HAL
open science

Relations Structure/Propriétés de Suspensions de Particules Végétales

Cassandre Leverrier

To cite this version:

Cassandre Leverrier. Relations Structure/Propriétés de Suspensions de Particules Végétales. Ingénierie des aliments. Université Paris-Saclay, 2016. Français. NNT : . tel-03322360

HAL Id: tel-03322360

https://hal.science/tel-03322360

Submitted on 19 Aug 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.

NNT : 2016SACLA020

THÈSE DE DOCTORAT
DE
L'UNIVERSITÉ PARIS-SACLAY

préparée à

AGROPARISTECH

ÉCOLE DOCTORALE N°581
Agriculture, alimentation, biologie, environnement et santé (ABIES)

Spécialité de doctorat : Génie des Aliments

par

Cassandre LEVERRIER

Relations Structure/Propriétés de Suspensions de Particules Végétales

Thèse présentée et soutenue à Massy, le 6 décembre 2016

Composition du Jury :

Mme Anke Lindner, Professeur, Université Paris Diderot	Rapporteur
M. Alberto Tecante, Professeur, Universidad Nacional Autónoma de México	Rapporteur
Mme Catherine Renard, Directrice de recherche INRA, UMR 408 SQPOV	Examinateur
M. Denis Flick, Professeur, Université Paris-Saclay	Examinateur
M. Christian Sanchez, Professeur, Université de Montpellier	Président du jury
Mme Giana Almeida, Maître de conférences, AgroParisTech	Encadrante de thèse
M. Gérard Cuvelier, Professeur, AgroParisTech	Directeur de thèse

À ma Grand-Mère,
qui aurait certainement préféré cette thèse
un peu plus sucrée et avec un soupçon de cannelle !
Tu m'as porté chance. Merci de ton soutien.

À mon Grand-Père

À ceux sans qui cela n'aurait pas été possible.
Merci.

Remerciements

Quand je suis arrivée au sein de l'équipe SP2 à Massy il y a 4 ans, je ne m'attendais pas à vivre de si belles années ! Merci à tout ceux qui ont croisé ma route et qui m'ont permis d'en arriver là.

Je tiens en premier lieu à remercier Gérard Cuvelier. Merci de m'avoir accordé ta confiance, tu as su voir en moi des capacités que je ne soupçonnais pas et je t'en suis vraiment reconnaissante. Merci de m'avoir accordé autant de temps. J'ai vraiment apprécié nos échanges, tes conseils, ta patience, ton soutien. J'ai eu beaucoup de chance. Merci pour ta générosité et ta sérénité. Ce que tu m'as appris pendant ces trois années (et que tu continues à m'apprendre) dépasse largement le cadre scientifique ! Merci de m'avoir amenée là où j'en suis aujourd'hui et de m'avoir aidée à m'épanouir pleinement.

Je voudrais également remercier chaleureusement Giana Almeida. Merci pour ton enthousiasme sans faille et pour ta bonne humeur ! Merci pour ton soutien de tous les instants. Les aléas du labo t'ont permis de prendre une place à part entière dans mon encadrement et j'en suis vraiment ravie. Merci d'avoir toujours su voir les choses du bon côté, d'avoir transformé mes "étourderies" en "trouvailles" et mes "oh non mais comment je vais faire ! ?" en "c'est super ! !" ! Tu m'as vraiment appris à voir les deux revers d'une même pièce et montré que nos petites déceptions ne sont que le début de jolies découvertes.

Paul, merci d'avoir pris le train en route et d'avoir pris du temps pour m'apporter ton aide et tes conseils sur mon travail. J'ai apprécié nos discussions et ton avis, l'éclairage que tu as apporté à mon travail. Je pense que tu as beaucoup contribué à ce que le résultat final ait cette forme aujourd'hui.

Je voudrais également remercier les membres de mon comité de thèse : Catherine Renard, Christophe Lanos, Philippe Mongondry et Marc Lahaye. Nos discussions ont été très enrichissantes pour moi et m'ont permis d'avancer, tant personnellement que scientifiquement. Merci d'avoir pris du temps pour suivre mon travail et d'avoir toujours été disponibles pour nos rencontres.

Je remercie également les membres du mon jury de thèse pour leurs nombreuses remarques et suggestions d'amélioration, j'ai vraiment apprécié nos échanges. Je remercie tout particulièrement Anke Lindner et Alberto Tecante d'avoir accepté d'évaluer mon travail et Christian Sanchez d'avoir accepté de présider mon jury.

Je voudrais aussi remercier toute l'équipe SP2 ! J'ai eu tellement de chance de travailler à vos côtés !

Anne-Marie, Brigitte, sans vous le labo ne serait pas le même ! Merci d'avoir été témoin de mon enthousiasme, de m'avoir accompagnée pendant ces trois ans, de m'avoir soutenue quand le moral était moins là. Merci pour votre bonne humeur, pour vos rires, que j'adore, à la table de pause à coté du bureau. Merci pour le café chaud le matin, les gâteaux souvent...

Merci Gaby ! Pour ton rire et ta bonne humeur ! Pour nos pauses cafés, nos (longues) discussions... Merci aussi pour ton aide au labo et en microscopie, pour la confocale et Simpleware. Merci d'avoir toujours été une

oreille attentive et de t'être rendue si disponible. Je suis vraiment ravie d'avoir pu travailler avec toi pendant ces 3 années, et ce n'est que le début ! Enfin (le meilleur pour la fin) : Merci pour tes brookies ! ;)

Marine et Lucie, merci d'avoir été là ! J'ai adoré partager votre bureau ! Marine, merci pour nos discussions sans queue ni tête ! Je pensais pas que c'était possible, y a qu'avec toi je peux partager des moments comme ça ! Merci pour nos discussions de sciences aussi. Merci pour ton soutien. J'ai appris beaucoup de choses à tes côtés. Lucie, merci pour nos longues discussions dans le bureau. Merci pour ton écoute. Merci d'avoir toujours été aussi attentive et d'avoir veillé sur tout le monde au labo, sans bruit. Merci aussi pour nos après-midis chansons au MCR ! C'était chouette de travailler à côté de toi ! Je me sens très chanceuse d'avoir partagé mon bureau avec vous deux.

Véronique, merci pour ta bonne humeur tous les jours et merci de gérer aussi bien cette équipe. C'est une vraie jolie équipe où il fait bon vivre. Je n'oublierai jamais ce soir tard où je suis venue te montrer comment j'avais réussi à modéliser mes données pour la première fois. J'ai explosé de joie avec toi, c'était sans queue ni tête mais j'en garde un souvenir impérissable. Merci d'avoir partagé ce moment avec moi (entre autres) et de m'avoir accueillie chaleureusement avec l'attention et le large sourire qui te caractérisent.

Sarah, je sais que je t'avais promis 3 pages de remerciements rien que pour toi, mais je ne voudrais pas faire de jaloux, je vais donc me contenter de quelques lignes. J'ai été ravie de pouvoir continuer à travailler dans le même environnement que toi. Merci pour ton sourire, ta folie, tes coups de gueule, tes Pim's ! Merci pour tes idées loufouques de pots de thèse et tes larges sourires de soutien pendant ma soutenance, merci pour nos sessions boulot à la bibliothèque (Starbucks ? Starbucks !) et pour nos pauses cafés au labo (Chocolat ? Chocolat ! !) ! Notre amitié dépasse trop largement ce cadre pour que je puisse vraiment l'exprimer ici, elle m'est très précieuse et m'a beaucoup aidé pendant ces trois années. Merci.

Merci Anne-Flore, Marine, Damien, vous êtes une sacrée team ! Je vous suis vraiment reconnaissante d'être venus en renfort coloniser le bureau :) J'ai été ravie de pouvoir évoluer avec vous trois pendant ces quelques mois. Merci Anne-Flore pour nos longues discussions que j'apprécie tant, merci Marine pour cette douce bienveillance qui émane de toi et merci Damien pour ta folle spontanéité et ta joie de vivre !

Delphine, Josselin, Christiane, Rayo, Eugénie, Odile, Julien, Farnaz, Gaelle, Georgia, Elham, Nina, tous les stagiaires... Merci de rendre l'ambiance dans cette équipe si unique. Il est difficile de détailler tout ce pourquoi vous avez rendu ces trois années uniques à mes yeux, mais vous avez tous contribué à votre manière à rendre ces moments inoubliables.

Merci aux étudiantes qui m'ont aidé à avancer dans mon travail et à prendre en maturité tout au long de ces trois années. Sabrina, Marion, Céline, Grâces, Serife, Noémie.

Tous ceux qui m'ont aidé à un moment ou à un autre : Pablo Granda, Aurélien Neveu, Didier Bonis, Robert Sawka, Richard Lewandowski, Pascale Debever, Christiane Lajeune, Sophie Berland, Fabrice Ducept, Line Touloumet...

Si "la gastronomie est l'art d'utiliser la nourriture pour créer le bonheur" (Théodore Zeldin), l'UMR Génial (qui porte bien son nom) a l'art d'étudier la nourriture pour créer (entre autres) du bonheur, et c'est grâce à vous tous. Merci.

Enfin, je tiens à remercier ma toute famille qui m'a soutenue pendant ces trois ans. Merci Grand-Mère de m'avoir porté chance. Merci Carole, de m'avoir aidé à devenir celle que je suis. Merci Maman, pour ton amour sans faille, ta fierté qui crève les yeux et me touche profondément. Merci Jean-Antoine de m'aimer et me soutenir avec tant de bienveillance, même dans les moments difficiles. Je vous aime.

Voilà, il est maintenant temps d'écrire une nouvelle page.

Table des matières

Table des figures **13**

Liste des tableaux **17**

Publications et communications **19**

Introduction générale **21**

État de l'art **27**

1 Introduction à la rhéologie des suspensions **31**
1.1 Approximation de milieu continu . . . 31
1.2 Interactions dans les suspensions . . . 32
1.2.1 Interactions en milieu dilué : particule-solvant . . . 32
1.2.2 Interactions en milieu plus concentré : particule-particule . . . 33
1.2.3 Caractérisation des suspensions . . . 34
1.3 Les modèles d'écoulement . . . 35
1.4 Lien viscosité - fraction volumique . . . 36
1.4.1 Les théories . . . 36
1.4.2 Approches phénoménologiques . . . 37
1.5 Paramètres impactant la rhéologie des suspensions . . . 41
1.5.1 Forme des particules . . . 41
1.5.2 Polydispersité de la suspension . . . 42
1.5.3 Déformabilité des particules . . . 43
1.5.4 Potentiel d'interaction entre les particules . . . 44
1.5.5 Phase continue non-newtonienne . . . 44
1.6 Spécificités des suspensions concentrées . . . 44
1.7 Spécificités des particules molles . . . 47
1.7.1 Les particules molles : Spécificités et caractéristiques communes . . . 47
1.7.2 Vers une modélisation de ce type de systèmes . . . 49

2 Les suspensions de particules végétales **55**
2.1 Qu'est ce qu'une suspension de particules végétales ? . . . 55
2.2 Éléments constitutifs des suspensions de particules végétales . . . 57
2.2.1 Les parois végétales cellulaires . . . 57
2.2.2 Le sérum . . . 60
2.3 Comportement rhéologique des suspensions de particules végétales . . . 60

2.4 Paramètres influençant les propriétés physico-mécaniques des cellules végétales . . . 61
2.4.1 Paramètres intrinsèques . . . 62
2.4.2 Paramètres extrinsèques . . . 64
2.5 Effet de la concentration en particules . . . 69
2.6 Approche de la fraction volumique . . . 71
2.7 Vers des systèmes modèles et des modélisations . . . 74

Objectifs et stratégie **79**

Résultats et Discussion **85**

3 Caractérisation structurelle et rhéologique de purées de pommes **87**
3.1 Caractérisation mécanique et biochimique des pommes fraîches . . . 87
3.1.1 Fermeté des pommes . . . 87
3.1.2 Acidité titrable . . . 88
3.1.3 Degré Brix . . . 88
3.1.4 Caractérisation des pommes fraîches . . . 89
3.2 Procédé de fabrication . . . 89
3.3 Caractérisation structurelle et biochimique de la purée native . . . 91
3.4 Comment faire varier les paramètres structuraux de la purée ? . . . 92
3.4.1 Modification de la taille et de la morphologie des particules . . . 92
3.4.2 Modification de la teneur en particules . . . 92
3.5 Caractérisation de la composition chimique des parois végétales . . . 93
3.6 Caractérisation rhéologique des purées de pomme . . . 93
3.6.1 Le choix de la géométrie . . . 93
3.6.2 Le choix du pré-cisaillement et du temps de repos . . . 95
3.6.3 La courbe d'écoulement . . . 97
3.6.4 Le seuil d'écoulement . . . 97
3.6.5 Les temps de mesure pour les purées diluées . . . 99
3.7 Caractérisation rhéologique de la purée de pommes native . . . 100

4 Déformabilité et tassement des particules **103**
4.1 Introduction . . . 105
4.2 Matériel & méthodes . . . 106
4.2.1 Matière première et procédé de fabrication . . . 106
4.2.2 Marquage des parois cellulaires au Rouge Congo . . . 106
4.2.3 Microscopie optique . . . 107
4.2.4 Microscopie électronique à balayage environnemental . . . 107
4.2.5 Microscopie confocale . . . 107
4.2.6 Analyse d'images . . . 107
4.2.7 Analyses statistiques . . . 107
4.2.8 Mesures rhéologiques . . . 107
4.3 Description de la stratégie expérimentale . . . 108
4.3.1 Préparation des suspensions modèles . . . 108
4.3.2 Quantification de l'hydratation des parois cellulaires . . . 108
4.3.3 Analyse d'images . . . 110
4.4 Résultats & Discussion . . . 111
4.4.1 Premières observations . . . 111

4.4.2 Accès à la morphologie des cellules par analyse d'images . . . 113
4.4.3 Approche quantitative de la fraction volumique . . . 114
4.5 Conclusion . . . 116

5 Effet des paramètres de structure sur les propriétés rhéologiques des suspensions de particules végétales 119
5.1 Introduction . . . 121
5.2 Matériel et méthodes . . . 123
5.2.1 Matière première et procédé de fabrication . . . 123
5.2.2 Pourcentage de pulpe . . . 123
5.2.3 Matière sèche . . . 123
5.2.4 Matière insoluble . . . 123
5.2.5 Préparation des purées de pommes à granulométrie et quantité d'insolubles variables . . . 124
5.2.6 Distribution granulométrique des particules . . . 124
5.2.7 Microscopie optique . . . 124
5.2.8 Mesures rhéologiques . . . 124
5.3 Résultats et Discussion . . . 125
5.3.1 Impact du broyage sur les paramètres de structure et sur la rhéologie . . . 125
5.3.2 Impact de la quantité d'insolubles sur le comportement rhéologique . . . 127
5.3.3 Approche de la fraction volumique . . . 134
5.4 Conclusion . . . 134

6 Effet de la phase continue sur les propriétés rhéologiques de purées de pommes modèles 137
6.1 Introduction . . . 139
6.2 Matériel et méthodes . . . 141
6.2.1 Matière première et procédé de fabrication . . . 141
6.2.2 Préparation des particules modèles . . . 141
6.2.3 Préparation des phases continues . . . 141
6.2.4 Dispersion des particules . . . 142
6.2.5 Distribution de taille des particules . . . 142
6.2.6 Mesures de sorption . . . 142
6.2.7 Microscopie . . . 142
6.2.8 Mesures rhéologiques . . . 143
6.3 Résultats et Discussion . . . 143
6.3.1 Effet du protocole de préparation des parois végétales sur la réhydratation des particules 143
6.3.2 Propriétés des suspensions modèles et comparaison avec les purées réelles . . . 147
6.3.3 Effet de la phase continue sur le comportement rhéologique des suspensions modèles . . . 149
6.4 Conclusion . . . 154

7 Approche de la fraction volumique et modélisation 157
7.1 Introduction . . . 159
7.2 Matériel & méthodes . . . 160
7.2.1 Matière première et procédé de fabrication . . . 160
7.2.2 Distribution de taille des particules et mesures rhéologiques . . . 161
7.3 Résultats & Discussion . . . 161
7.3.1 Comment accéder à la fraction volumique des particules végétales ? . . . 161
7.3.2 Présentation du modèle . . . 163
7.4 Validation du modèle . . . 164
7.4.1 Effet de la distribution de la taille des particules sur les paramètres d'ajustement . . . 165

7.4.2 Effet de la fraction volumique maximale sur le modèle pour les trois distributions de taille de particules . . . 167
7.4.3 Effet de la viscosité de la phase continue sur les paramètres du modèle . . . 168
7.5 Conclusion . . . 169

Conclusion **173**

Annexes **181**

A Récapitulatif des symboles utilisés pour désigner la fraction volumique **183**

B Effet de l'introduction de particules rigides dans les purées de pommes modèles **185**
B.1 Stratégie expérimentale . . . 186
B.2 Caractérisation des chlorelles utilisées . . . 187
B.2.1 Structure des suspensions de chlorelles . . . 187
B.2.2 Caractérisation physico-chimique préliminaire . . . 189
B.3 Préparation des suspensions de chlorelles . . . 190
B.4 Préparation des mélanges binaires . . . 190
B.5 Protocoles utilisés en rhéologie . . . 191
B.5.1 Protocoles de mesures rhéologiques sur les suspensions de chlorelles . . . 191
B.5.2 Protocoles de mesures rhéologiques sur les mélanges binaires . . . 191
B.6 Propriétés rhéologiques des suspensions de chlorelles . . . 192
B.7 Résultats de la caractérisation rhéologique des mélanges binaires . . . 193
B.8 Discussion . . . 194
B.9 Conclusion . . . 197

C Protocoles de caractérisation de la composition chimique des parois végétales **199**
C.1 Dosages des oses neutres par la méthode des acétates d'alditols . . . 199
C.1.1 Principe . . . 199
C.1.2 Mode opératoire . . . 199
C.2 Dosages de l'acide galacturonique par colorimétrie . . . 200
C.2.1 Principe de la méthode . . . 200
C.2.2 Mode opératoire . . . 200
C.3 Dosage du méthanol par GC/MS . . . 200
C.3.1 Principe . . . 200
C.3.2 Mode opératoire . . . 201

D Posters **203**

Table des figures

1 Manger 5 fruits et légumes par jour 23
2 Le fils de l'homme (1964), René Magritte 26

1.1 Représentation schématique de l'approximation de milieu continu selon Coussot (2005) 31
1.2 Interactions dans les suspensions (Coussot & Ancey, 1999) 32
1.3 Effet de la concentration en électrolytes sur le potentiel électrostatique entre deux particules selon Mewis & Wagner (2013) 34
1.4 Courbes d'écoulement et modèles d'écoulement rencontrés en rhéologie (Steffe, 1996) 35
1.5 Fraction volumique de *random close packing* en fonction de l'étalement de la distribution granulométrique des particules selon Farr & Groot (2009). 39
1.6 Modélisation du comportement rhéologique en écoulement de suspensions de particules sphériques rigides de la littérature selon Shewan & Stokes (2014) 40
1.7 Effet de la forme des particules sur la viscosité relative et sur la fraction volumique maximale des suspensions (Barnes, 2000) 42
1.8 Effet de la bimodalité sur la viscosité de suspensions de sphères rigides (Chong *et al.*, 1971) . . 42
1.9 Courbe maitresse de l'évolution de la viscosité relative de suspensions de sphères dures mono- et bimodales en fonction de la fraction volumique réduite (Chong *et al.*, 1971) 43
1.10 Effet du taux de cisaillement et de la fraction volumique sur la viscosité de suspensions de particules de latex (Laun, 1984) 45
1.11 Lien entre microstructure et rhéologie : Effet du cisaillement sur les flocs de particules (Quemada, 2006) 45
1.12 Lien entre microstructure et rhéologie pour des suspensions concentrées d'amidons de maïs (Taylor, 2013) 46
1.13 Polydispersité des suspensions de particules molles. Micrographies d'une émulsion très polydisperse (Malkin & Kulichikhin, 2015) et d'une suspension de microgels d'agar (Shewan, 2014) . . 47
1.14 Structure de microgels à rigidité variable observés par microscopie électronique à transmission (Adams *et al.*, 2004) 48
1.15 Effet de la rigidité des particules sur la viscosité de suspensions de microgels d'agar (Adams *et al.*, 2004) 48
1.16 Déformabilité des particules molles. Gouttellettes d'émulsions déformées par l'encombrement du système (Malkin & Kulichikhin, 2015), capsules non-perméables déformées par l'encombrement et capsules non-perméables déformées par pression osmotique (Jose *et al.*, 2016) 49
1.17 Effet de la rigidité des particules et de la contrainte de cisaillement sur la dépendance de la viscosité à la fraction volumique (Adams *et al.*, 2004). 50
1.18 Modélisation du comportement en écoulement de suspensions de microgels d'agar de rigidité variable par le modèle MPQ (Shewan & Stokes, 2015) 51
1.19 Représentation schématique d'une particule core-shell (Mendoza, 2013) 52
1.20 Viscosité relative en fonction de la fraction volumique apparente de suspensions de polymères en étoiles (Mendoza, 2013) 53

2.1 Microscopie optique du parenchyme de différentes variétés de fruits (Redgwell *et al.*, 1997) . . 55
2.2 Représentation schématique (Khan & Vincent, 1993) et microscopie électronique à balayage (Khan & Vincent, 1990) du parenchyme de pomme 56
2.3 Représentation schématique d'une suspension de particules végétales : application à une purée de carottes (Moelants *et al.*, 2014b) 56
2.4 Représentations schématiques de la paroi cellulaire végétale, inspirée de Van Buggenhout *et al.* (2009) et Davidson (2015) 57
2.5 Images obtenues en microscopie à force atomique de la paroi végétale et du réseau de microfibrilles de cellulose d'une pomme (Cybulska *et al.*, 2013) 58
2.6 Marquage spécifique des parois cellulaires de carotte (Christiaens *et al.*, 2011) 58
2.7 Structure chimique de l'acide polygalacturonique 59
2.8 Représentation schématique de la structure des pectines (Willats *et al.*, 2006) 59
2.9 Comportement rhéologique des suspensions de particules végétales (Moelants *et al.*, 2014b) . . 61
2.10 Cellules de parenchyme de poire mûre en instance de séparation (Waldron *et al.*, 2003) 63
2.11 Images de cellules de pommes croquante ou farineuse par cryo-microscope électronique à balayage (Segonne *et al.*, 2014) 63
2.12 Effet du traitement thermique sur la structure chimique des constituants de la paroi végétale marquée par immunofluorescence avec plusieurs anticorps spécifiques de l'homogalacturonane (Christiaens *et al.*, 2011) 64
2.13 Effet du traitement thermique sur des cellules de parenchyme d'oignon (Sila *et al.*, 2008) . . . 65
2.14 Effet du temps de traitement thermique sur la fermeté de la pomme et sur la taille des particules en suspensions (Schijvens *et al.*, 1998) 65
2.15 Effet du cisaillement sur la morphologie des particules végétales en suspensions observé par microscopie confocale (Redgwell *et al.*, 2007) 66
2.16 Particules végétales en suspension ayant des morphologies différentes (Lopez-Sanchez *et al.*, 2012) 67
2.17 Effet du traitement mécanique sur les particules végétales (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013) 67
2.18 Effet du procédé de transformation sur la morphologie de particules végétales de carotte, de brocoli et de tomate (Lopez-Sanchez *et al.*, 2011a) 68
2.19 Effet de la température et du cisaillement sur la morphologie des particules végétales (Day *et al.*, 2010b) 69
2.20 Domaines de concentration des suspensions de particules végétales selon Bayod (2008) 70
2.21 Effet de la concentration en solides (solubles et insolubles) sur le module élastique de suspensions de cellules de carotte de granulométrie variable (Day *et al.*, 2010a) 71
2.22 Courbes maitresses de la viscosité apparente, du seuil d'écoulement et du module élastique en fonction de la concentration en insolubles selon Espinosa-Muñoz *et al.* (2013) 73
2.23 Évolution du module complexe en fonction de la concentration en particules et définition d'une fraction volumique selon Day *et al.* (2010b) 74
2.24 Suspensions de cellules de carotte isolées de taille contrôlée par tamisage humide et marquées par du bleu de toluidine (Moelants *et al.*, 2013b) 75
2.25 Module complexe de suspensions de cellules de carotte en fonction de la concentration en xanthane de la phase continue (Hemar *et al.*, 2011) 76
2.26 Reconstruction de cellules de parenchyme de raisin (Gray *et al.*, 1999) 76
2.27 Stratégie expérimentale de la thèse 83

3.1 Paramètres d'intérêt utilisés pour la caractérisation mécanique des pommes fraîches 88
3.2 Protocole de fabrication des purées de pomme 90
3.3 Distribution granulométrique de la purée de pommes native 91
3.4 Observation des cellules individuelles et des amas de cellules par microscopie optique à contraste de phase 91

3.5 Compositions chimique des parois végétales modèles issues de cellules individuelles et d'amas de cellules. Glucose NC = Glucose non-cellulosique. Glucose C = Glucose cellulosique. DM = Degré de méthylation. 93
3.6 Géométrie utilisée pour les mesures rhéologiques en écoulement et en dynamique 94
3.7 Effet de la mise en place, du pré-cisaillement et du temps de repos sur les propriétés rhéologiques des purées de pomme 95
3.8 Effet du cisaillement sur les propriétés en dynamique 96
3.9 Cisaillement constant d'une purée native et d'une purée broyée en fonction du temps 96
3.10 Méthodes de détermination du seuil d'écoulement sur la purée native 98
3.11 Comparaison des méthodes de détermination du seuil d'écoulement pour différentes concentrations en pulpe 98
3.12 Effet du temps de mesure sur la viscosité apparente d'une purée native 99
3.13 Caractérisation rhéologique de la purée de pommes native 100

4.1 Stratégie expérimentale permettant l'observation des cellules végétales en milieu encombré . . . 109
4.2 Concentrations en insolubles choisies pour pour l'observation microscopique et la reconstruction 3D 110
4.3 Étapes du pré-traitement des images 111
4.4 Détails de l'analyse d'images 111
4.5 Microscopie optique et sélection représentative de reconstruction 3D de cellules de pomme dans 4 suspensions de concentration en insolubles variable 112
4.6 Volume, Surface et ratio Volume/Surface des cellules observées dans les quatre suspensions choisies 113
4.7 Microscopie confocale à balayage environnemental de parenchyme de pomme 114
4.8 Évolution du volume des particules de pomme lorsque la concentration en insolubles augmente . 116

5.1 Distribution granulométrique des purées de trois niveaux de broyage 126
5.2 Courbe d'écoulement et balayage en déformation pour les trois niveaux de broyage 128
5.3 Évolution du module complexe et de $tan\delta$ en fonction de la quantité d'insolubles 129
5.4 Seuil d'écoulement en fonction de la quantité d'insolubles pour les trois niveaux de broyage . . . 131
5.5 Viscosité relative en fonction de la quantité d'insolubles pour les trois niveaux de broyage 132
5.6 Viscosité relative en fonction de la quantité d'insolubles pour les trois niveaux de broyage - Modélisation des domaines de concentration 133
5.7 Viscosité relative en fonction de la fraction volumique apparente des particules pour les trois niveaux de broyage 135

6.1 Microscopie électronique à balayage environnementale des parois végétales sèches 144
6.2 Effet du séchage sur la réhydratation des particules et sur les propriétés rhéologiques des suspensions modèles 145
6.3 Distribution granulométrique des particules dans les suspensions modèles 146
6.4 Viscosité apparente des cellules indivudelles et des amas en suspension dans le sérum en fonction de la quantité d'insolubles 147
6.5 Viscosité relative et granulométrie des suspensions de particules comparées à des purées réelles 149
6.6 Module élastique en fonction de cellules individuelles et d'amas de cellules en suspensions dans différentes phases continues modèles en fonction de la quantité d'éléments insolubles 150
6.7 Seuil d'écoulement de cellules individuelles et d'amas de cellules en suspensions dans différentes phases continues modèles en fonction de la quantité d'éléments insolubles 151
6.8 Viscosités apparente et relative de cellules individuelles et d'amas de cellules en suspensions dans différentes phases continues modèles en fonction de la quantité d'insolubles 153

7.1 Représentation schématique de l'effet de la concentration sur la taille et la forme des particules Leverrier *et al.* (2017b) . . . 161
7.2 Représentation schématique de deux spécificités des particules végétales : la porosité des parois permet un écoulement à travers la particules, et la présence de fragment de cellules en suspensions engendre de possibles interpénétration des cellules. Les deux phénomènes conduisant à des volumes hydrodynamiques plus faibles que ceux attendus. . . . 163
7.3 Modélisation du comportement rhéologique de trois purées de pommes de distribution granulométrique différentes . . . 165
7.4 Observation microscopique des trois distributions de taille de particules . . . 166
7.5 Évolution de ϕ_{eff} en fonction de ϕ pour les trois distributions granulométriques observées . . . 167
7.6 Distribution de taille des suspensions modèles . . . 168
7.7 Modélisation des propriétés rhéologiques des suspensions modèles de cellules de parenchyme dans 4 phases continues selon l'équation 7.8 . . . 169
7.8 Triptyque Structure - Texture - Rhéologie . . . 177

B.1 Mélanges binaires chlorelles/pommes réalisés . . . 186
B.2 Hypothèses de comportements rhéologiques pour les suspensions mixtes algues/pommes. . . . 186
B.3 La poudre de chlorelles utilisée avant hydratation et mise en suspension . . . 187
B.4 Distribution granulométrique des suspensions de chlorelles . . . 188
B.5 Microscopie optique d'une suspension de chlorelles à 9,17 g/100g . . . 188
B.6 Viscosité apparente de suspensions de chlorelles à concentration variable en fonction du taux de cisaillement . . . 192
B.7 Viscosité apparente des suspensions de chlorelles en fonction de la quantité d'insolubles . . . 193
B.8 Modélisation de la viscosité apparente des suspensions de chlorelles dans le domaine dilué en fonction de la quantité d'insolubles permettant de définir ϕ_{app} en fonction de la quantité d'insolubles et viscosité apparente des suspensions de chlorelles en fonction de la fraction volumique apparente . . . 194
B.9 Modélisation de la viscosité apparente des suspensions de chlorelles en fonction de la fraction volumique apparente . . . 195
B.10 Viscosité apparente et modules élastiques et visqueux des suspensions binaires algues:pommes . 195
B.11 Obtention de la viscosité apparente des suspensions de chlorelles en mélanges binaires . . . 196
B.12 Viscosité relative des suspensions de cellules de parenchyme dans différentes phases continues comparées à celle obtenue dans les suspensions de chlorelles de concentration variable . . . 196
B.13 Comportement hypothétique des cellules de parenchyme dans une suspension concentrée de chlorelles . . . 197

Liste des tableaux

1.1 Variables caractéristiques d'une suspension de sphères dures sans interaction 34

2.1 Influence du procédé sur les propriétés des sérums de carotte et de tomate (Moelants *et al.*, 2012) 60
2.2 Modèles rhéologiques utilisés pour les suspensions de particules végétales (Colin-Henrion *et al.*, 2007) 62
2.3 Compositions chimiques d'une variété de carotte (Sharma *et al.*, 2012; Lopez-Sanchez *et al.*, 2012) et des pommes Golden Delicious et Granny Smith (Wu *et al.*, 2007; Gheyas *et al.*, 1997) 62
2.4 Effet de la taille des particules sur l'indice de consistance de purées de fruits et légumes 67

3.1 Caractérisation mécanique et biochimique des pommes fraîches 89
3.2 Caractérisation biochimique et structurelle de la purée de pommes native 92

4.1 Effet de la quantité d'insolubles sur le volume et la forme des cellules 113
4.2 Fractions volumiques estimées pour les quatre suspensions définies Figure 4.2 116

5.1 Paramètres structuraux et rhéologiques des purées non-broyée, moyennement broyée et très broyée 127
5.2 Équations et paramètres utilisés pour modéliser les relations entre les propriétés rhéologiques et la quantité d'insolubles pour les trois niveaux de broyage 130

6.1 Propriétés physico-chimiques des phases continues 142
6.2 Équations et paramètres utilisés pour modéliser la relation entre les propriétés rhéologiques et la quantité d'insolubles (IS) dans les trois domaines de concentration 148

7.1 Paramètres d'ajustement du modèle utilisés pour la Figure 7.3 avec $\phi_{rcp} = 0.637$ 165
7.2 Paramètres d'ajustement du modèle utilisés pour la Figure 7.3 avec ϕ_{rcp} dépendant de la distribution granulométrique des particules 168
7.3 Paramètres d'ajustement du modèle utilisé à la Figure Fig. 7.7 168

A.1 Récapitulatif des symboles utilisés pour désigner la fraction volumique et des définitions associées 183

B.1 Caractérisation physico-chimique préliminaire d'une suspension de chlorelles 20% 190
B.2 Effet de la redispersion de chlorelles sur les propriétés de la phase continue des suspensions . . . 191
B.3 Caractérisation physico-chimique du sérum utilisé 191
B.4 Paramètres des modélisations de la Figure B.9. Le détails des formules peut être retrouvé aux sections 1.4.2 et 1.7.2 193

Publications et communications

Publications dans des revues internationales à comité de lecture

— Leverrier C., Almeida G., Espinoza-Munoz L., Cuvelier G. (2016). Influence of particle size and concentration on rheological behaviour of reconstructed apple purees. *Food Biophysics* DOI : 10.1007/s11483-016-9434-7
— Leverrier C., Almeida G., Menut P., Cuvelier G. (2017) How do composition and viscosity of the continuous phase impact rheological properties of relevant model suspensions of apple cells ? *Journal of Food Engineering* (Soumis)
— Leverrier C., Cuvelier G., Almeida G., Menut P. (2017) Modelling shear viscosity of soft plant cell suspensions. *Soft Matter* (En cours de modification)
— Leverrier C., Moulin G., Cuvelier G., Almeida G. (2017) Deformation of soft plant cells assessed by 3D images. *Food Structure* (Soumis)

Au-delà de mon propre travail, cette thèse a également permis d'initier des collaborations ayant également été valorisées :

— Mouna A., Cheikhrouhou S., Cuvelier G., Leverrier C., Renard M.G.C. C., Attia H., Ayadi M.A. (2016). Rheological properties of pomegranate peel suspensions : the effect of fibrous material and low-methoxyl pectin at acidic pH. *Food Hydrocolloids* DOI : 10.1016/j.foodhyd.2016.08.008
— Sadkaoui A., Leverrier C., Jiménez A., Pacheco R., Moulin G., Beltrán G., Cuvelier G. (2016). Pectic Cell Wall Polysaccharides and Oil Content Modulate the Rheological behavior of the Olive Fruit Pulp during Ripening Process. *Food Hydrocolloids* (Soumis)

Communications et participations à des congrès

Communications orales

— Leverrier C., Almeida G., Menut P., Moulin G., Cuvelier G. (2016) Understanding rheological behaviour of soft apple cells suspensions according to structural parameters and continuous phase. *XVIIth International Congress on Rhelogy*, Kyoto, Japon
— Leverrier C., Almeida G., Cuvelier G. (2016) Soft plant cells suspensions : How do structural parameters and continuous phase impact rheological behaviour ? *Swiss Soft Days*, Zürich, Suisse.
— Leverrier C., Almeida G., Cuvelier G. (2016) Who said we should not play with food ? Impact of structural parameters and continuous phase on rheological behaviour of apple purees. *Graduate Student Workshop*, Zürich, Suisse.
— Leverrier C., Almeida G., Cuvelier G. (2016) Suspensions de particules végétales : Approches rhéologique et microscopique. Exemple de la purée de pommes. *Séminaire de printemps AMMAC*, Massy, France
— Leverrier C., Cuvelier G. (2016) WP3 - D3.5 : Report on texture characterisation and modelling of selected fruits or vegetable- based food products processed by conventional and alternative technologies.

OPTIFEL M30 Meeting, Monells, Espagne

— Leverrier C., Almeida G., Cuvelier G. (2015) Understanding rheological behaviour of apple cells dispersions according to structural parameters and continuous phase. *Journées scientifiques Matière Molle pour la Sciences des Aliments*, Montpellier, France.

— Leverrier C., Baudin P., Guardia M.D., Cuvelier G. (2015) WP 3 - Task 3.2 : Engineering texture and nutritional quality of mixed fruit and vegetables. *OPTIFEL M18 Meeting*, Paris, France

— Leverrier C., Almeida G., Cuvelier G. (2015) *Séminaire de printemps AMMAC*, Paris, France

Posters

— Leverrier C., Almeida G., Menut P., Moulin G., Cuvelier G. (2016) Soft plant cells suspensions : How do structural parameters and continuous phase impact rheological behaviour ? *4th International Soft Matter Conference*, Grenoble, France

— Leverrier C., Almeida G., Moulin G., Cuvelier G. (2016) Observation of soft apple cells in crowded environnement *4th International Soft Matter Conference*, Grenoble, France

— Leverrier C., Huc-Mathis D., Almeida G., Bosc V., Binois D., Cuvelier G. (2016) Impact of mechanical treatment and particle concentration on fruit suspensions stability. *Fruit & Veg Processing, 2nd Euro-Mediterranean Symposium*, Avignon, France [1]

— Leverrier C., Almeida G., Cuvelier G. (2016) Impact of continuous phase and particle content on rheological behaviour of apple cells suspensions. *20th Anniversary Meeting of the European Society of Rheology*, Zürich, Suisse.

— Leverrier C., Almeida G., Kaymaz S., Cuvelier G. (2015) Effect of structural parameters on rheological behaviour of apple cells dispersions : A comparison of real systems and model systems. *7th International Symposium on Food Rheology and Structure*, Zürich, Suisse.

— Leverrier C., Almeida G., Cuvelier G. (2015) Effect of structural parameters on rheological behaviour of reconstructed apple puree. *10th Annual European Rheology Conference*, Nantes, France

— Parizel O., Leverrier C., Delarue J., Marsset-Baglieri A., Sulmont Rossé C., Fromentin G., Cuvelier G. (2014) Designing a food model to study the impact of food liking on food intake : characterization of isocaloric apple purees varying in texture. *Vitagora*, Dijon, France

Autres publications

— Leverrier C. & Cuvelier G. (2015) OPTIFEL Deliverable D3.5 - Report on texture characterisation and modelling, of selected fruits or vegetable-based food products processed by conventional and alternative technologies.

1. Ce poster a été récompensé par le prix du plus beau poster, sélectionné par les participants du congrès parmis 105 posters

Introduction générale

« Si tu veux que la pomme tombe, secoue l'arbre »

Les premières lignes de ce manuscrit sont certainement les plus difficiles qu'il m'ait été donné d'écrire au cours de ma rédaction... J'aimerais tant réussir à vous transmettre mon enthousiasme et la joie que j'ai eu à travailler sur ce projet ! Je vais aborder cette introduction de manière assez personnelle, car je n'ai pas envie de vous donner seulement des chiffres clés, rendant ce travail "objectivement" intéressant, mais j'ai plutôt envie de vous faire ressentir pourquoi je me suis lancée dans ce projet et quels sont les défis que nous nous sommes donnés au départ de cette aventure.

Tout d'abord, ce qui m'a vraiment plu dans ce projet, c'est de travailler sur un produit concret et au cœur des préoccupations actuelles. En effet, nul n'est sans savoir que les fruits et les légumes sont des constituants essentiels d'une alimentation saine et équilibrée. Leur consommation régulière pourrait prévenir l'apparition de maladies cardio-vasculaires et de certains cancers (World Health Organization, 2003). La trop faible consommation de fruits et légumes ferait ainsi partie des 10 plus importants facteurs de risque pour la santé mondiale (de Reynal, 2008).

Pouvoir travailler au cœur d'un projet ayant un impact sociétal fort faisait également partie de mes motivations premières. Or, la consommation de fruits et légumes est aujourd'hui un enjeu majeur de santé publique : selon l'OMS, les consommations de fruits et de légumes en Europe sont insuffisantes dans plus de la moitié des pays européens (World Health Organization, 2006). Dans ce contexte, la France met en place en 2001 le PNNS (Programme National Nutrition Santé), visant à faire la promotion des fruits et légumes. Apparaissent ainsi nombres de messages du gouvernement tels que le bien connu : "Manger 5 fruits et légumes par jour".

Figure 1 – Manger 5 fruits et légumes par jour

En 2007, seuls 43% des adultes mangent les 5 fruits et légumes recommandés par jour, et seulement 20% des enfants (moins de 18 ans) (Ministère du Travail de l'Emploi et de la Santé, 2011). Le PNNS met donc en place en 2010 une nouvelle campagne avec pour objectif qu'au moins 50 % des adultes et 25% des enfants consomment au moins les 5 fruits et légumes recommandés par jour en 2015 : rendre les fruits et légumes accessibles à tous devient une priorité.

Les fruits et légumes transformés présentent de nombreux avantages pour atteindre ces objectifs. En effet, en plus de permettre une longue conservation, les purées de fruits et légumes sont bon marché et ne demandent aucune préparation. Ces produits sont faciles et rapides à consommer car ils sont tout prêts. L'offre alimentaire se diversifie et évolue pour s'adapter à l'évolution du mode de vie : les purées de fruits et légumes sont pratiques, on peut les emmener partout, permettant de stimuler leur consommation. Le PNNS promeut ainsi la consommation des fruits et légumes transformés, en rappelant qu'une fois cuits, ils restent également intéressants d'un point de vue nutritionnel et sont souvent plus digestes, ce qui est un atout important notamment pour les seniors (Aprifel, 2013). Enfin, les compotes et purées de fruits du commerce représentent directement une portion de fruit, ce qui simplifie la compréhension par le consommateur.

C'est donc en pleine prise de conscience gouvernementale sur l'importance du lien entre alimentation et santé que je me suis lancée dans cette aventure qu'est la thèse, avec pour objectif de faire (modestement) avancer la compréhension des relations structure/propriétés de suspensions de particules végétales.

Ce travail de recherche a été financé et s'inscrit dans le cadre de deux projets :

Le programme de recherche AMMAC, coordonné par l'INRA, et dont l'objectif est de mieux comprendre le comportement des aliments en les abordant de manière raisonnée, afin de mieux appréhender le lien entre la structure de l'aliment et ses propriétés. Ce programme de recherche s'attache particulièrement à prendre en compte l'hétérogénéité des systèmes et à identifier les échelles pertinentes auxquelles le produit se compartimentalise. La compréhension des systèmes concentrés et l'élaboration d'aliments modèles font partie des objectifs de ce projet.

Le projet européen OPTIFEL, également coordonné par l'INRA, a pour objectif de concevoir des produits innovants à base de fruits et légumes pour améliorer l'alimentation des personnes âgées sur le plan nutritionnel, en gardant ou en réintroduisant la dimension plaisir associée au repas. Rassemblant 26 partenaires européens, académiques et industriels, ce projet s'intéresse à la fois à identifier les spécifications des futurs consommateurs, développer des produits, des procédés et des emballages appropriés et innovants, déterminer l'impact du stockage et de la mise en œuvre sur les propriétés des produits et évaluer l'acceptation des produits par les usagers.

Ce sujet m'a particulièrement plu car il réunit à la fois mon amour de la physique et l'envie de déconstruire les systèmes pour essayer d'aller plus loin dans la compréhension ; et mon souhait de travailler au sein d'un projet concret, en lien direct avec la société et en collaboration avec de nombreux acteurs dans toute l'Europe.

La texture est le principal facteur de qualité selon les consommateurs (Goulao & Oliveira, 2008). Lors des procédés de transformation, les changements macroscopiques perceptibles au niveau de la texture sont une conséquence directe de changements de la microstructure du produit. Dans le cas des purées de fruits et légumes, la texture est déterminée par les parois cellulaires (Espinosa, 2012).

Comprendre les relations entre la microstructure et la texture du produit permettrait ainsi de maîtriser la texture des produits finis et ainsi de proposer des produits adaptés spécifiquement aux différents types de consommateurs, comme par exemple les jeunes enfants ou les personnes âgées.

Nous avons choisi de travailler sur la pomme car c'est le fruit le plus consommé par les français, en moyenne 18kg par ménage en 2015. C'est également le premier fruit transformé en France (FranceAgriMer, 2015) : plus de 320 000 tonnes de purées de fruits et compotes sont produites par an, dont plus de 150 000 tonnes à base de pommes uniquement. Enfin, utiliser la pomme comme système modèle était également un choix judicieux au regard de l'expertise acquise par les travaux antérieurs menés au sein de l'UMR Génial.

Ce travail de thèse a pour objectif de mieux comprendre le lien entre les propriétés structurales et rhéologiques des purées de fruits et légumes. Par une approche de type sciences des matériaux, nous essayerons également de modéliser les relations structure-propriétés de ces systèmes à base de végétaux transformés.

Dans les premiers mois de mon travail de thèse, Gérard m'a dit : *"En fait, l'objectif de ton travail est d'aboutir à un modèle théorique décrivant le comportement de nos suspensions en écoulement, comme celui d'Einstein !"* C'est dire si nous avions de grands projets ! Toutes nos ambitions n'ont certainement pas été atteintes, mais j'ai apprécié travailler sur ce sujet et rédiger ce manuscrit, j'espère qu'il en sera de même pour vous à le lire.

Figure 2 – Le fils de l'homme (1964), René Magritte
"Toute chose ne saurait exister sans son mystère. C'est d'ailleurs le propre de l'esprit que de savoir qu'il y a le mystère. Une pomme, par exemple, fait poser des questions."

État de l'art

Que sait-on de la rhéologie des suspensions ?

L'objectif de cet état de l'art est de poser les bases et de mettre en avant les résultats antérieurs de la littérature ayant permis d'aboutir à ce travail.

Cette thèse est centrée sur la compréhension du lien entre la structure et les propriétés rhéologiques de suspensions de particules végétales, et plus spécifiquement, de purées de pommes. Au cours de ce travail, nous avons souhaité faire le lien entre texture et rhéologie, entre sciences de l'aliment et sciences des matériaux.

Nous avons eu à cœur de considérer notre système à la fois comme un cas d'étude permettant de faire avancer la compréhension des suspensions de particules molles, tout en travaillant toujours sur le système réel et en cherchant à apporter des réponses spécifiques à ce type de suspensions composées de cellules végétales. La complémentarité entre la physique des suspensions et la science de l'aliment qui a été partie intégrante de notre démarche de recherche sera également mise en avant dans cet état de l'art.

Dans un premier temps, les notions élémentaires de la rhéologie des suspensions seront abordées. Ces notions étant indispensables pour aller plus loin dans la compréhension du lien entre structure et propriétés des suspensions de particules végétales. Puis, nous aborderons spécifiquement les propriétés des suspensions de particules végétales, en partant des éléments qui les constituent et de leur structure, puis en analysant les résultats spécifiques obtenus dans la littérature sur ces systèmes de fruits et légumes transformés en observant les paramètres ayant une influence sur leurs propriétés rhéologiques.

Chapitre 1

Introduction à la rhéologie des suspensions

La plupart des liquides structurés que nous sommes amenés à rencontrer sont des suspensions (Barnes, 2000). On peut par exemple citer le sang, la boue, le béton, la moutarde, le ketchup ou la mayonnaise. Les purées de fruits et de légumes sont décrites comme des suspensions concentrées de particules végétales déformables, dont la taille, la forme et la rigidité sont variables (Espinosa, 2012; Rao *et al.*, 1986). Afin de mieux appréhender ce type de système, nous allons nous intéresser à la rhéologie des suspensions et aux paramètres impactant leurs propriétés rhéologiques.

1.1 Approximation de milieu continu

Par définition, les suspensions, composées de particules dispersées dans un fluide, sont des systèmes inhomogènes. Cependant, la taille des particules étant petite devant celle du système, il est possible de considérer ces milieux comme des milieux quasi-homogènes, considérant la suspension comme un tout (Quemada, 2006). Cette approximation de milieu continu a été schématiquement représentée par Coussot (2005) et est reprise en Figure 1.1.

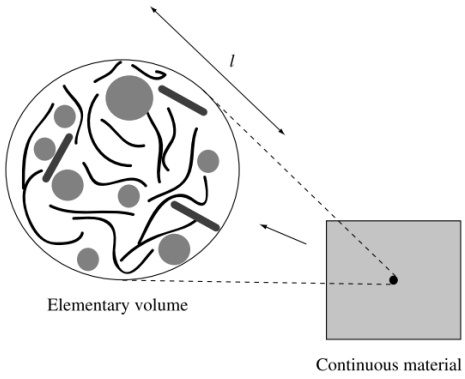


Figure 1.1 – Représentation schématique de l'approximation de milieu continu selon Coussot (2005)

1.2 Interactions dans les suspensions

En milieu dilué comme en milieu concentré, les particules sont soumises à différents types d'interactions entre elles et avec le solvant. La Figure 1.2 issue de Coussot & Ancey (1999) fait la synthèse de ces interactions.

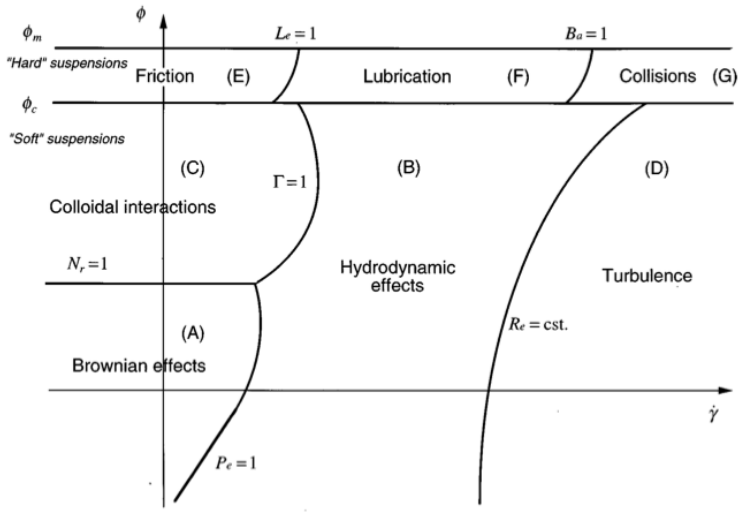


Figure 1.2 – Interactions dans les suspensions (Coussot & Ancey, 1999)

1.2.1 Interactions en milieu dilué : particule-solvant

Les forces browniennes

Ces forces sont dues à l'agitation thermique des molécules du fluide suspendant, qui entraîne un mouvement des particules colloïdales qui y sont suspendues. La force brownienne peut être définie comme :

$$F^B = k_B T / a \tag{1.1}$$

avec k_B correspond à la constante de Boltzman, T à la température du système et a au rayon des particules sphériques. Dans le cas de particules non-colloïdales, ces forces sont négligeables.

Les forces hydrodynamiques

Les forces hydrodynamiques s'exerçant sur les particules au sein du fluide sont de deux types : une force d'origine inertielle qui s'exerce sous forme de pression sur les particules, et une force de frottement visqueux, induite par le cisaillement. Ces forces sont responsables, d'une part, de la rotation des particules sur elles-mêmes dans l'écoulement, provoquée par le gradient de vitesse du fluide suspendant (Quemada, 2006), d'autre part, de l'augmentation de l'énergie dissipée par frottements visqueux entrainant une augmentation de la viscosité. Ces forces sont à l'origine de la trainée de Stokes, correspondant à la force exercée par le liquide et subie par une particule qui chute dans ce liquide. Elle s'écrit :

$$\vec{F}^H = 6\pi\eta_0 a\vec{v} \tag{1.2}$$

avec η_0 la viscosité du fluide du suspendant et $\vec{v}$ la vitesse de la particule.

De cette équation résulte la vitesse de chute d'une particule au sein d'un liquide (vitesse de sédimentation v_s). Elle correspond à l'équilibre entre le poids de la particule, la poussée d'Archimède et la force de trainée de Stokes, exercée par le fluide sur la particule et s'écrit :

$$v_s = \frac{2}{9\eta_0} (\rho_p - \rho_0) \, g a^2 \tag{1.3}$$

avec ρ_p la masse volumique des particules, ρ_0 la masse volumique du fluide suspendant et g la constante gravitationnelle.

La viscosité des suspensions de particules non-colloïdales est essentiellement dirigée par les forces hydrodynamiques, la diffusion brownienne et les forces électrostatiques ayant peu d'effet sur les particules de grande taille. Elles présentent en général un comportement Newtonien en milieu dilué.

1.2.2 Interactions en milieu plus concentré : particule-particule

Interactions colloïdales

Les particules en suspension sont soumises à deux types de forces colloïdales : les forces de Van der Waals et les forces électrostatiques (ou répulsion Coulombienne).

Les forces de Van der Waals correspondent aux forces d'attraction subies par deux particules proches dans un fluide.

Les forces électrostatiques proviennent des charges présentes à la surface des particules. Une fois suspendue dans un fluide, la surface des particules se charge : soit parce que les particules possèdent des groupements acido-basiques en surface, soit par adsorption d'ions libres, de surfactants ou de polyélectrolytes (Mewis & Wagner, 2013). La présence de ces charges entraine la formation d'une double couche électronique autour des particules : la couche d'ions à la surface des particules et la couche de contre-ions, formée autour de la particule par le fluide environnant. Lorsque deux particules chargées (de même charge) se trouvent dans un environnement proche au sein du fluide (suffisamment proche pour ressentir leurs champs respectifs), les particules vont interagir. La présence de charges de même signe sur la surface des deux particules entrainera la répulsion Coulombienne. Cette force de répulsion est sensible à la quantité d'électrolytes présents en solution. En effet, si le milieu suspendant contient beaucoup d'ions libres, la capacité du fluide à écranter les charges des particules est grande. Les deux particules de même charge pourront donc être d'autant plus proches que le milieu suspendant contient des ions. La Figure 1.3, issue de l'ouvrage de Mewis & Wagner (2013), illustre l'effet de la concentration en électrolytes sur le potentiel électrostatique entre deux particules colloïdales et sur sa distance d'interaction.

Interactions entre particules non-colloïdales

En milieu plus concentré, les particules non-colloïdales sont très proches et sont amenées à interagir, soit par contact direct (frictionnel) soit par contact lubrifié.

Contact direct Dans le cas de contacts directs entre les particules, les surfaces des particules vont entrer en collision durant l'écoulement.

Contact lubrifié Dans le cas de contact lubrifié, les particules n'interagissent que de manière hydrodynamique, en étant séparées par une fine épaisseur de fluide interstitiel. On ne parle de contact lubrifié que lorsque la distance entre les particules est très faible devant la taille des particules elles-mêmes.

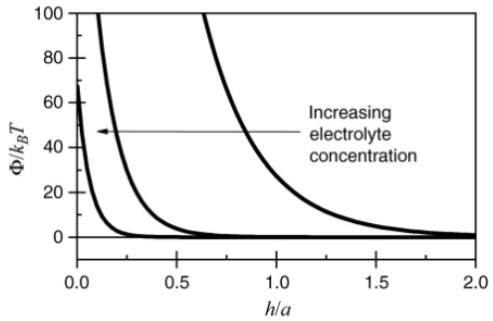


Figure 1.3 – Effet de la concentration en électrolytes sur le potentiel électrostatique entre deux particules selon Mewis & Wagner (2013)

1.2.3 Caractérisation des suspensions

Selon Quemada (2006), les suspensions peuvent être caractérisées à trois niveaux par :
— Les propriétés du fluide suspendant
— Les propriétés des particules
— Les conditions extérieures, fixées par l'expérimentateur

Ces trois niveaux de caractérisation permettent de définir neuf variables caractéristiques pour les suspensions de sphères dures sans interaction, résumées dans le Tableau 1.1.

Table 1.1 – Variables caractéristiques d'une suspension de sphères dures sans interaction

Variables relatives au fluide suspendant	Variables relatives aux particules	Variables liées à l'expérimentation
- la masse volumique du fluide ρ_0	- le rayon des particules a	- la température T
- la viscosité du fluide η_0	- la densité numérique des particules N	- la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$
- le coefficient de diffusion brownienne D_T	- la masse volumique du matériau constituant les particules ρ_p	- le temps caractéristique d'expérimentation t_{exp}

Ces variables permettent de déterminer des nombres sans dimension nous informant sur le type de suspension étudiée :

Le nombre de Reynolds nous informe sur le caractère visqueux ou inertiel de l'écoulement. Il est défini comme :

$$Re = \frac{\rho L v}{\eta} \tag{1.4}$$

où ρ est la masse volumique du fluide considéré, L une distance typique de l'écoulement, v la vitesse du fluide et η sa viscosité. Dans le cas d'une suspension, un nombre de Reynolds local, aussi appelé "nombre de Reynolds particulaire", peut également être défini tel que (Ancey, 2016) :

$$Re_p = \frac{\rho_0 v_s a}{\eta_0} \tag{1.5}$$

où v_s est la vitesse de sédimentation des particules.

Le nombre de Péclet nous informe sur l'importance relative de la diffusion et de la convection dans la suspension étudiée. Il est défini comme :

$$Pe = \frac{6\pi\eta_0\dot{\gamma}a^3}{k_B T} \tag{1.6}$$

Le nombre de Stokes nous informe sur l'importance de l'inertie des particules par rapport au temps de relaxation visqueuse. Il est donc défini comme le rapport entre le poids d'une particule et sa force de trainée :

$$St = \frac{\frac{4}{3}\pi a^3 \rho_p g}{6\pi a \eta_0 v_s} = \frac{2}{9}\frac{\rho_p}{\rho_0}Re \tag{1.7}$$

Dans le cadre de ce travail, nous nous intéresserons essentiellement à des suspensions non-colloïdales, dont les particules sont de taille suffisamment importante (>10 μm) pour ne pas être soumises à l'agitation Brownienne. Ces suspensions sont caractérisées par un haut Péclet (diffusion brownienne négligeable devant la convection) et un faible nombre de Reynolds (effets inertiels négligeables). Contrairement aux suspensions colloïdales, la viscosité des suspensions non-colloïdales est gouvernée par les forces hydrodynamiques quelle que soit la gamme de taux de cisaillement explorée (Genovese *et al.*, 2007) et elles ne sont pas soumises aux forces thermodynamiques.

1.3 Les modèles d'écoulement

Les modèles rhéologiques sont utilisés pour modéliser le comportement d'un matériau sous contrainte, c'est-à-dire pour simuler sa réponse à une sollicitation mécanique. La Figure 1.4 met en évidence les différents types de comportements rhéologiques de fluides observés.

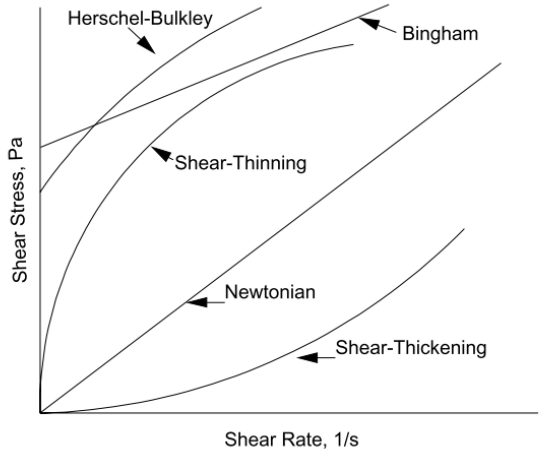


Figure 1.4 – Courbes d'écoulement et modèles d'écoulement rencontrés en rhéologie (Steffe, 1996)

Le modèle d'écoulement le plus simple correspond à un comportement visqueux Newtonien, modélisé par une relation linéaire entre la contrainte τ et la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$, dont le facteur de proportionnalité est la viscosité η du fluide. Ce modèle est la loi de Newton et s'écrit comme :

$$\tau = \eta\dot{\gamma} \tag{1.8}$$

Le modèle de Bingham permet de décrire l'écoulement des fluides ayant un comportement Newtonien au-delà d'une contrainte seuil. Il s'écrit comme :

$$\tau = \tau_0 + \eta\dot{\gamma} \tag{1.9}$$

où τ_0 est le seuil d'écoulement du fluide, c'est à dire la contrainte minimale à appliquer pour que le fluide s'écoule. Le comportement de ces fluides est qualifié de viscoplastique.

Le modèle d'Ostwald-de Waele (ou loi de puissance), permet de modéliser le comportement des fluides Newtoniens et non-Newtoniens n'ayant pas de seuil d'écoulement. Il s'écrit comme :

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \tag{1.10}$$

où K est l'indice de consistance et n l'indice d'écoulement. Lorsque $n = 1$ le comportement du fluide est Newtonien, on retrouve la loi de Newton. Lorsque $0 < n < 1$, le fluide est rhéofluidifiant. Lorsque $n > 1$, le fluide est rhéoépaississant.

Enfin, le modèle d'Herschel-Buckley permet de modéliser le comportement de fluides non-Newtoniens à seuil, il s'écrit comme :

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n \tag{1.11}$$

1.4 Lien viscosité - fraction volumique

La viscosité des suspensions est d'abord contrôlée par la viscosité du fluide suspendant (Barnes, 2000), intervient ensuite l'apport de la phase dispersée, qui dépend de la quantité, la taille, la forme et la rigidité des particules dispersées. La fraction volumique d'une suspension correspond à la proportion d'éléments solides suspendus dans le milieu, elle est définie comme :

$$\phi = \frac{V_{particules}}{V_{total}} \tag{1.12}$$

1.4.1 Les théories

La modélisation de la relation entre la viscosité et la fraction volumique des suspensions suscite l'intérêt depuis le début des années 1900. Dans cette partie, nous rappellerons brièvement les théories fondatrices de la modélisation rhéologique des suspensions.

En milieu dilué

La théorie d'Einstein (1906) Précurseur de la modélisation rhéologique des suspensions, Einstein postule que lorsqu'une particule est suspendue dans un fluide, la perturbation qu'elle apporte à l'écoulement engendre des frottements visqueux conduisant à une viscosité de la suspension supérieure à celle du fluide suspendant. Dans la limite d'un milieu très dilué ($\phi < 0,1$), c'est à dire sans interaction hydrodynamique entre particules, la perturbation subie est directement proportionnelle à la quantité de particules suspendues dans le fluide, et donc directement proportionnelle à la fraction volumique. Ainsi, l'apport spécifique de viscosité apporté par les particules s'écrit :

$$\eta_{spe}(\phi) = \frac{\eta(\phi) - \eta_0}{\eta_0} = k_E\phi \tag{1.13}$$

donnant ainsi l'expression suivante de la viscosité :

$$\eta(\phi) = \eta_0\,(1 + k_E\phi) \tag{1.14}$$

Pour une suspension monodisperse de sphères rigides en milieu très dilué, Einstein détermine la valeur de la constante k_E à 2,5. La force de l'équation d'Einstein est son universalité. En effet, comme elle ne tient pas

compte des effets browniens, de la taille des particules et de leur distribution, elle peut s'appliquer avec succès à toutes les suspensions de sphères polydisperses dans la limite du domaine dilué.

L'équation de Taylor (1932) L'équation de Taylor peut être considérée comme une généralisation de la loi d'Einstein. La particularité de cette équation est qu'elle permet la modélisation de suspensions de particules sphériques non-rigides (bulles ou gouttelettes dispersées) en milieu dilué, puisqu'elle tient compte de la différence de viscosité entre les particules et le milieu environnant.

$$\eta(\phi) = \eta_0 \left[1 + \left(\frac{1 + 2,5\lambda}{1 + \lambda}\right)\phi\right] \tag{1.15}$$

avec $\lambda = \eta_d/\eta_0$ où η_d correspond à la viscosité de la phase dispersée.

Ainsi, pour reprendre l'équation d'Einstein, $k_E = \frac{1+2,5\lambda}{1+\lambda}$. Pour des valeurs de $\eta_d << \eta_0$, k_E tend vers 1, valeur pour laquelle l'énergie de dissipation est minimale. Pour des valeurs de $\eta_d >> \eta_0$, k_E tend vers 2,5 et on retrouve l'équation d'Einstein (1.14). Il est important de noter tout de même que cette équation n'est valable qu'à bas taux de cisaillement pour des particules déformables, les particules étant susceptibles de perdre leur forme sphérique à fort taux de cisaillement.

La théorie de Batchelor (1977) La prise en compte des effets hydrodynamiques et browniens entre deux sphères permet d'obtenir le développement au second ordre suivant :

$$\eta(\phi) = \eta_0 \left(1 + 2,5\phi + 5,2\phi^2\right) \tag{1.16}$$

En milieu semi-dilué à concentré

Les approches théoriques de la dépendance de la viscosité à la fraction volumique en milieu concentré sont peu nombreuses et atteignent rarement des taux de remplissage extrêmes en allant jusqu'à la fraction volumique maximale de remplissage du système. En effet, il n'existe pas encore de théories exactes permettant de prédire la viscosité de suspensions concentrées même dans le cas de suspensions de particules sphériques rigides (Mewis & Wagner, 2013).

Nous ne citerons ici que la relation de Frankel & Acrivos (1967), permettant l'estimation analytique de la viscosité de suspensions de sphères monodisperses par une approche asymptotique (Eq. 1.17). Dans ce modèle, la divergence de la viscosité des suspensions est essentiellement attribuée aux interactions hydrodynamiques entre les sphères voisines. Si une bonne concordance est observée avec les données expérimentales obtenues sur des suspensions modèles, il est à noter que ce modèle ne retombe pas sur la relation d'Einstein (Eq. 1.14) en milieu dilué.

$$\eta(\phi) = \eta_0 \times \frac{9 \times (\phi/\phi_m)^{1/3}}{8 \times (1 - (\phi/\phi_m)^{1/3})} \tag{1.17}$$

1.4.2 Approches phénoménologiques

Peu de théories exactes ont donc été développées pour modéliser la dépendance de la viscosité à la fraction volumique en allant jusqu'à la fraction volumique maximale. Pour permettre de prédire le comportement de suspensions jusqu'à ces concentrations extrêmes, de nombreux modèles empiriques ont donc été développés. Ces modèles, plus ou moins fidèles aux variations mesurées, permettent donc d'interpoler des comportements, mais difficilement de les extrapoler (Quemada, 2006).

Pour Quemada (2006), les modèles phénoménologiques ont deux défauts principaux :

— ils nécessitent un grand nombre de mesures pour être précis et validés sur une large gamme de concentrations
— les paramètres ajustables n'ont pas toujours une interprétation physique claire et leur variation est difficile à prédire.

Néanmoins, l'utilisation de ces modèles empiriques est indispensable dans de nombreux domaines de l'industrie, notamment celui des bétons, et de nombreux modèles sont développés pour s'ajuster aux données d'intérêt.

Dans cette partie, nous allons dresser un rapide aperçu des principaux modèles phénoménologiques très répandus au sein de la communauté des rhéologues.

Le modèle MPQ : Maron - Pierce - Quemada

À l'origine développé par Maron et Pierce (1956) puis largement popularisé par Quemada (1977), le modèle suivant est très utilisé dans la littérature :

$$\eta(\phi) = \eta_0 \left(1 - \frac{\phi}{\phi_m}\right)^{-q} \tag{1.18}$$

Cette équation introduit pour la première fois une valeur critique ϕ_m. Cette fraction volumique maximale correspond en théorie à l'arrangement cubique face centré dans le cas de sphères dures monodisperses, donnant ainsi $\phi_m = 0,74$. Néanmoins, cette valeur s'avère surestimée lorsqu'on la compare aux données expérimentales et la valeur de $\phi_{rcp} = 0,637$, correspondant au *Random Close Packing* (empilement dense aléatoire) s'avère plus juste, ceci étant justifié par le fait qu'une suspension ne peut présenter une structure cristalline parfaite, sans défaut, sur une large échelle.

La valeur de $q = 2$ est obtenue par Quemada (1977) en utilisant le principe de minimisation de l'énergie dissipée par effet visqueux. L'avantage de cette expression est qu'il n'y a plus qu'une seule véritable variable : ϕ_m. Néanmoins, à la limite des faibles ϕ cette équation ne redonne par l'équation d'Einstein. De plus, si cette équation s'ajuste bien aux données expérimentales, elle manque de support physique et ne donne pas d'aperçu sur la phénoménologie du système (Mendoza & Santamaría-Holek, 2009).

Récemment, Shewan & Stokes (2014) ont montré que la viscosité des suspensions de sphères dures polydisperses pouvait être prédite en utilisant directement le modèle MPQ sans nécessiter aucun ajustement des paramètres. Pour ce faire, ils ont montré que la fraction volumique maximale pouvait être considérée comme étant la fraction volumique de *random close packing*. Cette dernière pouvant être déterminée indépendamment à partir de la distribution granulométrique des particules suivant l'approche de Farr & Groot (2009) [1].

Ainsi, en calculant la largeur des distributions granulométriques σ telle que $\sigma^2 = ln(d_{4,3}/d_{3,2})$ et en reportant les valeurs obtenues sur les résultats de Farr & Groot (2009) (Figure 1.5), Shewan & Stokes (2014) ont pu déterminer les fractions volumiques de *random close packing* et modéliser sans aucun paramètre d'ajustement les résultats de la littérature (Figure 1.6).

La représentation des résultats selon la forme linéarisée de l'équation MPQ (Eq. 1.19) démontre que pour que le modèle soit valide, une ligne droite doit être observée lorsque $\frac{1}{\sqrt{\eta_r}}$ est tracée en fonction de ϕ, et que l'intersection correspond à ϕ_{rcp} lorsque $\frac{1}{\sqrt{\eta_r}}$ tend vers zéro.

$$\frac{1}{\sqrt{\eta_r}} = 1 - \frac{\phi}{\phi_{rcp}} \tag{1.19}$$

1. Farr & Groot (2009) ont montré que pour une distribution log normal, l'étalement de la distribution granulométrique permet d'accéder à la fraction volumique de *random close packing*.

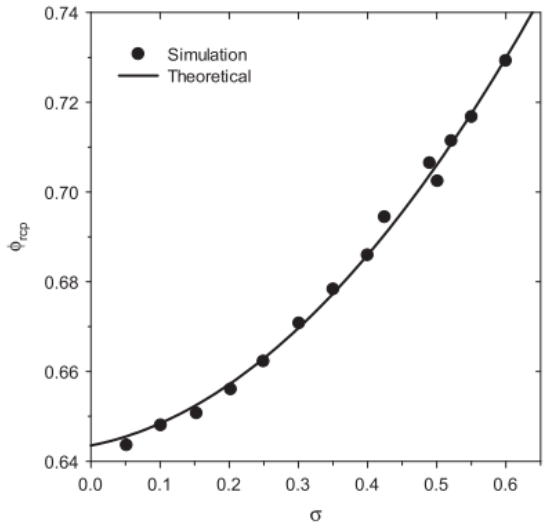


Figure 1.5 – Fraction volumique de *random close packing* en fonction de l'étalement de la distribution granulométrique des particules selon Farr & Groot (2009).

Le modèle de Krieger-Dougherty

Une des équations les plus utilisées en littérature pour modéliser la relation viscosité / fraction volumique est l'équation de Krieger & Dougherty (1959) définie comme :

$$\eta(\phi) = \eta_0 \left(1 - \frac{\phi}{\phi_m}\right)^{-k_E \phi_m} \tag{1.20}$$

les valeurs de k_E et ϕ_m étant souvent définies comme des variables ajustables. Il est intéressant de noter que lorsque $\phi \longrightarrow 0$, cette équation redonne bien l'équation d'Einstein. Cette équation met ainsi en évidence que la valeur de q définie dans la relation MPQ est en lien avec ϕ_m. De manière pratique, dans la littérature la valeur de q s'avère être souvent être comprise entre 1,4 et 3 (Servais *et al.*, 2002).

Le modèle de Mendoza

Plus récemment, Mendoza & Santamaría-Holek (2009) proposent un nouveau modèle, basé sur une correction du modèle d'Einstein prenant en compte les effets de volume exclu et en s'appuyant sur une modélisation de milieux effectifs différentiels.

En définissant le volume libre accessible aux particules comme $V_{free} = V - cNV_p$ où V_p est le volume d'une particule, N le nombre de particules indépendantes et c une constante dépendant de la symétrie des particules (et donc, tenant compte de la fraction volumique maximale accessible par les particules), Mendoza & Santamaría-Holek (2009) ont pu calculer la contribution des particules au tenseur des contraintes visqueuses, permettant ainsi d'obtenir l'expression d'Einstein modifiée telle que :

$$\eta(\phi) = \eta_0 \left[1 + \frac{5}{2}\left(\frac{\phi}{1 - c\phi}\right)\right] \tag{1.21}$$

Lorsque ϕ tend vers 0, on retrouve bien l'équation d'Einstein (Eq. 1.14). Cette équation est intéressante car elle explique que la viscosité diverge pour des valeurs critiques de $\phi < 1$, liées à des restrictions géométriques,

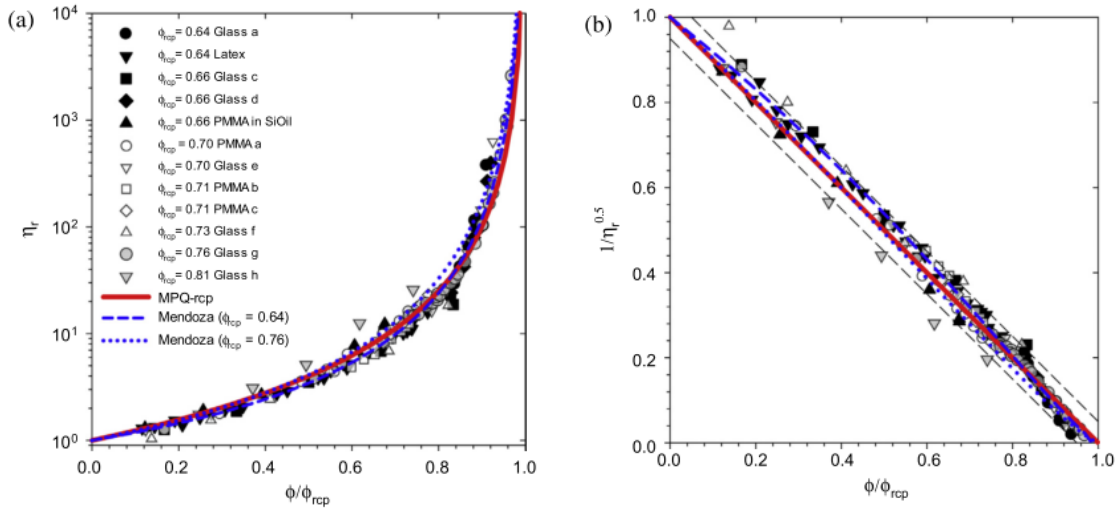


Figure 1.6 – Modélisation du comportement rhéologique en écoulement de suspensions de particules sphériques rigides de la littérature selon Shewan & Stokes (2014)

les particules ne pouvant occuper tout l'espace (Mendoza & Santamaría-Holek, 2009).

La prise en compte des interactions hydrodynamiques en utilisant une approche phénoménologique de milieu effectif différentiel leur permet d'améliorer encore cette équation. Cette approche consiste en une addition progressive de sphères au milieu dans lequel les nouvelles particules interagissent avec les particules déjà présentes dans le milieu. Cette approche étant habituellement effectuée sur l'équation d'Einstein (1.14), Mendoza & Santamaría-Holek (2009) réécrivent leur équation telle que :

$$\eta(\phi) = \eta_0 \left[1 + \frac{5}{2}\phi_{eff}\right] \tag{1.22}$$

où $\phi_{eff} = \frac{\phi}{1-c\phi}$ correspond à la *fraction volumique effective de remplissage*.

En appliquant la théorie de milieu effectif différentiel, Mendoza & Santamaría-Holek (2009) ont obtenu l'équation suivante :

$$\eta(\phi) = \eta_0 \left[1 - \phi_{eff}\right]^{-\frac{5}{2}} = \eta_0 \left[1 - \left(\frac{\phi}{1 - c\phi}\right)\right]^{-\frac{5}{2}} \tag{1.23}$$

La force de ce modèle réside en la définition de ϕ_{eff}, qui permet d'intégrer de manière simple l'information sur la géométrie des particules. À faible ϕ, $\phi_{eff} \sim \phi$, et $\phi_{eff} = 1$ lorsque ϕ atteint la fraction volumique critique ϕ_c, donnant ainsi :

$$c = \frac{1 - \phi_c}{\phi_c} \tag{1.24}$$

ϕ_c est défini dans le travail de Mendoza & Santamaría-Holek (2009) comme la fraction volumique à laquelle la suspension perd sa fluidité.

Ce modèle s'ajuste très bien aux données expérimentales de sphères dures monodisperses à la fois à haut et bas taux de cisaillement (Mendoza & Santamaría-Holek, 2009), et peut également être appliqué avec succès à des suspensions concentrées de particules de formes variées (Santamaría-Holek & Mendoza, 2010). La même

approche a été utilisée par Mendoza & Santamaría-Holek (2010) pour modéliser le comportement d'émulsions concentrées de gouttes sphériques. Dans cet article, la méthodologie de milieux effectifs différentiels (ou méthode différentielle récursive) avait été appliquée directement à l'équation de Taylor (1.15), en tenant compte toujours des effets de volume exclus.

Tous les modèles présentés précédemment (les modèles théoriques comme les modèles phénoménologiques) ont été mis au point pour des particules sphériques, dures, monodisperses et pour la plupart colloïdales. Si l'on compare les équations 1.18, 1.20 et 1.23, on remarque que ces trois modèles sont très similaires. Néanmoins, l'utilisation d'une fraction volumique effective dans le modèle de Mendoza permet de le rendre plus universel, permettant par exemple d'étendre son application à des particules non-sphériques.

1.5 Paramètres impactant la rhéologie des suspensions

Les théories et modèles présentés dans la Section 1.4 ont été développés pour des suspensions de sphères dures monodisperses sans interactions, colloïdales dans la majorité des cas. Or, la distribution granulométrique des particules, leur forme, leur déformabilité ou leurs éventuelles interactions électrostatiques influencent leurs propriétés rhéologiques. Évaluer la fraction volumique devient donc moins évident, et définir une fraction volumique apparente sera le plus souvent une nécessité pour tenir compte de ces paramètres impactant la rhéologie des suspensions.

Dans la suite de ce manuscrit, la fraction volumique *effective*, sera toujours définie comme un taux de remplissage, donnant des valeurs nécessairement inférieures à 1 et représentant l'encombrement effectif (ou apparent) du milieu. La fraction volumique *apparente*, quant à elle, est en lien direct avec la concentration en particules en référence au volume qu'elles occupent en milieu non-encombré. Ainsi, pour les suspensions de particules molles compressibles, cette fraction volumique *apparente* peut dépasser 1 lorsque le volume des particules change dû à un fort encombrement du milieu.

1.5.1 Forme des particules

La présence d'une faible quantité de particules dans un fluide entraine une augmentation de sa viscosité, induite par la dérivation des lignes de fluides autour des particules, ce qui est traduit par la relation d'Einstein (Eq. 1.14). Lorsque les particules ne sont pas sphériques, cette dissipation d'énergie augmente, ce qui augmente la viscosité de la suspension (Barnes, 2000). Ainsi, à fraction volumique égale, une suspension de particules non-sphériques aura une viscosité plus élevée qu'une suspension de sphères.

Dans le cas de suspensions de particules non-sphériques, la valeur du coefficient k_E est donc également impactée, on trouve des valeurs de k_E supérieure à 2,5. Cette augmentation est due à un volume accru de fluide perturbé par le déplacement de la particule. Le volume effectif de la particule correspondant ainsi au volume de la particule ajouté du volume de fluide entrainé dans son mouvement de rotation lors de l'écoulement.

En 1949, Vand définit un facteur de forme effectif pour les suspensions polydisperses (à la fois en taille et en forme) tel que :

$$k_{eff} = \sum \frac{k_i \phi_i}{\phi} \tag{1.25}$$

Lorsque la fraction volumique augmente, la forme des particules influe également sur les propriétés de la suspensions. En effet, il a été observé expérimentalement que la fraction volumique maximale ϕ_m des particules varie avec la forme des particules. La Figure 1.7, tirée de Barnes (2000) illustre l'effet de la forme des particules sur la viscosité d'une suspension et sur la fraction volumique maximale.

1.5.2 Polydispersité de la suspension

L'effet de la polydispersité sur la fraction volumique maximale avait été décrit par Roscoe en 1952, exprimant que la fraction volumique maximale d'une suspension de sphères totalement polydispersée pouvait atteindre 1 (Figure 1.7). L'intérêt d'utiliser une fraction volumique effective est alors soulevé et Roscoe propose l'équation suivante :

$$\eta(\phi) = \eta_0 \left(1 - \phi_{eff}\right)^{-2,5} \tag{1.26}$$

où $\phi_{eff} = s\phi$, où s dépend de la distribution granulométrique de particules.

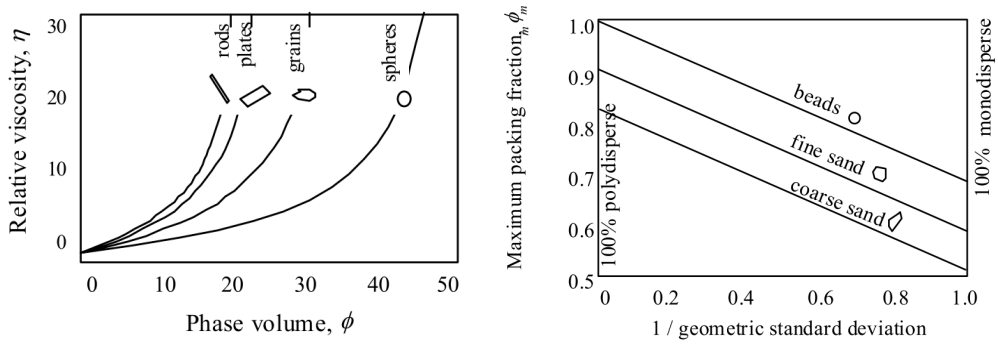


Figure 1.7 – Effet de la forme des particules sur la viscosité relative et sur la fraction volumique maximale des suspensions (Barnes, 2000)

En 1968, Farris (1968) décrit la dépendance de la viscosité à la concentration de suspensions de particules multimodoales sans interaction à partir du comportement de suspensions monomodales. Il décrit que pour une concentration volumique donnée en particules, la viscosité d'une suspension multimodale est plus faible que celle d'une suspension monomodale. Cette propriété est souvent utilisée en pratique pour réduire la viscosité des suspensions très concentrées (Mewis & Wagner, 2013) à des fins industrielles pour faciliter le transport, le pompage ou le mélange de carburants, de bétons, de peintures ou de produits alimentaires (Servais *et al.*, 2002).

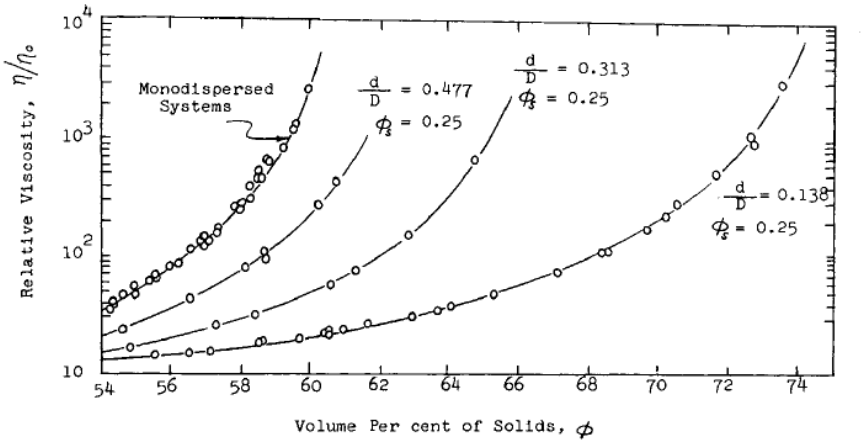


Figure 1.8 – Effet de la bimodalité sur la viscosité de suspensions de sphères rigides (Chong *et al.*, 1971)

De nombreux travaux ont étudié l'effet d'une distribution bimodale sur les propriétés rhéologiques des sus-

pensions, montrant que la viscosité relative diminue fortement à mesure que le ratio des tailles de particules diminue (Chong *et al.*, 1971), montrant ainsi que la concentration en éléments solides peut être largement augmentée, tout en conservant une viscosité donnée (Figure 1.8). Ces études ont également démontré qu'à fraction volumique donnée, il existe un ratio de taille en dessous duquel la viscosité est peu impactée par la bimodalité. Ce ratio limite, correspondant au diamètre des petites particules sur celui des grosses particules, est de 1/10 dans le cas de particules sphériques rigides (Chong *et al.*, 1971). En dessous de ce ratio limite, les petites sphères semblent se comporter comme un fluide pour les sphères de plus gros diamètre.

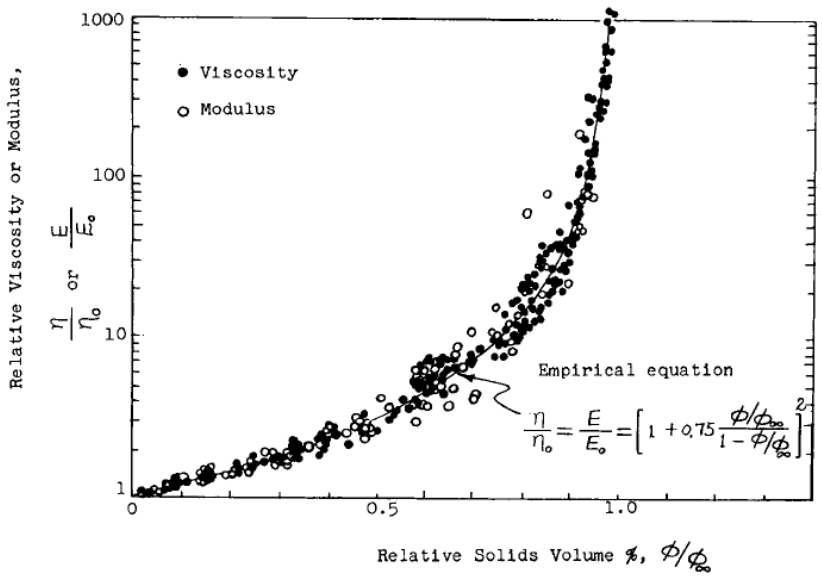


Figure 1.9 – Courbe maitresse de l'évolution de la viscosité relative de suspensions de sphères dures mono- et bimodales en fonction de la fraction volumique réduite (Chong *et al.*, 1971)

Dans leurs travaux sur les suspensions concentrées, Chong *et al.* (1971) ont également montré qu'il était possible d'obtenir une courbe maitresse en traçant la viscosité relative des suspensions (aussi bien monomodales que bimodales) en fonction de la fraction volumique réduite, définie comme ϕ/ϕ_{max} (Figure 1.9), les mêmes considérations ayant été utilisées pour le module élastique des suspensions.

1.5.3 Déformabilité des particules

Il existe différents types de particules déformables, présentant des propriétés très différentes. Les suspensions de particules déformables sont essentiellement rencontrées dans les domaines alimentaires, cosmétiques, pharmaceutiques et biologiques. Une des conséquences principales de la déformabilité des particules réside en leur capacité à accéder à des fractions volumiques maximales supérieures à 0,74. En effet, du fait de leur déformabilité, les particules peuvent s'accommoder à l'espace environnant. De plus, pour une même fraction volumique, la viscosité d'une suspension de particules déformables est plus faible que celle d'une suspension de particules dures (Barnes, 2000). Cette propriété engendre donc des valeurs de ϕ_m plus grandes et des valeurs de k_E plus faibles, comme décrit par Taylor (1932).

1.5.4 Potentiel d'interaction entre les particules

L'existence d'un potentiel d'interaction entre les particules va également avoir un effet sur la rhéologie de la suspension, particulièrement dans le cas de suspensions colloïdales. L'interaction entre les particules sera étroitement liée aux propriétés physico-chimiques de la phase continue (contenu ionique, présence de polymères), mais également des particules (charges de surfaces, polymères adsorbés). Le potentiel de répulsion entre les particules peut être répulsif (répulsion stérique, forces électrostatique) ou attractif. Dans le cas d'un potentiel attractif, la floculation peut alors entrer en jeu, entrainant la formation d'agrégats de particules.

1.5.5 Phase continue non-newtonienne

Lorsque les particules sont suspendues dans une phase continue non-Newtonienne, le comportement rhéologique de la suspension tout entière sera impacté. Quemada (2006) propose d'en tenir compte en intégrant la loi de comportement de la phase continue de la manière suivante :

$$\eta(\phi) = \eta_0(\dot{\gamma}) \left(1 - \frac{\phi_{eff}}{\phi_m}\right)^{-2} \tag{1.27}$$

1.6 Spécificités des suspensions concentrées

Dans les systèmes concentrés, les interactions et contacts entre les particules dominent largement devant les forces Browniennes, entrainant une divergence rapide de la viscosité pouvant aller jusqu'à des comportements de type solide et à la formation de pâtes (Mewis & Wagner, 2013). Cette augmentation rapide de la viscosité à haute concentration en particules est une caractéristique spécifique des suspensions denses.

Trois paramètres principaux régissent la rhéologie des suspensions concentrées non-Browniennes :

Les interactions hydrodynamiques entre particules. Elles sont notamment responsables du comportement rhéofluidifiant des suspensions concentrées non-Browniennes (Mewis & Wagner, 2013).

Les interactions non-hydrodynamiques entre particules vont également venir impacter la rhéologie du système, et notamment les **interactions de contacts** (friction). Ces interactions sont étroitement liées à la rugosité de surface des particules (Blanc, 2011).

La microstructure du système. Elle est d'une importance cruciale dans la rhéologie des suspensions concentrées et consiste en l'arrangement des particules au sein du système et avec les particules plus proches voisines. L'état de contrainte de la suspension dépendra directement de l'arrangement spatial des particules (Blanc, 2011).

Les liens forts entre microstructure et propriétés rhéologiques des suspensions denses de particules non-Browniennes sont très étudiés dans la littérature et l'effet du taux de cisaillement sur les propriétés de ces suspensions est particulièrement discuté. Le comportement des suspensions est donc intimement lié à la concentration en particules, responsable de leur organisation dans le milieu, mais également au taux de cisaillement comme le suggèrent les résultats de Laun (1984) (Figure 1.10).

En 2006, Quemada (2006) propose une explication à la rhéofluidification observée pour les suspensions concentrées (Figure 1.11). Le comportement rhéofluidifiant des suspensions concentrées pourrait donc être attribué à la désagrégation d'amas de particules formés par les particules au repos. Cette explication est notamment celle donnée pour justifier le comportement rhéofludifiant de suspensions de particules végétales (Yoo & Rao, 1994). La dimension et la structure de ces clusters de particules ont été évaluées par Snabre & Mills (1996). Ainsi, les agrégats de particules molles semblent se désagréger en particules individuelles facilitant l'écoulement. Des comportements différents peuvent être observés sur des suspensions de particules rigides.

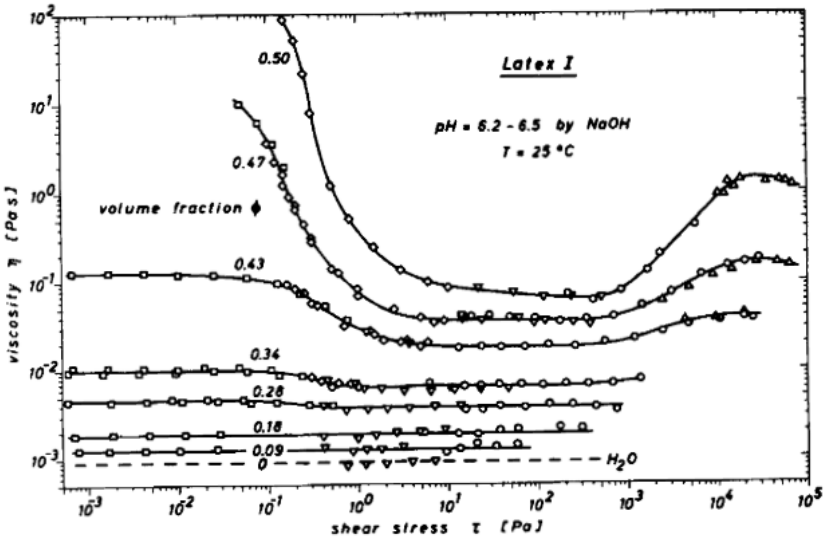


Figure 1.10 – Effet du taux de cisaillement et de la fraction volumique sur la viscosité de suspensions de particules de latex (Laun, 1984)

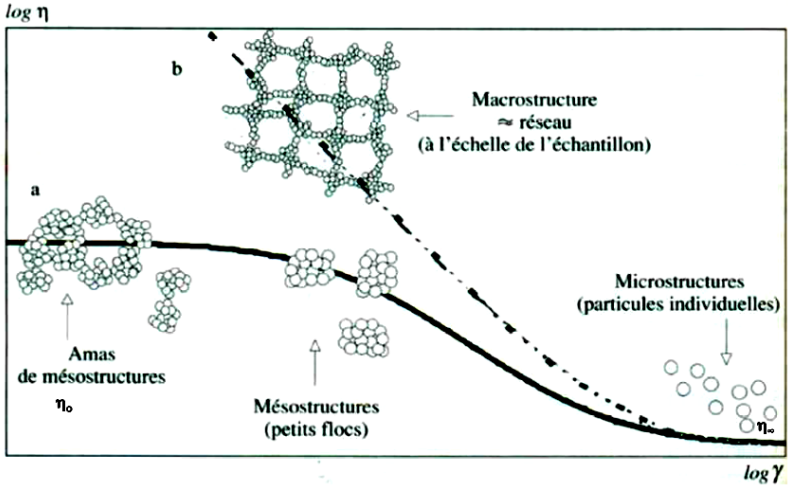


Figure 1.11 – Lien entre microstructure et rhéologie : Effet du cisaillement sur les flocs de particules (Quemada, 2006)

En 2013, Taylor (2013) illustre l'effet du cisaillement sur la microstructure et les propriétés rhéologiques de suspensions concentrées d'amidon de maïs (Figure 1.12). À très faible cisaillement, les suspensions présentent un seuil d'écoulement puis se fluidifient sous cisaillement faible ou modéré. À fort taux de cisaillement, un rhéoépaississement est observé. Ces variations reflètent ainsi les contraintes subies par le système, responsables de ces comportements. Le seuil d'écoulement marquerait ainsi la conséquence de rupture des contacts interparticulaires. La fluidification observée pourrait donc être attribuée à l'existence de bandes de cisaillement et la formation d'amas de particules (en contact direct les unes avec les autres) ce qui constituerait une explication pour le rhéoépaississement observé à fort taux de cisaillement.

Ainsi, la connaissance de la microstructure permet de prédire ou d'expliquer les comportements macroscopiques observés, et l'organisation des particules dans la suspension dépendra : du type d'écoulement considéré, des particules et de leur concentration.

Durant l'écoulement, la microstructure des suspensions est donc en constante évolution. Néanmoins, les propriétés mécaniques de ces systèmes atteignent des états stationnaires permettant d'effectuer des mesures (Mewis & Wagner, 2013). Cependant, certaines suspensions concentrées peuvent être affectées par le cisaillement, entrainant une diminution graduelle de leur viscosité avec le temps de cisaillement, qui peut être réversible après un temps de repos. Cette viscosité réversible et dépendante du temps définit la thixotropie (Mewis & Wagner, 2013). Elle est communément rencontrée dans des produits d'usage courant tel que le ketchup par exemple. La thixotropie ne doit pas être confondue avec la rhéofluidification, où la viscosité dépend du cisaillement appliqué. De nombreux systèmes (suspensions colloïdales, glassy systems) évoluent également dans le temps lorsqu'ils sont laissés au repos, c'est ce qu'on appelle le vieillissement. Ces effets de vieillissement peuvent être inversés par cisaillement, c'est ce qu'on appelle le rajeunissement par cisaillement.

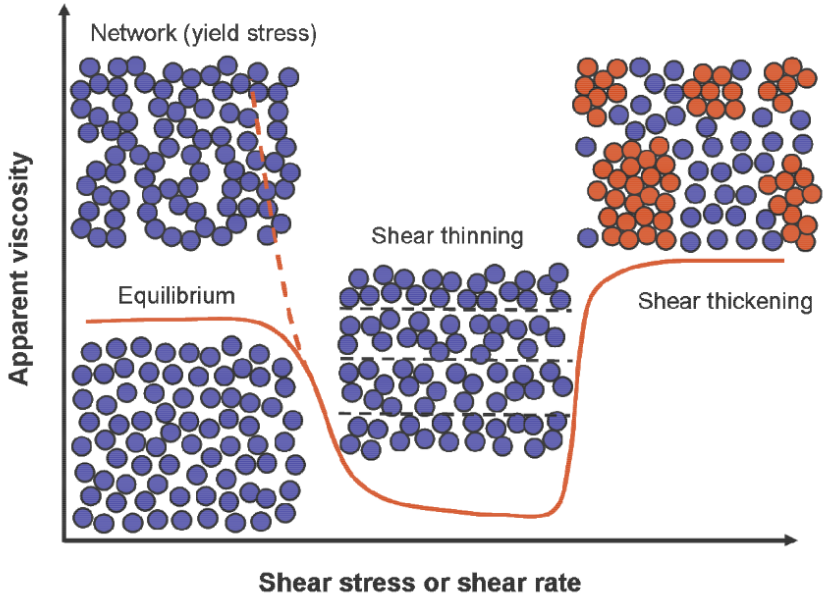


Figure 1.12 – Lien entre microstructure et rhéologie pour des suspensions concentrées d'amidons de maïs (Taylor, 2013)

1.7 Spécificités des particules molles

Les suspensions de particules molles sont essentiellement rencontrées en alimentaire, en cosmétique, en pharmaceutique et en biologie. Ils existent de nombreux types de particules molles, ayant chacune leurs spécificités. Cette section n'a pas pour vocation de présenter de manière exhaustive les différents types de particules molles rencontrées en littérature et leur comportement respectif, mais simplement de présenter de manière qualitative la diversité des systèmes étudiés. Nous ne traiterons pas ici des particules molles rencontrées en biologie, car, à l'exception des hématocytes, la majorité des particules molles biologiques sont des cellules vivantes (fibroblastes, cellules mésenchymateuses, micro-nageurs...) et elles présentent donc des caractéristiques qui leur sont absolument spécifiques (multiplication au cours du temps, mort cellulaire, motilité...). Nous nous focaliserons plutôt ici sur les particules molles modèles les plus étudiées en littérature.

1.7.1 Les particules molles : Spécificités et caractéristiques communes

Nombres de particules molles sont rencontrées en littérature telles que les gouttelettes des émulsions, les bulles de gaz (mousses), les microgels, les particules core-shell, les capsules ou les polymères en étoiles. Les suspensions de particules molles présentent la caractéristique commune d'être très polydisperses. En effet, contrairement aux particules sphériques rigides utilisées comme particules modèles, les particules molles présentent des distributions de taille souvent étalées comme l'illustre la Figure 1.13.

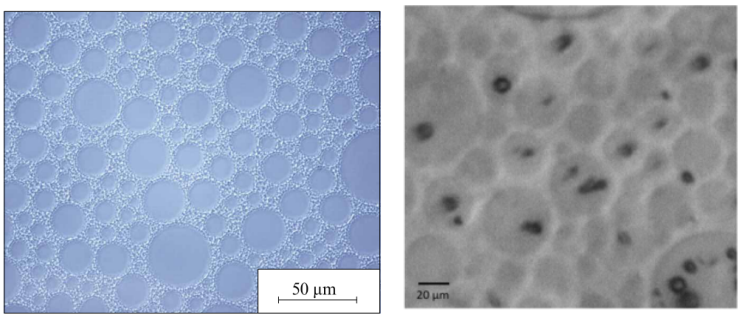


Figure 1.13 – Polydispersité des suspensions de particules molles. Micrographies d'une émulsion très polydisperse (Malkin & Kulichikhin, 2015) (gauche) et d'une suspension de microgels d'agar (Shewan, 2014) (droite)

Les suspensions de microgels sont très étudiées comme systèmes modèles (Yan *et al.*, 2009) car ils présentent l'avantage de pouvoir être construits à façon. En effet, il est possible de contrôler la rigidité des particules et leur taille lors de la formation du gel. Ainsi, une large gamme de taille et de rigidité peut être couverte, allant de particules très molles jusqu'à des particules rigides. La Figure 1.14 illustre comment faire varier la densité du réseau de polymères au sein des particules peut être utilisé pour faire varier la rigidité des particules. Les résultats observés en terme de viscosité sont illustrés Figure 1.15.

Sur la Figure 1.14, on peut observer que la structure du gel est homogène au sein de la particule et que la rigidité de la particule est directement liée à la structure du réseau de polymères qui la constitue. Sur la Figure 1.15, on observe que la rigidité des particules influe fortement sur les propriétés des suspensions en écoulement, puisqu'à fraction volumique équivalente (ici 0,96), la viscosité des suspensions de particules très molles est environ deux ordres de grandeurs plus faible que celle des particules dures. Ainsi, la densification des réticulations va impacter directement la rigidité des particules et donc la réponse rhéologique mesurée.

D'autres particules très présentes en littérature sont les capsules et les particules core-shell. Contrairement aux gouttelettes d'émulsions et aux particules de microgel, ces particules ne sont pas homogènes. Elles sont composées d'une périphérie et d'un cœur de compositions différentes. Les suspensions de polymères en étoiles pourraient également être comptées parmi ce type de suspensions, car la densité de polymères est plus faible à

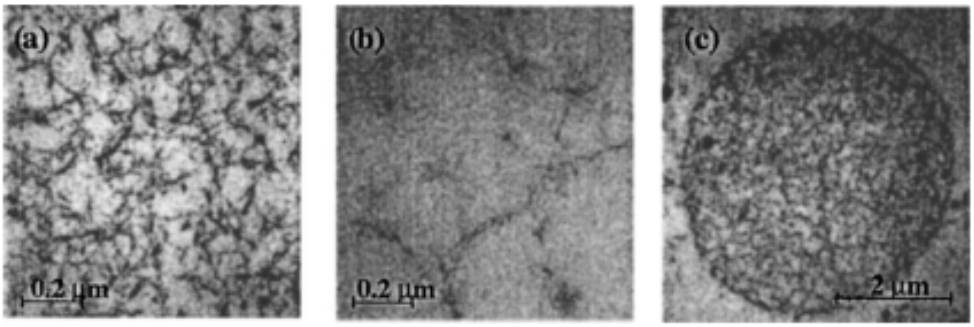


Figure 1.14 – Structure de microgels à rigidité variable observés par microscopie électronique à transmission (Adams *et al.*, 2004) : (a) gel ferme - 5% d'agar ; (b) gel mou - 0,5% d'agar ; (c) particule à 5% d'agar

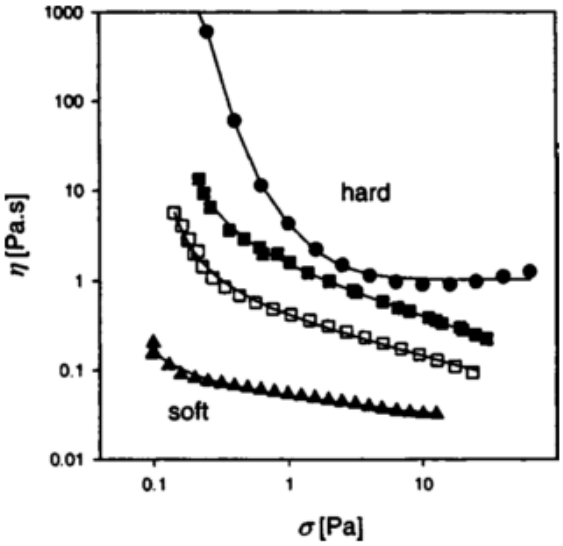


Figure 1.15 – Effet de la rigidité des particules sur la viscosité de suspensions de microgels d'agar (Adams *et al.*, 2004)

la périphérie qu'au centre de la particule.

Toutes ces particules sont qualifiées de "particules molles" car elles présentent la caractéristique commune d'être déformables. Elles sont donc sensibles à l'encombrement du milieu et s'adaptent à l'espace environnant. Cette propriété leur permet d'atteindre des fractions volumiques très hautes, pouvant quasiment atteindre 1 dans certains cas. Cette capacité à s'adapter aux contraintes du système est représentée en Figure 1.16. Dans ce cas, la phase continue ne représente plus qu'une fine couche de fluide entre les particules (ou séparant les gouttelettes) et au niveau des angles des polyèdres.

Certains types de particules, comme les polymères en étoiles, présentent également la capacité de s'interpénétrer, faisant diminuer de manière significative la fraction volumique effective des particules à haute concentration. Les fractions volumiques apparentes de ce type de particules peuvent ainsi dépasser 1.

Il est important de tenir compte de la perméabilité et de la conservation du volume des particules (Jose *et al.*, 2016). En effet, le volume d'une particule imperméable ou incompressible est contraint, ce qui n'est pas le cas pour une particule compressible ou perméable. Sur la Figure 1.16 (a), les particules ne sont pas perméables, elles doivent donc se déformer de manière à conserver leur volume interne, comme le feraient des gouttelettes. Dans le cas de particules perméables, les parois peuvent se déformer sans nécessairement conserver leur volume interne. Ce qui résulte, dans le cas de capsules par exemple, en une déformation de la paroi (Figure 1.16). Ces déformations sont donc fonction des propriétés mécaniques de la paroi. Dans le cas où les particules sont perméables, il est possible d'observer des systèmes encombrés où les parois occupent quasiment tout le milieu (Jose *et al.*, 2016), entrainant des fractions volumiques effectives proche de 1.

En plus d'être très polydisperses, les particules molles ont donc la capacité de se déformer au cours de l'écoulement et pour s'adapter à l'espace environnant, ce qui leur confère des propriétés rhéologiques particulières sous écoulement (comme la rhéofluidifiaction par exemple) et leur permettent d'atteindre des fractions volumiques extrêmes. La forme des particules évolue avec la quantité de particules dans le milieu. Certaines particules molles ont la capacité de s'interpénétrer ou de se compacter, diminuant ainsi leur volume apparent. Pour ce type de particules, les fractions volumiques réelles ou effectives sont très difficiles à approcher.

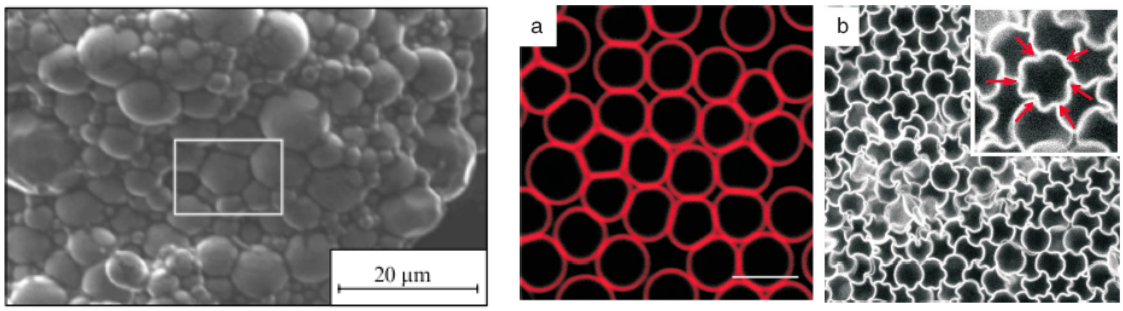


Figure 1.16 – Déformabilité des particules molles. De gauche à droite : Gouttellettes d'émulsions déformées par l'encombrement du système (Malkin & Kulichikhin, 2015), capsules non-perméables déformées par l'encombrement (a) et capsules non-perméables déformées par pression osmotique (b) (Jose *et al.*, 2016)

1.7.2 Vers une modélisation de ce type de systèmes

La compréhension du comportement rhéologique de ces suspensions de particules molles présente des intérêts dans de nombreux domaines. Malgré la complexité de ces systèmes, des modèles d'écoulement sont donc établis dans la littérature. Nous discuterons ici de trois modèles empiriques permettant de modéliser le comportement en écoulement de suspensions de particules molles.

Le modèle d'Adams

Ce premier modèle a été utilisé par Adams *et al.* (2004), pour modéliser le comportement de suspensions de microgels d'agar. Dans ces travaux, la fraction volumique est supposée être égale à la fraction massique de particules définie comme :

$$\phi = \phi_w = \frac{100 m_{dry}}{c_{gel} m_{wet}} \tag{1.28}$$

où m_{wet} est la masse de l'échantillon humide, m_{dry} la masse d'agar et c_{gel} la concentration massique de la solution de polymères utilisée pour créer les microgels. La fraction volumique critique ϕ_c a été extrapolée à

partir des résultats obtenus en dynamique, et correspond à la valeur de ϕ pour laquelle le module élastique tend vers zéro. Cela étant, la dépendance de la viscosité à la fraction volumique a pu être modélisée en utilisant une expression modifiée de l'équation de Krieger-Dougherty (Eq. 1.20), telle que :

$$\eta_r(\phi) = \frac{\eta}{\eta_0} = \left(1 - \frac{\phi_r}{\phi_{c,eff}}\right)^{[\eta]_{eff}\phi_{c,eff}} \tag{1.29}$$

où η est la viscosité de la suspension, η_0 la viscosité du solvant, $[\eta]_{eff}$ une viscosité intrinsèque effective, $\phi_r = \phi/\phi_c$ et $\phi_{c,eff}$ une fraction volumique effective de packing maximum. $[\eta]_{eff}$ et $\phi_{c,eff}$ étant définis comme des paramètres ajustables.

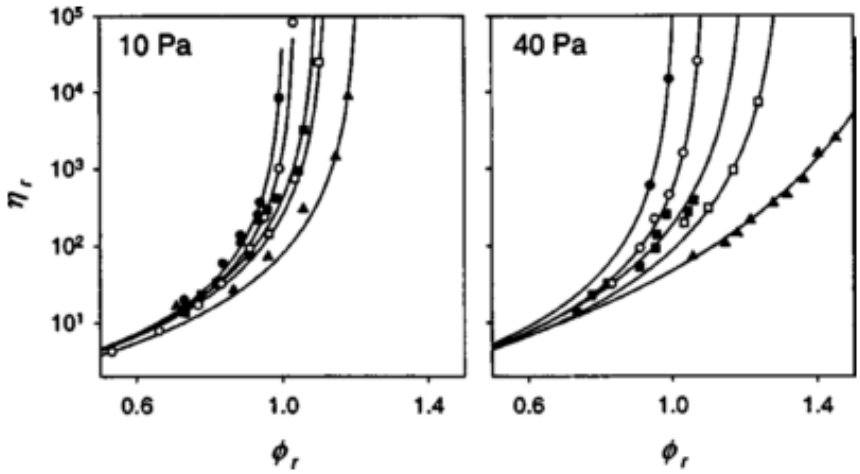


Figure 1.17 – Effet de la rigidité des particules et de la contrainte de cisaillement sur la dépendance de la viscosité à la fraction volumique (Adams *et al.*, 2004).

Les changements de forme, engendrés par les contraintes subies par les particules, et les changements au niveau de l'état d'agrégation vont engendrer les différences de fraction volumique maximale de packing (ϕ_{rcp}). La fraction volumique maximale évoluerait en fonction de l'état de réticulation des particules. Leurs résultats montrent que si $[\eta]_{eff}$ semble indépendant de la rigidité des particules (résultat attendu puisque la viscosité intrinsèque est définie en milieu dilué), $\phi_{c,eff}$ montre une dépendance nette à la rigidité des particules : $\phi_{c,eff}$ étant d'autant plus grand que les particules sont molles et que la contrainte de cisaillement est importante. Leurs résultats sont illustrés Figure 1.17.

Le modèle MPQ - Application aux microgels par Shewan & Stokes (2015)

Dans de récents travaux, Shewan & Stokes (2015) ont observé l'effet de la rigidité des particules sur les propriétés de suspensions de microgels en écoulement en fonction de la fraction volumique apparente en particules (définie comme une relation linéaire de la concentration en polymères). Dans leur approche, la polydispersité des suspensions a été prise en compte afin de déterminer la fraction volumique maximum de packing, permettant ainsi de modéliser le comportement des suspensions sans aucun paramètres ajustables comme nous l'avons discuté précédemment.

Leurs résultats (Figure 1.18) montrent que les suspensions de particules rigides ont un comportement très proche de celui de suspensions de sphères dures - leur représentation sous la forme linéaire du modèle MPQ suivant une ligne droite dont l'intersection avec l'axe des abscisses correspond à ϕ_{rcp} (Shewan & Stokes, 2014)

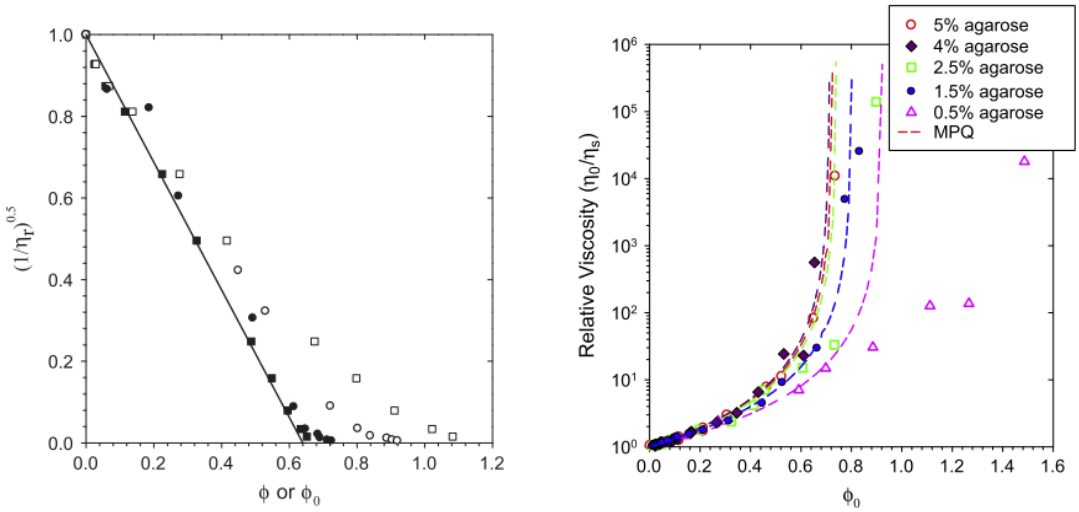


Figure 1.18 – Modélisation du comportement en écoulement de suspensions de microgels d'agar de rigidité variable par le modèle MPQ (Shewan & Stokes, 2015)

- alors que les suspensions de particules plus molles dévient de ce comportement, indiquant que la fraction volumique maximum ne correspond pas à ϕ_{rcp}. Ce résultat démontre que le volume spécifique des particules déformables diminue lorsque la fraction volumique augmente.

Le modèle de Mendoza

Nous avons déjà discuté de l'approche de Mendoza & Santamaría-Holek (2009), proposant une modélisation de la dépendance de la viscosité à la fraction volumique de suspensions de particules rigides, basée sur une correction de l'équation d'Einstein et tenant compte des effets de volume exclu. Si cette équation (Eq. 1.23) avait permis d'obtenir de bons résultats pour des suspensions de particules rigides ou pour des émulsions (particules déformables non-compressibles) (Mendoza & Santamaría-Holek, 2010; Santamaría-Holek & Mendoza, 2010), elle ne permet pas de modéliser le comportement de suspensions de particules très déformables, compressibles ou dont les particules peuvent s'interpénétrer. Mendoza (2013) propose donc d'adapter ce modèle pour permettre de décrire le comportement en écoulement de suspensions de particules très déformables de polymères en étoiles.

Comme nous l'avons évoqué plus haut, les polymères en étoiles peuvent être représentés comme des particules core-shell, comprenant un cœur dense de polymères et une périphérie dont la concentration en polymères est plus faible. Mendoza (2013) considère donc une particule core-shell consistant en un cœur dur non-perméable de rayon a enveloppé d'une couche de polymères perméables d'épaisseur δ telle que représentée à la Figure 1.19.

Repartant des équations 1.23 et 1.24, Mendoza (2013) modifie l'expression 1.23 en remplaçant l'exposant 5/2 (viscosité intrinsèque de sphères dures) par la viscosité intrinsèque $[\eta]$ des suspensions. Il obtient ainsi l'expression généralisée suivante :

$$\eta(\phi) = \eta_0 \left[1 - \left(\frac{\phi}{1 - c\phi}\right)\right]^{-[\eta]} \tag{1.30}$$

où c est défini comme $c = (1 - \phi_c)/(\phi_c)$ (Eq. 1.24).

Cette expression intègre les effets d'encombrement et les interactions hydrodynamiques entre particules. Cependant, dans le cas de suspensions de polymères en étoile, cette équation ne permet pas de modéliser de manière satisfaisante la dépendance de la viscosité à la fraction volumique, car elle ne tient pas compte de la perméabilité des particules, ni de l'évolution du volume apparent des particules avec la concentration.

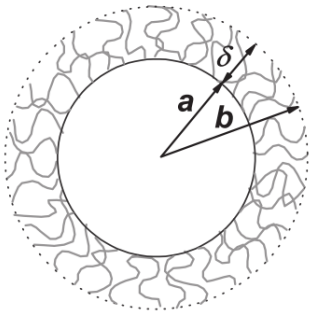


Figure 1.19 – Représentation schématique d'une particule core-shell (Mendoza, 2013)

Pour modéliser la perméabilité de la zone périphérique des particules, les segments de polymères périphériques ont été considérés comme des centres de résistance répartis dans la zone de polymères perméables, exerçant des forces de frottement sur le fluide circulant dans cette couche, permettant ainsi d'intégrer la perméabilité des particules dans le calcul de la viscosité intrinsèque :

$$[\eta] = \frac{5}{2}\left(\frac{a}{b}\right)^3 \tag{1.31}$$

Pour prendre en compte l'évolution du volume des particules avec l'encombrement du système, Mendoza (2013) propose la conjecture suivante :

$$\phi_c = \phi_{rcp} + \beta\phi^\alpha \tag{1.32}$$

où α et β sont des paramètres ajustables du modèle. La fraction volumique apparente des suspensions de polymères en étoiles ayant été définie comme $\phi = \frac{c}{c^*}$ avec c^* la concentration de recouvrement des polymères (définie comme $c^* = \left[(N_A/M)\,(4\pi/3)\,{R_V}^3\right]^{-1}$).

Grâce à cette définition (Eq. 1.32), la fraction volumique de packing évolue avec la concentration. Aux faibles fractions volumiques, les particules sont suffisamment éloignées pour se comporter comme des particules rigides. Ainsi, la fraction volumique de packing tend vers la fraction volumique de *random close packing*. Puis, à mesure que la concentration augmente, les particules se déforment jusqu'à devoir adapter leur volume à l'espace environnant, ce qui engendre une augmentation de la fraction volumique de packing.

Pour les fractions volumiques apparentes telles que $\phi < 1$, Mendoza (2013) utilise donc l'équation 1.30, combinées aux équations 1.31 et 1.32 pour modéliser le comportement de ses suspensions. Pour les fractions volumiques apparentes supérieures à 1, Mendoza (2013) utilise l'approche de Daoud et Cotton (que nous ne développerons pas ici) pour modéliser le comportement rhéologique de leurs suspensions. Le résultat des modélisations est représenté à la Figure 1.20 pour trois suspensions de polymères en étoiles de rigidités différentes et une suspension de micelles de copolymères diblocs.

On observe que plus les particules sont déformables, plus elles s'éloignent des prédictions observées avec le modèle de Krieger-Dougherty. On remarque également que pour les particules les plus déformables, la divergence de la viscosité n'est pas immédiatement observée aux hautes fractions volumiques, résultat de la modification du volume apparent des particules avec la concentration. Les prédictions du modèle proposé par Mendoza (2013)

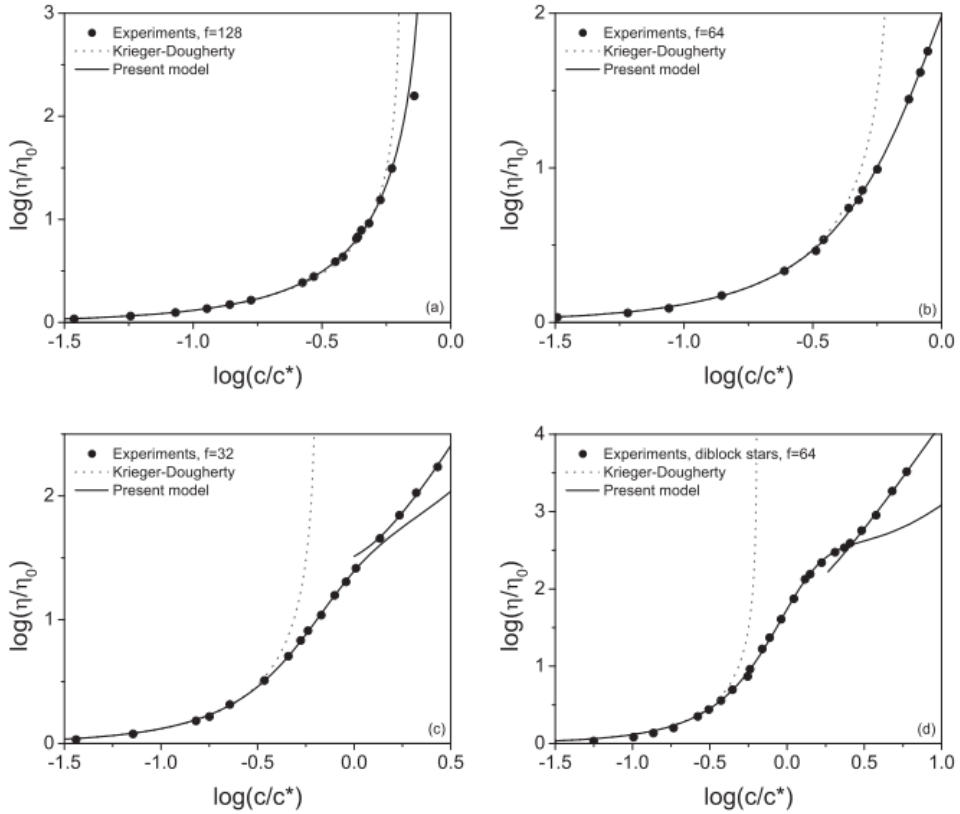


Figure 1.20 – Viscosité relative en fonction de la fraction volumique apparente de suspensions de polymères en étoiles à 128 (a), 64 (b) et 32 (c) bras, et d'une suspension de micelles de copolymères diblocs à 64 bras (d) (Mendoza, 2013).

s'ajustent très bien aux données expérimentales observées pour les quatre suspensions considérées (Figure 1.20).

L'originalité et la force de ce modèle résident indubitablement en la définition d'une fraction volumique critique évoluant avec la fraction volumique apparente de la suspension. À notre connaissance, aucun autre modèle dans la littérature n'intègre ce changement de volume apparent des particules pour permettre la modélisation des suspensions de particules molles sous écoulement.

Chapitre 2

Les suspensions de particules végétales

Les purées de fruits et légumes peuvent être décrites comme des suspensions de particules végétales, molles, capables de se tasser et de perdre en volume sous contrainte (Rao *et al.*, 1986; Lopez-Sanchez *et al.*, 2012). L'objectif de ce chapitre est de poser les bases nécessaires à la compréhension des liens structure-propriétés physiques de ces systèmes de particules végétales.

2.1 Qu'est ce qu'une suspension de particules végétales ?

Lorsqu'on fait référence aux suspensions de particules végétales, il s'agit en fait de décrire des purées de fruits ou de légumes. Ces purées sont réalisées par cuisson de la partie comestible (chair) du fruit ou du légume, pelé et épépiné, plus ou moins finement broyée par traitement mécanique (de Reynal, 2008; de la Morsanglière & Renaudin, 2008). Plus spécifiquement, les purées de pommes sont préparées à partir de pommes lavées et propres, conformes aux caractéristiques du fruit *Malus domestica* Borkhausen, et saines après les étapes de parages (Organisation Mondiale de la Santé & Organisation des Nations Unies Pour l'Alimentation et l'Agriculture, 2000). Les purées de pommes se distinguent des compotes de pommes par la quantité de sucre (de Reynal, 2008), les quantités de sucres totales après cuisson et ajout éventuel de sucre étant inférieures 24g/100g pour les purées, comprises entre 24 à 40g/100g pour les compotes et d'au moins 55g/100g pour les confitures.

La chair des fruits et légumes, appelée parenchyme, est composée de cellules. La taille et la forme des cellules de parenchyme varient en fonction de l'espèce et de la variété du fruit, mais également au sein même du fruit, la morphologie des cellules de fruits et légumes étant souvent anisotrope. La Figure 2.1 illustre l'effet de la variété sur la taille et la forme des cellules du parenchyme. Le parenchyme de pomme contient des cellules pouvant aller de 50 à 300 μm. Les cellules périphériques sont petites et quasi-sphériques alors que les cellules situées au cœur de la chair sont plus volumineuses et allongées de manière radiale (Khan & Vincent, 1990). La Figure 2.2 représente de façon schématique le parenchyme de pomme et met en évidence l'anisotropie des cellules.

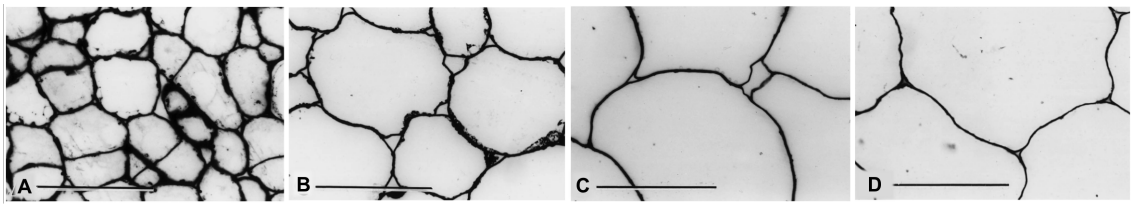


Figure 2.1 – Microscopie optique du parenchyme de différentes variétés de fruits (Redgwell *et al.*, 1997) : Avocat (A), mûre (B), prune (C) et kaki (D). La barre d'échelle correspond à 100 μm.

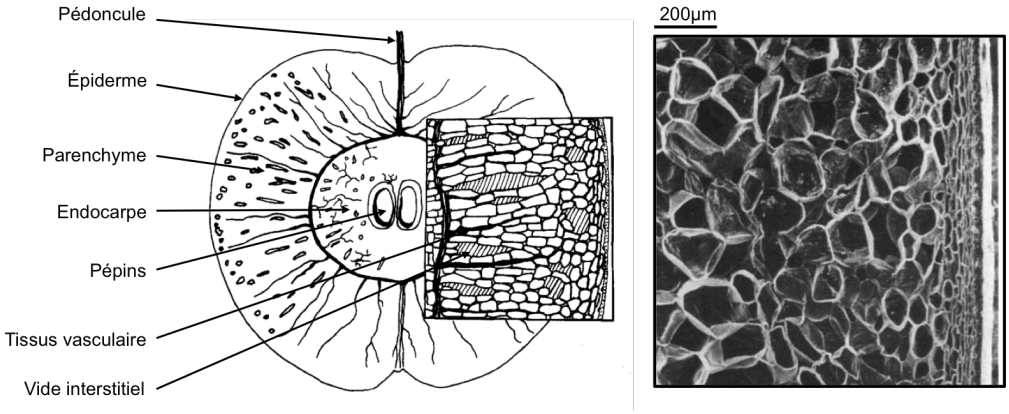


Figure 2.2 – Représentation schématique (Khan & Vincent, 1993) et microscopie électronique à balayage (Khan & Vincent, 1990) du parenchyme de pomme

Après cuisson et traitement mécanique, la purée peut être considérée comme une suspension de particules végétales dispersées dans un sérum (Rao *et al.*, 1986). La phase dispersée est constituée des cellules, amas de cellules et fragments de cellules de parenchyme du fruit, et le sérum est une phase continue aqueuse, riche en sucres et en pectines solubles (Espinosa, 2012), dans laquelle est également dispersé le contenu cellulaire. La Figure 2.3, issue de Moelants *et al.* (2014b) propose une représentation schématique d'une suspension de particules végétales mettant en avant la complexité de ce type de système. On observe bien l'hétérogénéité en taille, mais également en morphologie des particules végétales, les amas de cellules ayant des architectures structurées plus complexes que celles des cellules individuelles et des fragments de cellules. La présence d'éléments solubles et de polymères dans la phase continue est également mise en avant.

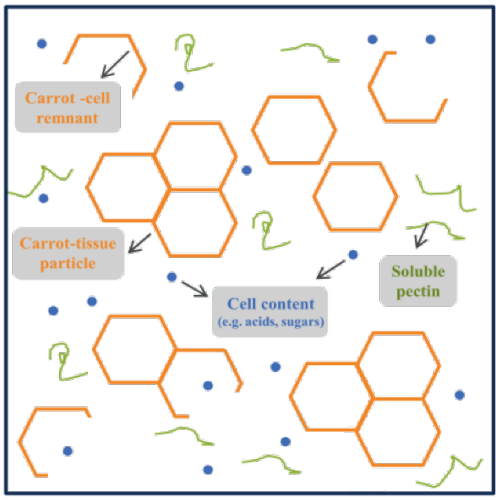


Figure 2.3 – Représentation schématique d'une suspension de particules végétales : application à une purée de carottes (Moelants *et al.*, 2014b)

Suite aux traitements thermiques et mécaniques, les cellules végétales ont perdu leur turgescence et les parois sont devenues poreuses. L'intérieur et l'extérieur de la cellule sont donc en équilibre et communiquent. Ceci confère aux particules végétales la spécificité d'être uniquement délimitées par des parois végétales déformables, l'intérieur de la cellule étant rempli par la phase continue.

Dans une purée de pommes, la teneur en parois végétales est de l'ordre d'1g pour 100g. Malgré cette très faible quantité d'éléments insolubles, les parois végétales sont responsables de la "texture" de la purée et les purées de fruits sont considérées comme des suspensions concentrées, présentant notamment un seuil d'écoulement et un comportement élastique de type gel ($G' > G''$) au repos. Cette faible quantité d'éléments insolubles est capable de créer un état encombré, les particules pouvant être plus ou moins expansées dans le milieu. La paroi végétale apparaît ainsi être un élément déterminant dans la hiérarchie structurale des suspensions de particules végétales (Espinosa, 2012; Waldron *et al.*, 2003).

2.2 Éléments constitutifs des suspensions de particules végétales

Les propriétés macroscopiques des suspensions de particules végétales sont directement impactées par les changements de structure et les propriétés des éléments observés à l'échelle microscopique (Rao, 2006). Il est donc nécessaire de connaître la microstructure des purées de fruits et les composants de la paroi végétale cellulaire pour mieux comprendre leurs propriétés rhéologiques.

2.2.1 Les parois végétales cellulaires

La paroi végétale est un élément fondamental de la structure des cellules (Waldron *et al.*, 2003). Sa structure semi-rigide permet de protéger les cellules, de leur donner leur forme et leur rigidité. Dans le fruit, elle permet également de réguler les transports entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule (McDougall *et al.*, 1996). La paroi végétale peut être décomposée en trois sous-parties : la lamelle moyenne, la paroi primaire et la paroi secondaire. La lamelle moyenne, essentiellement composée de pectines (Jarvis *et al.*, 2003), assure la cohésion entre les cellules (Jarvis, 1998).

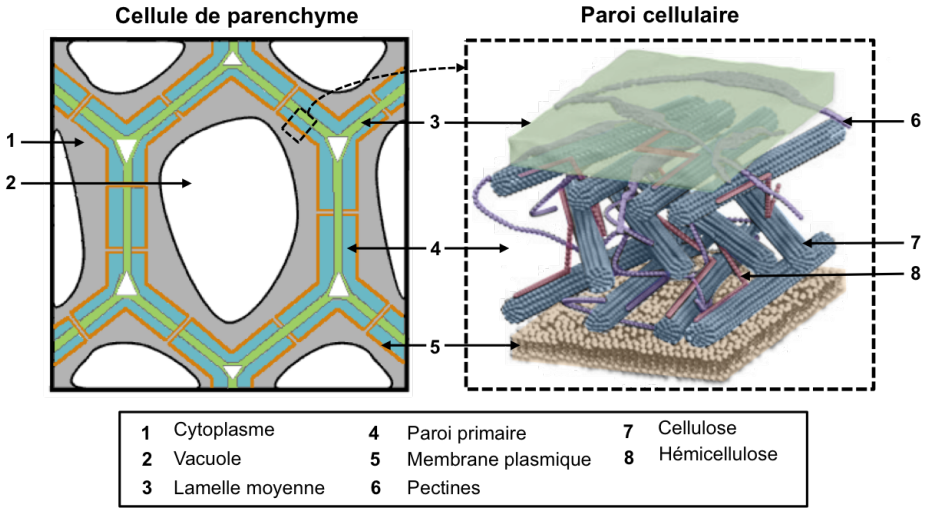


Figure 2.4 – Représentations schématiques de la paroi cellulaire végétale, inspirée de Van Buggenhout *et al.* (2009) et Davidson (2015)

La paroi primaire est une paroi fine et souple, peu résistante mécaniquement. Toutes les cellules végétales possèdent une paroi primaire (McDougall *et al.*, 1996), c'est la base du squelette végétal (Espinosa, 2012). Les parois secondaires, épaisses et rigides (Jarvis *et al.*, 2003), possèdent une forte résistance mécanique. Elles se situent à l'intérieur des parois des primaires et apparaissent aux parois des cellules différenciées, ayant une fonction spécifique dans la paroi (McDougall *et al.*, 1996). Les cellules de parenchyme ne possèdent pas de parois secondaires (Bourles, 2010). Enfin, la membrane plasmique, en contact direct avec le cytoplasme, délimite la

cellule vivante. La Figure 2.4 propose une représentation schématique de l'organisation de la paroi des cellules de parenchyme.

Les polysaccharides représentent jusqu'à 90-95% des composants de la paroi végétale cellulaire, les 5-10% restant étant des protéines, des glycoprotéines et des composés phénoliques (Kojima *et al.*, 2004; Waldron *et al.*, 2003). Dans ce travail, nous ne décrirons que les polysaccharides, car ils sont les composants majoritaires de la paroi végétale et sont les principaux responsables des propriétés mécaniques des parois. Trois catégories principales de polysaccharides sont présentes dans les parois primaires des cellules de parenchyme : la cellulose, les hémicelluloses et les pectines (Waldron *et al.*, 2003).

La cellulose

La cellulose est un composant majoritaire des parois cellulaires, elles représentent 15 à 30% de la masse sèche des parois cellulaires primaires (Sticklen, 2008). C'est un homopolymère β(1-4) de D-glucopyranose. Les chaines de cellulose forment des liaisons hydrogènes et se rassemblent en micro-fibrilles cristallines de 30nm de diamètre, formant le cadre structurel des parois cellulaires végétales (McDougall *et al.*, 1996; Sticklen, 2008). Les fibres de cellulose sont résistantes, rigides, insolubles dans l'eau, et sont enchâssées dans une matrice amorphe d'hémicelluloses et de pectines. Le réseau de cellulose est majoritairement responsable des propriétés mécaniques des parois (Agoda-Tandjawa *et al.*, 2012). Le feutre de la paroi végétale peut être observé par microscopie à force atomique comme c'est le cas sur la Figure 2.5.

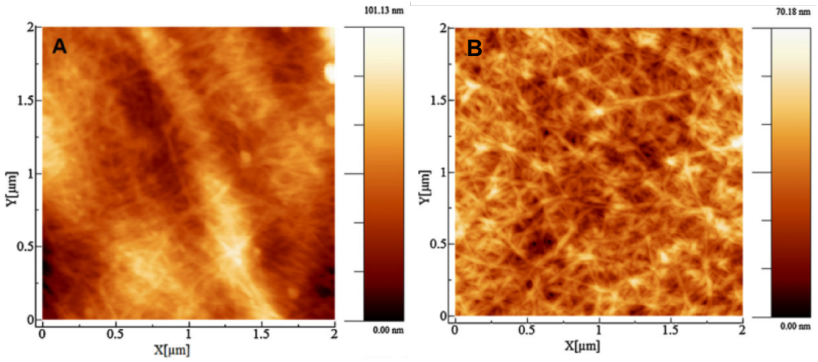


Figure 2.5 – Images obtenue en microscopie à force atomique (AFM mode tapping) de la parois végétale (A) et du réseau de microfibrilles de cellulose (B) d'une pomme Cortland (Cybulska *et al.*, 2013). Le flou observé sur l'image de la paroi végétale est lié aux fait que les microfibrilles de cellulose sont noyées dans la matrice amorphe d'hémicellulose et de pectines (Cybulska *et al.*, 2013).

Il est également possible de marquer sélectivement la cellulose pour observer les parois végétales. La Figure 2.6 illustre les résultats obtenus lors de l'utilisation de marqueurs spécifiques de la cellulose (orange d'acridine, calcofluor white, ruthenium red) ou des pectines (coriphosphine 0) sur des cellules de parenchyme de carotte.

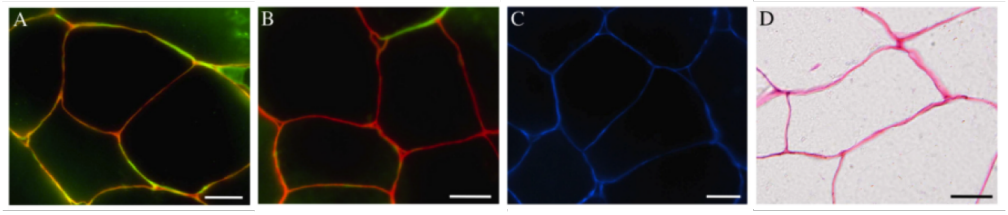


Figure 2.6 – Marquage spécifique des parois cellulaires de carotte avec : coriphosphine 0 (A), orange d'acridine (B), calcofluor white (C) et ruthenium red (D). La barre d'échelle est de 20 μm (Christiaens *et al.*, 2011)

Les hémicelluloses

Les hémicelluloses sont composées d'un squelette de β(1-4) D-pyranose sur lequel se branchent d'autres monomères glucidiques. Contrairement à la cellulose, ces polymères sont de bas poids moléculaire, possèdent une structure amorphe et sont peu résistants mécaniquement. Ils sont solubles dans les solutions alcalines et insolubles dans l'eau. Les hémicelluloses contribuent au renforcement de la paroi cellulaire végétale grâce à leurs interactions avec la cellulose.

Les pectines

Les pectines sont des hétéro-polymères polysaccharidiques acides, riches en acide galacturonique (Voragen *et al.*, 1995; Sila *et al.*, 2009). Elles incarnent la classe de macromolécules la plus abondante dans la paroi cellulaire primaire, où elles représentent approximativement 30% de la masse sèche (Van Buggenhout *et al.*, 2009). Elles sont également les composants majoritaires de la lamelle moyenne (Billy *et al.*, 2008). Les pectines sont composées de différents polysaccharides associés dont les principaux sont les homogalacturonanes (HG), les rhamnogalacturonanes I (RGI) et les rhamnogalacturonanes II (RGII).

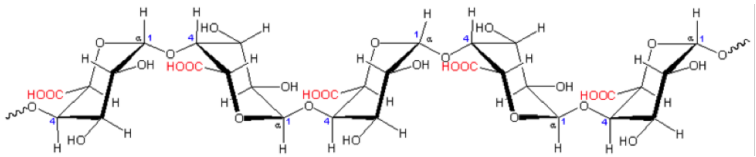


Figure 2.7 – Structure chimique de l'acide polygalacturonique

Les homogalacturonanes (HG) sont des polymères linéaires d'acides D-galacturonique liés en α-(1-4), ils représentent les zones "lisses" des pectines. Les RGI et RGII représentent les zones "hérissées" des pectines car elles portent des ramifications. Les RGI sont des hétéro-polymères ramifiés constitués d'une chaîne linéaire alternant unités galacturoniques et rhamnosiques [α-(1-2)-L-Rha-α-(1-4)-D-GalA], sur laquelle peuvent se greffer des polysaccharides neutres tels que le galactose ou l'arabinose. Les RGII sont des hétéro-polymères ramifiés constitués d'une chaîne linéaire d'acides D-galacturoniques liés en α-(1-4), sur laquelle se greffent des composés glycosidiques.

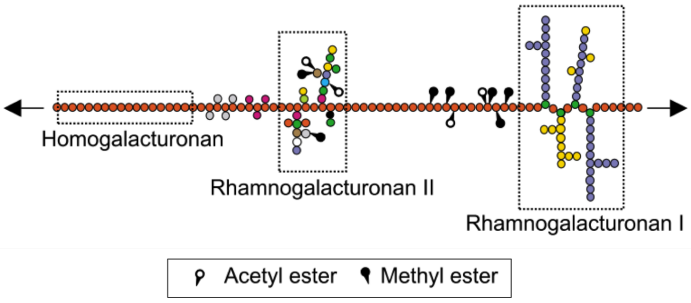


Figure 2.8 – Représentation schématique de la structure des pectines (Willats *et al.*, 2006). • représentent des unités d'acides galacturoniques, • des xyloses, • des rhamnoses, • des arabinoses, • des galactoses, • des apioses, • des fucoses, • des acides acériques et ○ des acides glucuroniques.

Les pectines peuvent être classées en fonction de leur degré de méthylation (DM), c'est-à-dire par la proportion de groupement carboxyles (-COOH) estérifiés par le méthanol. Les pectines hautement méthylées (HM) possèdent un DM supérieur à 50% alors que les pectines faiblement méthylées (LM) possèdent un DM inférieur à 50%. Le DM et la proportion de RGI et RGII influent sur les propriétés texturantes des pectines (capacité

à gélifier) et leur solubilité. Le DM influence le processus et le mécanisme d'association des pectines dans la formation des gels (Combo *et al.*, 2011). Les pectines HM étant capables de gélifier en présence de sucres neutres ou en solution acide, alors que les pectines LM gélifient en présence de calcium (Voragen *et al.*, 1995).

La texture des fruits et légumes durant la croissance, le mûrissement et le stockage est fortement influencée par la quantité et la nature des pectines présentes, et les changements de propriétés des fruits et légumes sont souvent liés à des changements au niveau des composants pectiques (Voragen *et al.*, 1995). La rigidité de la paroi végétale est très influencée par les complexes cellulo-pectiques dans la paroi, et de ce fait, très influencée par les caractéristiques structurelles des pectines. Ainsi, les propriétés mécaniques des parois résultent des propriétés viscoélastiques de la cellulose et de ses interactions avec les autres polymères de la paroi, notamment de la structure des pectines (Agoda-Tandjawa *et al.*, 2012).

2.2.2 Le sérum

Le sérum est la phase continue des suspensions de particules végétales. Il est majoritairement composé d'eau et contient des sucres, des pectines solubilisées, des sels et des acides organiques (Moelants *et al.*, 2012). La viscosité des sérums sera essentiellement fonction des pectines et sucres en solution. La composition chimique des sérums va dépendre de la nature, de la maturité et de la variété du fruit, mais également du procédé de fabrication de la purée (Espinosa, 2012). La viscosité des sérums de 49 purées de pommes et de poires du commerce a été évaluée par Tarea (2005), les valeurs de viscosité des sérums allant de 7,6 à 240 mPa.s. Moelants *et al.* (2012) ont évalué l'influence du procédé sur la quantité et la nature des pectines en solution dans le sérum ainsi que sur la viscosité cinématique de sérums de carotte et de tomate, leurs résultats sont résumés dans le Tableau 2.1. La quantité de pectines solubles et les caractéristiques des pectines en solution (la longueur des chaînes et masses molaires) sont donc importantes pour les propriétés rhéologiques du sérum (Moelants *et al.*, 2012). Les sérums peuvent présenter un comportement Newtonien ou légèrement rhéofluidifiant sous cisaillement (Rao *et al.*, 1986). Le comportement non-Newtonien des sérums est attribué à la présence de pectines de haut poids moléculaire en solution (Tanglertpaibul & Rao, 1987). Les propriétés des particules dominent les propriétés rhéologiques de la purée, l'influence de la viscosité du sérum sur la rhéologie des purées est limitée. Néanmoins, les pectines du sérum pourraient jouer un rôle dans la rhéologie finale, non seulement en influant sur la viscosité du sérum, mais en modifiant les interactions entre les particules (Moelants *et al.*, 2012).

Table 2.1 – Influence du procédé sur les propriétés des sérums de carotte et de tomate (Moelants *et al.*, 2012)

	Changements effectués sur le procédé	Quantité d'acide galacturonique	Degré de méthoxylation	Masse molaire moyenne	Viscosité cinématique
Sérum de carotte	Augmentation de l'intensité du traitement thermique	$+++$	$+++$	$---$	$+++$
Sérum de carotte	Augmentation de la pression d'homogénéisation	$+++$	$\approx$	$\approx$	$+++$
Sérum de tomate	Augmentation de l'intensité du traitement thermique	$+++$	$\approx$	$\approx$	pas d'effet clair
Sérum de tomate	Augmentation de la pression d'homogénéisation	$+$	$\approx$	$---$	$\approx$

2.3 Comportement rhéologique des suspensions de particules végétales

Le comportement rhéologique des suspensions de particules végétales dépend de nombreux facteurs tels que la concentration en particules, la distribution granulométrique des particules, la forme des particules et leur déformabilité. La phase continue joue également un rôle dans leur comportement rhéologique. Tous ces paramètres vont impacter les interactions entre particules, que ce soient les interactions directes entre les

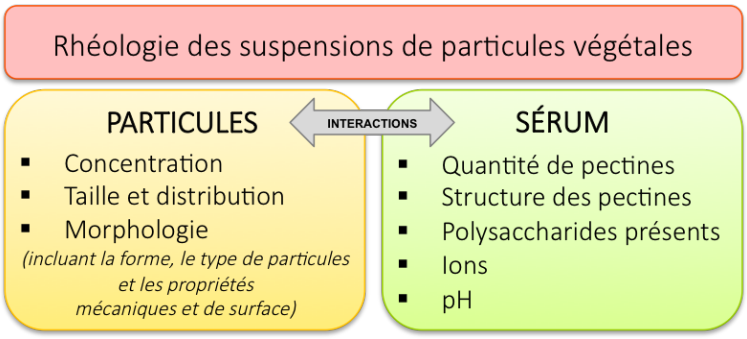


Figure 2.9 – Comportement rhéologique des suspensions de particules végétales (Moelants *et al.*, 2014b)

particules ou les interactions avec le fluide interstitiel. Le comportement rhéologique des suspensions de particules végétales résulte ainsi des interactions entre les particules elles-mêmes, mais également de leurs interactions avec le sérum, comme résumé à la Figure 2.9.

À leur concentration native, les purées de fruits et légumes présentent généralement un comportement rhéofluidifiant, avec un seuil d'écoulement (Xu *et al.*, 2016; Roversi & Piazza, 2016; Moelants *et al.*, 2014b; Lopez-Sanchez *et al.*, 2012; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013). Dans de rares cas, certaines suspensions de particules végétales peuvent présenter un comportement rhéoépaississant, comme l'ont observé Genovese & Rao (2005) sur une suspension de tomates.

Ce caractère rhéofluidifiant typique des suspensions concentrées est associé à la séparation d'agrégats de particules lors de la mise en écoulement (Quemada, 2006), conséquence des réorganisations structurelles au sein du système en écoulement (Espinosa, 2012).

L'origine du seuil d'écoulement tient dans les interactions entre particules, capables de créer un réseau entre elles. Nous reviendrons sur la notion de réseau dans la section 2.5. Ces systèmes ne présentent pas de thixotropie marquée et la destruction du réseau entre les particules est réversible instantanément (Roversi & Piazza, 2016; Espinosa, 2012).

Les modèles d'Herschel-Bulkley et d'Ostwald (loi de puissance) sont souvent utilisés pour décrire le comportement de ce type de suspensions. Le Tableau 2.2 propose un inventaire des équations utilisées pour modéliser le comportement en écoulement de suspensions de particules végétales.

2.4 Paramètres influençant les propriétés physico-mécaniques des cellules végétales

Trois paramètres principaux impactent les propriétés mécaniques des cellules (Loredo *et al.*, 2014) :

— la turgescence des cellules (force exercée sur la paroi par le fluide intracellulaire)
— la rigidité des parois
— l'adhésion cellulaire (déterminée entre autres par l'intégrité de la lamelle moyenne)

L'objectif de cette section est de mettre en lumière les principaux paramètres responsables de la variabilité au niveau de la structure des cellules ou au niveau de la paroi, et de faire apparaitre leurs conséquences possibles en terme de texture et de propriétés mécaniques des fruits et des purées.

Table 2.2 – Modèles rhéologiques utilisés pour les suspensions de particules végétales. Tableau inspiré de celui de Colin-Henrion *et al.* (2007)

Modèle utilisé	Équation	Produits
Ostwald (loi de puissance)	$\sigma = K\dot{\gamma}^n$	Purée de pommes (Rao *et al.*, 1986; Qiu & Rao, 1988; Schijvens *et al.*, 1998), Purée de tomates (Yoo & Rao, 1994) Purée de bananes (Xu *et al.*, 2016)
Herschel-Bulckley	$\sigma = \sigma_y + K\dot{\gamma}^n$	Purée de pommes (Qiu & Rao, 1988; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013), Purée de carottes (Moelants *et al.*, 2013b; Lopez-Sanchez & Farr, 2011), Purée de tomates (Lopez-Sanchez & Farr, 2011)
Casson	$\sigma^{1/2} = {\sigma_y}^{1/2} + K\dot{\gamma}^{1/2}$	Purée de pommes (Qiu & Rao, 1988), Purée de tomates (Yoo & Rao, 1994)
Mizrahi-Berk (Casson modifié)	$\sigma^{1/2} = {\sigma_y}^{1/2} + K\dot{\gamma}^n$	Purée de pommes (Qiu & Rao, 1988), Jus d'oranges concentré (Mizrahi & Berk, 1972)
Sisko	$\sigma = \sigma_\infty + K\dot{\gamma}^{n-1}$	Purée de myrtilles (Nindo *et al.*, 2007)

2.4.1 Paramètres intrinsèques

Effet de la variété

La variété du fruit ou légume va influer à la fois sur la structure du parenchyme, la morphologie des cellules et la rigidité des parois, mais également sur la composition chimique du fruit et de la purée qui en est issue. Le Tableau 2.3 propose une comparaison des compositions chimiques globales d'une variété de carottes et de deux variétés de pommes en mettant en exergue les différences nettes de composition chimique entre les espèces de fruits et légumes, mais également au sein d'une même espèce.

Table 2.3 – Compositions chimiques d'une variété de carotte (Sharma *et al.*, 2012; Lopez-Sanchez *et al.*, 2012) et des pommes Golden Delicious et Granny Smith (Wu *et al.*, 2007; Gheyas *et al.*, 1997)

	Carotte	Golden Delicious	Granny Smith
Eau	86 à 89%	$\sim$ 85%	$\sim$ 85%
pH	5,90	3,80	3,40
Phénols	25 à 28 μg/g	57,8 μg/g	67,8 μg/g
Principaux minéraux	Ca, Fe, Mg	Ca, Mg, P	Ca, Mg, P
Sucres	2,7 à 4,5%	11,2 à 11,4 %	9,6 à 9,8%
Fibres totales	1,2 à 2,4%	$\sim$ 1,75%	$\sim$ 1,96%
Dont	cellulose 81%, hémicellulose 9%, lignine 2%, pectines 7%	insolubles 74% solubles 26%	insolubles 73,2%, solubles 26,8%

Perte d'adhésion cellulaire - Effet de la maturité

La maturation des fruits est un processus biologique et naturel conduisant au ramollissement des tissus et à une augmentation graduelle de la quantité de sucre présente dans le fruit (Kojima *et al.*, 2004). Durant le ramollissement du fruit, les pectines vont se solubiliser, ce qui entraîne la désagrégation et l'affaiblissement des parois (Billy *et al.*, 2008; Redgwell *et al.*, 1991). Dans la pomme, on observe généralement une augmentation

de la quantité de pectines solubles, une diminution de la quantité de galactose et d'arabinose et une légère dépolymérisation des pectines durant le mûrissement (Fischer & Amado, 1994). La présence d'enzymes actives dans le procédé de maturation (polygalacturonases) peut induire une perte d'adhésion des cellules, allant jusqu'à la séparation (Jarvis *et al.*, 2003). La séparation cellulaire nécessite la dissolution de la lamelle moyenne, mais cette dernière n'est pas uniforme, les jonctions tricellulaires et les coins des espaces intercellulaires étant plus résistant à la dégradation (Jarvis *et al.*, 2003). La Figure 2.10 illustre la séparation cellulaire de deux cellules de parenchyme de poire, ne restant attachées que par un point correspondant à une ponctuation (ouverture permettant la communication entre deux cellules).

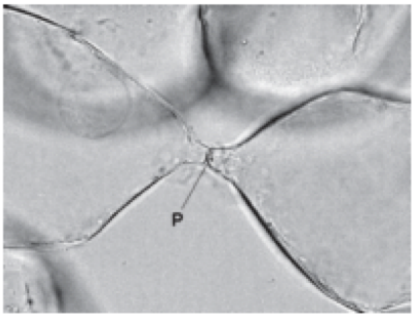


Figure 2.10 – Cellules de parenchyme de poire mûre en instance de séparation (Waldron *et al.*, 2003)

La séparation cellulaire peut avoir des répercussions importantes sur la texture des fruits frais ou transformés et sur la qualité des produits finis. En effet, des pommes ayant des niveaux élevés de séparation cellulaires conduisent à une texture farineuse et à une perte de saveur, car si des cellules se séparent au lieu de se rompre, des composants d'arôme intracellulaires ne sont pas libérés (Jarvis *et al.*, 2003). La Figure 2.11 illustre les différences observées au niveau cellulaire entre un parenchyme de pomme croquante et celui d'une pomme farineuse. Dans les tomates de transformation, une séparation cellulaire facile est nécessaire pour obtenir des purées de qualité (Jarvis *et al.*, 2003).

La dégradation des pectines solubles et de la lamelle moyenne ainsi que la désagrégation (perte de cohésion) des parois primaires vont conduire à la fragilisation de la structure des parois (Brummell, 2006) et au ramollissement de la chair des fruits (Billy *et al.*, 2008). Le mûrissement des fruits est également à l'origine d'une porosité accrue des parois cellulaires liée, entre autres, à la solubilisation des pectines qui la constituent (Brummell, 2006).

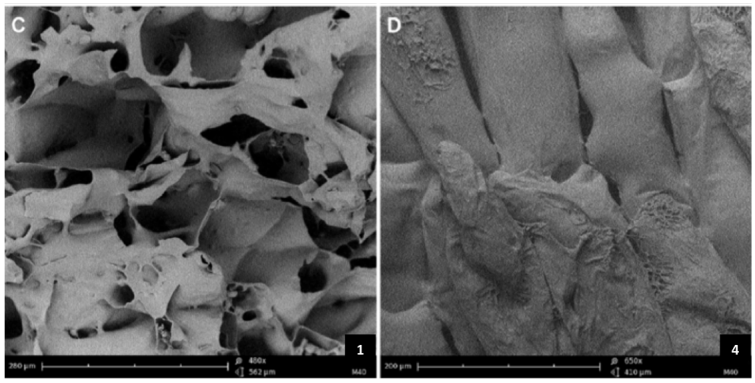


Figure 2.11 – Images de cellules de pommes croquante (gauche) ou farineuse (droite) par cryo-microscope électronique à balayage (Segonne *et al.*, 2014)

2.4.2 Paramètres extrinsèques

Les fruits et légumes transformés subissent des traitements thermiques et mécaniques qui influent leurs propriétés mécaniques et leur structure.

Effet des traitements thermiques

Les traitements thermiques provoquent des changements aux échelles macroscopiques, microscopiques et au sein même de la structure de la paroi végétale, ce qui influence fortement les propriétés mécaniques des cellules et donc des suspensions (Loredo *et al.*, 2014).

Au niveau macroscopique, le traitement thermique engendre une diminution de la fermeté du fruit. Cette perte de fermeté est liée à la rupture de la membrane plasmique. En détruisant la membrane plasmique, les traitements thermiques permettent la libre diffusion de l'eau et des fractions de faible poids moléculaire entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule, ce qui se traduit par une perte de turgescence (Waldron *et al.*, 2003).

Au niveau microscopique, le traitement thermique induit une diminution de la cohésion entre les cellules. La séparation cellulaire est donc facilitée par les traitements thermiques. Cet effet est attribué à la dégradation des polysaccharides pectiques de la lamelle moyenne et de la paroi, les pectines jouant un rôle majeur dans l'adhésion cellulaire. La perte de cohésion des cellules induit des changements de structures qui peuvent engendrer des différences au niveau des propriétés rhéologiques des suspensions (Loredo *et al.*, 2014). La Figure 2.12 illustre l'effet du traitement thermique sur la structure chimique des pectines de la paroi. Ces images ont été réalisées par immuno-fluorescence spécifique des pectines et mettent en évidence la de-estérification des pectines de la paroi par la pectinemethylestérase endogène lors du traitement thermique. Dans la carotte crue, les pectines avec un faible degré d'estérification sont principalement présentes aux jonctions tricellulaires (remarquable par le marquage aux anti-corps PAM1 et LM18). Après le traitement thermique, PAM1 et LM18 marquent l'ensemble de la paroi cellulaire, indiquant que la de-estérification a eu lieu au sein de la paroi.

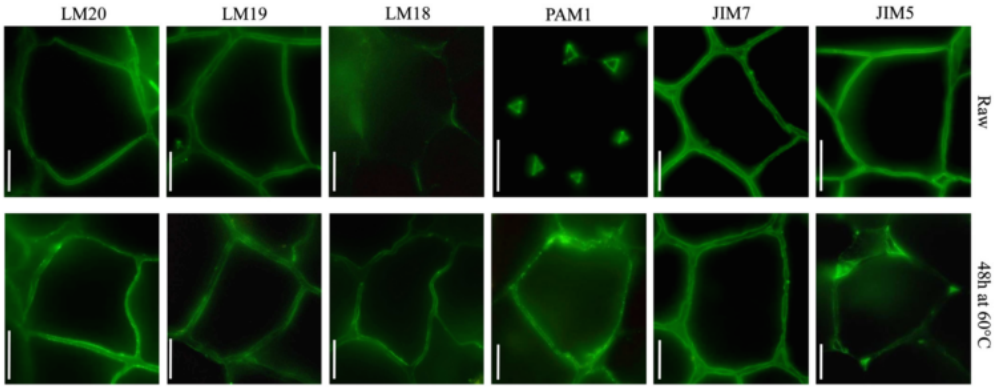


Figure 2.12 – Effet du traitement thermique sur la structure chimique des constituants de la paroi végétale de carotte crue et traitée thermiquement (48h 60°C) marquée par immunofluorescence avec plusieurs anticorps spécifiques de l'homogalacturonane (composant pectique) (Christiaens *et al.*, 2011). Les anti-corps PAM1 et LM18 marquent spécifiquement les homogalacturonanes non-estérifiés.

En plus d'engendrer la séparation cellulaire, les traitements thermiques peuvent induire un gonflement de la paroi (Waldron *et al.*, 2003) dû à la dénaturation de ses constituants. Ce gonflement de la paroi est illustré à la Figure 2.13. De tels changements au sein de la paroi auront un effet sur ses propriétés mécaniques. La viscosité du sérum sera également impactée par les traitements thermiques, via la solubilisation des pectines (cf. 2.2.2 - Le sérum). Dans le cas des purées de pommes, la viscosité du sérum augmente en général avec le temps de cuisson (Schijvens *et al.*, 1998).

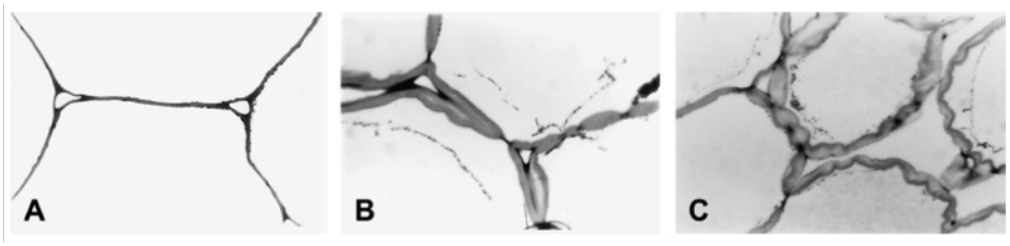


Figure 2.13 – Effet du traitement thermique sur des cellules de parenchyme d'oignon. (A) Tissu frais, (B) Tissu cuit 20min, (C) Tissu cuit 50min (Sila *et al.*, 2008)

La perte de fermeté et la diminution de la cohésion cellulaire des fruits en conséquence d'un traitement thermique a été largement étudiée dans la littérature. Anantheswaran *et al.* (1985) ont montré que la durée et la température du traitement thermique induisent des changements significatifs de la fermeté et de la cohésion cellulaire dans deux variétés de pommes. L'effet du procédé sur les propriétés rhéologiques de purées de pommes a également été étudié par Schijvens *et al.* (1998), qui démontrent que la durée du traitement thermique entraine la diminution de la fermeté des pommes et la diminution de la taille des particules en suspension (Figure 2.14). Des résultats comparables ont aussi été obtenus par Bengtsson *et al.* (2011) sur des suspensions de carottes et de pommes, où une diminution significative de la taille moyenne des particules avait été observée en conséquence à un traitement thermique. L'intensité du traitement thermique détermine donc la structure des particules végétales en suspension.

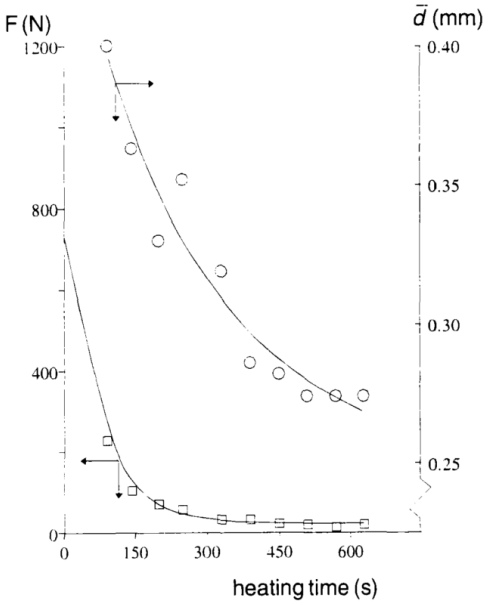


Figure 2.14 – Effet du temps de traitement thermique sur la fermeté de la pomme et sur la taille des particules en suspensions (Schijvens *et al.*, 1998)

Dans le cas de la purée de bananes, le traitement thermique entraine la séparation cellulaire, remarquable par une quantité croissante de particules de petites taille. Cependant, dans ce cas, la viscosité des purées augmente après le traitement thermique, due à la gélatinisation de l'amidon (Xu *et al.*, 2016).

Effet des traitements mécaniques

Les traitements mécaniques effectués sur les particules vont avoir une incidence sur la taille et la morphologie des particules. L'effet du traitement mécanique sera fonction du type de cellules sur lequel il est appliqué. Il dépendra également des éventuels traitements thermiques préalables.

Redgwell *et al.* (2007) ont observé l'effet du traitement mécanique sur des suspensions de cellules de pomme, de kiwi et de tomate. Sur la suspension de cellules de kiwi, l'effet du traitement mécanique permet de séparer les amas de cellules en amas plus petits, en cellules individuelles et en fragments de cellules. Par contre, dans le cas de la suspension de cellules de tomate, le traitement mécanique engendre la destruction totale des cellules, dispersant dans le milieu des fragments de cellules et des particules de taille colloïdale. Sur la suspension de cellules de pomme, Redgwell *et al.* (2007) observent peu d'effet du traitement mécanique, les cellules de pomme gardant leur intégrité après le cisaillement (Figure 2.15).

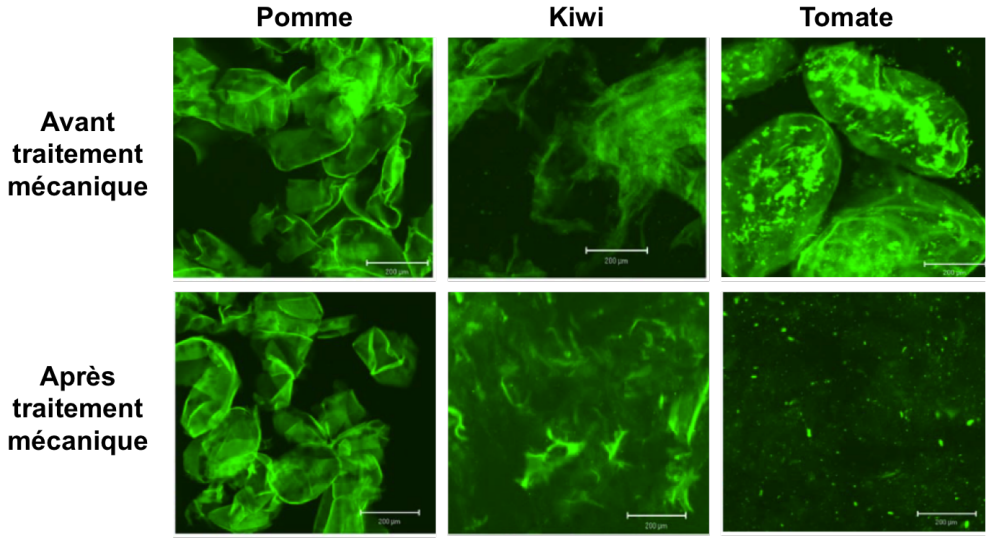


Figure 2.15 – Effet du cisaillement sur la morphologie des particules végétales en suspensions (Redgwell *et al.*, 2007). Microscopie confocale de cellules de pomme (haut), kiwi (milieu) et tomate (bas) avant (gauche) et après (droite) traitement mécanique.

Dans le cas de suspensions de purées de pommes contenant des agrégats cellulaires, il a été montré que le traitement mécanique engendre, comme dans le cas du kiwi précédemment cité, une séparation des agrégats cellulaires en cellules individuelles et en fragments de cellules (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013). Ces séparations cellulaires induisent des changements de morphologie des particules. En effet, les amas de cellules sont de forme irrégulière alors que les cellules individuelles sont de forme régulière (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013). La surface des particules peut également être modifiée par les traitements mécaniques et la voie de séparation des cellules.

En effet, Lopez-Sanchez *et al.* (2012) ont observé (Figure 2.16) que les amas de cellules de carotte présentent des formes irrégulières mais des bords lisses, due à la séparation des cellules par la lamelle moyenne, alors que les amas de cellules de brocoli présentent des surfaces irrégulières, due à la séparation des amas à travers la paroi. Cette séparation induite au niveau de la lamelle moyenne a été représentée schématiquement par Espinosa-Muñoz *et al.* (2013) (Figure 2.17).

Ces changements de microstructures vont avoir une incidence directe sur les propriétés des particules et les propriétés rhéologiques des suspensions. Espinosa-Muñoz *et al.* (2013) ont évalué l'influence de traitements mécaniques sur les propriétés rhéologiques de purées de pomme préalablement traitées thermiquement. Les auteurs observent que la diminution de la taille moyenne des particules engendre une diminution de la viscosité et

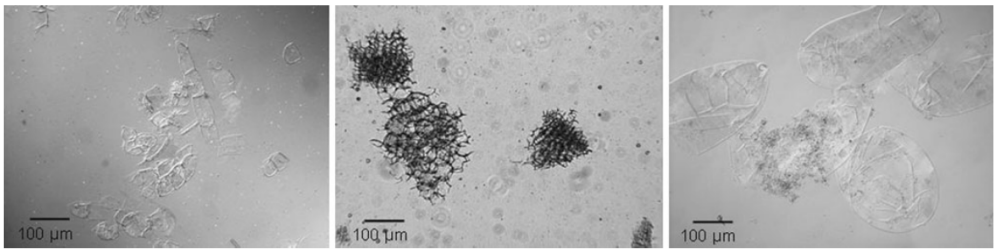


Figure 2.16 – Particules végétales en suspension ayant des morphologies différentes. De gauche à droite : amas de cellules de carotte, amas de cellules de brocoli ayant des bords cassés, cellules individuelles de tomate (Lopez-Sanchez *et al.*, 2012)

Figure 2.17 – Effet du traitement mécanique sur les particules végétales (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013)

du module élastique (G') des suspensions. L'effet de traitement mécanique engendre généralement une diminution de la viscosité des suspensions, comme cela est répertorié dans le Tableau 2.4. Néanmoins, ceci n'est pas vrai dans le cas des suspensions de particules de tomate. En effet, il a été observé que lorsque le traitement mécanique est très intense, la viscosité de la suspension augmente, en raison du nombre important de particules colloïdales généré.

Table 2.4 – Effet de la taille des particules sur l'indice de consistance de purées de fruits et légumes

Échantillon	Effet sur la viscosité	Modèle utilisé	Effet	Source
Purée de carottes reconstituée	$\eta \searrow$ qd taille $\searrow$	Herschel-Bulkley	$n \nearrow$ qd taille $\nearrow$ pas d'effet sur K	Moelants *et al.* (2013b)
Purée de tomates reconstituée	pas d'effet clair	Herschel-Bulkley	pas d'effet clair $K \nearrow$ qd taille $\nearrow$	Moelants *et al.* (2014a)
Pulpe de jaboticaba		Herschel-Bulkley	$n \searrow$ qd taille $\nearrow$ $K \nearrow$ qd taille $\nearrow$ $\tau_0 \nearrow$ qd taille $\nearrow$	Sato & Cunha (2009)
Purée de poivrons	$\eta \searrow$ qd taille $\searrow$	Power law	$n \searrow$ qd taille $\nearrow$ $K \nearrow$ qd taille $\nearrow$	Ahmed *et al.* (2000)
Purée de pommes	$\eta \searrow$ qd taille $\searrow$	Herschel-Bulkley	$n \searrow$ qd taille $\nearrow$ $K \nearrow$ qd taille $\nearrow$ $\tau_0 \nearrow$ qd taille $\nearrow$	Espinosa-Muñoz *et al.* (2013)

Effet global du procédé de transformation

Les procédés de fabrication des purées de fruits et légumes combinent généralement les traitements thermiques et mécaniques, et récemment, les technologies hautes pressions ont connu un intérêt grandissant. La compréhension des changements de microstructures engendrés lors du procédé sont donc importants pour permettre la maîtrise de la texture des produits finis.

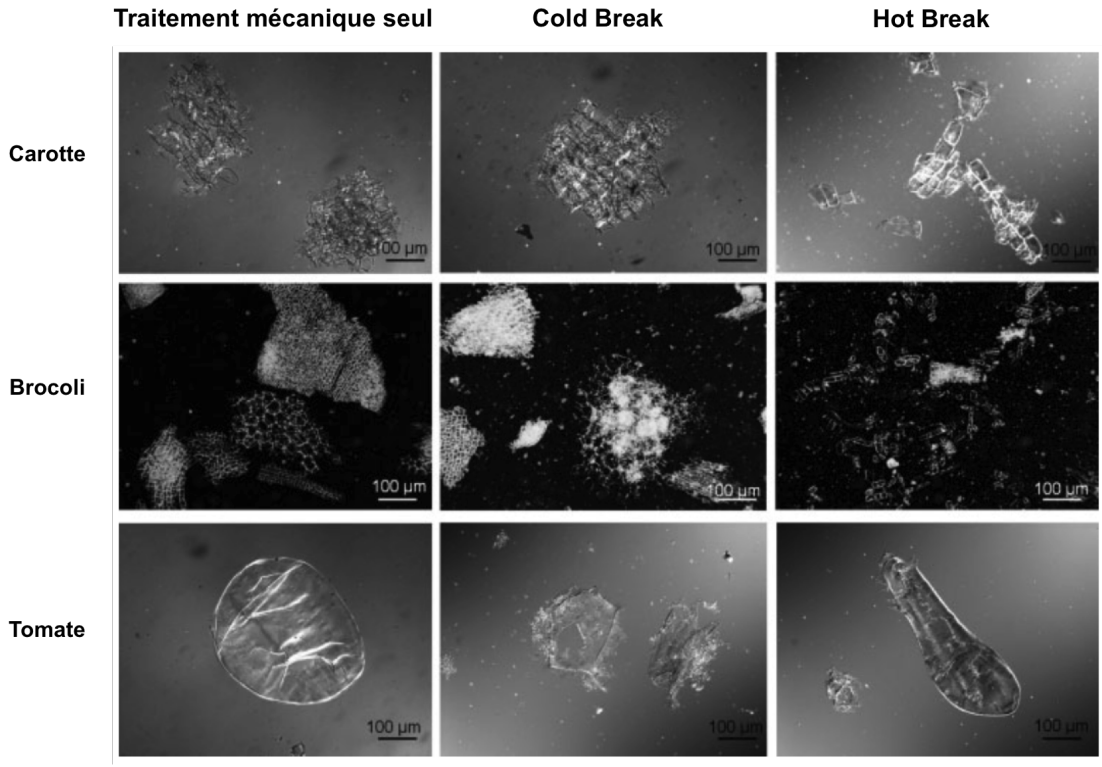


Figure 2.18 – Effet du procédé de transformation sur la morphologie de particules végétales de carotte, de brocoli et de tomate (Lopez-Sanchez *et al.*, 2011a)

Lopez-Sanchez *et al.* (2011a) se sont intéressés à l'influence du procédé de transformation sur la microstructure des particules végétales en suspensions. Pour ce faire, ils ont observé l'effet du cisaillement avant (Cold Break) ou après (Hot Break) le traitement thermique de purées de carottes, brocolis et tomates. Les purées de carottes et de brocolis semblent avoir des comportements similaires aux traitements, alors que les purées de tomates réagissent différemment. Pour les purées de carottes et de brocolis, les microstructures obtenues diffèrent par la façon dont les cellules ont été séparées. Dans le cas du Cold Break, la séparation cellulaire s'effectue à travers la paroi, alors que dans le cas du Hot Break, la séparation cellulaire s'effectue au niveau de la lamelle moyenne. Les suspensions obtenues par Cold Break contiennent de plus gros amas de cellules que celles obtenues par Hot Break, les suspensions obtenues par Hot Break étant de granulométrie plus homogène et contenant plus de cellules individuelles et des amas de cellules de plus petite taille. Fragilisées par le traitement thermique, les cellules sont donc plus faciles à séparer, et se séparent ainsi par la lamelle moyenne. Dans le cas des purées de tomates, il semblerait que le simple traitement mécanique suffise à déstructurer le matériau jusqu'au niveau de la cellule individuelle, voire du fragment de cellule.

Des résultats comparables ont été observés par Day *et al.* (2010b), deux traitements thermiques différents associés à un traitement mécanique constant ont été utilisés pour générer deux distributions granulométriques monomodales différentes, sur du brocoli et sur de la carotte. Sur la Figure 2.19 sont représentées les différences structurelles induites par le traitement thermique, ainsi que les distributions granulométriques associées. Le cisaillement appliqué sur le légume cuit ou blanchi n'ayant pas le même effet. Après un blanchiment (80°C 10min), la suspension est constituée d'amas de cellules, alors qu'après cuisson (100°C 30min), la suspension est essentiellement constituée de cellules individualisées.

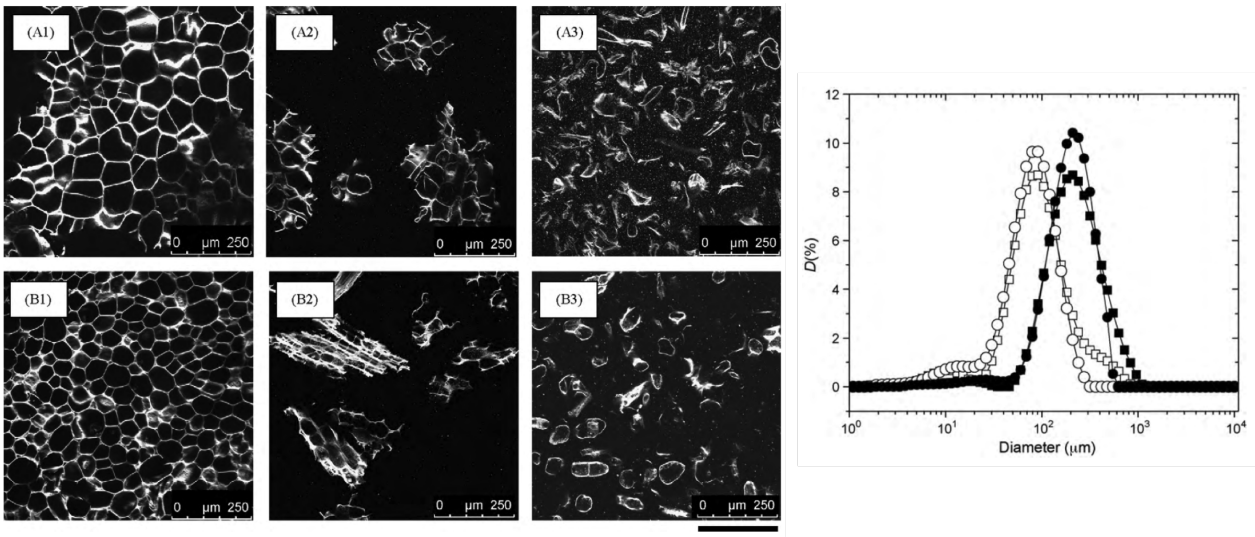


Figure 2.19 – Effet de la température et du cisaillement sur la morphologie des particules végétales (Day *et al.*, 2010b) de carotte (A) et de brocoli (B). Parenchyme cru (1), clusters de cellules obtenues après blanchiment (80°C 10min) (2) et cellules individuelles obtenues après cuisson (100°C 30min) (3). Les distributions granulométriques obtenues sont représentées sur le graphique de droite : carotte cuite ○, carotte blanchie ●, brocoli cuit □, brocoli blanchi ■.

La combinaison des traitements thermiques et mécaniques a une incidence sur les propriétés de surfaces des particules. Très récemment, Jamsazzadeh Kermani *et al.* (2016) ont observé que les purées de mangues blanchies et homogéinéisées haute pression présentaient des surfaces irrégulières, du fait d'un traitement thermique d'intensité trop faible. Dans leur cas, la taille des particules n'est pas en lien direct avec les propriétés rhéologiques, ce qui peut être lié à une solubilisation des pectines lors des traitements thermique et haute pression. Les auteurs n'observent pas de diminution significative de la viscosité avec la taille des particules.

En appliquant un traitement thermique intense avant le traitement mécanique, les particules végétales sont donc plus enclines à se séparer au niveau de la lamelle moyenne que lorsqu'elles ont subi un traitement thermique de faible intensité (voire pas de traitement thermique). Le procédé de transformation a donc une forte incidence sur la microstructure de la suspension et déterminera largement son comportement rhéologique.

2.5 Effet de la concentration en particules

Comme toutes les suspensions, le comportement rhéologique des suspensions de particules végétales est dicté par l'encombrement du milieu. La littérature s'intéresse donc de près à l'effet de la concentration en particules sur les propriétés rhéologiques de ces systèmes. De nombreux articles mettent donc en avant l'effet de la concentration en particules (Schijvens *et al.*, 1998; Montoya-Arroyo *et al.*, 2014; Day *et al.*, 2010b,a; Lopez-Sanchez *et al.*, 2012; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013).

La littérature s'accorde sur l'existence de trois domaines de concentration (Lopez-Sanchez *et al.*, 2012; Bayod, 2008; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2012) : dilué, semi-dilué et concentré.

Le domaine dilué correspond à un régime où les particules n'encombrent pas encore tout l'espace. Elles sont libres de se déplacer et de s'écouler, sans être perturbées par la présence d'autres particules dans le milieu. Les suspensions diluées de particules végétales présentent généralement un comportement Newtonien, comme on peut en observer dans des suspensions diluées de particules non-colloïdales.

Le domaine intermédiaire (ou semi-dilué) correspond à la formation d'un réseau percolé entre les particules. Les particules sont en interactions directes au repos et on observe l'apparition de propriétés élastiques et d'un seuil d'écoulement. Les particules ne sont plus libres de s'écouler. Au delà du seuil d'écoulement, le caractère rhéofluidifiant apparait, les particules devant s'adapter à l'espace disponible pour s'écouler.

Le domaine concentré est caractérisé par un fort encombrement du système. Les particules remplissent tout l'espace disponible et sont obligées de se déformer et de diminuer de volume pour s'accommoder à l'espace disponible permettant ainsi l'écoulement.

En s'inspirant du travail de Steeneken (1989) sur les granules d'amidons gélatinisés, Bayod (2008) propose donc la représentation suivante (Figure 2.20) des domaines de concentration pour les suspensions de particules végétales, mettant en avant la diminution du volume des particules dans le domaine concentré.

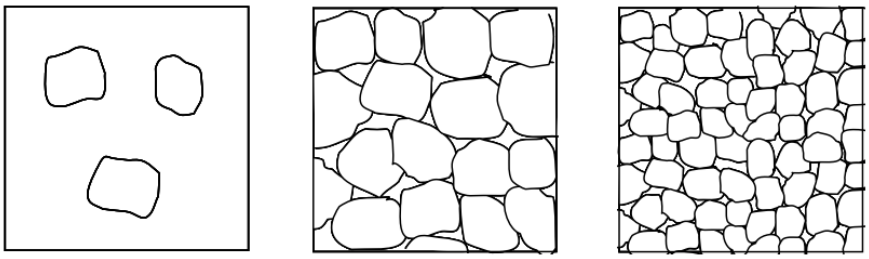


Figure 2.20 – Domaines de concentration des suspensions de particules végétales selon Bayod (2008). De gauche à droite : dilué, semi-dilué et concentré

Lopez-Sanchez *et al.* (2012) ont pu déterminer les concentrations de transitions entre les domaines dilué et intermédiaire, et entre les domaines intermédiaire et concentré pour des suspensions de particules de carotte, brocoli et tomate. Pour déterminer ces domaines, l'équipe s'est appuyée sur une approche couplant considérations expérimentales et théoriques.

Le travail de Day *et al.* (2010a) met clairement en évidence les trois domaines de concentrations (Figure 2.21). Dans cet article, les auteurs utilisent différents traitements thermiques associés à des traitements mécaniques pour générer des distributions de taille de particules à partir d'une purée de carottes.

Ils obtiennent ainsi trois suspensions composées d'agrégats de cellules (blanchiment à 80°C pendant 10min puis traitement mécanique modéré), de cellules individuelles (cuisson à 100°C pendant 30min puis traitement mécanique modéré) ou de fragments de cellules de parenchyme de carotte (cuisson à 100°C pendant 30min puis traitement mécanique intense). Les domaines de concentration sont visibles quelle que soit la granulométrie des particules considérées. Il est aussi remarquable que les concentrations de transition d'un domaine à un autre dépendent de la granulométrie des particules : les fragments de cellules entrant dans le domaine intermédiaire à une concentration plus élevée que les cellules individuelles et les amas de cellules. Cependant, l'utilisation de traitements thermiques pour générer les différences de granulométrie rend la comparaison entre les différentes suspensions périlleuse. En effet, si les traitements thermiques ont permis d'obtenir des suspensions de granulométrie variable, ils sont sans doute aussi responsables de modifications au sein de la paroi engendrant des modifications des propriétés mécaniques de cette dernière (cf. 2.4.2 - Effet des traitements thermiques). En

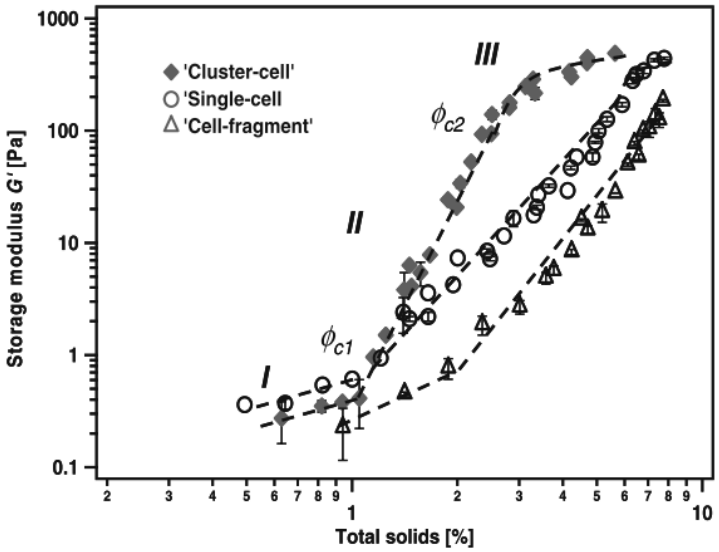


Figure 2.21 – Effet de la concentration en solides (solubles et insolubles) sur le module élastique de suspensions de cellules de carotte de granulométrie variable (Day *et al.*, 2010a)

d'autres termes, il est possible que les fragments de cellules et les cellules individuelles utilisés dans cet article aient une rigidité intrinsèque de paroi plus faible que celle des amas de cellules.

2.6 Approche de la fraction volumique

Tout comme il est difficile d'évaluer la fraction volumique des suspensions de particules molles (Adams *et al.*, 2004), la fraction volumique des suspensions de particules végétales n'est pas évidente à déterminer (du fait de la nature déformable et de la forme irrégulière des parois végétales) et la littérature ne s'accorde pas encore sur une définition. Ainsi, ces dernières années, plusieurs approches ont été élaborées pour permettre de s'approcher au mieux de la fraction volumique *effectivement occupée* par les particules.

En 2012, Lopez-Sanchez *et al.* (2012), travaillant sur suspensions de particules végétales réhydratées, s'emparent de cette question en choisissant de définir la fraction volumique comme le volume occupé par les insolubles sur le volume total occupé, obtenant ainsi une estimation de la fraction volumique à partir de la masse sèche de parois introduites :

$$\phi_0 = \frac{V_{insolubles}}{V_{insolubles} + V_{serum}} = \frac{m_{insolubles}/\rho_{insolubles}}{(m_{insolubles}/\rho_{insolubles}) + [(1 - m_{insolubles})/\rho_{serum}]} \tag{2.1}$$

où $\rho_{insolubles}$ a été estimé comme la masse volumique de polysaccharides secs et où ρ_{serum} correspond à la masse volumique du sérum.

L'avantage de cette méthode est qu'elle permet l'accès direct à une fraction volumique à partir de la quantité de parois introduites. De plus, cette méthode évalue une fraction volumique réelle, en évaluant le volume d'insolubles secs sur le volume total de la suspension. Cependant, en définissant le volume de sérum comme $(1 - m_{insolubles})/\rho_{serum}$, cette approche ne tient pas compte du fait que les parois végétales sont hydratées et gonflées par une partie du sérum (imprégnant les parois cellulaires), le volume des insolubles est donc sous-évalué

alors que le volume occupé par le sérum est surévalué.

Dans ce même article, Lopez-Sanchez *et al.* (2012) ont également cherché à calculer la fraction volumique critique à partir de laquelle les suspensions entrent dans le domaine concentré (c'est à dire, la fraction volumique pour laquelle les particules se trouvent en empilement dense aléatoire). Pour ce faire, les auteurs ont tenu compte de la distribution granulométrique des particules et se sont inspirés des travaux de Farr & Groot (2009). Ainsi, à partir des diamètres $d_{4,3}$ et $d_{3,2}$ obtenus par granulométrie, les auteurs ont pu estimer la fraction volumique de packing ϕ_{rcp} correspondant à des sphères dures de même distribution que leurs suspensions [1]. En considérant leurs particules végétales comme des sphères creuses, délimitées par une paroi d'épaisseur t, les auteurs ont donc pu définir la fraction volumique d'insoluble occupée par une particule sphérique comme :

$$\phi_{sph} = \frac{V_{paroi}}{V_{sphere}} = \frac{4\pi(D/2)^2 t}{(4/3)\pi(D/2)^2} = \frac{6t}{D} \tag{2.2}$$

où t représente l'épaisseur de la paroi végétale et D le diamètre des particules. Donc, en faisant l'hypothèse que la concentration correspondant à ϕ_{rcp} peut être estimée comme la concentration où apparaît un seuil d'écoulement, ils ont abouti à la définition d'une fraction volumique critique d'insolubles $\phi*$ telle que :

$$\phi^* = \phi_{rcp} \times \phi_{sph} \tag{2.3}$$

Cette approche rationnelle de la fraction volumique occupée par les parois végétales est initiatrice de l'approche de la rhéologie des suspensions de particules végétales comme matière molle. Bien que très rigoureuse, cette approche ne tient pas compte du volume effectivement occupé par les particules, mais seulement du volume occupé par les parois. Or, la paroi délimite une particule remplie de sérum, le volume d'une particule végétale sera donc significativement plus grand que le volume occupé par les parois. Les fractions volumiques atteintes par cette méthode sont donc extrêmement faibles au regard de l'encombrement réel des particules dans le milieu (ϕ^* étant de l'ordre de 10^{-3} pour un encombrement du système correspondant à ϕ_{rcp}).

Au même moment, Espinosa-Muñoz *et al.* (2013) tentaient également une estimation de la fraction volumique sur des purées de pomme présentant trois distributions granulométriques distinctes. Pour se faire, ils définirent ϕ comme :

$$\phi = C \times V \tag{2.4}$$

où C correspond à la quantité d'insolubles (en unité de masse par volume) et où V correspond à la voluminosité des particules (volume par unité de masse). Cette approche permet donc de prendre en compte, d'une part, la quantité réelle de parois introduites dans le milieu, et d'autre part, de prendre compte du volume occupé par ces parois au sein du fluide, en tenant compte des morphologies des particules. Afin de pouvoir évaluer la voluminosité des différents types de particules présentent dans la suspension, une purée essentiellement constituée de cellules individuelles (homogènes en taille et forme) a été prise comme référence de la voluminosité pour les purées de pommes. La voluminosité de référence V_R étant fixée à 1, les auteurs ont défini un facteur α tel que $\alpha = V/V_R$. En se basant sur les comportements rhéologiques observés, Espinosa-Muñoz *et al.* (2013) en ont conclu que les paramètres rhéologiques évoluaient en suivant une loi de puissance du type $\text{Paramètre}_{rheo} = A\phi^B = A(C\alpha)^B$. Cette approche a permis de construire des courbes maitresses regroupant les trois distributions granulométriques de particules. La Figure 2.22 reprend les courbes maitresses obtenues pour trois grandeurs rhéologiques d'intérêt pour les suspensions : la viscosité apparente, le seul d'écoulement et le module élastique.

Dans sa thèse, Espinosa (2012) va plus loin et tente d'approcher directement la voluminosité des particules, et non plus de manière relative par rapport à une purée de référence. Pour ce faire, elle intègre l'équation 2.4 dans une équation du second ordre de type Batchelor & Green (1972) telle que $\eta_{rel} = 1 + a\phi + b\phi^2$ pour obtenir :

1. Cette approche a également été utilisée par Shewan & Stokes (2015) sur des suspensions de microgels d'agar comme nous l'avons vu au Chapitre précédent.

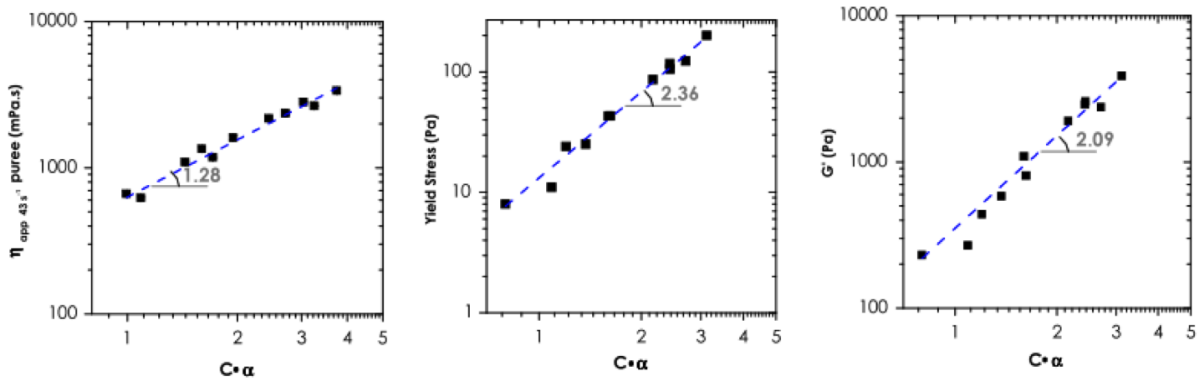


Figure 2.22 – Courbes maitresses de la viscosité apparente, du seuil d'écoulement et du module élastique en fonction de la concentration en insolubles selon Espinosa-Muñoz *et al.* (2013)

$$\eta_{spe \cdot red} = \frac{\eta_{rel} - 1}{C} = aV + b \cdot C \cdot V^2 \tag{2.5}$$

Ainsi, le paramètre aV correspond à l'ordonnée à l'origine obtenue lorsqu'on trace la viscosité spécifique réduite en fonction de la teneur en insolubles. Par comparaison avec les résultats de Nawab & Mason reportés dans l'ouvrage de Macosko (1996), le paramètre a (correspondant finalement au coefficient d'Einstein) a été évalué à 1,7 pour les cellules individuelles, permettant ainsi d'accéder à la voluminosité des cellules et donc d'obtenir $\phi = 1,3 \times C$.

L'intérêt de cette approche est qu'elle tient compte de la déformabilité des particules en prenant en compte le paramètre a (défini à 2,5 par Einstein (1906) pour des sphères rigides et à 1 par Taylor (1932) pour des bulles de gaz). Néanmoins, elle ne tient pas compte de la diminution de volume subie par les particules lors de l'augmentation de la concentration en particules.

Enfin, la dernière approche que nous détaillerons ici est celle utilisée par Day *et al.* (2010b). Dans cet article, les auteurs se sont intéressés au comportement rhéologique de suspensions monomodales de carotte et de brocoli obtenues par traitements thermiques et broyages (les distributions granulométriques et les images des purées étant représentées précédemment à la Figure 2.19). En étudiant l'évolution du module complexe en fonction de la concentration en particules, ils ont observé que G^* semblait atteindre une valeur plateau à haute concentration quelle que soit la suspension observée (Figure 2.23).

Ils ont ainsi défini deux concentrations de référence : c^* correspondant à la concentration de transition entre le domaine intermédiaire et le domaine concentré, et c^{**} correspondant à la concentration à l'entrée du plateau de G^*. Afin de pouvoir comparer toutes leurs suspensions, les auteurs ont choisi de définir la fraction volumique ϕ de leurs suspensions comme :

$$\phi = \frac{conc.}{c^{**}} \tag{2.6}$$

En choisissant cette définition pour ϕ, les auteurs ont pu obtenir une courbe maitresse pour leurs données en milieu concentré et mettre en évidence les domaines de concentration intermédiaire et concentré. Cette méthode permet donc d'accéder à des valeurs de ϕ permettant de comparer des suspensions de granulométries différentes entre elles, mais également de comparer des suspensions issues de légumes différents. L'apparente universalité de cette façon de déterminer ϕ est donc séduisante. Néanmoins, cette méthode reste très qualitative, les valeurs de c^* et c^{**} ayant, semble-t-il, été obtenues par observation graphique.

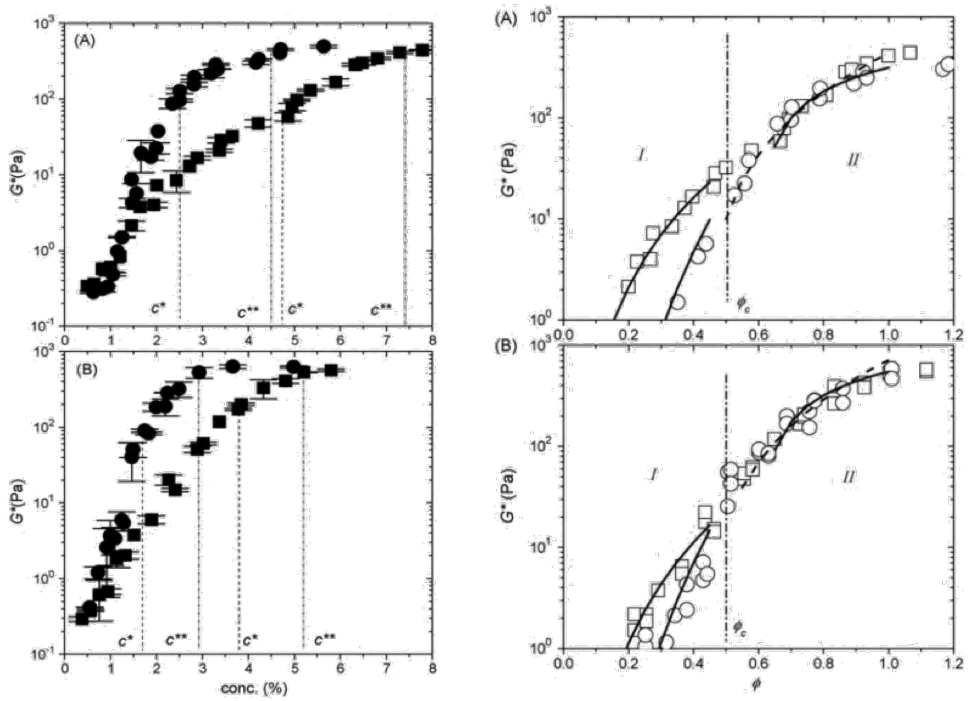


Figure 2.23 – Évolution du module complexe en fonction de la concentration en particules et définition d'une fraction volumique selon Day *et al.* (2010b)

Cet aperçu rapide des différentes approches utilisées pour estimer la fraction volumique des particules végétales permet de mettre en lumière l'intérêt croissant de la littérature pour la compréhension et la modélisation de ces systèmes.

2.7 Vers des systèmes modèles et des modélisations

Afin d'aller plus loin dans la compréhension de la rhéologie des purées de fruits et légumes, la littérature tend de plus en plus à simplifier ses systèmes d'études. Par exemple, en utilisant plutôt des suspensions de particules végétales de taille contrôlée dans des phases continues de compositions contrôlées. Largement initiée par l'équipe de Kunzek (Kunzek *et al.*, 1997; Müller & Kunzek, 1998; Kunzek *et al.*, 1999) dans les années 90, la séparation des parois cellulaires à partir des purées à des fins de compréhension de la physico-chimie de la paroi connait un regain d'intérêt ces dernières années pour la compréhension de la rhéologie de ces systèmes.

Il existe différentes méthodes de préparation de ces *Cell Wall Materials* (Müller & Kunzek, 1998; Renard, 2005), l'idée étant de débarrasser la purée des éléments solubles pour ne garder que les éléments insolubles correspondant aux parois végétales. En général, les auteurs procèdent à un rinçage en solution aqueuse (permettant d'éliminer les éléments solubles dans l'eau) puis au séchage des parois :

— soit par échange de solvants (Müller & Kunzek, 1998; Renard, 2005) puis séchage sous vide ou étuvage,
— soit par déshydratation sur filtre après rinçage à l'eau (Moelants *et al.*, 2013b, 2014a, 2013a),
— ou bien par séchage par pulvérisation (Hemar *et al.*, 2011).

Ces méthodes de séparation des insolubles présentent de nombreux avantages, le premier étant qu'elles permettent de conserver une structure cellulaire intacte (Müller & Kunzek, 1998; Kunzek *et al.*, 1999; Vetter & Kunzek, 2003a). Un autre avantage non négligeable de ces méthodes est que l'effet du procédé d'extraction

(Müller & Kunzek, 1998), des conditions de réhydratation (Vetter & Kunzek, 2003a) et de l'état des parois (Vetter & Kunzek, 2003b; Schalow & Kunzek, 2004) sur les propriétés d'hydratation des parois ont été largement étudiées, permettant ainsi d'avancer en chemin balisé. Enfin, elles permettent de maitriser les conditions de resuspensions des parois et ainsi de ne faire varier qu'un paramètre à la fois.

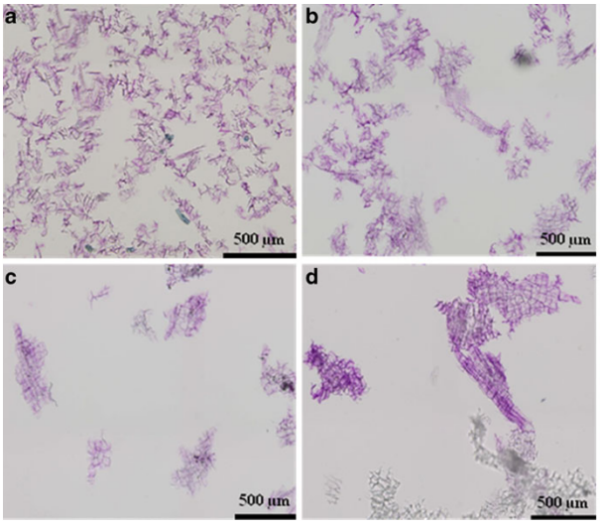


Figure 2.24 – Suspensions de cellules de carotte isolées de taille contrôlée par tamisage humide et marquées par du bleu de toluidine (Moelants *et al.*, 2013b)

Ces parois cellulaires isolées sont donc de plus en plus utilisées pour avancer dans la compréhension de la rhéologie des suspensions de particules végétales. Récemment, Moelants *et al.* (2013b, 2014a) ont choisi de travailler sur des cellules végétales isolées en sélectionnant sélectivement la taille des particules par tamisage humide. Ainsi, ils ont pu aller observer l'effet de la taille des particules sur la rhéologie de suspensions reconstituées à partir de parois végétales de carotte (Moelants *et al.*, 2013b) et de tomate (Moelants *et al.*, 2014a), les suspensions utilisées ayant ainsi des granulométries plus homogènes que celles des purées natives (Figure 2.24).

L'effet de la phase continue sur les propriétés rhéologiques peut également être évalué. Ainsi, Moelants *et al.* (2013a) ont évalué l'effet d'ions divalents (Ca^{2+}) sur les propriétés des suspensions en espérant observer une rigidification des parois par le calcium. Ils en concluent que le calcium affecte les propriétés rhéologiques des suspensions, entrainant un possible écrantage des charges à la surface des particules, diminuant ainsi les valeurs des paramètres rhéologiques évaluées (seuil, G').

Hemar *et al.* (2011) ont également souhaité approcher l'effet de la phase continue sur les propriétés des suspensions de particules végétales en introduisant une concentration croissante de polymères (xanthane) dans la phase continue de suspensions de concentration variables. Ils ont observé que l'ajout de xanthane aux suspensions n'affecte les propriétés rhéologiques dynamiques des suspensions qu'à faible concentration en particules (Figure 2.25). L'ajout de xanthane sur les suspensions concentrées en particules n'ayant qu'un effet marginal sur les modules élastique et complexe (G' et G^*).

Cet attrait pour des systèmes modèles a également conduit les auteurs à utiliser des techniques de modélisation. Au début des années 2000, Gray *et al.* (1999) utilisent la microscopie confocale couplée à la reconstruction d'images pour observer des cellules de parenchyme de raisin dans l'objectif d'apporter des réponses sur la morphologie et l'organisation des cellules de parenchyme. La reconstruction 3D de leurs acquisitions (Figure 2.26) permet ainsi de considérer les cellules comme des solides géométriques, dont la taille, la forme, la surface et le

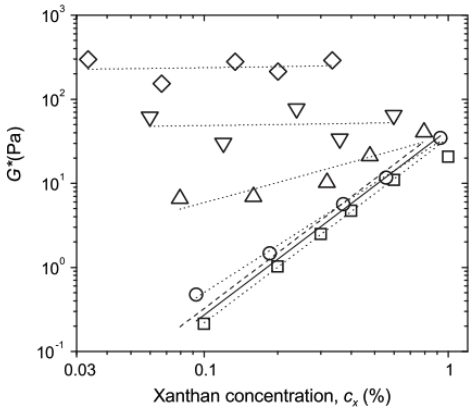


Figure 2.25 – Module complexe de suspensions de cellules de carotte en fonction de la concentration en xanthane de la phase continue (Hemar *et al.*, 2011). La concentration en particules des suspensions allant de très diluée (□) à très concentrée (◊)

volume sont accessibles. Leur méthode révèle ainsi des détails sur le volume et la forme des cellules végétales crues ce qui était jusqu'alors inatteignable (Gray *et al.*, 1999).

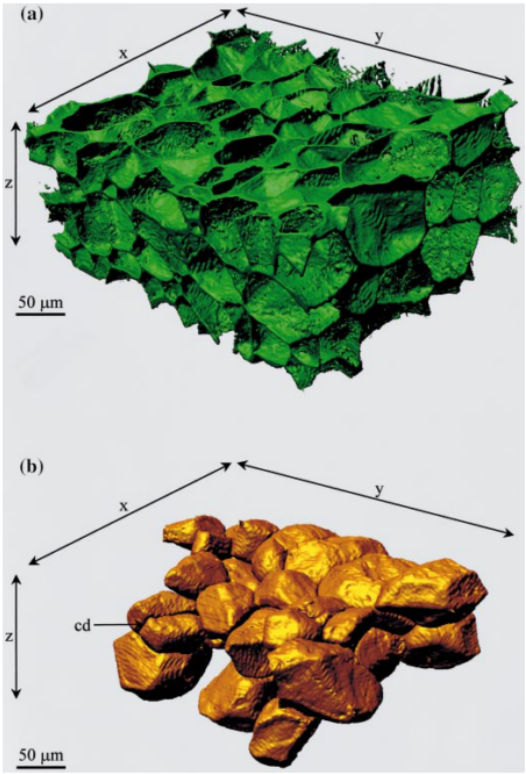


Figure 2.26 – Reconstruction de cellules de parenchyme de raisin (Gray *et al.*, 1999)

Le lien avec la physique des suspensions et la matière molle est donc au cœur des intérêts actuels. Très axé procédé il y a quelques années, les ouvrages de références cités par la littérature actuelle tendent de plus en plus à intégrer des articles issus des domaines de la physique ou de la matière molle (Lopez-Sanchez *et al.*, 2012;

Roversi & Piazza, 2016). Ainsi, très récemment, les résultats de Roversi & Piazza (2016) suggèrent que les suspensions concentrées de particules végétales se comporteraient comme des "Soft glassy materials".

Objectifs et stratégie

Objectifs et stratégie

Objectifs

Comme nous l'avons vu dans les Chapitres précédents, les particules végétales sont des objets particuliers, non-colloïdaux, de grande taille, délimités par une paroi cellulaire végétale perméable, et dont la morphologie (taille, forme, structure, rigidité), pour une matière première donnée, varie en fonction du procédé de transformation. L'objectif de ce travail est d'approfondir le lien entre la structure et les propriétés rhéologiques de suspensions de particules végétales en utilisant une approche du type *Science des Matériaux* et *Matière Molle*, dans l'optique de générer des réponses globales et transposables aux suspensions de particules déformables et compressibles de même nature.

En considérant que l'unité fonctionnelle d'intérêt est la particule végétale (cellule individuelle ou amas de cellules) remplie de sérum, nous aurons pour objectif de répondre aux questions suivantes :

- Peut-on mettre en évidence l'état de déploiement, la compacité des particules végétales en milieu aqueux ? Comment approcher le volume et la forme de ces particules, à la fois en domaine dilué et en domaine concentré ?
- Quels sont les paramètres de premier ordre liés aux particules et à l'état d'organisation de la suspension déterminant les propriétés rhéologiques de ce type de système et comment les quantifier ?
- Quelle est l'influence de la phase continue, en particulier en milieu encombré ?
- Comment approcher la fraction volumique des particules végétales ?
- Est-il possible de modéliser / prédire le comportement rhéologique de ce type système du domaine dilué au domaine très encombré ?

Stratégie

Nous avons choisi d'étudier les suspensions de particules de pomme. Ce choix est justifié par l'expérience acquise au sein de l'UMR Génial sur ce type système, marquant ainsi la continuité avec les travaux antérieurs réalisés par Tarea (2005) et Espinosa (2012). De plus, la pomme Golden Delicious a été choisie comme système d'étude du projet européen Optifel, justifiant également son utilisation dans le cadre de ce travail.

L'intégralité du travail a été réalisée sur un lot unique de purée de pommes réalisé par Conserves France à partir d'une seule variété de pommes (Golden Delicious). L'utilisation d'un lot unique de purée, mis en œuvre à partir d'une variété unique de pommes, permet de limiter les facteurs de variabilité liés au fruit (variété, maturité) et au procédé de fabrication.

Une purée de fruits comme celle-ci se prête bien aux opérations de séparation pulpe/sérum et de reconstruction de mélanges de composition maîtrisée. Nous avons également imaginé, pour mieux découpler et comprendre les effets liés aux parois cellulaires et au sérum, d'élaborer un système modèle à partir de cellules ou amas cel-

lulaires isolés et redispersés dans des solvants de propriétés variables. Ceci nous a également permis d'aller plus loin dans l'observation de la microstructure de ces systèmes en milieux concentrés. L'originalité de ce travail est donc d'avoir simplifié un système complexe tout en continuant à travailler sur le système réel afin de pouvoir découpler les effets.

Afin de répondre aux questions de recherche identifiées, les effets de plusieurs facteurs de variations ont été évalués (Figure 2.27) :

① **Les paramètres de structure.** La morphologie des particules a un impact sur la rhéologie des suspensions. Nous avons donc choisi de modifier ce paramètre par traitement mécanique. Comme nous le verrons par la suite, en plus de modifier la taille des particules, les traitements mécaniques de broyage permettent également de modifier la forme, la rigidité globale et l'état de surface des particules. La polydispersité du système, a été maitrisée en utilisant le tamisage humide.

② **La concentration en particules (ie. en parois végétales),** est identifiée comme un facteur déterminant de la rhéologie des suspensions. Des suspensions allant de très diluées à très concentrées ont donc été réalisées.

③ **La phase continue.** La viscosité de la phase continue a été modifiée en réalisant des suspensions de particules modèles, suspendues dans des solutions aqueuses de composition et viscosité contrôlées.

La rigidité des parois végétales n'a pas été prise comme facteur de variation dans le cadre de ce travail. Les traitements réalisés sur les suspensions ont été considérés comme n'altérant pas leurs propriétés mécaniques. Ainsi, nous faisons l'hypothèse que la rigidité intrinsèque des parois végétales est identique pour toutes les suspensions étudiées.

Structure du manuscrit

Les résultats présentés dans ce manuscrit sont essentiellement rédigés sous forme d'articles. Les questions de recherche précédemment définies seront donc reprises et développées au fil des chapitres, dans chacun des articles de la thèse. Les chapitres de la partie Résultats et Discussion sont structurés de la manière suivante :

Dans un premier temps, nous présenterons les caractéristiques de la matière première sur laquelle nous avons travaillé ainsi que les méthodes rhéologiques mises en œuvre, dans le *Chapitre 3 - Caractérisation structurelle et rhéologique de purées de pommes*.

Dans le *Chapitre 4 - Déformabilité et tassement des particules*, nous observerons comment la morphologie des particules est modifiée par l'encombrement du milieu. Un protocole de séparation et reconstruction de suspensions modèles couplé à un protocole de marquage des parois végétales a permis l'observation des particules en microscopie confocale, en conditions semi-diluées et concentrées. L'utilisation d'un logiciel de traitement d'image et de génération de maillage 3D (Simpleware) a permis d'accéder au volume des particules dans les différents milieux considérés. La capacité des particules à se tasser sous contrainte a donc été validée. L'observation de ces systèmes en milieu encombré a permis de mettre en évidence les modifications morphologiques des particules engendrées par l'encombrement du milieu et de quantifier la fraction volumique des cellules dans les suspensions semi-diluées et concentrées.

Nous observerons ensuite l'effet de la structure des suspensions sur les propriétés rhéologiques de purées de pommes (*Chapitre 5 - Effet des paramètres de structure sur les propriétés rhéologiques des suspensions de particules végétales*). Dans ce chapitre, nous avons utilisé un protocole de séparation et reconstitution couplé à des traitements mécaniques afin d'obtenir une large gamme de purées de pommes, variant à la fois par leur teneur en particules et par leur distribution de taille des particules. L'étude rhéologique de ces purées a permis

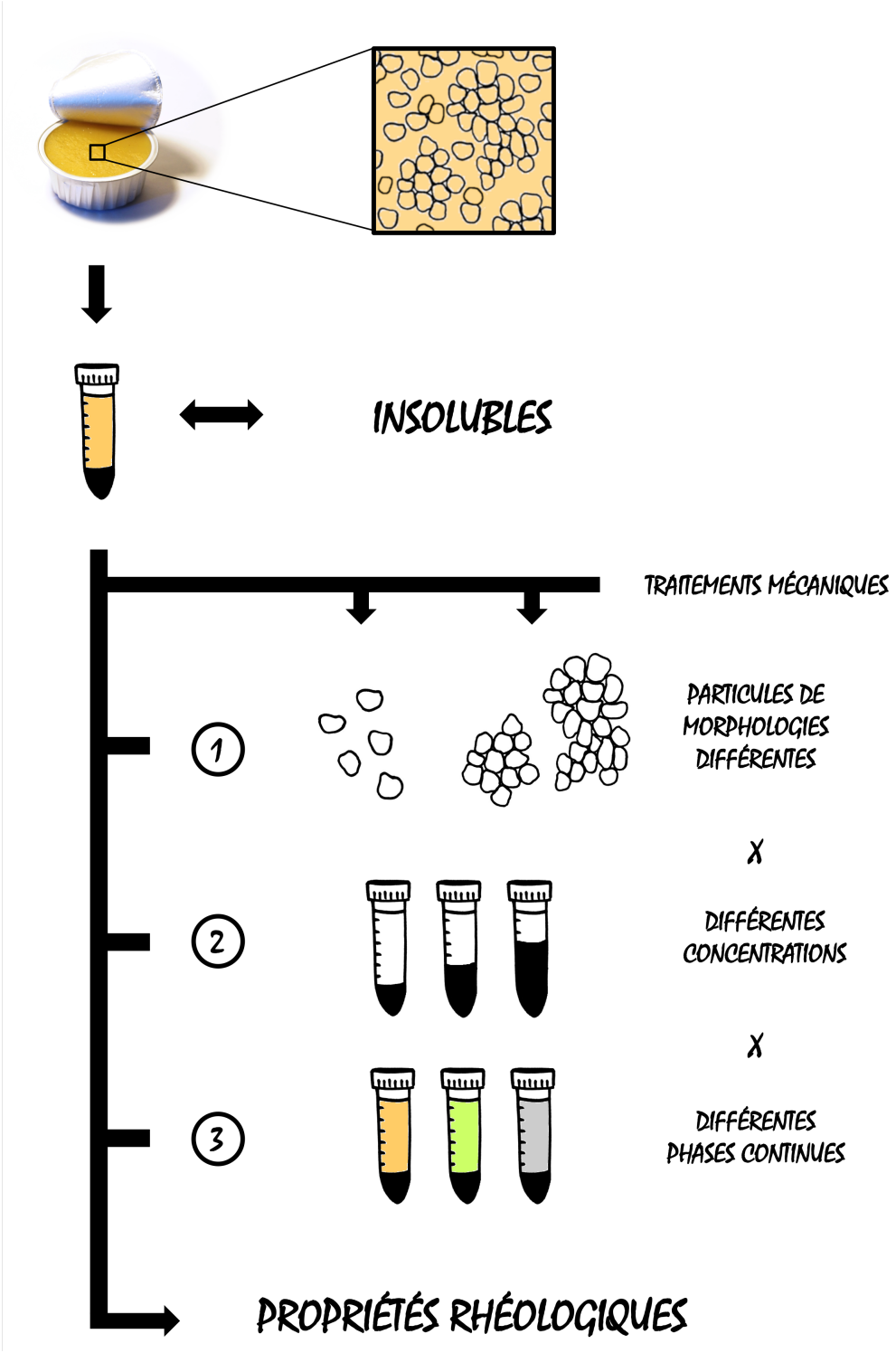


Figure 2.27 – Stratégie expérimentale de la thèse

de mettre en évidence les facteurs de premier ordre influant sur la rhéologie des suspensions de particules de pomme dans leur propre sérum.

Dans le *Chapitre 6 - Effet de la phase continue sur les propriétés rhéologiques de purées de pommes modèles*, des suspensions de particules végétales modèles dispersées dans des phases continues aqueuses contrôlées ont été préparées et étudiées. Les particules modèles de pommes ont été isolées à partir du lot original de purée de pommes Golden par un protocole alliant traitement mécanique, tamisage humide et séchage : deux tailles de particules modèles ont pu être isolées. Une large gamme de concentrations a été réalisée dans 5 milieux aqueux contrôlés variant en composition et en viscosité. La réalisation de ces suspensions de particules modèles a permis de mettre en évidence l'influence de la phase continue à la fois sur les propriétés en dynamique et en écoulement de ces systèmes de particules végétales.

Enfin, dans le *Chapitre 7 - Approche de la fraction volumique et modélisation*, un moyen d'accéder à la fraction volumique effective des particules végétales et un modèle prédisant la viscosité sous cisaillement de suspensions de particules végétales en fonction de la concentration en particules seront proposés.

Les Chapitres 4, 5, 6 et 7 de la Partie Résultats et Discussion, sont rédigés sous forme d'articles. Ils sont tous en cours de soumission à des revues scientifiques internationales à comité de lecture.

- L'article présenté dans le *Chapitre 4 - Déformabilité et tassement des particules*, est à soumettre au journal *Food Structure*
- L'article présenté dans le *Chapitre 5 - Effet des paramètres de structure sur les propriétés rhéologiques des suspensions de particules végétales*, a été publié dans le journal *Food Biophysics* (DOI : 10.1007/s11483-016-9434-7)
- L'article présenté dans le *Chapitre 6 - Effet de la phase continue sur les propriétés rhéologiques de purées de pommes modèles*, a été soumis et est actuellement sous la révision du journal *Food Hydrocolloids*
- Enfin, l'article présenté dans le *Chapitre 7 - Approche de la fraction volumique et modélisation*, a été soumis et est actuellement sous la révision du journal *Soft Matter*.

La liste complète des publications et des communications auxquelles ce travail a donné lieu est détaillée page 19 de ce manuscrit.

Quelques précisions concernant la lecture de ce manuscrit :

- Chaque chapitre rédigé sous forme d'article sera précédé d'une introduction en français. Le résumé de l'article et les faits marquants seront également traduits avant chaque article.

- Tous les chapitres de ce manuscrit seront clôturés par un encadré **À RETENIR**, résumant le chapitre et ses principales conclusions.

- Afin d'alléger le manuscrit, nous avons fait le choix de placer l'intégralité des références bibliographiques à la fin du manuscrit, y compris les références bibliographiques utilisées dans les articles.

- Dans un soucis d'homogénéité, l'intégralité du sommaire est rédigée en français, y compris les sections concernant les articles, rédigées en anglais dans le manuscrit.

- Plusieurs approches de la fraction volumique des particules étant proposées dans ce manuscrit, un récapitulatif des dénominations utilisées dans les résultats de ce travail est proposé dans l'Annexe A.

Résultats et Discussion

Chapitre 3

Caractérisation biochimique, structurelle et rhéologique de purées de pommes

Dans ce premier Chapitre de résultats, nous présenterons une approche globale de la purée de pommes utilisée dans ce travail, l'objectif étant de répondre aux questions suivantes :

— De quoi parle-t-on ?

— Quelles sont les méthodes utilisées ?

Dans un premier temps, nous allons décrire les caractéristiques de la matière première utilisée en partant des pommes fraîches ayant servies de base à la purée. Nous décrirons ensuite le procédé de fabrication des purées, puis nous caractériserons les propriétés biochimiques et structurelles de cette matière première. Nous justifierons ensuite le choix des méthodes d'analyses utilisées et nous présenterons les résultats ayant permis de mener à bien toute la stratégie expérimentale de ce travail.

3.1 Caractérisation mécanique et biochimique des pommes fraîches

Les pommes utilisées pour la fabrication des purées dans le cadre de ce travail sont des pommes *Malus Domestica* Borkh. Golden Delicious issues d'un lot unique. Leur fermeté, leur teneur en sucres ainsi que leur acidité ont été évaluées quelques jours après la date de fabrication des purées, permettant ainsi de décrire l'état des pommes au moment de leur transformation.

3.1.1 Fermeté des pommes

La fermeté des pommes a été évaluée par pénétrométrie grâce à une machine de traction TaXT2 équipée d'un capteur de force de capacité maximale 50 N. Pour les mesures, les pommes fraîches ont été coupées en deux, épluchées et détaillées en carottes de section rectangulaire et de dimensions $20 \times 20 \times 10$mm. Une sonde pénétrométrique plane de 4 mm de diamètre a été utilisée et pénètre ainsi équatorialement le fruit à une vitesse de 50 mm/min et sur une profondeur de 1 cm. La courbe de compression obtenue comporte une phase de déformation linéaire puis un plateau de force quasi constante présentant des irrégularités, résultat de phénomènes de friction au contact du poinçon et à des variations locales de fermeté (Colin-Henrion, 2008).

Trois paramètres ont été extraits des courbes de pénétrométrie (Bourles, 2010; Colin-Henrion, 2008; Mehinagic *et al.*, 2004) :

— La force limite de compression (N). Elle représente la limite d'élasticité de la chair (Figure 3.1, B).

— La déformation (mm) associée à la force limite de compression.

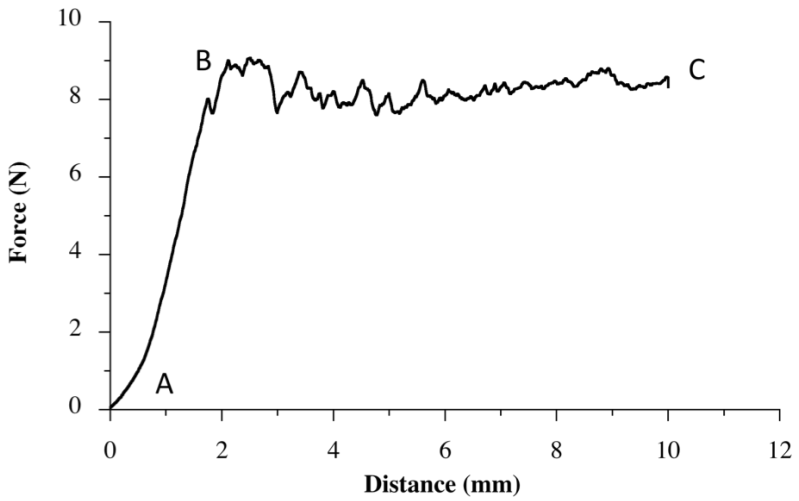


Figure 3.1 – Paramètres d'intérêt utilisés pour la caractérisation mécanique des pommes fraîches

— La fermeté pénétrométrique des fruits ($N.mm^{-1}$), correspondant à la pente de la courbe entre A et B (Figure 3.1).

Pour cette caractérisation de la fermeté, 12 tests de compression ont été réalisés sur six pommes à raison de deux tests par pomme.

3.1.2 Acidité titrable

La mesure de l'acidité titrable permet de déterminer la teneur en acides organiques du fruit. L'acidité titrable a été déterminée par titrage de 25 mL de jus de fruit par une solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N, jusqu'à l'obtention d'un pH de 8,1. Le jus de pomme a été obtenu par extraction du jus d'une demie pomme fraîche, pelée et épépinée, grâce à une centrifugeuse de cuisine. L'acidité titrable, exprimée en mmoles d'ions hydroxyde par litre de produit, est obtenue par la formule suivante :

$$[H^+] = \frac{1000 \times V_{NaOH} \times [NaOH]}{V_{jus}} \tag{3.1}$$

L'acide malique étant l'acide organique majoritairement présent dans la pomme, l'acidité titrable des pommes est directement exprimée en grammes d'acide malique par litre de produit ($C_{ac.malique}$), via la formule suivante :

$$C_{ac.malique} = \frac{M_{ac.malique}}{\mathrm{N}^{\mathrm{H+}}_{\mathrm{ac.malique}} \times 1000} \times [H^+] = 0,067 \times [H^+] \tag{3.2}$$

avec $M_{ac.malique}$ = 134 g/mol la masse molaire de l'acide malique, $\mathrm{N}^{\mathrm{H+}}_{\mathrm{ac.malique}} = 2$ le nombre de fonction carboxylique par molécule d'acide malique et $[H^+]$ l'acidité titrable exprimée en mmoles d'ions hydroxyde par litre de produit. L'acidité titrable a été mesurée sur trois pommes à raison de deux répétitions par pommes.

3.1.3 Degré Brix

Le degré Brix traduit la teneur en composés solubles du milieu. Il est exprimé en concentration massique équivalente de saccharose et permet d'évaluer la teneur en sucres dans le fruit ou dans la purée. Le degré Brix a

été évalué grâce à un refractomètre laser (pocket refractomemeter pal-1, ATAGO) et est exprimé en grammes de saccharose par 100 grammes de solution. Les mesures ont été réalisées sur environ 1g d'échantillon déposé sur la fenêtre de mesure du refractomètre. Le degré Brix des pommes fraîches a été évalué sur le jus de pommes obtenu par centrifugation. Le degré Brix des purées de pommes a été directement évalué sur les purées de pommes. Trois répétitions à température ambiante ont été réalisées sur chaque échantillon.

3.1.4 Caractérisation des pommes fraîches

Les résultats de la caractérisation des pommes fraîches sont récapitulés dans le Tableau 3.1.

La fermeté pénétrométrique du parenchyme des pommes a été évaluée à 4,8 ± 1,0 N.mm^{-1}, ce qui équivaut à un module d'Young apparent de $9,5.10^5$ Pa. Ce résultat correspond à l'ordre de grandeur des modules d'Young apparents observés pour des pommes Golden Delicious ayant été stockées après la récolte (Winisdorffer *et al.*, 2015; Mehinagic *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2012; Bourles, 2010). Les Golden Delicious étant traditionnellement récoltées au mois d'octobre et les essais de fermeté ayant été réalisés 6 mois après la récolte, nos résultats d'analyse se situent dans la normale.

L'acidité titrable mesurée est comparable aux résultats de la littérature (Wu *et al.*, 2007; Vieira *et al.*, 2009) bien que légèrement inférieure à ce qui est habituellement observé pour les Golden Delicious (Rutkowski *et al.*, 2008; Jeziorek *et al.*, 2010; Meheriuk & Lau, 1979).

Nous n'irons pas plus loin dans la description et l'analyse des caractéristiques physico-chimiques des pommes fraîches car là n'est pas l'objet de ce travail.

Table 3.1 – Caractérisation mécanique et biochimique des pommes fraîches

Fermeté pénétrométrique ($N.mm^{-1}$)	4,8 ± 1,0
Force limite de compression (N)	6,5 ± 2,0
Déformation associée à la force de compression (mm)	1,4 ± 0,4
°Brix	11,5 ± 0,9
Acidité ($g_{ac.malique}/L$)	1,8 ± 0,2
pH	3,88 ± 0,07

3.2 Procédé de fabrication

Les pommes Golden Delicious ont été transformées en purée en avril 2014 par un partenaire industriel (Conserves France, usine de Vauvert). Le procédé de fabrication (Figure 3.2) correspond à un traitement de type "Hot Break". Un chauffage à haute température permet de désactiver les enzymes polyméthylesthérases et polygalacturonases présentes dans le fruit, limitant ainsi la dégradation des pectines présentes dans les parois et dans la lamelle moyenne. Ce traitement à haute température permet de conserver au mieux la rigidité des parois et l'adhésion entre les cellules, et préserve ainsi la texture du produit fini.

La première étape du procédé consiste à laver les pommes. Durant cette étape de lavage, les pommes sont également pelées et triées : tous les éléments indésirables (feuilles, brindilles, peau) étant sortis de la chaine de production à cette étape. Une fois les pommes lavées et parées, elles sont réduites en purée par extraction à froid au moyen d'une grille de maillage 1,2 mm, de la vitamine C est également ajoutée à la purée ce qui permet de diminuer l'oxydation des fruits. La cuisson des fruits broyés est réalisée dans un échangeur tubulaire bitube à 92°C pendant 4 minutes (étape de chambrage) et est suivie d'une phase de refroidissement brutal à 40°C dans un échangeur à plaques. L'inactivation enzymatique ainsi réalisée permet de stopper l'activité des polygalacturonases. Elle est suivie d'un stockage à froid en cuve avant la pasteurisation. La purée a ensuite été réchauffée à 60°C et dégazée dans un échangeur à surface raclée, puis a été pasteurisée à 90°C. Le produit a été conditionné à chaud dans des coupelles préformées à une température comprise entre 85°C et 90°C, mis en palettes et refroidi.

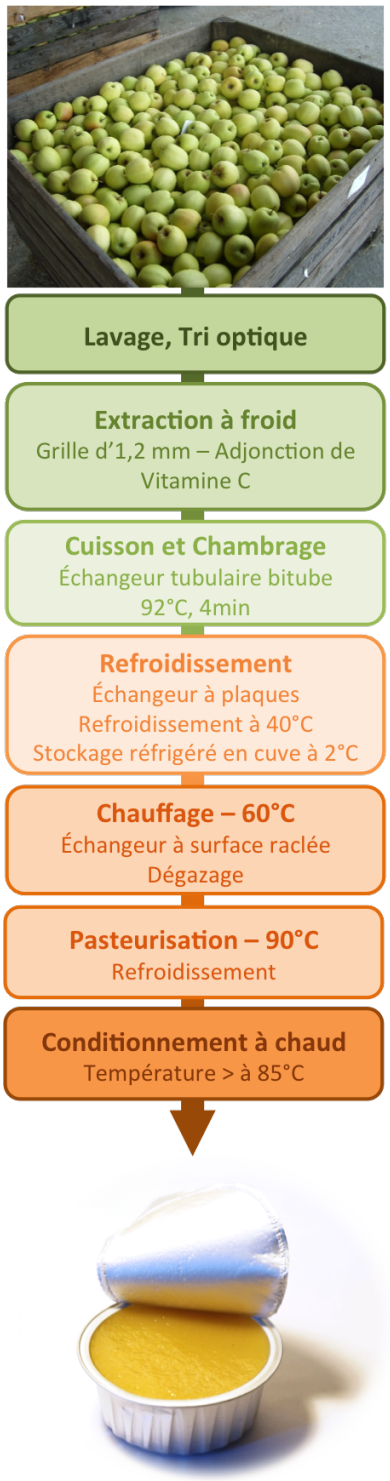


Figure 3.2 – Protocole de fabrication des purées de pommes ayant servies de matière première au travail

3.3 Caractérisation structurelle et biochimique de la purée native

La purée de pommes directement issue du procédé de transformation sera qualifié de "native" dans la suite de ce travail. Pour mettre au point les protocoles d'analyses rhéologiques des purées, la caractérisation structurelle de la purée native a été nécessaire, notamment pour connaitre la taille des particules qui la constituent.

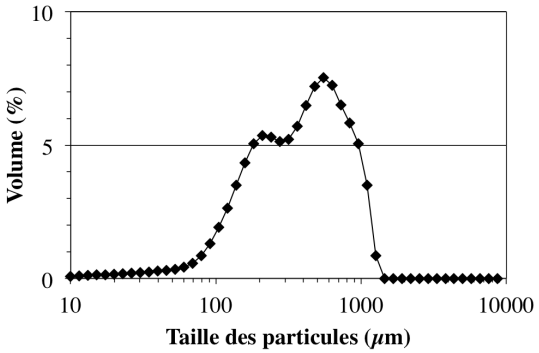


Figure 3.3 – Distribution granulométrique de la purée de pommes native

La distribution de taille des particules de la purée native, obtenue par granulométrie laser (Protocole 5.2.6), est bimodale et possède une bande à 200 μm et une bande à 1000 μm (Figure 3.3). La visualisation microscopique des particules (Figure 3.4) a permis de mettre en évidence deux morphologies de particules, les cellules individuelles et les amas de cellules, confirmant ainsi les observations faites sur d'autres purées de pommes ayant subies un procédé de transformation semblable à celui du présent travail (Tarea, 2005; Espinosa, 2012). On remarque également que les amas de cellules sont de forme plus irrégulière que les cellules individuelles et que leur architecture est plus complexe.

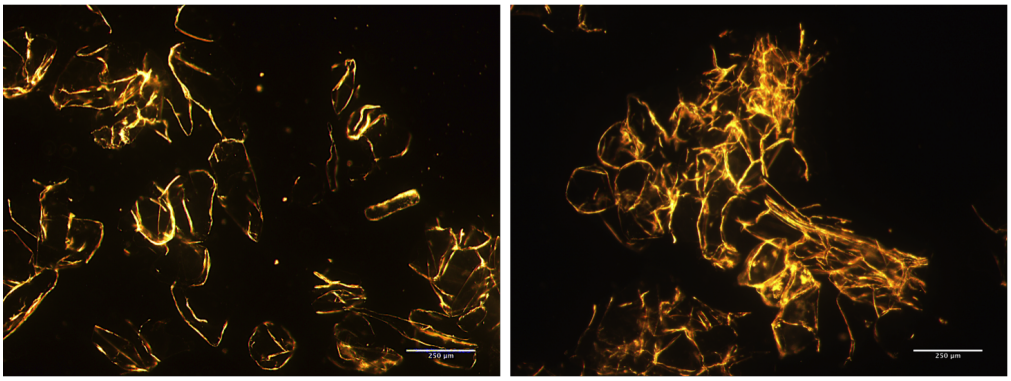


Figure 3.4 – Observation des cellules individuelles et des amas de cellules par microscopie optique à contraste de phase. Gauche : Cellules individuelles. Droite : Amas de cellules. La barre d'échelle correspond à 250 μm

Dans le Tableau 3.2 sont détaillés les résultats d'analyse de la caractérisation structurelle et biochimique de la purée de pommes native. On remarque que la quantité de pulpe est de 29,0 $\pm$ 0,8 % (Protocole 5.2.2). Ce résultat permet de mettre en évidence que les particules peuvent être tassées lorsqu'elles sont soumises à une contrainte. On remarque également que seul 1,1 $\pm$ 0,1 % d'éléments insolubles suffit à structurer le milieu. Ces résultats sont comparables à la littérature sur la pomme Golden (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013). Si l'on compare la quantité de pulpe aux éléments insolubles (1,1 $\pm$ 0,1 %), on remarque que la quantité d'éléments insolubles est très faible devant la quantité de pulpe : l'hydratation des parois peut donc être estimée à 26 g de sérum par

gramme de paroi dans l'échantillon. Cette valeur est certainement sur-estimée, due à la présence de sérum piégé à l'intérieur et entre les particules, les particules contenues dans la pulpe étant tassées mais certainement pas complètement vidée de la phase continue qu'elles contiennent. De plus, des travaux antérieurs ont montré que le pourcentage de pulpe est logiquement dépendant des conditions de mesures (vitesse, masse d'échantillon, temps de centrifugation), et il a également été montré que la quantité de pulpe varie en fonction de la distribution granulométrique de la purée (Espinosa, 2012). Ce résultat est particulièrement intéressant car il met en évidence le fait que l'encombrement des particules n'est pas le même en fonction de la morphologie de celles-ci. Ainsi, une purée native aura une quantité de pulpe plus importante qu'une purée ayant subie un traitement mécanique. Nous discuterons plus avant de l'impact de la structure sur les propriétés des purées au Chapitre 5 - Effet des paramètres de structure sur les propriétés rhéologiques des suspensions de particules végétales.

Table 3.2 – Caractérisation biochimique et structurelle de la purée de pommes native. Les protocoles de mesure sont décrits aux Sections 5.2.2 à 5.2.4

pH	3,5 ± 0,1
°Brix	12,6 ± 0,1
Matière sèche	12,7 ± 0,1
Matière sèche sérum	11,6 ± 0,1
Pourcentage de pulpe	29,0 ± 0,8
Insolubles à l'alcool	1,1 ± 0,1

3.4 Comment faire varier les paramètres structuraux de la purée ?

Pour faire varier les propriétés structurales des suspensions, nous avons identifié deux possibilités :
— Faire varier la taille et la morphologie des particules
— Faire varier la concentration en particules

3.4.1 Modification de la taille et de la morphologie des particules

Pour modifier la taille et la morphologie des particules, nous avons choisi d'utiliser le traitement mécanique pour séparer les amas en amas de moins grosse taille et en cellules individuelles. Les protocoles utilisés sont référencés aux Sections 5.2.5 et 6.2.2.

3.4.2 Modification de la teneur en particules

Pour modifier la teneur en particules, deux méthodes ont été utilisées :
— la séparation centrifuge, et
— l'isolation des parois cellulaires.

Dans un premier temps (Chapitre 5), la centrifugation a été utilisée pour permettre de séparer les particules de la phase continue. Des mélanges à quantité de particules maîtrisée ont donc pu être réalisés. L'avantage de cette méthode est qu'aucun traitement susceptible de modifier les propriétés physico-mécaniques et chimiques des particules n'est effectué. Par contre, cette méthode se révèle être dépendante des conditions de mesures (durée, température, vitesse de centrifugation...). De plus, la concentration en particules est seulement évaluée indirectement par une mesure de la masse de pulpe par rapport à la masse totale de purée. Enfin, le pourcentage de pulpe varie selon que l'on observe une purée native ou une purée broyée, sans avoir changé la composition ou la quantité d'insolubles dans le milieu. La seule mesure du pourcentage de pulpe ne suffit donc pas pour caractériser les suspensions de particules végétales les unes par rapport aux autres. Dans le Chapitre 5, les pourcentages

de pulpe seront rapportés aux quantités d'insolubles secs (*Dry Insoluble Solids*) décrites Section 5.2.4.

Dans un second temps (Chapitre 6), nous avons choisi d'extraire les parois cellulaires de la purée afin de pouvoir reconstruire des suspensions modèles. Cette méthode présente l'avantage certain de permettre une maitrise complète de la teneur en parois, permettant de maitriser à la fois la teneur en insolubles et la phase continue. Par contre, avec cette méthode, les parois ont subies des traitements chimiques pouvant impacter leur comportement rhéologique (macroscopique) ou leur propriétés à une échelle plus fine (interactions entre particules, rugosité...). Nous verrons l'effet du traitement d'extraction des parois sur les propriétés macroscopiques des suspensions modèles reconstituées au Chapitre 6.

3.5 Caractérisation de la composition chimique des parois végétales

L'effet de l'extraction des parois sur la composition chimique des parois cellulaires de cellules individuelles et d'amas de cellules a été évalué. Les compositions en oses neutres, acide galacturonique, ainsi que le degré de méthylation (DM) ont été analysées [1] (Figure 3.5).

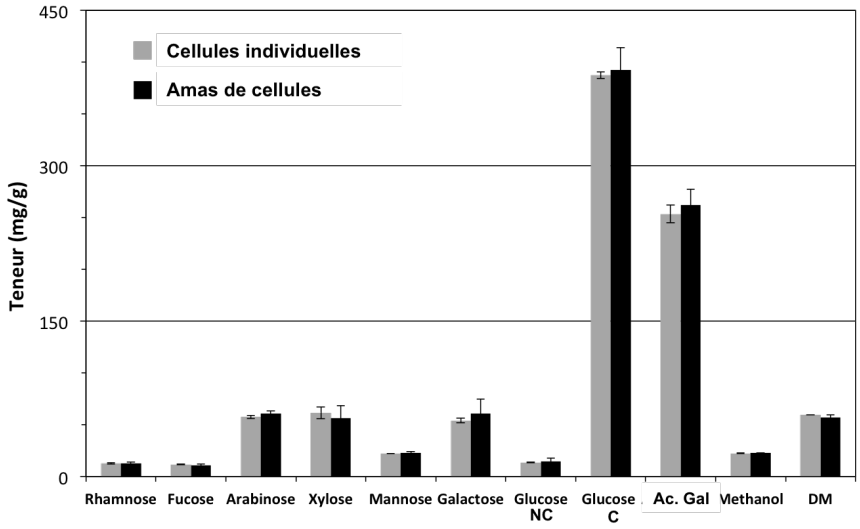


Figure 3.5 – Compositions chimique des parois végétales modèles issues de cellules individuelles et d'amas de cellules. Glucose NC = Glucose non-cellulosique. Glucose C = Glucose cellulosique. DM = Degré de méthylation.

Nous conclurons simplement que ces résultats mettent en avant des compositions chimiques identiques pour les deux échantillons. Ces résultats étayent ainsi l'hypothèse selon laquelle la rigidité intrinsèque des parois cellulaires issues d'amas de cellules et de cellules individuelles est la même.

3.6 Caractérisation rhéologique des purées de pomme

3.6.1 Le choix de la géométrie

Les mesures rhéologiques des purées ont été réalisées sur un MCR 301, en utilisant une géométrie de type Couette (cylindre coaxiaux).

1. Ces analyses ont été réalisées par Line TOULOUMET au laboratoire Qualité et Procédés de l'unité mixte de recherche 408 SQPOV - Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale. Les protocoles utilisés pour caractériser la composition chimique des parois peuvent être trouvés en Annexe C.

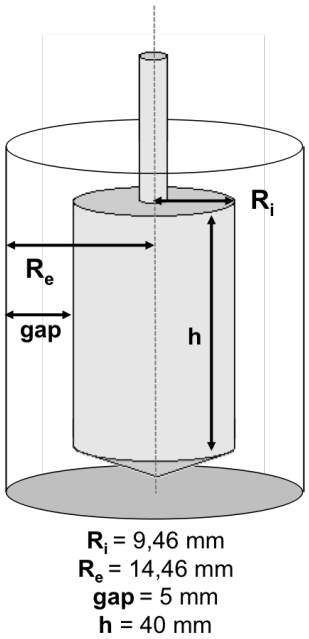


Figure 3.6 – Géométrie utilisée pour les mesures rhéologiques en écoulement et en dynamique. Géométrie Anton Paar CC18.92 : cylindres coaxiaux de diamètre 18,92mm

Pour évaluer la viscosité du sérum, nous avons choisi d'utiliser un double entrefer car il permet de monter à haute vitesse et d'observer le comportement rhéofluidifiant du sérum sans engendrer de turbulences sur des échantillons de faible viscosité (la viscosité du sérum étant d'environ 13 mPa.s au plateau Newtonien).

Pour évaluer les propriétés rhéologiques des purées, nous avons choisi d'utiliser des cylindres coaxiaux car ils sont couramment utilisés dans la rhéologie des purées de fruits (Rao *et al.*, 1986; Hemar *et al.*, 2011; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013; Appelqvist *et al.*, 2015) et ils permettent d'atteindre des entrefers plus importants qu'avec des géométries plane ou cône-plan. Le système de mesure que nous avons choisi d'utiliser est un système Couette à entrefer large sablé afin de limiter les phénomènes de glissements aux parois.

La taille de l'entrefer est importante à considérer : il est d'usage d'utiliser un entrefer d'au moins 10 fois la taille des plus grosses particules afin de ne pas perturber l'écoulement en engendrant un confinement. Dans notre cas, les plus grosses particules peuvent mesurer jusqu'à 1 mm de diamètre maximum (Figure 3.3), ce qui voudrait dire qu'un entrefer d'au moins 10 mm devrait être utilisé. Cependant, dans notre stratégie expérimentale, nous avons observé l'effet de la concentration sur les propriétés des suspensions sur un large domaine. Or, sur des produits de faibles viscosités, un entrefer très large peut engendrer des turbulences ne permettant pas d'effectuer des mesures : nous avons ainsi opté pour un compromis.

Nous avons choisi d'utiliser un entrefer de 5 mm. Cet entrefer est, certes, limite au niveau taille pour les particules les plus grosses, mais il permet de limiter les perturbations en milieu dilué. De plus, on peut faire l'hypothèse qu'un entrefer 5 fois plus grand que les plus grosses particules peut suffire puisque, dans notre cas, les particules sont déformables. Enfin, la majorité des expériences menées dans cette thèse ont été réalisées sur des particules de diamètre largement inférieur à 1mm, la question de l'entrefer ne se pose donc que pour un nombre limité de résultats.

Dans la littérature, la géométrie de type ailette est souvent utilisée pour les mesures en dynamique sur les

purées de fruits et légumes (Lopez-Sanchez *et al.*, 2012; Moelants *et al.*, 2014a) car elle permet de minimiser la déstructuration du produit lors de l'insertion du système de mesure et les effets de glissement aux parois, souvent observés sur les systèmes de particules viscoélastiques (Lopez-Sanchez & Farr, 2011). Malgré tout, nous avons choisi d'utiliser les cylindres coaxiaux à entrefer large à la fois pour les mesures en écoulement et en dynamique, car ils permettaient une meilleure sensibilité de mesures sur nos échantillons. Afin de palier à la déstructuration du produit engendrée lors de la mise en place du système de mesure, nous avons fait le choix de mettre en place un pré-cisaillement et un temps de repos afin de contrôler l'histoire de l'échantillon, ce qui est pratique courante en rhéologie des purées de fruits et légumes (Hemar *et al.*, 2011; Moelants *et al.*, 2013b; Lopez-Sanchez *et al.*, 2011a).

La géométrie utilisée pour les mesures rhéologiques en écoulement et en dynamique ainsi que ses dimensions sont illustrées à la Figure 3.6.

3.6.2 Le choix du pré-cisaillement et du temps de repos

Nous avons souhaité vérifier que la mise en place d'un pré-cisaillement et d'un temps de repos ne perturbe pas l'anisotropie du système, par exemple en engendrant une organisation des particules dans la suspension ou en créant une couche de déplétion autour du cylindre interne. Pour nous en assurer, nous avons observé l'évolution du module élastique du produit lors de sa mise en place ($\gamma = 0{,}1\%$, $\omega = 10$rad/s), pendant un temps de repos de 10 min. Après ce temps de repos nous avons évalué ses propriétés viscoélastiques par un balayage en déformation (Protocole 5.2.8) puis nous l'avons soumis à un cisaillement constant de 2min à $50s^{-1}$. Après un second temps de repos de 10 min, les propriétés viscoélastiques du produit on été évaluée à nouveau. Ce test, dont les résultats en terme de module élastique sont représentés en Figure 3.7, a été réalisé sur deux purées différentes : la purée native et une purée très broyée (Protocole 5.2.5).

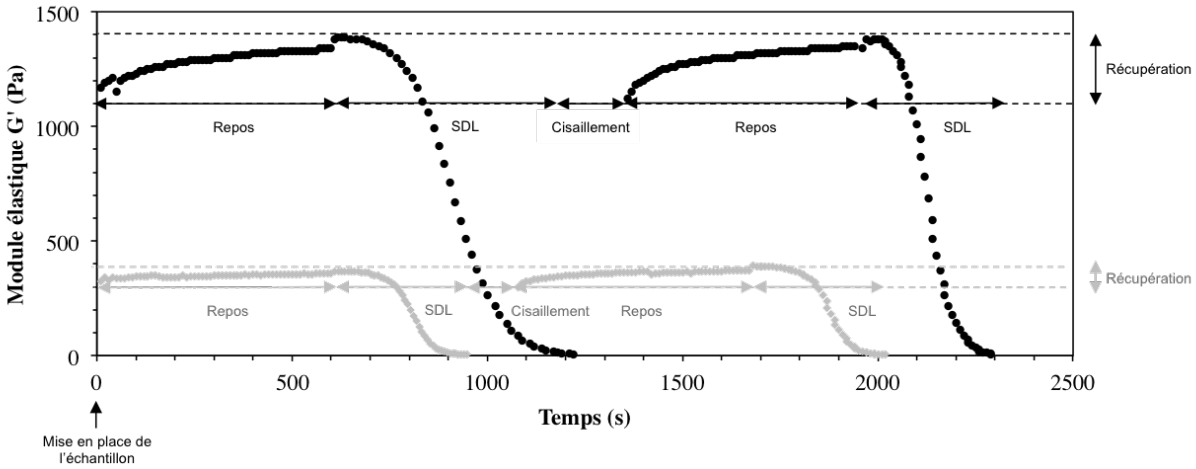


Figure 3.7 – Effet de la mise en place, du pré-cisaillement et du temps de repos sur les propriétés rhéologiques des purées de pomme. En noir et en gris sont représentés les résultats obtenus respectivement pour la purée native et la purée très broyée.

Immédiatement après sa mise en place, la purée présente une phase d'évolution de ses propriétés mécaniques. Dans le cas de la purée broyée, le plateau de G' semble atteint plus rapidement que dans le cas de la purée native. Cependant, le temps de repos de 10 min semble suffisant pour que les deux types de purées atteignent une valeur de G' quasi constante. Dans la littérature, les temps de repos utilisés sont rarement aussi longs,

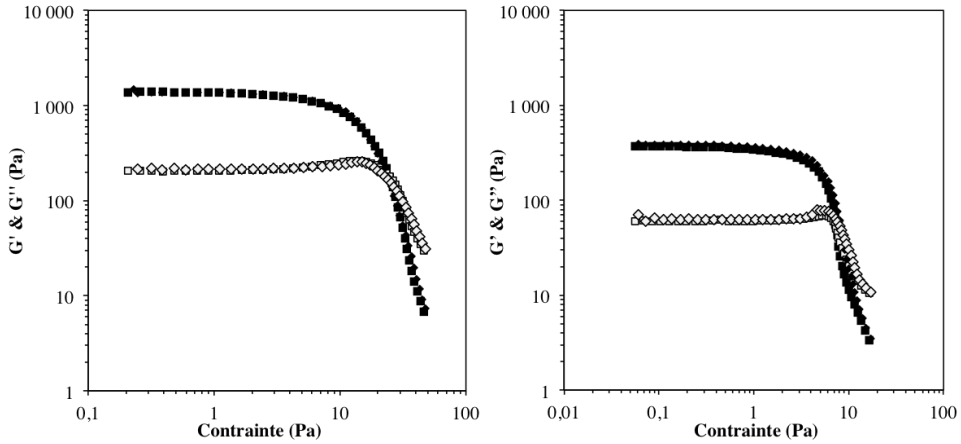


Figure 3.8 – Effet du cisaillement sur les propriétés en dynamique. G' ■ G" □ après 10 min de repos, G' ♦ G" ◊ après le pré-cisaillement et 10 min de repos. Gauche : Purée native. Droite : Purée broyée.

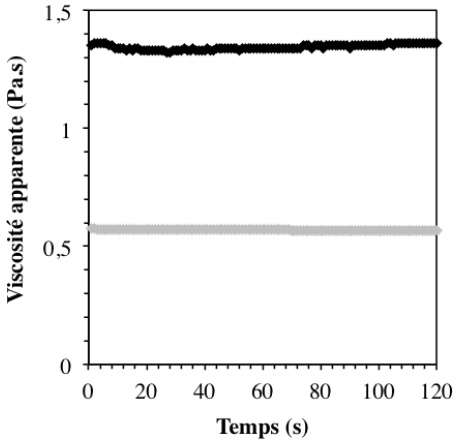


Figure 3.9 – Cisaillement constant (50 s^{-1}) d'une purée native (en noir) et d'une purée broyée (en gris) en fonction du temps

des temps de repos de 2 min (Moelants *et al.*, 2013b) ou 5 min (Lopez-Sanchez *et al.*, 2011a) étant souvent préférés.

Après le cisaillement, le module élastique a été mesurée à nouveau. Ici aussi, on remarque que le produit se restructure après le cisaillement. La valeur de G' atteinte après 10 min de repos est sensiblement la même que celle observée avant le cisaillement. Les résultats des balayages en déformation avant et après cisaillement sont représentés en Figure 3.8. Tout d'abord, on remarque que les propriétés viscoélastiques présentent un domaine de linéarité avec G' > G". On remarque également que les niveaux de modules et que les croisements de G' et G" sont les mêmes avant et après cisaillement, que ce soit pour la purée native ou la purée broyée. Le pré-cisaillement, suivi d'un temps de repos suffisamment long, semble donc ne pas perturber l'organisation du système, confirmant ainsi nos choix de géométrie.

Le temps de pré-cisaillement a été évalué de sorte que les purées atteignent une viscosité constante. La Figure 3.9 illustre l'effet du temps de cisaillement sur la viscosité apparente des purées native et broyée. On remarque que la purée broyée atteint instantanément une viscosité constante alors qu'une légère variation est

observée pendant la première minute de cisaillement pour la purée native.

Ces résultats mettent également en avant le fait que les purées de pomme possèdent un seuil d'écoulement (Figure 3.8) et sont peu sensibles au cisaillement. Il est donc possible d'effectuer plusieurs mesures consécutives sur un même échantillon.

3.6.3 La courbe d'écoulement

Comme nous venons de le voir, les purées de pomme présentent un seuil d'écoulement. Nous avons donc choisi de faire les courbes d'écoulement de sorte à ce que tout l'échantillon soit en écoulement dans l'entrefer quelle que soit la concentration en insolubles étudiée, c'est pourquoi les courbes d'écoulement commenceront à 10 s^{-1} (cf. Protocole 5.2.8). La purée native ayant besoin d'être cisaillée au moins 1 minute avant d'atteindre une valeur constante de viscosité, nous avons aussi choisi de réaliser nos courbes d'écoulement par palier de 1 minute, croissants en vitesse de cisaillement. Cependant, ce choix ne nous permettra pas de modéliser les propriétés rhéologiques de nos suspensions avec des modèles de type Herschell-Bulkley, mettant en avant l'apparition du seuil d'écoulement.

PROTOCOLE RETENU - ÉCOULEMENT
Pré-cisaillement de 2 min à 50s^{-1}. Repos 10min.
Aller-retour en taux de cisaillement de 10 à 250 s^{-1} à 20°C. Chaque taux de cisaillement a été appliqué 1min.
La viscosité apparente η_{app} est considérée à 50s^{-1}

3.6.4 Le seuil d'écoulement

La littérature met en avant de nombreuses méthodes permettant de d'évaluer le seuil d'écoulement des suspensions. Afin de choisir une méthode pertinente sur nos systèmes, nous avons choisi d'en tester trois différentes et de comparer leurs résultats. Les trois méthodes que nous avons testées sont illustrées sur la Figure 3.10. Deux méthodes sont issues des propriétés dynamiques (Figure 3.10, gauche), évaluées par un balayage en déformation (Protocole 5.2.8), et une méthode est issue d'un balayage en contrainte, correspondant à une mesure sous cisaillement à contrainte croissante (Figure 3.10, droite).

La sortie du domaine linéaire (Figure 3.10, gauche) est définie quand G' sort de la linéarité et déterminée par une diminution de sa valeur supérieure à 10% de sa valeur moyenne dans le domaine linéaire. Le seuil peut être défini comme la contrainte correspondante.

Le croisement de G' et G" (Figure 3.10, gauche) correspond à l'intersection des deux modules. Le seuil peut être défini comme la contrainte correspondante.

La mise en écoulement (Figure 3.10, droite) est marquée par le changement de pente lors de la représentation de la déformation en fonction de la contrainte. Le seuil d'écoulement peut être défini comme la contrainte correspondant au croisement des tangentes (en log-log) tracées pour les deux pentes.

Nous avons comparé les résultats obtenus pour les seuils d'écoulement déterminés avec ces trois méthodes de mesures sur des purées natives de concentration en pulpe variable. Les résultats de ces comparaisons sont représentés Figure 3.11. On remarque que les seuils déterminés par le croisement de G' et G", et ceux déterminés par les mesures sous cisaillement donnent des résultats proches, alors que les seuils déterminés par sortie du domaine linéaire sont plus faibles quelle que soit la concentration en pulpe considérée. Cette différence est due au fait que la sortie du domaine linéaire marque plutôt l'apparition des premiers signes de rupture au sein du produit. Pour déterminer le seuil d'écoulement, nous avons donc décidé d'utiliser soit le croisement de G' et G", soit le croisement des tangentes.

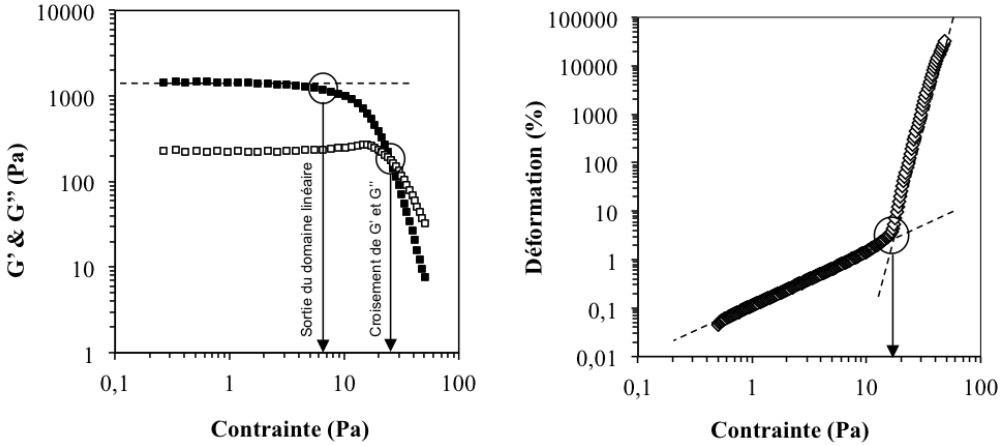


Figure 3.10 – Méthodes de détermination du seuil d'écoulement sur la purée native. Gauche : Balayage en déformation réalisé à 10 rad/s de 0,015 à 150 % de déformation. Droite : Balayage en contrainte réalisé à partir de 0,5 Pa jusqu'à dépassement de la contrainte seuil (rampe log en contrainte de 0,5 à 500Pa, mesure toutes les 3 secondes, 300 pts).

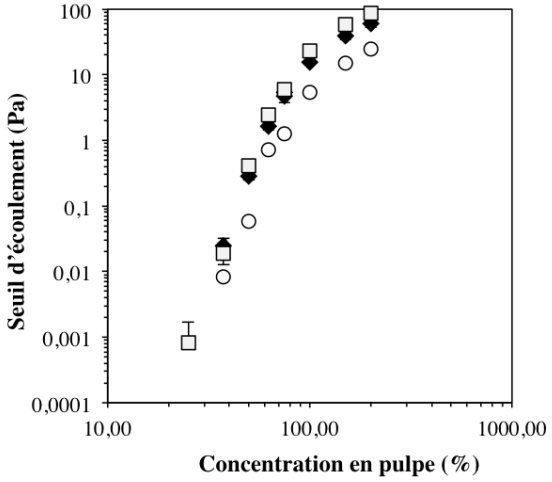


Figure 3.11 – Comparaison des méthodes de détermination du seuil d'écoulement pour différentes concentrations en pulpe. Les □ représentent les seuils déterminés par le croisement de G' et G", ○ représentent les seuils déterminés par la sortie du domaine linéaire et les ♦ représentent les seuils déterminés par les changements de pente issus des mesures sous cisaillement.

Pour réaliser les mesures sous cisaillement, le produit est soumis à une contrainte croissante jusqu'à ce qu'il s'écoule. Or, la durée pendant laquelle le produit est soumis à une contrainte va impacter la valeur de son seuil d'écoulement. La mise au point d'un protocole permettant de déterminer le seuil de suspensions de concentrations variables dans un même état de repos est donc difficile par cette méthode.

Finalement, nous avons choisi d'utiliser le croisement de G' et G" comme valeur du seuil d'écoulement, à partir d'un protocole de balayage en déformation. En définissant un protocole de sortie de domaine linéaire en déformation plutôt qu'en contrainte, on assure une même histoire et des temps de mesure comparables pour

tous nos produits.

PROTOCOLE RETENU - BALAYAGE EN DÉFORMATION
Pré-cisaillement de 2 min à $50s^{-1}$. Repos 10min.
Balayage en déformation de 0,015 % à 150 % à 10 rad/s à 20°C. 11 points par décade.
G', G" et le seuil d'écoulement sont issus de cette mesure

PROTOCOLE RETENU - BALAYAGE EN FRÉQUENCE
Pré-cisaillement de 2 min à $50s^{-1}$. Repos 10min.
Balayage en fréquence de 0,1 % à 100 rad/s à 1% de déformation à 20°C. 11 points par décade.

3.6.5 Les temps de mesure pour les purées diluées

Pour les suspensions très diluées, nous avons fait le choix de ne pas imposer de pré-cisaillement et de temps de repos, permettant ainsi d'éviter de mesurer un produit ayant subi la sédimentation. Nous avons également souhaité vérifier que les particules ne sédimentent pas au cours de la mesure. Sur les purées les plus diluées envisagées, nous avons donc observé l'effet de 10 min de mesure.

La Figure 3.12 représente l'évolution de la viscosité apparente pendant 10 minutes de mesure, pour une purée native et une purée broyée très diluées dans leur propre sérum (5% de pulpe - valeur la plus faible utilisée dans le Chapitre 5). On observe que, quelle que soit la taille des particules, la viscosité des suspensions diluées est constante dans le temps. Aucune sédimentation n'est donc à déplorer durant le temps de mesure.

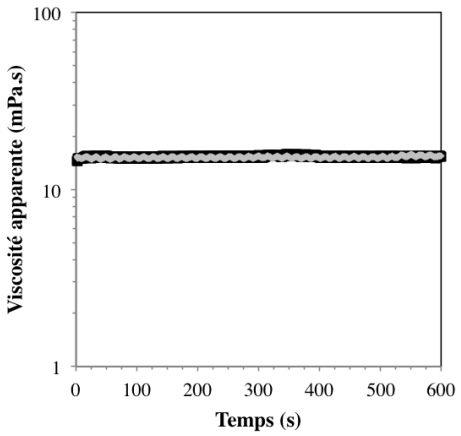


Figure 3.12 – Effet du temps de mesure sur la viscosité apparente d'une purée native (en noir) ou broyée (en gris).

Nous avons également souhaité nous assurer que nos mesures étaient fiables pour les suspensions modèles dans une phase continue de faible viscosité. Nous avons donc effectué le même test, mais sur des suspensions modèles de cellules individuelles ou d'amas de cellules (Protocole d'obtention des cellules décrit en 6.2.2) suspendues dans une solution de NaCl 0,1%. Pour les suspensions modèles mises en œuvre dans des milieux de

faible viscosité, une sédimentation rapide est observée, à la fois pour les cellules individuelles et les amas de cellules, ne permettant pas d'effectuer les mesures rhéologiques en milieu dilué.

PROTOCOLE RETENU - ÉCOULEMENT DES PURÉES DILUÉES
Pas de pré-cisaillement.
Balayage en taux de cisaillement de 0,1 à 100 s−1 à 20°C. Durée totale du test : 10min.

3.7 Caractérisation rhéologique de la purée de pommes native

Sur la base des protocoles ainsi établis, nous pouvons donc décrire les résultats observés en terme de propriétés rhéologiques de la purée de pommes native, base de ce travail. Les résultats de cette caractérisation sont représentés Figure 3.13.

Le spectre en fréquence de la purée de pommes native met en évidence l'existence d'un réseau structuré entre les particules (G' > G"), comportement typique des *soft glassy materials*. Les modules élastiques et visqueux sont peu dépendants de la fréquence angulaire d'acquisition et sont quasi constants sur une large gamme de fréquences.

Le balayage en déformation met en avant l'existence d'un domaine viscoélastique linéaire et d'un seuil d'écoulement d'environ 23 Pa pour une déformation de l'ordre de à 10% (Figure 3.10 et Figure 3.11).

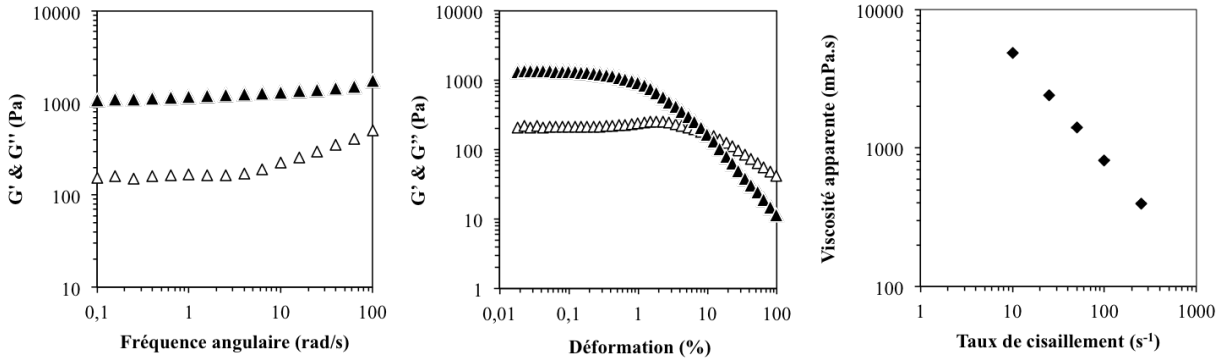


Figure 3.13 – Caractérisation rhéologique de la purée de pommes native (G' ▲, G" △)

Comme nous le verrons dans le Chapitre 5, le broyage de la purée native va entrainer une diminution de l'encombrement apparent (Espinosa, 2012), entrainant des propriétés viscoélastiques plus faibles. Néanmoins, les purées broyées forment toujours un réseau structuré de particules, comme cela a été montré par Espinosa-Muñoz *et al.* (2013).

Sous cisaillement, la purée de pommes native présente un comportement rhéofluidifiant marqué. Ce comportement est très certainement le résultat de réarrangements au sein de la suspension cisaillée et de désagrégation d'unité structurelle formée au repos.

À RETENIR

La purée de pommes native présente une distribution granulométrique bimodale et est composée de cellules individuelles et d'amas de cellules. Les amas de cellules présentent des tailles variées et des architectures plus complexes que celles des cellules individuelles.

La quantité de parois dans la purée native est très faible, de l'ordre de 1g pour 100g, mais suffit à structurer le milieu, conférant à la purée de pommes native des propriétés de gel faible : le module élastique (G') de la purée de pommes native est supérieur au module visqueux (G") dans le domaine linéaire, et elle présente un seuil d'écoulement.

En écoulement, les purées de pommes présentent un comportement rhéofludifiant. Elles se restructurent après cisaillement et retrouvent rapidement leur propriétés initiales. Elles retrouvent également leurs propriétés après centrifugation et remélange. Cette caractéristique offre la possibilité de construire et déconstruire à façon les systèmes à étudier.

En domaine dilué, les mesures dans les phases continues de faible viscosité ne pourront être réalisées en raison de la sédimentation rapide des particules.

Les analyses chimiques des parois mettent en avant des compositions identiques pour les parois provenant de cellules individuelles et d'amas de cellules. Ce résultat corrobore ainsi l'hypothèse formulée dans la Partie Objectifs et stratégie, arguant que la rigidité intrinsèque des parois végétales est identique pour toutes les suspensions étudiées dans ce travail.

Chapitre 4

Déformabilité et tassement des particules

Comme nous l'avons vu dans le Chapitre 2, les particules végétales sont décrites comme des particules molles, déformables et compressibles, susceptibles de se comprimer sous contrainte ou lorsque la fraction volumique augmente.

Dans ce Chapitre, nous avons souhaité mettre en avant cette caractéristique spécifique des particules végétales et ainsi illustrer leur capacité à se tasser lorsque la concentration en particules augmente.

Cependant, les purées de fruits et de légumes sont des suspensions concentrées. Les particules encombrent le milieu et sont en contact les unes avec les autres, ce qui rend difficile l'observation microscopique.

Pour ce faire, un protocole de marquage spécifique des parois a été mis au point. Ce nouveau protocole permet de visualiser sélectivement quelques cellules d'une suspension. Quatre suspensions modèles de concentration différentes ont été observées par microscopie confocale : deux suspensions correspondant à des purées diluées, une suspension présentant la même concentration qu'une purée native et une suspension correspondant à une purée concentrée.

Dans cet article, nous avons souhaité répondre aux questions de recherche suivantes :
— Peut-on observer sélectivement les particules en milieu encombré ?
— Peut-on accéder aux volumes des particules ou approcher la fraction volumique occupée par les particules ?
— Peut-on mettre en évidence une diminution de volume des particules en milieu encombré ?

Déformation de cellules végétales molles estimée par imagerie 3D

Cassandre Leverrier, Gérard Cuvelier, Gabrielle Moulin, Giana Almeida

UMR Ingénérie Procédés Aliments, AgroParisTech, Inra, Université Paris-Saclay, 91300 Massy, France

Résumé

Les purées de fruits et légumes sont des suspensions concentrées de particules végétales. Pour faire le lien entre le procédé et la texture, il est nécessaire de comprendre leur comportement rhéologique, qui est étroitement lié à la fraction volumique de cellules végétales en suspension. Cependant, la fraction volumique des particules végétales n'est pas encore clairement définie. D'un point de vue physique, les cellules végétales peuvent être considérées comme des particules molles, déformables et compressibles, susceptibles de diminuer leur volume sous contrainte ou lorsque la concentration augmente, ce qui rend leur fraction volumique difficile à déterminer. Cependant, la capacité des cellules à se comprimer n'a jamais été observée directement. En combinant microscopie confocale et reconstruction 3D, nous avons développé un protocole pour déterminer le volume de cellules dans des suspensions concentrées de particules végétales. Quatre suspensions de particules végétales de concentrations variables ont été analysées en utilisant ce protocole. Ce travail montre que le volume des cellules diminue uniquement dans les suspensions fortement concentrées. Par observation directe au sein de l'échantillon, nous apportons ainsi la preuve de la capacité des particules végétales à se comprimer et à diminuer leur volume lorsque la concentration augmente.

Conclusions principales

- Une méthodologie d'observation de cellules de pomme en suspensions concentrées a été développée
- En combinant microscopie confocale et analyse d'images, des cellules de pomme individuelles ont pu être observées en suspensions très concentrées
- L'observation de la morphologie des cellules a été réalisée dans plusieurs suspensions de concentration en insolubles variable
- Le volume des cellules de pomme en suspension diminue à concentration élevée
- L'accès à la fraction volumique des cellules de pomme en suspensions est proposée

Cet article à soumettre au Journal *Food Structure*

Deformation of soft plant cells assessed by 3D images

Cassandre Leverrier, Gérard Cuvelier, Gabrielle Moulin, Giana Almeida
UMR Ingénérie Procédés Aliments, AgroParisTech, Inra, Université Paris-Saclay, 91300 Massy, France

Abstract

Purees of fruit and vegetables are concentrated suspensions of plant particles. To make the link between process and texture, it is necessary to understand their rheological behaviour which is related to the plant cell volume fraction. However, plant particle's volume fraction is not clearly defined yet. From a physical point of view, plant cells can be considered as soft, deformable and compressible particles, which are susceptible to decrease their volume under stress or when the concentration increases, making the volume fraction difficult to determine. To our knowledge, the ability of cells to compress themselves has never been shown directly from processed fruit or vegetable. Using confocal microscopy and 3D reconstruction, we developed a protocol to determine the volume of cells in concentrated suspensions. Four suspensions varying in cell wall content were analysed. Cells' volume only decreases in highly concentrated suspensions. We demonstrate by direct observation the ability of plant particles to compress and decrease their volume when the concentration of the suspension increases.

Highlights

- A methodology of observation in concentrated suspensions of apple cells was developed
- Individual apple cells were successfully observed in highly concentrated suspensions using confocal microscopy and image analysis
- Observation of cell morphology was achieved in several suspensions varying in insoluble solids content
- Volume of apple cells in suspension decreases at high concentration
- Access to the volume fraction of apple cells in suspensions is proposed

4.1 Introduction

Texture is a major attribute of the food quality (Szczesniak & Kahn, 1971) and is defined as a sensory multi-parameter property which derives from the food's structure (Szczesniak, 2002).

On apple fruit, texture is the consumer's primary preference (McAtee *et al.*, 2009), consumer's liking of apple texture being closely linked to fruits' crispiness and juiciness (Allan-Wojtas *et al.*, 2003). Cell number and size have been shown to be critical parameters for textural differences in apples : cell number is important in predicting crispiness and mealiness of the fruit while cell size has been linked to the juiciness (larger cells leading to juicier fruits) (McAtee *et al.*, 2009; Allan-Wojtas *et al.*, 2003; Mann *et al.*, 2005). Regarding apple processed products, Espinosa-Muñoz *et al.* (2012) were able to link instrumental and sensory properties. They showed that textural properties of apple purees can be dissociated in two principal sensory dimensions : "consistency" and "graininess". These sensory properties were shown to be related respectively to their "pulp content" and "particle size". As in raw apple, cell number and size seem to be key parameters for the processed fruits' texture.

Texture of fruit and vegetable purees are closely linked to their rheology (Espinosa *et al.*, 2011; Moritaka *et al.*, 2012; Appelqvist *et al.*, 2015). It is now well known that rheology of fruit and vegetable purees is driven by the amount of cell walls and the morphology of the particles. The quantity of cell walls and the volume they are occupying in the continuous phase are responsible of the product's rheology. Insoluble solids content and cell morphology are thus key parameters to master the texture of the puree (Day *et al.*, 2010b; Hemar *et al.*, 2011; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013; Moelants *et al.*, 2014b). However, modelling rheological properties of purees to predict their texture remains difficult, because access to the volume fraction of particles is not yet concluded (Day *et al.*, 2010b; Lopez-Sanchez *et al.*, 2012). It is not easy to determine the volume fraction of the cells in

such processed products because, once cooked, cells are widely deformable and able to compress under stress (Lopez-Sanchez & Farr, 2011). Many questions thus remain unanswered : at what concentration do cells become compacted ? How do they compact ? Is it possible to estimate the volume of cells in suspension ? How to access the anisotropy of the deformation ? There is a growing interest in better determining structural parameters of such suspensions in order to predict the texture of the products.

Microscopy is widely used to observe fruit and vegetable cells, either raw or cooked, and can be used to determine cells' morphology. In 2009, McAtee *et al.* (2009) provided a quick method to determine the size and shape of raw apple cells. Their method uses enzymatic treatment coupled with heat treatment to separate the cells from the raw tissue. This double treatment is able to weaken the middle lamella, affecting as little as possible the size and shape of the cells, while increasing the rate of degradation of the middle lamella and therefore the separation of the cells. Using an image analysis software (ImageJ) and optical microscopy, they were able to highlight 5 different size distributions of cells for 5 varieties of apples. However, the method they proposed only gives 2D-information, and thus no information on cell volume.

Confocal microscopy gives the advantage to visualize tissues in 3D and allows to observe within the sample without being a destructive method. In 1999, Gray *et al.* (1999) have reconstructed grape berry parenchyma cells in 3D thanks to confocal microscopy. To access these images, they stained the cell walls using safranin O. 3D-reconstruction allows to consider the cells as geometric solids and thus to measure the area and the volume of cells. This work shows that cells are irregular in shape. Cell volume was observed to be between $40.10^3 \mu m^3$ and $400.10^3 \mu m^3$ and cell shape variability was highlighted by the S/V ratio of from 0.08 to 0.198 μm^{-1}. But these results were achieved on raw parenchyma : cells thus remain attached all together by the middle lamella and have preserved their turgor. In fruit purees, cells have lost their turgor pressure and are more or less detached. It then becomes more difficult to observe directly stained samples by confocal microscopy, especially in purees of high cell walls content. It is therefore necessary to establish a method to observe plant cells in suspension in concentrated domains.

Since confocal microscopy provides some insight into the overall microstructure of food systems (Lopez-Sanchez *et al.*, 2011a), literature also highlights the use of labelling and confocal microscopy to help understanding the relationship between structure and properties of complex food matrices. Thereby, combining gluten labelling and confocal microscopy under mechanical treatment, Boitte *et al.* (2013) were able to study the evolution of the gluten network's microstructure along time of deformation on wheat flour doughs. Another example combining specific staining and confocal microscopy is the study of Huc *et al.* (2013) which showed that the organisation of the fat and protein network has an impact on the mechanical properties and on the eye growth of Swiss-type cheeses.

In this work, we describe a new methodology to access the volume of cooked parenchyma cells in concentrated media and to provide answers on the way apple cells are compressing when particle's concentration increases.

4.2 Material and methods

4.2.1 Plant material and processing conditions

Results presented in this work were obtained on apple purees only composed of mature Golden Delicious apples (*Malus domestica* Borkh. cv Golden Delicious). Apples were transformed into puree by a french manufacturer (Conserves France) following an industrial hot break process.

4.2.2 Red Congo staining

Apple cell walls were stained using 1% w/w Congo Red aqueous solution (Sigma Aldrich).

4.2.3 Optical Microscopy

Light microscopy was used to observe the overall structure of the samples in suspension. Two μL of each samples were placed onto a glass slide and covered with a cover slip. Samples were observed with a 2X or a 10X objective lens using an Olympus BX51 microscope in phase contrast.

4.2.4 Environmental Scanning Electron Microscopy

Environmental Scanning Electron Microscopy (ESEM, FEI Quanta 200) was used to measure the thickness of apple cell walls. Samples were observed under the following conditions : secondary electrons detector, ESEM mode (GBSED - Gaseous BSE detector), pressure of 665 Pa, voltage of 5kV and a spot size of 4. A temperature of 2°C was set to prevent solvent evaporation using a Peltier stage. Five measurements of the cell wall thickness were performed on five different pictures.

4.2.5 Confocal Microscopy

Confocal microscopy was performed on an inverted microscope Leica TCS SP8. Samples were placed onto a glass cover slip using a spacer. A spacer of 5 mm wide (500 μL) was specially designed with a 3D-printer and was not entirely filled with the sample to avoid an extra compression of the cells and to keep their original arrangement in space. The spacer was covered with another cover slip to prevent solvent evaporation during image acquisitions. Samples were observed with a 40X water objective (NA = 0.8). Fluorescence of Congo Red was detected using an Argon laser. The wavelength of absorption was set at 488 nm and emissions were acquired between 498 to 650 nm. Image size was set at 512×512 pixels^2 which corresponds to $291 \times 291 \mu m^2$. Images were acquired every 0.802 μm in z-direction.

Images of fluorescent microspheres have been acquired under the same conditions and were used to check the accuracy of volume and surface measurements in image analysis.

4.2.6 Image analysis

Image pre-treatment and analysis were performed using Scan IP^{TM} version 7.0 Built 2656 software (©2000-2014 Simpleware Ltd.).

4.2.7 Statistical analysis

Statistical analysis were carried out using XLStat version MacOS X 2016 (COPYRIGHT ©2016 Addinsoft SARL, Paris, FRANCE). The results were expressed as mean $\pm$ standard deviations. Comparison of means were performed using Newman-Keuls test at $P < 0.05$.

4.2.8 Rheological measurements

The rheological measurements on model suspensions were performed using a stress controlled rheometer (MCR301, Anton Paar) equipped with large gap coaxial cylinders (CC18.92, inner radius : 9.46mm ; outer radius : 14.46mm ;gap :5.00mm,gap length : 40.00mm), following the protocol described in Leverrier *et al.* (2016). Apparent viscosity was taken at 50 s^{-1}.

4.3 Description of the experimental strategy

4.3.1 Model suspensions preparation

Cell observation in concentrated suspensions was achieved on model suspensions only composed of individual parenchyma cells. A separation protocol was thus set up to isolate individual cells. Processing conditions are summarized in Figure 4.1.

First, the particle size distribution of the original puree was modified by mechanical treatment (10000 rpm for 3 min) using a Grindomix GM200 (Retsch GmbH, Germany). To remove soluble compounds and cell fragments, a wet sieving step was performed on diluted ground puree (1 part of demineralized water to 1 part of ground puree). Five different mesh sieves were used (80, 125, 180, 250 and 355 μm). During the wet sieving, apple puree was rinsed by demineralized water until the °Brix reached zero (± 0.2). Individual cells were then obtained by mixing the sieve fractions from the mesh sieves 80 and 125 μm.

One part of the selected sieve fraction was stained using Congo Red. Congo Red is a sulfonated azo dye and according to the article of Mazeau & Wyszomirski (2012), its adsorption process on cellulose at room temperature in aqueous environment is mainly due to hydrophobic interactions involving the aromatic ring of the Congo Red molecules. Nine microliters of a 1% w/w Congo Red aqueous solution were used to stain 20 grams of sieve fraction of about 1.4 g/100mL of insoluble solids. Stained sieve fraction was left under gentle stirring overnight prior to be dried.

Stained and unstained sieved fractions were separately dried by solvent exchange following the cold alcohol insoluble solids (AISc) procedure described in the work of Renard (2005) : three washes in ethanol 70%, followed by three washes in ethanol 96% and three washes in pure acetone were done on a filtration column. This protocol is known to maintain an intact cell structure (Müller & Kunzek, 1998) and permitted to obtain a dried powder composed of individual cells, either stained or unstained, as it can be seen on Figure 4.1.

Dried apple particles were then suspended in a sodium chloride solution (0.1% w/w) of the same conductivity of native apple serum. A stock dispersion of 3.48 g/100mL was prepared and 10% of the total amount of cells walls was picked from the stained cells. The stock dispersion was left at room temperature during 3h to ensure full hydration of apple cell particles. Diluted suspensions were then realised from the stock dispersion.

Four concentrations in cell walls (*ie.* insoluble solids content) were chosen for microscopic observations according to rheological results as it is shown on Figure 4.2. Those rheological results were taken from Leverrier *et al.* (2017a) and corresponds to model suspensions of individual cells in native apple serum. Three concentration domains were highlighted and are materialized by **I**, **II** and **III**. This three domains corresponds to diluted, intermediate and concentrated domains and reflect the organisation of the cells in the medium. In the diluted domain, cells are supposed to be free, at their equilibrium volume. In the intermediate domain, cells occupy more space in the medium and begin to interact to build a network. In the concentrated domain, cells are occupying all the volume and are thus forced to compress and pack themselves to adapt to the available space : in this domain, their volume is supposed to decrease. The four concentrations we studied in the present work are covering the intermediate and the concentrated domain. No concentration was chosen in the diluted domain to avoid sedimentation during the confocal acquisition of the images. The concentration 1.16 g/mL was chosen because it corresponds to the concentration of the native apple puree, 0.47 g/100mL and 0.725 g/100mL are thus more diluted and 3.48 g/100mL is highly concentrated.

Before measurements, all dispersions were centrifuged ($5000 \times g$, 5 min, 20°C, 10mL) to avoid the presence of air bubbles in the samples and then gently stirred.

4.3.2 Cell wall's hydration

Cell wall's hydration was analysed at 20°C using a centrifugation method. 30g of the 1.16 g/100mL suspension were centrifuged at $10000 \times g$ during 2h. After 2h of high speed centrifugation, we assume that all insoluble solids are stuck in the bottom of the centrifugal tube, in the pellet. Cell wall's hydration (CWH) was then

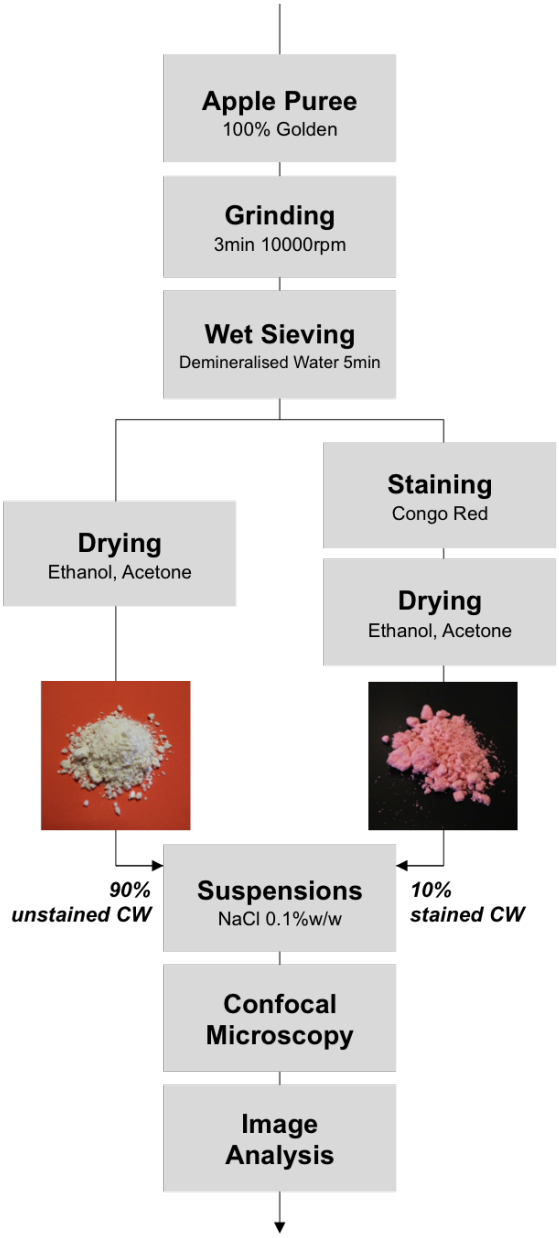


Figure 4.1 – Experimental design set up to observe individual cells in crowdy media

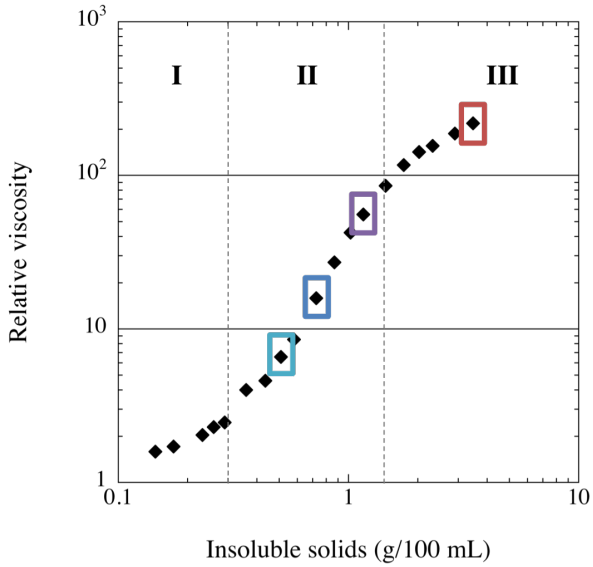


Figure 4.2 – Relative viscosity as a function of insoluble solids content of individual cells in apple serum taken from Leverrier *et al.* (2016) and squares show the chosen concentrations for this work. I, II, III respectively highlights the diluted, intermediate and concentrated domains.

estimated as the ratio between the amount of pellet in percent on the insoluble solids content of the suspension.

$$CWH = \frac{\%pellet}{IS} \tag{4.1}$$

4.3.3 Image analysis

Image pre-treatment

Cells were reconstructed from z-series acquired by confocal microscopy to form 3D images. To eliminate noise, a median filter was applied on the background of the images with a neighbourhood radius of 1 pixel^3 ($1 \times 1 \times 1$ pixel^3). Then, a threshold was applied to select pixels of interest, allowing to perform the 3D reconstruction.

Congo Red distribution in the wall is not homogeneous over the entire cell wall leading to less stained zones of the wall. After the applied threshold, less stained zones can appear like holes on the wall. To obtain the volume of the cell, it was necessary to close these holes in the wall using a structuring element of $2 \times 2 \times 2$ pixels^3. The cell was then entirely filled using the flood fill option. Noise and parasite elements were removed from the mask of interest. Smooth surfaces were then obtained using a recursive Gaussian of $2 \times 2 \times 2$ pixels^3. Figure 4.3 illustrates the steps of the image pre-treatment.

Cell measurements : volume, surface and characteristic lengths

Scan IP^{TM} software is able to create a model from pixel images to decrease the error on volume and especially on surface calculations. To do so, the software softens the stained area to have smooth surfaces removing the pixel corners. An example of the model is shown on Figure 4.4 A, one can observe pixels at the periphery of the stained cell wall.

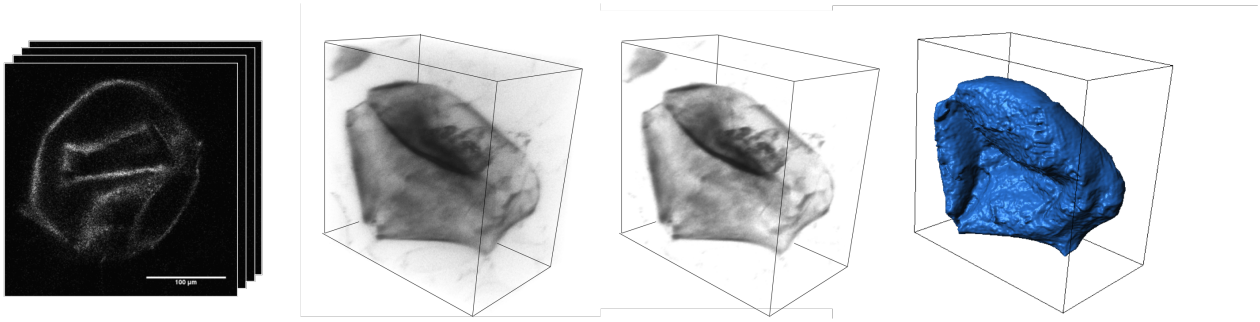


Figure 4.3 – Steps of the image pre-treatment. From left to right : z-series confocal images - 3D reconstruction of confocal images - 3D reconstruction after median filter - Final 3D reconstruction. Boxes around 3D reconstructions correspond to the explored volume in confocal microscopy acquisitions.

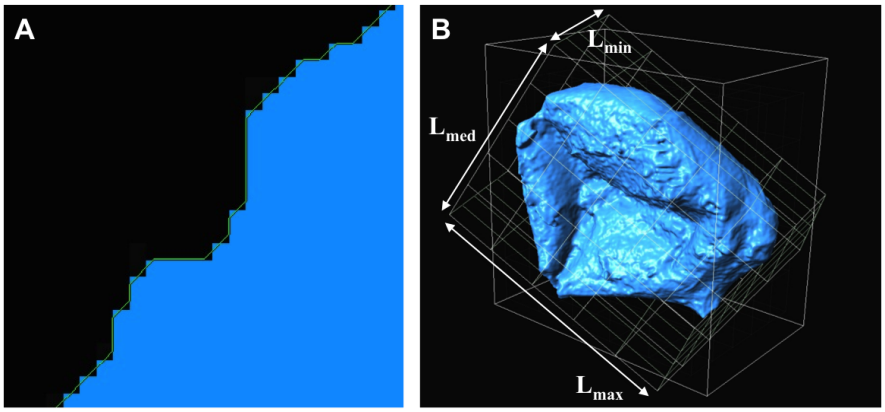


Figure 4.4 – Image analysis details. **A** : Model used for volume and surface calculations. The blue area corresponds to the stained plant cell wall and the black area correspond to the unstained area of the images. The thin green line represents the model from which were made calculations of volume and surface of parenchyma cells. **B** : Characteristic lengths used to described the cells were taken from the smallest cuboid containing the cell.

Volume and surface calculations were thus possibly done on pixel values or on model values. We chose to use the model calculation both for volume and surface calculations. To estimate cell dimensions, the smallest cuboids containing the cells were drawn, allowing to access to the characteristic lengths of these cuboids (Figure 4.4 B).

4.4 Results and discussion

4.4.1 First observations

Optical microscopy and 3D reconstructions from confocal images of apple cells were performed on four suspensions varying in insoluble solids content, as described in Figure 4.2. Resulting optical microscopy images and 3D reconstructions from confocal acquisitions are both shown on Figure 4.5.

Optical microscopy images demonstrate the increasing congestion in the medium with the increase of the insoluble solids content. If individual apple cells can be observed in the 0.47 g/100mL and 0.725 g/100mL suspensions, clear observation of cells is not possible using only optical microscopy in more concentrated ones.

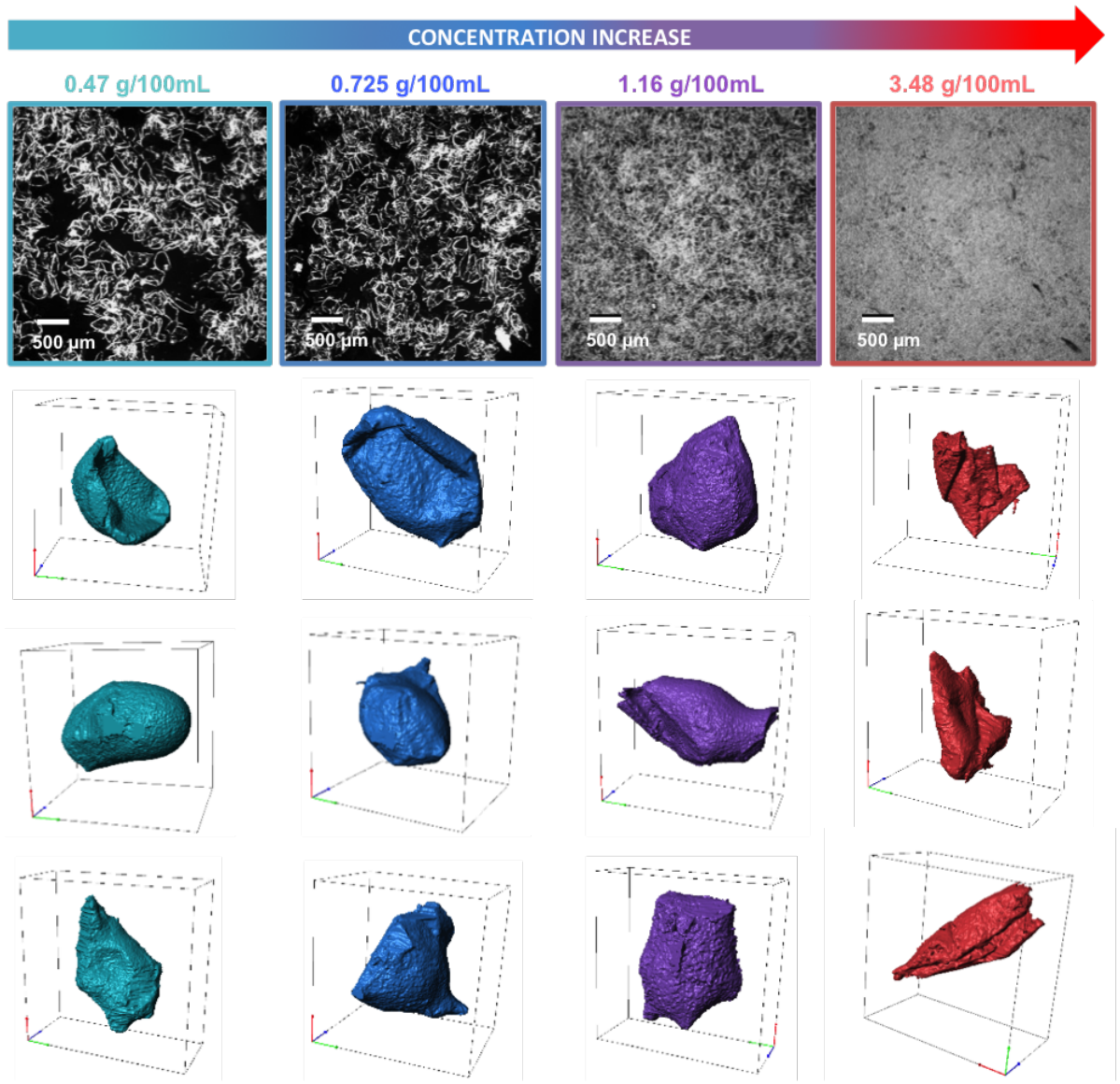


Figure 4.5 – Optical microscopy and selection of representative 3D reconstructions of apple cells in four suspensions varying in insoluble solids content. Colors used to materialize the different concentrations refer to those used in Figure 4.2. All 3D reconstructions are represented with x and y axis at the front face, and z axis in the depth. XY surface area is of 512×512 pixels^2, which corresponds to 290×290 μm^2

Observation of cells was made possible using confocal microscopy on model suspensions containing stained cells as it can be seen on the bottom part of the Figure 4.5. Individual cells are visible in all concentrations of interest. Looking at the shape of the cells, one can observe that cells are irregular in shape and are not fully inflated due to the loss of turgor of the cells during processing. Cells from 0.47, 0.725 and 1.16 g/100mL suspensions exhibit a polyhedral shape in a more or less swollen state. It can also be notice that, contrary to those observed in less concentrated suspensions, particles observed at 3.48 g/100mL are flattened and some of them seem to be bent on themselves, exhibiting folds crossing through the cells from side to side.

This flattened and folded state seems to be characteristic of the cells in the 3.48 g/100mL suspension, and

was not observed in less concentrated suspensions. We can also observe that the flattening of the 3.48 g/100mL cells is anisotropic and is not only made along the z axis. This allows us to assume that the crushing of the cells is neither due to an isotropic compression of the system with the top cover glass nor to gravity, but is due to a high congestion of the system by the particles themselves.

4.4.2 Morphology measurements using image analysis

For each suspension, all the analysed cells were characterized in terms of volume, surface and characteristic lengths of the smallest cuboid containing the cell. The results of these characterizations are described in Table 4.1 and on Figure 4.6.

Table 4.1 – Impact of insoluble solids content on the volume and the shape of the cells. Mean values in the same column with different letters are significantly different according to Newman-Keuls comparison test at $p < 0.05$.

Insoluble solids content $g/100mL$	Number of analysed cells	Volume $10^3\mu m^3$	Surface $10^3\mu m^2$	Ratio $\frac{V}{S}$ μm	L_{max} μm	L_{med} μm	L_{min} μm
0.47	5	2013 ± 790 *a*	130 ± 29 *a*	16 ± 6 *a*	300 ± 66 *a*	162 ± 16 *a*	116 ± 25 *a*
0.725	8	1846 ± 674 *a*	134 ± 38 *a*	14 ± 3 *a*	253 ± 46 *a*	204 ± 32 *a*	116 ± 23 *a*
1.16	5	2319 ± 907 *a*	140 ± 37 *a*	16 ± 3 *a*	280 ± 92 *a*	167 ± 19 *a*	135 ± 16 *a*
3.48	5	650 ± 217 *b*	87 ± 24 *a*	7 ± 2 *b*	214 ± 51 *a*	142 ± 21 *a*	101 ± 26 *a*

Apple cells are known to be polyhedral cells of about 300 microns maximum and the size of the cells varies according to the position of the cell in the fruit (Khan & Vincent, 1990). The characteristic lengths' measurements confirm these observations also for apples cells in suspension having undergone heat treatment : we can observe that the major length of the cells in suspension (L_{max}) is of about 200-300 microns. No significant difference can be observed on the three characteristic lengths between the cells of the four suspensions (Table 4.1). The smallest lengths are always observed for 3.48g/100mL suspension. We would have expected to see a significant lower value of L_{min} for the 3.48g/100mL. This result is certainly due to the fact that measured characteristic lengths correspond to those of the smallest box that can hold the cell. Thus, for bent or twisted cells, as those we can be observed in the sample 3.48 g/100mL, the characteristic lengths can be overestimated. However, images' observation (Figures 4.5) allows to note that cell compression is anisotropic, cells not being crushed preferentially in one direction.

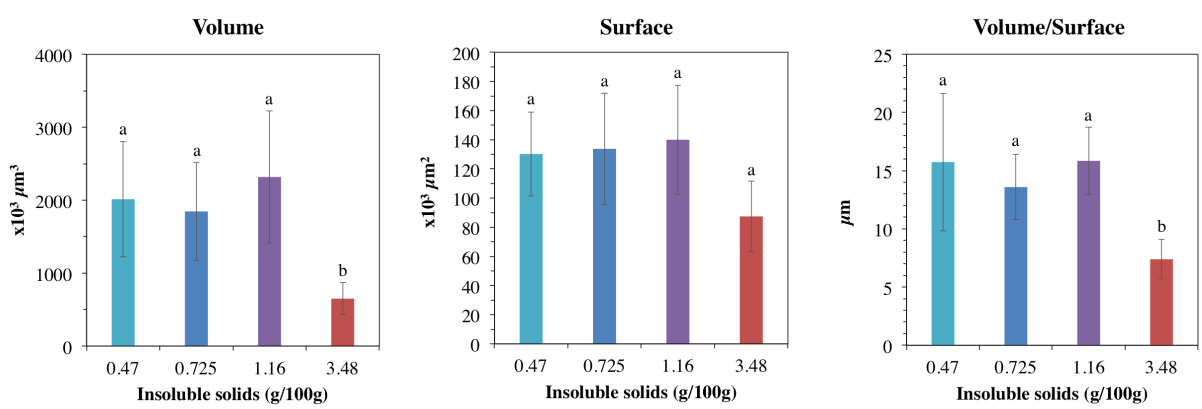


Figure 4.6 – Volume, Surface and Volume/Surface ratio of the cells observed in the four selected suspensions. Different letters means significantly different results according to Newman-Keuls comparison test at $p < 0.05$. Colors used to materialize the different concentrations refer to those used in Figure 4.2.

No significant difference was observed on the cell surface, whatever the concentration of the suspensions. Therefore, all analysed cells have a surface area between $87.10^3 \mu m^2$ and $140.10^3 \mu m^2$. This result is very interesting because it confirms that all analysed particles are of comparable size. Whether no significant difference can be observe between all the analysed cells, a small decrease is however observed for the surface of the cells of the 3.48 g/100mL suspension (Firgure 4.6). This decrease in particle surface was not expected since all the cells were extracted from the same sample. We assign this non-significant decrease to the protocol we used to measure the volume and the surface of cell. Indeed, the interior of the cell was completely filled in order to access to particle volume. However, on particles exhibiting folds, the surface area inside the folds melt into the particle volume and thus disappear of the calculation of the surface : surface calculation we used only takes into account the exterior surface area.

In the intermediate domain, cell volume is slightly impacted by the increase of insoluble solids content and was estimated to be around $2000.10^3 \mu m^3$: no significant difference has been shown on cell volume of 0.47, 0.725 and 1.16 g/100mL suspensions. However, cell volume of 3.48 g/100mL is significantly lower than cell volume in the intermediate domain : the volume of particles decreases of about 3 times compared to the one observed in intermediate regime.

The ratio $\frac{V}{S}$ allows to overcome the effect of cells' size variability. Despite an underestimated surface measurement for 3.48 g/100mL suspension, the $\frac{V}{S}$ ratio remains significantly lower for 3.48 g/100mL suspension when compared to the suspensions observed in the intermediate regime, thus confirming the hypothesis of particle compressibility.

Five to eight cells for each chosen concentrations were analysed by the protocol we proposed. However, differences observed between the cells in the concentrated domain and the intermediate domain are significant.

4.4.3 Quantitative approach of volume fraction

The method we proposed can therefore efficiently discriminate concentration regimes of the suspensions from the observed cell's volume. From these results, we tried to evaluate the effective volume fraction of cells in suspension.

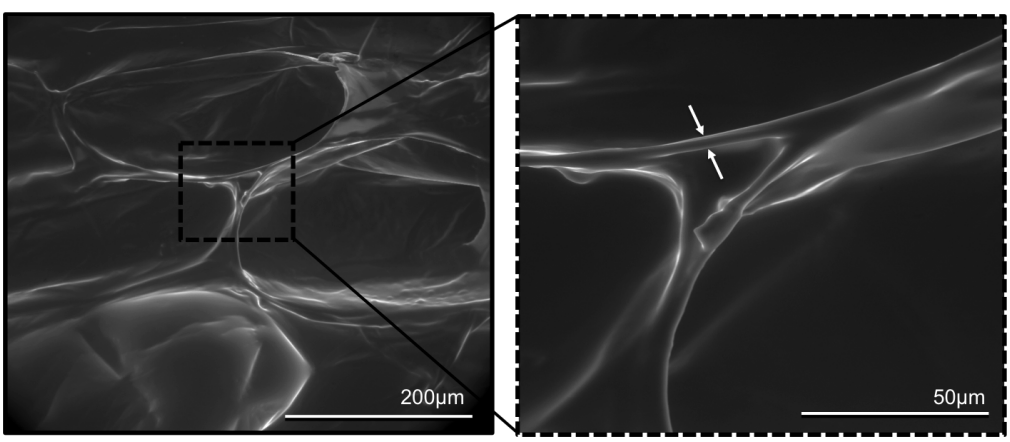


Figure 4.7 – Environmental Scanning Electron Microscopy (ESEM) of apple fruit (665 Pa, 2° C). Estimation of cell wall thickness. Five measurements were performed on five different pictures.

The image analysis allowed us to access volume (V_{C_h}) and surface (S_{C_h}) of suspended apple parenchyma cells. Thus, knowing the thickness of the hydrated cell wall (e_{CW_h}), it is possible to calculate its volume (V_{CW_h}). The thickness of the cell wall was estimated at 2 μm (Figure 4.7), which is in accordance with literature descriptions (Mebatsion *et al.*, 2009; Gibson, 2012). The volume of one single hydrated cell wall can therefore be estimated as :

$$V_{CW_h} = S_{C_h} \times e_{CW_h} \tag{4.2}$$

Knowing the density of hydrated cell walls (ρ_{CW_h}), one can deduce the weight of one hydrated cell (m_{C_h}). Hydrated cell wall density of apple parenchyma was estimated to be $\rho_{CW_h} = 1100 kg.m^{-3}$ by Nieto *et al.* (2004), which is in good accordance with literature on parenchyma cells' density Gibson (2012). The weight of one hydrated cell can thus be calculated such as :

$$m_{C_h} = \rho_{CW_h} \times V_{CW_h} \tag{4.3}$$

To be able to link dry mass of cell wall introduced in the suspensions with the volume fraction, we need to know the weight of one dry cell. Vetter *et al.* (2001) evaluated the water retention capacity of apple cell wall material using Baumann's capillary method. The value of water retention capacity was estimated at 22.3 $\pm$ 1.9 g/g DW, meaning that 1 gram of cell wall can uptake 22.3 g of water. The order of magnitude of the water retention capacity from Vetter *et al.* (2001) was confirmed by other measurements from Müller & Kunzek (1998). In the present work, cell wall's hydration (CWH) was estimated to be of 13.4 $\pm$ 0.5 g of water per gram of cell walls. This value of cell wall's hydration is of the same order of magnitude as those presented by Vetter *et al.* (2001) and Müller & Kunzek (1998), but is slightly lower than their values. This difference is certainly related to the method used for determining the hydration of the cell walls. The use of Baumann's capillary method certainly leads to the adsorption of water within and between the cells and not only inside the cell walls. By using a centrifugation method, we assume that cells are packed in the pellet and have been drained of the continuous phase they contain inside the cell. Therefore, we decided to use 13.4 g/g DW for the cell wall's hydration. We were thus able to evaluate the weight of one dry particle such as :

$$m_{C_d} = \frac{m_{C_h}}{CWH} \tag{4.4}$$

The number of cells (N_C) in the samples can thus be calculated using following relationship :

$$N_C = \frac{IS}{m_{C_d}} \tag{4.5}$$

Volume fraction ϕ_{eff} is defined as the ratio between the volume of the particles (V_{part}) and the volume of the suspension (V_{susp}). Finally, volume fraction is given by :

$$\phi = \frac{V_{part}}{V_{susp}} = \frac{V_{C_h} \times N_C}{V_{susp}} \tag{4.6}$$

By combining these equations, we calculated the volume fractions obtained for the four concentrations of interest as itemized in the Table 4.2. The volume of the cells in the intermediate domain corresponds to the average volume of all the analysed cells in this domain, and the surface of all the cells corresponds to the average surface of the analysed cells in the intermediate domain (the surface of the cells in the concentrated domain being possibly underestimated).

As expected, in the intermediate domain, the estimated volume fractions increase with the insoluble solids content in the suspension. We can observe that the volume fraction of 0.47 g/100mL and 0.725 g/100mL are lower than 1, meaning that the cells are not filling the entire space. The estimated volume fraction of 1.16 g/100mL and 3.48 g/100mL suspensions are approximately equal to 1, meaning that the particles are filling all the available space. The estimated volume fraction of 3.48 g/100mL suspension is thus very close to the one estimated for the 1.16 g/100mL suspension, since the cells are already filling all the available space, they can not occupy more space in the suspension. Thus, more or less from 1.16 g/100mL, the cells begin to compress themselves. If the volume fractions of 1.16 g/100mL and 3.48 g/100mL suspensions are almost equal, it is still noticed that the volume fraction of 1.16 g/100mL suspension is slightly greater than the one of 3.48 g/100mL suspension. This counter-intuitive result is certainly related to the estimation of the cells' volume by image analysis. Indeed, whether 3.48 g/100mL suspension contains the highest number of cells (Table 4.2), the

Table 4.2 – Estimated volume fraction of the four suspensions defined on Figure 4.2. The volume of the cells in the intermediate domain corresponds to the average volume of all the analysed cells in the domain **II**. The surface of the cells corresponds to the average surface of all the analysed cells in the intermediate domain. Items in normal fonts were measured in the present work or estimated from literature's results. Items in italics were calculated and deduced from items in normal fonts.

IS (g/100mL)	0.47	0.725	1.16	3.48
V_{C_h} (μm^3)	2.024×10^6	2.024×10^6	2.024×10^6	6.500×10^5
S_{C_h} (μm^2)	1.35×10^5	1.35×10^5	1.35×10^5	1.35×10^5
e_{CW_h} (μm)	2	2	2	2
ρ_{CW_h} ($kg.m^{-3}$)	1100	1100	1100	1100
CWH (g/g)	13.4	13.4	13.4	13.4
N_C ($\times 10^7$)	*2.12*	*3.27*	*5.23*	*15.7*
V_{part} ($10^{13} \mu m^3$)	*4.29*	*6.62*	*10.6*	*10.1*
ϕ_{eff}	**0.43**	**0.66**	**1.06**	**1.01**

volume occupied by the cells is lower than the one of 1.16 g/100mL suspension. Analysing a greater number of cells in each domain using this methodology could help to overcome this problem by minimizing the error on the estimated volume of cells. Nevertheless, these results appear to be consistent with the hypothesis made from rheological measurements (Leverrier *et al.*, 2016). Figure 4.8 reviews the way apple cells are occupying the medium in link with the volume fraction of the cells in suspension.

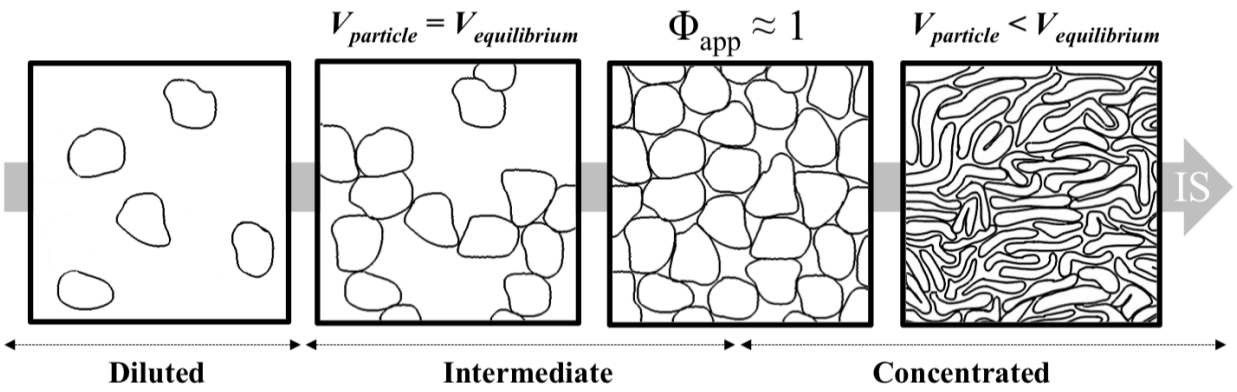


Figure 4.8 – Evolution of apple cells volume when increasing the insoluble solids content.

4.5 Conclusion

The protocol of cell staining we developed, coupled with confocal microscopy observation and 3D image analysis, have made it possible to observe apple cells in suspension even in highly concentrated ones. We observed that the cells are deflated, including non-concentrated media, following the heat treatment undergone during the puree manufacturing process.

This work highlights significant differences in volume between apple cells in the intermediate and concentrated domains and give access to the anisotropy of the deformation.

Therefore, it provides evidence that particles are packing densely in the concentrated domain, enough to decrease their volume.

This work helps in understanding such systems and contributes to the modelling of their rheological properties.

Acknowledgements

The research leading to these results has received funding from the European Union's Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration under grant agreement number 311754.

À RETENIR

Au cours de ce travail, nous avons montré qu'il est possible d'observer sélectivement les cellules végétales, y compris en milieu encombré. Pour ce faire, nous avons mis en place un protocole de séparation de cellules et de marquage des parois végétales, permettant de construire des purées modèles contenant uniquement 10% de cellules marquées. Par microscopie confocale à balayage laser, nous avons ainsi pu observer directement les cellules, quel que soit l'encombrement du milieu considéré.

L'analyse des images nous a permis d'accéder à la forme, à la surface et au volume des cellules en suspension. Ainsi, en comparant les résultats obtenus dans quatre suspensions de concentration croissante, nous avons pu observer que le volume des cellules diminue significativement à haute concentration en particules.

Grâce à ces considérations géométriques, nous avons pu remonter à une fraction volumique apparente pour les quatre suspensions considérées en tenant compte de l'encombrement des particules tel qu'il a été mesuré dans chaque domaine, information importante pour la modélisation du comportement rhéologique de ces systèmes.

Ceci apporte la preuve directe du tassement des particules végétales en milieu encombré. Cette méthodologie est transposable à d'autres systèmes encombrés.

Chapitre 5

Effet des paramètres de structure sur les propriétés rhéologiques des suspensions de particules végétales

Dans cette partie, nous proposons d'évaluer l'influence de la structure des suspensions sur les propriétés rhéologiques de purées de pommes. L'effet de la taille des particules mais également de l'encombrement du milieu seront donc évalués.

Comme nous l'avons vu dans le Chapitre 3, il est possible de construire et déconstruire les purées de pommes à façon en utilisant la séparation centrifuge, les propriétés rhéologiques de la purée avant et après séparation n'étant pas impactées par ce processus. C'est donc par cette voie que nous avons décidé d'entamer ce travail.

Nous avons également fait le choix de générer des distributions granulométriques différentes en utilisant uniquement des traitements mécaniques. De ce fait, nous faisons l'hypothèse que la rigidité intrinsèque des parois végétales ne sera pas impactée, et que seules la distribution de taille, les morphologies et l'architecture des particules seront responsables des différences de comportements rhéologiques observées entre les suspensions.

Grâce au traitement mécanique et à la séparation centrifuge combinés, nous avons pu reconstruire 37 purées de pommes allant de 0 (sérum pur) à 2.32g/100g d'éléments insolubles.

À travers cet article, nous tenterons de répondre aux questions de recherche suivantes :
- Quels sont les paramètres de premier ordre impactant la rhéologie des suspensions de particules végétales ?
- Est-il possible d'estimer une fraction volumique apparente pour ce type de particules à partir des mesures rhéologiques ?

Influence de la taille et de la concentration en particules sur le comportement rhéologique de purées de pommes reconstituées

Cassandre Leverrier, Giana Almeida, Lucia Espinosa-Muñoz, Gérard Cuvelier

UMR Ingénérie Procédés Aliments, AgroParisTech, Inra, Université Paris-Saclay, 91300 Massy, France

Résumé

Au cours de cette étude, l'effet des paramètres de structure sur le comportement rhéologique de purées de pommes a été évalué. Des purées de pommes ont été construites à façon en faisant varier à la fois la teneur en solides insolubles (de 0 g/100g à 2,32g/100g) et la taille des particules. Trois distributions de tailles de particules différentes ont été obtenues uniquement par traitement mécanique, permettant de modifier à la fois la taille et la morphologie des particules, sans modifier la rigidité intrinsèque des parois cellulaires. Les mesures rhéologiques ont montré que la teneur en solides insolubles a un effet de premier ordre sur le comportement rhéologique des suspensions : trois domaines concentrations ont été observés à la fois en dynamique et en écoulement. Une modélisation a été proposée pour chaque domaine. L'existence d'un réseau faible entre les particules à partir d'une concentration critique en insolubles (parois cellulaires) a été mise en évidence. Cette concentration critique dépend de la distribution des tailles des particules et marque l'entrée dans le domaine semi-dilué. Dans le domaine concentré, les particules sont en condition d'empilement dense et de leur volume apparent commence à diminuer. La taille et la forme des particules jouent également un rôle important sur le comportement rhéologique des purées de pomme reconstituées. En raison de leur forme irrégulière, les amas de cellules encombrent le milieu à plus faible concentration que les cellules individuelles.

Conclusions principales

- Le comportement rhéologique des purées de pomme est dirigé par la quantité de solides insolubles (parois végétales)
- Trois domaines de concentration sont mis en évidence, à la fois par les mesures en dynamique et en écoulement
- Les propriétés rhéologiques ont été modélisées dans les trois domaines de concentration
- La taille et la forme des particules ont un effet de second ordre sur les propriétés rhéologiques des purées de pomme.

Cet article a fait l'objet d'une publication dans le Journal *Food Biophysics*
http ://dx.doi.org/10.1007/s11483-016-9434-7

Influence of particle size and concentration on rheological behaviour of reconstituted apple purees

Cassandre Leverrier, Giana Almeida, Lucia Espinosa-Muñoz, Gérard Cuvelier
UMR Ingénérie Procédés Aliments, AgroParisTech, Inra, Université Paris-Saclay, 91300 Massy, France

Abstract

This work investigates the impact of structural parameters on the rheological behaviour of apple purees. Reconstructed apple purees from 0g/100g up to 2.32g/100g of insoluble solids content and varying in particle size were prepared. Three different particle size distributions were obtained by mechanical treatment only, to modify both size and morphology of the particles without modifying the intrinsic rigidity of the cell walls. Rheological measurements showed that the insoluble solids content have a first order effect on the rheological behaviour of the suspensions : three concentrations domains were observed in both dynamic and flow measurements. A model is proposed for each domain. The existence of a weak network between particles is clearly shown over a critical concentration of insoluble solids (cell walls) depending on particle size distribution (semi-diluted domain). In a concentrated domain, particles are on close packing conditions and their apparent volume begin to shrink. Particle size and shape also play an important role on the rheological behaviour of reconstructed apple puree. Due to their irregular shape, cell clusters clog the medium at lower concentration compared to individual cells.

Highlights

- Rheological behaviour of apple purees is driven by the insoluble solids content
- Both in dynamic and steady-state measurements, three concentration regimes are highlighted
- Rheological properties have been fitted in the three concentration regimes
- Particle size and shape have a second order effect on the rheological properties of apples purees

5.1 Introduction

The consumption of fruits and vegetables is nowadays a worldwide public issue : A mean consumption of 400g of fruits and vegetables per person and per day is recommended but, according to the World Health Organization (WHO), over half the countries in Europe do not reach this mean value (World Health Organization, 2006). To increase fruit and vegetables consumption, products have to be appealing. Thus, new ways to eat easily processed fruits and vegetables at home or outside are designed by the industry to increase their attractivity. Products' texture has to adapt to these new ways of consuming. Furthermore, texture is known to be a major quality attribute and a key for the liking of food products (Szczesniak & Kahn, 1971). Understanding the link between microstructure and rheology may allow to generate innovative food products or to deal with consumer demand or physical issues. To meet consumer expectations, products' texture has thus to be mastered.

Fruits and vegetables purees are obtained by cooking the flesh of one or several fruits and vegetables, crushed or finely ground. The flesh of fruits and vegetables is mainly composed of parenchyma. Parenchyma cells have polyhedral shape, their size varies with fruit or vegetable variety and maturity : from several dozen microns for tomato or carrot cells to several hundred microns for apple cells (Lopez-Sanchez *et al.*, 2011a; Khan & Vincent, 1993). Once cooked, puree can be represented as a suspension of plant particles (cell clusters, individual cells and cell wall fragments) suspended in a surrounding fluid (called serum) composed of sugars, pectins, organic and mineral content of the cells (Rao *et al.*, 1986; Moelants *et al.*, 2014b).

Nowadays, many studies aim at understanding fruits and vegetables suspensions behaviour depending on fruit or vegetable variety, storage conditions or process, in order to relate them with sensory perception and rheological properties (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2012; Inarejos-García *et al.*, 2015; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013;

Appelqvist *et al.*, 2015; Hemar *et al.*, 2011; Lopez-Sanchez *et al.*, 2012; Day *et al.*, 2010b,a). It has been shown that pulp content, particle size and serum viscosity are key structural parameters to master the texture of apple puree (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013). Recently, significant sensory differences were found between carrot cellular systems which had different particle shape, size distributions and rheology (Appelqvist *et al.*, 2015).

Rheology of fruits and vegetables purees has been extensively studied during the last thirty years, it is known that rheological behaviour of plant particles suspensions is essentially driven by the particles (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013; Moelants *et al.*, 2013b). Indeed, more than a determining element on the structure of the puree, particle concentration provides information on the type of suspension. Three different concentration regimes have been shown on soft particles systems : diluted, semidiluted (or in the transition region), and concentrated (Steeneken, 1989; Bayod, 2008). As described by Lopez-Sanchez *et al.* (2012), the diluted regime corresponds to a concentration where particles are not space-filling : The suspension exhibits no elastic modulus or yield stress. By increasing the concentration, the suspension enters in the transition regime : a percolated system will form which generates the appearance of elastic modulus and yield stress. At these concentrations, particles are not free to flow any more and are forced to deform in order to accommodate the imposed strain (Lopez-Sanchez *et al.*, 2012). As the concentration increases, rheological properties will increase and particles will be more and more space-filling : Particles will have to highly deform to allow the flow. Finally, at very high concentrations, particles are highly deformed and highly packed in order to adapt to the available space (Lopez-Sanchez *et al.*, 2012).

Recently, some authors have started to apply models based on particle concentrations of different plant dispersions such as broccoli, carrot and tomato (Hemar *et al.*, 2011; Lopez-Sanchez *et al.*, 2012; Day *et al.*, 2010b,a; Moelants *et al.*, 2013b), but few pointed out the building of the network in relation to the volume fraction occupied by the cells. Volume fraction of plant particles is not clearly determined by a consensus in literature and several parameters are commonly used to illustrate the impact of particle content or to approach the volume fraction such as the alcohol insoluble solids, the total solids content and the ratio of the pulp volume versus the total volume among others (Schijvens *et al.*, 1998; Day *et al.*, 2010b,a; Hemar *et al.*, 2011; Moelants *et al.*, 2013b; Qiu & Rao, 1988; Lopez-Sanchez *et al.*, 2012; Lopez-Sanchez & Farr, 2011).

In 2011, Moelants *et al.* (2013b) studied the impact of size and concentration on monomodal carrot purees and monomodal carrot-derived suspensions dispersed in water. They showed that particle concentration has an impact on both steady-state and dynamic measurements (modulus and yield stress) and they were able to fit the relationship between dynamic properties and particle concentration with a power law. In their study, all the suspensions exhibit a non-Newtonian behaviour with a yield stress, indicating that the network is already formed. Thereby, no concentration domains were pointed out.

In 2010, Day *et al.* (2010b) evaluated the impact of size, shape and concentration on broccoli and carrot dispersions using dynamic measurements. All the suspensions observed were monomodal and obtained by different thermal treatment. They were able to show two different regimes depending on the volume fraction of particles for both broccoli and carrot systems. In another work, the authors were able to point out three different concentration regimes based on oscillatory measurements on three monomodal carrot suspensions also obtained by thermal treatment (Day *et al.*, 2010a). As far as we know, no other work presented concentration regimes on plant based suspensions.

In all these articles, thermal treatment is used to generate cell separation and thus, different particle sizes. However, thermal treatment is known to degrade the middle lamella by solubilizing pectins which may induce a difference in cell walls rigidity and thus on the way cells interact one with another (Waldron *et al.*, 2003; Sila *et al.*, 2008; Müller & Kunzek, 1998). In the present work, the impact of particle size and shape on a processed puree will be studied only by using mechanical treatment.

Apple puree rheology has been extensively studied (Rao *et al.*, 1986; Qiu & Rao, 1988; Kunzek *et al.*, 1997; Vetter & Kunzek, 2003a) but few recent work focus on apple puree rheological behaviour as a function of particles concentration (Espinosa, 2012; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013). Moreover, apple is one of the most eaten and produced fruit all over the world, so we choose it as a fruit model to describe plant-based suspensions. The present work focus on the impact of the concentration of apple cell wall particles on the macroscopic behaviour of apple dispersions within its own continuous phase on a wide range of concentrations, with the aim

to investigate the influence of the medium's congestion. Different particle size distributions were obtained by mechanical treatment only to avoid any impact of an additional thermal treatment on cell walls rigidity. This article points out the relationship between the organisation of the particles in the continuous phase and the properties of apple cell wall dispersions. Concentration regimes are highlighted both in dynamic and steady state measurements.

5.2 Material and methods

5.2.1 Plant material and processing conditions

A single batch of mature Golden Delicious (*Malus domestica* Borkh. cv Golden Delicious) was transformed into puree by a french manufacturer (Conserves France) following an industrial hot break process.

5.2.2 Pulp content

The amount of pulp was obtained by centrifugation at 5000g for 2h at 20°C (centrifuge Sigma 3K 12, Bioblock Scientific). Pulp content is then expressed as the ratio between the weight of pulp (W_{pulp}) and the initial weight of the puree (W_{puree}) (Qiu & Rao, 1988; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013). All measurements were made in triplicate.

$$\%Pulp = \frac{W_{pulp}}{W_{puree}} \times 100 \tag{5.1}$$

5.2.3 Dry matter

5g of puree (or serum, obtained after centrifugation following the protocol 5.2.2) are placed onto an aluminium cup and placed in an oven at 105°C during 8h. Dry matter (DM) is then expressed as the ratio between the dry weight (W_{dry}) and the initial weight ($W_{initial}$) of the puree (or serum).

$$DM = \frac{W_{dry\ matter}}{W_{initial}} \times 100 \tag{5.2}$$

5.2.4 Insoluble solids content

This step allow to measure the quantity of plant cell walls contained in purees (Renard, 2005). Two different methods were used. The alcohol insoluble solids methods is the reference method. The dry insoluble solids protocol, easier to perform, was used as a routine protocol to check the amount of plant cell walls in the purees.

Alcohol insoluble solids

Apple purees were separated by centrifugation as described in section 5.2.2. The insoluble material was then prepared from the pulp as alcohol insoluble solids (Renard, 2005) with a supplementary first "washing" step that consisted of a centrifugation after the addition of a buffer solution (50 mM sodium acetate, adjusted to pH 3.5 with acetic acid) to the pulp to eliminate the soluble pectin present in the serum trapped by the particles. Approximately 5 g of pulp were suspended in the buffer solution (15 mL), mixed in a vortex and centrifuged (13200 x g, 12 min, 10°C). The sediment was washed again with the buffer solution, two washes were judged to be sufficient while leading to an acceptable risk of pectin extraction from the cell walls. The second sediment was blended with 96% ethanol (1 :3), and stirred at 4°C over 12h. The next steps followed the procedure described in the work of Renard (2005) which included washing by 70% ethanol and then drying by solvent exchange. Alcohol insoluble solids content was expressed as the relation between the dry materials weight and the initial sample weight.

$$AIS = \frac{W_{dry\ insoluble\ solids}}{W_{initial}} \times 100 \tag{5.3}$$

Dry insoluble solids

The amount of plant cell walls can also be checked by the determination of the dry insoluble solids content. It was determined as :

$$DIS = DM_{puree} - DM_{serum} \tag{5.4}$$

This method provide an easy and rapid way to check the dry insoluble solids content. Results are consistent with the ones obtained by measuring the alcohol insoluble solids following protocol 5.2.4.

5.2.5 Preparation of apple purees varying in particle size and insoluble solids content

Grinding step

Particle size was modified by mechanical treatment using a Grindomix GM200 (Retsch GmbH, Germany). Three different grinding levels were achieved (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013) :

- The native puree, called NG (Not Ground),
- A medium ground puree, called MG, ground at 5000rpm for 15sec,
- And a highly ground puree, called HG, ground at 10000rpm for 3min.

Separation-reconstitution step

To obtain different insoluble solids content, a separation-reconstruction step was achieved. Purees were centrifuged following the protocol 5.2.2 to separate the disperse phase (apple cells) from the continuous phase (serum). Pulp and serum obtained thereby were then mixed with purees of the same grinding level to obtain reconstructed purees from 0g/100g (serum) to 2.32g/100g of solids content.

5.2.6 Particle Size Distribution

The particle size distribution of samples was obtained using a laser diffraction analyser (Mastersizer 2000, Malvern Instruments). Samples were dispersed in distilled water (refractive index : 1.33). The refractive index of vegetable cells is estimated to be 1.52 (Espinosa *et al.*, 2011; Espinosa, 2012; Day *et al.*, 2010b; Woolley, 1975) and the absorption was set at 0.1 (Espinosa *et al.*, 2011; Espinosa, 2012; Day *et al.*, 2010b). Measurements were made in triplicate.

5.2.7 Light microscopy

Light microscopy was used to observe the structure of the samples. The samples were six times diluted and then 2 μL of each samples were placed onto a glass slide and covered with a cover slip. Samples were observed with a 2X or a 10X objective lens using an Olympus BX51 microscope in phase contrast.

5.2.8 Rheological Measurements

The rheological measurements on purees were performed using a stress controlled rheometer (MCR301, Anton Paar) equipped with large gap coaxial cylinders (*CC18.92*, inner radius : 9.46mm ; outer radius : 14.46mm ; gap : 5.00mm, gap length : 40.00mm). The serum viscosity was measured using double gap cylinders (*DG26.7*). Steady state measurements and dynamic measurements were carried out. The product has been changed for each test.

Stability to settling of suspensions was checked using a Turbiscan^{TM} LAB (Formulaction). Sedimentation speed was of 300 μm/min for the most diluted samples containing the biggest particles. Measurements time and procedure was thus adapted for highly diluted products, and measurement time was set not to exceed 10min. During 10min, particles of the most diluted samples settle of only 3mm. To be sure to measure the sample and not only the serum, the measurement cup was overfilled with about 5mm of sample above the height of the inner cylinder. The viscosity of the sample is unchanged at the end of a measurement sequence. Sedimentation time is thus negligible compared to measurement time.

In order to have a control of the loaded samples history, a pre-shear of $50s^{-1}$ was applied on purees during $2min$ followed by a resting step of $10min$ before every measurement. For highly diluted products, the pre-shear step was not performed. All rheological measurements were performed at 20°C in triplicate.

Steady state measurements

Flow curve A round trip of shear rates distributed logarithmically was applied from $10s^{-1}$ to $250s^{-1}$, each shear rate was applied for $1min$.

Flow curve of highly diluted products Shear rate was increased from 0.1 to $100s^{-1}$ (logarithmic ramp) for a total duration of $10min$. Apparent viscosity was obtained in the Newtonian plateau at low shear rate.

Serum Viscosity Shear rate was increased from 10 to $1000s^{-1}$ (logarithmic ramp) for a total duration of $8min$. Serum viscosity was obtained in the Newtonian plateau at low shear rate.

Oscillatory measurements

Oscillatory strain sweep A strain sweep from 0.015% to 150% was performed at constant pulse ($10rad/s$) measuring 11 points per decade, with no time settings. The values of G' and G'' are taken in the linear domain. The end of the linear domain was estimated as the strain inducing a decrease of G' values superior of 10% of its value in the linear domain. The cross over stress value obtained at the intersection of G' and G'' was used as a characteristic point to estimate the beginning of the flow (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013).

5.3 Results and discussion

5.3.1 Impact of grinding on structural and rheological parameters

The native puree (NG) presents a bimodal particle size distribution with a first band at 200 μm and a second band at 1000 μm (Figure 5.1). Biggest particles represent clusters of parenchyma cells, while smaller particles represent dissociated parenchyma cells (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013). Particle size distribution of medium ground puree (MG) also presents a bimodal shape with one band at 200 μm and a second band at 1000 μm. The band corresponding to cell clusters is slightly lower compared to NG sample and the band corresponding to individual cells increased slightly due to cell separation. In HG puree, the band corresponding to cell clusters is not visible, its particle size distribution is monomodal with only one band centered at about 150 μm corresponding to individual cells. By grinding, both size and morphology of particles are modified (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013; Day *et al.*, 2010a). According to microscopic observations, NG cell clusters present a more irregular shape than HG individual cells (Figure 5.1). The same results have been obtained on apple puree by Espinosa-Muñoz *et al.* (2013).

In comparison with previous works (Day *et al.*, 2010a,b; Moelants *et al.*, 2013b), we were not able to obtain only monomodal suspensions just by grinding. However, these authors have obtained several monomodal particle size distributions by applying different thermal treatments : Intrinsic properties of the particles obtained thereby may vary significantly (Waldron *et al.*, 2003; Sila *et al.*, 2008; Müller & Kunzek, 1998). In the present work,

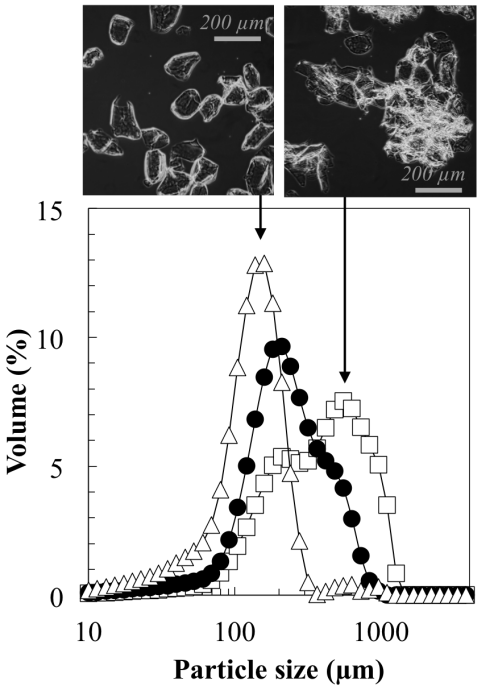


Figure 5.1 – Particle size distributions of the three grinding levels : Not ground (□), medium ground (•) and highly ground (△).

the intrinsic rigidity of apple cell walls was not impacted by any complementary thermal treatment. We can thus make the hypothesis that cell walls in NG, MG and HG purees have the same intrinsic mechanical properties. In other words, at the scale of the plant cell wall, mechanical properties of NG, MG and HG purees should be the same since no treatment modified the chemical nature of its constitutants, both in term of quality and quantity. The differences observed between the purees would be only due to size, shape and distribution of particles, but not due to the rigidity of the cell walls. We can thus observe that, by grinding, size and shape of the particles are modified but the amount of apple cell walls stays the same, as indicated by the dry insoluble solids content and the alcohol insoluble solids content itemised in Table 5.1. Thereafter, we will use the general term "insoluble solids content" to qualify the amount of plant cell walls contained in the purees. As the insoluble solids content is a reliable measurement, the results will be considered as a function of it. The volume fraction occupied by the particles, which is mainly responsible of the rheological behaviour will be discussed all along the text. Serum viscosity is not modified by grinding (Table 5.1) confirming that mechanical treatment only induces a change in particle size and shape but no solubilisation of pectines.

Depending on centrifugation conditions, the amount of pulp decreases with grinding (Table 5.1), which indicates that the volume occupied by centrifuged cell clusters and individual cells is not the same. For further details, the impact of centrifugation conditions on plant suspensions have been studied by Lopez-Sanchez *et al.* (2012). Thanks to their regular shape, individual cells are able to pack closely during the centrifugation. On the contrary, cell clusters are irregular in shape so they are not able to pack as densely as individual cells. Another hypothesis could be that the cells inside clusters are more connected than individual or surrounding cells. Due to this architecture, deep-cluster cells are preserved, more intact, thus they are less able to be deformed and they keep a size close to their original size even during the centrifugation step. During grinding, particles are released from the constraints imposed by adjacent cells and are able to deform and to pack densely. This hypothesis can be supported by microscopic observations described by Lopez-Sanchez *et al.* (2012) on broccoli suspensions centrifuged at 9000*g* on which cells located within the clusters appear more rigid and less deformable than surrounding cells.

Table 5.1 – Structural and rheological parameters of NG, MG and HG apple purees

	$\%Pulp$ (%)	DIS (%)	AIS (%)	$\eta_{app}^{50s^{-1}}$ (mPa.s)	G' (Pa)	G'' (Pa)	σ_s (Pa)	η_{serum} (mPa.s)
NG	29.0 (0.8)	1.1 (0.1)	1.1 (0.1)	1398 (43)	1296 (103)	214 (15)	23.4 (1.8)	12.8 (0.3)
MG	27.6 (1.0)	1.1 (0.1)	1.1 (0.2)	973 (92)	953 (57)	149 (8)	17.4 (1.1)	12.8 (0.2)
HG	25.9 (0.4)	1.1 (0.1)	1.1 (0.1)	498 (4)	385 (43)	64 (5)	8.6 (0.9)	12.9 (0.3)

Structural modifications impact on rheological properties of the purees. At equivalent insoluble solids content, rheological constants decrease as the grinding level increase (Table 5.1). As a matter of fact, the apparent viscosity of NG puree is almost three times higher than HG's apparent viscosity. Both elastic and viscous moduli are more than three times higher in NG sample compared to HG, and grinding up to HG has reduced the yield stress of NG puree over 35%. These results allow us to conclude and confirm that size and shape impact on the rheological behaviour of plant suspensions, with (Qiu & Rao, 1988; Appelqvist *et al.*, 2015; Day *et al.*, 2010b,a; Moelants *et al.*, 2013b, 2014a) or without thermal treatment (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2012). More than a simple effect of the particle size, the architecture of the clusters could reinforced the observed differences by increasing their global rigidity which may induce a reinforcement of the clusters' structure. In other words, the cell wall rigidity of individual and cell clusters is the same but particle rigidity could be different due to clusters architecture.

5.3.2 Impact of insoluble solids content on rheological behaviour

To evaluate the impact of the insoluble solids content, both dynamic and steady state measurements were performed on the reconstituted apple purees.

In order to have an overall view of the effect of particle concentration on the properties of the studied systems, Figure 5.2 represents the viscosity of NG, MG and HG purees at several insoluble solids content as a function of the shear rate and some of their corresponding behaviours in oscillatory strain sweep. It clearly shows that the behaviour of reconstituted apple puree highly depends on the insoluble solids content.

At very low concentrations, and for the three grinding levels observed, reconstructed purees exhibit a Newtonian behaviour, with no dependency of the shear rate on the viscosity (Fig. 5.2A, 5.2B & 5.2C, concentrations up to 0.116g/100g). These suspensions exhibit no measurable elastic modulus (Fig. 5.2D, 5.2E & 5.2F).

By increasing the insoluble solids content, reconstructed apple purees exhibit a shear-thinning behaviour (Fig. 5.2A, 5.2B & 5.2C, concentrations above 0.116g/100g). The appearance of this non-Newtonian shear-thinning character is due to the organization of particles into the shear field (Steffe, 1996; Gallegos *et al.*, 2004; Moelants *et al.*, 2014b) : Particles organise and align themselves in the flow in a reversible way, which do not lead to particles modifications. Furthermore, no thixotropic behaviour was observed (data not shown). Whatever the grinding level, viscosity and moduli increase with the insoluble solids content (Figure 5.2). At equivalent insoluble solids content, both viscous and elastic moduli are greater for the suspensions containing large particles (NG and MG) than for the ones only composed of individual cells (HG), suggesting that the network formed by cluster-cells is more rigid than those formed by individual cells.

As the strain increases, both G' and G'' remain constant until a critical strain at which G' starts to decrease significantly, corresponding to the output of the linear domain (Fig. 5.2). We can notice that linear viscoelastic domains are quite narrow (between 0.02 and 0.15% for concentrated suspensions) and depend on the insoluble solids content of the suspensions (Day *et al.*, 2010a).

At 0.435g/100g, we observed that the behaviour of the three different suspensions depends on the particle size distribution (Figures 5.2D, 5.2E and 5.2F). Indeed, for the puree NG, we clearly observe a weak gel-like behaviour with a higher elastic modulus compared to the loss modulus in the linear range ($G' > G''$) with yield stress. The same behaviour is observed on the puree MG, however, the values of G' and G'' are very close. On the contrary, for HG at the same concentration, G' can't be measured so the weak gel behaviour is not observed.

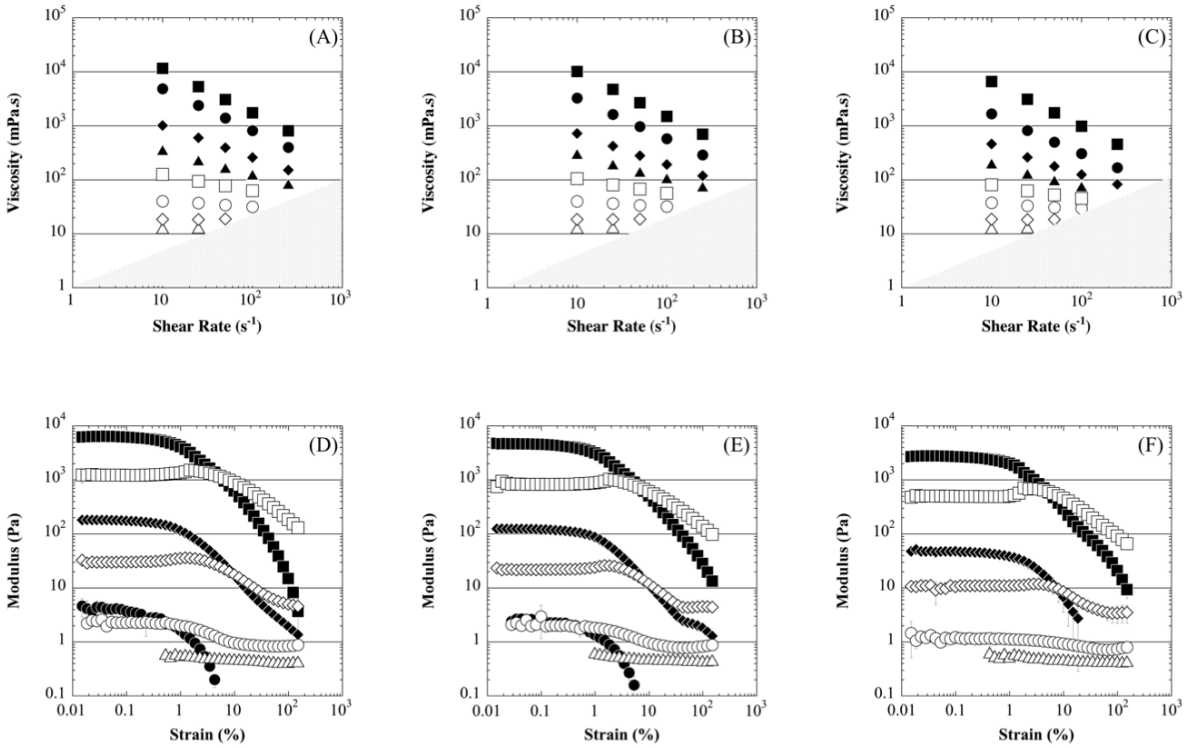


Figure 5.2 – On the upper side, viscosity as a function of shear rate for native **(A)**, medium ground **(B)** and highly ground purees **(C)**. Concentrations described are : 2.32 g/100g (■), 1.16g/100g (•), 0.725g/100g (♦), 0.58g/100g (▲), 0.435g/100g (□), 0.29g/100g (○), 0.116g/100g (◊) and 0g/100g (△). The dotted area correspond to turbulent flow, determined when sample's viscosity starts to increase with the shear rate. On the bottom side, elastic and viscous moduli as a function of strain for native **(D)**, medium ground **(E)** and highly ground purees **(F)**. Closed symbols are used for the storage modulus, open symbols are used for the loss modulus. Concentrations described are : 2.12 g/100g (■, □), 0.725g/100g (♦, ◊), 0.435g/100g (•, ○), 0.116g/100g (△)

This observation can allow us to say that cluster-cells are able to form a network at a lower concentration than individual cells because of their irregular shape. The volume fraction occupied by the individual cells or the clusters thus seem not to be the same. This result can also be explained by the polydispersity of N and M purees, allowing to clog the medium at a lower concentration.

Impact of insoluble solids content on dynamic properties

The properties of reconstituted apple purees and their evolution with the insoluble solids content can be described by the viscoelastic moduli (the storage modulus G', the loss modulus G'' or the complex modulus $G^* = \sqrt{(G'^2) + (G''^2)}$) which quantify the structure of the product at rest (low deformation under the yield stress). Figure 5.3 represents the evolution of the complex modulus and $tan\delta$ ($tan\delta = G''/G'$) as a function of the insoluble solids content (*i.e.* plant cell walls content). Three domains are noticeable on the evolution of the complex modulus depending on the insoluble solids content.

At low concentrations, G^* values of all three particle size distributions are superposed on a straight line, with no notable impact of the particle size and shape on the complex modulus. In this diluted domain (I), no elastic

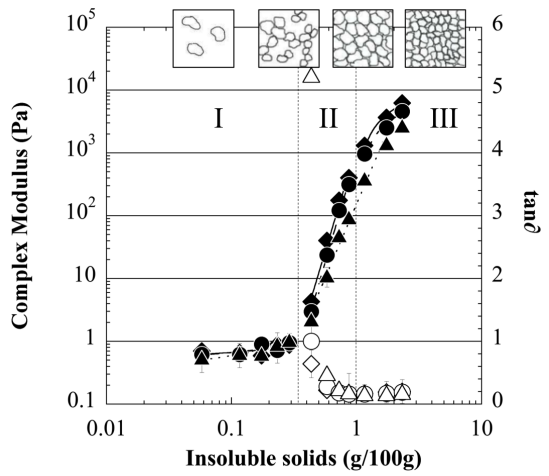


Figure 5.3 – Complex modulus (solid symbols) and $tan\delta$ (open symbols) as a function of insoluble solids content. The three grinding levels are described : unground (♦; ◊), medium ground (•; ∘) and highly ground (▲; △). Fits are represented for NG (full line), MG (segmented line) and HG (dotted line). Equations parameters and R^2 of the fits are itemised in the Table 5.2. The schematic representation of the network construction is inspired by Steeneken (1989) & Bayod (2008)

modulus or yield stress can be measured as no network has been build up. Indeed, in this regime, G^* values are essentially driven by G'' since no elasticity can be measured, $tan\delta$ values tend to infinite (Fig. 5.3). These results could be explained by the occupancy of the medium. The particles are not space-filling. Hence, they are not interacting with each other so the size and shape do not influence significantly the rheological behaviour. This diluted domain can be fitted by a linear relationship between G^* and the insoluble solids content (Table 5.2).

In their work, Day *et al.* (2010a) represented the elastic modulus as a function of the total solids content for three particles size distributions of carrot cell wall particle dispersions : They pointed out the existence of this linear domain but their results showed an impact of particle size and shape on the storage modulus. These differences between our results and theirs can be due to the structural differences between our products. Indeed, carrot cells have a smaller size than apple cells and the morphology of the cells may be the different. Moreover, in the present work multimodal suspensions generated by grinding are considered while in the work of Day *et al.* (2010a), monomodal suspensions generated by thermal treatments are studied : Intrinsic properties of plant cell walls from apple or carrot and the architectures generated by grinding on the one hand and by thermal treatment on the other hand, necessarily produce different mechanical properties observed between the two systems.

From 0.435g/100g, rheological properties change greatly which indicates the entrance in another concentration regime. The dependence of the complex modulus to the insoluble solids content becomes more important. This increase in G^* is accompanied by a sharp decrease of $tan\delta$ values (Fig. 5.3). This transition domains is also characterized by the appearance of the shear-thinning behaviour of the purees (Fig. 5.2).

Values of $tan\delta$ smaller than 1 are observed for insoluble solids content above 0.435g/100g, which indicates that an elastic behaviour is observed ($G' > G''$), corresponding to the existence of a weak network between particles. It is noticeable that $tan\delta$ values decrease sharply depending on the grinding level of the purees. Indeed, the $tan\delta$ of HG puree is higher than MG and NG $tan\delta$ values, which confirms that elastic properties start to appear earlier for bigger particles. In this transition domain (II), the particles are filling the available space, their volume fraction increase which allows interactions beetween them to build a weak network, leading to the existence of an elastic response.

Table 5.2 – Equations and parameters used to fit the relationship between the rheological properties and the insoluble solids content of NG, MG and HG purees in the three concentration regimes, both in dynamic and flow measurements. The experimental data where fitted using KaleidaGraph 4.5.2 software. The parameter A is expressed in Pa, as is G^* and IS is expressed in $g/100g$. IS_1^{est} corresponds to the intersection between the curves used to fit the regimes I and II, and IS_2^{est} corresponds to the intersection between the curves used to fit the regimes II and III. IS_2^{est} corresponding to HG puree is an estimated value

	Oscillatory measurements					Steady-state measurements				
	I	IS_1^{est}	II	IS_2^{est}	III	I	IS_1^{est}	II	IS_2^{est}	III
	linear		power law		Adams (2004)	linear		power law		logarithmic
	$G^* = aIS + b$		$G^* = aIS^b$		$G^* = A\left[1 - \left(\frac{IS_C}{IS}\right)^{\frac{1}{3}}\right]$	$\eta_{rel} = aIS + b$		$\eta_{rel} = aIS^b$		$\eta_{rel} = a + bln(IS)$
NG	$a = 0.95$		$a = 1240$		$A = 2.44 \times 10^4$	$a = 4.48$		$a = 65$		$a = 79$
	$b = 0.57$	0.334	$b = 6.6$	1.46	$IS_C = 1.00$	$b = 0.92$	0.268	$b = 2.6$	1.32	$b = 198$
	$R^2 = 0.47$		$R^2 = 0.98$		$R^2 = 0.98$	$R^2 = 0.97$		$R^2 = 0.99$		$R^2 = 0.99$
MG	$a = 1.31$		$a = 928$		$A = 1.78 \times 10^4$	$a = 4.32$		$a = 48$		$a = 48$
	$b = 0.53$	0.367	$b = 6.8$	1.52	$IS_C = 1.01$	$b = 0.97$	0.274	$b = 2.4$	1.49	$b = 193$
	$R^2 = 0.60$		$R^2 = 0.99$		$R^2 = 0.96$	$R^2 = 0.99$		$R^2 = 0.99$		$R^2 = 0.99$
HG	$a = 2.17$		$a = 154$		-	$a = 4.11$		$a = 27$		-
	$b = 0.38$	0.352	$b = 4.7$	*1.8*	-	$b = 0.97$	0.304	$b = 2.1$	*1.8*	-
	$R^2 = 0.88$		$R^2 = 0.99$		-	$R^2 = 0.99$		$R^2 = 0.99$		-

The relationship between the complex modulus and the insoluble solids content can be fitted by a power law for each particle size distributions (Fig. 5.3). The parameters used in the power law to fit the data are listed in the Table 5.2. The effect of concentration depends on the nature of the particles. Exponent values of the power law are 6.6, 6.8 and 4.7 for NG, MG and HG respectively. Therefore the dependency of the complex modulus to the insoluble solids content is more pronounced for purees containing large particles made of clusters of cells (NG and MG) than for the monomodal purees containing only individual cells (HG). The dependence of G^* to the concentration decreases with the particle size. In other words, the network of larger particles seems to be more rigid (higher values for G') and more structured (lower value for $tan\delta$) than the one composed with individual cells at equivalent amount of insoluble solids. This may be explained thanks to two hypotheses : The first is that large particles clog faster the medium because of their bigger size and of their irregular shape. The particle size and the form factor have a very dominant effect on the rheological properties : Cluster cells are able to hold more easily to each other and thus to structure the medium at lower concentration. The second hypothesis concern the polydispersity of NG and MG purees. Indeed, it is known that polydispersity plays a role on the flow (Servais *et al.*, 2002; Farris, 1968) and dynamic properties (Nakajima & Harrell, 2001; Bayod, 2008) of suspensions by structuring the network earlier. Large particles, because of their size, have more difficulties to follow the imposed stress, thus they impose a resistance on the whole system, which contributes to increase the system's rigidity (and therefore G' and G^*) (Nakajima & Harrell, 2001). The use of a power law for modelling the behaviour of plant particles suspensions according to the concentration is not uncommon and could be observed on different types of plant suspensions as broccoli (Day *et al.*, 2010b), tomato (Lopez-Sanchez & Farr, 2011; Moelants *et al.*, 2014a), carrot (Day *et al.*, 2010b,a; Lopez-Sanchez & Farr, 2011; Moelants *et al.*, 2013b) or apple (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013) suspensions. In their work, Day *et al.* (2010b) used the power law to fit G^* as a function of an effective volume fraction on carrot and broccoli suspensions. They also observed an increase of the exponent values on suspensions containing clusters of cells. Their exponent values are 3.0 ± 0.1 and 6.2 ± 0.2 for carrot dispersions made of individual cells and clusters respectively and 3.0 ± 0.3 and 6.4 ± 0.5 for broccoli dispersions made of individual cells and clusters respectively. The exponent values they observed are of the same order of magnitude as the one we currently observe on apple suspensions made of individual cells and clusters respectively. Lopez-Sanchez & Farr (2011) and Moelants *et al.* (2013b) have also observed an increase of the exponent value of the power law while increasing the particle size on carrot suspensions.

The third domain starts when $tan\delta$ values reaching a constant value. In the concentrated domain (III), elastic properties are largely dominant, $G' >> G''$ and $tan\delta$ doesn't vary much, with a value of about 0.2. This

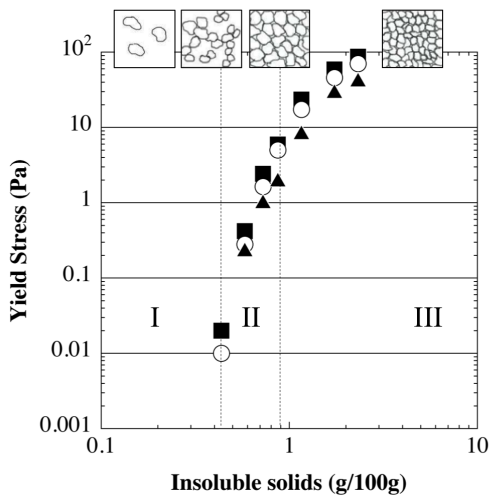


Figure 5.4 – Yield stress as a function of insoluble solids content for the three particle size distributions : unground (■), medium ground (○) and highly ground (▲). The schematic representation of the network construction is inspired by Steeneken (1989) & Bayod (2008)

corresponds to the classical behaviour of concentrated suspensions, with the modulus that depends little on the frequency (not shown here).

Since G^* is mostly worn by G', modelling by an equation like the equation of Adams *et al.* (2004) $G' = A\left[1-\left(\frac{\phi_C}{\phi}\right)^{\frac{1}{3}}\right]$ may reasonably be considered in the concentrated area. In their work, the model has been applied on suspensions of soft particles made of agar micro-gels. A is an adjustable parameter, ϕ represents the volume fraction of particles and ϕ_C represents the critical volume fraction above which particles are closely packed. Volume fraction of deformable plant cell walls particles is not easy to handle since the volume varies with the concentration. In the present work, Adam's equation (Adams *et al.*, 2004) was plotted as follow $G^* = A\left[1-\left(\frac{IS_C}{IS}\right)^{\frac{1}{3}}\right]$ using directly the insoluble solids content instead of the particle phase volume. The resulting fits for NG and MG purees are described in the Table 5.2. The parameter A decreases with the particle size.

The existence of a network with measurable elastic properties induces a yield stress. Figure 5.4 represents the evolution of the yield stress, considered here as the cross over between G' and G" as a function of the insoluble solids content. Yield stress, estimated from viscoelastic measurements, also strongly depends on the insoluble solids content and the particle size and shape. In the diluted domain, no yield stress is observed. The appearance of a yield stress is observed from 0.435g/100g of insoluble solids for NG and MG purees and from 0.58g/100g for HG puree. For all suspensions (NG, MG and HG), the yield stress increases with the insoluble solids content. The slope is dependent on the nature of the suspension, as for G^*. Concentration regimes coincide with the ones observed on the evolution of G^*.

Both on Figures 5.3 and 5.4, the building of the network has been schematically represented. As one can see, in the diluted domain, particles are not space filling and are allowed to flow freely. Above 0.29g/100g, particles start to form a weak network which fills up progressively with no modification of the equilibrium volume of the particles, which corresponds to the intermediate domain. Finally, in the concentrated domain, particles are highly packed and their volume decrease as the concentration increase. Vertical dotted lines are used to materialize the limits between the concentration regimes and are based on the change of regimes of NG puree. This schematic

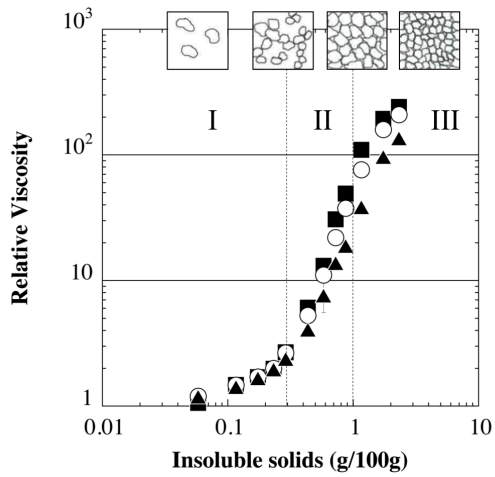


Figure 5.5 – Relative viscosity as a function of insoluble solids content for the three particle size distributions : unground (■), medium ground (○) and highly ground (▲). The schematic representation of the network construction is inspired by Steeneken (1989) & Bayod (2008)

representation has also been used by Steeneken (1989) & Bayod (2008) on soft particles suspensions.

Impact of insoluble solids content on flow properties

The study of viscoelastic properties has shown that the network builds up in three stages in reconstructed apple suspensions, whatever the particle size distribution. To focus on the impact of insoluble solids on steady-state measurements, relative viscosity was plotted as a function of insoluble solids content (Figure 5.5) : $\eta_{relative} = \frac{\eta_{apparent}}{\eta_{serum}}$. Three concentration regimes are also observed. For ease of reading, the same schematic representations of the building of the network will be used on the Figure 5.5 to materialize the change of regime even if in flow the suspension can't be represented by a resting state.

In the first domain, below 0.29g/100g, relative viscosity do not depend on the size and shape of the particles (Fig. 5.5). The flow of reconstructed apple purees in this concentration domain follows a Newtonian behaviour : Relative viscosities of the three grinding levels are superposed on a straight line and can be fitted by a linear fit as shown on Figure 5.6A. Individual cells thus occupy the same volume as cell clusters at equivalent insoluble solids content. This observation is in good agreement with a model like Einstein's (Einstein, 1906) which do not depend on the size of the particles : $\eta_{apparent} = \eta_0 (1 + a\phi)$. In his model, Einstein considers a suspension of hard spheres and the slope between relative viscosity and volume fraction is equal to $\frac{5}{2}$. In the present work, both NG, MG and HG purees exhibit a slope of about 4 (Table 5.2), which indicates that the hydrodynamic interactions between particles are strong and may be due to aggregation phenomena under shear. This domain corresponds to the diluted regime (I).

From 0.29g/100g, suspensions behaviour change greatly. Above this concentration of insoluble solids, the slope between relative viscosity and insoluble solids content becomes higher, and both size and shape start to impact on the relative viscosity of the suspensions. Measurements of the different grinding levels are no more superposed. Relative viscosity can be fitted by a power law varying for each particle size distribution (Figure 5.6B). It corresponds to the intermediate domain (II) also identified on dynamic measurements.

The relative viscosity varies approximately as the square of the insoluble solids content (2.6 for NG, 2.4 for MG and 1.9 for HG, *cf.* Table 5.2). This model is consistent with models generally used on dynamic measurements

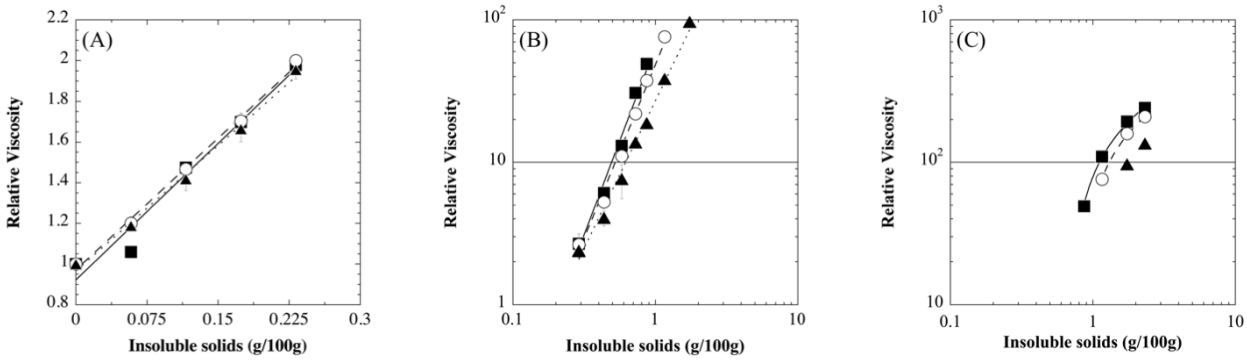


Figure 5.6 – Relative viscosity as a function of insoluble solids content for the three particle size distributions : unground (■), medium ground (○) and highly ground (▲). Fits according to the equations and parameters itemised in the Table 5.2 are represented for NG (full line), MG (segmented line) and HG (dotted line)

of particles network (Day *et al.*, 2010a; Moelants *et al.*, 2013b; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013; Lopez-Sanchez *et al.*, 2012; Lopez-Sanchez & Farr, 2011). At equivalent insoluble solids content, NG sample presents the highest relative viscosity and HG the lowest. Relative viscosity decreases with the grinding level, and, the more the concentration increases, the more differences are seen between the grinding levels. In other words, the slope between relative viscosity and insoluble solids content is highly dependent on the particle size distributions (Table 5.2) and on the shear rate. Indeed, the relative viscosity considered has been taken at $50s^{-1}$. As described in Figure 5.2, from the moment when the network is percolated, puree exhibit a non-Newtonian, shear-thinning behaviour ; thus, apparent viscosity becomes highly dependent on shear rate.

From about 0.89g/100g, the power law model can't be used to fit the data, indicating the entrance in the concentrated regime (III). The relative viscosity is less and less dependent on the insoluble solids content whatever the grinding level observed. Regarding each particle size distribution separately, we can notice that the insoluble solids content which allow the entrance in the concentrated regime is dependent on the particle size distribution. Indeed, if NG enters in the concentrated regime from about 0.89g/100g, MG and HG purees need a higher insoluble solids content to reach this domain. Knowing that polydispersity has an impact on the medium congestion and on the ability to reach bigger volume fraction at the same viscosity (Servais *et al.*, 2002), results observed here support the hypothesis that individual cells (HG) are less rigid than cluster cells (NG), as it has also been observe on the amount of pulp in Table 5.1. This domain can be fitted by a logarithmic fit (Figure 5.6C). This approach recalls the theory of consolidation used to described compaction in clay paste and cement-based materials. In this theory, the decrease of void between particles generated by the compaction can be fitted by a logarithmic law as a function of the applied stress (Khelifi *et al.*, 2013).

The maximum volume fraction is known to increase with polydispersity, sphericity and deformability (Barnes, 2000; Taylor, 1932). Polydispersity, by leading to a better packing, may induce lower rheological properties. However, in our case, the highest rheological parameters are observed for the more polydisperse samples (NG). Polydispersity can't explained the observed differences between our samples. The lower rheological constants observed for HG and MG can therefore be explained by two parameters : the loss of rigidity and a more spherical shape induced by grinding. In the NG puree, suspension is mainly composed of clusters. As discussed earlier, the architecture of the clusters may induce constraints on the cells walls, limiting their ability to deform and to pack (volume decrease). Assuming that clusters are more rigid than individual cells, one can explain that NG rheological constants are higher than HG rheological constants. Thus, as HG is mainly composed of individual cells, more spherical and less rigid, it induces a decrease of its rheological constants. The observed results are therefore the consequence of a competition between the increase of the apparent volume and the loss of rigidity accompanied by a better sphericity induced by grinding : The impact of shape and deformability having

a predominant effect.

The critical concentrations of regime change were defined by calculating the intersection between the models used to fit each regime (Table 5.2). During the transition from the diluted regime to the intermediate regime, critical concentrations IS_1^{est} observed, both in dynamic and flow, are of the order of 0.3g/100g whatever the grinding level. IS_1^{est} values are slightly superior for the data acquired in dynamic (respectively 0.334, 0.367 and 0.352 for NG, MG and HG) compared to values obtained in flow (respectively 0.268, 0.274 and 0.304 for NG, MG and HG). These differences could possibly be due to the accuracy of the measurements, since it is noticeable that R^2 values are better for the data acquired in flow in the diluted regime. For the transition from the intermediate regime to the concentrated regime, we note that IS_2^{est} increases as the particle size decreases. In other words, a larger number of individual cells is required to fill the medium. Here too, IS_2^{est} values acquired in dynamic (respectively 1.46 and 1.52 for NG and MG) are slightly superior than the ones obtained in flow (respectively 1.32 and 1.49 for NG and MG). These slight differences on critical concentrations observed in flow and in dynamic measurements may be due to the characteristics of the tests. Indeed, in flow, the particles interact with each other and may collide. The collisions generated while shearing could therefore explain that the critical concentrations of regime changes are reached slightly earlier during flow measurements compared to dynamic measurements.

5.3.3 Volume fraction approach

In this work, we took the side not to define a volume fraction prior to analyse our results. The analysis may allow us to provide hypothesis on how to define the volume fraction of plant particles. The volume fraction defines the effective volume occupied by the particles in the total volume. As already known, the possible maximum volume fraction of hard spheres is of 74%, while on soft particles, this maximum volume fraction can be increased, due to the deformability of the particles (Barnes, 2000; Schramm, 2005). Thereby, maximum volume fractions of 99% can be observed in emulsions and foams as consequence of bubbles/droplets distortion. But, if droplets or bubbles are highly deformables and able to fit the available space, they are not able to have their volume decreased because of the fluid incompressibility. On the contrary, plant particles are compressible and able to highly pack. From a critical concentration, defined here as the IS_2^{est}, their volume is thus able to decrease. Mostly all the volume is occupied by the cells, forcing particles to decrease their volume to adapt to the available space. This critical concentration IS_2^{est} can therefore be defined as an equivalent volume fraction of 1, corresponding to the occupation of the entire medium without modifying particle volume. Figure 5.7 represents relative viscosity as a function of ϕ_{app} defined as the ratio between the insoluble solids content and IS_2^{est}. We can observe that by translating the insoluble solids content into an apparent volume fraction, a master curve is built with no impact of the particle size distribution. The insoluble solids content at the transition between the intermediate and the concentrated domains, here called IS_2^{est}, seems thus to be a relevant parameter to access to apple cells volume fraction. A comparable approach was used by Day et al. Day *et al.* (2010b) on dynamic measurements of carrot and broccoli suspensions.

5.4 Conclusion

The impact of particle size and concentration on apple suspension rheology was investigated. Reconstructed apple suspensions (from 0g/100g up to 2.32g/100g of insoluble solids content) were dispersed in their own continuous phase (serum) and no additional thermal treatment was applied : Particle size was mastered using mechanical treatment only to preserve cell wall rigidity. Three different particle size distributions were studied : From mixture of cell clusters and individual cells up to suspensions only composed of individual cells.

This work shows that the insoluble solids content (*ie.* amount of cell walls) has a first-order effect on the rheological behaviour (dynamic and flow) of apple particle suspensions. The particle size and shape have a second-order effect on the rheological behaviour of the purees. Suspension composed of monomodal individual

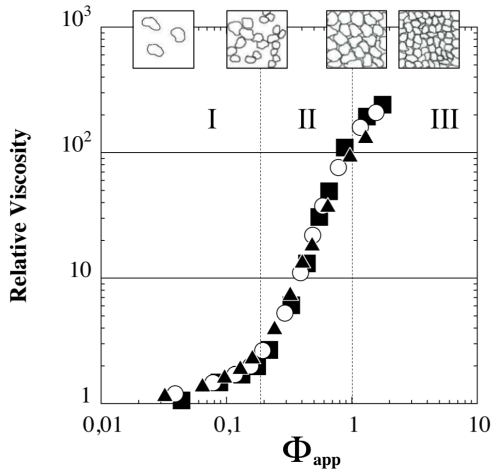


Figure 5.7 – Relative viscosity as function of volume fraction for the three particle size distributions : unground (■), medium ground (○) and highly ground (▲)

cells have a behaviour slightly different from bimodal suspensions. Whatever the particle size distribution, three concentration regimes were observed and modelled, both in flow and dynamic measurements.

The diluted domain exhibit Newtonian behaviour. In this domains, particles are distant enough to flow freely, both size and shape have a little effect on suspension's rheology. No elastic modulus or yield stress can be measured in the diluted domain. The intermediate domain corresponds to the building of the network between the particles. In this domain, suspensions exhibit an elastic response with the appearance of an elastic modulus and a yield stress. The dependency of rheological constants increase slightly with the insoluble solids content. Moreover, in the transition region, particle size and shape impact both dynamic and steady state measurements. Finally, in the concentrated domain, particles begin to pack and their equilibrium volume decreases with the increase of the concentration. Cluster-cells appear to be more rigid and less deformable than individual cells. Cluster-cells are able to reach both intermediate and concentrated regimes at lower values of insoluble solids content compared to those of MG and HG.

Volume fraction of apple cells of several particle size distributions was estimated and allowed to build a master curve capable to describe the behaviour of the suspensions in flow.

These observations allow to master the final texture of this kind of product, allowing better control of the textures, perceived consistency or graininess (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2012). In this article, we also showed that a very small amount of particles allows to structure the medium by creating a weak gel. The knowledge gained thereby brings interesting prospects for stabilization of juices, allowing in particular to limit the use of additives.

Acknowledgements

The research leading to these results has received funding from the European Union's Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration under grant agreement number 311754. We would also like to thank Gabrielle Moulin for her technical support.

À RETENIR

Cette étude nous a permis de mettre en évidence les principaux paramètres influant sur les propriétés rhéologiques des purées de pommes. En combinant traitements mécaniques, séparation centrifuge et remélange, nous avons pu construire une vaste gamme de purées de pommes variant en concentration en particules et en granulométrie.

La quantité d'insolubles en suspension a été identifiée comme le paramètre de premier ordre influant sur les propriétés rhéologiques des purées de pommes. La morphologie des particules en suspension a été identifiée comme paramètre de second ordre.

Trois domaines de concentration ont été mis en évidence, correspondant à la structuration du milieu selon la quantité de particules :

Le domaine dilué À faible quantité d'insolubles, les particules ne remplissent pas tout l'espace et interagissent peu les unes avec les autres. Les suspensions ne présentent ni module élastique, ni seuil d'écoulement.

Le domaine intermédiaire Les particules encombrent de plus en plus le milieu et un réseau percolé entre les particules se crée, générant l'apparition d'un module élastique et d'un seuil d'écoulement. Les propriétés rhéologiques des suspensions augmentent à mesure que les particules remplissent l'espace disponible. Les propriétés rhéologiques des suspensions dépendent très fortement de la quantité d'éléments insolubles. L'apparition d'un caractère rhéofluidifiant en lien avec la désorganisation de la suspension en écoulement est observée.

Le domaine concentré En milieu très encombré, les particules sont donc contraintes de se déformer et de se comprimer pour s'adapter à l'espace environnant. La dépendance des propriétés rhéologiques à la quantité d'insolubles n'est plus aussi marquée.

Pour chaque domaine de concentration, un modèle d'ajustement a été proposé.

La morphologie des particules permet, à quantité d'insolubles équivalente, de jouer sur les propriétés rhéologiques des suspensions dans les domaines intermédiaire et concentré. Ainsi, les purées contenant des amas de cellules (grosses particules de forme irrégulière, présentant des irrégularités de surface) présentent des propriétés rhéologiques plus importantes que celles observées pour les suspensions ne contenant que des cellules individuelles (particules de plus petite taille, ayant une forme plus régulière). Ces différences ont également été attribuées à une différence de rigidité globale des particules. Les amas de cellules ayant une architecture structurée plus complexe que celle des cellules individuelles, nous faisons l'hypothèse que les amas de cellules ont une rigidité globale plus importante que les cellules individuelles.

Une approche de la fraction volumique apparente des suspensions a été proposée, correspondant au ratio de la quantité d'éléments insolubles sur la quantité d'éléments insolubles à l'entrée dans le domaine concentré. Cette proposition a permis la construction d'une courbe maitresse regroupant le comportement en écoulement des trois distributions de taille de particules sur l'ensemble de la gamme de concentration étudiée.

Chapitre 6

Effet de la phase continue sur les propriétés rhéologiques de purées de pommes modèles

L'effet de la phase continue sur les propriétés rhéologiques des suspensions de particules végétales est peu étudié dans la littérature. Pourtant, la phase continue représente près de 99% en masse de la purée de pommes, il semble donc pertinent d'aller regarder de plus près comment celle-ci influence les propriétés rhéologiques des purées de fruits et légumes.

Pour répondre à cette question, nous avons fait le choix de déconstruire totalement la purée de pommes et de construire des milieux modèles représentatifs. Nous avons donc extrait les parois végétales des purées de pommes - principales responsables de la texture, de la structure et donc des propriétés rhéologiques des purées - pour les remettre en suspension dans des milieux aqueux de composition chimique et de viscosité contrôlées : notre souhait étant de maitriser au mieux la composition des suspensions, tout en restant pertinents par rapport au produit réel.

Nous avons également souhaité maitriser la distribution granulométrique des particules, c'est pourquoi les parois végétales ont été extraites en combinant tamisage humide et séchage chimique. Deux tailles de particules ont ainsi été sélectionnées pour cette étude : l'une correspondant à des cellules individuelles, et l'autre à des amas de cellules.

Nous avons ainsi pu construire de manière raisonnée neuf suspensions mères de distributions granulométriques et de compositions chimiques différentes. Pour chacune de ces suspensions, jusqu'à 19 niveaux de concentration en insolubles ont été réalisés pour observer l'effet de la phase continue sur les propriétés rhéologiques des suspensions dans les trois domaines de concentration précédemment définis (cf. Chapitre 5).

Dans ce travail, nous essayerons de répondre aux questions suivantes :
- Est-il possible de construire des systèmes modèles de suspensions de particules végétales pertinents ?
- La phase continue influe-t-elle sur les propriétés rhéologiques des suspensions de particules végétales ? Si oui, dans quel(s) domaine(s) ?
- Peut-on observer un effet lubrifiant de la phase continue ?

Comment la viscosité de la phase continue impacte les propriétés rhéologiques de suspensions modèles de cellules de pomme ?

Cassandre Leverrier[a], Giana Almeida[a], Paul Menut[a,b], Gérard Cuvelier[a]

[a] *UMR Ingénérie Procédés Aliments, AgroParisTech, Inra, Université Paris-Saclay, 91300 Massy, France*
[b] *Montpellier SupAgro, 34060 Montpellier, France*

Résumé

Des suspensions modèles de cellules de pomme ont été développées. Les comportements rhéologiques de suspensions de cellules individuelles et d'amas de cellules ont été observés séparement, en suspendant entre 0,145g/100mL et 3,48g/100mL de particules dans cinq milieux modèles et dans le sérum de pomme original. Dans un premier temps, la capacité à reproduire le comportement rhéologique de vraies purées de pommes a été évalué. Puis, l'effet de la phase continue sur les propriétés des suspensions dans les trois domaines de concentration a été estimé.

Les suspensions modèles reproduisent avec succès le comportement rhéologique de vraies purées. En particulier, les amas de cellules permettent de reproduire avec succès le comportement de purées de pommes bimodales, suggérant que les particules de formes irregulières dominent le comportement rhéologique de la purée toute entière.

En dynamique, la phase continue renforce le réseau dans le domaine intermédiaire, particulièrement quand la phase continue contient des polymères. Dans le domaine concentré, les valeurs de G' sont les mêmes quelle que soit la phase continue, les propriétés élastiques étant essentiellement gouvernées par les interactions entre les particules.

Les phases continues contenant des polymères donnent les seuils d'écoulement les plus importants dans le domaine intermédiaire mais les plus faibles à haute concentration en particules, en raison d'effet de lubrification. Les suspensions de cellules de pomme dans l'eau donnent les seuils d'écoulement les plus hauts dans le domaine concentré, en raison d'interactions inter-particules plus fortes.

Dans le domaine dilué, la viscosité des suspensions est dominée par la viscosité de la phase continue. Dans le domaine intermédiaire, à mesure que la teneur en insolubles augmente, les différences entre les suspensions tendent à diminuer. Dans le domaine concentré, toutes les suspensions ont des viscosités comparables. Un effet lubrifiant de la phase continue a été observé dans ce domaine. Les pectines contenues dans le sérum semblent être le meilleur lubrifiant.

Conclusions principales

- Les suspensions modèles reproduisent avec succès le comportement rhéologique de véritables purées de pommes
- Les propriétés élastiques de suspensions concentrées de cellules individuelles et d'amas de cellules de pomme sont essentiellement gouvernées par les interactions entre particules
- La contrainte seuil des suspensions est influencée par la composition de la phase continue
- Un effet lubrifiant de la phase continue a pu être observé dans le domaine concentré

Cet article a a été soumis au Journal *Food Hydrocolloids*

How does the viscosity of the continuous phase impact rheological properties of model suspensions of apple cells ?

Cassandre Leverrier[a], Giana Almeida[a], Paul Menut[a,b], Gérard Cuvelier[a]

[a] *UMR Ingénérie Procédés Aliments, AgroParisTech, Inra, Université Paris-Saclay, 91300 Massy, France*
[b] *Montpellier SupAgro, 34060 Montpellier, France*

Abstract

Model suspensions of apple cells were developed. Rheological behaviour of individual cells and cell clusters suspensions were observed separately, suspending from 0.145g/100mL to 3.48g/100mL of particles in five model media and in the original apple serum. First, the ability to reproduce the rheological behaviour of real apple purees was investigated. Then, the impact of the continuous phase on the rheological properties of the suspensions in the three concentration domains was assessed.

Model suspensions successfully reproduce the rheological behaviour of real apple purees. In particular, cell clusters greatly reproduce the behaviour of complex bimodal apple purees, suggesting that particles of irregular shape dominate the rheological behaviour of the whole puree.

On dynamic properties, the continuous phase reinforces the network in the intermediate domain, especially when the continuous phase contains polymers. In the concentrated domain, G' values are the same whatever the continuous phase, elastic properties being essentially governed by particle interactions.

Continuous phases containing polymers give higher yield stress values in the intermediate domains but lower yield stresses at high concentrations in particles, due to lubricating effect. Apple cell suspensions in water give the highest yield stress value in the concentrated domain, due to higher particles interactions.

In the diluted domain, suspensions' viscosity is dominated by the viscosity of the continuous phase. In the intermediate domain, as the insoluble solids content increases, differences between the suspensions tend to decrease. In the concentrated domain, all suspensions exhibit comparable viscosities. A lubricating effect of the continuous phase was observed in this concentrated domain : pectins contained in the serum seem to be the best lubricant.

Highlights

- Model suspensions successfully reproduce the rheological behaviour of real purees
- Elastic properties of concentrated suspensions of apple cells and cell clusters are essentially governed by particle interactions
- Yield stress of the suspensions is influenced by the composition of the continuous phase
- A lubricating effect of the continuous phase is observed in the concentrated domain

6.1 Introduction

Many food products are composed of soft particles. Rheological behaviour of soft particles' suspensions is not well defined yet but it is known to be driven by the volume fraction of the particles and their mechanical properties (Shewan & Stokes, 2015). Numerous studies thus tend to approach, understand and model rheological properties of soft particles suspensions either on real or model systems. Agar microgels particles are a soft particle model extensively used in literature (Adams *et al.*, 2004; Barrangou *et al.*, 2006; Heyes & Brańka, 2009; Shewan & Stokes, 2015; Yan *et al.*, 2009). They owe their success to their high practicality since their mechanical properties or their size can easily be controlled (Yan *et al.*, 2009). Through their use, understanding the rheology of soft particles suspensions seems to be more accessible and the knowledge in their modelling seems to be more specific (Adams *et al.*, 2004; Shewan & Stokes, 2015). However, if this model can approach the rheology of

numerous suspensions of soft particles, specific morphology or shape of certain particles, their interactions with each other and with the solvent can not be completely reproduced by agar microgels suspensions. Indeed, the rheological behaviour of the particles being closely linked to particle interactions (friction), their deformability, porosity, the way they pack and change their volume during the flow (Shewan & Stokes, 2015), the specificities of certain particles can not be imitated by agar microgels. This is the case of plant particles.

Fruits and vegetable purees are suspensions obtained by cooking and grinding the flesh of one or several fruits and vegetable. Fruit flesh is composed of cells called parenchyma cells. These cells, whose size varies according to the fruit, are delimited by a primary cell wall. Such cell walls are mainly composed of insoluble polymers (cellulose, hemicellulose) and soluble ones (pectins). The middle lamella keeps the cells together. During cooking, pectins contained in the middle lamella will solubilize and weaken the structure formed by the cells (Waldron *et al.*, 2003; Sila *et al.*, 2009). The fruit flesh will therefore become detached, releasing cell clusters of heterogeneous size, individual cells and cell fragments (Jarvis *et al.*, 2003). Cooking also solubilizes a portion of the pectins contained in the cell wall, making it less rigid and more porous (inside and outside the cell can easily communicate). Fruit puree obtained thereby is thus composed of a dispersed phase, the plant particles (plant cells without turgor), suspended in an aqueous continuous phase mainly composed of water, polymers (pectins), sugar and ions (Rao *et al.*, 1986).

Plant particles are thus hollow particles, empty, only composed of a wall to delimit them, leaving the continuous phase flow freely through the walls and filled with this continuous phase. Their volume varies according to the available space in the medium, cells or clusters being more or less expanded. These plant particles have the particular characteristic of being highly deformable without specific form (once cooked) and without specific volume. They are able to pack when the concentration increases and thus their volume tends to decrease (Bayod, 2008).

Recent studies try to understand the rheological behaviour of plant particle suspensions taking into account many criteria such as variety (Day *et al.*, 2010b; Lopez-Sanchez *et al.*, 2011a), particle size (Day *et al.*, 2010a; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013, 2012) or process (Bayod *et al.*, 2007; Christiaens *et al.*, 2012; Lopez-Sanchez *et al.*, 2011b; Espinosa *et al.*, 2011), but few tried to approach plant particle systems via model systems (Hemar *et al.*, 2011; Vetter *et al.*, 2001; Kunzek *et al.*, 1997; Moelants *et al.*, 2013b). The complexity and variability, especially in size, of real systems is a real brake on the understanding of these systems. Nevertheless, from these studies emerged the following conclusions : The size, distribution, morphology, particle content and continuous phase (mainly sugar and pectins) impact the rheology of plant particles suspensions. The volume fraction is not determined yet by consensus. However, concentration domains were highlighted on carrot (Day *et al.*, 2010a), broccoli (Day *et al.*, 2010a) and apple suspensions (Leverrier *et al.*, 2016). Finally, plant cell suspensions are composed of both individual cells and cell clusters (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013) and the hypothesis of a higher rigidity of clusters because of a more complex architecture has been raised (Lopez-Sanchez *et al.*, 2012; Leverrier *et al.*, 2016). Therefore, their irregular shape and their complex architecture may give to cluster suspensions different intrinsic properties when compared to individual cells (Leverrier *et al.*, 2016).

It is now established that plant cell content has a main role on the rheological behaviour of suspensions (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013; Leverrier *et al.*, 2016; Day *et al.*, 2010b), but few studies focus on the impact of the continuous phase on plant cells suspensions. In 2003, Vetter & Kunzek (2003a) studied the effect of diluted solutions of potassium acetate, malic acid and fructose on the rehydration properties of apple cell wall material and on its rheological behaviour. They showed that both swelling kinetics and rheological behaviour depend on the continuous phase. However, they only focused on ionic interactions, using very low viscosity solutions to suspend their apple cell wall material, and did not investigate the impact of the particle content.

More recently, Hemar *et al.* (2011) investigated the rheological behaviour and the micro-structural properties of rehydrated washed carrot powder in presence of xanthan, on a wide range of particle content. They showed that the addition of xanthan affects the rheological behaviour of the suspensions at low content of particles, but this effect was marginal at high particle content. They also observed that the viscoelastic properties were dominated by the particle network in the concentrated domain.

In this work, we want to investigate the impact of the continuous phase viscosity and composition on the rheological behaviour of apple cell suspensions on a wide range of particle content. To do so, model suspensions

of apple cells were used to better control the insoluble solids content and the continuous phase composition. Five controlled aqueous solutions were used as model continuous phases, varying in viscosity, composition and ionic strength. We want to provide answers on the contribution of the continuous phase to the rheology of concentrated suspensions of soft plant particles.

Two kind of model suspensions were thus developed from an original apple puree : one composed of individual cells and the other one of cell clusters. The relevance of these model suspensions compared to real ones will be evaluated. We also want to assess the impact of the polydispersity in this type of system composed of particles whose shape and rigidity depend on the particle size : Small particles (individual cells) are highly deformable and regular in shape, while large particles (clusters) are assumed to be less deformable and irregular in shape (Leverrier *et al.*, 2016).

6.2 Material and methods

6.2.1 Plant material and processing conditions

A single batch of mature Golden Delicious (*Malus domestica* Borkh. cv Golden Delicious) was transformed into puree by a french manufacturer (Conserves France) following an industrial hot break process.

6.2.2 Preparation of model particles

These steps allow the isolation of controlled size plant particles (cell walls) from the original puree. Particle size distribution of the original puree was modified by mechanical treatment (5000 rpm for 15 sec) using a Grindomix GM200 (Retsch GmbH, Germany) prior to wet sieving.

Wet sieving was performed on diluted ground puree (1 part of demineralized water to 1 part of ground puree) using 5 different mesh sieves (80, 125, 180, 250 and 355 μm to obtain individual cells and 125, 180, 250, 355, 500 μm to obtain cell clusters) with demineralized water until the degree brix reached zero (± 0.2). Individual cells were obtained by mixing the sieve fractions from the mesh sieves 80 and 125 μm. Cell clusters were selected on the 250 μm mesh sieve. Sieved fractions were dried by solvent exchange following the cold alcohol insoluble solids (AISc) procedure described in the work of Renard (Renard, 2005) which include several washing steps in ethanol and acetone solutions. This protocol is known to maintain an intact cell structure (Müller & Kunzek, 1998).

6.2.3 Preparation of continuous phases

Four aqueous solutions were prepared to be used as controlled continuous phases and are described in Table 6.1. NaCl solution was prepared by dissolving Sigma Aldrich Sodium Chloride powder in distilled water to form 0.1%w/w NaCl solution. Carboxylmethylcellulose solutions (CMC) were prepared from CMC sodium salt low viscosity Sigma Aldrich. CMC powder was dissolved in 20°C distilled water under gentle stirring until completely dissolved. Two CMC concentrations were achieved : 1%w/w and 3.2%w/w. Sucrose solution was prepared from industrial sugar and dissolved in distilled water to obtain a 48%w/w sucrose solution. The density of each solution was determined using a pycnometer. Electrical conductivity of each solution was determined using a conductimeter (sensION EC5, Hach Lange, France). Particles have also been suspended in the native serum of the apple puree, obtained by centrifuge separation (Leverrier *et al.*, 2016). Apple serum is known to be a complex fluid, slightly shear thinning at high shear rate with a Newtonian plateau at low shear rate (Rao *et al.*, 1986), the properties of apple serum used in this work are itemized in Table 6.1. The choice of sucrose, NaCl and CMC concentrations for model continuous phases was carried out in respect to the properties of the original continuous phase. The five controlled aqueous phases exhibit a Newtonian behaviour in flow, except for the concentrated solution of CMC which is slightly shear thinning. Two orders of magnitude in viscosity are explored.

Table 6.1 – Physico-chemical properties of continuous phases

	Viscosity at $100s^{-1}$ *mPa.s*	Density *at 25°C*	Conductivity $\mu S/cm$
Water	1.0 ± 0.2	1.000	0.80 ± 0.1
NaCl 0.1%	1.1 ± 0.2	1.000	1751 ± 15
Sucrose 48%	12.8 ± 0.3	1.219	18 ± 1
CMC 1%	12.6 ± 0.1	1.006	2000 ± 30
CMC 3.2%	108 ± 2	1.018	6000 ± 210
Apple Serum	13 ± 2	1.051	1731 ± 22

6.2.4 Particle dispersion

Dried apple particles were suspended in the controlled aqueous media varying in viscosity, density and ionic strength as summarized in Table 6.1. For every aqueous phase, a stock dispersion was prepared (3.48 g/100mL) by gently dispersing apple cell powder in the suspended medium. The stock dispersion was left at room temperature during 3h to ensure full hydration of apple cell particles (see Results Fig. 6.2). All the dispersions were then diluted from the stock dispersion using the appropriate aqueous phase and then stored at 4°C overnight. Up to 19 concentrations were realised in each continuous phase ranging from 0.116 g/100mL to 3.48 g/100mL. Before measurements, all dispersions were centrifuged (8250g, 10min, 20°C, 50mL) to avoid the presence of air bubbles in the samples and then gently stirred.

6.2.5 Particle Size Distribution

The particle size distribution was obtained using a laser diffraction analyser (Mastersizer 2000, Malvern Instruments). Samples were dispersed in distilled water (refractive index : 1.33). The refractive index of vegetable cells is estimated to be 1.52 and the absorption was set at 0.1 (Espinosa *et al.*, 2011; Espinosa, 2012; Day *et al.*, 2010b). Measurements were made in triplicate. The particle size distribution of model particles was measured after rehydration (section 6.3.1).

6.2.6 Sorption measurements

Hygroscopic analysis was performed using a DVS Intrinsic apparatus (Surface Measurement Systems, London, UK). An ultra-sensitive micro-balance allows measurement of sample mass variation as low as 0.1 μg. Approximately 10 mg of individual cells was inserted in the sample pan. In this device, a constant flow of nitrogen gas is mixed with a pre-set amount of water vapour. Nitrogen passes then through the chamber to maintain the desired relative humidity level. The accuracy on the air relative humidity is of $\pm$ 0.5% and is of $\pm$ 0.1°C on the temperature. Sorption cycle started at 0% relative humidity (RH), the dry mass was determined at the end of this plateau. Isotherm was measured at 25°C. Adsorption/desorption cycles of relative humidity (RH) ranged from 0%-92%-0%. The instrument maintained a constant RH for 360 minutes ; preliminary tests showed that the rate of change in mass per time unit (dm/dt) was less than 0.0005% per minutes for each RH value.

6.2.7 Microscopy

The global structure of individual cells and clusters in powder form was observed using an Environmental Scanning Electronic Microscope (ESEM, FEI Quanta 200) using the following conditions : secondary electrons detector, mode low vacuum, pressure of 80 Pa, voltage of 5kV and a spot size of 4.

The primary cell wall was observed using a field emission Scanning Electron Microscope (SEM FEG) Model LEO 1530 (Leo Electron Microscopy Ltd, Zeiss, Oberkochem, Germany) operated at an accelerating voltage

of 10 kV and a diaphragm of 30 μm. The non-conductive sample was first coated with tungsten (Q150TS, Quorum Technologies).

Light microscopy was used to observe the structure of the samples in suspension. Two μL of each samples were placed onto a glass slide and covered with a cover slip. Samples were observed with a 2X or a 10X objective lens using an Olympus BX51 microscope in phase contrast.

6.2.8 Rheological Measurements

The rheological measurements were performed using a stress controlled rheometer (MCR301, Anton Paar) equipped with large gap coaxial cylinders (CC18.92, inner radius : 9.46 mm ; outer radius : 14.46 mm ; gap : 5.00 mm, gap length : 40.00 mm). Viscosities of continuous phases were measured using double gap cylinders (DG26.7). Steady state measurements and dynamic measurements were carried out.

Suspension stability to settling was checked using a Turbiscan^{TM} LAB (Formulaction), which showed that sedimentation time is negligible compared to measurement time (Leverrier *et al.*, 2016). The only exception was for diluted suspensions in water and in NaCl, for which sedimentation rate was too high to ensure reliable measurements.

To have a control of the loaded samples history, a pre-shear of $50s^{-1}$ was applied on purees during $2min$ followed by a resting step of $10min$ before every measurement. For highly diluted products, the pre-shear step was not performed. All rheological measurements were performed at 20°C at least in duplicates.

Steady state measurements

Flow curve A round trip of shear rates distributed logarithmically was applied from $10s^{-1}$ to $250s^{-1}$, each shear rate was applied for 1 minute. Apparent viscosity is taken at $50s^{-1}$.

Flow curve of highly diluted products Shear rate was increased from 0.1 to $100s^{-1}$ (logarithmic ramp) for a total duration of 10min. Apparent viscosity was obtained in the Newtonian plateau at low shear rate.

Continuous phase viscosity Shear rate was increased from 10 to $1000s^{-1}$ (logarithmic ramp) for a total duration of 8min. Continuous phases and serum viscosities were obtained at $100s^{-1}$, which is in the Newtonian plateau of the shear thinning samples.

Oscillatory measurements

Oscillatory strain sweep A strain sweep from 0.015% to 150% was performed at constant pulse (10 rad/s) measuring 11 points per decade, with no time settings. The values of G' and G'' are taken in the linear domain. The yield stress value was taken as the stress value obtained at the intersection of G' and G'' (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013; Leverrier *et al.*, 2016).

6.3 Results and discussion

6.3.1 Impact of cell wall preparation protocol on plant particles rehydration

The cell wall preparation process gave a powder, only composed of dry cell walls. The impact of the drying step on cells' ability to rehydration was investigated prior to study the properties of the soft particle suspensions obtained in controlled aqueous media.

Figure 6.1 is a micrograph obtained by environmental scanning electron microscopy which illustrates the state of the dry plant particles, in powder form. Clear structural differences can be observed between the individual cells (left) and clusters (right) obtained thereby. On the image corresponding to dry individual cells, two individual

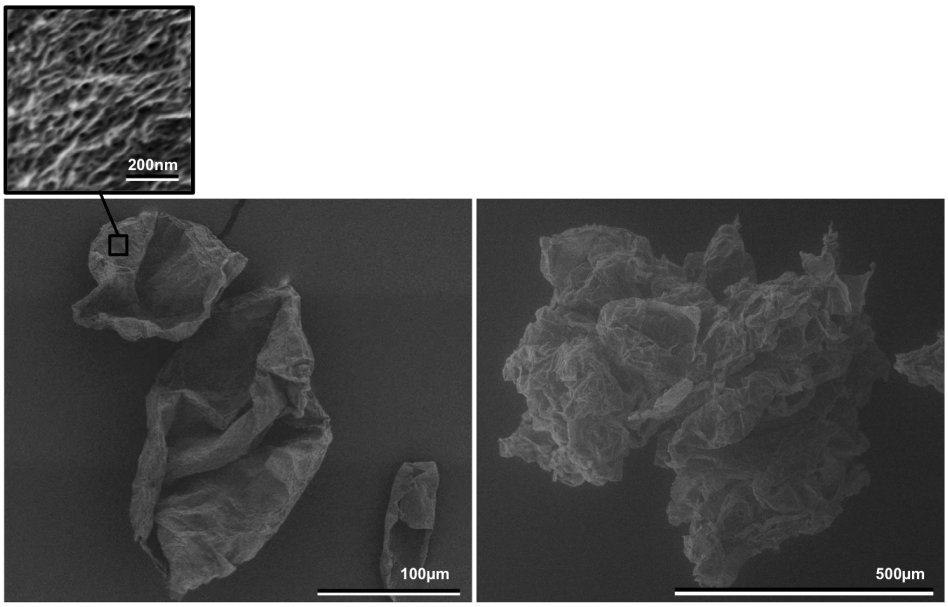


Figure 6.1 – Environmental scanning electron microscopy (ESEM - low vacuum mode) of the dried individual (left) and clustered (right) cells. Scale bars are not of the same length on both images to permit a better observation of one entire particle of each size. The inset corresponds to the surface of the cell wall, observed with SEM

cells and a fragment of cell are observed. It is noteworthy that the global cell shape is maintained, plant cells keep their integrity even after grinding, wet sieving and drying. However, drying step induces cells' collapsing. The cell wall exhibits many folds, proof of a persistent rigidity even after the heat treatment (hot break) performed on the crushed apples to obtain the puree used here as raw material (see 6.2.1).

Regarding the image of dry cluster (Figure 6.1), the structure of the particles is quite different. A cell cluster is actually observed, cells remain attached to each other even after the particles' isolation process (grinding, wet sieving, drying). However, the integrity of the cells at the cluster's periphery has not always been maintained. Indeed, as one can see, some peripheral cells are torn, ripped, which gives to the cluster a very irregular shape. On peripheral cells' fragments, the cell walls are wrinkled, folded, which is another proof of a residual rigidity of the walls, even on ripped peripheral cells.

On the surface of the cell wall (Figure 6.1, inset), the cellulose felt is observed. Pores of about 10 nm are observed, which is in good agreement with what is found in the literature (Carpita *et al.*, 1979; Rajashekar & Lafta, 1996). The presence of these pores on the surface of the wall supports the idea that the inside and outside of the cell communicate easily through a porous wall.

Figure 6.2 shows the impact of cell wall preparation on the physical properties of the particles. Sorption isotherms of individual cells at 25°C (Figure 6.2, upper left) show that this material is very hygroscopic, with an equilibrium moisture content of 40%db when setting sample into contact with a relative humidity of 92% (ie, the sample has adsorbed 40g of water per 100g of dry wall). This test also permits us to conclude that the plant cell powder is anhydrous at the end of the drying step (data not shown).

Once suspended in water, dry particles are thus able to rehydrate. The particle size distribution of the particles after rehydration was measured, results are shown on Figure 6.3. As one can see, particle size distributions obtained after the cell wall preparation are monomodal and centered on $180\mu m$ for individual cells and on $440\mu m$ for cell clusters. According to microscopic observations, individual cells exhibit regular shapes while cell clusters are less regular in shape (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013; Leverrier *et al.*, 2016), which confirms the observation

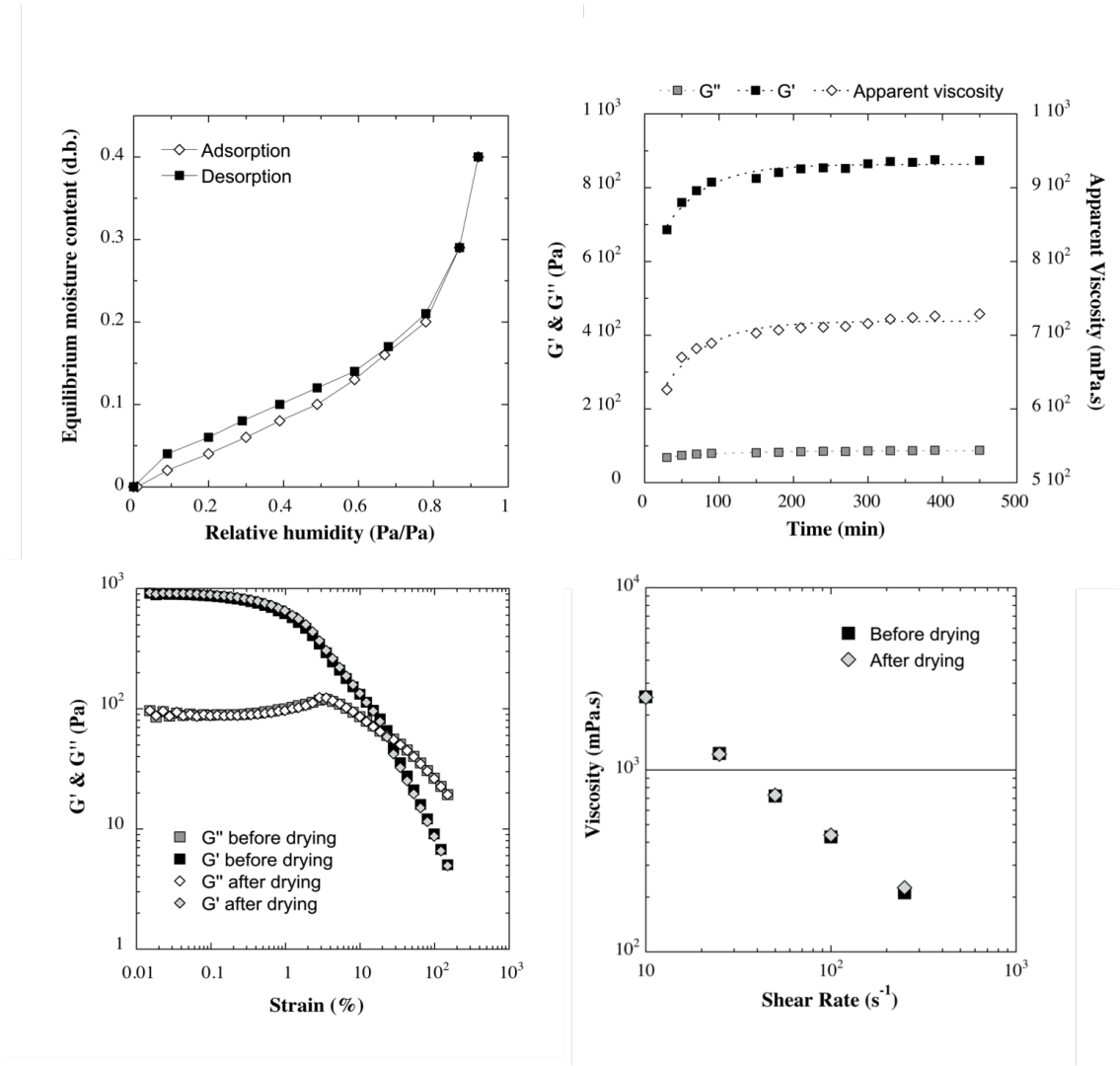


Figure 6.2 – Effect of drying on the particles. Upper left : Sorption isotherms at 25°C of individual dry cells. Upper right : Time evolution of G', G'' and of the apparent viscosity of resuspended dry individual cells at the insoluble solids content of 1.35g/100mL. Bottom left : Impact of drying on dynamic properties. Bottom right : Impact of drying on flow properties.

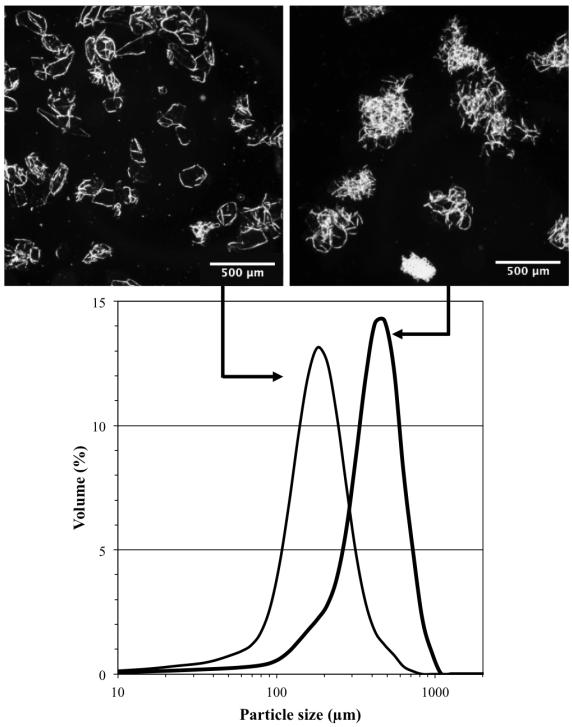


Figure 6.3 – Particle size distributions of model suspensions. The thin continuous line corresponds to individual cells and the thick continuous line corresponds to cell clusters obtained following protocol 6.2.2

made on the dry particles Figure 6.1. We can also notice that, after the rehydration step, the cell structure and the cluster structure are maintained. Indeed, we can clearly see aggregates of cells on the microscopic image corresponding to cell clusters. Thus, the cell wall preparation process maintains the integrity of both individual cells and cell clusters. The irregularities and tears shown on clusters' peripheral cells on Figure 6.1 may result of the manufacturing step to produce the apple puree.

The cell isolation protocol generates classes of monomodal particles, varying in size and shape, while maintaining the same intrinsic rigidity of the cell walls since no additional heat treatment was performed on the purees. Nevertheless, the complex architecture of the clusters may lead to greater rigidity of the particle (Leverrier *et al.*, 2016).

Figure 6.2 (upper right) shows the evolution of rheological properties of a 1.35g/100mL individual cell suspension in demineralized water over time. It is noted that the rheological properties, especially G' and the apparent viscosity, increase notably during the first three hours after suspending. After 3 hours, the rheological properties of the suspension continue to rise only very slightly and seem to converge towards a plateau value. Thus, we considered that the properties of model suspensions had reached a constant value after 3 hours of rest. Mechanical properties of plant walls suspensions are gradually recovered, which may be a potential consequence of a swelling kinetic of the cell walls (Vetter & Kunzek, 2003a).

Figure 6.2 (bottom left and right) compare the rheological properties of individual cell suspensions, before and after drying ($+3h$ of rehydration), at equivalent cell wall content. It is quite remarkable that drying does not affect the properties of suspensions. Rheological behaviour, both in dynamic and flow, is recovered after drying and redispersion. Indeed, four parameters are used to characterize the behaviour of such concentrated suspensions : the elastic and viscous moduli, the yield stress and the apparent viscosity under shear. In our case,

we recover the same values for these parameters before and after drying. Those results proved that the drying step applied in the present work does not alter in any way the mechanical properties of hydrated plant cell walls in suspension. Similar results were observed on cell cluster suspensions (data not shown) and in literature by Kunzek et al. (Müller & Kunzek, 1998; Vetter & Kunzek, 2003b).

6.3.2 Properties of model suspensions, comparison with real purees - Impact of polydispersity and relevance of model suspensions

The isolated and dried particles are able to rehydrate and regain their pre-drying properties, thus confirming that the chemical drying does not affect mechanical properties of the suspensions. However, suspensions observed on Figure 6.2 are suspended in water. We have also checked that model suspensions are relevant when compared to real apple purees, which have not undergone any additional treatment which may affect cell walls. In this part, we will observe the effect of particles' size and shape on rheology, we will verify that model suspensions in serum successfully illustrates the behaviour of real apple purees and finally we will evaluate the effect of polydispersity on the properties of these soft non-spherical particles' suspensions.

Figure 6.4 represents the apparent viscosity of model suspensions of individual cells and cell clusters in serum as a function of insoluble solids content. As in real apple purees (Leverrier *et al.*, 2016), three concentration domains are observed. Table 6.2 lists the parameters used to fit the apparent viscosity of individual cell and cluster suspensions as a function of the total insoluble solids content in the 3 concentration domains.

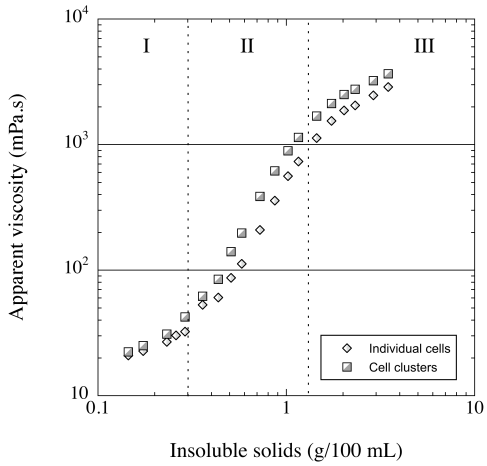


Figure 6.4 – Apparent viscosity as a function of insoluble solids content of individual cells and cell clusters in serum. Concentration domains are materialized by I, II, III, respectively for the diluted, the intermediate and the concentrated domains

At low concentration, in the diluted domain, particles' size and shape have a little impact on suspensions' rheology. Indeed, at insoluble solids contents lower than 0.3g/100mL, one can observed that viscosities of individual cell and cluster suspensions are superposed. The flow in this domain follows a Newtonian behaviour and can be fitted by a linear relationship (Table 6.2) (Leverrier *et al.*, 2016). In this domain, particles are able to flow freely and no network has been built yet between the particles. This behaviour is quite similar to what can be observed on real diluted apple purees (Leverrier *et al.*, 2016). Compared to real purees, the slope in the diluted domain being slightly higher for model suspensions (respectively 4.11 and 4.48 for real purees composed of individual cells or containing clusters, and 6.12 and 7.85 for individual or clustered apple cells model suspensions).

When increasing the insoluble solids content, viscosity increases and differences between individual cell and cell cluster suspensions appear. In the intermediate domain, relative viscosity of cluster suspensions becomes higher than the one of individual cell suspensions at the same insoluble solids content. As in real suspensions, relative viscosity can be fitted by a power law in this transition domain (Table 6.2). Indeed, relative viscosity varies approximately as the square of the amount of insolubles (2.39 for individual cells and 2.51 for clusters) for model suspensions such as reconstituted purees (Leverrier *et al.*, 2016). The dependency to the concentration is more pronounced in the case of clusters suspensions, probably due to their size and irregular shape which facilitate the network formation and bring it greater rigidity. This domain corresponds to the building of the network between particles (Leverrier *et al.*, 2016), elastic properties become measurable (data not shown). Thereafter, we will see the impact of the continuous phase on the network structure (section 6.3.3).

Table 6.2 – Equations and parameters used to fit the relationship between the rheological properties and the insoluble solids content (IS) of individual cell and cluster suspensions in the three concentration regimes in flow measurements (Leverrier *et al.*, 2016). The experimental data where fitted using KaleidaGraph 4.5.2 software. IS_1^{est} corresponds to the intersection between the curves used to fit the regimes I and II, and IS_2^{est} corresponds to the intersection between the curves used to fit the regimes II and III

	I	IS_1^{est}	II	IS_2^{est}	III
	linear		power law		power law
	$\eta_{rel} = aIS + b$		$\eta_{rel} = aIS^b$		$\eta_{rel} = aIS^b$
Individual cells	$a = 6.12$		$a = 36.5$		$a = 74.3$
	$b = 0.66$	0.34	$b = 2.39$	1.45	$b = 0.87$
	$R^2 = 0.99$		$R^2 = 0.99$		$R^2 = 0.99$
Cell clusters	$a = 7.85$		$a = 62.0$		$a = 113.1$
	$b = 0.63$	0.30	$b = 2.51$	1.41	$b = 0.76$
	$R^2 = 0.99$		$R^2 = 0.98$		$R^2 = 0.99$

Between 1 and 2 g/100mL, one can observe the entrance in the third concentration domain. Here too, the particle size and shape impact on the rheological behaviour of the suspensions. This domain seems to be successfully modelled using a power law. Clusters' suspensions enter in this third domain earlier than single cell suspensions (cf. Table 6.2), possibly because of the irregular shape of clusters (Leverrier *et al.*, 2016).

The transition' concentrations IS_1^{est} and IS_2^{est} were defined as the mathematical intersection of equations used to fit the concentration domains. Insoluble solids content at the transition between concentration domains appears to depend on the size and shape of the particles : the more particles are large and irregular, more transition concentrations are low. Model suspensions' behaviour seems to be very close to real apple purees' behaviour in flow, whatever the concentration domain of interest.

Figure 6.5 represents relative viscosity as a function of insoluble solids content for model suspensions compared to real apple purees. The particle size distributions of model and real suspensions are shown in the upper part of the Figure.

On the left side of the graph are compared a highly grinded puree (results from Leverrier *et al.* (2016)) and the suspension of individual cells suspended in the same serum. The particle size distributions of the two suspensions are very close : monomodal distributions centered respectively on 150 and 180 μm. Relative viscosities of the two suspensions (real and model) are almost superposed whatever the concentration domains. The slight differences observed between real and model suspensions can be due to the slightly larger size of model particles, inducing a slightly higher occupied volume.

On the right side of the graph are compared two real purees containing cell clusters (results from Leverrier *et al.* (2016)) and the suspension of clusters, suspended in the same serum. The particle size distributions of real apple purees are both bimodal and contain in one case, a majority of clusters and in the other, a majority of individual cells. These purees came from the same batch of raw material as the model suspensions (see 6.2.1), therefore the intrinsic rigidity of the walls is the same for all suspensions. If we look at the relative viscosity of the

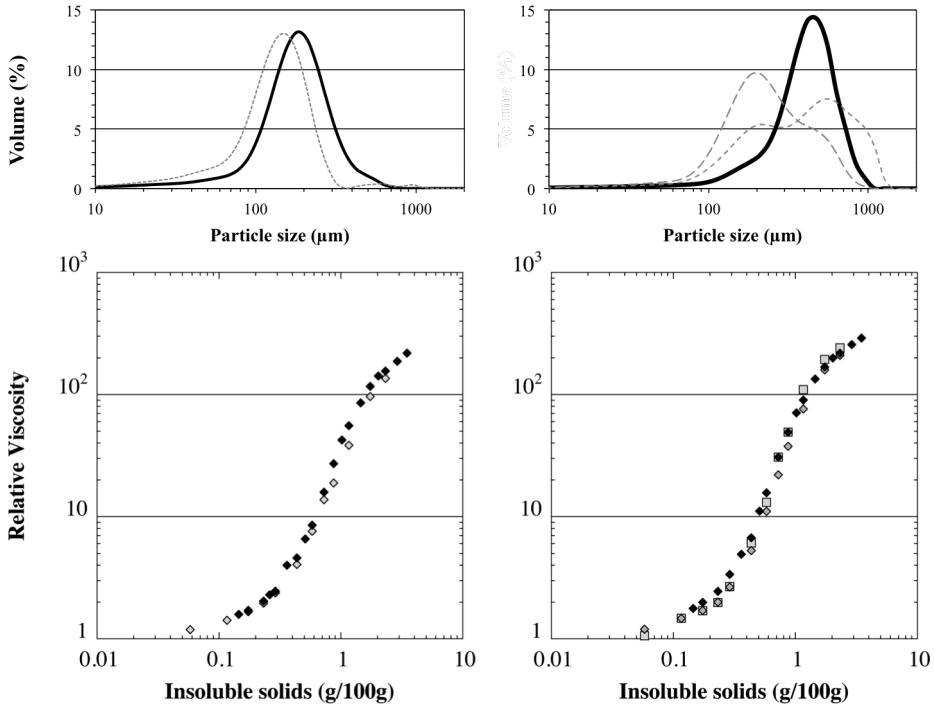


Figure 6.5 – Particle size distributions (upper side) and relative viscosity (lower side) of model suspensions composed of individual cell (left) and cluster (right) suspensions in serum compared to real apple purees of several grindings. Data of real purees were taken from the article of Leverrier *et al.* (2016). Black symbols and lines correspond to model suspensions and grey symbols and dashed-lines correspond to real purees. For the two real purees containing clusters, grey squares represent the puree composed of a majority of clusters and grey lozenges, the one with a majority of individual cells

three suspensions, we note that they are almost superposed, despite their very different particle size distributions. The slight differences between relative viscosity of real suspensions compared to model suspensions may be due to the differences of polydispersity. However, how can we explain so close behaviour with highly different particle size distributions ? Suspensions considered here are suspensions of soft particles, highly deformable. We can thus hypothesise that polydispersity only have a little impact on the overall rheology of the system and that the first order factor affecting rheology, at equivalent insoluble solids content, would be the particles' asphericity. The more the particles are irregular, the higher is the viscosity (and more generally, the higher are the rheological properties (Leverrier *et al.*, 2016)). In our case, it is difficult to decorrelate the size and shape effects, however it seems that irregular particles tend to increase rheological properties of the system.

6.3.3 Effect of the continuous phase on rheological behaviour of apple cells model suspensions

The impact of the continuous phase on rheological properties of apple cell suspensions was evaluated both in dynamic and flow over a wide range of concentrations. The objective of this section is to observe the impact of the continuous phase on the structure of the network. Previously, we observed that the suspensions containing cell clusters or individual cells have a comparable rheological behaviour but the suspensions containing clusters have greater rheological constant values. The transition from the intermediate domain to the concentrated domain was lower for suspensions containing clusters. To facilitate reading the charts, suspensions of single cells

and cell clusters will be presented separately.

Dynamic properties

Figure 6.6 represents the evolution of the elastic modulus as a function of insoluble solids content for the suspensions in all the different continuous phases.

As expected, G' is not measurable in the diluted domain, neither on individual cell suspensions or cluster suspensions. Particles are not interacting with each other and the volume fraction of plant cells is too low to build a particulate network.

Upon entry into the intermediate area, elastic properties become measurable, indicating the existence of a weak network between the particles. G' values depend on the continuous phase. For individual cells (Figure 6.6), we can observe that lowest values of G' are exhibited by model suspensions in Water or NaCl. Highest values of G' being obtained by suspensions in CMC solutions of 1% and 3.2% or in serum. Thus, when the continuous phase contains polymers, G' is higher. This observation is also done for cluster suspensions. Continuous phase thus seems to be involved in the creation of the network between the particles when it contains polymers. When comparing both sides of Figure 6.6, one can see that G' becomes measurable earlier in the case of cluster suspensions. Cell clusters thus seem to be able to build a network at lower concentration than individual cells, certainly because of their irregular shape.

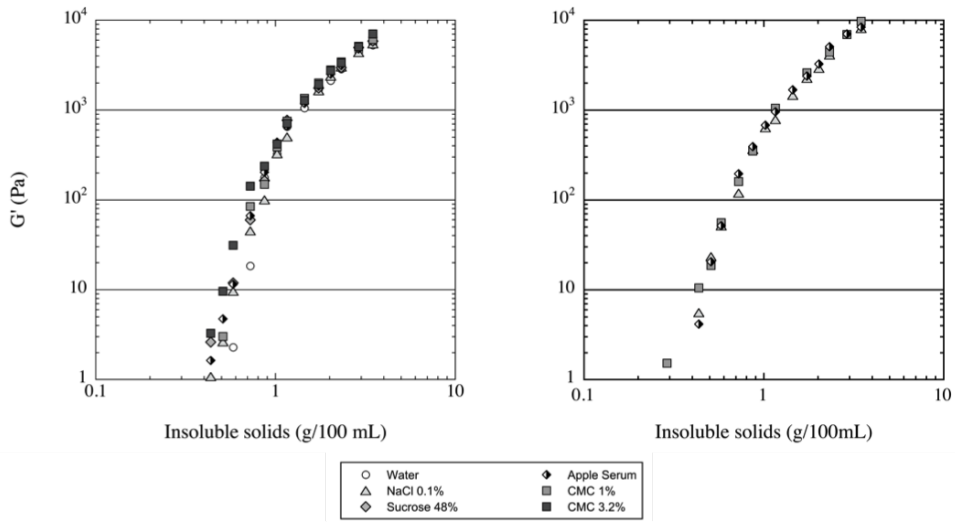


Figure 6.6 – Elastic modulus as a function of insoluble solids content for individual cell (left) and cluster (right) suspensions in controlled continuous phases and serum.

In the concentrated regime, it is clearly seen that the impact of the continuous phase is negligible. Indeed, G' values of all suspensions are superposed in this domain. G' evaluates mechanical properties of the particles and their network. As we can see, the particles and the network built do not depend on the continuous phase in the concentrated domain, even when the continuous phase contains soluble polymers. In the concentrated domain, the rheological behaviour is therefore directed by the insoluble solids content. These observations are valid for both individual cell and cluster suspensions.

In 2015, Hemar *et al.* (2011) investigated the impact of xanthan addition in model suspensions of carrot cells. They demonstrated that at high particle content, the effect of xanthan on the rheological properties of their suspensions becomes marginal, viscoelastic properties of the suspensions being dominated by the particles

network. We can conclude that although the shape and the rigidity of apple (in our case) and carrot (in their case) particles are different, the continuous phase does not impact on the viscoelastic properties of concentrated suspensions of plant particles. For them too, at intermediate concentrations, the continuous phase and the plant cell walls contribute to the viscoelastic behaviour.

Figure 6.7 shows the effect of the continuous phase on the yield stress of the individual cell and cell cluster suspensions. The yield stress marks the transition from the resting state of the system and its state under flow.

First, we note that cluster suspensions exhibit a yield stress at lower insoluble solids content than individual cell suspensions. This observations is in good agreement with previous remark indicating that the network is being built earlier in cluster suspension compared to individual cell suspensions.

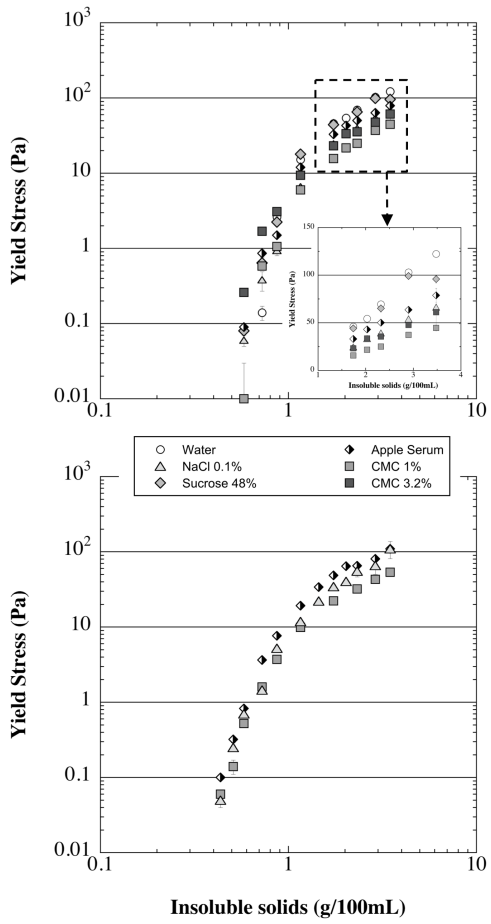


Figure 6.7 – Yield stress as a function of insoluble solids content for individual cells (upper side) and cell clusters (bottom side) in controlled continuous phases and serum.

On the upper side of the Figure 6.7, is shown the yield stress of individual cell suspensions for several insoluble solids content. As one can see, up to 0.87g/100mL, highest yield stress values are obtained by the suspensions in the CMC 3.2% solution. This observation is explained by the presence of a high content of polymers in the continuous phase. From 0.87g/100mL, suspensions in CMC 3.2% solution do not exhibit the highest yield stress values anymore. On the contrary, it is noteworthy that suspensions realised in CMC solutions of 1 and

3.2% exhibit the lowest yield stresses. Highest yield stresses are obtained by suspensions in water and in sucrose solution. This result is all the more surprising since the viscosity of water is the lowest observed in this study. However, it can be explained by the lubricating properties of polymer solutions. The impact of polymers was not visible on the elastic properties of suspensions in the concentrated domain (Figure 6.6), because elastic properties give information on the particulate network strength, deformations being too low to highlight lubricant properties. The yield stress materialize the transition from the resting state to the flow state. The ability of the polymer to lubricate contacts at the very beginning of the flow is highlighted here. Indeed, when the particle concentration is high, the particles are in contact with each other, and the frictional forces induced by the flow are high. When the continuous phase does not contain polymers, the particles are in direct contact : Flowing therefore requires a high yield stress. When the continuous phase contains polymers, polymers are trapped in the interstitial voids between particles (Hemar *et al.*, 2011) and stuck between particles at rest : Flowing is therefore facilitate by the limitation of direct contacts between particles.

To explain the low values of yield stresses of the suspensions in NaCl compared to the one obtained in water or in sucrose solution (see insert Figure 6.7), we hypothesised that particles undergo electrostatic repulsion in water and sucrose solution, which are greatly reduced in NaCl solution. Indeed, the cell walls are polymers assemblies. Among these polymers, the plant cell walls contain pectins, heteropolysaccharides rich in galacturonic acid, whose contains carboxyl groups which generate electrostatic repulsions. Whatever the continuous phase and the concentration of plant particles, suspensions exhibit a pH of between 3 and 5. These acidic pH is consistent with the hypothesis of ionized carboxylic groups on the particles in suspension, regardless of the studied continuous phase. The charged cell walls may be subject to electrostatic repulsion. In the presence of ions in the solvent medium, a Debye layer can be created screening repulsions between particles. In distilled water, the conductivity is extremely low, reflecting its very low ionic strength, which, to a lesser extent, is also true for the sucrose solution. Since electrostatic repulsions are not screened by charges contained in the continuous phase, we hypothesise that an unstable electrostatic equilibrium is created locally at contact areas between the particles and inhibits their ability to flow, thus inducing higher yield stress values. In other words, in this electrostatic state, it is difficult for particles to flow and change their position to go from one electrostatic potential to another (Barnes, 2000). This effect was proved for suspensions of colloidal particles (Barnes, 2000), and appears to be a credible assumption in this case.

Apple serum is at an intermediate position between continuous phases inducing lower yield stress values (containing polymers) and continuous phases generating high yield stress values (because of electrostatic repulsions). That intermediate behaviour is explained by the fact that, if a solution contains several soluble substances (here, sugar, pectin and others), their effects can influence each other (Vetter & Kunzek, 2003a).

Regarding the bottom side of the Figure 6.7, the same results are observed. Suspensions in CMC 1% solution exhibit the lowest yield stresses, and yield stress of model suspensions can be classified in the following order : $\sigma_{cmc1\%} < \sigma_{NaCl} < \sigma_{Serum}$.

Flow properties

The great deformability of plant particles makes the approach viscosity / volume fraction really hard since no volume fraction of particles could be determined satisfactorily over a wide concentration range. The literature reports a strong impact on the amount and the micromechanics of particles without being able to actually quantify it. Nevertheless, the existence of concentration domains guiding the rheological behaviour of soft plant particles' suspensions has been demonstrated on carrot purees (Day *et al.*, 2010b) and on apple purees (Leverrier *et al.*, 2016). Figure 6.8 confirms the existence of these concentration domains in flow curves, also for reconstituted suspensions of plant particles, and whatever the continuous phase.

In the diluted domain, the impact of the continuous phase is high, and the viscosity of model suspensions is dominated by the viscosity of the continuous phase. Looking at the relative viscosity, one can notice that, in the diluted domain, all suspensions exhibit the same relative viscosity, meaning that the contribution of particles to the suspensions' viscosity is the same.

When increasing the insoluble solids content, the differences between suspensions tend to decrease. Conti-

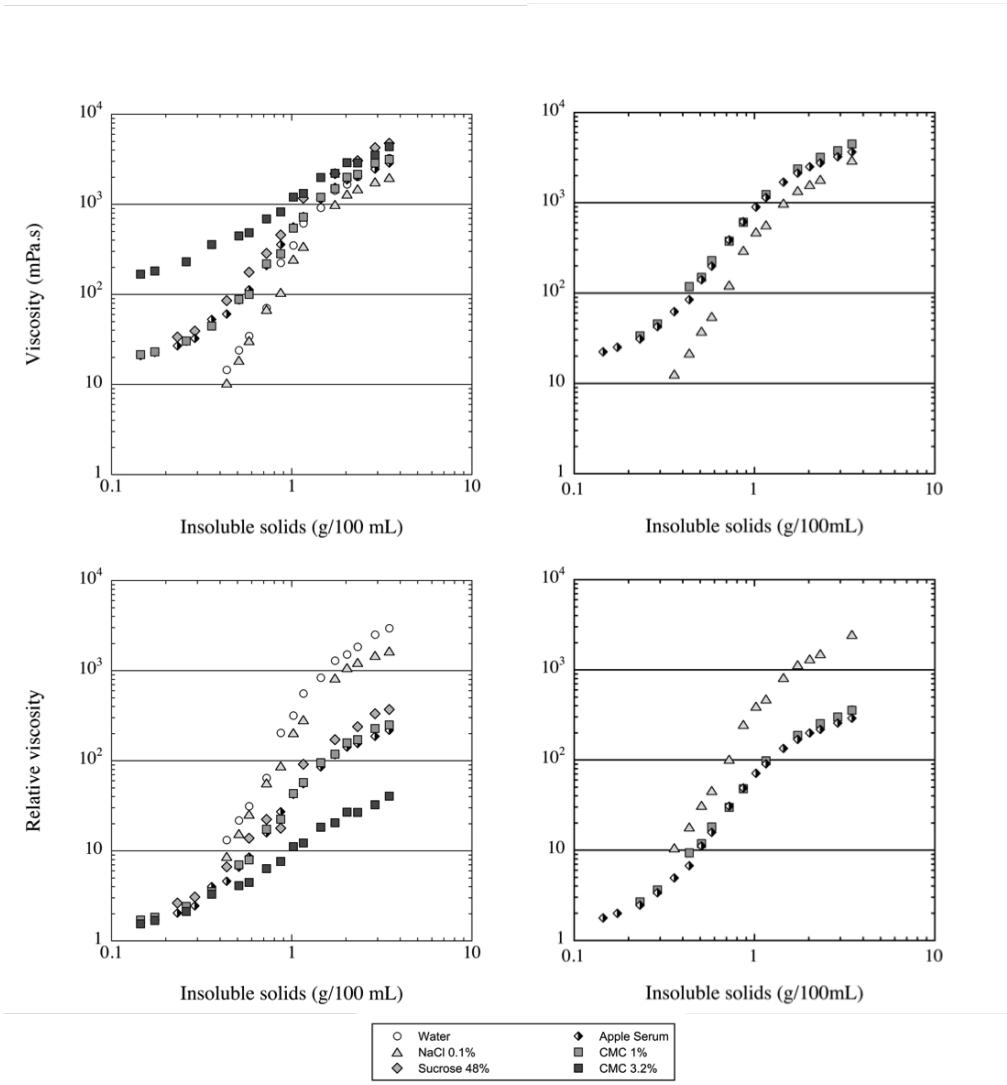


Figure 6.8 – Viscosity (upper side) and Relative Viscosity (lower side) of model suspensions composed of individual cells (left) and cell clusters (right) in controlled continuous phases and in serum.

nuous phase seems to have no impact on the transition concentrations. In the concentrated domain, the continuous phase continues to impact the rheological behaviour of the model suspensions but its impact decreases as the particles' concentration increases.

In the concentrated domain, the rheological behaviour of the suspension is no longer dominated by the continuous phase, and all the concentrated suspensions have similar viscosities. As shown on Figure 6.8, the viscosity of the continuous phase strongly impacts the apparent viscosity of the suspensions, whatever the insoluble solids content up to the entrance in the concentrated domain. Indeed, when the viscosity of the continuous phase is increased, the viscosity of the suspension increases. This is not true in the concentrated domain. One can observe that, for the most concentrated purees, the highest viscosity is obtained by the one dispersed in the sucrose medium of 13 mPa.s. The viscosity of highly concentrated suspensions can be ordered as follow : Sucrose 48% > CMC 3.2% > Water > CMC 1% > Serum > NaCl 0.1%. Thus, a continuous phase of high viscosity such as CMC 3.2% generates highly concentrated suspensions of lower viscosities than those made in sucrose solution of intermediate viscosity. This could be the result of a combination between the

viscosity of the continuous phase and its lubricating power. Indeed, the presence of polymers in the continuous phase may generate a lubricating effect. When the polymers are entangled, the rheological behaviour of the polymer solution may exhibit shear-thinning properties. For continuous phases considered here, the amount of polymer is not sufficient for a marked shear thinning effect. However, in crowdy medium as it is the case in the concentrated domain, the polymers are highly constrained between the plant particles and limit the friction between the particles improving thereby their ability to flow. Figure 6.8 thus allows to highlight the potential lubricating effect of the continuous phases used. Looking at the relative viscosity, whether differences between diluted suspensions tend to be erased, this representation highlights the differences in concentrated medium and allows comparison between the suspensions of equivalent continuous phase viscosity. If one focuses on concentrated suspensions in continuous phases of 13 mPa.s, we note that largest relative viscosities are obtained for the suspensions in sucrose solution, then in the CMC solution and finally in the original apple serum. Viscosity of the continuous phase being equivalent, these differences in concentrated suspensions are therefore due to a lubricating effect. The sucrose solution, which contains no polymer, proves to be little lubricant as compared with CMC or serum solution. Apple serum appears to be in our case the most lubricating solution of 13 mPa.s. This strong lubricating power could be attributed to the presence of soluble pectins in the medium. Indeed, the high lubricity of pectin compared to other polymers was highlighted by Stokes et al. in a tribological approach (Stokes *et al.*, 2011).

In 2012, Espinosa (2012) has shown that adding pectins in the continuous phase of apple purees decreases the *grainy* mouthfeel on apple purees containing clusters. The assumption of a lubricant role of pectins was made, inducing a lower perception of *grainy* feeling and inducing a *velvety* perception.

In 2015, Appelqvist *et al.* (2015) have shown that the addition of xanthan or pectin in the continuous phase of carrot purees reduces the particles perception (*grainy* mouthfeel) and the *throatcatching* while increasing the *creaminess*. They also attributed these effects to the lubricating effects of the polymers, creating less friction between the particles allowing the particles to slip rather than stick to the mouth and throat surfaces. This lubricant effect perceptible in mouth on carrot purees containing polymers is thus also measurable instrumentally on models suspensions of apple cell, whatever the particle size.

6.4 Conclusion

The impact of the continuous phase on model suspensions' rheology was investigated. To do so, apple particles of controlled sizes were isolated by wet sieving prior to be dried. Two monomodal particle size distributions were selected : one corresponding to individual cells, the other corresponding to cell clusters.

This work shows that model suspensions of apple cells and cell clusters are able to successfully reproduce the rheological behaviour of real apple purees. The impact of polydispersity seems to be nearly negligible in such soft particle suspensions, the shape of the particles having a more important impact. The rheological behaviour of complex bimodal apple purees was successfully reproduced by monomodal model suspensions of clusters, whatever the concentration domain.

This work also shows that the continuous phase impact all the concentration domains of the suspensions in flow. In the diluted domain, the rheological behaviour of model suspensions was shown to be dominated by the viscosity of the continuous phase. The observed differences decrease when the insoluble solids content increases. In the concentrated domain, the continuous phase do not play a major role on the viscosity of the suspensions but a lubricating effect was observed for continuous phases containing polymers. Apple serum seems to be the best lubricating phase thanks to the pectins it contains. Ionic strength and density seem to have a negligible impact on flow properties of the suspensions in most cases.

On dynamic properties, the continuous phase was shown to help structuring the network in the intermediate domain, but no effect of the continuous phase was observed on the elastic modulus of concentrated suspensions.

This work helps to provide answers on the importance of the polydispersity and of the continuous phase on the rheological behaviour of soft plant cells suspensions. The two major contributions of this work being the low impact of polydispersity on the rheology of suspensions containing irregular shaped particles, and the

independence of elastic properties to the continuous phase for concentrated suspensions.

Finally, this work highlights the strong potential of insoluble fibers (apple cell wall) as structuring texture agent when prepared in conditions preserving their properties.

Acknowledgements

The research leading to these results has received funding from the European Union's Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration under grant agreement number 311754. We would also like to thank Gabrielle Moulin and Serife Kaymaz for their technical support.

À RETENIR

En combinant traitement mécanique et tamisage humide, nous avons pu sélectionner deux tailles de particules correspondant à des cellules individuelles ($180\mu m$) et à des amas de cellules ($440\mu m$). Ces cellules isolées ont ensuite été séchées pour permettre leur conservation à long terme. Après réhydratation, elles retrouvent des propriétés quasi-identiques à celles des cellules et amas initiaux.

Pour mettre en évidence l'effet de la phase continue, des suspensions modèles présentant des distributions granulométriques et des phases continues de viscosité et composition différentes ont été construites à façon. L'effet de la quantité d'insoluble a été retrouvé pour chacune de ces suspensions. L'effet de la phase continue sur les propriétés rhéologiques des suspensions dans les trois domaines de concentration précédemment définis a pu être étudié. Par cette méthode, nous avons ainsi été capables de déconstruire complètement le système afin d'observer indépendamment les effets de la phase continue et de la morphologie des particules.

Les suspensions modèles mises au point pour cette étude reproduisent fidèlement le comportement rhéologique de purées de pommes. Nous avons pu mettre en évidence que la présence d'amas de cellules en suspension tend à faire augmenter les propriétés rhéologiques des suspensions (G', seuil, viscosité) et semble gouverner le comportement rhéologique global de purées réelles : le comportement rhéologique de purées réelles de distributions bimodales contenant à la fois des amas de cellules et des cellules individuelles est proche de celui de purées modèles uniquement constituées d'amas de cellules dispersés.

Les propriétés élastiques des suspensions concentrées sont essentiellement gouvernées par les interactions entre les particules. Ainsi, le module élastique des suspensions concentrées n'est pas significativement différent, quelle que soit la phase continue utilisée, y compris si la phase continue contient des polymères. Par contre, en domaine de concentration intermédiaire, la présence de polymères dans la phase continue contribue à la structuration et à l'élasticité du réseau.

La composition de la phase continue influence les propriétés rhéologiques en écoulement dans les trois domaines de concentration. En domaine dilué, la viscosité de la phase continue domine, logiquement, les propriétés des suspensions. En domaine intermédiaire, l'influence de la viscosité de la phase continue s'amoindrit avec la concentration croissante en particules. Enfin, dans le domaine concentré, la viscosité de la phase continue ne domine plus, mais ses éventuelles propriétés lubrifiantes sont mises en évidence. Ainsi, à viscosité comparable, une phase continue contenant des polymères engendrera une suspension de viscosité plus faible qu'une suspension dans une phase continue de même viscosité ne contenant pas de polymères. Cet effet a été attribué à une diminution de la friction entre les particules en écoulement, due à la présence de polymères dans la phase continue. Cet effet a également été observé sur le seuil d'écoulement des suspensions : les suspensions concentrées réalisées dans des phases continues contenant des polymères présentant des seuils d'écoulement plus faibles que celles ne contenant pas de polymères.

Chapitre 7

Approche de la fraction volumique et modélisation

La fraction volumique des suspensions de particules végétales n'est, à ce jour, pas clairement définie dans la littérature. Comme nous l'avons discuté dans le *Chapitre 2 - Les suspensions de particules végétales*, il existe différents moyens d'accéder à la quantité de particules en suspension mais aucun ne permet un accès direct à la fraction volumique effective du milieu.

Dans le *Chapitre 5 - Effet des paramètres de structure sur les propriétés rhéologiques des suspensions de particules végétales*, nous avons initié notre approche de la fraction volumique en définissant la fraction volumique apparente des suspensions de particules végétales comme le rapport de la quantité d'insolubles sur la quantité d'insolubles à l'entrée du domaine concentré. Cette définition nous a ainsi permis de construire une courbe maitresse regroupant les données acquises en écoulement pour des purées de pommes de trois distributions de taille différentes.

Dans ce Chapitre, nous souhaitons aller plus loin dans la compréhension et la modélisation des propriétés rhéologiques des suspensions de particules végétales en fonction de la fraction volumique. Nous avons donc adapté un modèle issu de la rhéologie des suspensions de particules molles colloïdales pour modéliser le comportement en écoulement de nos systèmes. L'influence des paramètres de structure et de la phase continue sur les paramètres d'ajustement du modèle sera évaluée.

Les résultats décrits dans cet article ont pour but de répondre aux questions de recherche suivantes :
- La fraction volumique précédemment définie est-elle pertinente ?
- Existe-t-il un modèle d'écoulement permettant de modéliser le comportement de suspensions de particules végétales sur une large gamme de concentration ?

Modélisation de la viscosité de suspensions de cellules végétales

Cassandre Leverrier, Gérard Cuvelier, Giana Almeida, Paul Menut

[a] *UMR Ingénérie Procédés Aliments, AgroParisTech, Inra, Université Paris-Saclay, 91300 Massy, France*
[b] *Montpellier SupAgro, 34060 Montpellier, France*

Résumé

Les purées de pommes sont des suspensions concentrées de particules non-sphériques et très déformables. Ces particules sont délimitées par une paroi cellulaire végétale et remplies par la phase continue. Sous contrainte ou lorsque la concentration en particules augmente, elles se compriment, ce qui rend difficile la détermination de leur fraction volumique réelle et la compréhension de leurs propriétés rhéologiques. En général, le comportement rhéologique des suspensions de particules végétales est décrit par trois domaines de concentration. Dans ce travail, un moyen d'accéder à la fraction volumique effective des particules et un modèle décrivant la dépendance de la viscosité à la concentration sur une large plage de concentration sont proposés. Le modèle proposé s'ajuste avec précision aux résultats expérimentaux obtenus sur des purées de pommes de distributions granulométrique variables et sur des suspensions modèles reconstituées dans plusieurs phases continues. Les paramètres du modèle tiennent compte de la rigidité et de l'asphéricité des particules, et mettent également en évidence les changements de propriétés rhéologiques des suspensions modèles dues à la phase continue, comme par exemple l'effet de la lubrification. L'intérêt de prendre en compte la polydispersité du système sera également discuté. Ce travail offre des perspectives intéressantes pour l'industrie des fruits et légumes transformés et a permis une avancée certainement vers la modélisation de ces systèmes.

Conclusions principales

- La fraction volumique apparente peut être évaluée à partir des propriétés rhéologiques des suspensions
- Pour modéliser la viscosité, une fraction volumique effective a été définie. Elle prend en compte la compressibilité des particules
- La viscosité relative des suspensions de cellules de pomme est modélisée avec succès sur une large gamme de concentration, ce qui n'a jamais été fait à notre connaissance sur ce type de particules

Cet article a été soumis au Journal *Soft Matter*

Modelling shear viscosity of soft plant cell suspensions

Cassandre Leverrier, Gérard Cuvelier, Giana Almeida, Paul Menut
[a] *UMR Ingénérie Procédés Aliments, AgroParisTech, Inra, Université Paris-Saclay, 91300 Massy, France*
[b] *Montpellier SupAgro, 34060 Montpellier, France*

Abstract

Apple purees are concentrated suspensions of highly deformable, non-spherical particles. These particles are delimited by a plant cell wall and filled with the continuous phase. They can reduce their volume under stress or with the increasing concentration in particles, making difficult the determination of their real volume fraction and the understanding of their rheological properties. Usually, the rheological behaviour of plant suspensions is described by three concentration domains. In this work, a way to access to the effective volume fraction of the particles and a single model describing the concentration dependence of the viscosity over a wide range of concentration are proposed. The model fit accurately the experimental results obtained on grounded purees of several particle size distributions and on model suspensions in several continuous phases. Model parameters take into account the particles stiffness and asphericity, but also highlight changes in the continuous phase properties, as lubrication for example. The interest of taking into account the polydispersity of the system is discussed. This work offers exciting prospects for the processed fruit and vegetable industry and allows some progress in modelling this type of system.

Highlights

- Apparent volume fraction of the suspensions can be defined from rheological measurements
- To model the viscosity, an effective volume fraction has been defined, taking into account particles compressibility
- Relative viscosity of apple cell suspensions was successfully modelled over a wide range of concentrations, which has never been done in literature on such type of particles.

7.1 Introduction

Food products include many examples of soft materials : emulsions (mayonnaise, milk...), foams (chocolate mousse, Chantilly, whipped egg white...), suspensions (spreadable paste, processed fruits and vegetables...)... Most of them are complex multicomponent systems, which explains the rapid expansion of the application of physics and materials science in food science and technology (Ubbink, 2012).

Suspensions of plant cells are an example of soft material encountered in food. They are obtained by cooking and grinding the flesh of a fruit or a vegetable. Its flesh is composed of cells, whose size varies according to the plant, from tens to several hundreds of microns. A plant cell wall, mainly composed of insoluble polymers, delimit the cells. During cooking, soluble polymers (pectins) contained in the middle lamella between the cell walls will solubilize and the fruit flesh disintegrates, releasing cell clusters of heterogeneous size, individual cells and cell fragments. Cooking parameters will have an impact on the particle size distribution and on the rigidity of the walls, an intensive cooking leading to more porous and less rigid cell walls, and less cell clusters in suspension. Fruit or vegetable suspensions are thus composed of a dispersed phase, the plant particles (plant cells without turgor), suspended in an aqueous continuous phase mainly composed of water, polymers (pectins), sugar and ions initially present in the fruit or vegetable.

Plant particles obtained thereby have specific structural and physical properties. They are only made of plant cell walls filled with the continuous phase, thus defining a particle whose volume varies with the concentration of the suspension (Lopez-Sanchez *et al.*, 2012; Leverrier *et al.*, 2016). These particles are porous, deformable and

compressible and can be nested in each other. Plant particles are large size non-colloidal objects, which shape and rigidity depend on plant's variety and maturity, but also on mechanical or thermal treatments undergone by the fruits. Shape and rigidity also depend on particle's internal structure : clusters of cells are larger but also more irregular in shape and more rigid than individual cells, due to their internal architecture (Leverrier *et al.*, 2016).

Suspensions of plant particles strongly resemble soft glassy materials (Roversi & Piazza, 2016), which in rheological terms are defined as "very soft solids, yet flow readily above a critical yield stress" (Chen *et al.*, 2010). The category of soft glassy material comprises foams, emulsions and star polymer gels among others. Specifically, the suspensions of plant particles could be part of the soft particle glasses, defined by Seth *et al.* (2011) as "materials made of deformable particles as diverse as microgels, emultion droplets, star polymers, micelles and proteins which are jammed at volume fraction where they are in contact and interact via soft elastic repulsions", behaving like "weak elastic solids at rest but flow[ing] very much like liquids above the yield stress".

Understanding the rheological behaviour of such suspensions and mastering parameters impacting this behaviour would be of a great interest for food industry. If the rheology of plant particle suspensions has been extensively studied in order to understand the impact of many parameters such as variety, thermal and mechanical treatments or the continuous phase (Day *et al.*, 2010b; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013), no rheological model applicable over a wide range of concentrations has been developed yet to fit the rheological behaviour of such suspensions, in flow or at rest. In general, models for the viscosity of granular or colloidal suspensions require the knowledge of the particle volume fraction, which is here difficult to estimate. Literature does not agree on one definition so far and many parameters are still used to evaluate the medium's congestion such as the insoluble solids content (Leverrier *et al.*, 2016), the water insoluble solids content (Schijvens *et al.*, 1998) or the percentage of pulp (Moelants *et al.*, 2013b). Nevertheless, three concentration domains have been highlighted on several kind of plant particle suspensions (Leverrier *et al.*, 2016; Day *et al.*, 2010a; Lopez-Sanchez *et al.*, 2012) and discussed in literature. Until now, their modelling have been limited to empirical equations, such as linear, exponential or power law fittings, which range of validity is limited to their own concentration domain.

In this article, we will propose a single model describing the viscosity as a function of the concentration over the full range of concentration investigated, taking into account the decrease of the particles effective volume when the concentration increases. To do so, a way to access the effective volume fraction of particles will be proposed. The validity of the model will be tested on real apple purees of several particle size distribution and on model suspensions of apple particles suspended in several continuous phases varying in viscosity. Adjustment parameters of the model and the interest to take into account the polydispersity of these systems will be discussed.

7.2 Material & Methods

7.2.1 Plant material and processing conditions

A single batch of mature Golden Delicious (*Malus domestica* Borkh. cv Golden Delicious) was transformed into puree by a french manufacturer (Conserves France) following an industrial hot break process. From this raw material, two kinds of suspensions were studied : grounded purees and model suspensions made of isolated apple cells dispersed in various aqueous media.

Ground purees

Three particle size distributions were obtained using mechanical treatment as described in Leverrier *et al.* (2016). By using such procedure, we argued that cell walls' rigidity won't be affected by grinding. The architecture of the particle (either individual cells or clustered) may however have an impact on its global rigidity : clusters are supposed to be more rigid when compared to individual cells (Leverrier *et al.*, 2016). Microscopic observations were made as described in Leverrier *et al.* (2016).

Model suspensions

Model suspensions composed of individual cells were also constructed from the same raw material using wet sieving and solvant exchange as described in Leverrier *et al.* (2017a). This protocol is known to maintain an intact cell structure (Müller & Kunzek, 1998). Apple particles (isolated dry individual cells) were suspended in three controlled aqueous media and in the original continuous phase of apple puree obtained by centrifugation (apple serum).

7.2.2 Particle size distributions and rheological measurements

The particle size distribution of samples was obtained using a laser diffraction analyser (Mastersizer 2000, Malvern Instruments). Samples were dispersed in distilled water (refractive index : 1.33). The refractive index of vegetable cells is estimated to be 1.52 and the absorption was set at 0.1 (Espinosa *et al.*, 2011; Espinosa, 2012; Leverrier *et al.*, 2016, 2017a; Day *et al.*, 2010b). Measurements were made in triplicate.

The rheological measurements were performed using a stress controlled rheometer (MCR301, Anton Paar) equipped with large gap coaxial cylinders following the protocols described in Leverrier *et al.* (2016, 2017a).

7.3 Results & Discussion

7.3.1 How to access the particles' volume fraction ?

Unlike hard spheres, the volume fraction of soft deformable particles is not well defined (Shewan & Stokes, 2015). For microgel suspensions, the apparent volume fraction is often linearly related to the polymer concentration C (Fernandez-Nieves *et al.*, 2011) and based on the particles' volume in diluted domain (Shewan & Stokes, 2015), where polymer networks are in their most swollen state. The volume fraction of microgels suspensions is thus frequently defined as $\phi_{app} = k_0 \times C$, where k_0 is their specific volume in diluted domain (Shewan & Stokes, 2015), determined from an Einstein-type equation.

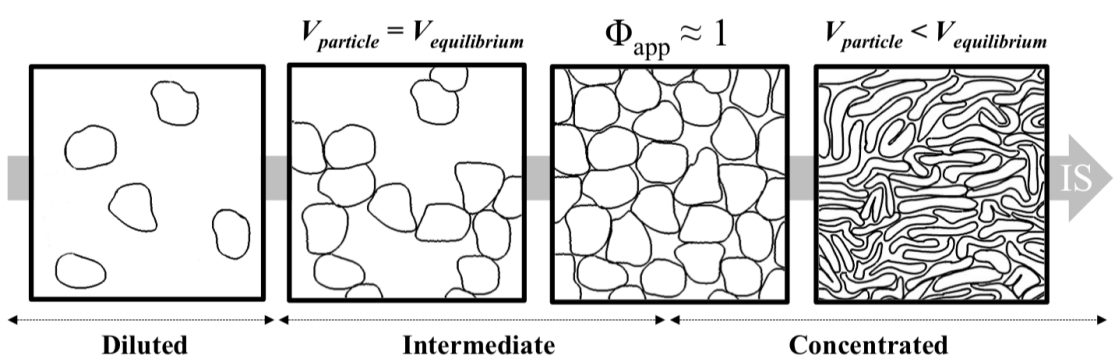


Figure 7.1 – Schematic representation of the impact of the concentration on the particles shape and size from Leverrier *et al.* (2017b)

A comparable approach has been used in 2012 by Espinosa (2012) on apple cells suspended in their own serum. To do so, she hypothesises that the volume fraction of individual apple cells can be written as

$$\phi_{app} = V \times IS \tag{7.1}$$

where V corresponds to the *voluminosity* of the cells (volume occupied by unit of mass) and IS corresponds to the insoluble solids content. The parameter V being linked to the particle size and shape. By integrating

Eq. (7.1) in a second order expression of the kind of Batchelor & Green (Batchelor & Green, 1972) such as $\eta_{rel} = \frac{\eta}{\eta_0} = \left(1 + a\phi + b\phi^2\right)$, and by analogy with the Huggins equation (defined for dilute polymer solutions as $\frac{\eta_{rel}-1}{C} = [\eta] + \lambda\,[\eta]^2\,C$) the following equation was obtained :

$$\frac{\eta_{rel} - 1}{IS} = aV + b \times IS \times V^2 \tag{7.2}$$

The parameter a, linked for spherical particles to the deformability of the particles, is known to be between 1 (for gaz bubbles) (Taylor, 1932) and 2.5 (hard spheres) (Einstein, 1906). Relying on the work of Nawab & Mason reported in Macosko (1996), parameter a was chosen to be 1.7 for individual apple cells (Espinosa, 2012). The *voluminosity* of apple cells particles was then determined from diluted suspensions measurements, allowing to define the apparent volume fraction of apple cells suspensions as $\phi_{app} = 1.3 \times IS$.

This approach provides access to ϕ_{app} and takes into account the deformability and the rigidity of the particles by setting the parameter a. However, it slightly overstates the real volume fraction occupied in intermediate and concentrated domains. Indeed, considering a linear relationship between the volume fraction and the quantity of cell wall in suspension (insoluble solids content IS) implies that the *voluminosity* of the particles is the same whatever the concentration. This is not the case, as illustrated on Figure 7.1. Three concentration domains were highlighted in literature (Day *et al.*, 2010a; Lopez-Sanchez *et al.*, 2012). In the diluted domain, particles are able to flow freely and do not interact with each other. In the intermediate domain, described as the building of a stress-bearing network between particles, particles are not able to flow freely any more and they interact directly with each other : elastic properties become measurable. Finally, the concentrated domain corresponds to a domain where particles highly deform and decrease their volume to fit the available space and to be able to flow. In diluted and intermediate domains, plant particles stay expanded. Particles can thus be seen in their equilibrium volume. Between the intermediate and the concentrated domains, particles fill all the available space without reducing their volume. In the concentrated domain, their volume is being decreased. It is therefore necessary to take into account the particle compressibility in determining their volume fraction at a given concentration.

The presence of cells fragments also restricts the use of a linear relationship between volume fraction and insoluble solid content. If plant particle suspensions are composed of cell walls having maintained their cell integrity, cell fragments are also present in the suspension. In diluted domain, cell fragments occupy a hydrodynamic volume comparable to the one of an entire cell (Figure 7.2). By cons, in intermediate or concentrated domains, their hydrodynamic volumes may be significantly lower than the ones occupied by entire cells (Figure 7.2). Thus, if the insoluble solids content is the same, the volume occupied by these particles in diluted or in more concentrated domains is not the same.

The apparent volume fraction of soft particles can also be evaluated by defining the volume fraction as the ratio of the concentration to a critical concentration. This approach is widely used in polymers' rheology where the apparent volume fraction occupied by the polymers is often defined as $\phi_{app} = c/c^*$, where c^* is the overlap concentration of polymers (Koumakis *et al.*, 2012; Mendoza, 2013). The overlap concentration is obtained using the polymer molecular weight and the radius of the sphere equivalent, considering the particles dimensions as if they were hard spheres (Koumakis *et al.*, 2012; Mendoza, 2013). It is worth noting that this approach allows volume fractions greater than 1, due to the possible interpenetration of particles (Koumakis *et al.*, 2012) and that it allows to distinguish the concentration domains.

A similar approach was applied on plant particles by Day *et al.* (2010b) on carrot cells' and broccoli cells' suspensions, and by Leverrier *et al.* (2016) on apple cells' suspensions. In the case of plant particles suspensions, the critical concentration is not calculated but is determined from dynamic (Day *et al.*, 2010b) or flow (Leverrier *et al.*, 2016, 2017a) properties of the suspensions, and corresponds to a regime change observed when the particle concentration is increased. The choice of this critical concentration is justified as corresponding to the concentration at which the particles fill all the available space and from which the particles begin to squeeze (Leverrier *et al.*, 2016), represented on Figure 7.1 as $\phi_{app} \sim 1$. Both on carrot, broccoli and apple cell suspensions (Day *et al.*, 2010b; Leverrier *et al.*, 2016, 2017a) this approach highlights concentration domains and materializes the transition between the intermediate and concentrated domains, thus defining a relevant

parameter to evaluate the volume fraction of plant particle suspensions.

Following this approach, we choose to define the apparent volume fraction of plant particles as :

$$\phi_{app} = \frac{IS}{IS_{II}} \tag{7.3}$$

where IS corresponds to the insoluble solids content of the suspension and IS_{II} corresponds to the critical insoluble solids content at the intersection between the intermediate and concentrated domains (Leverrier *et al.*, 2017a), obtained from rheological measurements.

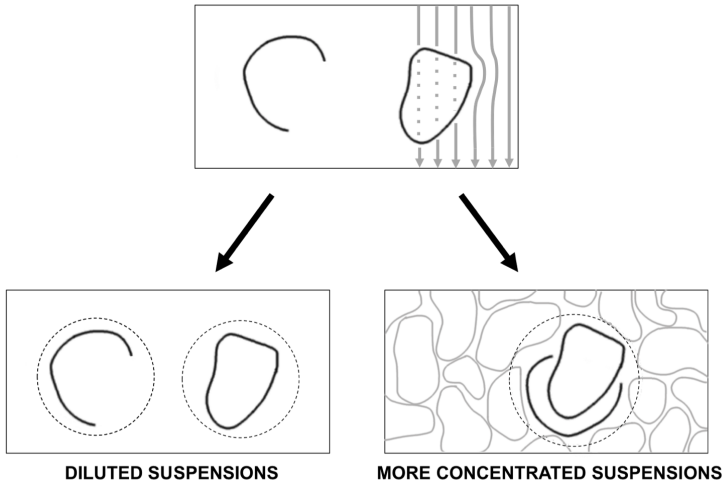


Figure 7.2 – Schematic representation of two of the plant particles specificities : cell wall porosity allows a (limited) flow through the particle (up), and presence of cell fragment allow particles interlocking in concentrated suspensions. Both phenomena may result in lower hydrodynamic volumes than expected.

7.3.2 Presentation of the model

Here, the proposed modelling of plant particle suspension viscosity is based on a previous work from Mendoza & Santamaría-Holek (2009) which showed that the viscosity of colloidal particles suspensions can be modelled by

$$\eta(\phi) = \eta_0 \times \left(1 - \frac{\phi}{1 - k \times \phi}\right)^{-[\eta]} \tag{7.4}$$

where η_0 is the continuous phase's viscosity, $[\eta]$ is an exponent without unit which can be assimilated to the intrinsic viscosity of the suspension corresponding to the specific viscosity of the suspension at very low volume fraction $\phi \longrightarrow 0$, and k is defined as follow :

$$k = \frac{1 - \phi_c}{\phi_c} \tag{7.5}$$

where ϕ_c is the critical volume fraction and is defined as the maximum volume fraction that can be reached by the system.

This expression takes into account the excluded volume and hydrodynamic interactions, and has been shown to fit with high accuracy suspensions of hard spheres (Mendoza & Santamaría-Holek, 2009), droplets (Mendoza

& Santamaría-Holek, 2010), arbitrarily-shaped hard particles (Santamaría-Holek & Mendoza, 2010) or of rigid core-shell permeable particles (Mendoza, 2011). However, Eq. (7.4) did not apply to very soft particle suspensions (Mendoza, 2013), able to decrease their volume or to interpenetrate. In more recent work, studying star polymer suspensions, Mendoza (Mendoza, 2013) suggested that a critical volume fraction greater than the ϕ_{rcp} (volume fraction at random close packing) may be reached since the particles can interpenetrate, and he proposes that the critical volume fraction follows :

$$\phi_c = \phi_{rcp} + \beta \cdot \phi^{\alpha} \tag{7.6}$$

where α and β are two adjustable parameters without unit.

This gradual increase of the critical volume fraction with the current volume fraction of the suspension is undoubtedly the major innovation proposed by this model. In his article, he justified the gradual increase of the critical volume fraction by the possible interpenetration of star polymers.

Considering that star polymers are spherical and permeable particles, Mendoza (Mendoza, 2013) defined the intrinsic viscosity as :

$$[\eta] = \frac{5}{2} \times \left(\frac{r}{R}\right)^3 \tag{7.7}$$

where r and R are the respective radius of the core and the entire particles, considering a shell-permeable periphery of thickness $R - r$.

If this model is intended primarily to fit colloidal suspensions behaviour, it is not uncommon that non-colloidal suspensions use models describing colloidal suspensions. Indeed, it is the case of the Krieger & Dougherty (1959)'s equation, often used to fit non-colloidal suspensions (Adams *et al.*, 2004; Ellis & Jacquier, 2009; Mendoza, 2013). Thus, taking into account the decrease of the apparent volume fraction of the particles during the increase of particle concentration make this model particularly suitable for plant particles.

The apparent volume fraction of the particles will thus be defined as in Eq. (7.3). In addition, intrinsic viscosity of the suspensions of plant particles cannot be defined as in Eq. (7.7), since particles are not spherical in shape. Moreover, the solvent permeability of the plant particles concern the entire cell wall, and not only a surrounding area. We have therefore instead chosen to define here a parameter S, since it may vary with the particle Sphericity (Shape), Softness, Surface irregularities and Size distribution of the suspension, giving the following equation :

$$\eta = \eta_0 \times \left(1 - \frac{\phi_{app}}{1 - \left[\frac{1-\phi_{rcp}-\beta\times\phi_{app}{}^{\alpha}}{\phi_{rcp}+\beta\times\phi_{app}{}^{\alpha}}\right] \times \phi_{app}}\right)^{-S} \tag{7.8}$$

In the following sections, we will first demonstrate that this model can be successfully applied to plant suspensions. Then, we will study the impact of the continuous phase on the parameters of the model. To facilitate interpretations of the model parameters, we will first set the value of ϕ_{rcp} at 0.637, corresponding to the random close packing fraction of monodisperse hard spheres (Mendoza, 2013). The impact of the polydispersity of apple cell suspensions on ϕ_{rcp} value will be discussed in section 7.4.2.

7.4 Validation of the model

Initially, the effect of the particles on the model parameters will be evaluated, by looking at the impact of the size distribution and of the maximum volume fraction. In a second time, the impact of the continuous phase on model parameters will be evaluated.

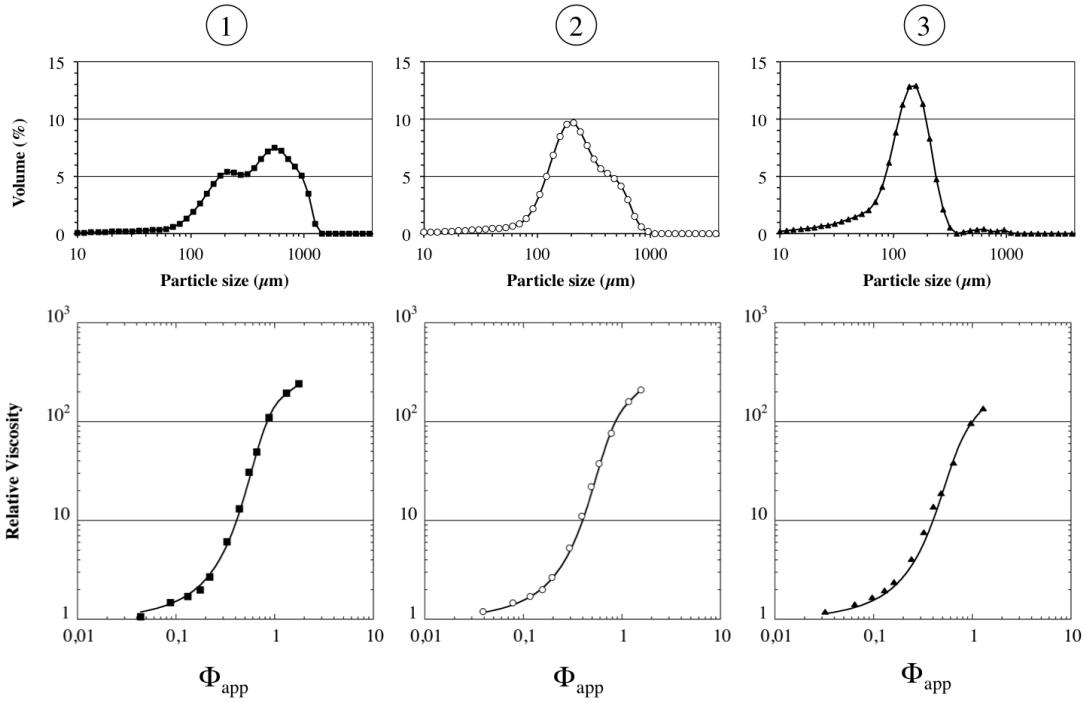


Figure 7.3 – Modelling using Eq.(7.8) for three apple purees varying in particle size distributions. Datas were taken from Leverrier *et al.* (2016). Particle size distributions are represented on the upper side. Relative viscosity is represented as a function of ϕ on the bottom side. ■, ○ and ▲ stand for experimental data and the solid lines represent the modelling

7.4.1 Impact of the particle size distribution on the parameters

It is noteworthy that the model presented in Eq. (7.8) fits remarkably well the datas (Figure 7.3), whatever the particle size distribution observed. Figure 7.3 represents the resulting fittings of Eq.(7.8) on three apple purees varying in particle size distributions. Particle size of each apple puree is represented on the upper part of the Figure 7.3. Two purees present a bimodal particle size distributions - containing at the same time very large particles of 1000 μm and smaller particles of 150 μm - and one puree presents a modomodal particle size distribution, centered on 150 μm. These two kind of particles are known to be cell clusters (of large size) and individual cells (of smaller size) (Leverrier *et al.*, 2016; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2013). Figure 7.4 illustrates the polydispersity of the three particle size distributions and highlights differences in particles architecture and shape of clusters and individual cells.

Table 7.1 – Fitting parameters of the model used for the Fig. 7.3with $\phi_{rcp} = 0.637$

	β	α	S	ϕ_{rcp}	R^2
①	0.913 ± 0.017	2.100 ± 0.014	3.697 ± 0.039	0.637	0.999
②	1.035 ± 0.039	2.131 ± 0.024	3.893 ± 0.072	0.637	0.999
③	1.177 ± 0.074	2.160 ± 0.031	3.929 ± 0.109	0.637	0.999

Fitting parameters used in Figure 7.3 are itemised in Table 7.1. All the fitting parameters increase when the particle size decreases. However, this decrease in global particle size reflects the presence of particles of different kind in the medium. Big particles are clusters of cells, irregular in shape and quite rigid thanks to their complex architecture. Small particles are individual cells, more regular and spherical in shape, and less rigid. Grinding thus

induces a decrease in particle size, but also an increase of particle sphericity and a decrease of their rigidity and their surface irregularities, which are not easy to decorrelate.

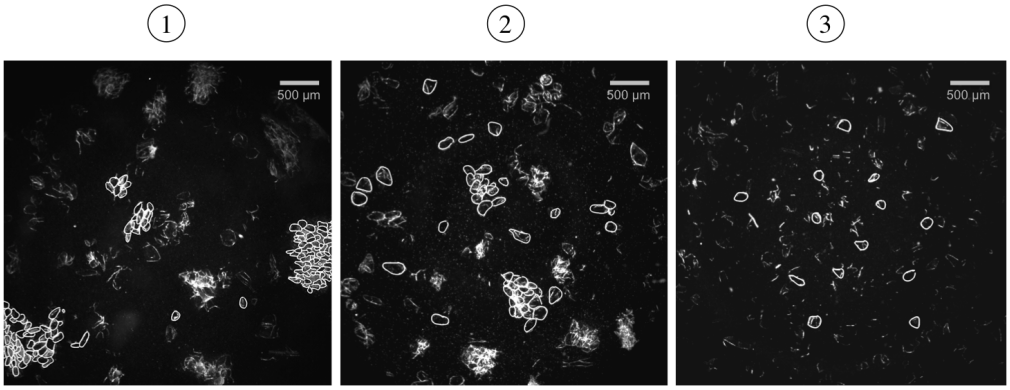


Figure 7.4 – Microscopic observations of the three particle size distributions. Some of the particles have been highlighted to facilitate reading

β values here obtained are 0.913, 1.035 and 1.177 respectively for the purees ①, ② and ③. In the work of Mendoza (2013), β is related to the particle deformability : the softer is the particle, the greater is β, and they observed β values between 0.244 and 0.966 for 128 arms and 32 arms star polymer particles, respectively. This observation seems to be consistent with the obtained results. Indeed, the complex architecture of clusters could generate a greater overall rigidity of the particle (Leverrier *et al.*, 2016), thus β is higher when the particles are smaller and softer. It is noteworthy that the β values we obtained are higher than those of Mendoza (2013), the β value obtained for the puree containing large clusters ① being comparable to that obtained for the 32 arms star polymer particles, the softest he presented, confirming that plant particles are highly deformable objects.

Regarding α, we observe that the values obtained on the apple purees are slightly higher than those obtained on star polymer suspensions (Mendoza, 2013), the latest being between 1.90 for 128 arms star polymer particles and 1.74 for 32 arms star polymer particles. We also note that in the case of star polymer suspensions, α decreases when particle deformability increases. We observe here the opposite effect, the greatest value of α being obtained for the puree ③. α parameter is briefly discussed in Mendoza (2013). It may be related here to the sphericity of the particles or to their surface irregularities. Indeed, on apple purees, when the particle size decreases, the deformability increases, but surface irregularities are decreased and particle sphericity increases. However, in star polymer suspensions, the observed effect could be reversed. Indeed, star polymer particles with many arms are very close to hard spheres. If the number of arms decreases, particle deformability increases but particle sphericity could only be reduced, thus possibly increasing surface irregularities.

Regarding S parameter, we observe that it increases when the particle size decreases and the deformability increases. The same effect is observed on $\frac{r}{R}$ parameter in the work of Mendoza (2013). In his work, this parameter is only linked to particle permeability.

It should be noted that the S parameter is consistently above 2.5. In existing models for spherical and deformable particles, the power parameter is often presented as equal to (Mendoza, 2013) or less than 2.5 (Quemada, 2006, 1977; Taylor, 1932). In the case of non-spherical particles, high values of the Einstein coefficient can be observed (Mueller *et al.*, 2010). This high value of S observed in the case of plant particles could be due to their non-spherical shape.

The good agreement of the model with experimental data is due to the use of a critical volume fraction capable of evolving with the actual concentration of particles introduced (Eq. (7.6)). In other words, due to their compressibility, the *effective* volume fraction of the particles do not increase as the insoluble solids content does. It is possible to rewrite Eq. 7.8 to bring up the effective volume fraction occupied by the particles :

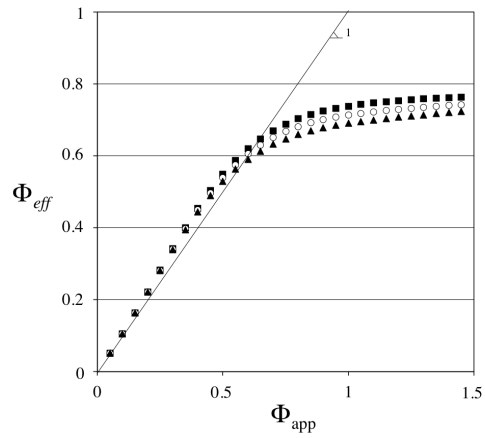


Figure 7.5 – Evolution of ϕ_{eff} as a function of ϕ, for the three particle size distributions observed in Figure 7.3. Symbols ■, ○ and ▲ correspond to purees ①, ② and ③, respectively.

$$\eta(\phi_{eff}) = \eta_0 \times (1 - \phi_{eff})^{-S} \tag{7.9}$$

with

$$\phi_{eff} = \frac{\phi_{app}}{1 - \left[\frac{1-\phi_{rcp}-\beta\times\phi_{app}{}^{\alpha}}{\phi_{rcp}+\beta\times\phi_{app}{}^{\alpha}}\right] \times \phi_{app}} \tag{7.10}$$

Figure 7.5 represents the evolution of ϕ_{eff} as defined Eq. (7.10) as a function of ϕ_{app}, defined in Eq. (7.3), for the three particle size distributions observed in Figure 7.3. One can observe that, at low volume fraction, ϕ_{eff} is equal to ϕ. But, when ϕ_{app} increases, for all the purees, a pseudo-plateau value of ϕ_{eff} is reached. This plateau value is higher for purees containing cell clusters.

7.4.2 Impact of the maximum packing fraction according to the particle size distribution

Up to here, the maximum packing volume fraction was taken as 0.637 for all fittings, the random close packing value for monomodal hard spheres. The impact of polydispersity on this type of highly deformable non-spherical particle suspensions was evaluated. To do so, a similar approach to the one used by Shewan & Stokes (2015) on agar microgel suspensions was used. Based on the particle size distribution of our suspensions, we determined the distribution's width σ ($\sigma^2 = ln\frac{d_{4,3}}{d_{3,2}}$). Using the results obtained by Farr & Groot (2009), we determined the random close packing volume fraction of each suspensions, based on their polydispersity. We obtained values of ϕ_{rcp} such as 0.715, 0.705 and 0.70 for the purees ①, ② and ③, respectively. The fittings were therefore plotted again integrating those values, the parameters are itemised in Table 7.2. As one can see, no significant improvement is noted on the quality of the resulting fittings, and the impact of the particle size distribution on the parameters α, β and S remains the same as discussed in section 7.4.1. The impact of polydispersity on the maximum volume fraction seems to be negligible when modelling the data. These results are consistent with observations made in our previous work (Leverrier *et al.*, 2017a). Particles having non-spherical shapes and high surface irregularities dominate the global rheological properties of suspensions, and polydispersity is almost negligible (Leverrier *et al.*, 2017a), which seems to be confirmed here. For the rest of this work, the value of ϕ_{rcp} corresponding to monodisperse spheres ($\phi_{rcp} = 0.637$) will thus be used.

Table 7.2 – Fitting parameters of the model used for the Fig. 7.3 with ϕ_{rcp} depending on the particle size distribution

	β	α	S	ϕ_{rcp}	R^2
①	0.914 ± 0.021	2.285 ± 0.018	3.880 ± 0.042	0.715	0.999
②	1.053 ± 0.044	2.292 ± 0.028	4.057 ± 0.072	0.705	0.999
③	1.223 ± 0.081	2.309 ± 0.035	4.090 ± 0.105	0.70	0.999

7.4.3 Impact of the viscosity of the continuous phase on model parameters

In this part, model suspensions of individual cells varying in continuous phase viscosity and composition will be considered (datas were taken from Leverrier *et al.* (2017a)). Such suspensions are monomodal, centered on 180 μm (Figure 7.6). It allows us to make the hypothesis that all particles have the same deformability, sphericity, surface irregularities and polydispersity. Figure 7.7 represents the resulting fittings of Eq.(7.8) on model suspensions of apple cells varying in continuous phase. It is noteworthy that Eq. (7.8) fit quite well the datas, whatever the considered continuous phase.

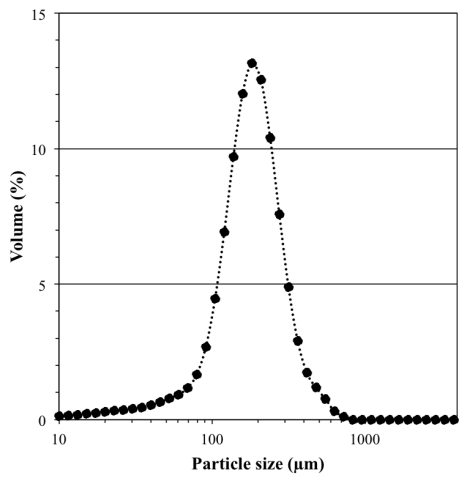


Figure 7.6 – Particle size distribution of model suspensions

Fitting parameters used in Figure 7.7 are itemised in Table 7.3. We can observe that, when the continuous phase viscosity increases, β and α increase and S decreases.

Table 7.3 – Fitting parameters of the model used for the Fig. 7.7

	η_0	β	α	S	ϕ_{rcp}	R^2
NaCl 1%	1	0.774 ± 0.023	1.989 ± 0.041	4.362 ± 0.114	0.637	0.997
CMC 1%	12.6	0.869 ± 0.036	1.937 ± 0.045	3.341 ± 0.095	0.637	0.996
Apple Serum	12.8	0.851 ± 0.016	1.964 ± 0.022	3.226 ± 0.043	0.637	0.999
CMC 3%	108	1.222 ± 0.089	2.143 ± 0.077	2.621 ± 0.078	0.637	0.994

Previously, and in agreement with Mendoza's approach, we have shown that α and β parameters were related to particles' deformability and sphericity (or surface irregularities). Their dependence to the continuous phase properties is linked to the granular, non-colloidal nature of the particles, for which frictional forces play a key role in rheological properties (Menut *et al.*, 2012). The increase of α with the increasing continuous phase viscosity could be due to the lubricating effect of the continuous phase (Leverrier *et al.*, 2017a). By increasing the viscosity

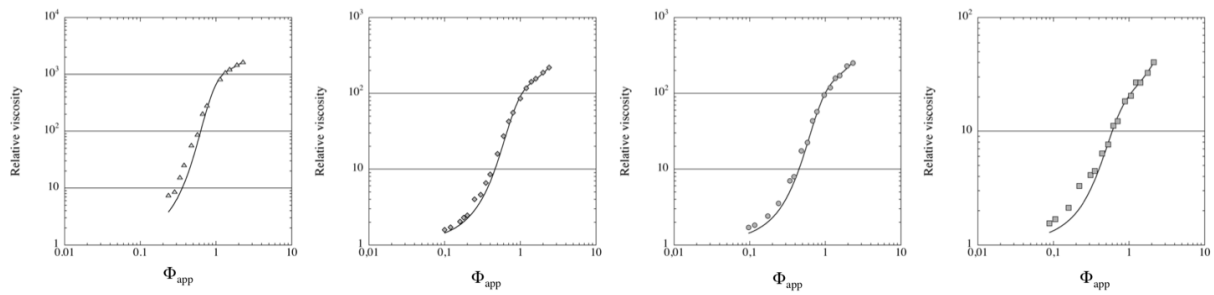


Figure 7.7 – Modelling using Eq.(7.8) for model suspensions in 4 different continuous phases. △ represents model suspensions in NaCl 1%, ◊ in apple serum, ∘ in a carboxy-methyl-cellulose solution at 1% and □ in a carboxy-methyl-cellulose solution at 3.2%. Symbols represent experimental data and solid lines represent the fittings resulting of Eq. (7.8).

of the continuous phase or the presence of polymers in the medium, frictions between particles are decreased. This decrease of the friction could have an impact on apparent surface irregularities of the particles, leading to an apparent more spherical shape of the particles. The increase of β with the viscosity of the continuous phase could be related to crowd effects. Indeed, in all cases, the viscosity of the continuous phase has been increased by introducing polymers in the continuous phase. These polymers, whose concentration increases with the continuous phase viscosity, have an intrinsic volume and thus occupy space in the medium. If the rheological properties of the suspensions are predominantly driven by the particles (Leverrier *et al.*, 2016, 2017a), the presence of polymers in the continuous phase can force particles to deform to a greater extent, thus leading to higher β values.

Regarding S parameter, we observe that S decreases when the continuous phase viscosity increases. As in Mendoza (2013)'s work, it seems appropriate to assign S parameter with the permeability of the particles. Indeed, we can see that the particles have a lower apparent permeability (a lower S value), when the continuous phase contains more polymers, meaning that the continuous phase goes through particles less easily when concentrated in polymers.

7.5 Conclusion

In this work, an indirect way of accessing the effective volume fraction of the particles and a model describing the concentration dependence of the viscosity of soft plant cells suspensions over a wide range of concentration were proposed. The effective volume proposed here allows to approach the actual volume occupied by the particles in the medium. Based on a model initially proposed for star polymers (Mendoza, 2013), the model was successfully applied to real apple purees of several grindings and to model suspensions in several continuous phases. Three adjustment parameters are defined and appear to be related to the particles deformability, sphericity and porosity. We also showed that for such non-colloidal suspensions, in which friction forces plays an important role in the rheological properties, those parameters are also related to the continuous phase properties. This model represents a significant advance in the understanding of processed fruit and vegetables systems and offers clear industrial prospects.

Acknowledgements

The research leading to these results has received funding from the European Union's Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration under grant agreement number 311754. The authors wish to thank Adeline Boire, without whom this paper would certainly not have emerged.

À RETENIR

Nous avons proposé d'adapter le modèle de Mendoza (2013) pour modéliser la dépendance de la viscosité à la fraction volumique de suspensions de particules végétales sur l'ensemble des domaines de concentration, aboutissant ainsi à l'équation suivante (Eq. 7.8) :

$$\eta = \eta_0 \times \left(1 - \frac{\phi_{app}}{1 - \left[\frac{1-\phi_{rcp}-\beta\cdot\phi_{app}{}^{\alpha}}{\phi_{rcp}+\beta\cdot\phi_{app}{}^{\alpha}}\right]\times\phi_{app}}\right)^{-S}$$

Ce modèle a été appliqué avec succès aux propriétés en écoulement de suspensions de particules végétales ayant des distributions granulométriques et des phases continues variables. Pour ce faire, la fraction volumique a été définie comme le rapport de la quantité d'insolubles sur la quantité d'insolubles à l'entrée du domaine concentré.

La rigidité globale des particules ainsi que les propriétés de la phase continue influencent les paramètres du modèle. Nous avons ainsi pu montrer que le facteur β est lié à la déformabilité des particules : les particules les plus molles entrainant de plus hautes valeurs de β. Ce résultat confirme l'hypothèse faite au Chapitre 5 arguant que les amas de cellules présentent une rigidité globale plus élevée que les cellules individuelles. Le paramètre α semble être en lien avec la sphéricité des particules : les particules les plus sphériques ayant des valeurs de α plus grandes. Enfin, nous faisons l'hypothèse que le paramètre S est lié à la porosité des particules : les particules ayant une architecture complexe (amas de cellules), surement moins perméables, ayant des valeurs faibles de S.

Ces hypothèses ont été confirmées par les variations des paramètres observés pour les différentes phases continues. Ainsi, la présence de polymères dans la phase continue est supposée entrainer :

- l'augmentation de l'encombrement du système, ce qui est susceptible d'engendrer une déformation accrue des particules
- la diminution des frictions entre les particules
- la diminution de la perméabilité apparente des particules

Dans ce sens, pour les suspensions dont la phase continue contient des polymères, nous avons observé des valeurs de β élevées (augmentation de la déformabilité apparente des particules, valeurs de β plus élevées), des valeurs de α élevées (diminution apparente des irrégularités de surface, augmentation de α) et des valeurs faibles de S (diminution de la perméabilité apparente, plus faibles valeurs de S).

Conclusion Générale et Perspectives

Trois ans plus tard...

Que peut-on en retenir ?

L'objectif de ce travail était de mieux comprendre les liens entre la structure et les propriétés rhéologiques des suspensions de particules végétales, en se basant sur le modèle des purées de pommes. Pour ce faire, nous avons utilisé une approche de type Science des Matériaux et Matière Molle, nous permettant ainsi d'apporter des réponses globales et transposables à d'autres systèmes de particules déformables et compressibles.

Pour répondre à cet objectif, notre stratégie expérimentale s'est construite en deux axes. En premier lieu, observer l'effet des paramètres de structure sur des purées de pommes réelles afin de mettre en évidence les facteurs de premier ordre influant sur les propriétés rhéologiques de ces systèmes. Dans un second temps, nous avons souhaité comprendre plus finement les paramètres influant sur la rhéologie des suspensions de particules végétales en mettant au point un système modèle représentatif des purées de pommes. Ce système modèle aura été utilisé à la fois pour observer l'effet de la phase continue sur les propriétés rhéologiques des purées de pommes modèles, mais également pour accéder à la visualisation directe de particules végétales en suspensions concentrées.

L'étude des purées de pommes réelles nous a permis de mettre en évidence les principaux paramètres influant sur les propriétés rhéologiques, et donc sur la texture, de ces purées. En appliquant une méthodologie alliant traitements mécaniques, séparation centrifuge et remélange, nous avons pu reconstruire une vaste gamme de purées de pommes de concentration en particules et de granulométrie variables, générant ainsi un panel de textures variées allant de très diluées à très concentrées, et de grossièrement à finement broyées.

La quantité d'insolubles en suspension (*ie.* quantité de particules, fraction volumique) a été identifiée comme le paramètre de premier ordre dictant les propriétés rhéologiques des purées de pommes. Ensuite seulement intervient la morphologie des particules en suspension (taille, forme, architecture interne). Les champs de concentration explorés nous ont permis de mettre en évidence l'existence de trois domaines de concentration, correspondant à la structuration du milieu avec la quantité de particules. À faible quantité d'insolubles, les particules ne remplissent pas tout l'espace et interagissent peu les unes avec les autres. Dans ce domaine dilué, les suspensions ne présentent ni module élastique, ni seuil d'écoulement. Les particules sont libres de se déplacer au sein du fluide et peuvent être soumises à la sédimentation. Lorsque la quantité d'insolubles augmente, les particules encombrent de plus en plus le système et un réseau percolé entre les particules se crée. Ce réseau faible entre les particules génère l'apparition d'un module élastique et d'un seuil d'écoulement, conférant au système des propriétés de gel faible. À mesure que la concentration en particules augmente, les propriétés rhéologiques des suspensions augmentent également et les particules remplissent de plus en plus l'espace disponible. Les propriétés rhéologiques des suspensions dépendent fortement de la quantité d'éléments insolubles dans ce domaine intermédiaire. On observe également l'apparition d'un caractère rhéofluidifiant dans ce domaine, en lien avec la déformation contrainte du réseau formé par les particules et sa réorganisation pour permettre l'écoulement. Enfin, à haute concentration en particules, les suspensions entrent dans le domaine concentré. Dans ce domaine, le système est très encombré. Les particules sont donc contraintes de se déformer et de se comprimer pour s'adapter à l'espace environnant. La dépendance des propriétés rhéologiques à la quantité d'insolubles n'est plus aussi marquée.

La morphologie des particules permet, à quantité d'insolubles équivalente, de jouer sur les propriétés rhéologiques des suspensions dans les domaines intermédiaire et concentré. Ainsi, les purées contenant des amas de cellules (grosses particules de forme irrégulière) présentent des propriétés rhéologiques plus importantes que celles observées pour les suspensions ne contenant que des cellules individuelles (particules de plus petite taille, ayant une forme régulière). Ces différences ont également été attribuées à une différence de rigidité globale des particules, l'architecture plus complexe des amas de cellules pouvant engendrer une rigidité globale plus importante que celle des cellules individuelles.

Ces premiers résultats ont ainsi mis en évidence deux leviers importants de structuration de ces systèmes : la quantité d'éléments insolubles et la morphologie des particules en suspension.

Grâce à ces premières conclusions, nous avons été capables de construire des milieux modèles pertinents et représentatifs de notre système d'étude. En combinant traitement mécanique et tamisage humide, nous avons pu sélectionner deux tailles de particules correspondant à des cellules individuelles et à des amas de cellules. Ces cellules isolées ont ensuite été séchées par séchage chimique pour permettre leur conservation à long terme. Nous avons utilisé ces particules pour observer, d'une part, l'effet de la phase continue sur les propriétés rhéologiques des suspensions, et d'autre part, pour valider la déformation et la compaction des particules envisagées dans les suspensions très concentrées.

L'étude des suspensions modèles nous a permis de montrer que la phase continue a un effet de second ordre sur les propriétés rhéologiques des suspensions concentrées. En domaine intermédiaire, nous avons montré que la phase continue contribue à renforcer les propriétés élastiques et le seuil d'écoulement des suspensions lorsqu'elle contient des polymères. En domaine concentré, la phase continue influence le comportement des suspensions en écoulement (seuil, viscosité apparente) par son caractère plus ou moins lubrifiant, en lien avec la présence de polymères en solution. En effet, nous avons pu observer que lorsque la phase continue contient des polymères, l'écoulement est facilité (viscosité apparente et seuil d'écoulement plus faibles), conduisant à l'hypothèse d'une diminution de la friction entre les particules. Cette étude a également confirmé le rôle de premier ordre des éléments insolubles sur les propriétés rhéologiques des suspensions. Nous avons mis en évidence que les propriétés élastiques de ces systèmes sont essentiellement gouvernées par les interactions directes entre les particules en milieu concentré, la phase continue n'ayant qu'un effet marginal sur le module élastique. Nous avons également confirmé que la présence d'amas de cellules dans les purées de pommes gouverne le comportement rhéologique des purées de pommes en augmentant leurs valeurs de module élastique, de seuil d'écoulement et de viscosité apparente. Ainsi, le comportement rhéologique de purées de pommes présentant une distribution de taille des particules bimodale, contenant des cellules individuelles et des amas de cellules, peut être approché par une suspension modèle ne contenant que des amas de cellules. Enfin, nous avons poussé l'observation de l'effet de la phase continue sur les propriétés rhéologiques des suspensions modèles jusqu'à observer l'effet de l'adjonction de chlorelles au milieu. Les chlorelles, microalgues sphériques de petite taille (environ 4 μm), ont été étudiées en tant que telles et en mélange avec les particules de pomme pour lesquelles nous avons fait l'hypothèse qu'elles jouent le rôle de phase continue (Annexe B).

À partir des suspensions modèles, nous avons également souhaité observer directement comment les particules se tassent en milieu concentré. Par une approche microscopique sur les suspensions modèles composées de cellules individuelles marquées et non-marquées nous avons ainsi été en mesure d'accéder de manière directe à la morphologie des cellules en suspension. Nous apportons ici la preuve tangible de la diminution de volume subie par les particules en milieu concentré, et nous confirmons ainsi les hypothèses de la littérature expliquant le comportement rhéologique caractéristique des suspensions de particules végétales concentrées en précisant la manière dont les cellules se compactent.

Un des objectifs du travail était également d'avancer sur la compréhension de la fraction volumique occupée par les cellules végétales en suspension. Dans ce manuscrit, la fraction volumique apparente occupée par les particules végétales a été évaluée de deux manières. Tout d'abord à partir des mesures réalisées en microscopie

confocale. Par cette première approche, nous avons évalué une fraction volumique apparente de manière géométrique, en nous basant sur des considérations de volume occupé, et en relation avec les quantités d'insolubles introduites en suspension. Dans un second temps, nous avons également approché la fraction volumique à partir des propriété rhéologiques observées. Nous avons donc fait l'hypothèse qu'en entrant dans le domaine concentré, les particules remplissent tout l'espace sans se déformer. Nous avons donc pu estimer la quantité d'insolubles pour laquelle le système est entièrement rempli de cellules non-déformées et l'avons fixé à $\phi = 1$. Pour les fractions volumiques obtenues dans le domaine intermédiaire, nous obtenons des valeurs comparables par ces deux types d'approches. Par l'approche rhéologique, les fractions volumiques apparentes ainsi définies dépassent systématiquement 1 dans le domaine concentré en raison de la compression des particules.

La dépendance de la viscosité apparente à la fraction volumique apparente des suspensions a été décrite par l'adaptation d'un modèle d'écoulement décrivant le comportement des suspensions sur une large gamme de concentration. L'adaptation de ce modèle, issu de Mendoza (2013), nous a permis de décrire l'ensemble du domaine et en particulier d'intégrer le comportement des particules en milieu encombré. Nous avons pu observer l'effet des paramètres de structure et de la phase continue sur les paramètres du modèle.

À travers ce travail, nous avons ainsi pu faire avancer la compréhension du lien entre la structure et les propriétés des systèmes de particules végétales, contribuant à la maitrise de la texture des produits finis (Figure 7.8).

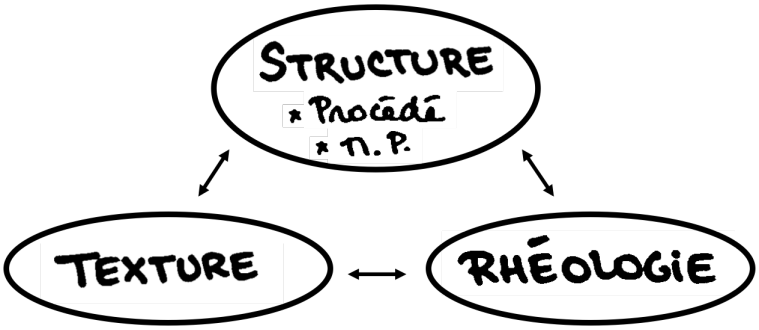


Figure 7.8 – Triptyque Structure - Texture - Rhéologie (M.P. = Matière Première)

Au plan des applications, l'intérêt de ce travail s'établit à trois niveaux :

- Tout d'abord, au niveau du produit fini en tant que tel. En mettant en avant le lien entre la structure et les propriétés rhéologiques des purées de fruits, nous avons pu confirmer que les parois végétales insolubles sont à l'origine de leurs propriétés texturales. Nous évaluons ainsi deux leviers de formulation principaux, que sont la concentration en parois et la morphologie des particules. Ces résultats sont en accord et complètent les résultats des travaux de Lucia Espinosa (2012). Notre travail renforce le potentiel d'innovation en terme de texture sur ce type de produits.

- Ce travail confirme également l'intérêt de la maitrise du procédé pour générer des textures à façon. Nous avons pu observer que la simple utilisation de traitements mécaniques variés permet d'accéder à une large gamme de structures, et donc de propriétés. Simplement par broyage et concentration, nous avons montré qu'il est possible de fonctionnaliser les particules végétales pour structurer le milieu. Ce travail démontre ainsi qu'il est possible de fonctionnaliser le fruit, uniquement par traitement physique, et suggère que le fruit pourrait être utilisé directement comme agent de texture naturel dans une perspective de clean label, ouvrant ainsi un champ d'applicabilité vaste.

- Enfin, l'ensemble des résultats présentés dans ce travail met en avant les propriétés texturantes indéniables des parois végétales, liées notamment à leur capacité importante de rétention d'eau au niveau des parois elles-mêmes mais surtout à l'encombrement généré par l'état d'organisation des cellules ou amas cellulaires. Les parois végétales, organisées en cellules ou amas de cellules, possèdent ainsi un potentiel de structuration du milieu important que nous avons pu quantifier. Comme nous l'avons vu, il est possible de préserver la fonctionnalité de la paroi et de ses états supérieurs d'organisation, et ainsi de conserver ce fort pouvoir texturant. Ce dernier n'est pas toujours optimal dans les fibres commercialisées aujourd'hui, qui sont le plus souvent des mélanges de fibres solubles et insolubles, et pour lesquelles les traitements subis permettent rarement de préserver les propriétés des parois et de leurs assemblages. Ce travail suggère donc qu'il est possible d'optimiser le procédé industriel de traitement des fibres pour en préserver la fonctionnalité, les résultats observés ici étant transposables à d'autres fruits et légumes et co-produits utilisés pour la préparation des fibres alimentaires.

Quelles perspectives envisager ?

Comme nous venons de le développer, ce travail a permis d'améliorer la compréhension du lien entre la structure et les propriétés de suspensions de particules végétales. Cependant, certaines questions restent ouvertes et de nombreuses perspectives à ce travail peuvent être envisagées.

Comprendre

Afin d'approfondir notre connaissance de ces systèmes de particules végétales, une validation sur d'autres produits végétaux transformés pourrait être envisagée pour confirmer les conclusions faites au cours de ce travail. Si d'autres ont déjà initié cette démarche, la littérature rapporte peu de travaux ayant étudié de façon détaillée ce type de systèmes.

Il pourrait également être intéressant d'aller observer plus avant les propriétés des particules à l'échelle microscopique (voire nanométrique), au niveau des propriétés locales de la paroi. L'utilisation de techniques telles que l'AFM (Microscopie à Force Atomique) pour mesurer la résistance mécanique des parois avant/après traitement thermique, enzymatique ou chimique pourraient être envisagée. Il pourrait en particulier être intéressant d'étudier davantage le rôle de la rigidité locale de la paroi en la faisant varier (nature, état de maturité, traitements...) et en établissant un lien avec le niveau macroscopique.

Approfondir le rôle des polymères en solution dans la phase continue permettrait également d'aller plus loin dans la compréhension, et l'ajout de particules de petite taille permettrait d'affiner la compréhension de l'influence de la polydispersité.

Enfin, la possibilité d'observer les cellules marquées en écoulement par l'utilisation de techniques rhéoptiques, afin de pouvoir voir directement comment les particules se déforment de manière dynamique pour permettre l'écoulement pourrait également être considérée.

Construire en lien avec le procédé

Nous avons évalué l'effet des traitements mécaniques sur les propriétés rhéologiques des purées de pommes. Toutefois, les traitements mécaniques mis en œuvre dans ce travail ont toujours préservé l'intégrité des cellules. L'utilisation de traitements mécaniques poussés entrainant la fragmentation des cellules pourrait être envisagée pour observer l'effet de l'augmentation de la surface d'échange entre les particules et la création de particules de nature colloïdale dans le milieu. Cette perspective pourrait également être à l'origine de textures innovantes

de purées de fruits.

L'effet des traitements thermiques mériterait également un travail approfondi, en relation avec la rigidité intrinsèque des parois, la fragilité des assemblages, leur sensibilité aux traitements mécaniques, la solubilisation des pectines et leurs conséquences au niveau macroscopique.

De même, observer l'impact de traitements athermiques comme les traitements hautes pressions hydrostatiques serait également très intéressant. Nous avons pu aborder ceci de façon exploratoire en observant des produits obtenus dans le cadre du programme OPTIFEL.

Enfin, l'emploi de traitements enzymatiques sur la pomme crue permettrait de libérer les cellules de la chair en conservant leur turgescence. L'effet de la turgescence des cellules sur le comportement rhéologique des suspensions pourrait ainsi évalué.

Innover, ou comprendre pour mieux construire

Les apports de ce travail ont également permis de mieux comprendre et d'anticiper les effets d'ajouts d'autres composants d'intérêt nutritionnel sur la texture. La méthodologie appliquée dans ce travail a ainsi servi de support à la formulation de produits enrichis en protéines ou en fibres alimentaires, comme cela a été le cas dans le cadre du programme OPTIFEL. L'acceptabilité des produits formulés ainsi que la disponibilité nutritionnelle des protéines en fonction de la formulation ont été étudiées par d'autres partenaires du programme.

Plus généralement, la maîtrise de la structure de produits formulés riches en fibres ouvre des perspectives sur l'étude de la relation à la physiologie de la nutrition, l'incidence sur le tractus digestif ou la biodisponibilité de micronutriments.

Le mot de la fin

Nous voilà arrivés au bout de ce manuscrit que j'aimerai achever, comme il a commencé, avec un mot plus personnel. Après trois années à travailler sur cette thématique, j'ai appris bien plus que ces quelques pages sur la purée de pommes. Ma thèse s'est révélée être une véritable aventure humaine au cours de laquelle j'ai pu avancer personnellement et avec les autres, et de laquelle je ressors grandie et reconnaissante. J'ai vraiment eu beaucoup de plaisir à travailler sur ce sujet, dans ce laboratoire. Je ne dirai jamais assez à quel point je me sens chanceuse et privilégiée d'avoir pu être encadrée comme je l'ai été. J'ai eu beaucoup de chance tout au long de ce travail.

Et finalement, comme toutes les conclusions pertinentes ne s'apprennent pas forcément au laboratoire, je pense que le mot de la fin revient à mes proches (collègues et famille) qui m'ont apporté leur aide pour y voir plus clair dans ce travail :

"La purée de pommes, c'est meilleur avec un peu de cannelle !"

Annexes

Annexe A

Récapitulatif des symboles utilisés pour désigner la fraction volumique

Table A.1 – Récapitulatif des symboles utilisés pour désigner la fraction volumique et des définitions associées

Symbole	Définition
ϕ	Appellation générale de la fraction volumique. Elle désigne la fraction volumique réelle. La fraction volumique est toujours inférieure ou égale à 1.
ϕ_{eff}	Fraction volumique effective, correspond à la fraction volumique effectivement occupée par les particules dans le milieu. La fraction volumique effective est inférieure ou égale à 1.
ϕ_{app}	Fraction volumique apparente, correspond à la fraction volumique calculée à partir d'une extrapolation de la concentration en particules. La fraction volumique apparente peut être supérieure à 1.
ϕ_{rcp}	Fraction volumique de random close packing. Elle correspond à la fraction volumique maximale atteinte par une suspension de sphères dures monodisperses. Sa valeur est égale à 0,637. Farr & Groot (2009) proposent également un moyen d'accéder à ϕ_{rcp} dans le cas de suspensions monomodales de particules sphériques rigides, en tenant compte de la dispersion des particules. Cette méthode a été utilisée dans le Chapitre 7.
ϕ_c	Fraction volumique critique. Elle correspond à la fraction volumique maximale que le système peut atteindre, elle est inférieure ou égale à 1.

Annexe B

Effet de l'introduction de particules rigides dans les purées de pommes modèles

Dans ce Chapitre d'ouverture, nous avons souhaité observer l'effet de l'introduction de particules rigides dans nos systèmes de particules végétales déformables et compressibles. Afin de rester en cohérence avec la thématique de la thèse, nous avons donc choisi de travailler sur l'introduction de particules végétales dans les purées de pommes modèles. Notre choix s'est porté sur l'utilisation d'algues unicellulaires, les chlorelles, riches en protéines. Ces microalgues présentent un intérêt particulier car elles sont rigides et naturellement de distribution très monomodale. Par ce choix, nous avons également souhaité marquer la continuité avec le projet Optifel.

Depuis une cinquantaine d'années, les protéines d'origine algale sont considérées comme une source alternative de protéines, tant pour la nutrition humaine qu'animale (Gouveia *et al.*, 2008), les protéines d'algues étant de très bonne qualité nutritionnelle (Becker, 2007; Safi *et al.*, 2014). Les protéines des microalgues sont rarement isolées pour être utilisées seules, la biomasse étant souvent utilisée directement (Becker, 2007) : soit pour la production de compléments alimentaires, ou bien pour être directement incorporées à des produits alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques (Gouveia *et al.*, 2006; Fradique *et al.*, 2010; Safi *et al.*, 2014). Les microalgues ont donc l'intérêt, en plus de supplémenter l'aliment en protéines, d'apporter un large éventail d'autres composés nutritifs tels que des peptides, des lipides, des vitamines et des minéraux (Becker, 2007), mais également des pigments d'origine naturelle (Gouveia *et al.*, 2006; Fradique *et al.*, 2010). La teneur en protéines varie en fonction du type d'algues, les quantités de protéines pouvant atteindre jusqu'à 70% de la biomasse sèche dans le cas des spirulines *Arthrospira maxima* par exemple (Becker, 2007). Pour les chlorelles, les teneurs en protéines rapportées par la littérature sont de l'ordre de 50-60% (Safi *et al.*, 2014; Iwamoto, 2004; Tokusoglu & Unal, 2003). Les chlorelles, au même titre que les spirulines, font partie des microalgues produites massivement pour leurs qualités nutritionnelles : en 2009, deux mille tonnes de chlorelles (masse sèche) ont été produites à l'échelle mondiale (Safi *et al.*, 2014).

Les chlorelles sont des microalgues unicellulaires sphériques, eucaryotes, de diamètre compris entre 2 et 10 μm (Wu & Shi, 2008; Becker, 2007; Safi *et al.*, 2014). Elles font partie de la classe des Chlorophycées (*Chlorophyceae*), comprenant essentiellement des algues vertes d'eau douce. La paroi végétale des chlorelles - principalement composée d'une couche chitosane, de cellulose, d'hémicellulose, de protéines, de lipides et de minéraux - est particulièrement rigide (Yamada & Sakaguchi, 1982; Becker, 2007). Cette rigidité serait également liée à la présence d'une couche de sporopellenine (caroténoide) dans la paroi (Yamada & Sakaguchi, 1982; Safi *et al.*, 2014).

Comme les chlorelles sont de forme quasi-sphérique et possèdent une membrane rigide, leur comportement rhéologique peut être assimilé à celui de suspensions de sphères dures (Souliès *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013). Ainsi, les modèles d'écoulement communément utilisés pour caractériser le comportement rhéologique de suspensions de sphères dures sont également utilisés avec succès dans le cas de suspensions de chlorelles (Wu & Shi, 2008; Souliès *et al.*, 2013).

B.1 Stratégie expérimentale

Comme évoqué dans l'introduction de ce Chapitre, nous avons souhaité observer l'effet de l'introduction de particules sphériques rigides dans des suspensions de cellules de parenchyme de pomme modèles. Nous avons donc réalisé des mélanges binaires composés de chlorelles et de cellules de parenchyme de pomme, en partant de suspensions 100% chlorelles, pour aller vers des suspensions 100% pommes. Huit concentrations de mélange différentes ont été réalisées comme le résume le schéma de la Figure B.1.

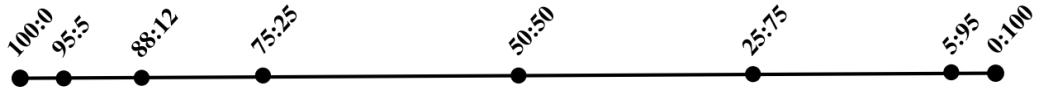


Figure B.1 – Mélanges binaires chlorelles/pommes réalisés. Les proportions sont exprimées en volume algue : pomme

L'objectif de ce Chapitre sera d'apporter des réponses sur les contributions relatives des algues et des parois végétales de parenchyme de pomme aux propriétés rhéologiques du système bimodal créé. Plusieurs questions de recherche ont ainsi été soulevées :

- Y a-t-il additivité des comportements ?
- Les microalgues peuvent-elles entrer dans les cellules de parenchyme ?
- La polydispersité peut-elle entrainer une fluidification du milieu ?
- Peut-on considérer la suspension d'algues comme un milieu continu dans lequel sont suspendues les cellules de parenchyme de pomme ?

La Figure B.2 rend compte des hypothèses de départ ayant été formulées.

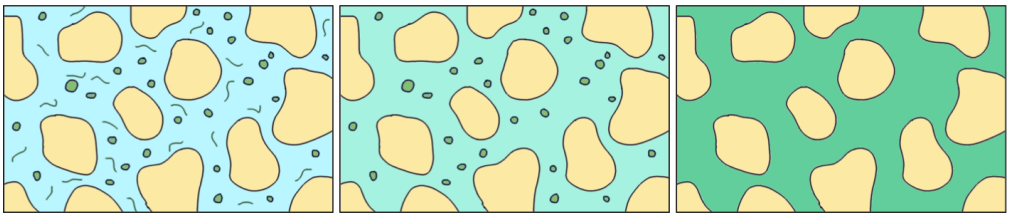


Figure B.2 – Hypothèses de comportements rhéologiques pour les suspensions mixtes algues/pommes

Hypothèse 1 (gauche) : les suspensions mixtes se comportent comme des suspensions bimodales suspendues dans une phase continue Newtonienne contenant des protéines solubles. L'effet des protéines solubles peut être observé sur les propriétés rhéologiques.

Hypothèse 2 (milieu) : les suspensions mixtes se comportent comme des suspensions bimodales suspendues dans une phase continue Newtonienne.

Hypothèse 3 (droite) : les chlorelles sont de taille suffisamment petite pour se comporter comme du fluide au regard des cellules de parenchyme de pomme.

Comme nous l'avons vu au Chapitre 6, les interactions entre les particules végétales peuvent être influencées par la composition de la phase continue : une plus grande quantité de polymères pouvant diminuer la friction entre les particules. Afin de pallier cet effet, nous avons choisi de réaliser toutes les suspensions de cette expérience dans une phase continue identique. Les suspensions d'algues et de cellules de pommes ont donc toujours été reconstruites dans une phase continue maitrisée. Les propriétés de la phase continue choisie seront illustrées dans la section B.4.

Les résultats présentés dans ce Chapitre sont des résultats préliminaires, mais leur originalité et leur potentiel d'applicabilité à la formulation de produits enrichis en protéines nous a poussé à les présenter dans ce manuscrit.

B.2 Caractérisation des chlorelles utilisées

Les chlorelles que nous avons utilisées au cours de ces expériences ont été fournies par un partenaire industriel confidentiel et se présentent sous la forme d'une poudre de couleur jaune, présentant des éléments solubles et insolubles dans l'eau. Cette poudre, Chlorella 62, est composée de *Chlorella protothecoïdes (auxenochlorella)* ayant été cultivées en fermenteur. La poudre a ensuite été obtenue par lavage et séchage des microalgues. La couleur jaune de la poudre est liée au protocole utilisé pour la croissance des microalgues : privées de lumière, celles-ci ne synthétisent pas de chlorophylle et ce sont donc les caroténoides naturellement présents dans les parois qui sont responsables de la couleur jaune-orangé des algues. En plus d'être riche en protéines (62%), ces microalgues contiennent des lipides (9%) et des fibres (9%).

Figure B.3 – La poudre de chlorelles utilisée avant hydratation et mise en suspension

Il est bon de préciser que les chlorelles utilisées dans cette expérience ne sont plus vivantes : elles ne pourront donc plus se multiplier ou subir des variations intrinsèques de la rigidité de leur paroi, liées à leur croissance ou aux conditions du milieu. Nous pourrons donc les considérer comme des sphères ou des capsules sphériques rigides inertes.

B.2.1 Structure des suspensions de chlorelles

En premier lieu, il a été nécessaire de caractériser la structure des suspensions de chlorelles. La distribution granulométrique et l'observation microscopique d'une suspension de chlorelles réalisée à partir de 20g de poudre Chlorella 62 dans 80g d'eau distillée ont donc été réalisées. Afin d'assurer une bonne hydratation des chlorelles, les analyses physico-chimique, rhéologiques et de structure ont été réalisées au moins 3h après l'hydratation

comme cela avait été le cas dans le Chapitre 6 pour les cellules de parenchyme de pomme.

La distribution granulométrique des suspensions de chlorelles est monomodale, centrée sur 4 μm. La visualisation des particules par microscopie optique (Figure B.5) a permis de mettre en évidence la morphologie quasi-sphérique des particules. On observe également que les particules ont tendance à s'agréger au repos, entrainant la formation de flocs. Cette attraction observée entre les chlorelles est certainement liée à la composition chimique de la paroi et au stade de croissance auquel les microalgues ont été séchées. En effet, au cours de la phase exponentielle de croissance, les chlorelles présentent des charges de surface négatives élevées. Elles restent donc dispersées dans le milieu. Une fois la phase de croissance stationnaire atteinte, la charge de surface diminue, permettant ainsi aux cellules de former des flocs. Ce processus est appelé auto-floculation et peut-être utilisé en industrie pour faciliter la récolte (Safi *et al.*, 2014).

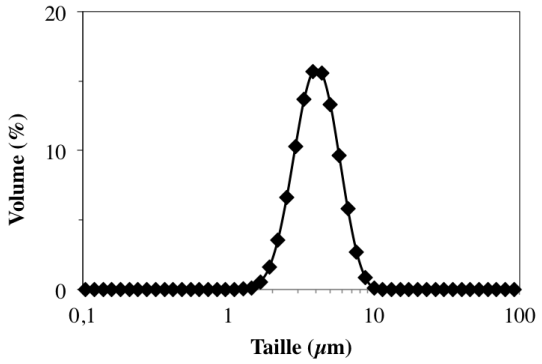


Figure B.4 – Distribution granulométrique des suspensions de chlorelles

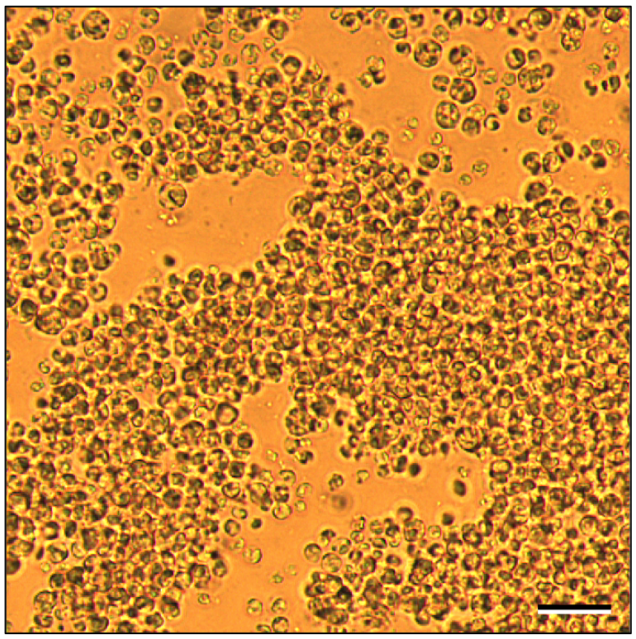


Figure B.5 – Microscopie optique d'une suspension de chlorelles à 9,17 g/100g. La barre d'échelle correspond à 20 μm

B.2.2 Caractérisation physico-chimique préliminaire

Quantité de pulpe

La mesure de la quantité de pulpe a été réalisée par centrifugation de 30g de la suspension de chlorelles 20% à 8250g pendant 10min. La quantité de pulpe est ensuite définie comme :

$$\%Pulpe = \frac{m_{culot}}{m_{totale}} \tag{B.1}$$

La quantité de sérum est également évaluée à partir de cette mesure, de la façon suivante :

$$\%Serum = \frac{m_{surnageant}}{m_{totale}} \tag{B.2}$$

Gonflement et solubilité

Les mesure de gonflement des insolubles et de solubilité des éléments solubles de la poudre ont été réalisées par centrifugation et étuvage de la suspension de chlorelles 20%. 30g de suspension ont été centrifugés à 8250g pendant 10min. 3g de culot et de surnageant ont ensuite été récupérés et placés à 105° C pendant 8h.

La valeur de gonflement des insolubles est ensuite obtenue par la formule suivante :

$$G = \frac{m_{wet} - m_{dry}}{m_{dry}} \tag{B.3}$$

où m_{wet} et m_{dry} sont respectivement la masse de culot humide et la masse de culot sèche, après étuvage.

La valeur de solubilité a été obtenue par la formule suivante :

$$S = \frac{DM_{surnageant}}{DM_{surnageant} \times \%Serum + DM_{culot} \times \%Pulpe} \tag{B.4}$$

où $DM_{surnageant}$ et DM_{culot} correspondent respectivement aux matières sèches du surnageant et du culot obtenus de la manière suivante :

$$DM_{surnageant/culot} = \frac{m_{dry}}{m_{wet}} \times 100 \tag{B.5}$$

Résultats de la caractérisation

Dans le Tableau B.1 sont détaillés les résultats de la caractérisation physico-chimique préliminaire de la suspension de chlorelles réalisée à partir de 20g de poudre dans 80g d'eau distillée.

La quantité d'insolubles présente dans cette suspension a été évaluée par étuvage selon le protocole 5.2.4 et a été déterminé à 9,17 g/100g. Dans la suite de ce Chapitre, les quantités de chlorelles seront systématiquement indiquées en terme d'insolubles.

On remarque que les éléments solubles représentent 51% de la quantité totale de poudre introduite. Cette quantité est non-négligeable et aura donc une effet sur la quantité de protéines et de polymères en solution dans la phase continue. Comme nous l'avons discuté plus haut, la quantité d'éléments solubles se doit d'être maitrisée pour la formulation des suspensions binaires mais également pour l'étude des suspensions de chlorelles, afin que les éventuels effets lubrifiants de la phase continue soient les mêmes pour toutes les suspensions considérées.

Le gonflement des chlorelles a été estimé à 2,8g/g. Il correspond à la quantité d'eau absorbée par les éléments insolubles pour permettre leur hydratation a été évaluée par centrifugation et étuvage. Le gonflement est susceptible de varier en fonction de la concentration de la suspension mise en œuvre. En effet, en plus d'être un

Table B.1 – Caractérisation physico-chimique préliminaire d'une suspension de chlorelles 20%

Degré brix	11,1
pH naturel	6,2
Quantité de pulpe (% massique)	55,6
Matière sèche surnageant (%)	9,6
Matière sèche culot (%)	26
Insolubles (g/100g)	9,17
Solubilité (%)	51
Gonflement (g/g)	2,8

processus cinétique, le gonflement dépend de la quantité d'eau disponible dans le milieu. Afin de s'assurer que les propriétés mécaniques des chlorelles sont les mêmes dans toutes les suspensions, il est donc nécessaire que toutes les suspensions aient été hydratées de manière similaire.

La quantité d'éléments solubles dans la phase continue ainsi que les conditions d'hydratation des chlorelles ont donc été prises en compte dans la préparation des suspensions.

B.3 Préparation des suspensions de chlorelles

Une suspension mère de chlorelles a été préparée en dispersant la poudre Chlorella 62 dans de l'eau distillée à une concentration massique de 10g de poudre dans 80g d'eau, soit une quantité d'insolubles en suspension de 5,5g/100g. Cette solution mère a été placée sous agitation douce à température ambiante pendant au moins 3h pour s'assurer de la bonne hydratation de la paroi cellulaire des chlorelles.

Pour faire varier la concentration en chlorelles dans les suspensions, une étape de séparation-reconstruction a été réalisée. Les suspensions de chlorelles ont été centrifugées (50mL, 20°C, 10000g, 10min) pour séparer les éléments insolubles (chlorelles) de la phase continue. Le culot et la phase continue ainsi obtenus ont ensuite été mélangé à nouveau pour obtenir des suspensions de chlorelles allant de 0g/100g à 19,59g/100g.

B.4 Préparation des mélanges binaires

Une suspension mère de chlorelles à 19,59g/100g a été préparée suivant le protocole B.3.

Afin de pouvoir disperser les cellules de parenchyme dans la même phase continue que les chlorelles, une grande quantité de sérum d'algue issue d'une suspension à 5,5g/100g a été séparée par centrifugation (50mL, 20°C, 10000g, 10min). Une suspension mère de cellules de parenchyme à 3,48g/100g a ensuite été préparée en dispersant la poudre de cellules de pomme dans le sérum d'algue récupéré. Cette suspension mère a été placée à température ambiante pendant au moins 3h pour assurer la complète hydratation des parois.

Toutes les suspensions d'algues et les mélanges binaires ont donc été réalisés dans la phase continue d'une suspension de chlorelles à 5,5 g/100g. Nous avons choisi cette phase continue car elle présente un comportement newtonien et que sa viscosité est proche de celle de l'eau (1,45 mPa.s). Les mélanges binaires ont ensuite été réalisés en suivant les proportions de mélange indiquées Figure B.1. Ces proportions correspondent à des ratios volumiques, les masses volumiques des suspensions mères de chlorelles et de pomme ayant préalablement été évaluées par pesées ($\frac{d_p}{d_a} = 0,96$). Finalement, les suspensions binaires résultent simplement du mélange du volume de suspension mère de chlorelles avec le volume de suspension mère de pomme.

Nous avons également souhaité vérifier qu'aucune resolubilisation n'était observée lors de la reconstruction des suspensions de chlorelles concentrées dans le sérum d'algue. Pour ce faire, l'évaluation de la quantité d'éléments solubles dans la phase continue par matière sèche avant et après reconstruction d'une suspension de chlorelles concentrée a été réalisée. Une suspension de chlorelles à 14,66 g/100g a donc préparée selon le protocole B.3. Les résultats des mesures de matières sèches du sérum d'algue avant et après mélange sont inscrits dans le Tableau B.2.

Table B.2 – Effet de la redispersion de chlorelles sur les propriétés de la phase continue des suspensions

	Sérum d'algue avant mélange	Sérum d'algue après mélange
Matière sèche de la phase continue (%)	4,1 (0,2)	4,2 (0,2)

On observe qu'aucune différence n'est mise en avant par ces analyses de matière sèche. Ces résultats nous ont permis de conclure qu'aucune resolubilisation n'était observée après redispersion des chlorelles dans le sérum d'algue. En d'autre terme, quelle que soit la quantité de particules suspendues dans le milieu, la phase continue gardera les mêmes propriétés.

Enfin, la caractérisation physico-chimique du sérum nous a permis d'observer que son pH est de 6,6 et sa conductivité est non nulle, dû à la présence de protéines solubles.

Table B.3 – Caractérisation physico-chimique du sérum utilisé

Échantillons	pH	Conductivité (μS/cm)
Sérum algue	6,6 (0,1)	4826 (6)

B.5 Protocoles utilisés en rhéologie

B.5.1 Protocoles de mesures rhéologiques sur les suspensions de chlorelles

Les chlorelles ont une taille de l'ordre de 4 μm. L'utilisation d'une géométrie couette à entrefer large n'est donc pas nécessaire pour leur caractérisation seules. Nous avons donc choisi d'utiliser une géométrie couette à entrefer étroit (1 mm) pour ces mesures. Toutes les mesures ont été réalisées à 20° C et au minimum deux répétitions ont été effectuées pour chaque échantillon.

PROTOCOLE - ÉCOULEMENT
Balayage continu en taux de cisaillement de 10 à 250 s−1, à 20 ° C. Durée totale du test : 2 min.

PROTOCOLE - DYNAMIQUE
Balayage en déformation de 0,015 % à 150 % à 10 rad/s. 11 points par décade.

B.5.2 Protocoles de mesures rhéologiques sur les mélanges binaires

Pour les mesures réalisés sur les mélanges binaires, nous avons choisi d'utiliser la même géométrie et les mêmes protocoles que ceux utilisés dans les Chapitres 5 et 6. Nous ne les détaillerons donc pas ici à nouveau.

B.6 Propriétés rhéologiques des suspensions de chlorelles

Dans un premier temps, les propriétés rhéologiques de suspensions de chlorelles à concentration variable ont été étudiées. La Figure B.6 illustre la viscosité apparente de ces suspensions en fonction de la vitesse de cisaillement pour 9 suspensions de chlorelles de concentrations différentes.

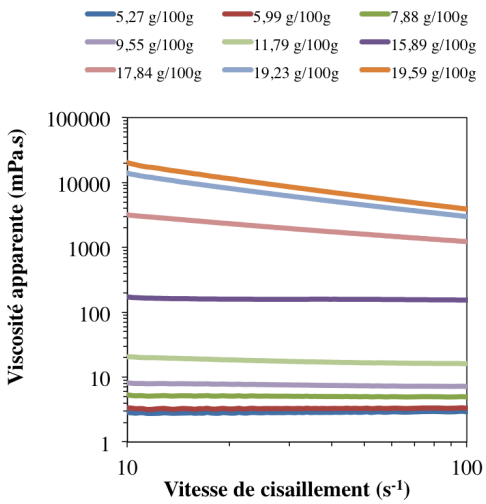


Figure B.6 – Viscosité apparente de suspensions de chlorelles à concentration variable en fonction du taux de cisaillement

On observe que les suspensions de chlorelles de faible concentration ont un comportement Newtonien en écoulement : leur viscosité étant constante quelle que soit la vitesse de cisaillement considérée. On remarque également que la viscosité apparente des suspensions augmente fortement avec la quantité d'insolubles en suspension. De plus, entre 15,89 et 17,84 g/100g, on observe l'apparition d'un caractère rhéofluidifiant, caractéristique des suspensions concentrées.

Afin d'observer l'effet de la concentration en chlorelles sur les propriétés rhéologiques des suspensions, les mêmes résultats ont été représentés en fonction de la quantité d'insolubles à la Figure B.7, la viscosité apparente ayant été considérée à 50 s^{-1}. On observe que la viscosité apparente des suspensions augmente rapidement avec la concentration et semble diverger aux envrion de 20 g/100g. Cette fois encore, ce comportement est typique de celui observé pour les suspensions concentrées de sphères dures, confirmant ainsi les résultats de la littérature sur nos suspensions (Souliès *et al.*, 2013).

La fraction volumique occupée par les chlorelles a été déterminée à partir des mesures rhéologiques effectuées en domaine dilué, comme illustré à la Figure B.8. Comme nous l'avons vu au Chapitre 1, la relation d'Einstein stipule que $\eta_{app} = \eta_0 \left(1 + \frac{5}{2}\phi\right)$. En évaluant la pente de la droite permettant de modéliser la viscosité des suspensions en domaine dilué en fonction de la quantité d'insolubles, nous avons donc pu évaluer la fraction volumique apparente des suspensions à partir de la relation d'Einstein. Celle-ci s'écrit comme une relation linéaire de la quantité d'insolubles (Eq. B.6) et nous a permis d'observer le comportement rhéologique des suspensions de chlorelles en écoulement en fonction de la fraction volumique (Figure B.8).

$$\phi_{app} = 0,0464 \times IS \tag{B.6}$$

Il est possible de modéliser ces résultats en utilisant des modèles applicables aux suspensions de particules

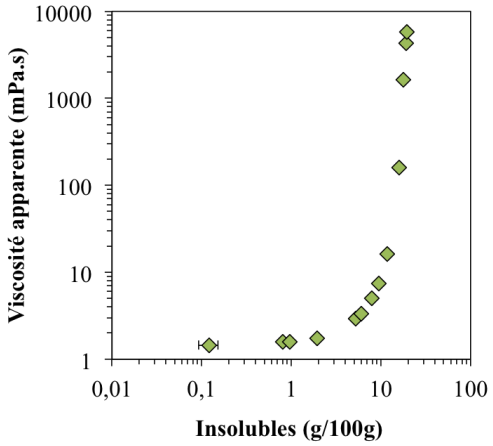


Figure B.7 – Viscosité apparente des suspensions de chlorelles en fonction de la quantité d'insolubles

sphériques. Nous avons choisi de tester l'applicabilité de quatre modèles : trois équations permettant de modéliser le comportement de sphères rigides - le modèle MPQ (Eq. 1.18), le modèle de Krieger-Dougherty (Eq. 1.20) et le modèle de Mendoza (2009) (Eq. 1.23) - et une équation permettant de modéliser le comportement de particules sphériques déformables - le modèle de Mendoza (2013) (Eq. 1.30, 1.31, 1.32).

Les résultats de ces modélisations sont représentés en Figure B.9 et les valeurs des paramètres d'ajustement sont récapitulés dans le Tableau B.4. Si les modèles MPQ, de Krieger-Dougherty et de Mendoza (2009) semblent bien s'ajuster aux points expérimentaux, le meilleur ajustement est tout de même obtenu par le modèle de Mendoza (2013) défini pour les particules sphériques déformables.

Table B.4 – Paramètres des modélisations de la Figure B.9. Le détails des formules peut être retrouvé aux sections 1.4.2 et 1.7.2

	MPQ	Krieger-Dougherty	Mendoza (2009)	Mendoza (2013)
	$\eta(\phi) = \eta_0 \left(1 - \frac{\phi}{\phi_m}\right)^{-2}$	$\eta(\phi) = \eta_0 \left(1 - \frac{\phi}{\phi_m}\right)^{-k_E \phi_m}$	$\eta(\phi) = \eta_0 \left[1 - \left(\frac{\phi}{1-\left(\frac{1-\phi_c}{\phi_c}\right)\phi}\right)\right]^{-\frac{5}{2}}$	$\eta(\phi) = \eta_0 \times \left(1 - \frac{\phi}{1-\left[\frac{1-\phi_{rcp}-\beta\cdot\phi^{\alpha}}{\phi_{rcp}+\beta\cdot\phi^{\alpha}}\right]\times\phi}\right)^{-\frac{5}{2}\times\left(\frac{a}{b}\right)^3}$
ϕ_m ou ϕ_c	0,929	0,935	0,930	entre 0,95 et 3
α	-	-	-	0,392
β	-	-	-	2,45
$\frac{a}{b}$	-	-	-	1,01

On remarque que, quel que soit le modèle utilisé, la fraction volumique maximale est très supérieure à celle observée pour des suspensions de sphères dures, les trois premiers modèles donnant des valeurs de ϕ_m ou ϕ_c d'environ 0,93. Le modèle de Mendoza (2013), quant à lui, donne des valeurs supérieures, pouvant aller au delà de 1. Ces résultats s'expliquent par l'utilisation d'une fraction volumique apparente, définie ici à partir des mesures de matières sèches insolubles.

B.7 Résultats de la caractérisation rhéologique des mélanges binaires

Une fois le comportement des suspensions de chlorelles évalué, nous avons pu nous intéresser au comportement des suspensions binaires. La caractérisation rhéologique des huit mélanges binaires précédemment définis (Figure B.1) a donc été menée, à la fois en dynamique et en écoulement, selon les protocoles établis en 5.2.8. Les résultats de cette caractérisation ainsi que les photographies des mélanges sont présentés la Figure B.10. Les distributions granulométriques des suspensions 100:0, 75:25 et 0:100 (en volume algue:pomme) y sont également représentées.

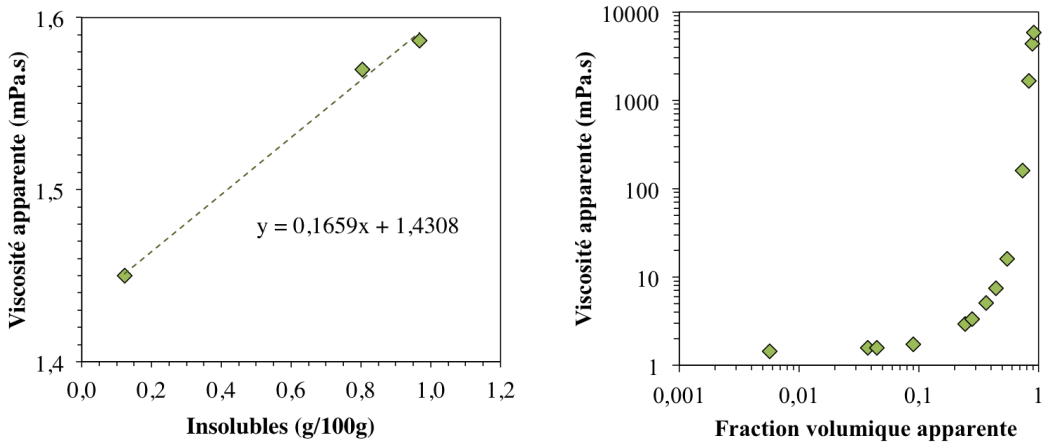


Figure B.8 – Modélisation de la viscosité apparente des suspensions de chlorelles dans le domaine dilué en fonction de la quantité d'insolubles permettant de définir ϕ_{app} en fonction de la quantité d'insolubles (Gauche) et viscosité apparente des suspensions de chlorelles en fonction de la fraction volumique apparente (Droite)

Pour cette étude, nous avons focalisé notre attention sur trois grandeurs rhéologiques : la viscosité apparente à 50 s^{-1}, le module élastique G' et le module visqueux G''. On remarque que la formation de suspensions bimodales modifie les propriétés rhéologiques des suspensions : en faisant varier les proportions relatives de chlorelles et de cellules de parenchyme, on observe une diminution des constantes rhéologiques. Ainsi, lorsqu'on introduit des cellules de parenchyme dans une suspension de chlorelles, on observe une diminution des constantes rhéologiques. Le même phénomène est également observé lors de l'introduction de chlorelles dans une suspension de cellules de parenchyme. On observe également une concentration critique pour laquelle les constantes rhéologiques sont les plus faibles : les minimums de viscosité, module élastique et module visqueux étant observés pour le ratio 75:25. L'observation des distributions granulométriques nous montre que le ratio 75:25 correspond au ratio volumique pour lequel les chlorelles et les cellules de parenchyme occupent le même volume dans l'échantillon. Il est tout de même nécessaire d'être vigilant avec cette observation granulométrique, car lors des mesures de granulométrie, l'échantillon est dilué et les particules se retrouvent donc en milieu dilué. Ainsi, l'encombrement volumique des cellules de parenchyme peut être surestimé par rapport à celui effectivement occupé dans la suspension.

B.8 Discussion

Nous avons souhaité faire le lien entre ces résultats et ceux observés dans le Chapitre 6. Pour ce faire, nous avons considéré que les cellules de parenchyme étaient suspendues dans une phase continue homogène, correspondant à des suspensions de chlorelles de concentration variable. Ainsi, les cellules de parenchyme seraient suspendues dans des phases continues de viscosité variable, la viscosité de la suspension de chlorelles correspondand alors à la viscosité de la phase continue.

Pour chaque suspension binaire, le volume de la suspension mère de chlorelles introduit dans les mélanges est connu. Il est donc possible de remonter à la quantité d'insolubles correspondant aux chlorelles dans chaque mélange binaire. En utilisant l'Eq. B.6, nous avons ensuite pu accéder à la fraction voluique de chlorelles dans la phase continue. En reportant ces valeurs sur la Figure B.9 et en utilisant le modèle de Mendoza (2013), nous avons pu évaluer la viscosité apparente de chacune des suspensions de chlorelles faisant office de phase continue dans les mélanges binaires (Figure B.11).

Comme attendu, on observe ainsi que les suspensions binaires contenant une grande proportion de chlorelles engendrent des viscosités élevées de la phase continue, alors que les suspensions binaires contenant une faible

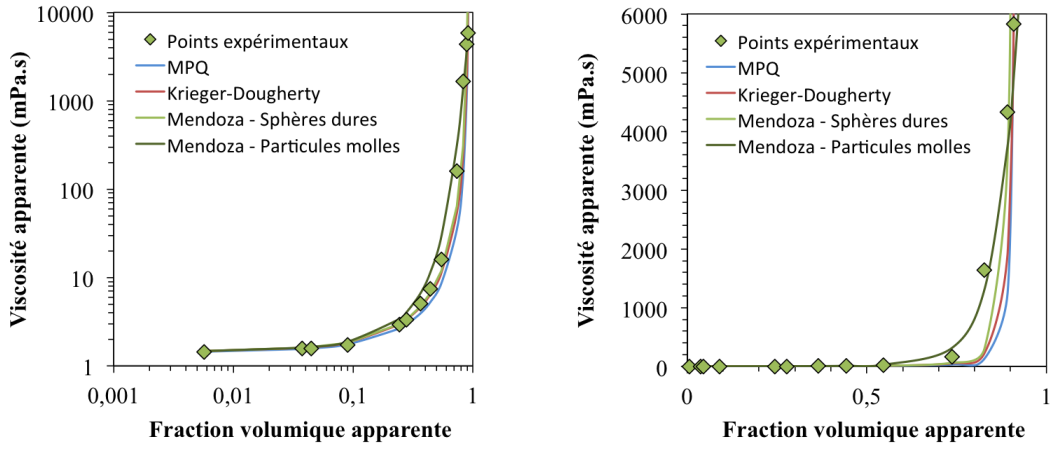


Figure B.9 – Modélisation de la viscosité apparente des suspensions de chlorelles en fonction de la fraction volumique apparente. Gauche : Représentation en log-log. Droite : Représentation en lin-lin.

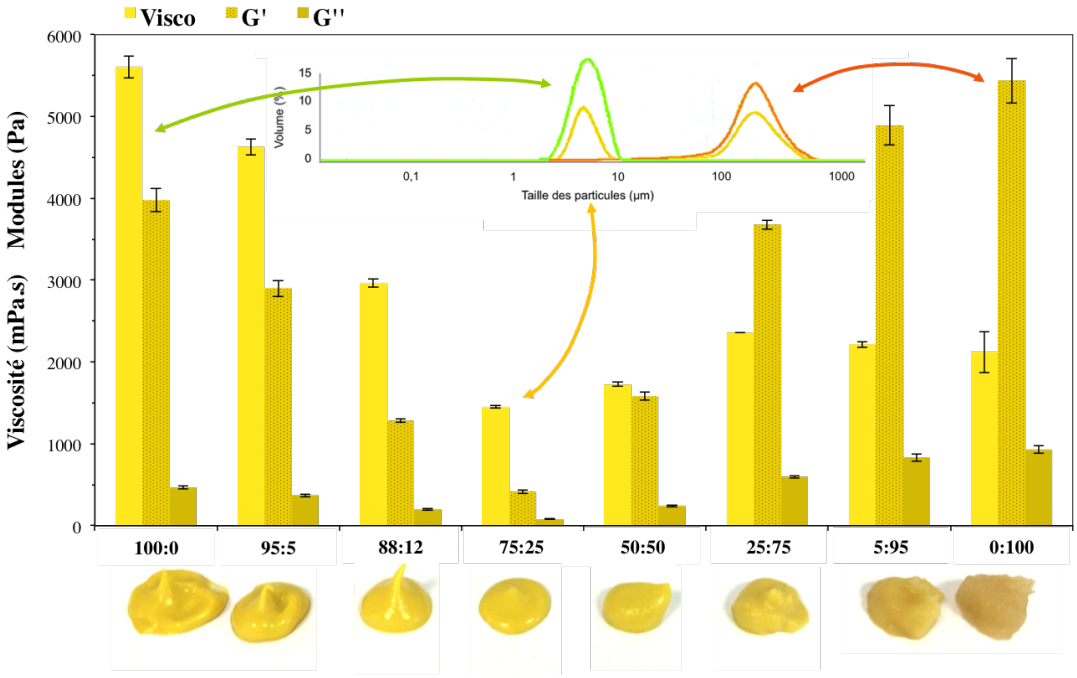


Figure B.10 – Viscosité apparente et modules élastiques et visqueux des suspensions binaires algues:pommes

proportion de chlorelles engendrent des viscosités faibles.

Nous avons donc pu évaluer la viscosité relative des suspensions de cellules de parenchyme suspendues dans les suspensions de chlorelles, comme représenté à la Figure B.12.

L'interprétation de ces résultats étant relativement périlleuse, nous allons en premier lieu nous intéresser aux points extrêmes : la suspension 100% pomme (0:100) et la suspension contenant la plus faible quantité de

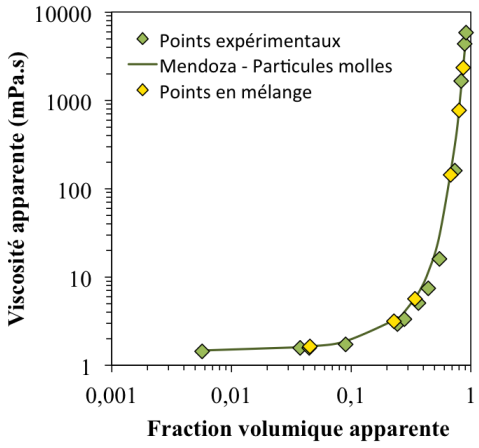


Figure B.11 – Obtention de la viscosité apparente des suspensions de chlorelles en mélanges binaires

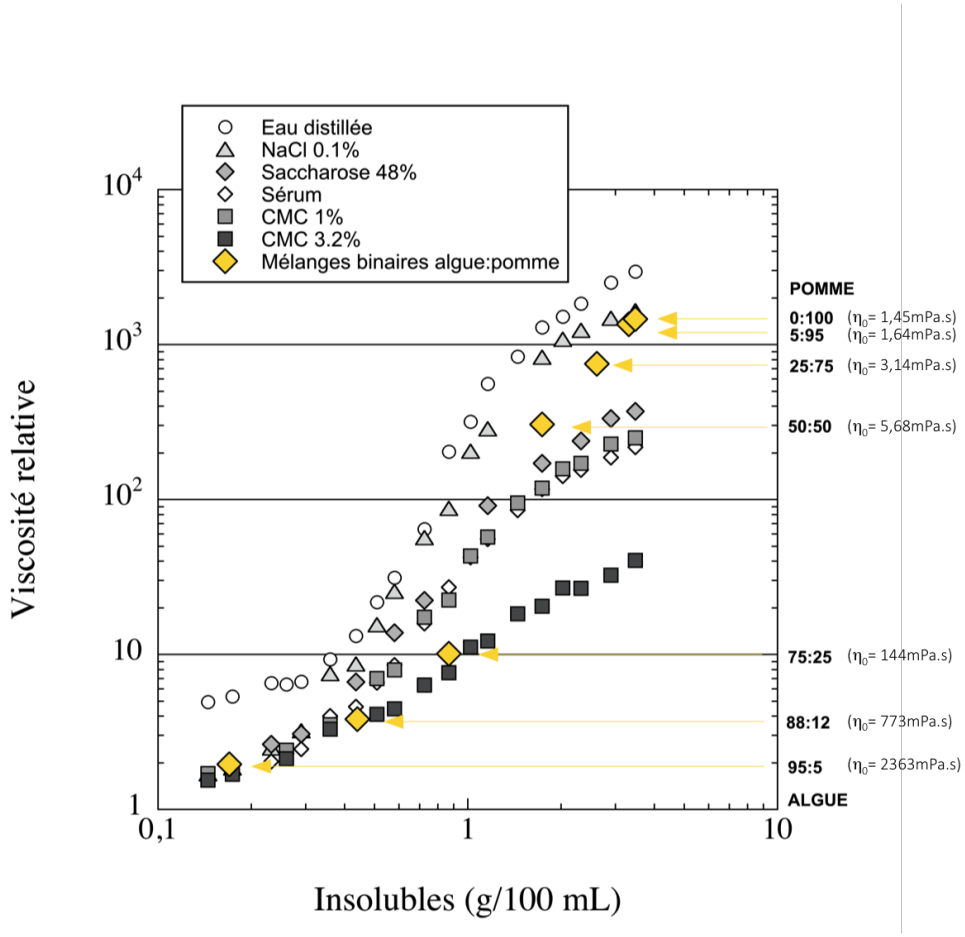


Figure B.12 – Viscosité relative des suspensions de cellules de parenchyme dans différentes phases continues comparées à celle obtenue dans les suspensions de chlorelles de concentration variable

cellules de parenchyme (95:5).

On remarque que pour la suspension 100% pomme, correspondant à la suspension mère de 3,48 g/100mL suspendue dans un sérum aqueux à 1,45 mPa.s, on obtient une viscosité comparable à celle obtenue pour une suspension de cellules de parenchyme de même concentration dans une solution de chlorure de sodium à 1 mPa.s. Ce résultat est intéressant car il est cohérent avec les conclusions faites au Chapitre 6. En effet, la phase continue n'a qu'un effet marginal sur les propriétés des suspensions très concentrées de cellules de parenchyme de pomme. De plus, la présence de charges au sein du sérum d'algues, permet de faire coller les résultats obtenus dans ce dernier avec ceux obtenus dans la solution de chlorure de sodium. Ainsi, la présence de protéines solubles dans la phase continue des suspensions de cellules de parenchyme ne modifie pas le comportement de ces suspensions concentrées.

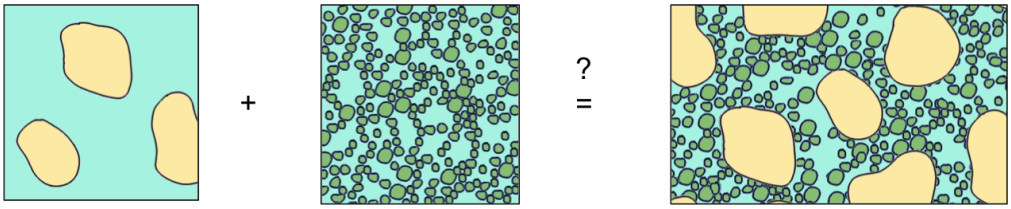


Figure B.13 – Comportement hypothétique des cellules de parenchyme dans une suspension concentrée de chlorelles

Pour la suspension 95:5, les résultats peuvent sembler plus inattendus. En effet, il semblerait que l'apport des cellules de parenchyme à la viscosité de la suspension soit le même en suspension dans un fluide visqueux ou dans une suspension concentrées de chlorelles. Ainsi, les cellules de parenchyme ne seraient que peu déformées par la présence de microalgues dans le milieu, comme le schématise la Figure B.13. La même remarque peut être effectuée pour la suspension 88:12.

Enfin, pour les concentrations intermédiaires, il semblerait également que l'apport des cellules de parenchyme à la viscosité des suspensions soit peu impacté par la présence de microalgues dans le milieu.

B.9 Conclusion

Nous avons pu observer que l'adjonction de particules rigides dans les suspensions de cellules de parenchyme entraine une diminution des constantes rhéologiques, comme on pourrait l'observer lors de la formation de suspensions bimodales de sphères dures. Il semblerait que les petites particules se comportent comme du fluide pour les cellules de parenchyme, malgré leur déformabilité.

Annexe C

Protocoles de caractérisation de la composition chimique des parois végétales

Ces protocoles sont issus de la thèse de Aude Watrelot (Watrelot, 2014) et correspondent à ceux réalisés à l'UMR 408 SQPOV pour la caractérisation de la composition chimique des parois décrite dans ce travail.

C.1 Dosages des oses neutres par la méthode des acétates d'alditols

C.1.1 Principe

Les oses neutres sont dosés dans les pectines suivant la méthode décrite par Englyst & Cummings (1984). Les dosage des oses neutres a été réalisé par chromatographie en phase gazeuse après dérivatisation, les rendant volatils. Pour ce faire, les polysaccharides ont été hydrolysés, dérivatisés en alditols puis acétylés. L'hydrolyse des polysaccharides a été effectuée sur les échantillons de parois insolubles en milieu acide sulfurique dilué à 100° C et a été précédée d'une pré-hydrolyse en milieu acide sulfurique concentré (72%). La dérivatisation correspond à l'étape pendant laquelle les oses libres sont réduits par $NaBH_4$ en alditols puis acétylés par l'anhydride acétique en présence d'un catalyseur le N-méthylimidazole. Les acétates d'alditols, volatils, sont enfin séparés par chromatographie en phase gazeuse et quantifiés par rapport à un standard d'inositol.

C.1.2 Mode opératoire

Hydrolyse À environ exactement 10 mg de composé pectique placés dans un tube à vis fermant hermétiquement, sont rajoutés 250 μL d'H_2SO_4 à 72%. Après cette préhydrolyse d'une heure à température ambiante, 1 mL d'étalon interne (inositol à 1 mg/mL) et 1,7 mL d'eau milliQ sont rajoutés, agités fortement au vortex. L'hydrolyse est ensuite réalisée pendant 3h à 100°C. Les standards (1 mL) ne subissent pas de préhydrolyse mais seulement l'hydrolyse de 3 h à 100°C avec 1 mL d'H_2SO_4 à 2 mol/L.

Réduction Après refroidissement, une aliquote est conservée pour le dosage de l'acide galacturonique et 1 mL de solution est transféré dans un tube à hémolyse. L'hydrolysat est neutralisé par 300 μL d'ammoniaque à 33 %. Enfin, 100 μL de NH_4OH à 3 mol/L contenant 100 mg/mL de $NaBH_4$ sont ajoutés. La réduction est réalisée en 1 h à température ambiante. Les tubes sont ensuite placés dans un bain de glace et le borohydrure en excès est décomposé par l'ajout de 2 fois 50 μL d'acide acétique glacial.

Acétylation 300 μL de cette solution sont alors transférés dans un tube à essai et 200 μL de N-méthyl imidazole et 3 mL d'anhydride acétique sont alors rajoutés. L'ensemble est homogénéisé et l'acétylation

des alditols est réalisée pendant 30 min à température ambiante. L'excès d'anhydride acétique est décomposé par ajout de 5 mL d'eau milliQ. Trois millilitres de dichlorométhane sont ajoutés pour extraire les acétates d'alditols. Après décantation, la phase aqueuse supérieure est éliminée et la phase organique est lavée 4 fois par 5 mL d'eau milliQ. Après avoir enlevé toutes traces d'eau par ajout de Na_2SO_4, les acétates d'alditols présents dans le dichlorométhane sont quantifiés par chromatographie en phase gazeuse. Les acétates d'alditols sont analysés à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse modèle HP-5890 (Agilent, Inc, Palto Alto, Etats-Unis) équipé d'un passeur d'échantillons automatique, d'un injecteur split thermostaté à 250°C et d'une colonne capillaire en silice greffée DB 225 (30 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,5 μm). La colonne est thermostatée à 210°C et l'hélium est utilisé comme gaz vecteur à une pression d'entrée de 100 KPa. La détection se fait à l'aide d'un détecteur à ionisation de flamme à 250°C et l'acquisition des données se fait par le logiciel HPCHEM (Agilent, Inc, Palto Alto, Etats-Unis). Deux μL de solution d'acétate d'alditols sont injectés en mode split 1/15 sur la colonne. La quantification se fait par étalonnage interne avec l'inositol. Les facteurs de réponse des différents oses neutres par rapport à l'inositol sont calculés à partir d'une solution de standards d'oses neutres. Les résultats sont exprimés en anhydro-oses.

C.2 Dosages de l'acide galacturonique par colorimétrie

C.2.1 Principe de la méthode

Dans un premier temps, les pectines sont hydrolysées en acides galacturoniques, puis sont transformés en dérivés furfuriques par l'action d'acide sulfurique concentré à chaud. Les dérivés furfuriques ainsi formés réagissent avec le m-hydroxydiphényle (MHDP, dérivé du phénol) produisant un complexe rose fuschia, qui présente un maximum d'absorption à 520 nm. Pour le dosage des acides galacturoniques de parois ou de matériel insoluble, les échantillons correspondent à l'aliquote conservée après hydrolyse des sucres par de l'acide sulfurique à 72%.

C.2.2 Mode opératoire

Peser exactement environ 10mg de composés pectiques et les mettre en solution avec 250 μL d'une solution aqueuse d'acide sulfurique (72% v/v). 1 mL d'une solution de myo-inositol (1mg/mL) et 1,7 mL d'eau milliQ sont ajoutés. Cette solution est laissée 3h à 100°C au thermobloc (Stuart, Bibby Scientific Limited, Staffordshire, Angleterre). Pendant ce temps, une gamme de cinq solutions d'acide galacturonique allant de 0 à 100 $\mu g/mL$ dans l'eau est préparée. On place 0,5 mL d'échantillons dans trois tubes à essais (1 blanc et 2 analyses par échantillon). En parallèle 0,5 mL de solution sont placés dans 2 tubes à essais pour chaque point de la gamme. 3 mL d'une solution de tétraborate de sodium à 0,0125 mol/L dans l'acide sulfurique concentré sont ajoutés dans tous les tubes. Les tubes sont agités fortement au vortex et placés à 80°C pendant 10 min. La réaction est arrêtée en plaçant les tubes dans un bain de glace. 50 μL de MHDP (150 mg dans 0,125 mol/L d'hydroxyde de sodium) sont ajoutés dans les 2 tubes d'analyse, et 50 μL d'hydroxyde de sodium (0,125 mol/L) sont ajoutés dans les tubes correspondants aux blancs. Après agitation au vortex, les solutions sont transférées dans des cuves de spectrophotométrie. Après 10min d'attente, la lecture des densités optiques à 520 nm est réalisée avec un spectrophotomètre UV-visible (V-530, Jasco, Tokyo, Japon).

C.3 Dosage du méthanol par GC/MS

C.3.1 Principe

Le méthanol est dosé dans les composés pectiques afin de déterminer le degré de méthylation des pectines comme décrit par Renard & Ginies (2009). Le dosage du méthanol correspond à la quantification du méthanol

libéré après saponification des pectines par KOH 1M par GC/MS. La quantification se fait à partir d'une gamme d'étalonnage avec du méthanol et en utilisant du méthanol-d3 comme standard interne.

C.3.2 Mode opératoire

À environ exactement 10 mg de composés pectiques placés dans des tubes à vis sont rajoutés 0,8 mL d'hydroxyde de potassium 1 mol/L, 3,8 mL d'eau milliQ et 0,4 mL d'une solution de méthanol-d3 à 0,6 mg/mL (étalon interne). La gamme est préparée en parallèle avec les mêmes volumes d'étalon interne et de potasse, mais avec des concentrations variables de méthanol (0,1 - 1 mg/mL). Les tubes sont ensuite agités au vortex avant l'analyse par GC-MS. L'appareil de chromatographie utilisé est un GC-MS QP2010 Shimadzu (Kyoto, Japon) équipé d'un passeur d'échantillons automatique AOC500 et d'une colonne capillaire Cp wax 52cb 30m $\times$ 0,32 mm $\times$ 0,5 μm (Varian, Inc, Palo Alto, USA). Le tube scellé est placé à 50°C pendant 15 min et 0,5 mL d'espace de tête sont injectés (ratio 1/10). Les conditions de chromatographie sont l'hélium à 45 cm/s en tant que gaz vecteur et la température du four est à 40°C. La détection est faite en ionisation par impact électronique (70 eV) avec la source à 200°C et la détection des ions sélectionnés (m/z 31 ; 32 ; 35) à 5 scans.s-1. La concentration en méthanol est calculée en traçant le ratio de l'aire du pic (normal en fonction des formes deutérées) pour les ions impairs (m/z 31/35) en fonction des ratios de concentration de CH_3OH/méthanol-d3. L'ion à m/z 35 est l'ion moléculaire de méthanol-d3, hautement spécifique de ce composé. L'ion m/z 31 (CD_3O^+) est préféré à l'ion moléculaire m/z 32, pour le CH_3OH, car il donne un meilleur ratio signal sur bruit. Le degré de méthylation (DM) est calculé comme le ratio molaire du méthanol sur l'acide galacturonique.

Annexe D

Posters

Dans cette Annexe, tous les posters réalisés au cours de la thèse sont présentés par ordre chronologique.

Designing a food model to study the impact of food liking on food intake: characterization of isocaloric apple purees varying in texture

Parizel, O [1,2,3], Leverrier, C [2], Delarue, J [2], Marsset-Baglieri, A [1], Sulmont Rossé, C [3], Fromentin, G [1], Cuvelier, G [2]

[1] AgroParisTech-INRA, UMR914 Physiologie, Nutrition et Comportement Alimentaire, Paris, France. [2] AgroParisTech-INRA-CNAM, UMR1145 Ingénierie Procédés Aliments, Massy, France. [3] INRA, UMR1324 Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, Dijon, France

Vitagora – April 3, 2014

Context of the study

Aim

Design a range of food products

- Contrasted hedonic ratings
- Isocaloric: Same nutritional composition

Strategy : To develop apple purees **only varying in texture**

Relationship between rheological, structural and sensory properties permits us to control the texture[1]. By using **reverse processing methodology**, we wanted to :

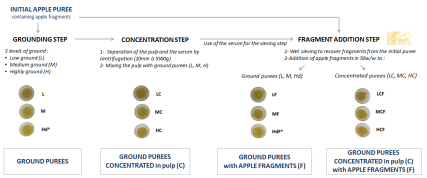
- point out textures and therefore structures that are important to generate large individual differences in palatability
- adapt process from laboratory to large-scale production

Methodology and Results

Results presented concern the range of final products

PRODUCT

- Apple puree is a suspension of particules
- Texture was modified by using 3 structural dimensions : **pulp content**, **particle size** and **apple fragments addition**



- They are characterized by intrumental measurements:
  Example of low (L), medium (M), highly (H) and highly diluted (Hd) ground purees

STRUCTURE

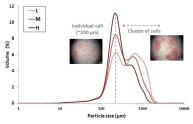


Figure 1 : Particle size distribution (µm) of the low ground puree (L); the middle ground puree (M) and the highly ground puree (H)

RHEOLOGY

	L	M	H	Hd
Apparent viscosity η(γ̇=3 43⁻¹) [mPa.s]	2410 ± 53	1957 ± 202	1650 ± 46	535 ± 37
Elastic modulus G' [Pa]	2696 ± 164	1980 ± 60	1487 ± 40	185,7 ± 21,0
Yield stress τ₀ (Pa)	208,7 ± 16,0	119,0 ± 6,56	77,27 ± 0,67	4,94 ± 0,61

***NB : H and Hd**

A product with a low apparent viscosity had to be developed according to the hedonic purpose.

Then, H was diluted by 10% with serum (from the centrifugation) to obtain Hd. Only Hd was kept in the range of final products

TEXTURE

***Sensory** and functional manifestation of the **structural, mechanical and surface properties of foods** detected through the senses of vision, hearing, touch and kinesthetics [2]*

SENSORY

METHODOLOGY : FLASH PROFILE

10 experts — **12 apple purees + the initial puree + 1 repetition (M)**

RESULTS

- 78% of the descriptors are relative to texture
- The sight is as important as the mouth's sensation to describe texture

Figure 2 : Repartition of the descriptors after the flash profile

- Textures are described through two dimensions, **consistency and graininess, linked to structural modifications** (namely pulp content and particle size)
  Adding apple fragments wides the graininess' dimension

Statistical analysis : Generalised Procustes Analysis

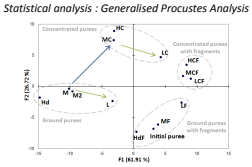


Figure 3 : Map of products

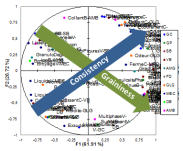


Figure 4 : Circle of correlations

HEDONIC

METHODOLOGY :

60 people
36 women, 24 men
Age : 24 ± 4,14 yrs
BMI : 21,6 ±2,39 kg/m²

Initial puree + **12 apple purees**
= warm-up — Monadically presented

After lunch
Context of a meal: puree as a dessert
Individual table

RESULTS

- **For 85% of the participants**, it was possible to select at least **one disliked and one liked product** (namely, one product scoring below 3 and one product scoring above 7)

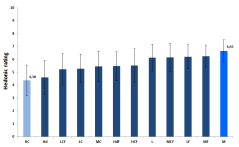
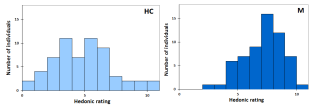


Figure 5 : Hedonic rating means for the range of final products

- Products have different patterns of appreciation



Previous hedonic tests have highlighted textures. Some parameters of the process have been changed.

Conclusion and perspectives

Reverse processing methodology makes it possible to design range of textures in apple purees which lead to contrasted appreciations for each individual.

This isocaloric food model could be used further to study the influence of palatability on food intake.

References

[1] Espinosa-Muñoz, L. *et al* « The significance of structural properties for the development of innovative apple puree textures ». *LWT - Food Science and Technology* 49, n° 2 (December 2012): 221-228

[2] Szczesniak, A. S. « Texture is a sensory property ». *Food Quality and Preference* 13, n° 4 (june 2002): 215-225.

CONTACT

Odile PARIZEL
odile.parizel@agroparistech.fr
INRA - AgroParisTech
16 rue Claude Bernard
75 005 Paris

INRA SCIENCE & IMPACT

Métaprogramme DID'IT
Diet Impact and Determinants : Interactions and Transitions

AgroParisTech

Effect of structural parameters on rheological behaviour of reconstructed puree

Cassandre Leverrier, Giana Almeida, Gérard Cuvelier

INRA, UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments, 91300 Massy, France

AgroParisTech, UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments, 91300 Massy, France

The research leading to these results has received funding from the European Union's Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration under grant agreement n° 311754

AERC 2015, Nantes, FRANCE 15-17th April 2015

Context

In food industry, controlling texture allows to generate innovative products and to deal with consumer expectations or physical issues (ex. swallowing problems due to ageing).

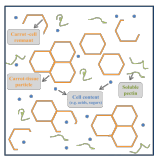
Source: http://www.annabelkarmel.com/recipes/first-apple-puree

Source: care4brain.com/tag/intervention-for-demented-elderly/

Research question: *How does fruit suspension structure impact its behaviour ?*

Strategy

Fruit puree = vegetable deformable cells suspension



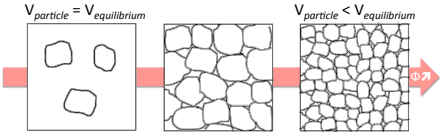
Rheology

INTERACTIONS

PARTICLES = cell walls
- Concentration
- Size and distribution
- Morphology

SERUM
- Pectins
- Sugar
- Ions
- pH

Apple puree = 1.16 g of cell walls for 100 g of puree



Construction of apple purees varying in :
- ✓ **particle size (, and)**
- ✓ **particle concentration (from 0 to 2.32g/100g)**

Material & Methods

MATERIAL

Apple puree → **Grinding** (3 levels) → **Separation** (5000g, 2H, 20°C) → **Reconstruction** (Mixing from 0 to 2.32 g/100g)

STRUCTURE

Particle size distribution
Mastersizer 2000, Malvern

Settling stability
Turbiscan™ LAB, Formulaction

Light microscopy
Olympus BX51

BEHAVIOUR

Rheology
MCR 301, Anton Paar, using large gap coaxial cylinders (δr=5mm)

Steady-state measurements*

A round trip of shear rates distributed logarithmically was applied from $10s^{-1}$ to $250s^{-1}$, each shear rate was applied for 1min. **Apparent viscosity is taken as the viscosity obtained after 1min at $50s^{-1}$.**

For **highly diluted products**, shear rate was increased from 0.1 to $100s^{-1}$ (logarithmic ramp) for a total duration of 10min. **Newtonian viscosity is taken as the mean viscosity between 10 and 50 s^{-1}.**

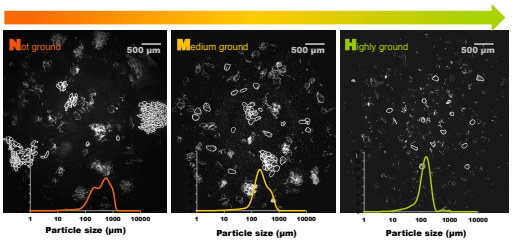
Oscillatory measurements*

A strain sweep from 0.015% to 150% was performed at constant pulse ($10rad.s^{-1}$). Both **G*** and **tanδ** are taken in the **linear viscoelastic domain**.

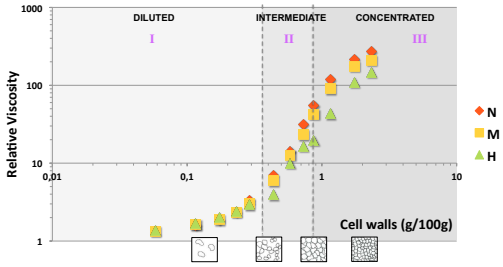
**before the measurement, 2min preshear at $50s^{-1}$ followed by 10min resting time were applied to steady over time products.*

Results

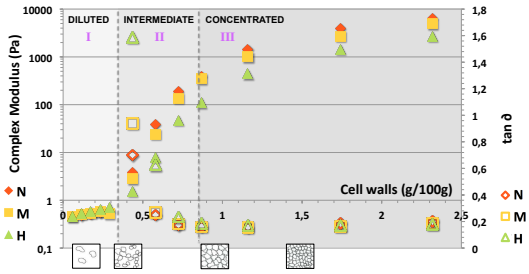
Impact of grinding process on cells structure and size



Impact of cell structure and concentration on rheological behaviour : 3 concentration domains (I, II, III)



I Size and shape have a small impact on rheology
II Appearance of a weak network
III Particles begin to pack



Conclusion & Perspectives

- Rheological measurements have been performed on a wide range of concentrations with variable particles size distribution.
- Three concentration domains are visible, in both flow and dynamic measurements:
  - ✓ **Diluted regime**: Newtonian flow. Particles size and shape have little effect on rheology.
  - ✓ **Semi-diluted regime**: Existence of a weak network between particles.
  - ✓ **Concentrated regime**: The dependence between viscosity and concentration decreases. Particles begin to pack and their volume becomes lower than their equilibrium volume.
- **Next step**: determine the volume occupied by the particles in each domain, access to Φ, determine the influence of the continuous phase and the influence of intrinsic properties of the particles.

REFERENCES

Bayod, E. (2008). *Microstructural and Rheological Properties of Concentrated Tomato Suspensions during Processing.*

Espinosa-Muñoz, L., Renard, C. M. G. C., Symoneaux, R., Biau, N., & Cuvelier, G. (2013). Structural parameters that determine the rheological properties of apple puree. *Journal of Food Engineering*, *119*(3), 619–626. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.06.014

Moelants, K., Cardinaels, R., Van Buggenhout, S., Van Loey, A., Moldenaers, P., & Hendrickx, M. (2014). A review on the relationships between processing, food structure and rheological properties of plant-tissue-based food suspensions. *Journal of Food Science.*

Rao, M. A., Cooley, H. J., Nogueira, J. N., & McLellan, M. R. (1986). Rheology of Apple Sauce : Effect of Apple Cultivar, Firmness, and Processing Parameters. Journal of Food Science, 51(1), 176–179.

Contact

Cassandre LEVERRIER

UMR 1145 Génial - Team SP2 - Structuration des Produits par le Procédé

Adress: 1 avenue des Olympiades, 91744 Massy Cedex, FRANCE

cassandre.leverrier@agroparistech.fr

www.umr-genial.eu

Effect of structural parameters on rheological behaviour of apple cells dispersions:

A comparison of real systems and model systems.

Cassandre Leverrier, Giana Almeida, Serife Kaymaz, Gérard Cuvelier

INRA, UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments, 91300 Massy, France

AgroParisTech, UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments, 91300 Massy, France

The research leading to these results has received funding from the European Union's Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration under grant agreement n° 311754

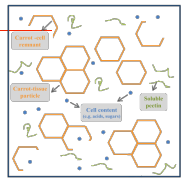
ISFRS 2015, Zurich, SWITZERLAND 7-11th June 2015

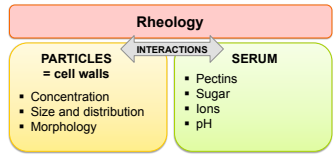
Research question: ***How does continuous medium impact rheological behaviour of fruit suspensions ?***

Strategy & Context

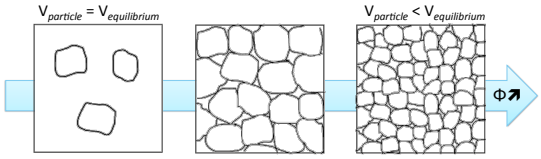
Context ***In food industry, controlling texture allows to generate innovative products and to deal with consumer expectations.***

Fruit puree = vegetable deformable cells suspension





Apple puree = 1.16 g of cell walls for 100 mL of puree



Construction of apple purees varying in : ✓ **particle concentration (from 0 to 3.48g/100mL)** ✓ **continuous phase**

Material & Methods

MATERIAL

Apple puree → **Grinding** → (A) → **Separation** 5000g, 2H, 20°C → **Reconstruction in serum** Mixing from 0 to 2.32 g/100mL

(B) ↓ **Separation** Wet sieving → **Drying** Ethanol, acetone → **Reconstruction in model media** Mixing from 0 to 3.48 g/100mL

MEDIA

Water	Sucrose 48%w	Serum
$\eta = 1$ mPa.s	$\eta = 12$ mPa.s	$\eta = 12$ mPa.s
$\varrho = 1.000$ g.cm^{-3}	$\varrho = 1.2186$ g.cm^{-3}	$\varrho = 1.051$ g.cm^{-3}

BEHAVIOUR

Rheology

MCR 301, Anton Paar, using large gap coaxial cylinders (δr=5mm)

Steady-state measurements

Apparent viscosity after 1min at 50s^{-1}

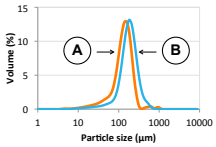
Oscillatory measurements

Strain sweep from 0.015% to 150% was performed at 10rad.s^{-1}.

STRUCTURE

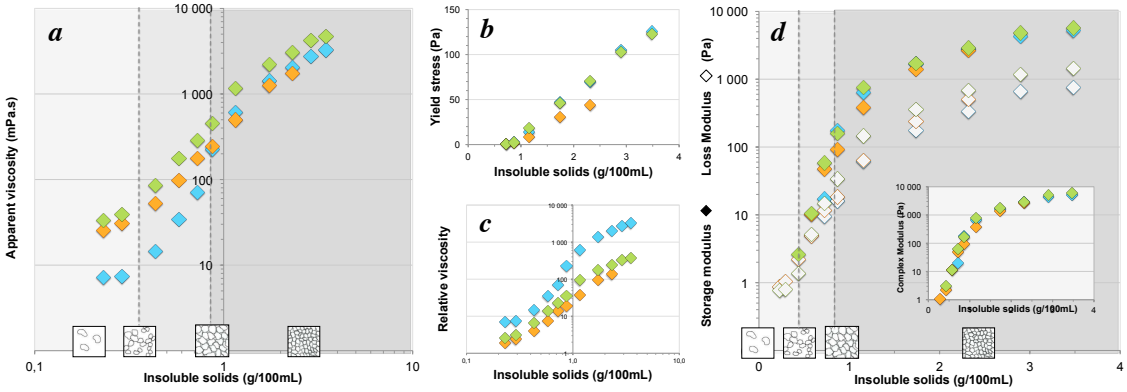
Particle size distribution

Mastersizer 2000, Malvern



Results

◆ Water ◆ Sucrose 48%w ◆ Serum



Conclusion & Perspectives

- Same behaviour for reconstructed apple puree and model apple purees: Three concentration domains are visible, in both flow and dynamic measurements (***Figures a, d***)
  - ✓ **Diluted domain**: Newtonian flow.
  - ✓ **Semi-diluted domain**: Existence of a weak network between particles.
  - ✓ **Concentrated domain**: Particles begin to pack and their volume becomes lower than their equilibrium volume.
- The network of particles is built up the same way whatever the continuous phase (***d***)
- In the diluted domain, apple cells seem to expand more in water than in other media (***c***)
- The limit of flow (yield stress) depends linearly on the insoluble solid content (***b***) in semi-diluted and concentrated domains, in water and sucrose solution.

Next step is to determine the evolution of the volume occupied by the particles when the insoluble solid content increases, to access to Φ and to determine the impact of polymers in the continuous phase.

REFERENCES

Bayod, E. (2008). *Microstructural and Rheological Properties of Concentrated Tomato Suspensions during Processing.*

Espinosa-Muñoz, L., Renard, C. M. G. C., Symoneaux, R., Biau, N., & Cuvelier, G. (2013). Structural parameters that determine the rheological properties of apple puree. *Journal of Food Engineering*, *119*(3), 619–626. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.06.014

Moelants, K., Cardinaels, R., Van Buggenhout, S., Van Loey, A., Moldenaers, P., & Hendrickx, M. (2014). A review on the relationships between processing, food structure and rheological properties of plant-tissue-based food suspensions. *Journal of Food Science.*

Rao, M. A., Cooley, H. J., Nogueira, J. N., & McLellan, M. R. (1986). Rheology of Apple Sauce : Effect of Apple Cultivar, Firmness, and Processing Parameters. Journal of Food Science, 51(1), 176–179.

Contact

Cassandre LEVERRIER

UMR 1145 Génial - Team SP2 - Structuration des Produits par le Procédé

Adress: 1 avenue des Olympiades, 91744 Massy Cedex, FRANCE

cassandre.leverrier@agroparistech.fr

www.umr-genial.eu

Impact of continuous phase and particle content on rheological behaviour of apple cells suspensions

Cassandre Leverrier, Giana Almeida, Gérard Cuvelier

UMR Ingénierie Procédés Aliments *(JRU Food & Process Engineering)*

The research leading to these results has received funding from the European Union's Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration under grant agreement n° 311754

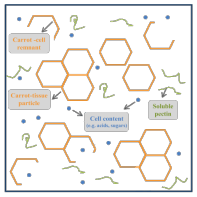
Research question:

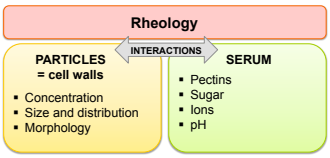
How does continuous medium impact rheological behaviour of fruit suspensions ?

Strategy & Context

In food industry, controlling texture allows to generate innovative products and to deal with consumer expectations.

Fruit purees = suspensions of deformable cells or cell clusters

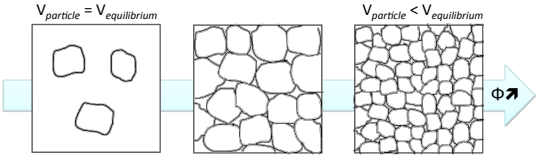




Apple puree = 1.16 g of cell walls for 100 mL of puree

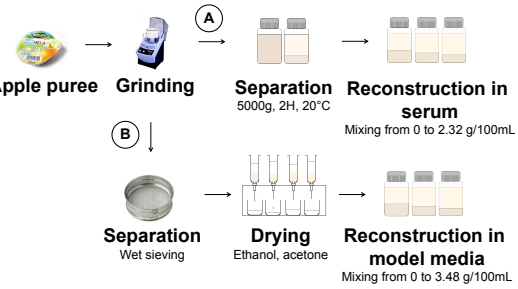
Construction of apple cells suspensions varying in :

- ✓ **particle concentration (from 0 to 3.48g/100mL)**
- ✓ **continuous phase**



Material and Methods

MATERIAL



CONYINUOUS PHASES

	Water	NaCl 0.1%	Sucrose 48%m	Serum	CMC 1%	CMC 3.2%
η *mPa.s*	1	1	13	13	13	108
ρ *g.cm⁻³*	0.9982	1.000	1.219	1.051	1.006	1.018
Conductivity *µS/cm*	0.80	1750	18	1730	2000	6000

BEHAVIOUR

Rheology

MCR 301, Anton Paar, using large gap coaxial cylinders (δr=5mm)

Steady-state measurements

Apparent viscosity after 1min at 50s^{-1}

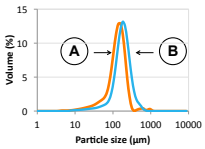
Oscillatory measurements

Strain sweep from 0.015% to 150% was performed at 10rad.s^{-1}.

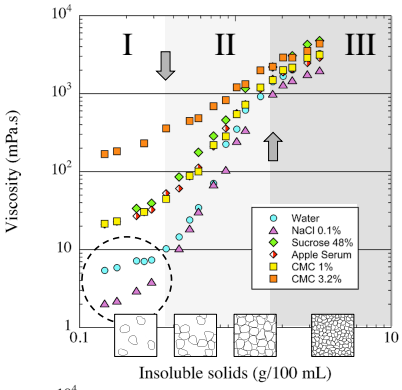
STRUCTURE

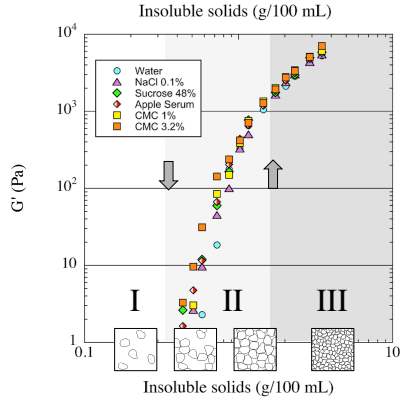
Particle size distribution

Mastersizer 2000, Malvern



Results





Conclusions

Rheological parameters increase with the particle content. This study confirms that **particle content** has **a major impact** on rheological behaviour of apple cells dispersions, and highlights **three concentration domains**, both in flow and dynamics measurements.

- The **diluted domain** exhibits Newtonian flow. Ionic strength appears to impact only in distilled water inducing electrostatic repulsion between particles which increases viscosity values.
- The **intermediate domain** is characterised by the building of a weak network between particles. Continuous phase have a little effect in this domain, but its viscosity and ionic strength seem to impact the elastic modulus in this domain.
- In the **concentrated domain**, the dependency between viscosity and concentration decreases. Particles begin to pack and their volume becomes lower than their equilibrium volume. Continuous phase has no longer any impact on G', the interactions between particles are the only paameters affecting elastic properties in this domain.

The continuous phase seems to have no impact on transition domains.

REFERENCES

Bayod, E. (2008). *Microstructural and Rheological Properties of Concentrated Tomato Suspensions during Processing.*

Day et al. (2010). *Food and Bioprocess Technology ; 3:928–934.*

Espinosa-Muñoz, L., Renard, C. M. G. C., Symoneaux, R., Biau, N., & Cuvelier, G. (2013). Structural parameters that determine the rheological properties of apple puree. *Journal of Food Engineering*. *119*(3), 619–626. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.06.014

Moelants, K., Cardinaels, R., Van Buggenhout, S., Van Loey, A., Moldenaers, P., & Hendrickx, M. (2014). A review on the relationships between processing, food structure and rheological properties of plant-tissue-based food suspensions. *Journal of Food Science.*

Rao, M. A., Cooley, H. J., Nogueira, J. N., & McLellan, M. R. (1986). Rheology of Apple Sauce : Effect of Apple Cultivar, Firmness, and Processing Parameters. Journal of Food Science, 51(1), 176–179.

Contact

Cassandre LEVERRIER
UMR 1145 – Team SP2
AgroParisTech - Centre de Massy
1 avenue des Olympiades 91300 Massy
France
cassandre.leverrier@agroparistech.fr

ESR Anniversary Meeting
ETH Zurich
April 1, 2016

Impact of mechanical treatment and particle concentration on fruit suspensions stability

Cassandre Leverrier, Delphine Huc-Mathis, Giana Almeida, Véronique Bosc, Damien Binois, Gérard Cuvelier

UMR Ingénierie Procédés Aliments *(JRU Food & Process Engineering)*

The research leading to these results has received funding from the European Union's Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration under grant agreement n° 311754

The objective of this work is to confirm the **structural parameters** that **control the rheological behaviour of plant cells dispersions** related to the texture of the products and to **pave the way for stabilization methods of fruit suspensions limiting the use of additives**.

Two species presenting different cellular structure were studied as examples:

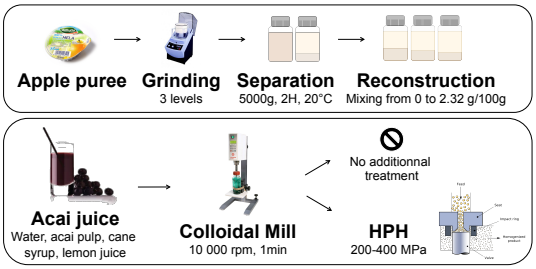
- **apple** (*Malus domestica Borkh. cv* Golden Delicious)
- **acai** (*Euterpe oleracea Mart.*)

Research question:

How to stabilize fruit suspensions limiting the use of additives ?

Material and Methods

MATERIAL



STRUCTURE

Particle size distribution
Mastersizer 2000, Malvern

Settling stability
Turbiscan™ LAB, Formulaction

Light microscopy
Olympus BX51

BEHAVIOUR

Rheology
MCR 301, Anton Paar, using large gap coaxial cylinders (δr=5mm)

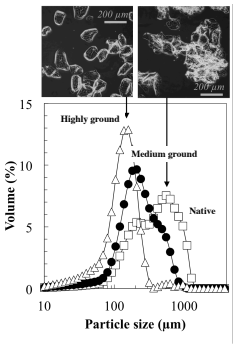
Steady-state measurements
Flow curve from 10 to 250 s-1

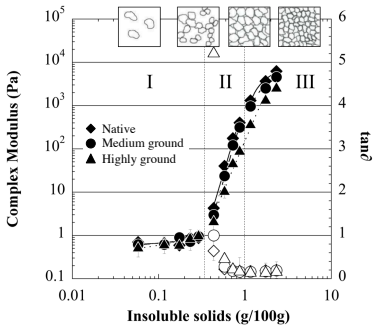
Oscillatory measurements
Frequency and strain sweeps

Results

Apple Suspensions

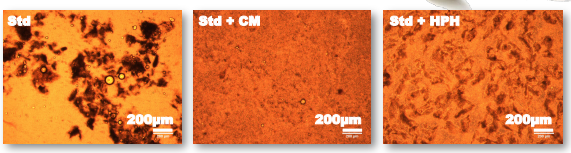
The insoluble solids content allows to structure to medium. Three concentration domains are highlighted. The appearance of a weak network is observed whatever the particle size distribution.

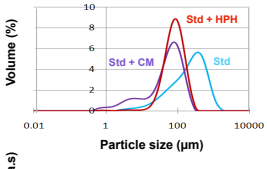


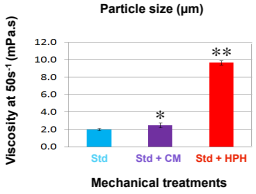


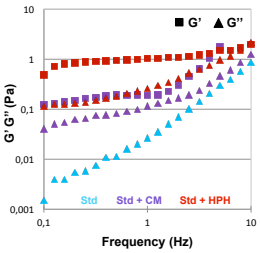
Acai Juices

Mechanical treatments allow to functionalize the disperse phase and to create a weak gel, avoiding sedimentation and creaming.









Conclusions

For apple, three concentration domains were observed depending on the concentration of insoluble solids

- ✓ **Diluted domain :** Particles size and shape have a little effect on rheology
- ✓ **Semi-diluted domain :** Building of a weak network between the particles
- ✓ **Concentrated domain :** Particles begin to pack

These results suggest that a very small amount of particle allows structuring the medium by creating a weak gel, which was confirmed by the results obtained on acai.

Stabilization of acai juices was successfully achieved using physical treatments, which decreased the particle size and helped building a connected network. These effects are all positive levers on stabilization, as can be seen after 5 months of storage.

Particle size and shape have a major impact on rheological behavior and stability of fruit suspensions.

REFERENCES

Bayod, E. (2008). *Microstructural and Rheological Properties of Concentrated Tomato Suspensions during Processing.*

Day et al. (2010). *Food and Bioprocess Technology ; 3:928–934.*

Espinosa-Muñoz, L., Renard, C. M. G. C., Symoneaux, R., Biau, N., & Cuvelier, G. (2013). Structural parameters that determine the rheological properties of apple puree. *Journal of Food Engineering*, *119*(3), 619–626. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.06.014

Moelants, K., Cardinaels, R., Van Buggenhout, S., Van Loey, A., Moldenaers, P., & Hendrickx, M. (2014). A review on the relationships between processing, food structure and rheological properties of plant-tissue-based food suspensions. *Journal of Food Science.*

Rao, M. A., Cooley, H. J., Nogueira, J. N., & McLellan, M. R. (1986). Rheology of Apple Sauce : Effect of Apple Cultivar, Firmness, and Processing Parameters. Journal of Food Science, 51(1), 176–179.

Contact

Cassandre LEVERRIER
UMR 1145 – Team SP2
AgroParisTech - Centre de Massy
1 avenue des Olympiades 91300 Massy
France
cassandre.leverrier@agroparistech.fr

Fruit & Vegetable Processing
Avignon
April 4-6, 2016

Soft plant cells suspensions: How does structural parameters and continuous phase impact rheological behaviour?

Cassandre Leverrier, Giana Almeida, Paul Menut, Gabrielle Moulin, Gérard Cuvelier

UMR Ingénierie Procédés Aliments *(JRU Food & Process Engineering)*

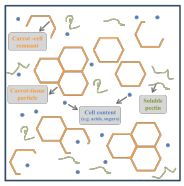
The research leading to these results has received funding from the European Union's Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration under grant agreement n° 311754

COMPLEX SYSTEM

Fruit or vegetable puree =

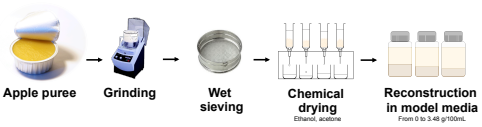
Concentrated suspension of plant particles

- ✓ Continuous phase = Aqueous serum containing sugar and soluble pectins
- ✓ Dispersed phase = cell clusters/ individual cells / cell fragments from parenchyma



ISOLATION OF CELL WALLS

MODEL SYSTEM



2 PARTICLE SIZE DISTRIBUTIONS SELECTED

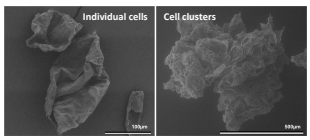
5 MODEL MEDIA

	Viscosity at $100s^{-1}$ $mPa.s$	Density at $25°C$	Conductivity $\mu S/cm$
Water	1.0 ± 0.2	1.000	0.80 ± 0.1
NaCl 0.1%	1.1 ± 0.2	1.000	1751 ± 15
Sucrose 48%	12.8 ± 0.3	1.219	18 ± 1
CMC 1%	12.6 ± 0.1	1.006	2000 ± 30
CMC 3.2%	108 ± 2	1.018	6000 ± 210
Apple Serum	13 ± 2	1.051	1731 ± 22

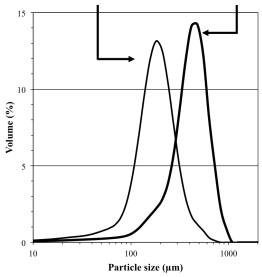
Research questions:

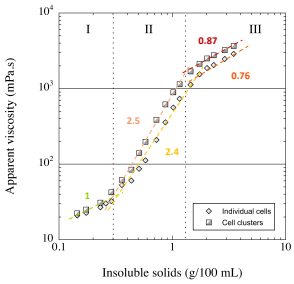
- ✓ ***What is the impact of particle morphology ?***
- ✓ ***What is the role of the continuous phase ?***

Impact of particle morphology



Clusters are more irregular in shape than individual cells. Moreover, their complex architecture can lead to a higher rigidity





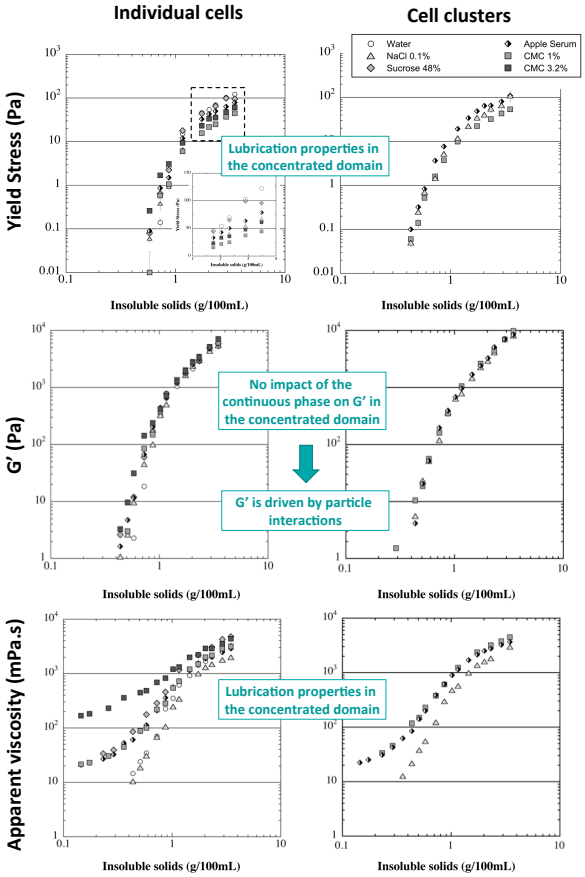
Three concentration domains are highlighted both for individual cells and clusters

- ✓**Diluted** – No interactions between particles
- ✓**Intermediate** – Weak network
- ✓**Concentrated** – Packing

Clusters induce higher viscosities at same cell wall content

➔ because of their irregular shape ?

Impact of continuous phase



Conclusions

- ✓ **Model** suspensions **successfully reproduce** the rheological behaviour of real purees
- ✓ **At rest, rheological properties of concentrated suspensions are controlled by the particles,** but the yield stress and the flow properties are sensitive to the composition of the continuous phase
- ✓ **A lubricating effect** of the continuous phase is observed in the concentrated domain

On **yield stress** values & On **apparent viscosity**

REFERENCES

Day et al., Food and Bioprocess Technology, 3, 928–934, (2010).

Contact

Cassandre LEVERRIER
UMR 1145 – Team SP2
AgroParisTech - Centre de Massy
1 avenue des Olympiades 91300 Massy
France
cassandre.leverrier@agroparistech.fr

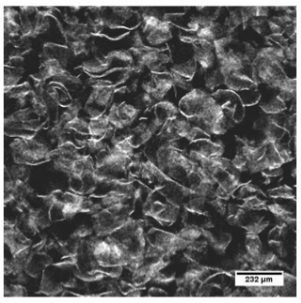
4th International Soft Matter Conference
Grenoble
12-16 September 2016,

Observation of soft apple cells in crowded environnement

Cassandre Leverrier, Gabrielle Moulin, Giana Almeida, Gérard Cuvelier

UMR Ingénierie Procédés Aliments *(JRU Food & Process Engineering)*

The research leading to these results has received funding from the European Union's Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration under grant agreement n° 311754

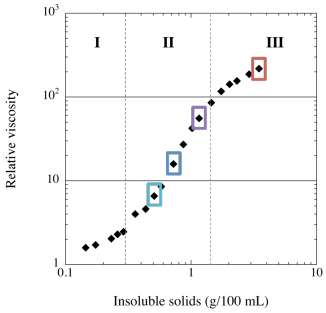


Background and Motivations

Fruit and vegetable cells are **soft particles whose size and volume can change** under stress [1].
Since they are delimited by a soft cell wall, they are able to highly deform and pack, and their **volume fraction in suspension is not well defined yet.** But rheological properties of plant cells suspensions will be driven by the cells volume fraction. In order to better understand the rheological behaviour of soft plant particles suspensions, it is thus necessary to estimate the volume fraction of the particles.

Three concentration domains have been highlighted in litterature, and particles are hypothesized to decrease their volume only in the concentrated domain.

The aim of the present work is to approach the volume fraction occupied by apple cells in several concentration domains.



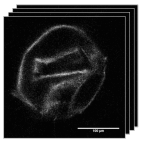
Research question:

How to access to soft particle deformation and volume in crowded media ?

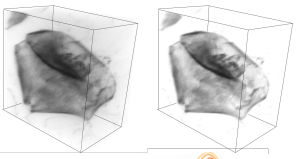
Material and Methods

Suspension hydration and staining

4 concentrations chosen in the intermediate and the concentrated domains



Confocal microscopy

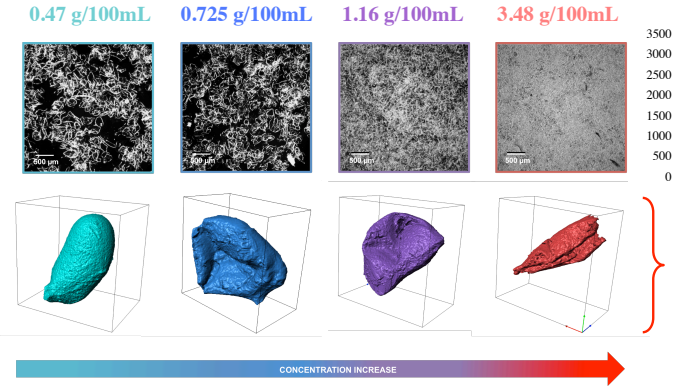


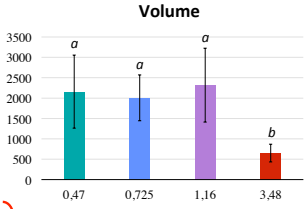
simpleware

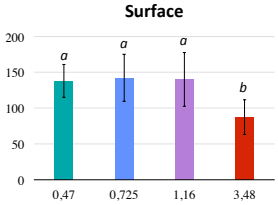
3D reconstruction

Volume acquisition

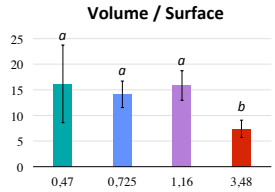
Results







We were able to **observe each single particle** even in **highly concentrated suspensions** and to access to their volume and shape factor

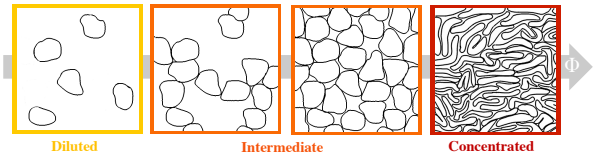


Statistical analysis with Tukey, Fisher, Bonferroni & Newman Keuls

Table 1: Impact of insoluble solids content on the volume and the shape of the cells

Insoluble solids content $g/100mL$	Number of analysed cells	Volume $10^3\,\mu m^3$	Surface $10^3\,\mu m^2$	Ratio $\frac{V}{S}$ μm
0.47	3	2158 ± 897	138 ± 23	16 ± 6
0.725	7	2006 ± 562	142 ± 33	14 ± 3
1.16	5	2319 ± 907	140 ± 37	16 ± 3
3.48	5	650 ± 217	87 ± 24	7 ± 2

Conclusions



- ✓ Acquisition of information about the packing of plant particles
- ✓ Particle volume starts to decrease only in the concentrated domain

REFERENCES

[1] Day et al., Food and Bioprocess Technology, 3, 928–934, (2010).

Contact

Cassandre LEVERRIER
UMR 1145 – Team SP2
AgroParisTech - Centre de Massy
1 avenue des Olympiades 91300 Massy
France
cassandre.leverrier@agroparistech.fr

4th International Soft Matter Conference
Grenoble
12-16 September 2016,

Bibliographie

Bibliographie

Adams S., Frith W.J. & Stokes J.R. (**2004**). Influence of particle modulus on the rheological properties of agar microgel suspensions. *Journal of Rheology*, 48(6), 1195–1213. doi :10.1122/1.1795193.

Agoda-Tandjawa G., Durand S., Gaillard C., Garnier C. & Doublier J.L. (**2012**). Properties of cellulose/pectins composites : implication for structural and mechanical properties of cell wall. *Carbohydrate Polymers*, 90(2), 1081–91. doi :10.1016/j.carbpol.2012.06.047.

Ahmed J., Shivhare U.S. & Raghavan G.S.V. (**2000**). Rheological characteristics and kinetics of colour degradation of green chilli puree. *Journal of Food Engineering*, 44(4), 239–244. doi :10.1016/S0260-8774(00)00034-0.

Allan-Wojtas P., Sanford K., McRae K. & Carbyn S. (**2003**). An Integrated Microstructural and Sensory Approach to describe Apple Texture. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(3), 381–390.

Anantheswaran R.C., McLellan M.R. & Bourne M.C. (**1985**). Thermal Degradation of Texture in Apples. *Journal of Food Science*, 50(4), 1136–1138. doi :10.1111/j.1365-2621.1985.tb13029.x.

Ancey C. (**2016**). Notes de cours - Mécanique des fluides. Technical report, École Polytechnique de Lausanne.

Appelqvist I.A.M., Cochet-Broch M., Poelman A.A. & Day L. (**2015**). Morphologies, volume fraction and viscosity of cell wall particle dispersions particle related to sensory perception. *Food Hydrocolloids*, 44, 198–207. doi :10.1016/j.foodhyd.2014.09.012.

Aprifel (**2013**). « Consommation de fruits & légumes chez les personnes âgées ». Technical report, Équantionutrition. doi :10.1186/1471-2458-12-551.n.

Barnes H.A. (**2000**). *A handbook of elementary rheology*. The University of Wales Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics, Aberystwyth.

Barrangou L.M., Daubert C.R. & Foegeding E.A. (**2006**). Textural properties of agarose gels. I. Rheological and fracture properties. *Food Hydrocolloids*, 20, 184–195. doi :10.1016/j.foodhyd.2005.02.019.

Batchelor G.K. & Green J.T. (**1972**). The determination of the bulk stress in a suspension of spherical particles to order c^2. *Journal of Fluid Mechanics*, 56(3), 401–427. doi :10.1017/S0022112072002435.

Bayod E. (**2008**). *Microstructural and Rheological Properties of Concentrated Tomato Suspensions during Processing*. Ph.D. thesis, Lund University.

Bayod E., Månsson P., Innings F., Bergenståhl B. & Tornberg E. (**2007**). Low Shear Rheology of Concentrated Tomato Products. Effect of Particle Size and Time. *Food Biophysics*, 2(4), 146–157. doi : 10.1007/s11483-007-9039-2.

Becker E.W. (**2007**). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, 25(2), 207–210. doi : 10.1016/j.biotechadv.2006.11.002.

Bengtsson H., Wikberg J. & Tornberg E. (**2011**). Physicochemical characterization of fruit and vegetable fiber suspensions. II : Effect of variations in heat treatment. *Journal of Texture Studies*, 42(4), 281–290. doi :10.1111/j.1745-4603.2010.00276.x.

Billy L., Mehinagic E., Royer G., Renard C.M.G.C., Arvisenet G., Prost C. & Jourjon F. (**2008**). Relationship between texture and pectin composition of two apple cultivars during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 47(3), 315–324. doi :10.1016/j.postharvbio.2007.07.011.

Blanc F. (**2011**). *Rhéologie et microstructure des suspensions concentrées non browniennes*. Ph.D. thesis, Université de Nice - Sophia Antipolis.

Boitte J.B., Hayert M. & Michon C. (**2013**). Observation of wheat flour doughs under machanical treatment using confocal microscopy and classification of their microstructures. *Journal of Cereal Science*, 58, 365–371.

Bourles E. (**2010**). *Aptitude variétale des pommes à la transformation. Recherche d'incateurs biochimiques de l'évolution de la texture et de marqueurs d'intérêt nutritionnel*. Ph.D. thesis, ESA, Université d'Angers.

Brummell D.A. (**2006**). Review : Cell wall disassembly in ripening fruit. *Functional Plant Biology*, 33, 103–119.

Carpita N., Sabularse D., Montezinos D. & Delmer D.P. (**1979**). Determination of the pore size of cell walls of living plant cells. *Science*, 205, 1144–1147. doi :10.1126/science.205.4411.1144.

Chen D.T.N., Wen Q., Janmey P.A., Crocker J.C. & Yodh A.G. (**2010**). Rheology of Soft Materials. *Annual Review of Condensed Matter Physics*, 1, 301–322. doi :10.1146/annurev-conmatphys-070909-104120.

Chong J.S., Christiansen E.B. & Baer A.D. (**1971**). Rheology of Concentrated suspensions. *Journal of Applied Polymer Science*, 15, 2007–2021.

Christiaens S., Mbong V.B., Van Buggenhout S., David C.C., Hofkens J., Van Loey A.M. & Hendrickx M.E. (**2012**). Influence of processing on the pectin structure–function relationship in broccoli purée. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 15, 57–65. doi :10.1016/j.ifset.2012.02.011.

Christiaens S., Van Buggenhout S., Ngouémazong E.D., Vandevenne E., Fraeye I., Duvetter T., Van Loey A.M. & Hendrickx M.E. (**2011**). Anti-homogalacturonan antibodies : A way to explore the effect of processing on pectin in fruits and vegetables ? *Food Research International*, 44, 225–234. doi :10.1016/j.foodres.2010.10.031.

Colin-Henrion M. (**2008**). *De la pomme à la pomme transformée : Impact du procédé sur deux composés d'intérêt nutritionnel*. Ph.D. thesis, ESA, UFR des Sciences Pharmaceutiques.

Colin-Henrion M., Cuvelier G. & Renard C.M.G.C. (**2007**). Texture of pureed fruit and vegetable foods. *Stewart Postharvest Review*, 3(5). doi :10.2212/spr.2007.5.3.

Combo A.M.M., Aguedo M. & Paquot M. (**2011**). Les oligosaccharides pectiques : production et applications possibles. *Biotechnologies Agronomie Société et Environnement*, 15(1), 153–164.

Costa F., Cappellin L., Fontanari M., Longhi S., Guerra W., Magnago P., Gasperi F. & Biasioli F. (**2012**). Texture dynamics during postharvest cold storage ripening in apple (Malus x domestica Borkh.). *Postharvest Biology and Technology*, 69, 54–63. doi :10.1016/j.postharvbio.2012.03.003.

Coussot P. (**2005**). *Rheometry of Pastes, Suspensions, and granular materials*. John Wiley & Sons, Hoboken, wiley-inte edition.

Coussot P. & Ancey C. (**1999**). Rheophysical classification of concentrated suspensions and granular pastes. *Physical Review E*, 59(4), 4445–4457. doi :10.1103/PhysRevE.59.4445.

Cybulska J., Zdunek A., Psonka-Antonczyk K.M. & Stokke B.T. (**2013**). The relation of apple texture with cell wall nanostructure studied using an atomic force microscope. *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 128–37. doi :10.1016/j.carbpol.2012.08.103.

Davidson M.W. (**2015**). Plant Cell Wall. http ://micro.magnet.fsu.edu/cells/plants/cellwall.html.

Day L., Xu M., Øiseth S.K., Hemar Y. & Lundin L. (**2010**a). Control of Morphological and Rheological Properties of Carrot Cell Wall Particle Dispersions through Processing. *Food and Bioprocess Technology*, 3(6), 928–934. doi :10.1007/s11947-010-0346-0.

Day L., Xu M., Øiseth S.K., Lundin L. & Hemar Y. (**2010**b). Dynamic rheological properties of plant cell-wall particle dispersions. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 81(2), 461–467. doi :10.1016/j.colsurfb.2010.07.041.

de la Morsanglière G. & Renaudin N. (**2008**). Charte collective des engagements volontaires de progrès nutritionnels. Technical report, Association des entreprises de produits alimentaires élaborés.

de Reynal B. (**2008**). Livre Blanc - Compotes, fruits au sirop et nutrition. Technical report, Afidem.

Einstein A. (**1906**). Eine neue Bestimmung der Molekul-dimensionen. *Ann. Phys.*, 19, 289–306.

Ellis A. & Jacquier J.C. (**2009**). Manufacture and characterisation of agarose microparticles. *Journal of Food Engineering*, 90(2), 141–145. doi :10.1016/j.jfoodeng.2008.05.036.

Englyst H. & Cummings J. (**1984**). Simplified Method for the Measurement of Total Non- Starch Polysaccharides by Gas - Liquid-Chromatography of Constituent Sugars as Alditol Acetates. *Analyst*, 109(7), 937–942.

Espinosa L. (**2012**). *Texture de la purée de pomme : influence de la structure sur les propriétés rhéologiques et la perception sensorielle - effet du traitement mécanique*. Ph.D. thesis, AgroParisTech - Ingénierie Procédés aliments.

Espinosa L., To N., Symoneaux R., Renard C.M., Biau N. & Cuvelier G. (**2011**). Effect of processing on rheological, structural and sensory properties of apple puree. *Procedia Food Science*, 1, 513–520. doi : 10.1016/j.profoo.2011.09.078.

Espinosa-Muñoz L., Renard C., Symoneaux R., Biau N. & Cuvelier G. (**2013**). Structural parameters that determine the rheological properties of apple puree. *Journal of Food Engineering*, 119(3), 619–626. doi :10.1016/j.jfoodeng.2013.06.014.

Espinosa-Muñoz L., Symoneaux R., Renard C.M.G.C., Biau N. & Cuvelier G. (**2012**). The significance of structural properties for the development of innovative apple puree textures. *LWT - Food Science and Technology*, 49(2), 221–228. doi :10.1016/j.lwt.2012.06.020.

Farr R.S. & Groot R.D. (**2009**). Close packing density of polydisperse hard spheres. *The Journal of Chemical Physics*, 131(24), 244104. doi :10.1063/1.3276799.

Farris R.J. (**1968**). Prediction of the Viscosity of Multimodal Suspensions from Unimodal Viscosity Data. *Journal of Rheology*, 12(2), 281–301. doi :10.1122/1.549109.

Fernandez-Nieves A., Wyss H.M., Mattsson J. & Weitz D.A. (**2011**). *Microgel Suspensions Fundamentals and Applications*. Wiley-VCH, Weinheim. doi :10.1017/CBO9781107415324.004.

Fischer M. & Amado R. (**1994**). Changes in the pectic substances of apples during development and postharvest ripening . Part 1 : Analysis of the alcohol-insoluble residue. *Carbohydrate Polymers*, 25, 161–166.

Fradique M., Batista A.P., Nunes M.C., Gouveia L., Bandarra N.M. & Raymundo A. (**2010**). Incorporation of Chlorella vulgaris and Spirulina maxima biomass in pasta products. Part 1 : Preparation and evaluation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(10), 1656–1664. doi :10.1002/jsfa.3999.

FranceAgriMer (**2015**). La Pomme en 2014-2015 Bilan de Campagne. Technical report, FranceAgriMer, Réseau des Nouvelles des Marchés.

Frankel N.A. & Acrivos A. (**1967**). On the viscosity of a concentrated suspension of solid spheres. *Chemical Engineering Science*, 22, 847–853.

Gallegos C., Franco J.M. & Partal P. (**2004**). Rheology of Food Dispersions. *Rheology Reviews*, pages 19–65.

Genovese D.B., Lozano J.E. & Rao M.A. (**2007**). The rheology of colloidal and noncolloidal food dispersions. *Journal of Food Science*, 72(2), R11–20. doi :10.1111/j.1750-3841.2006.00253.x.

Genovese D.B. & Rao M.A. (**2005**). Components of Vane Yield Stress of Structured Food Dispersions. *Journal of Food Science*, 70(8), 498–504. doi :10.1111/j.1365-2621.2005.tb11521.x.

Gheyas F., Blankenship S.M., Young E. & McFeeters R. (**1997**). Dietary Fibre Content of Thirteen Apple Cultivars. *Journal of Science Food Agriculture*, 75, 333–340.

Gibson L.J. (**2012**). The hierarchical structure and mechanics of plant materials. *Journal of The Royal Society Interface*, 9(76), 2749–2766. doi :10.1098/rsif.2012.0341.

Goulao L. & Oliveira C. (**2008**). Cell wall modifications during fruit ripening : when a fruit is not the fruit. *Trends in Food Science & Technology*, 19(1), 4–25. doi :10.1016/j.tifs.2007.07.002.

Gouveia L., Batista A.P., Sousa I., Raymundo A. & Bandarra N.M. (**2008**). Microalgae in Novel Food Product. In K.N. Papadopoulos, editor, *Food Chemistry Research Developments*, page 107. Nova Science.

Gouveia L., Raymundo A., Batista A.P., Sousa I. & Empis J. (**2006**). Chlorella vulgaris and Haematococcus pluvialis biomass as colouring and antioxidant in food emulsions. *European Food Research and Technology*, 222, 362–367. doi :10.1007/s00217-005-0105-z.

Gray J.D., Kolesik P., Høj P.B. & Coombe B.G. (**1999**). Confocal measurement of the three-dimensional size and shape of plant parenchyma cells in a developing fruit tissue. *The Plant Journal*, 19(2), 229–236. doi :10.1046/j.1365-313X.1999.00512.x.

Hemar Y., Lebreton S., Xu M. & Day L. (**2011**). Small-deformation rheology investigation of rehydrated cell wall particles–xanthan mixtures. *Food Hydrocolloids*, 25, 668–676. doi :10.1016/j.foodhyd.2010.08.014.

Heyes D.M. & Brańka A.C. (**2009**). Interactions between microgel particles. *Soft Matter*, 5, 2681–2685. doi :10.1039/b901894h.

Huc D., Moulin G., Mariette F. & Michon C. (**2013**). Investigation of curd grains in Swiss-type cheese using light and confocal laser scanning microscopy. *International Dairy Journal*, 33(1), 10–15. doi :10.1016/j.idairyj.2013.05.017.

Inarejos-García A.M., Mancebo-Campos V., Cañizares P. & Llanos J. (**2015**). Physical-Chemical Characterization of Fruit Purees and Relationship with Sensory Analysis Carried out by Infants (12 to 24 mo). *Journal of Food Science*, 80, 1005–1011. doi :10.1111/1750-3841.12860.

Iwamoto H. (**2004**). Industrial production of Microalgal Cell-mass and Secondary Products - Major Industrial Species - Chlorella. In A. Richmond, editor, *Handbook of microalgal culture : biotechnology and applied phycology*, pages 255–263. Blackwell Publishing, Oxford. doi :10.1002/9780470995280.

Jamsazzadeh Kermani Z., Shpigelman A., Bernaerts T.M.M., Van Loey A.M. & Hendrickx M.E. (**2016**). The effect of exogenous enzymes and mechanical treatment on mango puree : Microscopic, mesoscopic, and macroscopic evaluation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 33, 438–449. doi :10.1016/j.ifset.2015.12.008.

Jarvis M.C. (**1998**). Intercellular separation forces generated by intracellular pressure. *Plant, Cell and Environment*, 21, 1307–1310. doi :10.1046/j.1365-3040.1998.00363.x.

Jarvis M.C., Briggs S.P.H. & Knox J.P. (**2003**). Intercellular adhesion and cell separation in plants. *Plant, Cell and Environment*, 26, 977–989. doi :10.1046/j.1365-3040.2003.01034.x.

Jeziorek K., WoźNiak M. & Tomala K. (**2010**). Response of ' Golden Delicious ' Apples To Postharvest Application of 1-Methylcyclopropene (1-Mcp) in Conditions of Normal and Controlled Atmosphere. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 18(2), 223–237.

Jose J., van Blaaderen A. & Imhof A. (**2016**). Random three-dimensional jammed packings of elastic shells acting as force sensors. *Physical Review E*, 93, 062901. doi :10.1103/PhysRevE.93.062901.

Khan A.A. & Vincent J.F.V. (**1990**). Anisotropy of apple parenchyma. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 52, 455–466.

Khan A.A. & Vincent J.F.V. (**1993**). Anisotropy in the fracture properties of apple flesh as investigated by crack-opening tests. *Journal of Materials Science*, 8, 45–51.

Khelifi H., Perrot A., Lecompte T., Rangeard D. & Ausias G. (**2013**). Prediction of extrusion load and liquid phase filtration during ram extrusion of high solid volume fraction pastes. *Powder Technology*, 249, 258–268. doi :10.1016/j.powtec.2013.08.023.

Kojima T., Fujita S., Tanaka M., Sirisomboon P. & Mongkut K. (**2004**). Plant compounds and fruit texture : the case of pear. In D. Kilcast, editor, *Texture in Food, Vol. II*, pages 259–294. Woodhead Publishing.

Koumakis N., Pamvouxoglou A., Poulos A.S. & Petekidis G. (**2012**). Direct comparison of the rheology of model hard and soft particle glasses. *Soft Matter*, 8, 4271. doi :10.1039/c2sm07113d.

Krieger I.M. & Dougherty T.J. (**1959**). A Mechanism for Non-Newtonian Flow in Suspensions of Rigid Spheres. *Transactions of the Society of Rheology*, III, 137–152.

Kunzek H., Kabbert R. & Gloyna D. (**1999**). Aspects of material science in food processing : changes in plant cell walls of fruits and vegetables. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 208, 233–250. doi :10.1007/s002170050410.

Kunzek H., Opel H. & Senge B. (**1997**). Rheological examination of material with cellular structure. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 205, 193–203. doi :10.1007/s002170050150.

Laun H.M. (**1984**). Rheological properties of aqueous polymer dispersions. *Angewandte Makromolekulare Chemie*, 123, 335–359. doi :10.1002/apmc.1984.051230115.

Leverrier C., Almeida G. & Cuvelier G. (**2017**a). How do composition and viscosity of the continuous phase impact rheological properties of relevant model suspensions of apple cells ? *Journal of Food Engineering*, submitted.

Leverrier C., Almeida G., Espinosa-Munoz L. & Cuvelier G. (**2016**). Influence of Particle Size and Concentration on Rheological Behaviour of Reconstituted Apple Purees. *Food Biophysics*, 11, 235–247. doi : 10.1007/s11483-016-9434-7.

Leverrier C., Moulin G., Cuvelier G. & Almeida G. (**2017**b). Deformability of soft plant cells accessed by 3D images. *Food Structure*, submitted.

Lopez-Sanchez P., Chapara V., Schumm S. & Farr R. (**2012**). Shear Elastic Deformation and Particle Packing in Plant Cell Dispersions. *Food Biophysics*, 7, 1–14. doi :10.1007/s11483-011-9237-9.

Lopez-Sanchez P. & Farr R. (**2011**). Power Laws in the Elasticity and Yielding of Plant Particle Suspensions. *Food Biophysics*, 7, 15–27. doi :10.1007/s11483-011-9238-8.

Lopez-Sanchez P., Nijsse J., Blonk H.C.G., Bialek L., Schumm S. & Langton M. (**2011**a). Effect of mechanical and thermal treatments on the microstructure and rheological properties of carrot, broccoli and tomato dispersions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 207–217. doi :10.1002/jsfa.4168.

Lopez-Sanchez P., Svelander C., Bialek L., Schumm S. & Langton M. (**2011**b). Rheology and microstructure of carrot and tomato emulsions as a result of high-pressure homogenization conditions. *Journal of Food Science*, 76, E130–E140. doi :10.1111/j.1750-3841.2010.01894.x.

Loredo A.B.G., Guerrero S.N. & Alzamora S.M. (**2014**). Relationships Between Texture and Rheological Properties in Blanched Apple Slices (var. Granny Smith) Studied by Partial Least Squares Regression. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 2840–2854. doi :10.1007/s11947-014-1259-0.

Macosko C. (**1996**). *Rheology : Principles, Measurements and Applications*. Wiley-VCH. doi :10.1016/S0032-5910(96)90008-X.

Malkin A.Y. & Kulichikhin V.G. (**2015**). Structure and rheology of highly concentrated emulsions : a modern look. *Russian Chemical Reviews*, 84(8), 803–825. doi :10.1070/RCR4499.

Mann H., Bedford D., Luby J., Vickers Z. & Tong C. (**2005**). Relationship of instrumental and sensory texture measurements of fresh and stored apples to cell number and size. *HortScience*, 40(6), 1815–1820.

Mazeau K. & Wyszomirski M. (**2012**). Modelling of Congo red adsorption on the hydrophobic surface of cellulose using molecular dynamics. *Cellulose*, 19, 1495–1506.

McAtee P.A., Hallett I.C., Johnston J.W. & Schaffer R.J. (**2009**). A rapid method of fruit cell isolation for cell size and shape measurements. *Plant Methods*, 5(5), 1–7. doi :10.1186/1746-4811-5-5.

McDougall G.J., Morrison I.M., Stewart D. & Hillman J.R. (**1996**). Plant Cell Walls as Dietary Fibre : Range, Structure, Processing and Function. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70, 133–150.

Mebatsion H.K., Verboven P., Melese Endalew A., Billen J., Ho Q.T. & Nicolaï B.M. (**2009**). A novel method for 3-D microstructure modeling of pome fruit tissue using synchrotron radiation tomography images. *Journal of Food Engineering*, 93(2), 141–148. doi :10.1016/j.jfoodeng.2009.01.008.

Meheriuk M. & Lau L. (**1979**). The relationship of mineral content to quality in Golden Delicious apples. *Canadian Journal of Plant Science*, 59(2), 525–526. doi :10.4141/cjps79-085.

Mehinagic E., Royer G., Symoneaux R., Bertrand D. & Jourjon F. (**2004**). Prediction of the sensory quality of apples by physical measurements. *Postharvest Biology and Technology*, 34(3), 257–269. doi : 10.1016/j.postharvbio.2004.05.017.

Mendoza C.I. (**2011**). Effective static and high-frequency viscosities of concentrated suspensions of soft particles. *The Journal of Chemical Physics*, 135(5). doi :10.1063/1.3623472.

Mendoza C.I. (**2013**). Model for the Shear Viscosity of Suspensions of Star Polymers and Other Soft Particles. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 214(5), 599–604. doi :10.1002/macp.201200551.

Mendoza C.I. & Santamaría-Holek I. (**2009**). The rheology of hard sphere suspensions at arbitrary volume fractions : An improved differential viscosity model. *The Journal of Chemical Physics*, 130(4). doi :10.1063/1.3063120.

Mendoza C.I. & Santamaría-Holek I. (**2010**). Rheology of concentrated emulsions of spherical droplets. *Applied Rheology*, 20(2), 1–3. doi :10.3933/ApplRheol-20-23493.

Menut P., Seiffert S., Sprakel J. & Weitz D.A. (**2012**). Does size matter ? Elasticity of compressed suspensions of colloidal- and granular-scale microgels. *Soft Matter*, 8(1), 156. doi :10.1039/c1sm06355c.

Mewis J. & Wagner N.J. (**2013**). *Colloidal Suspension Rheology*. Cambridge University Press. doi :10.1017/CBO9781107415324.004.

Ministère du Travail de l'Emploi et de la Santé (**2011**). Programme National Nutrition-Santé 2011-2015. Technical report, PNNS.

Mizrahi S. & Berk Z. (**1972**). Flow behaviour of concentrated orange juice : mathematical treatment. *Journal of Texture Studies*, 3, 69–79.

Moelants K.R., Cardinaels R., De Greef K., Daels E., Van Buggenhout S., Van Loey A.M., Moldenaers P. & Hendrickx M.E. (**2013**a). Effect of calcium ions and pH on the structure and rheology of carrot-derived suspensions. *Food Hydrocolloids*. doi :10.1016/j.foodhyd.2013.08.004.

Moelants K.R.N., Cardinaels R., Jolie R.P., Verrijssen T.A.J., Van Buggenhout S., Van Loey A.M., Moldenaers P. & Hendrickx M.E. (**2014**a). Rheology of Concentrated Tomato-Derived Suspensions : Effects of Particle Characteristics. *Food and Bioprocess Technology*, 7(1), 248–264. doi :10.1007/s11947-013-1070-3.

Moelants K.R.N., Cardinaels R., Jolie R.P., Verrijssen T.A.J., Van Buggenhout S., Zumalacarregui L.M., Van Loey A.M., Moldenaers P. & Hendrickx M.E. (**2013**b). Relation Between Particle Properties and Rheological Characteristics of Carrot-derived Suspensions. *Food and Bioprocess Technology*, 6(5), 1127–1143. doi :10.1007/s11947-011-0718-0.

Moelants K.R., Cardinaels R., Van Buggenhout S., Van Loey A.M., Moldenaers P. & Hendrickx M.E. (**2014**b). A review on the relationships between processing, food structure and rheological properties of plant-tissue-based food suspensions. *Journal of Food Science*, 13(3), 241–260. doi :10.1111/1541-4337.12059.

Moelants K.R.N., Jolie R.P., Palmers S.K.J., Cardinaels R., Christiaens S., Van Buggenhout S., Van Loey A.M., Moldenaers P. & Hendrickx M.E. (**2012**). The Effects of Process-Induced Pectin Changes on the Viscosity of Carrot and Tomato Sera. *Food and Bioprocess Technology*, 6(10), 2870–2883. doi : 10.1007/s11947-012-1004-5.

Montoya-Arroyo A., Schweiggert R.M., Pineda-Castro M.L., Sramek M., Kohlus R., Carle R. & Esquivel P. (**2014**). Characterization of cell wall polysaccharides of purple pitaya (Hylocereus sp.) pericarp. *Food Hydrocolloids*, 35, 557–564. doi :10.1016/j.foodhyd.2013.07.010.

Moritaka H., Sawamura S., Kobayashi M., Kitade M. & Nagata K. (**2012**). Relation between the Rheological Properties and the Swallowing Characteristics of Vegetable Juices Fortified with Carrot Puree. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 76(3), 429–435. doi :10.1271/bbb.110576.

Mueller S., Llewellin E.W. & Mader H.M. (**2010**). The rheology of suspensions of solid particles. *Proceedings of the Royal Society A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 466(2116), 1201–1228. doi : 10.1098/rspa.2009.0445.

Müller S. & Kunzek H. (**1998**). Material properties of processed fruit and vegetables I . Effect of extraction and thermal treatment on apple parenchyma. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 206, 264–272.

Nakajima N. & Harrell E.R. (**2001**). Rheology of PVC Plastisol : Particle Size Distribution and Viscoelastic Properties. *Journal of Colloid and Interface Science*, 238(1), 105–115. doi :10.1006/jcis.2001.7468.

Nieto a.B., Salvatori D.M., Castro M.a. & Alzamora S.M. (**2004**). Structural changes in apple tissue during glucose and sucrose osmotic dehydration : shrinkage, porosity, density and microscopic features. *Journal of Food Engineering*, 61(2), 269–278. doi :10.1016/S0260-8774(03)00108-0.

Nindo C.I., Tang J., Powers J.R. & Takhar P.S. (**2007**). Rheological properties of blueberry puree for processing applications. *LWT - Food Science and Technology*, 40(2), 292–299. doi :10.1016/j.lwt.2005.10.003.

Organisation Mondiale de la Santé & Organisation des Nations Unies Pour l'Alimentation et l'Agriculture (**2000**). Projet de normes révisées pour les fruits en conserve à l'étape 7. Technical report, Codex Alimentarius.

Qiu C.G. & Rao M.A. (**1988**). Role of pulp content and particle size in yield stress of apple sauce. *Journal of Food Science*, 53(4), 1165–1170. doi :10.1111/j.1365-2621.1988.tb13554.x.

Quemada D. (**1977**). Rheology of concentrated disperse systems and minimum energy dissipation principle I . Viscosity-concentration relationship. *Rheologica Acta*, 16, 82–94.

Quemada D. (**2006**). *Modélisation rhéologique structurelle : dispersions concentrées et fluides complexes*. Lavoisier.

Rajashekar C.B. & Lafta A. (**1996**). Cell-wall changes and cell tension in response to cold acclimation and exogenous abscisic acid in leaves and cell cultures. *Plant Physiology*, 111(2), 605–612. doi :10.1104/pp.111.2.605.

Rao M.A. (**2006**). Influence of food microstructure on food rheology. In J.D. McClements, editor, *Understanding and Controlling the Microstructure of Complex Food*, chapter 15, pages 411–424. Woodhead Publishing.

Rao M.A., Cooley H.J., Nogueira J.N. & McLellan M.R. (**1986**). Rheology of apple sauce : Effect of apple cultivar, firmness, and processing parameters. *Journal of Food Science*, 51(1), 176–179.

Redgwell R.J., Curti D. & Gehin-Delval C. (**2007**). Physicochemical properties of cell wall materials from apple, kiwifruit and tomato. *European Food Research and Technology*, 227(2), 607–618. doi :10.1007/s00217-007-0762-1.

Redgwell R.J., MacRae E., Hallett I., Fischer M., Perry J. & Harker R. (**1997**). In vivo and in vitro swelling of cell walls during fruit ripening. *Planta*, 203(2), 162–173. doi :10.1007/s004250050178.

Redgwell R.J., Melton L.D. & Brasch D.J. (**1991**). Cell-wall polysaccharides of kiwifruit (Actinidia deliciosa) : effect of ripening on the structural features of cell-wall materials. *Carbohydrate Research*, 209, 191–202.

Renard C.M.G.C. (**2005**). Variability in cell wall preparations : quantification and comparison of common methods. *Carbohydrate Polymers*, 60(4), 515–522. doi :10.1016/j.carbpol.2005.03.002.

Renard C.M. & Ginies C. (**2009**). Comparison of the cell wall composition for flesh and skin from five different plums. *Food Chemistry*, 114(3), 1042–1049.

Roversi T. & Piazza L. (**2016**). Supramolecular assemblies from plant cell polysaccharides : Self-healing and aging behavior. *Food Hydrocolloids*, 54, 189–195. doi :10.1016/j.foodhyd.2015.10.004.

Rutkowski K.P., Michalczuk B. & Konopacki P. (**2008**). Nondestructive determination of 'golden delicious ' apple quality and harvest maturity. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 16, 39–52.

Safi C., Zebib B., Merah O., Pontalier P.Y. & Vaca-Garcia C. (**2014**). Morphology, composition, production, processing and applications of chlorella vulgaris : A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265–278. doi :10.1016/j.rser.2014.04.007.

Santamaría-Holek I. & Mendoza C.I. (**2010**). The rheology of concentrated suspensions of arbitrarily-shaped particles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 346(1), 118–26. doi :10.1016/j.jcis.2010.02.033.

Sato A.C.K. & Cunha R.L. (**2009**). Effect of particle size on rheological properties of jaboticaba pulp. *Journal of Food Engineering*, 91(4), 566–570. doi :10.1016/j.jfoodeng.2008.10.005.

Schalow S. & Kunzek H. (**2004**). The influence of predrying treatment and of suspension solution conditions on the rehydration of apple cell wall materials. *European Food Research and Technology*, 219(4), 329–340. doi :10.1007/s00217-004-0949-7.

Schijvens E.P.H.M., Van Vliet T. & Van Dijk C. (**1998**). Effect of processing conditions on the composition and rheological properties of applesauce. *Journal of Texture Studies*, 29(2), 123–143. doi : 10.1111/j.1745-4603.1998.tb00160.x.

Schramm L.L. (**2005**). *Emulsions, foams , and suspensions : Fundamentals and applications*. WILEY-VCH.

Segonne S.M., Bruneau M., Celton J.M., Le Gall S., Francin-Allami M., Juchaux M., Laurens F., Orsel M. & Renou J.P. (**2014**). Multiscale investigation of mealiness in apple : an atypical role for a pectin methylesterase during fruit maturation. *BMC Plant Biology*, 14(1), 375. doi :10.1186/s12870-014-0375-3.

Servais C., Jones R. & Roberts I. (**2002**). The influence of particle size distribution on the processing of food. *Journal of Food Engineering*, 51, 201–208.

Seth J.R., Mohan L., Locatelli-Champagne C., Cloitre M. & Bonnecaze R.T. (**2011**). A micromechanical model to predict the flow of soft particle glasses. *Nature Materials*, 10(11), 838–43. doi :10.1038/nmat3119.

Sharma K.D., Karki S., Thakur N.S. & Attri S. (**2012**). Chemical composition, functional properties and processing of carrot-a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(1), 22–32. doi : 10.1007/s13197-011-0310-7.

Shewan H.M. (**2014**). *Rheology of soft particle suspensions*. Ph.D. thesis, The University of Queensland.

Shewan H.M. & Stokes J.R. (**2014**). Analytically predicting the viscosity of hard sphere suspensions from the particle size distribution. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 222, 72–81. doi :10.1016/j.jnnfm.2014.09.002.

Shewan H.M. & Stokes J.R. (**2015**). Viscosity of soft spherical micro-hydrogel suspensions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 442, 75–81. doi :10.1016/j.jcis.2014.11.064.

Sila D.N., Duvetter T., De Roeck A., Verlent I., Smout C., Moates G.K., Hills B.P., Waldron K.K., Hendrickx M. & Van Loey A. (**2008**). Texture changes of processed fruits and vegetables : potential use of high-pressure processing. *Trends in Food Science & Technology*, 19(6), 309–319. doi :10.1016/j.tifs.2007.12.007.

Sila D.N., Van Buggenhout S., Duvetter T., Fraeye I., De Roeck A., Van Loey A. & Hendrickx M. (**2009**). Pectins in Processed Fruits and Vegetables : Part II-Structure-Function Relationships. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(2), 86–104. doi :10.1111/j.1541-4337.2009.00071.x.

Snabre P. & Mills P. (**1996**). I. Rheology of weakly flocculated suspensions of rigid particles. *Journal de Physique III*, 6, 1811–1834. doi :10.1051/jp3:1996215.

Souliès A., Pruvost J., Legrand J., Castelain C. & Burghelea T.I. (**2013**). Rheological properties of suspensions of the green microalga Chlorella vulgaris at various volume fractions. *Rheologica Acta*, 52(6), 589–605. doi :10.1007/s00397-013-0700-z.

Steeneken P.A.M. (**1989**). Rheological properties of aqueous suspensions of swollen starch granules. *Carbohydrate Polymers*, 11(1), 23–42. doi :10.1016/0144-8617(89)90041-6.

Steffe J.F. (**1996**). *Rheological Methods in Food Process Engineering*. Freeman Press, second edition.

Sticklen M.B. (**2008**). Plant genetic engineering for biofuel production : towards affordable cellulosic ethanol. *Nature reviews. Genetics*, 9(6), 433–43. doi :10.1038/nrg2336.

Stokes J.R., MacAkova L., Chojnicka-Paszun A., De Kruif C.G. & De Jongh H.H.J. (**2011**). Lubrication, adsorption, and rheology of aqueous polysaccharide solutions. *Langmuir*, 27(7), 3474–3484. doi :10.1021/la104040d.

Szczesniak A.S. (**2002**). Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, 13(4), 215–225. doi : 10.1016/S0950-3293(01)00039-8.

Szczesniak A.S. & Kahn E.L. (**1971**). Consumer awareness of and attitudes to food texture. *Journal of Texture Studies*, 2(3), 280.

Tanglertpaibul T. & Rao M.A. (**1987**). Flow properties of tomato concentrates : effect of serum viscosity and pulp content. *Journal of Food Science*, 52(2), 318–321. doi :10.1111/j.1365-2621.1987.tb06602.x.

Tarea S. (**2005**). *Etude de la texture de suspensions de particules molles concentrées . Relations entre la structure , la rhéologie et la perception sensorielle . Application aux purées de pommes et poires et mise au point de*. Ph.D. thesis, Ecole National des Industries Agricoles et Alimentaires.

Taylor G.I. (**1932**). The viscosity of a fluid containing small drops of another fluid. *Proceedings of the Royal Society A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 138(834), 41–48. doi :10.1098/rspa.1932.0169.

Taylor S.E. (**2013**). Rheology and structure of cornstarch suspensions in water-poly(propylene glycol) mixtures. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 34(7), 887–897. doi :10.1080/01932691.2012.731634.

Tokusoglu Ö. & Unal M.K. (**2003**). Biomass nutrient profiles of three microalgae : Spirulina platensis, Chlorella vulgaris and Isochrysis galbana. *Journal of Food Science*, 68(4), 1144–1148.

Ubbink J. (**2012**). Soft matter approaches to structured foods : from "cook-and-look" to rational food design ? *Faraday Discussions*, 158, 9. doi :10.1039/c2fd20125a.

Van Buggenhout S., Sila D.N., Duvetter T., Van Loey A. & Hendrickx M. (**2009**). Pectins in processed fruits and vegetables : Part III - texture engineering. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(2), 105–117. doi :10.1111/j.1541-4337.2009.00072.x.

Vetter S. & Kunzek H. (**2003**a). The influence of suspension solution conditions on the rehydration of apple cell wall material. *European Food Research and Technology*, 216, 39–45. doi :10.1007/s00217-002-0596-9.

Vetter S. & Kunzek H. (**2003**b). The influence of the pre-drying treatment on the hydration properties of dried cell wall materials from apples. *European Food Research and Technology*, 216, 129–137. doi : 10.1007/s00217-002-0616-9.

Vetter S., Kunzek H. & Senge B. (**2001**). The influence of the pre-treatment of apple cell wall samples on their functional properties. *European Food Research and Technology*, 212(6), 630–635. doi :10.1007/s002170100309.

Vieira F.G.K., Borges G.D.S.C., Copetti C., Amboni R.D.D.M.C., Denardi F. & Fett R. (**2009**). Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (Malus domestica Borkh) grown in southern Brazil. *Scientia Horticulturae*, 122(3), 421–425. doi :10.1016/j.scienta.2009.06.012.

Voragen A.G.J., Pilnik W., Thibault J.F., Axelos M. & Renard C.M. (**1995**). Pectins. In A.M. Stephen, editor, *Food Polysaccharides and Their Applications*, chapter 10, pages 287–340. CRC Press - Taylor & Francis group.

Waldron K.W., Parker M.L. & Smith A.C. (**2003**). Plant cell walls and food quality. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2, 128–146.

Watrelot A. (**2014**). *Interactons non-covalentes entre les polyphénols et les pectines. Étude d'un substrat modèle : la pomme*. Ph.D. thesis, Université d'Avignon et des pays du Vaucluse.

Willats W.G.T., Knox J.P. & Mikkelsen J.D. (**2006**). Pectin : new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, 17(3), 97–104. doi :10.1016/j.tifs.2005.10.008.

Winisdorffer G., Musse M., Quellec S., Barbacci A., Le Gall S., Mariette F. & Lahaye M. (**2015**). Analysis of the dynamic mechanical properties of apple tissue and relationships with the intracellular water status, gas distribution, histological properties and chemical composition. *Postharvest Biology and Technology*, 104, 1–16. doi :10.1016/j.postharvbio.2015.02.010.

Woolley J.T. (**1975**). Refractive index of soybean leaf cell walls. *Plant Physiology*, 55, 172–174.

World Health Organization (**2003**). Fruit and vegetable promotion initiative. In *Geneva Meeting*.

World Health Organization (**2006**). Comparative analysis of nutrition policies in the WHO European Region. In *WHO European Ministerial Conference on Counteracting Obesity - Diet and Ohysical activity for health*.

Wu J., Gao H., Zhao L., Liao X., Chen F., Wang Z. & Hu X. (**2007**). Chemical compositional characterization of some apple cultivars. *Food Chemistry*, 103(1), 88–93. doi :10.1016/j.foodchem.2006.07.030.

Wu Z.Y. & Shi X.M. (**2008**). Rheological properties of Chlorella pyrenoidosa culture grown heterotrophically in a fermentor. *Journal of Applied Phycology*, 20(3), 279–282. doi :10.1007/s10811-007-9244-x.

Xu Z., Wang Y., Ren P., Ni Y. & Liao X. (**2016**). Quality of banana puree during storage : a comparison of high pressure processing and thermal pasteurization methods. *Food and Bioprocess Technology*, 9(3), 407–420. doi :10.1007/s11947-015-1635-4.

Yamada T. & Sakaguchi K. (**1982**). Comparative studies on Chlorella cell walls : Induction of protoplast formation. *Archives of Microbiology*, 132(1), 10–13. doi :10.1007/BF00690809.

Yan Y., Zhang Z., Stokes J.R., Zhou Q.Z., Ma G.H. & Adams M.J. (**2009**). Mechanical characterization of agarose micro-particles with a narrow size distribution. *Powder Technology*, 192(1), 122–130. doi : 10.1016/j.powtec.2008.12.006.

Yoo B. & Rao M.A. (**1994**). Effect of unimodal particle-size and pulp content on rheological properties of tomato puree. *Journal of Texture Studies*, 25(4), 421–436. doi :10.1111/j.1745-4603.1994.tb00772.x.

Zhang X., Jiang Z., Chen L., Chou A., Yan H., Zuo Y.Y. & Zhang X. (**2013**). Influence of cell properties on rheological characterization of microalgae suspensions. *Bioresource technology*, 139, 209–13. doi :10.1016/j.biortech.2013.03.195.

ÉCOLE DOCTORALE
Agriculture, alimentation, biologie, environnement, santé (ABIES)

Titre : Relations Structure/Propriétés de Suspensions de Particules Végétales

Mots clés : suspensions, particules végétales, particules molles, rhéologie, structure, fraction volumique, modélisation

Résumé : Les purées de fruits et légumes sont considérées dans ce travail comme des suspensions concentrées de particules végétales déformables suspendues dans une phase aqueuse non-Newtonienne, riche en sucre et en pectines solubles. Par une approche de type sciences des matériaux, ce travail a pour but de mieux comprendre et modéliser les relations structure-propriétés de ces systèmes à base de végétaux transformés.
Pour limiter les facteurs de variabilité liés à la variété, la maturité ou au procédé de transformation des fruits, un lot unique de purée de pommes Golden Delicious a été utilisé pour l'intégralité de ce travail.
L'utilisation de traitements mécaniques variables a permis de mettre en avant l'importance des paramètres de structures sur les propriétés rhéologiques des suspensions de particules végétales et de confirmer l'impact de premier ordre de la concentration en particules sur les propriétés rhéologiques. Trois domaines de concentration ont été mis en évidence et modélisés, permettant ainsi de proposer une définition de la fraction volumique pour ces particules végétales molles et très déformables, la fraction volumique des suspensions de particules végétales ne faisant pas encore consensus en littérature. La définition proposée dans ce travail permet, à phase continue équivalente, d'obtenir une courbe maitresse regroupant les différentes distributions de taille de particules sur toutes les gammes de concentration étudiées.
Afin de mieux appréhender l'impact de la phase continue sur le comportement rhéologique des suspensions de particules végétales, des particules modèles ont été mises au point à partir du lot de purée réelle et suspendues dans cinq phases aqueuses modèles variant en viscosité, en composition et en force ionique. Les résultats de cette étude permettent de conclure que les propriétés élastiques des suspensions concentrées sont essentiellement gouvernées par les interactions entre les particules, la phase continue ayant un impact négligeable. Le rôle lubrifiant de la phase continue en domaine concentré a pu être mis en évidence par les mesures de seuil d'écoulement et par les mesures de viscosité.
Une approche originale combinant particules modèles, microscopie confocale et reconstitution 3D a permis d'accéder aux modifications morphologiques subies par les particules en milieu très concentré, donnant ainsi accès aux ordres de grandeurs de diminution de volume subie par les particules lors de l'encombrement du système.
Ce travail a également permis d'aboutir à la proposition d'une loi d'écoulement permettant de modéliser la dépendance de la viscosité à la fraction volumique occupée par les particules végétales, sur une large gamme de concentration. Ce modèle représente une avancée certaine dans la compréhension de ces systèmes, aucun modèle comparable n'avait encore été proposé dans la littérature sur ce type de particules.

Title : Structure/Properties Relationships of Soft Plant Cells Suspensions

Keywords : suspensions, plant particles, soft particles, rheology, structure, volume fraction, modelling

Abstract : In this work, fruit and vegetable purees are considered as concentrated suspensions of soft, deformable plant particles, suspended in a non-Newtonian aqueous phase, containing sugar and soluble pectins. Using a materials science approach, this work aims in better understanding and modelling the structure/properties relationships of plant based processed systems.
A single batch of Golden Delicious apple puree was used in this work to avoid variability related to variety, maturity or processing method.
Mechanical treatments were used to highlight the impact of structural parameters on the rheological behaviour of plant particles suspensions. It confirms the first order impact of particle concentration on rheological properties. Three concentration domains have been identified and modelled, allowing to provide a definition of the volume fraction for these soft and highly deformable plant particles. The volume fraction of plant particle suspensions is not forming consensus yet in literature. The definition proposed in this work allows to built a master curve bringing together the different particle size distributions, all over the concentrations studied.
To understand the impact of the continuous phase on the rheological behaviour of plant particle suspensions, model particles have been developed from the original batch of apple puree. Model particles were suspended in five controlled aqueous phases varying in viscosity, composition, and ionic strength. This study shows that elastic properties of concentrated suspensions are essentially governed by the interactions between the particles, continuous phase having a negligible impact. The lubricating role of the continuous phase in the concentrated domain has been highlighted by yield stress and viscosity measurements.
An original approach combining model particles, confocal microscopy and 3D reconstruction gives us access to morphological changes experienced by particles in very concentrated medium. The volume decrease experienced by the particles was evaluated. In this work, a model describing the dependence of the viscosity to the volume fraction of soft plant particles was proposed. This model represents a clear progress in the understanding of these systems. No comparable model has ever been proposed in the literature to describe this kind of plant particles.

Université Paris Saclay
Espace Technologique / Immeuble Discovery
Route de l'Orme aux Merisiers RD 128 / 91190 Saint-Aubin, France