet donc d'accéder à l'énergie d'activation apparente de nucléation. Pour la MGLA, cette énergie, de l'ordre du kJ par mole, augmente avec la température de cristallisation [42].

1.5.2. Cinétique de cristallisation isotherme de la matière grasse laitière

Au cours d'une cristallisation isotherme, le taux de solide de la MGLA suit une cinétique de cristallisation sous forme d'une sigmoïde simple ou double, en fonction du degré de surfusion imposé (cf. § 1.4.4.1). Plusieurs modèles de la littérature, développés dans cette partie, permettent de modéliser ces deux types de cinétique.

1.5.2.1. Modèle d'Avrami

Le modèle d'Avrami est le plus couramment utilisé pour modéliser la cristallisation isotherme. Il a initialement été développé en métallurgie puis appliqué aux polymères [45]. Il définit le taux de solide en fonction du temps de cristallisation :

$$SFC(t) = a * (1 - \exp(-k \cdot t^n)) \quad (\text{Eq. 16})$$

Il s'agit d'un modèle à trois paramètres où a est le taux de solide final, k la constante de vitesse d'Avrami et n l'exposant d'Avrami. Ce modèle englobe nucléation et croissance et repose sur plusieurs hypothèses : la transformation est isotherme, la nucléation est spatialement aléatoire, la vitesse de croissance est constante et ne dépend que de la température, la densité des corps en croissance est constante.

L'équation d'Avrami peut être établie en partant de la loi de diffusion de Fick à une dimension [19]. Pour un unique cristal, l'augmentation de sa masse m_s est fonction de la masse solide qui diffuse au travers de sa surface A_g . La force motrice est la sursaturation de la solution en triglycérides cristallisables. L'adsorption de ces triglycérides se fait à une vitesse, k_g , qui tient compte de la diffusion dans le liquide et de la réaction à la surface :

$$\frac{\partial m_s}{\partial t} = k_g A_g (c - c^*) \quad (\text{Eq. 17})$$

où c est la concentration en triglycérides cristallisables et c^* est la limite de solubilité à la température considérée.

La sursaturation ($c - c^*$) peut aussi s'exprimer en termes de masse et de volume :

$$\frac{\partial m_s}{\partial t} = k_g A_g \frac{m_{max} - m_s}{V_T} \quad (\text{Eq. 18})$$

où m_{max} est la masse maximale de solide dans le système à l'équilibre et V_T et le volume du système.

En faisant la somme sur la totalité des cristaux, N_c , en notant ρ_c la concentration des cristaux ($\rho_c = \frac{N_c}{V_T}$), et en séparant les variables, il vient :

$$\frac{\partial m_s}{(m_{max} - m_s)} = \rho_c k_g A_g \partial t \quad (\text{Eq. 19})$$

En intégrant cette équation entre 0 et t , on obtient :

$$\ln\left(1 - \frac{m_s(t)}{m_{max}}\right) = \int_0^t \rho_c(t) k_g A_g(t) \partial t \quad (\text{Eq. 20})$$

Pour intégrer le terme de droite, il convient de procéder par disjonction des cas, selon que la nucléation est instantanée ou sporadique et selon que la croissance se fait à une, deux ou trois dimensions. Si la nucléation est instantanée, la concentration de cristaux est constante dans le temps. Si elle est sporadique, la vitesse d'apparition des nuclei est constante, la concentration des cristaux est proportionnelle au temps. Si la croissance est linéaire (à une dimension), l'aire concernée est un cylindre qui croît en longueur mais pas en rayon. Si la croissance est plane (deux dimensions), l'aire concernée est un cylindre qui croît en rayon mais pas en longueur. Si la croissance est sphérique (trois dimensions), l'aire concernée est une sphère dont le rayon augmente avec le temps [19]. L'aire et la concentration de cristaux correspondantes sont présentées dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Expressions de l'aire impliquée dans la croissance (A_g) et du nombre de cristaux par unité de volume (ρ_c) en fonction de la nucléation (sporadique ou instantanée) et de la croissance (linéaire, sphérique ou plane)

Nucléation	Instantanée		Sporadique	
	A_g	ρ_c	A_g	ρ_c
Sphérique ¹	$4\pi r^2$ avec $r=g.t$	ρ_c (constant)	$4\pi r^2$ avec $r=g.t$	$j.t$
Plane ²	$2\pi r h$ avec $r=g.t$	ρ_c (constant)	$2\pi r h$ avec $r=g.t$	$j.t$
Linéaire	$2\pi r^2$	ρ_c (constant)	$2\pi r^2$	$j.t$

¹ r : rayon, g : vitesse linéaire de croissance du rayon, j : vitesse d'apparition des nuclei

² h : épaisseur du cristal (constante)

L'équation 20 peut alors être intégrée. Le rapport des masses est équivalent au rapport des taux de solide et, en identifiant les résultats à l'équation d'Avrami (Eq. 16), on obtient les valeurs ou expressions de k et n présentés dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Valeurs des paramètres k et n d'Avrami en fonction de la croissance (sphérique, plane ou linéaire) et de la nucléation (sporadique ou instantanée)

Nucléation	Instantanée		Sporadique	
	n	k	n	k
Sphérique ¹	3	$(4/3)\pi.k_g.\rho_c.g^2$	4	$\pi.k_g.j.g^2$
Plane ²	2	$\pi.h.k_g.\rho_c.g$	3	$(2/3)\pi.h.k_g.j.g$
Linéaire	1	$2\pi.r^2.k_g.\rho_c$	2	$\pi.r^2.k_g.j$

¹ k_g : vitesse d'adsorption des triglycérides à la surface d'un cristal,
 ρ_c : nombre de cristaux par unité de volume,
 g : vitesse linéaire de croissance du rayon, j : vitesse d'apparition des nuclei
² h : épaisseur du cristal (constante)

L'équation d'Avrami est parfois modifiée sous la forme d'Avrami-Erofeev :

$$\frac{SFC(t)}{SFC_{max}} = 1 - \exp(- (k'.t)^{n'}) \quad (\text{Eq. 21})$$

Dans ce cas, la constante de vitesse est elle aussi élevée à la puissance n' . Cela permettrait de tenir compte du lien entre la constante de vitesse et l'exposant d'Avrami [46]. Néanmoins ce choix est vivement critiqué, eu égard à l'absence de justification théorique [47].

Pour une cristallisation isotherme en deux étapes (§1.4.4.1), ce modèle peut être adapté en faisant la somme de deux étapes [19] :

$$SFC(t) = a_1[1 - \exp(- k_1.t^{n_1})] + a_2[1 - \exp(- k_2.t^{n_2})] \quad (\text{Eq. 22})$$

les indices 1 et 2 se référant, respectivement, à la première et la seconde étape.

1.5.2.2. Modèle de Gompertz

Le modèle de Gompertz, initialement développé comme une loi de mortalité humaine [48], a par la suite été utilisé pour décrire la croissance microbienne [49]. Par analogie entre la physico-chimie de la matière grasse et la microbiologie, ce modèle a été appliqué à la cristallisation isotherme [50]. C'est un modèle empirique, choisi pour la qualité de son ajustement aux courbes sigmoïdales :

$$SFC(t) = A * \exp[-\exp(B - D.t)] \quad (\text{Eq. 23})$$

Une version plus explicite permet de définir des paramètres pertinents : le taux de solide maximal (a), la vitesse maximale de cristallisation (μ) et le temps d'induction (λ) [49]. Mathématiquement, ils correspondent respectivement à la hauteur du plateau, la tangente au point d'inflexion et l'intersection de la tangente et de l'axe des abscisses. L'équation 23 devient alors :

$$SFC(t) = a \times \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu \cdot e}{a} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (\text{Eq. 24})$$

La représentation graphique de ces trois paramètres est présentée sur la Figure 22.

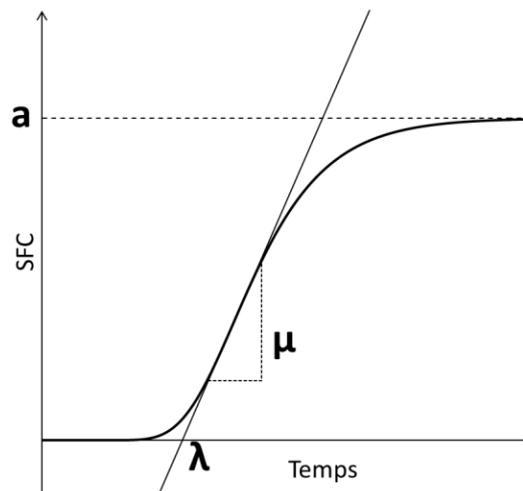


Figure 22 : Paramètres du modèle de Gompertz d'une cinétique de cristallisation : taux de solide final (a), temps d'induction (λ) et vitesse maximale (μ)

Ce modèle, bien que très empirique, est plus intuitif que celui d'Avrami. Il rationalise la courbe cinétique en trois facteurs facilement interprétables graphiquement.

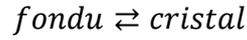
Il a aussi fait l'objet d'adaptations dans le cas des cinétiques de cristallisation en deux étapes [31,51], en ajoutant à l'équation de Gompertz une première étape sans temps d'induction :

$$SFC(t) = a_1 \left[1 - \exp \left(-\frac{2\mu_1}{a_1} t \right) \right] + a_2 \times \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_2 \cdot e}{a_2} (\lambda_2 - t) + 1 \right] \right\} \quad (\text{Eq. 25})$$

Avec a le taux de solide maximal et μ la vitesse maximale, les indices 1 et 2 se référant, respectivement, à la première et la seconde étape. λ_2 est le temps d'induction de la seconde étape.

1.5.2.3. Modèle de Foubert

Un modèle plus récent a été proposé par Foubert *et al.* pour décrire la cristallisation isotherme de la matière grasse laitière [52]. Ce modèle considère la cristallisation comme une réaction chimique dont le réactif est le liquide et dont le produit est le cristal.



Soient a le taux de solide maximal atteint à l'équilibre et Φ la fraction de matière grasse qu'il reste à cristalliser ; alors :

$$\Phi(t) = \frac{a - SFC(t)}{a} \quad (\text{Eq. 26})$$

Cette réaction chimique se fait dans le sens direct à l'ordre 1 avec une constante de vitesse k_1 et dans le sens inverse à l'ordre n avec une vitesse k_n :

$$\frac{d\Phi}{dt} = k_n \Phi^n - k_1 \Phi \quad (\text{Eq. 27})$$

Expérimentalement et numériquement, les auteurs ont déterminé que les deux constantes de vitesse sont très proches et proposent de considérer la constante de réaction globale K [52].

$$\frac{d\Phi}{dt} = K(\Phi^n - \Phi) \quad (\text{Eq. 28})$$

Modéliser la cristallisation isotherme revient alors à résoudre l'équation différentielle suivante :

$$\begin{cases} \Phi^{-n} \frac{d\Phi}{dt} + K \cdot \Phi^{1-n} - K = 0 \\ \Phi(0) = \frac{a - SFC(0)}{a} \end{cases} \quad (\text{Eq. 29})$$

La solution analytique de l'équation différentielle du modèle de Foubert est :

$$SFC(t) = a \left\{ 1 - \left[1 + \left(\left(\frac{a - SFC(0)}{a} \right)^{1-n} - 1 \right) \cdot \exp(-K(1-n)t) \right]^{\frac{1}{1-n}} \right\} \quad (\text{Eq. 30})$$

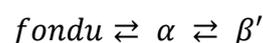
Pour ajuster le modèle de Foubert aux courbes expérimentales, il faut déterminer la valeur de quatre paramètres : a , le taux de solide final, K la constante globale de réaction, n l'ordre de la réaction inverse et $SFC(0)$ le taux de solide initial.

En faisant varier les paramètres individuellement, Foubert montre que le paramètre $SFC(0)$ ne modifie que le temps d'induction qui précède la cristallisation. En définissant le temps d'induction comme le temps pour lequel le taux de solide dépasse 1 %, il vient [52] :

$$t_{ind} = \frac{\ln\left(\frac{0,99^{1-n} - 1}{\left(1 - \frac{SFC(0)}{a}\right)^{1-n} - 1}\right)}{K(1-n)} \quad (\text{Eq. 31})$$

Ce modèle donne de meilleures performances d'ajustement aux courbes expérimentales de cristallisation isotherme de la MGLA que les modèles d'Avrami et de Gompertz [45,52].

L'auteur a également adapté ce modèle aux cinétiques de cristallisation en deux étapes de la matière grasse laitière, en supposant que la première étape correspond à la formation du polymorphe α et la seconde étape à la formation du polymorphe β' . La forme α se forme directement depuis le liquide et la forme β' ne se forme qu'à partir de α [51].



Le modèle de Foubert détaillé précédemment est appliqué à chacune de ces deux étapes. Les paramètres suivants sont définis :

- a_α : fraction maximale cristallisable en α ,
- $a_{\beta'}$: fraction maximale cristallisable en β' .
- f_α : fraction de matière grasse cristallisée en α ,
- $f_{\beta'}$: fraction de matière grasse cristallisée en β' .

La transformation de la partie fondue vers la forme α se fait avec une constante globale de réaction K_α et l'ordre de la réaction inverse est n_α . La transformation de la forme α vers β' se fait avec une constante de vitesse globale $K_{\beta'}$ et l'ordre de la réaction inverse est $n_{\beta'}$. Le taux de solide global est la somme de ces deux fractions solides :

$$SFC(t) = f_\alpha + f_{\beta'} \quad (\text{Eq. 32})$$

L'évolution du système au cours du temps est régie par les deux équations différentielles suivantes [51] :

$$\begin{cases} \frac{df_\alpha}{dt} = a_\alpha * \left[K_\alpha \left(1 - \left(\frac{f_\alpha}{a_\alpha} + \frac{f_{\beta'}}{a_{\beta'}} \right) \right) - K_\alpha \left(1 - \left(\frac{f_\alpha}{a_\alpha} + \frac{f_{\beta'}}{a_{\beta'}} \right) \right)^{n_\alpha} - K_{\beta'} \left(1 - \frac{f_{\beta'}}{a_{\beta'}} \right) + K_{\beta'} \left(1 - \frac{f_{\beta'}}{a_{\beta'}} \right)^{n_{\beta'}} \right] \\ \frac{df_{\beta'}}{dt} = a_{\beta'} * \left[K_{\beta'} \left(1 - \frac{f_{\beta'}}{a_{\beta'}} \right) - K_{\beta'} \left(1 - \frac{f_{\beta'}}{a_{\beta'}} \right)^{n_{\beta'}} \right] \end{cases} \quad (\text{Eq. 33})$$

Ce système d'équations différentielles ne permet pas une résolution analytique. Il doit être résolu numériquement, directement sous forme différentielle pour déterminer les paramètres du modèle permettant le meilleur ajustement des données expérimentales : les amplitudes a_α et a_β , les constantes de vitesses K_α et K_β , les ordres des réactions inverses n_α et n_β , les conditions initiales de chacune des deux étapes $f_\alpha(0)$ et $f_\beta(0)$. Ces deux derniers paramètres peuvent être remplacés par le temps d'induction 1 % de solide de la même manière que dans l'équation 31.

1.6. Effet des composés mineurs de la MGLA sur sa cristallisation en phase continue

Nous avons vu précédemment que la structure de la matière grasse est très largement dictée par sa composition en triglycérides majoritaires et ses conditions de cristallisation. Mais les composés mineurs, *i.e.* molécules endogènes, exogènes, ou formées au cours du procédé peuvent également jouer un rôle. L'influence des composés mineurs sur la cristallisation est largement documentée pour différentes matières grasses [53–58].

Leurs conséquences peuvent être différentes d'une matière grasse à une autre. L'effet du modulateur de cristallisation est très dépendant de sa concentration et du degré de surfusion. Comme il reste minoritaire, son effet est plus facilement observable à de faibles degrés de surfusion, pour lesquels la cristallisation est lente. Les études sont pour la plupart empiriques et proposent peu de mécanismes d'action [59]. Globalement, ces composés peuvent accélérer ou ralentir la cristallisation. Ils peuvent avoir un effet sur la nucléation, sur la croissance et sur les transitions polymorphiques. Leur impact sur la nucléation et la croissance peut être antagoniste, en accélérant l'une et en ralentissant l'autre [59]. L'influence des composés mineurs dépend largement de leur similarité avec la matière grasse majoritaire, notamment quand ils présentent une chaîne aliphatique. Cette similarité concerne la longueur de chaîne, le nombre et la position des insaturations. La similarité rend les molécules compatibles au niveau de la nanostructure, ce qui généralement génère un effet promoteur.

Les composés promoteurs de nucléation peuvent cristalliser eux-mêmes dans un premier temps et servir de support de nucléation hétérogène pour la cristallisation des triglycérides majoritaires ; on parle alors d'effet de « template » [56,58] (Figure 23a). Ils peuvent aussi s'associer aux lipides à haut point de fusion pour former les premiers nuclei. Dans ces deux

cas, ils sont alors surreprésentés dans la composition des premiers germes cristallins [59]. À l'inverse, ils peuvent couvrir les nuclei hétérogènes et prévenir leur utilisation comme support de cristallisation, inhibant ainsi la nucléation, par un effet de bouclier [53]. Si leur concentration est inférieure à leur limite de solubilité dans la matière grasse et qu'ils ont une structure proche de celle des triglycérides cristallisables, ils peuvent également prévenir leur nucléation grâce à des interactions attractives, par un effet de désagrégation [58] (Figure 23b).

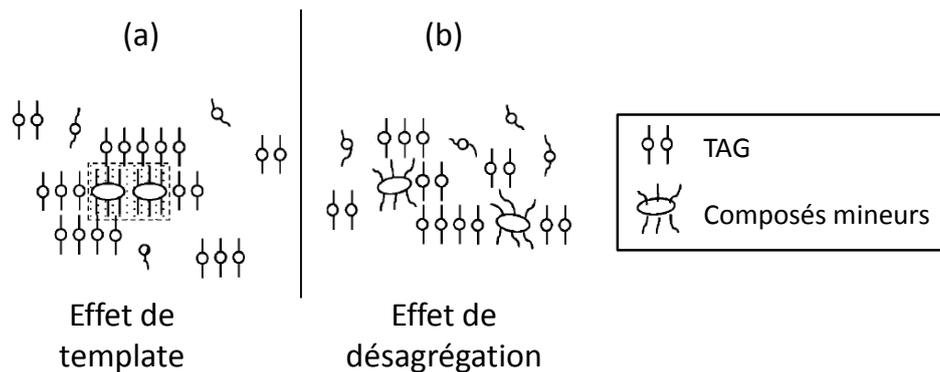


Figure 23 : Représentation schématique de l'action des composés mineurs sur la nucléation des triglycérides (TAG) (a) promotion (b) inhibition. Adapté de [58]

Les composés mineurs peuvent accélérer la croissance cristalline. Certains d'entre eux, similaires à la structure des triglycérides cristallisables, pourraient eux-mêmes s'intégrer au réseau cristallin, pouvant même créer de nouveaux sites de croissance. Si ces nouveaux sites sont énergétiquement plus favorables à l'incorporation d'autres molécules, la vitesse de cristallisation augmente. Les composés qui, au contraire, retardent la croissance des cristaux, peuvent limiter la diffusion des triglycérides cristallisables vers la zone de croissance, ou bloquer la surface en croissance en s'adsorbant eux-mêmes sur les sites concernés et en induisant un défaut dans l'organisation (Figure 24). Dans ce dernier cas, une très faible concentration serait suffisante pour inhiber la croissance [27,53,59].

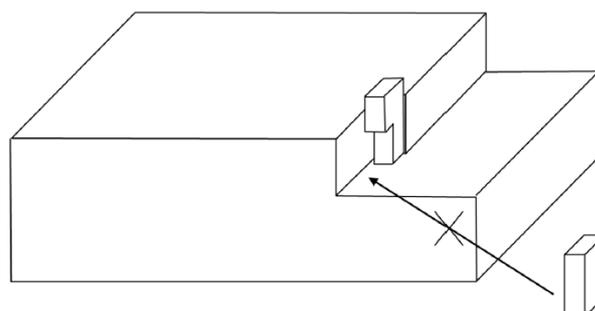


Figure 24 : Représentation schématique du blocage de la croissance cristalline par un composé mineur. Reproduit de [53]

Ces effets des composés mineurs sur les mécanismes de nucléation et de croissance peuvent bouleverser la microstructure cristalline. En favorisant sélectivement la nucléation ou la croissance, les modulateurs peuvent modifier la taille et le nombre des cristaux. De plus, s'ils favorisent (ou inhibent) sélectivement la croissance de certaines faces du cristal par rapport à d'autres, il peuvent aussi modifier la morphologie des cristaux [60].

Ils peuvent enfin orienter le polymorphisme de la matière grasse, notamment en prévenant les transitions polymorphiques. Cet effet peut s'expliquer par l'augmentation de la fraction liquide lors de transitions polymorphiques solide-solide. Ils pourraient également agir par blocage des sites de croissance lors de la recristallisation qui se déroule durant les transitions polymorphiques passant par une phase liquide [53,59].

L'effet des composés minoritaires, endogènes ou exogènes de la matière grasse laitière a été relativement peu étudié comparativement aux matières grasses végétales raffinées, de composition plus simple. L'effet des composés mineurs endogènes et exogènes étudiés sur la cinétique de cristallisation et la structure de la MGLA est synthétisé dans le Tableau 6. Plusieurs études ont été menées sur la MGLA purifiée, dépourvue de composés minoritaires polaires afin de comprendre leur effet [30,31,42,61]. Leurs conclusions divergent. Selon certaines études, éliminer les composés polaires accélère la cristallisation [31,42,61], alors que pour d'autres la cristallisation est retardée [30]. Ces résultats contradictoires peuvent s'expliquer par la variabilité de composition de la matière grasse laitière, notamment en termes des composés polaires.

Pour mieux comprendre l'action de chacun des composés mineurs, il est préférable de procéder par addition individuelle contrôlée. Les produits de la lipolyse, diglycérides, monoglycérides, acides gras libres et glycérol ont été étudiés séparément. Les diglycérides (DAG) sont les lipides polaires les plus abondants dans la matière grasse laitière. Leur addition à la MGLA, après le retrait de tous les composés polaires, ralentit la cristallisation [42,62] sans modifier la microstructure [63]. À 25 °C, l'ajout de dioléine accélère la cristallisation de la MGLA, alors que la distéarine la ralentit [64].

Les monoglycérides (MAG) sont moins concentrés dans la MGLA, mais sont plus polaires que les diglycérides. L'addition d'un mélange de MAG et DAG à la MGLA promeut la cristallisation, qui débute à une température plus élevée [65]. La mono-oléine ralentit la cristallisation de la MGLA à 26,5 °C. La monostéarine accélère la cristallisation à cette

température à 1 % massique mais la ralentit à 0,5 %. À des températures plus basses, elle accélère la cristallisation quelle que soit sa concentration [64].

Ajouté à un mélange de HMF et de trioléine, le glycérol a un effet dépendant de sa concentration. Jusqu'à 0,1 %, il augmente la taille des cristaux et le temps d'induction de la cristallisation. A des concentrations supérieures, son effet s'inverse [43].

Les phospholipides ajoutés à la MGLA ralentissent la cristallisation de la matière grasse en augmentant le temps de latence avant de début de la cristallisation [66,67]. À faible concentration, ils augmentent la taille des sphérulites, mais inhibent leur formation au-delà de 2 % [68]. Ils accélèrent aussi la transition de phase de la forme α à la forme β' .

L'ajout de cire de tournesol à 0,1 %, 0,25 % et 0,5 % a pour effet d'accélérer la cristallisation de la matière grasse laitière [69,70]. En servant de support de nucléation, la cire diminue le temps d'induction de la cristallisation et conduit à la formation de cristaux plus petits. Elle accélère également la croissance des cristaux.

Les sucroesters ont un effet sur la cristallisation de la MGLA qui dépend de leur hydrophobicité et de la longueur des acides gras estérifiés. Un mono ester d'acide palmitique hydrophile a peu d'effet sur la cristallisation de la fraction haut point de fusion de la MGLA, alors que des di- et tri-esters d'acide palmitique ou stéarique, hydrophobes, diminuent la taille des cristaux [44,71]. Ils ralentissent la cristallisation en augmentant le temps d'induction et en diminuant le taux de solide final [72,73]. Le sucroester d'acide palmitique a un effet variable en fonction de la température de cristallisation. Au-delà de 29 °C, il ralentit la cristallisation, alors qu'il l'accélère à des températures inférieures [74]. L'ajout de monolaurate de lactose, dont la longueur de la chaîne carbonée est plus courte, augmente le temps d'induction de cristallisation de la MGLA [41].

Les triglycérides exogènes ou des matières grasses liquides ou solides ajoutés dans de faibles proportions peuvent également être considérés comme des composés mineurs. Par exemple, l'addition de 10 % d'huile de tournesol à la fraction HMF de la MGLA diminue la taille des cristaux, que la cristallisation soit lente (0,1 °C/min) ou rapide (5,5 °C/min) [71]. L'huile de colza ajoutée à 10 % augmente la taille des cristaux lors d'un refroidissement lent tout en diminuant le taux de solide [75]. À très haute concentration (> 50%), elle diminue la taille des sphérulites [76]. La substitution de la fraction HMF de la MGLA par du beurre de

cacao, favorise la formation de cristaux mixtes et n'induit pas de transition polymorphique [77]. L'ajout de 10 % d'huile de palme dans la MGLA ou dans sa fraction HMF diminue son taux de solide et, par conséquent, diminue sa dureté [78].

Tableau 6 : Effet des composés minoritaires endogènes ou exogènes sur la cristallisation de la MGLA. Effet cinétique et structural

Matière grasse majoritaire	Nature ¹	Composé mineur	Concentration	Refroidissement	Température ou vitesse de refroidissement	Technique analytique	Effet cinétique	Effet sur le polymorphisme et la microstructure	Ref
MGLA		Retrait des non-TAG		isotherme	entre 25 °C et 32 °C	Turbidimétrie	diminue t_{nd}		[30]
MGLA		Retrait des non-TAG		isotherme	10 °C, 15 °C, 20 °C 25 °C	RMN	ralentit la cristallisation		[30]
MGLA		Retrait des non-TAG		isotherme	20 °C, 25 °C, 28 °C	RMN	accélère la cristallisation		[31]
MGLA		Retrait des non-TAG		rampe	3°C/min ou 0,5°C/min jusqu'à 17,5 °C, 20°C, 22,5 °C, 25 °C	DRX	accélère la cristallisation	moins de forme α et β , principalement β'	[61]
MGLA		Retrait des non-TAG		isotherme	22,5 °C, 25 °C, 27,5 °C	Turbidimétrie RMN MLP DRX	diminue t_{nd} accélère la cristallisation	sans effet sur la microstructure ni le polymorphisme	[42]
MGLA		Retrait des non-TAG		rampe	-5°C/min jusqu'à -40 °C	DSC	sans effet sur T_c	sans effet sur le profil de fusion	[42]
TAG ²	DAG	DAG intrinsèques ²	0,1%	isotherme	22,5 °C 25 °C 27,5 °C	RMN	ralentit la cristallisation augmente t_{nd}	sans effet sur la microstructure et le polymorphisme	[42]
TAG ²	DAG	DAG intrinsèques ²	0,1%	isotherme	27,5 °C	Turbidimétrie	diminue t_{nd}	sans effet sur la microstructure ni le polymorphisme	[42]
TAG ²	DAG	DAG intrinsèques ²	0,1%	isotherme	5 °C et 25 °C	Rhéologie microscopie		sans effet significatif sur la microstructure ni la dimension fractale	[63]
TAG ²	DAG	PP ou OO racémiques	0,1%	isotherme	25 °C	Turbidimétrie RMN	pas d'effet significatif sur t_{nd} ni la vitesse de cristallisation		[62]
TAG ²	DAG	1,2-PP	0,1%	isotherme	25 °C	Turbidimétrie RMN	pas d'effet significatif sur t_{nd} ralentit la cristallisation		[62]
TAG ²	DAG	1,2-OO	0,1%	isotherme	25 °C	Turbidimétrie RMN	diminue t_{nd} ralentit la cristallisation		[62]
TAG ²	DAG	1P, 2O	0,1%	isotherme	25 °C	Turbidimétrie RMN	diminue t_{nd} ralentit la cristallisation		[62]
MGLA	DAG	di-stearine (racémique)	0,5 % et 1 %	isotherme	22 °C, 23,5 °C, 25 °C, 26,5 °C	RMN et DSC	ralentit la cristallisation		[64]
MGLA	DAG	di-oléine (racémique)	0,5 % et 1 %	isotherme	22 °C, 23,5 °C, 25 °C, 26,5 °C	RMN et DSC	accélère la cristallisation		[64]
MGLA	MAG/DAG	MAG + DAG	1,75 %	rampe	0,5 °C/min jusqu'à -10 °C	DSC	augmente T_c		[65]
MGLA	MAG/DAG	MAG + DAG	1,75 %	isotherme	4 °C	DSC	diminue t_{nd}		[65]
MGLA	MAG/DAG	MAG + DAG	0,5 %, 1,25 %, 1,75 %, 2,5 %	rampe	1 °C/min jusqu'à 5 °C	Rhéologie	T_c augmente avec la concentration		[65]
MGLA	MAG	monostéarine	1 %	isotherme	22 °C, 23,5 °C, 25 °C, 26,5 °C	RMN et DSC	accélère la cristallisation		[64]
MGLA	MAG	monostéarine	0,5 %	isotherme	22 °C, 23,5 °C, 25 °C, 26,5 °C	RMN et DSC	accélère pour $T < 25^\circ\text{C}$ et ralentit pour $T=25^\circ\text{C}$ et $T= 26,5^\circ\text{C}$		[64]
MGLA	MAG	mono-oléine	0,5 % et 1 %	isotherme	22 °C, 23,5 °C, 25 °C, 26,5 °C	RMN et DSC	accélère pour $T= 26,5^\circ\text{C}$, ralentit sinon		[64]
HMF/OOO (30:70)	glycérol	glycérol	0,03 % à 3 %	isotherme	30 °C	RMN	accélère la cristallisation jusqu'à 0,1% ralentit la cristallisation au-delà		[43]
HMF/OOO (30:70)	glycérol	glycérol	0,03 % 0,10 % 0,2% 0,5 %	isotherme	30 °C	Turbidimétrie MLP	augmente t_{nd}	augmente la taille des cristaux jusqu'à 0,1%, diminue au-delà	[43]
MGLA	phospholipides	phospholipides	0,035% 0,06% 0,07%	isotherme	25 °C	DSC et RMN	augmente t_{nd}		[66]

Matière grasse majoritaire	Nature ¹	Composé mineur	Concentration	Refroidissement	Température ou vitesse de refroidissement	Technique analytique	Effet cinétique	Effet sur le polymorphisme et la microstructure	Ref
MGLA	phospholipides	phospholipides	0,005 % à 0,03 %	isotherme	25 °C	DSC et RMN	augmente t_{ind} diminue la vitesse de cristallisation		[67]
MGLA	phospholipides	lécithine	0,1 %, 0,5 %, 1 %	isotherme	18 °C	MLP		stimule la formation de sphérulites et leur densité	[68]
MGLA	phospholipides	lécithine	2 %	isotherme	18 °C	MLP		pas sphérulites réseau de cristaux en aiguilles	[68]
MGLA	cires	cire de tournesol	0,25 % et 0,5 %	rampe + isotherme	3°C / min jusqu'à 23, 24, 25, 26, 27, 28°C	DSC et MLP	diminue t_{ind}	diminue la taille des cristaux	[69]
MGLA	cires	cire de tournesol	0,1 % et 0,25 %	isotherme	entre 26 et 44°C	Turbidimétrie MLP	diminue t_{ind}	diminue la taille des cristaux	[70]
MGLA	sucroester	monolaurate de lactose	0,025 % et 0,05 %	isotherme	28 °C et 31 °C	Turbidimétrie MLP	augmente t_{ind}	diminue le nombre de cristaux	[41]
HMF	sucroester	P-1670	0,1 % et 0,5 %	isotherme	entre 38 et 43 °C	Turbidimétrie MLP	augmente t_{ind}	pas de modification de la microstructure	[44]
HMF	sucroester	P-170 ou S-170	0,1 % et 0,5 %	isotherme	entre 38 et 43 °C	Turbidimétrie MLP	augmente t_{ind}	diminue la taille des cristaux et réduit la largeur de la distribution de taille	[44,71,73]
HMF	sucroester	P-170	1 %	isotherme	10 à 33 °C	RMN	accélère la cristallisation si $T < 29^{\circ}\text{C}$ retarde la cristallisation si $T > 29^{\circ}\text{C}$	ralentit la transition de α vers β'	[74]
HMF + 10% SO	sucroester	P-1670, P-170 ou S-170	0,1 % et 0,5 %	isotherme	10 °C, 15°C, 20 °C, 25 °C 30 °C, 35 °C	RMN	augmente t_{ind} diminue SFC final		[72]
MGLA	TAG exogènes	huile de colza	10 %	rampe	5 °C/min jusqu'à 5°C	DSC	diminue T_c		[75]
MGLA	TAG exogènes	huile de colza	10 %	rampe	0,05 °C/min jusqu'à 5°C	DSC Microscopie confocale	augmente T_c	augmente la taille des sphérulites	[75]
MGLA	TAG exogènes	huile de colza	>50 %	rampe	0,1 °C/min	RMN MLP	ralentit la cristallisation	diminue la taille des sphérulites	[76]
MGLA ou HMF	TAG exogènes	huile de palme	10 %	isotherme + tempérage	-20 °C 30 min puis tempérage 48h à 15°C	RMN SFC Rhéologie		diminue le taux de solide et la dureté	[78]
HMF	TAG exogènes	Beurre de Cacao	10 %	rampe	20°C/min	DSC	augmente T_c	forme des co-cristaux pas de transition polymorphique	[77]
HMF	TAG exogènes	huile de tournesol	10 %	rampe + isotherme	5,5 °C/min ou 0,1°C/min puis isotherme à 40 °C	MLP	ralentit la cristallisation	diminue la taille des cristaux	[71]

Nature¹ : nature chimique des composés mineurs étudiés

TAG² : triglycérides de la MGLA (retrait des autres composants de la MGLA)

HMF : fraction haut point de fusion de la MGLA, HMF/OOO : mélange binaire fraction haut point de fusion de la MGLA, trioléine, SO : huile de tournesol

DAG : diglycérides, MAG : monoglycérides

DAG endogènes² : diglycérides endogènes séparés de la MGLA puis réintroduits

P-1670 monoester palmitique (hydrophile), P-170 polyester palmitique et S-170 polyester stéarique (hydrophobes)

MLP : microscopie à lumière polarisée

T_c : température de début de cristallisation, t_{ind} : temps d'induction

À notre connaissance, les acides gras libres, pourtant présents naturellement dans la matière grasse laitière, n'ont jusqu'ici pas été étudiés dans la MGLA. Ils ont en revanche fait l'objet d'investigations dans les matières grasses végétales, comme le beurre de cacao [79], l'huile de palme [80] et l'huile de coprah [81,82].

2. Matière grasse laitière émulsionnée

2.1. Généralités sur les émulsions

La matière grasse et l'eau ne sont pas miscibles. Lorsque le mélange de ces deux phases est soumis à une agitation mécanique, il se forme une dispersion colloïdale, appelée émulsion, où l'une des phases est dispersée dans l'autre sous forme de gouttelettes. Quand l'huile est dispersée dans la phase continue aqueuse, l'émulsion est dite directe (huile-dans-eau, H/E). C'est le cas des crèmes laitières. Quand la phase aqueuse est dispersée dans l'huile, comme dans le cas du beurre, l'émulsion est dite inverse (eau-dans-huile, E/H) (Figure 25).

Le contact entre ces deux phases non miscibles a un coût énergétique appelé tension de surface. Cette énergie est apportée par l'agitation mécanique délivrée au système lors de sa fabrication. Du fait de la tension interfaciale, ces systèmes sont thermodynamiquement instables et, au bout d'un certain temps, les deux phases tendent à se séparer (Figure 25) (cf. § 2.2).

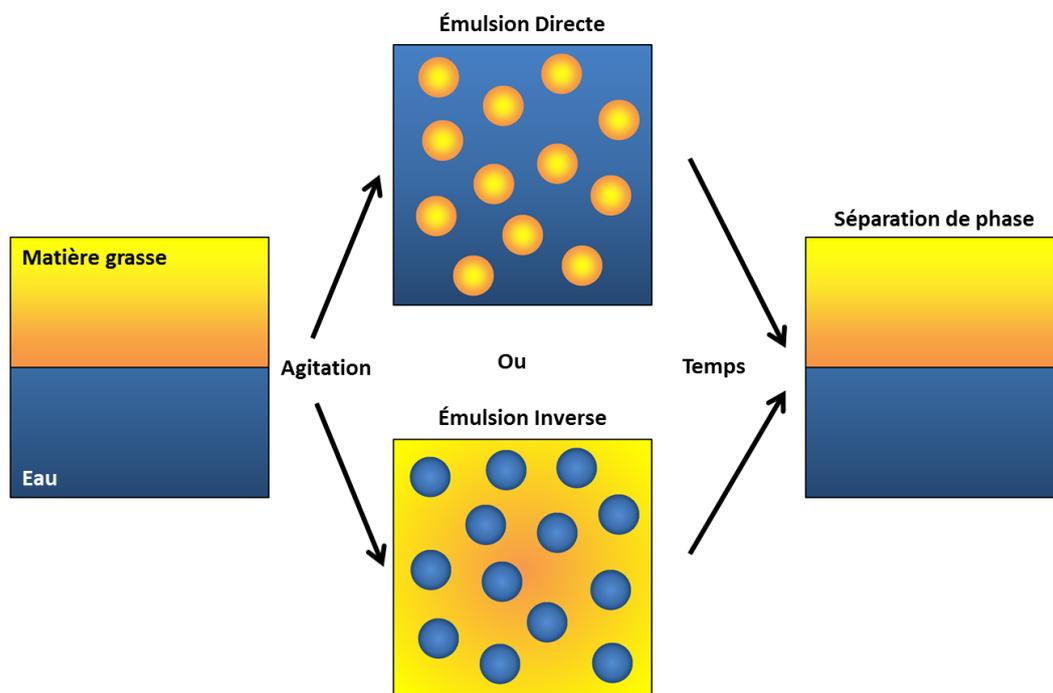


Figure 25 : Formation et destruction des émulsions directes et inverses

L'utilisation d'espèces tensioactives est indispensable pour à la fois faciliter leur fabrication et stabiliser les émulsions, c'est-à-dire prolonger leur durée de vie. Ces espèces sont amphiphiles. Elles possèdent deux parties, chacune capable d'interagir avec l'une des phases. De ce fait, elles se positionnent préférentiellement à l'interface eau/huile.

L'entropie associée au mouvement de ces molécules aux interfaces (pression bidimensionnelle) permet de diminuer la tension interfaciale. En parallèle, ces molécules sont capables de générer des répulsions à longue portée entre les surfaces susceptibles de protéger les gouttelettes d'émulsion contre les différentes instabilités (cf. § 2.2). Selon qu'elles sont préférentiellement solubles dans l'une ou dans l'autre des phases, les espèces tensioactives conduisent à la formation d'une émulsion directe ou inverse, suivant la règle empirique de Bancroft : un émulsifiant plutôt soluble dans l'eau conduit après agitation à une émulsion directe, alors qu'un émulsifiant soluble dans l'huile conduit à une émulsion inverse [83]. Les émulsifiants peuvent être classés selon une échelle empirique de balance hydrophile/lipophile (HLB). Celle-ci quantifie la solubilité préférentielle d'un émulsifiant dans l'une ou l'autre des deux phases et donc leur propension à générer une émulsion directe ou inverse. Plus la valeur de la HLB d'un émulsifiant est importante, plus il est soluble dans l'eau. Différentes échelles de HLB ont été définies. Cette valeur peut être calculée par la méthode proposée par Davies [84], qui consiste à faire la somme des contributions des HLB des différentes fonctions chimiques de l'émulsifiant :

$$HLB = 7 + \sum (\text{contribution des différentes fonctions chimiques}) \quad (\text{Eq. 34})$$

Tableau 7 : Contribution des groupes chimiques dans le calcul du HLB [84]

Groupes hydrophiles	HLB associée	Groupes lipophiles	HLB associée
$-SO_4^- Na^+$	38,7	$-CH-$	- 0,475
$-COO^- K^+$	21,1	$-CH_2-$	
$-COO^- Na^+$	19,1	$-CH_3$	
$=N-$	9,4	$=CH-$	
<i>ester span</i>	6,8		
<i>ester libre</i>	2,4		
$-COOH$	2,1		
<i>hydroxyl libre</i>	1,9		
$-O-$	1,3		
<i>hydroxyl span</i>	0,5		

Les fonctions hydrophiles contribuent positivement à la HLB alors que les carbones aliphatiques y contribuent négativement. L'utilisation de cette méthode de calcul donne une bonne estimation de la solubilité des émulsifiants dont la masse moléculaire reste faible, mais n'est plus valable pour les macromolécules. Elle ne tient pas non plus compte des conditions de température, ni de la salinité, qui peuvent influencer la solubilité des molécules tensioactives.

Parmi les émulsifiants capables de stabiliser les émulsions, on retrouve des tensioactifs de bas poids moléculaire, des polymères, des protéines (cas particulier de polymères), et des particules solides, chacune de ces espèces s'adsorbant de façon spécifique à l'interface eau/huile.

2.1.1. Tensioactifs de bas poids moléculaire

Les tensioactifs de faible masse molaire (inférieure à $1000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) sont les molécules émulsifiantes les plus simples. Elles sont constituées d'une partie aliphatique hydrophobe et d'une tête polaire hydrophile qui peut être chargée ou neutre (Figure 26). On distingue ainsi les tensioactifs non chargés comme les monoglycérides ou les diglycérides, les tensioactifs anioniques comme le dodécylsulfate de sodium (SDS), les tensioactifs cationiques dont la tête polaire est chargée positivement et les tensioactifs zwitterioniques comme les phospholipides.

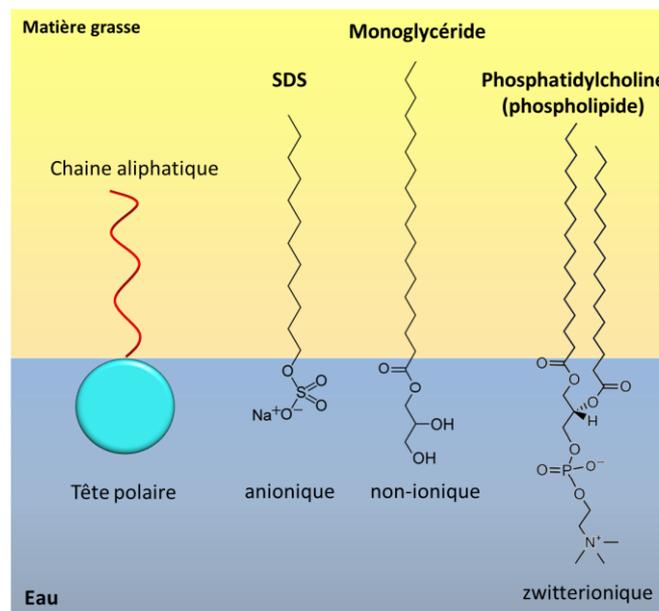


Figure 26 : Les tensioactifs de bas poids moléculaire : forme générale et exemple de différentes têtes polaires

Ces molécules tensioactives s'adsorbent à l'interface avec une énergie de l'ordre de $k_B T$, l'énergie thermique. Il existe alors un équilibre d'adsorption et désorption du tensioactif à l'interface. Plus la concentration de molécules à l'interface, Γ_{TA}^σ , est élevée, plus la tension de surface diminue. D'après la relation de Gibbs, la variation de tension de surface, en régime dilué, à température constante, est donnée par :

$$d\gamma = -\Gamma_{TA}^\sigma d\mu_{TA} = -\Gamma_{TA}^\sigma RT d\ln c_{TA} \quad (\text{Eq. 35})$$

où μ_{TA} est le potentiel chimique du tensioactif et c_{TA} est sa concentration volumique dans la phase dans laquelle il est soluble. La tension de surface diminue alors avec la concentration en émulsifiant tant que cette dernière reste suffisamment faible. Au-delà d'une certaine concentration, les molécules tensioactives atteignent leur solubilité maximale sous forme isolée et s'auto-assemblent pour former des micelles. Cette concentration est la concentration micellaire critique (CMC) (Figure 27). Les tensioactifs ne s'adsorbent plus d'avantage à l'interface, et l'équation 35 n'est plus valable.

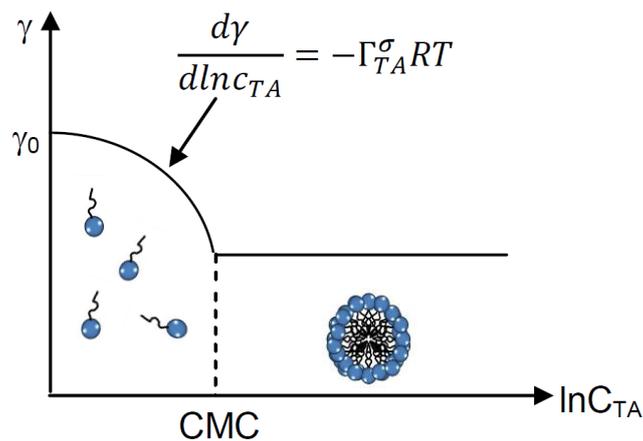


Figure 27 : Évolution de la tension de surface (γ) avec la concentration de tensioactif (c_{TA}) et concentration micellaire critique (CMC)

Les molécules de tensioactif forment une monocouche à l'interface et sont mobiles. Quand cette interface est comprimée ou étirée, il se crée un gradient de concentration surfacique, et les tensioactifs migrent vers les zones appauvries en émulsifiant. Lors du rapprochement de deux gouttes, le drainage de la phase continue, dû au confinement, étire les surfaces. La diffusion du tensioactif vers le centre entraîne alors, par effet de friction, la phase continue vers la zone confinée (Figure 28). Ce phénomène hydrodynamique, connu sous le nom d'effet Marangoni, facilite la fabrication des émulsions et des mousses et contribue à leur stabilisation. Le flux de matière qui pénètre dans le film liquide maintient les surfaces à distance pendant la phase où la concentration surfacique locale en tensioactif est abaissée.

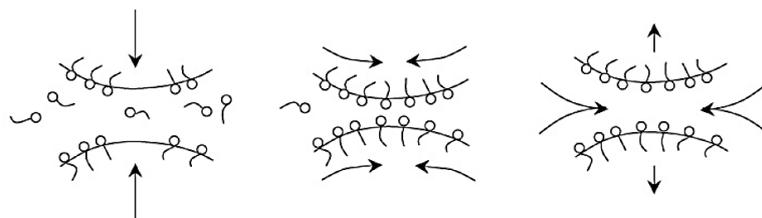


Figure 28 : Effet Marangoni

De plus, l'utilisation de tensioactifs chargés dans des émulsions H/E est responsable de charges surfaciques, qui entraînent des répulsions électrostatiques entre les gouttes. Ces

répulsions peuvent toutefois être écrantées (*i.e.* atténuées) quand la force ionique de la phase continue est élevée.

2.1.2. Protéines laitières

Les protéines sont des macromolécules dont la masse molaire dépasse largement 10^3 g.mol^{-1} . Une protéine est constituée d'une séquence d'acides aminés, chacun lié au suivant par une liaison peptidique, ce qui constitue sa structure primaire. Le repliement local des acides aminés en hélices, en feuillets, ou en d'autres formes constitue la structure secondaire de la protéine. La structure tertiaire représente l'agencement stable dans l'espace de ces hélices et feuillets. Elle est le résultat de liaisons diverses (hydrophobes, hydrogène, électrostatiques, ponts disulfures covalents, contraintes stériques) entre des acides aminés de la même chaîne peptidique mais non voisins dans la structure primaire. Certaines protéines peuvent résulter de l'agencement de sous-unités indépendantes entre elles : on parle alors de structure quaternaire. En fonction de la polarité des chaînes latérales des résidus qui les composent et de leur conformation, les protéines présentent des régions hydrophiles et hydrophobes. Ce sont donc des molécules amphiphiles capables de s'adsorber à l'interface eau/huile. Elles favorisent les émulsions directes, eu égard à leur solubilité dans l'eau.

Les protéines laitières peuvent être classées en deux catégories : les caséines et les protéines du lactosérum. Les caséines sont isolées du lait par précipitation à pH acide ($\approx 4,5$) alors que les protéines du sérum restent solubles à ce pH. La neutralisation par ajout d'hydroxyde de sodium permet de les solubiliser à nouveau sous forme de caséinate de sodium qui peut être séché et mis en poudre pour être utilisé comme ingrédient. Les caséines représentent 80 % de la matière protéique du lait et sont constituées de quatre groupes : α_{s1} α_{s2} β et κ . Ces groupes diffèrent par leurs masses molaires et leurs compositions en acides aminés, notamment la cystéine et la phosphosérine, ce qui détermine leur fonctionnalité. Ces protéines sont spatialement peu ordonnées et sont relativement flexibles, en raison de la faible proportion de ponts disulfures dans leur structure tertiaire.

Les protéines sériques (principalement représentées par la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine) sont au contraire très structurées. La présence de résidus cystéine et le groupement sulfhydrile réactif à l'extrémité de la chaîne latérale permet, en conditions

oxydantes, la formation d'un pont disulfure avec une autre cystéine. Les résidus cystéine contribuent ainsi à maintenir la structure tridimensionnelle de ces protéines.

Le temps d'adsorption des protéines à l'interface eau/huile est beaucoup plus long que pour les tensioactifs de faible poids moléculaire. De par leur taille, les protéines diffusent plus lentement vers les interfaces. De surcroît, leur adsorption peut engendrer une perte de conformation tridimensionnelle (structures secondaires et tertiaires) par dénaturation et déploiement. Contrairement aux tensioactifs de faible poids moléculaire, l'adsorption des protéines est irréversible car les points d'ancrage à l'interface sont nombreux. Les caséines s'étalent facilement à l'interface, en perdant leur structure secondaire et/ou tertiaire et en formant des boucles de part et d'autre de l'interface. Les protéines sériques, au contraire, conservent leur forme organisée et ne s'étalent que faiblement (Figure 29). De ce fait, à concentration équivalente, les caséinates créent de plus grandes surfaces de contact eau/huile [85]. Quand la concentration surfacique en protéines flexibles augmente, elles se compriment à l'interface. Les protéines globulaires, moins déformables, sont par conséquent moins aptes à subir ce phénomène de compression. Quel que soit le type de protéine, quand la concentration continue d'augmenter, la monocouche finit par être encombrée et les protéines forment des multicouches [85]. Les protéines ont aussi la capacité de s'associer latéralement par des liaisons hydrogènes, électrostatiques et hydrophobes, ce qui rigidifie les interfaces. Ce phénomène inhibe leur diffusion le long des interfaces et les distingue des tensioactifs de bas poids moléculaires, mobiles à l'interface.

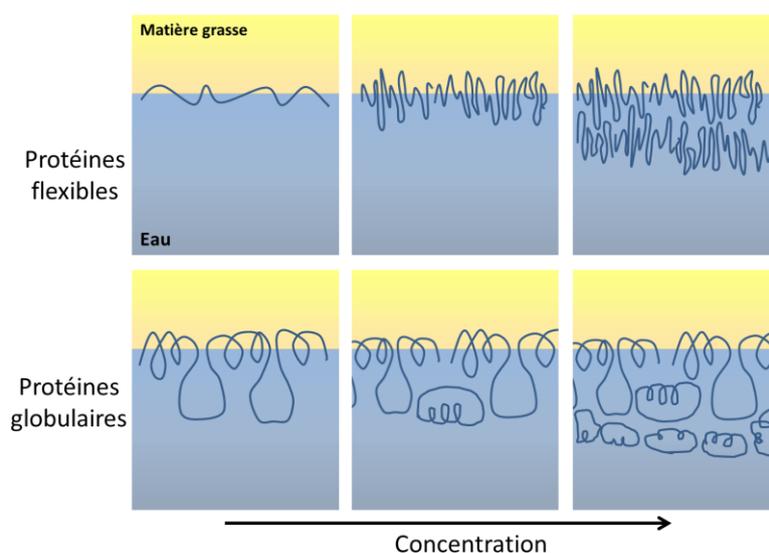


Figure 29 : Organisation schématique des protéines flexibles et globulaires à l'interface, pour des concentrations croissantes [86]

Les caséines β et α_{s1} ne s'adsorbent pas de la même manière à l'interface. Alors que les caséines α_{s1} forment des boucles et restent proches de l'interface, les caséines β étendent leur chaîne N-terminale dans la phase aqueuse, loin de la surface [87]. La capacité des différentes protéines à se déployer dans la phase aqueuse permet de stabiliser les gouttelettes par répulsion stérique.

2.1.3. Compétition des émulsifiants à l'interface

La présence dans un même milieu de différentes espèces amphiphiles, capables d'occuper l'interface eau/huile, conduit à une compétition entre ces différents émulsifiants. L'adsorption compétitive entre caséines et protéines sériques, et entre protéines et tensioactifs a été amplement étudiée dans la littérature [88–92].

Pour les caséines, il a été observé qu'il n'y a pas d'adsorption préférentielle entre la caséine α_{s1} et la caséine β lors de l'émulsification, mais, au cours du stockage, la caséine β remplace en partie la caséine α_{s1} à l'interface [93]. Pour les protéines sériques, il n'y aurait pas d'adsorption privilégiée entre la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine [85].

Lorsque les caséines et les protéines globulaires sont en compétition, si la concentration totale en protéines est faible, et donc limitante, les deux types s'adsorbent à l'interface dans les mêmes proportions. En revanche, quand les protéines sont en excès par rapport à la quantité requise pour former une monocouche à l'interface, on observe une adsorption préférentielle des caséinates par rapport aux protéines sériques [85]. De plus, en présence de caséinates même à de faibles concentrations, les protéines sériques en excès ne peuvent former de multicouches à l'interface, probablement à cause de la gêne stérique générée par les caséinates.

L'adsorption des protéines à l'interface eau/huile est généralement considérée comme irréversible, car elle est assurée par de nombreux points d'ancrages. Mais la couche protéique peut être affectée par les tensioactifs de bas poids moléculaires, susceptibles d'abaisser l'énergie de surface à un niveau plus bas que celle des protéines. Ils pourraient détruire les interactions latérales entre les protéines, puis les déplacer [91]. La capacité des tensioactifs à déplacer les protéines est très dépendante du ratio tensioactif/protéine [94]. Les caséines, plus flexibles, résistent mieux à la désorption que les protéines globulaires [91].

2.1.4. Globule gras laitier natif

Le lait est une émulsion directe où la phase aqueuse constitue la phase continue et la matière grasse laitière constitue la phase dispersée. Mais l'interface est une membrane bien plus complexe que les interfaces stabilisées par des tensioactifs et/ou protéines décrites dans les paragraphes précédents. Le globule gras natif, tel qu'on le retrouve dans le lait sans transformation, est protégé par une membrane biologique à trois couches principalement composée de phospholipides : la phosphatidylcholine (PC), la phosphatidyléthanolamine (PE), la phosphatidylsérine (PS) et le phosphatidylinositol (PI). Elle contient d'autres lipides polaires : des sphingolipides (sphingomyéline (SM), glycosphingolipides), des lipides neutres (mono et diglycérides, cholestérol) ainsi que des protéines (glycoprotéines, butyrophiline, enzymes) (Figure 30).

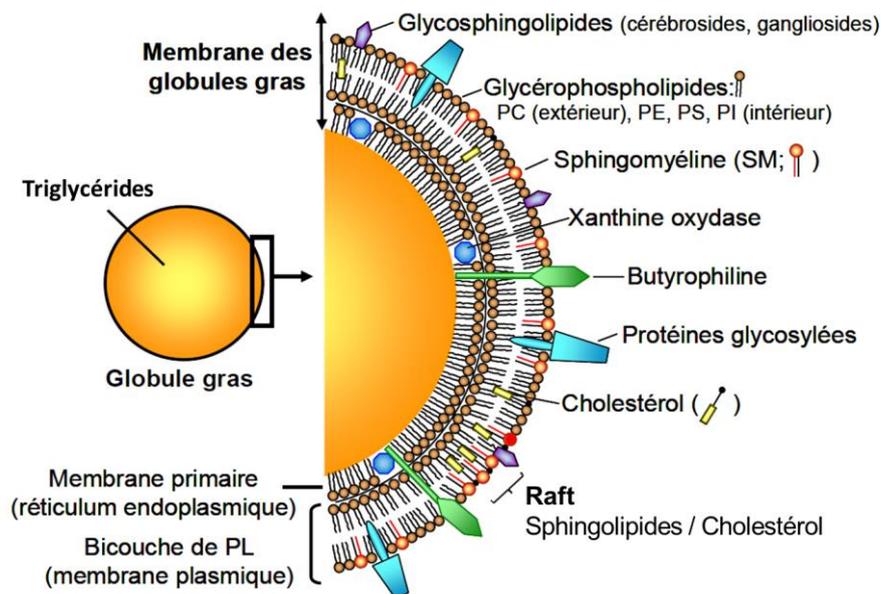


Figure 30 : Membrane du globule gras. Adapté de [95]

Les protéines laitières décrites précédemment (§ 2.1.2) ne sont pas impliquées dans la stabilité des interfaces des globules gras natifs, mais elles entrent en jeu quand le lait ou la crème sont homogénéisés ou traités thermiquement. L'homogénéisation provoque le fractionnement des globules gras du lait et de ce fait augmente la surface de contact entre la matière grasse et la phase continue aqueuse. Les protéines laitières solubilisées dans la phase aqueuse contribuent alors à la stabilisation de ces nouvelles interfaces [96] (Figure 31).

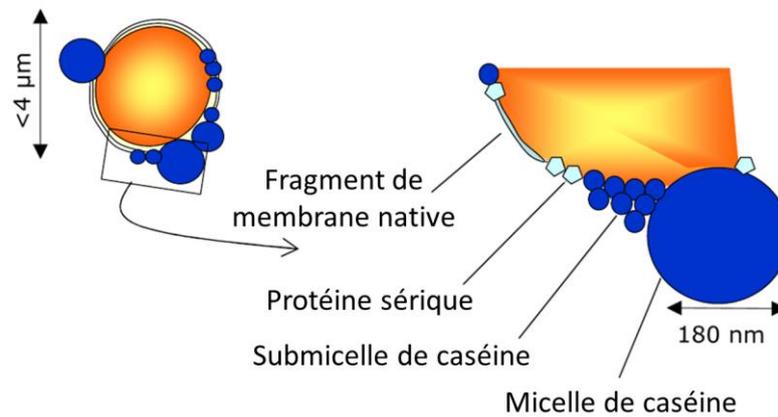


Figure 31 : Globules gras homogénéisés : Positionnement des fragments de la membrane native du globule gras (MFMG) et des protéines de la phase aqueuse. Adapté de [97]

Dans le cas de traitement thermique, les protéines sériques, sensibles à ces traitements, sont dénaturées par rupture de leurs liaisons faibles. En perdant leur conformation, elles rendent accessibles des sites réactifs (sulfhydriles) et sont susceptibles de former des agrégats, via la formation de ponts disulfure [98]. Elles peuvent notamment se lier aux protéines présentes à la surface des gouttes, et renforcer la résistance mécanique de la membrane du globule gras [99].

2.2. Instabilités des émulsions

Les émulsions sont des systèmes métastables. Elles évoluent progressivement jusqu'à la démixtion totale des phases non miscibles, sur une échelle de temps variable pouvant aller de quelques minutes à plusieurs années, en fonction des paramètres physico-chimiques et, notamment, de la nature des espèces tensioactives mises en jeu. Certaines instabilités ne modifient pas l'aire interfaciale entre l'eau et l'huile, elles sont réversibles. D'autres, en revanche, conduisent à diminuer la surface de contact et sont irréversibles.

2.2.1. Phénomènes migratoires

La phase aqueuse et l'huile n'ont pas la même densité. Les gouttes en mouvement sont soumises à trois forces : la pesanteur, la poussée d'Archimède et la force de friction. En régime stationnaire, ces forces se compensent et conduisent à une vitesse de migration d'une goutte de rayon r donnée par la loi de Stokes :

$$v = \frac{2g(\rho_{huile} - \rho_{eau})r^2}{9\eta_{eau}} \quad (\text{Eq. 36})$$

où g est la constante gravitationnelle, ρ la masse volumique de chacune de phases, et η_{eau} la viscosité de la phase aqueuse.

Dans les émulsions directes, la poussée d'Archimède domine la pesanteur et les gouttes ont tendance à migrer vers le haut du système : c'est le phénomène de crémage (Figure 32). Dans les émulsions inverses, les gouttes d'eau, plus denses que la phase continue grasse, migrent vers le bas du système : c'est le phénomène de sédimentation. En tant que tels, les phénomènes migratoires ne modifient pas l'aire interfaciale entre l'eau et l'huile ; ils sont réversibles et les systèmes émulsionnés peuvent être redispersés par une faible agitation. En revanche, dans la mesure où ils concentrent les gouttes, ils peuvent accélérer des instabilités telles que la coalescence ou le mûrissement d'Ostwald qui seront décrites ci-après.

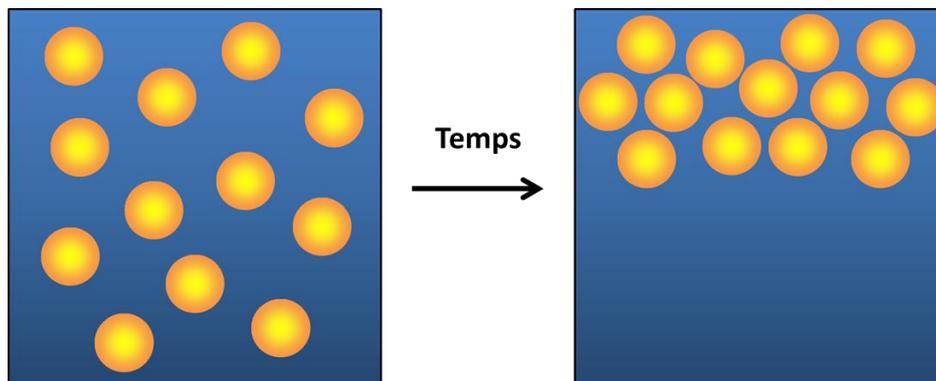


Figure 32 : Crémage d'une émulsion directe

2.2.2. Interactions attractives et floculation

Outre les interactions répulsives électrostatiques et stériques, les gouttes sont soumises à des interactions colloïdales attractives. Les forces de van der Waals regroupant les interactions de Keesom, Debye et London, d'origine dipolaire, rentrent dans cette catégorie. Dans le cas des émulsions, la force de London à courte portée est la contribution dominante [100]. Le potentiel d'interaction entre deux sphères identiques de rayon R séparées d'une distance centre-à-centre r s'écrit :

$$U_{van\ der\ Waals} = -\frac{AR}{12(r - 2R)} \quad (\text{Eq. 37})$$

où A est la constante dite de Hamaker, caractérisant la polarisabilité des phases dispersante et dispersée [100]. Cette expression est valable dans la limite $r - 2R \ll R$.

Une émulsion contient généralement plus de molécules amphiphiles que ce qui est strictement nécessaire pour recouvrir les interfaces. Ainsi, des micelles de tensioactifs de bas poids moléculaire ou des protéines en excès se trouvent dans la phase continue. Ces

« objets » sont de 10^2 à 10^4 fois plus petits que les gouttes d'émulsion et aussi beaucoup plus nombreux. Tout se passe alors comme si les gouttes étaient immergées dans un « gaz » de petits objets. Ces derniers exercent sur les gouttes une pression osmotique. Tant que les gouttes sont suffisamment espacées, les forces de pression exercées sont symétriques et s'annulent. Mais si les gouttelettes sont suffisamment proches, les petits objets ne peuvent plus accéder à l'espace séparant les deux gouttes et la pression qu'ils exercent n'est plus uniforme (Figure 33). Il se forme alors une zone de pression osmotique non compensée qui tend à coller les gouttes et cela d'autant plus intensément que les petits objets sont concentrés. Le potentiel attractif, appelé potentiel de déplétion ou de volume exclu qui s'exerce entre les gouttes, dépend du rapport entre le rayon des gouttes, R , et celui des petits objets, a . Si les gouttes sont au contact, ce potentiel est donné par :

$$U_{déplétion} = -\frac{3}{2}k_B T \Phi_p \frac{R}{a} \quad (\text{Eq. 38})$$

où Φ_p est la fraction volumique en petits objets. L'expression précédente est valable pour $R \gg a$. L'agrégation des gouttes par déplétion est observée, par exemple, lorsque le caséinate de sodium est en fort excès dans la phase continue de l'émulsion [87].

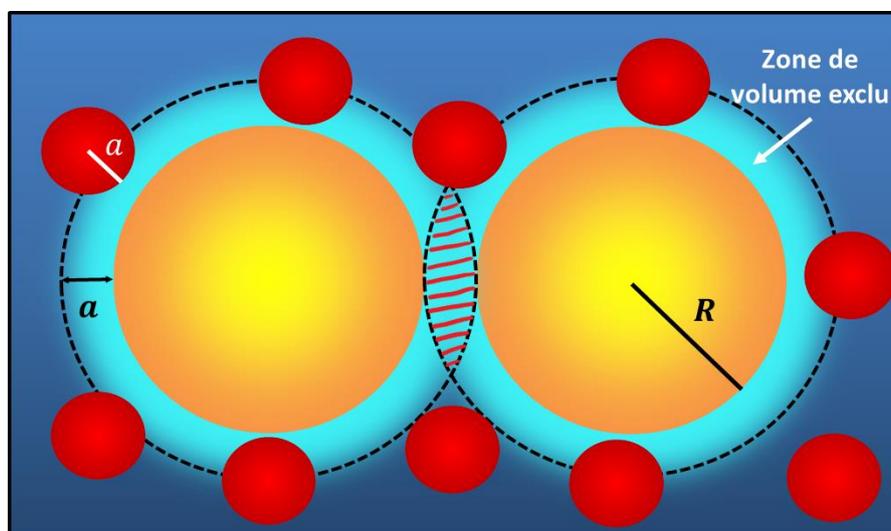


Figure 33 : Phénomène de déplétion due à l'existence d'un volume exclu entre et autour des gouttes de rayon R

Quand à une distance donnée, le bilan net des forces est attractif, les gouttelettes peuvent se rapprocher et former des agrégats : les floccs (Figure 34). Dans ces édifices, les gouttes restent individualisées et peuvent généralement être séparées par dilution ou agitation.

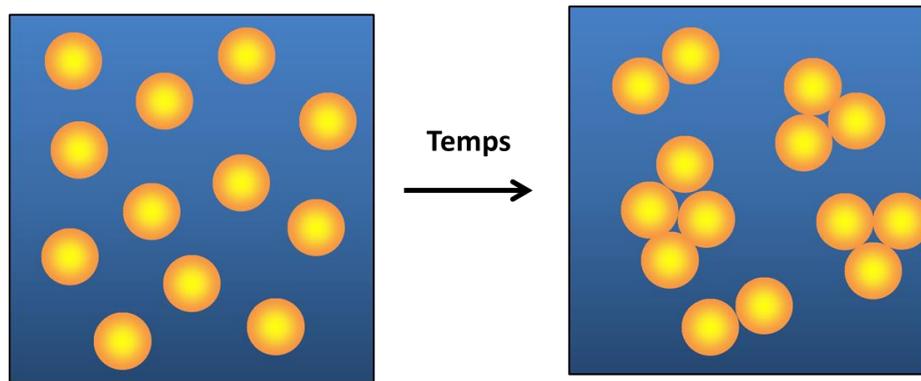


Figure 34 : Flocculation d'une émulsion

Les forces attractives et répulsives qui s'exercent entre les gouttes conduisent à un potentiel $U(r)$ qui présente un puits de potentiel U_{min} . Si U_{min} est très inférieur à $k_B T$, il n'y a pas d'agrégation, l'agitation thermique permet de sortir spontanément du puits. Si U_{min} est de l'ordre de $k_B T$, gouttes libres et gouttes agrégées coexistent. Si U_{min} est très grand devant $k_B T$, les gouttes s'agrègent de manière totale et irréversible en formant un gel. Elles ne peuvent pas être redispersées. Ces considérations thermodynamiques peuvent être complétées par une approche cinétique, le rapprochement entre gouttes pouvant être ralenti par la présence d'une barrière de potentiel (Figure 35).

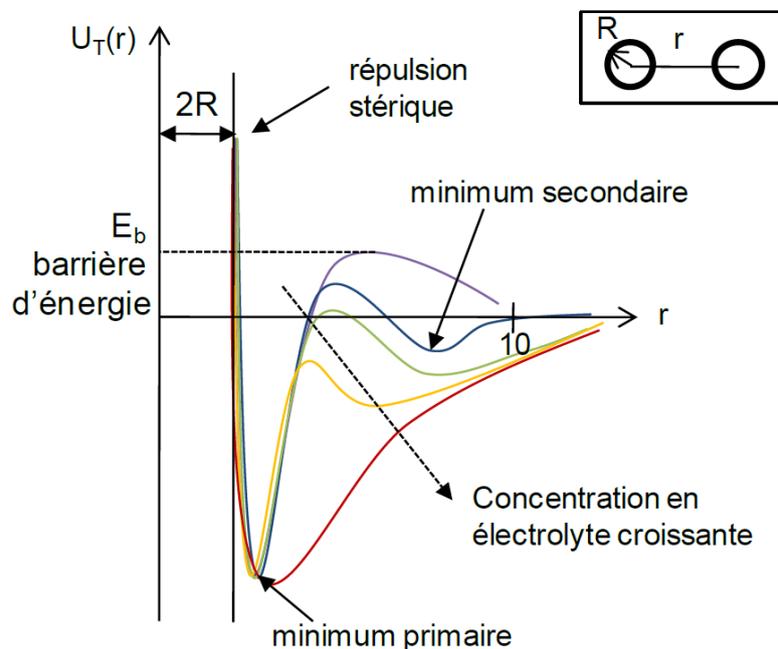


Figure 35 : Contrôle de la barrière de potentiel [101]

La cinétique dans le cas des colloïdes chargés peut être expliquée par le modèle DLVO (Derjaguin, Landau [102] Verwey, Overbeek [103]). Il permet de calculer leur potentiel d'interaction en tenant compte des forces de van der Waals et des répulsions

électrostatiques. Le puits de potentiel est profond, mais la répulsion électrostatique engendre une barrière d'énergie qui empêche les colloïdes de se rapprocher à une distance où les interactions attractives de van der Waals sont dominantes. Il prend également en compte les interactions de type « sphère dure », où les nuages électroniques des molécules à l'interface entrent en contact. Si la barrière de potentiel E_b est très grande devant $k_B T$, l'agrégation est impossible ; si ces deux valeurs sont du même ordre de grandeur, l'agrégation est lente ; enfin, si E_b est très inférieure à $k_B T$, l'agrégation est rapide et limitée par la diffusion. Expérimentalement, la salinité de la phase aqueuse permet de moduler l'amplitude de la barrière E_b .

2.2.3. Phénomènes irréversibles

La destruction des émulsions résulte de deux mécanismes limites irréversibles : le mûrissement d'Ostwald et la coalescence. Le mûrissement d'Ostwald est un transfert diffusif de la phase dispersée, des petites gouttelettes vers les plus grosses [104]. Il existe un différentiel de pression, P_L entre le volume interne d'une goutte de rayon R (pression P_d) et la phase continue (pression P_c) donné par :

$$P_L = P_d - P_c = \frac{2\gamma}{R} \quad (\text{Eq. 39})$$

Ce différentiel est appelé pression de Laplace. L'équation 39 montre que celle-ci est d'autant plus élevée que le diamètre des gouttes est faible. De ce fait, les molécules tendent à diffuser des plus petites gouttes vers les plus grosses, à travers la phase continue. Les petites gouttes finissent donc par disparaître (Figure 36). Le phénomène est d'autant plus rapide que la solubilité de la phase dispersée dans la phase continue est élevée. Quand ce phénomène intervient, la distribution de taille des gouttes se décale au cours du temps vers les plus gros diamètres et elle s'affine autour de ces diamètres. Le diamètre moyen des gouttes croît au cours du temps selon une loi de puissance en $t^{1/3}$. Le mûrissement d'Ostwald s'auto-ralentit au cours du temps car les écarts entre les pressions de Laplace des différentes gouttes tendent à décroître lorsque le rayon moyen des gouttes augmente. En pratique, ce phénomène devient très lent dès lors que le diamètre moyen des gouttes dépasse 1 μm environ. Les triglycérides à chaîne moyenne ou longue ont une solubilité en phase aqueuse extrêmement faible. De ce fait, les émulsions de type H/E à base de triglycérides ne sont généralement pas sujettes au mûrissement d'Ostwald.

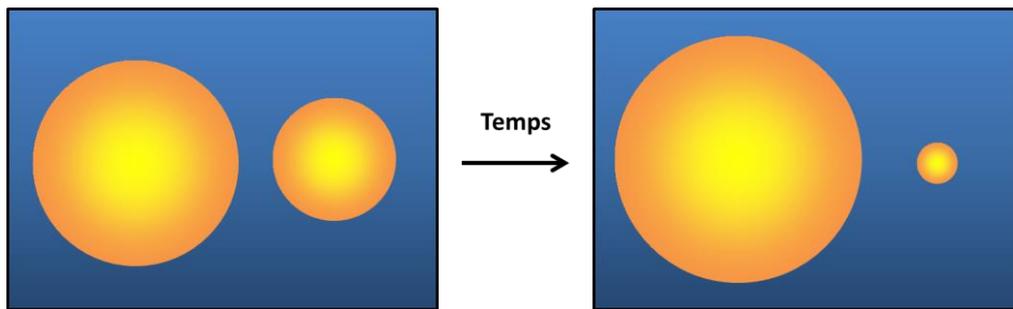


Figure 36 : Mûrissement d'Ostwald

La coalescence est un phénomène irréversible de rupture du film interfacial entre deux gouttelettes en contact. Cette rupture du film conduit à la fusion des gouttelettes et à la relaxation de l'interface pour former une goutte unique (Figure 37).

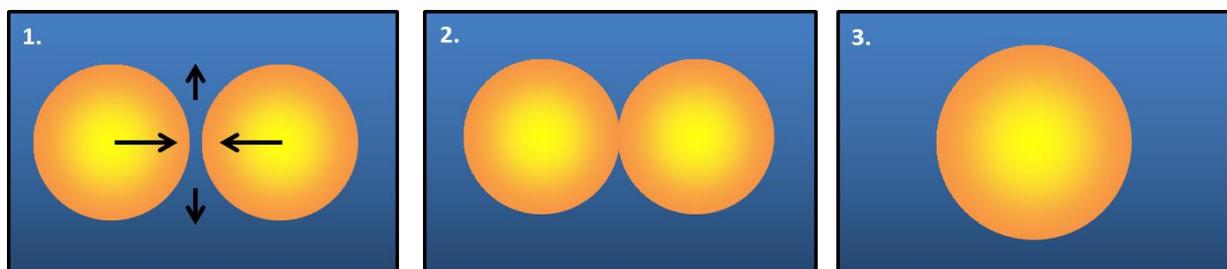


Figure 37 : Étapes de la coalescence. 1. Rapprochement des gouttelettes ; 2. Rupture du film interfacial ; 3. Relaxation de forme

Contrairement au murissement d'Ostwald, ce phénomène est auto-accélééré. Le diamètre moyen des gouttes croît au cours du temps selon une loi de puissance en t^α , avec $\alpha > 1$. La distribution de taille des gouttes s'élargit dans le temps et ce phénomène se poursuit jusqu'à la séparation macroscopique des deux phases. Le rapprochement des gouttes est nécessaire pour qu'un évènement de coalescence puisse se produire. Aussi, la concentration de la phase grasse due au crémage ou bien l'agrégation des gouttes peut accélérer la coalescence. La coalescence a été décrite comme un phénomène thermiquement activé, limité par une barrière d'énergie d'activation, E_a . La fréquence de coalescence suit une loi d'Arrhenius :

$$\omega = \omega_0 \cdot e^{-\frac{E_a}{kT}} \quad (\text{Eq. 40})$$

Où ω_0 la fréquence propre de nucléation d'un canal, *i.e.* le nombre total de canaux formés par unité de temps et de surface [105]. Elle regroupe la contribution hydrodynamique associée au drainage de la phase continue et une contribution entropique caractérisant la possibilité de former un pore dans le film. L'origine de l'énergie d'activation dans les émulsions reste encore très controversée. Il n'existe à ce jour, aucun modèle « universel »

permettant d'expliquer toute la diversité des comportements lorsque les émulsions se détruisent par coalescence. Il est vraisemblable que cette instabilité mette en jeu plusieurs phénomènes dont la prédominance dépend de la nature des espèces tensioactives et des propriétés thermodynamiques et mécaniques des interfaces.

L'énergie d'activation dépend, entre autres, de la tension de surface entre les deux phases. En effet, créer un canal entre les deux gouttes diminue la surface plane du film, mais crée, avant la relaxation de forme des gouttes, une surface supplémentaire [106]. L'énergie d'activation dépend également de la courbure spontanée de l'émulsifiant (Figure 38). Dans les films minces qui séparent les gouttes, dont l'épaisseur est de l'ordre de quelques nanomètres, la nucléation d'un canal génère des zones fortement courbées au niveau des parties latérales du canal (Figure 38). Ces courbures sont en valeur absolue comparables à celles que forment spontanément les tensioactifs en s'auto-associant sous la forme de micelles (notion de courbure spontanée). Dans un film aqueux séparant deux gouttelettes d'huile (cas des émulsions H/E), le bord du canal adopte une courbure locale de type E/H. La coalescence est facilitée (*i.e.* E_a est faible) si le tensioactif possède une courbure spontanée de même type E/H. Cela est le cas des tensioactifs liposolubles qui forment spontanément des micelles de type E/H dans l'huile. Au contraire, la coalescence est inhibée (*i.e.* E_a est élevée) si le tensioactif possède une courbure spontanée de type H/E, opposée à la courbure adoptée par le bord du canal. Cela est le cas des tensioactifs hydrosolubles qui forment spontanément des micelles H/E en phase aqueuse [107]. Cette explication fondée sur la notion de courbure spontanée (préférentielle) justifie la règle empirique de Bancroft énoncée précédemment. La probabilité de rupture du film est aussi liée aux fluctuations de concentration du tensioactif à l'interface [108]. Ces fluctuations entraînent la rupture du film entre deux gouttes quand deux zones appauvries en tensioactif sont en vis-à-vis. Enfin, les forces colloïdales entre les surfaces influencent également la probabilité de coalescence. Les tensioactifs générant des répulsions à longue portée, de nature électrostatique ou stérique, réduisent la fréquence des événements de coalescence en maintenant les interfaces suffisamment écartées.

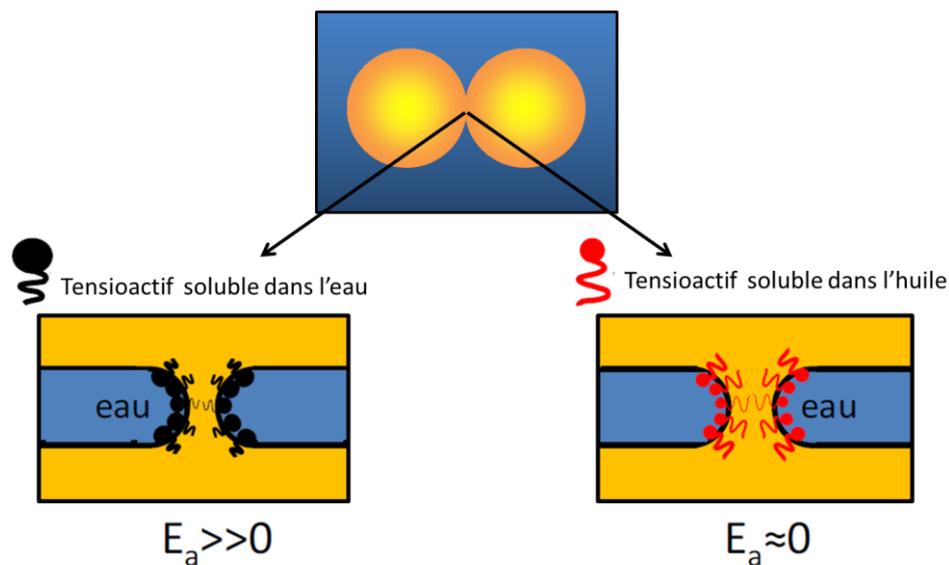


Figure 38 : Influence du type d'émulsifiant sur l'énergie d'activation de coalescence entre deux gouttes d'huile. Adapté de [104]. E_a : énergie d'activation de création du pore entre les deux gouttes

2.3. Cristallisation en émulsion

La dispersion de la matière grasse laitière dans une phase aqueuse peut induire de nouveaux mécanismes de cristallisation. L'émulsification conduit à une division de la matière grasse, son confinement dans des gouttes (plus ou moins grosses) et l'existence d'une interface eau/huile, stabilisée par des espèces amphiphiles. Tous ces paramètres peuvent modifier les propriétés cristallines de la matière grasse : nucléation, croissance, polymorphisme et/ou microstructure. Parallèlement, la présence d'une fraction cristalline dans les gouttes de matière grasse peut modifier la stabilité de l'émulsion.

2.3.1. Conséquences de l'émulsification sur la cristallisation

Dans la MGLA en phase continue, la présence d'impuretés telles que de très fines particules solides, quasi inévitables, conduit à une nucléation hétérogène. Ces impuretés facilitent la formation des premiers nuclei de matière grasse. Quand la matière grasse est émulsionnée dans une phase aqueuse, elle est divisée en petits volumes qui, en première approche, peuvent être considérés comme indépendants les uns des autres. Les supports de nucléation hétérogène, initialement présents dans la matière grasse en phase continue, sont à présent répartis dans les gouttes. Plus la dispersion est importante, plus le nombre de gouttes est grand et plus leur volume est faible. De ce fait, la probabilité de trouver un support de nucléation hétérogène dans une goutte diminue (Figure 39) et il est généralement admis que la nucléation tend alors vers le mode homogène.

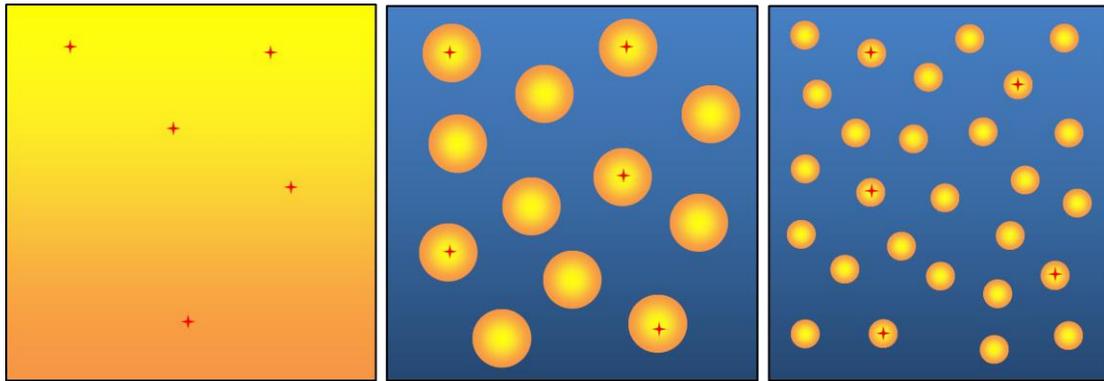


Figure 39 : Effet de la dispersion et de la taille des gouttes sur la probabilité de trouver une impureté catalysant la nucléation dans la matière grasse. Adapté de [28]

Par conséquent, pour provoquer la cristallisation, il est généralement nécessaire d'imposer un degré de surfusion à la matière grasse plus important en phase dispersée qu'en phase continue. Plus la taille des gouttes diminue, plus la surfusion nécessaire à la cristallisation est importante. La Figure 40 montre l'évolution du taux de solide dans la MGLA mesurée par RMN du proton. La température de début de cristallisation dépend de l'état de dispersion. La matière grasse en phase continue commence à cristalliser à 27 °C, alors que sous forme d'émulsion laitière native, elle cristallise à partir de 22 °C. Sous forme de crème homogénéisée, donc quand les gouttes de matière grasse laitière sont encore plus fines, elle ne cristallise qu'à partir de 12 °C. La Figure 41 représente des profils thermiques de cristallisation obtenus par analyse enthalpique différentielle lors d'un refroidissement lent. De la même manière, on observe un décalage significatif (5 °C) dans la température de début de cristallisation entre la MGLA en phase continue et en phase dispersée [36].

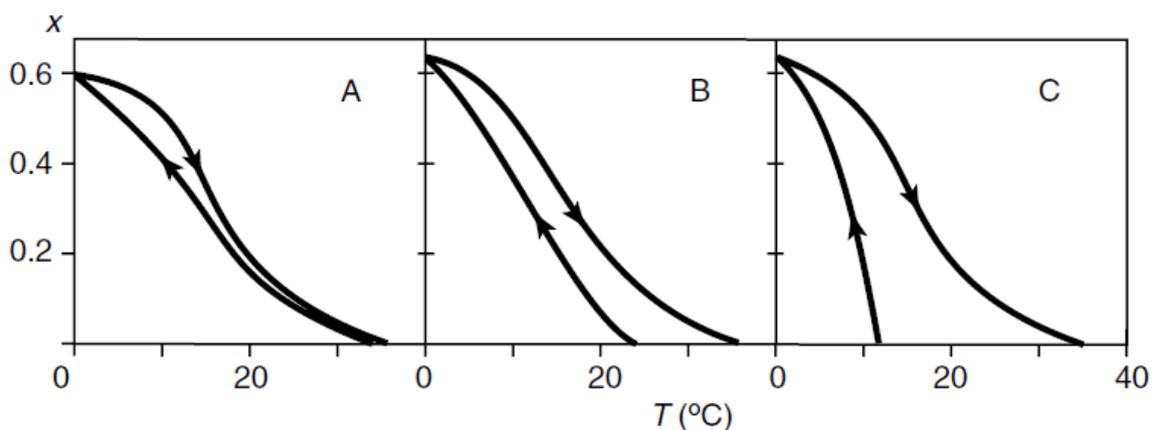


Figure 40 : Fraction de matière grasse solide (x) lors de la cristallisation jusqu'à 0 °C puis lors du chauffage. A. MGLA en phase continue, B. même matière grasse en émulsion, C. même matière grasse en crème homogénéisée. Reproduit de [14]

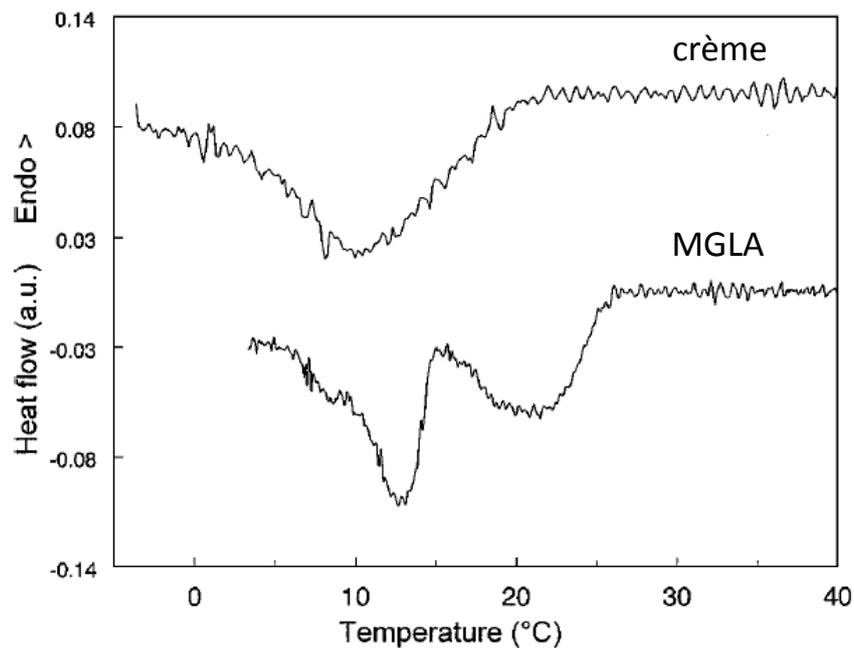


Figure 41 : Profil thermique de cristallisation de la crème et de la MGLA lors d'un refroidissement à 0,15 °C/min [36]

Dans le cas d'émulsions floculées, crémées ou fortement concentrées en matière grasse, les gouttes ne peuvent plus être considérées comme complètement indépendantes. Le choc entre une goutte cristallisée et une goutte non cristallisée surfondue peut conduire à la nucléation de cette dernière [109]. On parle de nucléation hétérogène inter-gouttes ou de nucléation secondaire.

De plus, le tensioactif utilisé pour stabiliser l'interface des gouttelettes peut lui-même être cristallisable et contribuer à la nucléation de la matière grasse dans les gouttes. L'adsorption aux interfaces concentre localement les tensioactifs, ce qui facilite leur cristallisation. Les cristaux agissent alors comme des substrats de nucléation hétérogène pour la matière grasse des gouttes [110,111]. Il a été montré que la cristallisation est accélérée pour les tensioactifs dotés d'une chaîne hydrophobe saturée dont la longueur est équivalente à celle de la matière grasse. S'il est plus soluble dans la phase dispersée que dans la phase continue, le tensioactif peut également permettre la nucléation depuis le cœur de la goutte où il est solubilisé. Dans les deux cas, la nucléation est hétérogène.

Outre la nucléation, le confinement de la matière grasse dans les gouttelettes a également un impact sur la croissance des cristaux et sur leur polymorphisme. Le fait que la MGLA en phase continue présente un premier pic exothermique plus fin que l'émulsion en DSC est lié à la croissance cristalline (Figure 41). Quand le cristal croît, de la matière est apportée au site de croissance par la diffusion moléculaire. Ce processus est nécessairement limité dans

les gouttes [112]. Les limites spatiales imposées par la goutte limitent donc la croissance des cristaux.

Lors du refroidissement par trempe de 60 °C à 4 °C, Lopez *et al.* [33] ont observé la formation des mêmes polymorphes α -2L et α -3L dans la crème laitière et dans la MGLA en phase continue. Puis ces formes évoluent avec la formation de formes β' et β . Cette transition de phase est plus rapide dans le cas de la matière grasse anhydre (30 min) que dans la crème (> 1 h). La dispersion joue donc un rôle dans la transition polymorphique, en retardant la formation des polymorphes plus stables [33]. Lors de la trempe à -8 °C, les mêmes formes cristallines instables sont observées dans la MGLA et dans les crèmes. Mais les triglycérides cristallisent de manière plus désordonnée en émulsion, ce qui conduit expérimentalement à l'élargissement des pics de diffraction. Ce désordre serait attribué à la courbure imposée par l'interface [35,113]. D'autres auteurs ont comparé la cristallisation de la crème laitière native et reconstituée à celle de la MGLA lors du refroidissement rapide (-25 °C/min) jusqu'à 5 °C [114]. Ils observent d'abord la formation du polymorphe α , puis de la forme β' au détriment des cristaux α , aussi bien dans la MGLA que dans les crèmes.

Les différences polymorphiques entre la crème et la MGLA sont plus importantes lors d'un refroidissement lent (-0,15 °C/min) [36]. Dans la MGLA, une première fraction cristallise sous forme β' à 24 °C puis une seconde fraction cristallise sous forme α à 13 °C. Dans la crème, la cristallisation commence à 20 °C, sous la forme α et la forme β' apparaît plus tard. Les empilements longitudinaux sont également modifiés : successivement 2L₁ (41,7 Å), 2L₂ (47,7 Å), 3L (62,4 Å) et 2L (39 Å) pour la MGLA et 2L₁ (46,5 Å), 2L₂ (40 Å), 3L (71,3 Å) et 3L (65 Å) pour la crème.

Pour un refroidissement modéré (-1 °C/min et -3 °C/min), Lopez *et al.* ont montré que l'émulsification favorisait la formation de polymorphes instables, qui subissent des transformations de phase au cours du chauffage. À ces vitesses de refroidissement, la dispersion de la matière grasse conduit à l'apparition de défauts dans l'empilement 3L, non observés dans la MGLA [112].

La taille des globules gras, modifiée par homogénéisation, a également un impact sur la cristallisation en émulsion. Outre l'effet sur la température de nucléation déjà discuté, la diminution de la taille des gouttes (étudiée entre 1,5 μ m et 0,4 μ m) augmente le désordre et diminue la taille des cristaux élémentaires, ce qui expérimentalement se traduit par un

élargissement des pics de diffraction [112]. L'augmentation du désordre quand la taille diminue pourrait s'expliquer de plusieurs manières :

- la courbure de l'interface exerce une contrainte physique sur la matière grasse qui cristallise de manière plus désordonnée dans les petites gouttes,
- en l'absence d'impuretés, les petites gouttes sont soumises à une surfusion plus importante avant que la cristallisation ne débute. Or, plus le degré de surfusion est important, plus la croissance cristalline est rapide et plus les cristaux sont désordonnés dans les gouttelettes.

Cet effet de la courbure de l'interface sur le désordre a été observé en cryo-microscopie électronique à balayage. Des dislocations ont été observées dans le réseau cristallin d'émulsions à base de fractions de MGLA, aussi bien oléiques que stéariques, de taille submicronique, donc avec une forte courbure (Figure 42) [115].

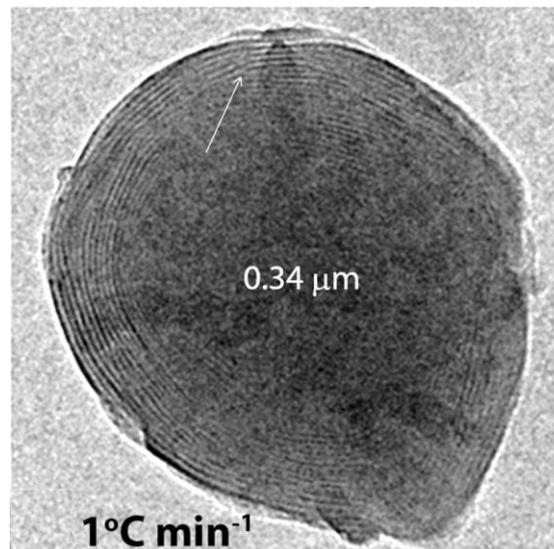


Figure 42 : Observation de cryo-microscopie électronique à balayage d'une gouttelette d'émulsion de fraction haut point de fusion de la MGLA cristallisée à 1 °C/min jusqu'à 4 °C. La flèche montre une des dislocations du réseau [115]

L'effet de la taille des globules gras sur la cristallisation a également été étudié sur des globules gras natifs, sans homogénéisation, mais séparés selon leur taille par microfiltration [116]. Les structures formées sont différentes dans les gros globules (5-7 μm) et les petits globules (1-3 μm). Les gros globules contiennent davantage de cristaux 2L mais moins de cristaux 3L que les petits globules. Ces distances 2L et 3L augmentent avec la taille des globules natifs, ce qui pourrait aussi s'expliquer par des effets de courbure, ou par des différences de composition chimique entre les globules de différentes tailles.

La dispersion de la matière grasse dans l'eau permet aussi d'évacuer plus facilement la chaleur dégagée due à l'exothermie de la cristallisation [14], et donc favoriser ce changement d'état. L'eau conduit mieux la chaleur et permet une diffusion plus efficace loin du site de croissance, alors qu'elle peut être limitante dans le cas de la matière grasse en phase continue.

2.3.2. Conséquences de la cristallisation sur la stabilité des émulsions

La cristallisation peut perturber la structure des interfaces et donc générer des instabilités spécifiques dans les émulsions. Quand la matière grasse d'une émulsion huile dans eau cristallise, les cristaux peuvent percer les films liquides et conduire à la coalescence. Les cristaux anisotropes, notamment en forme d'aiguille, génèrent des « aspérités » ou des « protubérances » à la surface des gouttes. Quand un cristal saillant dans une goutte entre en contact avec une surface liquide dans une goutte voisine, la pression du contact est portée par un point unique, ce qui conduit à la rupture du film par perçage.

Si le taux de solide dans les gouttes est élevé, la fermeté du réseau cristallin (oléogel) empêche la relaxation de forme induite par la tension interfaciale, malgré la rupture du film. Dans ce cas, la coalescence est partielle. Ce phénomène se déroule en trois étapes (Figure 43) [117] :

- le rapprochement des gouttes,
- le perçage du film par un cristal saillant, à condition que les surfaces soient suffisamment proches,
- la rupture du film aqueux et le mouillage du cristal par l'huile liquide contenue dans la goutte voisine.

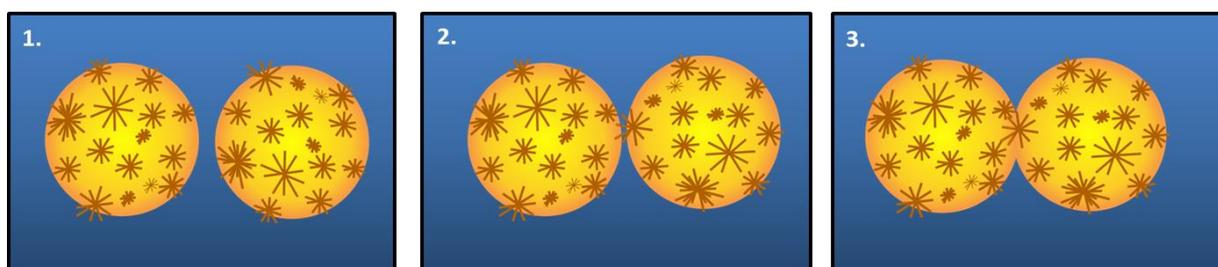


Figure 43 : Étapes de la coalescence partielle

En formant un lien solide entre gouttes, la coalescence partielle peut conduire à la formation d'un gel macroscopique par percolation des gouttes. Cela peut entraîner une inversion de phase, ou la formation d'une émulsion bi-continue [118].

La coalescence partielle est souhaitable dans certaines situations, à condition d'être maîtrisée. Par exemple, la coalescence partielle des globules gras du lait est à l'origine du phénomène de barattage mis en œuvre pour la fabrication du beurre. La formation du réseau de matière grasse permet aussi de stabiliser les alvéoles d'air dans les crèmes fouettées [119] ou les crèmes glacées [120–122].

Les paramètres qui influencent ce phénomène ont fait l'objet d'optimisations. Le taux de solide doit par exemple être compris entre 10 % et 50 %. En deçà, les gouttes contiennent insuffisamment de cristaux pour induire le phénomène de perçage. Au-delà de 50 %, le taux de solide aux interfaces est trop important et le choc entre les gouttes étant élastique, la coalescence est inhibée [118]. Pour que le phénomène se produise, il est en effet nécessaire qu'un cristal solide rencontre une zone liquide d'une autre goutte [118]. L'orientation, la forme et la taille des cristaux sont également des facteurs importants. Les cristaux de grande taille et saillants facilitent le phénomène [123].

La nature des espèces tensioactives est également primordiale. Dans les crèmes laitières, les caséinates et les protéines sériques forment des couches épaisses et viscoélastiques à la surface des gouttes qui empêchent la coalescence partielle [120]. Mais l'ajout de tensioactifs de faible poids moléculaire permet de déplacer les protéines de l'interface. Les interactions répulsives sont alors à plus courte portée et les interfaces deviennent plus fluides. De façon concomitante, ces deux effets favorisent la coalescence partielle [123-126].

La taille et la fraction volumique des gouttes de matière grasse sont des paramètres critiques [118]. La coalescence partielle est peu probable pour les petites gouttes au repos, en raison de la faible taille des cristaux. La concentration en matière grasse de la crème peut favoriser le phénomène en multipliant les points de contact entre les gouttes.

Outre les paramètres de formulation, le procédé peut également favoriser la coalescence partielle par d'autres leviers. Le cisaillement de la crème cristallisée, comme c'est le cas dans la crème fouettée, force les chocs entre gouttes et de ce fait accélère la coalescence partielle [124]. Les cycles de tempérage permettent également de la déclencher, même en

conditions statiques (Figure 44). Dans les émulsions à base de MGLA dont le diamètre moyen des gouttes est supérieur à 10 microns, la fraction cristallisée à 4 °C est trop importante pour que la coalescence partielle puisse se produire [118]. L'émulsion reste stable et fluide dans ces conditions. L'application d'un cycle de tempérage provoque une gélification rapide du matériau par coalescence partielle [118,119,125,127]. La température idéale pour déclencher le phénomène se situe autour de 25 °C. À cette température, le taux de solide est optimal en termes de proportion de zones liquides et solides aux interfaces [128]. Les durées et températures du plateau de tempérage sont des variables d'ajustement de la connectivité finale du gel formé [128].

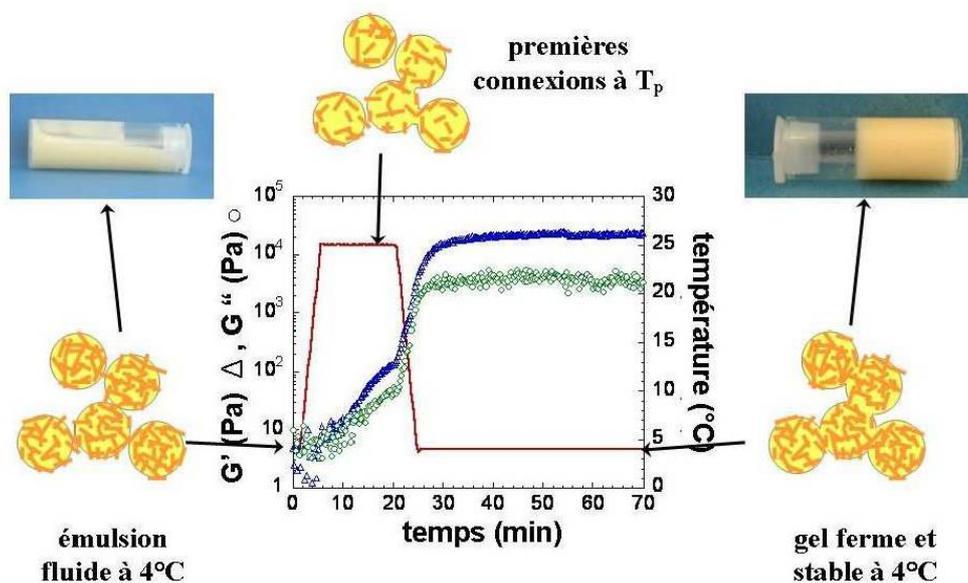


Figure 44 : Évolution de la structure d'une émulsion au cours d'un cycle de tempérage [118]

À contrario, la présence de cristaux peut stabiliser les émulsions, notamment les émulsions inverses. Quand l'huile constitue la phase continue, les cristaux peuvent stabiliser l'émulsion de deux manières [129] :

- S'ils possèdent des propriétés interfaciales, ils peuvent stabiliser les interfaces. Les émulsions stabilisées par des particules solides sont appelées émulsions de Pickering [130]. Les cristaux forment alors une barrière stérique empêchant la rencontre des gouttes d'eau voisines et empêche leur collision.
- Si les cristaux n'ont pas de propriétés interfaciales, ils peuvent quand même stabiliser l'émulsion en constituant un réseau solide dans la phase continue, qui enchâsse les gouttes d'eau.

Ces deux modes d'action permettent d'éviter la coalescence et la sédimentation de l'eau. L'utilisation de certains tensioactifs dont la longueur de chaîne est comparable à celle des triglycérides de la phase continue peut permettre de les faire préférentiellement cristalliser près de l'interface. Les triglycérides contribuent alors à la stabilisation de l'émulsion par l'interface, alors qu'ils n'ont *a priori* pas de propriétés interfaciales [129]. Les cristaux peuvent se former à partir de l'interface, notamment quand un tensioactif cristallisable est utilisé, ou cristalliser dans le volume et migrer vers l'interface [131]. De plus, la stabilité des émulsions est influencée par la taille et la forme des cristaux. À taux de solide équivalent, des cristaux plus nombreux et plus petits stabilisent plus efficacement les émulsions E/H. Les gros cristaux ne s'adsorbent pas efficacement aux interfaces, alors que les petits cristaux permettraient une meilleure couverture [131].

2.3.3. Composés mineurs et cristallisation de la matière grasse laitière en émulsion

De par la présence d'interfaces dans les systèmes dispersés, l'action des composés mineurs peut être tout à fait différente en phase continue et en émulsion. Très peu d'études ont été consacrées à l'impact des composés minoritaires endogènes ou ajoutés sur la cristallisation de la matière grasse laitière en émulsion.

L'effet des phospholipides sur la cristallisation de la matière grasse laitière émulsionnée dépend de leur origine [132,133]. La reconstitution de crèmes laitières avec des phospholipides laitiers stabilise la crème, tandis que l'utilisation de phospholipides extraits du soja conduit à une solidification de la crème par coalescence partielle. La différence fonctionnelle entre les deux types de phospholipides pourrait s'expliquer par leur composition : les phospholipides laitiers ont des longueurs de chaînes similaires à celles de la matière grasse laitière (18:1, 16:0 et 18:0 majoritaires), alors que les phospholipides de soja sont principalement composés d'acides gras polyinsaturés (18:2 59 %) [132].

L'effet de monoacylglycérols de différentes longueurs de chaîne et insaturation sur la cristallisation de la matière grasse laitière a été étudié dans les crèmes laitières reconstituées [134]. Il s'agit encore dans ce cas de molécules amphiphiles présentes aux interfaces. Les MAG riches en acide stéarique accélèrent la cristallisation de la matière grasse laitière dispersée, ils induiraient une nucléation hétérogène interfaciale et accélèreraient la croissance et la transition polymorphique α - β' . À l'inverse, les MAG riches en acide oléique ne modifient pas la cinétique de cristallisation de la matière grasse. Les

MAG riches en acide laurique (chaines saturées moyennes) ne modifient pas la vitesse de cristallisation. Ils ne modifieraient pas la nucléation mais accéléreraient la transition α - β' . L'effet des MAG à longue chaîne saturée ou insaturée (*i.e.* riches en chaînes stéarique ou oléique) sur leur capacité à induire de la coalescence partielle a été étudié dans des crèmes laitières reconstituées [135,136]. Le mécanisme d'action de ces MAG sur la cristallisation de la matière grasse laitière dans le globule gras proposé est présenté sur la Figure 45. L'action de ces composés mineurs dépend de leur aptitude à cristalliser. Quand les MAG sont insaturés, la nucléation de la matière grasse laitière commencerait dans la goutte, comme pour une crème sans MAG. Puis, la croissance cristalline conduirait au perçage des interfaces par les cristaux anisotropes formés, facilitant la coalescence partielle. En présence de MAG saturés, eux-mêmes cristallisables, la nucléation commencerait à l'interface. La nucléation serait alors accélérée et conduirait à la formation de cristaux plus petits et plus nombreux. La probabilité qu'un cristal parvienne à saillir est faible et le tensioactif cristallisé protégerait les films de la coalescence.

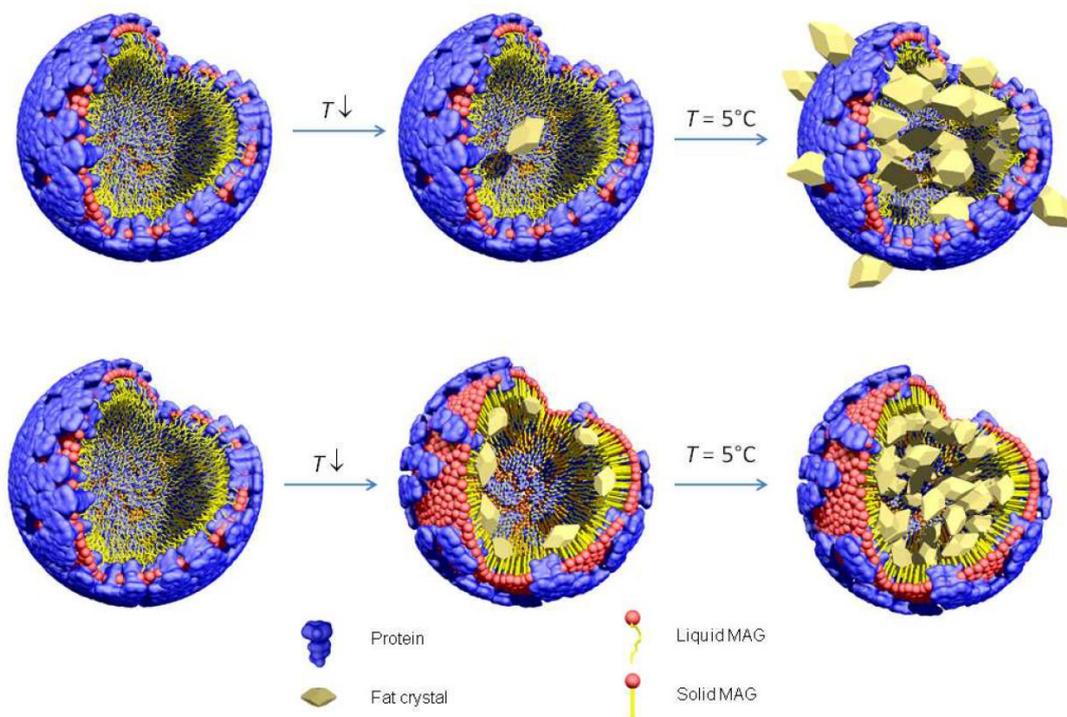


Figure 45 : Représentation schématique de l'évolution de la microstructure du globule gras au cours du refroidissement à 5 °C en présence de monoglycérides (MAG) insaturés (haut) ou saturés (bas). Reproduit de [135]

Plus récemment, l'effet de la cristallisation de tensioactifs commerciaux sur leur capacité à induire de la coalescence partielle dans des crèmes laitières reconstituées a été étudié [137]. La cristallisation des tensioactifs à l'interface préviendrait la coalescence partielle, alors que l'utilisation de tensioactifs non cristallisés favoriserait ce phénomène.

D'autres auteurs ont étudié l'effet de composés minoritaires, souvent des tensioactifs à bas poids moléculaire, sur les émulsions de matière grasse cristallisable à base de palmiste [138], de palme [139,140] ou de ses fractions [110,141,142], de n-hexadécane [111,143]. Ils s'intéressent principalement à la capacité de ces tensioactifs à constituer des nuclei hétérogènes à l'interface, pour ensuite promouvoir la cristallisation de la matière grasse dans la goutte. La compatibilité entre la matière grasse majoritaire et le composé mineur est primordiale dans les mécanismes d'action, et ces études s'éloignent du champ strict de notre travail car elles n'étudient pas la matière grasse laitière.

3. Objectifs et stratégie de l'étude

L'intérêt industriel de ce travail est de mieux comprendre le lien entre les mécanismes de cristallisation de la matière grasse laitière et l'organisation de sa structure à différentes échelles. Il a pour but d'identifier des ingrédients d'origine laitière capables d'orienter la cristallisation de la matière grasse, pour moduler ses fonctionnalités lors de l'élaboration ou la rénovation de produits laitiers tels que les crèmes, les beurres ou les fromages à pâte fraîche.

L'étude bibliographique de la cristallisation de la matière grasse laitière, en phase continue ou en milieu dispersé, a montré qu'il s'agit d'un phénomène complexe. Il met en jeu des mécanismes de nucléation et de croissance qui dépendent de nombreux facteurs liés aux conditions opératoires (température, agitation) et à la formulation (présence de composés mineurs, composition de l'interface, taille de goutte). Il apparaît que l'action des composés mineurs sur la cristallisation de la MGLA, qu'ils soient endogènes ou ajoutés, a été relativement peu étudiée. La littérature sur les composés mineurs de la matière grasse laitière en phase continue est assez peu documentée et celle sur la matière grasse laitière émulsionnée est quasiment inexistante.

Ce travail de thèse vise donc à apporter de nouvelles connaissances fondamentales sur l'influence de composés mineurs en tant que modulateurs potentiels de la cristallisation de la MGLA, qu'elle soit en phase continue ou en milieu dispersé. À travers les différentes études réalisées, nous nous proposons de répondre aux questions suivantes :

- Quels sont les composés mineurs susceptibles de perturber le phénomène de cristallisation de la matière grasse laitière, en phase continue et en milieu émulsionné ?

- De quelle façon les molécules identifiées modulent-elles la cristallisation des matières grasses laitières (inhibition ou accélération) et quels sont les mécanismes mis en jeu en termes de nucléation, de croissance et d'évolution polymorphique ?
- Quelles sont les conséquences de la présence de ces modulateurs sur la morphologie des cristaux et les propriétés thermiques, cristallographiques et rhéologiques de la matière grasse ?
- Existe-t-il des synergies ou des antagonismes lorsque plusieurs modulateurs sont présents simultanément dans un même système ?
- D'un point de vue méthodologique, la cristallisation de la MGLA et l'action des composés mineurs peuvent être abordées à l'aide de plusieurs techniques analytiques. Cette étude sera aussi l'occasion de définir quelles méthodes expérimentales sont les plus pertinentes pour répondre aux différentes questions soulevées par ce travail. Certaines sont incontournables dans les études de cristallisation, mais restent d'un intérêt limité pour l'identification des mécanismes. Pour d'autres, l'usage habituel peut être détourné pour accéder à une information utile dans la compréhension de la cristallisation.

Dans cette étude, l'objectif est de comprendre comment s'articule l'action de ces composés mineurs avec les autres facteurs déjà connus pour influencer la cristallisation de la MGLA comme la cinétique de refroidissement ou les paramètres de formulation d'une émulsion (composition de l'interface, taille des globules gras). La stratégie adoptée dans cette étude consiste à identifier des composés efficaces pour accélérer ou ralentir la cristallisation de la MGLA en phase continue, puis à les tester en milieu dispersé, *i.e.* dans des conditions où l'influence de la taille des gouttes peut prévaloir sur leur mode d'action.

Nous avons choisi de travailler sur une MGLA native, c'est à dire sans purification préalable des composés mineurs présents de manière endogène. Ce choix est dicté, d'une part, par une approche plus réaliste de ce qui peut se produire en conditions opérationnelles et, d'autre part, car les composés mineurs sont ajoutés à des concentrations largement supérieures à celles que l'on peut mesurer dans la MGLA native. Afin d'éviter toute variabilité de la matière première, les études ont été réalisées sur le même lot de MGLA, stockées pendant 3 ans dans des conditions assurant la stabilité chimique de cette matière grasse.

Dans un premier temps, un criblage d'une trentaine de composés mineurs susceptibles d'être formés au cours des processus fromagers (produits de lipolyse, fermentation) est réalisé. L'étude porte sur la cristallisation de la MGLA en phase continue, dans des conditions qui favorisent l'action potentielle de ces composés : cristallisation isotherme avec un faible degré de surfusion (25 °C), sans agitation. Une analyse quantitative et statistique des données de cristallisation a pour but de dégager trois grandes familles de composés : des accélérateurs de cristallisation, des inhibiteurs de cristallisation et des molécules sans effet à la concentration étudiée. Des hypothèses sont proposées quant aux mécanismes d'action des différentes familles en fonction de leur nature chimique. Dans un deuxième temps, pour certains composés d'intérêt mis en évidence par ce criblage, l'impact structurel sur la matière grasse est évalué à différentes échelles : nanostructure, microstructure, macrostructure. Cette approche multi-échelle permet de conforter les hypothèses proposées pour le mode d'action de chaque modulateur en fonction de sa nature chimique. La variation de concentration des composés mineurs, ainsi que leur mélange permet d'en étoffer l'argumentaire. Puis, la cristallisation est étudiée en conditions dynamiques, en augmentant le degré de surfusion imposé au système (5 °C), donc en se plaçant dans une situation moins favorable à l'action des composés mineurs. Dans la dernière partie de ce travail, les composés mineurs sont testés en milieu dispersé, c'est-à-dire sur des crèmes lactières reconstituées, de diamètre moyen variable. Leurs effets sur la cristallisation et sur les propriétés macroscopiques des émulsions, comme la tendance au crémage ou à la coalescence partielle lors de cycle de tempérage, sont évalués. Les conséquences texturales sont abordées via des études de rhéologie oscillatoire.

Bibliographie du Chapitre 1

- [1] P. Walstra, Dairy technology: principles of milk properties and processes, Marcel Dekker, New York, 1999.
- [2] P. Walstra, R. Jenness, Dairy chemistry and physics, John Wiley and Sons, New York, 1984.
- [3] L.K. Creamer, A.K.H. MacGibbon, Some recent advances in the basic chemistry of milk proteins and lipids, *Int. Dairy J.* 6 (1996) 539–568.
- [4] F. Lavigne, Polymorphisme et transitions de phases des triglycérides. Applications aux propriétés thermiques et structurales de la matière grasse laitière anhydre et de ses fractions, Thèse de doctorat, École nationale supérieure des industries agricoles et alimentaires, 1995.
- [5] P.F. Fox, P.L.H. McSweeney, *Advanced Dairy Chemistry Volume 2: Lipids*, Springer Science & Business Media, 2007.
- [6] A. Brevik, M.B. Veierød, C.A. Drevon, L.F. Andersen, Evaluation of the odd fatty acids 15:0 and 17:0 in serum and adipose tissue as markers of intake of milk and dairy fat, *Eur. J. Clin. Nutr.* 59 (2005) 1417–1422.
- [7] S. Couvreur, C. Hurtaud, J.L. Peyraud, Variabilité de la taille et de la composition en acides gras des globules gras du lait chez la vache laitière, *Renc Rech Rumin.* 13 (2006) 301–304.
- [8] S. Couvreur, C. Hurtaud, C. Lopez, L. Delaby, J.L. Peyraud, The Linear Relationship Between the Proportion of Fresh Grass in the Cow Diet, Milk Fatty Acid Composition, and Butter Properties, *J. Dairy Sci.* 89 (2006) 1956–1969.
- [9] R.L. Wolff, C.C. Bayard, R.J. Fabien, Evaluation of sequential methods for the determination of butterfat fatty acid composition with emphasis on trans-18: 1 acids. Application to the study of seasonal variations in french butters, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72 (1995) 1471–1483.
- [10] D. Precht, E. Frede, Determination of the Solid Fat Content in Milk Fat by Gas Chromatographic Triglyceride Analysis, *Lipid Fett.* 96 (1994) 324–330.
- [11] J. Gresti, M. Bugaut, C. Maniongui, J. Bezar, Composition of Molecular Species of Triacylglycerols in Bovine Milk Fat, *J. Dairy Sci.* 76 (1993) 1850–1869.
- [12] P.W. Parodi, Stereospecific distribution of fatty acids in bovine milk fat triglycerides, *J. Dairy Res.* 46 (1979) 75–81.
- [13] G. Knothe, R.O. Dunn, A Comprehensive Evaluation of the Melting Points of Fatty Acids and Esters Determined by Differential Scanning Calorimetry, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 86 (2009) 843–856.
- [14] P. Walstra, J.T.M. Wouters, T.J. Geurts, *Dairy science and technology*, 2nd ed, CRC/Taylor & Francis, Boca Raton, 2006.
- [15] A.G. Marangoni, R.W. Lencki, Ternary Phase Behavior of Milk Fat Fractions, *J. Agric. Food Chem.* 46 (1998) 3879–3884.
- [16] E. ten Grotenhuis, G.A. van Aken, K.F. van Malssen, H. Schenk, Polymorphism of milk fat studied by differential scanning calorimetry and real-time X-ray powder diffraction, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76 (1999) 1031–1039.
- [17] N.C. Acevedo, A.G. Marangoni, Characterization of the Nanoscale in Triacylglycerol Crystal Networks, *Cryst. Growth Des.* 10 (2010) 3327–3333.

- [18] K. Sato, Solidification and phase transformation behaviour of food fats — a review, *Lipid - Fett*. 101 (1999) 467–474.
- [19] A.G. Marangoni, *Structure and properties of fat crystal networks*, Second edition, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 2013.
- [20] S. Martini, M.L. Herrera, R.W. Hartel, Effect of cooling rate on crystallization behavior of milk fat fraction/sunflower oil blends, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 79 (2002) 1055–1062.
- [21] A.G. Marangoni, *Fat crystal networks*, Marcel Dekker, New York, 2005.
- [22] P.R.R. Ramel, F. Peyronel, A.G. Marangoni, Characterization of the nanoscale structure of milk fat, *Food Chem.* 203 (2016) 224–230.
- [23] D. Tang, A.G. Marangoni, Structure and function of fat crystals and their role in microstructure formation in complex foods, in: *Underst. Control. Microstruct. Complex Foods*, Elsevier, 2007: pp. 67–88.
- [24] G.G. Rye, J.W. Litwinenko, A.G. Marangoni, *Fat Crystal Networks*, in: F. Shahidi (Ed.), *Baileys Ind. Oil Fat Prod.*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, 2005.
- [25] D. Tang, A.G. Marangoni, Quantitative study on the microstructure of colloidal fat crystal networks and fractal dimensions, *Adv. Colloid Interface Sci.* 128–130 (2006) 257–265.
- [26] J.M. deMan, *Physical Properties of Milk Fat*, *J. Dairy Sci.* 47 (1964) 1194–1200.
- [27] S. Metin, R.W. Hartel, *Crystallization of Fats and Oils*, in: *Baileys Ind. Oil Fat Prod.*, John Wiley & Sons, Inc., 2005.
- [28] D.J. McClements, Crystals and crystallization in oil-in-water emulsions: Implications for emulsion-based delivery systems, *Adv. Colloid Interface Sci.* 174 (2012) 1–30.
- [29] D. Johansson, B. Bergenståhl, Sintering of fat crystal networks in oil during post-crystallization processes, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72 (1995) 911–920.
- [30] M.L. Herrera, M. de León Gatti, R.W. Hartel, A kinetic analysis of crystallization of a milk fat model system, *Food Res. Int.* 32 (1999) 289–298.
- [31] B. Vanhoutte, *Milk fat crystallisation: fractionation and texturisation*, dissertation, Ghent University, 2003.
- [32] R. Campos, S.S. Narine, A.G. Marangoni, Effect of cooling rate on the structure and mechanical properties of milk fat and lard, *Food Res. Int.* 35 (2002) 971–981.
- [33] C. Lopez, C. Bourgaux, P. Lesieur, M. Ollivon, Crystalline structures formed in cream and anhydrous milk fat at 4°C, *Le Lait*. 82 (2002) 317–335.
- [34] C. Lopez, F. Lavigne, P. Lesieur, C. Bourgaux, M. Ollivon, Thermal and Structural Behavior of Milk Fat. 1. Unstable Species of Anhydrous Milk Fat, *J. Dairy Sci.* 84 (2001) 756–766.
- [35] C. Lopez, P. Lesieur, G. Keller, M. Ollivon, Thermal and Structural Behavior of Milk Fat. 1: Unstable species of cream, *J. Colloid Interface Sci.* 229 (2000) 62–71.
- [36] C. Lopez, P. Lesieur, C. Bourgaux, G. Keller, M. Ollivon, Thermal and Structural Behavior of Milk Fat: 2. Crystalline Forms Obtained by Slow Cooling of Cream, *J. Colloid Interface Sci.* 240 (2001) 150–161.
- [37] M.L. Herrera, R.W. Hartel, Effect of processing conditions on crystallization kinetics of a milk fat model system, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77 (2000) 1177–1188.

- [38] G. Mazzanti, S.E. Guthrie, E.B. Sirota, A.G. Marangoni, S.H.J. Idziak, Orientation and Phase Transitions of Fat Crystals under Shear, *Cryst. Growth Des.* 3 (2003) 721–725.
- [39] S. Martini, M.L. Herrera, R.W. Hartel, Effect of processing conditions on microstructure of milk fat fraction/sunflower oil blends, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 79 (2002) 1063–1068.
- [40] S. Martini, A.H. Suzuki, R.W. Hartel, Effect of High Intensity Ultrasound on Crystallization Behavior of Anhydrous Milk Fat, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 85 (2008) 621–628.
- [41] A. Wagh, M. Walsh, S. Martini, Effect of Lactose Monolaurate and High Intensity Ultrasound on Crystallization Behavior of Anhydrous Milk Fat, *J. Am. Oil Chem. Soc. JAOCS.* 90 (2013) 977–987.
- [42] A.J. Wright, R.W. Hartel, S.S. Narine, A.G. Marangoni, The effect of minor components on milk fat crystallization, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77 (2000) 463–475.
- [43] J.W. Litwinenko, A.P. Singh, A.G. Marangoni, Effects of Glycerol and Tween 60 on the Crystallization Behavior, Mechanical Properties, and Microstructure of a Plastic Fat, *Cryst. Growth Des.* 4 (2004) 161–168.
- [44] M. Cerdeira, S. Martini, R.W. Hartel, M.L. Herrera, Effect of Sucrose Ester Addition on Nucleation and Growth Behavior of Milk Fat–Sunflower Oil Blends, *J. Agric. Food Chem.* 51 (2003) 6550–6557.
- [45] I. Foubert, K. Dewettinck, P.A. Vanrolleghem, Modelling of the crystallization kinetics of fats, *Trends Food Sci. Technol.* 14 (2003) 79–92.
- [46] Y.P. Khanna, T.J. Taylor, Comments and recommendations on the use of the Avrami equation for physico-chemical kinetics, *Polym. Eng. Sci.* 28 (1988) 1042–1045.
- [47] A.G. Marangoni, On the use and misuse of the avrami equation in characterization of the kinetics of fat crystallization, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75 (1998) 1465–1467.
- [48] B. Gompertz, On the Nature of the Function Expressive of the Law of Human Mortality, and on a New Mode of Determining the Value of Life Contingencies, *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* 115 (1825) 513–583.
- [49] M.H. Zwietering, I. Jongenburger, F.M. Rombouts, K. van 't Riet, Modeling of the Bacterial Growth Curve, *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (1990) 1875–1881.
- [50] W. Kloek, P. Walstra, T. van Vliet, Crystallization kinetics of fully hydrogenated palm oil in sunflower oil mixtures, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77 (2000) 389–398.
- [51] I. Foubert, K. Dewettinck, G. Janssen, P.A. Vanrolleghem, Modelling two-step isothermal fat crystallization, *J. Food Eng.* 75 (2006) 551–559.
- [52] I. Foubert, P.A. Vanrolleghem, B. Vanhoutte, K. Dewettinck, Dynamic mathematical model of the crystallization kinetics of fats, *Food Res. Int.* 35 (2002) 945–956.
- [53] K.W. Smith, K. Bhagga, G. Talbot, K. Malssen, Crystallization of Fats: Influence of Minor Components and Additives, *J. Am. Oil Chem. Soc. JAOCS.* 88 (2011) 1085–1101.
- [54] A.R. Patel, K. Dewettinck, Current update on the influence of minor lipid components, shear and presence of interfaces on fat crystallization, *Curr. Opin. Food Sci.* 3 (2015) 65–70.
- [55] A.P.B. Ribeiro, M.H. Masuchi, E.K. Miyasaki, M.A.F. Domingues, V.L.Z. Stroppa, G.M. de Oliveira, T.G. Kieckbusch, Crystallization modifiers in lipid systems, *J. Food Sci. Technol.* (2014) 1–22.

- [56] L. Bayés-García, A.R. Patel, K. Dewettinck, D. Rousseau, K. Sato, S. Ueno, Lipid crystallization kinetics — roles of external factors influencing functionality of end products, *Curr. Opin. Food Sci.* 4 (2015) 32–38.
- [57] S. Rønholt, K. Mortensen, J.C. Knudsen, The Effective Factors on the Structure of Butter and Other Milk Fat-Based Products, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 12 (2013) 468–482.
- [58] K. Sato, L. Bayés-García, T. Calvet, M.À. Cuevas-Diarte, S. Ueno, External factors affecting polymorphic crystallization of lipids, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 115 (2013) 1224–1238.
- [59] G. Talbot, K. Smith, K. Bhaggan, Influence of minor components on fat crystallization, *Lipid Technol.* 24 (2012) 83–85.
- [60] P.R. Smith, D.J. Cebula, M.J.W. Povey, The effect of lauric-based molecules on trilaurin crystallization, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71 (1994) 1367–1372.
- [61] G. Mazzanti, S.E. Guthrie, E.B. Sirota, A.G. Marangoni, S.H.J. Idziak, Effect of Minor Components and Temperature Profiles on Polymorphism in Milk Fat, *Cryst. Growth Des.* 4 (2004) 1303–1309.
- [62] A.J. Wright, A.G. Marangoni, Effect of DAG on milk fat TAG crystallization, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 79 (2002) 395–402.
- [63] A.J. Wright, A. g. Marangoni, The Effect of Minor Components on Milk Fat Microstructure and Mechanical Properties, *J. Food Sci.* 68 (2003) 182–186.
- [64] I. Foubert, B. Vanhoutte, K. Dewettinck, Temperature and concentration dependent effect of partial glycerides on milk fat crystallization, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 106 (2004) 531–539.
- [65] M. Ollivon, P. Relkin, C. Michon, D. Kalnin, F. Mariette, Cristallisation de la matière grasse de lait anhydre: influence du polymorphisme et des émulsifiants: Emulsions alimentaires foisonnées, *Sci. Aliments.* 25 (2005) 397–411.
- [66] B. Vanhoutte, K. Dewettinck, I. Foubert, B. Vanlerberghe, A. Huyghebaert, The effect of phospholipids and water on the isothermal crystallisation of milk fat, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104 (2002) 490–495.
- [67] B. Vanhoutte, I. Foubert, F. Duplacie, A. Huyghebaert, K. Dewettinck, Effect of phospholipids on isothermal crystallisation and fractionation of milk fat, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104 (2002) 738–744.
- [68] Y. Fedotova, R.W. Lencki, The Effect of Phospholipids on Milkfat Crystallization Behavior, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 85 (2008) 205–212.
- [69] S. Martini, A.A. Carelli, J. Lee, Effect of the Addition of Waxes on the Crystallization Behavior of Anhydrous Milk Fat, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 85 (2008) 1097–1104.
- [70] R.M. Kerr, X. Tombokan, S. Ghosh, S. Martini, Crystallization Behavior of Anhydrous Milk Fat–Sunflower Oil Wax Blends, *J. Agric. Food Chem.* 59 (2011) 2689–2695.
- [71] S. Martini, M. c. Puppo, R. w. Hartel, M. I. Herrera, Effect of Sucrose Esters and Sunflower Oil Addition on Crystalline Microstructure of a High-melting Milk Fat Fraction, *J. Food Sci.* 67 (2002) 3412–3418.
- [72] M. c. Puppo, S. Martini, R. w. Hartel, M.. Herrera, Effects of Sucrose Esters on Isothermal Crystallization and Rheological Behavior of Blends of Milk-fat Fraction Sunflower Oil, *J. Food Sci.* 67 (2002) 3419–3426.

- [73] S. Martini, M. Cerdeira, M.L. Herrera, Effect of sucrose esters on the crystallization behavior of bulk oil systems, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 81 (2004) 209–211.
- [74] C. Huck-Iriart, R.J. Candal, M.L. Herrera, Effects of Addition of a Palmitic Sucrose Ester on Low-Trans-Fat Blends Crystallization in Bulk and in Oil-in-Water Emulsions, *Food Biophys.* 4 (2009) 158–166.
- [75] N. Kaufmann, U. Andersen, L. Wiking, The effect of cooling rate and rapeseed oil addition on the melting behaviour, texture and microstructure of anhydrous milk fat, *Int. Dairy J.* 25 (2012) 73–79.
- [76] A.J. Wright, H.D. Batte, A.G. Marangoni, Effects of canola oil dilution on anhydrous milk fat crystallization and fractionation behavior, *J. Dairy Sci.* 88 (2005) 1955–1965.
- [77] C. Simoneau, J.B. German, Contribution of triglycerides from cocoa butter to the physical properties of milkfat fractions, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73 (1996) 955–961.
- [78] S. Danthine, Physicochemical and structural properties of compound dairy fat blends, *Food Res. Int.* 48 (2012) 187–195.
- [79] C. Loisel, G. Lecq, G. Keller, M. Ollivon, Dynamic Crystallization of Dark Chocolate as Affected by Temperature and Lipid Additives, *J. Food Sci.* 63 (1998) 73–79.
- [80] B. Jacobsberg, O.C. Ho, Studies in palm oil crystallization, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 53 (1976) 609–617.
- [81] M.H. Gordon, I.A. Rahman, Effects of minor components on the crystallization of coconut oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68 (1991) 577–579.
- [82] K. Chaleepa, A. Szepes, J. Ulrich, Effect of additives on isothermal crystallization kinetics and physical characteristics of coconut oil, *Chem. Phys. Lipids.* 163 (2010) 390–396.
- [83] W.D. Bancroft, The Theory of Emulsification, V, *J. Phys. Chem.* 17 (1912) 501–519.
- [84] J.T. Davies, A quantitative kinetic theory of emulsion type, I. Physical chemistry of the emulsifying agent, *Proc 2nd Intern Congr Surf. Act. Butterworths Sci. Publ. Lond.* 426 (1957).
- [85] J.A. Hunt, D.G. Dalgleish, Adsorption behaviour of whey protein isolate and caseinate in soya oil-in-water emulsions, *Food Hydrocoll.* 8 (1994) 175–187.
- [86] C. Granger-Guilmin, Influence of the formulation on the formation and the stabilization of oil - water interfaces in ice cream and related products, *Bordeaux 1*, 2005.
- [87] E. Dickinson, Caseins in emulsions: interfacial properties and interactions, *Int. Dairy J.* 9 (1999) 305–312.
- [88] P. Wilde, A. Mackie, F. Husband, P. Gunning, V. Morris, Proteins and emulsifiers at liquid interfaces, *Adv. Colloid Interface Sci.* 108–109 (2004) 63–71.
- [89] L.A. Pugnali, E. Dickinson, R. Ettelaie, A.R. Mackie, P.J. Wilde, Competitive adsorption of proteins and low-molecular-weight surfactants: computer simulation and microscopic imaging, *Adv. Colloid Interface Sci.* 107 (2004) 27–49.
- [90] I. Heertje, H. van Aalst, J.C.G. Blonk, A. Don, J. Nederlof, E.H. Lucassen-Reynders, Observations on Emulsifiers at the Interface between Oil and Water by Confocal Scanning Light Microscopy, *LWT - Food Sci. Technol.* 29 (1996) 217–226.
- [91] J. Chen, E. Dickinson, Protein/surfactant interfacial interactions Part 3. Competitive adsorption of protein + surfactant in emulsions, *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 101 (1995) 77–85.

- [92] J.M. Rodríguez Patino, J.M. Navarro García, M.R. Rodríguez Niño, Protein–lipid interactions at the oil–water interface, *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 21 (2001) 207–216.
- [93] E.W. Robson, D.G. Dalgleish, Interfacial Composition of Sodium Caseinate Emulsions, *J. Food Sci.* 52 (1987) 1694–1698.
- [94] J.-L. Courthaudon, E. Dickinson, Y. Matsumura, D.C. Clark, Competitive adsorption of β -lactoglobulin + tween 20 at the oil-water interface, *Colloids Surf.* 56 (1991) 293–300.
- [95] C. Lopez, V. Briard-Bion, O. Menard, F. Rousseau, P. Pradel, J.-M. Besle, Phospholipid, Sphingolipid, and Fatty Acid Compositions of the Milk Fat Globule Membrane are Modified by Diet, *J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 5226–5236.
- [96] M.E. Cano-Ruiz, R.L. Richter, Effect of homogenization pressure on the milk fat globule membrane proteins, *J. Dairy Sci.* 80 (1997) 2732–2739.
- [97] M.-C. Michalski, F. Michel, D. Sainmont, V. Briard, Apparent ζ -potential as a tool to assess mechanical damages to the milk fat globule membrane, *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 23 (2002) 23–30.
- [98] S.R. Euston, S.R. Finnigan, R.L. Hirst, Aggregation kinetics of heated whey protein-stabilised emulsions: effect of low-molecular weight emulsifiers, *Food Hydrocoll.* 15 (2001) 253–262.
- [99] M.L.M. Shahi, Effets combinés des paramètres de formulation et de procédé pour la conduite de l'opération de foisonnement en continu d'une émulsion alimentaire, 2006.
- [100] H.C. Hamaker, The London—van der Waals attraction between spherical particles, *Physica*. 4 (1937) 1058–1072.
- [101] M. Nollet, Étude de l'encapsulation de *Cydia Pomonella Granulovirus* (CpGV) dans des émulsions doubles, Bordeaux 1, 2012.
- [102] B.V. Derjaguin, L. Landau, Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes, *Acta Physicochim URSS*. 14 (1941) 633–662.
- [103] E.J.W. Verwey, J.T.G. Overbeek, Theory of the stability of lyophobic colloids, *J. Colloid Sci.* 10 (1955) 224–225.
- [104] F. Leal-Calderon, V. Schmitt, J. Bibette, *Emulsion science*, 2nd ed, Springer, New York, 2007.
- [105] K. Pays, *Les émulsions doubles : coalescence et mûrissement de composition*, Bordeaux 1, 2000.
- [106] A.J. de Vries, Foam stability: Part IV. Kinetics and activation energy of film rupture, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*. 77 (1958) 383–399.
- [107] B. Cabane, S. Hénon, *Liquides: Solutions, dispersions, émulsions, gels*, 2007.
- [108] A. Bonfillon Colin, *Contribution a l'étude des mousses et des émulsions : dynamique interfaciale*, Paris 6, 1994.
- [109] D.J. McClements, S.-W. Han, S.R. Dungan, Interdroplet heterogeneous nucleation of supercooled liquid droplets by solid droplets in oil-in-water emulsions, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71 (1994) 1385–1389.
- [110] T. Awad, K. Sato, Effects of hydrophobic emulsifier additives on crystallization behavior of palm mid fraction in oil-in-water emulsion, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 78 (2001) 837–842.

- [111] T. Awad, Y. Hamada, K. Sato, Effects of addition of diacylglycerols on fat crystallization in oil-in-water emulsion, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 103 (2001) 735–741.
- [112] C. Lopez, C. Bourgaux, P. Lesieur, S. Bernadou, G. Keller, M. Ollivon, Thermal and Structural Behavior of Milk Fat: 3. Influence of Cooling Rate and Droplet Size on Cream Crystallization, *J. Colloid Interface Sci.* 254 (2002) 64–78.
- [113] C. Lopez, P. Lesieur, G. Keller, M. Ollivon, Crystallization in Emulsion: Application to Thermal and Structural Behaviour of Milk Fat, in: *Cryst. Solidif. Prop. Lipids*, N. Widlak, R. Hartel, S. Narine, AOCS Press, Champaign, Illinois, 2001: pp. 190–1999.
- [114] E. Fredrick, D. Van de Walle, P. Walstra, J.H. Zijtveld, S. Fischer, P. Van der Meeren, K. Dewettinck, Isothermal crystallization behaviour of milk fat in bulk and emulsified state, *Int. Dairy J.* 21 (2011) 685–695.
- [115] T. Truong, G.P. Morgan, N. Bansal, M. Palmer, B. Bhandari, Crystal structures and morphologies of fractionated milk fat in nanoemulsions, *Food Chem.* 171 (2015) 157–167.
- [116] M.-C. Michalski, M. Ollivon, V. Briard, N. Leconte, C. Lopez, Native fat globules of different sizes selected from raw milk: thermal and structural behavior, *Chem. Phys. Lipids.* 132 (2004) 247–261.
- [117] K. Boode, P. Walstra, Partial coalescence in oil-in-water emulsions 1. Nature of the aggregation, *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 81 (1993) 121–137.
- [118] F. Thivilliers, Gels d'émulsions à base d'huiles cristallisables: mécanismes de formation et propriétés rhéologiques, *Chimie de la Matière Condensée : Bordeaux 1 : 2007*, 2007.
- [119] N. Drelon, Elaboration et consolidation thermique de gels à base de substances émulsionnées cristallisables, *Bordeaux 1*, 2006.
- [120] H.D. Goff, Colloidal aspects of ice cream—A review, *Int. Dairy J.* 7 (1997) 363–373.
- [121] S.A. Vanapalli, J.N. Coupland, Emulsions under shear—the formation and properties of partially coalesced lipid structures, *Food Hydrocoll.* 15 (2001) 507–512.
- [122] R.F. Petrut, S. Danthine, C. Blecker, Assessment of partial coalescence in whippable oil-in-water food emulsions, *Adv. Colloid Interface Sci.* 229 (2016) 25–33.
- [123] E. Fredrick, P. Walstra, K. Dewettinck, Factors governing partial coalescence in oil-in-water emulsions, *Adv. Colloid Interface Sci.* 153 (2010) 30–42.
- [124] F. Thivilliers-Arvis, E. Laurichesse, V. Schmitt, F. Leal-Calderon, Shear-Induced Instabilities in Oil-in-Water Emulsions Comprising Partially Crystallized Droplets, *Langmuir.* 26 (2010) 16782–16790.
- [125] F. Thivilliers, E. Laurichesse, H. Saadaoui, F. Leal-Calderon, V. Schmitt, Thermally Induced Gelling of Oil-in-Water Emulsions Comprising Partially Crystallized Droplets: The Impact of Interfacial Crystals, *Langmuir.* 24 (2008) 13364–13375.
- [126] E. Davies, E. Dickinson, R. Bee, Shear stability of sodium caseinate emulsions containing monoglyceride and triglyceride crystals, *Food Hydrocoll.* 14 (2000) 145–153.
- [127] K. Boode, C. Bisperink, P. Walstra, Destabilization of O/W emulsions containing fat crystals by temperature cycling, *Colloids Surf.* 61 (1991) 55–74.
- [128] N. Drelon, E. Gravier, L. Daheron, L. Boisserie, A. Omari, F. Leal-Calderon, Influence of tempering on the mechanical properties of whipped dairy creams, *Int. Dairy J.* 16 (2006) 1454–1463.

- [129] S. Ghosh, D. Rousseau, Fat crystals and water-in-oil emulsion stability, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 16 (2011) 421–431.
- [130] F. Leal-Calderon, V. Schmitt, Solid-stabilized emulsions, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 13 (2008) 217–227.
- [131] D. Rousseau, Fat crystals and emulsion stability — a review, *Food Res. Int.* 33 (2000) 3–14.
- [132] S. Miura, T. Mutoh, Y. Shiinoki, T. Yoshioka, Emulsifying properties of phospholipids in the reconstitution of cream using butter oil, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 108 (2006) 898–903.
- [133] S. Miura, M. Tanaka, A. Suzuki, K. Sato, Application of phospholipids extracted from bovine milk to the reconstitution of cream using butter oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 81 (2004) 97–100.
- [134] E. Fredrick, K. Moens, B. Heyman, S. Fischer, P. Van der Meeren, K. Dewettinck, Monoacylglycerols in dairy recombined cream: I. The effect on milk fat crystallization, *Food Res. Int.* 51 (2013) 892–898.
- [135] E. Fredrick, Fat crystallization and partial coalescence in dairy creams: Role of monoacylglycerols, Ghent University, 2011.
- [136] E. Fredrick, B. Heyman, K. Moens, S. Fischer, T. Verwijlen, P. Moldenaers, P. Van der Meeren, K. Dewettinck, Monoacylglycerols in dairy recombined cream: II. The effect on partial coalescence and whipping properties, *Food Res. Int.* 51 (2013) 936–945.
- [137] L. Goibier, S. Lecomte, F. Leal-Calderon, C. Faure, The effect of surfactant crystallization on partial coalescence in O/W emulsions, *J. Colloid Interface Sci.* 500 (2017) 304–314.
- [138] T. Awad, K. Sato, Acceleration of crystallisation of palm kernel oil in oil-in-water emulsion by hydrophobic emulsifier additives, *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 25 (2002) 45–53.
- [139] Y. Hodate, S. Ueno, J. Yano, T. Katsuragi, Y. Tezuka, T. Tagawa, N. Yoshimoto, K. Sato, Ultrasonic velocity measurement of crystallization rates of palm oil in oil-water emulsions, *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 128 (1997) 217–224.
- [140] D. Kalnin, O. Schafer, H. Amenitsch, M. Ollivon, Fat Crystallization in Emulsion: Influence of Emulsifier Concentration on Triacylglycerol Crystal Growth and Polymorphism, *Cryst. Growth Des.* 4 (2004) 1283–1293.
- [141] S. Arima, S. Ueno, A. Ogawa, K. Sato, Scanning Microbeam Small-Angle X-ray Diffraction Study of Interfacial Heterogeneous Crystallization of Fat Crystals in Oil-in-Water Emulsion Droplets, *Langmuir.* 25 (2009) 9777–9784.
- [142] S. Arima, T. Ueji, S. Ueno, A. Ogawa, K. Sato, Retardation of crystallization-induced destabilization of PMF-in-water emulsion with emulsifier additives., *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 55 (2007) 98–106.
- [143] N. Kaneko, T. Horie, S. Ueno, J. Yano, T. Katsuragi, K. Sato, Impurity effects on crystallization rates of n-hexadecane in oil-in-water emulsions, *J. Cryst. Growth.* 197 (1999) 263–270.

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

1. Systèmes d'étude

1.1. Préparation des mélanges à base de matière grasse laitière anhydre

La MGLA utilisée tout au long de cette étude provient d'un même lot (MGLA ex-crème, Corman, Belgique). Elle est aliquotée à réception en pots de 1 L et conservée à -20 °C. Sa composition chimique en triglycérides (Tableau 8) et en acides gras totaux (Tableau 9) a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse par l'Institut Technique des Corps Gras (Pessac, France).

Tableau 8 : Composition en triglycérides (% massique) de la MGLA étudiée

TAG	Composition (%)
C 24	0,02
C 26	0,29
C 28	0,68
C 30	1,35
C 32	2,86
C 34	6,52
C 36	11,38
C 38	12,27
C 40	9,57
C 42	7,37
C 44	7,06
C 46	7,74
C 48	9,31
C 50	10,76
C 52	8,43
C 54	3,58
C 56	0,34
C 58	0,06
TAG non identifiés	0,43

Tableau 9 : Composition en acides gras totaux (% massique) de la MGLA étudiée

Acides gras	Composition (%)
4:0	3,7
6:0	2,3
8:0	1,5
10:0	3,4
12:0	4,0
14:0	12,3
14:1	1,0
15:0	2,0
16:0	32,4
16:1	2,1
17:0	1,4
17:1	0,2
18:0	9,2
18:1 trans	2,0
18:1	19,7
18:2 trans	0,5
18:2 (n-6)	1,7
18:3 trans	<0,1
18:3 (n-3)	0,4
18:2 conj	<0,1

Acides gras	Composition (%)
20:0	0,1
20:1	0,1
22:0	<0,1
24:0	<0,1
AG non identifiés	1,6

Les modulateurs de cristallisation étudiés sont des molécules commerciales dont les principales caractéristiques techniques sont précisées dans le Tableau 10. Parmi ces modulateurs, on retrouve des produits issus de la lipolyse des triglycérides (DAG, MAG, AGL, glycérol) puis de la dégradation des AGL (alcool, cétones, aldéhydes, esters), des produits de fermentation (acide propionique, acide acétique, acide butyrique) et des triglycérides exogènes. Les formules chimiques de ces molécules sont représentées en Annexe 1.

Tableau 10 : Modulateurs de cristallisation étudiés

Abréviation	Modulateur	Fournisseur	Pureté (%)	Nature chimique	Longueur de chaîne	Masse molaire (g/mol)
2:0	acide acétique	Sigma	99,5	AGL	2	60
3:0	acide propionique	Sigma	99,5	AGL	3	74
4:0	acide butyrique	Sigma	99	AGL	4	88
5:0	acide valérique	Sigma	99	AGL	5	102
6:0	acide caproïque	Sigma	98	AGL	6	116
2-et-6:0	acide 2-ethyl hexanoïque	Sigma	99	AGL	6	144
7:0	acide heptanoïque	Sigma	98	AGL	7	130
8:0	acide caprilique	Sigma	98	AGL	8	144
9:0	acide nonanoïque	Sigma	96	AGL	9	158
10:0	acide caprique	Sigma	98	AGL	10	172
12:0	acide laurique	Sigma	98	AGL	12	200
14:0	acide myristique	Sigma	95	AGL	14	228
16:0	acide palmitique	Sigma	98	AGL	16	256
18:0	acide stéarique	Sigma	95	AGL	18	284,5
18:1	acide oléique	Sigma	97	AGL	18	282,5
18:2	acide linoléique	Sigma	95	AGL	18	280,5
20:0	acide arachidique	Sigma	99	AGL	20	312,5
5ane	pentane	Sigma	99	alcane	5	72
Gly	glycérol	Sigma	99	alcool	3	92
2-7ol	heptan-2-ol	Sigma	97	alcool	7	116
6al	hexanal	Sigma	97	cétone	6	100
2-7one	heptan-2-one	Sigma	98	cétone	7	114,18
etOac	acétate d'éthyle	Sigma	99	ester	3	88
etObut	butanoate d'éthyle	Sigma	98	ester	6	116
δ-déca	delta decalactone	Sigma	98	lactone	6	170
AAA	triacétine	Sigma	99	TAG	2	218
PPP	tripalmitine	Danisco	85	TAG	16	807
SSS	tristéarine	Sigma	99	TAG	18	891

Les mélanges MGLA/modulateurs sont réalisés de la manière suivante : la matière grasse laitière est fondue à 60 °C et agitée pour assurer une répartition homogène des TAG au sein du liquide. Les modulateurs sont pesés à température ambiante sous forme solide ou liquide et sont introduits dans des tubes en verre de 30 mL. La MGLA fondue est ajoutée à ces tubes pour obtenir la teneur en modulateur recherchée, comprise entre 0,3 % et 12 %. Les mélanges sont placés à 80 °C, température supérieure de 5 °C à la température de fusion du

modulateur le plus long et saturé, puis agités. Une fois les mélanges complètement liquides, ils sont conservés à 4 °C en attendant d'être analysés. Pour chaque analyse, le mélange est fondu à nouveau à 80 °C avant d'être prélevé.

1.2. Formulation des émulsions

1.2.1. Composition des émulsions

Les émulsions modèles formulées pour cette étude sont de type huile-dans-eau, stabilisées par des protéines laitières. La matière grasse laitière anhydre constitue la phase dispersée. La phase continue est une solution aqueuse de caseinate de sodium. Le caseinate de sodium (Armor Protéines, France) utilisé à une teneur minimale en protéines de 88 % et une hygrométrie maximale de 6 % (données fournisseur). La matière grasse constitue 40 % de la masse de l'émulsion et les protéines représentent 2 %, soit 3,33 % de la phase aqueuse. Quand des modulateurs sont ajoutés à l'émulsion, ils se substituent à la matière grasse. La formulation générale des émulsions est présentée dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Composition générale des émulsions directes

	Fraction massique (%)	Composition	Fraction massique (%)
Phase aqueuse	60	eau	58
		caséinate de sodium	2
Phase grasse	40	MGLA	40 - x
		modulateur	x

1.2.2. Techniques d'émulsification

Différentes techniques d'émulsification sont utilisées de manière à disposer d'émulsions caractérisées par une taille des gouttes variant dans un rapport de 40 (0,7 à 30 µm).

La fragmentation d'une goutte met en jeu deux paramètres physiques antagonistes :

- la pression de Laplace définie au chapitre 1 (Eq. 39), $P_L = \frac{2\sigma}{R}$, R étant le rayon de la goutte et σ la tension interfaciale entre l'huile et la phase aqueuse. La pression de Laplace tend à maintenir la forme sphérique des gouttes.

- La contrainte visqueuse transmise par la phase continue, $\tau = \eta_c \dot{\gamma}$, où η_c est la viscosité de la phase continue et $\dot{\gamma}$ est le gradient de cisaillement appliqué. La contrainte tend à déformer les gouttes dans la direction de l'écoulement.

Pour que la fragmentation puisse se produire, le cisaillement appliqué doit être suffisant. La goutte mère se déforme en un long cylindre, puis se fragmente en des gouttes filles sous l'effet d'une instabilité induite par la tension interfaciale, dite instabilité de Rayleigh. En effet, la quantité d'interface huile-eau des gouttes filles est inférieure à celle du cylindre liquide étiré.

Lorsque la phase continue est peu visqueuse, la fragmentation requiert l'application d'un gradient de cisaillement élevé. En pratique, le cisaillement est souvent appliqué en régime turbulent. Le processus d'émulsification met alors en jeu deux phénomènes : la fragmentation des gouttes et leur recombinaison par coalescence sous l'effet des collisions à forte énergie. Du fait de la recombinaison, l'évolution de la taille moyenne des gouttes est difficilement prédictible.

Lorsqu'au contraire la phase continue est très visqueuse, alors la fragmentation peut se produire à faible vitesse d'écoulement, en régime laminaire. Le risque de recombinaison est alors bien plus faible car les collisions entre gouttes sont faiblement énergétiques. La compétition entre la pression de Laplace et la contrainte visqueuse appliquée est quantifiable au moyen d'un nombre adimensionnel, le nombre capillaire :

$$C_a = \frac{2\tau}{P_L} = \frac{R\eta_c\dot{\gamma}}{\sigma} \quad (\text{Eq. 41})$$

Aussi bien les calculs théoriques que les résultats expérimentaux montrent que la fragmentation se produit lorsque le nombre capillaire dépasse une valeur seuil, C_{ac} , qui dépend du type de cisaillement (simple ou élongationnel, appliqué de façon subite ou progressive) et du rapport des viscosités entre la phase continue et la phase dispersée [1,2]. Dans les conditions opératoires de cette thèse, la valeur de C_a se situe entre 0,1 et 0,5. L'équation 41 permet alors de prédire le diamètre moyen des gouttes, si tant est que la recombinaison par coalescence ne se produise pas. Elle est théoriquement valable à faible teneur en gouttes, dans un régime où la viscosité de l'émulsion est dominée par la phase continue. Lorsque la fraction des gouttes dépasse environ 64 % vol., les surfaces sont en contact permanent et les frictions au niveau des films interfaciaux entrent en jeu et

déterminent le comportement visqueux du matériau. L'équation précédente reste toutefois valable, en remplaçant la viscosité de la phase continue par la viscosité moyenne de l'émulsion.

1.2.2.1. Emulsification en régime laminaire

L'émulsificateur de Couette permet de fabriquer des émulsions monodisperses (polydispersité $P < 25 \%$, cf. § 3.1) [1,3]. Il est constitué de deux cylindres concentriques, l'extérieur étant fixe et l'intérieur étant mobile. L'entrefer entre les deux cylindres mesure $100 \mu\text{m}$. Une émulsion grossière est injectée entre les deux cylindres et est cisailée en régime d'écoulement laminaire. Les gouttes sont alors fractionnées et leur distribution de taille s'affine (Figure 46).

Dans un tel système, le gradient de cisaillement appliqué à l'émulsion est :

$$\dot{\gamma} = \frac{n2\pi}{60} \times \frac{R_{rotor}}{e} \quad (\text{Eq. 42})$$

Où n est la vitesse de rotation en tours par minute, R_{rotor} le rayon du cylindre mobile et e la largeur de l'entrefer.

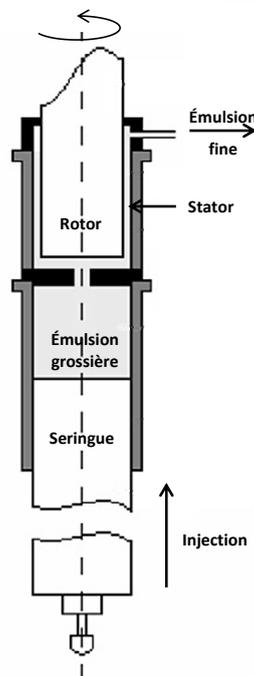


Figure 46: émulsificateur de Couette. D'après [3]

La cellule de type Couette permet d'appliquer des cisaillements $\dot{\gamma}$ allant de 1 à $15\,000 \text{ s}^{-1}$. Pour atteindre le niveau de viscosité requis, la phase aqueuse est sur-concentrée en

protéines. Pour augmenter la viscosité, la concentration en matière grasse est elle aussi élevée (>64 %vol.). Les émulsions sont diluées *post* fabrication pour atteindre la fraction de gouttes et la teneur en protéines cibles.

En pratique, les deux phases (phase protéique aqueuse et phase grasse) sont préalablement chauffées à 60 °C pour que la MGLA (avec ou sans modulateur) soit dans un état fluide. L'huile est incorporée très progressivement dans la phase aqueuse, tout en agitant le mélange manuellement avec une spatule, jusqu'à obtenir un mélange macroscopiquement homogène. Le mélange est maintenu à une température supérieure à 40 °C pour prévenir la cristallisation de la MGLA, puis cisailé dans l'émulsificateur de Couette à chaud. La Figure 47 montre l'émulsion très concentrée en sortie du tube collecteur. Elle présente l'aspect d'une pâte viscoélastique. Elle est ensuite diluée avec une solution de protéines à 60 °C pour ajuster la concentration en protéines à 2 % et la teneur en matière grasse à 40 %. L'émulsion est conservée à 60 °C.



Figure 47 : Émulsion laitière concentrée (85 % MGLA) en sortie de l'émulsificateur de Couette, avant dilution

1.2.2.2. Émulsification en régime turbulent

Les émulsions peuvent être fabriquées en une seule étape au moyen d'un système turbulent rotor/stator. Cette méthode permet de travailler sur des volumes d'émulsion plus importants, mais conduit à des distributions granulométriques plus larges que l'émulsification en régime laminaire. L'appareil utilisé est un Ultra-Turrax T25 (IKA), équipé d'une géométrie S25-KV-25F. Le stator et le rotor ont un diamètre intérieur respectif de 25 mm et 18 mm, avec un entrefer de 0,5 mm. Ces deux pièces sont dentelées (Figure 48a). La rotation rapide du rotor aspire les liquides par le centre de la géométrie, le fluide passe à travers les fentes du système et le gradient de vitesse dans l'entrefer fragmente les gouttes de l'émulsion (Figure 48b). La turbulence et l'énergie mises en jeu provoquent la

fragmentation des gouttes ainsi des collisions entre ces gouttes qui se recombinent par coalescence. La taille finale des gouttes résulte d'un équilibre entre fragmentation et recombinaison.

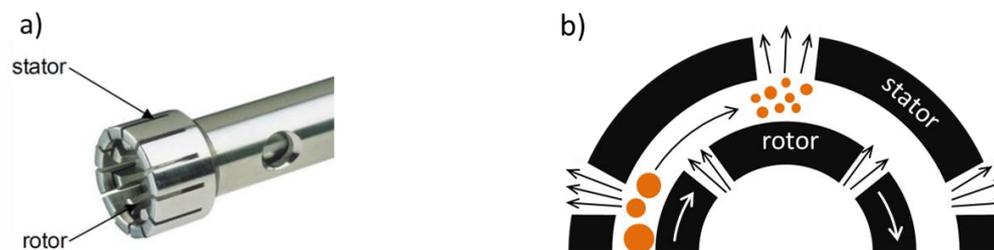


Figure 48 : Emulsification en régime turbulent. a) Géométrie de type Ultra-Turrax®, b) Principe

En pratique, les deux phases aqueuse et grasse sont mélangées à chaud directement dans un réacteur de laboratoire IKA LR 1000, thermostaté à 60 °C. Ce système en batch permet d'éviter la cristallisation en cours de cisaillement et assure une agitation du mélange. Le mélange à émulsionner (1,2 L) est soumis un cisaillement de 25 000 tours par minute pendant 10 min. L'émulsion est ensuite stockée à 60 °C.

1.2.2.3. Homogénéisation sous pression

Il est possible de diminuer la taille des gouttes initialement préparées avec l'émulsificateur de type Ultra-Turrax à l'aide d'un homogénéisateur haute pression à double effet (Niro Soavi Panda, GEA). Le principe de ce type d'homogénéisateur est présenté en Figure 49. Une pompe à haute pression force le liquide à travers une ouverture étroite, la valve. La vitesse du liquide à travers l'ouverture est très grande et la formation de tourbillons est responsable du fractionnement des gouttes de gras.

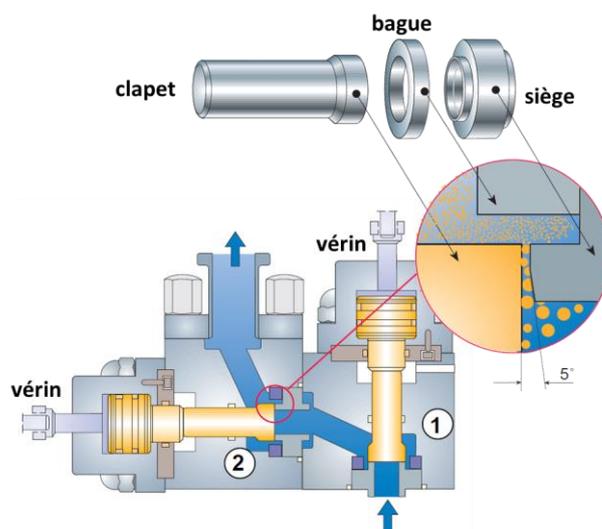


Figure 49: Principe de l'homogénéisateur haute pression à deux étages (1 et 2). Reproduit de [4]

En pratique dans cette étude, un seul étage est utilisé, et les pressions de travail sont fixées à 50 et 500 bars. L'émulsion chaude subit un unique passage dans l'homogénéisateur, à 60 °C. Une fois homogénéisée à 50 ou 500 bars, l'émulsion est stockée à chaud.

2. Étude de la cristallisation de la MGLA avec ou sans modulateur

Plusieurs méthodes expérimentales sont utilisées pour étudier la cristallisation de la MGLA seule ou en présence des modulateurs, chacune apportant sa propre contribution à la compréhension des mécanismes. Les méthodes utilisées concernent toutes la MGLA en phase continue. Certaines d'entre elles sont utilisées pour caractériser la cristallisation de la MGLA en émulsion.

2.1. Cristallinité : évaluation du taux de solide par Résonance Magnétique Nucléaire

Une première approche de l'état de cristallisation consiste à déterminer les proportions de phases solide et liquide des corps gras, par l'utilisation de la relaxation en Résonance Magnétique Nucléaire (RMN). La relaxation RMN repose sur le principe de l'aimantation. Chaque atome d'hydrogène est constitué de charges en mouvement : il peut être considéré comme un aimant microscopique (spin). Au repos, les spins sont orientés aléatoirement. Mais soumis à un champ magnétique, ils s'alignent dans ce champ, certains parallèlement (majoritairement), d'autres antiparallèlement (plus rarement) à ce champ. La somme de leurs aimantations donne une résultante magnétique globale parallèle au champ magnétique imposé. Dans l'appareil RMN, l'échantillon est soumis à une aimantation permanente B_0 , conventionnellement représentée parallèle à (Oz) . À l'instant $t=0$, un second champ ponctuel B_1 , perpendiculaire à B_0 , est appliqué. Cela excite les protons qui s'alignent sur ce nouveau champ. B_1 est ensuite arrêté et les protons relaxent, *i.e.* ils se réalignent avec B_0 (Figure 50).

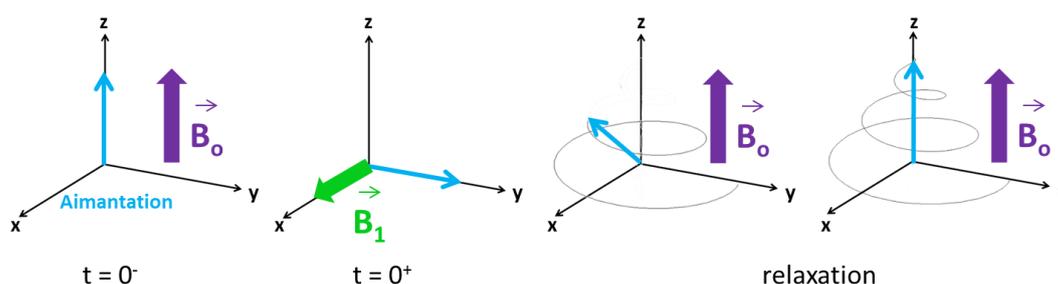


Figure 50 : Principe de la relaxation RMN

L'appareil RMN mesure le signal de relaxation dans le plan $(0xy)$: le mouvement de l'aimantation globale crée un courant électrique dans une bobine, d'intensité I . Cette intensité s'amortit quand les protons relaxent :

$$I(t) = \sum_i A_i \times e^{-\frac{t}{T_{2,i}}} \quad (\text{Eq. 43})$$

Le temps de relaxation T_2 dépend principalement de l'état physique (solide/liquide) de l'échantillon et de la température de l'échantillon. Il est d'autant plus long que la mobilité moléculaire est importante. Ainsi, les protons des solides, très contraints, relaxent très rapidement. Les protons des liquides, au contraire, relaxent indépendamment les uns des autres, donc plus lentement. Le signal de relaxation global est la somme des relaxations de chacun des protons, qu'ils soient dans une phase solide ou liquide. L'amplitude de chaque relaxation est proportionnelle à la quantité de protons qu'elle concerne. Dans un mélange gras solide / liquide, les protons de la phase solide relaxent d'abord avec un temps caractéristique proche de $15 \mu\text{s}$, puis les protons de la phase liquide relaxent avec un temps caractéristique de l'ordre de la centaine de millisecondes, comme illustré sur la Figure 51.

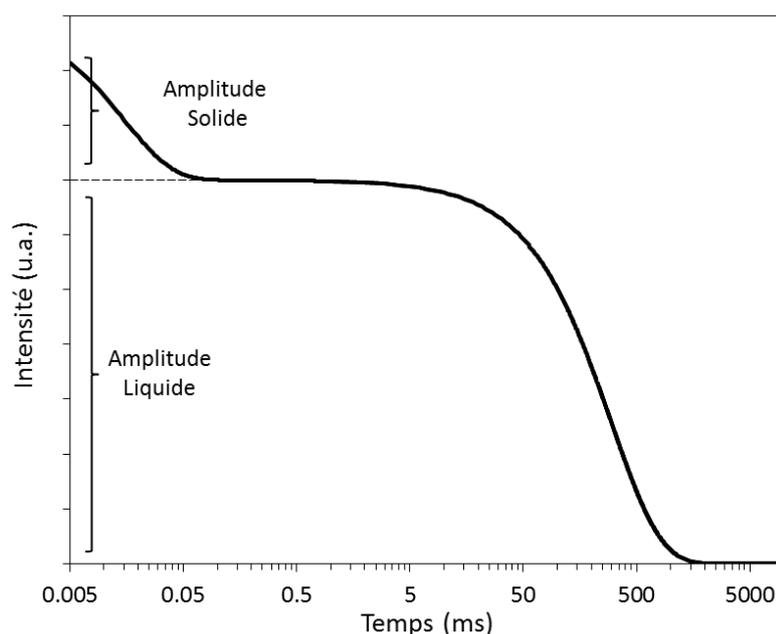


Figure 51 : Courbe théorique de la relaxation d'un mélange solide/liquide (30:70). $T_{2 \text{ solide}} = 15 \mu\text{s}$ $T_{2 \text{ liquide}} = 300 \text{ ms}$

Pour évaluer le taux de solide, il suffit donc de faire le rapport des amplitudes de ces deux signaux. En pratique, l'intensité initiale du signal n'est pas accessible car la sonde est « éblouie » par l'impulsion ponctuelle de B_1 . Deux facteurs F et K permettent d'extrapoler

les valeurs des signaux mesuré à 11 μ s et 70 μ s pour obtenir l'intensité initiale. Le taux de solide (Solid Fat Content, SFC) est alors donné par :

$$SFC (\%) = \frac{[(A_{11} \times K) - A_{70}] \times F}{[(A_{11} \times K) - A_{70}] \times F + A_{70} + O} \quad (\text{Eq. 44})$$

où F et K sont les facteurs de correction des amplitudes solides et liquides, et O est l'offset électronique. A_{11} et A_{70} sont les amplitudes du signal respectivement à 11 μ s (phases solide + liquide) et à 70 μ s (phase liquide). Ces trois paramètres sont calibrés chaque jour au moyen de tubes de calibration contenant des mélanges de polymères et d'huiles minérales dont les taux de solides sont connus.

Les mesures de taux de solide sont réalisées au moyen d'un appareil de RMN bas champ 20 MHz Minispec mq20 (Bruker) équipé d'une sonde RVGX thermostatée. Cette sonde fonctionne avec des tubes en verre de 10 mm de diamètre, dans lesquels sont introduits 0,8 mL de la MGLA seule ou des mélanges à étudier. Une fibre optique, transparente pour la RMN, est utilisée pour vérifier la température des systèmes directement dans le tube en cours d'analyse.

Le taux de solide est habituellement utilisé pour déterminer le profil de fusion de la matière grasse préalablement cristallisée. Dans ce cas, le taux de solide est déterminé en fonction de la température ($SFC=f(T)$). Quelle que soit leur histoire thermique antérieure, deux tubes par mélange de matière grasse sont placés dans un bain thermostaté à 4 °C pendant 45 min. Ils sont introduits dans l'appareil RMN non thermostaté, pour une acquisition de 4 scans avec un temps de recyclage de 2 secondes. La mesure est répétée trois fois par tube. Les tubes sont ensuite placés dans des bains à 10 °C pendant 45 min avant une nouvelle mesure. La mesure est effectuée par pas de 5 °C, 45 min par température, jusqu'à ce que la matière grasse ait complètement fondu et que le taux de solide soit nul.

Le taux de solide est également utilisé pour suivre la cinétique de cristallisation à partir d'un mélange fondu ($SFC=f(t)$). La matière grasse fondue, seule ou en mélange avec les modulateurs, est introduite dans le tube RMN. Le tube est placé à 80 °C pendant 10 minutes. La fibre optique de température est installée dans le tube. L'appareil de RMN est thermostaté à la température de cristallisation souhaitée et étalonné à cette même température. La mesure est déclenchée par l'introduction du tube dans l'appareil. Une

mesure est constituée de 4 scans avec un temps de recyclage de 4 s, et 2 s séparent deux acquisitions : ainsi les points de la cinétique sont espacés de 18 s. La mesure est interrompue quand le taux de solide n'évolue plus.

La cinétique de cristallisation isotherme de la matière grasse peut être modélisée par différents modèles présentés dans le chapitre 1, au paragraphe 1.5.2. Ces modèles à plusieurs paramètres, non linéaires, sont ajustés sur nos courbes au moyen de l'algorithme de Levenberg-Marquart grâce au logiciel *TableCurve 2D* (SYSTAT Software Inc.). Cet algorithme itératif est basé sur la méthode des moindres carrés. La performance relative des différents modèles est évaluée au moyen du coefficient de régression ajusté r^2_{adj} :

$$r^2_{adj} = 1 - \frac{SCE}{SCM} \cdot \frac{(p - 1)}{(p - q - 1)} \quad (\text{Eq. 45})$$

où SCE est la somme des carrés résiduels, SCM la somme des carrés à la moyenne, p le nombre total de points expérimentaux et q le nombre de facteurs du modèle (voir annexe 2). Le coefficient de régression ajusté a été préféré au coefficient de régression classique car il tient compte du degré de liberté du modèle. La valeur de r^2_{adj} est d'autant plus proche de 1 que l'ajustement d'un modèle est performant.

2.2. Nanostructure : détermination de polymorphisme des corps gras par diffraction des rayons X

Les cristaux sont constitués de plans d'atomes. Les distances entre ces plans étant du même ordre de grandeur que les longueurs d'onde des rayons X, les plans diffractent ces ondes. La relation de Bragg régit ce phénomène :

$$2 \cdot d \cdot \sin \theta = n \cdot \lambda \quad (\text{Eq. 46})$$

où d est la distance réticulaire qui sépare les plans, θ l'angle d'incidence et n l'ordre de la diffraction. Deux ondes interfèrent de manière constructive si la différence de distances qu'elles parcourent est proportionnelle à un nombre entier n de fois leur longueur d'onde, *i.e.* si elles restent en phase. Dans le cas de la diffraction par des plans d'atomes séparés par une distance réticulaire d , cette différence de marche entre deux ondes dont l'angle d'incidence est θ est égale à $2 \cdot d \cdot \sin \theta$ (Figure 52).

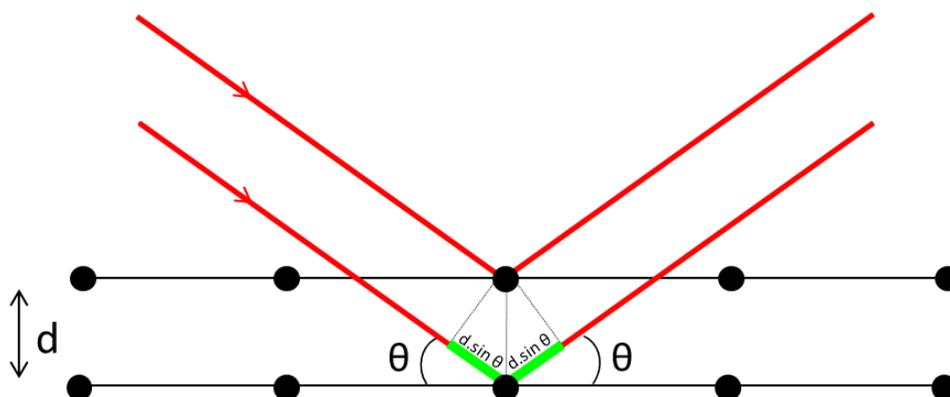


Figure 52 : Diffraction des rayons X par des plans réticulaires : différence de marche

Les rayons X sont générés par une anode tournante de cuivre (MM07, Rigaku) de puissance 1,2 kW et de longueur d'onde $\lambda = 1,54187 \text{ \AA}$. L'échantillon est placé sur une boucle centrée par rapport à la source et mobile suivant trois angles. Il est thermostaté par un flux d'azote qui peut être chaud ou froid (Cryostem, Oxford). Le détecteur est un écran courbe à plaque placé à une distance D de l'échantillon (Figure 53).

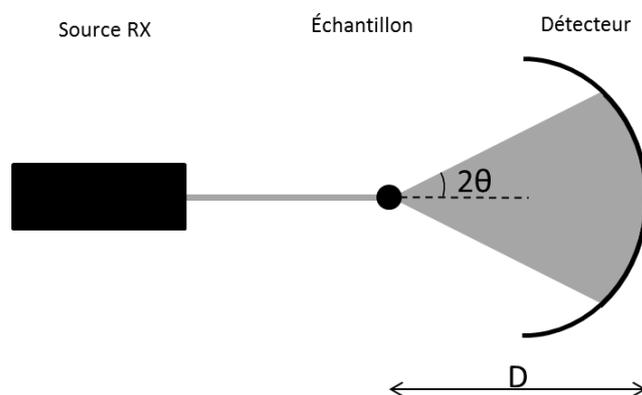


Figure 53 : Dispositif de diffraction des rayons X

L'échantillon est exposé pendant 10 min pendant lesquelles il tourne de 180° . Les rayons X sont diffractés aux angles 2θ correspondant aux distances entre les plans d'atomes des cristaux. Une figure de diffraction de cercles concentriques est obtenue (Figure 54a). Après soustraction de l'image de la boucle support, la distance des cercles au centre de l'image ainsi que la distance échantillon / détecteur connue permettent d'accéder à la valeur de l'angle de diffraction correspondant. En intégrant l'intensité sur tout le cercle de diffraction, un signal à une dimension, uniquement fonction de l'angle de diffraction, est obtenu. Il est usuellement représenté en fonction du module du vecteur d'onde de diffusion qui est une grandeur caractéristique de l'espace réciproque, $q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta$ (Figure 54b).

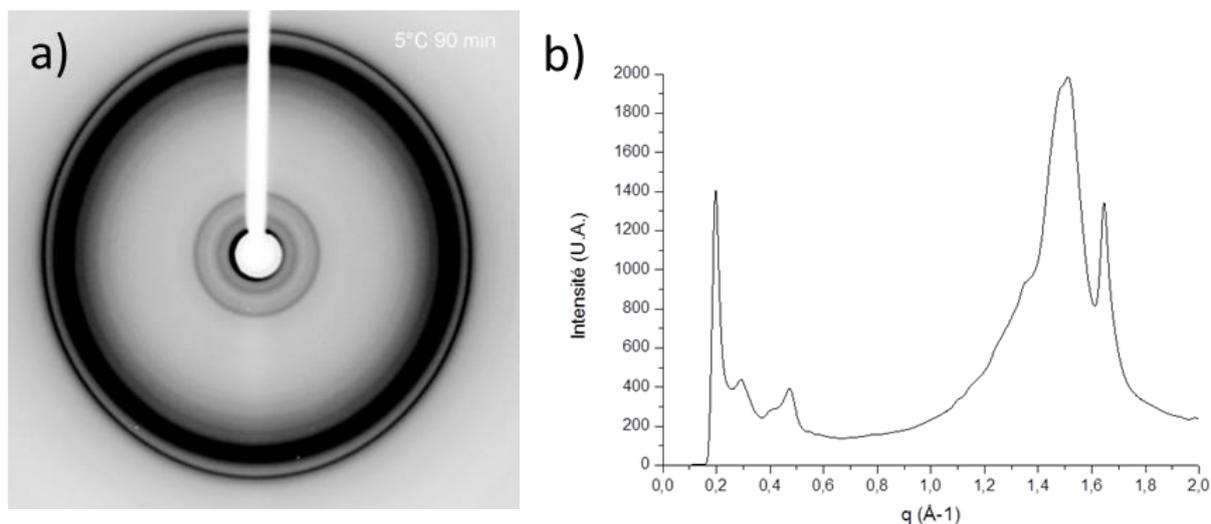


Figure 54 : Figure de diffraction des rayons X aux grands angles (WAXS). a) En 2D sur le récepteur, b) En 1D après intégration

Pour suivre la cinétique de cristallisation, la boucle est initialement plongée dans la matière grasse fondue et maintenue à 60 °C pendant 10 min. Une acquisition à cette température permet de s'assurer que le mélange est complètement fondu. Puis la température de l'échantillon est ajustée à 25 °C ou 5 °C. Chaque acquisition et lecture de plaque dure 10 min, temps qui sépare alors les points de la cinétique. Pour pouvoir comparer les essais entre eux, chaque courbe de la cinétique est normée par l'aire de son signal fondu. Les pics sont intégrés manuellement par la méthode des trapèzes. Ils sont attribués à des distances réticulaires d et indexés pour déterminer la forme polymorphique des cristaux. Le montage utilisé, bien qu'étant destiné à des mesures WAXS (Wide Angle X-Ray Scattering) permet aussi d'accéder à des intensités pour des distances allant jusqu'à 24 Å, donc d'obtenir aussi des informations aux longues distances sur l'empilement longitudinal des chaînes de triglycérides.

2.3. Microstructure : morphologie des cristaux par microscopie à lumière polarisée

La microscopie à lumière polarisée (MLP) permet d'étudier la microstructure de la matière grasse. Dans ce type de montage, deux filtres de polarisation orthogonaux sont positionnés l'un entre la source de lumière et la lame à observer (polariseur) et l'autre entre la lame et l'oculaire (analyseur). La matière grasse fondue est un liquide relativement isotrope, qui ne polarise pas la lumière, alors que les cristaux de matière grasse sont anisotropes et polarisent la lumière. Ainsi, quand un système gras est placé entre un polariseur et un

analyseur orthogonal, les zones cristallines sont claires alors que la phase liquide reste sombre.

Les matières grasses et émulsions sont observées à l'aide d'un microscope Olympus BX53F équipé d'une platine à effet Peltier (T95 PE 120, Linkam) permettant de contrôler la température d'observation. L'acquisition des images est réalisée au moyen d'une caméra couleur 10,6 mégapixels (SC100, Olympus).

En ce qui concerne les mélanges de matière grasse, ils sont fondus et agités. Puis une goutte de liquide est déposée entre lame et lamelle préalablement chauffées à 80 °C. Les lames sont ensuite placées à la température de cristallisation (4 ou 25 °C) pendant 4 ou 24 h avant observation à cette même température. Les images de microscopie ainsi obtenues font l'objet d'un traitement quantitatif, pour déterminer le nombre et la taille des cristaux. Un programme développé en interne sur *Matlab* (Mathworks) permet de réaliser ce traitement de manière semi-automatique. Les images originales subissent des corrections par des filtres de lumière et de binarisation. Les cristaux qui sont accolés sont d'abord individualisés, manuellement, à l'écran. Le programme détecte ensuite automatiquement les contours des cristaux et en calcule les aires (Figure 55a-c).

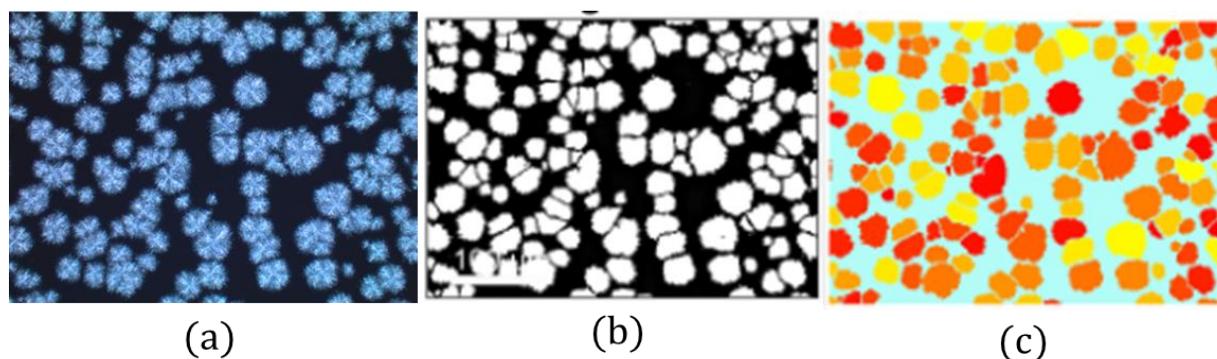


Figure 55 : Traitement des images microscopiques obtenues à 25°C pour la MGLA en absence de modulateur. a) Image originale, b) Après application des filtres, c) Détection des contours et des aires

Les cristaux sont assimilés à des disques et un diamètre équivalent est calculé. En répétant cette opération sur un nombre suffisant d'images acquises sur un même mélange, il est possible d'obtenir une distribution granulométrique des cristaux (Figure 56).

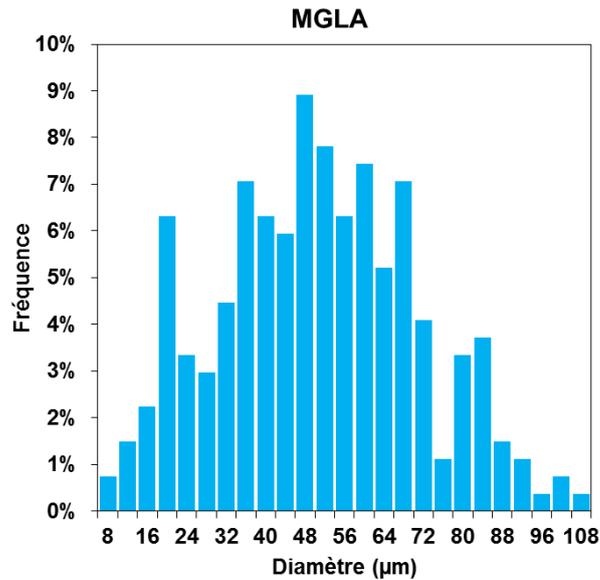


Figure 56 : Distribution granulométrique des cristaux de MGLA à 25 °C

Le réseau de matière grasse est connu pour être fractal, *i.e.* ses éléments élémentaires se répètent aux différentes échelles d'observation. Cela est une conséquence de la formation du réseau par agrégation de particules solides aux différentes échelles. La dimension fractale d_f peut être déterminée par la méthode de comptage des boîtes sur des images de microscopie à lumière polarisée. Le principe est de découper l'image en boîtes carrées régulières, et de compter le nombre de boîte N_b qui contiennent un morceau de cristal (blanc) (Figure 57a). L'opération de comptage est réalisée pour différentes tailles de boîte a . Quand le système est fractal, il vient :

$$N_b \propto a^{-d_f} \quad (\text{Eq. 47})$$

En traçant le logarithme du nombre de boîte en fonction de celui de la taille des boîtes, il est alors possible de déterminer la dimension fractale d_f (Figure 57b).

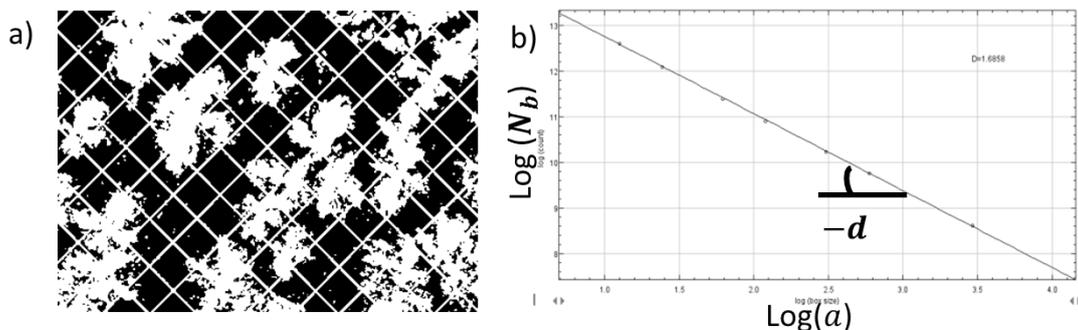


Figure 57: dimension fractale (d_f) de la MGLA. a) méthode du comptage des boîtes b) détermination de d_f

La dimension fractale est déterminée sur des images de microscopie des mélanges de matière grasse anhydre au moyen du logiciel *Image J* (Wayne Rasband University of Health) version 1.51a et de sa fonction *FractalBoxCount*.

2.4. Méso-structure : rhéologie aux petites déformations

La rhéologie permet d'étudier la résistance des matières cristallisées quand elles sont soumises à une contrainte ou à une déformation. Contrainte et déformation sont liées. En pratique, l'une est imposée, l'autre est mesurée. Dans notre cas, le matériau est soumis à une déformation angulaire imposée, il résiste, et la contrainte est mesurée. Quand un système parfaitement solide subit une petite déformation, ces deux grandeurs sont proportionnelles et liées par le module de cisaillement, G :

$$\tau = G \times \gamma \quad (\text{Eq. 48})$$

Ce type de système est élastique : il conserve l'énergie transmise. A l'inverse, les systèmes parfaitement liquides dissipent l'énergie fournie sous forme de frottements visqueux. La viscosité η lie la contrainte à la vitesse (gradient) de déformation :

$$\tau = \eta \times \dot{\gamma} \quad (\text{Eq. 49})$$

Les matières grasses cristallisées appartiennent à la catégorie intermédiaire des systèmes visco-élastiques. Soumises à une déformation, elles se déforment élastiquement mais dissipent une partie de l'énergie en frottements. Pour évaluer ces propriétés visco-élastiques, une déformation sinusoïdale de faible amplitude γ_0 et de pulsation ω est appliquée :

$$\gamma(t) = \gamma_0 \cos(\omega t) \quad (\text{Eq. 50})$$

La contrainte mesurée est de la même forme, avec un déphasage δ :

$$\tau(t) = \tau_0 \cos(\omega t + \delta) \quad (\text{Eq. 51})$$

Pour un système idéal purement élastique, ce déphasage est nul, car un solide élastique répond instantanément à la contrainte. Si, au contraire, il est purement visqueux, la contrainte est déphasée de $\pi/2$. Pour un fluide visco-élastique, le déphasage est compris entre ces deux valeurs (Figure 58).

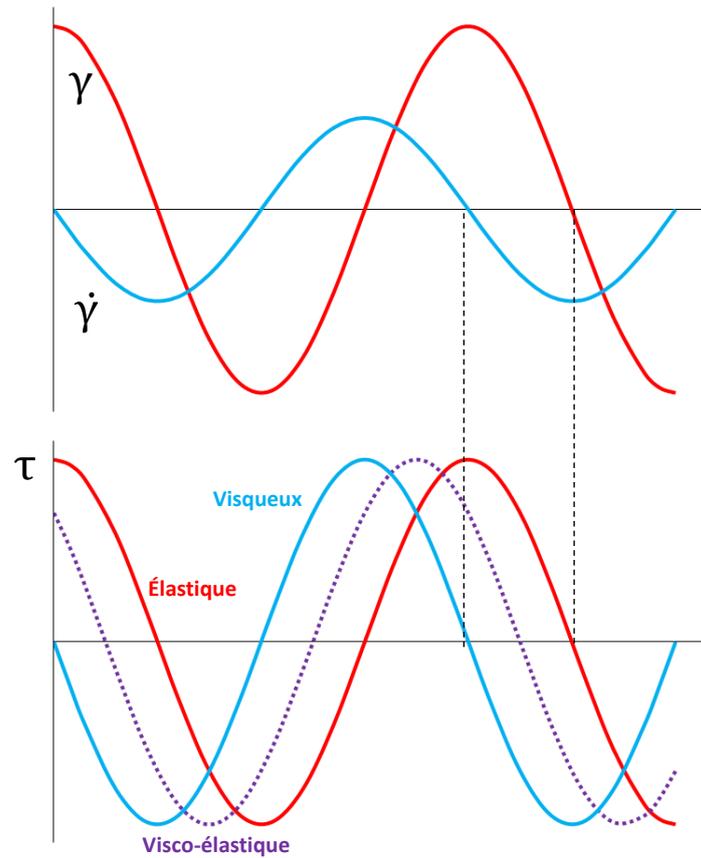


Figure 58 : Viscoélasticité en régime harmonique

Le module de cisailment dans ce régime de déformation est alors défini de manière complexe :

$$G^* = \frac{\tau(t)}{\gamma(t)} = \frac{\tau_0}{\gamma_0} (\cos \delta + i \sin \delta) \quad (\text{Eq. 52})$$

Les modules G' et G'' respectivement module élastique et module visqueux sont définis comme :

$$G' = \text{Re}(G^*) = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \cos \delta \quad (\text{Eq. 53})$$

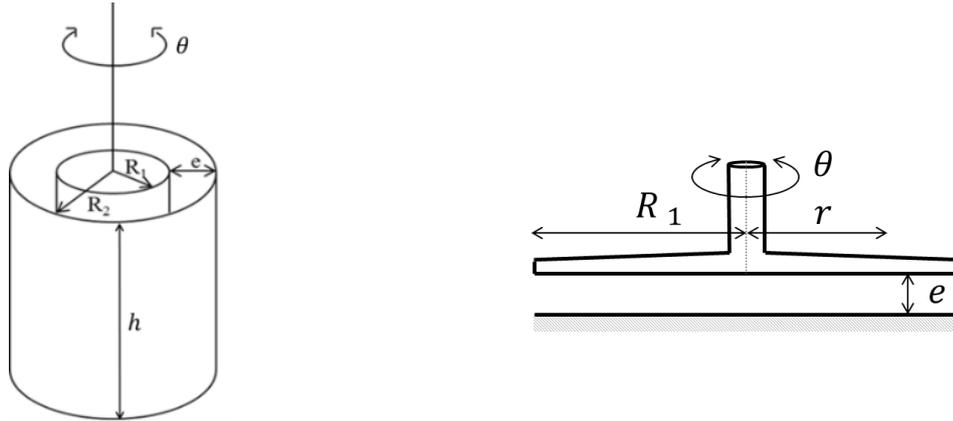
$$G'' = \text{Im}(G^*) = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \sin \delta \quad (\text{Eq. 54})$$

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad (\text{Eq. 55})$$

Le module élastique G' caractérise la partie solide, élastique et conservative du système. Le module G'' caractérise la partie liquide, visqueuse et dissipative du système.

Deux types de géométrie rotationnelle sont utilisés dans cette étude. Une cellule de Couette, composée de deux cylindres coaxiaux, et une géométrie plan-plan. Dans la cellule de

Couette, le cylindre extérieur est fixe et le cylindre intérieur est mobile. Dans le cas de la géométrie plan-plan, le plan inférieur est fixe et le plan supérieur est mobile. Dans les deux cas, on considère θ l'angle de rotation, C le couple du moteur, R_1 le rayon de la géométrie mobile, et e l'entrefer. Pour la cellule de Couette, R_2 est le rayon du cylindre extérieur et h est la hauteur du cylindre intérieur. Pour la géométrie plan-plan, la déformation et la contrainte ne sont pas uniformes et dépendent de r , le rayon considéré (Figure 59 a-b).



$$\tau_{couette}(t) = \frac{R_1^2 + R_2^2}{R_2^2} \cdot \frac{C(t)}{4\pi R_1^2 h}$$

$$\gamma_{couette}(t) = \frac{1}{10} \cdot \frac{R_1^2 + R_2^2}{R_2^2 - R_1^2} \cdot \theta(t)$$

$$\tau_{plan-plan}(r, t) = \frac{2rC(t)}{\pi R_1^4}$$

$$\gamma_{plan-plan}(r, t) = \frac{r\theta(t)}{e}$$

Figure 59: Géométries du rhéomètre, cisaillements et contraintes associés. a) Cellule de Couette, (b) Géométrie plan-plan

Les mélanges de matières grasses sont étudiés au moyen d'un rhéomètre Mars 3 Thermo Fisher équipé d'une géométrie à cellule de Couette striée (CCB/CC16 DIN S) de diamètre interne de 15,7 mm, de diamètre externe 17 mm et de hauteur 23,6 mm. Les émulsions sont étudiées au moyen de la géométrie plan-plan sablée (P60 Ti L) de diamètre 60 mm et avec un entrefer de 1 mm. Les stries ou sablages de ces géométries ont pour but d'éviter les glissements aux parois. Leur température est régulée par effet Peltier au niveau de la géométrie fixe.

Pour de faibles amplitudes de déformation γ_0 , le système est déformé sans être déstructuré. Dans cette zone de déformation linéaire, le module de cisaillement est constant quelle que soit la déformation. Pour déterminer cette zone linéaire, il est nécessaire de réaliser un balayage en amplitude de déformation à la température de travail. Ces balayages sont réalisés à 5 °C et 25 °C, avec γ_0 compris entre 10^{-4} et 10, à la fréquence de 1 Hz (pulsation de $2\pi \text{ s}^{-1}$) (Figure 60a-b).

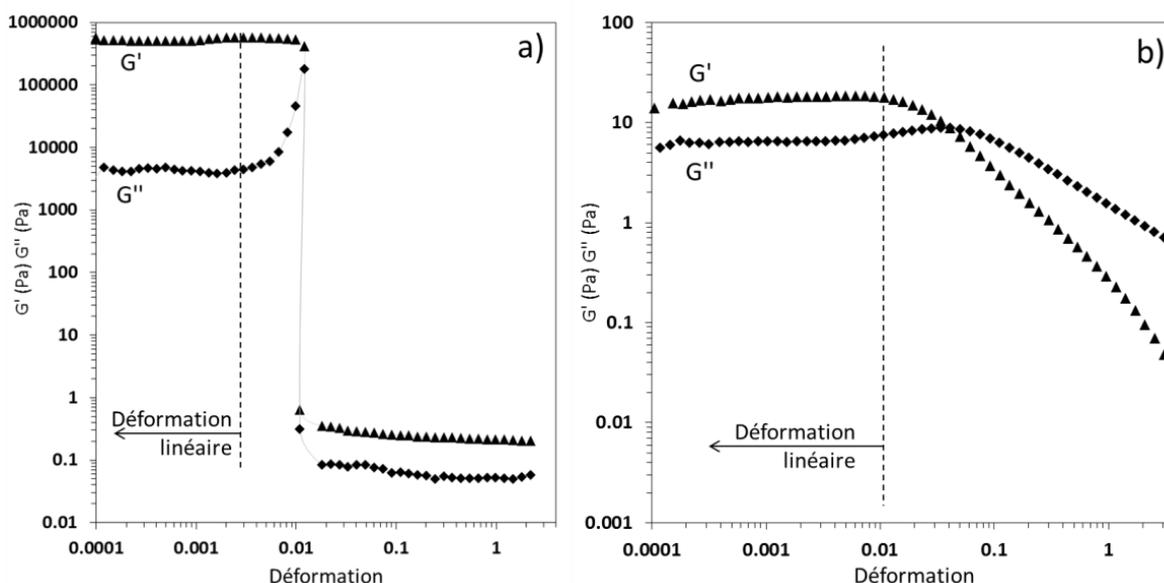


Figure 60 : Balayage en amplitude de déformation à 5°C. a) MGLA, b) Emulsion de MGLA à 40 %

Pour rester dans la zone de déformation linéaire, l'amplitude de travail est fixée à 0,001 pour les mélanges de matières grasses anhydres et les émulsions (Figure 60a-b).

La cristallisation de la MGLA seule ou en présence de modulateur est étudiée en isotherme à 25 °C. La matière grasse préalablement fondue est introduite dans la géométrie de Couette à 60 °C. Une rampe de température à -5 °C/min permet d'atteindre la température finale. La cristallisation est suivie pendant 2 h sous une déformation de 0,001 à 1 Hz. La cristallisation dynamique des mélanges est également étudiée entre 80 °C et 5 °C en rampe de -5 °C/min dans les mêmes conditions de déformation.

Pour les émulsions, le domaine de déformation linéaire est déterminé à 5 °C après 48 h de stockage à cette température.

2.5. Profil thermique : Calorimétrie différentielle à balayage

La cristallisation et la fusion de la matière grasse sont des changements d'état respectivement exothermiques et endothermiques. La calorimétrie différentielle permet de mesurer les flux de chaleur dégagés ou emmagasinés par la matière pour changer d'état.

L'appareil utilisé est une DSC 8500 (Perkin Elmer) qui fonctionne en compensation de puissance. Deux fours sont placés dans une même enceinte tempérée. L'un contient l'échantillon à étudier dans une capsule en aluminium, l'autre contient une même capsule vide, qui constitue la référence. La température de consigne des deux fours varie simultanément. La température réelle de chacun des fours est mesurée. Pour que la

différence de température entre les deux fours soit nulle, un générateur de puissance compense les écarts. Il fournit de la puissance thermique à l'échantillon s'il subit une transformation endothermique qui consomme de l'énergie, et fournit de la puissance à la référence si l'échantillon subit une transformation exothermique. L'intégration de cette puissance permet d'accéder à l'enthalpie du changement d'état se déroulant dans l'échantillon. La fusion est un phénomène endothermique, elle se traduit conventionnellement par un flux de chaleur positif, alors que la cristallisation et les transitions polymorphiques exothermiques sont responsables d'un transfert thermique représenté comme négatif. Les variations de puissance observées lors des changements de température de l'échantillon permettent d'identifier les changements d'état et d'évaluer l'enthalpie massique de changement d'état, ΔH , qui lui est associée.

L'appareil est refroidi à l'azote liquide, ce qui permet de travailler à des températures négatives et sur des rampes de températures très rapides. La température et l'enthalpie mesurées sont calibrées au moyen de l'indium ($T_{fus} = 156,6\text{ °C}$, $\Delta H = 28,45\text{ J.g}^{-1}$) et du cyclohexane ($T_{fus} = 6,47\text{ °C}$) à la vitesse de balayage étudiée ($\pm 5\text{ °C/min}$). La ligne de base est ajustée entre -20 °C et 110 °C .

Pour la matière grasse anhydre, environ 10 mg sont placés dans des coupelles en aluminium scellées. Les matières grasses sont pesées fondues pour assurer un prélèvement homogène, Dans le calorimètre, la température est d'abord portée à 80 °C pendant 10 min pour s'assurer que l'échantillon est complètement fondu. Puis, un refroidissement à -5 °C/min jusqu'à 4 °C est appliqué. L'échantillon est maintenu à cette température de cristallisation pour un temps variable puis est réchauffé à une vitesse de $+5\text{ °C/min}$ jusqu'à 80 °C . Ce programme peut être répété sur la même capsule, dans la mesure où la cristallisation et la fusion de la matière grasse anhydre ne dégradent pas l'échantillon.

Pour les émulsions, environ 10 μL sont placés dans des coupelles en aluminium scellées. Les émulsions sont pesées à 4 °C dans une chambre froide pour éviter les risques de condensation. Elles subissent une première étape de chauffage à la vitesse de $+5\text{ °C/min}$ jusqu'à 55 °C , sont maintenues 3 min à cette température, avant de subir le cycle de cristallisation et fusion à -5 °C/min entre 55 °C et 4 °C . Chaque capsule d'émulsion n'est analysée qu'une fois car les émulsions pourraient être déstabilisées par les cycles thermiques. Les répétitions sont réalisées sur des capsules séparées.

Pour visualiser les résultats, le flux de chaleur est normé par la masse de l'échantillon et représenté en fonction de la température. L'intégration de cette courbe permet d'accéder à l'enthalpie massique de changement d'état (Figure 61).

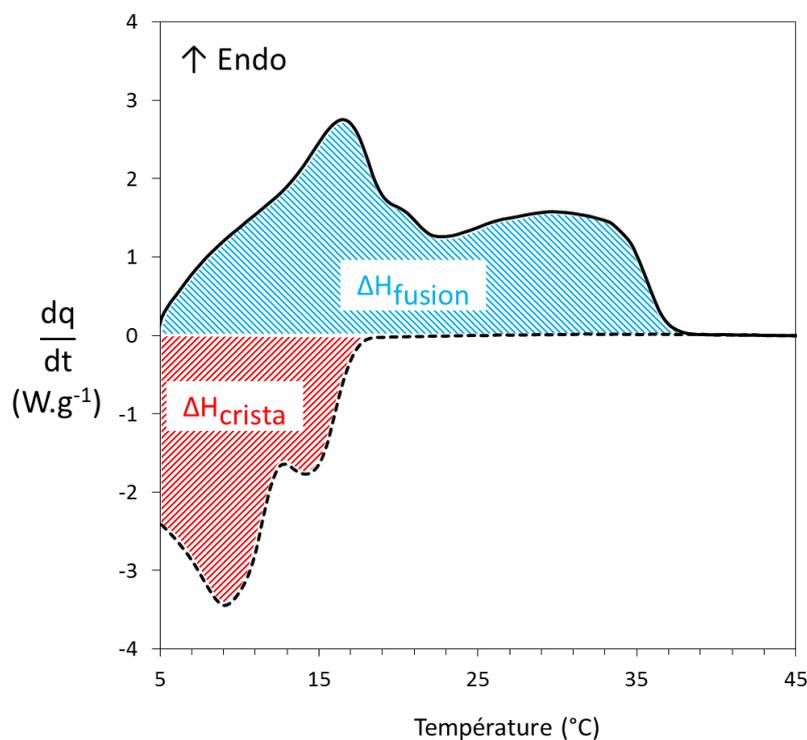


Figure 61 : Exemple de courbes de cristallisation et fusion de la MGLA obtenues en calorimétrie différentielle. Intégration des enthalpies de changement d'état

3. Caractérisation des émulsions

3.1. Tailles des gouttes

Pour déterminer la distribution de tailles des gouttes des émulsions, un granulomètre laser Mastersizer 3000 (Malvern Instrument) est utilisé avec une cellule de dispersion Hydro MV. L'appareil combine séquentiellement des mesures en lumière rouge ($\lambda = 633 \text{ nm}$), puis bleue ($\lambda = 470 \text{ nm}$) pour mesurer toute la gamme de taille des particules. Les rayons monochromatiques sont envoyés sur l'émulsion diluée sous agitation et sont diffractés par les gouttelettes. L'angle de diffraction dépend de la taille et de la forme des particules ainsi que des propriétés optiques des gouttes et du dispersant. Les rayons diffractés sont récupérés par un détecteur et comparés à des signaux de distributions de tailles théoriques, prédits par la théorie de la diffusion de Mie (Figure 62). Par itération, l'appareil détermine la distribution de tailles la plus probable. L'émulsion doit être suffisamment diluée pour éviter

la diffusion multiple et les gouttes doivent être sphériques et non agrégées. Les indices de réfractions des deux phases utilisées sont $n_{eau} = 1,33$ et $n_{MGLA} = 1,46$.

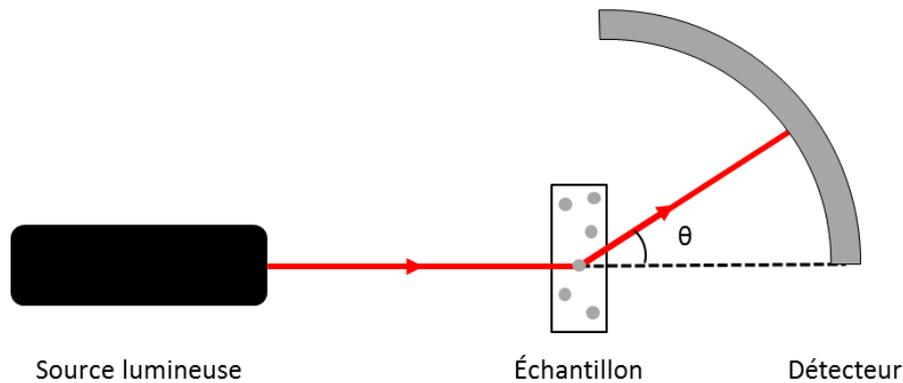


Figure 62 : Principe de la granulométrie laser

Les émulsions chaudes (60 °C) et froides (5 °C) sont étudiées après dilution au centième dans une solution aqueuse de dodécylsulfate de sodium (SDS) à sa concentration micellaire critique (8 mmol.L⁻¹) à température ambiante et à 60 °C. La solution de SDS permet de séparer les agrégats lypo-protéiques pour déterminer la taille des gouttes unitaires. Une fois chauffée, cette solution permet de faire fondre la matière grasse cristallisée et ainsi de faire relaxer la forme des gouttes et des amas de gouttes connectées par coalescence partielle. L'émulsion diluée est introduite dans la cellule de dispersion remplie d'eau déionisée jusqu'à ce que l'obscurité du laser atteigne 5 %. Chaque mesure est réalisée deux fois.

Le diamètre moyen des gouttes d'une émulsion peut être exprimé en volume $D[4,3]$ ou en surface $D[3,2]$:

$$D[4,3] = \frac{\sum_i N_i \cdot d_i^4}{\sum_i N_i \cdot d_i^3} \quad (\text{Eq. 56})$$

$$D[3,2] = \frac{\sum_i N_i \cdot d_i^3}{\sum_i N_i \cdot d_i^2} \quad (\text{Eq. 57})$$

où N_i est le nombre et le volume des gouttes de diamètre d_i . La polydispersité est définie comme :

$$P = \frac{1}{\bar{d}} \frac{\sum_i V_i \cdot |\bar{d} - d_i|}{\sum_i V_i} \quad (\text{Eq. 58})$$

où \bar{d} est le diamètre médian de la distribution de taille des gouttes. Plus cette valeur est faible, plus la distribution de taille des gouttes de l'émulsion est resserrée autour de sa médiane.

3.2. Stabilité macroscopique : Turbiscan

La stabilité macroscopique des émulsions est évaluée à l'aide d'un appareil Turbiscan Tower (Formulation, Toulouse, France). Cet appareil utilise la diffusion multiple de la lumière, de sorte que les émulsions n'ont pas à être diluées pour l'analyse. Elles sont introduites dans des tubes transparents de 60 mL. Un rayon lumineux monochromatique est envoyé sur le tube et deux détecteurs mesurent l'intensité du signal transmis et du signal rétrodiffusé sur toute la hauteur du tube. Les émulsions sont des systèmes opaques : elles ne présentent pas de signal en transmission. L'intensité du signal rétrodiffusé (BS) est fonction de la taille et la concentration des gouttes rencontrées par le rayon lumineux (Figure 63). Si les gouttes sont grosses et/ou concentrées, la longueur de pénétration du rayon lumineux dans l'échantillon est faible et l'intensité du signal rétrodiffusé est importante (haut du tube sur le schéma). Si au contraire, les gouttes sont fines et/ou peu concentrées, la longueur de pénétration est plus et l'intensité du signal rétrodiffusé est faible (bas du tube dans l'exemple).

En suivant l'évolution de ce signal sur toute la hauteur du tube au cours du temps, il est possible de mettre en évidence des phénomènes migratoires tels que crémage et la sédimentation, ou la coalescence des gouttes. Par exemple, en cas de crémage, la concentration des gouttes et donc l'intensité du signal de rétrodiffusion augmentent en haut du tube, et la tendance opposée est observée au bas du tube.

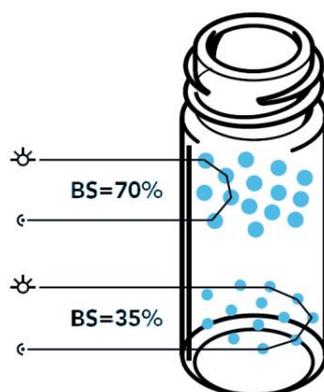


Figure 63 : Intensité du rayon rétrodiffusé (BS) en fonction de la taille et de la concentration des gouttes de l'émulsion (document technique Formulation)

En pratique, 35 mL d'émulsion chaude sont introduits à la pipette dans le tube en verre. L'appareil est thermostaté à la température d'étude (5 °C) et le tube est introduit dans le Turbiscan. Six tubes peuvent être étudiés simultanément.

Cet appareil peut être détourné de son usage conventionnel pour déterminer le temps d'induction de la cristallisation de la matière grasse laitière en phase continue. La MGLA fondue étant transparente, elle laisse passer le rayon incident à travers le tube pendant la période d'induction. Quand les premiers cristaux de MGLA se forment, le système se trouble et le signal de transmission diminue alors très rapidement. La Figure 64 montre l'évolution relative du signal rétrodiffusé (ΔT) au cours du temps de cristallisation. Le temps d'induction est alors déterminé de deux manières (Figure 64) :

- Soit à partir du temps pour lequel le signal en transmission diminue de 1 %
- Soit par intersection de la tangente avec l'origine.

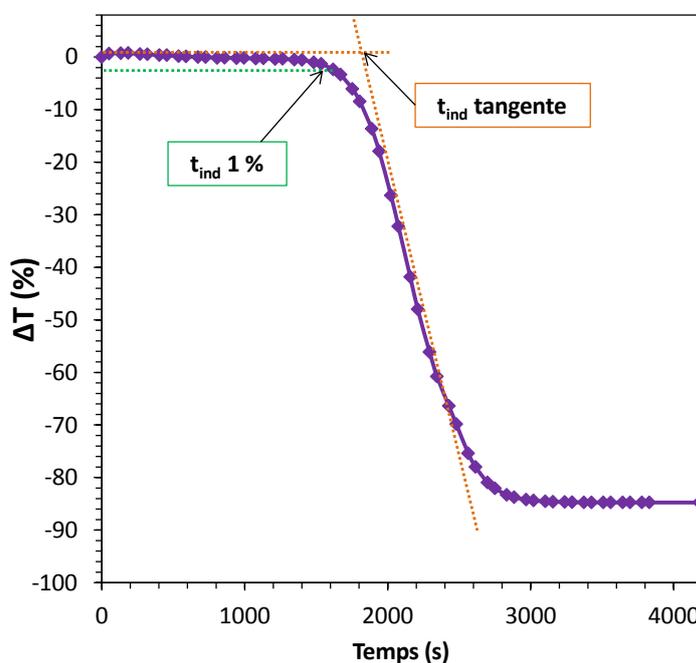


Figure 64 : Évolution du signal relatif de transmission mesure au Turbiscan sur un tube de MGLA en cours de cristallisation. Détermination du temps d'induction de cristallisation de la MGLA en phase continue par la méthode des tangentes ($t_{ind} tangente$) ou pour 1% de variation du signal transmis ($t_{ind} 1\%$)

3.3. Étude des interfaces : Tensiométrie de surface

Les modulateurs ajoutés à la matière grasse peuvent avoir des propriétés tensio-actives et entrer en compétition avec les protéines pour occuper l'interface eau/huile. Ces propriétés sont étudiées au moyen d'un tensiomètre à goutte Tracker (Teclis). Une goutte de matière grasse est formée dans l'eau au moyen d'une seringue. Comme l'huile est moins dense que l'eau, la goutte est montante. La poussée d'Archimède tend à étirer la goutte dans la direction verticale alors que la tension de surface tend à préserver la surface minimale.

L'équilibre qui régit la forme de la goutte est décrit en tout point de sa surface par l'équation de Laplace Young :

$$\gamma \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) = (\rho_{huile} - \rho_{eau})gz + \frac{2\gamma}{R_0} \quad (\text{Eq. 59})$$

où γ est la tension de surface entre l'eau et l'huile, ρ la masse volumique, R_1 et R_2 les deux rayons de courbure au point considéré, z son abscisse, et R_0 la courbure au sommet (apex) de la goutte. Le logiciel détermine la valeur de γ permettant le meilleur ajustement avec la forme réelle de la goutte. Pour cela, le tensiomètre est équipé d'une caméra filmant la goutte rétroéclairée (Figure 65). En maximisant le contraste entre la goutte et la phase continue, le Tracker peut en déterminer le contour et de déterminer la valeur de la tension de surface, en temps réel.

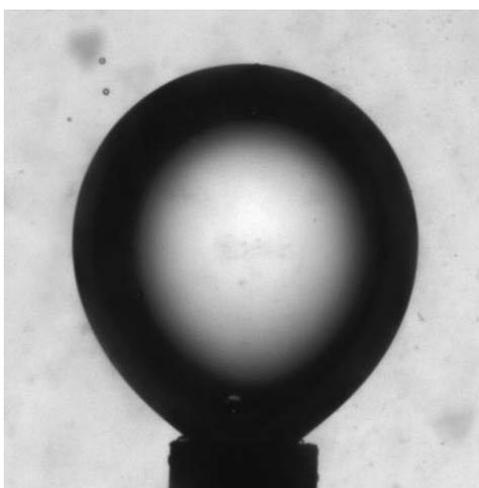


Figure 65 : Tensiométrie de surface : goutte montante de matière grasse dans l'eau

En pratique, le système est thermostaté et des mesures de tension de surface sont réalisées à 25 °C et 40 °C. Les modulateurs sont préalablement dissouts dans la matière grasse à des concentrations variables et la phase continue est constituée d'eau ultrapure ou de solutions de caséinate à 0,33 %. Une fois la goutte formée, la tension de surface diminue avec l'adsorption des molécules amphiphiles à l'interface. L'équilibre est atteint quand la tension de surface ne varie plus. La cinétique d'adsorption des protéines est lente. Pour éviter les variations de taille de la goutte sur de longs temps de mesure, son volume est maintenu constant de manière dynamique.

4. Synthèse des différents systèmes étudiés et analyses réalisées

La cristallisation des mélanges de MGLA et de composés mineurs en phase continue a fait l'objet d'analyses par différentes techniques, à différentes températures, répertoriées dans le Tableau 12. Tous les modulateurs ont été étudiés par RMN à 25 °C. Pour les autres conditions et méthodes, les analyses ont été réalisées sur une sélection de composés mineurs.

Tableau 12 : Synthèse des analyses réalisées sur les mélanges de MGLA et modulateurs en phase continue

	RMN		DRX		Rhéologie		Microscopie		DSC	Turbidimétrie
	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	5°C	25 °C
2:0	1									
3:0	1 +	1			1	1	1	1	1	
4:0	1 m	1	1		1	1	1 m		1	1
5:0	1									
6:0	1 +	1			1	1	1	1	1	
2-et-6:0	1									
7:0	1									
8:0	1				1		1		1	
9:0	1									
10:0	1				1					
12:0	1	1			1	1			1	
14:0	1	1			1	1	1		1	
16:0	1 + m	1	1 +	1	1	1	1+ m	1	1	1
18:0	1 +	1				1	1	1	1	
18:1	1 +	1			1	1	1	1	1	
18:2	1									
20:0	1 +	1			1			1	1	
AAA	1 +									
PPP	1 + m	1	1		1	1	1 m	1	1	1
SSS	1 +	1			1	1	1	1	1	
5ane	1									
gly	1									
2-7ol	1									
6al	1									
2-7one	1									
etOac	1									
etObut	1 m				1		1 m		1	1
δ-déca	1									

1 : modulateur étudié à 1 % massique

+ : modulateur étudié à concentrations variables

m : modulateur étudié en mélange

Les systèmes émulsionnés ont fait l'objet de deux types d'analyse : la caractérisation des émulsions, d'une part, et le suivi de la cristallisation avec et sans modulateur, d'autre part. Les analyses réalisées sont synthétisées dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Synthèse des analyses réalisées sur les systèmes de MGLA émulsionnés en présence ou non de modulateur, pour différents types et conditions d'émulsification

	Émulsification	Granulométrie	Microscopie	Turbiscan	RMN	DSC	Rhéologie
MGLA seule	0 bar	x	x	x	x	x	x
	50 bars	x	x	x	x	x	x
	500 bars	x	x	x	x	x	x
	cellule de Couette	x	x				x
MGLA + 18:1	0 bar	x	x	x	x	x	x
	50 bars	x	x	x	x	x	x
	500 bars	x	x	x	x	x	x
MGLA + 3:0	0 bar	x	x	x	x	x	x
	50 bars	x	x	x	x	x	x
	500 bars	x	x	x	x	x	x
MGLA + 16:0	0 bar	x	x	x	x	x	x
	50 bars	x	x	x	x	x	x
	500 bars	x	x	x	x	x	x
	cellule de Couette	x	x				x
MGLA + PPP	0 bar	x	x	x	x	x	x
	50 bars	x	x	x	x	x	x
	500 bars	x	x	x	x	x	x

18:1 : acide oléique
 3:0 : acide propionique
 16:0 : acide palmitique
 PPP : tripalmitine

5. Traitements statistiques

Les analyses ont généré un nombre conséquent de résultats quantitatifs. Pour avoir une vision globale de l'effet des modulateurs sur le comportement physique de la MGLA et établir des liens entre leur nature chimique et leurs effets sur la cristallisation, des analyses factorielles multiples (AFM) et analyses en composantes principales (ACP) sont mises en place. Elles permettent de représenter un jeu de données multiples dans un nombre limité de dimensions. Dans notre étude, les modulateurs ou mélanges de modulateurs constituent les individus (lignes) et les résultats des analyses constituent les variables (colonnes) d'une grande matrice de résultats M . Réaliser l'ACP de ces résultats revient à diagonaliser la matrice de variance-covariance de M , *i.e.* diagonaliser $M^t \cdot M$. Les vecteurs propres obtenus constituent les nouvelles variables d'observation du système, combinaisons linéaires des variables de départ et orthogonales entre elles. Les valeurs propres qui leur sont associées sont égales à la variance expliquée par chacun de ces vecteurs. En ACP, on représente généralement le plan constitué des deux vecteurs propres ayant les plus grandes valeurs

propres, car leur contribution à la variance est dominante. Dans le cas de l'AFM, des groupes de variables sont constitués avant de réaliser l'analyse multivariée et ils sont pondérés par leur première valeur propre.

Les analyses statistiques ont été réalisées sur le logiciel R version 3.1.2 et son package *FactoMineR*. Comme les résultats ne sont pas exprimés dans les mêmes unités en fonction des analyses, la matrice des résultats est préalablement centrée et réduite.

Bibliographie du chapitre 2

- [1] C. Mabilie, F. Leal-Calderon, J. Bibette, V. Schmitt, Monodisperse fragmentation in emulsions: Mechanisms and kinetics, *EPL Europhys. Lett.* 61 (2003) 708.
- [2] G.I. Taylor, F.R. S, The formation of emulsions in definable fields of flow, *Proc R Soc Lond A.* 146 (1934) 501–523.
- [3] C. Mabilie, V. Schmitt, P. Gorria, F. Leal Calderon, V. Faye, B. Deminière, J. Bibette, Rheological and Shearing Conditions for the Preparation of Monodisperse Emulsions, *Langmuir.* 16 (2000) 422–429.
- [4] G. Bylund, T. Pak, *Dairy processing handbook*, Tetra Pak Processing Systems AB Lund, 2003.

Chapitre 3

Effet des composés mineurs sur la cristallisation de la matière grasse laitière en phase continue

La matière grasse laitière est composée à plus de 98 % de triglycérides. Les autres constituants sont regroupés dans la catégorie des « composés mineurs ». Ce terme désigne des composés naturellement présents dans la matière grasse et des molécules ajoutées. Par exemple, les procédés fromagers contribuent à complexifier davantage la composition de la matière grasse en générant des composés tels que des acides gras libres issus de la lipolyse. De manière générale, bien qu'ils soient minoritaires, ces composés peuvent avoir un effet non négligeable sur la cristallisation de la matière grasse laitière.

L'objectif de ce chapitre est d'analyser le comportement d'une trentaine de composés mineurs afin d'identifier ceux qui sont susceptibles de moduler la cristallisation de la matière grasse laitière. Cette cartographie permettra de sélectionner des modulateurs d'intérêt qui seront étudiés de manière plus approfondie, seuls ou en mélange, à différentes concentrations, lors de la cristallisation isotherme ou dynamique de la matière grasse laitière.

1. Influence des composés mineurs sur la cinétique de cristallisation de la matière grasse laitière anhydre à 25 °C

1.1. Choix des composés mineurs

Au cours de la transformation du lait, la lipolyse des triglycérides conduit à la formation de diglycérides, monoglycérides, acides gras libres et glycérol, suivant la réaction d'hydrolyse catalysée par les lipases.

L'effet du glycérol, de monoglycérides et de diglycérides sur la cristallisation de la matière grasse laitière a déjà été étudié (cf. chapitre 1). Mais, à notre connaissance, aucune étude n'a porté sur l'influence des acides gras libres. Pourtant, ces molécules sont très importantes dans le domaine laitier. Dans la crème et le beurre, la lipolyse doit être maîtrisée, car elle est

responsable de défauts aromatiques. À l'inverse, elle est souhaitée dans l'univers fromager. Elle survient au cours de l'affinage des fromages et participe aux caractéristiques organoleptiques des produits finis. On retrouve environ 1 % de matière grasse lipolysée dans l'Emmental et jusqu'à 25 % de matière grasse lipolysée dans le Bleu [1]. Les acides gras à chaîne courte, l'acide acétique (2:0), l'acide propionique (3:0) et l'acide butyrique (4:0), sont également produits dans le fromage par fermentation. Dans le fromage, les acides gras libres sont aussi des précurseurs de réactions cataboliques conduisant à la formation de molécules organiques volatiles comme des cétones, des lactones, des esters ou des alcanes [1,2].

Dans cette étude, les composés mineurs étudiés reflètent les acides gras libres et les molécules organiques issus des différentes réactions citées. Certaines molécules comme le glycérol et des triglycérides homogènes exogènes seront aussi étudiées pour mieux comprendre les mécanismes de cristallisation (Tableau 10, chapitre 2). Le choix de molécules étudiées permet de discuter des effets de la nature chimique, de la longueur de la chaîne carbonée, du degré d'insaturation et du niveau d'estérification sur la cristallisation de la MGLA.

Les composés mineurs peuvent être déjà présents dans la matière grasse d'étude, qui sera néanmoins étudiée sans purification préalable. Dans un premier temps, l'effet des composés mineurs sera évalué par ajout fixe de 1 % massique dans la MGLA, le comportement à la cristallisation du mélange étant comparé à la MGLA sans ajout. De plus, le même lot de MGLA sera utilisé tout au long de ce travail pour éviter les variations de composition.

1.2. Choix des conditions de cristallisation

L'étude bibliographique a mis en évidence l'importance de la surfusion sur l'action cinétique des composés mineurs. À de faibles degrés de surfusion, la force motrice de la cristallisation est peu importante et l'action des composés mineurs est favorisée. La limite supérieure du domaine de fusion de la MGLA étudiée, établie par DSC, est de 35 °C. Dans cette première partie, l'effet potentiel des modulateurs sur la cristallisation de la MGLA est étudié en conditions statiques à 25 °C, soit avec 10 °C de surfusion. Le mélange MGLA et du modulateur est préalablement fondu à 80 °C (soit 5 °C supérieurs à la température de fusion de l'additif au plus haut point de fusion) avant cristallisation. La cristallisation isotherme est

suivie par RMN bas champ, une méthode simple et rapide à mettre en œuvre. Elle est donc bien adaptée à une démarche de criblage.

1.3. Cinétique de cristallisation de la MGLA en isotherme à 25 °C

La Figure 66 présente la cinétique de cristallisation de la MGLA brute à 25 °C. À cette température, le degré de surfusion est faible et la MGLA cristallise en une étape. L'évolution du taux de solide au cours du temps décrit une sigmoïde, avec un point d'inflexion et une asymptote aux temps longs (taux de solide final). Partant de l'état fondu de la matière grasse, le taux de solide reste très faible pendant une période de plus de 25 minutes appelée temps d'induction. Puis, il augmente rapidement, jusqu'à atteindre un plateau proche de 10 % de matière solide au bout de 4 heures.

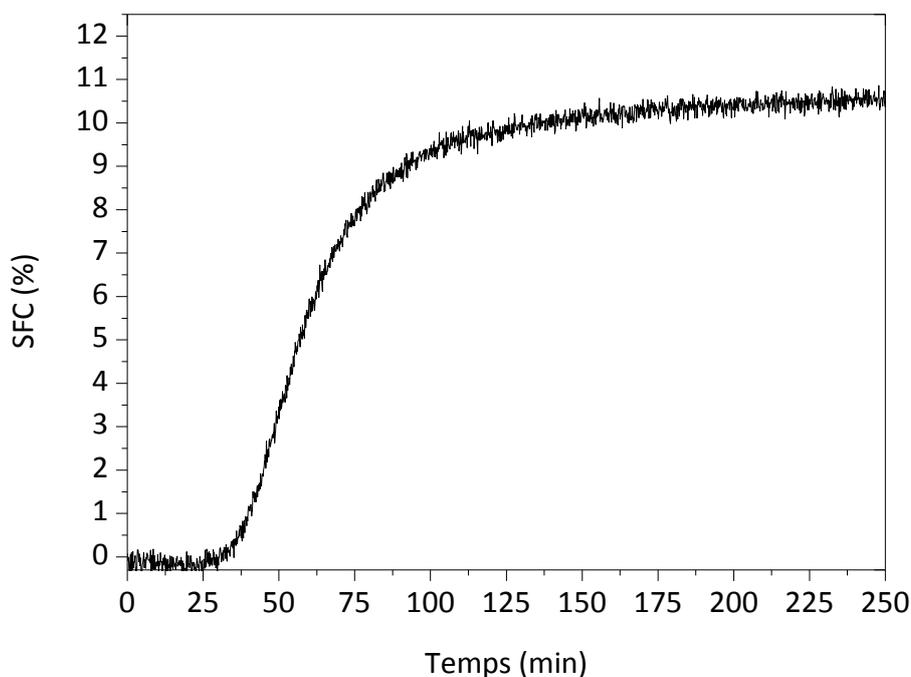


Figure 66 : Cristallisation isotherme de la MGLA à 25°C suivie par le taux de solide (SFC) déterminé par RMN bas champ

Le criblage des modulateurs permet de classer visuellement les composés mineurs ajoutés en trois catégories : ceux qui n'ont pas d'effet, ceux qui accélèrent la cristallisation de la MGLA, et ceux qui la retardent. La Figure 67 illustre ces trois comportements. L'ajout d'acide oléique à 1 % retarde la cristallisation, en doublant le temps d'induction par rapport à celui de la MGLA. La cristallisation est moins rapide mais le taux de solide final tend vers la même valeur. À l'inverse, l'ajout de tripalmitine à la même concentration accélère la cristallisation et augmente le taux de solide final (11,9 % vs 10,2 % pour la MGLA). Ces deux additifs sont

donc des modulateurs de cristallisation. La triacétine n'a pas d'effet sur la cinétique de cristallisation de la MGLA.

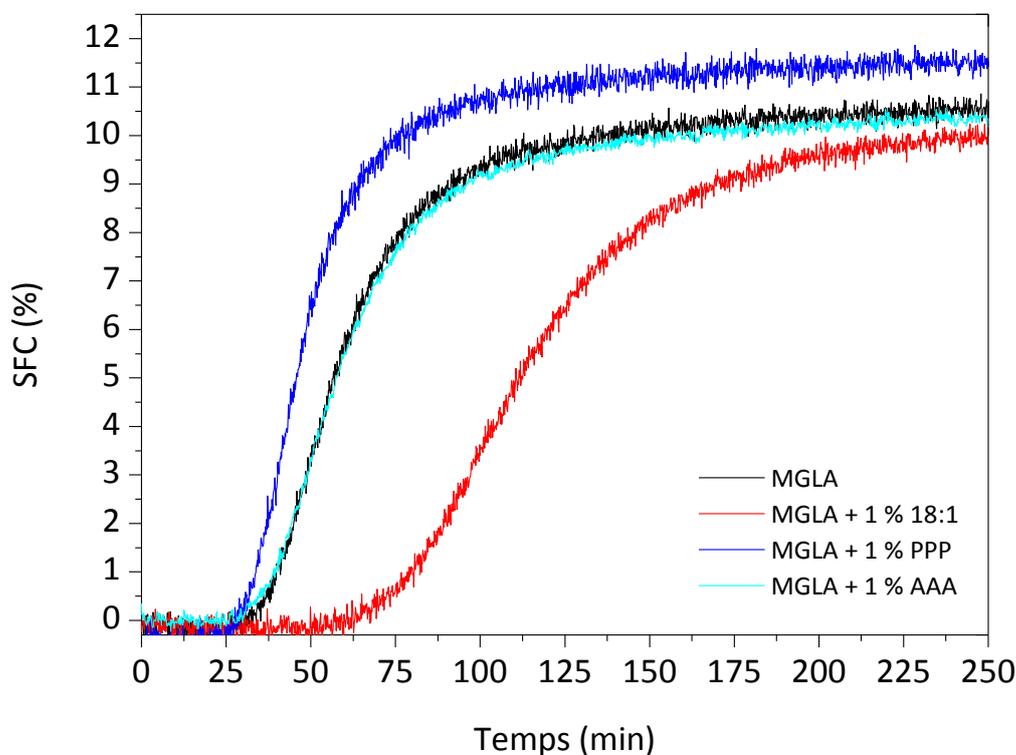


Figure 67 : Cristallisation isotherme de la MGLA à 25 °C suivie par le taux de solide (SFC) déterminé par RMN avec et sans composés mineurs ajoutés à 1 % massique (18:1 : acide oléique ; PPP : tripalmitine ; AAA : triacétine)

Le Tableau 14 synthétise l'impact des modulateurs additionnés à la MGLA à 1 % massique, comparativement à la MGLA seule. À 25 °C, quel que soit le modulateur, la forme sigmoïdale de l'évolution du taux de solide est préservée. L'ensemble des courbes est présenté en Annexe 3. En première approche, il apparaît que les molécules dont le point de fusion est supérieur à 25 °C accélèrent la cristallisation de la MGLA. Les molécules à l'état liquide à cette température retardent ce phénomène, sauf la triacétine, liquide, qui n'impacte pas la cristallisation de la MGLA.

Tableau 14 : Influence des modulateurs sur la cristallisation de la MGLA à 25 °C suivie par le taux de solide (SFC) déterminé par RMN bas champ

Accélérateurs	Inhibiteurs		Sans effet
	2:0	14:0	Triacétine
16:0	3:0	18:1	
18:0	4:0	18:2	
20:0	5:0	5ane	
PPP	6:0	Gly	
SSS	2-et-6:0	2-7ol	
	7:0	6al	
	8:0	2-7one	
	9:0	etOac	
	10:0	etObut	
	12:0	δ-déca	

1.4. Modélisation des cinétiques de cristallisation isotherme

Afin de comparer les modulateurs et formuler les premières hypothèses quant à leur mécanisme d'action sur la cristallisation de la MGLA, les cinétiques de cristallisation ont été modélisées à l'aide des modèles non-linéaires d'Avrami, Gompertz et Foubert (cf. Chapitre 1, § 1.5.2). Ces modèles sont ajustés à toutes les cinétiques du criblage, par l'algorithme de Levenberg-Maquart. Les équations 16, 24 et 30 des modèles à une étape sont utilisées. La Figure 68 illustre l'ajustement de ces trois modèles aux données de cristallisation de la MGLA seule.

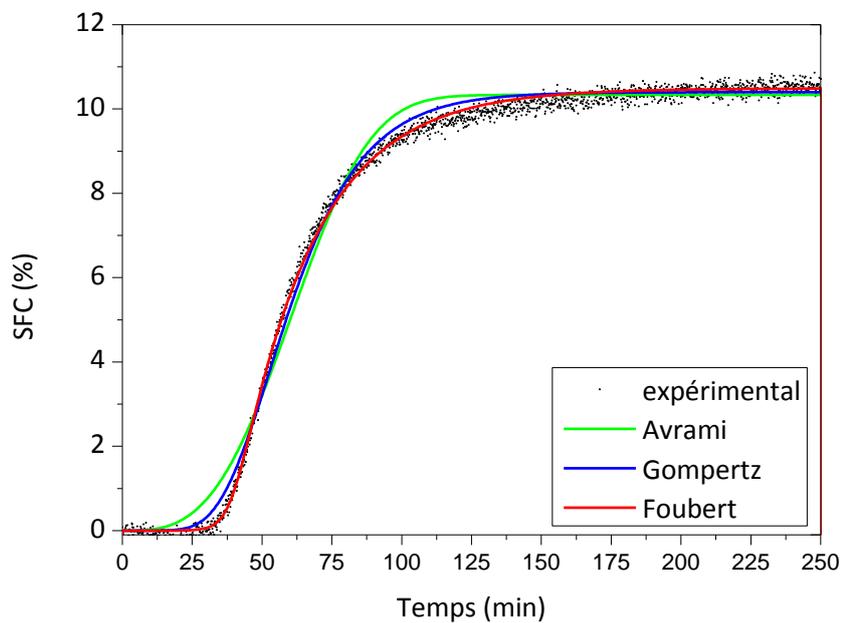


Figure 68 : Ajustement des modèles d'Avrami, Gompertz et Foubert aux données expérimentales de cristallisation de la MGLA à 25°C

Les paramètres obtenus avec les modèles d'Avrami, Gompertz et Foubert pour l'ensemble des modulateurs et la performance des ajustements sont présentés respectivement dans le Tableau 15, le Tableau 16 et le Tableau 17.

Tableau 15 : Paramètres et performances d'ajustement du modèle d'Avrami aux données expérimentales de la cinétique de cristallisation isotherme de la MGLA à 25 °C, avec et sans ajout de composés mineurs à 1 %

Modulateur	Avrami			r ² ajusté
	a_A (%)	k_A (min ⁻ⁿ)	n_A (-)	
MGLA	10,2	$6,61 \cdot 10^{-6}$	2,85	0,984
MGLA	10,3	$2,50 \cdot 10^{-6}$	3,05	0,992
2:0	9,0	$2,24 \cdot 10^{-7}$	3,19	0,983
3:0	10,1	$4,58 \cdot 10^{-7}$	2,88	0,988
4:0	9,2	$2,80 \cdot 10^{-7}$	3,15	0,982
5:0	9,3	$7,59 \cdot 10^{-8}$	3,23	0,992
6:0	10,0	$1,63 \cdot 10^{-7}$	3,1	0,992
2et-6:0	9,6	$4,92 \cdot 10^{-8}$	3,34	0,992
7:0	9,3	$2,47 \cdot 10^{-8}$	3,47	0,991
8:0	9,6	$9,07 \cdot 10^{-8}$	3,21	0,992
9:0	9,3	$5,79 \cdot 10^{-8}$	3,29	0,992
10:0	10,1	$1,13 \cdot 10^{-7}$	3,19	0,991

Partie 1 : Cristallisation en phase continue

Avrami				
Modulateur	a_A (%)	k_A (min^{-n_A})	n_A (-)	r^2 ajusté
12:0	9,3	$2,36 \cdot 10^{-8}$	3,49	0,99
14:0	10,6	$3,20 \cdot 10^{-6}$	2,79	0,991
16:0	10	$3,75 \cdot 10^{-7}$	3,88	0,987
18:0	10,2	$1,26 \cdot 10^{-6}$	3,35	0,986
18:1	10,5	$7,48 \cdot 10^{-8}$	3,36	0,992
18:2	9,7	$8,39 \cdot 10^{-9}$	3,71	0,992
20:0	10,7	$7,55 \cdot 10^{-6}$	2,95	0,982
AAA	10,3	$4,17 \cdot 10^{-6}$	2,92	0,99
PPP	11,8	$3,07 \cdot 10^{-6}$	3,16	0,989
SSS	11,5	$1,80 \cdot 10^{-6}$	3,4	0,988
gly	9,4	$6,72 \cdot 10^{-8}$	3,44	0,991
2-7one	9,3	$5,05 \cdot 10^{-5}$	2,23	0,986
2-7ol	9,3	$4,08 \cdot 10^{-5}$	2,3	0,980
5ane	9,2	$6,27 \cdot 10^{-5}$	2,2	0,977
EtOac	9,0	$9,43 \cdot 10^{-5}$	2,09	0,977
EtObut	9,1	$9,67 \cdot 10^{-5}$	2,09	0,975
delta deca	9,4	$1,62 \cdot 10^{-5}$	2,41	0,984

a_A : taux de solide final ; k_A constante de vitesse ; n_A : exposant d'Avrami

Tableau 16 : Paramètres et performances d'ajustement du modèle de Gompertz aux données expérimentales de la cinétique de cristallisation isotherme de la MGLA à 25 °C, avec et sans ajout de composés mineurs à 1 %

Gompertz				
Modulateur	a_G (%)	μ ($\% \cdot \text{min}^{-1}$)	λ (min)	r^2 ajusté
MGLA	10,2	0,194	29,8	0,989
MGLA bis	10,3	0,200	34,0	0,997
2:0	9,1	0,100	61,2	0,989
3:0	10,2	0,082	75,4	0,995
4:0	9,3	0,103	60,2	0,989
5:0	9,8	0,077	80,0	0,993
6:0	10,1	0,088	76,6	0,998
2et-6:0	10	0,086	79,8	0,995
7:0	9,7	0,086	83,0	0,995
8:0	10	0,081	78,4	0,994
9:0	9,8	0,081	80,8	0,995
10:0	10,5	0,09	75,1	0,993
12:0	9,7	0,088	82,3	0,994
14:0	10,7	0,142	42,1	0,994
16:0	10	0,359	26,2	0,994
18:0	10,2	0,258	30,5	0,993
18:1	10,6	0,116	69,4	0,997
18:2	10,1	0,100	84,2	0,996
20:0	10,7	0,266	26,8	0,99
AAA	10,3	0,191	33,1	0,996
PPP	11,9	0,294	28,1	0,995
SSS	11,5	0,346	26,1	0,994
gly	9,7	0,112	64,5	0,995
2-7one	9,3	0,118	30,4	0,990
2-7ol	9,4	0,124	30,5	0,985
5ane	9,3	0,121	29,2	0,982
EtOac	9,0	0,104	27,5	0,981
EtObut	9,2	0,107	26,3	0,977
delta deca	9,5	0,106	37,6	0,988

a_G : taux de solide final ; μ : vitesse maximale de cristallisation ; λ : temps d'induction

Tableau 17 : Paramètres et performances d'ajustement du modèle de Foubert aux données expérimentales de la cinétique de cristallisation isotherme de la MGLA à 25 °C, avec et sans ajout de composés mineurs à 1 %

Foubert					
Modulateur	a_F (%)	K_F (min^{-1})	n_F (-)	SFC(0) (%)	r^2 ajusté
MGLA	10,3	$3,51 \cdot 10^{-2}$	7,8	$3,5 \cdot 10^{-4}$	0,991
MGLA bis	10,5	$3,59 \cdot 10^{-2}$	8,2	$5,5 \cdot 10^{-5}$	0,999
2:0	9,3	$1,95 \cdot 10^{-2}$	8,2	$7,5 \cdot 10^{-5}$	0,991
3:0	10,2	$1,46 \cdot 10^{-2}$	10,9	$3,6 \cdot 10^{-6}$	0,998
4:0	9,5	$1,90 \cdot 10^{-2}$	11,2	$2,2 \cdot 10^{-6}$	0,991
5:0	9,9	$1,77 \cdot 10^{-2}$	3,8	$1,6 \cdot 10^{-2}$	0,994

6:0	10,3	$1,58.10^{-2}$	8,8	$2,7.10^{-5}$	0,999
2et-6:0	10,2	$1,73.10^{-2}$	4,7	$4,5.10^{-3}$	0,995
7:0	10,1	$1,67.10^{-2}$	5,3	$1,9.10^{-3}$	0,995
8:0	10,2	$1,72.10^{-2}$	4,2	$1,2.10^{-2}$	0,994
9:0	10,2	$1,54.10^{-2}$	5,4	$2,9.10^{-3}$	0,995
10:0	10,6	$2,06.10^{-2}$	3,4	$2,3.10^{-2}$	0,994
12:0	10,1	$1,62.10^{-2}$	6,1	$6,8.10^{-4}$	0,995
14:0	10,8	$2,69.10^{-2}$	5,1	$6,7.10^{-3}$	0,995
16:0	10,1	$6,45.10^{-2}$	11,0	$9,3.10^{-9}$	0,997
18:0	10,3	$4,54.10^{-2}$	12,2	$3,0.10^{-8}$	0,997
18:1	10,6	$2,10.10^{-2}$	7,2	$5,6.10^{-5}$	0,998
18:2	10,4	$1,90.10^{-2}$	5,3	$6,6.10^{-4}$	0,997
20:0	10,8	$4,44.10^{-2}$	13,8	$3,2.10^{-8}$	0,996
AAA	10,4	$3,43.10^{-2}$	8,8	$4,2.10^{-5}$	0,998
PPP	11,9	$4,56.10^{-2}$	9,5	$5,9.10^{-6}$	0,997
SSS	11,6	$5,45.10^{-2}$	10,9	$1,8.10^{-7}$	0,997
gly	10	$2,13.10^{-2}$	6,3	$4,1.10^{-4}$	0,996
2-7one	9,4	$2,35.10^{-2}$	7,9	$2,3.10^{-3}$	0,993
2-7ol	9,5	$2,33.10^{-2}$	10,5	$2,9.10^{-4}$	0,989
Sane	9,4	$2,26.10^{-2}$	11,2	$2,8.10^{-4}$	0,987
EtOac	9,2	$1,94.10^{-2}$	14,7	$9,3.10^{-5}$	0,987
EtObut	9,4	$2,00.10^{-2}$	9,6	$3,3.10^{-3}$	0,982
delta deca	9,6	$2,07.10^{-2}$	7,6	$2,3.10^{-2}$	0,991

a_F : taux de solide final ; K_F constante de vitesse globale ; n_F : ordre de la réaction inverse ; $SFC(0)$: taux de solide initial

Le modèle d'Avrami permet un ajustement correct, avec un r^2 ajusté supérieur à 0,97 pour tous les modulateurs. Le modèle de Gompertz est plus performant avec des valeurs de r^2 ajusté supérieures. Par ailleurs, l'analyse statistique montre que tous les paramètres de ces deux modèles sont significatifs pour tous les modulateurs. Le modèle de Foubert est le plus performant des trois modèles en termes d'ajustement. En revanche, son quatrième paramètre $SFC(0)$ n'est pas significatif, comme le montre le Tableau 18 relatif à la MGLA seule. L'écart type de $SFC(0)$ est deux fois plus important que la valeur elle-même. Il a été montré par des simulations numériques que ce paramètre n'impacte que le temps d'induction [3]. Or, le temps d'induction est également influencé par les valeurs de K_F et n_F [3]. Le paramètre $SFC(0)$ ne sera donc pas pris en compte pour comparer les modulateurs.

Tableau 18 : Statistiques des paramètres du modèle de Foubert

Paramètre	Valeur estimée	Écart type	t-valeur (valeur / écart type)	Intervalle de confiance 95%	
				borne inf	borne sup
a	10,289139	0,033108	310,776105	10,223738	10,354540
K	0,035070	0,001383	25,360411	0,032339	0,037802
n	7,777111	1,645707	4,725697	4,526203	11,028018
SFC(0)	0,000346	0,000655	0,528211	-0,000948	0,001640

Parmi les molécules identifiées comme des inhibiteurs, le glycérol, les acides gras à chaîne courte et moyenne (< 12 carbones) et les acides gras insaturés (18:1 et 18:2) diminuent significativement la constante de vitesse d'Avrami k_A , la vitesse maximale de Gompertz μ et la constante de vitesse globale de Foubert k_F . Ils augmentent considérablement le temps d'induction λ . Globalement, les acides gras à chaîne courte et le glycérol diminuent aussi légèrement le taux de solide final a , alors que les acides gras insaturés ne modifient pas

cette valeur. Les autres inhibiteurs identifiés précédemment (Tableau 14) n'ont pas les mêmes conséquences sur les paramètres cinétiques. Les molécules organiques volatiles, comme le 2-heptanol, la 2-heptanone ou l'acétate d'éthyle diminuent le taux de solide final et la vitesse de cristallisation de Gompertz μ , mais altèrent peu le temps d'induction λ . Contrairement aux acides gras libres, ils augmentent la constante de vitesse d'Avrami k_A et diminuent significativement l'exposant n_A . Les accélérateurs de cristallisation augmentent la vitesse de cristallisation de Gompertz λ et la constante de réaction de Foubert K_F . Ils augmentent aussi l'exposant d'Avrami n_A et l'ordre de la réaction inverse de Foubert n_F . Ils diminuent le temps d'induction. De plus, les triglycérides PPP et SSS augmentent le taux de solide final.

Ces données quantitatives permettent de comparer objectivement les modulateurs. Mais il est difficile de comparer simultanément tous les modulateurs suivant tous les paramètres des modèles. Une analyse statistique multivariée peut aider à l'interprétation globale de ces résultats.

1.5. Analyse multivariée

Pour réaliser une cartographie cinétique des modulateurs de cristallisation, une analyse factorielle multiple (AFM) est réalisée sur les paramètres de ces trois modèles, à l'exception du $SFC(0)$ du modèle de Foubert. En prenant comme groupes de variables distincts les trois modèles cinétiques, cette méthode permet de comparer les modèles en leur attribuant des inerties équivalentes. La représentation d'un modulateur sur la carte factorielle est alors placée au barycentre de ses représentations pour chacun des trois modèles (Figure 69).

Le premier plan de l'AFM, en Figure 69, représente plus de 82% de la variance globale. La représentation à deux dimensions des variables (paramètres cinétiques) et des individus (modulateurs) résume bien ce qu'il se passe dans un espace à 9 dimensions constitué de tous les paramètres.

Le cercle des corrélations (Figure 69A) permet de comparer les paramètres des différents groupes. L'ensemble des variables cinétiques prises en compte étant proches du cercle de l'unité, elles sont bien représentées dans ce plan 1-2. Les facteurs cinétiques a des trois modèles étant proches, les modèles sont consensuels quant à la détermination du taux de solide final. De plus, la constante de vitesse de Foubert k_F est très corrélée à la vitesse

maximale de Gompertz μ , mais ces deux paramètres ne sont pas corrélés à la constante de vitesse d'Avrami k_A , les vecteurs qui les représentent dans ce plan étant orthogonaux. À l'inverse, l'exposant d'Avrami n_A et sa constante de vitesse k_A sont anti-corrélés : quand l'un augmente, l'autre diminue. Il est possible qu'une croissance des cristaux selon plusieurs dimensions diminue la vitesse de croissance sur chacune des faces du cristal. Le paramètre n_F de Foubert est très anti-corrélé au temps d'induction de Gompertz. Cela suggère que plus l'ordre de la réaction inverse (la fusion) est élevé, plus la cristallisation commence tôt, conformément aux simulations mathématiques des auteurs du modèle [3].

L'intérêt de conserver les trois modèles cinétique pour le criblage peut être discutable. Il aurait été possible de se limiter au modèle de Gompertz qui est simple, converge bien, procure de bonnes performances d'ajustement et donne accès à des paramètres intuitifs pour l'interprétation des courbes. Mais les deux autres modèles permettent d'apporter des arguments mécanistiques supplémentaires pour comprendre l'action des modulateurs. Par exemple, le paramètre n_A d'Avrami informe sur les mécanismes de cristallisation et n'est pas corrélé avec les variations de temps d'induction ou de vitesse maximales de Gompertz.

L'étude de la dispersion des modulateurs sur la cartographie cinétique permet de les visualiser simultanément (Figure 69B). L'axe 1, horizontal, représente 49 % de la variance. La répartition des modulateurs suivant cet axe est en accord avec le classement qualitatif des modulateurs : à gauche de la MGLA se trouvent les molécules qui inhibent la cristallisation et à droite celles qui l'accélèrent. La triacétine, sans effet, est très proche du témoin. Les variables qui contribuent principalement à cet axe sont le taux de solide final, la vitesse maximale de cristallisation μ et la constante k_F de Foubert.

Les inhibiteurs de cristallisation semblent agir selon deux modes différents, répartis sur le second axe de l'AFM qui représente 34 % de la variance. Cet axe est principalement expliqué par les facteurs n_A , n_F , k_A et λ . Les acides gras libres à chaînes courtes ou insaturées sont localisés au bas de la carte, alors que les molécules organiques volatiles se situent dans la partie supérieure. À nombre égal de carbones, les acides gras libres augmentent considérablement le temps d'induction, alors que les esters, cétones, lactones, alcanes et alcools ne l'impactent pas. La fonction acide (et par conséquent la polarité de la molécule) semble donc jouer un rôle important dans le mécanisme d'inhibition de la cristallisation de la MGLA.

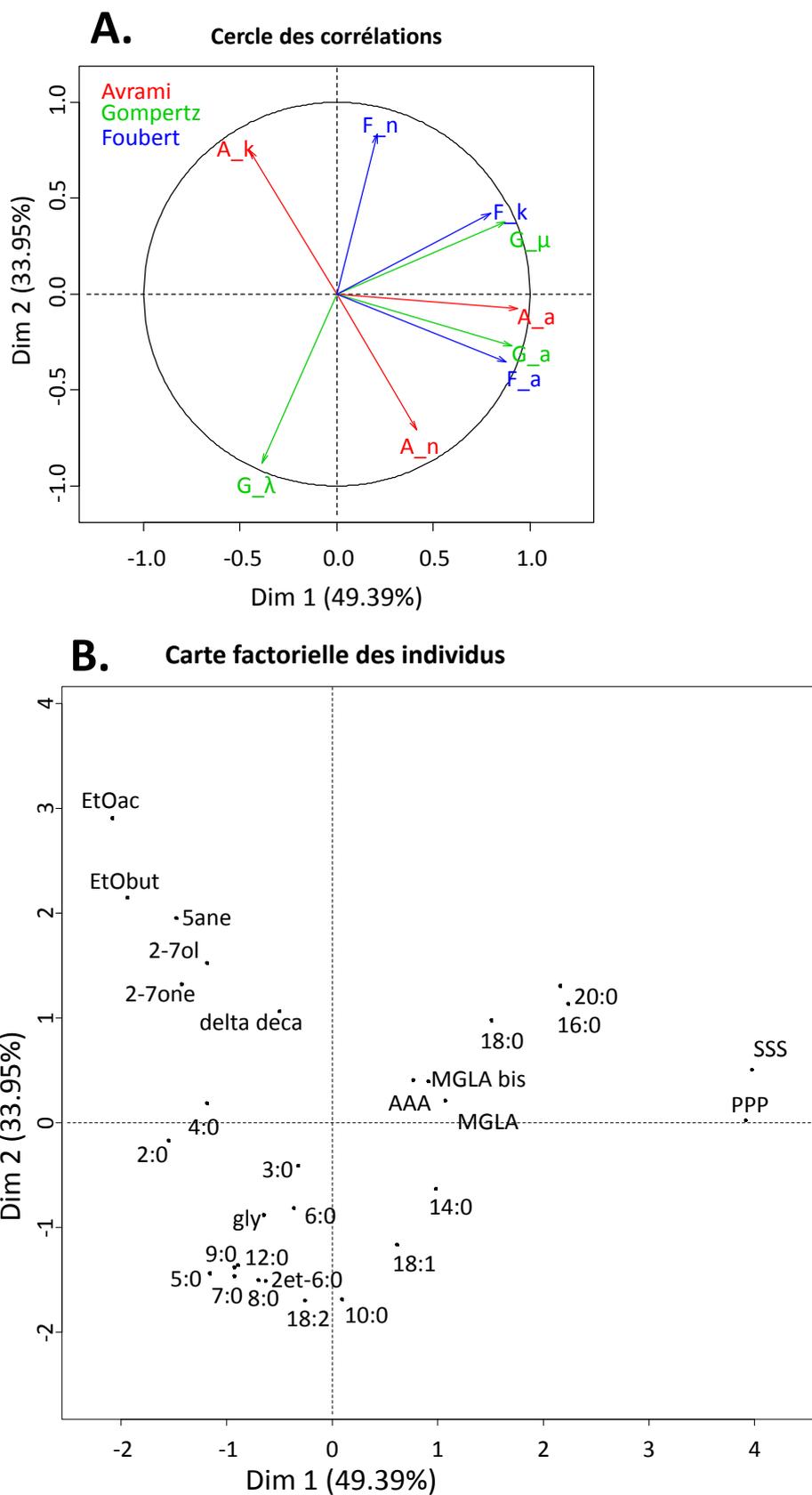


Figure 69 : Premier plan de l'analyse factorielle multiple réalisée sur les paramètres cinétiques des modèles d'Avrami, Gompertz et Foubert. A. Corrélation des variables (paramètres cinétiques) B. Cartes des individus (modulateurs)

En conclusion, cette cartographie permet de différencier les modulateurs de cristallisation de la MGLA selon leur mode d'action :

- Les triglycérides à chaînes saturées accélèrent la cristallisation et augmentent le taux de solide final.
- Les acides gras libres à longue chaîne saturée (> 16 carbones) accélèrent la cristallisation sans modifier le taux de solide final.
- Les inhibiteurs agissent cinétiquement de deux manières distinctes : les acides gras libres à chaîne courte ou insaturée ont un effet retard. Les petites molécules moins polaires, sans fonction acide, ralentissent aussi la cristallisation, mais sans allonger le temps d'induction.

À partir de ce criblage, nous avons sélectionné plusieurs modulateurs pour étudier de manière plus approfondie leur influence sur les mécanismes de cristallisation de la MGLA.

Les molécules choisies pour la suite de cette étude sont :

- Les acides gras libres à longueur de chaînes et degré d'insaturation variables ;
- Les triglycérides PPP (tripalmitine) et SSS (tristéarine) pour évaluer l'impact de l'estérification ;
- Le butanoate d'éthyle, représentant des autres petites molécules organiques moins polaires, pour appréhender le rôle de la fonction acide carboxylique des acides gras libres.

2. Impact des composés mineurs sur la structure de la matière grasse laitière à 25 °C

Les acides gras libres et les triglycérides exogènes modulent la cinétique de cristallisation de la matière grasse laitière. L'objectif de ce chapitre est de caractériser la structure de la matière grasse laitière afin d'émettre des hypothèses sur leurs mécanismes d'action. La structure cristalline de la MGLA avec et sans modulateur est étudiée à différentes échelles : la nanostructure, avec l'étude des distances réticulaires par diffraction des rayons X, la microstructure, par microscopie à lumière polarisée, et la macrostructure par rhéologie.

2.1. Étude de la nanostructure de la MGLA en présence ou non de modulateurs

La cinétique de cristallisation à 25 °C de la matière grasse préalablement fondue à 80 °C est suivie par diffraction des rayons X. La mesure est appliquée à la MGLA seule ainsi qu'en présence des modulateurs suivants ajoutés à 1% massique : l'acide palmitique, la tripalmitine et l'acide butyrique.

2.1.1. Cristallisation isotherme de la MGLA à 25 °C

La Figure 70 présente l'évolution des diffractogrammes obtenus au cours de la cristallisation de la MGLA seule à 25 °C. Au départ, la matière grasse est complètement fondue. La courbe présente deux larges raies centrées en $d = 4,5 \text{ \AA}$ ($q = 1,4 \text{ \AA}^{-1}$) et $d = 22 \text{ \AA}$ ($q = 0,28 \text{ \AA}^{-1}$). Ces pics sont attribués à une organisation smectique caractéristique de l'état liquide [4]. Au fur et à mesure que la matière grasse cristallise, des pics plus fins apparaissent et leur intensité croît au cours du temps.

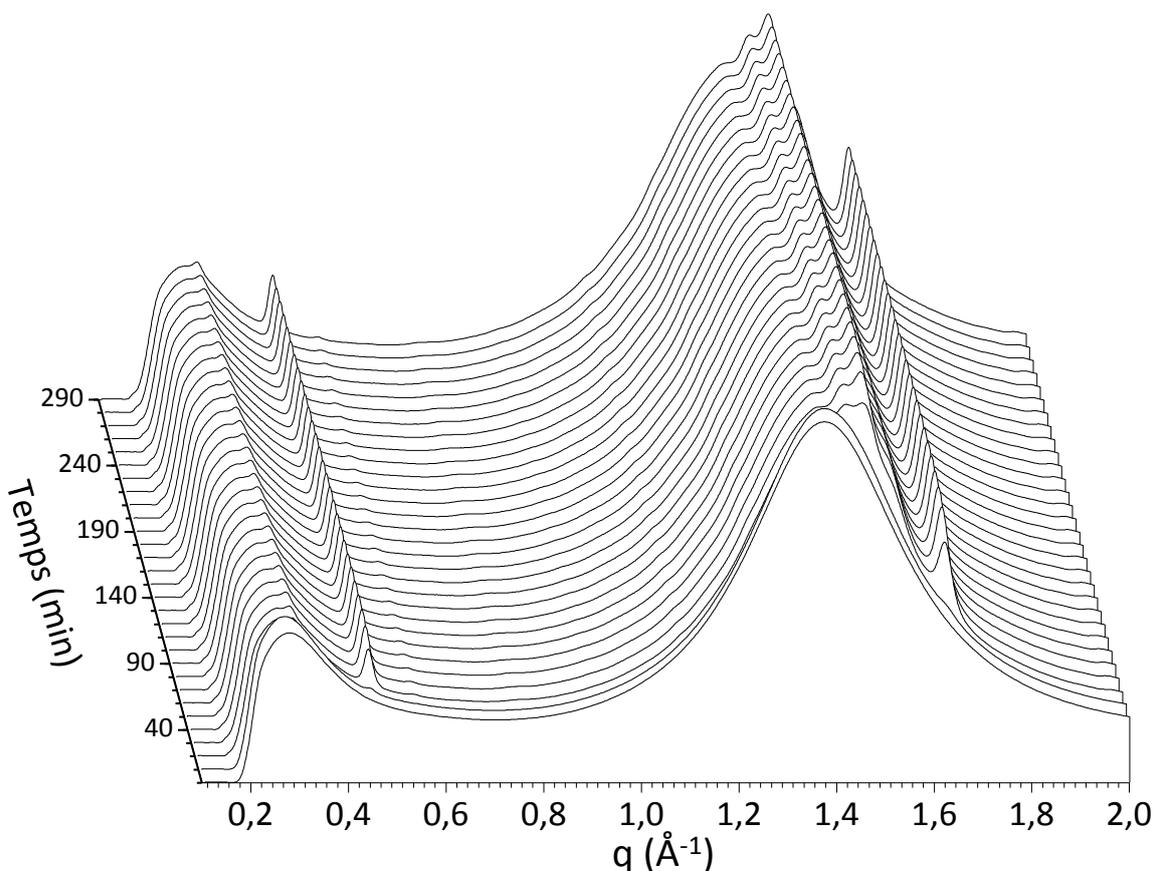


Figure 70 : Cristallisation isotherme de la MGLA à 25 °C suivie par diffraction des rayons X

Pour caractériser l'organisation spatiale des chaînes d'acides gras des triglycérides à 25 °C, il est nécessaire d'indexer les pics de cristallisation, *i.e.* d'attribuer à chaque distance

réticulaire la sous-cellule cristalline qui lui correspond. À cet effet, les domaines des courtes distances réticulaires (WAXS) sont étudiés séparément et les pics sont attribués à l'aide des données de la littérature [5–9].

La Figure 71 présente la position et l'évolution des pics formés au cours du temps en WAXS. Les pics $d = 3,84 \text{ \AA}$ et $d = 4,27 \text{ \AA}$ sont attribuables à la forme polymorphique β' . L'épaulement à $d = 4,12 \text{ \AA}$ peut être associé à des traces de la forme α . Dans la littérature [8], le pic à $4,38 \text{ \AA}$ est attribué à une forme polymorphique β'_2 . On note que ce pic est habituellement associé à un second pic à $3,78 \text{ \AA}$ qui n'est pas visible ici. La Figure 71 montre également que le large pic centré sur $d = 4,5 \text{ \AA}$ ($q = 1,4 \text{ \AA}^{-1}$), caractéristique de la phase liquide, diminue au cours du temps. On retiendra qu'à $25 \text{ }^\circ\text{C}$, la forme β' se forme directement depuis la matière grasse fondue.

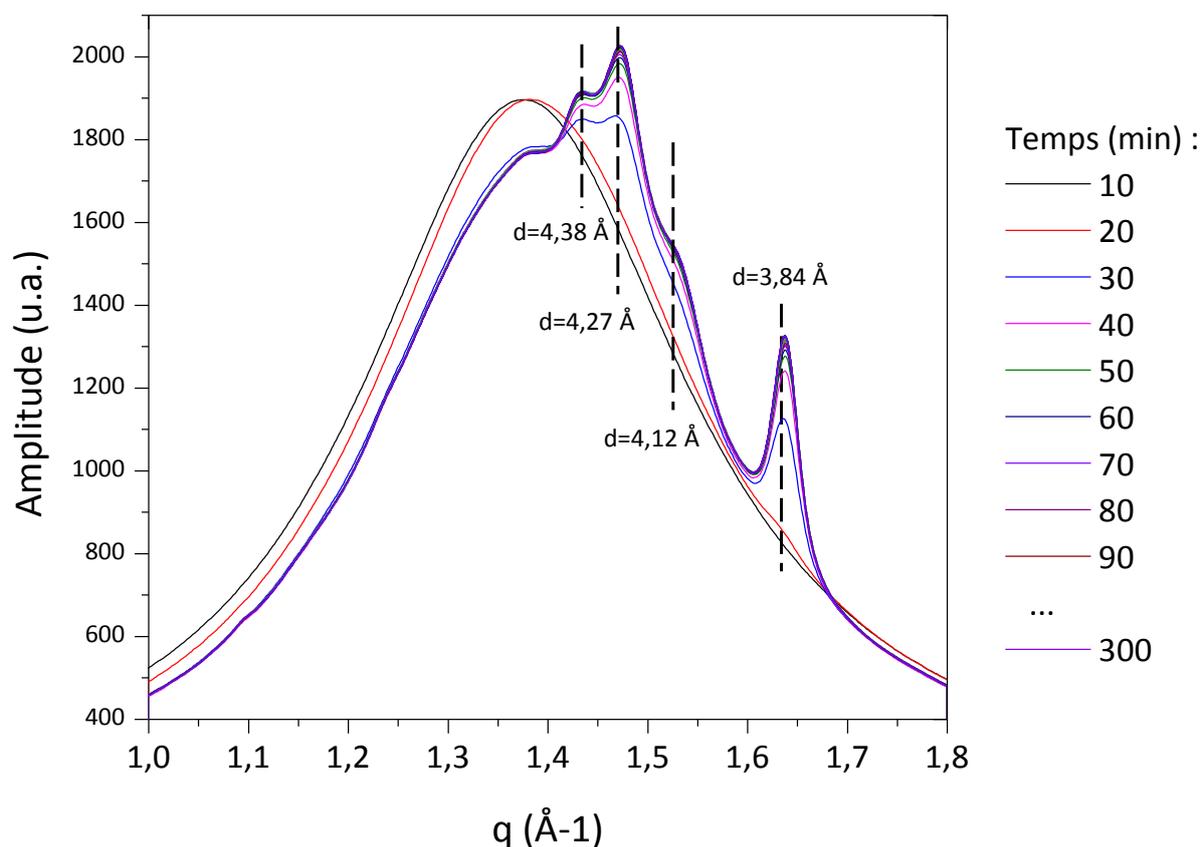


Figure 71 : Évolution des pics de diffraction au cours de la cristallisation isotherme de la MGLA à $25 \text{ }^\circ\text{C}$ aux courtes distances réticulaires (WAXS)

Pour caractériser l'organisation spatiale des molécules de triglycérides à $25 \text{ }^\circ\text{C}$, il convient d'analyser les domaines des longues distances réticulaires mesurés par SAXS. Tout comme précédemment, les pics sont attribués à l'aide des données de la littérature [5–9]. Aux petits

angles de diffraction, trois pics correspondant aux grandes distances réticulaires, $d = 20,8 \text{ \AA}$, $d = 13,8 \text{ \AA}$ et $d = 11,48 \text{ \AA}$ apparaissent et s'intensifient au cours du temps (Figure 72).

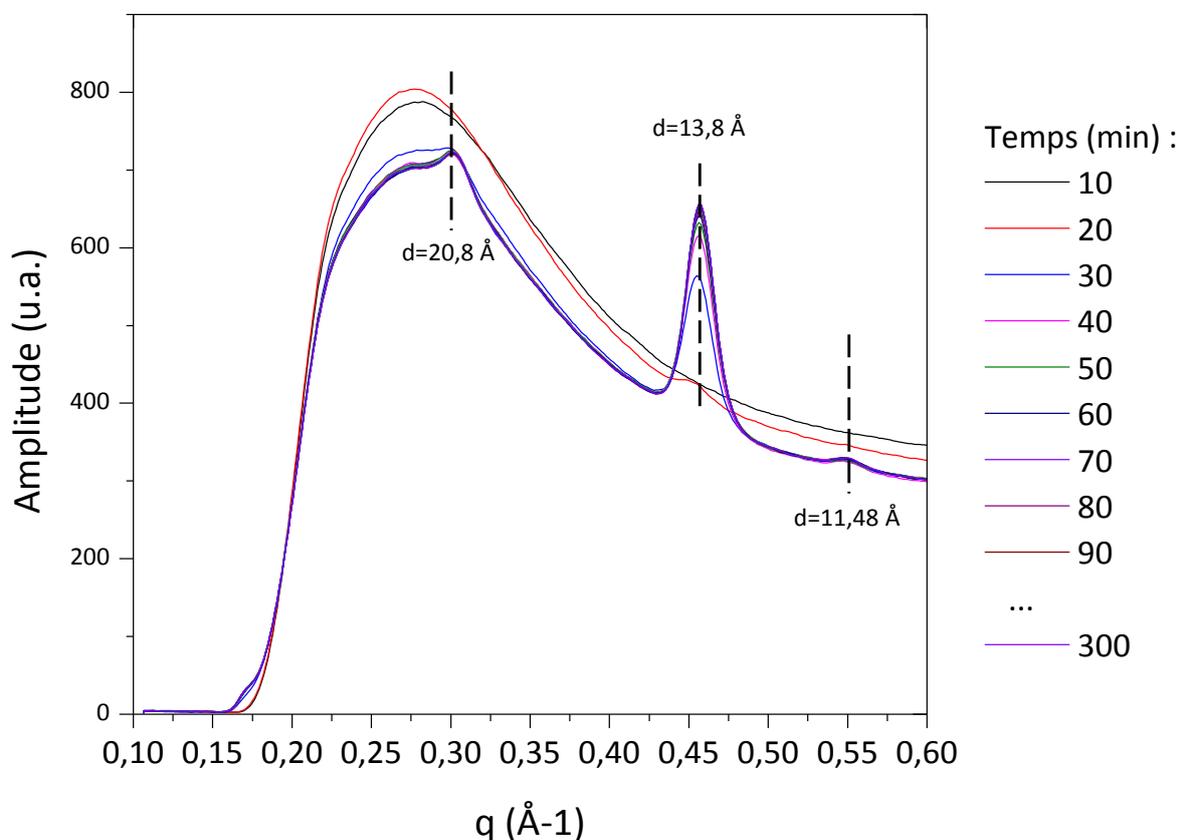


Figure 72 : Évolution des pics de diffraction au cours de la cristallisation de la MGLA à 25 °C aux longues distances réticulaires

L'appareil utilisé étant configuré pour des mesures en WAXS, il ne permet pas d'observer les distances supérieures à 30 \AA ($q < 0,20 \text{ \AA}^{-1}$) car l'écran de détection est proche de l'échantillon et la pièce de métal qui le protège des rayons X non diffractés masque les signaux correspondant aux faibles angles de diffraction. Il n'est donc pas possible d'observer la raie élémentaire (indice de Miller $l=1$) qui correspondrait à la distance d'empilement longitudinal des triglycérides. En revanche, il est possible de déterminer cette valeur grâce aux pics observés, qui coïncident avec les ordres de diffraction supérieurs : $d_{002} = 20,8 \text{ \AA}$, $d_{003} = 13,8 \text{ \AA}$ et $d_{004} = 11,48 \text{ \AA}$. La Figure 73 permet d'extrapoler la valeur q pour obtenir $q_{001} = 0,143 \text{ \AA}^{-1}$ et donc d'accéder à $d_{001} = 43,8 \text{ \AA}$. Cette valeur est proche de celle de la MGLA cristallisée entre 20 et 25 °C reportée dans la littérature pour une forme 2L : $41,5 \text{ \AA}$ [10] et 43 \AA [5].

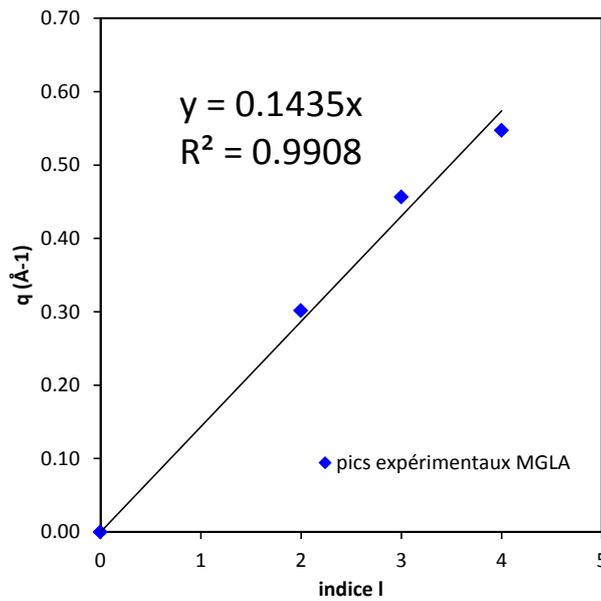


Figure 73 : Évolution de la distance réciproque pour la MGLA cristallisée à 25 °C en fonction de l'indice de Miller l

La cinétique de la cristallisation de la MGLA peut être suivie à partir de l'aire des différents pics. Les pics les mieux définis en WAXS et en SAXS sont choisis pour suivre leur évolution au cours du temps de cristallisation. L'aire des pics β' à 3,84 Å et 2L₀₀₃ à 13,8 Å est représentée en Figure 74. Les deux pics croissent simultanément, et on retrouve le profil de cristallisation observé par RMN à 25 °C, *i.e.* la forme d'une sigmoïde.

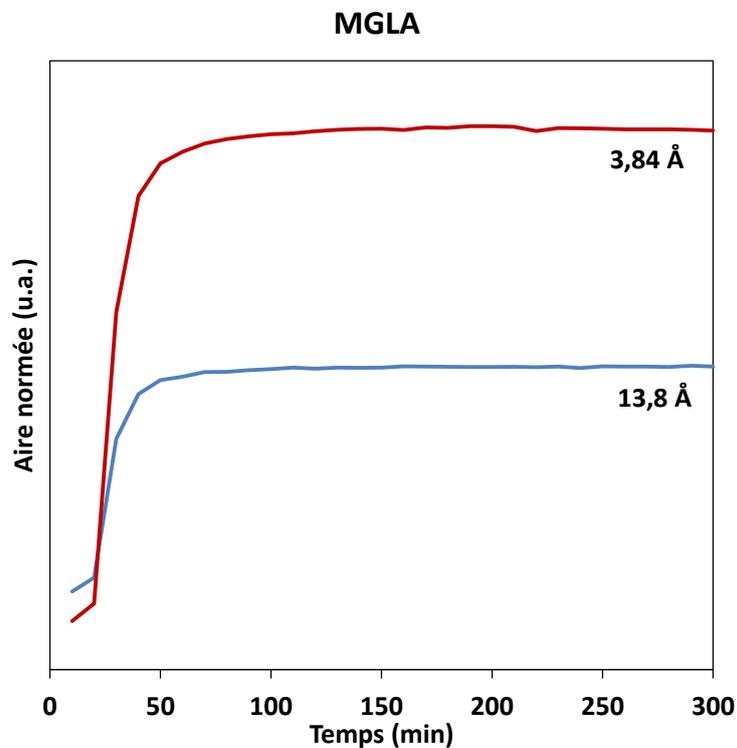


Figure 74 : Évolution de l'aire du pic de la forme polymorphique β' ($d = 3,84 \text{ \AA}$) et 2L ($d = 13,8 \text{ \AA}$) au cours du temps de cristallisation isotherme de la MGLA à 25 °C

En conclusion, la phase solide qui se forme dans la matière grasse laitière à 25 °C est constituée de cristaux de forme polymorphique majoritaire β' avec un empilement longitudinal des triglycérides de type 2L, avec les distances réticulaires indiquées sur la Figure 75.

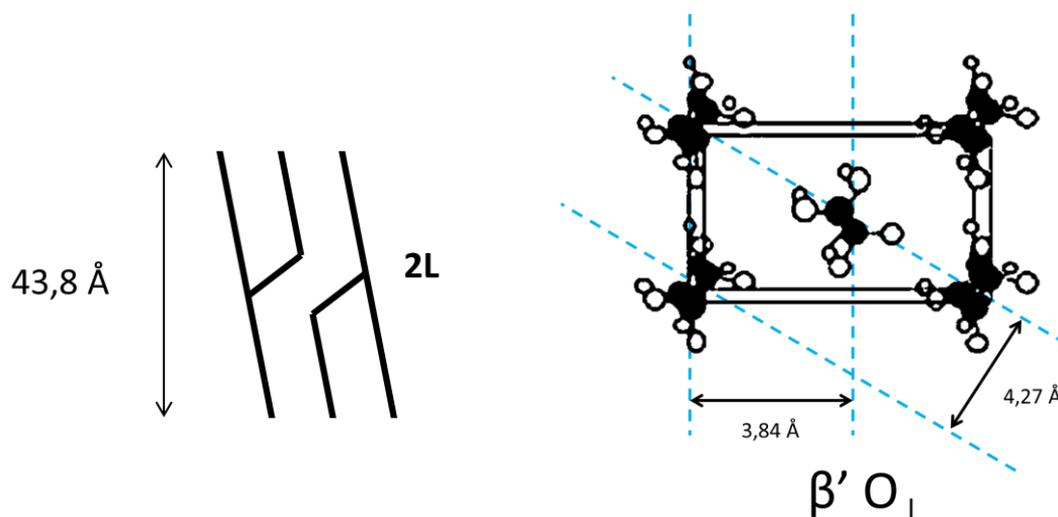


Figure 75 : Empilement longitudinal et latéral des triglycérides de la MGLA cristallisée à 25 °C

2.1.2. Cristallisation isotherme de la MGLA à 25 °C en présence de modulateurs

La cristallisation de la matière grasse laitière a été étudiée en présence de trois modulateurs ajoutés chacun à 1 % massique : l'acide butyrique, l'acide palmitique et la tripalmitine. Le dispositif de diffraction des rayons X utilisé ne permet pas de contrôler la masse initiale de matière grasse liquide disposée dans la boucle de mesure. Pour pouvoir comparer les différents diffractogrammes, il est donc nécessaire de les normaliser par l'aire du signal à $t=0$ min, où la matière grasse est complètement fondue. Les courbes normalisées sont présentées en Annexe 4.

Les courbes obtenues après 100 minutes sont représentatives du processus de cristallisation car tous les pics formés sont présents. La Figure 76 présente les courbes normées pour la MGLA seule et en présence des modulateurs. Tous les pics observés dans le cas de la MGLA seule se retrouvent dans les diffractogrammes obtenus en présence des modulateurs de cristallisation. La forme polymorphique β' est observée en WAXS pour tous les modulateurs, avec ses deux pics caractéristiques à 3,84 Å et 4,27 Å et un épaulement représentant possiblement des traces de la forme α à 4,11 Å. La forme 2L est aussi observée aux petits angles. Notons que le pic en SAXS à 38,41 Å ($0,16 \text{ \AA}^{-1}$) apparaissant pour la tripalmitine et

l'acide butyrique n'est pas considéré comme une nouvelle distance réticulaire. Nous pensons qu'il s'agit plutôt d'une partie du pic $2L_{001}$ qui apparaît ou non en fonction des échantillons, du fait de sa proximité avec la zone masquée par le cache métallique.

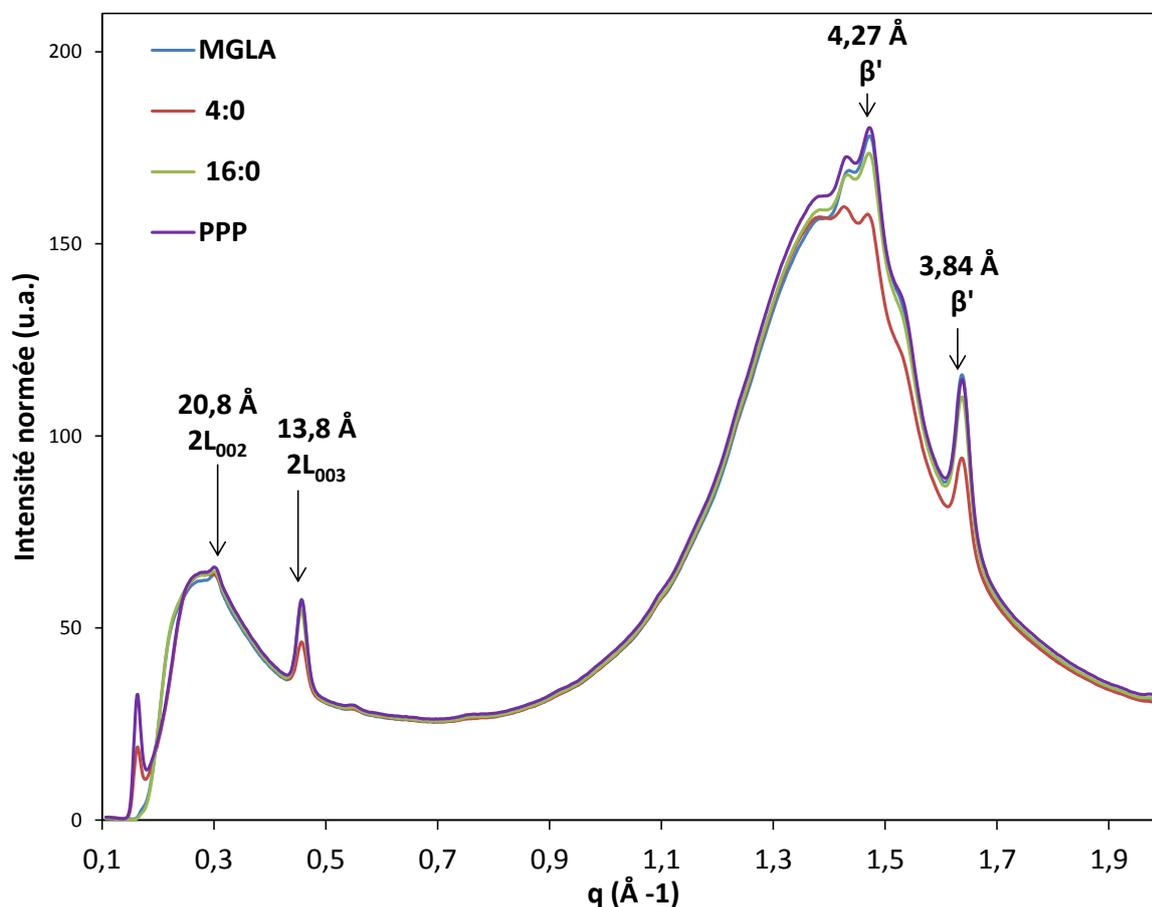


Figure 76 : Position des pics de diffraction des rayons X de la MGLA avec et sans modulateurs après 100 min de cristallisation isotherme à 25 °C (4:0 : acide butyrique ; 16:0 : acide palmitique ; PPP : tripalmitine). Les pics reportés correspondent à ceux précédemment indexés sur la MGLA seule

En présence de modulateurs, les mêmes pics que pour la MGLA brute sont obtenus et seule leur intensité change. L'évolution des pics de diffraction $2L_{003}$ à 13,8 Å et β' à 3,84 Å au cours du temps se fait aussi de manière sigmoïdale en présence de modulateurs (Figure 77). Comme cela a été observé en RMN, l'addition d'acide butyrique ralentit la formation des cristaux et diminue la cristallinité finale. Contrairement au suivi cinétique par RMN, cette méthode n'indique pas une accélération franche en présence d'acide palmitique ou de tripalmitine.

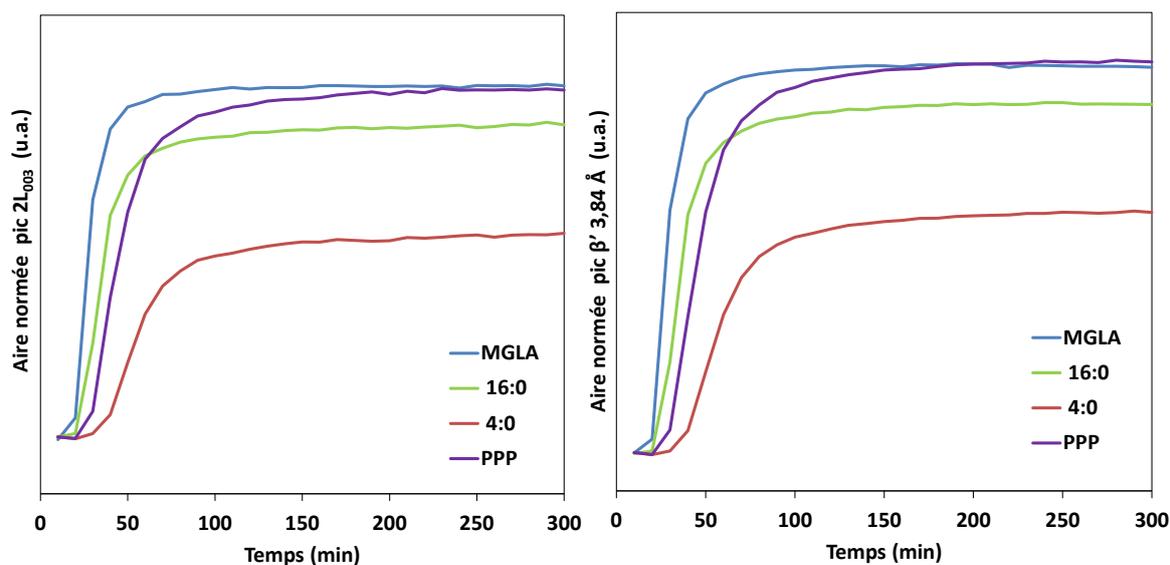


Figure 77 : Cinétique de cristallisation à 25 °C de la MGLA avec et sans modulateurs, aux grandes et petites distances (4:0 : acide butyrique ; 16:0 : acide palmitique ; PPP : tripalmitine)

En conclusion, la diffraction des rayons X a permis de caractériser la nanostructure de la MGLA lors de sa cristallisation isotherme à 25 °C. La cinétique de cristallisation montre qu'il ne se produit pas de transition polymorphique à cette température : la matière grasse cristallise directement sous la forme β' -2L, stable à partir de l'état liquide, dans l'intervalle de temps étudié. L'ajout des modulateurs de cristallisation à 1 % ne modifie pas la structuration des triglycérides de la MGLA. À cette concentration, la structure cristalline de la matière grasse laitière parvient à intégrer des molécules exogènes sans changer son organisation moléculaire.

Cette méthode est efficace pour identifier les empilements transversaux formés en cours de cristallisation, en WAXS. Elle permet même d'obtenir des informations sur l'empilement longitudinal des triglycérides. Mais dans la configuration adoptée, elle n'est pas la meilleure méthode pour mener un suivi cinétique. Les temps d'exposition assez longs requis pour la détection espacent les points de la cinétique.

2.2. Étude de la microstructure de la MGLA en présence ou non de modulateurs

La microstructure constitue l'organisation de la matière grasse à l'échelle du micromètre. Elle est étudiée par microscopie à lumière polarisée. Cette technique est utilisée sur un plus large groupe de modulateurs (3:0, 4:0, 6:0, 8:0, 10:0, 12:0, 14:0, 16:0, 18:0, 20:0, 18:1, PPP, SSS, EtObut). Les observations sont réalisées après 4 h de cristallisation isotherme à 25°C.

L'observation de la MGLA sans modulateur est présentée en Figure 78. À 25 °C, elle cristallise sous forme de gros cristaux concentriques appelés sphérulites. Une sphérulite est un agrégat de cristaux en aiguilles à structure rayonnante, rappelant la forme d'une fleur.

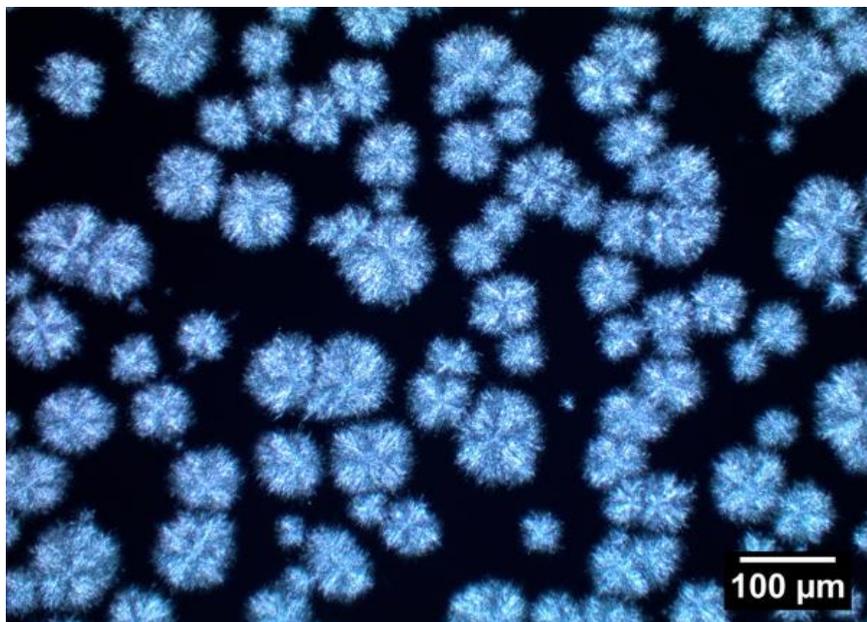


Figure 78 : MGLA observée en microscopie optique à lumière polarisée après 4 h de cristallisation isotherme à 25 °C

L'ajout de modulateurs modifie la microstructure de la MGLA cristallisée à 25 °C. Les observations microscopiques les plus représentatives sont reportées Figure 79, les autres étant consultables en Annexe 5. Pour quantifier objectivement l'effet des modulateurs, la taille et le nombre des cristaux sont déterminés de manière semi-automatique à l'aide d'un logiciel interne développé pour ce projet. Les histogrammes de distribution des tailles de cristaux peuvent alors être comparés d'un modulateur à l'autre ou par rapport au témoin (Figure 80). La distribution granulométrique des cristaux de la MGLA seule est centrée autour de 50 µm. Comme le montrent les clichés de la Figure 79, l'ajout d'acide propionique décale la distribution des cristaux vers des tailles plus élevées (66,4 µm) et le nombre de cristaux par unité de surface devient plus faible. À l'inverse, en présence de tristéarine, les cristaux formés sont beaucoup plus fins et leur distribution granulométrique est plus resserrée. L'ensemble des résultats obtenus pour l'ensemble des modulateurs est synthétisé dans le Tableau 19. Les modulateurs de cristallisation ont un effet important sur la taille, le nombre, et la forme des cristaux.

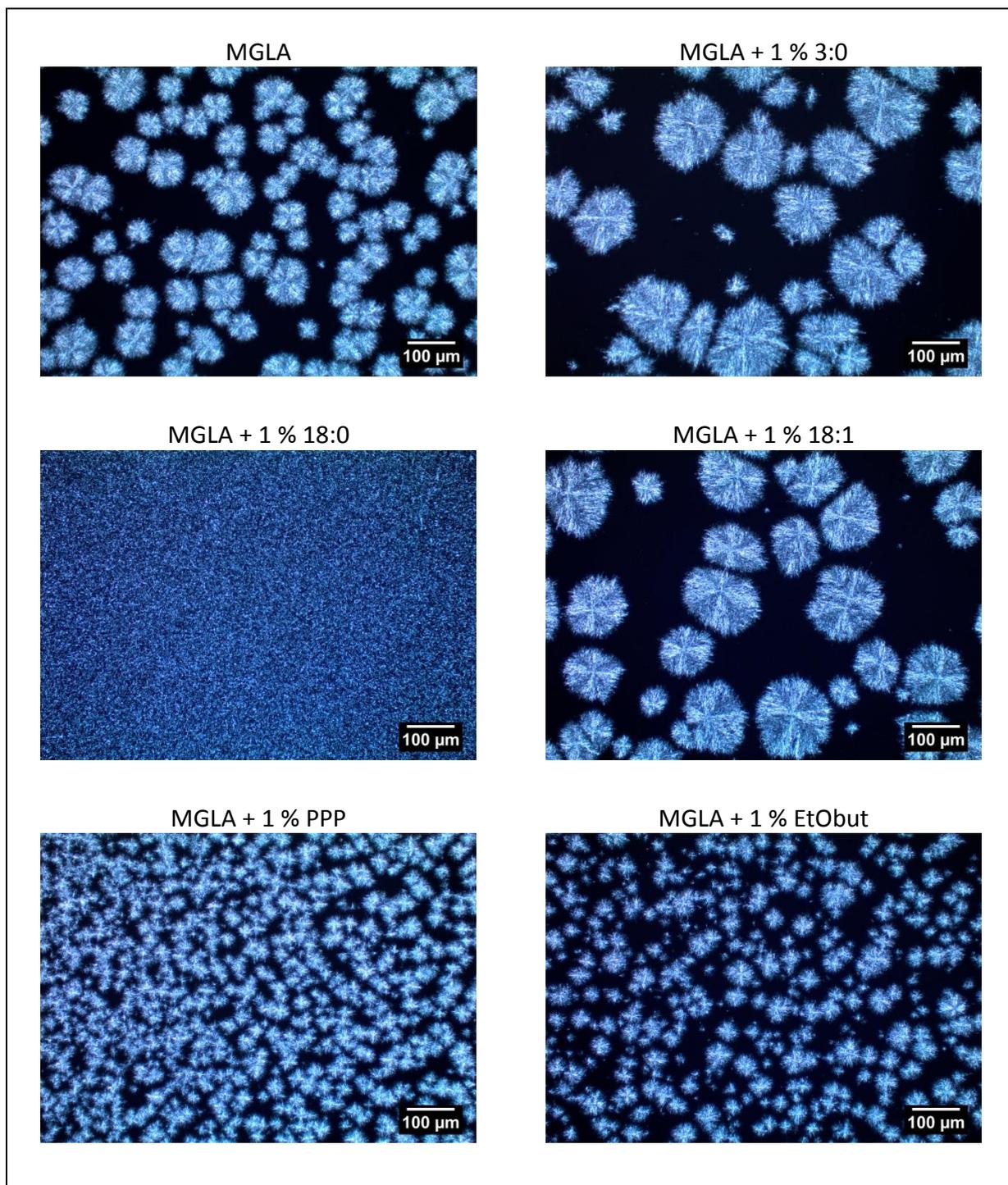


Figure 79 : Observations en microscopie à lumière polarisée de la MGLA cristallisée seule et en présence de modulateurs (1 %) à 25 °C (3:0 : acide propionique ; 18:0 : acide stéarique ; 18 :1 : acide oléique ; PPP : tripalmitine ; EtObut : butanoate d'ethyle)

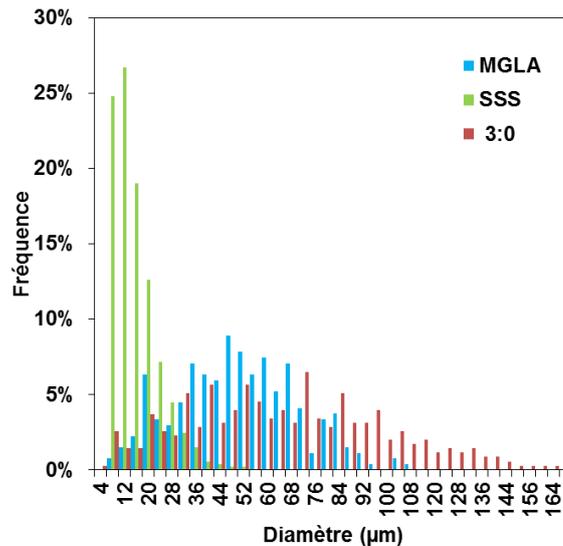


Figure 80 : Diagramme de distribution de taille des cristaux de MGLA formés à 25 °C seule ou en présence de tristéarine (SSS) ou d'acide propionique (3:0) à 1 %

Tableau 19 : Taille et nombre des cristaux de MGLA formés à 25 °C en présence ou non de modulateurs (1 %)

Modulateur	Diamètre moyen équivalent (µm)	Nombre de cristaux par mm ²
MGLA	50,5	224
3:0	66,4	99
4:0	58,0	82
6:0	61,7	97
8:0	78,8	73
10:0	79,0	90
12:0	99,4	70
14:0	43,5	272
16:0	12,3	1325
18:0	14,2	1186
20:0	12,5	1397
18:1	81,5	61
PPP	13,5	1095
SSS	15,6	790
EtObut	26,2	514

Il est possible de classer l'impact des modulateurs sur la microstructure de la MGLA selon trois catégories :

- une augmentation de la taille des cristaux s'accompagnant d'une diminution de leur nombre avec conservation de la forme sphérulitique. C'est le cas des acides gras libres à chaînes courtes et moyennes et de l'acide oléique.
- Une diminution de la taille des sphérulites s'accompagnant d'une augmentation de leur nombre comme avec la tripalmitine ou le butanoate d'éthyle.
- Une diminution de la taille des cristaux avec perte de leur individualité et création d'un réseau cristallin continu. Ce mode est observé avec les acides gras à longue chaîne saturée. Dans ce cas, l'outil de mesure des tailles montre ses limites. Sans

pouvoir déterminer clairement les contours des cristaux, ils sont considérés par groupe. Leur taille est surestimée et leur nombre est sous-estimé.

La microstructure fournit de précieuses informations pour la compréhension des mécanismes d'action des modulateurs de cristallisation. Nous avons vu que d'un point de vue cinétique, les acides gras libres à chaîne courte ou insaturée augmentent le temps d'induction, lié à la vitesse de nucléation. La microscopie optique montre qu'ils conduisent à de gros cristaux, peu nombreux, ce qui indique que la croissance s'effectue à partir d'un nombre limité de cristaux. Il est également intéressant d'observer que l'empilement des sphérulites en présence de ces inhibiteurs est moins compact que dans la MGLA seule. C'est notamment le cas pour l'acide oléique : les sphérulites sont facilement discernables et un film plat épais de liquide semble les séparer. Cela suggère que ces acides gras libres inhibent également la nucléation secondaire, au cours de laquelle un nouveau cristal se forme à la surface d'un cristal préexistant.

Au contraire, les petites molécules organiques non acides telles que le butanoate d'éthyle ne modifient pas ou peu le temps d'induction. Elles conduisent à des cristaux plus petits et plus nombreux. Leur action inhibitrice s'exercerait plutôt lors de la croissance des cristaux. La principale différence de structure entre ces deux types de molécules réside dans la présence de la fonction acide carboxylique terminale des acides gras libres. Cette fonction a donc une importance capitale dans le mécanisme d'action des acides gras à chaîne courte.

Les acides gras libres à chaîne longue saturée sont des accélérateurs de cristallisation. Ils conduisent à des cristaux encore plus petits que ceux observés pour l'ajout de triglycérides saturés (PPP et SSS), suggérant que la nucléation est rapide. On peut supposer que leur tête polaire a un impact sur la cristallisation. Elle leur permettrait de s'auto-assembler en micelles inverses dans la matière grasse fondue. En raison de l'empilement des chaînes aliphatiques orientées vers l'huile, les micelles constitueraient des centres de nucléation des cristaux. Le nombre de cristaux observé suggère que les acides gras seraient moins solubles dans la matière grasse que les triglycérides de même longueur. De plus, quand ils contribuent à la croissance des cristaux, les acides gras peuvent induire des défauts dans la maille, créant des lacunes en occupant la place des triglycérides. La génération de défauts inhiberait la croissance des cristaux, ce qui justifierait la disparition des sphérulites. Les molécules de PPP

et SSS s'intercaleraient mieux dans les cristaux de triglycérides de la MGLA, ce qui permettrait de préserver la croissance en forme de sphérulites.

La microscopie confirme donc l'importance de la tête polaire des acides gras dans leur manière d'impacter la cristallisation, comme le laissait pressentir l'analyse multivariée sur les données cinétiques de RMN. La fonction carboxylique est déterminante, que ce soit pour les accélérateurs ou les inhibiteurs. Dans les deux cas, elle influence fortement la nucléation, ce qui différencie les acides gras libres des autres modulateurs de cristallisation étudiés.

Bien que les modulateurs n'aient pas d'impact sur la nanostructure de la MGLA, ils modifient considérablement la microstructure de la matière grasse laitière. Ceci n'est pas paradoxal car il n'existe pas de lien direct entre la nano et la microstructure, dans la mesure où deux microstructures très différentes peuvent présenter une nanostructure identique.

2.3. Étude de la nucléation de la MGLA seule ou en présence de modulateurs

La modification du temps d'induction de la cristallisation observé par RMN (§ 1.4) et de la microstructure observée par microscopie à lumière polarisée (§2.2) suggèrent que les acides gras libres perturbent la cristallisation en agissant sur l'étape de nucléation. Pour confirmer cette hypothèse, il est possible d'évaluer l'énergie d'activation associée à la nucléation de la matière grasse laitière seule ou en présence de modulateurs à partir du temps d'induction, par l'équation de Fisher-Turnbull [11] (Chapitre 1 eq. 12, 14, 15).

$$\ln(\tau T) = \ln\left(\frac{h}{Nk_B}\right) + \left(\frac{R}{-\alpha\Delta S}\right) + \frac{16\pi\gamma^3 \cdot V_m^2 \cdot T_f^2}{3k_B\Delta H_f^2} \frac{1}{T(T_f - T)^2} \quad (\text{Eq. 12})$$

À partir des temps d'induction τ déterminés à différentes températures, il est possible de tracer la représentation de $\ln(\tau T)$ (noté Y) en fonction de $1/T(\Delta T)^2$ (noté X). La régression linéaire de $Y=f(X)$ permet de déterminer la pente m et de calculer l'énergie d'activation apparente de nucléation pour toutes les températures :

$$m = \frac{16\pi\gamma^3 \cdot V_m^2 \cdot T_f^2}{3k_B\Delta H_f^2} \quad (\text{Eq.14})$$

$$\Delta G_n^\# = \frac{m \cdot k_B}{(T_f - T)^2} \quad (\text{Eq.15})$$

Il convient de préciser que cette approche a été établie pour des systèmes avec un point de fusion unique, ce qui correspond à un seul triglycéride, ou un groupe de triglycérides avec une gamme de fusion étroite [12]. La MGLA présente au contraire une large plage de fusion. Malgré cette restriction, plusieurs auteurs utilisent quand même ce modèle pour la matière

grasse laitière [13–16]. Nous avons donc aussi choisi de calculer l'énergie d'activation associée à la nucléation de la MGLA, même si les résultats doivent être considérés avec précaution.

Dans cette approche, nous utilisons la turbidité évaluée au Turbiscan pour déterminer les temps d'induction des premiers germes cristallins. Cette méthode optique est plus adaptée que le suivi du taux de solide par RMN [17]. En effet, la RMN détectant une quantité de solide formé, elle n'a une précision que de l'ordre de 1 %. Ainsi, la valeur du taux de solide reste proche de zéro alors que le liquide se trouble du fait de l'apparition des premiers cristaux. Les temps d'induction, déterminés par la méthode de la tangente, sont mesurés pour la MGLA seule et en mélange avec quatre modulateurs : la tripalmitine, l'acide palmitique, l'acide butyrique et le butanoate d'éthyle, à six températures de cristallisation autour de 25 °C, *i.e.* comprises entre 23 °C et 28 °C.

Dans le Tableau 20, nous reportons les temps d'induction et les valeurs de X et Y pour la MGLA aux différentes températures explorées. La régression linéaire de la courbe $Y=f(X)$ pour la MGLA est présentée sur la Figure 81. La non-linéarité de cette fonction confirme que l'application de ce modèle dans notre cas présente des limites. L'énergie d'activation apparente est néanmoins calculée et présentée dans le Tableau 20. Les valeurs déterminées sont proches de celles de la littérature. À 25 °C, nous obtenons une énergie d'activation apparente de 1,3 kJ/mol. Herrera *et al.* obtiennent des énergies variant de 1 à 1,9 kJ pour des températures comprises entre 25 °C et 28 °C [15]. Wright *et al.* mesurent une énergie un peu supérieure, avec des valeurs entre 1,7 et 5,2 kJ/mol pour des températures comprises entre 22,5 °C et 27,5 °C [13].

Les résultats numériques obtenus pour les modulateurs sont reportés Annexe 6. La représentation graphique de l'énergie d'activation apparente en fonction de la température de cristallisation pour tous les modulateurs est présentée en Figure 82.

Tableau 20 : Détermination de l'énergie d'activation de nucléation pour la MGLA seule et en mélange à 25 °C

T (°C)	τ (min)	X $1/(T \cdot \Delta T^2)$ (K ⁻³)	Y $\ln(\tau \cdot T)$ (-)	ΔG_c (kJ/mol)
23	22,6	$2,3 \cdot 10^{-5}$	8,81	0,89
24	31,5	$2,8 \cdot 10^{-5}$	9,15	1,06
25	35,2	$3,4 \cdot 10^{-5}$	9,26	1,29
26	41,4	$4,1 \cdot 10^{-5}$	9,42	1,59
27	47,2	$5,2 \cdot 10^{-4}$	9,56	2,01
28	49,6	$6,8 \cdot 10^{-4}$	9,61	2,63

τ : temps d'induction déterminé au Turbiscan, par la méthode de la tangente

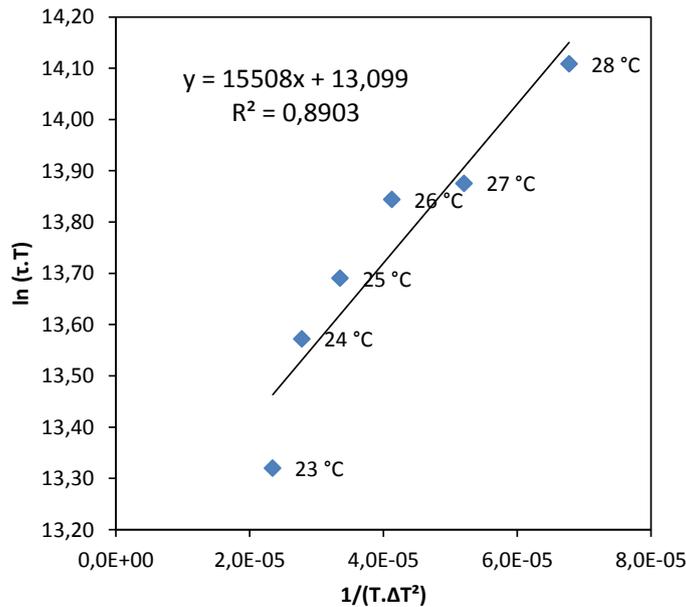


Figure 81 : Détermination du coefficient directeur de la courbe $\ln(\tau.T) = f(1/(T.\Delta T^2))$ pour la MGLA seule entre 23 °C et 28 °C

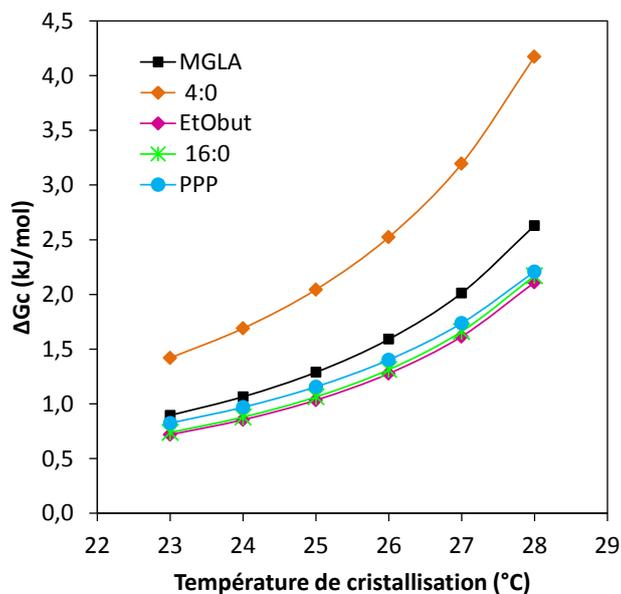


Figure 82 : Évolution des énergies apparentes d'activation avec la température, calculées par l'équation de Fischer-Turnbull pour la MGLA avec et sans modulateurs.

On constate que l'ajout d'acide butyrique augmente significativement l'énergie d'activation de nucléation (2,0 kJ/mol contre 1,3 kJ/mol pour la MGLA seule à 25 °C). Ce résultat confirme les hypothèses émises précédemment : les acides gras à courte chaîne ralentissent la nucléation en augmentant l'énergie d'activation des germes cristallins. Bien qu'étant un inhibiteur de cristallisation, le butanoate d'éthyle semble diminuer l'énergie d'activation. Dans ce cas, son rôle inhibiteur s'exercerait plutôt au niveau de la croissance cristalline, ce qui est confirmé par les nombreux cristaux de petite taille observés en microscopie (Figure 79). L'acide palmitique diminue également l'énergie d'activation (1,1 contre 1,3 kJ/mol pour

la MGLA seule à 25 °C) accélérant ainsi la nucléation, en accord avec les clichés de microscopie (Figure 79). En ce qui concerne la tripalmitine, l'énergie d'activation est moins impactée. Le caractère accélérateur de la tripalmitine repose principalement sur la modification de la température de fusion du mélange MGLA / PPP, légèrement supérieure à celle de la MGLA seule (36 °C contre 35 °C). En se plaçant à la même température de cristallisation, le degré de surfusion imposé au mélange est plus important, donc le potentiel chimique est plus important.

L'effet des composés mineurs de la matière grasse laitière sur l'énergie d'activation de la nucléation a été étudié par les deux auteurs cités plus haut. En retirant les composés mineurs de la matière grasse pour ne garder que les triglycérides, ils obtiennent des énergies d'activation plus basses que pour la MGLA native [13,15].

Le temps d'induction peut également être déterminé en considérant 1 % du signal transmis [18], comme expliqué dans le chapitre 2. Les énergies d'activation correspondantes sont présentées en annexe 7. Leur évolution est similaire à celle de la Figure 82.

En conclusion, même si la méthode de calcul des énergies d'activation porte à discussion, elle procure un cadre utile pour l'interprétation des observations microscopiques et permet de conforter les mécanismes d'action proposés pour les différents modulateurs.

2.4. Étude de la macrostructure de la MGLA en présence ou non de modulateurs

La cinétique cristallisation à 25 °C est suivie par rhéologie oscillatoire aux petites déformations (régime linéaire) afin de déterminer l'impact de la microstructure sur les propriétés texturales de la MGLA. L'évolution des modules élastique (G') et visqueux (G'') au cours du temps de cristallisation est présentée sur la Figure 83. La matière grasse étant complètement fondue au départ, le caractère liquide est prépondérant : les deux modules ont des valeurs faibles (<1 Pa) et G'' est supérieur à G' . Au cours de leur croissance, les cristaux se connectent et forment un chemin continu entre les deux parois de la géométrie du rhéomètre, le module élastique G' augmente subitement. Il s'agit d'un phénomène de percolation. Dès lors, le caractère solide prédomine et G' est supérieur à G'' . Les connexions entre cristaux se multiplient et G' augmente rapidement jusqu'à atteindre des valeurs très élevées en fin de cristallisation ($>10^5$ Pa).

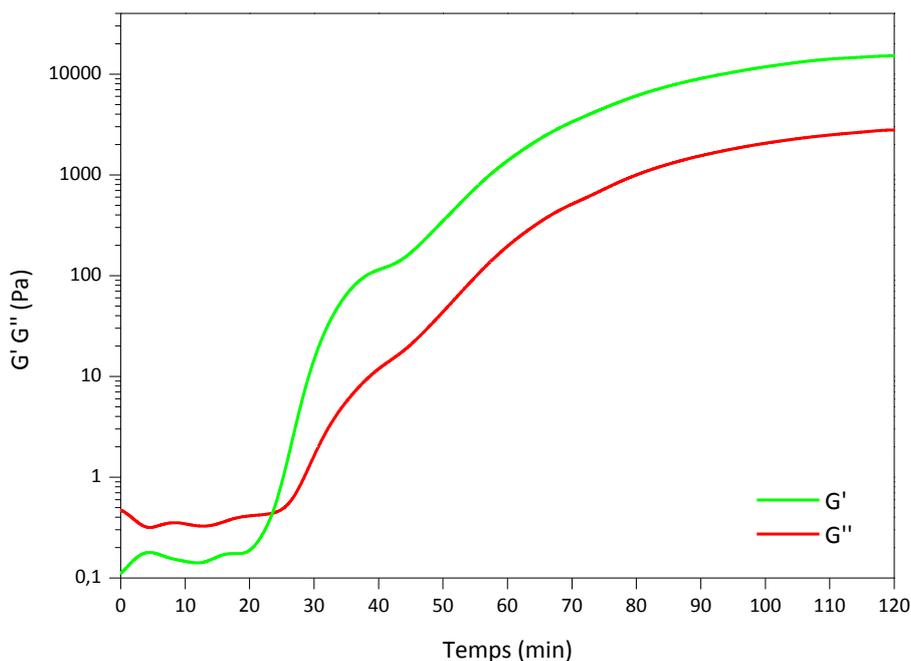


Figure 83: Évolution des modules élastique (G') et visqueux (G'') au cours du temps de cristallisation de la MGLA à 25 °C

On note la présence d'une inflexion dans l'évolution du module élastique de la MGLA au cours de la cristallisation, alors que le taux de solide mesuré par RMN évolue en une seule étape (voir § 1.3). Cette inflexion, répétable, est difficile à expliquer. Il est possible que ces deux étapes correspondent à un changement de régime : dans le premier régime, le taux de solide est faible, et l'élasticité du réseau serait limitée par les interactions entre les cristaux en cours de formation (interactions intra-flocs). Dans la seconde étape, qui correspondrait à un taux de solide plus important, l'élasticité serait limitée par les interactions entre les groupes de cristaux, les flocs. Le passage d'un type d'interaction limitante à une autre pourrait expliquer la petite inflexion du module élastique à 100 Pa.

Pour étudier l'impact des modulateurs de cristallisation, une attention particulière est portée sur l'évolution du module élastique. Les courbes mesurées pour les modulateurs à longues chaînes sont présentées sur la Figure 84 et pour les modulateurs à chaînes courtes et moyennes sur la Figure 85. Les paramètres rhéologiques déterminés graphiquement sont synthétisés dans le Tableau 21.

L'acide palmitique, l'acide stéarique, la tripalmitine et la tristéarine augmentent le module élastique final par rapport à la MGLA seule. Le profil rhéologique de la matière grasse résulte de la variation de taux de solide, mais aussi de la microstructure. Les petits cristaux plus nombreux, créent davantage de points de contact, ils percolent plus efficacement et

conduisent à un réseau plus ferme. Le module élastique final est donc plus important. À longueur de chaîne équivalente, les triglycérides augmentent davantage la valeur finale de G' comparativement aux acides gras libres (augmentation d'un facteur 1,6 entre la tristéarine et l'acide stéarique et d'un facteur 1,4 entre la tripalmitine et l'acide palmitique). Ce résultat est en accord avec les taux de solide plus importants mesurés en présence des modulateurs estérifiés (§ 1.4). Tous ces modulateurs diminuent le temps d'induction ainsi que le temps pour lequel G' et G'' se croisent, suggérant une percolation plus rapide que dans la MGLA seule. Ils augmentent également la vitesse maximale de variation du G' , à rapprocher de la vitesse maximale de cristallisation mesurée par RMN.

Au contraire, l'acide oléique diminue le module élastique final. En formant de gros cristaux moins nombreux (Figure 79), il génère moins de connectivité. L'évolution du module élastique comporte un long palier intermédiaire autour de 10 Pa pendant environ 40 minutes dont l'origine reste à ce stade difficile à identifier. Il se pourrait que les couches liquides, observées en microscopie (Figure 79), limitent les interactions entre sphérulites. La transition entre des interactions intra-flocs (entre cristaux en croissance) et inter-flocs serait retardée, ce qui justifierait le prolongement de ce palier.

Tous les acides gras à chaîne courte et moyenne diminuent le module élastique final. L'acide myristique (14:0) diminue le temps d'induction alors que tous les autres l'augmentent. Plus les chaînes des modulateurs sont courtes, plus la percolation des cristaux est retardée. En prévenant la nucléation, ces acides gras empêchent la formation des cristaux et retardent leur percolation. Les chaînes courtes (3, 4 et 6 carbones) diminuent aussi considérablement la vitesse maximale de variation du module G' , tout comme ils retardent l'augmentation du taux de solide en RMN. Le module élastique final est inférieur à celui de la MGLA pour tous ces modulateurs. En effet, les sphérulites plus grosses observées en microscopie contribuent à diminuer l'élasticité du système. Mais le retard à la nucléation est tel que la valeur asymptotique de G' n'est pas toujours atteinte à l'issue des deux heures de l'expérience.

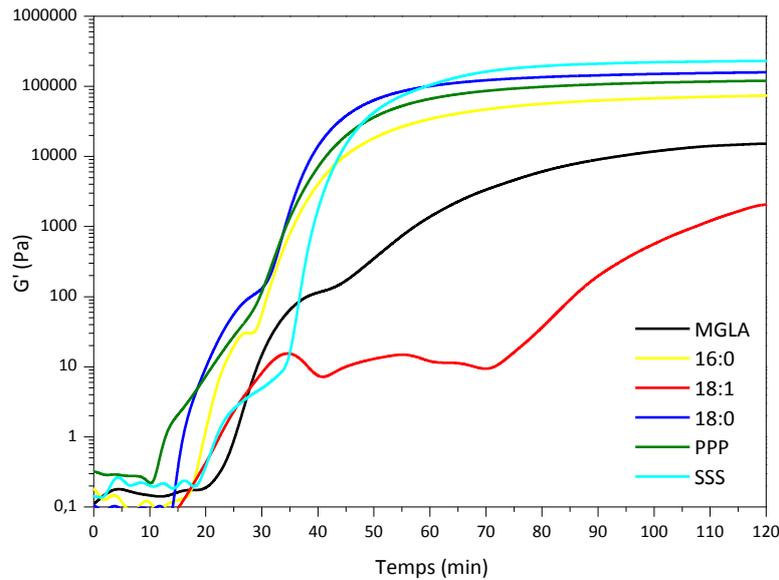


Figure 84 : Évolution du module élastique (G') au cours du temps de cristallisation de la MGLA avec et sans modulateurs à longue chaîne (16:0 acide palmitique ; 18:0 : acide stéarique ; 18:1 : acide oléique ; PPP : tripalmitine ; SSS : tristéarine)

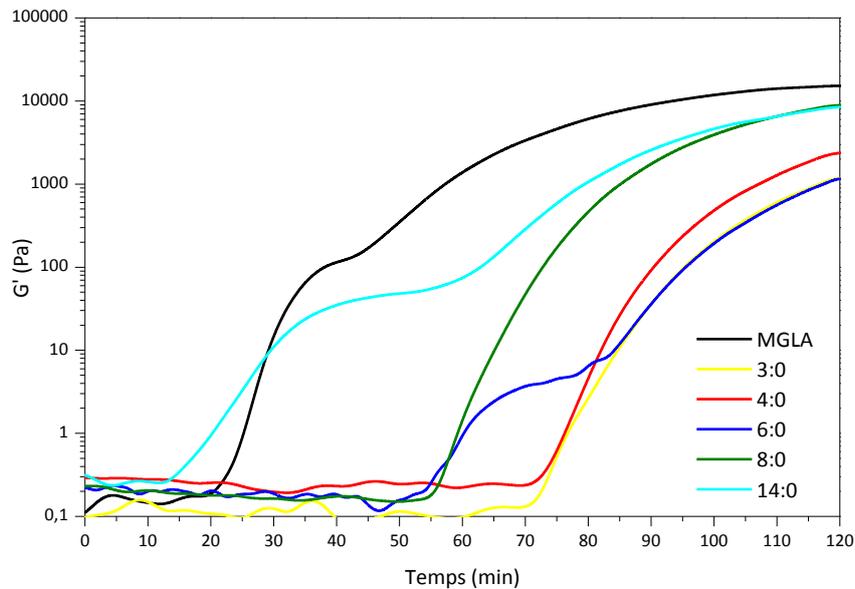


Figure 85 : Évolution du module élastique au cours de la cristallisation de la MGLA avec et sans modulateurs à chaîne courte

Tableau 21 : Paramètres rhéologiques déterminés à partir des profils d'évolution du module élastique (G') en fonction du temps

Modulateur	Temps d'induction (min)	Pente maximale G' ($\text{Pa}\cdot\text{s}^{-1}$)	G' final (Pa)	Temps $G'=G''$ (min)
MGLA	25	5,1	15300	24,7
3:0	77	1,2	1230	75,8
4:0	76	2,1	2450	74,8
6:0	60	1,2	1180	56,7
8:0	59	4,5	9060	57,5
14:0	20	4,7	8560	14,9
16:0	20	27,7	73800	16,9
18:1	22	1,7	2130	17,4
18:0	16	88,1	159000	15,0
PPP	13	56,5	120000	10,0
SSS	22	105,7	231000	19,8

2.5. Conclusions concernant l'impact des modulateurs sur la cristallisation isotherme à 25 °C

Dans cette partie, nous avons choisi de travailler à 25 °C. Cette température de cristallisation permet d'imposer un faible degré de surfusion à la MGLA (10 °C), et de maximiser ainsi l'action de composés mineurs comme modulateurs potentiels.

Des méthodes de caractérisation complémentaires entre elles ont été mises en œuvre afin d'appréhender la cristallisation de la MGLA à différentes échelles. La RMN permet de suivre la cinétique de cristallisation et le taux de solide final. À cette température, il est d'environ 10 %. Les mesures par diffraction des rayons X permettent de déterminer que la forme cristalline β' -2L se forme dans ces conditions, dont les distances caractéristiques sont 43,8 Å pour l'empilement longitudinal et 3,84 Å et 4,27 Å pour l'organisation latérale. La microscopie à lumière polarisée montre que la MGLA cristallise sous forme de grosses sphérulites, de 50 μm de diamètre en moyenne. À l'échelle macroscopique, la cinétique de cristallisation de la MGLA a été suivie pendant 2h à 25 °C. Le module élastique final atteint 15,3 kPa.

L'étude de l'impact des modulateurs à différentes échelles d'observation montre que de faibles concentrations ajoutées peuvent bouleverser la mise en place du réseau cristallin de la MGLA. Les molécules testées à 1 % ne modifient pas son polymorphisme qui reste sous la forme β' -2L. En revanche, la cinétique de cristallisation est altérée, de même que la microstructure. Les observations et hypothèses suivantes ont été formulées pour les différentes familles chimiques testées :

- Les acides gras à longue chaîne saturée favorisent la nucléation et augmentent de ce fait le nombre de cristaux, mais semblent ralentir la croissance cristalline. Cette vitesse de croissance pourrait être limitée du fait d'une moins bonne insertion des acides gras libres dans le réseau cristallin. Ces acides gras n'augmentent pas le taux de solide final, mais conduisent à un réseau solide plus connecté et macroscopiquement plus ferme.
- Les acides gras à courte chaîne retardent la nucléation de la matière grasse, ce qui diminue le nombre de cristaux formés et augmente leur taille. Macroscopiquement, la matière grasse est moins ferme et le taux de solide est légèrement plus faible.

- L'acide oléique conduit aux mêmes observations que celles obtenues avec les acides gras à chaîne courte.
- Les petites molécules organiques non acides inhibent la cristallisation de manière différente. Elles facilitent la nucléation mais limitent la croissance, conduisant à de nombreux petits cristaux. Elles diminuent aussi légèrement le taux de solide final.
- Contrairement aux acides gras libres à longue chaîne saturée, les triglycérides à longueur de chaîne comparable s'insèrent très bien dans le réseau lors de la croissance des cristaux. En augmentant la fraction cristallisable du mélange, ils accélèrent la nucléation et la croissance et conduisent à la formation de cristaux plus petits et plus nombreux, sans en modifier la forme sphérulitique. Ils conduisent à un réseau cristallin macroscopiquement plus ferme que celui de la MGLA seule.

Les différences entre acides gras à longues chaînes et triglycérides testés, et entre acides gras à chaîne courte et les autres petites molécules organiques révèlent l'importance de la fonction acide carboxylique sur la modulation des mécanismes de cristallisation de la MGLA.

3. Influence de la concentration des modulateurs sur la cristallisation de la matière grasse laitière à 25 °C

Dans la partie précédente, l'effet des modulateurs de cristallisation a été étudié pour une concentration de 1 %. Or dans les produits laitiers, certains modulateurs peuvent être présents à des concentrations supérieures. Par exemple, les concentrations d'acides gras libres dans le Bleu peuvent atteindre 10 % d'acide oléique et 6 % d'acide palmitique [1]. C'est pourquoi, cette partie est consacrée à l'influence de la concentration de certains modulateurs d'intérêt sur la cinétique de cristallisation de la MGLA.

3.1. Influence de la concentration des modulateurs sur la cinétique de cristallisation de la matière grasse laitière à 25 °C

3.1.1. Cas des inhibiteurs de cristallisation

Nous avons vu qu'à 1 %, l'acide propionique, l'acide hexanoïque et l'acide oléique inhibent la cristallisation de la matière grasse. Cet effet inhibiteur est d'autant plus accentué que la concentration de modulateur augmente (Figure 86). Les courbes sont modélisées par les équations de Gompertz, d'Avrami et de Foubert (Annexe 8). Le Tableau 22 présente les

paramètres issus de la modélisation de Gompertz : plus la concentration en inhibiteur est élevée, plus le temps d'induction est long et plus la vitesse de cristallisation et le taux de solide ont tendance à diminuer.

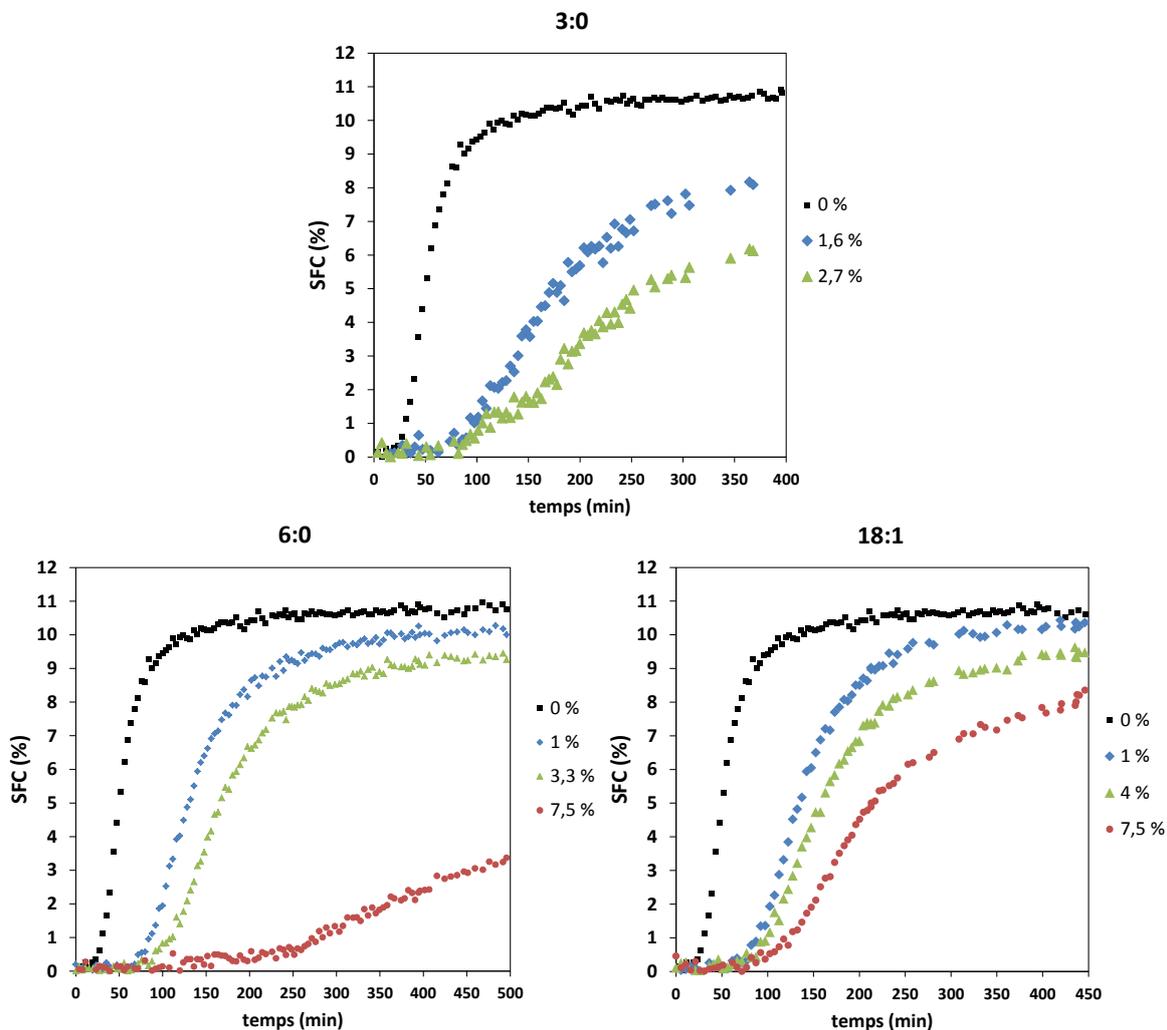


Figure 86 : Cinétiques de cristallisation de la MGLA, à 25 °C, en présence d'acide propionique (3:0), d'acide hexanoïque (6:0) et d'acide oléique (18:1) à différentes concentrations

Tableau 22 : Paramètres de Gompertz ajustés pour les cinétiques de cristallisation de la MGLA, à 25 °C, à différentes concentrations en inhibiteurs, acide propionique (3:0), acide hexanoïque (6:0) et acide oléique (18:1)

	Fraction massique (%) ¹	Concentration molaire (mmol / L _{MGLA})	Modèle de Gompertz			
			a (%)	μ (%.min ⁻¹)	λ (min)	r ² ajusté
MGLA	0	0	10,5	0,190	25	0,994
3:0	1,1	198	8,0	0,052	80	0,992
3:0	1,9	339	6,8	0,030	91	0,987
6:0	1,0	85	9,9	0,086	74	0,997
6:0	2,9	266	9,2	0,066	94	0,998
6:0	6,6	623	4,9	0,011	185	0,986
18:1	1,1	35	10,2	0,088	79	0,998
18:1	4,0	134	9,4	0,067	85	0,998
18:1	7,5	258	8,1	0,045	102	0,996

¹: fraction massique : masse de modulateur par masse totale (MGLA + modulateur)

a : taux de solide final, λ : vitesse maximale et μ : temps d'induction

La représentation des paramètres de Gompertz avec l'addition de modulateurs est présentée en Figure 87. Jusqu'à présent, nous avons exprimé les concentrations en fraction massique puisque cela correspond à une substitution en poids de la MGLA par le modulateur. Néanmoins, il peut être intéressant d'exprimer les concentrations en moles pour considérer le nombre de molécules de modulateur mis en jeu. Les concentrations sont exprimées en fraction massique (gramme de modulateur par gramme de mélange) sur les courbes de gauche ou en concentration molaire (mmol de modulateur par litre de MGLA fondue) sur les courbes de droite. Selon que l'on considère l'une ou l'autre des représentations, l'influence de ces inhibiteurs sur le taux de solide final, la vitesse de cristallisation et le temps d'induction est différente. Si l'on considère la fraction massique, l'acide propionique est un inhibiteur nettement plus efficace que l'acide hexanoïque et que l'acide oléique. Mais, si la fraction molaire est prise en compte, les courbes ont tendance à se rapprocher. D'un point de vue mécanistique, l'acide propionique n'est donc pas nécessairement plus efficace. Comme sa masse molaire est plus faible, à une concentration massique donnée, sa concentration molaire est plus élevée.

Le resserrement des courbes lorsqu'elles sont exprimées en fonction de la concentration molaire suggère un rôle dominant de l'entropie de mélange. En effet, l'ajout de petites molécules dans la matière grasse contribue à diminuer sa température de solidification en augmentant l'entropie. De la même manière, il est connu que le propylène glycol permet de diminuer la température de congélation de l'eau. S'agissant d'un effet entropique, l'abaissement de la température de solidification d'un solvant dû à la présence du soluté ne dépend pas de la nature du composé dissous dans le solvant, mais seulement de sa fraction molaire. La loi de cryométrie de Raoult [19] prévoit que l'abaissement de la température de cristallisation du solvant est proportionnel à la fraction molaire du soluté.

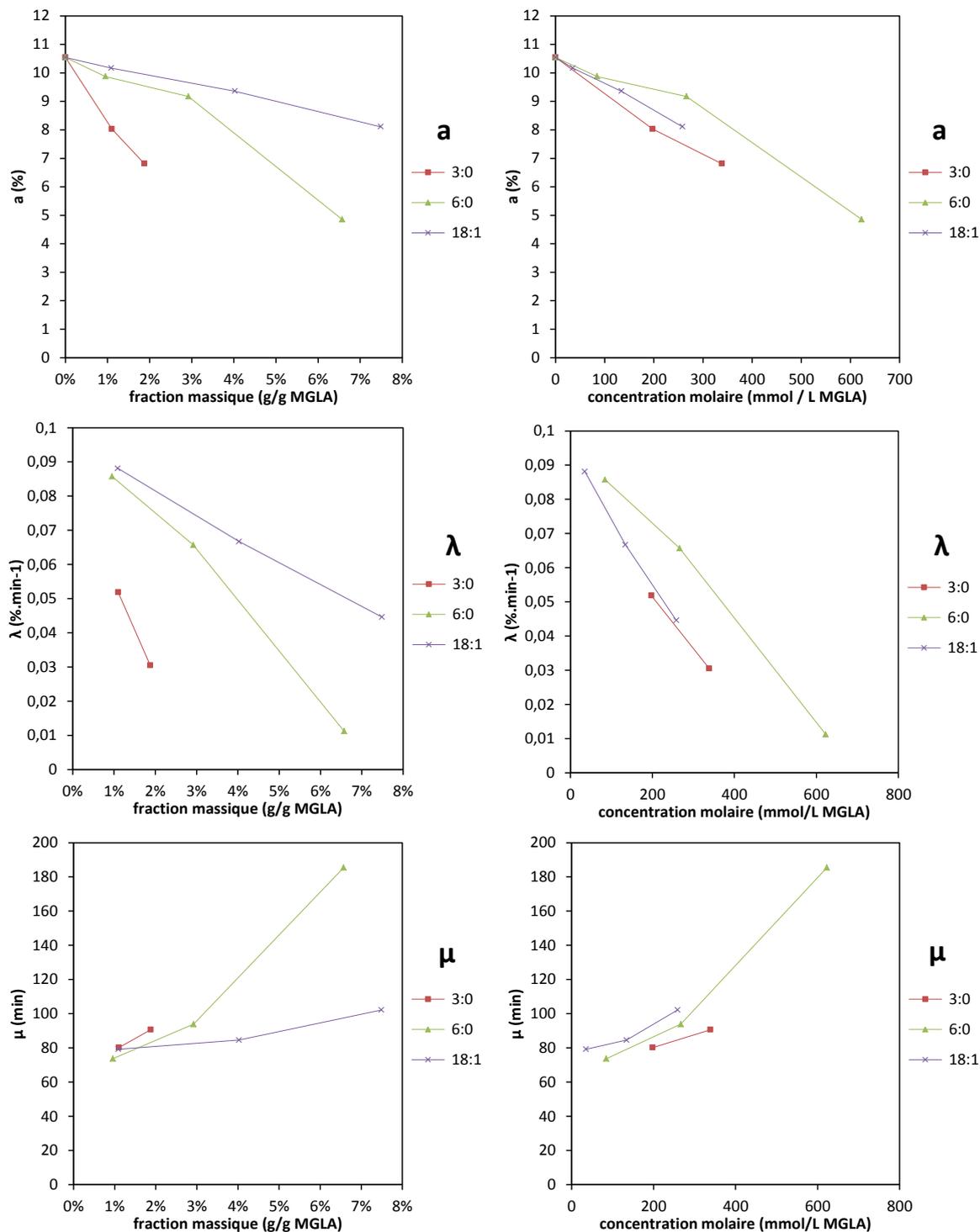


Figure 87 : Variation des paramètres de Gompertz avec la concentration en inhibiteurs. a : taux de solide final, λ : vitesse maximale et μ : temps d'induction. À gauche : fraction massique. À droite : concentration molaire

La triacétine n'a pas d'effet sur la cristallisation de la MGLA à 25 °C aux faibles concentrations (1,3 % et 2,6 %, Figure 88). Pour une concentration plus élevée, elle inhibe la

cristallisation, en diminuant le taux de solide final de 2 unités (-2%) et en réduisant la vitesse de cristallisation d'un facteur 2, mais sans impact significatif sur le temps d'induction (Tableau 23).

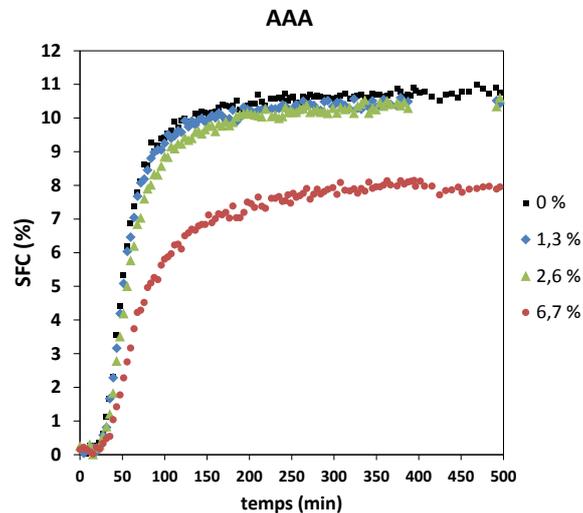


Figure 88 : Cinétique de cristallisation de la MGLA, à 25 °C, en présence de triacétine (AAA) à différentes concentrations

Tableau 23 : Paramètres de Gompertz ajustés pour les cinétiques de cristallisation de la MGLA, à 25 °C, à différentes concentrations en triacétine (AAA)

	Fraction massique (%) ¹	Concentration molaire (mmol / L _{MGLA})	Modèle de Gompertz			
			a (%) ²	μ (%·min ⁻¹) ²	λ (min) ²	r ² ajusté
MGLA	0	0	10,5	0,190	25	0,994
AAA	1,3	29	10,2	0,191	26	0,996
AAA	2,6	61	10,1	0,157	26	0,995
AAA	6,7	161	7,8	0,080	23	0,989

1 : fraction massique : masse de modulateur par masse totale (MGLA + modulateur)

2 : a : taux de solide final, λ : vitesse maximale et μ : temps d'induction

3.1.2. Cas des promoteurs de cristallisation

Les triglycérides à longue chaîne, tripalmitine et tristéarine, accélérateurs de cristallisation, voient leur effet augmenter avec les concentrations croissantes. L'effet de la concentration en tripalmitine est présenté sur la Figure 89 et les paramètres de Gompertz correspondants sont reportés dans le Tableau 24. Les résultats des autres modèles sont consultables en Annexe 9. Quand la concentration en tripalmitine augmente, le taux de solide final et la vitesse de cristallisation augmentent et le temps d'induction diminue. Des résultats similaires sont obtenus pour la tristéarine (Annexe 10).

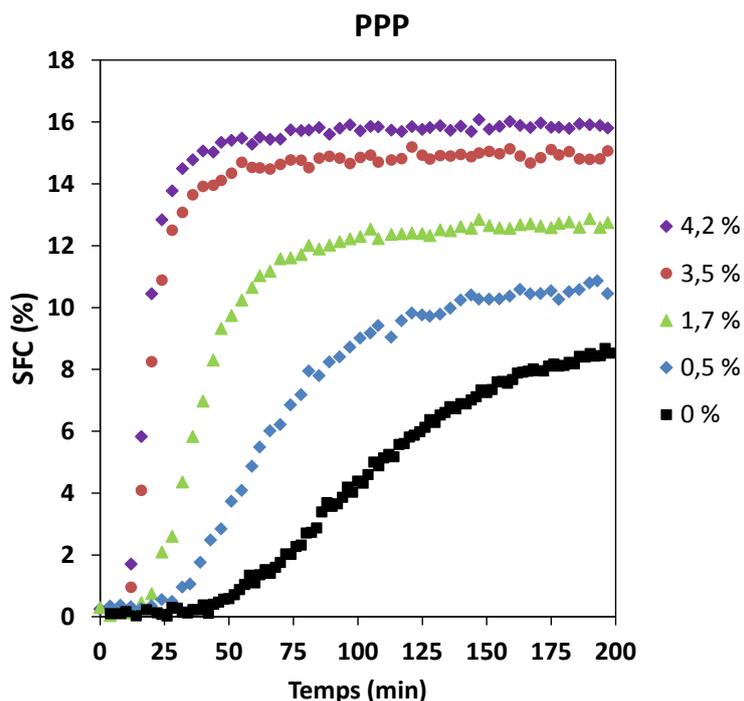


Figure 89 : Cinétiques de cristallisation de la MGLA, à 25 °C, en présence de tripalmitine (PPP) à différentes concentrations

Tableau 24 : Effet de la concentration en tripalmitine sur les paramètres cinétiques de Gompertz

	Fraction massique (%) ¹	Concentration molaire (mmol / L _{MGLA})	Modèle de Gompertz			
			a (%) ²	μ (min ⁻¹) ²	λ (min) ²	r ² ajusté
MGLA	0	0	10,6	0,073	44	0,998
PPP	0,5	7,8	10,8	0,143	26	0,996
PPP	1,7	24,8	12,6	0,327	19	0,997
PPP	3,5	51,0	14,9	0,876	11	0,995
PPP	4,2	61,9	15,8	1,062	10	0,995

1 : fraction massique : masse de modulateur par masse totale (MGLA + modulateur)

2 : a : taux de solide final, λ vitesse maximale et μ : temps d'induction

Les acides gras libres à longue chaîne (16:0, 18:0, 20:0) sont ajoutés à des concentrations plus importantes. Les cinétiques obtenues pour l'acide stéarique sont présentées sur la Figure 90. À partir de 5 % de 18:0, la cinétique de cristallisation passe d'une à deux étapes. Une première étape, très rapide, se déroule sans temps d'induction. Après un palier intermédiaire, le taux de solide augmente à nouveau pour atteindre le taux de solide final, avec une vitesse moins importante. Le même phénomène est observé pour l'acide palmitique ajouté à 11,6 % et pour l'acide arachidique dès 1,9 % (courbes en annexe 11).

Ce type de cinétique en deux étapes a déjà été observé pour la MGLA seule, mais à de plus grands degrés de surfusion [15,20]. Pour des températures de cristallisation inférieures à 20 °C, une première étape rapide, dont l'amplitude et la vitesse dépendent de la température, a été observée en RMN. Pour d'importants degrés de surfusion, le mécanisme en plusieurs étapes peut correspondre à la cristallisation successive de différentes fractions [5,21,22]. En effet, en dessous de 20 °C, les fractions haut et moyen point de fusion (respectivement HMF et MMF) sont toutes les deux susceptibles de cristalliser [20].

L'analyse en diffraction des rayons X de la fraction HMF de la MGLA cristallisée à 19 °C montre que les deux étapes seraient plutôt dues à une transition polymorphique [20]. Lors de la première étape, la matière grasse cristallise sous forme α . Puis, lors de la deuxième étape, cette forme α subit une transformation de phase vers une forme β' . L'existence d'un point isobestique (vecteur d'onde auquel l'intensité diffractée par l'échantillon reste constante durant la transition de phase) en diffraction des rayons X prouverait que la forme β' ne se forme pas à partir du liquide, mais uniquement à partir de la forme α [20,21]. L'augmentation de la cristallinité lors du passage de la forme α à la forme β' serait due au fait que les extrémités des triglycérides cristallisés sous forme α restent liquides. La mobilité de ces groupes terminaux est réduite lors du passage à la forme β' [20], ce qui augmente le taux de solide mesuré en RMN.

Dans notre étude, à 25 °C, seule la fraction HMF de la MGLA est supposée cristalliser et la cristallisation successive de deux fractions de MGLA est peu probable. Deux hypothèses restent néanmoins envisageables :

- lors de la première étape, le mélange cristallise sous forme α . Puis, lors de la seconde étape, il se produit une transition de phase de la forme α vers la forme β' ;
- lors de la première étape, le modulateur de cristallisation cristallise seul, puis la MGLA cristallise dans la seconde étape.

Les trois modèles adaptés à des cinétiques en deux étapes (Chapitre 1 § 1.5.2) sont appliqués aux courbes de RMN (tableaux de valeurs en Annexe 12). Le modèle de Foubert est le plus performant et les résultats obtenus pour les trois modulateurs sont présentés dans le Tableau 25.

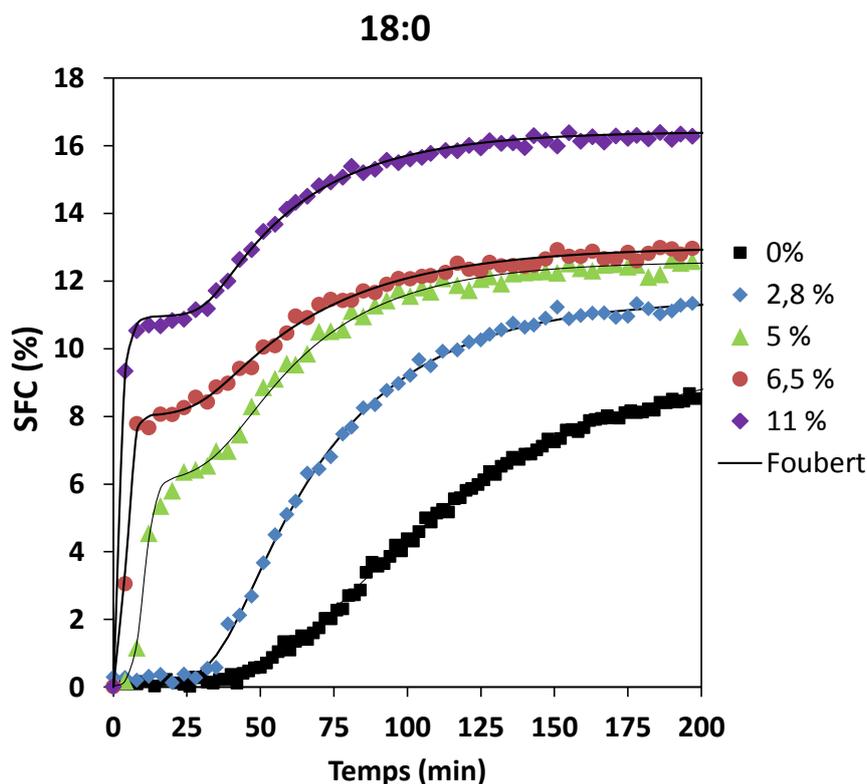


Figure 90 : Effet de la concentration en acide stéarique sur la cinétique de cristallisation isotherme de la MGLA à 25 °C et modélisation des courbes par le modèle de Foubert

Tableau 25 : Influence de la concentration en acides gras libres à longue chaîne longue et saturée sur les paramètres cinétiques du modèle de Foubert en deux étapes

	Fraction massique (%)	Concentration molaire (mmol/L)	Modèle de Foubert								
			a_1 (%) ¹	K_1 (min ⁻¹) ¹	n_1 (s.u.) ¹	t_{i1} (min) ¹	a_2 (%) ¹	K_2 (min ⁻¹) ¹	n_2 (s.u.) ¹	t_{i2} (min) ¹	r^2 ajusté
MGLA	0	0					10,6	0,013	7,8	27	0,999
16:0 ²	1,2	52,7					10,0	0,016	10,9	27	0,997
16:0 ²	5,4	247,8					12,8	0,016	6,6	20	0,997
16:0 ²	7,2	336,7					13,2	0,039	7,2	30	0,993
16:0	11,6	569,5	11,0	0,510	10	3	14,8	0,057	7,0	19	0,993
18:0 ²	2,8	114,2					11,3	0,028	6,1	19	0,999
18:0	5,1	210,8	6,0	0,550	2	3	12,6	0,029	5,7	14	0,996
18:0	6,5	269,3	8,0	0,600	4	2	13,0	0,024	8,0	15	0,995
18:0	11,1	488,6	11,0	0,484	100	1	16,4	0,030	9,8	23	0,997
20:0 ²	0,5	16,1					10,4	0,060	8,6	18	0,995
20:0	1,9	68,9	1,3	0,265	10	2,7	11,1	0,0556	7,7	13	0,993
20:0	5,3	199,0	5,0	0,235	100	0,9	13,0	0,046	9,0	10	0,992

¹: a : taux de solide final, K : constante de vitesse, n : ordre de la réaction inverse, t_i : temps d'induction.

L'indice se réfère à la première ou la seconde étape.

²: mécanisme en une étape. Cette seule étape est assimilée à la 2^e étape d'un mécanisme à deux étapes.

La concentration critique de modulateur pour laquelle le mécanisme de cristallisation passe d'une à deux étapes dépend de la longueur de la chaîne de l'acide gras : plus la chaîne du modulateur est longue, plus le changement de mécanisme de cristallisation se produit à une concentration faible. Ceci peut s'expliquer par le fait que plus la chaîne aliphatique est

longue, plus la température de fusion du modulateur est importante (75 °C pour 20:0, 69 °C pour 18:0 et 62 °C pour 16:0). Les limites de solubilité théoriques (dans le cas d'un mélange idéal) de ces trois modulateurs ont été calculées d'après la relation de Hildebrand, au moyen des enthalpies de fusion de la littérature [23] et sont représentées sur la Figure 91. À 25 °C, la saturation de l'acide arachidique est inférieure à celle de l'acide stéarique, elle-même inférieure à celle de l'acide palmitique.

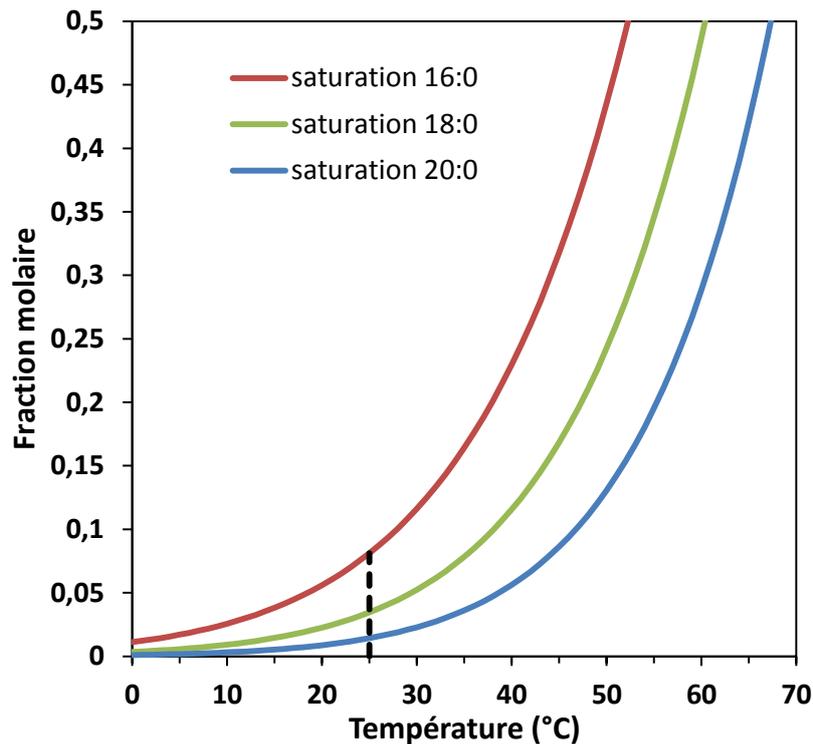


Figure 91 : Solubilité de l'acide palmitique (16:0), de l'acide stéarique (18:0) et de l'acide arachidique (20:0), calculée dans le cas d'un mélange idéal au moyen de l'équation d'Hildebrand et des enthalpies de fusion de la littérature [23]. Segment pointillé : solubilité théorique à 25 °C.

L'adéquation de la longueur de la chaîne de l'acide gras libre avec la longueur des chaînes d'acides gras de la MGLA pourrait faciliter leur intercalation dans les cristaux de MGLA. En effet, la MGLA est riche en chaînes palmitiques (> 30 %), moins riche en chaînes stéariques ($\approx 10\%$) et pauvre en acide arachidique (0,2 %). Cette facilité à s'intégrer au réseau augmenterait la concentration critique au-delà de laquelle le modulateur cristallise seul dans la première étape.

La Figure 92 représente la hauteur du premier palier en fonction de la fraction massique de modulateur, dans le cas des cinétiques en deux étapes. La linéarité et la valeur de la pente proche de l'unité suggèrent que la première étape de cristallisation est principalement due à

la cristallisation du modulateur. Cette hypothèse est également compatible avec l'effet de la compatibilité additif/matrice discuté précédemment : moins l'additif est soluble, plus il favorise un mécanisme en deux étapes.

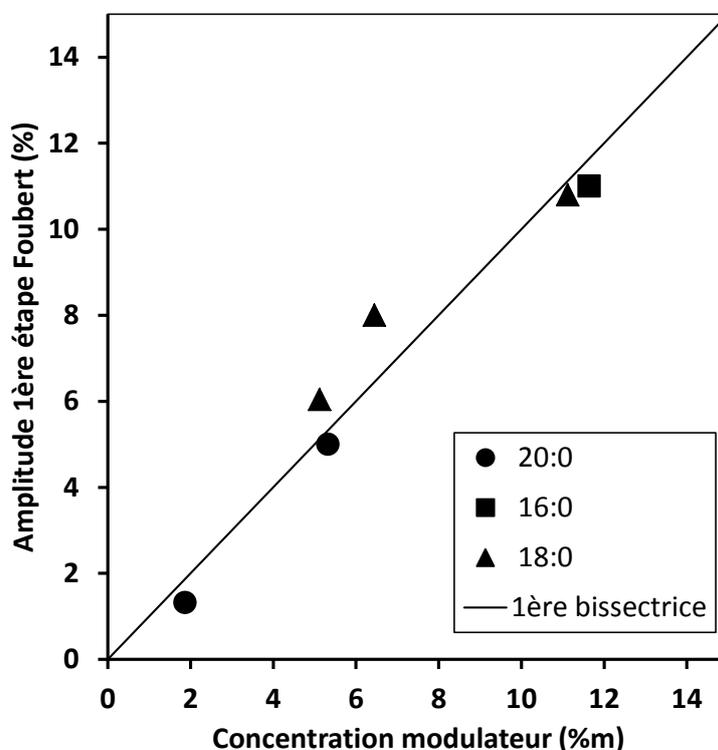


Figure 92 : Amplitude de la 1^{ère} étape de cristallisation déterminée par le modèle de Foubert à deux étapes (a_1). La 1^{ère} bissectrice représentée en trait plein permet de visualiser l'égalité entre a_1 et la concentration en modulateur

Afin de trancher entre l'hypothèse d'une cristallisation préalable du modulateur et celle d'une transition polymorphique de la MGLA, l'influence de l'acide palmitique a fait l'objet d'investigations complémentaires.

3.2. Influence de la concentration en acide palmitique sur la nanostructure de la matière grasse laitière

Un mélange de MGLA et d'acide palmitique est étudié en diffraction des rayons X, à la concentration de 10 % où la cristallisation s'effectue en deux étapes. La cinétique de cristallisation est suivie dans les conditions décrites au paragraphe 2.1.2. La cinétique complète est présentée en figure 93.

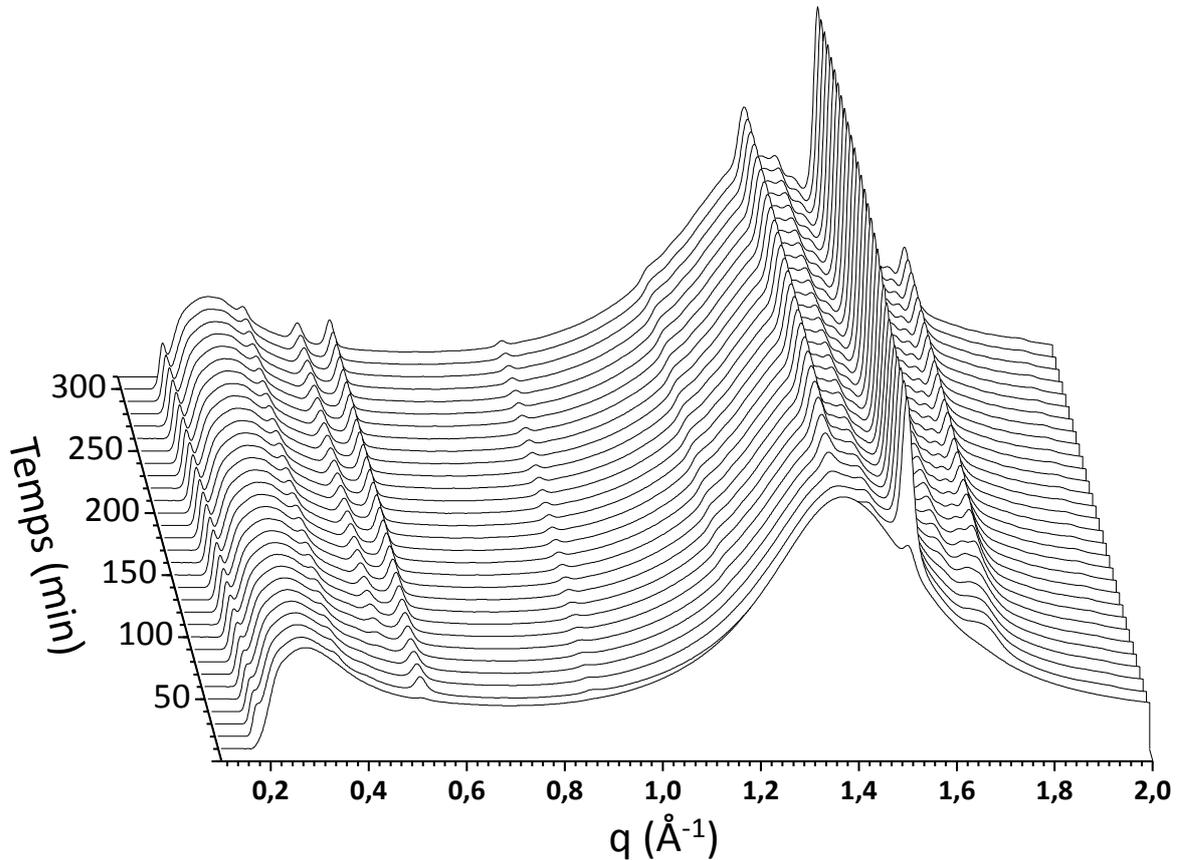


Figure 93: Cinétique de cristallisation isotherme du mélange MGLA + 10 % d'acide palmitique à 25 °C suivi par diffraction des rayons X

Pour l'indexation des pics, le diffractogramme obtenu après 100 min de cristallisation, représenté sur la Figure 94, contient la totalité des pics décelés. L'augmentation de la concentration en acide palmitique modifie de manière significative le diffractogramme obtenu, contrairement à l'ajout de 1 % qui n'avait pas d'influence sur les formes cristallographiques formées dans la MGLA seule. Pour 10 % d'acide palmitique, certains pics disparaissent ($d=20,8 \text{ \AA}$, $d=4,27 \text{ \AA}$, $d=3,84 \text{ \AA}$) et de nouveaux pics apparaissent ($d=11,9 \text{ \AA}$, $d=7,16 \text{ \AA}$, $d=4,58 \text{ \AA}$, $d=4,13 \text{ \AA}$).

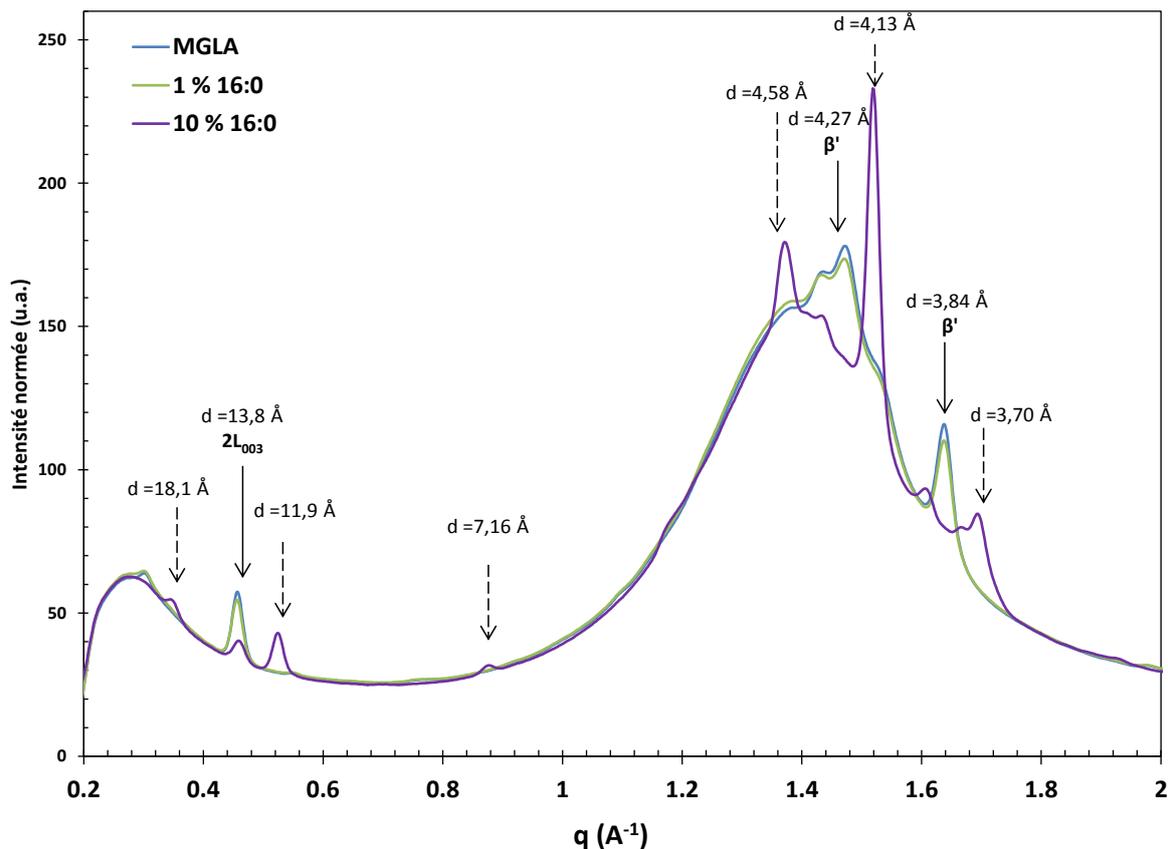


Figure 94 : Diffractogrammes de la MGLA en présence d'acide palmitique (16:0) à différentes concentrations (Flèches trait continu : pics indexés pour la MGLA et la MGLA avec 1% d'acide palmitique ; flèches trait pointillé : pics indexés pour la MGLA avec 10% d'acide palmitique)

Afin de savoir si les nouveaux pics peuvent être attribués à l'acide palmitique, le diffractogramme de l'acide palmitique pur est analysé (Figure 95). L'acide palmitique pur est complètement solide à 25 °C. Il conduit à des pics bien résolus d'intensité beaucoup plus importante que ceux de la MGLA. Ils correspondent à la forme cristallographique C de l'acide palmitique, c'est-à-dire à une maille monoclinique appartenant au groupe d'espace P21/c [24,25], les polymorphes α , β' et β n'étant pas définis pour les acides gras libres. Les indices de Miller correspondant aux principaux pics de l'acide palmitique sont présentés dans le Tableau 26 et sont reportés sur la Figure 95. La représentation à trois dimensions de la maille élémentaire de l'acide palmitique, représentée au moyen du logiciel *Mercury 3.9* est également reportée sur cette figure.

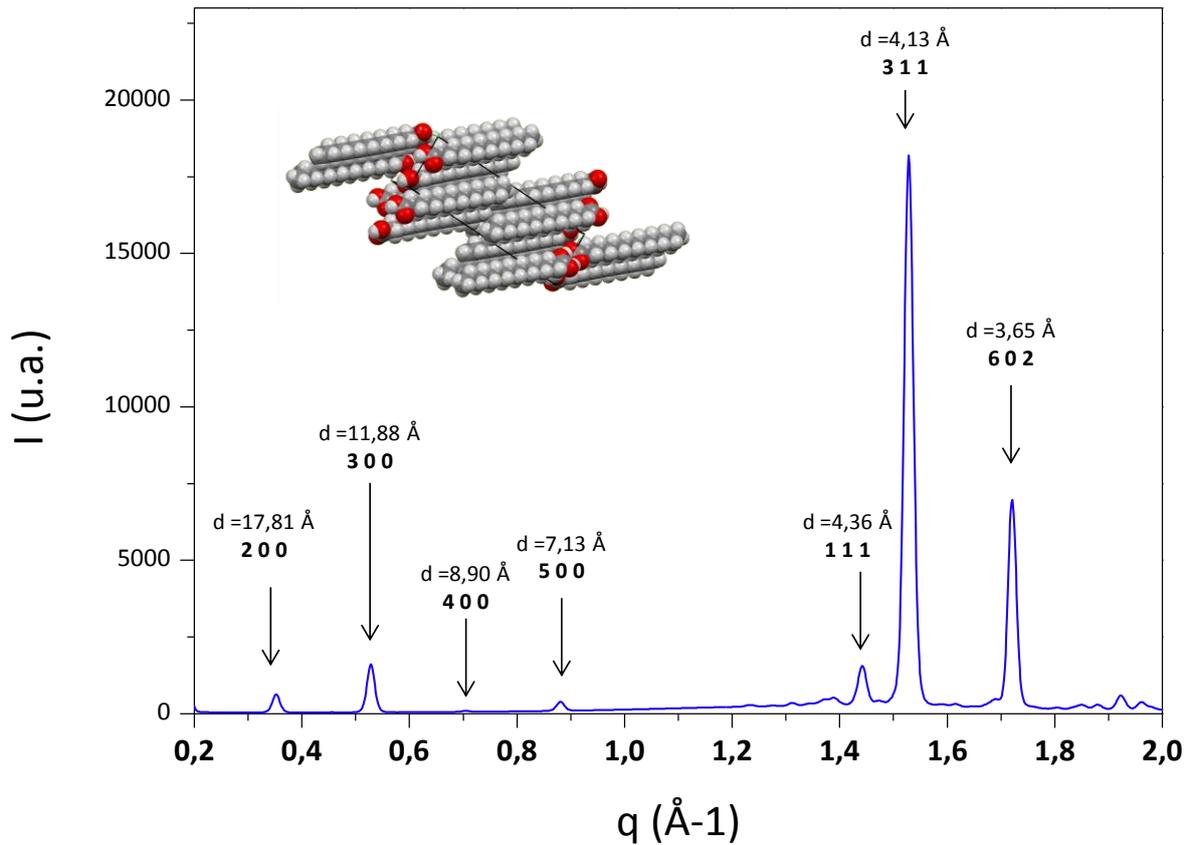


Figure 95 : Diffractogramme de l'acide palmitique pur

Tableau 26 : indice de Miller de l'acide palmitique pur et distances réticulaires correspondantes

h	k	l	d (\AA)
2	0	0	17,81
3	0	0	11,88
4	0	0	8,90
5	0	0	7,13
1	1	1	4,36
3	1	1	4,13
6	0	2	3,65

La Figure 96 compare les diffractogrammes du mélange MGLA avec 10% d'acide palmitique et celui de l'acide palmitique pur aux petites distances (WAXS). L'ajout de l'acide palmitique à 10% induit :

- Une disparition des pics correspondant à la forme β' , pourtant largement majoritaire dans la MGLA seule ;
- Un nouveau pic à $d = 4,13 \text{ \AA}$, qui pourrait correspondre à la forme α de la MGLA ou au pic d_{311} de l'acide palmitique ;
- Un nouveau pic à $d = 4,58 \text{ \AA}$, caractéristique de la forme β de la MGLA. Il n'y a pas d'ambiguïté sur la présence de cette forme dans la mesure où cette distance ne

correspond à aucun pic attribuable à l'acide palmitique. Les pics $d = 3,91 \text{ \AA}$ et $3,70 \text{ \AA}$ sont également attribuables à cette forme.

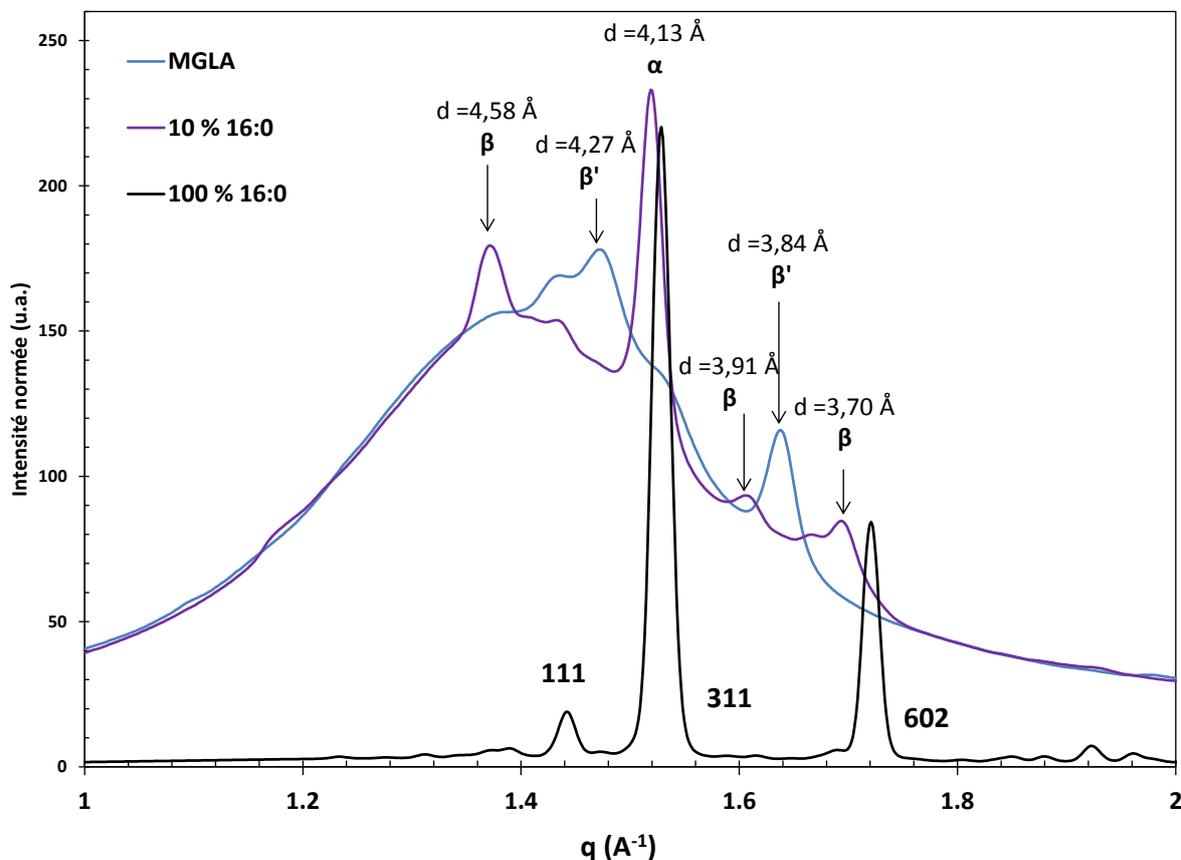


Figure 96 : Diffractogrammes WAXS de la MGLA, de la MGLA avec 10 % d'acide palmitique et de l'acide palmitique pur obtenus après 100 minutes de cristallisation à 25 °C

La superposition des courbes de diffraction des rayons X en cours de cristallisation (Figure 97) met en évidence deux étapes dans la cinétique. Au cours de la première étape, *i.e.* les 30 premières minutes, le pic à $4,13 \text{ \AA}$ correspond à la cristallisation de l'acide palmitique et/ou à la forme α de la MGLA et se forme très rapidement. Puis, au cours de la seconde étape, ce pic continue de croître en se décalant vers des plus petites distances et un pic de la forme β à $4,58 \text{ \AA}$ apparaît à partir de 40 minutes.

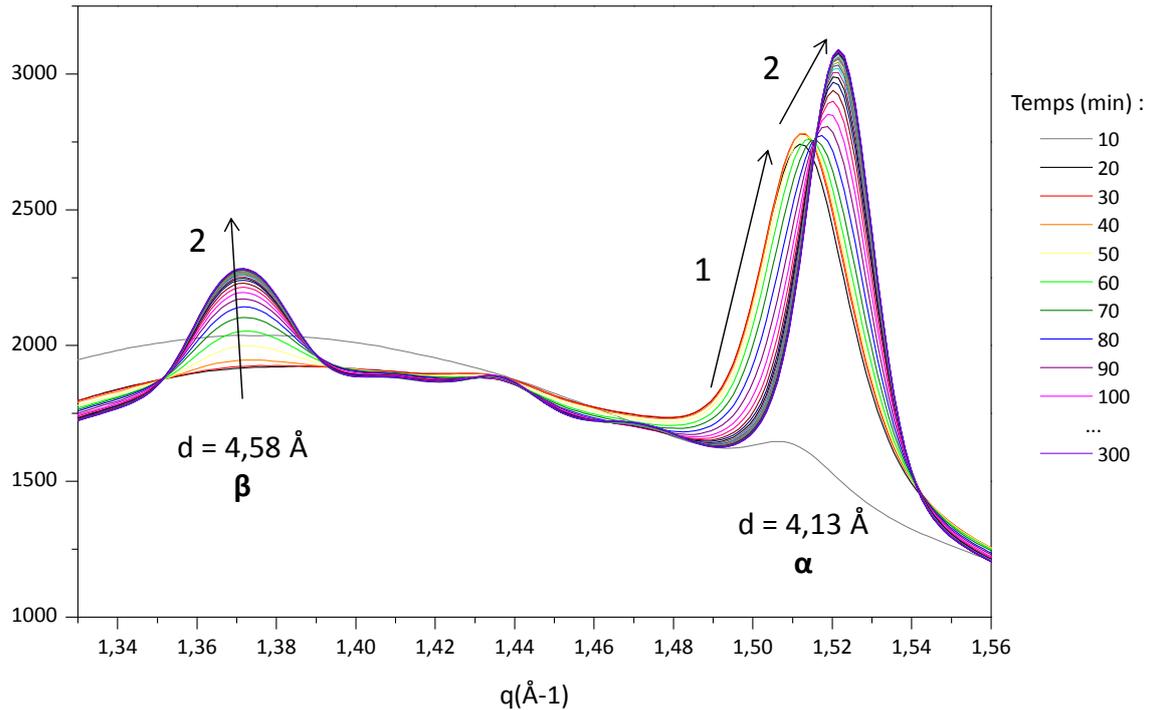


Figure 97 : Cinétique de cristallisation du mélange MGLA avec 10% d'acide palmitique. Les flèches et numéros matérialisent les deux étapes de la cristallisation pour les pics α et β

La Figure 98 représente l'évolution de l'aire des pics à 4,13 Å et 4,58 Å et de leur somme au cours de la cristallisation. La cristallisation sous forme α est très rapide dans les premières minutes, puis, après quarante minutes, la forme β commence à apparaître. La somme de ces deux formes et donc l'évolution globale du taux de solide au cours du temps, nous permet de retrouver l'allure de la cinétique de cristallisation en deux étapes observée en RMN.

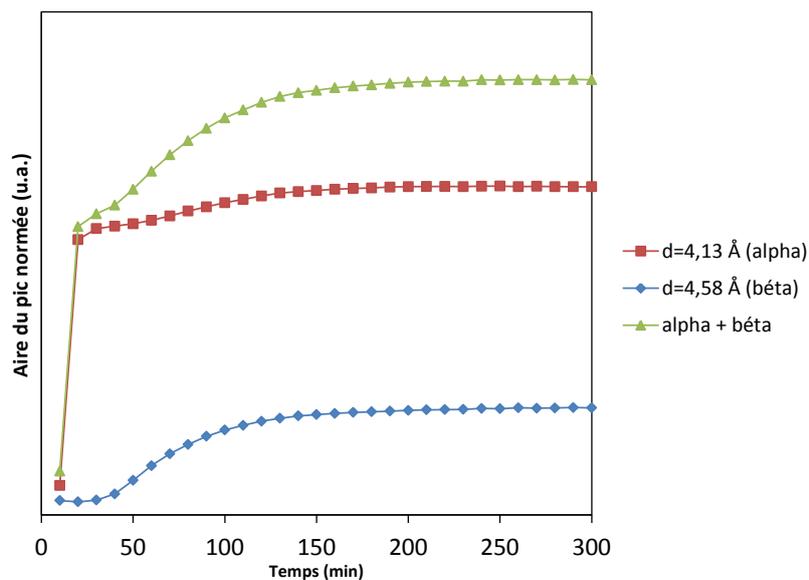


Figure 98 : Évolution de l'aire des pics à 4,13 Å et 4,58 Å au cours du temps de cristallisation du mélange MGLA avec 10% d'acide palmitique

L'analyse des données obtenues aux petits angles de diffraction conduit à l'indexation des pics présentée sur la Figure 99. L'ajout de 10 % d'acide palmitique conduit à la formation d'une nouvelle forme 2L appelée $2L_2$ pour la différencier de la forme $2L_1$ obtenue avec la MGLA seule. Cette forme $2L_2$ comporte trois pics de diffraction visibles dans le domaine étudié : $d_{002} = 18,1 \text{ \AA}$, $d_{003} = 11,9 \text{ \AA}$ et $d_{005} = 7,16 \text{ \AA}$ qui coïncident respectivement avec les pics d_{200} , d_{300} , d_{500} de l'acide palmitique seul. Contrairement à ce qui est observé aux grands angles de diffraction, aucun pic ne se forme sans correspondance avec les pics connus de la MGLA seule ou de l'acide palmitique pur.

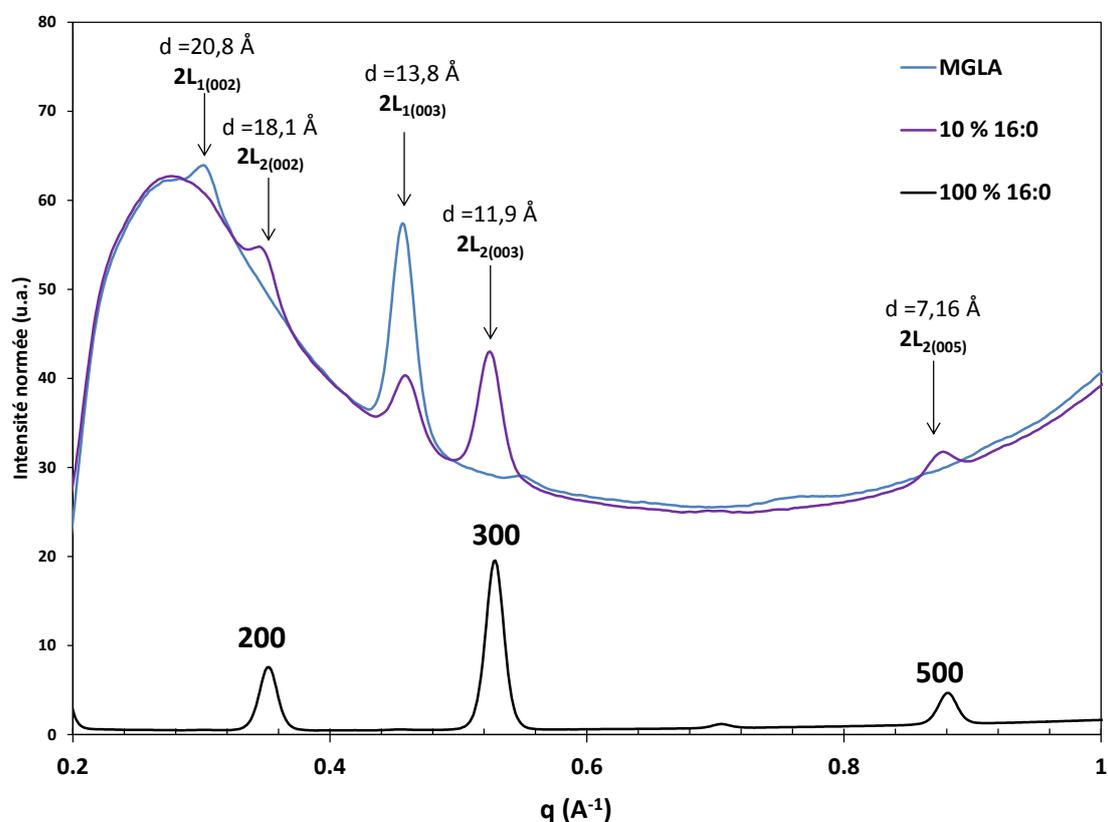


Figure 99 : Diffractogrammes SAXS de la MGLA, de la MGLA avec 10 % d'acide palmitique et de l'acide palmitique pur obtenus après 100 minutes de cristallisation à 25 °C

Les pics de $2L_1(003)$ et $2L_2(003)$ sont suivis en cinétique (Figure 100). Comme pour les grands angles de diffraction, la cinétique se déroule en deux étapes : une première qui conduit à la formation de la forme $2L_2$ très rapidement, puis une seconde où le pic $2L_2$ continue de croître et se décale vers des plus petites distances et où la forme $2L_1$ se forme. Comme pour les formes α et β , la représentation de l'aire de ces pics en fonction du temps et de leur somme conduit à une cinétique en deux étapes, en accord avec la RMN (Figure 101).

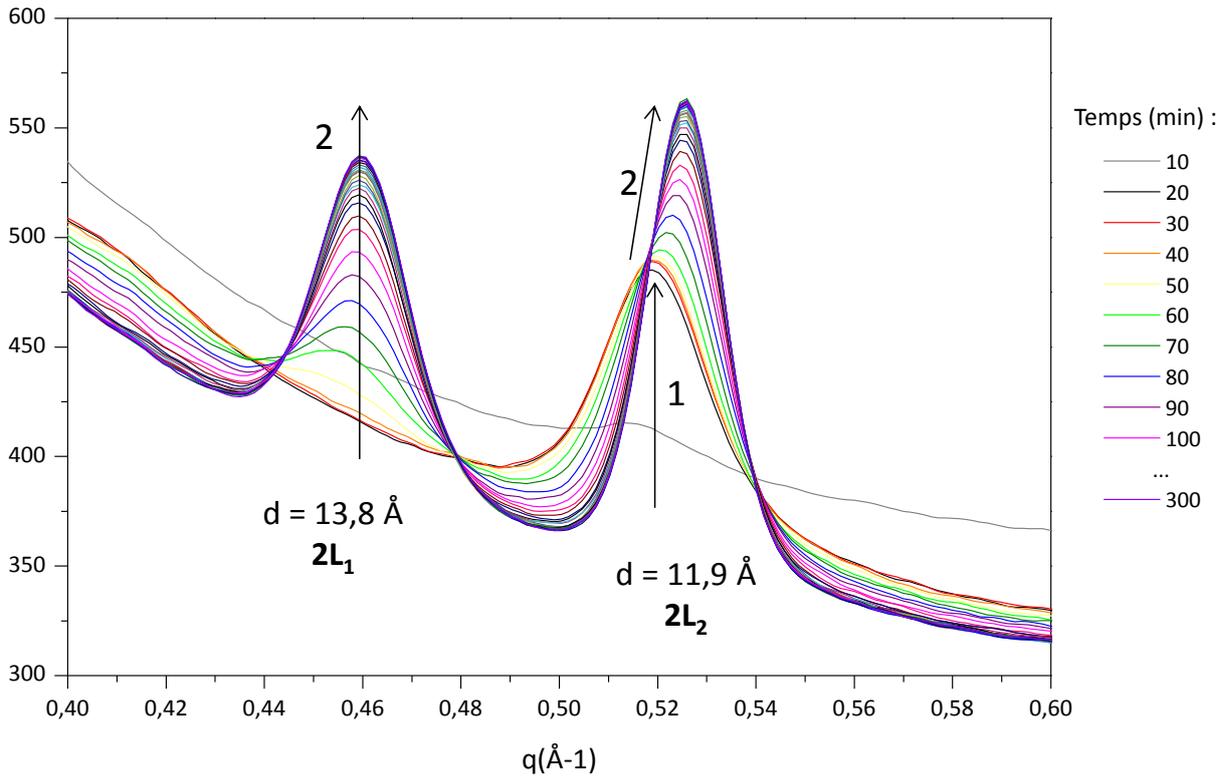


Figure 100 : Cinétique de cristallisation du mélange MGLA avec acide palmitique à 10 %, focus sur les pics $2L_{1(003)}$ et $2L_{2(003)}$. Les flèches et numéros matérialisent les deux étapes de la cristallisation

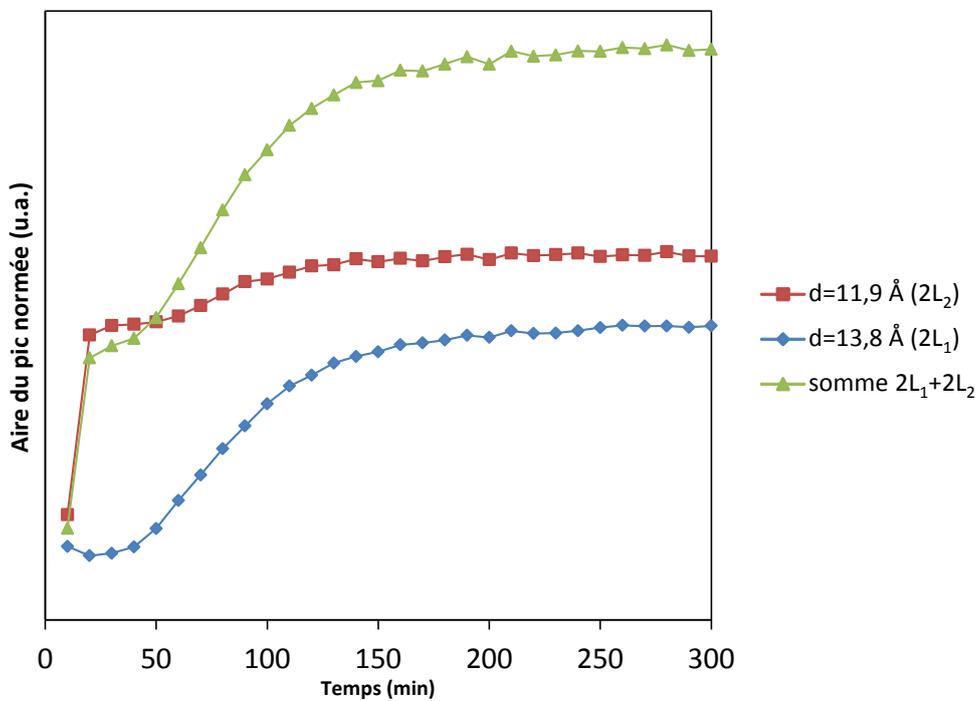


Figure 101 : Évolution de l'aire des pics à 11,9 \AA et 13,8 \AA au cours du temps de cristallisation du mélange MGLA / acide palmitique à 10 %

L'étude par diffraction des rayons X en cours de cristallisation du mélange MGLA avec 10% d'acide palmitique permet de proposer le mécanisme de cristallisation en deux étapes suivant :

- En premier lieu, l'acide palmitique cristallise sous forme C, une maille monoclinique de distance longitudinale $2L$;
- le fait que l'acide palmitique cristallise dans un réseau cristallin dont les paramètres de maille sont proches de la forme α de la MGLA, favorise la cristallisation des triglycérides à haut point de fusion de la MGLA sous une forme $2L_1-\alpha$;
- Puis, dans un second temps, la MGLA subit une transition de phase vers une forme $2L_2-\beta$. Une partie de la MGLA reste cristallisée en forme α à cette échelle de temps.

Il reste difficile de trancher entre les deux hypothèses d'interprétation de la première étape, à savoir, une cristallisation de l'acide palmitique seul ou une cristallisation de l'acide palmitique et d'une partie de la MGLA sous forme α . Néanmoins, l'absence de cristaux sous forme β'_1 (et seulement des traces de β'_2) et l'attribution non ambiguë des pics caractéristiques de la forme β , qui ne peuvent correspondre à l'acide palmitique, suggèrent que l'acide palmitique oriente l'organisation polymorphique de la matière grasse laitière. Le diffractogramme obtenu n'aurait pu être prédit par simple combinaison des diffractogrammes de la MGLA et de l'acide palmitique à cette température. L'acide palmitique, par la proximité de sa structure cristalline favorise la formation de la forme α pour la MGLA. Mais cette forme est instable et la température de 25 °C est trop élevée pour qu'elle persiste. Elle tend à évoluer vers une forme β , sans passer par la forme β' , pourtant relativement stable à cette température pour la MGLA seule. Il est possible que l'acide palmitique, de par sa présence dans les triglycérides de la MGLA, présente une affinité pour les triglycérides à haut point de fusion et conduise à leur séparation d'avec les fractions non cristallisables à 25 °C. Dans la MGLA native, l'organisation de ces triglycérides sous la forme β , la plus compacte, est perturbée par la composition complexe. Ils adoptent donc plutôt la forme β' , moins dense que la forme β . Mais si la présence d'acide palmitique promeut une séparation d'espèces moléculaires plus ou moins cristallisables, alors les triglycérides à plus haut point de fusion pourraient être plus à même de s'organiser sous la forme β .

Le mécanisme d'action de l'acide palmitique à haute concentration n'est pas totalement élucidé, et des investigations complémentaires par DRX, en faisant varier la concentration apportée, pourraient permettre de confirmer ou invalider nos hypothèses.

3.3. Influence de la concentration en acide palmitique sur la microstructure

Le cliché de microscopie présenté Figure 102 correspond à un mélange MGLA avec 10 % d'acide palmitique cristallisé entre lame et lamelle pendant 4 h. Le taux de solide étant plus élevé que pour les mélanges précédemment étudiés (Figure 79), le réseau solide est beaucoup plus compact. Il est néanmoins possible de distinguer des sphérulites, qui semblent plus denses que celles observées dans la MGLA seule.

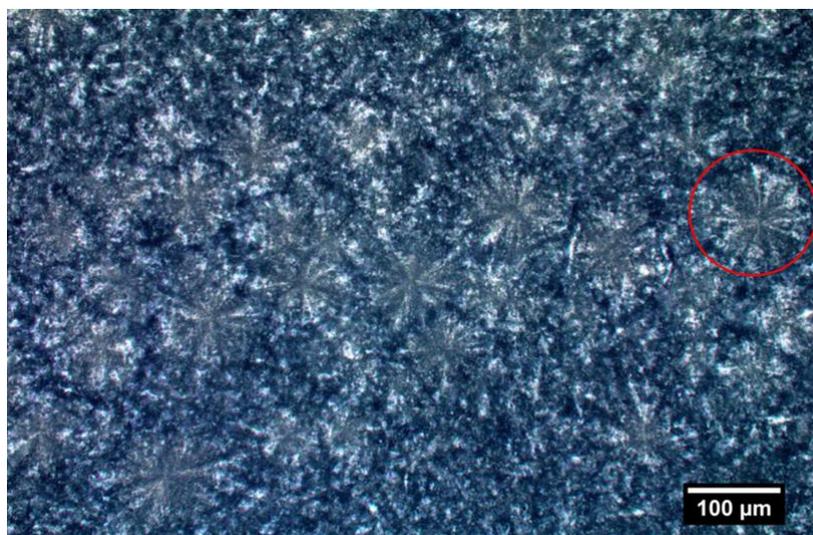


Figure 102: Observation en microscopie à lumière polarisée du mélange MGLA / Acide palmitique à 10 % cristallisé entre lame et lamelle. Une sphérulite est cerclée en rouge.

Le confinement entre lame et lamelle pourrait influencer notablement le mode de formation des cristaux. Un mélange MGLA et 10 % d'acide palmitique est donc cristallisé à 25 °C dans un tube de 100 mL pendant 4 h. Puis, un échantillon est prélevé et confiné entre lame et lamelle à cette même température. Ce mélange est comparé avec la MGLA seule cristallisée et observée dans les mêmes conditions (Figure 103). Pour la MGLA seule, les sphérulites sont observables, mais moins distinctement que lors de la cristallisation entre lame et lamelle. Il est possible que l'écrasement/cisaillement subi lors confinement entre lame et lamelle ait modifié leur microstructure. Le mélange avec 10 % d'acide palmitique présente une structure très différente. Des cristaux en forme de « plumes », très allongés, sont visibles suggérant une influence forte de l'acide palmitique sur les mécanismes de nucléation et de croissance à cette concentration. La cristallisation de l'acide palmitique pourrait se

faire dans un premier temps sous forme de segments qui formeraient l'arrête centrale. Puis, les triglycérides cristallisables de la MGLA viendraient croître sur cette arête centrale, pour conduire à cette microstructure en forme de plume. Une observation dynamique pourrait confirmer ce phénomène.

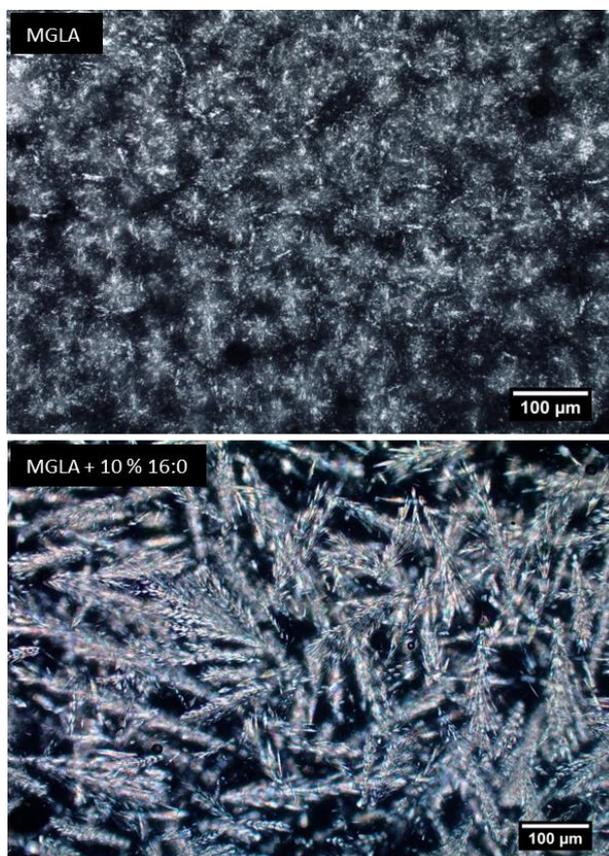


Figure 103 : Observations en microscopie à lumière polarisée de la MGLA et du mélange MGLA / 10 % d'acide palmitique cristallisés à 25 °C puis confinés entre lame et lamelle

4. Influence des mélanges de modulateurs sur la cristallisation à 25 °C

Dans les produits alimentaires, plusieurs composés mineurs peuvent être présents simultanément. L'objectif de cette partie est d'étudier les mélanges de modulateurs promoteurs et/ou inhibiteurs de la cristallisation de la MGLA afin de mettre en évidence des effets synergiques ou antagonistes et d'en comprendre les mécanismes. Pour cela, quatre représentants de modulateurs sont étudiés : deux accélérateurs, la tripalmitine et l'acide palmitique et deux inhibiteurs, l'acide butyrique et le butanoate d'éthyle.

4.1. Mélanges de modulateurs accélérateurs ou inhibiteurs

Quatre mélanges sont étudiés en cinétique RMN et en microstructure à 25 °C. Les deux promoteurs sont mélangés à deux concentrations (0,5 % PPP + 0,5% 16:0 et 1 % PPP + 1 %

16:0) de même que les deux inhibiteurs (0,5 % EtObut + 0,5% 4:0 et 1 % EtObut + 1 % 4:0). Les cinétiques obtenues sont présentées sur la Figure 104. Sans surprise, les mélanges de promoteurs accélèrent la cristallisation et les mélanges d'inhibiteurs la retardent. Comme dans la partie précédente (cf. § 3), plus les modulateurs sont concentrés, plus leur effet est prononcé. La modélisation des courbes par le modèle de Gompertz conduit aux paramètres du Tableau 27. Le taux de solide final augmente d'environ 1 % lorsque la concentration en promoteurs est doublée et diminue d'environ 0,5 % avec la concentration en inhibiteurs. La vitesse de cristallisation suit la même évolution qualitative. Le temps d'induction augmente avec la concentration en inhibiteurs en mélange et diminue avec la concentration en promoteurs.

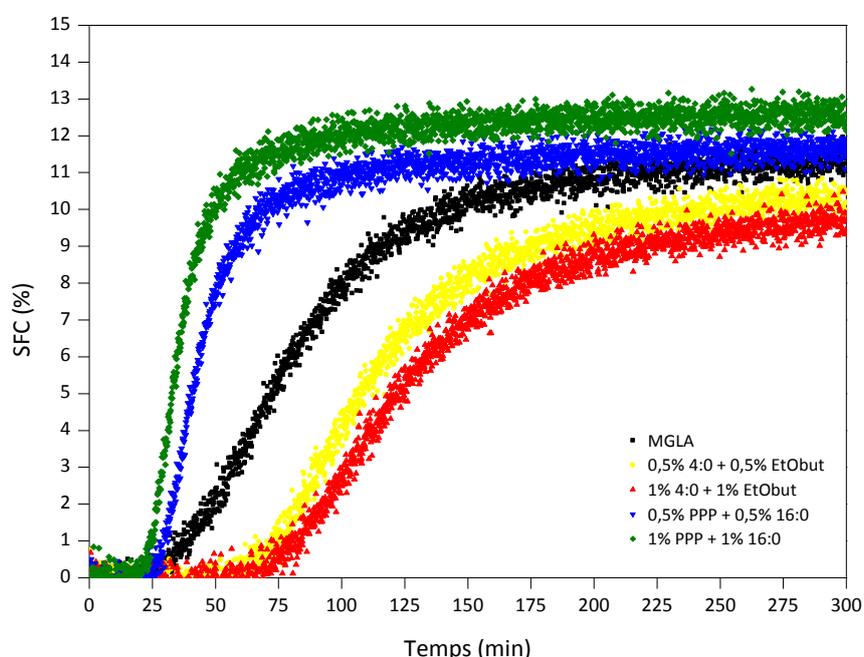


Figure 104 : Cinétique de cristallisation RMN à 25 °C des mélanges de 4 modulateurs. Acide palmitique (16:0), tripalmitine (PPP), acide butyrique (4:0) et butanoate d'éthyle (EtObut)

Tableau 27 : Paramètres de Gompertz obtenus par la modélisation des cinétiques des mélanges de modulateurs. Acide palmitique (16:0), tripalmitine (PPP), acide butyrique (4:0) et butanoate d'éthyle (EtObut).

Modulateurs	Fraction massique	Modèle de Gompertz			r ² ajusté
		a (%) ¹	μ (min ⁻¹) ¹	λ (min) ¹	
MGLA	0 %	11,1	0,13	33,8	0,995
16:0 PPP	0,5 % 0,5 %	11,4	0,32	25,9	0,991
16:0 PPP	1 % 1 %	12,3	0,42	21,5	0,991
4:0 EtObut	0,5 % 0,5 %	10,1	0,11	65,8	0,994
4:0 EtObut	1 % 1 %	9,5	0,10	73,3	0,995

1 : Taux de solide final (a), vitesse maximale de cristallisation (μ) et temps d'induction (λ)

L'étude de la microstructure par microscopie optique permet d'ajouter des éléments de compréhension quant à la prédominance potentielle d'un modulateur par rapport à un autre (Figure 105). Lorsque les deux promoteurs sont ajoutés simultanément à la MGLA, on observe à la fois des sphérulites denses comme lors de l'ajout de tripalmitine seule et des cristaux très petits formant un réseau continu comme lors de l'addition de l'acide palmitique seul. L'augmentation simultanée de la concentration de ces deux additifs conduit à des cristaux denses plus nombreux.

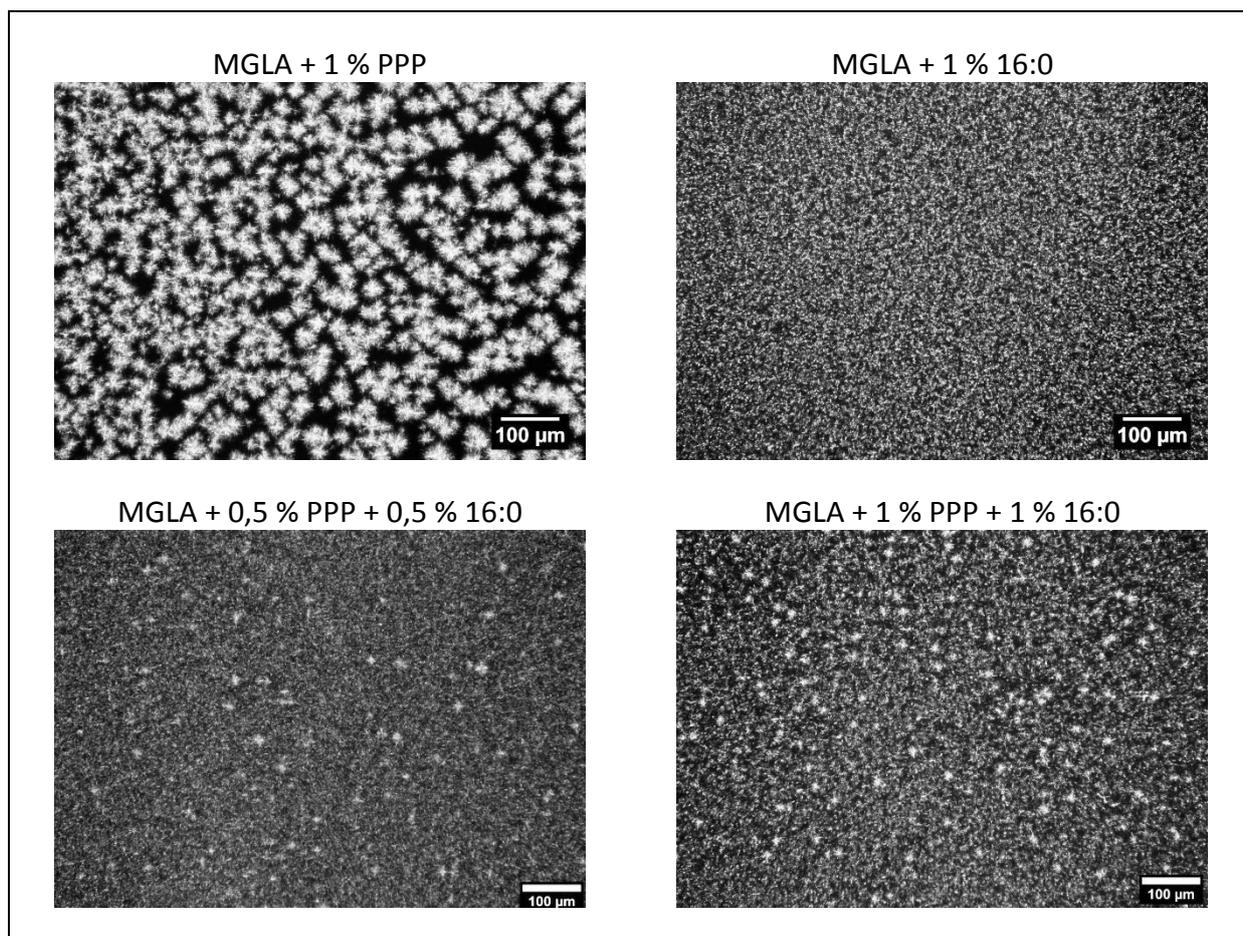


Figure 105 : Microstructure des mélanges de MGLA avec addition de tripalmitine (PPP) et acide palmitique (16:0) à différentes concentrations

La Figure 106 permet de comparer l'ajout individuel de butanoate d'éthyle et d'acide butyrique à leur ajout simultané. L'ester seul conduit à de petites sphérulites nombreuses alors que l'acide gras libre conduit à de gros sphérulites peu nombreux. En mélange, l'action de l'acide butyrique est prépondérante. Les sphérulites obtenues sont de grande taille et peu nombreuses. Plus la concentration en mélange d'inhibiteurs est importante, plus les sphérulites sont de taille importante.

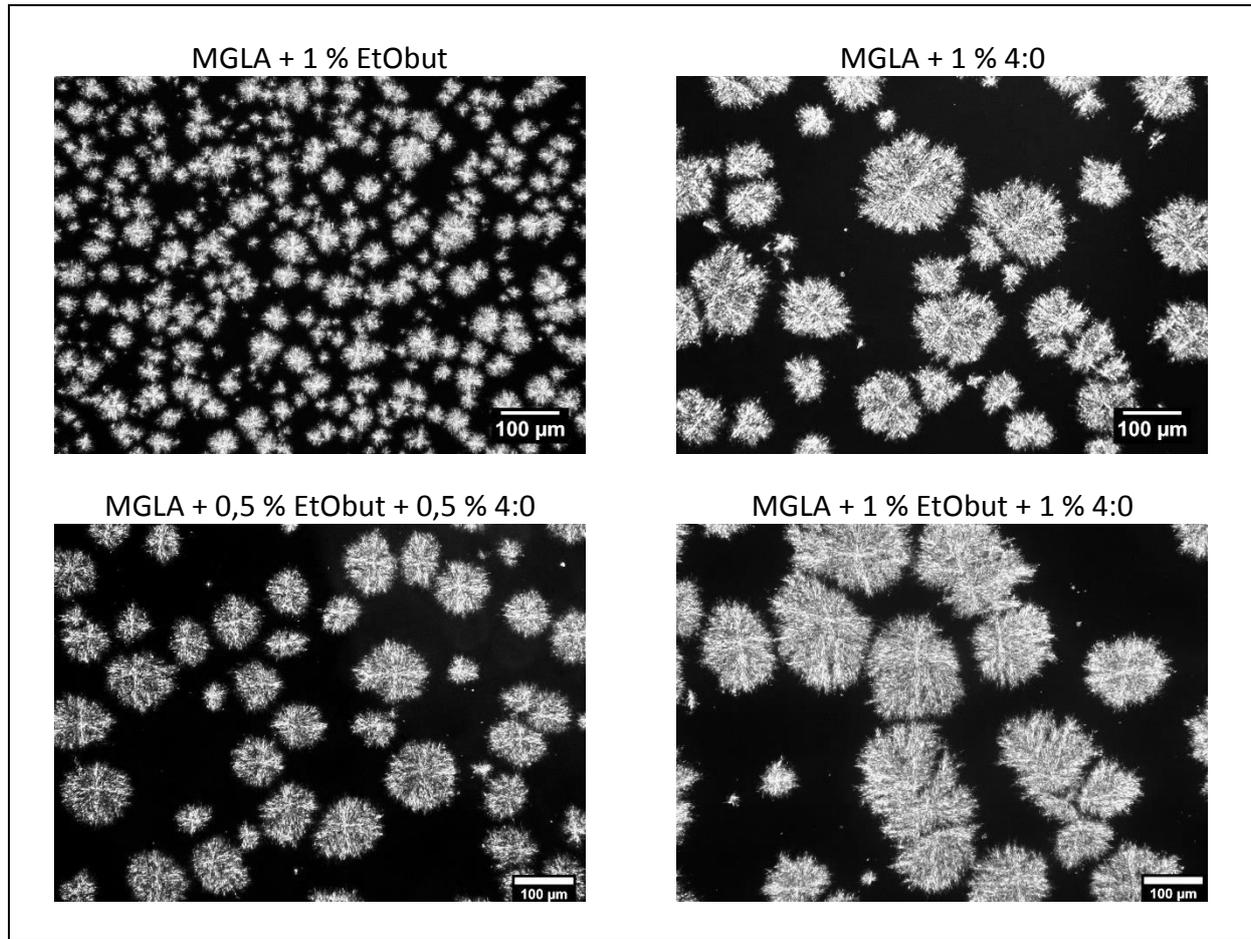


Figure 106 : Microstructure des mélanges de MGLA avec addition de butanoate d'éthyle (EtObut) et acide butyrique (4:0) à différentes concentrations

4.2. Mélanges d'un modulateur accélérateur et d'un modulateur inhibiteur

Les quatre mélanges étudiés ci-après associent 1 % d'inhibiteur (acide butyrique ou butanoate d'éthyle) et 1 % de promoteur (acide palmitique ou tripalmitine). La cinétique de cristallisation de ces mélanges est comparée à celle de la MGLA seule sur la Figure 107. Il apparaît que le mélange d'acide palmitique et d'acide butyrique est globalement inhibiteur, alors que tous les autres sont accélérateurs. Les paramètres de Gompertz, présentés dans le Tableau 28, montrent que le taux de solide final est supérieur à celui de la MGLA pour les mélanges [PPP+EtObut] et [PPP+4:0]. Par rapport à la MGLA seule, la vitesse de cristallisation augmente pour ces deux mélanges et [16:0+EtObut] et le temps d'induction diminue. Le mélange [4:0+16:0] se distingue avec un taux de solide final inférieur à celui de la MGLA et un temps d'induction considérablement augmenté.

D'un point de vue cinétique :

- la tripalmitine domine les deux inhibiteurs testés,
- le butanoate d'éthyle est dominé par les deux accélérateurs testés,
- L'acide butyrique l'emporte sur l'acide palmitique.

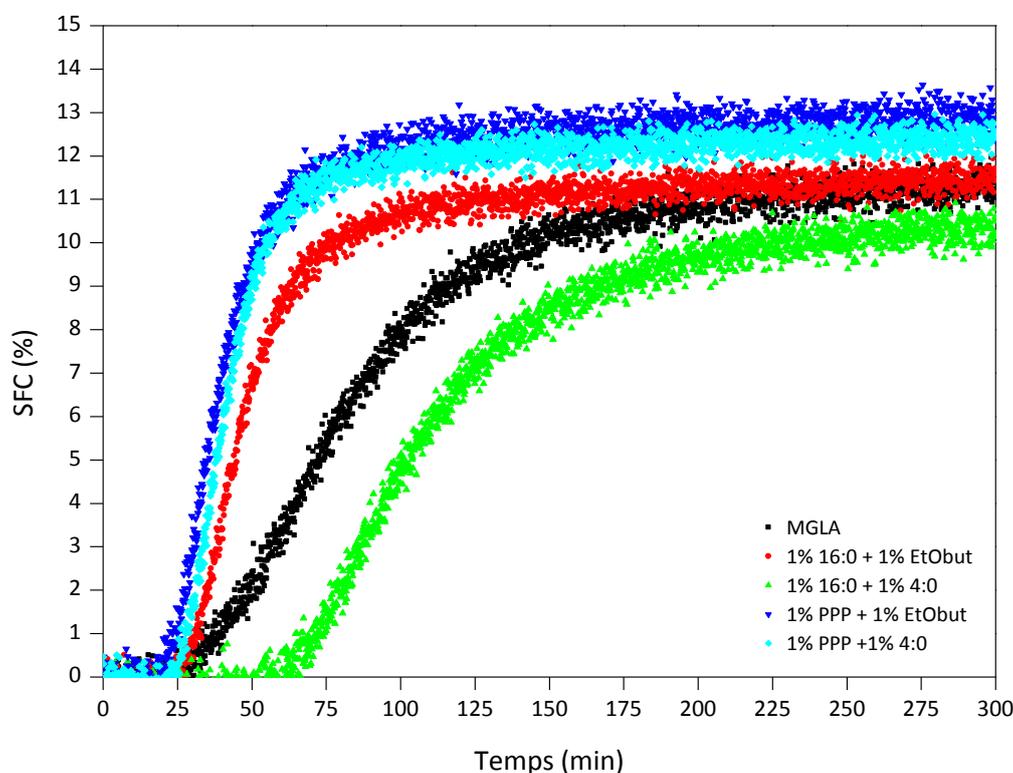


Figure 107 : Cinétique de cristallisation RMN à 25 °C des mélanges croisés de quatre modulateurs. Acide palmitique (16:0), tripalmitine (PPP), acide butyrique (4:0) et butanoate d'éthyle (EtObut)

Tableau 28 : Paramètres de Gompertz obtenus par la modélisation des cinétiques des mélanges de modulateurs. Acide palmitique (16:0), tripalmitine (PPP), acide butyrique (4:0) et Butanoate d'éthyle (EtObut).

Modulateurs	Fraction massique	Modèle de Gompertz			r ² ajusté
		a (%) ¹	μ (min ⁻¹) ¹	λ (min) ¹	
MGLA	0 %	11,1	0,13	33,8	0,995
16:0	1 %	10,1	0,12	63,3	0,994
4:0	1 %				
PPP	1 %	12,6	0,36	21,4	0,992
EtObut	1 %				
16:0	1 %	11,2	0,29	27,5	0,993
EtObut	1 %				
PPP	1 %	12,2	0,40	25,9	0,995
4:0	1 %				

Taux de solide final (a), vitesse maximale de cristallisation (μ) et temps d'induction (λ)

Les observations microscopiques (Figure 108) conduisent à une hiérarchie différente. Le mélange tripalmitine et butanoate d'éthyle génère de nombreuses petites sphérulites. Ce résultat était attendu, dans la mesure où ces deux modulateurs pris individuellement

conduisent à cette microstructure. Le mélange acide palmitique et butanoate d'éthyle conduit à de très petits cristaux, ce qui est également cohérent avec les structures obtenues avec les modulateurs individuels et l'accélération globale observée avec ce mélange. Les deux mélanges obtenus avec l'acide butyrique sont en revanche plus originaux. Les sphérulites obtenues sont dans les deux cas relativement grosses. Il semblerait que l'acide butyrique, même s'il est dominé cinétiquement par la tripalmitine, impose très largement sa microstructure. On constate également une différence significative dans la distribution granulométrique des cristaux entre les deux clichés de ces mélanges. Les cristaux formés en présence d'acide palmitique / acide butyrique présentent une distribution de tailles plus resserrée que ceux formés en présence de tripalmitine et d'acide butyrique. Dans ce dernier cas, des petites et des grosses sphérulites cohabitent. Les effets antagonistes des deux modulateurs ajoutés s'expriment, l'un conduisant à de petits cristaux et l'autre à de gros cristaux.

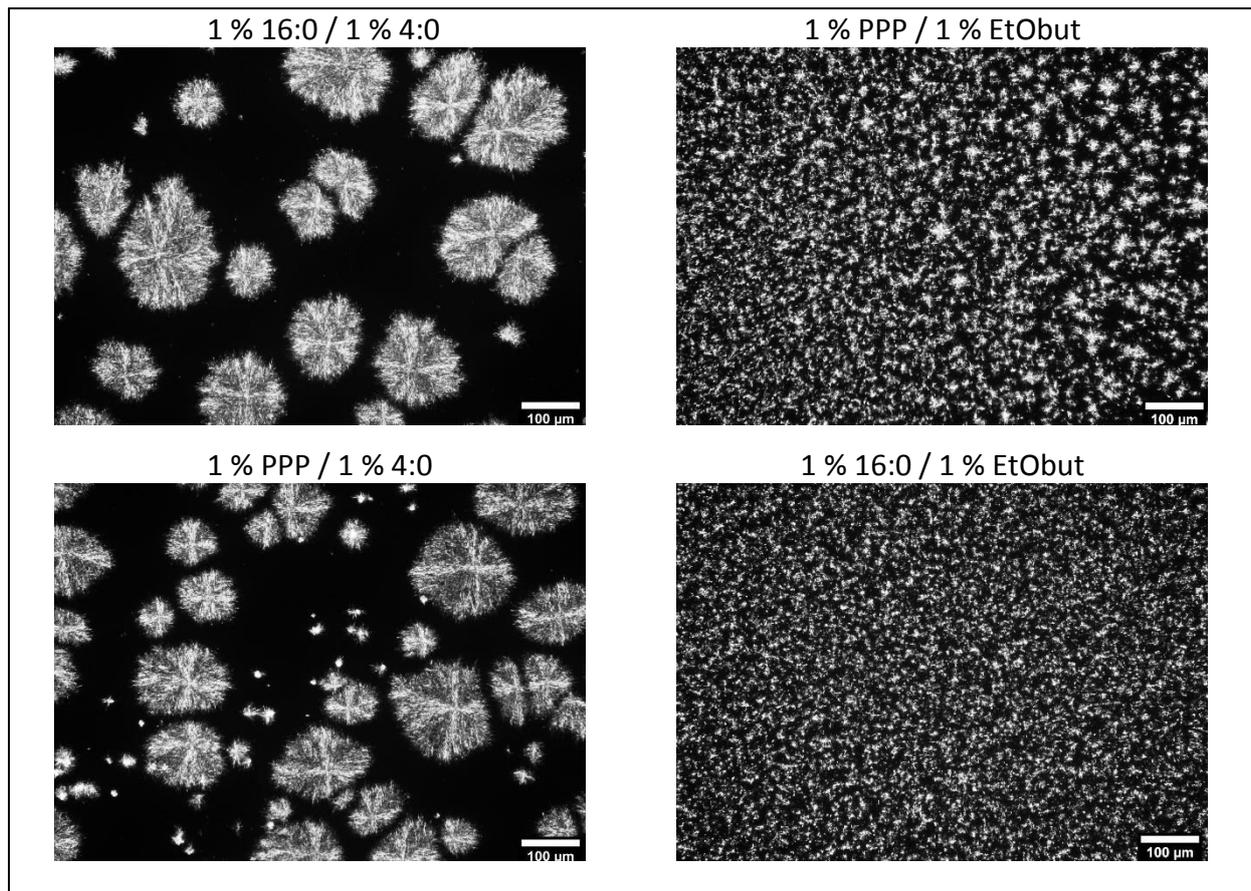


Figure 108 : Microstructure des mélanges de MGLA avec addition croisée de butanoate d'éthyle (EtObut), d'acide butyrique (4:0), d'acide palmitique (16:0) et de tripalmitine (PPP) à 1 %

Quand les quatre modulateurs sont mélangés simultanément, l'effet est globalement promoteur (Figure 109). Plus précisément, la vitesse de cristallisation et le taux de solide

final sont supérieurs à ceux de la MGLA seule et le temps d'induction est peu modifié (Tableau 29).

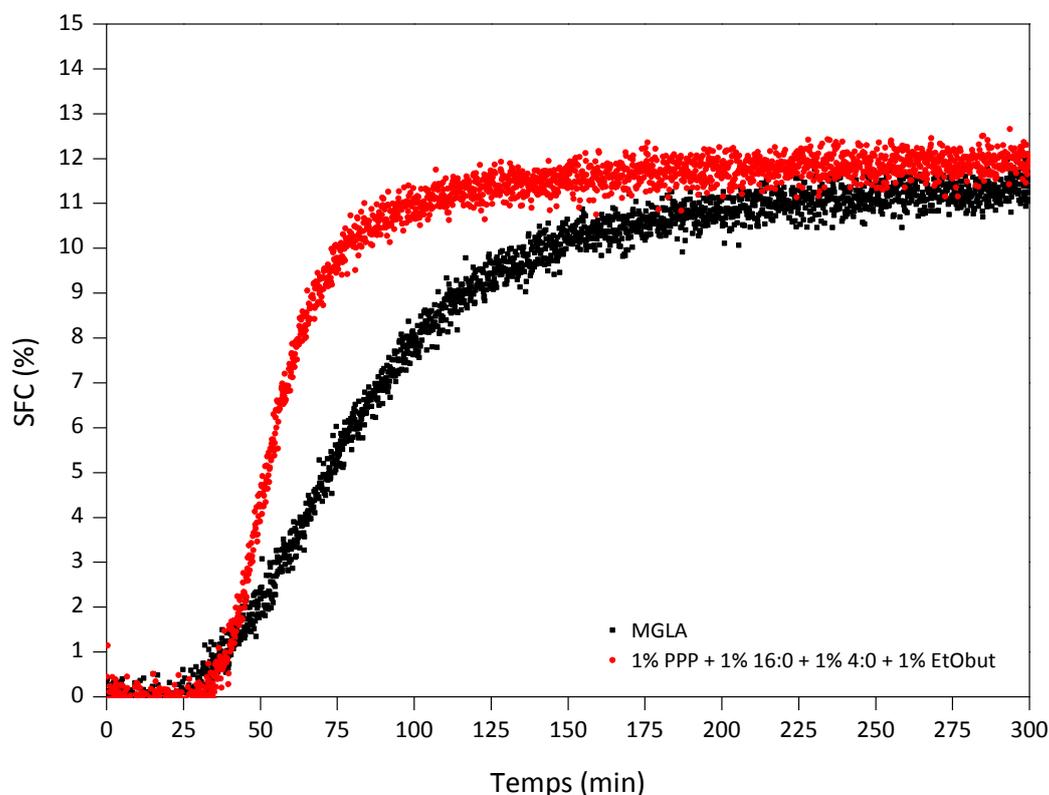


Figure 109 : Cinétique de cristallisation RMN à 25 °C des mélanges croisés de quatre modulateurs. Acide palmitique (16:0), tripalmitine (PPP), acide butyrique (4:0) et Butanoate d'éthyle (EtObut)

Tableau 29 : Paramètres de Gompertz obtenus par la modélisation des cinétiques des mélanges de modulateurs. Acide palmitique (16:0), tripalmitine (PPP), acide butyrique (4:0) et butanoate d'éthyle (EtObut).

Modulateurs	Fraction massique	Modèle de Gompertz			r ² ajusté
		a (%) ¹	μ (%·min ⁻¹) ¹	λ (min) ¹	
MGLA	0 %	11,1	0,13	33,8	0,995
16:0	1 %	11,7	0,31	36,4	0,994
PPP	1 %				
4:0	1 %				
EtObut	1 %				

1 : Taux de solide final (a), vitesse maximale de cristallisation (μ) et temps d'induction (λ)

La microstructure de la Figure 110 présente de très grosses sphérulites entourées de nombreuses petites sphérulites. Les modulateurs de cristallisation semblent agir de manière indépendante, conduisant à une distribution des cristaux très large.

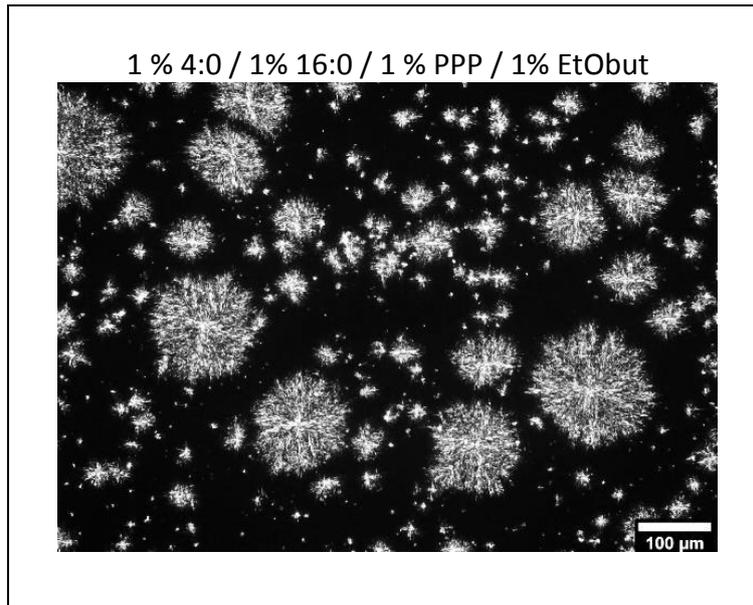


Figure 110 : Microstructure du mélange de MGLA avec addition de butanoate d'éthyle (EtObut), d'acide butyrique (4:0), d'acide palmitique (16:0) et de tripalmitine (PPP) à 1 %

4.3. Hypothèses mécanistiques

La compétition mise en œuvre entre modulateurs accélérateurs et inhibiteurs permet d'obtenir des informations supplémentaires et de compléter les hypothèses des mécanismes d'action des modulateurs pris individuellement :

- L'acide butyrique ralentit le processus de nucléation. Même lorsqu'il est associé à un promoteur comme la tripalmitine, la formation des premiers germes cristallins est inhibée et la croissance privilégie la formation de grosses sphérulites en nombre limité.
- L'acide palmitique domine le butanoate d'éthyle mais est dominé par l'acide butyrique. L'acide palmitique seul accélère la nucléation mais limite la croissance cristalline. Quand l'acide palmitique est mélangé avec l'ester, il favorise la nucléation. De nombreux nuclei sont formés et bien que la croissance soit retardée par ces deux modulateurs, les nombreux germes formés conduisent à une croissance plus rapide qu'en l'absence de modulateurs. À l'inverse, quand l'acide palmitique est associé à l'acide butyrique, une compétition se met en place au moment de la nucléation entre l'acide butyrique qui empêche la formation des nuclei et l'acide palmitique qui la favorise. Dans nos conditions expérimentales, ces deux modulateurs sont introduits à la même concentration massique. Mais si l'on fait intervenir la masse molaire de ces modulateurs, le nombre de molécules d'acide butyrique introduit dans le mélange

est beaucoup plus élevé que celui de l'acide palmitique car sa masse molaire est plus faible. Son effet est donc prépondérant, la nucléation est ralentie et les cristaux formés sont de grande taille.

- Le butanoate d'éthyle est dominé par l'acide palmitique et la tripalmitine, alors qu'en tenant compte de sa masse molaire, il est plus concentré que ces deux modulateurs à longue chaîne. Dans les conditions de concentration testées, il ne compense pas l'effet promoteur de nucléation de l'acide palmitique. Son pouvoir inhibiteur de croissance est moins important que le pouvoir accélérateur de la tripalmitine.
- La tripalmitine accélère indéniablement la cristallisation. Les clichés de microscopie obtenus en mélange avec l'acide butyrique confirment l'hypothèse précédente : son action se situe principalement au niveau de la croissance cristalline. L'acide butyrique inhibe la nucléation et la tripalmitine n'agit pas sur cette étape. En accélérant la croissance, la tripalmitine accélère globalement la vitesse de cristallisation.
- La comparaison de l'acide palmitique et de la tripalmitine mélangés à l'acide butyrique prouve l'importance de la nature des fonctions chimiques en présence sur le mécanisme de croissance. Quand l'acide palmitique est estérifié sur le glycérol pour former la tripalmitine, il est capable de contrer le caractère inhibiteur de l'acide butyrique. Quand il est sous forme d'acide gras libre, il s'intègre moins bien au réseau et l'effet inhibiteur l'emporte.

Les grosses sphérulites témoignent donc de l'inhibition de la nucléation, possiblement couplée à une accélération de la croissance. La présence de petites sphérulites est plus difficilement explicable. Il pourrait s'agir de germes dont la croissance a été limitée par l'incorporation dans le cristal d'acides gras libres. En générant des défauts d'empilement, les acides gras libres empêcheraient la croissance prolongée des cristaux ou pourraient même aller jusqu'à désactiver les sites de croissance à cause de leur tête polaire. Mais il pourrait aussi s'agir de cristaux d'acides gras formés tardivement. Leur croissance serait alors limitée par l'appauvrissement du milieu en triglycérides susceptibles de cristalliser, car déjà incorporés dans d'autres cristaux.

Le Tableau 30 résume les actions des modulateurs individuels et en mélange sur la cinétique de cristallisation et la microstructure de la MGLA ainsi que les hypothèses quant aux mécanismes d'action des modulateurs sur les étapes de nucléation ou de croissance.

Tableau 30 : Synthèse de l'action des modulateurs de cristallisation, seuls (1 %) et en mélanges croisés (1 % d'accélérateur +1 % d'inhibiteur)

	Microstructure		Cinétique (RMN)		Mécanisme possible	
	Taille	Nombre	Temps d'induction	Vitesse de cristallisation	sur la nucléation	sur la croissance
MGLA	0	0	0	0	0	0
PPP	-	+	-	+	(+)	+
16:0	--	++	-	+	+	(-)
4:0	+	-	++	-	-	-
EtObut	-	+	=	-	(+)	-
PPP + 4:0	+	-	-	+	-	+
PPP + EtObut	-	+	-	+	(+)	+
16:0 + 4:0	+	-	++	=	-	(+)
16:0 + EtObut	-	+	-	+	+	=
PPP + 16:0 + 4:0 + EtObut	+/-	+	+	+	-	+

+ : augmente. – diminue. ++ augmente fortement. – diminue fortement. () effet faible. = sans effet.

5. Influence des modulateurs sur la cristallisation de la matière grasse laitière lors d'un refroidissement dynamique à 5 °C

Dans les parties précédentes, l'effet des modulateurs a été observé à 25 °C, une température favorable à leur action car la surfusion de la MGLA est faible. Dans la littérature, il est souvent avancé que les additifs ont moins d'effet aux plus grands degrés de surfusion, car leur probabilité de s'intégrer aux sites en croissance serait plus faible [26]. L'objectif de cette partie est donc de déterminer si les composés mineurs étudiés dans le cadre de cette thèse sont encore efficaces lors de la cristallisation de la MGLA à 5 °C, avec un refroidissement dynamique et rapide et un degré de surfusion élevé. En raison des contraintes imposées par chacune des techniques d'étude utilisées, deux cas de cristallisation ont été mis en œuvre :

- le refroidissement par trempe de la MGLA fondue à 80 °C et placée à 5 °C suivi d'un palier isotherme à cette température ;
- le refroidissement en rampe rapide et contrôlée à -5 °C/min, jusqu'à 5 °C, d'autre part.

5.1. Refroidissement de la matière grasse laitière par trempe à 5 °C

5.1.1. Cinétique de cristallisation de la matière grasse laitière

L'évolution du taux de solide mesuré par RMN lors de la cristallisation à 5 °C est comparée à la cristallisation à 25 °C sur la Figure 111. La cristallisation à 5 °C se déroule en deux étapes

avec un temps d'induction réduit à quelques minutes. La vitesse de cristallisation est beaucoup plus importante et le taux de solide final atteint environ 58 %.

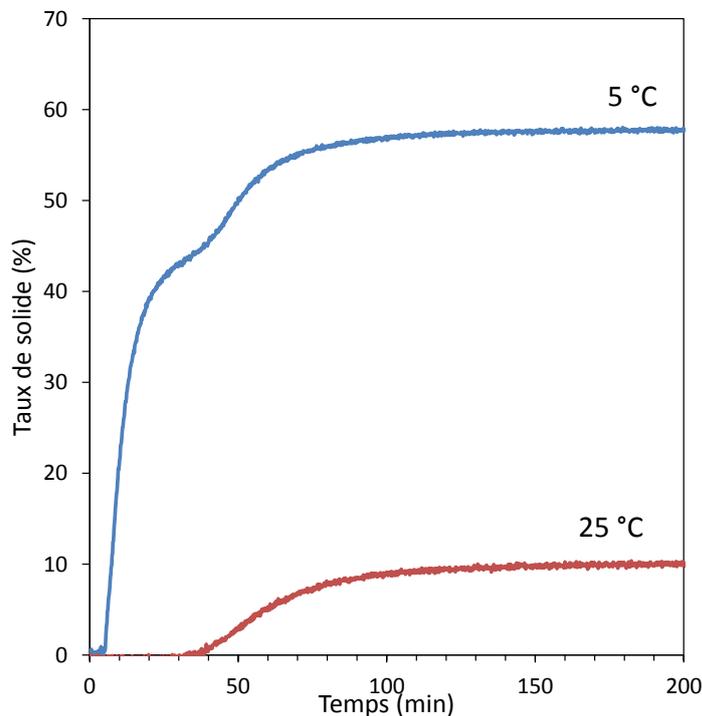


Figure 111 : Évolution du taux de solide de la MGLA au cours de sa cristallisation par trempe à 5 °C et isotherme à 25 °C

Le modèle de Gompertz adapté aux cinétiques en deux étapes par Vanhoutte (éq. 25) (cf. Chapitre 1 § 1.5.2.2) est ajusté aux courbes de taux de solide (Figure 112). Mais ce modèle est adapté aux cinétiques dont la première étape démarre sans temps d'induction. Or, dans notre cas, la température de cristallisation n'étant pas instantanément atteinte, il existe un délais avant la première étape. Une adaptation du modèle double de Gompertz est proposée, intégrant un temps d'induction dans la première étape :

$$SFC(t) = a_1 \times \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_1 \cdot e}{a_1} (\lambda_1 - t) + 1 \right] \right\} + a_2 \times \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_2 \cdot e}{a_2} (\lambda_2 - t) + 1 \right] \right\} \quad (\text{Eq. 60})$$

Comme précédemment, a est le taux de solide final, μ la vitesse maximale et λ le temps d'induction, les indices 1 ou 2 se référant au premier et au second régime de la cinétique. Ce modèle, également représenté sur la Figure 112 est bien plus performant que le précédent. Il comporte un paramètre ajustable de plus (six contre cinq), mais son coefficient $r^2_{\text{ajusté}}$ est bien meilleur ($>0,999$). Ce modèle sera donc retenu pour modéliser les courbes de cristallisation par la suite.

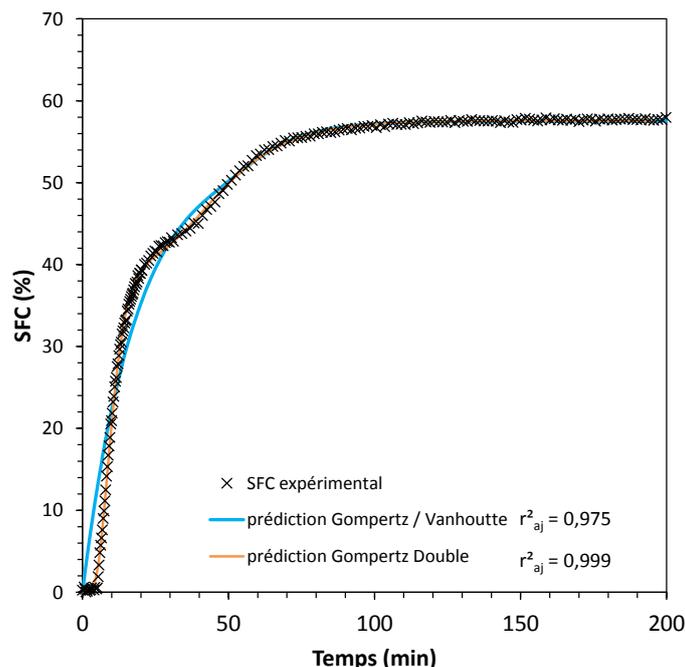


Figure 112 : Cinétique de cristallisation de la MGLA par trempe à 5 °C. Points expérimentaux, modélisation par le modèle de Gompertz à deux étapes proposé par Vanhoutte [20] et par un modèle double de Gompertz

Quand les modulateurs de cristallisation sont ajoutés à hauteur de 1 %, l'effet sur la cinétique de cristallisation est bien moins important qu'à 25 °C (Figure 113). Visuellement, certaines molécules ont peu d'effet, d'autres modifient la hauteur du premier palier (16:0, 18:0), d'autres la hauteur des deux paliers (20:0, PPP). L'acide arachidique et la tristéarine semblent accélérer la 2^e étape. Les résultats obtenus après modélisation par le modèle double de Gompertz sont présentés dans le tableau 31. Le taux de solide final est du même ordre de grandeur pour les acides gras à chaîne longue et saturée, *i.e.* acides palmitique, stéarique et arachidique (59%). Il est très légèrement diminué par l'ajout d'acides gras dont la taille de la chaîne est inférieure à 14 carbones (55,4-56,7% vs 57,6% pour la MGLA seule) et par l'acide oléique (56,9%). Pour ce qui est des triglycérides, la tristéarine modifie très peu le taux de solide final et la tripalmitine l'augmente de deux points. Pour tous les modulateurs, la première étape est très rapide. La vitesse est de l'ordre de 4 % par minute, soit 20 fois supérieure aux vitesses observées à 25 °C (Tableau 16). L'acide palmitique est le modulateur qui impacte le plus la vitesse de cette première étape, en l'augmentant de 1 % par minute. Il influence aussi de manière significative le temps d'induction de la première étape, sa cristallisation débutant une minute plus tôt (4,1 min contre 5,1 min pour la MGLA seule). Ce temps d'induction est 6 fois moins élevé que celui observé pour ce modulateur à 25 °C (Tableau 16). La tripalmitine influence aussi la vitesse de cristallisation et le temps d'induction de la même manière que l'acide palmitique mais à un degré moindre.

Partie 1 : Cristallisation en phase continue

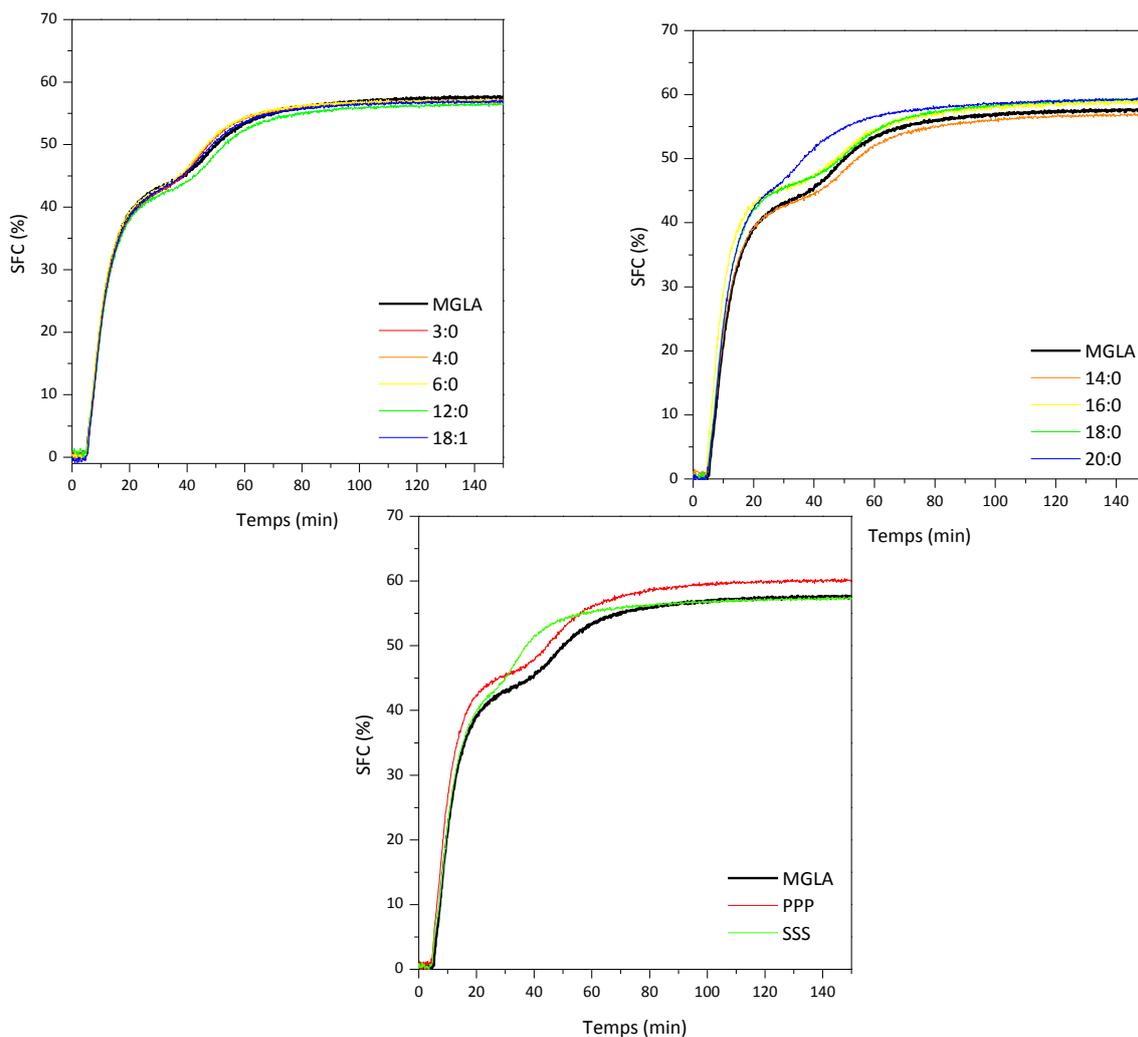


Figure 113 : Cinétique de cristallisation par trempe à 5 °C de la MGLA avec addition de 1 % d'acides gras libres ou de triglycérides : acide propionique (3:0), acide butyrique (4:0), acide hexanoïque (6:0), acide laurique (12:0), acide oléique (18:1), acide myristique (14:0), acide palmitique (16:0), acide stéarique (18:0), acide arachidique (20:0), tripalmitine (PPP) et tristéarine (SSS)

Tableau 31 : Paramètres cinétiques de Gompertz (modèle double) des mélanges de MGLA avec 1 % de modulateurs par trempe à 5 °C : hauteur du palier (a) vitesse maximale (μ) et temps d'induction (λ). Les indices 1 et 2 renvoient respectivement au premier et au second palier.

	a_1 (%)	μ_1 (%.min ⁻¹)	λ_1 (min)	a_2 (%)	μ_2 (%.min ⁻¹)	λ_2 (min)	SFCmax (a_1+a_2) (%)	r^2 ajusté
MGLA	40,5	4,19	5,1	17,1	0,40	26,0	57,6	0,999
3:0	39,5	4,03	5,3	16,9	0,50	27,3	56,4	0,999
4:0	39,8	4,21	5,1	16,8	0,48	26,2	56,6	0,999
6:0	39,9	4,31	5,0	16,7	0,48	26,2	56,7	0,999
12:0	39,2	3,87	5,2	16,2	0,41	29,7	55,4	0,999
14:0	39,7	4,11	4,9	16,1	0,36	28,4	55,8	0,999
16:0	42,8	5,21	4,1	15,9	0,34	25,3	58,8	0,999
18:0	42,9	4,50	4,8	16,0	0,33	26,8	59,0	0,999
18:1	39,7	4,21	5,2	17,2	0,44	24,8	56,9	0,999
20:0	37,7	4,73	5,2	21,2	0,47	10,4	59,0	0,999
PPP	42,6	4,64	4,4	16,8	0,41	27,2	59,4	0,999
SSS	35,6	4,19	4,8	21,6	0,58	12,1	57,2	0,999

Il est important de noter que même si la diminution de la température est très rapide dans le tube RMN, la température de 5 °C n'est pas atteinte instantanément. La Figure 114

montre l'évolution de la température dans le tube de RMN. On observe un événement exothermique dû à l'énergie dégagée au cours de la cristallisation de la matière grasse (Insert, Figure 114).

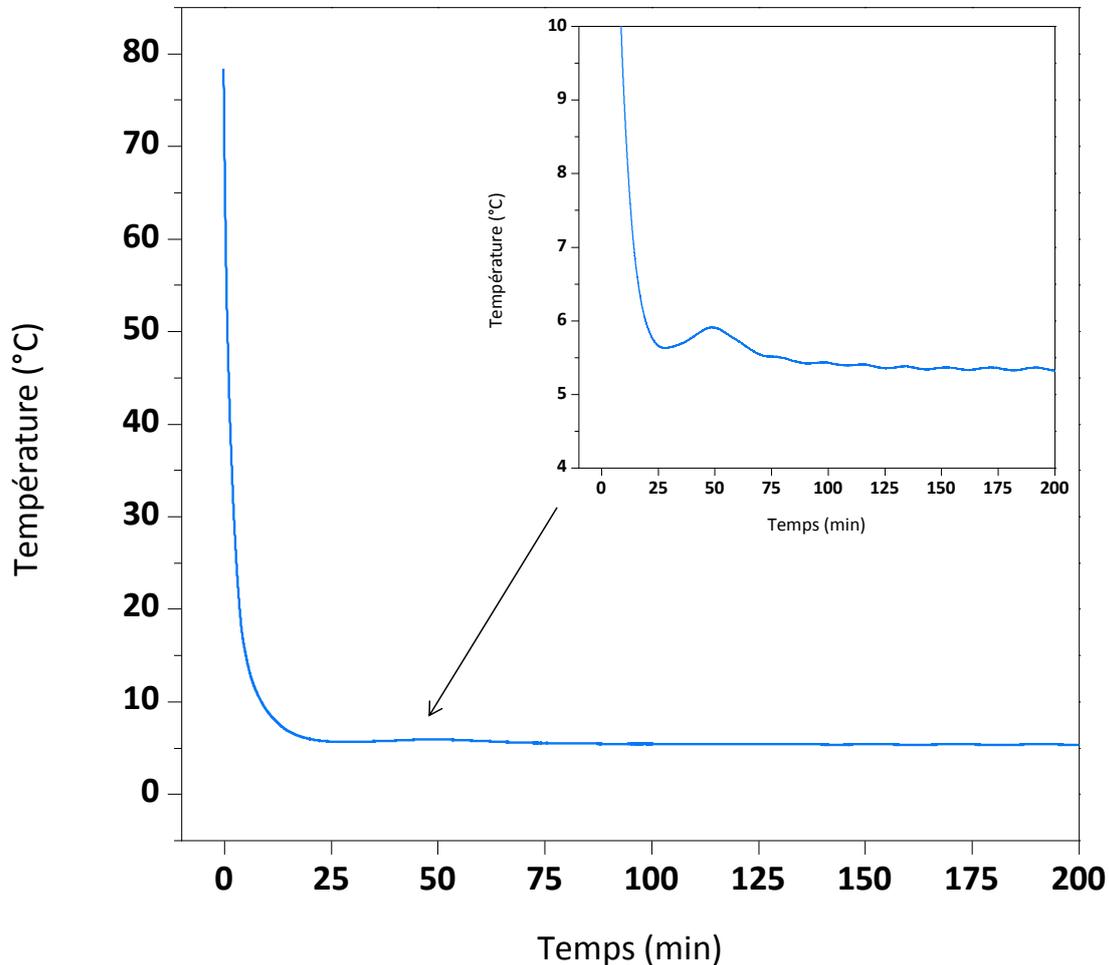


Figure 114 : Évolution de la température dans le tube de RMN mesurée à l'aide d'un capteur à fibre optique au cours de la cristallisation de la MGLA (Température de consigne : 5 °C). Insert : focus sur l'événement exotherme

Sur la Figure 115, l'évolution du taux de solide est représentée non plus en fonction du temps, mais de la température. Ainsi, il est possible de déterminer la température à laquelle le taux de solide commence à être mesurable. Pour la MGLA seule, le taux de solide dépasse 1 % quand la température (T_{onset}) passe en dessous de 18,4 °C. Cette figure révèle également que la seconde étape de cristallisation détectée quand le taux de solide passe de 45 à 55 % (Figure 111) correspond au temps de l'événement exothermique observé sur la Figure 114.

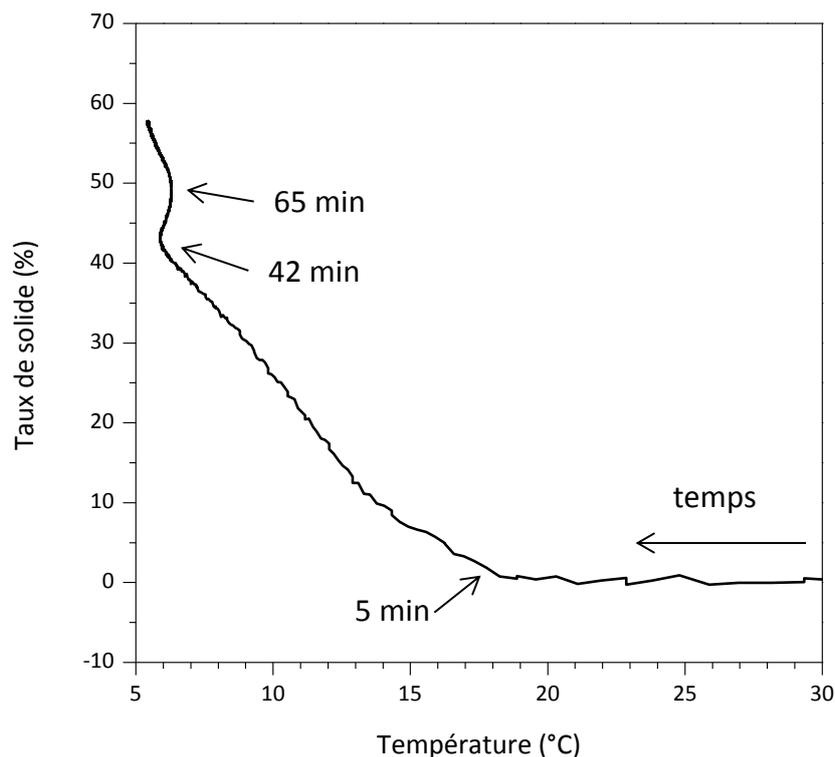


Figure 115 : Évolution du taux de solide de la MGLA seule suivi par RMN en fonction de la température, au cours du refroidissement par trempage de 80 °C à 5 °C

Les courbes obtenues après addition d'acides gras libres ou de triglycérides à 1 % sont présentées sur la Figure 116 pour les modulateurs les plus représentatifs des variations observées. La température pour laquelle le taux de solide dépasse 1 % (T_{onset}) obtenue pour chaque modulateur est présentée dans le Tableau 32. Deux modulateurs augmentent la température de début de cristallisation (+ 2 °C pour SSS et + 1,5 °C pour 20:0 par rapport à la MGLA seule) et induisent une étape de cristallisation supplémentaire, préliminaire à la cristallisation principale. Cette étape est très rapide et d'une intensité faible, ce qui explique qu'elle ne soit pas clairement identifiée en suivant l'évolution du taux de solide dans le temps. La représentation du taux de solide en fonction de la température, comme sur la Figure 116, permet de mieux visualiser la première étape de cristallisation, entre 0 et 40 % de taux de solide. Les acides gras à chaîne courte ne modifient pas l'allure de la courbe, mais la décalent légèrement vers des températures plus basses (acide butyrique, par exemple). Au contraire, les longues chaînes saturées ou insaturées la décalent légèrement vers les plus hautes températures (acide stéarique, par exemple).

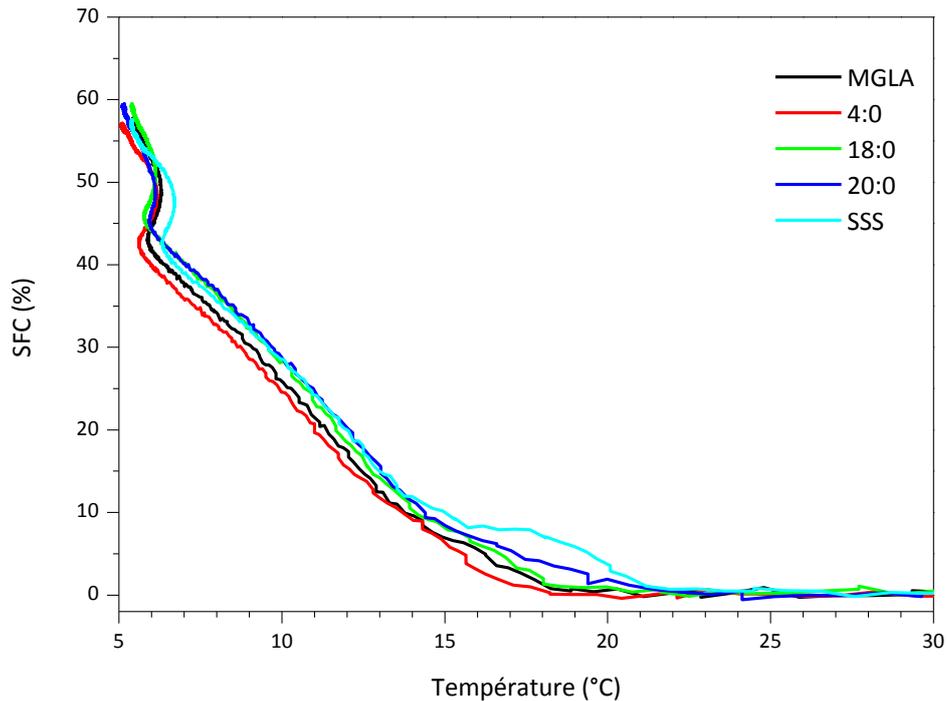


Figure 116 : Évolution du taux de solide de la MGLA en mélange avec 1 % de modulateurs, en fonction de la température, au cours du refroidissement par trempage de 80 °C à 5 °C, suivi par RMN

Tableau 32 : Température de début de cristallisation (T_{onset}) déterminée pour une teneur en solide de 1 % de la MGLA seule et en mélange avec 1 % de modulateurs.

Modulateur	MGLA	3:0	4:0	6:0	8:0	12:0	14:0	16:0	18:1	18:0	20:0	PPP	SSS
T_{onset}	18,4	16,8	17,5	17,3	18,0	18,5	19,0	18,0	18,4	18,6	20,9	18,4	21,2

5.1.2. Étude la nanostructure de la matière grasse laitière

Les modulateurs peuvent donc impacter indépendamment l'une ou l'autre des deux étapes de la cristallisation à 5 °C. Pour identifier les formes polymorphiques associées à chacune de ces deux étapes, la MGLA est analysée en diffraction des rayons X, dans des conditions de cristallisation semblables. La Figure 117 présente les diffractogrammes obtenus lors de la cristallisation de la MGLA à 5 °C. Les spectres, numérotés de A à F, correspondent à différents stades de la cristallisation isotherme : à l'instant initial quand la matière grasse est complètement fondue (A), au cours de la première étape (B à D), de la seconde étape et du plateau final (E et F). L'évolution des pics en WAXS est détaillée sur la Figure 118. Un pic intense à 4,12 Å, correspondant à la forme polymorphique α apparaît après 10 minutes de cristallisation. Puis, son intensité diminue et, après 30 min de cristallisation, un pic à 3,83 Å se forme. Ce pic correspond à la forme β' . Le second pic de la forme β' est bien visible pour les plus longs temps de cristallisation. Des traces de la forme β (4,65 Å) sont également

Partie 1 : Cristallisation en phase continue

présentes. L'évolution de l'intensité relative des pics des formes α (4,12 Å) et β' (3,83 Å) (Figure 118B) montre que la disparition de la forme α est concomitante à la formation de la forme β' .

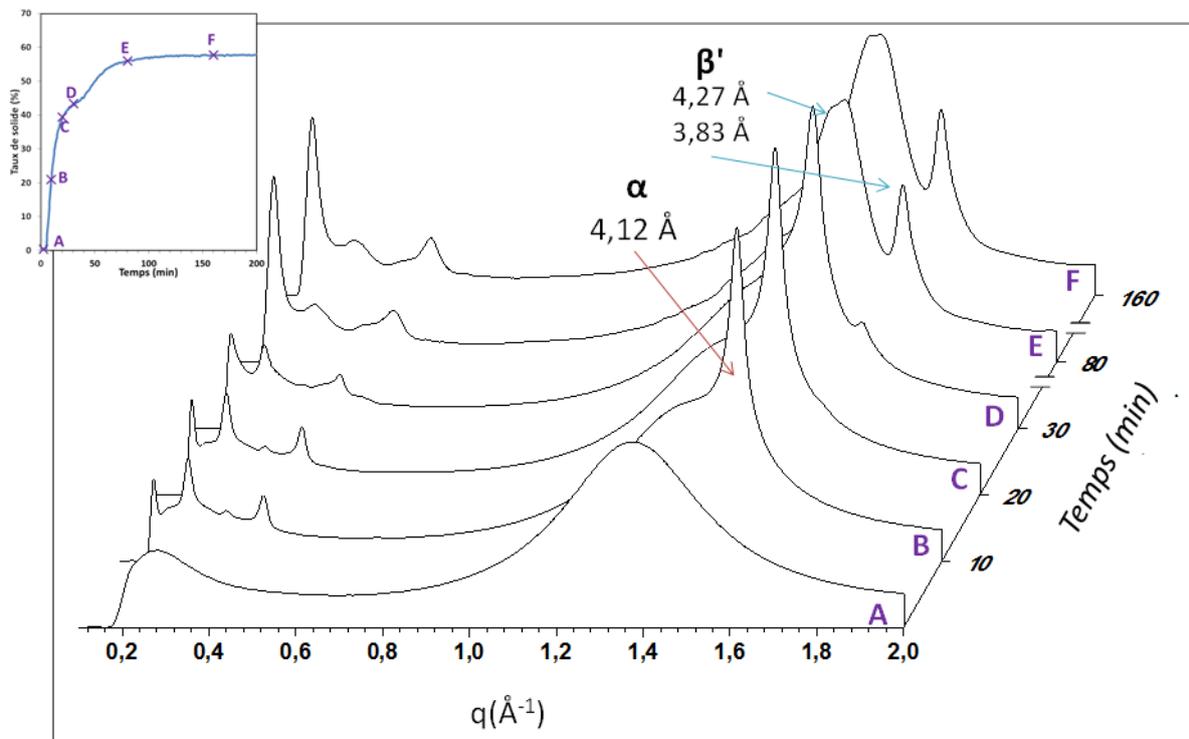


Figure 117 : Diffractogramme WAXS de la MGLA au cours du refroidissement par trempé de 80 °C à 5 °C. Les lettres majuscules coïncident avec les phases de la cristallisation étudiée en RMN en insert.

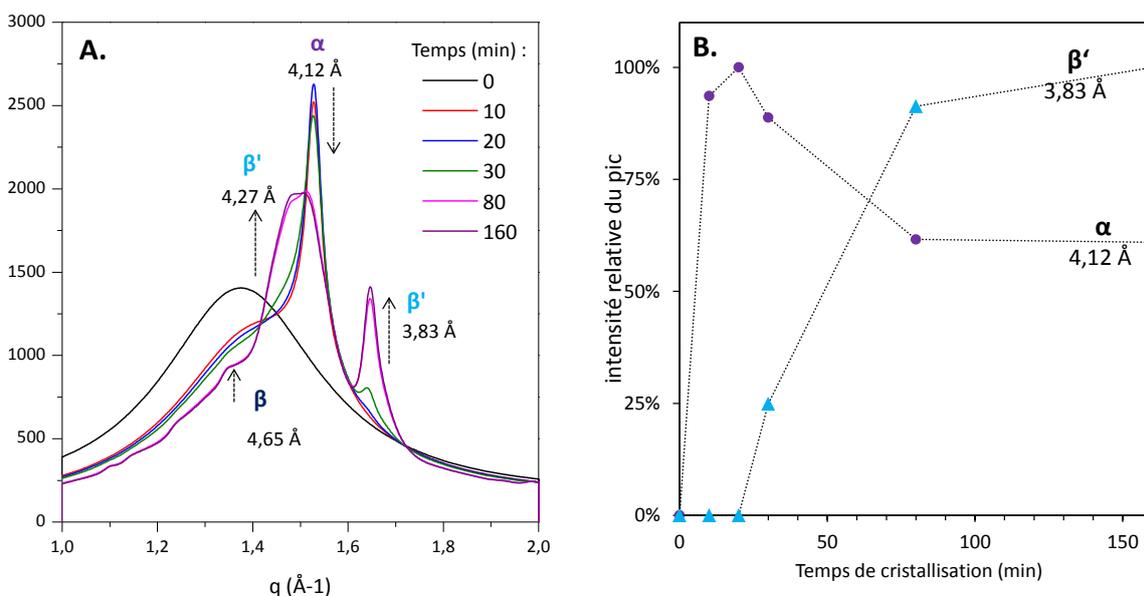


Figure 118 : Suivi de la cristallisation au cours du refroidissement par trempé de 80 °C à 5 °C de la MGLA par diffraction des rayons X aux grands angles de diffraction. A. Diffractogrammes WAXS. B. Évolution de l'intensité maximale des pics, normalisée à 100 % des pics des formes α et β' de la MGLA.

Aux petits angles de diffraction, une transition de phase est également observée (Figure 119). Les pics des différents ordres de diffraction de la forme 3L ($d_{003} = 23,8 \text{ \AA}$, $d_{004} = 17,9 \text{ \AA}$ et $d_{005} = 14,3 \text{ \AA}$) correspondant à une longueur élémentaire $d_{001} = 71,5 \text{ \AA}$ (obtenue par extrapolation) se forment aux temps courts. Puis, les pics de cette forme 3L $71,5 \text{ \AA}$ diminuent en intensité et de nouveaux pics se forment à $21,5 \text{ \AA}$ et $13,3 \text{ \AA}$. Ces derniers pourraient correspondre respectivement à une nouvelle forme 3L (pics $3L_{003}$ et $3L_{005}$) de distance élémentaire $66,4 \text{ \AA}$ ou à une forme 2L (pics $2L_{002}$ et $2L_{003}$) de distance élémentaire 40 \AA . L'échantillon n'étant pas étudié réellement en SAXS, mais aux plus petits angles obtenus en WAXS, les raies élémentaires correspondant aux distances d_{001} qui permettraient de trancher entre ces deux formes ne sont pas visibles. Le premier pic visible aux plus petites valeurs de q n'est d'ailleurs pas considéré, car étant en partie masqué par la pièce métallique qui protège des rayons directs, il n'est pas possible de déterminer la distance correspondant au milieu du pic.

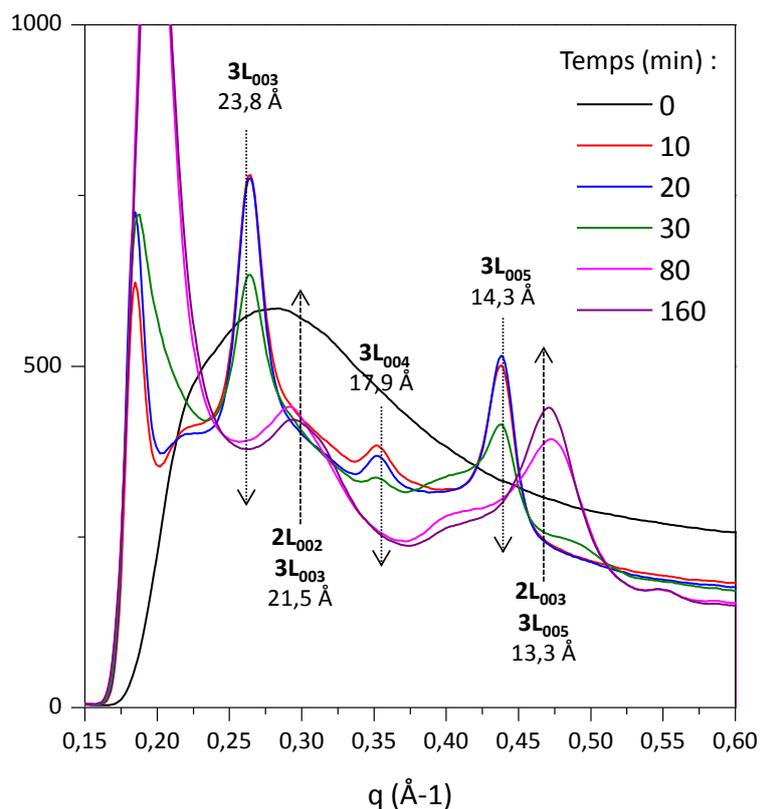


Figure 119 : Suivi de la cristallisation au cours du refroidissement par trempe de $80 \text{ }^\circ\text{C}$ à $5 \text{ }^\circ\text{C}$ de la MGLA par diffraction des rayons X aux petits angles de diffraction

Dans la littérature, la cristallisation de la MGLA dans les conditions similaires [7] étudiée en SAXS montre la disparition d'une forme 3L $70,5 \text{ \AA}$ et la formation des deux formes : 2L (39 \AA) et 3L (66 \AA). Nos distances étant similaires, la transition polymorphique observée serait donc

une transition de la forme 3L (71,5 Å) vers les deux formes possibles, 3L (66,4 Å) et 2L (40 Å). La diminution de l'épaisseur de la couche 3L de 71,5 Å à 66,4 Å correspondrait à l'inclinaison des chaînes des triglycérides, qui se produit lors du passage de la forme α à la forme β' [7]. La forme 2L de période 39 Å correspondrait aussi à une forme inclinée (sinon elle serait plutôt de l'ordre de 45 Å) [7].

L'étude de la nanostructure nous permet donc de décrire les structures cristallines associées aux deux étapes de la cristallisation suivie en RMN (Figure 120). La diminution de température très rapide de 60 °C à 5 °C conduit à la formation de cristaux α avec un empilement 3L. Des triglycérides variés sont susceptibles de cristalliser à cette température et la forme α -3L conduit à un réseau assez lâche permettant la coexistence de molécules avec des longueurs de chaînes différentes dans les mêmes cristaux. Puis, une partie des triglycérides subit une transformation vers la forme β' -2L ou β' -3L. Le monotropisme des triglycérides rend cette transition irréversible. La persistance de la forme α révèle une ségrégation des triglycérides : ceux qui subissent la transition de phase vers la forme β' et ceux qui recristallisent sous forme α -3L, comme observé précédemment [7].

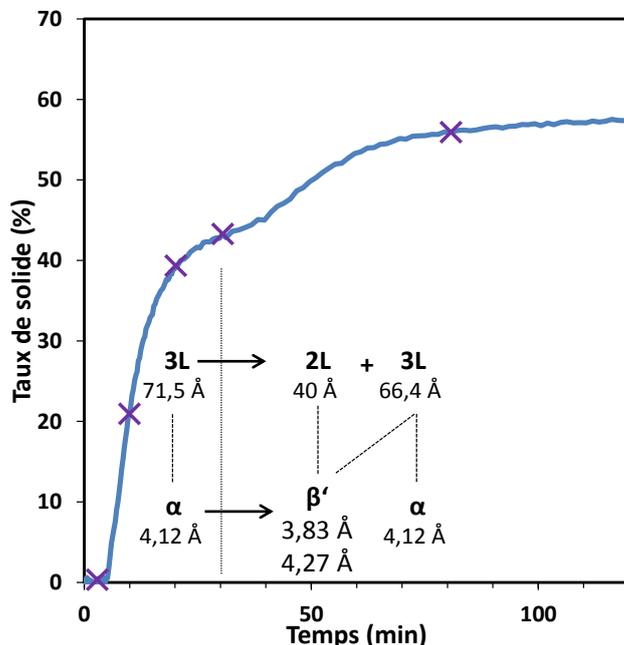


Figure 120 : Polymorphes formés au cours du refroidissement par trempe de 80 °C à 5 °C de la MGLA

L'acide palmitique à 1 % ne modifie pas la nature des cristaux après 30 minutes de cristallisation (Figure 121). Mais il semble stabiliser la forme α -3L (71,5 Å), car l'intensité du pic correspondant à la forme α et à la forme 3L est plus importante pour le mélange que pour la MGLA seule. En stabilisant cette forme, l'acide palmitique semble ralentir la

transition polymorphique, car l'intensité du pic de la forme β' est plus faible que pour la MGLA seule.

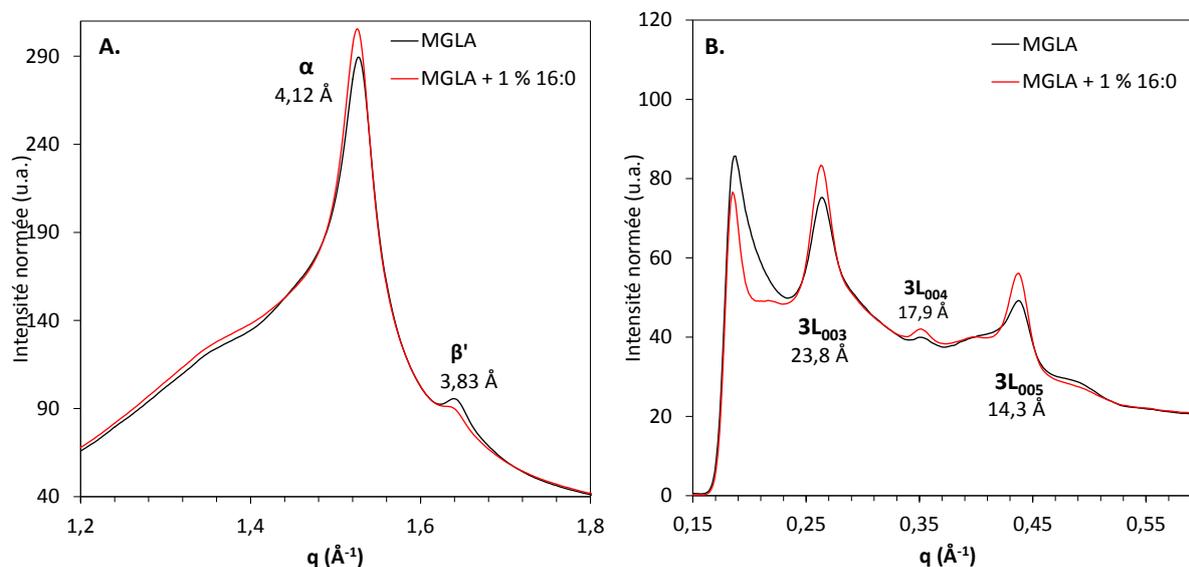


Figure 121 : Diffractogrammes de la MGLA et du mélange MGLA + 1% d'acide palmitique (16:0) obtenus après 30 min de cristallisation à 5 °C. A. Aux grands angles B. Aux petits angles

5.1.3. Étude de la microstructure de la matière grasse laitière à 5 °C

Les mélanges de MGLA et de modulateurs sont observés à 5 °C après 4 h de cristallisation à cette température, entre lame et lamelle. Les clichés obtenus pour certains modulateurs représentatifs sont présentés sur la Figure 122. Le taux de solide étant beaucoup plus élevé que lors des observations à 25 °C, la microstructure observée est très différente. Les cristaux sont très petits et le réseau solide est continu. Il n'est plus possible de déterminer la granulométrie des cristaux, car ils sont tous au contact. L'influence des modulateurs sur la morphologie des cristaux est donc moins évidente qu'à 25 °C. Il est néanmoins possible d'observer qualitativement quelques différences dans le réseau continu. En présence d'acide hexanoïque et d'acide oléique, on note des zones brillantes plus grandes, suggérant la présence de plus gros cristaux. C'est également le cas pour l'acide propionique et l'acide butyrique (Annexe 13). À l'inverse, le réseau formé en présence d'acide palmitique semble plus uniforme et constitué de cristaux plus petits que dans la MGLA seule. Pour la tripalmitine, il est visuellement difficile de distinguer des différences de microstructure avec la MGLA seule.

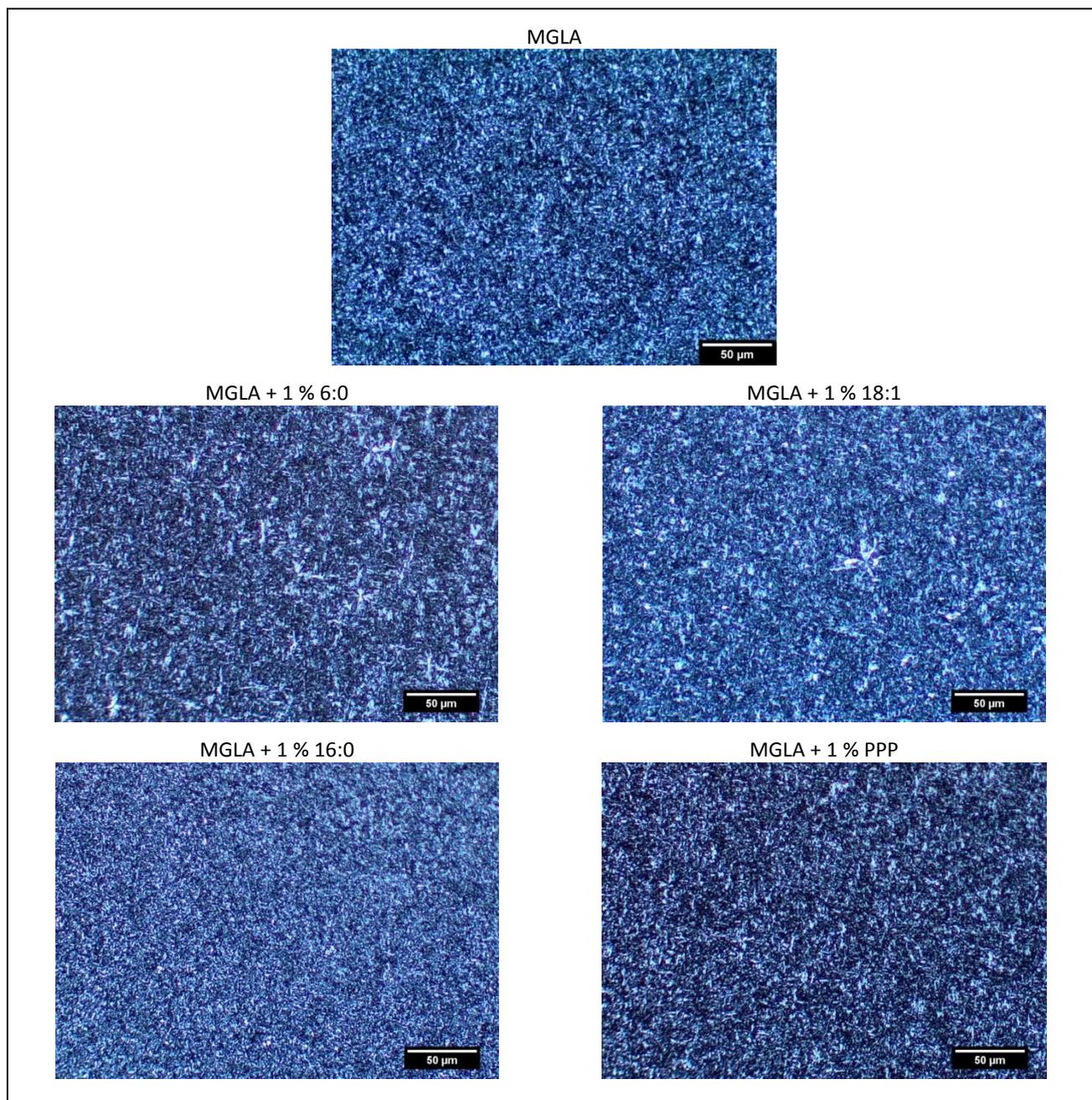


Figure 122 : Observations en microscopie à lumière polarisée des mélanges MGLA avec 1% de modulateurs cristallisés à 5 °C pendant 4 h

La dimension fractale du réseau de cristaux a été évaluée pour chacun des mélanges de MGLA et de modulateur. Les résultats présentés en annexe 14 indiquent une dimension fractale de l'ordre de 1,79 pour la MGLA seule, soit une valeur légèrement inférieure à la valeur de 1,87 de la littérature [27], déterminée par la même méthode du comptage de boîte. En présence de modulateurs, les valeurs restent très proches, *i.e.* comprises entre 1,72 et 1,85.

5.1.4. Profil thermique de cristallisation de la matière grasse laitière

L'étude par DSC de la matière grasse lors du refroidissement contrôlé permet de mettre en évidence les événements thermiques qui se produisent lors de la descente en température. Un refroidissement rapide, de -5 °C par minute, est appliqué à la MGLA fondue. Aucun événement n'est observé entre 80 °C et 30 °C . La suite du refroidissement est présentée sur la Figure 123. Deux pics exothermiques, centrés en $14,6\text{ °C}$ puis $9,6\text{ °C}$ sont clairement observables. Dans la littérature, ces pics sont généralement considérés comme la cristallisation de deux fractions distinctes de triglycérides [9,28]. Pour des refroidissements plus lents, un ou deux pics exothermiques supplémentaires peuvent être observés [29]. Des études de cristallisation de la MGLA couplant la calorimétrie et la diffraction des rayons X, pour la même rampe de température (-5 °C/min) [28,29] permettent d'associer le premier exotherme à la formation de cristaux α , avec un empilement longitudinal des triglycérides sous la forme 2L (46 Å) et 2L ($38,5\text{ Å}$). Le second pic correspondrait lui aussi à une forme α , mais avec un empilement 3L (72 Å).

La Figure 123 présente également l'intégration du signal enthalpique en fonction de la température. Cette courbe est souvent interprétée comme l'évolution de la cristallinité de l'échantillon en supposant que toutes les fractions et tous les polymorphes ont la même enthalpie de cristallisation, ce qui n'est pas rigoureusement exact. Néanmoins, en première approximation, cette courbe cumulée peut être comparée à celle du taux de solide en fonction de la température lors de la cristallisation isotherme à 5 °C (Figure 115). Cela suggère que les deux pics de cristallisation observés en DSC sont inclus dans la première étape de cristallisation isotherme en RMN. Ainsi, la première étape de cristallisation observée en RMN comporterait la cristallisation d'au moins deux fractions différentes, sous la forme α . La cristallisation de la première fraction ne serait pas visible sur la courbe RMN en fonction du temps, car elle concerne une faible fraction de la MGLA. Elle n'est pas non plus caractérisable en diffraction des rayons X à cause du temps d'acquisition de 10 min. Ce résultat suggère l'existence d'une forme métastable qui se forme et disparaît rapidement, comme cela a été observé dans d'autres études sur la MGLA [7].

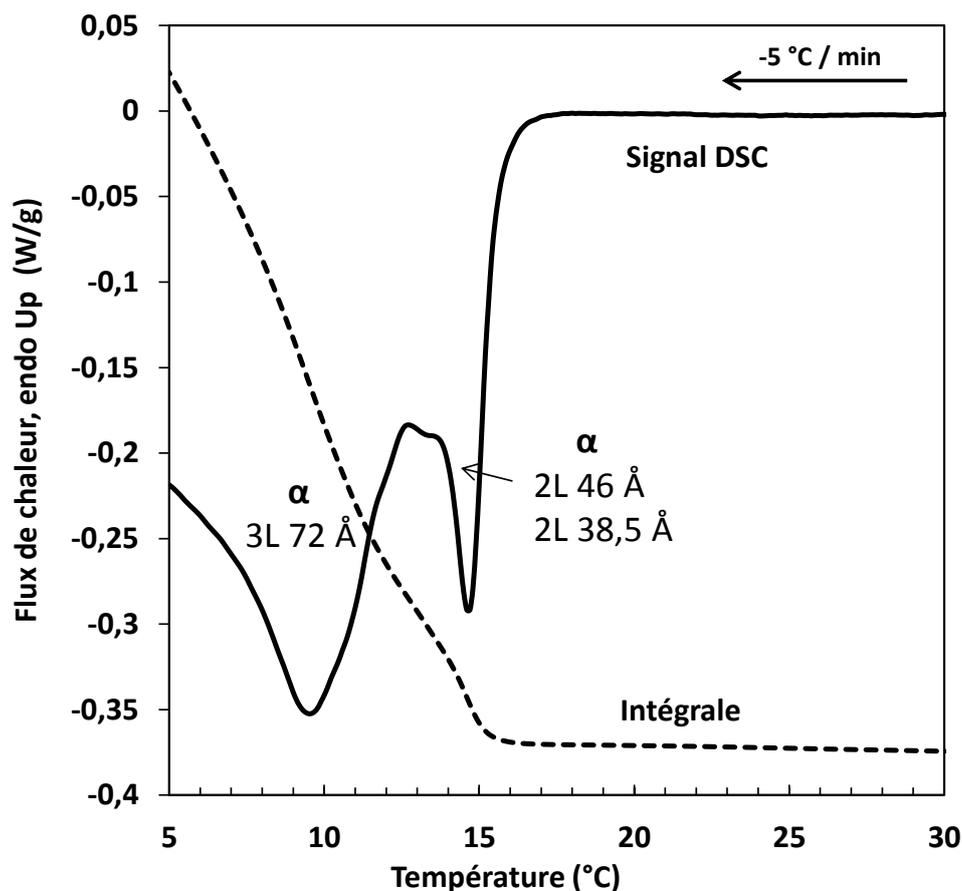


Figure 123 : Profil thermique de la MGLA au cours du refroidissement dynamique (5 °C/min) et interprétation des pics avec les données de diffraction des rayons X [28,29]

Les thermogrammes obtenus pour les mélanges de MGLA et d'acides gras libres à chaînes longue et saturée (>14 carbones) et de triglycérides trisaturés sont présentés sur la Figure 124 et la Figure 125, respectivement. L'effet des acides gras à chaîne courte et de l'acide oléique est présenté sur la Figure 126. Les paramètres thermiques obtenus avec l'ensemble de ces modulateurs sont reportés dans le Tableau 33. L'ajout de modulateurs à longue chaîne saturée conduit à l'augmentation de la température de début de cristallisation qui passe de 16,5 °C à 20 °C. De plus, cette température augmente avec la longueur de la chaîne carbonée. Cette augmentation est particulièrement visible pour l'acide stéarique (18:0) +2,5 °C et l'acide arachidique (20:0) +3,5 °C. La même évolution est observée au niveau de la température au sommet du premier pic. Son décalage est assez faible pour les 14:0, 16:0 et 18:0 (+0,2 à +0,5 °C), mais présente un saut de 3 °C pour le 20:0. Qualitativement, plus la chaîne du modulateur est longue, plus l'intensité de ce premier pic diminue et plus le pic s'élargit jusqu'à présenter un dédoublement avec l'acide arachidique (20:0). Ce modulateur pourrait induire une ségrégation des fractions qui cristallisaient simultanément en α -2L 46 Å

et α -2L 38,5 Å pour la MGLA seule. En présence d'acide arachidique (20:0), ces fractions pourraient présenter des températures de cristallisation plus résolues et donc cristalliser séparément.

Les modulateurs sous forme de triglycérides trisaturés décalent également la température de début de cristallisation et la température du sommet du premier pic. L'effet est plus marqué pour la tristéarine, qui décale le premier pic de +4 °C, que pour la tripalmitine (+1 °C). L'intensité de ce pic nous amène à penser qu'il n'est pas constitué de tristéarine seulement, mais aussi de triglycérides de la MGLA. Le décalage de ce pic vers des températures plus élevées pour la tristéarine et l'acide arachidique est en accord avec les résultats de RMN (Figure 116 et Tableau 32) où ces modulateurs augmentent significativement la température de début de cristallisation lors du refroidissement par trempé, avec la formation d'un nouveau pic.

Lors de l'ajout d'acides gras à chaîne courte ou à chaîne insaturée, le premier pic de cristallisation est décalé vers les plus basses températures. Le début de la cristallisation est abaissé de 0,5 °C pour l'acide propionique et l'acide octanoïque et de 1,5 °C pour l'acide oléique, l'acide butyrique et l'acide hexanoïque. La température du maximum du pic est peu impactée (-0,3 à -0,5 °C).

Quelle que soit la nature du modulateur, le pic principal de cristallisation, *i.e.* le deuxième pic de la cristallisation en DSC, est moins impacté par l'ajout des modulateurs. Seuls l'acide palmitique et la tripalmitine décalent légèrement le sommet du pic vers les plus hautes températures.

L'enthalpie de cristallisation au cours de la rampe est aussi modifiée par l'ajout des modulateurs. Les chaînes courtes ou insaturées diminuent l'enthalpie, alors que les acides gras à chaînes longues et saturées et les triglycérides étudiés augmentent cette enthalpie.

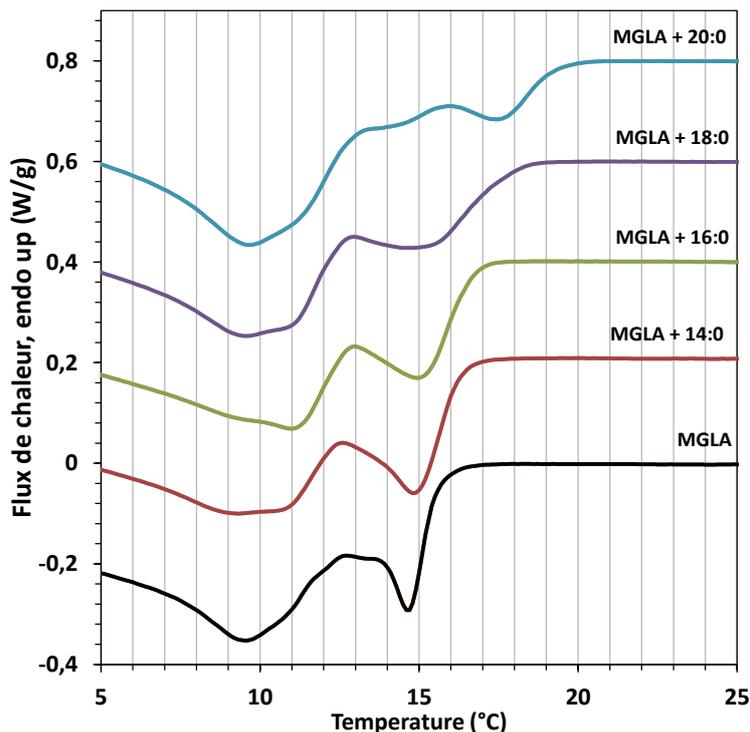


Figure 124 : Thermogrammes de la MGLA seule et en mélange avec 1 % d'acide myristique (14:0), d'acide palmitique (16:0), d'acide stéarique (18:0) ou d'acide arachidique (20:0), obtenus par DSC lors du refroidissement dynamique à -5 °C/min.

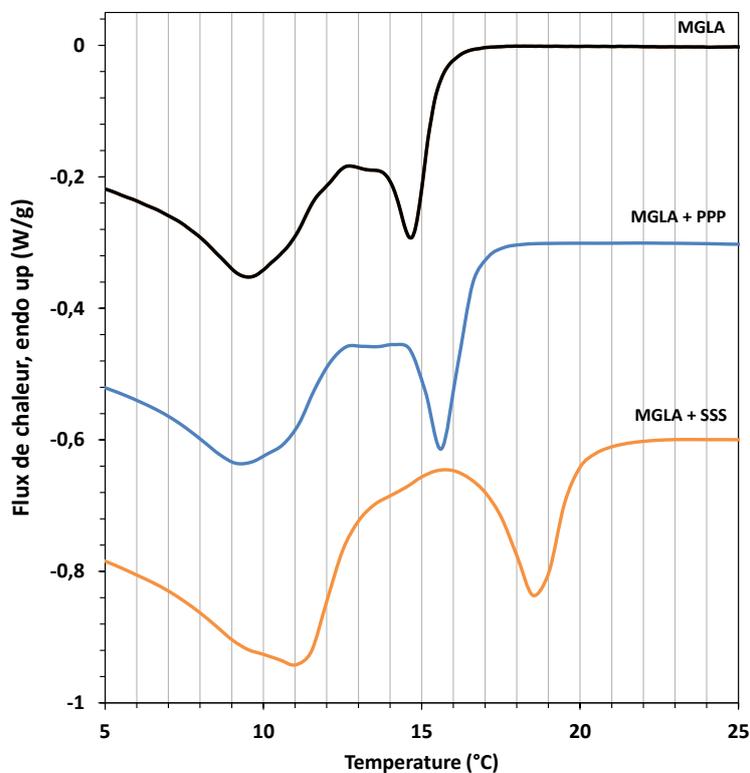


Figure 125 : Thermogrammes de la MGLA seule et en mélange avec 1 % de tripalmitine (PPP) ou de tristéarine (SSS) obtenus par DSC lors du refroidissement dynamique à -5 °C/min.

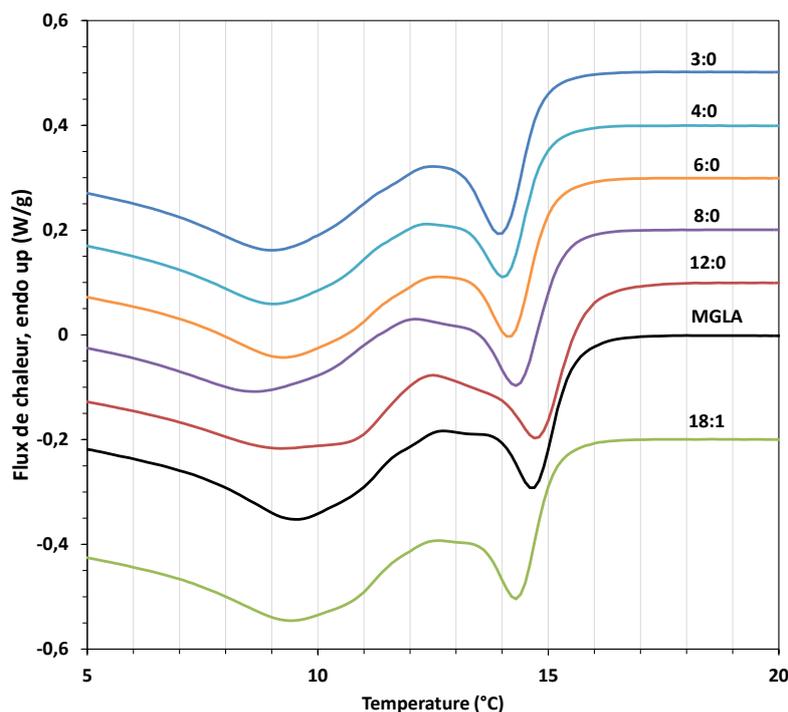


Figure 126 : Thermogrammes de la MGLA seule et en mélange avec 1 % de modulateur : acide oléique (18:1), acide laurique (12:0), acide octanoïque (8:0), acide hexanoïque (6:0), acide butyrique (4:0) ou acide propionique (3:0), obtenus par DSC lors du refroidissement dynamique à -5 °C/min .

Tableau 33 : Paramètres thermiques déterminés en DSC pour un refroidissement de -5 °C/min de la MGLA seule et en mélange avec 1 % de modulateur de cristallisation

Modulateur	Température début de cristallisation (°C)	Température pic 1 (°C)	Température pic 2 (°C)	Enthalpie de cristallisation (J/g)
MGLA	16,5	14,6	9,6	-35,4
3:0	16,0	14,1	9,0	-33,5
4:0	15,0	14,0	9,0	-33,2
6:0	15,1	14,1	9,3	-33,9
8:0	16,0	14,3	8,6	-32,2
12:0	16,6	14,5	9,0	-34,6
14:0	17,0	14,8	9,3	-35,7
16:0	17,0	15,1	11,1	-36,8
18:0	19,0	14,8	9,5	-36,3
18:1	15,2	14,3	9,4	-34,4
20:0	20,0	17,4	9,7	-36,5
PPP	17,5	15,6	9,4	-36,1
SSS	19,9	18,7	11,0	-36,4

5.1.5. Profil rhéologique de la MGLA au cours de la cristallisation dynamique (-5 °C/min)

L'évolution du module élastique et du module visqueux de la MGLA, déterminés en rhéologie aux petites oscillations en cours de refroidissement dynamique à -5 °C/min est présentée Figure 127. Aux températures élevées, la matière grasse est complètement fondue et son module élastique est faible ($<1\text{ Pa}$). Quand la température atteint 8 °C , le

module élastique augmente très rapidement. Arbitrairement, on choisit pour température d'induction celle pour laquelle G' dépasse 1 Pa. Les courbes de G' et G'' se croisent à 7,2 °C. Il s'agit donc de la température pour laquelle le réseau solide percole et le caractère élastique l'emporte.

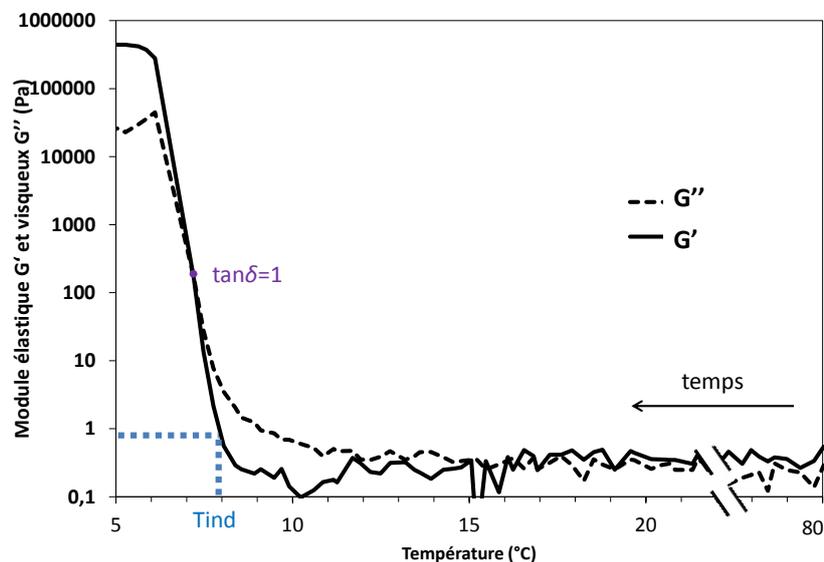


Figure 127 : Évolution des modules élastique (G') et visqueux (G'') de la MGLA au cours du refroidissement à -5 °C/min . Détermination graphique de la température d'induction pour $G'=1\text{ Pa}$ (T_{ind})

Les courbes de l'évolution du module élastique G' lors de l'ajout des différents modulateurs de cristallisation sont présentées sur la Figure 128. Le Tableau 34 synthétise les paramètres rhéologiques correspondants. On notera tout d'abord que la valeur finale du module élastique est proche pour l'ensemble des modulateurs, de l'ordre de $5 \cdot 10^5\text{ Pa}$. Les courbes de cristallisation obtenues en présence d'acides gras dont les chaînes sont inférieures à 12 carbones et l'acide oléique sont décalées vers les basses températures par rapport à la MGLA seule (Figure 128A). La température pour laquelle la pente de G' est maximale (T_c) est inférieure à celle de la MGLA seule quand ces modulateurs sont ajoutés. À l'inverse, les acides gras à chaîne longue (>14 carbones) décalent les courbes vers les températures plus élevées (Figure 128B). La tristéarine et la tripalmitine décalent encore davantage les courbes vers les hautes températures (Figure 128C), avec des températures d'induction de 11,3 °C pour la tristéarine et de 9,8 °C pour la tripalmitine.

Pour tous les modulateurs, la température d'induction est inférieure à celles obtenues en DSC et en RMN. Cette différence peut s'expliquer par le fait que l'élasticité ne dépend pas seulement de la présence de cristaux, mais également de leur connectivité, comme indiqué précédemment. Il faut en effet que des connexions se forment entre les cristaux et que les

amas de cristaux atteignent une taille caractéristique suffisante pour que le module élastique du matériau croisse significativement.

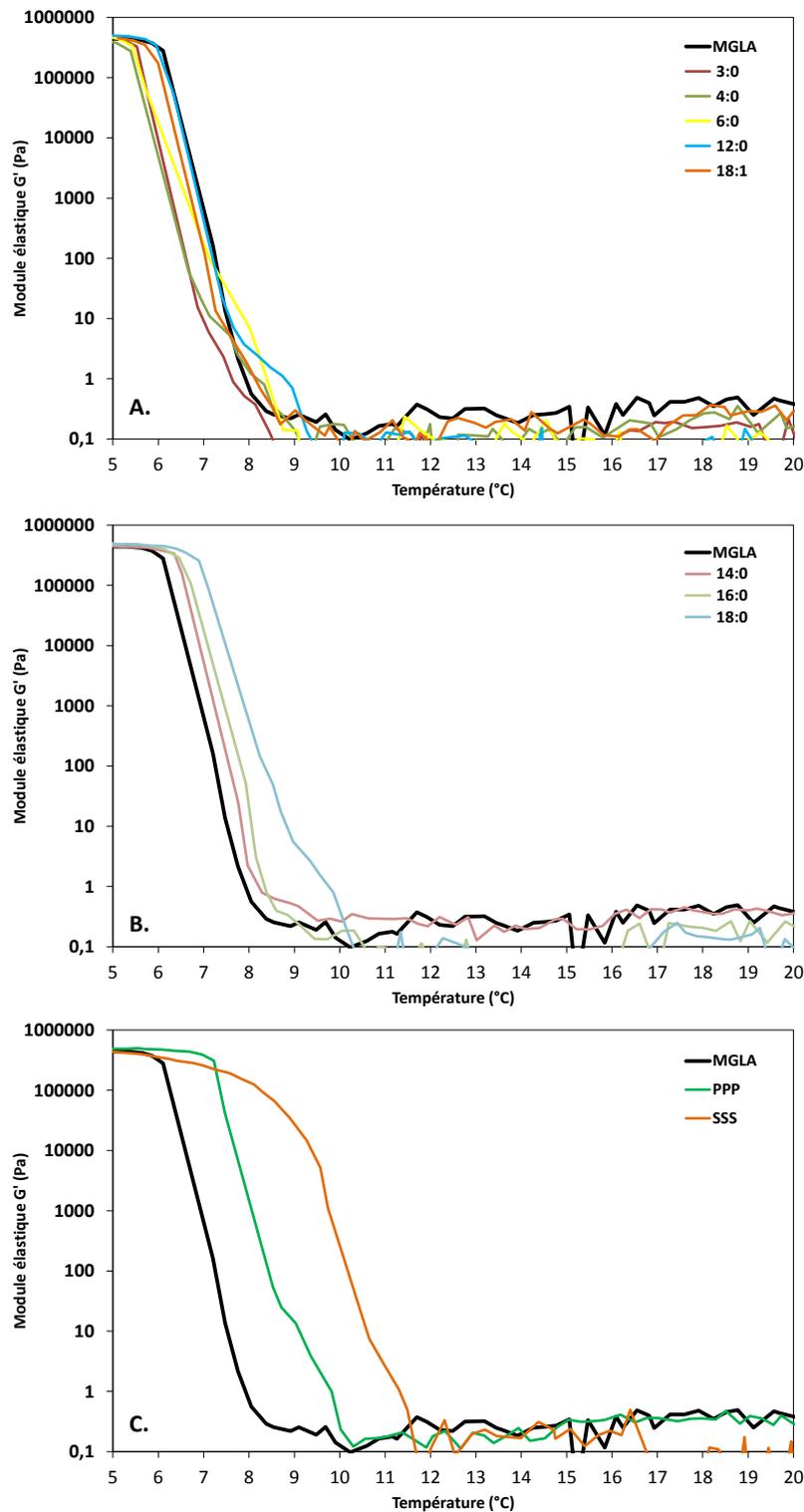


Figure 128 : Évolution du module élastique de la MGLA lors de son refroidissement dynamique (-5 °C/min) en présence de modulateurs à 1%. A. MGLA avec 1 % d'acide propionique (3:0), d'acide butyrique (4:0), d'acide hexanoïque (6:0) ou d'acide laurique (12:0). B. MGLA avec 1 % d'acide myristique (14:0), d'acide palmitique (16:0) ou d'acide stéarique (18:0). C. MGLA avec 1% de tripalmitine (PPP) ou de tristéarine (SSS)

Tableau 34 : Paramètres rhéologiques de la cristallisation de la MGLA en mélange avec 1 % de modulateur. Temps d'induction $G'=1$ (T_{ind}), Température pour laquelle $G'=G''$ (T_{tan}), pente maximale de la courbe (dG'/dT) et sa température correspondante (T_c). Module élastique final (G'_{max})

modulateur	T_{ind} (°C)	T_{tan} (°C)	dG'/dT (Pa/°C)	T_c (°C)	G'_{max} (Pa)
MGLA	7,9	7,2	$-2,7 \cdot 10^5$	6,3	$4,8 \cdot 10^5$
3:0	7,6	6,1	$-3,2 \cdot 10^5$	5,7	$4,8 \cdot 10^5$
4:0	8,2	6,2	$-3,0 \cdot 10^5$	5,4	$4,5 \cdot 10^5$
6:0	8,4	8,2	$-3,3 \cdot 10^5$	5,5	$5,0 \cdot 10^5$
12:0	8,8	7,1	$-3,4 \cdot 10^5$	6,0	$5,4 \cdot 10^5$
14:0	8,2	7,3	$-2,7 \cdot 10^5$	6,6	$4,6 \cdot 10^5$
16:0	8,4	7,2	$-3,0 \cdot 10^5$	6,5	$5,1 \cdot 10^5$
18:1	8,1	7,0	$-2,9 \cdot 10^5$	5,9	$4,5 \cdot 10^5$
18:0	9,8	9,5	$-2,9 \cdot 10^5$	6,9	$5,2 \cdot 10^5$
PPP	9,8	9,5	$-3,1 \cdot 10^5$	7,3	$5,1 \cdot 10^5$
SSS	11,3	9,0	$-1,2 \cdot 10^5$	7,9	$4,5 \cdot 10^5$

5.1.6. Fusion (+5 °C/min) de la matière grasse seule ou en mélange après une cristallisation rapide (-5 °C/min) et une isotherme à 5 °C (30 min)

Suite à la cristallisation dynamique, les échantillons subissent un palier isotherme de 30 min à 5 °C, avant d'être fondus au cours d'une rampe de chauffage à +5 °C/min. Le thermogramme obtenu pour la fusion de la MGLA seule est présenté sur la Figure 129. Le profil thermique est composé d'un premier pic endothermique de fusion jusqu'à 10 °C, puis d'un pic endothermique entre 10 et 20 °C auquel se superpose un signal exotherme entre 13 et 19 °C et un pic endothermique final de 20 à 34 °C. Le signal exothermique est interprété comme une transition de phases des formes instables vers les formes stables. Ces différents événements sont comparés aux études dans lesquelles des analyses de diffraction des rayons X ont été réalisées au cours du chauffage [5,28,29]. Le premier pic endothermique correspondrait à la fusion d'une première fraction cristallisée sous la forme α . Puis, le pic exothermique serait dû à la transition de phase de cristaux α vers des cristaux β' . Le dernier pic endothermique viendrait de la fusion de la fraction haut point de fusion sous forme β' [28]. Les hypothèses quant aux formes polymorphiques sont reportées sur la Figure 129.

Après la cristallisation rapide et le palier isotherme court, le système n'est pas à l'équilibre. La transition de phase de la forme α vers la forme β' commence au cours des 30 minutes en régime isotherme, mais elle n'est pas complète. Dans la littérature, quand la rampe de chauffage est imposée directement après la cristallisation dynamique, le pic exothermique dû à la transition de phase est plus important [28,29]. À l'inverse, il ne se produit plus quand la durée de l'isotherme est importante (>100 h [7]) car la transition de phase de la forme α à

la forme β' est achevée avant la chauffe. Notre cas est un cas correspond à une situation intermédiaire où la transition de phase a commencé mais n'est pas complète.

L'intégration de la courbe conduit à une enthalpie globale de fusion de 65,2 J/g, valeur beaucoup plus élevée en valeur absolue que l'enthalpie de cristallisation au cours de la rampe à -5 °C/min . La cristallisation s'est donc poursuivie au cours des 30 minutes en mode isotherme à 5 °C .

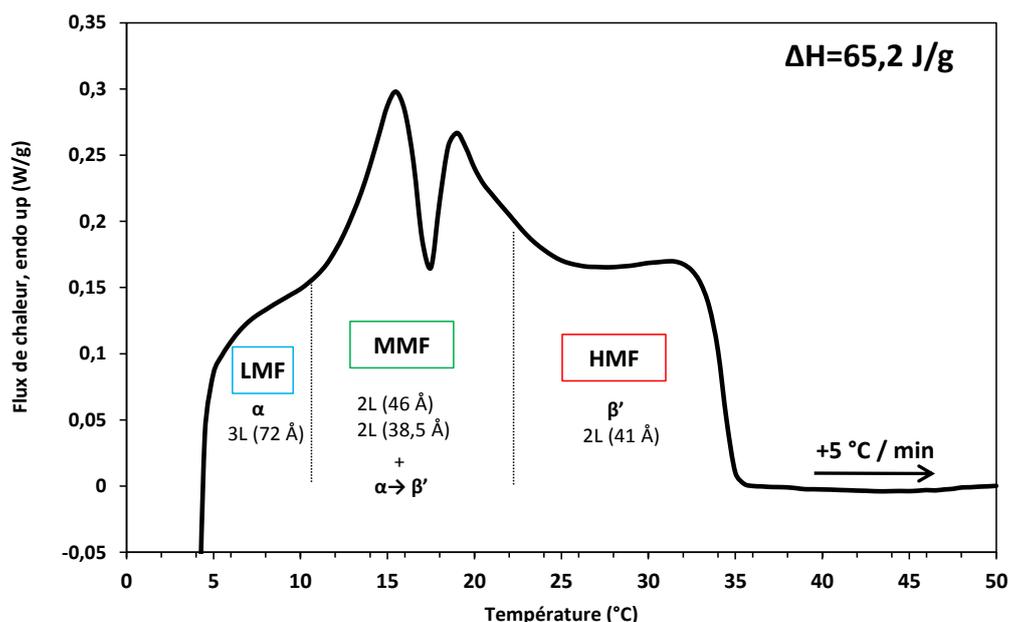


Figure 129 : Thermogramme de fusion de la MGLA ($+5\text{ °C/min}$) établi après cristallisation à -5 °C suivie d'une isotherme à 5 °C pendant 30 min. Formes cristallines déduites de [7,28,29]. Fraction haut point de fusion (HMF) moyen point de fusion (MMF) et bas point de fusion (LMF)

L'addition de modulateurs de cristallisation à 1 % ne perturbe pas l'allure générale du thermogramme de fusion de la MGLA (Figure 130, Figure 131 et Figure 132). L'ajout d'acides gras libres (Figure 130, Figure 131) ne modifie pas la température finale de fusion (Tableau 35). Il est difficile d'interpréter les enthalpies globales de fusion, dans la mesure où les deux phénomènes qui interviennent au cours du chauffage (fusion et transition de phase) sont antagonistes d'un point de vue énergétique. Une enthalpie plus faible en présence d'un modulateur ne peut être interprétée comme une cristallinité moins importante. En revanche, la Figure 132 montre qu'en présence de triglycérides trisaturés, la température de fin de fusion augmente. L'épaule correspondant à la fusion de la fraction haut point de fusion se prolonge et les cristaux de cette fraction fondent à plus haute température. L'ajout de triglycérides n'étant que de 1 %, cette zone exothermique ne peut être seulement dû à la fusion du triglycéride saturé ajouté. On en déduit donc qu'à cette vitesse de cristallisation, la tripalmitine et la tristéarine forment des cristaux mixtes avec les triglycérides à haut point de

fusion de la MGLA. La compatibilité de leurs longueurs de chaînes, ainsi que la vitesse de refroidissement appliquée conduisent la fraction de matière grasse et l'additif à cristalliser ensemble.

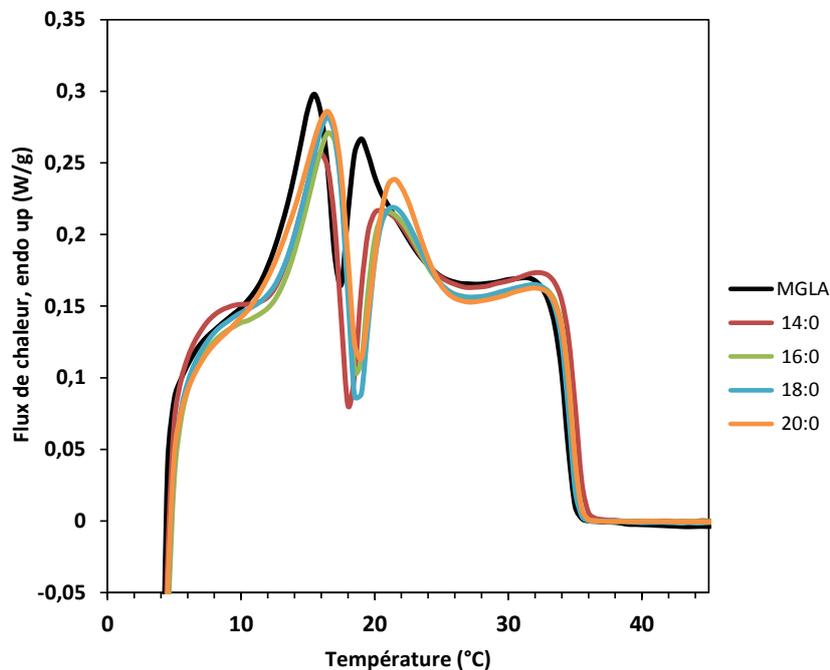


Figure 130 : Profil de fusion de la MGLA seule et en présence de 1 % d'acide myristique (14:0), d'acide palmitique (16:0), d'acide stéarique (18:0) ou d'acide arachidique (20:0), lors du chauffage à +5 °C/min après cristallisation à -5 °C/min et isotherme de 30 min à 5 °C

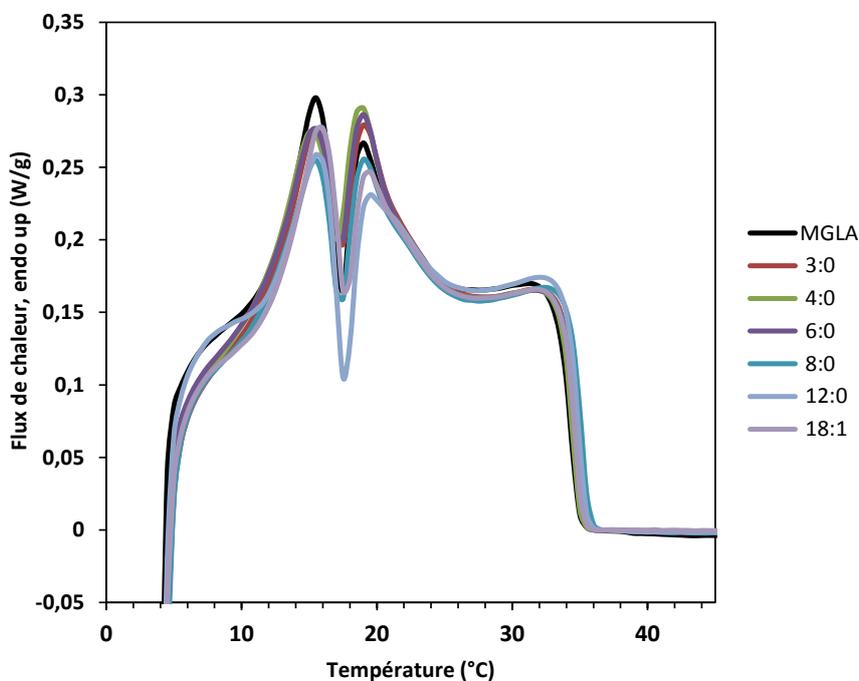


Figure 131 : Profil de fusion de la MGLA seule et en présence de 1 % d'acide propionique (3:0), d'acide butyrique (4:0), d'acide hexanoïque (6:0), d'acide octanoïque (8:0), d'acide laurique (12:0) ou d'acide oléique (18:1), lors du chauffage à +5 °C/min après cristallisation à -5 °C/min et isotherme de 30 min à 5 °C

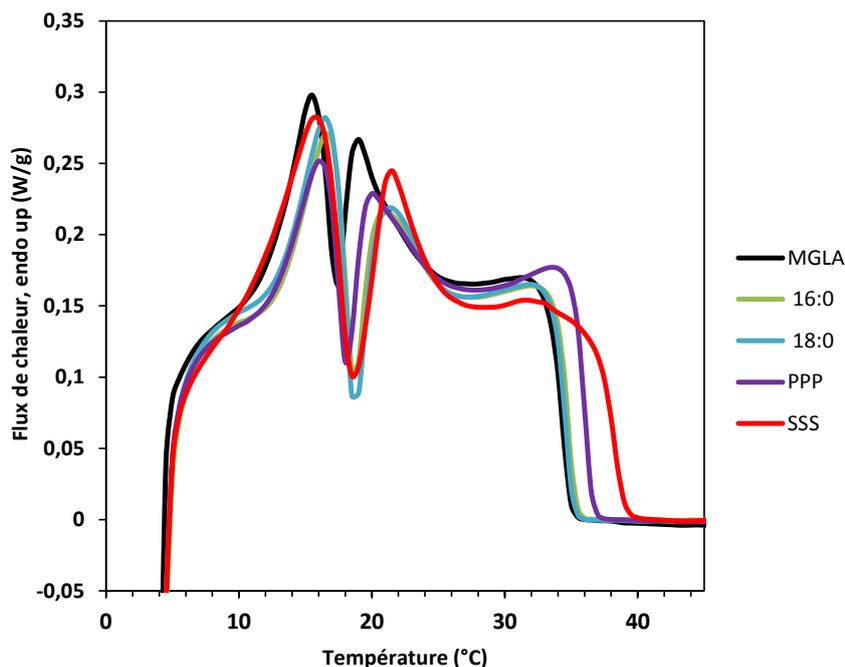


Figure 132 : Profil de fusion de la MGLA seule et en présence de 1 % d'acide palmitique (16:0), d'acide stéarique (18:0) de tripalmitine (PPP) ou de tristéarine (SSS), lors du chauffage à +5 °C/min après cristallisation à -5 °C/min et isotherme de 30 min à 5 °C

Tableau 35 : Paramètres thermiques déterminés en DSC pour un chauffage de +5 °C / min de la MGLA et des mélanges avec 1 % de modulateurs après un refroidissement à -5 °C/min et une isotherme de 30 minutes à 5 °C

Modulateur	Température fin de fusion (°C)	Enthalpie de fusion (J/g)
MGLA	35,2	65,2
3:0	35,2	63,8
4:0	35,0	63,9
6:0	35,1	64,3
8:0	35,6	61,1
12:0	35,5	62,6
14:0	35,6	61,7
16:0	35,1	59,2
18:0	35,5	60,0
18:1	35,0	60,8
20:0	35,5	61,7
PPP	37,0	62,7
SSS	40,0	66,2

5.2. Impact des modulateurs de cristallisation sur le profil de fusion RMN, après cristallisation isotherme à 5 °C pendant quatre jours

Dans les conditions du paragraphe précédent, l'équilibre thermodynamique de cristallisation n'est pas atteint lorsque la rampe de chauffage est amorcée. L'effet de 1 % de modulateur reste assez limité dans ces conditions. Dans cette partie, les mélanges de MGLA et de modulateurs sont étudiés en RMN. Le profil de fusion est établi après quatre jours en conditions isothermes à 5 °C, pour des concentrations variables en modulateur. Les figures

133, 134 et 135 montrent les profils de fusion RMN obtenus respectivement en présence de tripalmitine, d'acide oléique et d'acide stéarique.

Pour toutes les températures de fusion, la présence de tripalmitine ou d'acide stéarique augmente le taux de solide. À l'inverse, pour l'acide oléique, le taux de solide diminue avec la concentration en additif, pour chaque température de fusion. De fait, la substitution de la MGLA, par un modulateur solide augmente le taux de solide. Réciproquement, la substitution de la MGLA, par un modulateur liquide diminue le taux de solide.

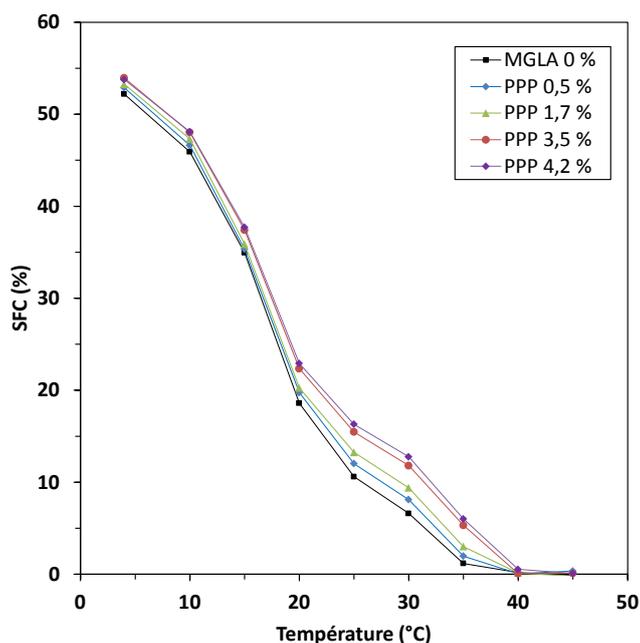


Figure 133 : Profil de fusion du mélange MGLA / tripalmitine (PPP) à différentes concentrations

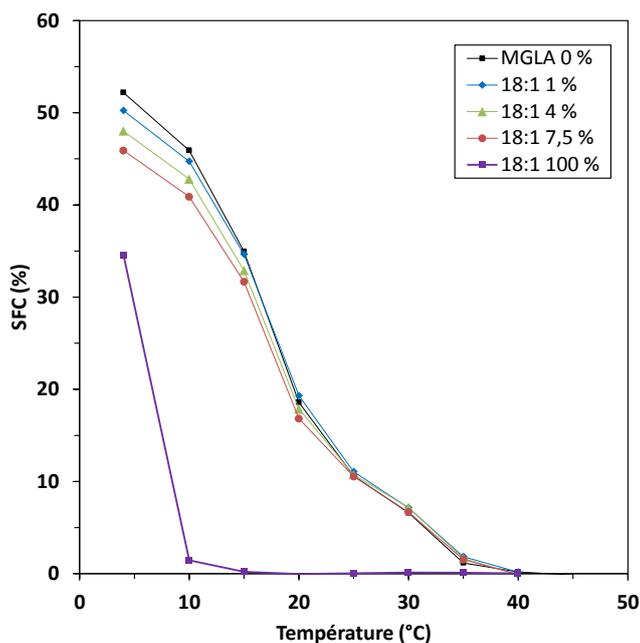


Figure 134 : Profil de fusion du mélange MGLA / acide oléique (18:1) à différentes concentrations

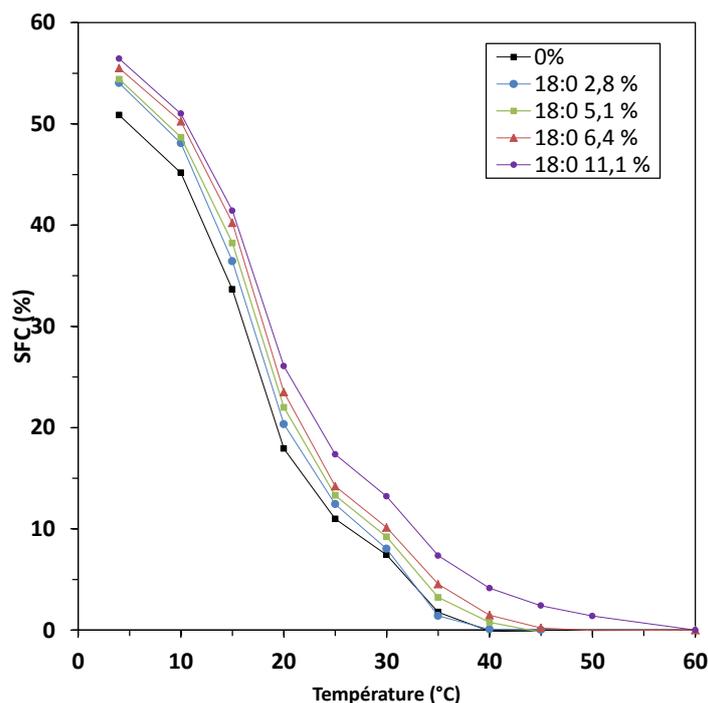


Figure 135 : Profil de fusion du mélange MGLA / acide stéarique (18:0) à différentes concentrations

Le taux de solide est représenté en fonction de la concentration en tripalmitine, acide stéarique ou acide oléique (Figure 136, 137 et 138) pour les différentes températures de fusion. Quel que soit le modulateur et quelle que soit la température considérée, chaque courbe peut être approximée par une droite, avec un coefficient de corrélation dans la gamme de concentration étudiée. La pente de cette droite représente l'accroissement moyen du taux de solide apporté par 1 % d'augmentation de la fraction massique en modulateur. On observe que l'effet de la concentration en tripalmitine est optimal à 25 °C et à 30 °C. À ces températures, une augmentation de 1 % de tripalmitine apporte un incrément du taux de solide de 1,23 %. À 5 °C, cet incrément n'est que de 0,35 %. Pourtant, le taux de solide de la tripalmitine ne varie pas sur cette plage de température. Cette observation suggère une interaction plus importante de la tripalmitine avec une partie des triglycérides de la MGLA. La température pour laquelle l'effet est maximal varie en fonction du modulateur (Tableau 36). Ainsi, l'acide stéarique est plus efficace à 20 °C (+0,66 %) qu'à 5 °C (+0,34 %) ou 30 °C (+0,52 %). L'acide oléique est quant à lui plus efficace dans son action inhibitrice à 5 °C (-0,73 %) qu'aux températures supérieures (-0,06 % à 25 °C). Ces effets optimaux ne sont pas comparés entre modulateurs, dans la mesure où les gammes de concentration étudiées diffèrent d'un modulateur à l'autre.

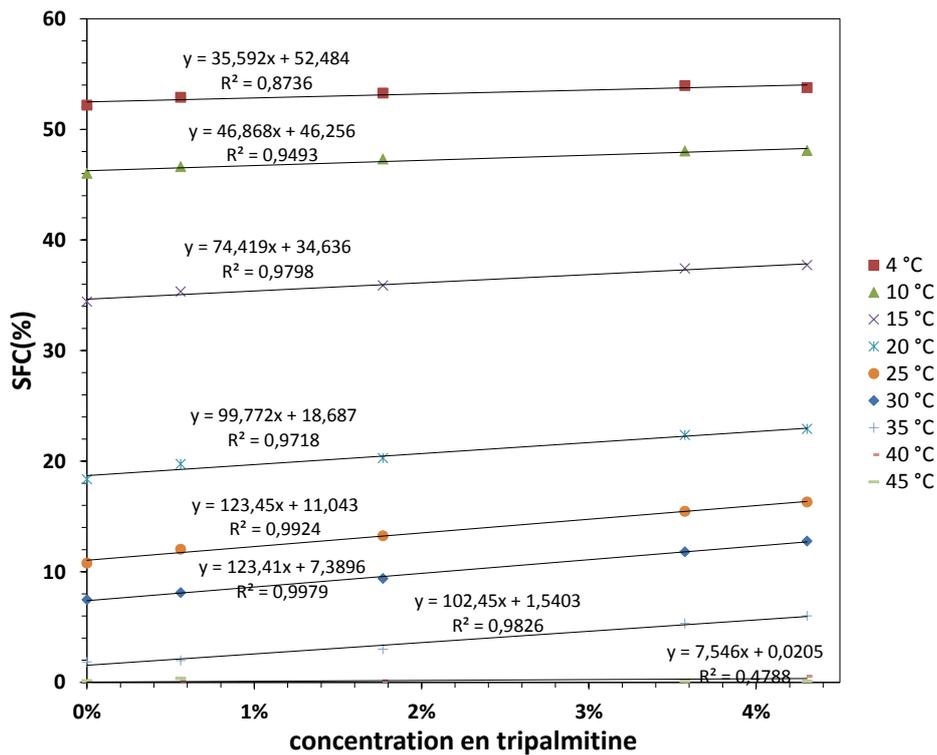


Figure 136 : Effet de la concentration en tripalmitine sur le taux de solide, pour chaque température du profil de fusion de la MGLA

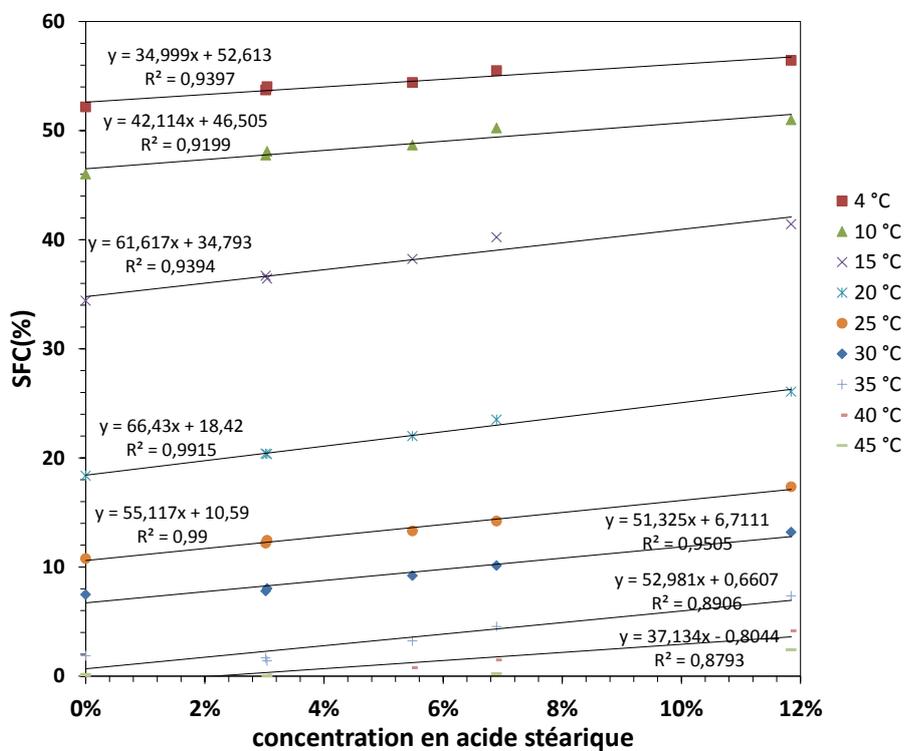


Figure 137 : Effet de la concentration en acide stéarique sur le taux de solide, pour chaque température du profil de fusion de la MGLA

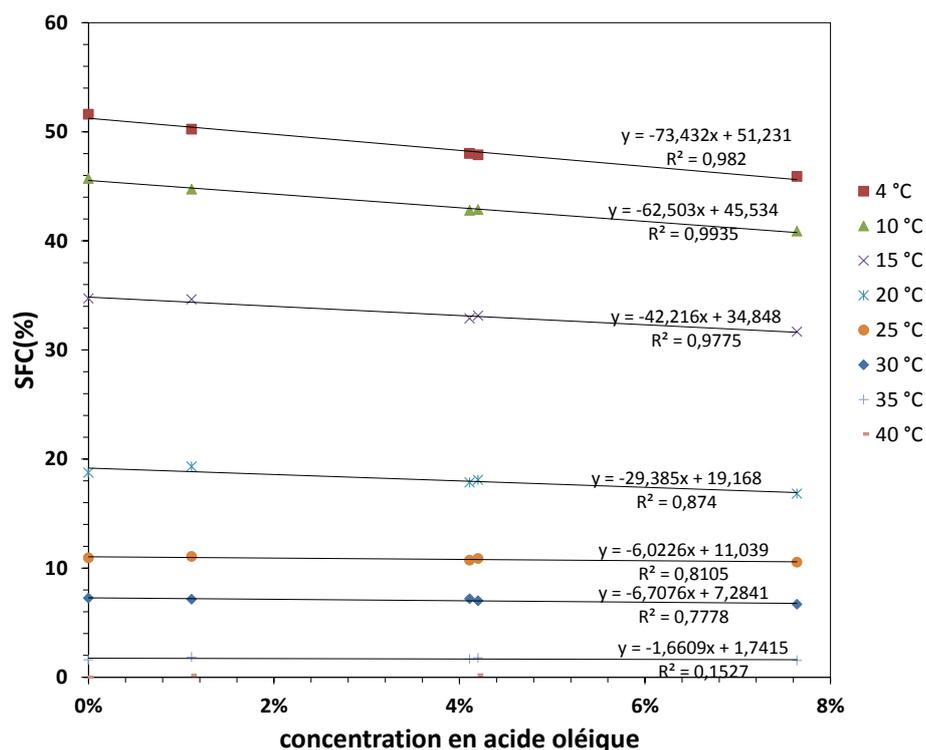


Figure 138 : Effet de la concentration en acide oléique sur le taux de solide, pour chaque température du profil de fusion de la MGLA

Tableau 36 : Température du profil de fusion de la MGLA en présence de modulateurs, pour laquelle le bonus de ces modulateurs est maximal

modulateur	Température d'effet maximal	Incrément maximal
3:0	20 °C	-2,5 %
6:0	5 °C	-1,5 %
18:1	5 °C	-0,73 %
AAA	5 °C	-0,75 %
16:0	15 °C	0,43 %
18:0	20 °C	0,66 %
20:0	20 °C	0,68 %
PPP	30 °C	1,23 %
SSS	20 °C	2,3 %

Une autre information peut être extraite de ces figures. Les droites obtenues pour les deux promoteurs de cristallisation, l'acide stéarique et la tripalmitine ne passent pas par 100 % de solide pour 100 % de modulateur. De la même manière, les droites obtenues pour l'acide oléique ne passent pas par 0 % pour 100 % de modulateur. Ceci ajouté aux informations précédentes nous permet d'affirmer qu'il existe des interactions entre les modulateurs testés et la matière grasse laitière. Ils n'apportent pas simplement un incrément de solide en substituant la matière grasse laitière partiellement solide par un modulateur complètement solide, et inversement pour les modulateurs liquides.

Cet écart à « l'idéalité » justifie tout l'intérêt des modulateurs de cristallisation, qui, même à de faibles concentrations, bouleversent la cristallisation de la matière grasse laitière, d'un point de vue cinétique et thermodynamique.

6. Synthèse de l'action des composés mineurs sur la cristallisation de la matière grasse laitière en phase continue

L'ensemble des résultats obtenus dans ce chapitre montre que les composés mineurs de la matière grasse laitière, présents de manière endogène ou produits au cours des procédés de transformation, sont susceptibles de modifier sa cinétique de cristallisation et sa structure. Lorsque l'effet d'un modulateur est mis en évidence, son mécanisme d'action dépend de sa structure chimique, de sa concentration et de la température à laquelle la cristallisation se déroule. Les expériences menées à 25 °C ont permis d'exacerber l'influence des modulateurs car la MGLA cristallise relativement lentement à cette température. Cinq molécules, représentatives des modulateurs impactant la cinétique, ont été étudiés plus en détail : l'acide butyrique, l'acide oléique, l'acide palmitique, la tripalmitine et le butanoate d'éthyle. Le Tableau 37 synthétise leur action à 25 °C, lorsqu'ils sont présents à une concentration massique de 1 %.

Tableau 37 : Synthèse de l'action des modulateurs (1 %) sur la cristallisation isotherme de la MGLA à 25 °C.

	Cinétique (RMN)			Nanostructure (DRX)		Microstructure		Macrostructure	Mécanisme possible	
	SFC ¹ final	Temps d'induction	Vitesse de cristallisation	longues distances	sous cellule	Taille	Nombre	Élasticité	sur la nucléation	sur la croissance
MGLA	0	0	0	2L (43,8 Å)	β'	0	0	0	0	0
4:0	=	++	-	2L (43,8 Å)	β'	+	-	-	--	-
18:1	=	++	-			+	-	-	--	-
16:0	=	-	+	2L (43,8 Å)	β'	--	++	+	+	(-)
PPP	++	-	+	2L (43,8 Å)	β'	-	+	+	(+)	+
EtObut	-	=	-			-	+		(+)	-

SFC¹ : taux de solide final

+ augmente ; - diminue ; ++ augmente fortement ; -- diminue fortement ; () effet faible ; = sans effet.

4:0 acide butyrique ; 18:1 : acide oléique ; 16:0 : acide palmitique ; PPP : tripalmitine ; EtObut : butanoate d'éthyle

Les acides gras libres à chaîne courte, comme l'acide butyrique, ou à chaîne insaturée, comme l'acide oléique, sont des inhibiteurs de cristallisation. Ils augmentent le temps d'induction et diminuent la vitesse de cristallisation. Sans modifier le polymorphisme de la MGLA, ils bouleversent toutefois la microstructure, en diminuant le nombre d'amas cristallins et en augmentant leur taille. Cela induit une diminution de l'élasticité du réseau cristallin au niveau macroscopique. Nos résultats suggèrent qu'ils agissent principalement sur l'étape de nucléation.

Les acides gras à longue chaîne saturée, comme l'acide palmitique, sont des promoteurs de cristallisation. Ils diminuent le temps d'induction et augmentent la vitesse de cristallisation. Ils ne modifient pas la nanostructure de la MGLA à la concentration de 1 %, mais modifient de manière significative la microstructure, en augmentant considérablement le nombre de cristaux et en diminuant leur taille. Ceci conduit à un réseau plus cohésif et à une matière grasse macroscopiquement plus ferme. Ces modulateurs semblent principalement agir sur l'étape de nucléation, mais ne favorisent pas la croissance cristalline. Malgré la similarité de ces acides gras en termes de longueur de chaîne avec les TAG de la MGLA, ils engendreraient des défauts en s'intercalant sur les faces cristallines en croissance.

Les triglycérides homogènes à longues chaînes saturées, comme la tripalmitine, accélèrent aussi la cristallisation. Ils semblent mieux s'intégrer dans le réseau cristallin de la MGLA que les acides gras à longue chaîne saturée. En effet, ils augmentent le taux de solide final, ne modifient pas la forme des cristaux et augmentent la fermeté du réseau. Leur effet sur la vitesse de nucléation peut s'expliquer par l'augmentation de la température de fusion globale de la matière grasse, malgré leur faible concentration.

Les petites molécules organiques testées, comme le butanoate d'éthyle, sont des inhibiteurs de cristallisation. Mais leur effet sur la cinétique et la structure sont différents de ceux des acides gras libres de masse molaire comparable. Ils ne modifient pas le temps d'induction, mais diminuent la vitesse de cristallisation et le taux de solide final. Curieusement, ils diminuent l'énergie d'activation de la nucléation, formant ainsi des cristaux plus petits et plus nombreux.

Quels que soient les modulateurs étudiés, leur effet sur la cristallisation est d'autant plus prononcé que la concentration introduite est élevée. Il existe une concentration critique au-delà de laquelle les acides gras libres à longue chaîne saturée induisent une cinétique de cristallisation en deux étapes. Cette concentration dépend du nombre d'atome de carbone de la chaîne. Une étude approfondie de la cristallisation de la MGLA en présence l'acide palmitique concentré (10 %) a été réalisée. La modélisation de la cinétique et l'analyse de la nanostructure suggèrent que l'acide palmitique cristallise d'abord, dans la première étape, et induit la cristallisation des triglycérides de la MGLA sous forme α . Puis la forme β intervient à des temps relativement courts.

À des températures plus basses (5 °C), la cristallisation de la MGLA est beaucoup plus rapide. L'action des composés mineurs n'est pas toujours aisément perceptible, et il est nécessaire d'associer plusieurs techniques analytiques pour révéler des différences. L'analyse thermique en rampe descendante montre que les acides gras libres à longue chaîne augmentent la température de début de cristallisation, alors que les acides gras à chaînes courte ou insaturée la diminuent. Mais cet effet sur la cristallisation des fractions à haut point de fusion ne modifie pas significativement la dimension fractale du réseau cristallin, ni sa fermeté macroscopique finale. Les acides gras libres sont moins efficaces à 5 °C pour moduler la cristallisation, car la nucléation de la MGLA à cette température est très rapide. Ceci renforce l'hypothèse selon laquelle ils impacteraient principalement cette étape. Les triglycérides homogènes, comme la tripalmitine et la tristéarine, du fait de leur haut point de fusion intrinsèque, gardent une influence majeure sur la cristallisation de la MGLA en modifiant significativement la température de fusion de la matière grasse.

Bibliographie du chapitre 3

- [1] Y.F. Collins, P.L.H. McSweeney, M.G. Wilkinson, Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge, *Int. Dairy J.* 13 (2003) 841–866.
- [2] S.-Q. Liu, R. Holland, V.L. Crow, Esters and their biosynthesis in fermented dairy products: a review, *Int. Dairy J.* 14 (2004) 923–945.
- [3] I. Foubert, P.A. Vanrolleghem, B. Vanhoutte, K. Dewettinck, Dynamic mathematical model of the crystallization kinetics of fats, *Food Res. Int.* 35 (2002) 945–956.
- [4] K. Larsson, On the structure of the liquid state of triglycerides, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69 (1992) 835–836.
- [5] A. Lambert, F. Bougrioua, O. Abbas, M. Courty, M. El Marssi, V. Faivre, S. Bresson, Temperature dependent Raman and X-ray diffraction studies of anhydrous milk fat, *Food Chem.* (2017).
- [6] G. Mazzanti, S.E. Guthrie, E.B. Sirota, A.G. Marangoni, S.H.J. Idziak, Effect of Minor Components and Temperature Profiles on Polymorphism in Milk Fat, *Cryst. Growth Des.* 4 (2004) 1303–1309.
- [7] C. Lopez, C. Bourgaux, P. Lesieur, M. Ollivon, Crystalline structures formed in cream and anhydrous milk fat at 4°C, *Le Lait.* 82 (2002) 317–335.
- [8] C. Lopez, F. Lavigne, P. Lesieur, C. Bourgaux, M. Ollivon, Thermal and Structural Behavior of Milk Fat. 1. Unstable Species of Anhydrous Milk Fat, *J. Dairy Sci.* 84 (2001) 756–766.
- [9] F. Lavigne, Polymorphisme et transitions de phases des triglycérides. Applications aux propriétés thermiques et structurales de la matière grasse laitière anhydre et de ses fractions, Thèse de doctorat, École nationale supérieure des industries agricoles et alimentaires, 1995.
- [10] C. Lopez, F. Lavigne, P. Lesieur, G. Keller, M. Ollivon, Thermal and Structural Behavior of Anhydrous Milk Fat. 2. Crystalline Forms Obtained by Slow Cooling, *J. Dairy Sci.* 84 (2001) 2402–2412.
- [11] W.L. Ng, A study of the kinetics of nucleation in a palm oil melt, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 67 (1990) 879–882.
- [12] S. Metin, R.W. Hartel, *Crystallization of Fats and Oils*, in: *Baileys Ind. Oil Fat Prod.*, John Wiley & Sons, Inc., 2005.
- [13] A.J. Wright, R.W. Hartel, S.S. Narine, A.G. Marangoni, The effect of minor components on milk fat crystallization, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77 (2000) 463–475.
- [14] J.W. Litwinenko, A.P. Singh, A.G. Marangoni, Effects of Glycerol and Tween 60 on the Crystallization Behavior, Mechanical Properties, and Microstructure of a Plastic Fat, *Cryst. Growth Des.* 4 (2004) 161–168.
- [15] M.L. Herrera, M. de León Gatti, R.W. Hartel, A kinetic analysis of crystallization of a milk fat model system, *Food Res. Int.* 32 (1999) 289–298.
- [16] M. Cerdeira, S. Martini, R.W. Hartel, M.L. Herrera, Effect of Sucrose Ester Addition on Nucleation and Growth Behavior of Milk Fat–Sunflower Oil Blends, *J. Agric. Food Chem.* 51 (2003) 6550–6557.

- [17] M. Cerdeira, R.J. Candal, M.L. Herrera, Analytical techniques for nucleation studies in lipids: advantages and disadvantages, *J. Food Sci.* 69 (2004) R185–R191.
- [18] A.G. Marangoni, Structure and properties of fat crystal networks, Second edition, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 2013.
- [19] R. Williams, François-Marie Raoult et la loi de Raoult, *Reflets Phys.* (2012) 22–23.
- [20] B. Vanhoutte, Milk fat crystallisation: fractionation and texturisation, dissertation, Ghent University, 2003.
- [21] I. Foubert, K. Dewettinck, G. Janssen, P.A. Vanrolleghem, Modelling two-step isothermal fat crystallization, *J. Food Eng.* 75 (2006) 551–559.
- [22] C. Lopez, P. Lesieur, C. Bourgaux, G. Keller, M. Ollivon, Thermal and Structural Behavior of Milk Fat: 2. Crystalline Forms Obtained by Slow Cooling of Cream, *J. Colloid Interface Sci.* 240 (2001) 150–161.
- [23] A. Karleskind, Manuel des corps gras, Technique et Documentation - Lavoisier, 1992.
- [24] G. Gbabode, P. Negrier, D. Mondieig, E. Moreno, T. Calvet, M.À. Cuevas-Diarte, Fatty acids polymorphism and solid-state miscibility, *J. Alloys Compd.* 469 (2009) 539–551.
- [25] E. Moreno, R. Cordobilla, T. Calvet, F.J. Lahoz, A.I. Balana, The C form of n-hexa-decanoic acid, *Acta Crystallogr. C.* 62 (2006) o129–o131.
- [26] K.W. Smith, K. Bhaggan, G. Talbot, K. Malssen, Crystallization of Fats: Influence of Minor Components and Additives, *J. Am. Oil Chem. Soc. JAOCS.* 88 (2011) 1085–1101.
- [27] G.G. Rye, J.W. Litwinenko, A.G. Marangoni, Fat Crystal Networks, in: F. Shahidi (Ed.), *Baileys Ind. Oil Fat Prod.*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, 2005.
- [28] E. ten Grotenhuis, G.A. van Aken, K.F. van Malssen, H. Schenk, Polymorphism of milk fat studied by differential scanning calorimetry and real-time X-ray powder diffraction, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76 (1999) 1031–1039.
- [29] C. al Lopez, P. Lesieur, C. Bourgaux, M. Ollivon, Thermal and structural behavior of anhydrous milk fat. 3. Influence of cooling rate, *J. Dairy Sci.* 88 (2005) 511–526.

Chapitre 4

Influence des composés mineurs sur la cristallisation de la matière grasse laitière en milieu dispersé

L'objectif de ce chapitre est de déterminer si les modulateurs de cristallisation préalablement identifiés en phase continue ont également un effet lorsque la MGLA est dispersée sous forme de gouttes dans une émulsion directe, stabilisée par du caséinate de sodium. Certains modulateurs étant aussi des molécules dotées de propriétés tensioactives, leur impact sur la stabilité des émulsions est également examiné. La taille des gouttes est un paramètre important vis-à-vis de la cristallisation de la matière grasse et de la stabilité des émulsions. Cette étude est donc naturellement divisée en deux parties. La première partie concerne l'effet des modulateurs sur des émulsions de faible diamètre moyen ($< 10 \mu\text{m}$) fabriquées en régime turbulent. La seconde partie est consacrée aux émulsions monodisperses de plus gros diamètre ($> 10 \mu\text{m}$) fabriquées en régime laminaire.

1. Cristallisation de la MGLA dans des émulsions de faible diamètre moyen ($<10 \mu\text{m}$)

1.1. Choix des paramètres d'émulsification et des conditions de cristallisation

Les conditions d'émulsification sont choisies pour obtenir trois diamètres moyens suffisamment différents et, ainsi, révéler l'impact de la taille des gouttes sur la cristallisation. Pour chaque série d'essais, une émulsion contenant le modulateur est comparée à une émulsion de MGLA seule, préparée, conservée et analysée dans les mêmes conditions.

La cristallisation de la matière grasse laitière à 25 °C dans des émulsions de faible diamètre est trop lente pour en étudier la cinétique sur des échelles de temps raisonnables. La cristallisation a donc été étudiée à 5 °C et les deux conditions opératoires suivantes ont été adoptées :

- cristallisation par trempe à 5 °C, avec un suivi par RMN aux temps courts (6 h), suivie d'un stockage pendant 48 h à 5 °C. L'échantillon, dont la température initiale est de 60 °C, est placé directement dans l'appareil RMN thermostaté à 5 °C dans un tube assurant un rapport surface/volume élevé pour accélérer les échanges thermiques.

Sa température est mesurée en temps réel grâce à une sonde thermique plongée dans le volume. Après 48 h à 5°C, l'émulsion correspondante est caractérisée en fusion par DSC;

- cristallisation en rampe de refroidissement contrôlée à -5 °C/min par DSC, suivie d'un palier isotherme à 5 °C pendant 90 minutes puis d'une rampe de fusion.

La Figure 139 illustre l'évolution de la température selon les deux protocoles thermiques. Cette approche permet d'étudier deux types de refroidissement rapide, et des temps de cristallisation plus ou moins longs.

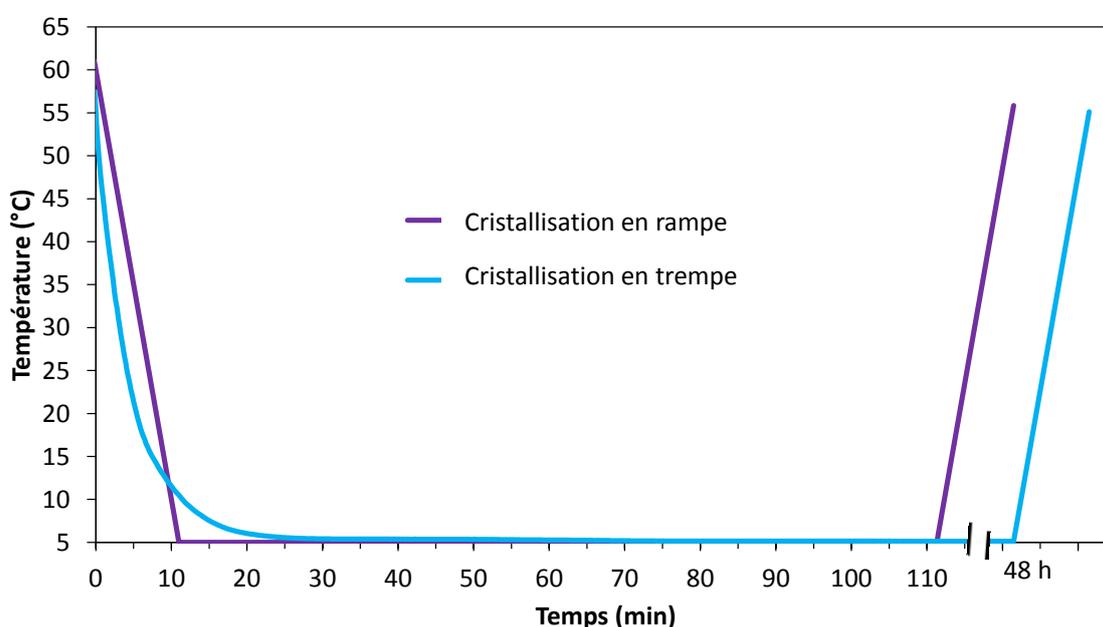


Figure 139 : Évolution de la température d'une émulsion suivant les deux protocoles thermiques :
- rampe à -5 °C/min, isotherme pendant 90 min, fusion à +5 °C/min
- trempe à 5 °C, stabilisation pendant 48 h, fusion à +5 °C/min

Quatre composés mineurs représentatifs des modulateurs de cristallisation en phase continue ont été sélectionnés pour l'étude de la cristallisation en émulsion : l'acide oléique et l'acide propionique, en tant qu'inhibiteurs ; l'acide palmitique et la tripalmitine en tant que promoteurs. L'étude des milieux dispersés requiert l'usage de méthodes de caractérisation physicochimiques spécifiques : granulométrie des gouttes par diffraction laser et microscopie optique, localisation des modulateurs par tension interfaciale, stabilité des émulsions au crémage par rétrodiffusion de la lumière (Turbiscan), texture des émulsions et stabilité vis-à-vis de la coalescence par rhéologie oscillatoire.

1.2. Influence de la taille des gouttes sur la cristallisation de la matière grasse laitière en milieu dispersé

1.2.1. Mise en œuvre et caractérisation des émulsions

Dans cette première partie de l'étude, les émulsions contiennent 40 % de MGLA sans modulateur et 2 % de caséinate de sodium. Il s'agit ici d'analyser l'impact de la taille des gouttes, indépendamment des modulateurs. Les émulsions sont préparées à chaud, comme décrit dans le chapitre 2. Trois niveaux d'homogénéisation d'une même pré-émulsion préparée à l'Ultra-Turrax sont adoptés : 0 bar (pas d'homogénéisation), 50 bars et 500 bars. En termes de composition globale, les trois émulsions obtenues à des niveaux d'homogénéisation différents sont rigoureusement identiques. Pour chacune de ces émulsions, une partie est placée à 60 °C pour la caractérisation à chaud et l'étude de la cristallisation de la MGLA émulsionnée ; l'autre partie est conservée directement à 5 °C pour étudier l'influence du temps de stockage.

Les émulsions réalisées à partir de MGLA sans modulateur sont caractérisées par granulométrie (Figure 140 et Tableau 38) et microscopie optique (Figure 141). Comme attendu, plus la pression d'homogénéisation est importante, plus le diamètre moyen des gouttes est faible. Les trois niveaux d'homogénéisation appliqués (0 bar, 50 bars, 500 bars) permettent d'obtenir des émulsions dont les gouttelettes ont des diamètres significativement différents. L'émulsion non homogénéisée présente un diamètre moyen en volume ($D[4,3]$) de l'ordre de 5,9 μm , proche du diamètre moyen des globules gras natifs du lait les plus gros [1]. L'homogénéisation à 50 bars conduit à un diamètre moyen de 2,2 μm . L'homogénéisation à 500 bars permet d'obtenir une émulsion de diamètre submicronique d'environ 0,8 μm . Les diamètres moyens en volume sont supérieurs aux diamètres moyens en surface ($D[3,2]$) car ils donnent davantage de poids statistique aux gouttes de grande taille. On remarque par ailleurs que le procédé d'homogénéisation conduit à un élargissement de la distribution d'autant plus marqué que la pression appliquée est importante. Les observations microscopiques (Figure 141) sont conformes aux résultats obtenus en granulométrie.

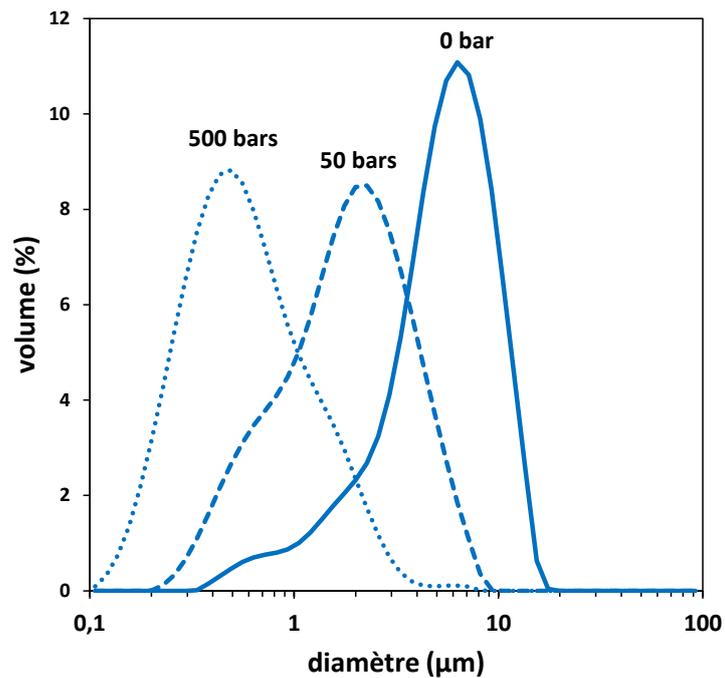


Figure 140 : Distribution de tailles des gouttes des émulsions de MGLA obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

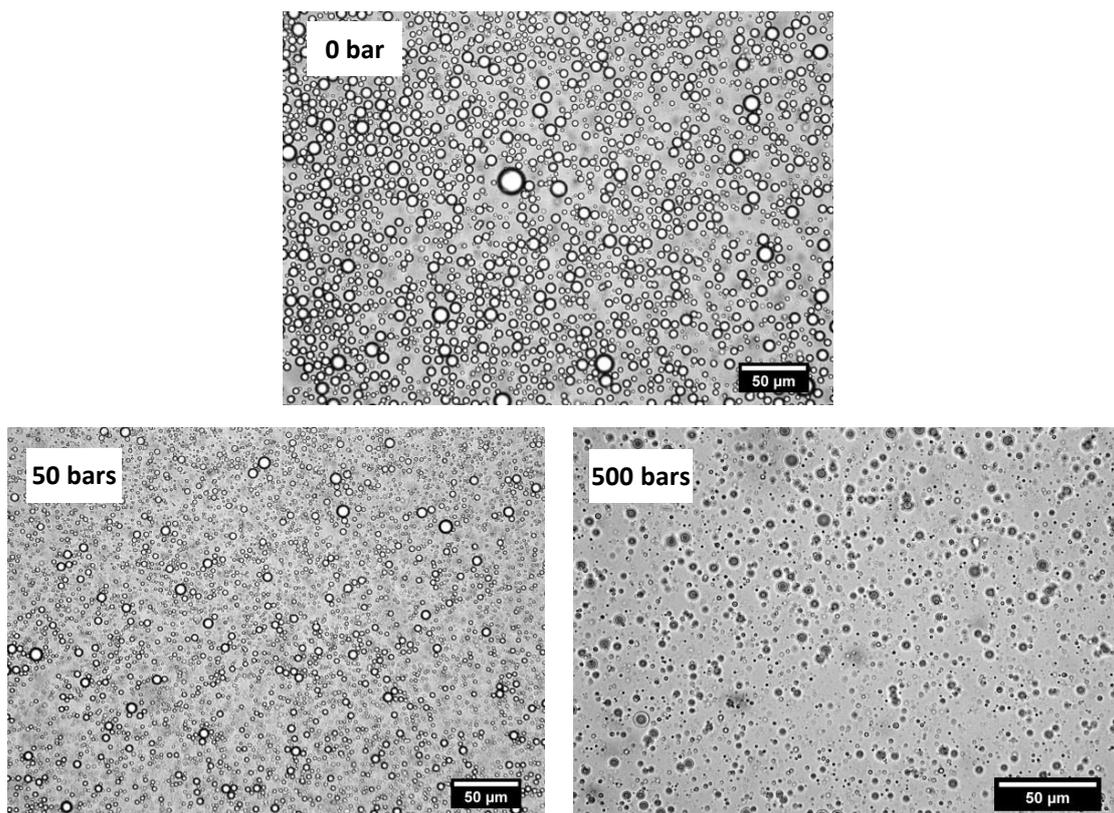


Figure 141 : Observations en microscopie optique des émulsions de MGLA obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

Tableau 38 : Diamètres moyens en volume (D[4,3]), en surface (D[3,2]) et polydispersités des émulsions de MGLA obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation

Pression d'homogénéisation (bars)	D[4,3] (μm) ¹	D[3,2] (μm) ¹	Polydispersité (%) ¹
0	5,9 ± 0,1	3,5 ± 0,1	47 ± 1
50	2,2 ± 0,2	1,3 ± 0,1	62 ± 2
500	0,76 ± 0,07	0,46 ± 0,02	78 ± 6

¹ : les écarts-type correspondent à 5 préparations d'émulsion indépendantes, sur les différentes séries d'essais

La masse de caséinate x nécessaire pour recouvrir les interfaces est donnée par la relation suivante :

$$x = \Gamma \cdot \frac{6 \cdot m_{MGLA}}{D[3;2] \cdot \rho_{MGLA}} \quad (\text{Eq. 61})$$

où Γ est la concentration surfacique du caséinate (1,2 mg/m² [2]), m_{MGLA} la masse de matière grasse et ρ_{MGLA} sa densité (= 0,92 g/cm³). Pour l'émulsion homogénéisée à 500 bars, la quantité de caséinate adsorbée aux interfaces représente environ 34 % de la masse initialement introduite. Ainsi, la concentration en protéines mise en œuvre est, dans tous les cas, suffisante pour saturer les interfaces générées par l'homogénéisation.

Lorsqu'elle se produit, la coalescence des gouttes a pour effet d'accroître le diamètre moyen des émulsions et une évolution des thermogrammes est alors attendue. Les émulsions stockées à 5 °C pendant 48 h ont été caractérisées par granulométrie. Les distributions de tailles sont comparées à celles obtenues après la fabrication à 60 °C (Figure 142). Les profils granulométriques sont superposables ; le stockage 48 heures à 5 °C n'a donc pas déstabilisé les émulsions. Ces caractérisations permettent de s'assurer que les modifications de profils thermiques éventuellement observées ne sont pas liées à une évolution par coalescence de la taille des gouttes due aux cycles thermiques appliqués, mais bien à la taille initiale des gouttes.

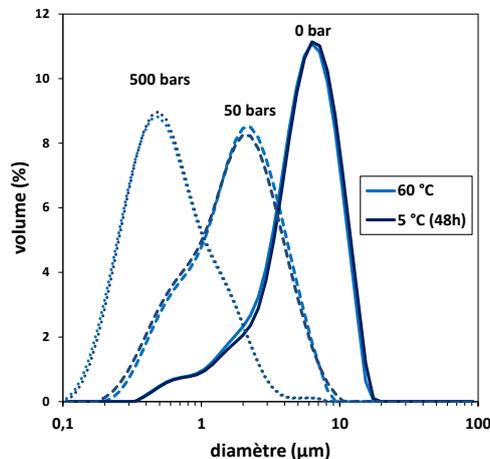


Figure 142 : Distributions de tailles des émulsions de MGLA, obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, après préparation à 60 °C et après stockage à 5 °C pendant 48 h

Suite à l'étape de fusion, les émulsions ont été recristallisées et les résultats sont reportés en Annexe 15. À nouveau, les profils thermiques sont rigoureusement superposables à ceux de la première cristallisation, ce qui suggère les émulsions résistent à au moins un cycle thermique sans subir la moindre déstabilisation.

1.2.2. Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé : rampe de refroidissement linéaire à -5 °C/min

Le refroidissement dynamique des émulsions, en rampe contrôlée de -5 °C/min entre 60 °C et 5 °C est étudié par DSC et comparé à la cristallisation de la MGLA en phase continue cristallisée à la même vitesse (Figure 143). Cette méthode met clairement en évidence l'effet de surfusion induit par la dispersion de la matière, avec un décalage du signal exothermique vers les basses températures quand la taille des gouttes diminue.

La dispersion de la matière grasse dans des gouttes conduit à son confinement. Les supports de nucléation hétérogène initialement présents dans la MGLA sont donc également confinés dans les gouttes. Une fois l'étape de nucléation franchie, la croissance des cristaux est limitée par l'extension finie de la goutte. Cela explique le niveau de surfusion plus important dans les émulsions par rapport à la MGLA en phase continue. De plus, à fraction volumique de matière grasse équivalente, quand le diamètre moyen des gouttes diminue, les supports de nucléation hétérogène sont de plus en plus confinés (*i.e.* la fraction volumique des gouttes qui les contiennent diminue), ce qui a pour conséquence de ralentir la cristallisation. Ainsi, lorsque la taille moyenne des gouttes varie de 5,9 à 0,8 μm , la température de début de cristallisation passe de 14 °C à 10,5 °C. Ce résultat est en accord avec les données de la littérature [1,3].

La position et le nombre des pics du thermogramme sont également modifiés par la dispersion et la diminution de la taille des gouttes. À -5 °C/min, la MGLA en phase continue cristallise en deux étapes, avec des pics centrés à 14,6 °C et à 9,6 °C. L'allure du signal enthalpique est modifiée par l'émulsification. Le thermogramme obtenu pour l'émulsion à 5,9 μm de diamètre moyen comporte trois pics : un pic de faible amplitude autour de 14 °C et deux pics centrés sur 12,5 °C et 9,6 °C. Pour l'émulsion à 2,2 μm diamètre moyen, la cristallisation commence vers 14 °C et le profil thermique comporte un pic principal centré autour de 8,5 °C. Enfin, pour l'émulsion submicronique, on observe un seul pic, commençant

à 10,5 °C et centré sur 6,5 °C. Il est donc nécessaire de refroidir davantage le système émulsionné pour qu'il cristallise lorsque les gouttes sont plus fines.

De surcroît, réduire la taille des gouttes a pour effet de faire évoluer le scénario de cristallisation vers un évènement thermique unique. Les différentes fractions de la matière grasse ne cristallisent plus séparément comme en phase continue, mais conjointement. Ces deux situations limites sont clairement identifiables sur la Figure 143 :

- dans la MGLA en phase continue, la croissance cristalline implique des molécules semblables et compatibles ; on observe donc des pics exothermiques distincts, chacun correspondant à une fraction différente ;
- dans la MGLA homogénéisée à 50 et à 500 bars, la croissance génère des cristaux mixtes impliquant des molécules différentes, formés aux cours d'un unique évènement exothermique.

La formation de cristaux mixtes dans les gouttes très fines reflète une perte de sélectivité de la croissance. Les réserves en triglycérides parfaitement identiques dans une même goutte sont rapidement épuisées, car la diffusion est limitée par l'extension finie des gouttes. Dans le même temps, la diminution de la température de début de cristallisation augmente la variété des triglycérides cristallisables. Les candidats à l'adsorption sur les faces cristallines en croissance sont alors plus nombreux. Par analogie avec les résultats obtenus sur la MGLA en DRX (chapitre 3 § 5.1.2) on peut supposer que la vitesse de cristallisation rapide dans les émulsions favorise la croissance sous la forme α qui est suffisamment lâche pour autoriser l'insertion de triglycérides de longueurs de chaîne différentes.

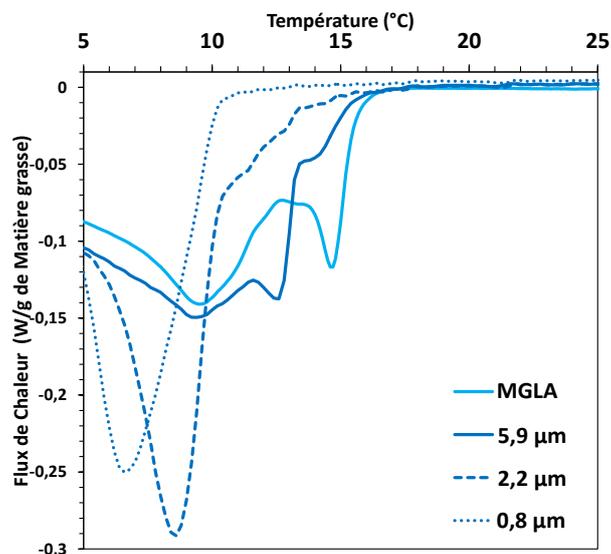


Figure 143 : Profil de cristallisation de la MGLA, en phase continue ou en émulsion de trois diamètres moyens différents correspondant aux trois niveaux d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, endo up

Dans la littérature, l'effet de la taille des gouttes sur les formes cristallines formées dans des crèmes reconstituées de faible diamètre ($< 1,25 \mu\text{m}$) a été étudié pour un refroidissement plus lent ($-1 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$) [3]. Dans ces conditions, la cristallisation se fait sous la forme α . La diminution de la taille des gouttes favoriserait le désordre dans la structure cristalline en raison de la courbure des interfaces à partir desquelles les cristaux sont supposés croître [3]. Le désordre s'expliquerait aussi par la perte de sélectivité des triglycérides lors de la croissance des cristaux, due à la diminution de la température. Les cristaux mettant en jeu des triglycérides variés seraient moins bien organisés.

1.2.3. Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé : refroidissement par trempe à $5 \text{ }^\circ\text{C}$

Les émulsions, initialement conservées à $60 \text{ }^\circ\text{C}$, sont refroidies par trempe dans l'appareil de RMN, thermostaté à $5 \text{ }^\circ\text{C}$. L'évolution du taux de solide est présentée sur la Figure 144A. Il importe de rappeler que, dans le cas présent, le taux de solide est exprimé par rapport à la quantité totale de matière dans l'émulsion (et non seulement par rapport à la quantité de matière grasse totale). Pour les trois types d'émulsion, le taux de solide, initialement nul, augmente rapidement avant d'atteindre une valeur asymptotique. Le taux de solide final augmente avec le diamètre moyen de l'émulsion.

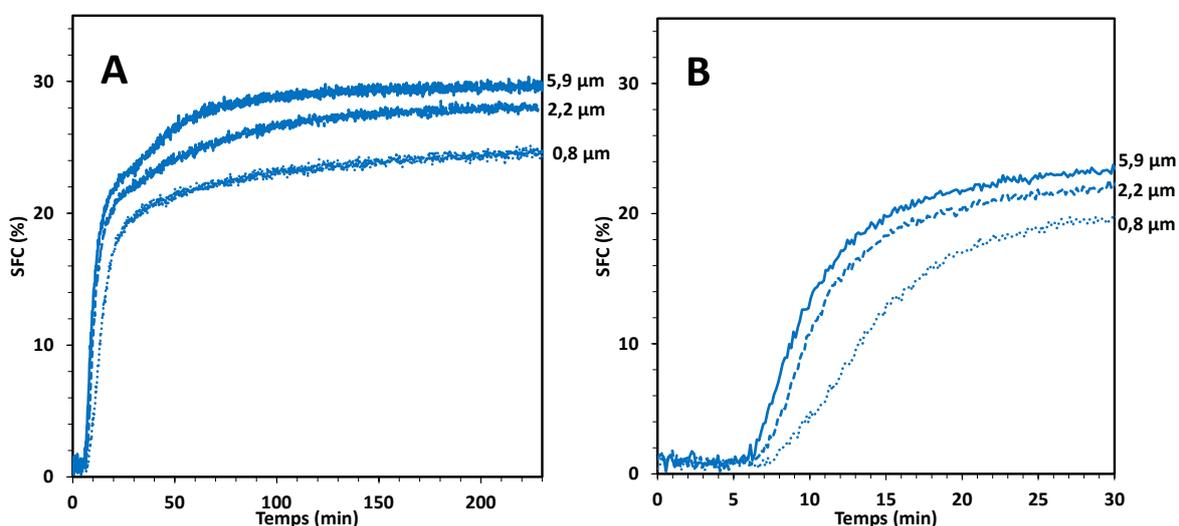


Figure 144 : Évolution du taux de solide des émulsions de MGLA pour trois diamètres moyens différents correspondant aux trois niveaux d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars. A. cinétique globale. B. focus sur le début de la cinétique

Pour les émulsions de diamètre moyen $5,9 \mu\text{m}$ et $2,2 \mu\text{m}$, l'évolution s'effectue en deux étapes, contrairement à celle de l'émulsion submicronique ne comportant qu'une seule étape. Après 230 minutes, le taux de solide asymptotique de l'émulsion la plus fine n'est toujours pas atteint. La vitesse de la 2^e étape est plus rapide pour les grosses gouttes

(5,9 μm) que pour les moyennes (2,2 μm). Cela se vérifie quantitativement en ajustant le modèle cinétique de Gompertz modifié en deux étapes, utilisé pour la MGLA en phase continue à 5 °C et appliqué à ces systèmes émulsionnés (Eq. 60). Les résultats de la modélisation sont présentés dans le tableau 39. La vitesse de la seconde étape de cristallisation μ_2 augmente significativement avec le diamètre des gouttes.

$$SFC(t) = a_1 \times \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_1 \cdot e}{a_1} (\lambda_1 - t) + 1 \right] \right\} + a_2 \times \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_2 \cdot e}{a_2} (\lambda_2 - t) + 1 \right] \right\} \quad (\text{Eq. 60})$$

Tableau 39 : Paramètres cinétiques de Gompertz (modèle double) de la MGLA en émulsion (trois diamètres moyens différents), cristallisée par trempé à 5 °C : hauteur du palier (a) vitesse maximale (μ) et temps d'induction (λ). Les indices 1 et 2 renvoient respectivement au premier et au second palier

D[4,3] (μm)	a_1 (%)	μ_1 (min^{-1})	λ_1 (min)	a_2 (%)	μ_2 (min^{-1})	λ_2 (min)	r^2 ajusté
5,9	18,4	3,1	6,2	10,8	0,179	1,6 (n.s.) ¹	0,999
2,2	19,0	2,8	6,8	8,7	0,101	0,1 (n.s.) ¹	0,999
0,8	18,4	1,7	7,8	6,3	0,054	0,1 (n.s.) ¹	0,999

(n.s.)¹ : facteur non significatif

La Figure 144B montre l'évolution du taux de solide pendant les 30 premières minutes. Cette représentation met en évidence la première étape de cristallisation. Qualitativement, on observe une augmentation légère du temps d'induction et une diminution de la vitesse de cristallisation lorsque la taille des gouttes diminue. Ces tendances sont confirmées par la modélisation (Tableau 39). La Figure 145 représente l'évolution du taux de solide en fonction de la température réelle de l'émulsion au cours de la cristallisation dans l'appareil de RMN. La température de début de cristallisation diminue avec la taille des gouttes : plus les gouttes sont fines, plus le degré de surfusion est important.

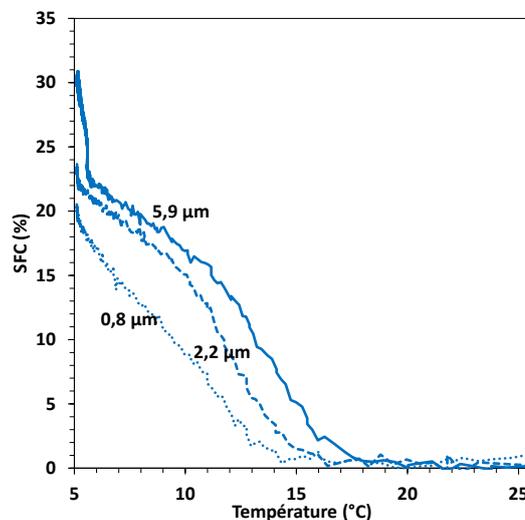


Figure 145 : Évolution du taux de solide en fonction de la température des émulsions de MGLA pour trois diamètres moyens différents correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

Ainsi, les résultats issus des approches fondées sur la DSC et la RMN sont à la fois concordants et complémentaires. Lors d'une rampe de refroidissement contrôlée, la DSC révèle la diminution de la température de cristallisation et suggère la formation de cristaux mixtes. Lors d'une trempe, la RMN permet d'observer le retard à la cristallisation et la diminution de sa vitesse. L'étape de nucléation doit être franchie dans chaque goutte pour permettre sa cristallisation complète et augmenter le taux de solide global de l'émulsion. Quelle que soit la vitesse de refroidissement, la nucléation est inhibée quand la taille des gouttes diminue. Ce résultat peut s'expliquer en supposant que la nucléation en mode hétérogène est dominante. Dans ce cas, disperser les impuretés dans des gouttes de plus en plus fines tend à confiner les événements de cristallisation dans une fraction de volume de plus en plus faible et donc à diminuer la vitesse de cristallisation globale à une température donnée.

Nous avons montré que, pour la MGLA en phase continue, les deux étapes de la cristallisation en émulsion correspondent à la formation de cristaux α en premier lieu, puis à la transition de phase vers une forme β' (chapitre 3 § 5.1.2). En supposant le même scénario à l'état dispersé, cette transition est d'autant plus lente que les gouttes sont fines. En effet, la transition se produit dans l'émulsion à 2,2 μm (deuxième étape), mais moins rapidement que dans celle à 5,9 μm . L'émulsion submicronique cristallise en une étape, donc vraisemblablement sous forme α , sans transition de phase vers la forme β' à l'échelle de temps étudiée. La transition de phases met en jeu non seulement des réarrangements internes au sein des cristaux, mais aussi des transferts entre les cristaux par diffusion moléculaire à travers la phase grasse liquide. Les triglycérides intègrent progressivement les cristaux présentant la meilleure compatibilité avec leur structure moléculaire (effet de sélectivité). Dans les gouttes d'émulsion, les réarrangements et échanges seraient retardés, voire empêchés par le confinement, la diffusion des triglycérides à travers la phase aqueuse étant impossible. Aussi, la courbure prononcée des interfaces peut potentiellement bloquer les réarrangements en imposant une contrainte géométrique.

1.2.4. Fusion de la MGLA émulsionnée après un palier isotherme à 5 °C pendant 90 min ou 48 h

À la suite de la cristallisation en rampe, les échantillons sont soumis à une période isotherme courte (90 min) à 5 °C, puis leur profil thermique de fusion à +5 °C/min est mesuré. Le profil

de fusion en DSC a lui aussi été mesuré, après une cristallisation en trempe et un palier isotherme de 48 h à 5 °C. Sur la Figure 146, les thermogrammes obtenus par DSC pour ces deux durées de stockage à froid sont superposés, pour chaque type d'émulsion. Quelle que soit la taille moyenne des gouttes, l'intensité globale du flux thermique mesurée entre 5 et 15 °C est plus faible après 48 h de cristallisation qu'après 90 minutes. Un pic endothermique intense autour de 21 °C est présent après 48 heures alors qu'il n'est pas observé après 90 min. Cela peut traduire une évolution des cristaux d'une forme peu stable (fusion entre 5 °C et 15 °C) aux temps courts, vers des formes plus stables (autour de 21 °C) lorsque la période isotherme devient plus longue. L'équilibre de cristallisation n'est donc pas atteint après 90 minutes. Il est possible que la fraction à moyen point de fusion de la MGLA subisse une transition polymorphique entre 90 minutes et 48 h de cristallisation.

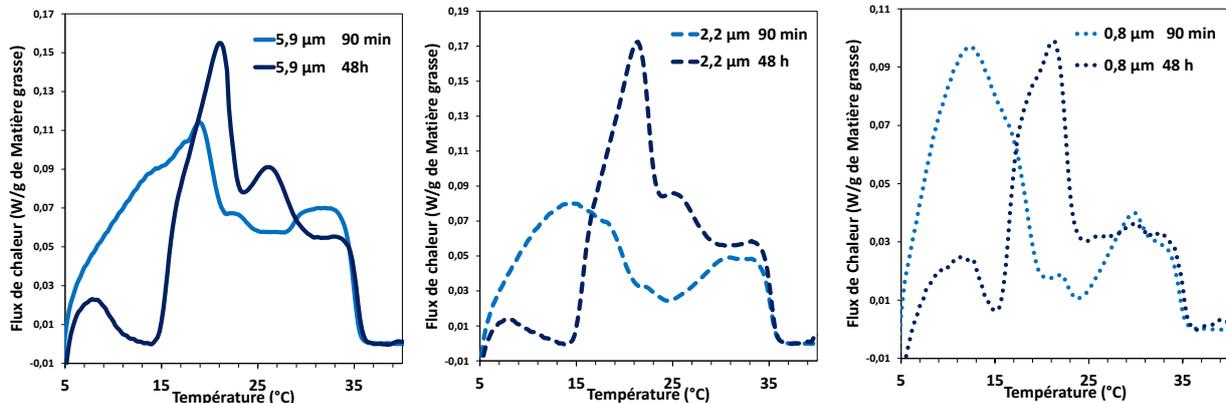


Figure 146 : Thermogrammes de fusion après 90 min ou 48 h à 5 °C pour des émulsions de MGLA de trois diamètres moyens différents correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, endo up

Sur la base d'études structurales en diffraction des rayons X de la littérature, réalisées sur des émulsions fines de MGLA, il est possible d'avancer les hypothèses suivantes :

- le pic endothermique de fusion entre 5 °C et 15 °C correspondrait à des formes cristallines 3L- α [1];
- le pic entre 15 et 25 °C correspondrait à la fusion de formes 3L et 2L α et β' [4] ;
- la plage de fusion au-delà de 25 °C correspondrait à des cristaux sous forme 2L- β' [1].

L'effet de la taille des gouttes est étudié pour chacun des deux temps de cristallisation. Après 90 min à 5 °C (Figure 147), le profil de fusion est clairement impacté par l'état de dispersion. Le pic endothermique autour de 19 °C, visible pour l'émulsion à 5,9 μm de diamètre moyen, n'est quasiment plus perceptible pour l'émulsion à 2,2 μm et disparaît totalement pour l'émulsion submicronique. Cette évolution suggère que la transition de phase d'une fraction de MGLA, discutée précédemment, est davantage favorisée dans les

grosses gouttes que dans les petites et qu'elle se produit, au moins partiellement, durant les 90 minutes précédant l'analyse DSC. Cette hypothèse est cohérente avec les résultats de cristallisation obtenus par RMN : la transition de phase de la forme α vers la forme β' est plus rapide dans les grosses gouttes. La baisse significative du flux thermique observée entre 18 °C et 23 °C pour les émulsions de faible et moyen diamètres pourrait être due à un évènement exothermique, tel que la recristallisation d'une fraction de triglycérides vers une forme plus stable.

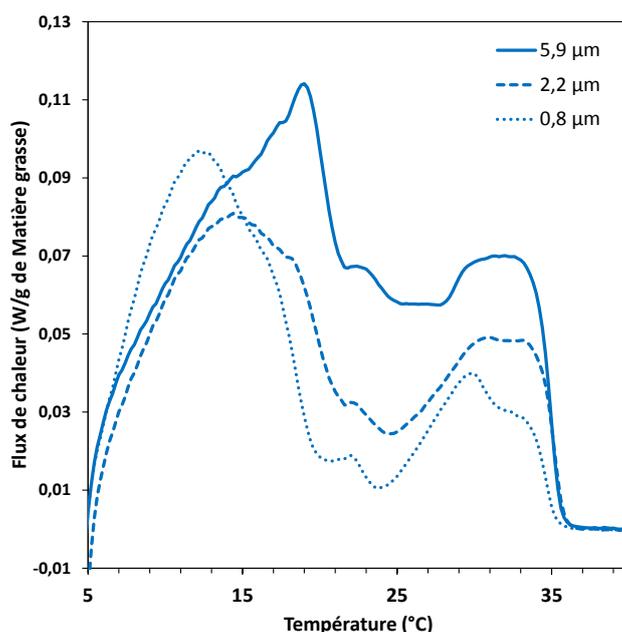


Figure 147 : Profil de fusion à +5 °C/min suite à un refroidissement à -5 °C/min et une période isotherme à 5 °C pendant 90 minutes, pour les émulsions de MGLA de trois diamètres moyens différents correspondant, aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, endo up

Les profils de fusion des émulsions de différentes tailles stockées pendant 48 h à 5 °C sont superposés sur la Figure 148. Chacun des thermogrammes comporte trois domaines :

- un premier pic endothermique aux températures inférieures à 15 °C, correspondant aux formes les plus instables. Ce pic semble plus intense pour les gouttes submicroniques, mais les évènements thermiques dans cette zone sont peu reproductibles en raison des conditions opératoires. En effet, les émulsions sont stockées à 5 °C en chambre froide pendant 48 h. Bien que les capsules de DSC soient pesées et scellées en chambre froide, leur transfert dans le four de l'appareil de DSC thermostaté à 5 °C peut induire une fusion partielle (et non contrôlée) des fractions à bas point de fusion.

- un second pic endothermique intense entre 15 et 25 °C, présent dans les trois émulsions ;
- un troisième pic endothermique autour de 26 °C qui n'est visible que sur les thermogrammes des émulsions de diamètre moyen 5,9 μm et 2,2 μm . La courbure et le confinement imposés par les gouttes de taille submicronique pourraient inhiber la transition polymorphique conduisant à la formation des cristaux correspondant à cette plage de fusion.

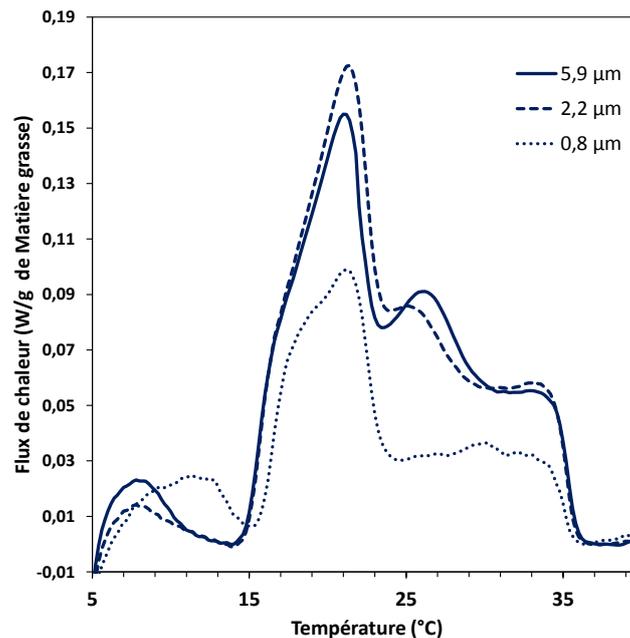


Figure 148 : Profils de fusion à +5 °C/min des émulsions de MGLA de différents diamètres moyens correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, après stockage 48 h à 5 °C, endo up

En conclusion, les différentes approches méthodologiques (conditions de cristallisation et les différentes méthodes d'analyse) mises en œuvre pour étudier l'effet de la taille des gouttes sur la cristallisation de la MGLA en émulsion révèlent des tendances qualitativement concordantes :

- la cristallisation est modulée par l'état de dispersion (ou de confinement) de la matière grasse. Plus les gouttes sont fines, plus le domaine de surfusion est important ;
- la diminution de la taille des gouttes limiterait l'impact de la nucléation hétérogène. La cristallisation se produit donc plus tardivement (*i.e.* temps d'induction plus long lors de la trempe) et à plus basse température (que ce soit lors de la trempe ou en rampe de refroidissement linéaire). La cristallisation débute alors à une température

où la diversité des triglycérides susceptibles de cristalliser est importante, ce qui favoriserait la formation de cristaux mixtes ;

- la courbure des gouttes et l'état de confinement de la matière grasse retarderaient les transitions de phase vers des formes plus stables.

1.3. Influence de l'acide oléique sur la cristallisation de la matière grasse en milieu dispersé

L'effet de l'acide oléique sur la cristallisation a été étudié sur trois émulsions de diamètres différents, dopées à 1 % de modulateur par rapport à la masse totale, correspondant à un taux de substitution de la phase grasse de 2,5 %.

1.3.1. Caractérisation des émulsions en présence d'acide oléique

L'émulsion contenant l'acide oléique et l'émulsion témoin constituée de MGLA seule ont été caractérisées par granulométrie et microscopie optique. Les distributions granulométriques obtenues pour les trois pressions d'homogénéisation sont présentées sur la Figure 149. Les clichés de microscopie représentatifs de ces émulsions sont présentés sur la Figure 150. Les diamètres moyens en volume et en surface ainsi que la polydispersité sont reportés dans le Tableau 40. Quel que soit le niveau d'homogénéisation considéré, la présence d'acide oléique conduit à un diamètre moyen des gouttes de l'émulsion légèrement inférieur à celui l'émulsion témoin.

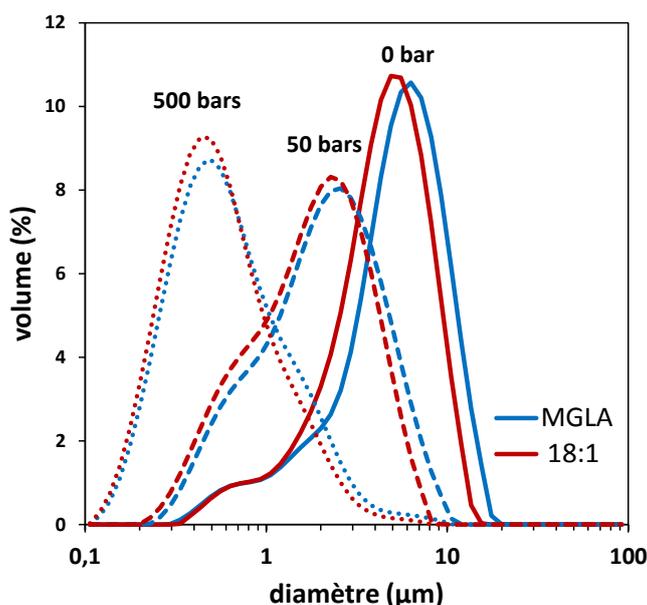


Figure 149 : Distribution de taille des gouttes des émulsions de MGLA avec et sans acide oléique (18:1) obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

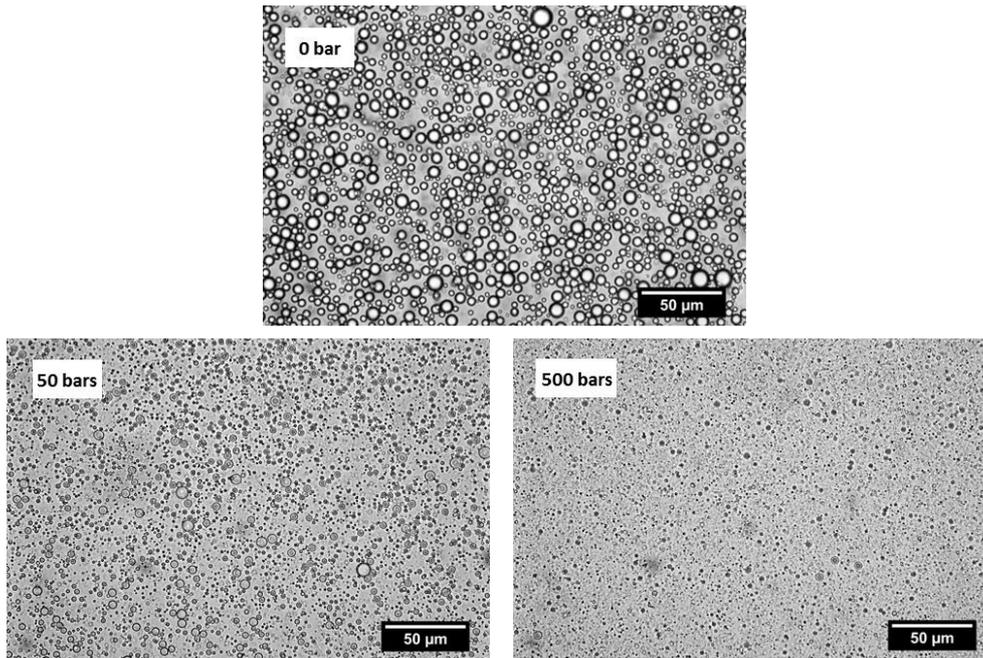


Figure 150 : Observations en microscopie optique des émulsions de MGLA et acide oléique (1 %) obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

Tableau 40 : Diamètres moyens en volume ($D[4,3]$) et en surface ($D[3,2]$) et polydispersités des émulsions de MGLA avec et sans acide oléique (18:1) (1 %) obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation

Modulateur	Pression d'homogénéisation (bars)	$D [4,3]$ (μm)	$D [3;2]$ (μm)	Polydispersité (%)
MGLA seule	0	5,8	3,3	49
MGLA seule	50	2,5	1,4	64
MGLA seule	500	0,84	0,49	84
MGLA + 18:1	0	4,8	3,0	47
MGLA + 18:1	50	2,2	1,3	61
MGLA + 18:1	500	0,72	0,44	75

Pour comprendre l'origine de la légère diminution du diamètre des gouttes en présence d'acide oléique, la tension interfaciale a été mesurée par la méthode de la goutte montante. Une goutte d'huile est formée à l'extrémité d'un capillaire dans de l'eau à 25 °C, l'huile contenant (ou non) 1 % du modulateur, l'eau contenant 0,33 % de caséinate de sodium. Pour faciliter la mesure, une fraction à bas point de fusion de la MGLA est adoptée, *i.e.* une oléine dont la température limite supérieure de fusion est à 5 °C. En choisissant une fraction liquide de la MGLA à la température de l'étude, on se prémunit des artéfacts éventuels liés à la présence des cristaux. La concentration de protéines en phase aqueuse est réduite d'un facteur 10 par rapport à la concentration dans les émulsions étudiées et la concentration en modulateur est divisée par 2,5. Dans ces conditions, la tension interfaciale reste suffisamment élevée pour éviter le décrochement de la goutte. La Figure 151 montre l'évolution comparative de la tension de surface pour les systèmes avec et sans acide oléique. Pendant les 60 minutes de l'étude, la tension de surface de ces deux systèmes

diminue car les caséinates s'adsorbent progressivement à l'interface. Le système comprenant de l'acide oléique conduit à des tensions de surface initiale et finale inférieures au système témoin. L'acide oléique, de par sa nature amphiphile, avec un acide carboxylique pour tête polaire et une longue chaîne aliphatique apolaire, est présent à l'interface. La baisse de tension interfaciale pourrait expliquer la légère diminution du diamètre des gouttes d'émulsion en présence d'acide oléique.

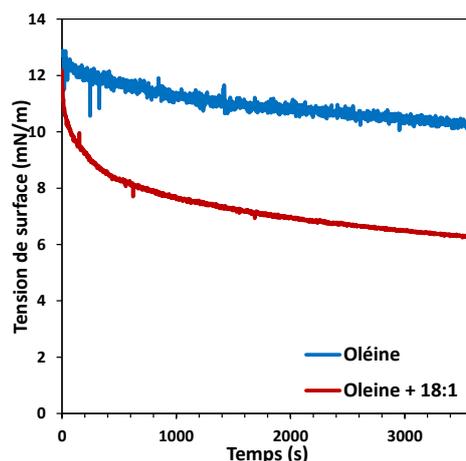


Figure 151 : Évolution de la tension de surface à 25 °C d'une goutte d'oléine dans une solution de caséinate de sodium à 0,33 %, avec et sans acide oléique (18:1) à 1 % de la phase dispersée

De plus, la solubilité de l'acide oléique dans l'eau est très faible ($< 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1} = 2,8 \times 10^{-3} \%$ massique) [5]). Ceci est confirmé par le pH de l'émulsion en présence de ce modulateur (=6,46) qui reste très proche de celui de l'émulsion de MGLA seule (= 6,67). L'aire moléculaire de l'acide oléique est de $28,5 \text{ \AA}^2$ [6], soit une concentration maximale surfacique $\Gamma = 1,65 \text{ mg/m}^2$. En supposant que seul l'acide oléique est présent aux interfaces, alors selon l'équation 61, le pourcentage adsorbé serait de 14%, 34% et 97% pour les émulsions de diamètre moyen égal à $4,8 \text{ }\mu\text{m}$, $2,2 \text{ }\mu\text{m}$ et $0,7 \text{ }\mu\text{m}$, respectivement. Bien que ce calcul surestime la proportion d'acide oléique adsorbé (le caseinate de sodium étant également adsorbé) il révèle tout de même un appauvrissement du modulateur dans le volume des gouttes, au profit des interfaces, quand le diamètre moyen des gouttes diminue. Tous ces éléments suggèrent que l'acide oléique est principalement localisé à l'interface eau/huile et dans les gouttes de matière grasse.

1.3.2. Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide oléique : rampe de refroidissement linéaire à $-5 \text{ }^\circ\text{C/min}$

La Figure 152 montre l'évolution du flux de chaleur mesuré par DSC en conditions de cristallisation dynamique, lors d'un refroidissement contrôlé à $-5 \text{ }^\circ\text{C/min}$. Pour les trois tailles

de gouttes étudiées, les pics exothermiques de cristallisation sont décalés vers des températures plus basses en présence d'acide oléique. Ce modulateur inhibe clairement la cristallisation. Pour l'émulsion non homogénéisée (5,8 μm), la température de début de cristallisation est peu modifiée et se situe autour de 16 °C. Le second pic de cristallisation, centré autour de 12,5 °C pour l'émulsion de MGLA seule, disparaît en présence d'acide oléique. La fraction de TAG impliquée dans ce pic cristalliserait à plus basse température, en même temps qu'une fraction à plus bas point de fusion, éventuellement en formant des cristaux mixtes, ce qui conduit à un important pic exothermique à 9 °C. Pour les deux émulsions homogénéisées (2,5 μm et 0,8 μm), l'acide oléique décale l'unique pic de cristallisation vers les températures plus basses : -1,2 °C de décalage pour l'émulsion intermédiaire, et -1,8 °C pour l'émulsion la plus fine.

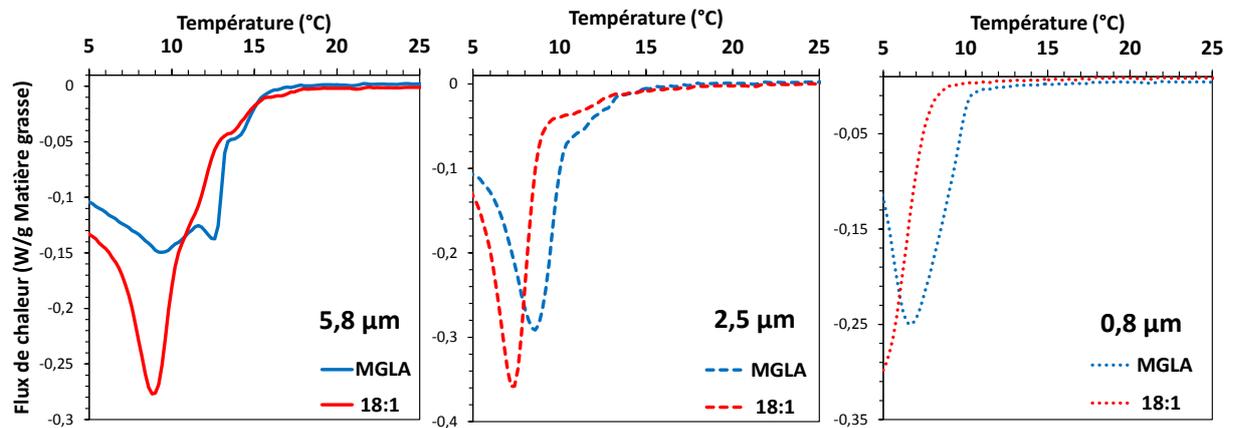


Figure 152 : Profil de cristallisation des émulsions de MGLA avec ou sans acide oléique (18:1) à 1 %, pour trois diamètres moyens différents, correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, obtenus lors d'un refroidissement à -5 °C/min, endo up

Ainsi, la surfusion induite par l'acide oléique augmente quand la taille des gouttes diminue. Cette corrélation entre l'action du modulateur et la taille moyenne des gouttes pourrait s'expliquer par l'un des mécanismes suivants :

- l'acide oléique agit par l'interface pour ralentir la cristallisation. Or, la quantité d'interface est d'autant plus élevée que le diamètre moyen diminue. Le ratio de concentration interface/volume augmentant, l'effet inhibiteur de l'acide oléique est d'autant plus marqué ;
- l'acide oléique agit par le cœur de la goutte. Comme en phase continue, il prévient l'apparition des premiers nuclei. La nucléation étant l'étape déterminante de la cristallisation, son effet inhibiteur est amplifié quand la taille des gouttes diminue.

1.3.3. Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide oléique : refroidissement par trempe à 5 °C

La cristallisation par trempe des émulsions comprenant 1 % d'acide oléique et des émulsions témoins de MGLA seule suivie par RMN est présentée sur la Figure 153. La Figure 154 est un focus sur les 30 premières minutes de la cinétique. En présence d'acide oléique, le taux de solide final augmente pour l'émulsion de plus gros diamètre, diminue pour l'émulsion de diamètre intermédiaire et reste identique pour l'émulsion la plus fine. La Figure 154 montre que le temps d'induction n'est pas modifié pour l'émulsion à 5,8 μm , alors qu'il est légèrement augmenté pour les deux autres émulsions. Les résultats obtenus pour l'acide oléique dans l'émulsion de plus gros diamètre peuvent paraître surprenants, dans la mesure où cet acide ralentit la cristallisation en phase continue. Nous verrons au paragraphe 1.7.2. que l'augmentation du taux de solide final peut s'expliquer par un effet de crémage.

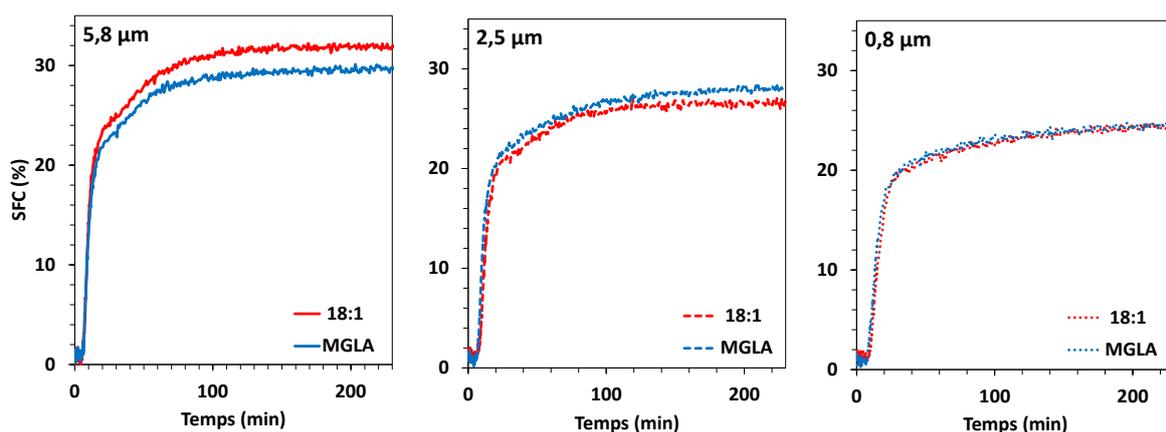


Figure 153 : Évolution du taux de solide des émulsions de MGLA avec et sans acide oléique (18:1) à 1 %, pour trois diamètres moyens différents correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

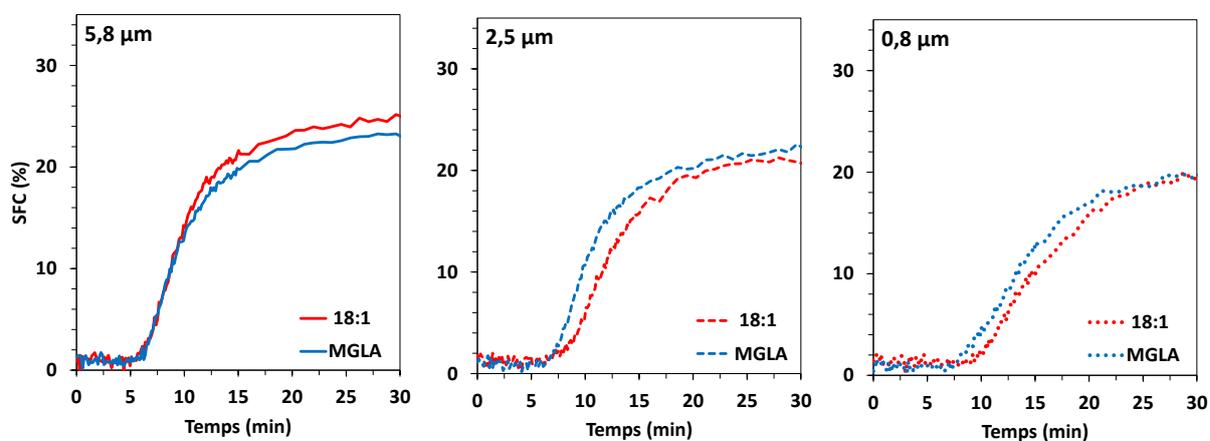


Figure 154 : Évolution du taux de solide des émulsions de MGLA avec et sans acide oléique (18:1) à 1 %, pour trois diamètres moyens différents, correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars. Focus sur les 30 premières minutes de cristallisation

La Figure 155 représente l'évolution du taux de solide en fonction de la température dans les tubes de RMN. Pour les émulsions à 5,8 μm de diamètre moyen, l'acide oléique diminue la température de début de cristallisation. Cet effet est plus marqué dans l'émulsion à 2,5 μm . En augmentant la quantité d'interface, l'effet inhibiteur de l'acide oléique serait renforcé. Pour l'émulsion la plus fine, la cristallisation démarre également à plus basse température. L'effet de l'acide oléique sur la surfusion est donc moins visible avec cette méthode que lors de la rampe de refroidissement contrôlée étudiée en DSC.

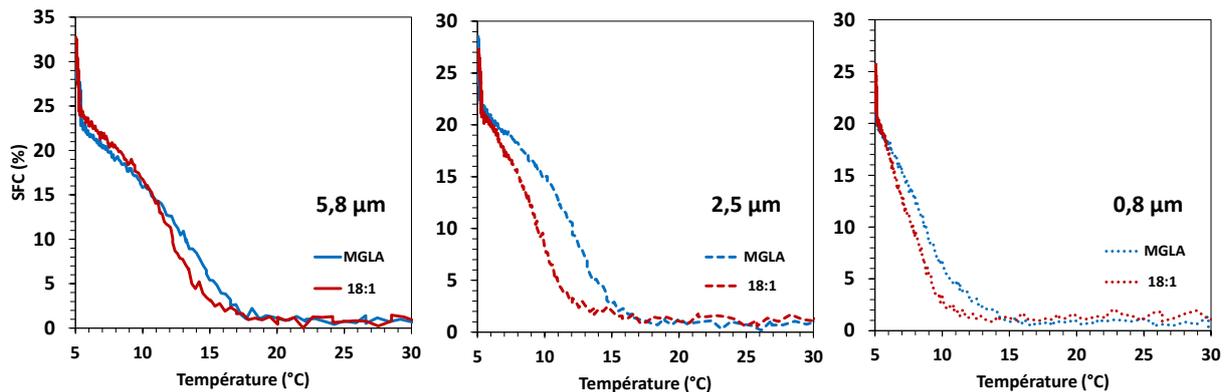


Figure 155 : Évolution du taux de solide en fonction de la température des émulsions de MGLA avec ou sans acide oléique (18:1) à 1 % pour trois diamètres moyens différents correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

1.3.4. Fusion de la MGLA en milieu dispersée en présence d'acide oléique, après un palier isotherme à 5 °C pendant 90 min ou 48 h

La distribution granulométrique après cristallisation pendant 48 heures à 5 °C des émulsions contenant de l'acide oléique est parfaitement superposable à la granulométrie obtenue à 60 °C juste après la fabrication. Les émulsions ne sont donc pas endommagées pendant le stockage.

La Figure 156 correspond aux émulsions soumises à un palier isotherme de 90 minutes à 5 °C, puis à une rampe ascendante à +5 °C/min. Les thermogrammes de fusion obtenus avec et sans acide oléique pour les trois tailles de gouttes sont assez similaires. Néanmoins, pour l'émulsion à 5,8 μm de diamètre moyen, le premier pic endothermique, entre 5 °C et 18 °C est centré sur une température plus basse (15,4 °C contre 16,6 °C pour la MGLA seule). Cela pourrait s'expliquer par des cristaux plus instables formés lors de la cristallisation en présence d'acide oléique. Pour l'émulsion de diamètre moyen à 2,5 μm , le pic endothermique de l'émulsion témoin, centré autour de 19,2 °C, disparaît en présence d'acide oléique. Il pourrait correspondre à une fraction qui n'a pas cristallisé ou à l'inhibition

d'une transition polymorphique. Le profil de fusion de l'émulsion la plus fine n'est pas modifié par l'ajout d'acide oléique.

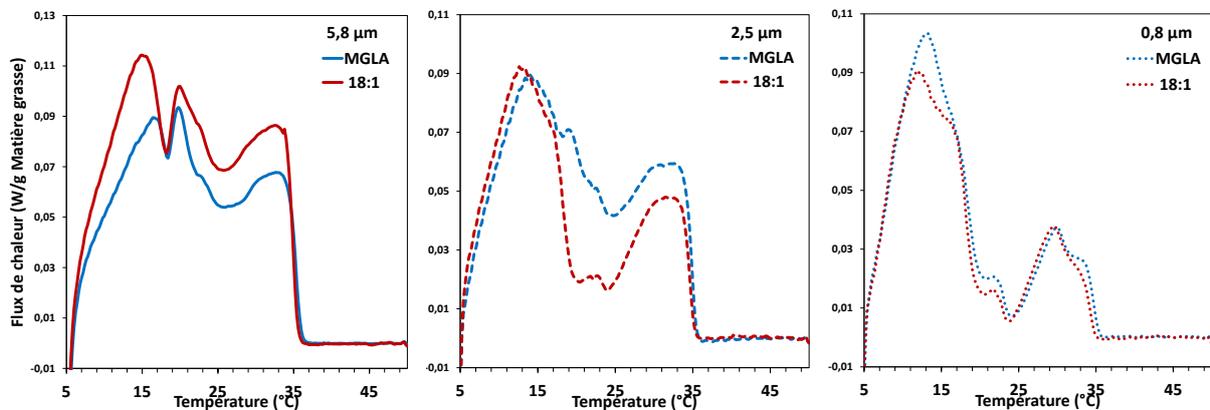


Figure 156 : Profil de fusion des émulsions de MGLA seule ou avec 1 % d'acide oléique (18 :1) pour des diamètres moyens de gouttes variables, correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, obtenus lors d'un chauffage à +5 °C/min après un stockage de 90 min à 5 °C, endo up

Le profil de fusion étudié par DSC pour les trois émulsions maintenues à 5 °C pendant 48h est présenté sur la Figure 157. Les pics endothermiques obtenus pour les émulsions avec et sans acide oléique sont assez proches. Les événements thermiques observés pour des températures comprises entre 5 °C et 15 °C ne sont pas très répétables pour les raisons expérimentales indiquées précédemment.

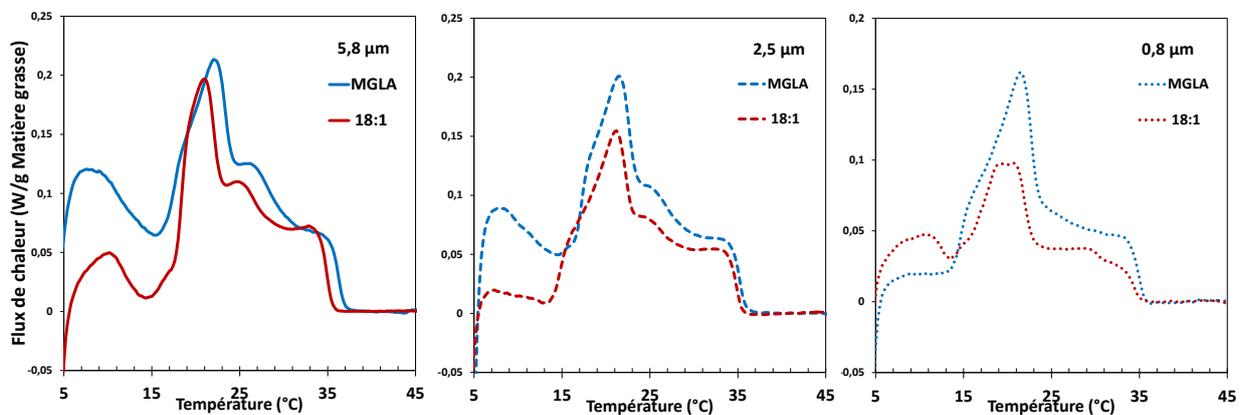


Figure 157 : Profils de fusion des émulsions de MGLA de différents diamètres moyens, correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, avec et sans acide oléique (18:1), obtenus lors d'un chauffage à +5 °C/min après un stockage de 48 h à 5 °C, endo up

On retiendra de l'acide oléique son aptitude à augmenter la surfusion lors d'un refroidissement rapide des émulsions. Cependant, les différences dans l'état de cristallisation par rapport à la MGLA seule émulsionnée s'estompent au cours du stockage.

1.4. Influence de l'acide propionique sur la cristallisation de la MGLA en milieu dispersé

L'acide propionique a été choisi comme représentant des acides gras libres à chaîne courte qui retardent la cristallisation de la MGLA. Son effet en émulsion est étudié à 0,2 %, ce qui représente un taux de substitution de la matière grasse de 0,5 %.

1.4.1. Adaptation du protocole de mise en œuvre des émulsions

L'acide propionique est préalablement mélangé à la MGLA fondue et la phase aqueuse contient le caseinate de sodium. Ces deux phases sont chauffées séparément à 60 °C. Lors du mélange des deux phases pour préparer l'émulsion, l'acide propionique provoque la précipitation rapide des protéines (Figure 158) et empêche l'émulsification. Les acides gras à chaîne courte ont une solubilité élevée dans l'eau ($> 3 \text{ mol/L}$ [7]) en raison de leur forte polarité. Leur solubilisation dans l'eau entraîne une diminution du pH qui atteint le point isoélectrique des caséinates et provoque leur précipitation. Ce phénomène est aussi observé pour d'autres acides gras libres à chaîne courte : acide butyrique (4:0) acide hexanoïque (6:0) et acide octanoïque (8:0).



Figure 158 : Précipitation du caséinate de sodium lors de l'émulsification de la MGLA en présence d'acide propionique

Pour étudier l'impact de l'acide propionique sur la cristallisation de la MGLA, le pH est donc ajusté par ajout préalable de soude dans la phase continue. La soude doit être ajoutée à une concentration suffisante pour prévenir la précipitation des protéines. Mais en fort excès, elle provoquerait la saponification de la matière grasse en émulsion. Pour déterminer la quantité optimale de soude à ajouter, le dosage d'une solution aqueuse d'acide propionique à 0,5 % (67,5 mmol/L) sans protéines a été réalisé, par ajout progressif d'une solution de soude à

0,25 mol/L (Figure 159). L'allure de la courbe de pH est caractéristique du dosage d'un monoacide faible par une base forte. Pour éviter un début de précipitation des protéines, le pH ne doit pas être inférieur à 5,4, ce qui correspond à un rapport de concentrations de base/acide de 0,8. La concentration en soude à mettre en œuvre doit donc être comprise entre 0,8 et 1 fois la concentration en acide propionique. Si l'on fait l'hypothèse la plus défavorable selon laquelle tout l'acide propionique introduit dans la phase grasse de l'émulsion se solubilise dans la phase continue, alors la concentration de la phase aqueuse est de 45 mmol/L d'acide propionique. La concentration de soude de la phase aqueuse est donc fixée à 41,5 mmol/L, égale à 0,92 fois la concentration d'acide propionique, supérieure au ratio de 0,8 pour lequel l'émulsion précipite et inférieure à 1 à partir de laquelle la soude est en excès. Le pH de la phase aqueuse de l'émulsion ainsi formulée est de 6,28, alors que le pH de l'émulsion de MGLA seule est de 6,79. Dans l'émulsion préparée avec la même concentration de soude, mais sans acide propionique, le pH atteint 11,10.

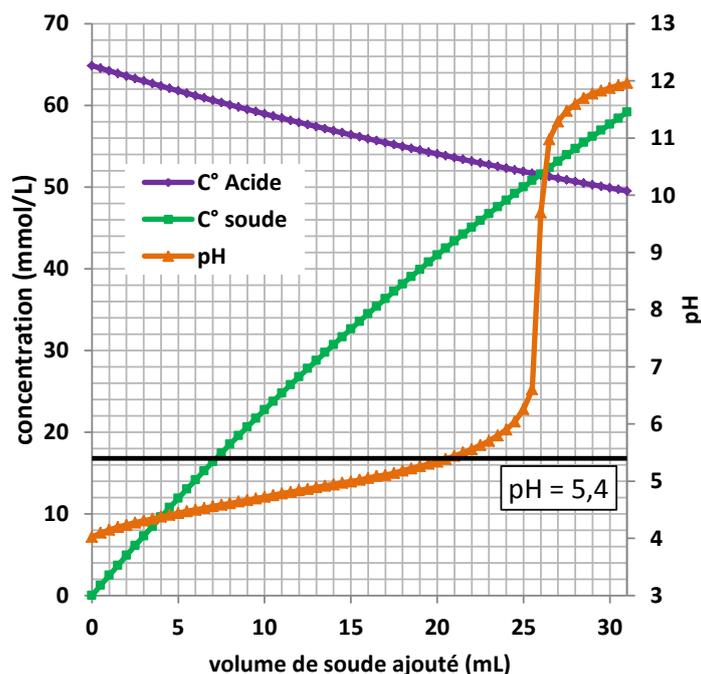


Figure 159 : Titrage d'une solution d'acide propionique à 0,5 % par une solution de soude à 0,25 M

1.4.2. Caractérisation des émulsions en présence d'acide propionique

Les caractéristiques des émulsions contenant l'acide propionique sont présentées sur la Figure 160 et dans le Tableau 41. La Figure 161 présente des clichés de microscopie optique. La distribution granulométrique et les diamètres moyens sont peu impactés par l'ajout d'acide propionique. La chaîne hydrophobe est trop courte pour que cette molécule ait des propriétés tensioactives.

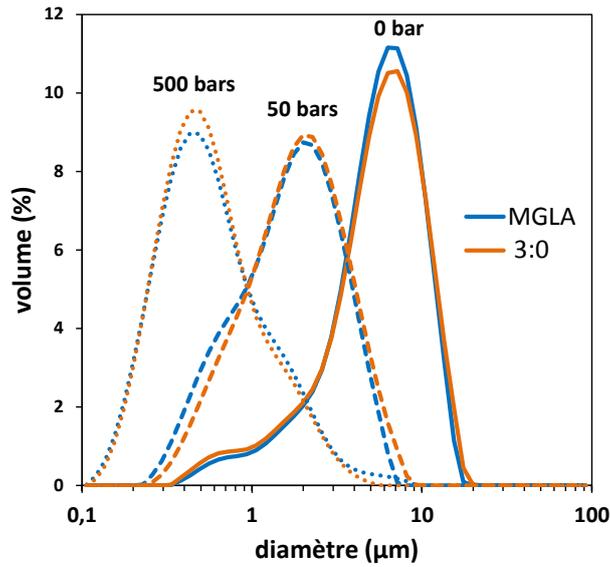


Figure 160 : Distribution de taille des gouttes des émulsions de MGLA avec et sans acide propionique (3:0) à 0,2 % obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

Tableau 41 : Diamètres moyens en volume (D[4,3]) et en surface (D[3,2]) et polydispersités des émulsions de MGLA avec et sans acide propionique (3:0) à 0,2% obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation

Modulateur	Pression d'homogénéisation (bars)	D [4,3] (µm)	D [3,2] (µm)	Polydispersité (%)
MGLA seule	0	6,2	3,8	45
MGLA seule	50	2,0	1,3	57
MGLA seule	500	0,80	0,46	85
MGLA + 3:0	0	6,23	3,6	48
MGLA + 3:0	50	2,2	1,4	57
MGLA + 3:0	500	0,73	0,46	73

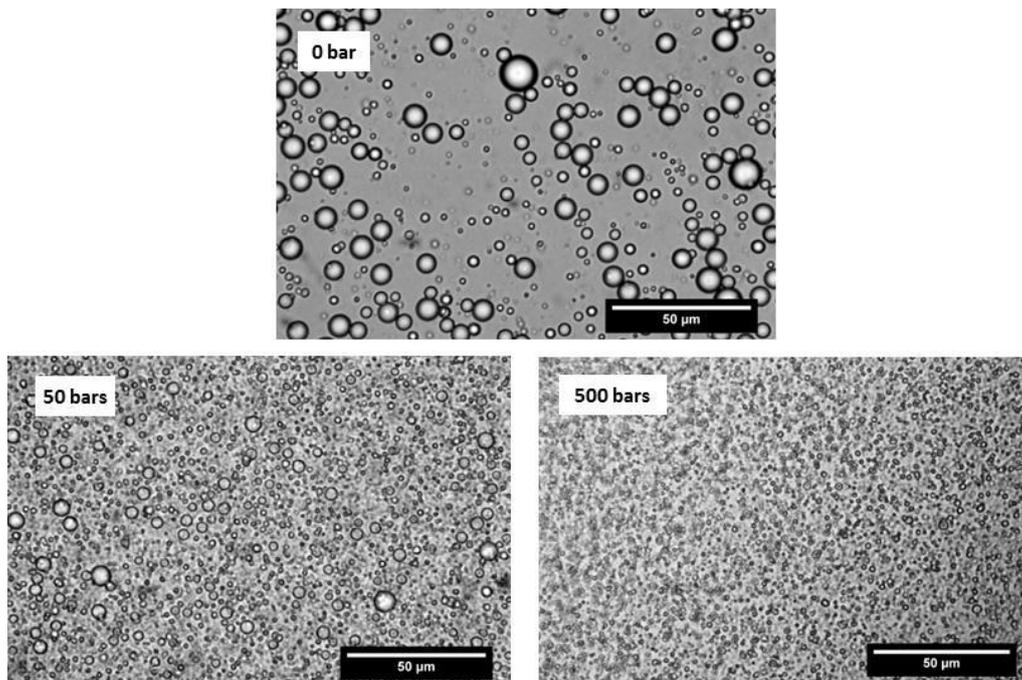


Figure 161 : Observations en microscopie optique des émulsions de MGLA avec acide propionique (0,2 %) obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

1.4.3. Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide propionique : rampe de refroidissement linéaire à -5 °C/min

Lors de la cristallisation dynamique en rampe de -5 °C/min, les profils thermiques obtenus pour les émulsions avec et sans acide propionique sont similaires (Figure 162). Les mêmes pics exothermiques, centrés sur les mêmes températures sont formés dans les systèmes avec et sans modulateur.

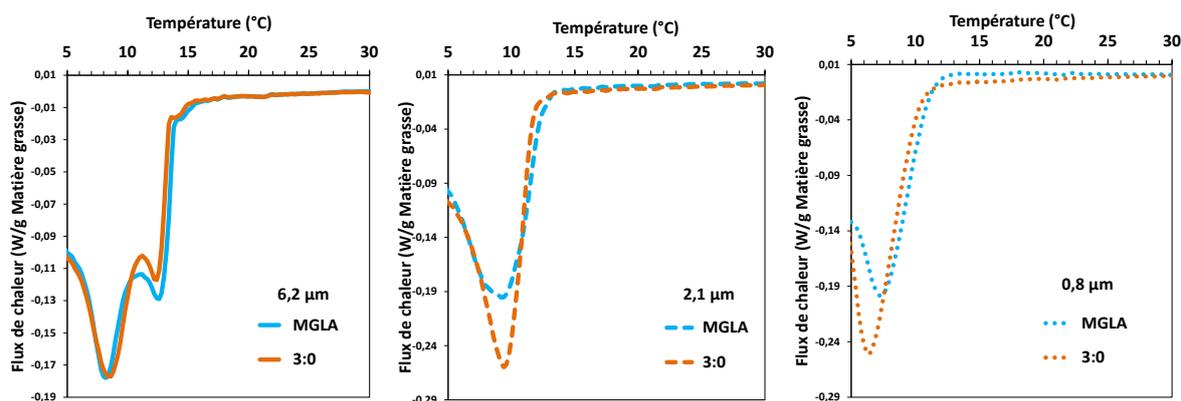


Figure 162 : Profil de cristallisation des émulsions de MGLA seule ou avec 0,2 % d'acide propionique (3:0) pour des diamètres moyens de gouttes variables, correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, obtenus lors d'un refroidissement à -5 °C/min, endo up

1.4.4. Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide propionique : refroidissement par trempe à 5 °C

L'acide propionique n'impacte pas la cinétique de cristallisation par trempe à 5 °C évalué par RMN pour les trois tailles de gouttes étudiées (Figure 163). Il modifie uniquement le taux de solide final de l'émulsion submicronique, passant de 23,3 % dans la MGLA seule à 22,6 % en présence d'acide propionique. La Figure 164 montre que pendant les 30 premières minutes de cristallisation, l'acide propionique n'a pas d'effet sur la cinétique de cristallisation.

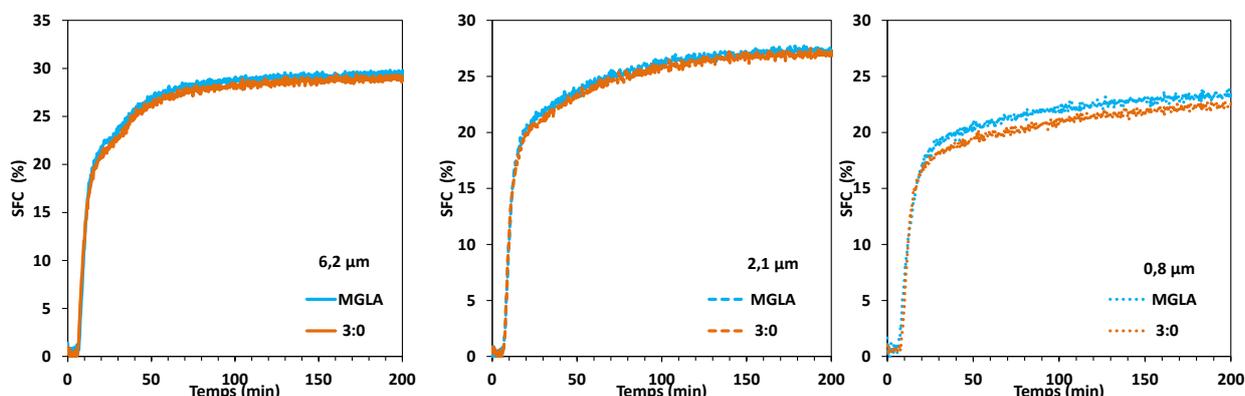


Figure 163 : Évolution du taux de solide des émulsions de MGLA avec et sans acide propionique (3:0) à 0,2 %, pour trois diamètres moyens différents correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

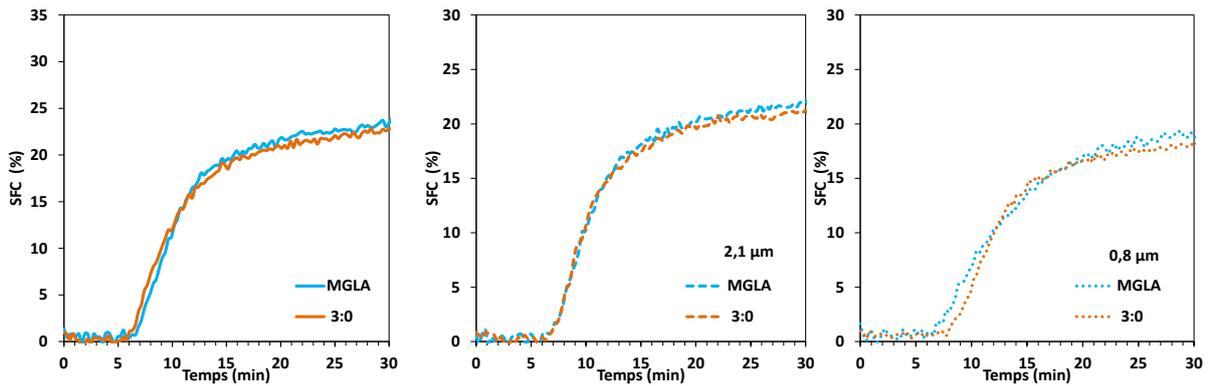


Figure 164 : Évolution du taux de solide des émulsions de MGLA avec et sans acide propionique (3:0) à 0,2 %, de diamètres moyens variables correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars. Focus sur les 30 premières minutes de cristallisation

De la même manière, l'acide propionique ne modifie pas la température de début de cristallisation, quelle que soit la taille des gouttes de l'émulsion (Figure 165).

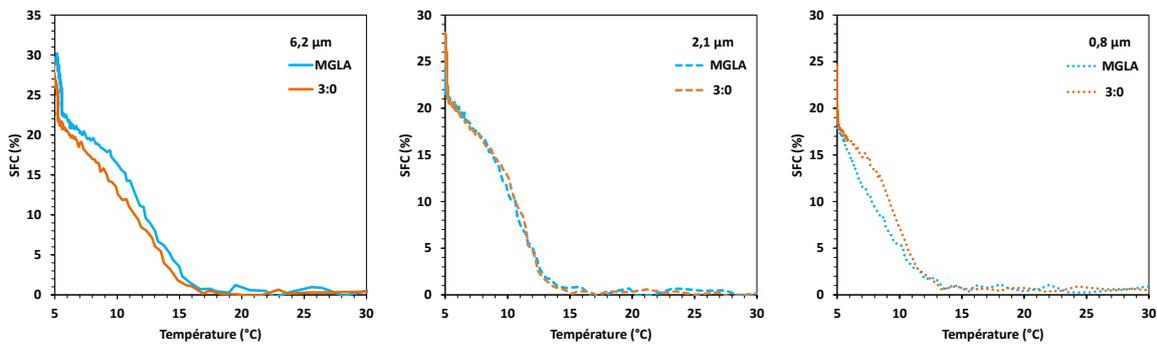


Figure 165 : Évolution du taux de solide en fonction de la température des émulsions de MGLA avec ou sans acide propionique (3:0) à 0,2 %, pour des diamètres moyens de gouttes variables correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

1.4.5. Fusion de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide propionique, après un palier isotherme à 5 °C pendant 90 min ou 48 h

Après un palier isotherme de 90 minutes à 5 °C, les profils de fusion présentés sur la Figure 166 montrent que les émulsions avec et sans acide propionique présentent les mêmes pics endothermiques de fusion. Les mêmes fractions ont donc cristallisé, vraisemblablement sous les mêmes formes polymorphiques.

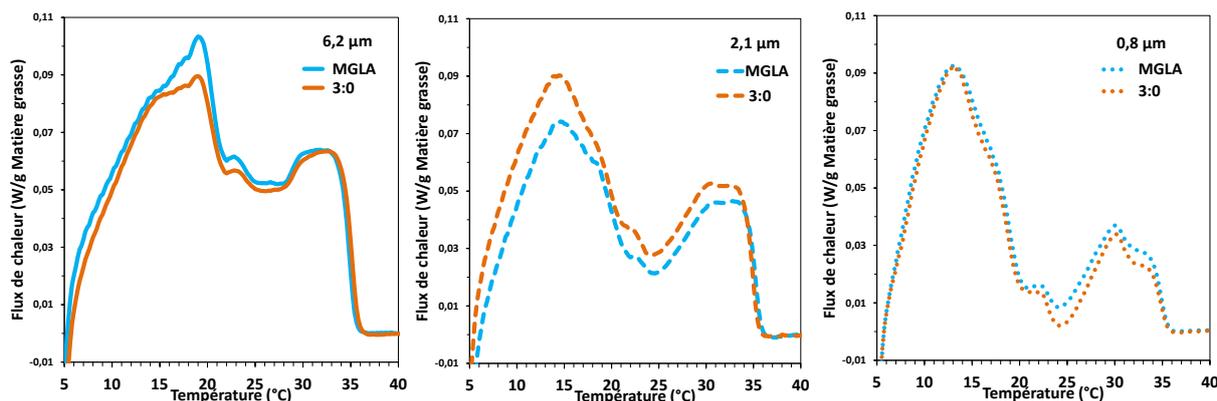


Figure 166 : Profil de fusion des émulsions de MGLA seule ou avec 1 % d'acide oléique (18 :1) pour des diamètres moyens de gouttes variables, correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, obtenus lors d'un chauffage à 5 °C/min, endo up

Les émulsions avec et sans acide propionique ont été stockées pendant 48 h à 5 °C. L'acide propionique n'a pas d'effet sur la cristallisation pour ces temps plus longs, car les profils de fusion mesurés en DSC (Figure 167) sont similaires avec et sans le modulateur.

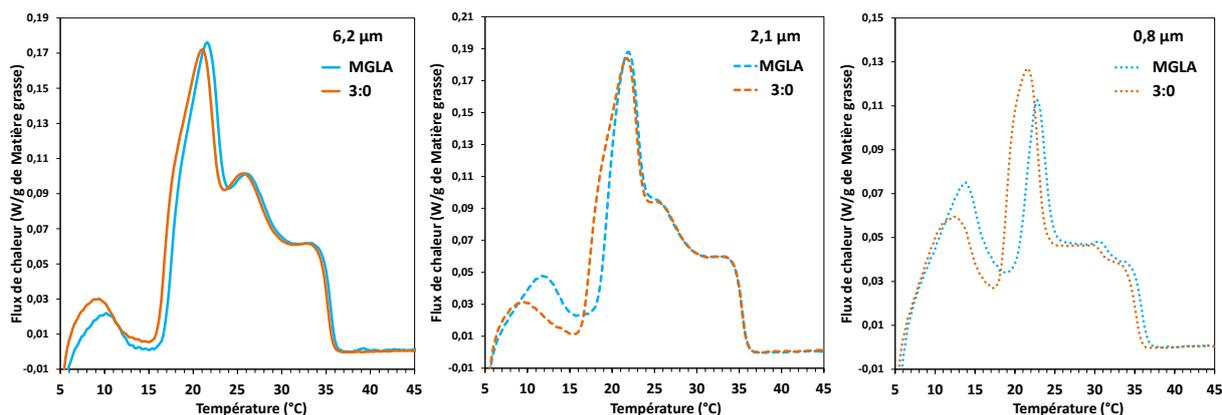


Figure 167 : Profils de fusion DSC des émulsions de MGLA de différents diamètres moyens correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, avec et sans acide oléique (18:1) après stockage 48h à 5 °C, endo up

L'acide propionique n'a donc pas d'effet sur la cristallisation en émulsion. Cette molécule très polaire migre dans la phase continue et n'impacte donc pas la cristallisation dans les gouttes.

1.5. Influence de l'acide palmitique sur la cristallisation de la MGLA en milieu dispersé

Une émulsion contenant 1 % d'acide palmitique (soit 2,5 % de la phase grasse) est comparée à une émulsion témoin de MGLA préparée et homogénéisée dans les mêmes conditions, le même jour.

1.5.1. Caractérisation des émulsions en présence d'acide palmitique

Les caractéristiques granulométriques des émulsions sont présentées sur la Figure 168 et le Tableau 42. Les observations microscopiques correspondantes sont sur la Figure 169. Il apparaît que, par rapport aux émulsions de MGLA seule, la présence d'acide palmitique conduit à une légère diminution du diamètre moyen des gouttes. Une variation plus significative est observée pour l'émulsion non homogénéisée qui a un diamètre moyen en volume de gouttes de 4,4 μm contre 5,8 μm pour l'émulsion de MGLA témoin.

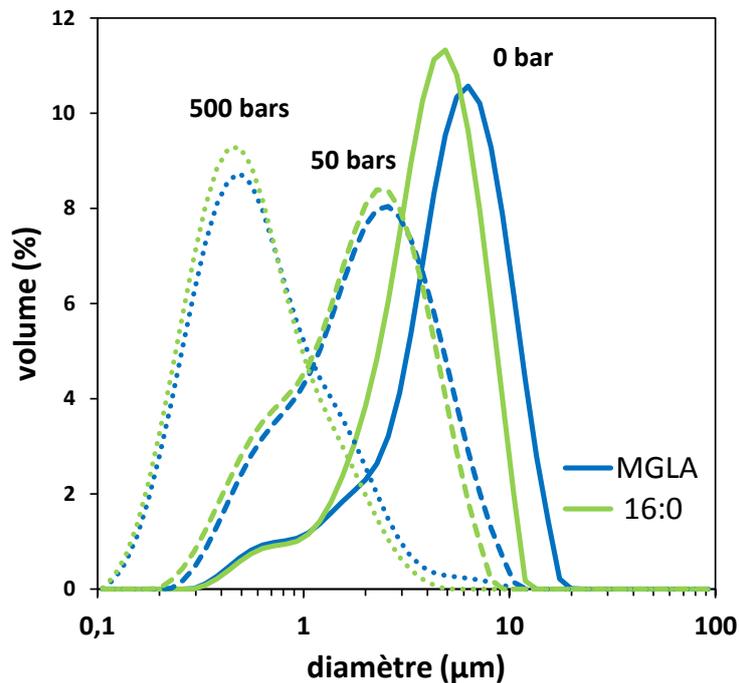


Figure 168 : Distribution de taille des gouttes des émulsions de MGLA avec et sans acide palmitique (16:0) obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

Tableau 42 : Diamètres moyens en volume ($D[4,3]$) et en surface ($D[3,2]$) et polydispersités des émulsions de MGLA avec et sans acide palmitique (16:0) obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation

Modulateur	Pression d'homogénéisation (bars)	D [4,3] (μm)	D [3;2] (μm)	Polydispersité (%)
MGLA seule	0	5,8	3,3	49
MGLA seule	50	2,5	1,4	64
MGLA seule	500	0,84	0,49	84
MGLA + 16:0	0	4,4	2,9	45
MGLA + 16:0	50	2,2	1,3	61
MGLA + 16:0	500	0,70	0,45	71

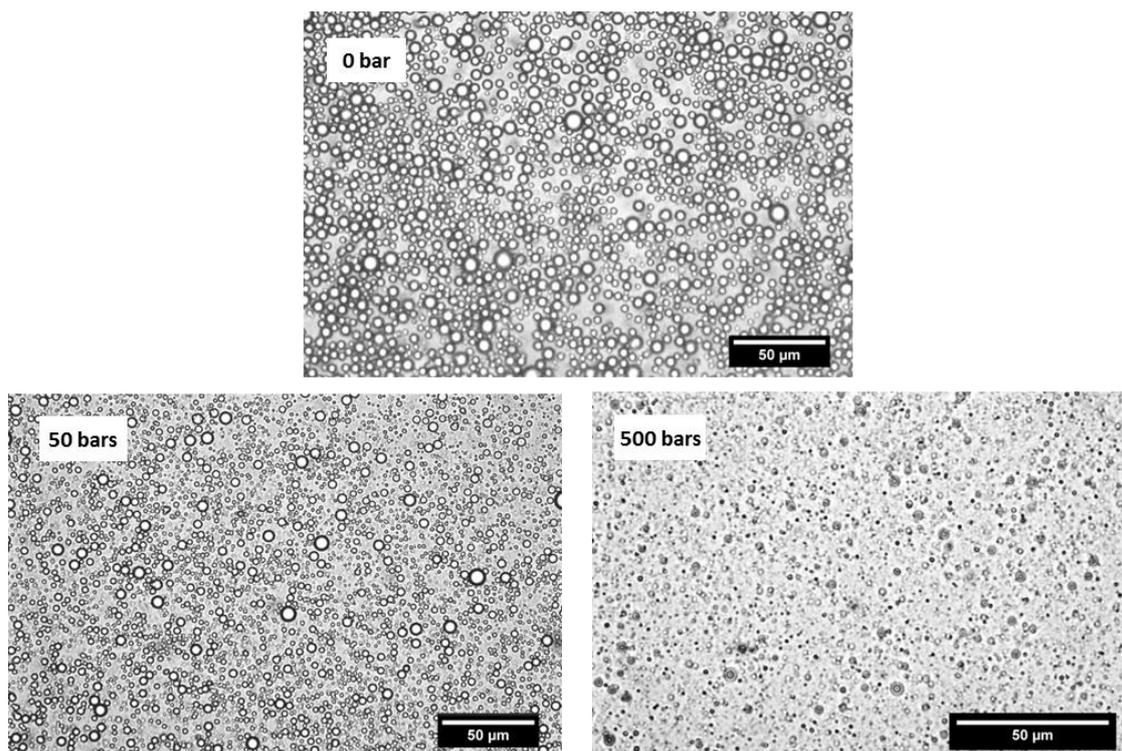


Figure 169 : Observations en microscopie électronique des émulsions de MGLA et acide palmitique (1 %) obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

L'évolution de la tension de surface entre une fraction oléique de la MGLA, avec et sans acide palmitique à 1 %, et une solution de caséinate à 0,33 % est présentée sur la Figure 170. En présence d'acide palmitique, on observe une diminution de la tension de surface aussi bien au niveau de la valeur initiale (-0,3 mN/m) que de la valeur mesurée après une heure d'étude (-1,4 mN/m). Ceci suggère qu'une partie de l'acide palmitique se positionne à l'interface entre la phase aqueuse et la phase grasse. Comme pour l'acide oléique, cette diminution de la tension interfaciale pourrait expliquer la diminution de la taille des gouttes. Le pH mesuré dans les émulsions non homogénéisées est égal à 6,67 pour l'émulsion sans acide palmitique et 6,55 avec l'acide palmitique. Ce résultat n'est pas surprenant, eu égard à la très faible solubilité de l'acide palmitique dans l'eau ($< 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ [7]). Ainsi, l'acide palmitique est principalement localisé à l'interface eau/huile et dans le volume des gouttes de matière grasse. Par un calcul analogue à celui réalisé pour l'acide oléique, l'aire moléculaire de l'acide palmitique de 25 \AA^2 [6] correspondant à une concentration maximale surfacique $\Gamma=1,70 \text{ mg/m}^2$, nous permet de déterminer la proportion d'acide palmitique à l'interface s'il recouvrait seul toutes les gouttes (Eq. 61). Pour les gouttes de $4,4 \text{ }\mu\text{m}$ de diamètre, l'acide palmitique serait à 15 % à l'interface, à 34 % pour l'émulsion à $2,2 \text{ }\mu\text{m}$ de diamètre, et à 99 % pour l'émulsion à $0,7 \text{ }\mu\text{m}$ de diamètre.

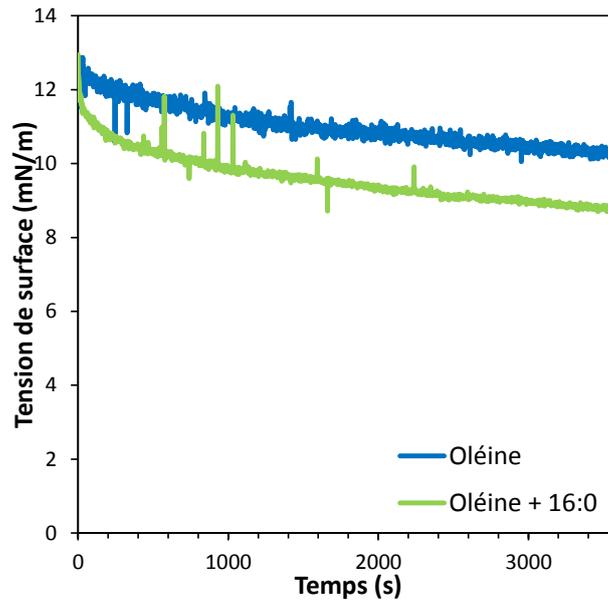


Figure 170 : Évolution de la tension de surface à 25 °C d'une goutte d'oléine dans une solution de caséinate de sodium à 0,33 %, avec et sans acide palmitique (1 %)

1.5.2. Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide palmitique : rampe de refroidissement linéaire à -5 °C/min

La Figure 171 montre l'évolution du signal enthalpique lors de la cristallisation en rampe de refroidissement à -5 °C/min pour les systèmes émulsionnés avec et sans acide palmitique. Dans tous les cas, l'acide palmitique augmente la température de début de cristallisation. L'effet est assez peu marqué pour les émulsions de gros diamètre (+0,5 °C) mais il augmente pour les émulsions moyennes (+3,5 °C) et fines (+5,5 °C). Nous avons montré qu'en phase continue, l'acide palmitique favorise la nucléation (chapitre 3). Cet effet se retrouve dans les émulsions, associé à une surfusion plus faible requise pour débiter la cristallisation. Ainsi, en milieu émulsionné, l'acide palmitique est aussi capable d'accélérer la cristallisation.

De plus, l'ajout d'acide palmitique conduit à l'apparition de nouveaux pics exothermiques pour les émulsions homogénéisées. Dans l'émulsion de diamètre moyen 2,5 µm, un pic centré à 13 °C et un faible signal exothermique entre 18 °C et 14 °C apparaissent, alors que l'émulsion témoin présente un unique pic de cristallisation. Pour l'émulsion submicronique, un nouveau pic, peu intense et assez large, est distinguable autour de 13,2 °C en présence du promoteur. L'apparition de nouveaux pics de cristallisation suggère que l'acide palmitique conduit à une ségrégation des TAG au cours de la cristallisation, avec différentes fractions qui cristalliseraient séparément.

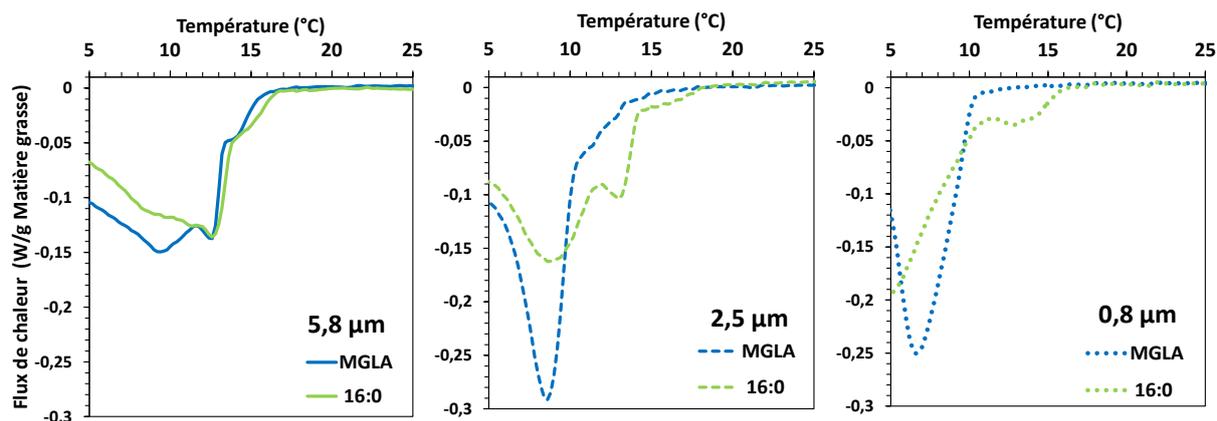


Figure 171 : Profil de cristallisation des émulsions de MGLA seule ou avec 1 % d'acide palmitique (16:0) pour des diamètres moyens de gouttes variables, correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, obtenus lors d'un refroidissement à -5 °C/min, endo up

La superposition des signaux enthalpiques obtenus avec l'acide palmitique pour les trois émulsions (Figure 172) révèle que la taille des gouttes n'a pas d'effet sur la surfusion : la cristallisation commence toujours dans le même domaine de température, autour de 17,5 °C. Ceci suggère que la nucléation n'est plus contrariée par la diminution de la taille des gouttes. On suppose donc que l'acide palmitique accélère la nucléation en agissant par les interfaces, où il serait surconcentré. La quantité d'interface étant plus importante dans les petites gouttes, la nucléation pour ces tailles ne nécessite plus une large surfusion. Néanmoins, il est impossible à ce stade d'exclure un mode d'action par le cœur des gouttes. Les micelles inverses dont la « brosse » hydrophobe est orientée vers la phase huile accéléreraient la nucléation, dans la mesure où l'acide palmitique est ajouté dans les formulations à une concentration suffisante pour couvrir les interfaces et pour être présent dans le volume huileux.

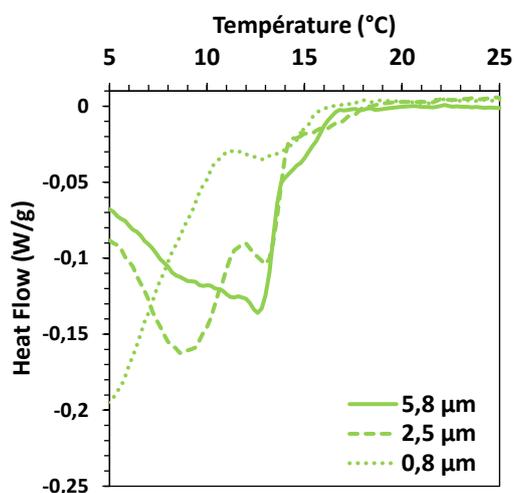


Figure 172 : Profils de cristallisation des émulsions contenant 1 % d'acide palmitique, pour trois diamètres moyens différents correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, endo up

1.5.3. Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide palmitique : refroidissement par trempe à 5 °C

La cinétique de cristallisation par trempe, étudiée par RMN est présentée sur la Figure 173. La Figure 174 correspond au focus sur les trente premières minutes. Les écarts de comportement des émulsions avec et sans modulateur sont peu significatifs. Il semble néanmoins que l'acide palmitique retarde la deuxième étape de cristallisation, quand elle existe. Cet effet est surtout visible pour l'émulsion de 2,5 μm de diamètre, pour laquelle l'émulsion de MGLA cristallise en deux étapes, alors que l'émulsion dopée en acide palmitique cristallise en une seule étape. On peut supposer que l'acide palmitique, en stabilisant les formes cristallines α , ralentit leur transition de phase vers une forme β' .

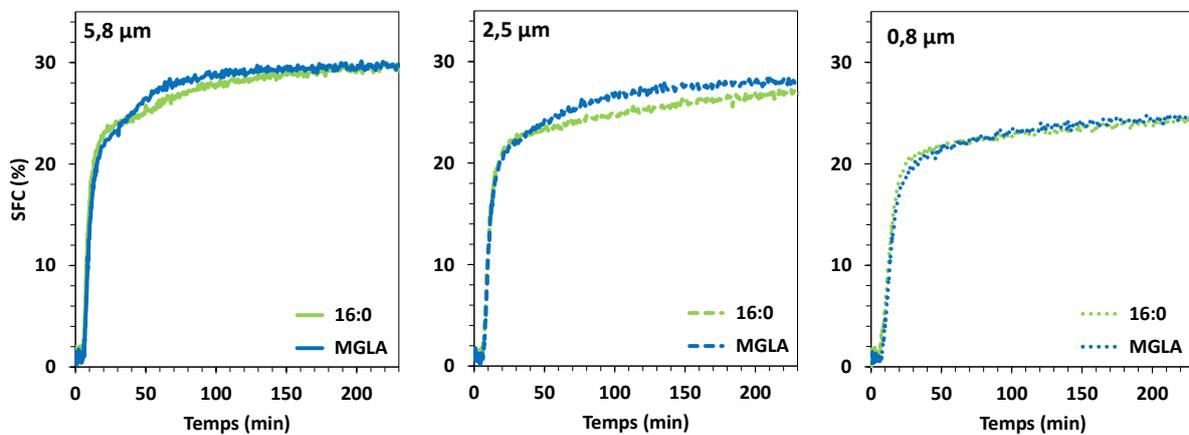


Figure 173 : Évolution du taux de solide des émulsions de MGLA avec et sans acide palmitique (16:0) à 1 %, de diamètres moyens variables correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

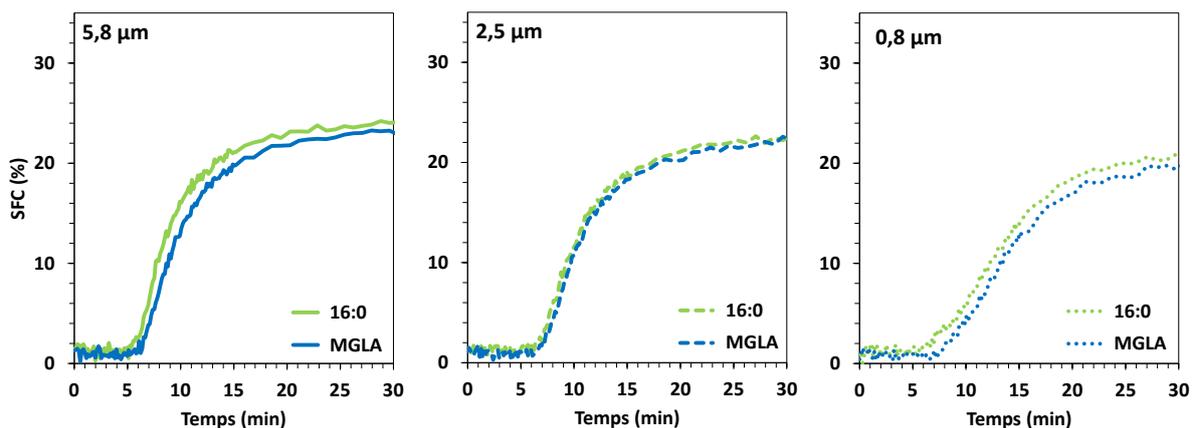


Figure 174 : Évolution du taux de solide des émulsions de MGLA avec et sans acide palmitique (16:0) à 1 %, de diamètres moyens variables. Focus sur les premières minutes correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

La représentation du taux de solide en fonction de la température de cristallisation montre qu'en accord avec le refroidissement linéaire étudié par DSC, l'acide palmitique augmente la

température de début de cristallisation. L'effet est surtout perceptible pour l'émulsion submicronique.

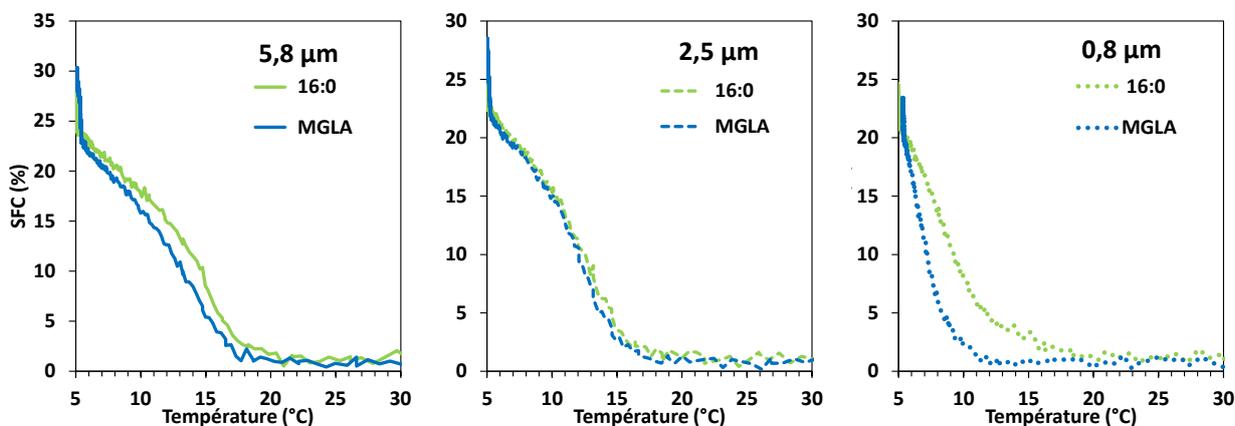


Figure 175 : Évolution du taux de solide en fonction de la température de cristallisation pour des émulsions de MGLA avec et sans 1 % d'acide palmitique (16:0) pour différents diamètres moyens, correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

Les taux de solide obtenus pour les trois tailles de gouttes en présence de modulateur sont superposés sur la Figure 176. La température de début de cristallisation se situe autour de 20 °C pour les trois systèmes émulsionnés. L'effet de surfusion, lié à la taille, semble donc être atténué en présence d'acide palmitique, comme observé en rampe linéaire de refroidissement dans la partie précédente.

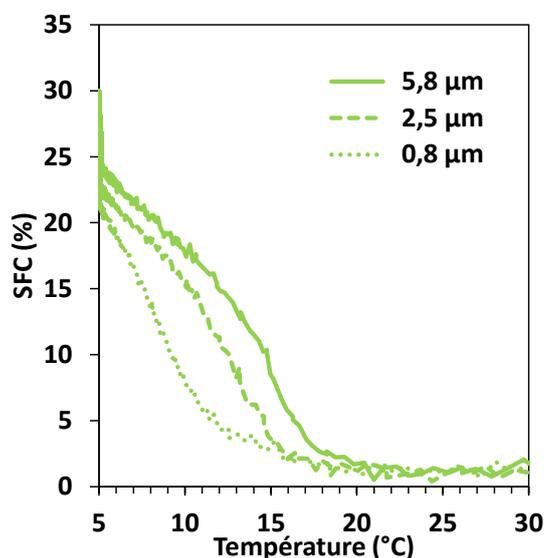


Figure 176 : Évolution du taux de solide en fonction de la température des émulsions de MGLA avec acide palmitique (16 :0) à 1 %, pour des diamètres moyens de gouttes variables correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

1.5.4. Fusion de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide palmitique, après un palier isotherme à 5 °C pendant 90 min ou 48 h

Les thermogrammes de fusion obtenus après un plateau isotherme court (90 min) sont présentés sur la Figure 177. Le profil thermique est impacté par l'ajout d'acide palmitique dans ces conditions. Pour les gouttes de 5,8 μm de diamètre moyen, il semblerait que l'ajout d'acide palmitique favorise la formation des formes instables. Ceci se traduit par un pic endothermique de fusion en dessous de 15 °C, centré sur de plus basses températures que pour l'émulsion de MGLA témoin. On note aussi l'apparition de pics exothermiques centrés à 21 °C et 26 °C qui n'existent pas pour le témoin. Ils pourraient correspondre à la transition de phase de formes instables au cours du chauffage. Il en va de même pour l'émulsion de diamètre intermédiaire (2,5 μm). Le pic endothermique inférieur à 15 °C est plus intense pour l'émulsion contenant l'acide palmitique, et décalé vers les plus basses températures, alors que le signal est moins intense pour les formes plus stables (plus hautes températures). En revanche, le profil thermique de fusion de l'émulsion submicronique n'est pas modifié : avec ou sans acide palmitique, des formes très instables sont encore présentes après 90 minutes de cristallisation.

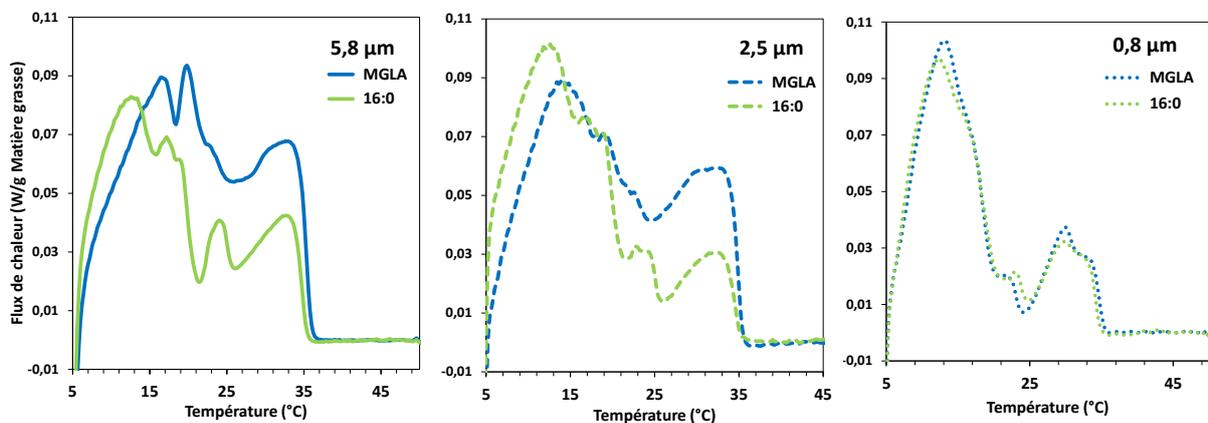


Figure 177 : Profil de fusion à +5 °C/min suite à un refroidissement à -5 °C/min et une période isotherme à 5 °C pendant 90 minutes, pour les émulsions de MGLA avec et sans acide palmitique (16:0) à 1 %, pour différents diamètres correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, endo up

Après une période de 48 h à 5 °C (Figure 178), les profils de fusion sont moins impactés par la présence d'acide palmitique. Les mêmes pics exothermiques sont identifiables avec et sans modulateur. Ainsi, après un temps de cristallisation suffisamment long, les formes instables obtenues aux temps courts parviennent à relaxer vers les formes plus stables, même en présence d'acide palmitique et indépendamment de la taille des gouttes.

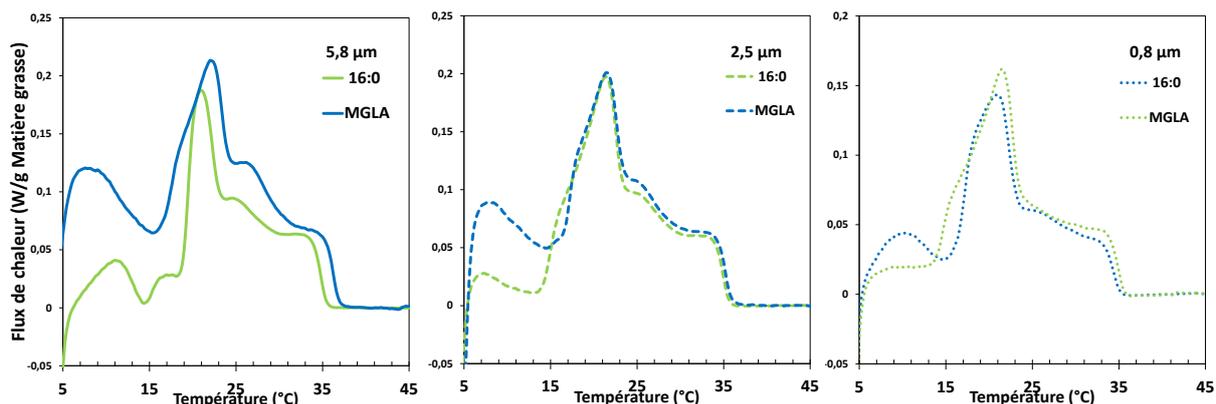


Figure 178 : Profil de fusion à +5 °C/min suite à un refroidissement à -5 °C/min et une période isotherme à 5 °C pendant 48 heures, pour les émulsions de MGLA avec et sans acide palmitique (16:0) à 1 % pour différents diamètres de gouttes, correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, endo up

Pour mieux comprendre dans quelle mesure les propriétés interfaciales de l'acide palmitique interviennent dans l'accélération de la cristallisation en émulsion, l'acide palmitique et la tripalmitine font l'objet d'une étude comparative.

1.6. Étude comparative de l'effet de l'acide palmitique et la tripalmitine sur la cristallisation de la MGLA en milieu dispersé

Les émulsions de MGLA et d'acide palmitique ou de tripalmitine sont préparées avec 2 % de modulateur, soit 5 % de MGLA substituée dans la phase grasse. Elles sont comparées à une émulsion de MGLA témoin sans modulateur. La concentration en modulateur est plus élevée que pour l'étude de l'impact de l'acide palmitique de la partie précédente, ce qui permettra dans le même temps d'étudier l'influence de la concentration de ce modulateur.

1.6.1. Caractérisation des émulsions en présence d'acide palmitique ou de tripalmitine

Les distributions granulométriques obtenues en présence d'acide palmitique et de tripalmitine sont présentées sur la Figure 179. Les diamètres moyens correspondants sont reportés dans le Tableau 43. Nous avons observé précédemment (cf. § 1.5) que l'ajout d'acide palmitique à 1% conduit à la diminution de la taille des gouttes pour les émulsions non homogénéisées. Ce résultat se confirme pour ce modulateur présent à 2%. Par rapport à l'émulsion de MGLA seule, l'ajout de tripalmitine impacte seulement l'émulsion ayant subi une homogénéisation à 50 bars avec un diamètre moyen qui augmente à 2,7 μm (versus 1,9 μm en l'absence de modulateur). Pour les autres conditions d'émulsification, les variations de taille ne sont pas significatives. Les tailles de gouttes mesurées par diffusion de

la lumière sont cohérentes avec les observations réalisées en microscopie optique, présentées sur la Figure 180 et la Figure 181.

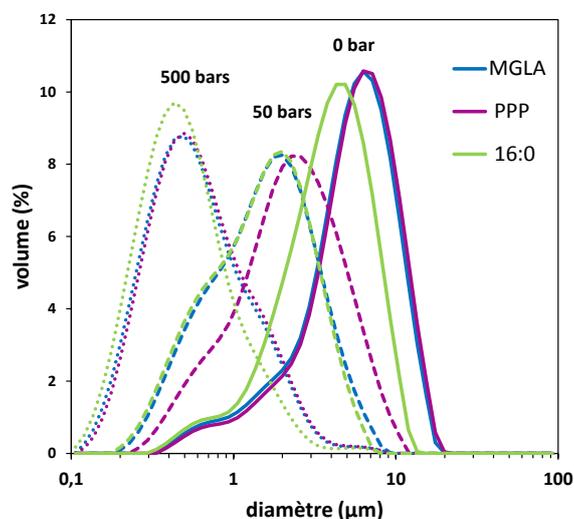


Figure 179 : Distribution de taille des gouttes des émulsions de MGLA avec et sans acide palmitique (16 :0) ou tripalmitine (PPP) obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

Tableau 43 : Diamètres moyens en volume (D[4,3]) et en surface (D[3,2]) et polydispersités des émulsions de MGLA avec et sans acide palmitique (16:0) ou tripalmitine (PPP) obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation

Modulateur	Pression d'homogénéisation (bars)	D[4,3] (μm)	D[3,2] (μm)	Polydispersité (%)
MGLA seule	0	6,0	3,5	48
MGLA seule	50	1,9	1,1	64
MGLA seule	500	0,79	0,47	79
MGLA + PPP	0	6,2	3,7	48
MGLA + PPP	50	2,7	1,6	64
MGLA + PPP	500	0,82	0,55	78
MGLA + 16:0	0	4,3	2,7	48
MGLA + 16:0	50	1,8	1,1	61
MGLA + 16:0	500	0,64	0,41	71

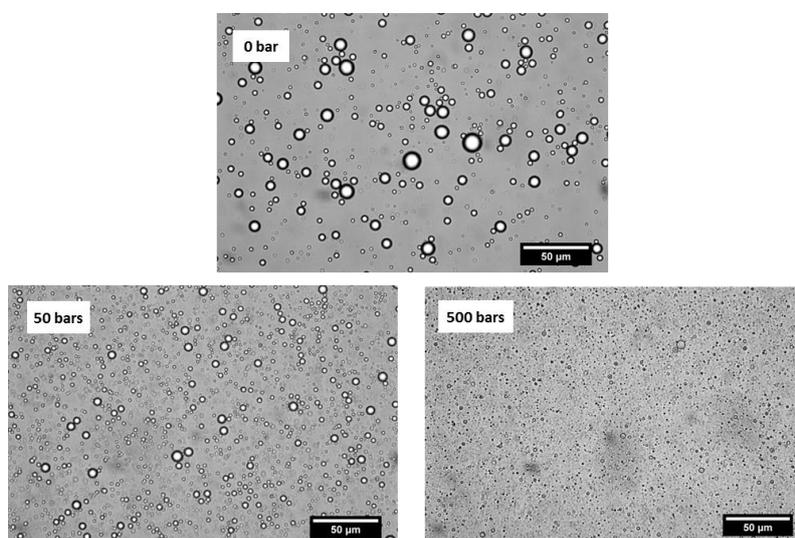


Figure 180 : Observations microscopiques des émulsions de MGLA et tripalmitine (2 %) obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

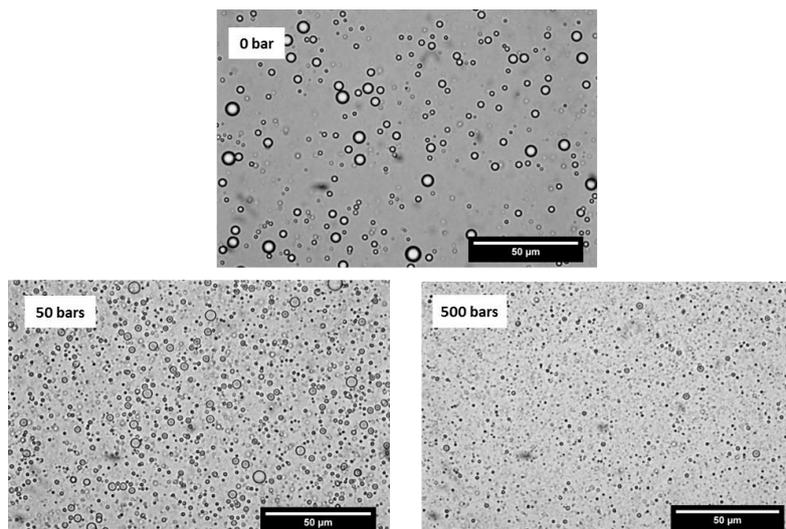


Figure 181 : Observations microscopiques des émulsions de MGLA et d'acide palmitique (2 %) obtenues pour différentes pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

La concentration d'acide palmitique mise en jeu dans cette partie est supérieure à celle de la partie précédente. Ce modulateur est totalement insoluble dans la phase aqueuse. Le calcul de la proportion d'acide palmitique à l'interface si les interfaces étaient saturées donne dans ce cas 8 % pour l'émulsion à 4,3 μm , 21 % pour l'émulsion à 1,8 μm et 54 % pour l'émulsion submicronique. Comme le calcul surévalue la quantité adsorbée (il ne tient pas compte du caséinate adsorbé), on en conclut que de l'acide palmitique est en excès dans la phase grasse.

1.6.2. Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide palmitique ou de tripalmitine : rampe de refroidissement dynamique à -5 °C/min

Les profils thermiques obtenus lors du refroidissement linéaire à -5 °C/min des émulsions de différentes tailles sont présentés sur la Figure 182. De manière générale, l'acide palmitique et la tripalmitine promeuvent la cristallisation dans les émulsions, en décalant les exothermes de cristallisation vers les températures plus élevées. Mais les effets de ces deux promoteurs sur le profil thermique sont très différents.

Pour les émulsions de 6 μm de diamètre moyen, l'acide palmitique induit une augmentation de la température de début de cristallisation de près de 8 °C (24 °C contre 16 °C pour l'émulsion de MGLA témoin). Mais le flux de chaleur mesuré entre 24 °C et 16 °C est très faible. De plus, la cristallisation comporte un seul pic principal, au lieu des deux observés pour l'émulsion témoin. Pour la tripalmitine, un nouveau pic intense apparaît. Il est centré

autour de 14 °C, soit 2 °C au-dessus du premier pic de cristallisation de la MGLA et il présente un épaulement vers 17 °C.

Pour les émulsions à 2 µm de diamètre moyen, un événement faiblement exothermique intervient entre 15 °C et 22 °C en présence d'acide palmitique à 2 %. Puis la cristallisation se déroule de la même manière que pour l'émulsion témoin, avec un pic exothermique débutant à 13 °C et centré autour de 9,6 °C. La tripalmitine, quant à elle, conduit à un décalage du pic principal de cristallisation vers les plus hautes températures : le pic exothermique principal débute à 19 °C et est maximal pour 13,6 °C. Un deuxième pic, moins intense, est centré autour de 7 °C.

Pour les émulsions submicroniques, l'acide palmitique à 2 % provoque encore une fois l'apparition d'un pic exothermique, large et de faible intensité, entre 21 °C et 13 °C. La tripalmitine décale le pic principal de cristallisation de +3 °C par rapport à la MGLA émulsionnée seule.

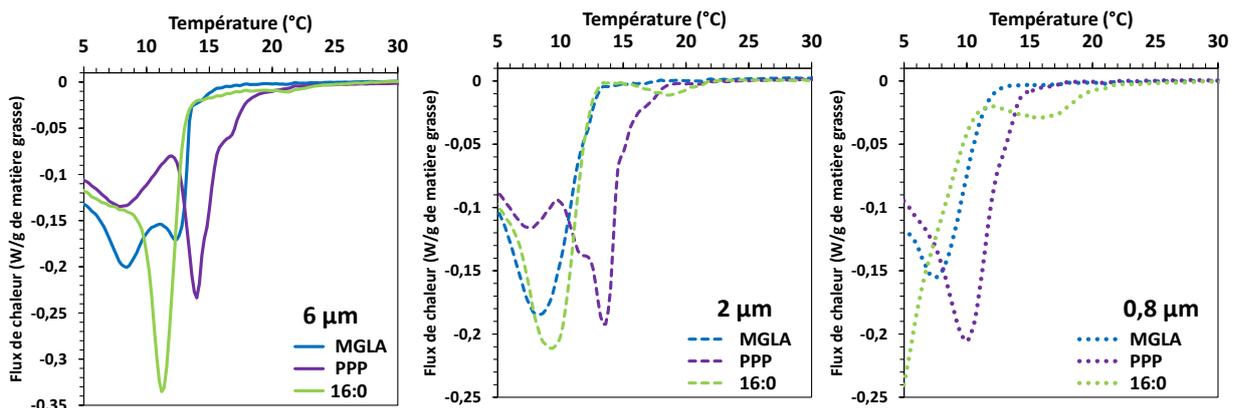


Figure 182 : Profil de cristallisation des émulsions de MGLA seule ou avec 2 % d'acide palmitique (16:0) ou 2% de tripalmitine (PPP) pour des diamètres moyens de gouttes variables, correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, obtenus lors d'un refroidissement à -5 °C/min, endo up

Ainsi, pour tous les diamètres moyens, l'acide palmitique à 2 % est responsable d'un événement de cristallisation précoce, qui concerne vraisemblablement peu de matière mais qui intervient à des températures significativement plus élevées. La tripalmitine quant à elle semble décaler la cristallisation d'une fraction à haut point de fusion vers des températures plus élevées.

La Figure 183 montre l'effet de la taille des gouttes pour chacun de ces deux accélérateurs pris séparément. Pour la tripalmitine, la diminution de la taille des gouttes entraîne une augmentation du degré de surfusion avant le début de la cristallisation. L'effet habituel de la taille des gouttes sur la cristallisation en émulsion, étudié dans au paragraphe 1.2, est retrouvé sur ce système. Pour l'acide palmitique, la température de début de cristallisation

se situe autour de 20 °C, quelle que soit l'émulsion. Toutefois le pic peu intense à haute température est sensible à la taille des gouttes puisque le maximum d'intensité se décale lorsque le diamètre moyen de l'émulsion diminue : 21 °C, 19 °C et 16 °C pour les émulsions à 6 µm, 2 µm et 0,8 µm de diamètre moyen, respectivement.

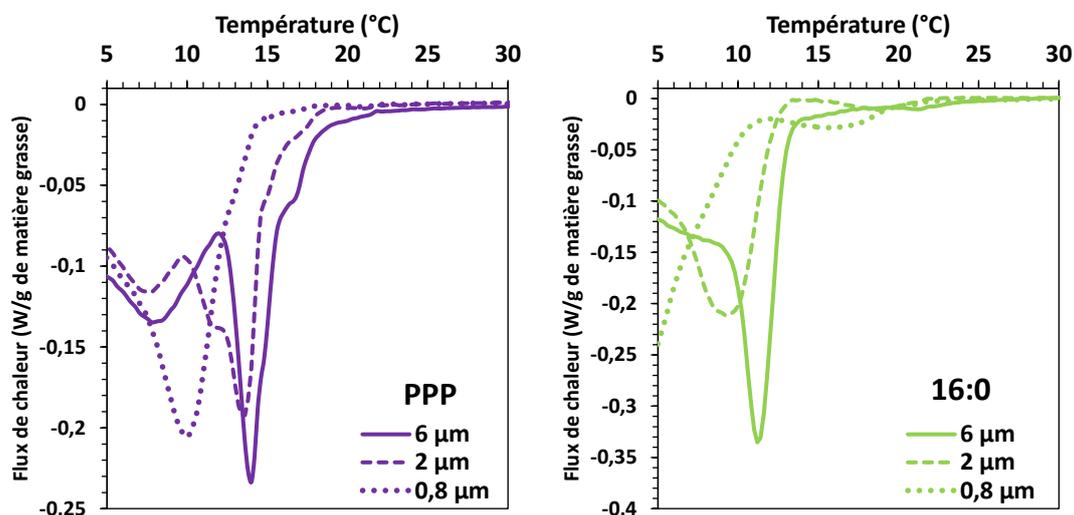


Figure 183 : Profils de cristallisation des émulsions contenant 2% de tripalmitine ou d'acide palmitique (16:0), pour trois diamètres moyens différents correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, endo up

Cette analyse en rampe de refroidissement rapide montre clairement que des mécanismes promoteurs différents sont en jeu pour ces deux modulateurs. Elle permet de formuler les hypothèses suivantes :

- la cristallisation de l'acide palmitique se produit d'abord aux interfaces, où il est sur-concentré, comme nous l'avons déjà proposé (§1.5). Plus les gouttes sont fines, plus la quantité d'interface et donc la fraction d'acide palmitique adsorbé sont importantes, ce qui justifierait l'augmentation de l'intensité de ce pic précoce lorsque la taille des gouttes diminue. La courbure croissante doit toutefois gêner la cristallisation puisque le maximum du pic se décale vers les basses températures quand la taille des gouttes diminue. La comparaison des figures 172 et 183 révèle une augmentation de la température de début de cristallisation avec la concentration en acide palmitique : 16 °C à 1% versus 21 °C à 2%, pour les émulsions submicroniques. Cette évolution pourrait être due à une augmentation de la concentration interfaciale de ce modulateur. Néanmoins, un effet volumique ne peut être exclu puisque la concentration d'acide palmitique libre dans les gouttes est également susceptible d'augmenter (cf. calculs précédents).

- la tripalmitine cristallise avec une fraction de haut point de fusion de la MGLA. Les nouveaux pics de cristallisation qu'elle fait apparaître sont trop intenses pour considérer qu'ils ne sont dus qu'à la cristallisation de la tripalmitine seule. Elle entrainerait donc avec elle certains triglycérides de la MGLA avec lesquels elle présente des similarités, pour éventuellement former des cristaux mixtes. Le fait qu'elle subisse une surfusion croissante par diminution de la taille des gouttes nous amène à penser que son effet est volumique et non interfacial.

1.6.3. Cristallisation de la MGLA en milieu dispersé en présence d'acide palmitique ou de tripalmitine : refroidissement par trempe à 5 °C

La cristallisation par trempe, mesurée par RMN, est présentée sur la Figure 184. Pour les émulsions à 6 μm de diamètre moyen, le taux de solide final en présence des deux modulateurs est supérieur à celui de l'émulsion témoin. Pour les émulsions à 2 μm et 0,8 μm de diamètre moyen, le taux de solide final est augmenté par l'ajout de tripalmitine et n'est pas significativement impacté par l'acide palmitique.

Dans les deux émulsions les plus fines, l'acide palmitique augmente la hauteur du palier de la première étape de cristallisation, mais retarde la vitesse de la deuxième étape. Il favoriserait la formation rapide de la forme α et retarderait la transition de phase vers la forme β' , comme nous l'avons observé quand il est ajouté à 1 % au paragraphe 1.5. La tripalmitine, quant à elle, modifie légèrement l'allure de la cinétique de cristallisation de l'émulsion submicronique : une deuxième étape de cristallisation semble se dessiner à partir de 50 minutes.

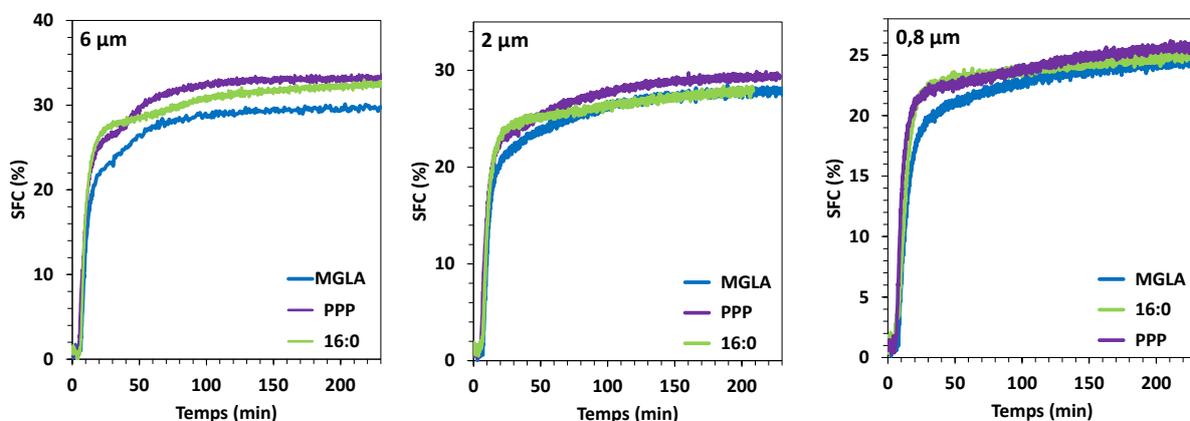


Figure 184 : Évolution du taux de solide des émulsions de MGLA avec et sans acide palmitique (16:0) ou tripalmitine (PPP) à 2 %, de diamètres moyens variables correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

La Figure 185 présente l'évolution du taux de solide aux temps courts. Pour les émulsions de 6 μm de diamètre moyen, la tripalmitine réduit le temps d'induction et on observe une étape supplémentaire de cristallisation, avec une légère inflexion de la courbe à environ 10 % de taux de solide, soit un tiers du taux de solide final. Pour les émulsions de 2 μm , cette inflexion est moins marquée, mais semble toujours présente, avec une amplitude similaire. Le temps d'induction est également réduit. Pour les émulsions submicroniques, l'inflexion n'est plus visible. La vitesse de cristallisation de la première étape de cristallisation est peu impactée par les promoteurs pour les émulsions de 6 μm . Pour les émulsions de 2 μm et de 0,8 μm , les deux promoteurs augmentent la vitesse de la première étape.

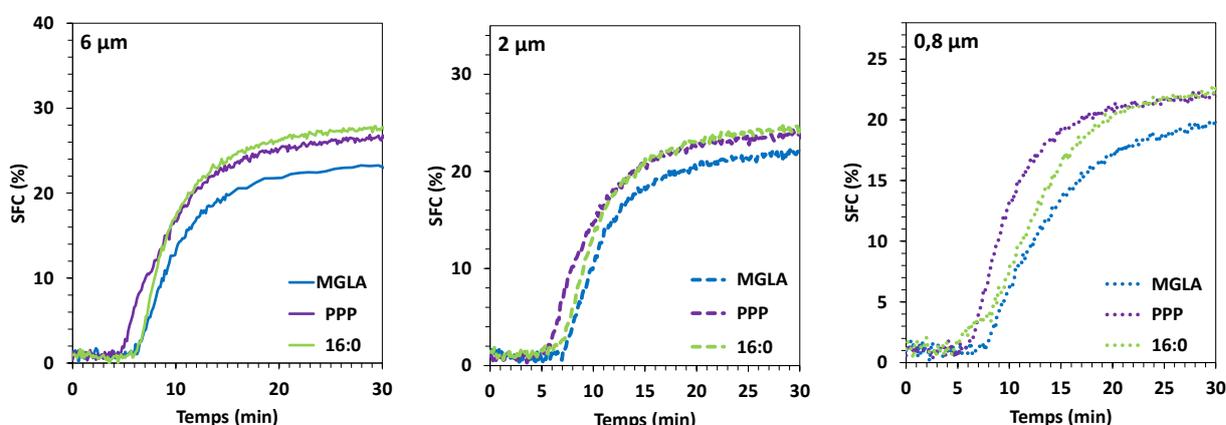


Figure 185 : Évolution du taux de solide des émulsions de MGLA avec et sans acide palmitique (16:0) ou tripalmitine (PPP) à 2 %, de diamètres moyens variables correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars. Focus sur les 30 premières minutes

La Figure 186 représente le taux de solide en fonction de la température de cristallisation. Cette représentation permet elle aussi de mettre en évidence l'inflexion en présence de tripalmitine. Les deux modulateurs augmentent la température de début de cristallisation.

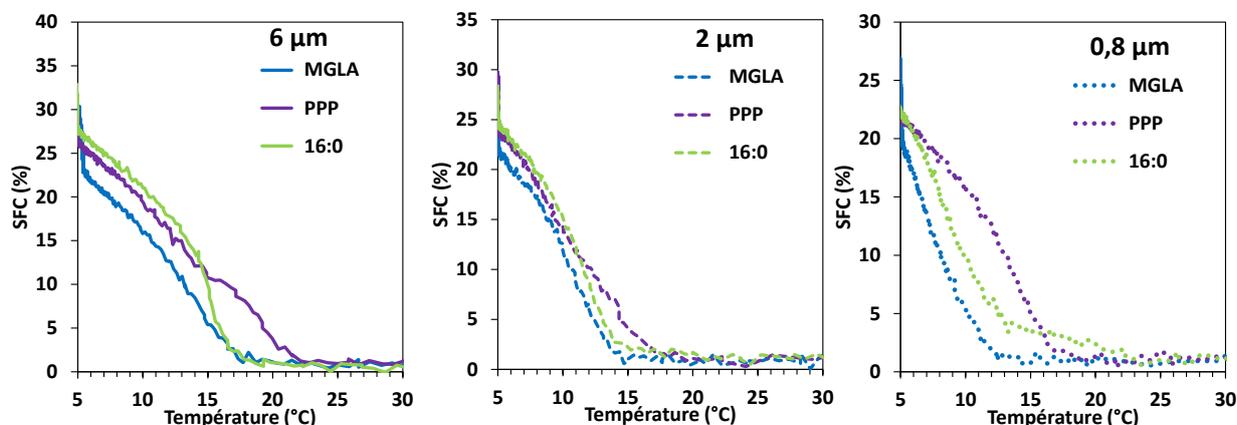


Figure 186 : Évolution du taux de solide en fonction de la température de cristallisation pour des émulsions de MGLA avec et sans acide palmitique (16:0) ou tripalmitine (PPP) à 2 % pour différents diamètres moyens correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

L'effet de la taille des gouttes pour chacun des modulateurs pris séparément (Figure 187) est conforme aux observations de DSC. Pour l'acide palmitique, l'émulsion submicronique est la première à cristalliser, quoiqu'en faible proportion. Pour la tripalmitine, les émulsions homogénéisées commencent à cristalliser à des températures sensiblement plus basses que l'émulsion non homogénéisée.

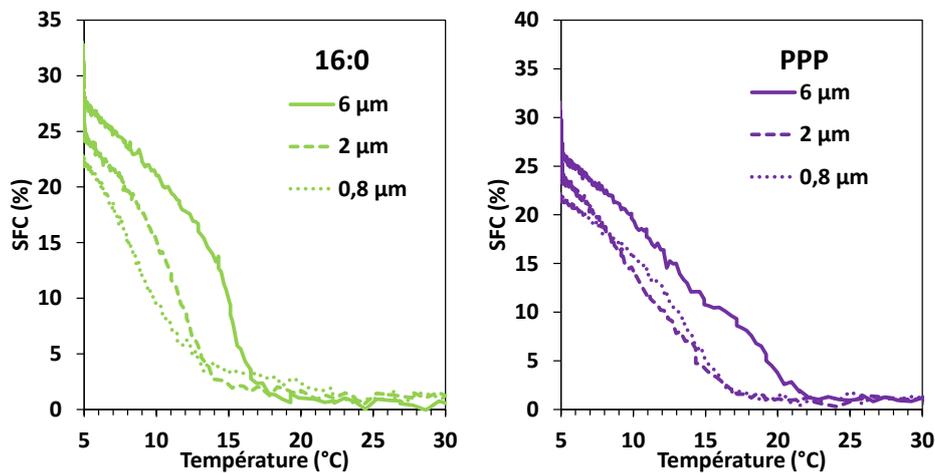


Figure 187 : Évolution du taux de solide en fonction de la température des émulsions de MGLA avec acide palmitique (16 :0) ou tripalmitine (PPP) à 2 %, pour des diamètres moyens variables correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

1.6.4. Fusion de la MGLA dispersée en présence d'acide palmitique ou de tripalmitine, après un palier isotherme à 5 °C pendant 90 min ou 48 h

Le profil de fusion des émulsions après 90 min de palier isotherme à 5 °C est présenté sur la Figure 188. Les modulateurs n'ont pas le même effet sur l'allure du profil thermique.

En présence de tripalmitine, la limite supérieure du domaine de fusion se décale vers les hautes températures. Ce décalage est maximal pour l'émulsion la plus fine, où il atteint +10 °C par rapport à la MGLA (45 °C versus 35 °C). Pour l'émulsion à 6 μm, on note l'apparition d'un pic exothermique très intense entre 15 °C et 25 °C. Le système n'a donc clairement pas atteint l'équilibre après 90 minutes et subit une transition de phase lors de la fusion.

L'effet de l'acide palmitique est moins important, et les thermogrammes sont proches de ceux obtenus à 1 % (§1.5). Par rapport à la MGLA émulsionnée seule, on notera seulement une augmentation du signal thermique en dessous de 20 °C. Il est possible que l'acide palmitique stabilise ces formes instables pendant les 90 min de cristallisation isotherme. Les pics exothermiques entre 20 °C et 30 °C sont aussi légèrement plus intenses.

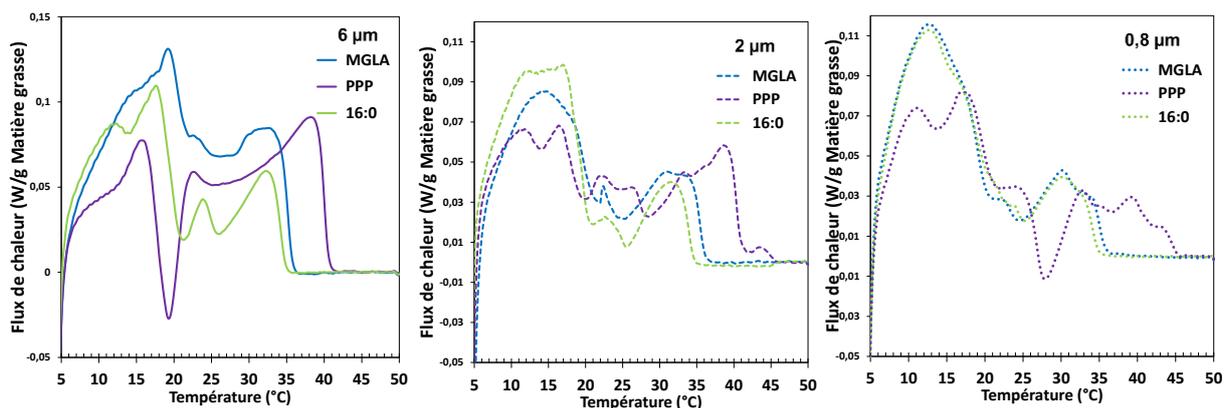


Figure 188 : Profil de fusion à +5 °C/min suite à un refroidissement à -5 °C/min et une période isotherme à 5 °C pendant 90 minutes, pour les émulsions de MGLA avec et sans acide palmitique (16:0) ou tripalmitine (PPP) à 2 % pour différents diamètres de gouttes correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars, endo up

Après 48 h de stockage à 5 °C, la fusion des émulsions, présentée sur la Figure 189, montre que les deux promoteurs testés conduisent à l'apparition de pics endothermiques à des températures plus élevées que ceux de la MGLA seule. Pour l'acide palmitique, on observe un pic endothermique peu intense entre 35 °C et 40 °C dans l'émulsion à 6 µm et entre 35 °C et 47 °C dans l'émulsion à 2 µm. Pour la tripalmitine, la plage de fusion de la MGLA se prolonge jusqu'à environ 45 °C, soit une variation de +10 °C par rapport à la MGLA seule. Dans ce domaine de température entre 35 °C et 45 °C, la valeur du flux thermique est assez importante. L'enthalpie de fusion de cette zone ne peut être due à la tripalmitine seule, la valeur du signal intégré dépassant 5 % (soit la teneur en tripalmitine rajoutée dans la MGLA). Sur la Figure 190, nous montrons le signal obtenu pour l'émulsion à 6 µm de diamètre moyen ainsi que son intégrale (signal cumulé). Le taux de solide de la MGLA est de 52 % à 5 °C (chapitre 3 §5.2). En faisant l'hypothèse que la tripalmitine est totalement cristallisée, la part du signal qui lui correspondrait est de 10 %. Or, sur la Figure 190, le signal au-delà de 35 °C représente 20 % de l'aire totale. De plus, cette plage apparaît comme une prolongation et non comme un pic individuel. On peut en déduire que ce flux endothermique s'explique par la fusion de cristaux mixtes de tripalmitine et de MGLA.

À l'inverse, la position du pic additionnel de l'acide palmitique à haute température (autour de 40 °C) et sa faible intensité nous amènent à penser que ce pic est dû à la fusion de l'acide palmitique seul. Certes, la température de fusion de l'acide palmitique pur est de 63 °C, mais en présence d'huile liquide l'entropie de mélange abaisse sa température de fusion, conformément à la loi de Hildebrand (chapitre 1 eq. 1). Il se produirait donc une ségrégation de l'acide par rapport au reste de la matière grasse, le pic étant isolé.

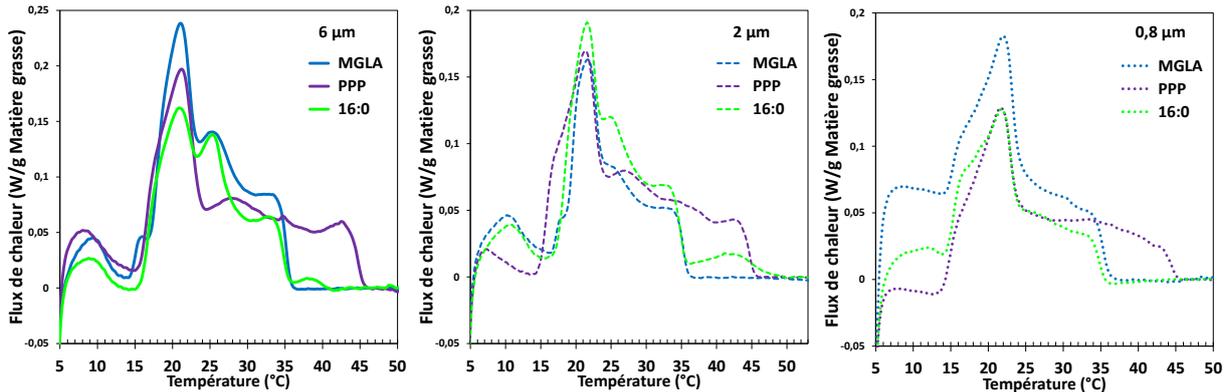


Figure 189 : Profil de fusion à +5 °C/min suite à un refroidissement à -5 °C/min et une période isotherme à 5 °C pendant 48 heures, pour les émulsions de MGLA avec et sans acide palmitique (16:0) ou tripalmitine (PPP) à 1 % pour différents diamètres de gouttes, endo up

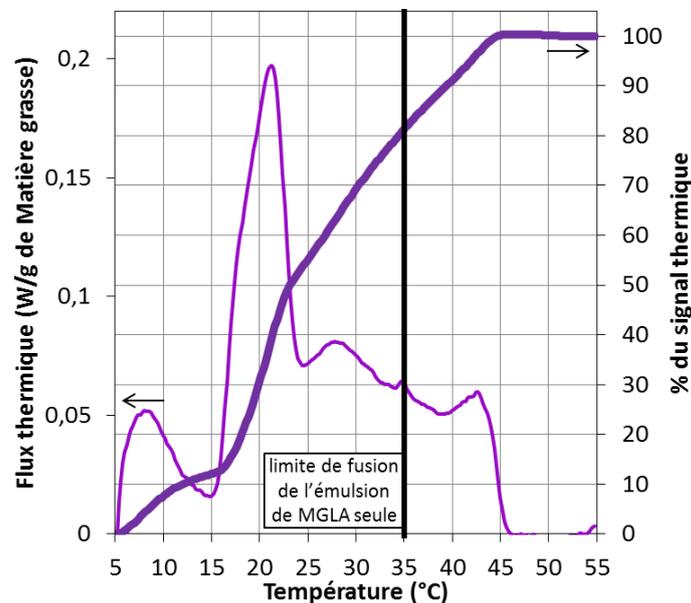


Figure 190 : Profil de fusion à +5 °C/min suite à un refroidissement à -5 °C/min et une période isotherme à 5 °C pendant 48 heures, pour l'émulsion avec tripalmitine (PPP) de diamètre moyen égal à 6 μm, endo up. Intégration du signal de fusion

1.6.5. Visualisation de la cristallisation dans une goutte de MGLA en présence d'acide palmitique ou de tripalmitine

Afin de consolider les hypothèses sur l'origine interfaciale ou volumique de l'effet du promoteur, le tensiomètre est utilisé pour réaliser des clichés de gouttes en cours de cristallisation. Une goutte de 15 μL de MGLA, fondue à 80 °C, est formée dans une solution de caséinate à 0,33 %, thermostatée à 25 °C. Une image par seconde est acquise pendant 1 h. Chacun des modulateurs est ajouté à 0,25 % dans la MGLA fondue. La Figure 191 montre un échantillonnage des images acquises. Quand les cristaux se forment, ils empêchent la lumière de traverser la phase grasse, provoquant l'apparition de taches sombres dans la goutte. Cette méthode confirme que la tripalmitine et l'acide palmitique sont des

accélérateurs de cristallisation, dans la mesure où les gouttes qui en contiennent s'obscurcissent plus vite que le témoin à base de MGLA seule. Elle permet aussi d'apprécier la forme, la taille et le nombre de cristaux et de voir où ils se forment préférentiellement dans la goutte.

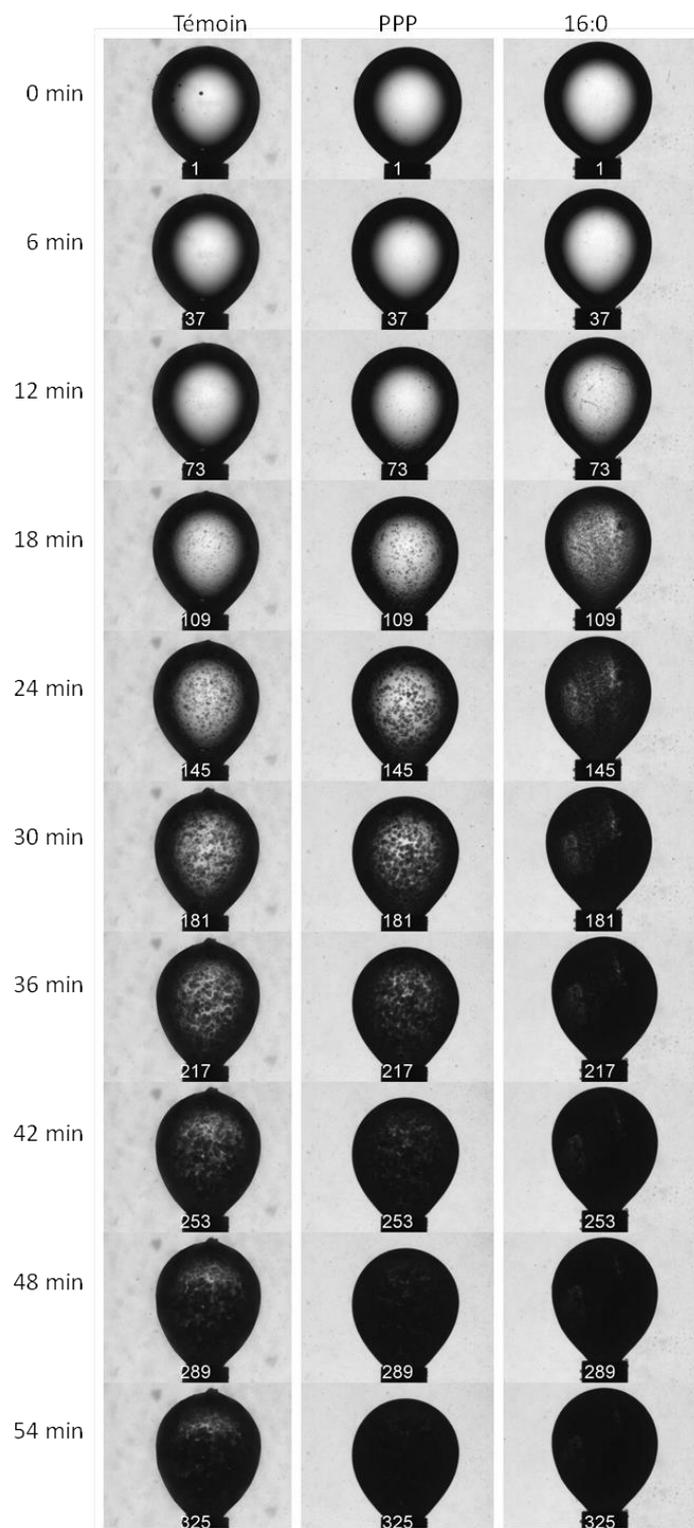


Figure 191 : Photographies d'une goutte (15 µL) de MGLA en cours de cristallisation à 25 °C. De gauche à droite : MGLA seule (témoin), 0,25 % de tripalmitine (PPP) 0,25% d'acide palmitique (16:0)

La Figure 192 présente un grossissement des clichés obtenus après 12 minutes de cristallisation. La goutte témoin à base de MGLA ne présente pas encore de cristaux, alors que les premiers cristaux sont visibles en présence de tripalmitine et d'acide palmitique. Les cristaux formés dans la goutte contenant la tripalmitine tendent à former un sédiment (peu distinguable sur l'image) au fur et à mesure qu'ils se forment (flèche violette). Sur la Figure 191, aux temps compris entre 24 et 36 min, on remarque que la partie supérieure de la goutte est légèrement moins trouble que la partie inférieure, traduisant encore une fois la tendance à la sédimentation. En revanche, en présence d'acide palmitique (flèche verte Figure 192), les cristaux formés restent accrochés à l'interface eau/huile et le noircissement des gouttes est spatialement homogène (Figure 191). Ce noircissement est également plus rapide que dans la goutte contenant la tripalmitine. Les cristaux forment une couverture épaisse aux interfaces et de ce fait opacifient la goutte très rapidement. Cela ne signifie pas pour autant que la cristallisation est globalement plus rapide qu'en présence de tripalmitine.

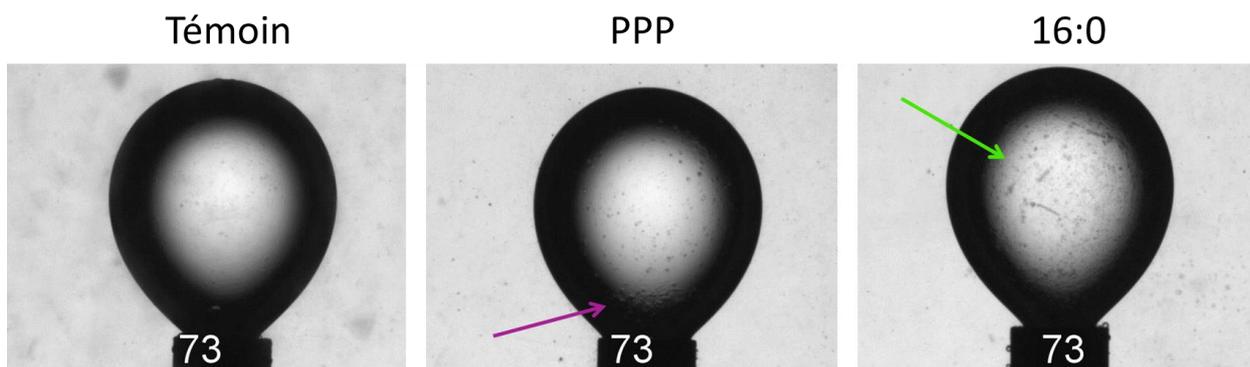


Figure 192 : Photographies d'une goutte (15 µL) de MGLA après 12 minutes de cristallisation à 25 °C. MGLA seule (témoin), 0,25 % de tripalmitine (PPP) 0,25% d'acide palmitique (16:0),

Cette expérience conforte donc l'hypothèse selon laquelle l'acide palmitique accélère la cristallisation à partir de l'interface, alors que la tripalmitine agit depuis le volume de la goutte.

Tous les éléments apportés par la comparaison entre l'acide palmitique et la tripalmitine nous permettent de proposer des mécanismes d'action sur la cristallisation de la matière grasse émulsionnée, schématisés sur la Figure 193. Ces modulateurs accélèrent la cristallisation en émulsion de la manière suivante :

- l'acide palmitique, par sa nature amphiphile, est sur-concentré à l'interface. Lors du refroidissement, il cristallise seul à l'interface, à partir de laquelle il déclenche la cristallisation de la matière grasse. Ainsi, de par l'action interfaciale de ce

modulateur, la MGLA est moins sujette au phénomène de surfusion lors de la diminution de la taille des gouttes. La cristallisation interfaciale est tout de même ralentie dans les émulsions fines, vraisemblablement à cause des fortes courbures. L'acide palmitique favorise la forme instable α , et retarde sa transition de phase vers la forme β' .

- La tripalmitine se mélange plus intimement avec les triglycérides de la matière grasse. Elle élargit le domaine de fusion de la MGLA vers les hautes températures. Elle cristallise sous forme de cristaux mixtes avec les triglycérides à haut point de fusion de la MGLA et agit depuis le volume de la goutte. De ce fait, lorsque la taille des gouttes diminue, le phénomène de surfusion est amplifié et la cristallisation commence à des températures plus basses.

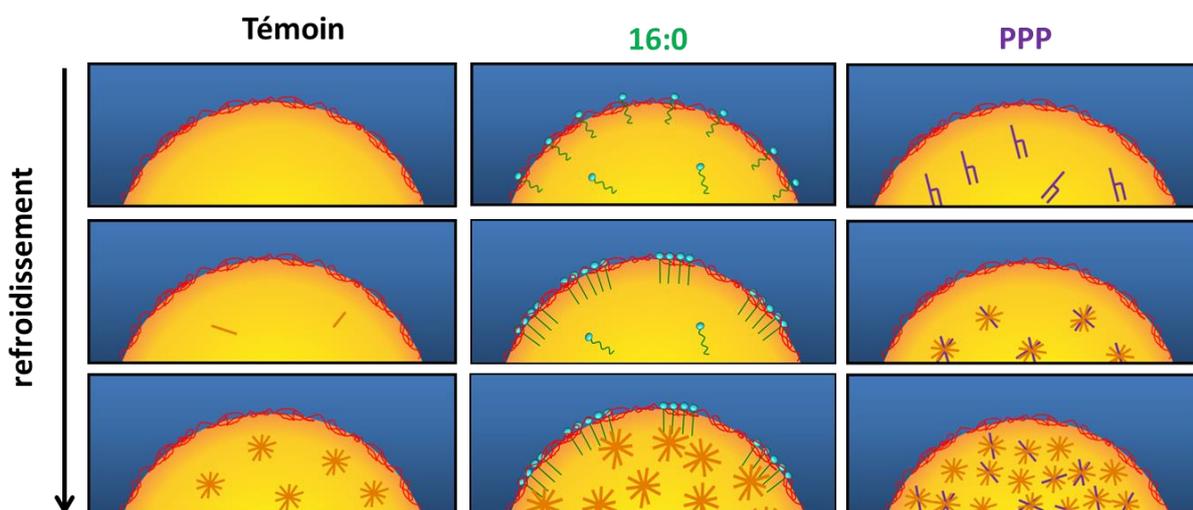


Figure 193 : Mécanismes d'actions présumés de l'acide palmitique (16:0) et de la tripalmitine (PPP) sur la matière grasse laitière émulsionnée

1.7. Conséquence de l'ajout de modulateurs sur les propriétés macroscopiques des émulsions

L'acide palmitique et l'acide oléique modifient la cristallisation de la matière grasse laitière lorsqu'elle est dispersée. Dans cette partie, nous étudierons l'impact de ces deux modulateurs sur des propriétés macroscopiques des crèmes reconstituées, à savoir leur stabilité au crémage et leur comportement rhéologique.

1.7.1. Stabilité au crémage des émulsions : influence de la taille des gouttes

La stabilité des émulsions vis-à-vis du crémage, évaluée sur un temps de stockage prolongé, est examinée à l'aide du Turbiscan. Les émulsions à 60 °C sont placées dans l'atmosphère

contrôlée de l'appareil, à 5 °C. La Figure 194 montre l'évolution de l'intensité lumineuse rétrodiffusée pour les trois émulsions. L'abscisse correspond à la hauteur dans le tube, l'ordonnée à l'intensité du signal rétrodiffusé et la couleur des courbes varie continument du bleu au rouge lorsque le temps augmente. La flèche noire à double sens, ajoutée manuellement, représente l'amplitude de la zone de clarification au bas du tube, synonyme de crémage : quand les gouttes de l'émulsion remontent, la zone basse s'appauvrit en gouttes, la lumière est moins rétrodiffusée, donc l'intensité diminue.

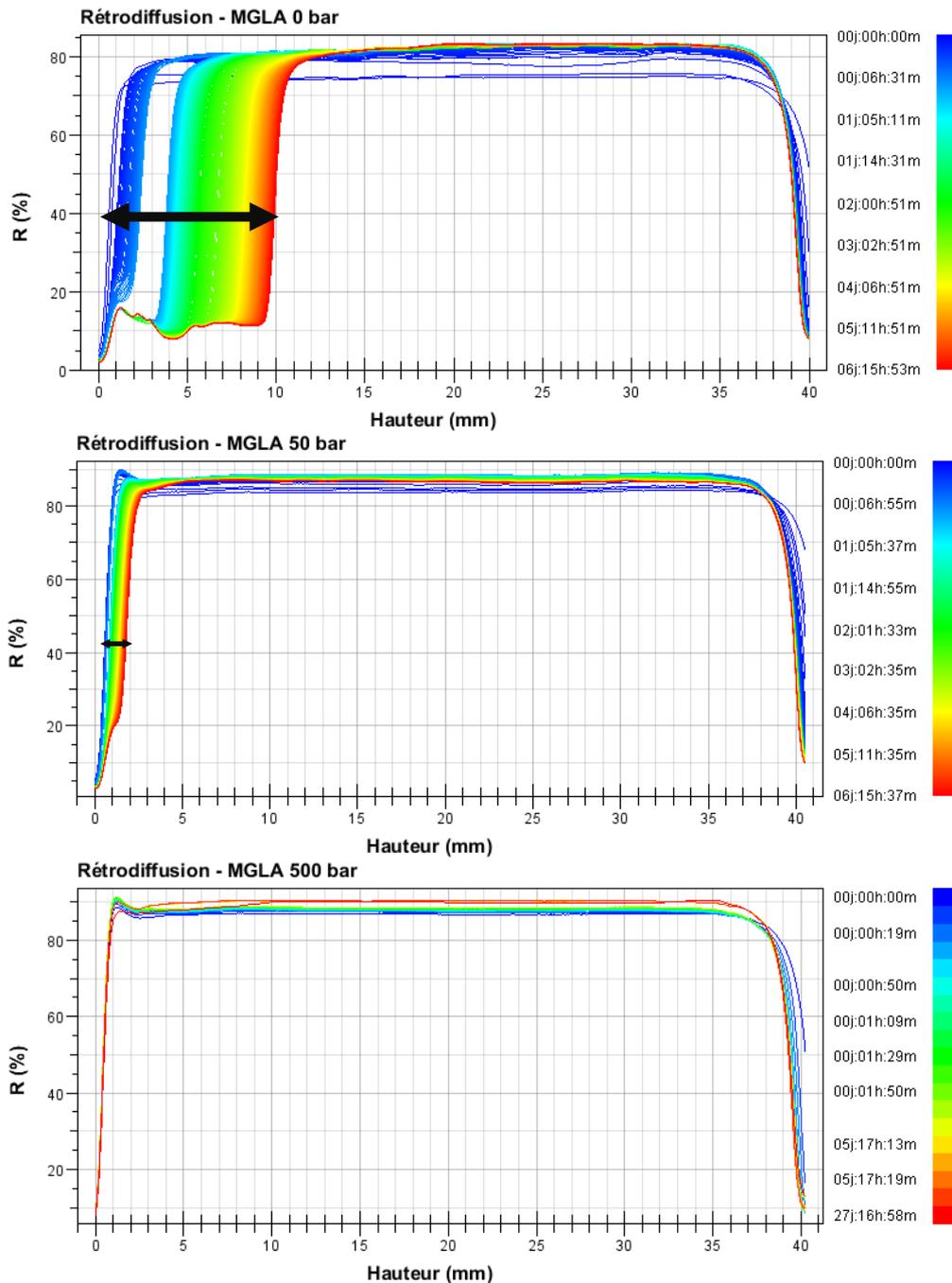


Figure 194 : Évolution du signal de rétrodiffusion du Turbiscan à 5 °C pour trois émulsions de MGLA obtenues par homogénéisation à 0 bar, 50 bars et 500 bars

La largeur de la zone de crémage est évaluée pour les trois émulsions et son évolution au cours du temps est présentée sur la Figure 195. L'émulsion à 5,9 μm de diamètre moyen est celle qui crème le plus vite : en 6 jours, une zone de 10 mm d'épaisseur, soit un quart de la hauteur totale de l'émulsion, s'est appauvrie en phase dispersée. Dans le même temps, l'épaisseur de la zone appauvrie n'est que de 2 mm pour l'émulsion à 2,2 μm de diamètre. L'émulsion la plus fine n'a quant à elle pas subi d'évolution notable pendant cette durée. Pour cette même émulsion, le crémage reste imperceptible, même après 27 jours de stockage. Le taux de migration des gouttes dans le tube est déterminé en évaluant la pente moyenne des courbes entre 1 et 5 jours (considérée comme une zone de régime stationnaire). Il est de 0,05 mm/h pour l'émulsion non homogénéisée, de 0,01 mm/h pour l'émulsion homogénéisée à 50 bars et de 0 mm/h pour l'émulsion homogénéisée à 500 bars.

L'évolution qualitative de la vitesse de crémage en fonction du diamètre moyen des gouttes s'explique par deux effets concomitants. D'une part, selon la loi de Stokes (chapitre 1 §2.2.1), la vitesse de crémage d'une goutte évolue comme son rayon au carré. D'autre part, l'agitation brownienne des gouttes qui tend à maintenir l'homogénéité est d'autant plus intense que les gouttes sont fines.

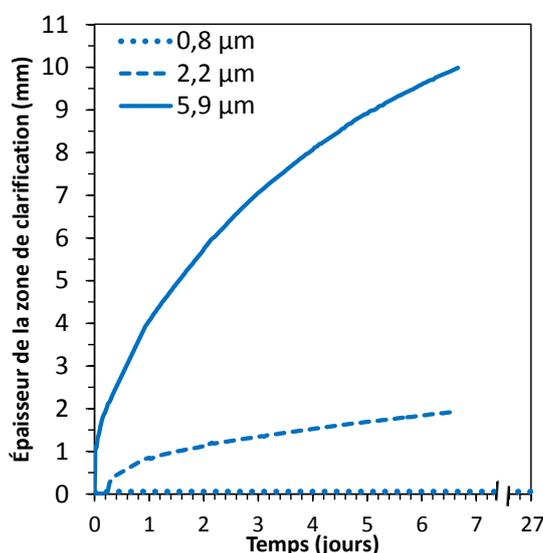


Figure 195 : Épaisseur de la zone de clarification en bas du tube pour trois émulsions de MGLA de diamètres moyens différents : 0,8 μm , 2,2 μm et 5,9 μm

1.7.2. Stabilité au crémage des émulsions : effet de l'acide palmitique et de l'acide oléique

L'effet des acides palmitique et oléique sur le crémage est étudié sur 4 jours. Les émulsions homogénéisées ne crèment que très peu, voire pas du tout sur cet intervalle de temps. Seule

l'évolution des émulsions non homogénéisées (5,8 μm de diamètre) est présentée sur la Figure 196.

Le crémage dans le tube est plus important pour l'émulsion contenant l'acide oléique. Après 96 h, la zone appauvrie en globules gras mesure 13,2 mm, soit le tiers de la hauteur de l'émulsion, contre 7 mm pour l'émulsion sans modulateur. À l'inverse, l'acide palmitique limite l'épaisseur de cette zone à 6 mm. La vitesse de crémage moyenne mesurée entre 4 h et 12 h est de 0,10 mm/h pour l'émulsion d'acide palmitique, de 0,18 mm/h pour celle de la MGLA seule et de 0,22 mm/h pour celle de l'acide oléique. On constate que l'effet des modulateurs sur le crémage intervient principalement pour la première heure de cristallisation dans le Turbiscan. Les évolutions relatives ne peuvent se justifier par les diamètres moyens des gouttes qui restent très proches pour les trois émulsions. L'accélération du crémage en présence d'acide oléique pourrait s'expliquer par une évolution de la rugosité interfaciale. En effet, si l'on admet que l'augmentation de la surfusion dans l'émulsion contenant l'acide oléique conduit à des cristaux plus petits et que l'adsorption de l'acide oléique à l'interface peut gêner la formation de cristaux à cet endroit, alors, en l'absence de cristaux saillants, les interfaces seraient plus lisses et le mouvement relatif des gouttes serait facilité. Au contraire, avec la MGLA seule, les interfaces seraient plus irrégulières et cette rugosité entraverait le mouvement relatif (glissement) des gouttes au contact. Dans le cas de l'acide palmitique, il est possible que la cristallisation commençant potentiellement par les interfaces et conduisant à une augmentation de la rugosité interfaciale, soit à l'origine du ralentissement du crémage.

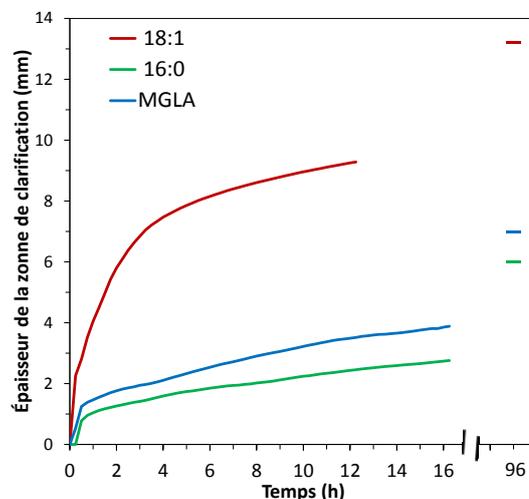


Figure 196 : Épaisseur de la zone de clarification en bas du tube pour les émulsions de MGLA de gros diamètre avec et sans acide palmitique (16:0) ou acide oléique (18:1)

L'effet facilitateur du crémage induit par l'acide oléique pourrait aussi justifier le taux de solide final (inattendu) plus élevé dans l'émulsion non homogénéisée contenant de l'acide oléique par rapport à celle qui n'en contient pas, lors de la cristallisation par trempe suivie par RMN (Figure 153). Dès les premières heures, cette émulsion crême plus rapidement que l'émulsion de MGLA seule. Cela conduit à une surconcentration de matière grasse dans la partie supérieure du tube, qui est justement la zone où le dispositif RMN mesure le taux de solide (Figure 197) et conduirait à une surestimation légère du taux de solide.

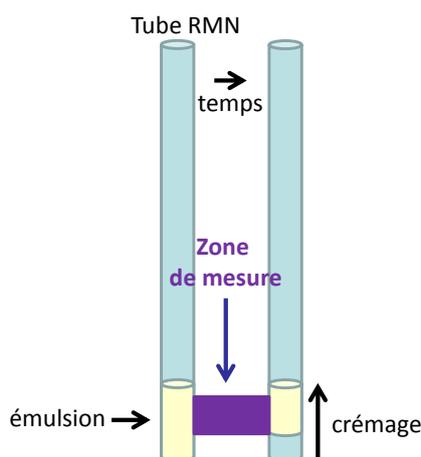


Figure 197 : Schéma illustrant la surconcentration de la matière grasse au niveau de la zone de mesure RMN lors du crémage

Le comportement rhéologique est une autre propriété macroscopique des émulsions susceptible de dépendre de l'état de cristallisation des gouttes. Nous avons montré dans les sections précédentes que les émulsions ne subissent pas le phénomène de coalescence partielle. En augmentant la fréquence des collisions, le cisaillement peut provoquer des événements de coalescence [8]. Nous avons fait le choix d'étudier les propriétés rhéologiques en régime oscillatoire de façon à ne pas perturber la structure colloïdale des systèmes.

1.7.3. Comportement rhéologique des émulsions en présence de modulateurs de cristallisation

1.7.3.1. Évolution du module élastique au cours de la cristallisation des émulsions

L'évolution du module élastique en cours de cristallisation, pour une émulsion de 6 μm , avec ou sans acide palmitique ou oléique est présentée sur la Figure 198. Quand les émulsions sont refroidies dans la cellule de Couette du rhéomètre, leur module élastique augmente d'un facteur 10. Des interactions entre les gouttes se mettent en place quand le taux de

solide augmente dans les gouttes. La coalescence partielle peut être exclue, puisque nous avons préalablement montré que, quel que soit le modulateur, la granulométrie des émulsions reste invariante après une trempe et un séjour prolongé à 5 °C. On remarque par ailleurs que l'ajout de modulateurs de cristallisation n'a pas d'effet significatif sur l'évolution du module élastique : les valeurs finales sont comprises entre 6 Pa et 10 Pa pour les trois émulsions.

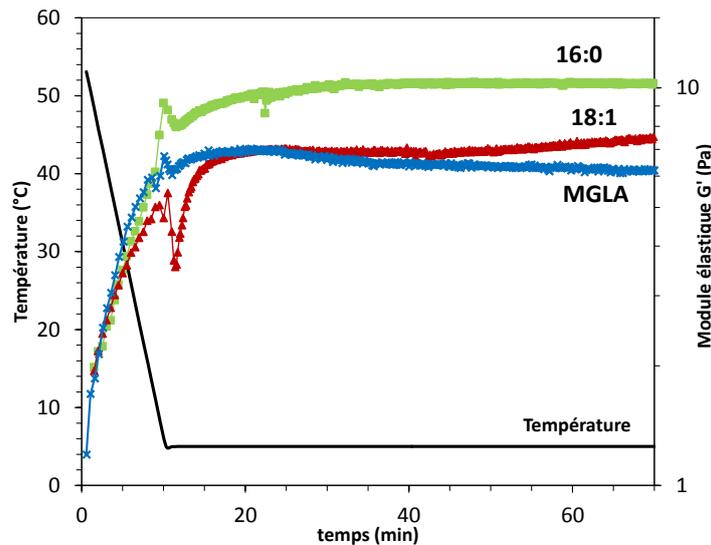


Figure 198 : Évolution du module élastique G' d'émulsions de MGLA de 6 μm de diamètre moyen, avec ou sans acide palmitique (16:0) ou acide oléique (18:1) à 1 %, au cours de la cristallisation ($dT/dt = 5 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ puis isotherme à 5 $^\circ\text{C}$)

1.7.3.2. Évolution du module élastique au cours d'un balayage en déformation

Le module élastique des émulsions est évalué pour les trois diamètres moyens étudiés (6 μm , 2 μm et 0,8 μm), après deux jours de cristallisation à 5 °C, par balayage en déformation dans une géométrie plan-plan (Figure 199). Les valeurs de G' en régime linéaire, toutes comprises entre 2 et 30 Pa, révèlent l'existence d'un gel faible, sans tendance particulière relativement à la taille moyenne des gouttes ou à la nature des modulateurs. Plusieurs types d'interactions peuvent se déployer dans de telles émulsions, notamment la déplétion, les pontages protéiques et le « jamming ».

La déplétion pourrait être induite par la présence de caséinates en excès dans la phase continue, comme le montre le calcul de couverture des interfaces du paragraphe 1.2.1. Mais si les interactions de déplétion étaient dominantes, le module élastique serait sensible à la taille des gouttes. En effet, l'énergie attractive associée à l'interaction de déplétion est proportionnelle au rayon des gouttes et à la fraction volumique des caséines en excès (chapitre 1 § 2.2.2.). L'agrégation devrait donc être plus prononcée dans l'émulsion à 6 μm

de diamètre que dans celle à 0,8 μm : le diamètre est plus important et les caséinates, moins mobilisés à l'interface, sont donc plus concentrés de la phase continue. Or, la valeur de G' est légèrement plus élevée pour les émulsions homogénéisées.

Le gel faible pourrait aussi s'expliquer par l'existence de pontages protéiques. L'augmentation du module élastique observé lors de la cristallisation des émulsions (Figure 198) suggère l'existence d'une connexion physique entre les gouttes. En effet, il a été montré dans la littérature que la cristallisation augmente le G' d'un gel de protéines à condition que les gouttes soient physiquement attachées au gel via les interfaces [9]. Si tel n'est pas le cas, la cristallisation a tendance à faire diminuer le G' . Mais la granulométrie comparative de notre émulsion de MGLA seule à 6 μm diluée dans l'eau ou dans le SDS ne montre aucune différence significative (données non reportées). Cela n'exclut pas l'existence de ponts protéiques entre les gouttes, qui peuvent être très faibles et détruits dans la cellule de dispersion du granulomètre sous l'effet de l'agitation.

Il est également possible que les gouttes cristallisées présentent des aspérités de surfaces gênant les mouvements relatifs, c'est-à-dire les glissements des gouttes les unes par rapport aux autres. Cette situation de blocage confère au système des propriétés de gel. On parle de « jamming » [8].

Quelle que soit la cause de la faible gélification des émulsions étudiées, l'ajout de modulateurs de cristallisation ne modifie pas significativement la force du gel.

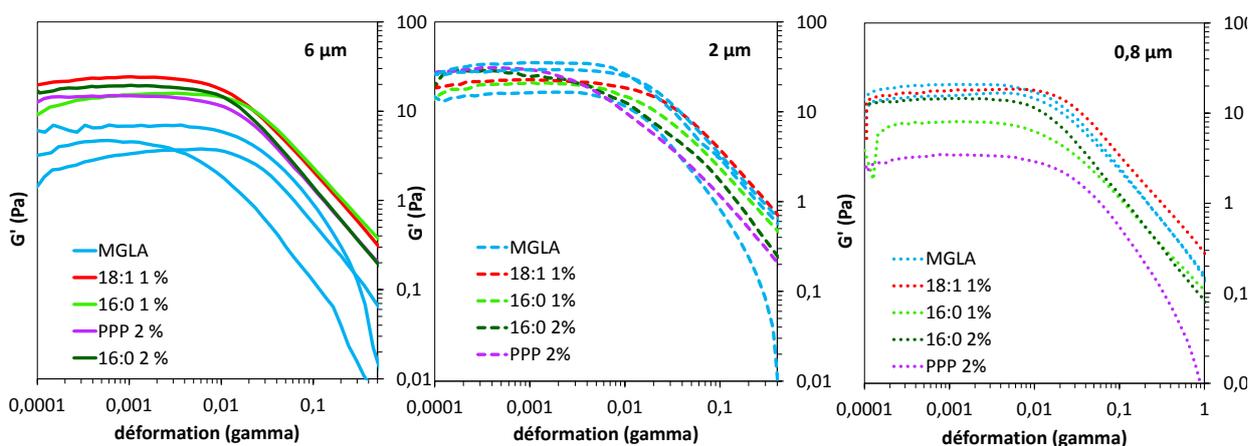


Figure 199 : Évolution du module élastique G' au cours d'un balayage en déformation pour des émulsions de MGLA avec ou sans modulateurs, pour trois tailles de gouttes correspondant aux trois pressions d'homogénéisation : 0 bar, 50 bars, 500 bars

Le module élastique représente l'aptitude du système à stocker l'énergie. Son indépendance vis-à-vis de la taille des gouttes nous amène à la conclusion que le stockage de l'énergie ne

se fait pas au niveau des interfaces et n'est donc pas contrôlé par la pression de Laplace des gouttes, comme dans les émulsions concentrées à base de gouttes liquides [10]. Il s'effectuerait donc principalement au niveau du volume des gouttes partiellement cristallisées. Comme le taux de solide varie assez peu d'un système à l'autre, quel que soit le modulateur et la taille des gouttes, le G' n'est pas significativement modifié d'un système à l'autre.

1.7.3.3. Évolution du module élastique au cours d'un cycle de tempéage

Dans la mesure où les acides palmitique et oléique possèdent une activité interfaciale, ils déplacent une partie des caséines des interfaces, et de ce fait, ils peuvent modifier la stabilité des émulsions vis-à-vis de la coalescence partielle [8].

Pour évaluer l'aptitude des modulateurs à induire la coalescence partielle au repos, les émulsions sont soumises à un cycle de tempéage au rhéomètre. Initialement introduites dans la géométrie plan-plan après 48 h de cristallisation à 5 °C, elles subissent un palier de tempéage à 25 °C pendant 15 minutes, avant d'être refroidies à 5 °C pendant une heure. Le cycle de tempéage a pour but d'accélérer la coalescence partielle des gouttes. En effet, il a été montré par F. Thivilliers [8] que l'application d'un traitement thermique de ce type provoque la gélification des émulsions par coalescence non relaxée des gouttes partiellement cristallisées (chapitre 1 § 2.3.2.). À 4 °C, les surfaces sont majoritairement recouvertes par des cristaux qui protègent les gouttes de la coalescence partielle. Lorsque la température est comprise entre 15 et 30 °C, comme cela est le cas sur le plateau de tempéage, une partie des cristaux fond et cette évolution favorise la coexistence de liquide et de solide aux interfaces. Si un cristal saillant appartenant à une goutte entre en contact avec une interface liquide appartenant à une goutte voisine, la forte pression au niveau du contact provoque le perçage du film liquide et la création d'un pont huileux irréversible entre les gouttes. La relaxation de forme induite par la tension interfaciale qui devrait conduire à la fusion totale des gouttes est inhibée par la rigidité intrinsèque des gouttes semi solides. Le matériau subit une gélification par formation d'un réseau tridimensionnel de globules connectés par coalescence partielle, ce qui se traduit par une augmentation progressive de G' et de G'' . La valeur finale des modules viscoélastiques reflète le niveau de connectivité et donc l'aptitude du matériau à subir la coalescence partielle. Il est ainsi

possible par application d'un cycle de tempérage, d'étudier l'aptitude des modulateurs à modifier la stabilité des émulsions

L'évolution du module élastique des émulsions au cours de ce cycle est présentée sur la Figure 200. Lorsque la température est portée à 25 °C, le module élastique de toutes les émulsions diminue. Les gouttes de matière grasse fondent partiellement. Quand leur température repasse à 5 °C, toutes ces émulsions retrouvent un module élastique très proche de sa valeur initiale. La recristallisation induite par le refroidissement ne conduit pas à la formation de liaisons solides supplémentaires. Autrement dit, aucun des modulateurs de cristallisation étudié ne semble induire de coalescence partielle au cours de ce cycle de tempérage.

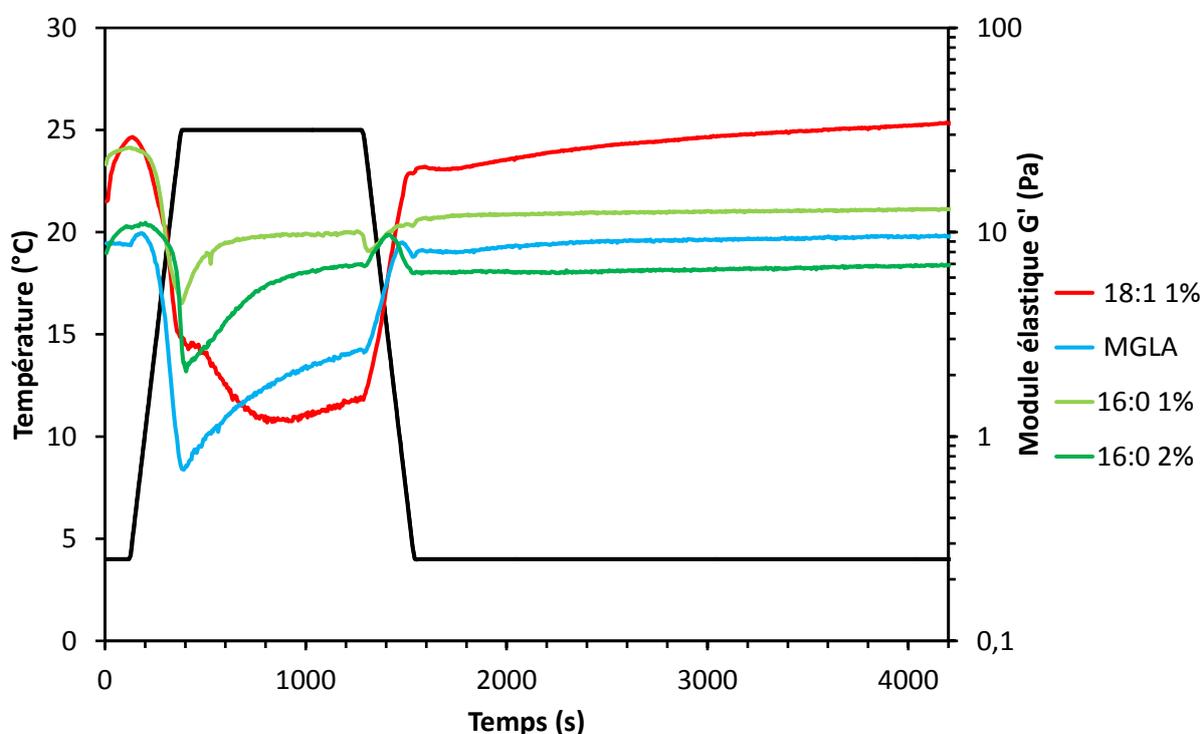


Figure 200 : Évolution du module élastique d'émulsion de MGLA de 6 μm de diamètre, avec et sans modulateurs de cristallisation, au cours d'un cycle de tempérage

Les distributions granulométriques avant et après tempérage des émulsions contenant de l'acide palmitique et de l'acide oléique ont été mesurées et se superposent parfaitement (Figure 201). Ceci prouve que la coalescence partielle ne s'est effectivement pas produite pendant le cycle thermique.

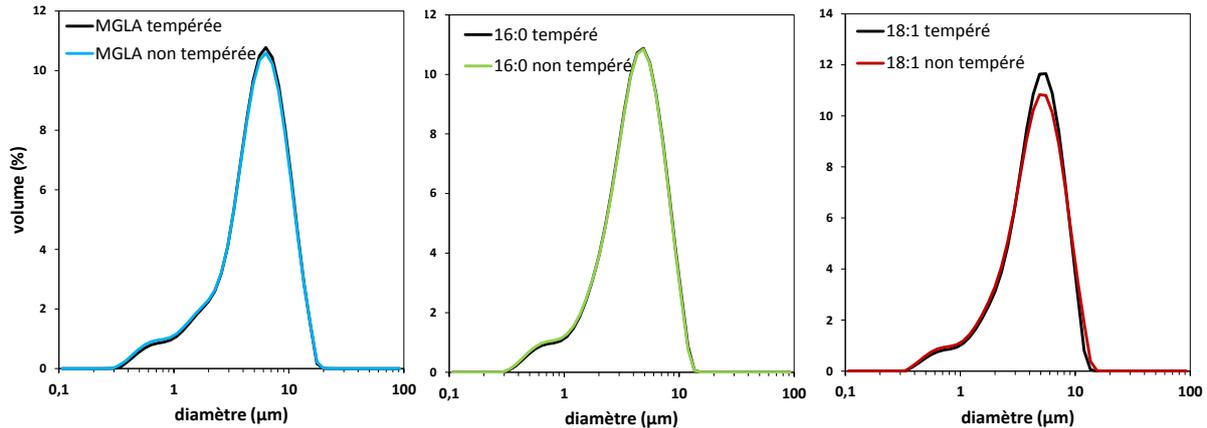


Figure 201 : Distribution granulométrique des émulsions de MGLA seule ou avec acide palmitique (16:0) et acide oléique (18:1) tempérées ou non tempérée

La résistance de ces émulsions au phénomène de coalescence partielle peut s'expliquer par la taille des gouttes mise en jeu. Dans la littérature, il a été observé que, même en présence d'un tensioactif hydrophile qui déplace les protéines à l'interface, la coalescence partielle dans des émulsions laitières reconstituées similaires aux nôtres ne se produit que dans les émulsions dont le diamètre moyen est supérieur à 10 µm [8].

Aussi, pour évaluer la capacité des modulateurs de cristallisation à induire ou prévenir le phénomène de coalescence partielle, nous avons fabriqué des émulsions de plus gros diamètre (>10 µm).

2. Cristallisation d'émulsions monodisperses de gros diamètre (> 10 µm)

Les techniques d'émulsification mises en œuvre dans la partie précédente ne sont plus adaptées. Pour réaliser des émulsions calibrées de gros diamètre, il est préférable de cisailier le mélange de phases non miscibles en régime laminaire, au moyen d'un dispositif de type Couette (cylindres concentriques). Dans un premier temps, l'évolution de la taille des gouttes avec les paramètres de l'émulsification (formulation et gradient de cisaillement) est évaluée sur une émulsion de MGLA sans modulateur. Puis, dans un second temps, l'acide palmitique est mis en jeu, pour étudier l'impact de cet accélérateur sur les propriétés de coalescence partielle des émulsions de gros diamètre.

2.1. Mise en œuvre des émulsions de MGLA monodisperses

La procédure de fabrication décrite en détail au chapitre 2 consiste à préparer une pré-émulsion visqueuse et très concentrée en phase dispersée, à la cisailier dans la cellule de

Couette, puis à la diluer. L'effet de plusieurs facteurs de formulation et de procédé sur le diamètre des gouttes de l'émulsion laitière reconstituée est évalué : la concentration de phase dispersée ou de caséinate de sodium du pré-mélange, la vitesse de rotation du cylindre mobile et la vitesse linéaire d'injection du piston dans l'émulsificateur. Les conditions mises en œuvre sont répertoriées dans le Tableau 44. Les données granulométriques et certaines des images de microscopie caractéristiques des émulsions obtenues sont présentées sur la Figure 202.

Tableau 44 : Variation de la taille des gouttes de l'émulsion en fonction des paramètres de formulation et d'émulsification

formulation	1	2	3	4	5	6	7
C _{protéine} ¹ (%m)	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	11,9	11,9
Φ _{MGLA} ² (%m)	82	82	85	88	91	91	88
émulsification							
γ̇ (s ⁻¹)	7350	13650	13650	13650	13650	13650	13650
vitesse d'injection (u.a.)	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	1
caractérisation							
D(4,3) (μm)	31,3	20,3	17,3	12,7	10,3	4,3	5,0
P (%)	20	18	19	22	15	14	13

¹ : concentration en protéines dans la phase aqueuse

² : concentration en matière grasse dans le mélange total

γ̇ : gradient de cisaillement

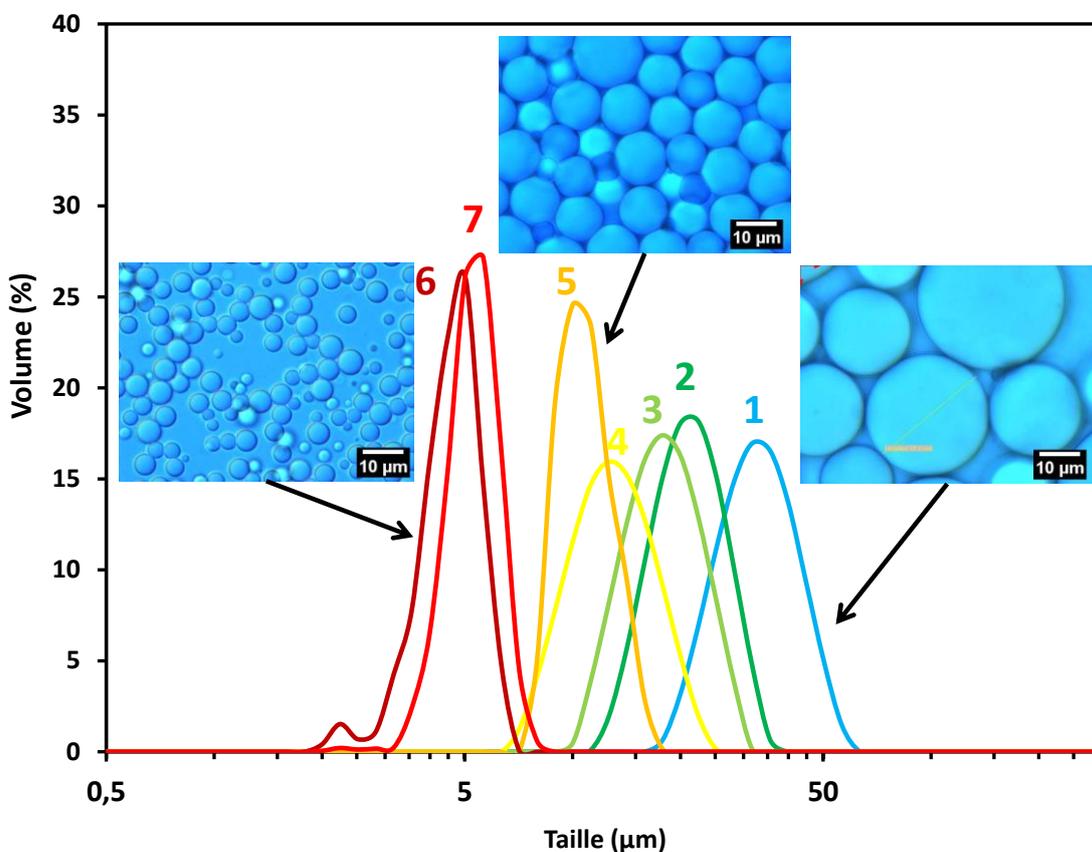


Figure 202 : Caractérisation par microscopie optique et granulométrie des émulsions monodisperses. Pour les conditions de formulation et d'émulsification des émulsions (numérotées de 1 à 7), se référer au Tableau 44

L'effet des facteurs de formulation et de procédé sur la granulométrie des émulsions est illustré en Figure 203. L'augmentation de la concentration en protéines et en matière grasse dans le pré-mélange augmente sa viscosité. De ce fait, à gradient de cisaillement constant, la contrainte visqueuse appliquée est plus importante et conduit à la diminution de la taille des gouttes de l'émulsion. De la même manière, la taille des gouttes diminue quand la vitesse de rotation du cylindre intérieur de la cellule de Couette et donc le gradient de cisaillement augmentent. Diminuer la vitesse d'injection du piston permet d'augmenter le temps de séjour de l'émulsion grossière dans la cellule de Couette, ce qui permet également de réduire le diamètre des gouttes.

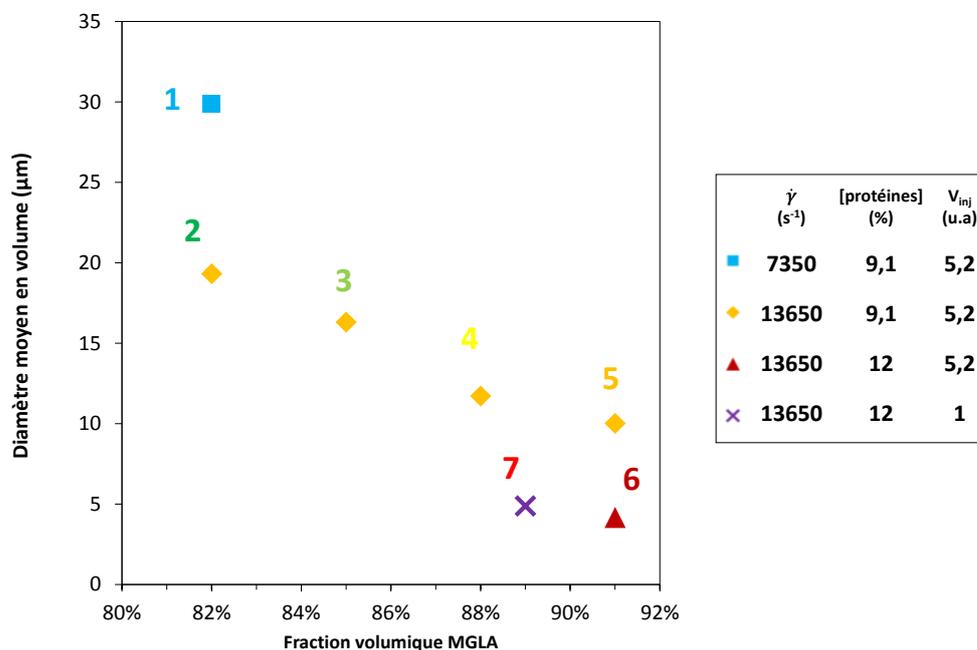


Figure 203 : Évolution du diamètre moyen en volume des émulsions en fonction des paramètres de formulation et d'émulsification : fraction volumique de matière grasse de l'émulsion de départ, gradient de cisaillement ($\dot{\gamma}$), concentration en protéines et vitesse d'injection (v_{inj}). Pour la signification du numéro de chaque émulsion (1 à 7), se référer au Tableau 44

En faisant varier les paramètres étudiés, il est donc possible d'obtenir des émulsions de diamètre moyen variable, dans une gamme allant de 4 μm à 31 μm . Les émulsions obtenues ont des distributions granulométriques très étroites. Cette propriété est mise en évidence par à la fois les images de microscopie optique de la Figure 202 et par les indices de polydispersité, P , inférieurs à 25% dans tous les cas (Tableau 44). Il a été montré par Mabile *et al.* [11] que le cisaillement appliqué en régime laminaire, en conditions non quasi-statiques (augmentation soudaine du gradient de cisaillement de 0 à la valeur de consigne), peut conduire à un régime de fragmentation monodisperse lorsque les deux conditions suivantes sont satisfaites : une absence de recombinaison (coalescence) et un rapport entre

la viscosité de la phase dispersée et de l'émulsion comprise entre 10^{-2} et 1. Ces conditions sont vraisemblablement respectées dans le cas présent.

2.2. Impact de l'acide palmitique sur les émulsions de MGLA monodisperses

2.2.1. Fabrication et caractérisation des émulsions en présence acide palmitique

Après émulsification et dilution, la composition est de 2 % de caséinate de sodium et de 40 % de matière grasse, elle-même composée de 99 % de MGLA et de 1 % d'acide palmitique.

Pour étudier dans le même temps l'effet de la taille des gouttes, en s'assurant de ne pas faire varier la formule, la même pré-émulsion est cisailée dans la cellule de Couette à deux vitesses différentes, variant du simple au double. Ces deux émulsions sont comparées aux émulsions témoins de MGLA sans acide palmitique, cisailées dans les mêmes conditions. Les niveaux de cisaillement et la composition des pré-émulsions mis en jeu sont présentés dans le Tableau 45. Les émulsions sont caractérisées par granulométrie et microscopie et les résultats sont présentés dans le Tableau 45 et la Figure 204. Les cisaillements plus faibles conduisent logiquement à des gouttes plus grosses.

Les émulsions à gros globules avec et sans acide palmitique ont des tailles proches, de l'ordre de 30 μm . En revanche, pour les émulsions fines, le diamètre moyen est bien plus faible en présence d'acide palmitique (11 μm contre 18 μm pour la MGLA seule). La diminution de la taille des gouttes en présence d'acide palmitique peut s'expliquer par la diminution de la tension de surface déjà évoquée (§ 1.5.1.). La pression de Laplace diminue, ce qui facilite le fractionnement des gouttes.

Tableau 45 : Évolutions des paramètres granulométriques des émulsions de MGLA seule et de MGLA avec 1% d'acide palmitique (16 :0), en fonction des paramètres de formulation et de procédé

		MGLA 1	MGLA 2	16:0 1	16:0 2
Formulation de la pré-émulsion	$C_{\text{protéines}}^1$ (%m)	8,8	8,8	8,8	8,8
	ϕ_{MG}^2 (%m)	85	85	85	85
	$C_{\text{modulateur}}^3$ (%m)	0	0	1	1
Émulsification	$\dot{\gamma}$ (s^{-1})	7497	14975	7497	14975
	$V_{\text{injection}}$ (u.a.)	3	3	3	3
Caractérisation	D(4,3) (μm)	32	18,2	28,1	10,6
	D(3,2) (μm)	29,7	16,7	24,7	9,4
	P (%)	22	24	29	28

$C_{\text{protéines}}^1$: concentration massique de protéines dans la phase aqueuse de la pré-émulsion

ϕ_{MG}^2 : fraction massique de matière grasse (MGLA + modulateur) dans la pré-émulsion

$C_{\text{modulateur}}^3$: concentration de modulateur dans la phase grasse

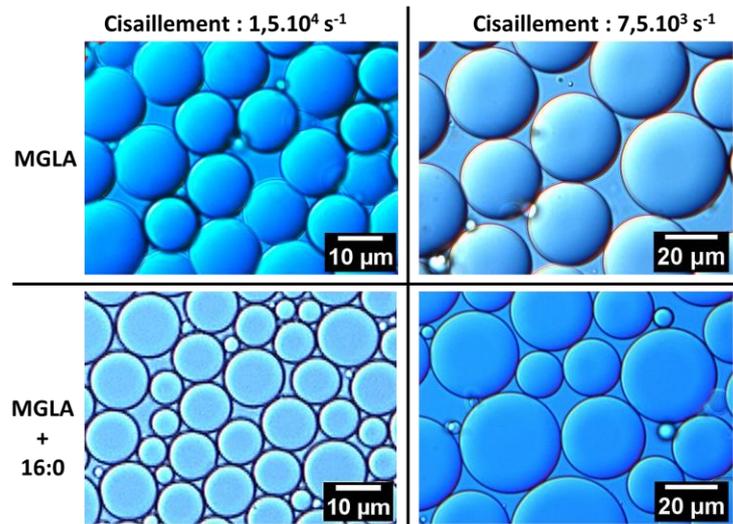


Figure 204 : Observations en microscopie optique d'émulsions de MGLA seule ou de MGLA avec 1 % d'acide palmitique (16 :0) fabriquées à deux niveaux de cisaillement (7500 s^{-1} et 15000 s^{-1})

Les émulsions sont placées à 4 °C pendant au moins 16 h, sur un agitateur rotatif à faible vitesse pour éviter leur crémage. Les tubes sont complètement remplis pour éviter la formation de bulles qui risqueraient de cisailier le système. Dans ces conditions, les émulsions ne coalescent pas. Elles restent fluides et la granulométrie des gouttes n'est pas modifiée. Ces émulsions cristallisées ont été observées par microscopie optique à 25 °C, en conditions d'éclairage standard et en lumière polarisée. Les images obtenues en présence d'acide palmitique sont reportées sur la Figure 205. Les cristaux de matière grasse formés au sein des gouttes sont clairement visibles sur les images en lumière polarisée.

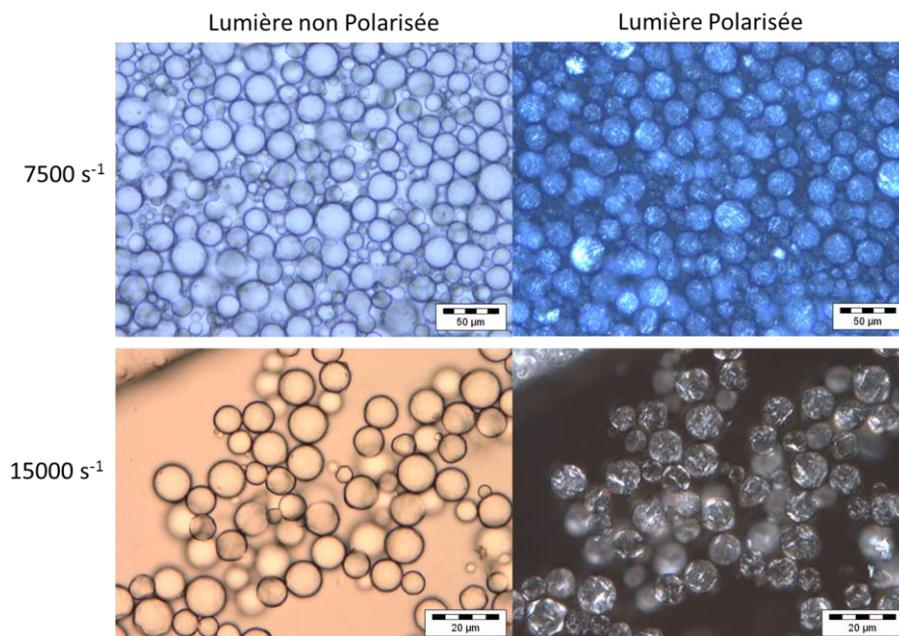


Figure 205 : Observations en microscopie optique, avec et sans polarisation de la lumière, d'émulsions de MGLA avec 1 % d'acide palmitique (16 :0) fabriquées à différents niveaux de cisaillement (7500 s^{-1} et 15000 s^{-1}) et cristallisées à 5 °C pendant 16 h

2.2.2. Propriétés fonctionnelles des crèmes : coalescence partielle

Pour évaluer la capacité de l'acide palmitique à induire le phénomène de coalescence partielle dans des émulsions de diamètre important, les quatre émulsions (avec ou sans modulateur, deux niveaux de cisaillement) ont été soumises à un cycle de tempérage dans le rhéomètre, en configuration plan-plan. Le cycle thermique appliqué à la crème reconstituée stockée à 4 °C consiste en une rampe rapide (+5 °C/min) de 5 °C à 25 °C, un plateau isotherme à 25 °C pendant 15 minutes, puis un refroidissement rapide (-5 °C) pour revenir à 4 °C. La température est ensuite maintenue à 4 °C pendant 30 minutes.

Lorsque la température est comprise entre 15 °C et 30 °C, comme cela est le cas sur le plateau de tempérage, une partie des cristaux fond et cette évolution favorise la coexistence de liquide et de solide aux interfaces. Nous avons par ailleurs observé un phénomène singulier lorsque la température augmente, illustré sur la Figure 206. Des « lentilles » liquides apparaissent très distinctement à la surface des gouttes. Ce phénomène se produisant à l'échelle de gouttes de taille colloïdale est analogue à l'exsudation macroscopique observée dans certaines matrices soumises à un choc thermique [12]. Le liquide qui se forme au sein des gouttes lors de la fusion possède une densité inférieure à celle des cristaux. La relaxation volumique globale des gouttes s'opère à une échelle de temps caractéristique très supérieure au temps de fusion local. De ce fait, le liquide au sein des gouttes est soumis à une forte surpression, ce qui provoque une « éruption » ou exsudation vers la surface.

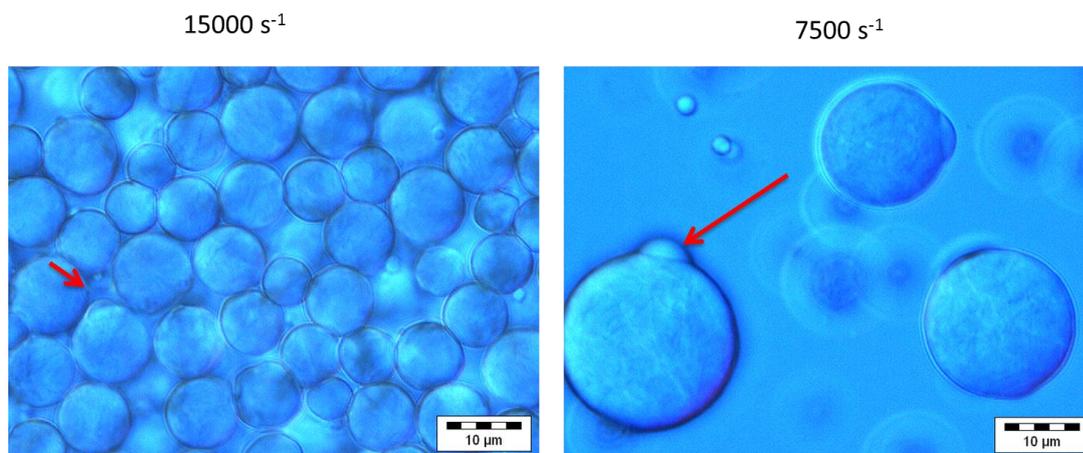


Figure 206 : Aspect des émulsions de MGLA avec 1 % d'acide palmitique, préparées à deux gradients de cisaillement (15000s⁻¹ et 7500 s⁻¹), cristallisées à 5 °C et portées à 25 °C pour l'observation microscopique. Les flèches rouges indiquent la formation de « lentilles » liquides

Les modules élastiques et visqueux obtenus avant et après tempéage (à $t = 55$ minutes) des quatre émulsions étudiées sont présentés dans le Tableau 46.

Tableau 46 : Évolution des modules élastique (G') et visqueux (G'') au cours du tempéage des émulsions de MGLA seule ou avec 1 % d'acide palmitique (16:0) de différents diamètres moyens

Émulsion	D(4,3) (μm)	t = 0 min, T=4 °C		t= 55 min, T = 4 °C	
		G' (Pa)	G'' (Pa)	G' (Pa)	G'' (Pa)
MGLA 1	32	11	5,1	8154	1785
16:0 1	28	8,0	4,6	13	2,8
MGLA 2	18	2,3	1,4	58	10
16:0 2	11	0,2	0,7	4,3	1,3

L'évolution des modules élastique et visqueux au cours du cycle de tempéage des deux émulsions de MGLA seule, à 32 μm et 18 μm de diamètre moyen, est représentée sur la Figure 207. Avant le tempéage, les deux émulsions ont un module élastique faible, compris entre 1 et 10 Pa. Lors de la rampe thermique ascendante, les globules fondent partiellement et de ce fait les modules diminuent. Au plateau isotherme, le phénomène de coalescence se produit et cela se traduit par une ré-augmentation des modules. L'accroissement reste toutefois modeste car la proportion de solide dans les gouttes est relativement faible. Lors de la rampe descendante, les modules augmentent de façon beaucoup plus prononcée en raison de la formation de cristaux au sein des globules connectés. Après le tempéage, lorsque la température revient à 4 °C, le module élastique de l'émulsion à 32 μm de diamètre moyen atteint quasiment 10^4 Pa, alors que l'émulsion à 18 μm présente un module élastique final de 60 Pa seulement. Ainsi, sous l'effet du tempéage, l'émulsion contenant les plus gros globules passe d'un état fluide à un gel fort. Ce phénomène peut être attribué à la coalescence partielle, rendue possible par la fusion d'une partie des cristaux de matière grasse à 25 °C, la connexion des gouttes par des contacts solide/liquide, puis la solidification du réseau de gouttes lors du retour de la température à 5 °C. Le module élastique de l'émulsion se rapproche alors de celui de la MGLA en phase continue, établi au chapitre 1, de l'ordre de 10^5 Pa. Cela montre qu'une forte connectivité s'établit dans l'émulsion lorsque la température redescend à 4 °C. Dans l'émulsion plus fine, un gel beaucoup plus faible se forme. L'augmentation plus modérée du module élastique lors du retour à 4 °C nous amène à penser que la densité de connexions par coalescence partielle est plus faible.

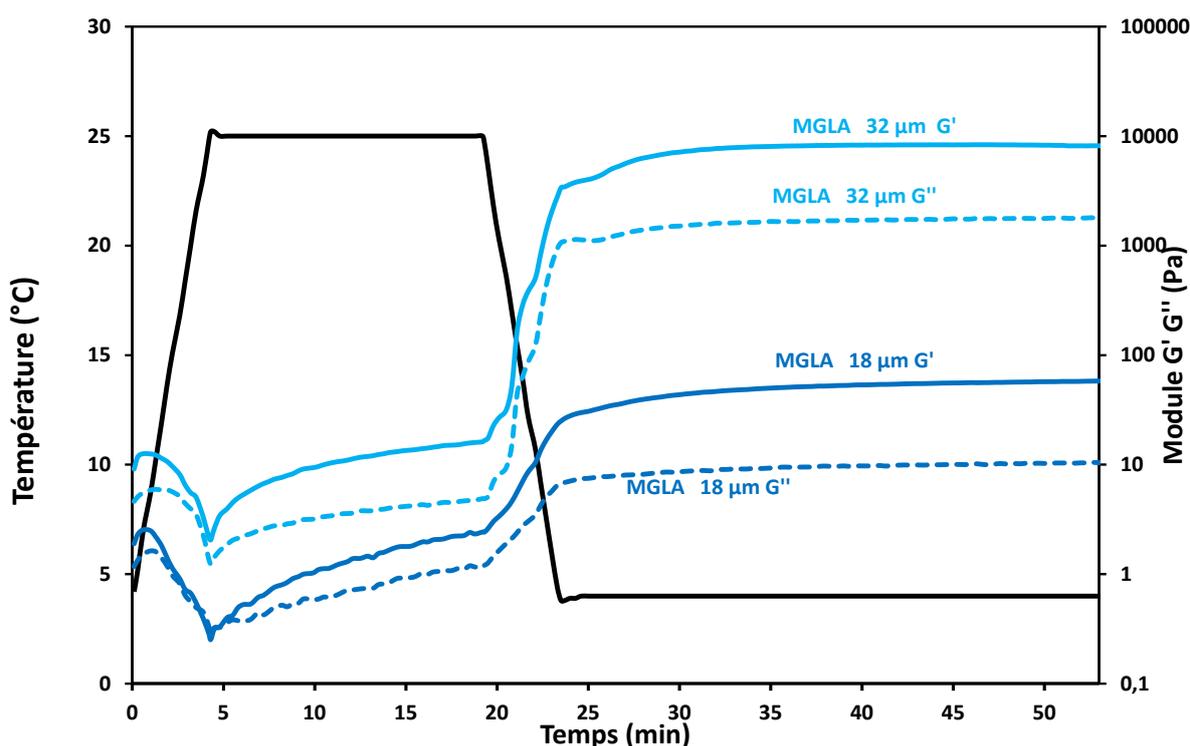


Figure 207 : Tempérage des émulsions de MGLA seule de diamètre moyen 32 μm et 18 μm . Évolution du module élastique G' et du module visqueux G''

Cet effet de la taille des gouttes sur la coalescence partielle dans des crèmes reconstituées a déjà été observé dans la littérature [8]. Pour des systèmes similaires, mais avec ajout d'un tensio-actif dans la phase aqueuse, il a été montré que la coalescence partielle ne se produit qu'au-delà d'un diamètre critique de l'ordre de 10 microns. Le phénomène de perçage du film requiert des cristaux suffisamment gros et saillants. Or, la taille des cristaux est d'autant plus élevée que les gouttes d'émulsion sont grosses.

La Figure 208 permet de comparer le comportement rhéologique d'émulsions de diamètre semblable, environ 30 μm , avec ou sans modulateur. Avant le tempérage, les deux émulsions ont un module élastique très proche. Mais, alors que l'émulsion à base de MGLA subit une forte gélification lors du tempérage, le module élastique final en présence d'acide palmitique reste très proche de sa valeur initiale. Dans ce dernier système, la coalescence partielle a donc été inhibée.

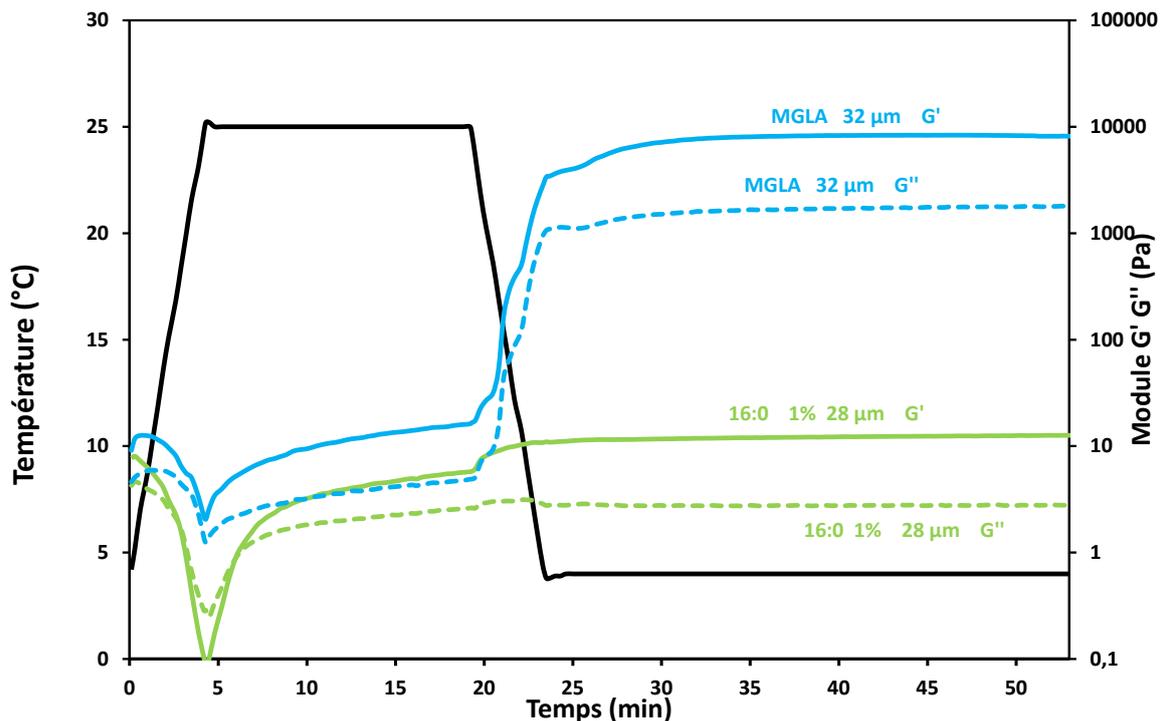


Figure 208 : Tempérage des émulsions de MGLA sans et avec acide palmitique (16:0), de diamètre moyen 30 μm . Évolution du module élastique G' et du module visqueux G''

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer la résistance à la coalescence de l'émulsion contenant l'acide palmitique :

- ce modulateur conduirait à la cristallisation de l'émulsion par les interfaces, comme nous l'avons déjà proposé. Du fait de sa nature tensioactive, cette molécule se concentre et cristallise aux interfaces. Lors du tempérage, il est possible qu'elle ne fonde pas et permette de conserver une « coquille » rigide autour des globules, les protégeant de la coalescence ;
- l'acide palmitique conduit à la formation de cristaux plus petits, et donc moins aptes à percer les interfaces lors de la cristallisation ;
- il favorise la formation de polymorphes de type α instables et ralentit leur transition vers des formes plus denses. Les formes β' , plus denses et plus rigides, seraient plus à même de percer les interfaces lors de la coalescence partielle.

Dans la littérature, plusieurs auteurs ont également montré que la cristallisation d'un tensioactif à longue chaîne aliphatique saturée à l'interface prévient la coalescence partielle des émulsions laitières [13,14].

Enfin, sur la Figure 209 nous reportons les courbes obtenues pour les deux émulsions contenant le modulateur. La valeur finale du module élastique est faible dans les deux cas, reflétant l'absence de coalescence partielle.

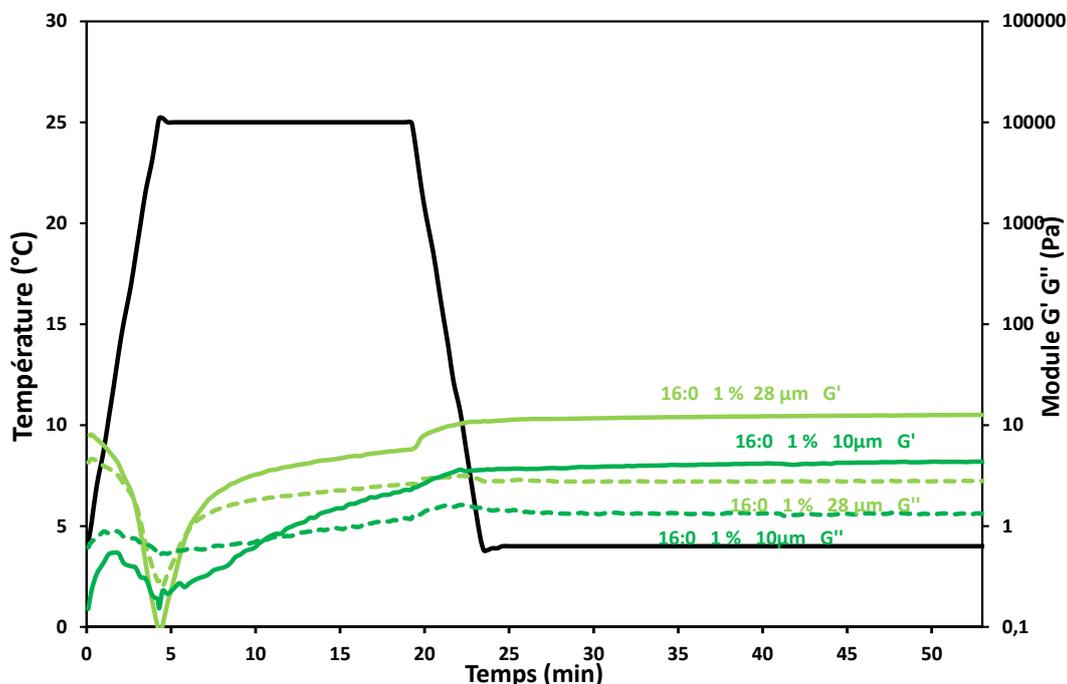


Figure 209 : Température des émulsions de MGLA avec acide palmitique (16:0), de diamètres moyens 28 μm et 10 μm . Évolution du module élastique G' et du module visqueux G''

Ces observations à l'échelle macroscopique reflètent indirectement l'impact de l'acide palmitique sur la cristallisation en phase dispersée. Son effet sur le taux de solide de la matière grasse est faible, mais il agit sur la nature (taille et forme polymorphique) et la localisation des cristaux dans la goutte.

3. Synthèse de l'action des modulateurs sur la cristallisation de la matière grasse laitière émulsionnée

Le Tableau 47 reporte les résultats obtenus en phase continue et en émulsion pour les deux types de refroidissement étudiés, par trempe ou en rampe contrôlée. Ainsi, l'effet des modulateurs de cristallisation identifié en phase continue n'est pas toujours retrouvé quand la MGLA est confinée dans des gouttes. Il est aussi très dépendant des conditions opératoires de refroidissement et du temps de stockage des émulsions pour l'étude des profils de fusion.

Tableau 47 : Synthèse de l'effet des modulateurs sur les paramètres de la cristallisation à 5 °C, par trempe ou en rampe (-5 °C/min), de la MGLA en phase continue ou dispersée, dans des émulsions de différents diamètres moyens

	cristallisation en rampe (DSC)				cristallisation en trempe (RMN)								
	Phase continue	Émulsion			Phase continue	Émulsion							
	T_c	6 μm	2 μm	0,8 μm	t_{ind}	vitesse ¹	6 μm	2 μm	0,8 μm	t_{ind}	vitesse ¹	t_{ind}	vitesse ¹
MGLA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3:0	-	=	=	=	+	-	=	=	=	=	=	=	=
18:1	-	-	-	-	=	=	=	=	+	-	+	-	-
16:0	+	+	+	+	+	-	=	=	-	+	-	+	+
PPP	+	+	+	+	+	-	-	=	-	+	-	+	+

T_c : température de cristallisation ; t_{ind} : temps d'induction

vitesse¹ : vitesse de la première étape de cristallisation

+ : augmente ; - : diminue ; = ne modifie pas

La difficulté dans le cas des émulsions est de faire la part entre l'impact du modulateur et celui de la granulométrie des gouttes. Dans le cas de l'acide propionique, il n'y a pas d'ambiguïté : son effet inhibiteur disparaît du fait de sa solubilité en phase aqueuse. Ainsi, pour avoir un effet sur la cristallisation, les modulateurs doivent être confinés dans la phase grasse, ce qui exclut le recours aux acides gras à courte chaîne et réduit donc très largement le spectre des molécules utilisables pour inhiber la cristallisation dans les systèmes émulsionnés.

Le cas des modulateurs présents à la fois à l'interface entre l'huile et l'eau et dans le volume des gouttes est plus difficile à anticiper. En cristallisation dynamique à -5 °C/min, l'acide oléique et l'acide palmitique conservent leurs effets respectifs d'inhibiteur et de promoteur sur la MGLA émulsionnée. En revanche, leur impact sur le profil de fusion de la MGLA en phase dispersée, avec et sans modulateur, est différent : il est très peu modifié dans le cas de l'acide oléique après un temps de stockage supérieur à 90 min contrairement à ce qui est observé en présence d'acide palmitique, même après 48 heures de stockage à basse température.

La comparaison de l'effet promoteur de l'acide palmitique et de la tripalmitine permet de discuter des mécanismes d'action de ces modulateurs dont les chaînes grasses sont de même longueur, le premier agissant préférentiellement par l'interface et le second par le volume des gouttes. Tous deux conservent un effet promoteur en émulsion. Leur impact est surtout visible sur les profils thermiques qui sont modifiés par rapport à la MGLA émulsionnée seule, même après 48 heures de stockage à basse température. Ces résultats

suggèrent que l'acide palmitique induit une ségrégation des cristaux lors de la cristallisation, probablement entre les interfaces et le volume de la goutte, alors que la tripalmitine formerait des cristaux mixtes avec les triglycérides de la MGLA.

Les propriétés macroscopiques, comme le module élastique des émulsions, sont faiblement impactées par la présence des modulateurs. Pour des émulsions de faible diamètre moyen ($< 10 \mu\text{m}$), ils n'induisent pas de coalescence partielle. La coalescence partielle peut toutefois être induite par tempérage dans les émulsions de gros diamètre ($> 10 \mu\text{m}$). Ce phénomène peut être utilisé comme un levier pour élaborer des systèmes gélifiés très fermes. En présence d'acide palmitique, la cristallisation interfaciale forme une coque solide protégeant les gouttes, même très grosses ($30 \mu\text{m}$), de la coalescence partielle.

Bibliographie du chapitre 4

- [1] M.-C. Michalski, M. Ollivon, V. Briard, N. Leconte, C. Lopez, Native fat globules of different sizes selected from raw milk: thermal and structural behavior, *Chem. Phys. Lipids.* 132 (2004) 247–261.
- [2] E.W. Robson, D.G. Dalgleish, Interfacial Composition of Sodium Caseinate Emulsions, *J. Food Sci.* 52 (1987) 1694–1698.
- [3] C. Lopez, C. Bourgaux, P. Lesieur, S. Bernadou, G. Keller, M. Ollivon, Thermal and Structural Behavior of Milk Fat: 3. Influence of Cooling Rate and Droplet Size on Cream Crystallization, *J. Colloid Interface Sci.* 254 (2002) 64–78.
- [4] C. Lopez, F. Lavigne, P. Lesieur, G. Keller, M. Ollivon, Thermal and Structural Behavior of Anhydrous Milk Fat. 2. Crystalline Forms Obtained by Slow Cooling, *J. Dairy Sci.* 84 (2001) 2402–2412.
- [5] P. Khuwijitjaru, Y. Kimura, R. Matsuno, S. Adachi, Solubility of oleic and linoleic acids in subcritical water, *Food Sci. Technol. Res.* 10 (2007) 261–263.
- [6] A. Karleskind, *Manuel des corps gras, Technique et Documentation - Lavoisier*, 1992.
- [7] G.H. Bell, Solubilities of normal aliphatic acids, alcohols and alkanes in water, *Chem. Phys. Lipids.* 10 (1973) 1–10.
- [8] F. Thivilliers, Gels d'émulsions à base d'huiles cristallisables: mécanismes de formation et propriétés rhéologiques, *Chimie de la Matière Condensée : Bordeaux 1 : 2007*, 2007.
- [9] E. Dickinson, J. Chen, Heat-Set Whey Protein Emulsion Gels: Role of Active and Inactive Filler Particles, *J. Dispers. Sci. Technol.* 20 (1999) 197–213.
- [10] T. Dimitrova, *Emulsions stabilisées par les protéines : forces colloïdales, rhéologie et crémage, Bordeaux 1*, 2000.
- [11] C. Mabile, F. Leal-Calderon, J. Bibette, V. Schmitt, Monodisperse fragmentation in emulsions: Mechanisms and kinetics, *EPL Europhys. Lett.* 61 (2003) 708.
- [12] A. Kermarec, *Exsudation et rhéophysique des matériaux hétérogènes solide / liquide à base de corps gras, Bordeaux 1*, 2011.
- [13] L. Goibier, S. Lecomte, F. Leal-Calderon, C. Faure, The effect of surfactant crystallization on partial coalescence in O/W emulsions, *J. Colloid Interface Sci.* 500 (2017) 304–314.
- [14] E. Fredrick, *Fat crystallization and partial coalescence in dairy creams: Role of monoacylglycerols, Ghent University*, 2011.

Conclusions et perspectives

Ce travail de thèse s'est inscrit dans le contexte très général de la cristallisation des corps gras, phénomène complexe, multifactoriel, mais indispensable à comprendre et à maîtriser, notamment pour le développement de produits alimentaires innovants. Plus précisément, cette étude s'est focalisée sur l'action des composés minoritaires sur la cristallisation de la MGLA dans la mesure où il y a peu d'études concernant la matière grasse laitière en phase continue et encore moins lorsqu'elle est émulsionnée.

Ce projet avait donc pour objectif d'apporter de nouvelles connaissances fondamentales sur l'influence de composés mineurs en tant que modulateurs potentiels de la cristallisation de la MGLA, qu'elle soit en phase continue ou dispersée. À travers les différentes études réalisées, nous avons abordé un certain nombre de questions et y avons apporté des éléments de réponses.

La première question concernait l'identification de modulateurs susceptibles d'impacter la cristallisation de la MGLA. Par le criblage cinétique à 25 °C d'une trentaine de composés mineurs, nous avons identifié des modulateurs en phase continue qui accélèrent la cristallisation et d'autres qui la retardent. Une analyse quantitative des données générées a permis de les cartographier. Une attention particulière a été portée sur les acides gras libres, composés mineurs susceptibles d'être formés au cours des processus fromagers (produits de lipolyse, fermentation). À cette température, ils offrent une large gamme de possibilités pour modifier la cinétique de cristallisation de la matière grasse en phase continue, en fonction de la longueur de leur chaîne aliphatique et de la présence d'insaturations.

La deuxième question, plus fondamentale, visait à mieux comprendre les mécanismes mis en jeu dans la modulation de la cristallisation (inhibition ou accélération) en phase continue, en termes de nucléation, de croissance et d'évolution polymorphique. Pour aborder cette question, l'organisation du réseau cristallin a été caractérisée à différentes échelles. Un faisceau d'indicateurs cohérents nous a permis de proposer que les acides gras libres agiraient principalement sur l'étape de nucléation. Pour toutes les molécules étudiées, l'effet sur la cinétique de cristallisation est dépendant de la concentration de modulateur mis en jeu : qu'ils soient accélérateurs ou inhibiteurs, plus ils sont concentrés, plus ils sont

efficaces. Néanmoins, le pouvoir des modulateurs étudiés est considérablement diminué quand la matière grasse est cristallisée à basse température. La surfusion, force motrice de la cristallisation, impose des vitesses de nucléation et croissance importantes et l'action des modulateurs reste marginale à faible concentration. L'action des composés mineurs devient du second ordre par rapport aux paramètres externes des procédés de cristallisation, comme la vitesse de refroidissement ou la température de cristallisation. En mettant en jeu des mélanges de promoteurs et d'inhibiteurs, il a été possible de hiérarchiser plusieurs composés mineurs selon leur pouvoir modulateur. Ce dernier point répondait à la question de l'existence de synergies ou d'antagonismes lorsque plusieurs modulateurs sont présents simultanément dans un même système.

Une des questions cruciales de ce travail de thèse concernait l'impact de l'état de la MGLA, *i.e.* en phase continue ou en émulsion vis-à-vis de l'action des modulateurs. Nous avons démontré que les mécanismes d'action des modulateurs sont impactés par la dispersion de la matière grasse laitière. Pour pouvoir agir sur la cristallisation, les modulateurs doivent être présents dans les gouttes, dans leur volume ou aux interfaces. De plus, en émulsion, leur effet sur la cinétique de cristallisation passe après celui de la taille des gouttes de l'émulsion. Même si leur action n'est pas prédominante, ils peuvent néanmoins, pour chaque taille, influencer la cinétique de cristallisation et orienter la nature des cristaux, *i.e.* la formation de cristaux mixtes ou la ségrégation de phase.

Outre l'impact des modulateurs sur la morphologie des cristaux et les propriétés thermiques et cristallographiques, leur influence sur la stabilité des émulsions est une question à la fois fondamentale et appliquée puisque liée aux phénomènes de crémage ou de coalescence partielle. Cette question a été abordée, notamment, par l'impact de la présence d'acide palmitique dans des émulsions de gros diamètre ($> 10 \mu\text{m}$). En cristallisant par l'interface, ce modulateur protège les émulsions du phénomène de coalescence partielle lors d'un tempérage. D'un point de vue applicatif, cette propriété originale de cet acide gras pourrait permettre de stabiliser des émulsions laitières de gros diamètres soumises à des fluctuations thermiques, par exemple lors du transport ou de la conservation. En effet, les émulsions laitières de gros diamètre, partiellement cristallisées, sont par nature sensibles aux variations de température. L'utilisation d'acide palmitique semble être une bonne réponse

pour les stabiliser. Il pourrait être une alternative aux hydrocolloïdes dissous dans la phase aqueuse pour stabiliser les crèmes industrielles.

D'un point de vue méthodologique, cette partie a permis de mettre en place des méthodes de suivi de la cinétique de cristallisation et d'évaluation de la structure de la matière grasse à différentes échelles au laboratoire. La RMN bas champs s'est révélée efficace pour suivre la cinétique globale de cristallisation. Elle nécessite peu de préparation et peu de traitements des résultats. Couplée à la modélisation et aux statistiques, elle a permis d'établir une cartographie des modulateurs de cristallisation. Mais elle n'est pas assez résolutive pour étudier les phases précoces de la nucléation et ne donne pas d'information sur l'organisation du réseau cristallin. Elle a donc été complétée par une méthode optique pour évaluer l'énergie d'activation de nucléation et par des analyses de structure. La diffraction des rayons X est la méthode la plus puissante par sa capacité à résoudre la nanostructure des cristaux et donc à élucider des scénarios d'évolution de façon très fine. Mais dans notre cas, les longs temps d'exposition nécessaires à l'acquisition de signaux bien résolus et la rendent peu adaptée pour un suivi cinétique. La microscopie à lumière polarisée est une méthode utile dans l'étude de la cristallisation : la structure microscopique illustre bien les mécanismes de cristallisation et permet d'expliquer les propriétés macroscopiques du système. Le traitement quantitatif des images a permis d'appuyer les propositions de mécanismes par des données objectives. Elle reste néanmoins limitée pour les petits cristaux du fait de sa résolution. Enfin, la rhéologie permet d'appréhender la texture du produit, ce qui, *in fine*, est la donnée la plus importante d'un point de vue applicatif.

Pour étudier la cristallisation en émulsion, les méthodes analytiques doivent être reconsidérées. Il s'avère que la RMN, très adaptée au suivi de cristallisation de la MGLA en phase continue, l'est beaucoup moins en milieu émulsionné. Le crémage des émulsions en cours de cristallisation (mis en évidence par des études de stabilité au Turbiscan) peut perturber la mesure. La DSC donne, dans notre cas, des informations plus intéressantes pour proposer des mécanismes d'action des modulateurs. L'observation des cristaux en microscopie en lumière polarisée dans des émulsions de faible diamètre est complexe, la taille des gouttes limitant la taille des cristaux. Cette méthode n'a été utilisée que pour caractériser les émulsions et observer une éventuelle coalescence partielle. Le recours à la diffraction des rayons X pourrait permettre d'identifier les formes cristallines mises en jeu au

cours de la cristallisation dans ces systèmes dispersés. Mais leur utilisation pour des suivis cinétiques de cristallisation en émulsion est très lourde et il est probable qu'un recours au synchrotron soit nécessaire pour pouvoir étudier ce phénomène. Les mesures de tensiométrie et la visualisation des phénomènes de cristallisation au sein des gouttes se sont révélées intéressantes pour affiner les mécanismes des modulateurs aux interfaces ou en volume.

Les perspectives de ce travail sont multiples. D'un point de vue fondamental, plusieurs pistes sont envisageables.

Une utilisation de fractions de MGLA pourrait permettre de simplifier le système et de mettre en évidence des interactions plus ciblées des modulateurs avec certains TAG de la MGLA.

Il est connu que le cisaillement appliqué lors du refroidissement peut impacter la microstructure des cristaux. Il serait donc intéressant d'imposer aux systèmes contenant des modulateurs un cisaillement contrôlé pendant et après la cristallisation et de suivre l'évolution de la microstructure et de la viscosité. Cette étude pourrait être menée aussi bien en phase continue qu'en milieu dispersé. Le cisaillement appliqué, en augmentant la fréquence et l'intensité des collisions entre les gouttes pourrait favoriser la nucléation secondaire, et la coalescence partielle.

Une analyse des formes polymorphiques présentes en émulsion permettrait de répondre à certaines questions en suspens concernant l'interprétation des profils thermiques observés en DSC.

Au cours de l'étude, il a été montré que les modules élastiques des émulsions ont tendance à augmenter lors de la cristallisation. Bien que des hypothèses aient été émises, l'origine du phénomène reste inconnue. Le stockage d'énergie dans les émulsions contenant des gouttes semi-cristallisées ne semble pas dicté par la pression de Laplace comme cela est le cas dans les émulsions concentrées à base de gouttes totalement liquides. Il existe donc à ce niveau un large champ d'investigation, l'enjeu étant d'utiliser la fraction de solide des gouttes et la localisation préférentielle des cristaux comme levier pour accéder à une large gamme de textures.

Nous avons considéré dans le cadre de cette étude des émulsions de type huile-dans-eau, représentatives des crèmes lactières. Or, les beurres sont des émulsions eau-dans-huile. L'étude de ces systèmes en émulsion inverse permettrait de s'affranchir des effets de confinement et de courbure car cette fois la croissance des cristaux s'effectue en direction de la phase continue. Ce modèle permettrait ainsi d'analyser le rôle intrinsèque des interfaces.

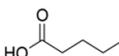
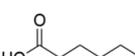
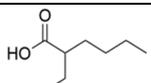
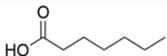
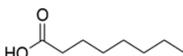
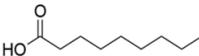
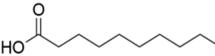
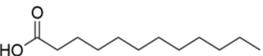
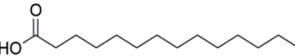
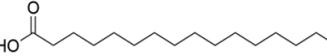
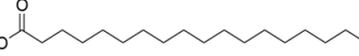
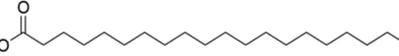
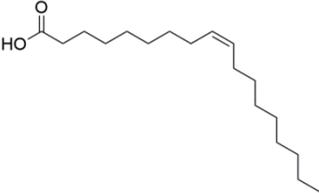
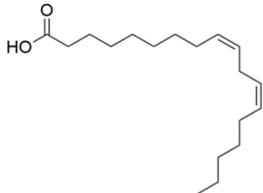
D'un point de vue plus appliqué, les retombées industrielles de ce travail se situent dans l'élaboration ou la rénovation de produits laitiers tels que les crèmes, les beurres ou les fromages à pâte fraîche, en maîtrisant les propriétés rhéologiques et sensorielles par l'orientation de la cristallisation de la matière grasse.

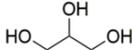
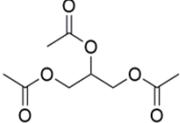
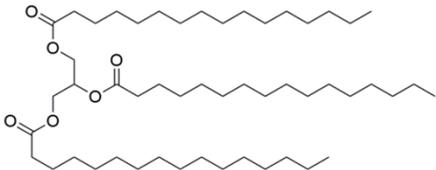
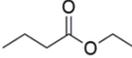
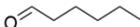
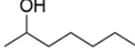
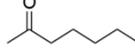
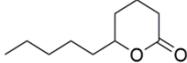
Annexes

Table des annexes

Annexe 1 : Représentations chimiques et abréviations des modulateurs testés.....	II
Annexe 2 : Formulaire statistique.....	IV
Annexe 3 : Cinétiques de cristallisation isotherme à 25 °C de la MGLA en présence de modulateurs de cristallisation.....	V
Annexe 4 : Courbe de de diffraction des rayons X à 25 °C normées par la valeur de l'intégrale du signal à t=0 min.....	VIII
Annexe 5 : Observations microscopiques des mélanges de MGLA et de modulateurs (1 %) cristallisés à 25 °C.....	IX
Annexe 6 : Énergies d'activation de nucléation en présence de modulateurs de cristallisation, déterminées par la méthode des tangentes.....	XIII
Annexe 7 : Énergies d'activation de nucléation en présence de modulateurs de cristallisation déterminées par la méthode de 1 % de variation de la transmission.....	XIV
Annexe 8 : Paramètres cinétiques de la MGLA et des inhibiteurs de cristallisation à concentration croissante.....	XVI
Annexe 9 : Paramètres cinétiques de la MGLA et de la tripalmitine à concentration croissante.....	XVII
Annexe 10 : Cinétiques de cristallisation RMN de la MGLA en présence de tristéarine à concentration croissante. Allure des courbes et paramètres cinétiques.....	XVIII
Annexe 11 : Allure des cinétiques de cristallisation de la MGLA en présence d'acide palmitique (16:0) et d'acide arachidique (20:0) à concentration croissante.....	XIX
Annexe 12 : Paramètres cinétiques de cristallisation de la MGLA en présence d'acide palmitique, d'acide stéarique et d'acide arachidique en concentrations croissantes.....	XX
Annexe 13 : Observations en microscopie à lumière polarisée des mélanges de MGLA et de modulateurs à 1 % cristallisés à 5 °C.....	XXI
Annexe 14 : Dimension fractale (Df) déterminée par traitement des images de microscopie à lumière polarisée après cristallisation de la MGLA et de ses mélanges avec des modulateurs à 5 °C pendant 4h.....	XXII
Annexe 15 : Profil thermique de recristallisation (-5°C/min) d'émulsions de MGLA de différents diamètres moyens, après une première cristallisation (-5°C/min), un palier isotherme de 90 min à 5 °C, et une fusion de 5 °C à 60 °C en rampe (+5 °C/min). Superposition avec la première cristallisation.....	XXII

Annexe 1 : Représentations chimiques et abréviations des modulateurs testés

Abréviations dans ce manuscrit	Nom du modulateur	Représentation chimique
2:0	acide acétique	
3:0	acide propionique	
4:0	acide butyrique	
5:0	acide valérique	
6:0	acide hexanoïque	
2-et-6:0	acide 2-ethyl hexanoïque	
7:0	acide heptanoïque	
8:0	acide octanoïque	
9:0	acide nonanoïque	
10:0	acide décanoïque	
12:0	acide laurique	
14:0	acide myristique	
16:0	acide palmitique	
18:0	acide stéarique	
20:0	acide arachidique	
18:1	acide oléique	
18:2	acide linoléique	

Abréviation dans ce manuscrit	Nom du modulateur	Représentation chimique
Gly	glycérol	
AAA	triacétine	
PPP	tripalmitine	
SSS	tristéarine	
etObut	butanoate d'éthyle	
etOac	acétate d'éthyle	
5ane	pentane	
6al	hexanal	
2-7ol	heptan-2-ol	
2-7one	heptan-2-one	
delta-déca	δ-decalactone	

Annexe 2 : Formulaire statistique

Une courbe expérimentale à p points est estimée par un modèle à q facteurs. En considérant que tous les points ont la même inertie, les paramètres statistiques suivants sont définis.

Somme des carrés à la moyenne :

$$SCM = \sum_{i=1}^p (y_i - \bar{y})^2$$

Avec y_i la valeur de la courbe expérimentale pour le i ème point et \bar{y} la moyenne de toutes les valeurs expérimentales.

Somme des carrés résiduels :

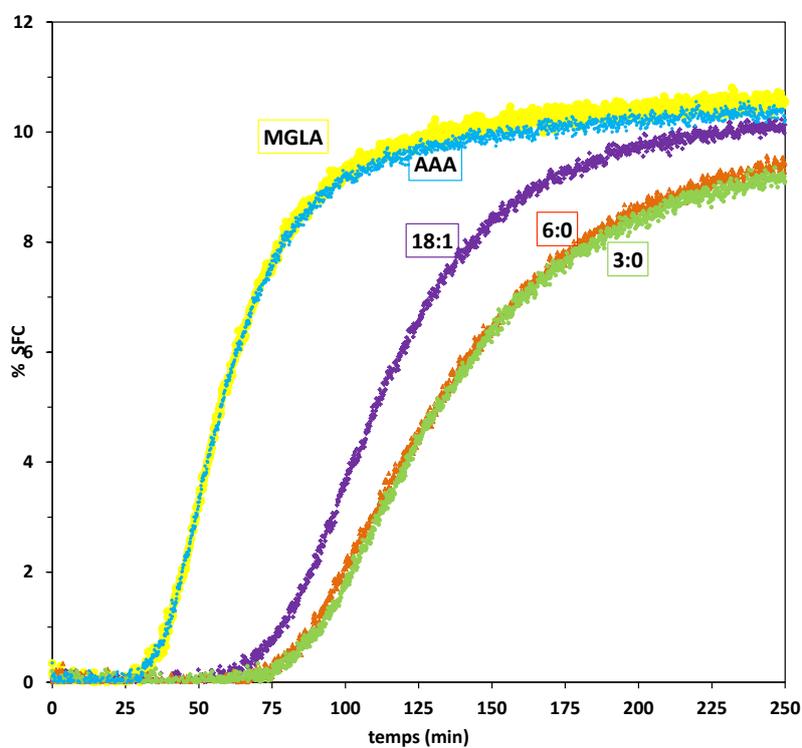
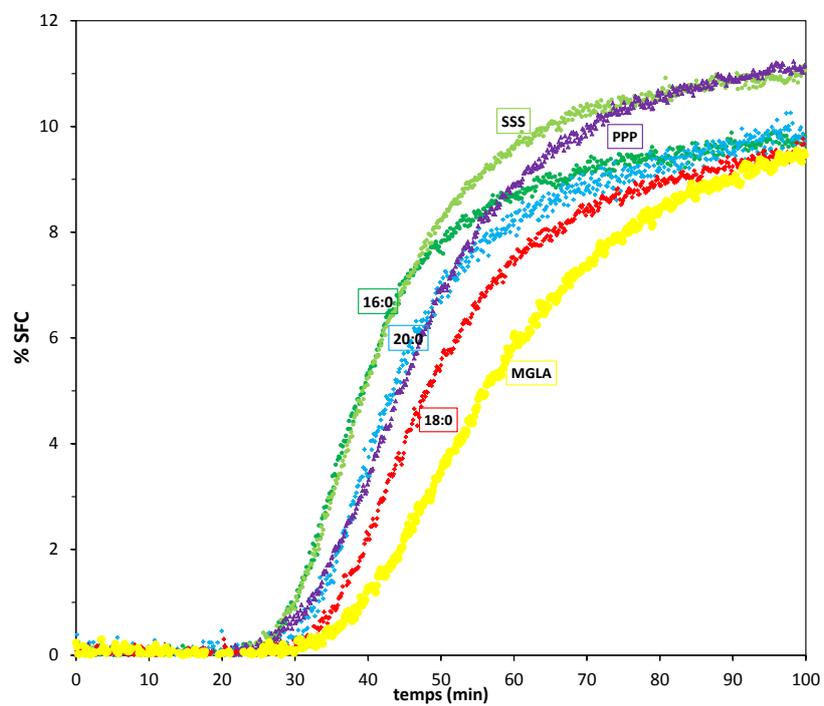
$$SCE = \sum_{i=1}^p (y_i - \hat{y}_i)^2$$

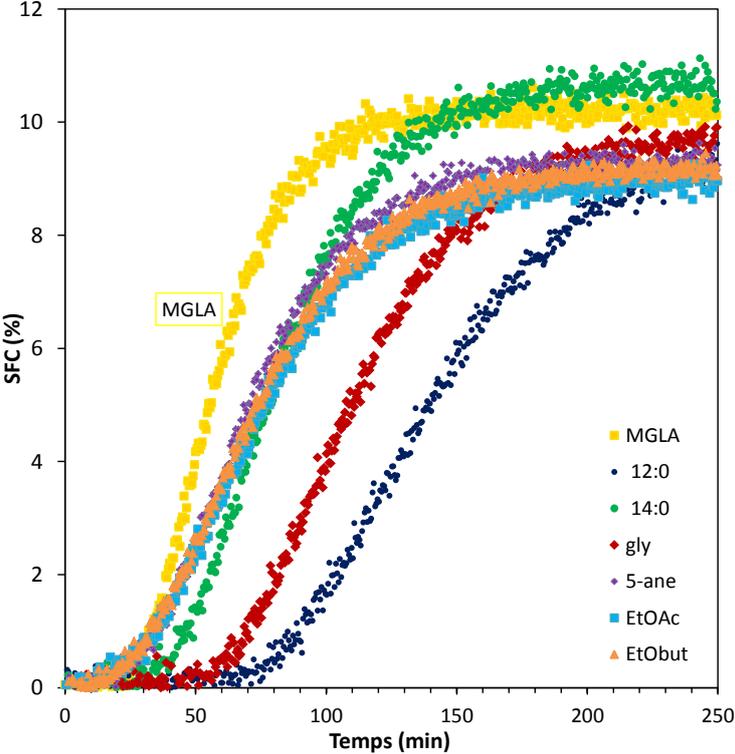
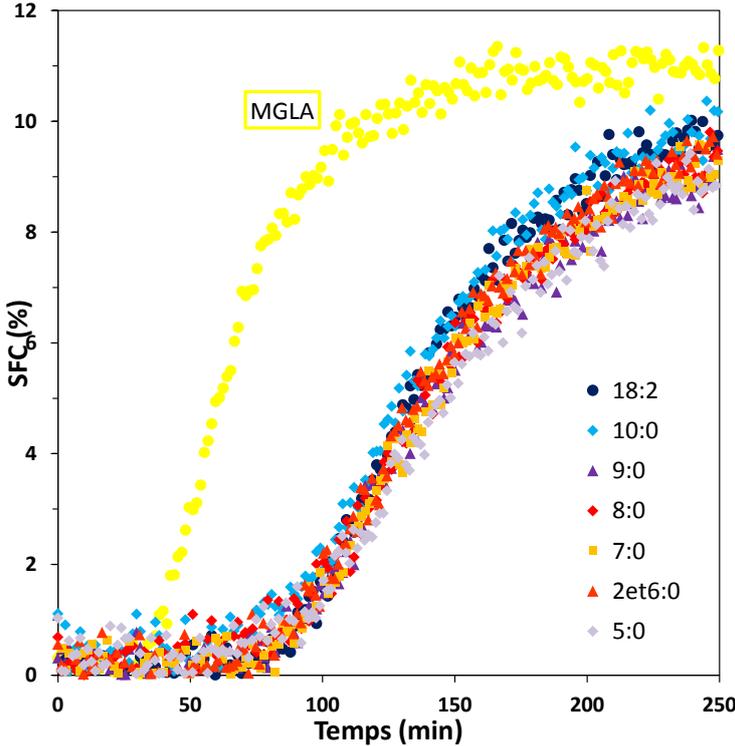
Avec \hat{y}_i la valeur prédite par le modèle pour le i ème point

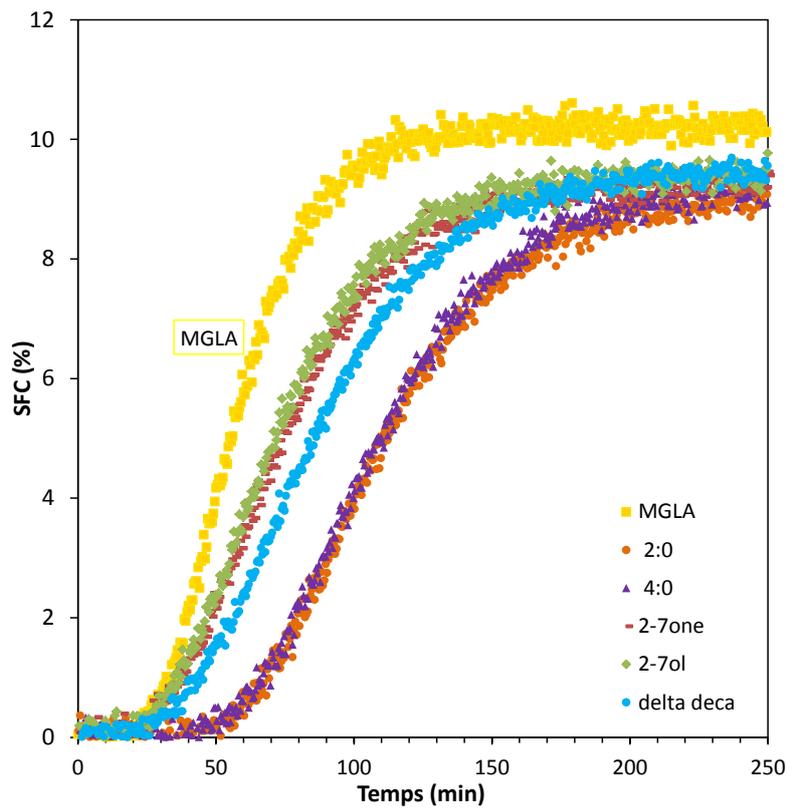
Le coefficient de régression ajusté du modèle est :

$$r^2_{adj} = 1 - \frac{SCE}{SCM} \cdot \frac{(p-1)}{(p-q-1)}$$

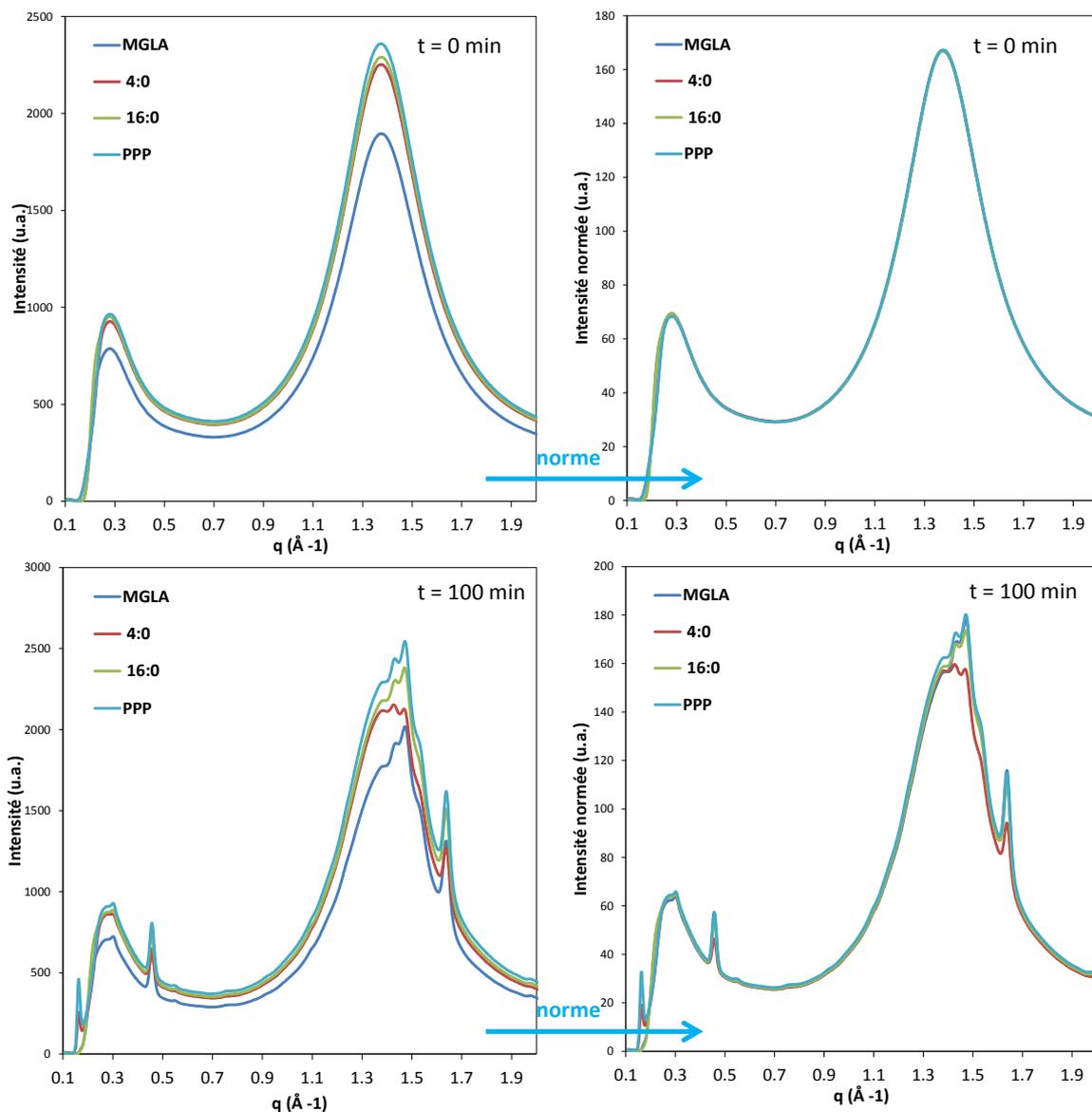
Annexe 3 : Cinétiques de cristallisation isotherme à 25 °C de la MGLA en présence de modulateurs de cristallisation





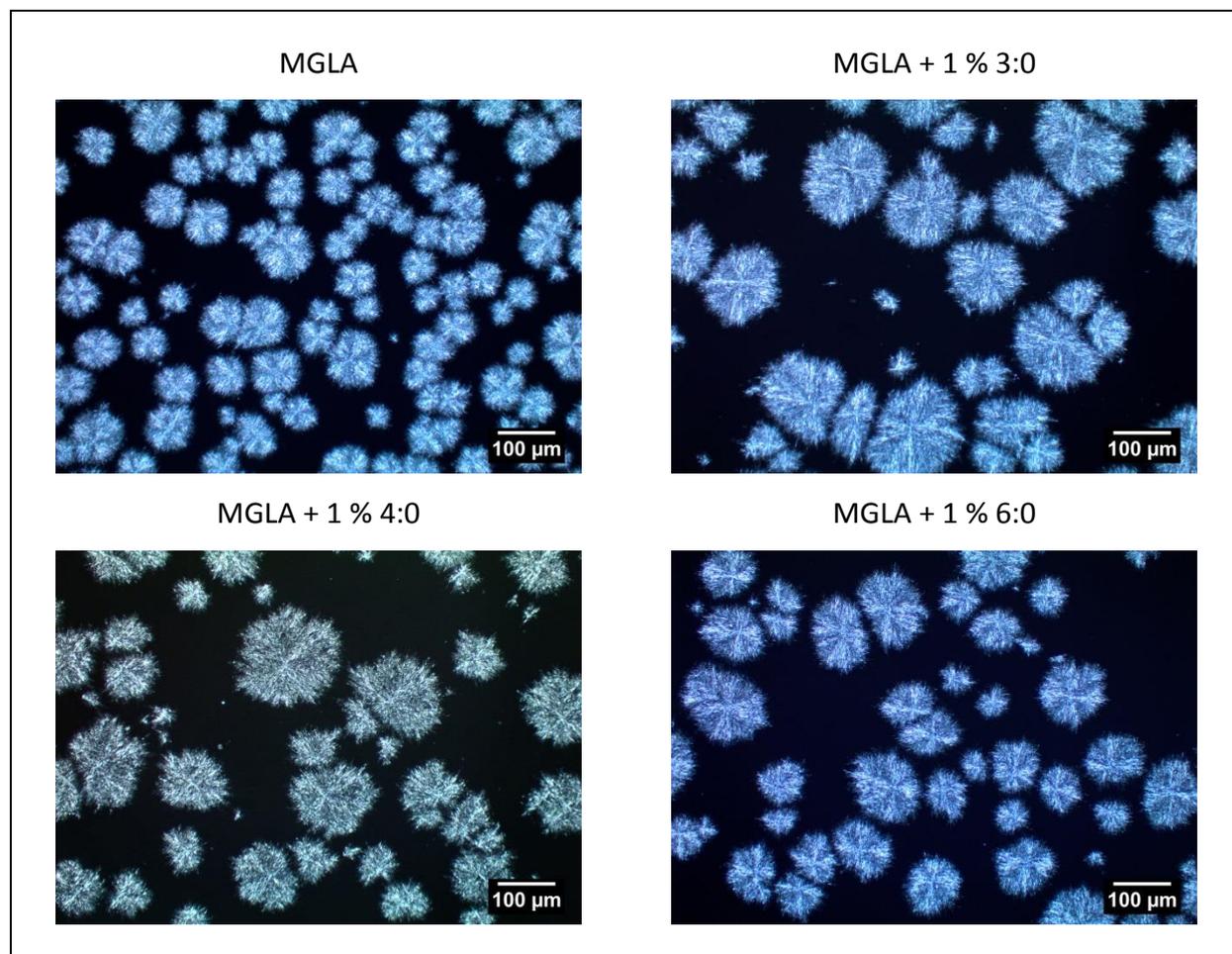


Annexe 4 : Courbe de de diffraction des rayons X à 25 °C normées par la valeur de l'intégrale du signal à t=0 min



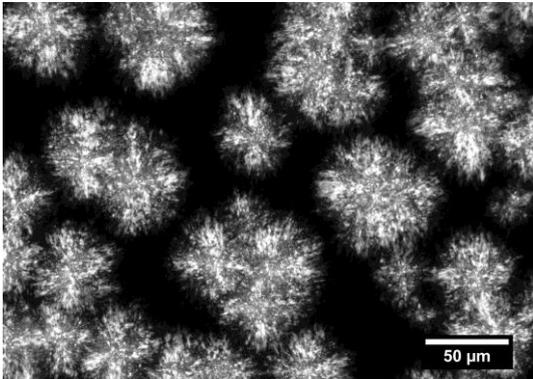
Annexe 5 : Observations microscopiques des mélanges de MGLA et de modulateurs (1 %) cristallisés à 25 °C

Chaines courtes

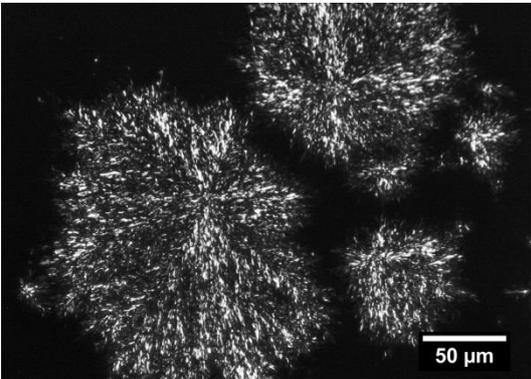


Chaines courtes ou moyennes

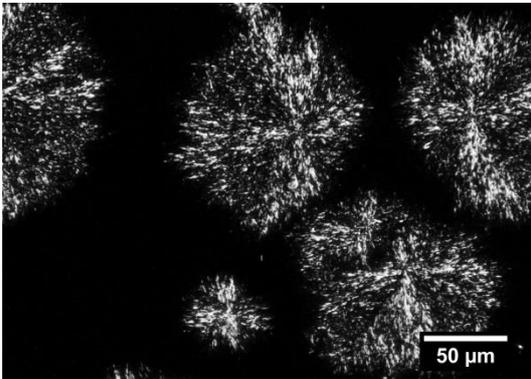
MGLA



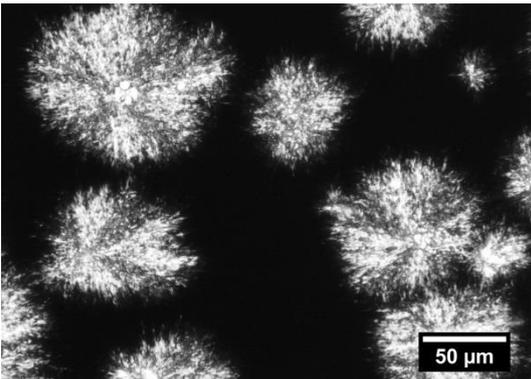
MGLA + 1 % 8:0



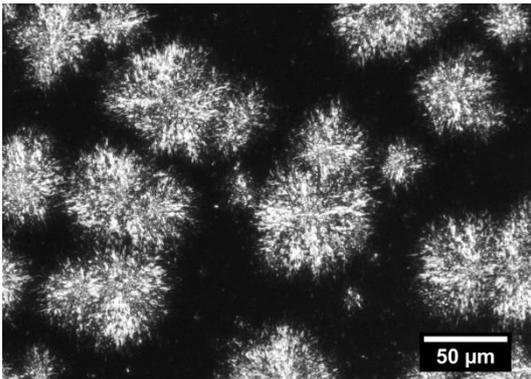
MGLA + 1 % 10:0



MGLA + 1 % 12:0

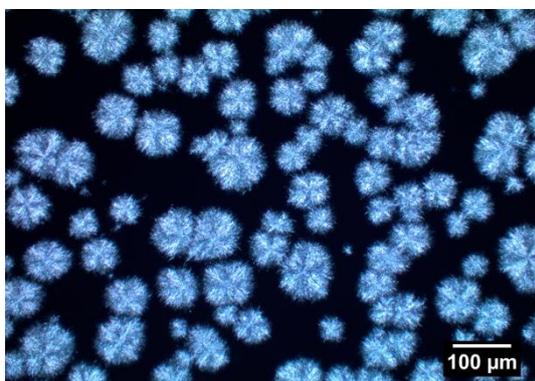


MGLA + 1 % 14:0



Chaines longues

MGLA



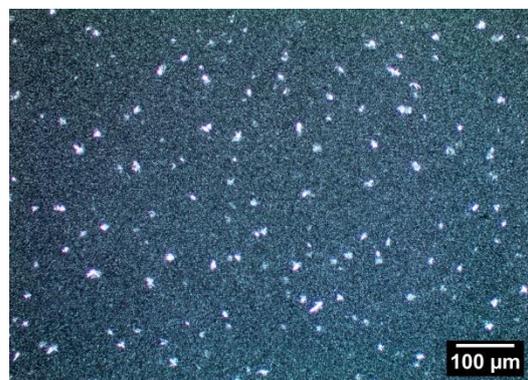
MGLA + 1 % 16:0



MGLA + 1 % 18:0

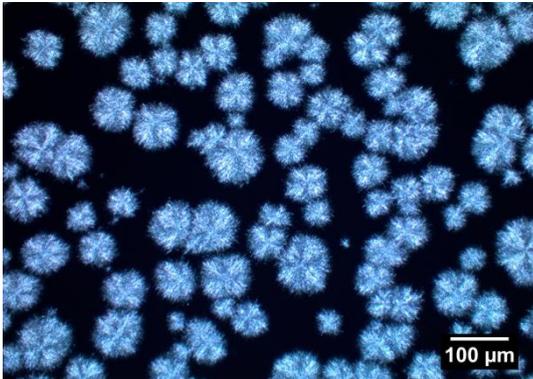


MGLA + 1 % 20:0

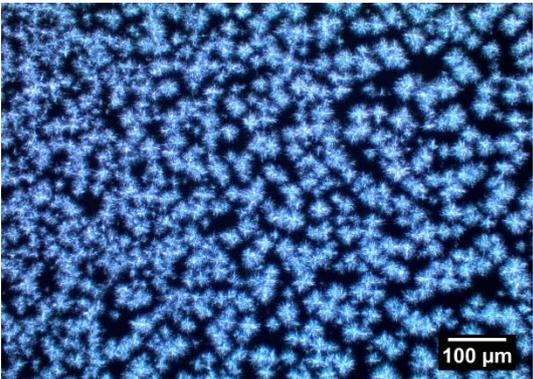


Triglycérides saturés

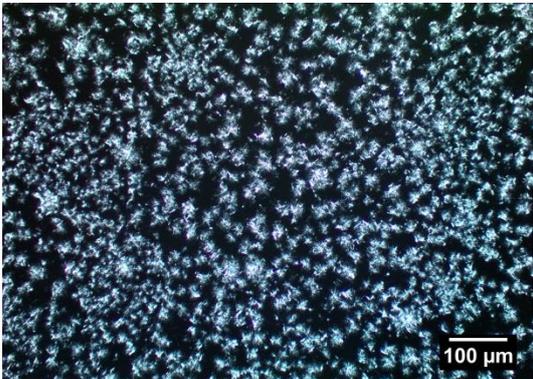
MGLA



MGLA + 1 % PPP



MGLA + 1 % SSS



Annexe 6 : Énergies d'activation de nucléation en présence de modulateurs de cristallisation, déterminées par la méthode des tangentes

MGLA + 1 % Acide butyrique

T (°C)	τ (s)	$1/(T \cdot \Delta T^2)$ X	$\ln(\tau \cdot T)$ Y	ΔG_c (kJ/mol)
23	2248	2,3E-05	13,41	1,42
24	2689	2,8E-05	13,59	1,69
25	3094	3,4E-05	13,73	2,04
26	3628	4,1E-05	13,90	2,52
27	5805	5,2E-05	14,37	3,19
28	6268	6,8E-05	14,45	4,17

MGLA + 1 % Butanoate d'éthyle

T (°C)	τ (s)	$1/(T \cdot \Delta T^2)$ X	$\ln(\tau \cdot T)$ Y	ΔG_c (kJ/mol)
23	1611,6	2,3E-05	13,08	0,72
24	1820,8	2,8E-05	13,20	0,85
25	1937,2	3,4E-05	13,27	1,03
26	2287,2	4,1E-05	13,44	1,28
27	2386,3	5,2E-05	13,48	1,62
28	2838,0	6,8E-05	13,66	2,11

MGLA + 1 % Acide palmitique

T (°C)	τ (s)	$1/(T \cdot \Delta T^2)$ X	$\ln(\tau \cdot T)$ Y	ΔG_c (kJ/mol)
23	1636	2,3E-05	13,09	0,74
24	1880	2,8E-05	13,23	0,88
25	2176	3,4E-05	13,38	1,06
26	2526	4,1E-05	13,54	1,31
27	2577	5,2E-05	13,56	1,66
28	2963	6,8E-05	13,70	2,17

MGLA + 1 % tripalmitine

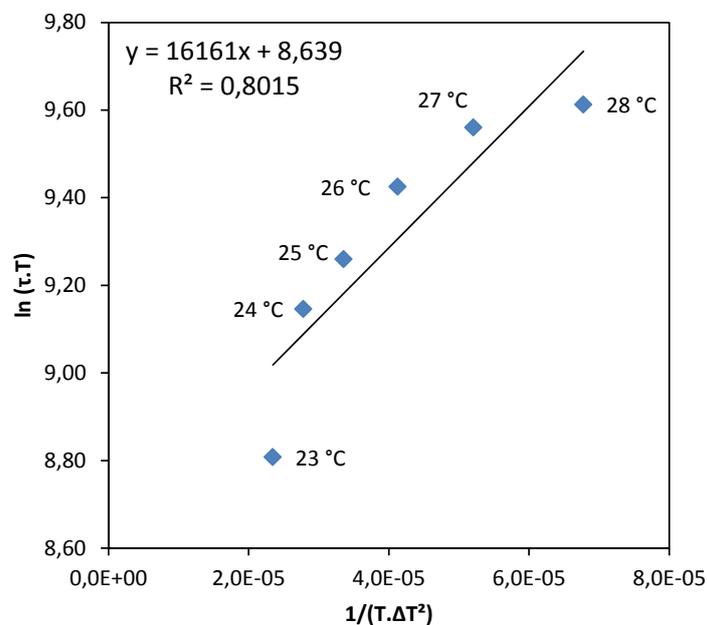
T (°C)	τ (s)	$1/(T(T_m - T)^2)$ X	$\ln(\tau \cdot T)$ Y	ΔG_c (kJ/mol)
23	1423	2,3E-05	12,95	0,82
24	1633	2,7E-05	13,09	0,97
25	1641	3,2E-05	13,10	1,16
26	1801	4,0E-05	13,20	1,40
27	2262	5,0E-05	13,43	1,74
28	2661	6,5E-05	13,59	2,21

Annexe 7 : Énergies d'activation de nucléation en présence de modulateurs de cristallisation déterminées par la méthode de 1 % de variation de la transmission

MGLA seule

T (°C)	τ (min)	X $1/(T \cdot \Delta T^2)$ (K ⁻³)	Y ln($\tau \cdot T$) ()	ΔG_c (kJ/mol)
23	22,6	$2,3 \cdot 10^{-5}$	8,81	0,93
24	31,5	$2,8 \cdot 10^{-5}$	9,15	1,11
25	35,2	$3,4 \cdot 10^{-5}$	9,26	1,34
26	41,4	$4,1 \cdot 10^{-5}$	9,42	1,66
27	47,2	$5,2 \cdot 10^{-4}$	9,56	2,10
28	49,6	$6,8 \cdot 10^{-4}$	9,61	2,74

Détermination du coefficient directeur pour la MGLA seule :



MGLA + 1 % Acide butyrique

T (°C)	τ (min)	X $1/(T \cdot \Delta T^2)$ (K ⁻³)	Y ln($\tau \cdot T$) ()	ΔG_c (kJ/mol)
23	35,1	2,34E-05	9,25	1,27
24	36,1	2,78E-05	9,28	1,51
25	43,5	3,35E-05	9,47	1,83
26	52,6	4,13E-05	9,66	2,26
27	81,0	5,21E-05	10,10	2,86
28	81,0	6,78E-05	10,10	3,73

MGLA + 1 % Butanoate d'éthyle

T (°C)	τ (min)	X $1/(T \cdot \Delta T^2)$ (K ⁻³)	Y $\ln(\tau \cdot T)$ ()	ΔG_c (kJ/mol)
23	23,0	2,34E-05	8,83	0,52
24	23,9	2,78E-05	8,87	0,62
25	28,0	3,35E-05	9,03	0,74
26	31,0	4,13E-05	9,13	0,92
27	32,1	5,21E-05	9,17	1,16
28	33,4	6,78E-05	9,22	1,52

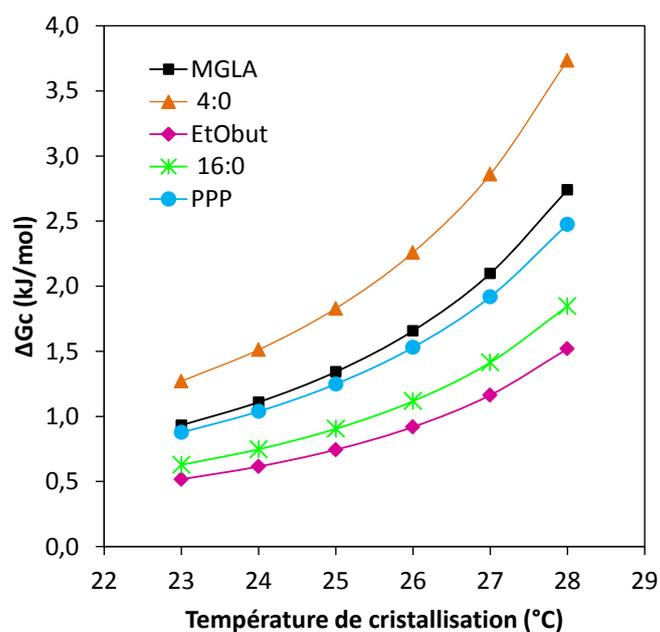
MGLA + 1 % Acide palmitique

T (°C)	τ (min)	X $1/(T \cdot \Delta T^2)$ (K ⁻³)	Y $\ln(\tau \cdot T)$ ()	ΔG_c (kJ/mol)
23	22,9	2,34E-05	8,82	0,63
24	27,5	2,78E-05	9,01	0,75
25	30,4	3,35E-05	9,11	0,90
26	34,2	4,13E-05	9,23	1,12
27	32,8	5,21E-05	9,19	1,41
28	40,0	6,78E-05	9,40	1,85

MGLA + 1 % tripalmitine

T (°C)	τ (min)	X $1/(T \cdot \Delta T^2)$ (K ⁻³)	Y $\ln(\tau \cdot T)$ ()	ΔG_c (kJ/mol)
23	18,5	2,28E-05	8,61	0,88
24	22,6	2,70E-05	8,81	1,04
25	21,3	3,24E-05	8,75	1,25
26	22,4	3,97E-05	8,81	1,53
27	30,9	4,99E-05	9,14	1,92
28	36,6	6,45E-05	9,31	2,48

Énergies d'activation déterminées par la méthode des 1 % de variation du signal lumineux



Annexe 8 : Paramètres cinétiques de la MGLA et des inhibiteurs de cristallisation à concentration croissante

	Fraction massique (%) ¹	Concentration molaire (mmol / L _{MGLA})	Modèle de Gompertz			
			a (%)	μ (%·min ⁻¹)	λ (min)	r ² ajusté
MGLA	0	0	10,5	0,190	25	0,994
AAA	1,3	29	10,2	0,191	26	0,996
AAA	2,6	61	10,1	0,157	26	0,995
AAA	6,7	161	7,8	0,080	23	0,989
3:0	1,1	198	8,0	0,052	80	0,992
3:0	1,9	339	6,8	0,030	91	0,987
6:0	1,0	85	9,9	0,086	74	0,997
6:0	2,9	266	9,2	0,066	94	0,998
6:0	6,6	623	4,9	0,011	185	0,986
18:1	1,1	35	10,2	0,088	79	0,998
18:1	4,0	134	9,4	0,067	85	0,998
18:1	7,5	258	8,1	0,045	102	0,996

¹ : fraction massique : masse de modulateur par masse totale (MGLA + modulateur)

a : taux de solide final, λ : vitesse maximale et μ : temps d'induction

	Fraction massique (%) ¹	Concentration molaire (mmol / L _{MGLA})	Modèle de Foubert			r ² ajusté
			a (%) ²	K ²	n ²	
MGLA	0	0	10,6	0,034	7,8	0,997
AAA	1,3	29	10,3	0,035	7,5	0,998
AAA	2,6	61	10,2	0,029	8,7	0,998
AAA	6,7	161	7,9	0,018	13,9	0,996
3:0	1,1	198	8,5	0,011	6,1	0,993
3:0	1,9	339	6,8	0,010	3,8	0,986
6:0	1,0	85	10,0	0,016	7,2	0,999
6:0	2,9	266	9,3	0,014	5,8	0,999
6:0	6,6	623	3,7	0,013	2,0	0,989
18:1	1,1	35	10,3	0,017	5,5	0,999
18:1	4,0	134	9,5	0,014	5,2	0,999
18:1	7,5	258	8,4	0,010	6,0	0,998

² : a : taux de solide final, K constante de vitesse globale et n : ordre de la réaction inverse

	Fraction massique (%) ¹	Concentration molaire (mmol / L _{MGLA})	Modèle de Avrami			r ² ajusté
			a (%)	k	n	
MGLA	0	0	10,5	4,3·10 ⁻⁵	2,4	0,989
AAA	1,3	29	10,2	2,5·10 ⁻⁵	2,6	0,991
AAA	2,6	61	10,1	6,5·10 ⁻⁵	2,3	0,990
AAA	6,7	161	7,8	3,6·10 ⁻⁴	1,8	0,986
3:0	1,1	198	7,7	3,5·10 ⁻⁷	2,9	0,989
3:0	1,9	339	6,1	3,0·10 ⁻⁷	2,8	0,987
6:0	1,0	85	9,7	2,6·10 ⁻⁷	3,0	0,992
6:0	2,9	266	9,0	7,5·10 ⁻⁸	3,1	0,993
6:0	6,6	623	3,7	4,0·10 ⁻⁸	3,2	0,987
18:1	1,1	35	10,0	1,4·10 ⁻⁷	3,1	0,993
18:1	4,0	134	9,2	1,8·10 ⁻⁷	3,0	0,994
18:1	7,5	258	7,8	1,0·10 ⁻⁷	3,0	0,992

² : a : taux de solide final, k : constante de vitesse et n : exposant d'Avrami

Annexe 9 : Paramètres cinétiques de la MGLA et de la tripalmitine à concentration croissante

	Fraction massique (%)	Modèle de Gompertz			
		a (%) ²	μ (min ⁻¹) ²	λ (min) ²	r ² ajusté
MGLA	0	10,6	0,073	44	0,998
PPP	0,5	10,8	0,143	26	0,996
PPP	1,7	12,6	0,327	19	0,997
PPP	3,5	14,9	0,876	11	0,995
PPP	4,2	15,8	1,062	10	0,995

fraction massique : masse de modulateur par masse totale (MGLA + modulateur)

a : taux de solide final, λ vitesse maximale et μ : temps d'induction

	Fraction massique (g/g mélange)	Modèle de Foubert					Temps d'induction 1 %
		a (%)	K	n	f(0)	r ² ajusté	
MGLA	0%	10,6	0,013	7,8	$1,07 \cdot 10^{-2}$	0,999	27,2
PPP	0,5%	10,0	0,025	6,2	$1,85 \cdot 10^{-2}$	0,998	13,0
PPP	1,7%	12,7	0,053	5,4	$9,43 \cdot 10^{-3}$	0,998	11,2
PPP	3,5%	14,9	0,112	7,8	$1,11 \cdot 10^{-4}$	0,997	9,5
PPP	4,2%	15,8	0,130	6,7	$3,31 \cdot 10^{-4}$	0,997	8,4

fraction massique : masse de modulateur par masse totale (MGLA + modulateur)

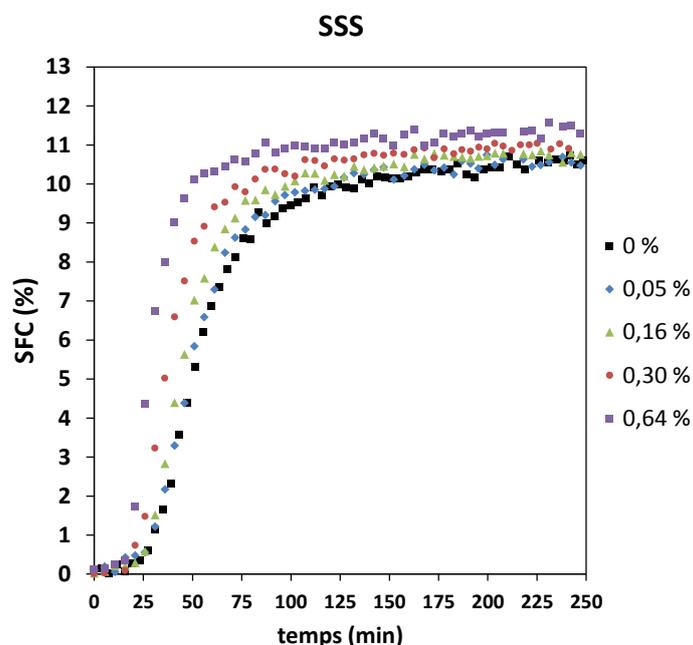
a : taux de solide final, K constante de vitesse globale et n : ordre de la réaction inverse

	Fraction massique (g/g mélange)	Modèle de Avrami			
		a (%)	K	n	r ² ajusté
MGLA	0%	10,6	$3,2 \cdot 10^{-5}$	2,1	0,996
PPP	0,5%	10,7	$8,0 \cdot 10^{-5}$	2,2	0,992
PPP	1,7%	12,6	$6,1 \cdot 10^{-5}$	2,6	0,993
PPP	3,5%	14,8	$7,7 \cdot 10^{-5}$	3,0	0,990
PPP	4,2%	15,7	$6,7 \cdot 10^{-5}$	3,2	0,991

fraction massique : masse de modulateur par masse totale (MGLA + modulateur)

a : taux de solide final, k : constante de vitesse et n : exposant d'Avrami

Annexe 10 : Cinétiques de cristallisation RMN de la MGLA en présence de tristéarine à concentration croissante. Allure des courbes et paramètres cinétiques



	Fraction massique (g/g mélange)	Concentration molaire (mmol/L _{MGLA})	Modèle de Foubert				
			a (%)	K	n	f(0)	r ² ajusté
MGLA	0%	0	10,6	0,034	7,8	1,22.10 ⁻³	0,997
SSS	0,05%	0,6	10,6	0,037	6,5	3,36.10 ⁻³	0,996
SSS	0,16%	2,0	10,8	0,043	8,0	2,93.10 ⁻⁴	0,996
SSS	0,30%	3,7	10,9	0,049	8,6	2,35.10 ⁻⁴	0,996
SSS	0,64%	8,0	11,3	0,067	10,5	1,10.10 ⁻⁵	0,994

fraction massique : masse de modulateur par masse totale (MGLA + modulateur)

a : taux de solide final, K constante de vitesse globale et n : ordre de la réaction inverse

	Fraction massique (g/g mélange)	Concentration molaire (mmol/L _{MGLA})	Modèle de Gompertz			
			a (%)	μ (%.min ⁻¹)	λ (min)	r ² ajusté
MGLA	0%	0	10,5	0,190	25	0,994
SSS	0,05%	0,6	10,6	0,203	24	0,994
SSS	0,16%	2,0	10,7	0,244	24	0,994
SSS	0,30%	3,7	10,9	0,287	19	0,993
SSS	0,64%	8,0	11,2	0,410	16	0,991

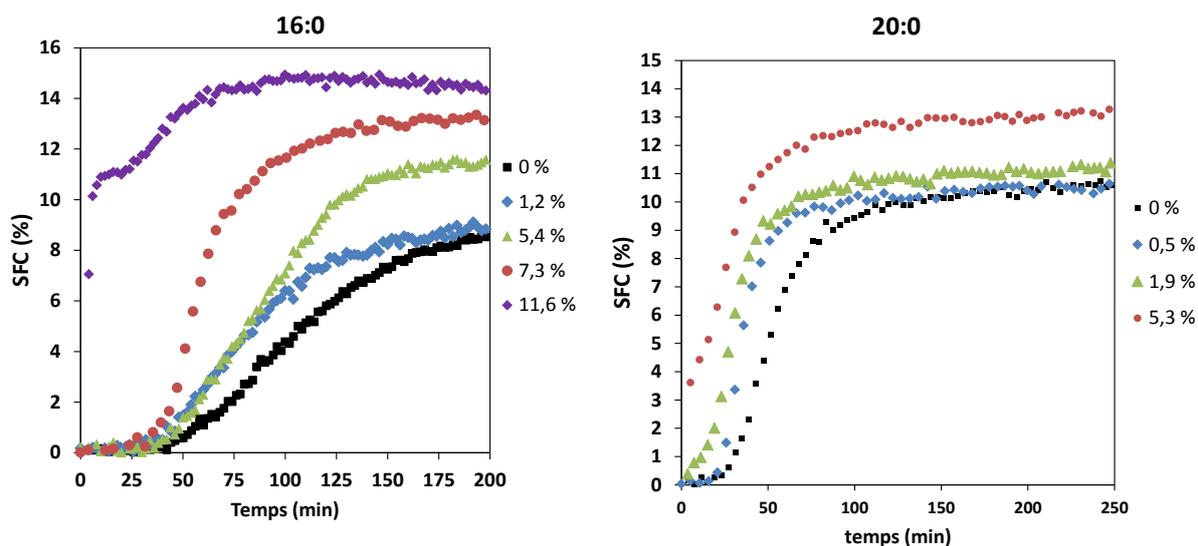
fraction massique : masse de modulateur par masse totale (MGLA + modulateur)

a : taux de solide final, λ vitesse maximale et μ : temps d'induction

	Fraction massique (g/g mélange)	Concentration molaire (mmol/L _{MGLA})	Modèle de Avrami			
			a (%)	K	n	r ² ajusté
MGLA	0 %	0	10,5	4,3.10 ⁻⁵	2,4	0,989
SSS	0,05 %	0,6	10,5	3,7.10 ⁻⁵	2,5	0,989
SSS	0,16 %	2,0	10,7	2,1.10 ⁻⁵	2,7	0,989
SSS	0,30 %	3,7	10,9	4,7.10 ⁻⁵	2,6	0,988
SSS	0,64 %	8,0	11,2	6,0.10 ⁻⁵	2,7	0,986

fraction massique : masse de modulateur par masse totale (MGLA + modulateur)
 a : taux de solide final, k : constante de vitesse et n : exposant d'Avrami

Annexe 11 : Allure des cinétiques de cristallisation de la MGLA en présence d'acide palmitique (16:0) et arachidique (20:0) à concentration croissante



Annexe 12 : Paramètres cinétiques de cristallisation de la MGLA en présence d'acide palmitique, d'acide stéarique et d'acide arachidique en concentrations croissantes

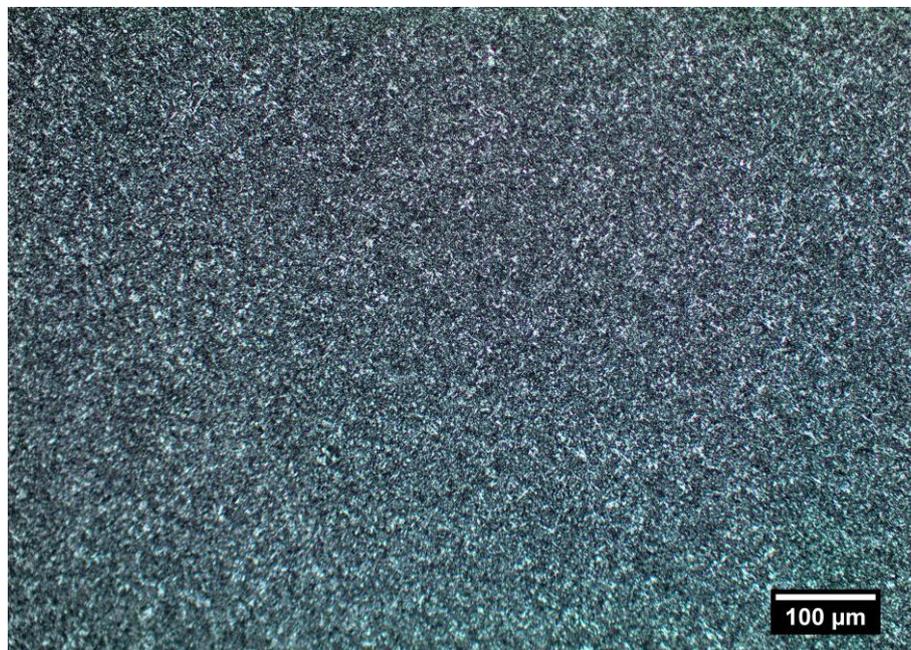
	concentration massique (g/g MGLA)	Modèle de Foubert								
		a1 (%)	K1	n1	ti1 (min)	a2 (%)	K2	n2	ti2 (min)	r ² ajusté
MGLA	0%					10,6	0,013	7,8	27	0,999
16:0	1,2%					10,0	0,016	10,9	27	0,997
16:0	5,4%					12,8	0,016	6,6	20	0,997
16:0	7,2%					13,2	0,039	7,2	30	0,993
16:0	11,6%	11,0	0,510	10	3	14,8	0,057	7,0	19	0,993
18:0	2,8%					11,3	0,028	6,1	19	0,999
18:0	5,1%	6,0	0,550	2	3	12,6	0,029	5,7	14	0,996
18:0	6,5%	8,0	0,600	4	2	13,0	0,024	8,0	15	0,995
18:0	11,1%	11,0	0,484	100	1	16,4	0,030	9,8	23	0,997
20:0	0,5%					10,4	0,060	8,6	18	0,995
20:0	1,9%	1,3	0,265	10	2,7	11,1	0,0556	7,7	13	0,993
20:0	5,3%	5,0	0,235	100	0,9	13,0	0,046	9,0	10	0,992

	concentration massique (g/g MGLA)	Modèle de Gompertz					
		a1 (%)	μ 1	a2 (%)	μ 2	λ 2	r ² ajusté
MGLA	0%			10,6	0,073	44	0,998
16:0	1,2%			9,6	0,092	33,0	0,991
16:0	5,4%			11,9	0,140	45,0	0,998
16:0	7,2%			13,1	0,266	35,0	0,996
16:0	11,6%	11,0	2,200	3,8	0,088	19,0	0,956
18:0	2,8%			11,2	0,164	31	0,998
18:0	5,1%	6,0	0,300	6,6	0,091	21	0,986
18:0	6,5%	8,0	1,200	5,0	0,072	26	0,984
18:0	11,1%	10,8	3,000	5,6	0,082	24	0,996
20:0	0,5%			10,4	0,335	20	0,993
20:0	1,9%	1,3	0,100	9,8	0,250	16,0	0,998
20:0	5,3%	5,0	0,500	8,0	0,190	12,0	0,990

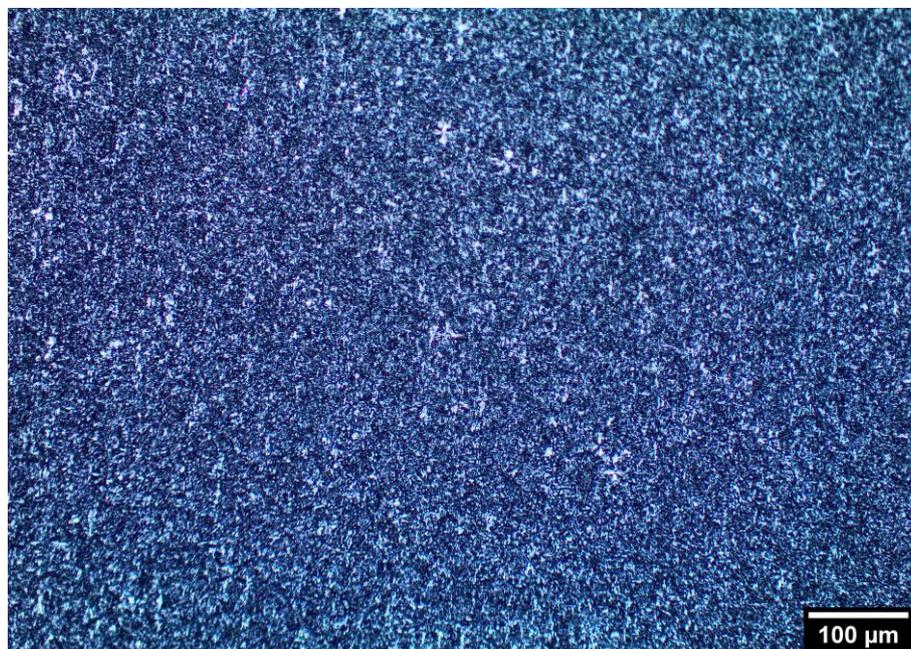
	concentration massique (g/g MGLA)	Modèle de Avrami						
		a1 (%)	K1	n1	a2 (%)	K2	n2	r ² ajusté
MGLA	0%				10,6	3,2E-05	2,1	0,996
16:0	1,2%				9,5	6,5E-05	2,1	0,986
16:0	5,4%				11,4	1,36E-06	2,9	0,999
16:0	7,2%				11,2	4,43E-05	2,3	0,993
16:0	11,6%	10,6	1,50E-04	6,4	4,1	1,20E-04	2	0,995
18:0	2,8%				11,1	1,9E-05	2,5	0,995
18:0	5,1%	4,4	1,3E-06	5,8	8,1	1,3E-03	1,6	0,996
18:0	6,5%	7,3	8,4E-04	4,6	5,7	1,5E-03	1,5	0,994
18:0	11,1%	10,1	3,7E-03	4,7	6,2	5,1E-04	1,8	0,994
20:0	0,5%				10,4	1,19E-05	3,0	0,987
20:0	1,9%	0,9258	3,9E-02	2,1	9,86	1,55E-04	2,4	0,988
20:0	5,3%	4,4	9,94E-02	6,0	10,6	8,94E-03	1	0,990

Annexe 13 : Observations en microscopie à lumière polarisée des mélanges de MGLA et de modulateurs à 1 % cristallisés à 5 °C

MGLA + 1 % acide butyrique



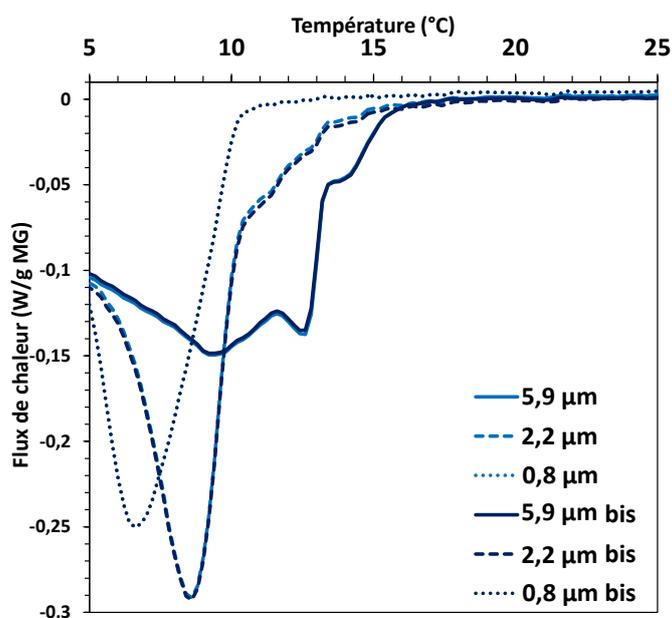
MGLA + 1 % acide propionique



Annexe 14 : Dimension fractale (Df) déterminée par traitement des images de microscopie à lumière polarisée après cristallisation de la MGLA et de ses mélanges avec des modulateurs à 5 °C pendant 4h

Modulateur	Df
MGLA	1,79 ± 0,01
3:0	1,72 ± 0,02
6:0	1,77 ± 0,01
18:1	1,78 ± 0,01
16:0	1,85 ± 0,01
18:0	1,82 ± 0,01
20:0	1,85 ± 0,02
PPP	1,80 ± 0,01
SSS	1,79 ± 0,02

Annexe 15 : Profil thermique de recristallisation (-5 °C/min) d'émulsions de MGLA de différents diamètres moyens, après une première cristallisation (-5 °C/min), un palier isotherme de 90 min à 5 °C, et une fusion de 5 °C à 60 °C en rampe (+5 °C/min). Superposition avec la première cristallisation.



Remerciements

Si vous lisez cette page, vous avez peut-être lu le manuscrit entier et ses annexes (quel courage !) ou simplement regardé les photos, et je vous en remercie.

J'ai passé la grande majorité de ces trois ans de thèse au sein de la Société Soredab, et j'aimerais remercier, en plus de ceux cités précédemment, l'ensemble de mes collègues, qui contribuent chaque jour à rendre mon environnement de travail particulièrement agréable. J'aimerais commencer par remercier Alicia, pour tous les moments que l'on partage, au travail et en dehors. Merci beaucoup d'être là et de me permettre de penser à autre chose qu'au gras ! Je n'ai qu'une chose à te dire : BANCO. J'ai aussi une pensée émue pour les stagiaires qui nous ont quitté trop tôt : Charline Bitsch, Alfred, Cloé : quel bonheur de partager les premiers mois de thèse avec vous. Je suis nostalgique de cette époque insouciante où la rédaction paraissait encore loin. Vous me manquez beaucoup ! Jorgelindo, petit génie, c'est un plaisir de t'avoir accueilli dans mon bureau. Merci pour la profondeur de nos discussions scientifiques. Je te souhaite la carrière brillante que tu mérites !

J'aimerais aussi remercier la jeunesse de Soredab, avec qui j'ai passé et je continue de passer de très bons moments : Marine, Severine, Laura, Julien, Pierre-Frédéric, Kodjo, Magali, et la chimie, Laure, Thomas et Virginie. Merci Nikta de m'avoir gentiment accueillie dans ton bureau. Merci les voisins Renaud et Renaud, surtout pour les cookies de vos épouses respectives. Merci à mon équipe Sciences des aliments : Céline, Kathryn, Isabelle, Blandine, Pascale, Olesya et Augustin. Et encore un grand merci Olesea et Virginie pour les déplacements (et tout le reste) !

Baptiste, tu es le soleil qui illumine chaque jour ma vie personnelle et professionnelle. Mon petit bout de sud à Paris, puis dans le fin fond des Yvelines. Notre passion réciproque pour se faire maronner, sur fond de convictions pourtant partagées, fait toujours monter mon grain de sable comme une fusée. Merci de prendre autant de place.

Je n'ai pas eu la chance de vivre la thèse dans l'ambiance classique des labos académiques, mais je remercie toutes les personnes du CBMN qui ont contribué à me permettre de la vivre de manière condensée au cours de mes brefs passages à Bordeaux. En particulier Cécile, Lucie et Ghita. Merci pour tout les filles ! Je suis de tout cœur avec vous pour terminer vos thèses, je suis sûre que vous allez briller ! Et je vous lègue mon couscous. Merci aussi à Anthony, Christine, Wafa, Julien, Raphaëlle et Christelle, c'est toujours un plaisir de discuter avec vous. Merci aussi à ceux qui m'ont accueillie pendant mes séjours à Bordeaux. Céline, Charline, Maxim et Julia. Vous méritez plus que 5 étoiles. Merci pour tout, on se sent chez vous comme en famille.

J'en profite aussi pour remercier ici ceux qui ont accompagné ma première expérience en recherche, au CRPP, à Bordeaux, pour mon premier stage de Master : Veronique Schmitt, Nadine Laffargue, Pascal Massé, Eric Laurichesse, Roxane, Maxime, Damien, Pascaline et Manuel. Vous m'avez vraiment donné envie de faire une thèse !

Dans mon parcours scolaire, j'ai eu la chance de croiser des professeurs et chercheurs formidables : Pascale Charpentier, Robert Rousselière, Cathy Pernaud, Marc Rosmini, Julien Calafell, Véronique Schmitt, Marie-Noëlle Maillard, Gérard Cuvelier et Pierre Aymard. La bienveillance dont vous faites preuve sublime le métier exceptionnel que vous exercez, vous m'avez transmis bien plus que de la science. C'est un privilège d'avoir appris de vous. Je remercie aussi Olivier, Fabien et Michèle de m'avoir poussée, plus jeune, dans le sport et la musique, à ne pas accepter mes propres limites, à sortir de ma zone de confort et à ne jamais me satisfaire de ce que je maîtrise.

J'aimerais aussi remercier mes amis, et surtout m'excuser de n'avoir pas été très présente ces trois dernières années. À commencer par ma copine en Salopette depuis 1995, Clara, tu sais que je serai toujours là pour toi et je suis trop fière de toi. Finis ta thèse et on va conquérir le monde ! Je remercie aussi Bastien et Rafaël d'être encore présents après tout ce temps. Séléné, la rédaction c'était un peu comme Pelvoux (la 2^e fois). Roxane, Camille, Julie, Marine et Manon, mes copines du Sud en exil, quand je vous parle j'entends les cigales de Marseille et de Tarcu. Manon et Nicolas, les plus courageux quand il s'agit de venir jusqu'à Rambouillet, merci mille fois. Iris, on a beaucoup de temps à rattraper. Mes colocs de la maison du bonheur : Sophie, Baptiste, Alexandre et Emmanuelle, mes amis de l'école, Marine et Corentin, Mathilde et Florent, Justine et Thibault, Solène et Vincent, Aude, Romain, Florent, Solène, Camille, Matthieu, Valentin, Sophie et Ludovic, Cécile et Julien, mais aussi Alice, Lola, Adrien, Céline et Margaux. Vous remplissez ma vie de joie et de beaux souvenirs. Mes copines de l'agro, Aurélie, Flora, Charlotte, Pauline, Anne-Sophie, Camille, Pauline et Sophie, on a beaucoup de weekends à rattraper. Lucie et Geoffrey, merci de nous avoir suivis dans les Yvelines, votre départ va laisser un grand vide dans nos petits cœurs qui saignent.

J'aimerais aussi remercier ma famille, mes parents, Brigitte et Laurent, mon frère et ma sœur, Thibaut et Amélie. Je suis très touchée que vous soyez venus m'écouter parler de mon travail. Merci aussi à Mamie Jacqueline, Papy Michel, Monique, Carole et Jaime, Siane et Thierry, Camille, Clément, Éva, Joan, Benjamin et Vincent, Thomas, et mon neveu préféré Estéban. Je remercie aussi ma belle-famille : Sylvie, Jean-Claude, Christiane, Danièle et Patrick, Françoise et Gordon.

Antoine, merci de partager ma vie. Le meilleur est à venir.

Sophie, tu me rappelles chaque jour que les moments passés avec nos proches sont très chers. Tu me manques, tu nous manques. Je sais que tu te réjouirais de la réussite de chacun d'entre nous.

Pour finir, je vous répète une dernière fois :

Le gras, c'est la vie

Merci !

