Thèse de doctorat

NNT : 2020UPASB021

université PARIS-SACLAY

Influence des stabilisants sur la cristallisation d'un semi-liquide alimentaire : Application à la congélation des sorbets

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n°581 : Agriculture, Alimentation, Biologie, Environnement et Santé (ABIES)

Spécialité de doctorat: Génie des procédés

Unité de recherche : Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, UMR SayFood, 91300, Massy, France.

Référent : AgroParisTech

Thèse présentée et soutenue à Paris-Saclay, le 14 décembre 2020, par

Véronique MASSELOT

Composition du Jury

François PUEL Professeur, Centrale Supélec	Président
Francine FAYOLLE Professeur, Oniris	Rapporteur & Examinatrice
Lazhar BENYAHIA Professeur, Le Mans Université	Rapporteur & Examinateur
Paulo FERNANDES Docteur, Nestlé R&D	Examinateur
Hayat BENKHELIFA Maître de conférences (ADR), AgroParisTech	Directrice de thèse
Véronique BOSC Maître de conférences, AgroParisTech	Co-Encadrante & Examinatrice

Remerciements

Ce manuscrit est l'aboutissement d'une magnifique aventure, qui a commencé bien avant le début de mon contrat doctoral. Les liens professionnels, ou plus personnels, que j'ai pu tisser avec ceux qui m'ont accompagnée pendant tout ce temps me semblent ainsi particulièrement étroits. Il est temps pour moi de les remercier chaleureusement.

J'adresse pour commencer mes remerciements à Hayat BENKHELIFA pour avoir dirigé mon travail de thèse. Je reconstitue notre trio une dernière fois (avant de prochaines aventures ?) en remerciant ensuite Véronique BOSC, qui a encadré cette thèse. Je suis reconnaissante pour la confiance qu'elles m'ont accordée en m'offrant ce sujet de recherche, pour leur encadrement bienveillant ainsi que pour leur exigence. Hayat, Véro, grâce à vous je suis chercheuse : MERCI !

Je remercie les membres de mon comité de thèse : Toutie NDOYE, Graciela ALVAREZ, Denis FLICK, Gérard CUVELIER, Dominique HOURDET et Guillaume DELAPLACE. Je réalise la très grande chance que j'ai eue d'être aussi bien entourée. La richesse de nos échanges a permis d'orienter cette thèse vers la bonne direction, j'espère que ce manuscrit en témoigne.

Je remercie bien évidemment Francine FAYOLLE, professeure à l'Oniris de Nantes et Lazhar BENYAHIA, professeur de l'Université du Mans, pour avoir accepté de rapporter ce travail. Merci à François PUEL, professeur à Centrale Supélec, à Paulo FERNANDES, chercheur R&D à Nestlé, d'avoir examiné mes travaux. J'ai beaucoup apprécié nos échanges lors de ma soutenance.

Cette thèse expérimentale n'aurait pas eu les mêmes conclusions sans le soutien de l'équipe technique de l'unité FRISE. Je remercie donc Alain DENIS et Alain THOMAS, sans qui les analyses microtomographiques n'auraient pas été aussi belles. Je les remercie également pour leur disponibilité et pour l'ensemble des échanges chaleureux que nous avons eus, professionnels ou non. Je remercie ensuite Elyamin DAHMANA, toujours de bonne humeur, qui a fabriqué puis étalonné les thermocouples nécessaires à la thèse. Merci à Jérôme GAHARTIAN et Romuald HUNLEDE qui ont apporté leur aide à la caractérisation de la sorbetière. Je pense également à Sébastien SAAVEDRA et je le remercie pour les multiples services qu'il m'a très souvent rendus. Bien sûr, je n'oublie pas Christophe JOUQUIN dont

j’ai tant apprécié la compagnie et le savoir-faire, notamment lorsque nous travaillions sur le mobile rhéologique ou sur les premiers dispositifs de maintien à température négative pour la microtomographie.

Certaines expérimentations ont été réalisées dans des laboratoires extérieurs. Elles ont été l’occasion de nouvelles rencontres et d’échanges scientifiques particulièrement enrichissants. Je remercie donc Mohamed HAOUAS, chercheur de l’Institut Lavoisier de Versailles, pour son accueil et sa gentillesse lorsque nous avons voulu analyser nos produits en RMN. Je remercie également Michaël TRICHET et Alexis CANETTE, Ingénieurs du Service de Microscopie Electronique de l’Institut de Biologie Paris-Seine, pour les magnifiques images obtenues au cryo-MEB.

Je souhaite adresser un grand merci à l’ensemble de l’unité FRISE de l’INRAE. Cette unité est une famille qui sait faire une place à chaque nouvel arrivant. Je remercie ici ceux que je n’ai pas encore cités : si nos relations ne sont pas purement professionnelles, j’ai eu la chance d’entretenir avec eux des relations particulièrement chaleureuses. Merci à Laurence FOURNAISON, qui dirigeait l’unité lorsque je suis arrivée. Je te remercie pour les discussions réconfortantes que nous avons eues et les conseils bienveillants que tu as pu me donner. Merci à Anthony DELAHAYE, notre chef de famille, de m’avoir apporté écoute et soutien. Merci à Onrawee LAGUERRE, responsable de l’équipe METFRI, de m’y avoir si bien accueillie. Merci à Evelyne DERENS, Hong Minh HOANG, Denis LEDUCQ, Jean MOUREH, Stéphanie LACOUR, François TRINQUET, François RIOUAL, Jordan LEVASSEUR et Pascal CLAIN pour l’accueil qu’ils m’ont fait et les conversations que nous avons pu avoir. Je remercie Steven DURET, ma meilleure copine, pour sa présence, son humour, son amitié. Merci à Sylvie CARLINI et Véronique OSSWALD pour les pauses quotidiennes prises à vos côtés. Véro Sénior, tu redeviens Véro, même si j’aimais bien être Junior !

Je remercie particulièrement les doctorants et post-doctorants de l’unité FRISE avec qui j’ai eu la chance de partager ces trois années. Lorsque je suis arrivée, j’ai intégré le bureau de Thomas DUFOUR, alors en post-doc, de Fabien RAOULT et d’Amokrane BOUFARES. Je les remercie pour leur accueil et pour tous les bons moments passés ensemble. Cyrine DAMAK est arrivée ensuite, je la remercie d’avoir été une si bonne amie. Je remercie également Fatima BENMESBAH et Yasmine SALEHY avec qui j’ai partagé les derniers mois de ma thèse : merci les filles pour les rires partagés ! Mes remerciements vont également

à Jérémy OIGNET, Oscar DARIO-HERNANDEZ, Victor VICENTE, Nattawut CHAOMANG, Anh-Thu PHAM, Violette MULOT (qui a partagé avec moi son savoir sur la microtomographie), Amira ZENNOUNE, Nada CHAMI, Julie LOISEL, Moussa DIOP et Walid SAMAH.

Je remercie l'ensemble de l'équipe GéPro de l'UMR SayFood. J'y ai fait de belles rencontres et m'y suis toujours sentie bien accueillie. Je remercie Catherine BONAZZI qui dirige l'UMR et veille au bien-être de ses doctorants. Je remercie Brigitte DEAU, Giana ALMEIDA-PERRE, Paul MENUT, Artemio PLANA-FATTORI, Pablo GRANDA, Delphine HUC-MATHIS, Cassandre LEVERRIER et Gabrielle MOULIN. Merci aux doctorants que j'ai eu la chance d'y rencontrer : Marine MOUSSIER, Laurena MASBERNAT, Benoît BASSE, Charlotte FLORET et Alban LACROIX. Chacun de nos échanges, scientifique ou plus informel, a été un plaisir pour moi.

D'un point de vue plus personnel, j'aimerais remercier sincèrement mes amis, dont la présence et les encouragements m'ont accompagnée pendant ces trois ans. Je remercie particulièrement mes Agros d'amour : Xavier, Yoan, Constance et Boris. Je ne me serais probablement pas lancée dans cette incroyable aventure sans vous. Je remercie ensuite mes Peppas : Marie-Ange, Camille, Natacha, Allycia, Rébecca et Gaëlle. Vous êtes une famille et sans vous, la rédaction de mon manuscrit et la préparation de ma soutenance auraient été bien plus difficiles. Je vous aime.

Enfin, je ne saurais exprimer toute ma gratitude et mon amour à ma famille. Je pense à mes grands-parents, et particulièrement à mon papi Pierre, dont la fierté inconditionnelle m'a permis d'imaginer que j'étais capable de réaliser ce travail. Je remercie mes parents, mes frères et sœurs, ma tante et mon cousin pour leur soutien permanent et leurs encouragements. Vous avez partagé mes joies, consolé mes peines et le bonheur d'être Docteure n'a de sens que parce que je le partage avec vous. Les enfants ayant la merveilleuse faculté de nous rappeler ce qui est essentiel dans la vie, je remercie les trésors que sont mes neveux et ma nièce : Paul, Ella et Robin.

PE, tu m'as soutenue pendant toute la durée de cette aventure. Tu as tout partagé de mon quotidien : mes progrès et mes joies, mes frustrations aussi. Maintenant que ce projet touche à sa fin, je réalise que c'est ton infaillible confiance en mes capacités et en l'avenir qui m'a permis de le mener à bien. Tu es le compagnon idéal, je te remercie infiniment.

Mael, je termine ma thèse de doctorat et tu as 8 ans. Tu m'as accompagnée pendant toute la durée de mes études universitaires et sans toi, je ne serai jamais allée aussi loin. Tu as été un incroyable moteur et je te dois ce travail de thèse. Je te remercie du fond du cœur et je t'aime grand comme l'univers. Ce travail de thèse t'est naturellement dédié.

Merci à tous ceux qui ont contribué à cette formidable aventure !

Table des matières

Liste des figures 13

Liste des tableaux 17

Nomenclature 19

Introduction 23

Chapitre 1 : Etude bibliographique 31

I. Formulation et fabrication des sorbets 34

I.1. Composition des mixes de sorbet 34

I.1.1. Les sucres 36

I.1.2. Les stabilisants 37

I.2. Procédé de fabrication des sorbets 38

I.2.1. Préparation du mix 39

I.2.2. Pré-congélation du mix 40

I.2.2.1. Echangeurs de chaleur à surface raclée continus 41

I.2.2.2. Echangeurs de chaleur à surface raclée discontinus 42

I.2.3. Conditionnement, surgélation et stockage 44

II. Cristallisation de l'eau 46

II.1. Mécanismes généraux de la cristallisation 46

II.1.1. Nucléation 46

II.1.1.1. Nucléation primaire homogène 46

II.1.1.2. Nucléation primaire hétérogène 48

II.1.1.3. Nucléation secondaire 49

II.1.2. Croissance cristalline 50

II.2. Spécificités de la cristallisation en ECSR 53

III. Paramètres gouvernant la cristallisation dans un sorbet 56

III.1. Effet des paramètres du procédé de congélation 56

III.1.1. Effet de la température 56

III.1.2. Effet de la vitesse des lames racleuses 58

III.1.3. Effet de la quantité ou du débit d'air 59

III.2. Effet de la formulation du mix 59

III.2.1. Effet des sucres 59

III.2.2. Effet des stabilisants 61
III.2.2.1. Influence des stabilisants sur la quantité de glace 61
III.2.2.2. Influence des stabilisants sur la taille des cristaux de glace 62
Mesures après congélation 62
Mesures en cours de congélation 65
IV. Propriétés physico-chimiques des mixes de sorbets stabilisés 67
IV.1. Propriétés rhéologiques des mixes de sorbets 67
IV.2. Propriétés tensio-actives des stabilisants 72
IV.3. Influence des stabilisants sur la mobilité des molécules d'eau et de sucre 75

Conclusions de l'état de l'art et démarche scientifique 79

Chapitre 2 : Matériels et méthodes 87
I. Formulation des mixes de sorbets 89
I.1. Matières premières 89
I.2. Formulations étudiées 90
I.1.1. Choix des concentrations en saccharose 90
I.1.2. Calcul de la vitesse de cisaillement rencontrée dans le process 90
I.1.3. Choix des concentrations des stabilisants 90
I.1.4. Choix des températures d'étude 91
I.3. Préparation des solutions 92
II. Méthodes de caractérisations et outils de mesure 92
II.1. Méthodes d'analyses des solutions de mix 92
II.1.1. Etude rhéologique 92
II.1.2. Etude par RMN de la diffusion et relaxation des molécules d'eau 92
II.1.2.1. Présentation de l'équipement 93
II.1.2.2. Détermination du coefficient de diffusion D des molécules d'eau 94
II.1.2.3. Détermination du temps de relaxation T_2 des molécules d'eau 94
II.1.3. Mesure des propriétés de surface des mixes de sorbet 95
II.1.3.1. Présentation du matériel 95
II.1.3.2. Détermination de la tension de surface 96
II.1.3.3. Détermination de la rhéologie dilatationnelle de surface 97
II.1.4. Détermination des propriétés thermiques des solutions de mixes 98
II.1.4.1. Caractéristiques des solutions étudiées 98
II.1.4.2. Description de l'équipement et du protocole de mesure 98

II.2. Etude de la congélation des mixes en freezer et caractérisation du sorbet 101
II.2.1. Equipement de congélation des mixes 101
II.2.2. Analyse des sorbets en cours de congélation 101
II.2.3. Analyse des sorbets en fin de congélation 102
II.2.3.1. Microtomographie à rayons-X 102
II.2.3.2. Cryo-microscopie électronique à balayage (cryo-MEB) 103
III. Synthèse des conditions et caractérisations expérimentales 104

Chapitre 3 : Propriétés physico-chimiques des stabilisants en solutions sucrées et à basses températures 107

I. Propriétés rhéologiques des stabilisants en solutions sucrées et à température négative.. 109
I.1. Introduction et objectifs de l'étude 109
I.2. Principaux résultats 110
I.3. Article publié dans Food Hydrocolloids: Rheological properties of stabilizers at low temperatures in concentrated sucrose solutions 111
1. Abstract 111
2. Introduction 112
3. Material and methods 115
3.1. Polymers and preparation of the mixes 115
3.2. Rheological analysis at low temperature 116
3.2.1. Choice of temperatures for the analyses 116
3.2.2. Flow behavior 116
3.2.3. Intrinsic properties of the macromolecules 117
3.2.4. Viscoelastic properties 118
3.3. Statistics 118
4. Results and discussion 118
4.1. Flow behavior at low temperature as a function of sucrose concentration... 118
4.1.1. Flow index 118
4.1.2. Consistency index 120
4.1.3. Apparent viscosity as a function of the process conditions 122
4.2. Intrinsic properties of stabilizers related to process conditions 124
4.3. Viscoelastic properties of the final unfrozen phase 128
5. Conclusions 130

II. Influence des stabilisants sur la mobilité moléculaire dans des solutions sucrées et à températures négatives 131
II.1. Introduction 131
II.2. Influence des stabilisants sur la diffusion des molécules d'eau 131
II.3. Influence des stabilisants sur la relaxation des molécules d'eau 133
II.4. Conclusions 134
III. Propriétés tensio-actives des stabilisants en solutions sucrées et à basse température.. 135
III.1. Introduction 135
III.2. Mesure de la tension de surface de solutions aqueuses 135
III.2.1. Effet du saccharose sur la tension de surface 135
III.2.2. Effet des stabilisants sur la tension de surface 136
III.3. Effet des stabilisants sur la rhéologie dilatationnelle interfaciale 139
III.4. Effet de la température sur la tension de surface 140
III.5. Conclusions 141

Chapitre 4 : Influence des stabilisants sur la cristallisation lors de la congélation d'un sorbet 143

I. Influence des stabilisants sur les propriétés thermiques des mixes de sorbet 145
I.1. Introduction 145
I.2. Reproductibilité de la mesure et analyse des courbes 146
I.3. Effets de la présence de l'HPMC 147
I.4. Conclusions 148
II. Mise au point d'une technique d'analyse de la microstructure d'un sorbet frais en microtomographie à rayons-X 149
II.1. Introduction et objectifs de l'étude 149
II.2. Principaux résultats 150
II.3. Article publié dans Journal of Food Engineering: « Analyzing the microstructure of a fresh sorbet with X-ray micro-computed tomography: sampling, acquisition and image processing » 151
1. Abstract 151
2. Introduction 152
3. Materials and methods 154
3.1. Preparation and freezing of the sorbet mixes 154
3.2. X-ray micro-computed tomography 155

3.2.1. Sampling 155
3.2.2. Image acquisition of frozen samples 156
3.2.3. Image processing and quantitative analysis of air bubbles and ice crystals 157
3.3. Cryo-scanning electron microscopy 158
4. Results and discussion 159
4.1. Temperature of sorbets during micro-CT measurements 159
4.2. Effect of sodium iodide on the contrast of X-rays radiographs 159
4.3. Image analysis of frozen samples 161
4.3.1. Air bubbles 161
4.3.2. Ice crystals 162
4.4. Quantitative analysis of sorbet microstructure 164
4.4.1. Analysis of the air phase 164
4.4.2. Analysis of ice crystals 165
5. Conclusions and perspectives 167
III. Influence des stabilisants sur la microstructure d'un sorbet en sortie de congélation en ECSR 169
III.1. Introduction et objectifs de l'étude 169
III.2. Principaux résultats 169
III.3. Article soumis à Journal of Food Engineering: « Influence of stabilizers on the microstructure of fresh sorbets: X-ray micro-computed tomography, Cryo-SEM and FBRM analysis » 170
1. Abstract 170
2. Introduction 171
3. Materials and methods 174
3.1. Preparation and freezing of sorbet mixes 174
3.2. X-ray micro-CT analyses 175
3.3. Image processing and analysis of micro-CT data 176
3.4. Cryo-SEM analyses 177
3.5. FBRM analyses 177
3.6. Statistics 178
4. Results and discussion 178
4.1. Influence of stabilizers on air bubbles size and quantity 178
4.2. Influence of stabilizers on ice crystals size and quantity 183

4.2.1. Analysis of fresh sorbets directly after freezing 183
4.2.2. Dynamic analysis of crystallization 186
5. Conclusions and perspectives 188

Conclusion générale et perspectives 191

Références bibliographiques 203

Liste des figures

Figure 1 : Courbes de solubilité des sucres rencontrés dans la composition des mixes de sorbet 37

Figure 2: Stabilisants utilisés dans les mixes de sorbet industriels en France 38

Figure 3: Procédé de fabrication des sorbets 39

Figure 4: Schéma d'un ECSR de type continu 42

Figure 5 : Schéma d'un ECSR de type batch 43

Figure 6 : Sorbetières batch utilisées dans la littérature (a) Sorbetière Taylor® Model 104 (b) Schéma d'un ECSR discontinu expérimental : vue de profil et vue du dessus 44

Figure 7 : Représentation schématique de la couche d'adsorption à la surface d'un cristal en cours de croissance. 51

Figure 8 : Schéma de la cristallisation au sein d'un échangeur de chaleur à surface raclée 54

Figure 9 : Schéma des cinétiques de nucléation et de croissance cristalline en fonction de la température 57

Figure 10 : Influence de la température d'évaporation du fluide frigorigène dans un ECSR échelle pilote sur la taille des cristaux de glace d'un sorbet 58

Figure 11 : Influence du débit d'air injecté dans un ECSR pilote sur la taille des cristaux de glace d'un sorbet 59

Figure 12 : Courbe bleue : Courbe de liquidus d'une solution de saccharose ; Courbe pointillée : Courbe de liquidus du mix de sorbet citron de la Laiterie de Montaigu 61

Figure 13 : Images cryo-MEB de sorbets obtenus via une méthode de congélation à haute pression (a) 26% de saccharose + 0,3% de gomme de guar (b) 26% de saccharose + 0,3% d'un mélange équimolaire xanthane/caroube (c) 26% de saccharose 64

Figure 14 : Tailles de cordes moyennes obtenues en FBRM en fonction de la formulation, à une fraction massique de glace de 20%. 66

Figure 15 : Module à la rupture (rapport de la contrainte sur la déformation subie au moment de la rupture du gel) en fonction de la concentration en sucre, dans des solutions sucrées contenant 1%$_m$ de LBG 71

Figure 16 : Effet de différents dérivés de cellulose à 0,3%$_m$ sur la tension de surface d'une solution aqueuse (20 °C). 74

Figure 17 : Organisation des chapitres de résultats du manuscrit et lien avec les différents articles 86

Figure 18 : Spectromètre Bruker AV-I utilisé pour les analyses 93

Figure 19: Tubes RMN 93

Figure 20 : Dispositif expérimental de mesure de la tension de surface et de rhéologie interfaciale : Tracker™ Teclis Scientific 95

Figure 21 : Profil d'une bulle d'air en cours d'analyse de la tension de surface au sein d'un mix de sorbet 96

Figure 22 : Paramètres analysés pour la détermination de la tension de surface 96

Figure 23 : (a) Appareil de calorimétrie (DSC) utilisé pour les analyses des propriétés thermiques de mixes de sorbets ; (b) Creuset en aluminium contenant l'échantillon analysé en DSC 99

Figure 24 : Protocole de variation de la température utilisé pour les analyses en calorimétrie différentielle 100

Figure 25 : (a) Freezer Magimix Gelato Expert utilisée pour la congélation des sorbets (illustration fournie par Magimix) (b) Détail de la cuve 101

Figure 26 : (a) Dispositif expérimental d'analyse en temps réel de la congélation d'un sorbet (b) Sonde FBRM 102

Figure 27: Appareil de microtomographie à rayons X 103

Figure 28 : Dispositif expérimental d'analyse cryo-MEB (a) Bain d'azote liquide. (b) Chambre de cryo-fracture. (c) Cryo-MEB. 104

Figure 29 : Evolution of the flow index versus concentration of HPMC (A), LBG (B) and CMC (C) solutions at several concentrations of sucrose and temperatures. 119

Figure 30 : Evolution of the consistency index versus concentration of HPMC (A), LBG (B) and CMC (C) solutions at several sucrose concentrations and temperatures. 122

Figure 31 : Specific viscosity versus concentration of stabilizers at several sugar concentrations and temperatures for HPMC (A), LBG (B) and CMC (C). 124

Figure 32 : Storage (G') and loss (G") moduli as a function of frequency (0.03 – 10 Hz) at -5.6 °C for 0.6%wt stabilizer in 45%wt sucrose solution (A), HPMC (B) LBG (C) CMC… 129

Figure 33 : Influence du saccharose sur la tension interfaciale liquide/air, mesurée à 2 °C.. 136

Figure 34 : Influence des stabilisants sur la tension de surface d'une solution aqueuse à 25% de saccharose, mesurée à 2 °C : (a) Influence de la CMC (b) Influence de l'HPMC et de la LBG.. 137

Figure 35 : Influence de l'HPMC et de la LBG sur la pression de surface d'une solution aqueuse à 25% de saccharose, mesurée à 2 °C. 138

Figure 36 : Effet de la température sur la tension de surface d'une solution contenant 25% de saccharose et de l'HPMC. 141

Figure 37 : Pics de fusions de trois solutions contenant 25% de saccharose (a) et de l'eau pure (b) obtenus en DSC. 146

Figure 38: Pics de fusion de solutions de saccharose et de solutions contenant du saccharose et de l'HPMC, obtenus par DSC. 147

Figure 39: Courbes de liquidus d'une solution de saccharose, et d'une solution de saccharose contenant de l'HPMC 148

Figure 40 : Thermostated box for the sorbet sample. On the left, plastic straw containing the sorbet sample. In the middle, cylindrical double jacket containing phase change material at -6°C. On the right, cylindrical double jacket containing expansive insulating foam 156

Figure 41 : Evolution of the temperature in the sorbet and in the PCM during an X-ray micro CT scanning 159

Figure 42 : Comparison of micro-CT results obtained with or without sodium iodide. 160

Figure 43 : Micro-CT image processing of the air phase (a) Segmented binary image: air phase appears in blue (b) Image obtained after watershed algorithm, labeling step and borderkill algorithm (c) 3D rendering of air bubbles 161

Figure 44 : Micro-CT image processing of the ice phase 163

Figure 45 : Image processing of cryo-SEM pictures and comparison with micro-CT image 164

Figure 46 : Cumulative distributions of equivalent diameters of air bubbles in the 3 samples analyzed with micro-CT 165

Figure 47 : Cumulative distributions of equivalent diameters of ice crystals in the 3 samples analyzed with micro-CT and in the cryo-SEM sample 166

Figure 48 : 3D representation of air bubbles (a) Control sample (b) CMC 0.135% (c) CMC 0.3% (d) LBG (e) HPMC 179

Figure 49 : Cryo-SEM images (a) Raw image of unstabilized sample (b) Raw image of HPMC sample (c) Image obtained after segmentation separation of air bubbles for HMPC sample 180

Figure 50 : Air bubble size distributions (a) Micro-CT (b) HPMC results: micro-CT versus cryo-SEM 181

Figure 51 : Micro-CT image processing of the ice phase: Image obtained after segmentation and separation operations 183

Figure 52 : Cryo-SEM images (a) Image obtained after segmentation and separation for unstabilized sample (b) Image obtained after segmentation and separation of ice crystals for HMPC sample 184

Figure 53 : Ice crystal size distributions (a) Micro-CT (b) Cryo-SEM 184

Figure 54 : Mean chord lengths of ice crystals obtained with FBRM experiments at three points in the freezing process 187

Liste des tableaux

Tableau 1: Exemples de formulations de mixes de sorbets du commerce 35

Tableau 2: Formulation du mix de la Laiterie de Montaigu..... 36

Tableau 3: Formulations des mixes de sorbets décrits dans les ouvrages de référence. 36

Tableau 4: Effet des stabilisants sur la taille des cristaux de glace relevés dans la littérature. 63

Tableau 5 : Stabilisants analysés, informations fournies par les fournisseurs 89

Tableau 6 : Composition des solutions représentant le mix de sorbet avant la congélation 91

Tableau 7 : Composition des solutions saccharose / HPMC analysées en DSC. 98

Tableau 8 : Synthèse des caractérisations effectuées 105

Table 9 : Temperatures used for the analysis of the different solutions..... 116

Table 10 : Apparent viscosities of solutions as a function of freezing process conditions 123

Table 11 : Intrinsic viscosities of HPMC, LBG and CMC and Huggins parameters of HPMC and LBG 127

Tableau 12 : Coefficient de diffusion des molécules d'eau dans des solutions contenant 45% de saccharose et 0,6% ou 1% d'un stabilisant (CMC, LBG ou HPMC) à deux températures 132

Tableau 13 : Temps de relaxation T_2 des molécules d'eau dans des solutions contenant 45% de saccharose et 0,6% ou 1% d'un stabilisant (CMC, LBG ou HPMC) déterminés à deux températures. 134

Tableau 14 : Modules complexes, élastiques et visqueux de l'interface d'une bulle d'air, mesurés à 2 °C dans une solution contenant 25% de saccharose et de l'HPMC ou de la LBG. 140

Table 15: Ice crystals quantitative data obtained for a sucrose sorbet, using micro-CT and cryo-SEM 167

Table 16 : Compositions and apparent viscosities of the mixes..... 175

Table 17 : Air bubbles quantitative data obtained with micro-CT and cryo-SEM 182

Table 18 : Ice crystals quantitative data obtained with micro-CT and cryo-SEM 185

Nomenclature

Alphabet latin

A	Terme pré exponentiel de nucléation homogène	cristaux.m^{-3}.s^{-1}
A'	Terme pré exponentiel de nucléation hétérogène	cristaux.m^{-3}.s^{-1}
C	Concentration	kg. m^{-3} / %
C^*	Concentration critique d'enchevêtrement	kg. m^{-3} / %
D	Coefficient de diffusion moléculaire	cm².s^{-1}
d	Diamètre	m
ΔG_c	Energie d'activation de nucléation homogène	J
$\Delta G'_c$	Energie d'activation de la nucléation hétérogène	J
ΔP	Variation de pression	Pa
Δv	Largeur à mi-hauteur du pic de relaxation	Hz
ΔT	Variation de température	K
E	Energie	J
E^*	Module de dilatation de surface	mN.m^{-1}
E'	Module élastique interfacial	mN.m^{-1}
E''	Module visqueux interfacial	mN.m^{-1}
G	Vitesse de croissance	cristaux.m^{-3}.s^{-1}
G^*	Module complexe de cisaillement	Pa.s
G'	Module conservatif	Pa.s
G''	Module dissipatif	Pa.s
g	Accélération de pesanteur	m.s^{-2}
I	Intensité du signal de relaxation	-
K_c	Constante cryoscopique du solvant	K.kg.mol^{-1}
K	Indice de consistance	Pa.s^n
k_B	Constante de Boltzmann	J.K^{-1}
k	Conductivité thermique du cristal	W.m^{-2}.s^{-1}
k_d	Coefficient de transfert de masse	m.s^{-1}
k_n	Coefficient de nucléation hétérogène	m^{-2}.s^{-1}.K^{-1}
L	Dimension charactéristique	m
MCL	Longueur de corde moyenne, Mean Chord Length	µm
M	Masse molaire	kg.mol^{-1}

m	Masse	kg
$\dot{m}$	Débit massique	$kg.s^{-1}$
$\dot{m}'$	Flux surfacique de masse des molécules	$kg.m^{-2}.s^{-1}$
N	Vitesse de nucléation homogène	$cristaux.m^{-3}.s^{-1}$
N’	Vitesse de nucléation hétérogène	$cristaux.m^{-3}.s^{-1}$
n	Indice d’écoulement	-
p	Indice de puissance de la vitesse de croissance	-
$\dot{q}$	Vitesse de transfert	$J.s^{-1}$
R/R’	Rayons d’une bulle	m
r	Rayon d’un cristal	m
s	Variable de caractérisation de la diffusion moléculaire	-
S	Surface	m^2
dS	Variation de surface	m^2
T	Température	K
T_1	Temps de relaxation longitudinale	ms
T_2	Temps de relaxation transversale	ms
v	Vitesse d’écoulement	m.s-1
V	Volume	m^3
X_i	Fraction massique de glace	-
$\%_m$ / %wt	Pourcentage massique	-

Alphabet grec

α	Indice de puissance	-
β	Coefficient de croissance	$m^{-3}.s^{-1}.K^{-n}$
γ	Tension de surface	$N.m^{-1}$
$\dot{\gamma}$	Taux de cisaillement	s^{-1}
$d\gamma$	Variation de la tension de surface	$N.m^{-1}$
$tan\ \delta$	Facteur de perte	-
$\Delta\theta$	Abaissement cryoscopique	K
$\Delta\rho$	Différence de masse volumique	$kg.m^{-3}$
$[\eta]$	Viscosité intrinsèque	$cl.g^{-1}$
η_{app}	Viscosité apparente	Pa.s
η_{rel}	Viscosité relative	-
η_{sp}	Viscosité spécifique	-
θ	Angle de contact	rad

λ	Coefficient de Huggins	-
μ	Viscosité dynamique	Pa.s
π	Pression de surface	mN/m
ρ	Masse volumique	$kg.m^{-3}$
σ	Tension interfaciale cristal/matrice	$J.m^{-2}$
φ_i	Fraction volumique de glace	-
Ω	Vitesse angulaire du rotor	$rad.s^{-1}$

Indices et Exposants

i	Intérieur	*f*	Congélation
cuve	Cuve	*g*	Transition vitreuse
rac	Rotor	*si*	Soluté i
cr	Critique	*sp*	Spécifique
eq	Equilibre thermodynamique	*app*	Apparente
agitation	Agitation	*conv*	Convectif
s	Solution	*cond*	Conductif
air	Air	*S*	Surface
e	Eau	*V*	Volume
rf	Fluide frigorigène		

Abréviations

Stabilisants

GG	Gomme de guar, Guar Gum
XG	Gomme xanthane, Xanthan Gum
MC	Méthylcellulose
CMC	Carboxyméthylcellulose
LBG	Gomme de caroube, Locust Bean Gum
HPMC	Hydroxypropylméthylcellulose

Pasteurisation & Echangeur

LTLT	Pasteurisation batch basse température longue durée, Low-Temperature Long-Time
HTST	Pasteurisation continue haute température courte durée, High-Temperature Short-Time
HHST	Pasteurisation continue haut flux thermique courte durée, High-heat short time

UHT	Pasteurisation continue à ultra-haute température, Ultra High Temperature
SSHE/ECSR	Scraped Surface Heat Exchanger / Échangeur de chaleur à surface raclée

Instruments & Méthodes de mesure

RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
DSC	Calorimétrie différentielle à balayage
TMA	Analyse Thermomécanique, ThermoMechanical Analysis
LVE	Domaine linéaire viscoélastique, Linear Viscoelastic Range
SEM/MEB	Scanning Electron Microscopy / Microscope électronique à balayage
CT	Computed Tomography, Tomographie à rayon X
FBRM	Focused Beam Reflectance Measurement

Nombres adimensionnels

Re	Nombre de Reynolds
Sc	Nombre de Schmidt
Sh	Nombre de Sherwood
Bo	Nombre de Bond

Introduction

La congélation est un procédé de transformation largement utilisé dans l'industrie agroalimentaire, lors duquel la température du produit est descendue sous son point de congélation. Une partie de l'eau contenue dans le produit change alors d'état et se transforme en glace. La congélation couplée à un stockage à des températures négatives est l'une des méthodes utilisées pour la préservation des aliments. Dans ce cas, le contrôle des paramètres du procédé de congélation et des conditions de stockage, en lien avec la formulation de l'aliment, doit permettre que la cristallisation de l'eau n'altère qu'au minimum la structure du produit. Dans le cas des desserts glacés, qui sont les seuls aliments consommés à l'état congelé, la problématique de la congélation est différente puisque les cristaux font partie de la structure du produit final. La formulation de ces produits, parfois complexe, ainsi que les traitements thermomécaniques qu'ils subissent lors du procédé de congélation, sont à l'origine de la mise en place de leur structure et de leur texture ; ces dernières sont en lien direct avec leurs qualités organoleptiques et donc leur acceptabilité par le consommateur. Une meilleure maîtrise de la fabrication et de la formulation des desserts congelés permettrait donc d'atteindre les qualités recherchées du produit fini.

Le présent travail de thèse s'intéresse plus particulièrement aux sorbets. Ces derniers sont obtenus par congélation d'un « mix » constitué majoritairement d'eau et de sucre, aromatisé à l'aide de fruits ou de jus de fruits et contenant des molécules stabilisantes.

La compréhension des mécanismes intervenant lors de la production des sorbets, tant du point de vue de leur formulation que du point de vue du procédé, présente plusieurs intérêts. Tout d'abord, savoir optimiser la fabrication d'un tel produit présente un réel intérêt d'un point de vue économique dans le secteur des desserts. En 2018, 85% des foyers français ont consommé des glaces ou des sorbets, la France était alors le 9ème pays européen consommateur de ces produits avec un chiffre d'affaire de 1,1 milliards d'euros. Les innovations ont représenté environ 15% de ce chiffre d'affaire (Association des Entreprises des Glaces).

L'étude de ces mécanismes a par ailleurs un intérêt d'un point de vue scientifique. La problématique est complexe : les phénomènes impliqués dans la cristallisation sont gouvernés par un couplage délicat entre une composition dans laquelle certains ingrédients interagissent entre eux, et un procédé dynamique faisant subir au produit des variations de température et un cisaillement élevé.

Actuellement, les fabricants de crèmes glacées et de sorbets ont une compréhension limitée et une approche empirique de l'influence de la formulation et des conditions du procédé de congélation sur la cristallisation et le développement de la texture de leurs produits.

La fabrication des sorbets est une suite d'opérations unitaires dont l'étape critique est la pré-congélation (ou glaçage) effectuée dans un échangeur de chaleur à surface raclée (échangeur de chaleur à surface raclée ou freezer, c'est lors de cette étape qu'une partie de l'eau contenue dans le mix change de phase de l'état liquide à l'état solide. En effet, au contact de la paroi froide, une couche d'eau cristallise avant d'être raclée par des lames en rotation. Ces cristaux sont alors mélangés au reste de la solution. L'eau qui ne congèle pas forme la solution résiduelle (appelée aussi matrice) qui se concentre en solutés (sucres et stabilisants) tout au long de la pré-congélation. Pendant cette étape, de l'air est incorporé dans le sorbet, soit de façon contrôlée soit du fait de la rotation des lames racleuses.

Du point de vue structurel, un sorbet est un système complexe constitué de cristaux de glace et de bulles d'air dispersés au sein de la phase continue non congelée. La texture des sorbets, ainsi qu'un certain nombre de leurs attributs sensoriels (dureté, onctuosité, effet rafraichissant, vitesse de fonte) sont en lien direct avec les propriétés des cristaux de glace et notamment leur taille et leur quantité. Une texture douce et onctueuse, recherchée par les consommateurs et donc les industriels, est liée à la présence de cristaux très nombreux et les plus petits possibles (Clarke, 2012; Goff and Hartel, 2013). Quand ces derniers sont trop gros, ils peuvent être détectés en bouche ; le sorbet a alors une texture granuleuse indésirable (Russell et al., 1999). Les bulles d'air participent également à la texture du produit, elles le lissent et y apportent de la légèreté. Un sorbet sans air serait dur et aurait l'apparence et la texture d'une glace à l'eau (Clarke, 2012). Enfin, la solution résiduelle non congelée a également un effet important sur la structure et la texture des sorbets : elle entoure les cristaux de glace et les bulles d'air et les maintient en suspension. Ceci a pour conséquence, d'un point de vue sensoriel, de rendre la texture plus onctueuse en bouche et de masquer en partie la détection des cristaux.

Si l'on s'intéresse au procédé, la formation des cristaux n'a lieu que lors de l'étape de pré-congélation. En effet, pendant les étapes ultérieures du procédé, ils ne font que croître. La taille finale des cristaux est donc fortement conditionnée par leur taille initiale en sortie de freezer. Les principaux paramètres du procédé sont la vitesse de raclage de la couche de glace formée dans l'échangeur, la cinétique de refroidissement imposée à sa paroi et dans le cas d'un procédé continu, du débit de mix alimentant l'échangeur. Tous ces paramètres ont une

influence couplée sur le comportement du produit dans l'échangeur et sur la microstructure du sorbet en sortie de freezer.

Si l'on regarde plus spécifiquement la formulation des mixes de sorbets, bien que certaines fonctionnalités des ingrédients d'un mix de sorbet soient connues, relativement peu d'études se sont intéressées à leur influence sur la cristallisation. Les sucres (à hauteur de 25%$_m$ dans un mix de sorbet) limitent la quantité de glace formée à une température donnée en diminuant la température de congélation du mix ; ils y sont par ailleurs ajoutés pour leur pouvoir édulcorant. Ils influencent également la texture du produit en augmentant la viscosité de la matrice non congelée dans le sorbet. Cependant, cet effet est majoritairement obtenu grâce à la présence des stabilisants, biopolymères rhéofluidifiants généralement de nature polysaccharidique qui sont utilisés à faible concentration dans les mixes de sorbet (entre 0,2 et 0,5%$_m$). D'autre part, certains favoriseraient l'incorporation d'air en cours de procédé. D'un point de vue technologique, la présence de stabilisants facilite le pompage et le remplissage des moules en sortie de freezer. Certains stabilisants permettent aussi de ralentir la croissance des cristaux durant le stockage, et la fonte du sorbet lors de sa consommation.

L'effet des stabilisants sur la cristallisation, et notamment sur la taille et la quantité initiales des cristaux de glace au moment de leur formation en ECSR, est encore sujet à débat et dépend du type de polymère utilisé, du procédé employé et de la technique d'analyse mise au point. Pour ce qui est des mécanismes impliqués, ils sont encore mal connus.

L'objectif de ce travail de thèse est d'apporter une meilleure compréhension des mécanismes intervenant lors de la congélation de solutions sucrées et stabilisées.

Problématiques

Dans un premier temps, il s'agit de mieux comprendre les propriétés physicochimiques développées par les stabilisants au cours de leur utilisation dans les formulations de mixes de sorbets.

Lors de la congélation d'un sorbet, la température diminue et une partie de l'eau cristallise. Les stabilisants, ainsi que les sucres, se concentrent dans la matrice non congelée. La question qui se pose alors est celle de l'influence de la présence de sucre en régime de plus en plus concentré et de l'abaissement de la température sur le comportement rhéologique des stabilisants. D'autre part, le sorbet est fortement cisaillé lors de sa congélation en échangeur

de chaleur à surface raclée, il est donc pertinent de s'interroger sur l'évolution du comportement rhéologique des stabilisants, qui sont des macromolécules rhéofluidifiantes, aux taux de cisaillement rencontrés dans les conditions du procédé congélation.

De plus, il est connu que les stabilisants augmentent la viscosité de la matrice non congelée. Dans quelle mesure cette augmentation de viscosité pourrait impacter les mécanismes impliqués dans la cristallisation? Il paraît tout d'abord légitime de s'interroger sur les mécanismes de diffusion des molécules d'eau dans la solution lors de la formation des cristaux de glace : la présence des macromolécules stabilisantes, dans une solution contenant du sucre et à basse température, peut-elle impacter la diffusion de l'eau? Par ailleurs, les transferts thermiques, et notamment le refroidissement de la solution de mix et du sorbet ainsi que l'évacuation de la chaleur latente de congélation dans le milieu peuvent être limitants lors de la congélation: les stabilisants ont-ils une influence sur ces transferts thermiques, sur la cinétique de congélation et la quantité de glace formée?

Enfin, la congélation en échangeur à surface raclée permet l'introduction d'une certaine quantité d'air dans le sorbet. Cet air, en impactant les propriétés diffusives ou thermiques du mélange ou en « encombrant » la matrice, pourrait avoir une influence sur la cristallisation et notamment sur la taille des cristaux de glace. De ce fait, il est intéressant de mieux connaître et de caractériser les propriétés de surface que pourraient posséder certains stabilisants, ces derniers pourraient alors favoriser l'incorporation d'une plus grande quantité d'air. Par ailleurs, ces propriétés de surface différent elles en présence de sucre et à basse température ?

Dans un second temps, il s'agit de mieux comprendre l'établissement de la microstructure lors de la cristallisation des sorbets en échangeur de chaleur à surface raclée. Plus précisément, nous nous questionnons sur l'effet des stabilisants sur la taille et le nombre de cristaux et de bulles d'air formés dans les sorbets.

Pour cela, il est nécessaire de s'appuyer sur des méthodes d'analyses fiables, qui seraient applicables pour l'étude de la microstructure des sorbets fraichement congelés. Ces méthodes doivent permettre l'analyse de la distribution des tailles des cristaux de glace et des bulles d'air (dont l'ordre de grandeur de tailles est inférieur à la centaine de microns) dans un échantillon congelé. De plus, le suivi de la dynamique de cristallisation en cours de congélation dans un freezer permettrait de mieux comprendre la cinétique de mise en place de la microstructure d'un sorbet ainsi que les mécanismes impliqués.

Organisation du manuscrit

Tout d'abord, une étude bibliographique a été réalisée afin de faire un état de l'art sur les connaissances relatives aux questions posées. Cette étude constitue le premier chapitre du manuscrit. Par ailleurs, plusieurs parties de ce travail de thèse ont fait l'objet d'articles scientifiques qui sont insérés dans ce manuscrit. Le premier chapitre regroupe donc les informations bibliographiques qui ne sont pas détaillées dans ces articles et contient des renvois vers ces derniers lorsque cela est nécessaire.
Cette synthèse bibliographique aborde tout d'abord la composition des sorbets, leur procédé de fabrication ainsi que les mécanismes de la cristallisation de l'eau d'un point de vue général puis plus particulièrement au sein des échangeurs de chaleur à surface raclée. Les mécanismes pour lesquels la présence de stabilisants pourrait avoir une influence sont par ailleurs discutés. La suite du chapitre bibliographique est consacrée aux propriétés rhéologiques et tensio-actives des stabilisants dans des conditions de concentration en sucre et de température pertinentes au regard du procédé de congélation. Puis l'influence des stabilisants sur la diffusion moléculaire et sur la cinétique de congélation dans ces mêmes conditions est présentée. La dernière partie bibliographique traite de la littérature consacrée à l'analyse de la microstructure des sorbets stabilisés.

La stratégie expérimentale de ce travail de thèse et le plan du manuscrit qui en résulte ont été établis à partir des conclusions de l'état de l'art, ils sont donc détaillés dans une partie dédiée, à la fin du premier chapitre.

Le deuxième chapitre récapitule le matériel et les méthodes utilisés ; des renvois sont faits vers les articles lorsqu'ils contiennent de façon détaillée le descriptif expérimental associé.

Le manuscrit se compose ensuite de deux chapitres de résultats (chapitres 3 et 4). Le Chapitre 3 est dédié à la caractérisation de certaines propriétés physico-chimiques des stabilisants en solutions sucrées et à basses températures (rhéologie, mobilité moléculaire, tension de surface). Le Chapitre 4 se focalise sur l'influence des stabilisants sur la congélation (cinétique de congélation puis analyse de la microstructure des sorbets). Ces chapitres sont en partie articulés autour d'un (pour le chapitre 3) ou deux (pour le chapitre 4) articles scientifiques rédigés en anglais. Avant chacun de ces chapitres, les objectifs de l'étude concernée ainsi que ses principaux résultats et perspectives sont rappelés en français.

Une conclusion générale vient clore le manuscrit, un lien est établit entre les différents résultats expérimentaux afin de répondre aux questionnements scientifiques soulevés dans la présente introduction. Des perspectives pour de prochains travaux y sont également proposées.

Pour plus de clarté, l'intégralité des références bibliographiques, y compris celles des différents articles, est présentée en fin de manuscrit.

Chapitre 1 : Etude bibliographique

La première partie de cette étude bibliographique est focalisée sur la formulation et le procédé de fabrication des sorbets. La deuxième partie traite de la cristallisation de l'eau et de la cristallisation en échangeur de chaleur à surface raclée. Les effets des paramètres du procédé de congélation et de la formulation sur la cristallisation et notamment sur la quantité et la taille des cristaux de glace sont discutés dans la troisième partie. Enfin, la quatrième partie relève la littérature dédiée aux propriétés physico-chimiques des stabilisants pouvant être reliées à la cristallisation (rhéologie, propriétés tensio-actives, mobilité moléculaire) ; lorsque cela était possible, nous nous sommes focalisés sur les études réalisées à froid et en solutions sucrées proches de la formulation des desserts glacés

La littérature dédiée aux desserts glacés est majoritairement consacrée aux crèmes glacées, dont la formulation est plus complexe que celle des sorbets puisqu'elle contient des produits laitiers (et donc des protéines et des matières grasses) et parfois des émulsifiants. Bien que le présent travail de thèse se focalise sur les sorbets, il a été choisi de relever également les articles scientifiques s'intéressant aux crèmes glacées lorsque leur citation semblait pertinente et qu'il y avait un manque de littérature dédiée spécifiquement aux sorbets. Ces articles seront discutés au regard du fait que le parallèle est parfois délicat à établir entre les crèmes glacées et les sorbets en raison d'interactions complexes pouvant avoir lieu entre les sucres, les stabilisants, les protéines laitières et les matières grasses.

I. Formulation et fabrication des sorbets

I.1. Composition des mixes de sorbet

La composition des mixes de sorbets est variable selon les législations en vigueur dans le pays concerné, le parfum du sorbet et le type commercial du produit (vracs, bâtonnets, buches glacées, etc.) (Goff and Hartel, 2013).

Dans la législation française, la définition d'un sorbet est donnée dans une circulaire de juillet 1970 publiée dans le Journal Officiel de la République Française : «le terme 'sorbet' suivi d'un nom de fruit ne doit s'appliquer qu'au produit obtenu par congélation d'un mélange d'eau potable et de sucre, aromatisé à l'aide de fruits frais, ou leur équivalent en fruits congelés, atomisés, lyophilisés ou jus de fruits. La proportion de fruits mis en œuvre doit être, par rapport au produit fini, d'au moins 35%. Toutefois, s'il s'agit de fruits acides, ce pourcentage peut être abaissé. Pour le citron, la proportion de 13% peut être admise».

Le code des pratiques loyales des glaces alimentaires, rédigé par la Confédération nationale des glaciers de France et validé par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF), complète le document cité ci-dessus dans sa version de mars 2008. L'appellation « sorbet aux fruits » doit être réservée aux produits consommés congelés issus d'un mélange d'eau et de sucres, dans lesquelles aucune matière grasse n'est ajoutée et contenant au moins 25% de fruits et dont l'extrait sec total est au moins égal à 12%. La masse minimale par litre autorisée est de 450 g, le volume restant étant occupé par l'air. La teneur en fruit peut être réduite à 15% pour certains fruits (agrumes) et 5% pour d'autres (fruits à coque). Les sorbets dits « plein fruits » doivent contenir au moins 45% de fruits (20% pour les fruits acides comme les agrumes) et avoir une masse minimale par litre de 650 g.

Les documents précédemment cités n'ont cependant pas de rôle restrictif. De ce fait, les glaces et les sorbets restent considérés comme des denrées alimentaires dans la composition desquelles peut entrer tout ingrédient alimentaire autorisé par la réglementation en vigueur. Les produits commercialisés contiennent ainsi d'autres ingrédients tels que des arômes ou d'autres additifs comme les stabilisants. Certains sorbets contiennent également une petite quantité de lait ou de produits dérivés du lait (poudre de lait, protéines de lait etc.), elles ne sont cependant constatées qu'à très faible dose (moins d'1%$_m$).

Dans la majorité des cas, la composition des sorbets telle que mentionnée sur l'étiquette d'un produit du commerce n'est pas très précise : si la totalité des ingrédients est mentionnée, les proportions utilisées ne sont que rarement détaillées. Il est donc difficile d'analyser l'ensemble des sorbets industriels pour obtenir une composition moyenne. Certaines des données publiées sur le site collaboratif Open Food Facts ont été analysées ; la composition de quelques sorbets du commerce est montrée en Tableau 1. Les sorbets mentionnés contiennent un mélange de sucres en plus du fructose contenu dans les fruits, leur taux de sucre total est compris entre 20% et 26%. Ils contiennent également tous un mélange de plusieurs stabilisants.

Tableau 1: Exemples de formulations de mixes de sorbets du commerce.
Les concentrations sont exprimées en % massique. La colonne « sucres totaux » montre la composition totale en sucre, en prenant en compte le fructose contenu dans les fruits.

				Composition ($\%_m$)			
Groupe industriel	Marque	Produit	Fruits/Jus de fruits	Sucres totaux	Sucres ajoutés	Stabilisants	Autres
Délice du Val Plessis	Adélie	Sorbet Poire	Purée de poire 32%	20,1%	saccharose, sirop de glucose, sirop de glucose-fructose	Xanthane, Guar	Protéine de pois, Arôme, Acidifiant, Antioxydant, Conservateur, Colorant
	Auchan	Sorbet citron	Jus de citron 23,3%, morceaux de citron 1,6%	22%	saccharose, sirop de glucose, sirop de glucose-fructose, dextrose	Pectine, Tara, Xanthane	Protéines de pois hydrolysées, Acide citrique, Arôme naturel
	Picard	Sorbet Mangue	Purée de mangue 35%, jus de citron	26%	saccharose, sirop de glucose-fructose, sirop de glucose	Pectine, Tara, Xanthane	Protéines de pois hydrolysées, Colorant, Arôme naturel
Froneri	Oasis	Sorbet Framboise Cassis	Purée de Framboise 13%, purée de cassis sucrée 11,1%, Jus de pomme à base de concentré 2.5%	20,8%	saccharose, sirop de glucose	Caroube, Pectine, Carraghénanes	Protéines de blé, Arôme naturel, Colorant
Thiriet	Thiriet	Sorbet Fraise	Fraises 70%, Jus de citron	24%	saccharose, sirop de glucose	Caroube, Guar, Xanthane	

Les précédents travaux de thèse réalisés au sein de l'UMR SayFood et de l'unité FRISE (Arellano Salazar, 2012; Cerecero Enriquez, 2003; Haddad Amamou, 2009; Hernández-Parra, 2018) ont nécessité l'emploi d'un mix de sorbet commercial (mix de sorbet à l'italienne

saveur citron de la Laiterie de Montaigu). Sa composition précise est connue, elle est montrée dans le Tableau 2. Ce mix contient un mélange de saccharose et de glucose en plus du fructose qui est apporté par le jus de citron. Il contient également un mélange de stabilisants dans lequel l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) est majoritaire.

Tableau 2: formulation du mix de la Laiterie de Montaigu.
Les concentrations sont exprimées en % massique.

Composition		Formulation du mix (%)
Eau / Jus de citron		75,01
Sucres (24.64%)	Saccharose	14,6
	Fructose	9,8
	Glucose	0,24
Stabilisants (0.35%)	E464 : Hydroxypropylméthylcellulose (HPMC)	0,3
	E410 : gomme de caroube (LBG)	0,03
	E412 : gomme de guar (GG)	0,02

Les formulations de mixes de sorbets tels que décrites dans les ouvrages de référence dédiés aux desserts congelés sont regroupées dans le Tableau 3. Les mixes contiennent en moyenne 70% d'eau ou de jus de fruit, 28% de sucres, 0,35% de stabilisants et des arômes dans certain cas. Ces compositions sont proches de celles du mix commercial présenté en Tableau 2.

Tableau 3: formulations des mixes de sorbets décrits dans les ouvrages de référence.
Les concentrations sont exprimées en % massique.

Références		Goff and Hartel (2013)	Clarke (2012)	Marshall and Arbuckle (1996)	Stogo (1998)
Composition ($\%_m$)	Eau ou Jus de fruit	69,7 - 73,6	75 - 85	56 - 65	64,7
	Sucres	23 - 33	14 - 24	34,5 – 43,5	30
	Stabilisants	0,3 - 0,4	0,5	0,2 – 0,4	0,3
	Autres	-	Acide citrique : 0,5	-	Arômes : 5

I.1.1. Les sucres

Les sucres les plus communément ajoutés au mixes de desserts congelés sont une combinaison de saccharose et de glucose tandis que la présence de jus de fruits impose la

présence de fructose (Arbuckle, 1986). Un ratio glucose/saccharose de 1/3,5 serait couramment utilisé ; il permettrait, en lien avec la solubilité des sucres présents dans le mix dans le mix (Figure 1), d'éviter la formation de cristaux de saccharose lors de la surgélation ou du stockage du sorbet à basse température (Clarke, 2012).

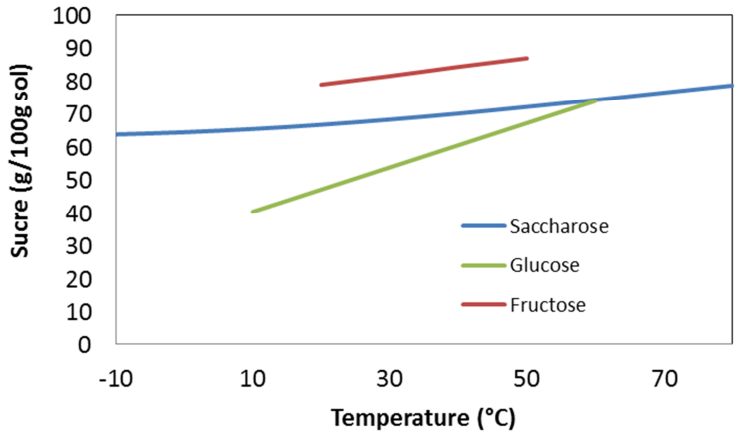


Figure 1 : Courbes de solubilité des sucres rencontrés dans la composition des mixes de sorbet (Alves et al., 2007; Bates and Standards, 1942; Bubník and Kadlec, 1995)

Les sucres ajoutés aux mixes de sorbets fournissent le goût sucré et rehaussent les arômes de fruits (Clarke, 2012; Goff and Hartel, 2013). Les sucres augmentent également la viscosité du mix : une solution aqueuse contenant 26% de saccharose est newtonienne ; sa viscosité à 4 °C est égale à 4,5 mPa.s, presque 3 fois celle de l'eau pure (Flores and Goff, 1999a).

I.1.2. Les stabilisants

Les stabilisants, appelés hydrocolloïdes ou gommes hydrosolubles, sont des macromolécules épaississantes de nature polysaccharidique, à l'exception de la gélatine qui est une protéine. Ce sont des polymères qui peuvent être linéaires ou plus ou moins ramifiés et leurs propriétés épaississantes sont liées à la capacité des molécules à interagir avec le solvant et à occuper un volume important. Les hydrocolloïdes sont par ailleurs plus ou moins solubles dans l'eau en fonction de leur masse moléculaire, de leur conformation et des charges qu'ils portent ; la carboxymethylcellulose (CMC) est ainsi plus facilement soluble dans l'eau froide que les galactomannanes (Bahramparvar and Tehrani, 2011; Cottrell et al., 1979).

L'analyse des données collectées sur Open Food Facts a permis d'identifier les stabilisants les plus souvent utilisés dans la formulation des sorbets vendus dans le commerce en France. A partir d'informations sur la composition de 536 sorbets de 128 marques différentes, une analyse quantitative de l'occurrence des différents hydrocolloïdes est montrée en Figure 2. La

pectine est le stabilisant le plus largement observé sur les étiquettes de sorbets. On retrouve ensuite la caroube, le guar puis la gomme xanthane. On observe également la gomme tara, les dérivés cellulosiques (HPMC, méthylcellulose ou MC et CMC) et enfin la gélatine.

On retrouve aussi parfois des carraghénanes et plus rarement de l'alginate de sodium. Une analyse plus complète a permis d'établir que la présence de ces stabilisants est systématiquement couplée à la présence de lait ou de produits dérivés du lait puisque leurs propriétés sont liées aux interactions des macromolécules stabilisantes avec les ions calcium présents dans les produits laitiers (Morris, 1984).

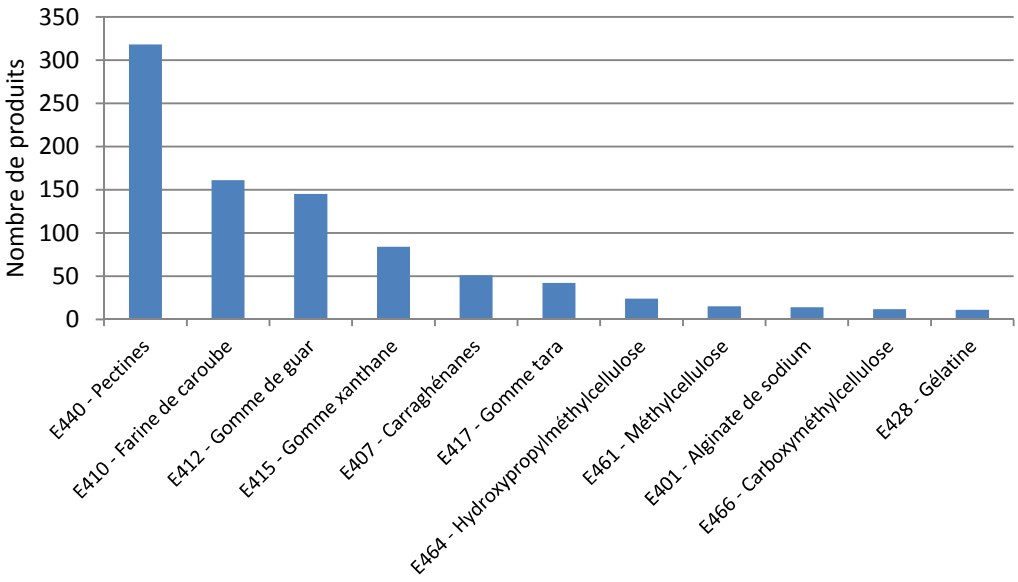


Figure 2: Stabilisants utilisés dans les mixes de sorbet industriels en France

Les stabilisants sont ajoutés au mixes de sorbets à des faibles concentrations, généralement comprise entre 0,2% et 0,5% de la masse du mix. Les stabilisants augmentent la viscosité des mixes et favorisent l'incorporation d'air lors de la congélation. Ils retardent la croissance cristalline pendant le stockage et améliorent la résistance aux fluctuations de température que le produit peut rencontrer pendant sa fabrication et son conditionnement (E et al., 2010; Goff, 2002; Goff and Hartel, 2013; Marshall and Goff, 2003).

I.2. Procédé de fabrication des sorbets

La série d'opérations unitaires qui constitue le procédé de fabrication des sorbets est présentée en Figure 3. Le procédé peut être divisé en trois grandes opérations distinctes : la préparation du mix (étapes 1 à 5 en vert), sa transformation en sorbet lors de la pré-congélation (étape 6)

puis les étapes ultérieures à la pré-congélation : conditionnement, surgélation et stockage (étapes 7 à 9 en bleu).

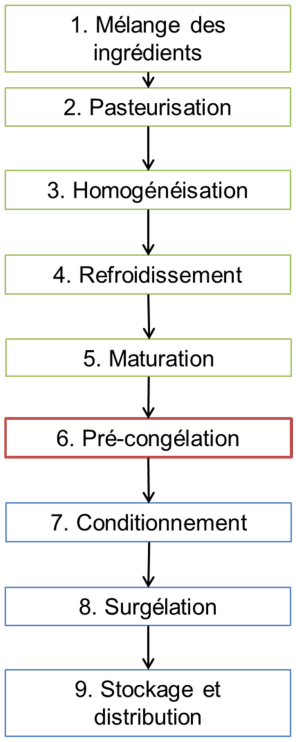


Figure 3: Procédé de fabrication des sorbets

I.2.1. Préparation du mix

Les ingrédients (eau et jus de fruits, sucres et stabilisants, etc.) sont mélangés dans un réservoir muni d'un système d'agitation et d'un système de chauffage. Les ingrédients liquides sont introduits en premier lieu. Les ingrédients secs sont mélangés (sucres et stabilisants) puis ajoutés petit à petit à la solution sous agitation. Ceci permet la dispersion des stabilisants dont la solubilisation peut être délicate (Clarke, 2012). Ils peuvent également être dispersés dans un sirop de sucre (Marshall et al., 2003). Par ailleurs, certains stabilisants se solubilisent à température ambiante (le guar, la pectine, la gomme xanthane) et d'autres à des températures pouvant atteindre 65 °C ; il est conseillé de suivre les recommandations du fournisseur pour la solubilisation des hydrocolloïdes et d'adapter le procédé de mélange des ingrédients (Marshall et al., 2003) .

Le mix subit ensuite une étape de pasteurisation, elle-peut être réalisée en batch (pasteurisation LTLT, « low-temperature long-time ») ou en pasteurisateur continu (pasteurisation HTST, « high-temperature short-time » ; HHST, « high-heat short time », ou

UHT, « ultra high temperature »). Cette étape supprime les éventuels microorganismes pathogènes et allonge la durée de conservation du mix.

Le mix de sorbet est ensuite homogénéisé sous agitation et sous pression (jusqu'à environ 20 MPa). Cette étape est essentielle dans le cas de la production de crème glacée où elle permet de réduire la taille des globules gras (Clarke, 2012; Goff and Hartel, 2013; Stogo, 1998). L'importance de cette étape dans la production des sorbets n'a pas été étudiée dans la littérature.

Enfin, le mix est refroidi puis stocké à 4 °C pendant plusieurs heures durant l'étape de maturation. Les éventuels ingrédients sensibles à la température, tels que des arômes, des colorants ou des purées de fruit peuvent être ajoutés lors de cette étape (Clarke, 2012). La maturation assure l'expansion des polymères stabilisants en solution et donc leur solubilisation complète.

I.2.2. Pré-congélation du mix

La pré-congélation, ou glaçage, constitue l'étape critique du procédé de fabrication des sorbets. Durant celle-ci, de l'air est incorporé sous forme de bulles et une partie de l'eau contenue dans le mix change d'état pour former la phase glace. La formation des cristaux de glace, appelée nucléation, et le foisonnement (introduction d'air) n'ont lieu que lors de la pré-congélation. Les solutés (sucres et stabilisants) se concentrent dans la phase non congelée tout au long du procédé, au fur et à mesure de l'apparition des cristaux ; ce phénomène est appelé cryoconcentration.

Le glaçage s'effectue dans un échangeur de chaleur à surface raclée (ECSR ou freezer). Il existe deux types d'échangeur de chaleur à surface raclée pour la production des sorbets : les ECSR continus (avec entrée et sortie continue du produit) et les ECSR discontinus (cuve fermée dans laquelle on place le mix non congelé puis on extrait le sorbet congelé). Les caractéristiques du produit final et notamment des cristaux de glace sont en lien étroit avec le procédé de fabrication utilisé, ceci est discuté ultérieurement (III.1).

De manière générale, un freezer est constitué d'une enceinte (cuve ou cylindre) à double-paroi dans laquelle circule un fluide froid. Si le freezer utilise un mode de réfrigération primaire, le fluide est appelé fluide frigorigène et il subit une évaporation dans la double paroi. Ce phénomène endothermique cause l'abaissement de sa température. Si au contraire le freezer fonctionne sur un mode de réfrigération secondaire, on utilise un fluide frigoporteur ; celui-ci

reste à l'état liquide dans la double-enveloppe du freezer mais est refroidi au préalable par un fluide frigorigène dans un premier échangeur. La réfrigération secondaire est souvent considérée comme moins efficace que la réfrigération primaire (Ben Lakhdar et al., 2005).

Au centre de l'ECSR se trouve un rotor muni de lames racleuses. Le mix est introduit dans le freezer à une température proche de 4 °C. Pendant son séjour dans l'échangeur, il se refroidit de plus en plus et l'eau en contact avec la paroi froide se congèle. Les lames raclent constamment la surface d'échange et permettent d'arracher les cristaux de glace formés et de les ramener vers le centre du freezer.

A la fin de la congélation et selon la formulation et la texture désirée, le sorbet est à une température variant entre -3.5 °C et -7 °C. A -6 °C à la sortie d'un freezer, le volume d'un sorbet est constitué d'environ 45% de glace et d'environ 20% à 30 % d'air (Clarke, 2012; Marshall et al., 2003). Environ 50% de l'eau initialement contenue dans le mix est à l'état congelé, la solution résiduelle non congelée est donc environ deux fois plus concentrée en sucres et en stabilisants que le mix d'origine (Goff and Hartel, 2013). Les phénomènes se produisant lors de la congélation d'un sorbet en échangeur de chaleur à surface raclée sont détaillés dans une partie dédiée (II.2).

I.2.2.1. Echangeurs de chaleur à surface raclée continus

Dans l'industrie, on trouve très majoritairement des échangeurs de chaleur de type continu. Ce type d'ECSR se présente sous la forme d'un long cylindre de faible diamètre (entre 5 et 20 cm) entouré d'une double paroi dans laquelle circule un fluide froid (Figure 4). Les ECSR continus sont majoritairement équipés d'un système de réfrigération primaire avec un fluide frigorigène qui s'évapore à des températures comprises entre -20 °C et -30 °C. La vitesse des lames racleuses, de nombre et de forme variable, est comprise entre 150 et 200 rpm (Clarke, 2012; Marshall et al., 2003). Une buse permet l'introduction d'air sous pression à l'entrée de l'ECSR. Les taux de foisonnement atteints sont compris entre 40 et 60% (Marshall et al., 2003). Le temps de résidence du mix dans un échangeur continu est compris entre 30 et 60 s et le débit de mix peut atteindre 3000 $l.h^{-1}$ (Clarke, 2012).

Le débit du mix, la pression et donc la température d'évaporation du fluide frigorigène, la vitesse des lames racleuses et la quantité d'air introduite via le système de buses peuvent être modifiés dans le cas d'une congélation en ECSR continu. Les impacts de ces paramètres sur

la congélation du sorbet et notamment sur la quantité et la taille des cristaux de glace sont discutés dans la Partie III.1.

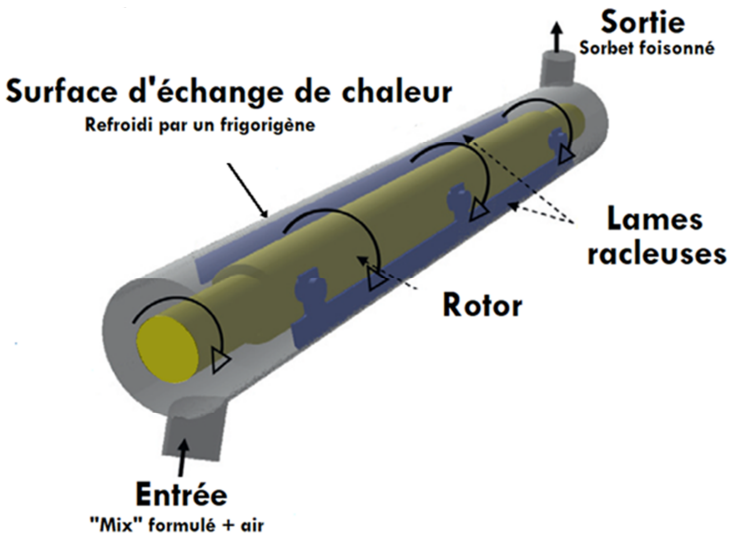


Figure 4: Schéma d'un ECSR de type continu (adapté de Yataghene and Legrand (2013))

I.2.2.2. Echangeurs de chaleur à surface raclée discontinus

Contrairement aux échangeurs industriels en continu, les ECSR discontinus permettent la production d'une quantité donnée de produit (batch). La plupart des acteurs de la production artisanale de sorbets ainsi que les restaurateurs qui en proposent sont équipés d'un freezer batch. Le principe de fonctionnement demeure le même que celui des ECSR continus : le freezer, qu'on qualifie parfois de sorbetière, est composé d'une cuve verticale ou horizontale autour de laquelle circule un fluide frigorigène ou frigoporteur qui refroidit le mix. Le centre de la cuve est muni d'un rotor porteur de lames racleuses, dont la forme et le nombre de lames peuvent varier. Un schéma simplifié de ce type de freezer est montré en Figure 5.

Les dimensions et donc les capacités de ce type de sorbetière sont variées en fonction du constructeur. Globalement, ces freezers sont adaptés à la production de faibles quantités de sorbets et crèmes glacées : entre 500 g (sorbetière domestique) et plusieurs kilos (pour les artisans) pour un temps de congélation compris entre 10 minutes et 1 heure. Ceci permet une certaine flexibilité et un changement de recette fréquent (Stogo, 1998).

Le temps de congélation est considéré comme long au regard des temps de séjour des sorbets congelés en ECSR continu (en général inférieurs à la minute). Cette vitesse de congélation a une influence sur les caractéristiques du produit final et notamment sur la taille et le nombre

des cristaux de glace (III.1). Ensuite, le foisonnement est plus difficilement maîtrisé dans un ESCR de type batch. En effet, il n'y a pas de buse à injection d'air sous pression contrôlée dans ce type de système, l'introduction d'air se fait grâce au mouvement de rotation des lames racleuses dans la cuve dont la vitesse n'est pas toujours ajustable. Enfin, compte tenu du diamètre important de la cuve (pouvant atteindre plusieurs dizaines de cm), le produit final est moins homogène qu'avec un procédé continu ; le sorbet est souvent plus dur au niveau des parois froides qu'au centre (Stogo, 1998).

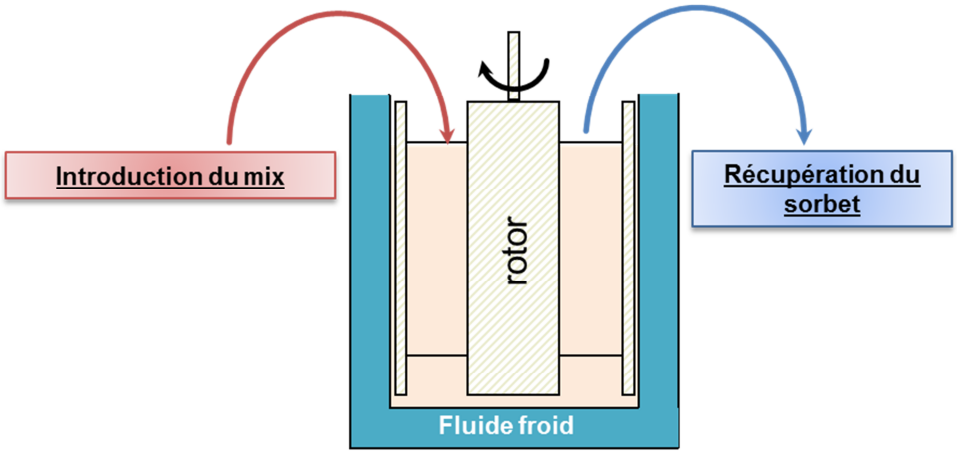


Figure 5 : Schéma d'un ECSR de type batch

Un nombre important d'études dédiées à l'analyse des desserts congelés a été réalisé après congélation des mixes dans des freezers batch commerciaux, qui sont également utilisés par des artisans (Bahramparvar and Goff, 2013; Bolliger et al., 2000; Flores and Goff, 1999a; Park et al., 2006; Velásquez-Cock et al., 2019; Yuennan et al., 2014) ; un exemple est montré en Figure 6(a). Par ailleurs, Cerecero Enriquez (2003) et Haddad Amamou (2009) ont développé et utilisé un freezer batch de petit volume (environ 100 mL), à des fins d'études et de caractérisations; un schéma de ce dispositif est montré en Figure 6 (b).

(a)

(b)

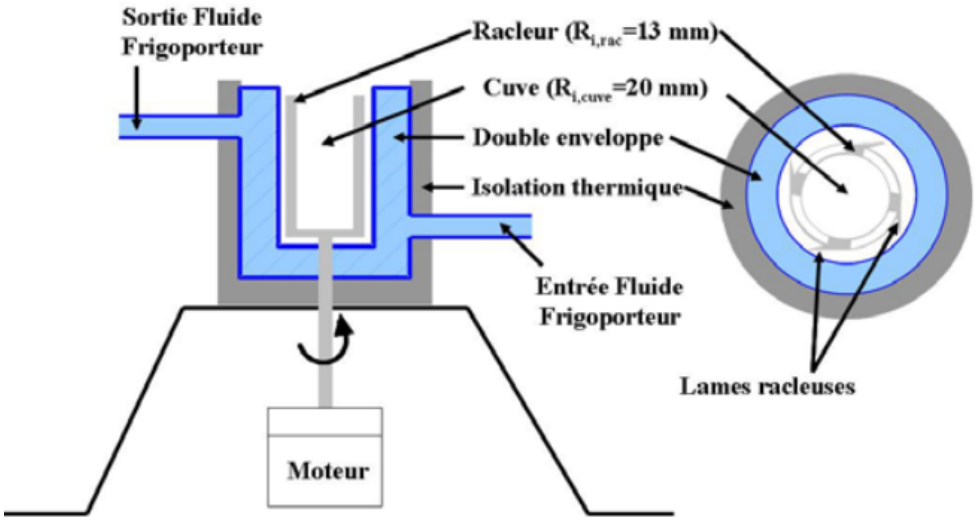


Figure 6 : Sorbetières batch utilisées dans la littérature
(a) Sorbetière Taylor® Model 104. La cuve est horizontale et a un volume de 2,9 L (Velásquez-Cock et al., 2019). Illustration fournie par Taylor Company.
(b) Schéma d'un ECSR discontinu expérimental : vue de profil et vue du dessus. $R_{i,\,rac}$: rayon intérieur du rotor ; $R_{i,\,cuve}$: rayon intérieur de la cuve (Cerecero Enriquez, 2003; Haddad Amamou, 2009).

I.2.3. Conditionnement, surgélation et stockage

Après la pré-congélation en ECSR, le sorbet est conditionné avant de subir un durcissement ou congélation finale dans un tunnel de surgélation, où les températures varient de -30 °C à -40 °C afin d'obtenir un produit à -20 °C à cœur. Durant cette étape, les cristaux ne font que croître alors que le produit se refroidit pour atteindre la température et la texture désirées. A la fin de l'étape de durcissement, environ 80% de l'eau contenue initialement dans le mix est

congelée (Marshall et al., 2003). Concernant les bulles d'air, elles subissent éventuellement des phénomènes de coalescence (Rao and Hartel, 2006).

Le produit est ensuite entreposé à une température de -23 °C. Cette température doit être maintenue pendant toute la chaine du froid afin d'éviter des remontées de température qui pourraient être néfastes à la qualité finale du produit. En effet, les variations de température peuvent provoquer une fusion partielle et une recristallisation sous forme de cristaux de glace plus gros au cours du stockage (Clarke, 2012; Goff and Hartel, 2013).

II. Cristallisation de l'eau

La cristallisation d'une partie de l'eau contenue dans le mix de sorbet intervient suite à l'abaissement de la température du produit au sein d'un échangeur de chaleur à surface raclée et plus particulièrement au niveau de sa paroi. Ceci entraine un changement d'état : l'eau se solidifie et il y a apparition de cristaux de glace. La cristallisation comprend deux étapes : la nucléation (formation des cristaux de glace) et la croissance cristalline.

Cette partie est constituée d'un rappel sur les phénomènes intervenant lors de la cristallisation de l'eau. Ensuite, un état des lieux de la recherche concernant spécifiquement la cristallisation pendant la congélation des sorbets en échangeur de chaleur à surface raclée est proposé.

II.1. Mécanismes généraux de la cristallisation

II.1.1. Nucléation

La nucléation, ou germination, désigne la création d'un cristal (germe cristallin ou nucleus). Celle-ci est enclenchée sous l'action d'une « force motrice» qui peut être la sursaturation de l'espèce cristallisante ou un sous-refroidissement. Dans le cas de la congélation d'un mix de sorbet, c'est un sous-refroidissement en dessous de sa température de congélation (ou point de fusion) qui provoque la nucléation de cristaux d'eau (Hartel, 2001).

Il existe deux types de nucléation, la nucléation primaire et la nucléation secondaire. La nucléation primaire correspond à un réarrangement des molécules d'eau suite à un abaissement de la température, de telle manière qu'elles forment un noyau dur, point de départ de la croissance des cristaux. La nucléation primaire est dite homogène si elle a lieu spontanément au sein de la solution, sans intervention d'une autre surface pouvant servir de support. Elle est hétérogène si au contraire, elle a lieu sur une surface solide de nature physique ou chimique différente de celle du cristal. Après la nucléation primaire, une nucléation secondaire peut également avoir lieu, elle correspond à la génération de nouveaux germes à partir de cristaux existants (Hartel, 2001).

II.1.1.1. Nucléation primaire homogène

La nucléation primaire homogène opère spontanément en solution. La théorie classique décrit qu'en raison de la diminution de la température, les molécules d'eau se réarrangent et s'unissent très rapidement jusqu'à former un groupe de molécules caractérisé par un rayon critique r_c. Une fois celui-ci atteint, l'ajout d'une seule molécule d'eau conduit à la formation

d'un nucléus cristallin. Le rayon critique est influencé par la température : il est plus petit pour de faibles températures (Mullin, 2001). Concernant la cristallisation de l'eau, le rayon critique est estimé entre 20 et 120 Å à des températures comprises respectivement entre -30°C et -3 °C (Fennema et al., 1973).

Lors de l'agglomération des molécules d'eau pour former un nucléus stable, il y a transition vers un état plus condensé (état cristallin) où le mouvement des molécules est plus restreint. Ceci s'accompagne de la libération d'une certaine quantité d'énergie, correspondant à la chaleur latente de fusion. La formation de la surface solide du nucléus cristallin nécessite donc un certain apport d'énergie, dite énergie critique d'activation (ΔG_c), qui doit être supérieure à l'énergie libérée lors du changement de phase. Cette énergie est liée au rayon critique du germe et au développement d'une tension interfaciale σ_s entre le cristal en formation et la solution environnante (Mullin, 2001). Elle peut être calculée avec l'équation 1 (Hartel, 2001).

$$\Delta G_c = \frac{4}{3}\pi . {r_{cr}}^2 . \sigma_s \quad \text{(Équation 1)}$$

ΔG_c : énergie d'activation de nucléation homogène (J) ;

r_{cr} : rayon critique du germe cristallin (m) ;

σ_s : tension interfaciale entre le cristal et la matrice ($J.m^{-2}$).

La tension interfaciale entre le cristal en formation et la solution est un paramètre difficile à déterminer expérimentalement bien qu'elle puisse avoir un effet significatif sur la nucléation. Elle est souvent obtenue grâce à l'équation 1 à partir d'analyses de la vitesse de nucléation (Tavare, 2013). Le travail de synthèse de Ickes et al. (2015) réunit les valeurs de tension interfaciale retrouvées dans la littérature : pour un cristal d'eau immergé dans l'eau pure à 0 °C, elle serait comprise entre 10.10^{-3} et 44.10^{-3} $J.m^{-2}$,

La vitesse de nucléation homogène *N* peut être écrite en fonction de l'énergie critique à l'aide de l'équation 2.

$$N = A . exp \frac{-\Delta G_c}{k_B T} \quad \text{(Équation 2)}$$

N : vitesse de nucléation ($cristaux.m^{-3}.s^{-1}$) ;

A : terme pré exponentiel ($cristaux.m^{-3}.s^{-1}$) ;

k_B : constante de Boltzmann ($1{,}381.10^{-23}$ $J.K^{-1}$) ;

T : température (K).

II.1.1.2. Nucléation primaire hétérogène

Les exemples de nucléation spontanée homogène sont rares dans les situations réelles. En effet, les solutions préparées en laboratoire ou rencontrées dans l'industrie sont souvent complexes et contiennent d'autres substances que celle qui cristallise. Sous certaines conditions (une solubilité faible dans l'eau, une petite taille et une capacité à établir des ponts hydrogènes avec l'eau), ces substances peuvent servir d'agent nucléant et favoriser la formation de cristaux à leur surface (Fennema et al., 1973). La taille et la solubilité critiques pour constituer un support de nucléation hétérogène ne sont cependant pas connues.

Les parois des réacteurs, cuves ou échangeurs mis en œuvre lors d'un procédé industriel peuvent également constituer des sites de nucléation hétérogène préférentiels puisqu'au niveau microscopique, ils peuvent présenter des zones rugueuses ou grêlées. Par ailleurs ces surfaces sont en général plus froides, ce qui favorise le démarrage de la nucléation. Grâce à la présence de ces anfractuosités ou impuretés, l'énergie d'activation de la nucléation hétérogène ($\Delta G'_c$) est beaucoup moins importante que celle de la nucléation homogène (Mullin, 2001). Elle est souvent exprimée avec l'équation 3.

$$\Delta G'_c = \varphi . \Delta G_c \qquad \text{(Équation 3)}$$

$\Delta G'_c$: énergie d'activation de la nucléation hétérogène (J) ;

φ : facteur (sans unité) en lien avec les tensions interfaciales existantes entre le site de nucléation secondaire, le nucléus cristallin et la solution résiduelle, avec :

$$\varphi = \frac{1}{4}(2 + cos\,\theta)(1 - cos^2\,\theta) \qquad \text{(Équation 4)}$$

θ : angle de contact entre le nucléus et le site de nucléation hétérogène (rad), avec :

$$cos\,\theta = \frac{\sigma_{sl} - \sigma_{cs}}{\sigma_{cl}} \qquad \text{(Équation 5)}$$

σ_{sl} : tension interfaciale entre le site de nucléation et la matrice liquide ($J.m^{-2}$) ;

σ_{cs} : tension interfaciale entre le nucléus et le site de nucléation ($J.m^{-2}$) ;

σ_{cl} : tension interfaciale entre le nucléus et la matrice liquide ($J.m^{-2}$).

La vitesse de nucléation hétérogène *N'* est obtenue par :

$$N' = A'.exp\frac{-\Delta G'_c}{kT} \qquad \text{(Équation 6)}$$

N' : vitesse de nucléation hétérogène (cristaux.m^{-3}.s^{-1}) ;

A' : terme pré exponentiel (cristaux.m^{-3}.s^{-1}).

II.1.1.3. Nucléation secondaire

Après la nucléation primaire, de nouveaux nucléi peuvent se former à partir d'autres cristaux ; ce processus est appelé nucléation secondaire.

Le mécanisme le plus important serait la nucléation secondaire de contact. En raison d'une forte agitation, des fragments de cristal seraient arrachés du réseau cristallin, ils seraient alors dispersés dans la solution où ils pourraient croître pour former de nouveaux nucléi. Cependant, des observations microscopiques montrent que les surfaces des cristaux ne sont pas endommagées lors de la nucléation secondaire de contact, ce qui tend à relativiser l'importance de ce mécanisme. Le second processus proposé est celui de particules arrachées de la fine couche entourant un cristal en cours de croissance et formant de nouveaux nucléi. Cette couche de quelques nanomètres d'épaisseur est dite d'adsorption, elle représente une zone de transition où les molécules d'eau s'organisent pour rejoindre le réseau cristallin (II.1.2, Figure 7) (Hartel, 2002; Mullin, 2001).

L'expression de la vitesse de nucléation secondaire est complexe étant donné les interactions avec le milieu et les surfaces environnantes. Elle est affectée par la vitesse d'agitation du milieu, la dureté des parois en contact avec la solution qui cristallise, la géométrie de la cuve, le nombre et la taille des cristaux en suspension, leur masse et leur dureté, la température et la présence d'impuretés ou d'additifs (Hartel, 2002; Zhu, 2004). La vitesse de nucléation secondaire est souvent exprimée avec l'équation 7.

$$N_s = \alpha_{Ns}.(T_{eq} - T)^i.m^j.N_{agitation}^l \quad \text{(Équation 7)}$$

α_{Ns}, i, j, l : constantes ;

T_{eq} : Température d'équilibre thermodynamique de la solution (K) ;

m : moment d'ordre 2 ou 3 de la distribution de taille des cristaux, proportionnel respectivement à leur surface ou à leur volume ;

$N_{agitation}$: vitesse d'agitation.

II.1.2. Croissance cristalline

Une fois les cristaux formés, ils s'accroissent à une vitesse dépendant des conditions du milieu. Plusieurs théories classiques permettent de décrire la croissance d'un cristal (Boistelle and Astier, 1988; Dirksen and Ring, 1991; Mersmann, 2001). La théorie la plus utilisée est celle de la croissance à partir de la couche limite d'adsorption présente à la surface du cristal. Le mécanisme comporte trois étapes qui sont généralement décrites comme constituant les phénomènes limitants de la cristallisation : migrations opposées des molécules d'eau et de solutés, incorporation des molécules d'eau dans le réseau cristallin et libération de la chaleur latente de changement d'état de l'eau.

Pour que la croissance cristalline ait lieu, les molécules d'eau libres en solution doivent migrer vers la surface des cristaux de glace en cours de formation. Les autres molécules (notamment les molécules de sucre et de stabilisants dans le cas d'un sorbet) doivent au contraire s'éloigner des cristaux. La vitesse d'un transfert de masse $\dot{m}'$ peut être exprimée sous la forme suivante, en fonction de la différence de concentration entre la solution et la surface du cristal (Hartel, 2001) :

$$\dot{m}' = k_d(C_s - C_c) \qquad \text{(Équation 8)}$$

$\dot{m}'$: flux des molécules (kg.m^{-2}.s^{-1}) ;

k_d : coefficient de transfert de masse (m.s^{-1}) ;

C_s : concentration en solution (kg. m^{-3}) ;

C_c : concentration à la surface du cristal (kg. m^{-3}).

On peut accéder au coefficient de transfert de masse k_d, pour des molécules considérées comme sphériques, par le calcul du nombre adimensionnel de Sherwood (équation 9).

$$Sh = \frac{k_d.L}{D} = 2 + d.Re^b.Sc^c \qquad \text{(Équation 9)}$$

L : dimension caractéristique du cristal (m) ;

D : diffusivité moléculaire (m.s^{-1}) ;

b, c, d : constantes dépendant de la géométrie du système et des conditions d'écoulement (laminaire ou turbulent) ;

Re : nombre adimensionnel de Reynolds, qui caractérise le régime de l'écoulement (équation 10).

$$Re = \frac{v.L.\rho}{\mu} \quad \text{(Équation 10)}$$

v : vitesse d'écoulement de la solution résiduelle ($m.s^{-1}$) ;

ρ : masse volumique de la solution résiduelle ($kg.m^{-3}$) ;

μ : viscosité dynamique de la solution résiduelle (Pa.s).

Sc : nombre adimensionnel de Schmidt, avec :

$$Sc = \frac{\mu}{\rho.D} \quad \text{(Équation 11)}$$

Enfin, la diffusivité est donnée par la relation de Stokes-Einstein (Einstein, 1905; Stokes, 1851) :

$$D = \frac{k.T}{6\pi.L.\mu} \quad \text{(Équation 12)}$$

Les équations 8 à 12 illustrent que les facteurs influençant les transferts de masses nécessaires à la croissance cristalline sont nombreux. Ces transferts de masses sont gouvernés par le gradient local de concentration entre la solution et la surface du cristal. Ils dépendent de la taille des nucléus existants, de l'agitation de la solution, des propriétés physico-chimiques de la solution résiduelle et notamment de sa viscosité.

Dans un deuxième temps, les molécules d'eau doivent se regrouper, se réarranger et s'orienter pour permettre leur incorporation dans le réseau cristallin. Ceci a lieu dans la couche d'adsorption entourant le nucléus cristallin illustrée en Figure 7.

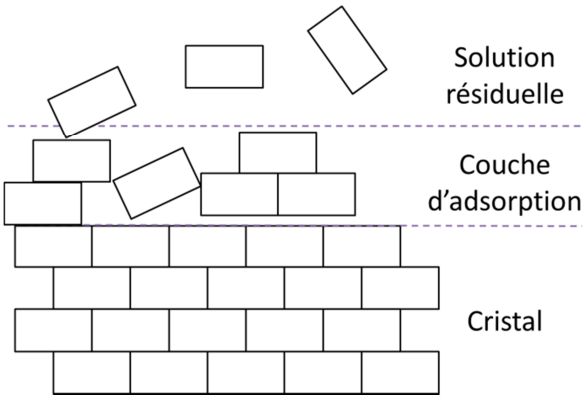


Figure 7 : Représentation schématique de la couche d'adsorption à la surface d'un cristal en cours de croissance. Les rectangles représentent les groupes de molécules d'eau qui vont participer à la croissance cristalline (d'après Hartel (2001)

Les molécules d'eau doivent migrer le long de la surface du cristal afin de trouver un site où leur incorporation au réseau cristallin sera possible. Le choix de ce site dépend de l'intensité

du sous-refroidissement en dessous de la température d'équilibre thermodynamique de la solution. Dans le cas d'un sous-refroidissement peu intense, la croissance est lente et les molécules ont le temps de s'incorporer au site le plus favorable d'un point de vue énergétique ; il s'agirait de sites où les molécules participant à la croissance seraient alors entourées par des molécules déjà intégrées au réseau cristallin. Si au contraire les cristaux croissent rapidement sous l'effet d'un froid intense, les molécules s'incorporent rapidement dans un état plus désorganisé, le cristal est alors moins parfait. Dans le cas de la croissance des cristaux de glace dans les systèmes alimentaires, l'incorporation dans le réseau cristallin n'est pas considérée comme un facteur majeur limitante la croissance ; elle est considérée comme rapide à l'exception des conditions de températures proches de la transition vitreuse, où la mobilité est fortement réduite (Hartel, 2001).

Enfin, après incorporation des molécules d'eau, la chaleur latente de fusion liée au changement d'état de l'eau doit être dégagée du centre vers la surface du cristal (par conduction à travers le cristal) et vers la solution (par convection).

La vitesse de transfert convectif est donnée par :

$$\dot{q}_{conv} = h.S.(T_c - T_s) \qquad \text{(Équation 13)}$$

h : coefficient de transfert convectif ($W.m^{-2}.K^{-1}$);

S : aire du cristal (m^2) ;

T_c : température à la surface du cristal (K) ;

T_s : température du mix (K).

La vitesse de transfert par conduction est donnée par :

$$\dot{q}_{cond} = k.S.\Delta T \qquad \text{(Équation 14)}$$

k : conductivité thermique du cristal ($W.m^{-2}.K^{-1}$) ;

ΔT : variation de température entre le centre et la surface du cristal (K).

D'une façon générale, la vitesse de croissance en fonction du sous-refroidissement peut s'exprimer avec l'équation 15.

$$G = \beta.(T_{eq} - T)^p \qquad \text{(Équation 15)}$$

β : coefficient de croissance ($m^{-3}.s^{-1}.K^{-n}$), fonction des vitesses relatives de transferts thermiques $\dot{q}_{conv}$ et $\dot{q}_{cond}$, et massiques $\dot{m}$ dans le liquide ;

T_{eq} : température de saturation à l'équilibre thermodynamique, fonction de la concentration en solutés de la solution résiduelle non congelée (K).

p : indice de puissance (sans unité) qui dépend des mécanismes limitant la croissance (transfert de masse, incorporation à la surface et transfert thermique) et de leurs vitesses relatives.

D'autres mécanismes de croissance des cristaux existent : si beaucoup de petits cristaux sont présents en solution, ils peuvent s'agglomérer ou s'agréger ensemble pour former des cristaux plus gros. Ceci est principalement important dans les systèmes où, comme dans le cas de la congélation en échangeur de chaleur à surface raclée, l'agitation favorise le contact entre les cristaux, leur collage et ainsi la formation des agglomérats.

II.2. Spécificités de la cristallisation en ECSR

Les mécanismes spécifiques de la nucléation et de la croissance cristalline en échangeur de chaleur à surface raclée ne sont pas encore parfaitement élucidés, leur étude expérimentale étant rendue difficile de par l'aspect dynamique du procédé, l'opacité du mix qui congèle et le fait qu'un ECSR soit constitué d'une enceinte close ; les mesures locales de températures, de pression et de vitesse du fluide sont difficiles (Cook and Hartel, 2010; Varzakas and Tzia, 2014).

La différence de température entre la température de la paroi froide du freezer et la température de congélation du produit constitue la force motrice de la cristallisation. La température de congélation d'un mix de sorbet est comprise entre -2 °C et -4 °C (Drewett and Hartel, 2007), elle dépend de la formulation et notamment de la composition en sucres (voir Partie III.2). Lors de la congélation, le fluide frigorigène s'évapore dans la double-enveloppe à une température comprise entre -20 °C et -30 °C. Un sous-refroidissement de 16 °C à 28 °C est donc observé au niveau de la paroi interne du freezer.

Les premiers cristaux apparaissent au contact de la paroi froide du freezer. La nucléation primaire serait donc essentiellement de type hétérogène (Hartel, 1996; Schwartzberg et al., 1990). Elle serait liée à la présence d'anfractuosités ou de reliefs de petite taille à la surface de la paroi interne du freezer (Mullin, 2001).

L'intensité importante du sous-refroidissement favoriserait la nucléation cristalline sous la forme d'une couche cristalline formée de dendrites (Cook and Hartel, 2010; Hartel, 1996; Schwartzberg et al., 1990) comme montré dans la Figure 8.

Les lames racleuses arrachent ensuite les cristaux formés à la paroi à une fréquence qui peut être proche du dixième de seconde, selon la vitesse de rotation des lames et leur nombre (Cook and Hartel, 2010). La couche de glace est alors fractionnée et dispersée au centre de l'échangeur. Le centre de la cuve est plus chaud que la paroi : d'après Hartel (1996), la température au contact de la paroi intérieure est comprise entre -26 °C et -28 °C (pour une température de fluide frigorigène de -30 °C) tandis que le mix a une température comprise entre 3,3 °C et -5,5 °C en fonction de sa position transversale dans un ECSR continu. Cet écart de température serait à l'origine de la maturation des cristaux (« ripening » dans la Figure 8) et de leur croissance sous la forme de sphères (Cook and Hartel, 2010). En fonction de la taille des nucléi et de la température locale, d'autres cristaux pourraient fondre et être dissous ou s'agréger pour donner des cristaux de glace plus gros ; ces mécanismes seraient essentiels à la construction de la microstructure des desserts glacés (Drewett and Hartel, 2007; Russell et al., 1999).

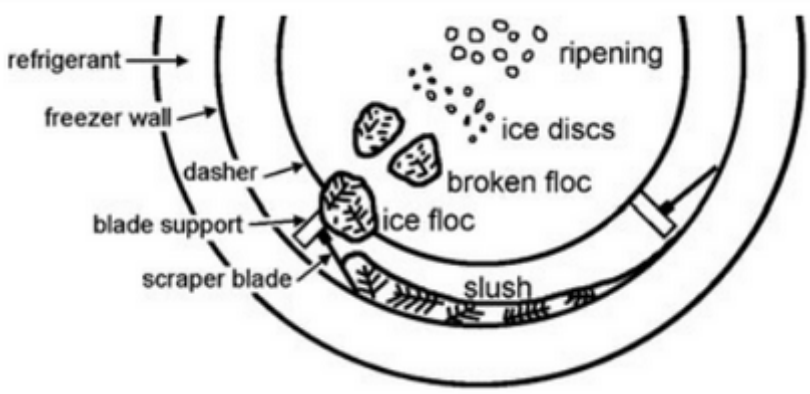


Figure 8 : Schéma de la cristallisation au sein d'un échangeur de chaleur à surface raclée (Cook and Hartel, 2010)

En fin de congélation en ECSR, la taille des cristaux de glace serait comprise entre 20 µm et 30 µm (Cook and Hartel, 2010; Donhowe and Hartel, 1996a; Drewett and Hartel, 2007; Marshall et al., 2003; Sofjan and Hartel, 2004).

Des cristaux pourraient également être formés par nucléation secondaire dans le freezer, grâce à des collisions entre cristaux ou bien entre des cristaux et les parois du freezer ou les lames racleuses. Windhab and Bolliger (1995) attribuent ainsi l'augmentation du nombre de cristaux de glace lorsque la vitesse du raclage est augmentée à la nucléation secondaire ainsi favorisée.

Ce mécanisme pourrait être important dans le cas de la production de crème glacée ou de sorbet, favorisé par la rotation rapide des lames racleuses (Cook and Hartel, 2010; Goff and Hartel, 2013; Hartel, 1996; Russell et al., 1999).

Arellano et al. (2013a) ont proposé un modèle de bilan de population pour décrire la cristallisation d'un sorbet dans un freezer continu. Ce modèle prend en compte la nucléation hétérogène (équation 16) et la croissance cristalline (équation 15 rappelée ci-dessous), exprimés en fonction du sous-refroidissement sous la température de congélation du mélange.

$$N = \frac{2\pi R_c}{S} k_n (T_{eq} - T_{rf})^{\alpha} \qquad \text{(Équation 16)}$$

R_c : rayon du freezer (m) ;

S : aire de la section de fluide entre la paroi interne du freezer et le rotor (m^2) ;

k_n : coefficient de nucléation hétérogène estimé après ajustement du modèle à des données expérimentales à 9.10^8 $m^{-2}.s^{-1}.K^{-1}$;

T_{rf} : température du fluide frigorigène (°C) ;

α : indice de puissance défini comme égal à 2.

$$G = \beta . (T_{eq} - T)^p \qquad \text{(Équation 15)}$$

β : coefficient de croissance estimé après ajustement du modèle à des données expérimentales à 6.10^{-7} $m.s^{-1}.K^{-1}$;

p : indice de puissance défini comme égal à 1. D'autres auteurs ont déterminé n dans le cas de la cristallisation de la glace dans des solutions de sucre et des jus de fruits, n ~ 1,5-1,6 (Omran and King, 1974).

III. Paramètres gouvernant la cristallisation dans un sorbet

La texture en bouche des desserts glacés est en partie gouvernée par la nature de la phase cristalline et notamment par la quantité et la taille des cristaux de glace. La texture douce recherchée par les consommateurs et les industriels serait liée à la présence de cristaux très nombreux et les plus petits possibles, il est donc nécessaire de contrôler du mieux possible la cristallisation.

Les phénomènes influençant la nucléation et la croissance cristalline en ECSR sont nombreux, parmi la température (qui dirige la force motrice de la cristallisation), les transferts de matière (migration des molécules d'eau et de solutés) et les transferts de chaleur (libération de la chaleur latente de fusion). Les paramètres du procédé de congélation et de la formulation impactant ces phénomènes sont présentés dans la suite de ce paragraphe.

III.1. Effet des paramètres du procédé de congélation

III.1.1. Effet de la température

Les taux de nucléation et de croissance cristalline théoriques en fonction de la température sont illustrés sur un schéma en Figure 9.

A des températures juste inférieures à la température de congélation T_f, les taux de nucléation et de croissance sont faibles ; ils augmentent ensuite lorsque la température diminue. A partir d'une certaine température, ces taux diminuent de nouveau, les auteurs attribuent cette tendance à l'augmentation de la viscosité du système. A très basse température, la nucléation et la croissance cessent, on parle de transition vitreuse. Si la température est baissée rapidement pour atteindre le point B sur la Figure 9, la nucléation est rapide et intensive en comparaison à la croissance ; un grand nombre de petits cristaux sera obtenu. Lorsque ce sorbet sera stocké à une température donnée, les cristaux petits et nombreux croîtront pour atteindre le volume de glace correspondant à cette température. Si le sorbet est refroidit moins rapidement et jusqu'à une température plus élevée (point A sur la Figure 9), peu de cristaux sont produits et ils croissent intensivement. A une même température de stockage, le sorbet A contiendra donc peu de gros cristaux en comparaison au sorbet B (Hartel, 1996).

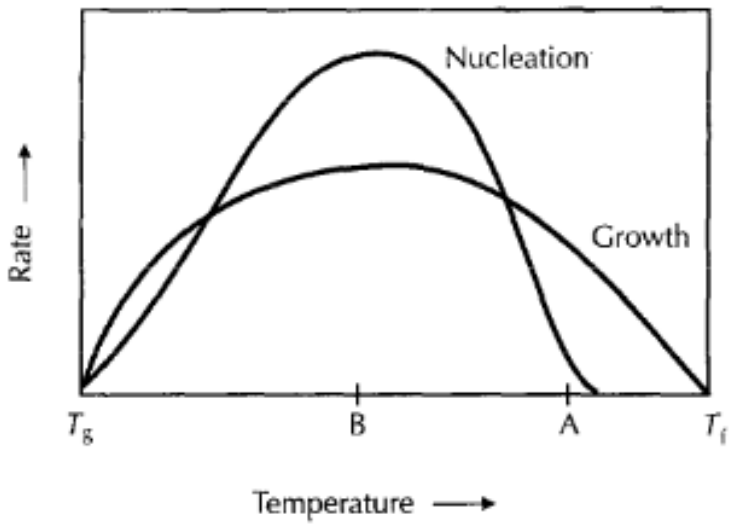


Figure 9 : Schéma des cinétiques de nucléation et de croissance cristalline en fonction de la température. T_f : température de congélation ; T_g : température de transition vitreuse. (Hartel, 1996)

La température des parois du freezer est contrôlable en modifiant la pression du fluide frigorigène ou son débit. Ceci est possible dans le cas d'un échangeur de chaleur à surface raclée continu, beaucoup plus rarement dans le cas d'un freezer batch où, très souvent, les paramètres du procédé ne sont pas modifiables (Stogo, 1998).

Hernández Parra et al. (2018) ont analysé l'influence de la température d'évaporation du fluide frigorigène contenu dans la double enveloppe sur la taille des cristaux de glace dans un sorbet à la sortie d'un freezer continu de type pilote. Les échantillons de sorbet sont observés directement à l'aide d'un microscope optique placé dans une boîte à gant thermostatée. Leurs résultats, visibles en Figure 10, indiquent que dans la gamme de températures testées, une température de fluide frigorigène plus basse diminue la taille des cristaux de glace. A -10 °C, seulement 5% des cristaux mesurent moins de 40 µm, cette proportion atteint 93%, 98% et 99% à des températures respectives de -12,5 °C, -15 °C et -19 °C. Les résultats proches obtenus à ces trois températures s'expliquent par le fait qu'à ces températures basses, le mécanisme prédominant est la nucléation tandis que la croissance cristalline est limitée. Un grand nombre de petits cristaux est donc obtenu. A l'inverse, à des températures plus élevées, comme à -10 °C, la croissance est favorisée et la nucléation plus limitée ; il y a donc moins de cristaux et ils sont plus gros. Les résultats de cette étude sont en accord avec une analyse réalisée sur le même produit en sortie du même freezer pilote à l'aide d'une sonde granulométrique (sonde FBRM pour Focused Beam Reflectance Measurement) placée dans la canalisation de sortie (Arellano et al., 2012). Des résultats similaires ont été obtenus dans la crème glacée (Russell et al., 1999).

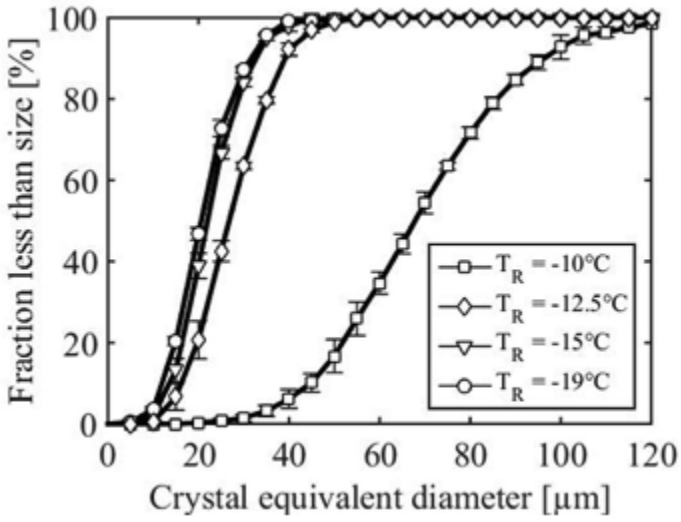


Figure 10 : Influence de la température d'évaporation du fluide frigorigène dans un ECSR échelle pilote sur la taille des cristaux de glace d'un sorbet (Hernández Parra et al., 2018). T_R : température d'évaporation du fluide frigorigène.

III.1.2. Effet de la vitesse des lames racleuses

L'action des lames racleuses permettrait un meilleur transfert de chaleur entre la paroi intérieure froide du freezer et le produit circulant à l'intérieur ; la cinétique de baisse de température du produit serait donc accélérée, ce qui conduirait à la formation de cristaux de glace plus petits (Ben Lakhdar et al., 2005). Une augmentation de la vitesse des lames serait également à l'origine de l'attrition des gros cristaux, les débris pourraient alors former de nouveaux nucléi par nucléation secondaire (Haddad Amamou, 2009; Windhab and Bolliger, 1995). Arellano et al. (2012) ont observé une légère diminution de la taille des cristaux de glace d'un sorbet en augmentant la vitesse de raclage dans un freezer continu à l'échelle pilote ; les auteurs affirment que soit la nucléation secondaire est favorisée suite à l'attrition des gros cristaux, soit les fragments détachés de la paroi de l'ECSR seraient plus petits lorsque la vitesse des lames augmente. Les cristaux ainsi formés à un stade avancé du procédé n'auraient pas le temps de croître.

D'un autre côté, la chaleur dissipée par la rotation des lames pourrait participer à la fonte partielle du produit en cours de congélation et encourager des phénomènes de recristallisation à l'origine de gros cristaux (Cebula and Russell, 1998). Russell et al. (1999) ont observé ce phénomène, ils ont constaté une augmentation de la taille des cristaux de glace d'une crème glacée lorsqu'ils augmentent la vitesse des lames racleuses.

III.1.3. Effet de la quantité ou du débit d'air

Théoriquement, il est attendu que les bulles d'air isolent le mix en cours de congélation, la conductivité thermique de l'air étant plus faible que celle de l'eau et de la glace. De ce fait, le temps de congélation pour obtenir la même quantité de glace serait allongé, ce qui conduirait à la formation de cristaux de glace plus gros (Flores and Goff, 1999a). Cependant, plusieurs auteurs ont démontré qu'une augmentation des débits d'air introduits dans l'échangeur conduisait à la formation de cristaux de glace plus petits (Caillet et al., 2003; Flores and Goff, 1999a; Hernández Parra et al., 2018), certains résultats sont montrés en Figure 11. Certains auteurs expliquent que les bulles d'air agiraient comme une barrière physique lors de la congélation en réduisant les collisions entre les cristaux (et dont leur accrétion) et en dispersant la matrice non congelée autour d'eux (Clarke, 2012; Flores and Goff, 1999a; Thomas, 1981).

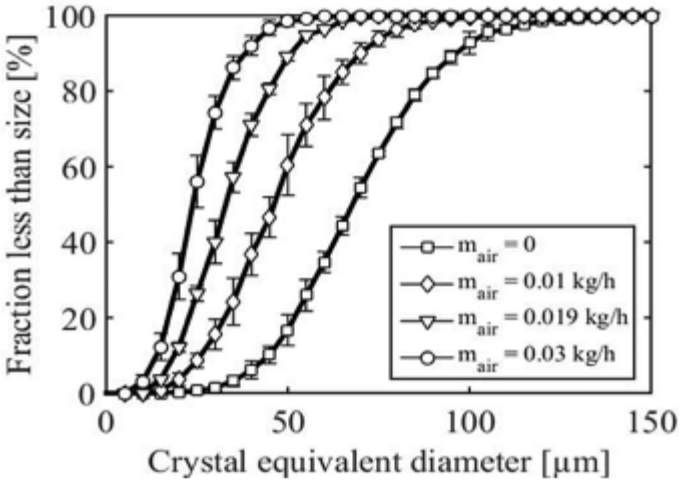


Figure 11 : Influence du débit d'air injecté dans un ECSR pilote sur la taille des cristaux de glace d'un sorbet. m_{air} : débit d'air (Hernández Parra et al., 2018).

III.2. Effet de la formulation du mix

III.2.1. Effet des sucres

L'impact principal des sucres sur la cristallisation est de diminuer la température de congélation commençante des mixes de sorbet, ce phénomène est appelé abaissement cryoscopique. Ils influencent donc également la quantité de glace obtenue à une température donnée (Clarke, 2012; Marshall et al., 2003).

La température de congélation commençante d'un mix de sorbet peut être estimée grâce à la loi de Raoult (équation 17), qui relie l'abaissement cryoscopique dû à la présence de solutés à leur quantité en solution et à leur masse molaire (équation 18) (Raoult, 1886).

$$\Delta\theta = \frac{Kc}{m_e} . \sum \frac{m_{si}}{M_{si}} \qquad \text{(Équation 17)}$$

$\Delta\theta$: abaissement cryoscopique (K), qui donne l'écart entre la température de congélation de l'eau pure et la température de congélation du mix de sorbet.

K_c : constante cryoscopique du solvant (K.kg.mol^{-1}), égale à 1,86 K.kg.mol^{-1} pour l'eau ;

m_{si} : masse de soluté *i* dissout en solution (kg) ;

M_{si} : masse molaire du soluté *i* (kg.mol^{-1}) ;

m_e : masse d'eau en solution (kg).

D'autres modèles dérivés de la loi de Raoult peuvent être utilisés (Chen, 1985; Heldman, 1974; Miles et al., 1983). Ils ont cependant été établies dans le cas de solutions diluées et idéales, lorsque la quantité de soluté est petite devant celle du solvant. Au-delà d'une certaine concentration, les valeurs de températures obtenues s'écartent de celles obtenues expérimentalement.

La loi de Raoult prédit que les solutés dont la masse molaire est la moins importante ont plus d'influence sur la température de congélation commençante (Cook and Hartel, 2010; Marshall and Goff, 2003; Marshall et al., 2003). Dans le cas des mixes de sorbets, l'abaissement cryoscopique serait donc essentiellement lié à la présence des sucres.

La température de congélation d'un mix de sorbet peut également être déterminée à partir de sa courbe d'équilibre solide/liquide aussi appelée courbe de liquidus. Cette courbe peut être obtenue expérimentalement par des mesures calorimétriques (en DSC notamment) permettant de déterminer la température de fusion d'un échantillon en fonction de sa fraction massique de solutés.

La courbe de liquidus d'une solution de saccharose a été déterminée par Cerecero Enriquez (2003) à l'aide de l'équation empirique de Bubník (Bubník and Kadlec, 1995), elle est montrée en bleu sur la Figure 12. Le tracé montre qu'une solution aqueuse contenant 25% de saccharose congèle à une température proche de -2 °C. Gonzalez-Ramirez (2012) a comparé cette courbe à la courbe de liquidus du mix de sorbet citron de la Laiterie de Montaigu obtenue expérimentalement par des mesures en DSC. Celle-ci est montrée en pointillés sur la Figure 12. Les résultats montrent que pour une même fraction de solides, le mix de sorbet a une température de congélation inférieure à la solution de saccharose ; ceci est attribué à la présence d'autres ingrédients dans le mix et notamment de fructose, dont la masse molaire est inférieure à celle du saccharose.

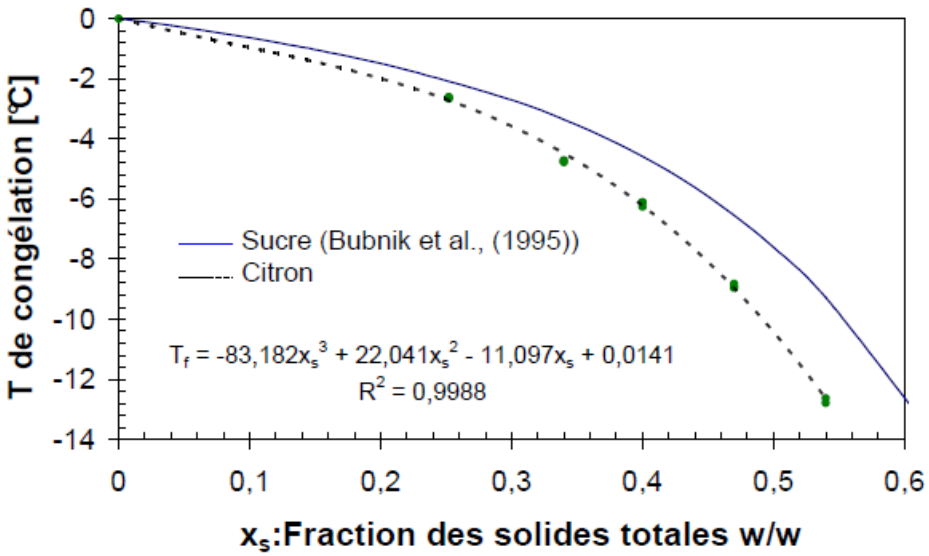


Figure 12 : Courbe bleue : Courbe de liquidus d'une solution de saccharose (Cerecero Enriquez (2003) d'après Bubník and Kadlec (1995))
Courbe pointillée : Courbe de liquidus du mix de sorbet citron de la Laiterie de Montaigu (Gonzalez-Ramirez, 2012)

Le choix des sucres utilisés dans un mix se sorbet peut donc influencer sa température de congélation commençante et la quantité de glace obtenue à une température donnée. Herrera et al. (2007) ont ainsi montré, grâce à des analyses DSC, qu'à -15 °C une solution congelée contenant 20% de saccharose contient plus de glace (65%) qu'une solution contenant la même concentration de fructose (61%). La loi de Raoult prédit qu'à même concentration, le fructose, dont la masse molaire est presque deux fois inférieure à celle du saccharose abaisse d'avantage la température de congélation commençante d'une solution que le saccharose.

III.2.2. Effet des stabilisants

III.2.2.1. Influence des stabilisants sur la quantité de glace

Goff et al. (1993) ont déterminé les températures de congélation commençante ainsi que les enthalpies de fusion de solutions contenant 20% de saccharose et 0,6% d'un stabilisant. Dans ces conditions, la gomme de caroube, la gomme de guar, la carraghénane et la gélatine n'affectent pas la température de congélation commençante, elle est proche de -1.5 °C avec ou sans stabilisant. La gomme xanthane conduit à une température de début de congélation de -1.25 °C que les auteurs n'expliquent pas. L'enthalpie de changement d'état n'est affectée par aucun de ces hydrocolloïdes, ils n'auraient donc pas d'effet sur la quantité de glace obtenue à une température donnée.

Des résultats similaires ont été obtenus dans des solutions contenant 20% de saccharose et 0,3% ou 0,5% de stabilisants (gomme de caroube ou gomme xanthane ou gomme de guar ou mélange 1 :1 xanthane/caroube) (Herrera et al., 2007).

III.2.2.2. Influence des stabilisants sur la taille des cristaux de glace

Mesures après congélation

Plusieurs auteurs ont étudié l'effet des stabilisants sur la taille des cristaux de glace mesurée après la congélation d'un mix de sorbet ou de crème glacée. Les formulations étudiées, les techniques de congélation et d'analyses utilisées sont diverses. Les résultats de ces articles sont synthétisés dans le Tableau 4. A notre connaissance, seuls deux articles traitent de l'analyse de la microstructure de systèmes congelés dont les formulations se rapprochent de sorbets.

La première étude se focalise sur l'étude de sorbets contenant 16% de saccharose et 0,3% de stabilisants (gomme de guar ou mélange équimolaire xanthane/caroube) (Fernandez et al., 2007). Les sorbets sont obtenus via des méthodes de congélation à haute pression qui sont des méthodes de congélation sans cisaillement. Le sorbet est congelé pour atteindre une température de -22 °C, les échantillons sont ensuite trempés dans l'azote liquide avant observation au cryo-MEB (Figure 13). Dans ces conditions, la gomme de guar conduit à la formation de cristaux de glace plus gros (certains mesurent plus de 60 µm alors que le sorbet témoin ne contient que des cristaux inférieurs à 35 µm). Les mécanismes impliqués dans l'effet du guar ne sont pas expliqués. A l'inverse, le mélange équimolaire xanthane/caroube donne des cristaux plus petits que le témoin, mesurant en majorité moins de 10 µm. Les auteurs expliquent ce résultat par la faculté du mélange xanthane/caroube à former un gel, celui-ci diminuerait d'avantage la mobilité moléculaire et empêcherait la formation de gros cristaux.

La seconde étude porte sur l'analyse de sorbets contenant 26% de saccharose et 0,26% d'un stabilisant (CMC, guar ou xanthane) (Flores and Goff, 1999a). Les sorbets sont congelés dans un échangeur de chaleur à surface raclée de type batch puis surgelés pour atteindre une température de -30 °C. Dans ces conditions, la CMC, la gomme de guar et la gomme xanthane n'ont pas d'effet sur la taille des cristaux de glace. Analysés en cryo-MEB après une trempe dans l'azote liquide, les cristaux après surgélation ont un diamètre équivalent d'environ 30 µm quelle que soit la composition du mix.

Tableau 4: Effet des stabilisants sur la taille des cristaux de glace relevés dans la littérature.

Type de produit	Stabilisant	Concentration (%)	Méthode de congélation	Technique d'analyse	Effet sur la taille des cristaux	Référence
Sorbet	Guar	0,3	Congélation à haute pression	Cryo-MEB	↗	Fernandez et al. (2007)
	Xanthane + Caroube	0,3 ratio 1:1			↘	
	CMC, Guar ou Xanthane	0,26	Freezer batch Surgélation (-25 °C à -30 °C)		=	Flores and Goff (1999a)
Crème glacée	Sodium Alginate	0,5	Congélation à haute pression	Remplacement des cristaux par une résine, Microscopie optique	↗	Thiebaud et al. (2002)
	Caroube + Carraghénanes	0,15 + 0,02	Freezer continu (-5 °C) Surgélation (-25 °C)	Cryo-MEB	↘	Goff et al. (1993)
	Gélatine Pectine Caroube HEC	0,3	Freezer batch Surgélation (-25 °C à -30 °C)	Extraction des cristaux Microscopie optique	Gélatine > Caroube / HEC > Pectine	Park et al. (2006)
	Guar	0,15			=	Bolliger et al. (2000)
		0,25		Trempe dans l'azote liquide Microscopie optique		Yuennan et al. (2014)
	Nanofibrilles de cellulose	0,15 à 0,3		Précipitation des cristaux Microscopie optique		Velásquez-Cock et al. (2019)
	Gomme de graines de basilic	0,1 ou 0,2				Bahramparvar and Goff (2013)
	Gélatine	1 ou 2	Entre lame et lamelle (-15 °C)	Lyophilisation Cryo-MEB		Buyong and Fennema (1988)

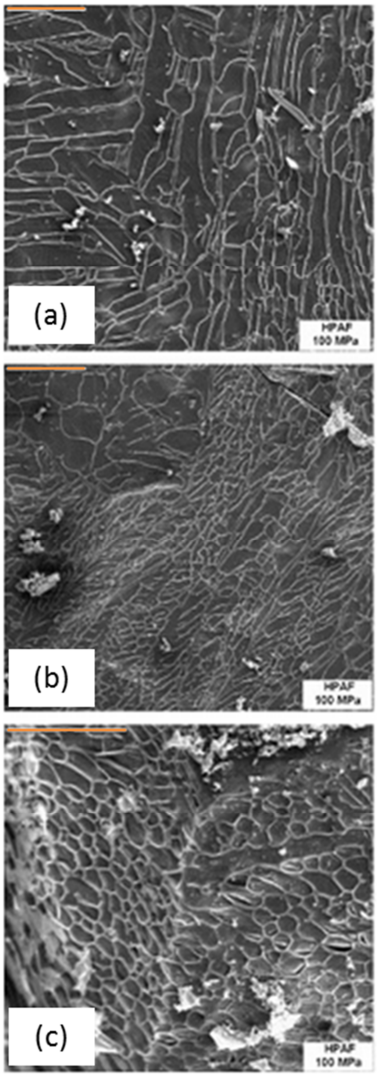


Figure 13 : Images cryo-MEB de sorbets obtenus via une méthode de congélation à haute pression
(a) 26% de saccharose + 0,3% de gomme de guar
(b) 26% de saccharose + 0,3% d'un mélange équimolaire xanthane/caroube
(c) 26% de saccharose
Les barres d'échelle oranges représentent 100 µm (Fernandez et al., 2007)

L'ensemble des autres articles relevés concernent l'analyse des cristaux de glace dans des crèmes glacées. Trois études concluent à un effet de certains stabilisants (Goff et al., 1993; Park et al., 2006; Thiebaud et al., 2002) ; cinq autres articles ne relèvent pas d'influence significatives des stabilisants étudiés sur la taille des cristaux de glace (Bahramparvar and Goff, 2013; Bolliger et al., 2000; Buyong and Fennema, 1988; Velásquez-Cock et al., 2019; Yuennan et al., 2014).

Toutes les études dédiées à l'influence des stabilisants sur la taille des cristaux de glace dans les desserts congelés ont été réalisées à l'aide de techniques microscopiques en deux

dimensions (microscopie optique ou cryo-MEB). Ces dernières sont parfois destructrices (remplacement des cristaux par une résine, précipitation dans l'alcool…) et elles rendent l'analyse quantitative difficile puisque l'échantillon n'est visible que partiellement et en deux dimensions. Certains auteurs ont analysé des desserts congelés en microtomographie à rayons-X (Guo et al., 2018; Guo et al., 2017; Mo et al., 2019; Mo et al., 2018; Pinzer et al., 2012; Van Dalen, 2012), qui est une technique d'analyse de la microstructure non invasive et en trois dimension. Cependant, à notre connaissance, aucun article relatif à l'analyse des desserts congelés en microtomographie ne traite de l'influence des stabilisants sur la taille des cristaux de glace. La littérature dédiée à cette méthode d'analyse est détaillée dans le Chapitre 3 (Chapitre 3.II.3).

Mesures en cours de congélation

L'analyse quantitative de la cristallisation en temps réel peut se révéler extrêmement utile pour mieux comprendre la dynamique de la cristallisation et l'influence des différents paramètres (formulation, procédé) sur la formation des cristaux de glace.

Ce type de mesure est notamment possible grâce à une méthode basée sur la rétrodiffusion de la lumière, la FBRM (Focused Beam Reflectance Measurement). Cette méthode ne permet pas de visualisation directe des cristaux, elle donne accès aux longueurs de cordes des particules, ce qui peut représenter un biais de mesure important en fonction de la forme des particules d'intérêt. Cependant, elle constitue à notre connaissance la seule technique d'évaluation quantitative de la taille des particules pouvant être appliquée en dynamique en cours de procédé de congélation.

Cette technique a été employée avec succès pour l'analyse de solutions contenant 20% de saccharose et 0,2% ou 0,4% de gomme xanthane ou du mix de sorbet citron commercial de la Laiterie de Montaigu pendant leur congélation en ESCR discontinu (Haddad Amamou, 2009). Les résultats obtenus pour une fraction massique de glace égale à 20% sont montrés en Figure 14. La gomme xanthane semble avoir peu ou pas d'effet sur les tailles de cordes mesurées, ces dernières sont toujours comprises entre 12 µm et 14 µm quelle que soit la composition du système analysé. Le mix commercial, contenant un mélange d'HPMC, de gomme de guar et de caroube, ne semble pas non plus impacter significativement la taille de cristaux.

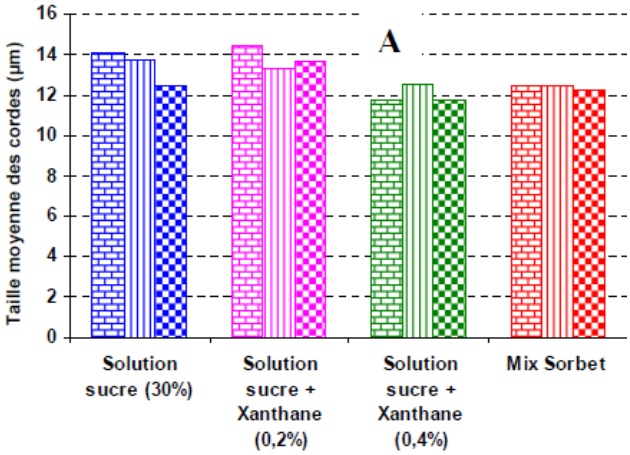


Figure 14 : Tailles de cordes moyennes obtenues en FBRM en fonction de la formulation, à une fraction massique de glace de 20%. Pour chaque formulation, les trois barres représentent trois répétitions (Haddad Amamou, 2009).

IV. Propriétés physico-chimiques des mixes de sorbets stabilisés

La présence des stabilisants, ajoutés à faible concentration dans le mix de sorbet, serait à l'origine de l'augmentation importante de la viscosité du mix et de la solution résiduelle non congelée ; ceci pourrait avoir une influence sur la cristallisation (Cebula and Russell, 1998; Clarke, 2012; Goff et al., 1995; Goff and Hartel, 2013). D'après Goff and Hartel (2013), cette influence serait encore plus importante dans le cas où ils confèreraient au mix des propriétés viscoélastiques voire gélifiantes. Cette partie étudie donc en premier lieu la littérature dédiée aux propriétés rhéologiques des stabilisants ; les conclusions de cette étude sont présentées ci-dessous en français et complètent l'étude bibliographique présentée en introduction de l'article dédié à la rhéologie (voir Chapitre 3.I).

Bien que les phénomènes ne soient pas parfaitement connus ou démontrés, les auteurs proposent d'expliquer les éventuels effets des stabilisants sur la cristallisation via un impact de la viscosité sur la mobilité des molécules nécessaire à la croissance cristalline. Les articles ayant pour sujet l'influence des stabilisants sur la mobilité moléculaire sont donc cités ci-après.

D'autre part, il a été relevé précédemment que la quantité d'air incorporée dans un dessert glacé avait un impact sur la cristallisation (Partie III.1.3), un sorbet contenant plus d'air serait constitué de cristaux de glace de plus petite taille. Les stabilisants ayant des propriétés de surface pourraient avoir un rôle important dans l'incorporation d'air en cours de procédé de congélation et ainsi influencer la cristallisation. La littérature focalisée sur les effets des stabilisants sur les propriétés tensio-actives de solutions comparables à des mixes de sorbets a donc également été analysée.

IV.1. Propriétés rhéologiques des mixes de sorbets

L'évolution de la viscosité d'une solution de polymère peut être décrite selon l'équation de Huggins (équation 18) (Huggins, 1942). Celle-ci met en relation la viscosité spécifique η_{sp} et la concentration en polymère C par l'intermédiaire de deux facteurs : la viscosité intrinsèque $[\eta]$ d'une part, et le facteur λ prenant en considération l'état de solvatation du polymère d'autre part.

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + \lambda.[\eta]^2.C \qquad \text{(Équation 18)}$$

Avec η_{sp} : viscosité spécifique (sans unité) ;

C : concentration en polymère ($g.L^{-1}$) ;

$[\eta]$: viscosité intrinsèque du polymère ($L.g^{-1}$) ;

λ : coefficient de Huggins (sans unité).

L'évolution de cette viscosité diffère selon le domaine de concentration en polymère. A faible concentration, la viscosité augmente linéairement avec la concentration tandis que pour des concentrations élevées, une dépendance en puissance est observée entre la viscosité et la concentration. La limite entre ces deux domaines de concentration est définie par la concentration critique d'enchevêtrement C^* qui dépend du solvant. La viscosité intrinsèque et la concentration critique, paramètres caractéristiques d'un polymère, sont ainsi dépendants non seulement du polymère mais également du solvant dans lequel il est solubilisé.

Le comportement à l'écoulement d'une solution de polymère va également dépendre du régime de concentration dans lequel on se situe. En deçà de la concentration critique d'enchevêtrement, la solution présentera un caractère newtonien : la viscosité est indépendante de la concentration. Au-delà de la concentration critique, le comportement dépendra fortement de la vitesse de cisaillement imposée. A faible vitesse de cisaillement, la solution présentera un caractère newtonien tandis qu'au-delà d'un certain taux de cisaillement, un comportement rhéofluidifiant sera observé. La viscosité apparente η_{app} sera caractérisé par un indice de consistance k et un indice d'écoulement n (équation 19).

$$\eta_{app} = K(\dot{\gamma})^{n-1} \qquad \text{(Équation 19)}$$

Avec η_{app} : viscosité apparente (Pa.s) ;

K : indice de consistance ($Pa.s^n$) ;

$\dot{\gamma}$: taux de cisaillement (s^{-1}) ;

n : indice d'écoulement (sans unité).

La présence de sucre peut notamment limiter l'état de solvatation des polymères (et ainsi affecter $[\eta]$, λ et C^*) ainsi leur comportement rhéologique. Ces effets sont notamment traités et discutés dans l'article dédié à la rhéologie (Chapitre 3, partie I).

A notre connaissance, une seule étude analyse les propriétés rhéologiques de solutions contenant du sucre et des stabilisants, proches de la formulation des mixes de sorbets.

Flores and Goff (1999a) ont établi les courbes d'écoulement de solutions contenant 26%$_m$ de saccharose et 0,26%$_m$ d'un stabilisant (CMC ou guar ou xanthane). Ils ont également calculé leur viscosité apparente (à 50 s^{-1} et à 4 °C). Les mêmes analyses ont été faites sur des mixes de crèmes glacées à la formulation plus complexe (contenant en plus 11%$_m$ de lait écrémé, 10%$_m$ de matière grasse laitière et des émulsifiants), stabilisés ou non. Quelle que soit la formulation étudiée, le comportement rhéofluidifiant des solutions stabilisées a été observé, en opposition avec les systèmes non stabilisés qui présentent un caractère de fluide newtonien. Toutes formulations confondues, les stabilisants augmentent la viscosité apparente à 50 s^{-1}. La viscosité des échantillons non stabilisés se situe entre 4,5 mPa.s et 22,3 mPa.s (selon la formulation) tandis que celle des échantillons stabilisés varie entre 41,2 mPa.s et 134,4 mPa.s selon l'hydrocolloïde employé et la formulation analysée. Si la CMC et la GG ont un effet d'intensité équivalente, la gomme xanthane a une influence moindre sur la viscosité. Les solutions de saccharose ont donné les viscosités apparentes les plus faibles ; elle augmente avec l'incorporation de lait écrémé, elle augmente encore avec l'incorporation de matière grasse.

Les auteurs de l'étude ci-dessus ont observé des tendances comparables dans des systèmes proches de mixes de sorbets et dans des mixes de crèmes glacées. Un autre article relatif aux propriétés rhéologiques de mixes de crèmes glacées stabilisés a donc été relevé.

Afin de caractériser l'évolution du comportement rhéologique de la solution résiduelle non congelée qui se concentre en cours de congélation, Goff et al. (1995) ont formulé une série de mixes de crème glacée de plus en plus concentrés (11%$_m$ à 20%$_m$ de matière grasse et protéines laitières, 16%$_m$ à 30%$_m$ de sucres) et contenant ou non de la gomme de guar (0,3%$_m$ à 0,56%$_m$ en fonction des solutions). Les courbes d'écoulement ont été établies à 4 °C et les viscosités apparentes à 50 s^{-1} ont été relevées. En présence de guar, les résultats montrent un point de rupture dans l'évolution de la viscosité apparente en fonction de la concentration en polymère. Ce point de rupture est atteint pour l'échantillon qui représente la solution résiduelle d'un sorbet dans lequel environ 60% de l'eau est congelée (ce qui correspondrait à un sorbet à -7 °C). Après ce point de rupture, la viscosité de la solution analysée augmente bien plus rapidement avec la concentration en solutés. Les auteurs concluent que lorsqu'une telle quantité de glace est produite, le guar se retrouve dans la solution résiduelle à une concentration supérieure à sa concentration critique. Les molécules de guar sont alors enchevêtrées et ont une influence encore plus importante sur la viscosité du système (Morris, 1984). Des analyses de solutions de plus en plus concentrées en guar et ne contenant pas de

sucres montrent l'impact des sucres sur le comportement du guar : le point de rupture est bien retrouvé mais la viscosité apparente augmente plus qu'en présence de sucres. Bien que les auteurs n'expliquent pas ce résultat, il illustre le fait que lors de la cryoconcentration des sucres et des stabilisants pendant la congélation d'un sorbet, l'augmentation de la concentration en sucres pourrait nuire aux capacités viscosifiantes des stabilisants.

Au-delà des propriétés d'écoulement, les solutions de polymères peuvent développer des propriétés viscoélastiques : lorsqu'une déformation y est appliquée, la relaxation de la contrainte prend un certain temps. Les propriétés viscoélastiques peuvent être étudiées notamment grâce à des essais rhéologiques en cisaillement dynamique, elles sont alors caractérisées par le module complexe *G**, fonction du module conservatif *G'* et du module dissipatif *G''* (équation 20).

$$G^* = G' + iG'' \qquad \text{(Équation 20)}$$

Bien que l'analyse de ces propriétés ne soit pertinente qu'à de faibles niveaux de déformations, elle est intéressante dans le cadre de la présente étude puisqu'elle peut représenter le comportement local de la solution résiduelle non congelée aux abords des cristaux de glace en cours de formation.

Deux études s'intéressent à des formulations proches de mixes de sorbets.

Patmore et al. (2003) ont analysé des solutions contenant 24%$_m$ de saccharose et 0.3%$_m$ de guar ou de caroube à différentes températures négatives. A -1 °C, les mixes présentent un spectre viscoélastique typique d'une solution, le module élastique *G'* est toujours inférieur au module visqueux *G''* quelle que soit la fréquence d'analyse mais se rapproche de *G''* aux hautes fréquences. Les auteurs ont ensuite étudié l'influence de cycles de températures de -7 °C à -15 °C sur les modules *G'* et *G''* toujours mesurés à -1 °C. Ils concluent qu'après ces cycles, les solutions contenant de la caroube ont des caractéristiques plus proches d'un gel faible avec un *G'* légèrement supérieur à *G''* et une plus faible dépendance à la fréquence après les cycles de congélation. Les auteurs soulèvent cependant que la qualification de gel peut être controversée étant donné la valeur élevée de *tan*δ (égal à *G''*/*G'*). En revanche le comportement du guar ne semble pas affecté par les cycles de congélation et est représentatif d'une solution concentrée (*G'* proche de *G''* aux basses fréquences puis croisement et prédominance de *G'* avec une forte dépendance à la fréquence aux fréquences élevées).

Doyle et al. (2006) ont obtenu des gels forts en congelant à -20 °C des solutions contenant 1%$_m$ de gomme de caroube et 40 à 60%$_m$ de saccharose, de glucose ou de fructose. Ils les ont caractérisés avec un texturomètre et des tests de compression réalisés à 5 °C, les gels ne sont alors pas congelés. Les auteurs explique la formation des gels de par le fait que la congélation favoriserait les interactions intermoléculaires entre les macromolécules de caroube en réduisant la quantité d'eau disponible et en augmentant la concentration en sucre dans la solution résiduelle non congelée. La force des gels a également été analysée en fonction de la nature du sucre en solution et de sa concentration, les résultats sont visibles en Figure 15. La figure montre que les gels de LBG les plus forts sont obtenus avec 55%$_m$ de glucose, 50%$_m$ de saccharose et 45%$_m$ de fructose. Quel que soit le sucre utilisé, le module au moment de la rupture commence par augmenter lorsque la concentration en sucre augmente avant d'atteindre un maximum puis de diminuer. La diminution viendrait du fait que lorsque la concentration en sucre augmente, la température de congélation commençante diminue et la quantité d'eau se transformant en glace à -20 °C est moindre. Concernant les différences entre les différents sucres, elles seraient liées à leur capacité à lier des ponts hydrogènes avec la gomme de caroube. Ces interactions rentreraient en compétition avec les interactions entre macromolécules de caroubes nécessaires à la formation du gel. Le fructose formerait plus de ponts hydrogènes avec la gomme de caroube que le glucose et le saccharose donnerait des résultats intermédiaires.

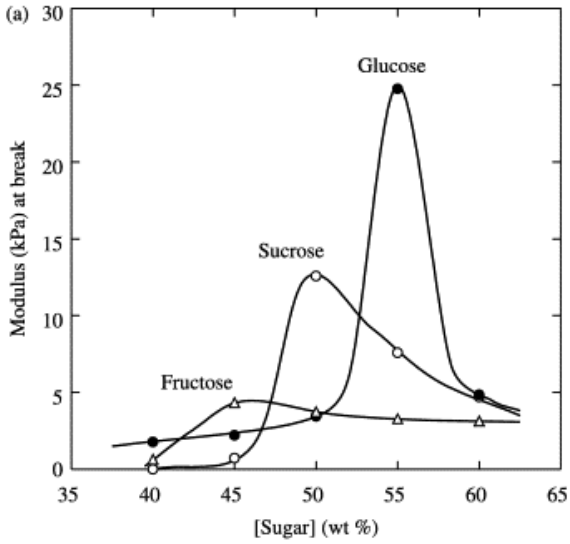


Figure 15 : Module à la rupture (rapport de la contrainte sur la déformation subie au moment de la rupture du gel) en fonction de la concentration en sucre, dans des solutions sucrées contenant 1%$_m$ de LBG (Doyle et al., 2006)

IV.2. Propriétés tensio-actives des stabilisants

Un sorbet peut être considéré comme une mousse congelée, contenant une multitude d'interfaces entre la matrice liquide et les bulles d'air, entre la matrice et les cristaux de glace et entre les cristaux et l'air. La suite de ce paragraphe se focalise sur les interfaces entre la matrice liquide et les bulles d'air.

La création d'une interface entre deux milieux de nature différente est accompagnée d'une consommation d'énergie de surface E_S de quantité égale à l'aire interfaciale S multipliée par une quantité γ appelée tension de surface ou encore tension superficielle (équation 21) (Poling et al., 2001).

$$E_s = \gamma . S \qquad \text{(Équation 21)}$$

L'énergie libre du système est alors témoin d'un système plus ou moins stable. Lorsqu'il y a augmentation de l'aire de l'interface (lors de l'incorporation d'air), il est important de pouvoir réduire la tension interfaciale afin de ne pas augmenter de façon trop importante l'énergie du système. Certaines molécules amphiphiles peuvent s'adsorber aux interfaces et diminuer la tension de surface, facilitant ainsi l'incorporation d'air. L'utilisation de stabilisants ayant ce type de propriétés dans un mix de sorbet augmenterait ainsi la quantité d'air introduite dans le produit.

A notre connaissance, il n'existe pas de littérature dédiée à l'étude de la tension de surface de solutions contenant des sucres et des stabilisants à des températures pertinentes par rapport au procédé de congélation d'un sorbet. L'influence des stabilisants sur la tension de surface a essentiellement été étudiée dans l'eau et à des températures positives.

Quelques études se focalisent sur les propriétés tensio-actives de solutions aqueuses de galactomannanes et notamment de gomme de guar ou de caroube. Ces dernières sont des gommes hydrophiles, le fait qu'elles possèdent des propriétés de surface n'est donc pas attendu (Ellis et al., 2001; Mezdour et al., 2007).

A 25 °C, Chaires-Martínez et al. (2008) ont cependant observé une diminution de la tension de surface en présence de guar ou de caroube dans l'eau (de 0,1 à 0,55%$_m$) ; elle est proche de 50 mN.m^{-1} quelle que soit la concentration en stabilisant et quel que soit le stabilisant étudié. A cette température, la tension de surface de l'eau est égale à 72,5 mN.m^{-1}. Les auteurs attribuent ce résultat aux protéines contaminant les stabilisants ; ils ont mesuré le taux de

protéines contenues dans le guar et la caroube qu'ils utilisent, il est proche de 6% pour les deux stabilisants. Huang et al. (2001) ont également mesuré la tension de surface d'une solution aqueuse de guar à 25 °C. Pour une concentration de 0,5%$_m$, elle est égale à 55,2 mN.m^{-1}. Le taux de protéines contenues dans le guar est égal à 4,2%$_m$. Des tendances similaires ont été observées par Torres et al. (2011) dans des solutions aqueuses de guar ou de caroube (0,1% à 0,5%) analysées à 21 °C.

Concernant l'effet de la température, Moreira et al. (2012) ont constaté une augmentation de la tension de surface des solutions aqueuses contenant du guar (de 0,05 à 0,97%$_m$) lorsque la température diminue de 25 °C à 5 °C. Une solution contenant 0,4% de ce stabilisant donne des tensions de surface égales à 56 mN.m^{-1} à 25 °C, et 61 mN.m^{-1} à 5 °C (à la même température, celle de l'eau est de 75 mN.m^{-1}). Il semblerait donc que la différence de tension de surface entre l'eau et une solution stabilisée soit moindre lorsque la température diminue. Des résultats similaires ont été obtenus par Garti and Reichman (1994) avec de la gomme de caroube. De nouveau, les auteurs attribuent l'activité de surface de la gomme de guar et de la gomme de caroube aux protéines issues de la plante qui contamineraient l'échantillon et auraient elles-mêmes des propriétés tensio-actives.

Parmi les stabilisants utilisés dans la formulation de sorbet, les dérivés cellulosiques sont également importants. Cao and Li (2002) ont mesuré la tension de surface d'une solution aqueuse contenant 0,5% de CMC à 64,5 mN/m à 25 °C. Bien que cette valeur soit inférieure à la tension de surface de l'eau pure, les auteurs concluent que l'activité de surface de la CMC est très faible.

La méthylcellulose (MC) à 0.5%$_m$ dans l'eau diminue la tension de surface (de 72.5 mN.m-1 à 52,9 mN.m^{-1}) (Huang et al., 2001). Les auteurs attribuent ce résultat à la présence des groupes méthyles qui donneraient un certain caractère hydrophobe à la MC, son taux de substitution n'est pas mentionné par les auteurs.

Gaonkar (1991) a constaté que l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) est plus tensio-active que la MC (solutions aqueuses contenant 0,3%$_m$ de stabilisant analysées à 20 °C), ses résultats sont montrés en Figure 16. L'auteur explique ce résultat par la présence de groupements hydroxypropyles dans l'HPMC en plus des groupes méthyles. L'auteur a également observé une diminution de la tension de surface lorsque la substitution en groupements hydroxypropyles de l'HPMC diminue. Le degré de substitution en groupes méthyles des stabilisants étudiés n'est pas mentionné. Persson et al. (1999) ont au contraire obtenu des

tensions de surface proches (environ 45 $mN.m^{-1}$) dans des solutions contenant 0,1%$_m$ d'HPMC ou de MC ayant un taux de substitution en groupes méthyles identiques (égal à 2).

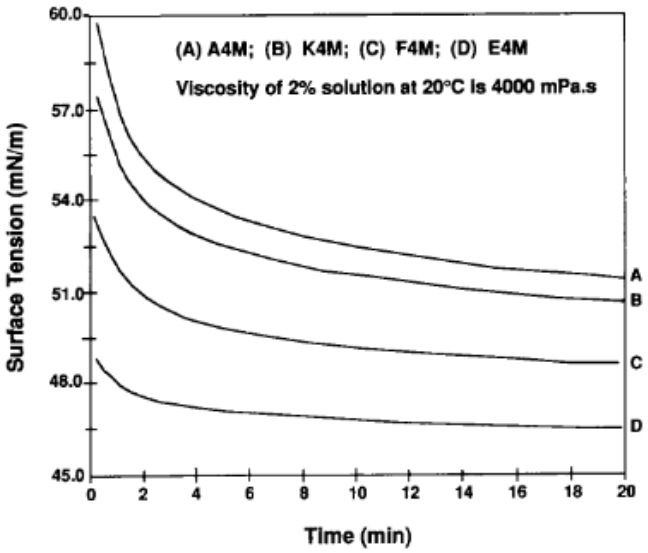


Figure 16 : Effet de différents dérivés de cellulose à 0,3%$_m$ sur la tension de surface d'une solution aqueuse (20 °C). (A) : MC ; (B), (C), (D) : HPMC K, F et E portant différents ratios de groupements hydroxypropyles (K>F>E) (Gaonkar, 1991).

Huc-Mathis et al. (2017) ont souhaité faire le lien entre propriétés de surface (tension de surface et viscoélasticité interfaciale) et stabilité des bulles.

Dans un premier temps, ils ont analysé les propriétés de surface de solutions aqueuses contenant de faibles concentrations (jusqu'à environ 0,05%$_m$) d'HPMC ou de MC. A 25 °C, ils ont obtenu des tensions de surface finales proches de 52 $mN.m^{-1}$ quel que soit le stabilisant ou sa concentration. Ainsi, dans ces conditions de concentration, la concentration limite pour recouvrir la totalité de la surface de la bulle est dépassée. La cinétique d'adsorption est plus rapide lorsque la concentration en stabilisant augmente. Les auteurs précisent que degré de substitution en groupes méthyles de la MC et de l'HPMC sont respectivement de 1,8 et 1,4 ; l'HPMC contient 8% de groupement hydroxypropyles.

Ensuite, les propriétés viscoélastiques de l'interface air/solution d'HPMC ou de MC ont été analysées à 25 °C à une concentration faible d'environ 3.10^{-4}%$_m$. La MC a donné un module élastique plus de 3 fois supérieur à celui de l'HPMC (respectivement 140 $mN.m^{-1}$ et 45 $mN.m^{-1}$).

Finalement, la capacité foisonnante des solutions contenant de l'HPMC et de la MC a été étudiée. La solution de MC n'a pas donné de mousse tandis que celle d'HPMC a montré sa capacité à former une mousse stable. Les auteurs proposent deux hypothèses. Tout d'abord, il est possible que l'élasticité de l'interface air/solution de de MC ait été suffisamment

importante pour empêcher la formation de petites bulles caractéristiques d'une mousse, bien qu'un module élastique élevé soit considéré comme un bon indicateur de stabilité des bulles (Dickinson, 1999; Mezdour et al., 2017; Perez et al., 2012; Schmitt et al., 2005). Ensuite, il est possible qu'au taux de cisaillement rencontré lors du procédé de formation de la mousse, la solution d'HPMC ait été plus visqueuse, facilitant ainsi la stabilisation des bulles (Gaonkar, 1991).

Bien que cette étude ait été réalisée à température positive et en l'absence de sucre, elle illustre la complexité des liens entre tension de surface, viscoélasticité de surface, viscosité et capacité à former une mousse stable.

IV.3. Influence des stabilisants sur la mobilité des molécules d'eau et de sucre

La totalité des articles dédiés à la mobilité moléculaire dans des systèmes comparables à des mixes de sorbets reposent sur des analyses en RMN (Résonance Magnétique Nucléaire). L'analyse RMN repose sur le fait que toute perturbation magnétique appliquée à un système physique se traduit par une réaction de relaxation des atomes (relaxation de spin) qui le composent, qui tend à lui faire retrouver sa configuration d'équilibre. En fonction de la perturbation appliquée (série d'impulsions ou de gradients de champ magnétique), la RMN donne accès :

- au coefficient de diffusion (ou d'autodiffusion) *D*, qui met en évidence les mouvements translationnels des molécules. Le coefficient de diffusion révèle l'aptitude des particules à se déplacer dans un fluide au repos sous l'effet de l'agitation thermique, elle résulte du mouvement brownien ;
- à la relaxation de spin des molécules, qui dépend essentiellement de leurs mouvements de rotation (d'ensemble ou individuels), au travers de 2 temps caractéristiques. Le temps de relaxation T_1 caractérise la relaxation longitudinale (ou spin-réseau), elle concerne la composante de l'aimantation selon Z, le temps T_2 caractérise la relaxation transversale (ou spin-spin), liée à la disparition des composantes de l'aimantation perpendiculaires à Z (Canet and Palmas, 2012).

Afin de déterminer l'influence des stabilisants sur la cristallisation, il parait surtout pertinent d'étudier le coefficient de diffusion *D*. Cependant, lorsque la diffusion est trop lente (inférieure à 10^{-12} m^2s^{-1}), notamment en lien avec une viscosité importante, la mesure du

coefficient de diffusion n'est pas possible en RMN. Dans ce cas, la diffusion moléculaire peut être approchée via une analyse de la relaxation (caractérisée par T_1 et T_2). Ceci serait particulièrement le cas dans les systèmes concentrés en sucres (Martin et al., 1999). Finalement, dans le cas de solutions comparable à des mixes de sorbets, concentrées en sucres et en stabilisants, l'analyse du coefficient de diffusion et des temps de relaxation serait pertinente pour comprendre l'influence des stabilisants sur la cristallisation.

Un article s'intéresse à la diffusion des molécules d'eau et de sucre dans des solutions non congelées concentrées en sucres et à des températures négatives. Bien que les stabilisants n'y soient pas mentionnés, cet article permet de mieux comprendre le lien entre diffusion des molécules d'eau et de sucre et cristallisation.

Hagiwara et al. (2006) ont obtenu par RMN les coefficients de diffusion des molécules d'eau et de sucre dans des solutions non congelées contenant un sucre (34%$_m$ à 52%$_m$ de maltose, de saccharose ,de glucose ou de fructose) à des températures négatives comprises entre -4 °C et -10 °C. Le coefficient de diffusion de l'eau diminue avec la concentration en sucre et est fonction de la nature du sucre. A même concentration, le saccharose diminue moins le coefficient de diffusion de l'eau que le glucose ou fructose. Les auteurs ont également mesuré en microscopie optique le taux de recristallisation dans les solutions sucrées ; les solutions étaient d'abord congelées entre lame et lamelle à -22 °C avant une remontée en température jusqu'à -4 °C puis une descente en température ponctuée d'analyses microscopiques jusqu'à -10 °C. Les auteurs font état d'un lien linéaire entre le coefficient de diffusion de l'eau (compris entre 200 et 400 $\mu m^2.s^{-1}$ selon le sucre analysé et la température d'analyse) et le taux de recristallisation de la glace dans les systèmes eau/sucre congelés ; ce coefficient de diffusion serait un bon indicateur de la recristallisation dans les conditions d'analyse de cette étude. Concernant les molécules de sucre (dont les coefficients de diffusion sont compris entre 20 et 80 $\mu m^2.s^{-1}$ selon le sucre et la température), cette étude ne conclue à aucun lien direct entre recristallisation et diffusion des molécules de sucre, celle-ci ne serait pas limitante.

A notre connaissance, une seule étude s'intéresse à l'influence des stabilisants sur la mobilité moléculaire dans des systèmes comparables à un mix de sorbet.

Martin et al. (1999) ont analysé les propriétés de diffusion et les temps de relaxation spin-spin (T_2) des molécules d'eau et de sucre dans des solutions non congelées concentrées en saccharose (62%$_m$) ou en fructose (52%$_m$) et contenant de la gomme de caroube (0,5%$_m$ dans

la solution de fructose et 1% dans la solution de saccharose). Ces concentrations ont été choisies pour représenter la solution résiduelle non congelée d'un sorbet à -15 °C et les analyses RMN ont été effectuées à cette température. Les auteurs concluent que, dans les conditions de leur étude, la présence de gomme de caroube n'affecte pas les coefficients de diffusion du sucre ni de l'eau dans les solutions de fructose ou de saccharose, ni dans les solutions témoins ne contenant pas de sucre. Le temps de relaxation T_2 n'est pas affecté non plus par la présence de caroube dans aucune des solutions (eau, fructose ou saccharose).

Conclusions de l’état de l’art et démarche scientifique

L'analyse de la littérature de référence sur les sorbets et de la composition de sorbets commerciaux a permis de mettre en évidence les stabilisants couramment employés dans la formulation des mixes de sorbets. Les mécanismes de la cristallisation de l'eau sont connus bien qu'ils ne soient pas encore parfaitement compris dans le cas précis de la congélation d'un sorbet en échangeur de chaleur à surface raclée. Cette même littérature suppose que les stabilisants, via leurs effets sur la rhéologie et les propriétés de surface du système lorsqu'ils sont tensioactifs, pourraient affecter la cristallisation et notamment la croissance cristalline en impactant la diffusion des molécules ou les transferts de chaleurs.

Propriétés physico-chimiques des stabilisants en solution : rhéologie, diffusion moléculaire et tension de surface

Un nombre restreint d'articles scientifiques s'intéresse à la rhéologie de solutions similaires à des mixes de sorbet non congelés (contenant de l'eau, des sucres et des stabilisants) ou de produits assimilables à des sorbets en fin de congélation. Les formulations sont parfois plus complexes (matières grasses ou produits laitiers, qui rapprochent d'avantage les produits de crèmes glacées) et les températures d'étude ne sont pas toujours pertinentes au regard de ce qui peut être rencontré en cours de procédé de congélation dans un échangeur de chaleur à surface raclée. De plus, les taux de cisaillement relevés ne représentent pas le procédé de congélation ; les polymères étant plus ou moins rhéofluidifiants et ayant des propriétés à l'écoulement différentes, le taux de cisaillement est un paramètre important à prendre en compte.

Les propriétés à l'écoulement des solutions contenant des stabilisants sont cependant clairement établies : ces molécules confèrent des propriétés épaississantes et rhéofluidifiantes aux solutions auxquelles elles sont ajoutées. Concernant les propriétés viscoélastiques des stabilisants, bien qu'elles soient moins consensuelles, l'étude bibliographique relève que dans certaines conditions (parfois éloignées de ce qui se rencontre dans un ECSR), certains mixes contenant des hydrocolloïdes ne seraient pas purement liquides mais viscoélastiques voire gélifiés.

Concernant la mobilité moléculaire, une seule étude s'intéresse à l'influence des stabilisants dans des systèmes comparables à la solution résiduelle non congelée à -15 °C. Cette étude, focalisée sur la gomme de caroube, représente donc les conditions rencontrées après la congélation en échangeur de chaleur à surface raclée. Finalement, il est difficile de conclure quant à l'effet des stabilisants sur la mobilité moléculaire dans des conditions de

concentrations et de températures pertinentes au regard du procédé de congélation d'un sorbet en échangeur de chaleur à surface raclée.

Il n'existe aucun article dédié aux propriétés tensio-actives des stabilisants dans des solutions comparables à des mixes de sorbets, ne contenant que des sucres et des stabilisants. De plus, les températures d'analyses sont toujours positives et bien supérieures aux températures rencontrées lors du procédé de congélation d'un sorbet.

D'après la littérature, il semble que deux mécanismes puissent régir l'effet des stabilisants sur la quantité d'air introduite dans un dessert congelé obtenu via la congélation en échangeur de chaleur à surface raclée.
Certains, comme l'HPMC, possèdent des propriétés tensio-actives reconnues et pourraient donc augmenter significativement la quantité d'air incorporée. Ce pourrait également être le cas pour les galactomannanes (guar et caroube) qui, tout en n'ayant pas de propriétés tensio-actives propres, pourraient être contaminés par des protéines.
Les autres stabilisants pourraient influencer la phase air via leur effet sur la viscosité : une augmentation importante de la viscosité limiterait l'incorporation d'une grande quantité d'air tout en permettant la formation et la stabilisation de bulles de plus petite taille.

Finalement, plusieurs questions demeurent ouvertes. Tout d'abord, la littérature ne permet pas de quantifier les propriétés rhéologiques des stabilisants en solutions sucrées, dans les conditions de concentrations et de températures fidèles au procédé de fabrication d'un sorbet. Ensuite, on se demande si dans ces mêmes conditions, les stabilisants ont un effet sur la mobilité moléculaire nécessaire à la croissance cristalline, et si cet effet est en lien avec leurs propriétés rhéologiques. Enfin, on s'interroge sur les propriétés tensioactives que les stabilisants pourraient conférer au mix et sur leur impact sur la quantité d'air incorporée au cours de la congélation. Le lien entre la rhéologie du système sur la quantité d'air incorporée et sur la taille des bulles est également à explorer.

Pour répondre aux problématiques de la thèse et quantifier les propriétés des stabilisants dans les conditions qui nous intéressent, une étude rhéologique (écoulement, propriétés viscoélastiques) de solutions contenant du sucre et des stabilisants sera menée. Ces solutions représenteront la solution résiduelle non congelée qui se concentre en cours de procédé. Les températures seront choisies pour refléter celles que l'on peut rencontrer en échangeur de chaleur à surface raclée lors de la congélation d'un sorbet.

Ensuite, une étude sera menée afin de conclure quant à l'influence des hydrocolloïdes sur la diffusion des molécules d'eau en solution sucrée à basse température. Ces mesures permettront de mieux comprendre le lien entre rhéologie et mobilité moléculaire ainsi que les mécanismes impliqués dans l'éventuelle influence des stabilisants sur la cristallisation.

Enfin, les propriétés tensio-actives de mixes de sorbets contenant des sucres et des stabilisants seront étudiées à des températures les plus proches possibles que celles rencontrées lors du procédé de congélation. Par ailleurs, le volume d'air incorporé ainsi que la taille des bulles dans les sorbets sera analysé en fin de congélation.

Influence des stabilisants sur la congélation : cinétique de congélation et microstructure des sorbets

Concernant l'effet des stabilisants sur la cinétique de congélation d'un mix de sorbet, bien que le nombre de publications soit peu important, leurs résultats semblent consensuels. Dans des conditions de concentrations en sucre et en stabilisants proches de celles utilisées dans des mixes de desserts congelés, les stabilisants n'aurait pas d'influence sur la température de congélation commençante ni sur la quantité de glace formée à une température donnée. La cinétique de congélation de nos systèmes sera étudiée afin de confirmer la tendance observée dans la littérature dans les conditions exactes de notre étude. Ces mesures permettront de conclure quant à l'effet des stabilisants sur la cinétique de congélation, et de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans leur éventuelle influence sur la cristallisation.

L'influence des stabilisants sur la taille des cristaux de glace dans des sorbets ou des crèmes glacées a été peu étudiée avant l'étape de stockage et les éventuelles modifications liées à cette étape (croissance ou recristallisation). Aucune étude de suivi de la cristallisation en dynamique en cours de congélation n'est focalisée sur l'effet des hydrocolloïdes. Il est donc difficile de conclure quant à l'effet des stabilisants sur la mise en place des cristaux pendant la congélation. De plus, tous les articles dédiés à la microstructure des desserts congelés stabilisés utilisent des méthodes d'analyses microscopiques en 2D (microscopie optique ou cryo-MEB), qui tout en étant puissantes présentent certains désavantages (destruction de l'échantillon, analyse quantitative délicate). Enfin, les formulations étudiées sont variées et rarement proches de celle d'un mix de sorbet ; les procédés de congélation mis en œuvre varient également d'une étude à une autre. Finalement, l'ensemble des résultats relevés dans ces articles ne permet pas l'établissement de consensus concernant l'effet des stabilisants, ceci est probablement dû à la variabilité des paramètres cités précédemment.

Compte tenu de ces éléments, on se demande s'il est possible de mettre au point un protocole d'analyse fiable et non destructif de la microstructure d'un sorbet frais, directement après sa congélation. Nous souhaitons également quantifier l'évolution de la taille des cristaux en dynamique, en cours de procédé de congélation d'un sorbet stabilisé.

Afin de répondre à ces problématiques, la microtomographie à rayons-X sera utilisée pour tenter de mettre au point une méthode fiable et non destructive d'analyse quantitative et en trois dimensions de la microstructure d'un sorbet frais, sans stockage préliminaire. Il sera nécessaire de visualiser l'échantillon à l'état congelé sans modifier sa microstructure entre la cuve du freezer et l'appareil d'analyse. Le protocole établi sera appliqué à l'étude de l'influence des stabilisants sur la microstructure des sorbets et notamment sur la taille et la quantité des cristaux de glace et des bulles d'air.

Bien que la méthode d'analyse en microtomographie à rayons-X soit non invasive et augmente la fiabilité des résultats en analysant le volume des particules, la résolution des appareils peut être un frein, tout comme le contraste des images obtenues, pour différencier et quantifier des objets dont les ordres de grandeur vont de la dizaine à la centaine de microns. L'analyse microscopique à haute résolution et basse température, telle que le permet le cryo-MEB, sera alors utilisée pour comparer et valider les résultats obtenus en microtomographie à Rayons-X.

Enfin, l'analyse de la microstructure des sorbets stabilisés sera complétée par une analyse en dynamique à l'aide d'une sonde FBRM. Cette étude permettra de mieux comprendre la mise en place des cristaux lors de la congélation.

Conclusion générale de l'état de l'art et objectifs de la thèse

Finalement, l'état de l'art ne permet pas de conclure quant à l'effet des stabilisants sur la cristallisation dans un sorbet. Il semble que leurs propriétés rhéologiques et leurs capacités à intégrer ou non de l'air au produit puissent influencer la taille des cristaux de glace sans que les mécanismes impliqués (limitation de la diffusion moléculaire, des transferts thermiques ou « encombrement » lié à la présence de bulles d'air) ne soient parfaitement compris. A notre connaissance, aucune étude ne propose de confronter l'ensemble de ces paramètres pour conclure définitivement quant au rôle éventuel des stabilisants pendant la congélation d'un sorbet.

Il a été relevé que les systèmes analysés différait de la formulation d'un mix de sorbet commercial, ils sont parfois plus complexes et plus proches de mixes de crèmes glacés (contenant entre autres des particules grasses) ou au contraire plus simples, ne contenant qu'un sucre et qu'un stabilisant. Même dans ce dernier cas, il est rare que la littérature soit complète et consensuelle concernant l'effet des stabilisants seuls sur la microstructure des produits congelés.

Le présent travail de thèse propose donc l'analyse de l'ensemble des paramètres cités précédemment (rhéologie, diffusion, tension de surface, cinétique de congélation et microstructure des sorbets) sur une formulation de sorbet simplifiée.

Le saccharose étant la source de sucre majoritairement rencontré dans la formulation des mixes industriels, il a été choisi pour seul sucre dans nos formulations.

Les stabilisants ont également été étudiés individuellement. Il a été décidé de se focaliser sur des stabilisants couramment rencontrés dans la composition des sorbets du commerce. Bien que la pectine soit le stabilisant le plus utilisé, il en existe une large variété. Leurs propriétés rhéologiques, et notamment leur capacité à gélifier, diffèrent en fonction de leur degré de méthylation, du pH de la solution et de la présence de certains ions. D'autre part la littérature citée dans l'état de l'art, dédiée aux stabilisants utilisés dans les sorbets, ne mentionne que très rarement la pectine. Le choix s'est finalement porté sur la gomme de caroube (LBG), l'HPMC et la CMC. Nous avons choisi ces stabilisants pour leurs propriétés rhéologiques et tensio-actives différentes, afin de visualiser les effets potentiels de ces différences. L'HPMC et la CMC sont deux gommes dérivées de la cellulose, la première est tensio-active tandis que la seconde ne l'est pas. La gomme de caroube est un galactomannane neutre, qui d'après la littérature pourrait développer un comportement de type « gel-like » à des températures négatives, et qui peut être tensioactif du fait de la coextraction de protéines lors de la fabrication de la farine de caroube.

La méthode de congélation employée sera fixe afin que les paramètres du procédé soient toujours identiques ; un freezer batch de paillasse permettant une congélation relativement rapide et l'insertion de plusieurs capteurs sera utilisé.

A l'issu de ces différentes caractérisations, nous tenterons de faire le lien entre propriétés rhéologiques et tensio-actives des stabilisants, diffusion moléculaire et transferts de chaleurs et finalement caractéristiques des cristaux de glace.

L'organisation des chapitres de résultats du présent manuscrit est détaillée en Figure 17.

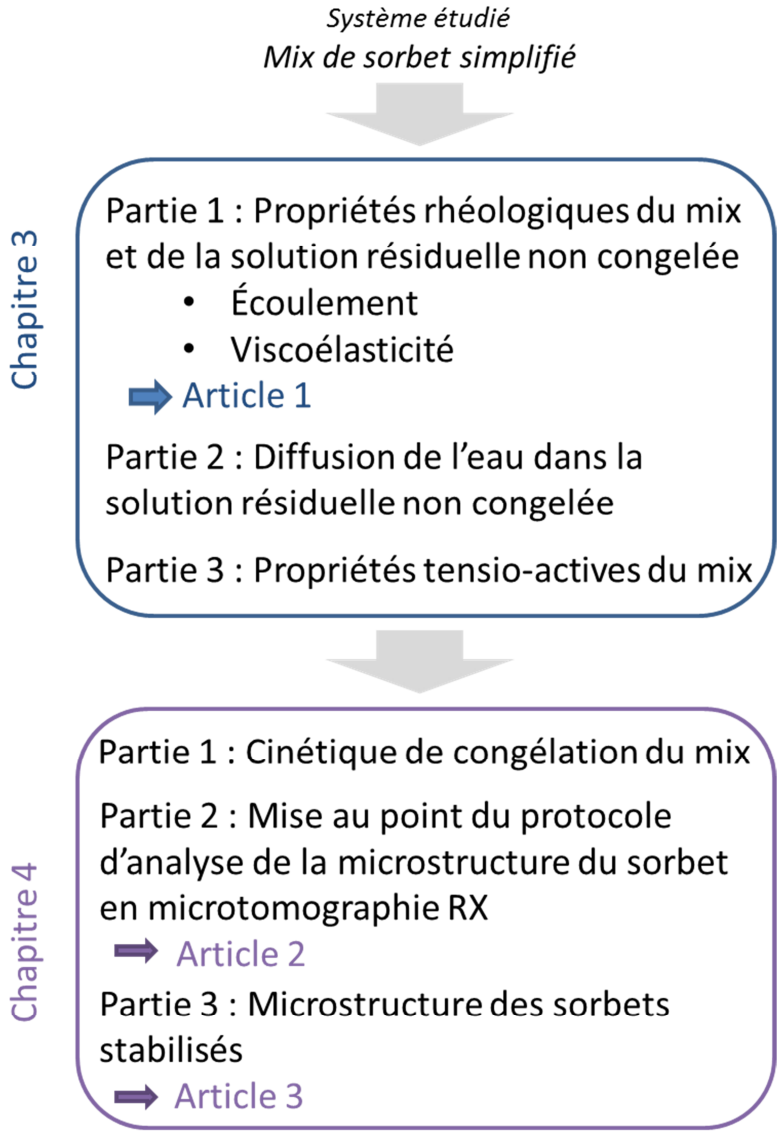


Figure 17 : Organisation des chapitres de résultats du manuscrit et lien avec les différents articles

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

Ce chapitre récapitule l'ensemble du matériel et des méthodes utilisés pour ce travail de thèse. Certaines parties des chapitres expérimentaux sont basées sur des articles scientifiques, les matériels et méthodes concernés sont détaillés dans ces articles et les pages auxquelles se référer sont indiquées dans cette partie. Les points qui ne sont pas abordés dans les articles sont détaillés ci-dessous.

I. Formulation des mixes de sorbets

I.1. Matières premières

Les formulations étudiées dans le cadre du présent travail de thèse contiennent de l'eau, un sucre et un stabilisant. Les stabilisants utilisés ainsi que les éventuelles informations fournies par le fournisseur sont regroupés dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Stabilisants analysés, informations fournies par les fournisseurs

Stabilisant	Nom commercial et fournisseur	Viscosité	Autres
HPMC	Methocel™ K4M, Dow®	4000 mPa.s (2%m dans l'eau à 20 °C)	19 – 24%m méthyles 7 – 12%m hydroxypropyles
CMC	Walocel™ CRT 20000 PA, Dow®	1900 – 2600 mPa.s (1%m dans l'eau à 25 °C)	Degré de substitution : 0,70 –0,95
LBG	Viscogum™ FA 150, Cargill®	2500 – 3000 mPa.s (1%m dans l'eau, température non précisée)	

Le saccharose (Béghin Say™) a été acheté en grande surface. Les solutions ont été préparées avec de l'eau purifiée à l'aide d'un système de purification Milli-Q (Millipore, Merck, Allemagne), sa conductivité a été mesurée à 17 $\mu S.m^{-1}$.

Dans le cas des mixes à l'origine des sorbets congelés analysés en microtomographie RX , un agent contrastant a été ajouté. Il s'agit d'iodure de sodium (Merck®, CAS 7681-82-5), ajouté à hauteur de 30g par kg de mix. Son rôle et son utilisation sont détaillés dans le Chapitre 4 (II.3).

I.2. Formulations étudiées

I.1.1. Choix des concentrations en saccharose

Pour les études rhéologiques, de tension de surface et de cinétique de congélation en freezer, les formulations sont celles d'un mix de sorbet initial au démarrage de la congélation contenant 25%$_m$ de saccharose. Des solutions permettant de représenter la solution résiduelle non congelée en fin de congélation ont aussi été formulées pour l'étude rhéologique et pour la caractérisation de la mobilité moléculaire. Elles contiennent 45%$_m$ de saccharose. Cette concentration a été fixée à partir de la courbe de liquidus du saccharose (Cerecero Enriquez, 2003), pour une température de -6 °C qui est celle rencontrée fréquemment en sortie de freezer d'un sorbet congelé.

I.1.2. Calcul de la vitesse de cisaillement rencontrée dans le process

A partir d'une étude préliminaire et en accord avec la bibliographie, il a été établi que les mixes de sorbet ont un comportement rhéofluidifiant. Leur comportement à l'écoulement et notamment leur viscosité est dépendante du taux de cisaillement rencontré dans le process de congélation. La congélation en freezer démarrant a priori principalement à la paroi de la cuve, la vitesse de cisaillement imposée par les lames racleuses à la paroi a été calculée dans le cas du freezer batch utilisé dans le cadre de ce travail de thèse (voir II.2.1). Une analogie avec une fluide rhéofluidifiant s'écoulant dans un rhéomètre à cylindres coaxiaux a été utilisé (équation 22).

$$\dot{\gamma} = \frac{2\Omega}{n} \frac{R^{2/n}}{R^{2/n} - r^{2/n}} \qquad \text{(Équation 22)}$$

Avec Ω : vitesse angulaire du rotor (≈ 4,8 rad.s^{-1}) ;

R : rayon de la cuve du freezer (8,5 cm) ;

r : rayon à 1mm de la paroi de la cuve (8,4 cm) ;

n : indice d'écoulement de la solution.

Le taux de cisaillement à la paroi du freezer batch a ainsi été estimé à environ 420 s^{-1}.

I.1.3. Choix des concentrations des stabilisants

Afin de pouvoir mener une étude comparative de l'effet de la viscosité des solutions représentant le mix de sorbet au démarrage de la congélation, les concentrations en stabilisant (CMC ou HMPC ou LBG) ont été choisies afin que ces mixes soient à isoviscosité apparente

initiale à un taux de cisaillement de 420 s^{-1}. La composition des mixes est donnée en Tableau 6.

Pour l'HPMC et la LBG, les concentrations sont proches (autour de 0,3%$_m$) alors que dans le cas de la CMC la concentration correspondant à une viscosité apparente du même ordre est inférieure (0,135%$_m$) aux deux autres stabilisants. Il a alors été décidé de formuler et d'étudier également des mixes contenant 0,3%$_m$ de ce stabilisant : en effet c'est une concentration plus proche de la concentration habituellement rencontrée dans les mixes de sorbet du commerce et de celles des autres stabilisants utilisés dans cette étude.

Tableau 6 : Composition des solutions représentant le mix de sorbet avant la congélation

	Témoin	HPMC	LBG	CMC	
[Saccharose] (%$_m$)	25	25	25	25	25
[Stabilisant] (%$_m$)	0	0,315	0,375	0,135	0.3

Concernant les solutions représentant la solution résiduelle non congelée en fin de congélation et contenant 45%$_m$ de saccharose, il a été considéré que durant la cryoconcentration du sorbet, la solution résiduelle se concentrait environ deux fois en sucre et en stabilisant. Les solutions résiduelles finales contiennent alors 0,6%$_m$ de stabilisant.

I.1.4. Choix des températures d'étude

Les températures d'analyses choisies sont pertinentes au regard du procédé de congélation d'un sorbet en échangeur de chaleur à surface raclée. Elles ont été fixées à +0,4°Cde la température théorique de congélation des solutions afin d'éviter qu'elles ne congèlent pendant l'analyse et ainsi représenter le mix avant congélation ou la matrice non congelée en fin de procédé. Ainsi, les solutions contenant 25%m de saccharose, qui congèlent théoriquement à -1,9°C (d'après la courbe de liquidus d'un système eau/saccharose établie par Cerecero Enriquez (2003)), ont été étudiées à -1,5 °C. Les solutions comparables à la solution résiduelle non congelée en fin de congélation, contenant 45%m de saccharose, congèlent théoriquement à -6°C : elles ont été analysées à -5,6 °C. Par ailleurs, afin de différencier l'effet concentration de l'effet température, ces dernières solutions ont aussi été étudiées à -1,5 °C.

I.3. Préparation des solutions

Les solutions ont été préparées conformément aux recommandations des fournisseurs des stabilisants. Les poudres de stabilisants ont été dispersées en les mélangeant au saccharose ; le mélange est ensuite ajouté petit à petit dans de l'eau sous forte agitation et à température ambiante. Les solutions ont ensuite été refroidies à 4 ° C pendant au moins 24 heures avant analyse ou congélation. Cette étape reproduit la maturation nécessaire pour assurer l'hydratation et l'expansion complètes des stabilisants dans le solvant et donc leur dissolution totale (Clarke, 2012).

II. Méthodes de caractérisations et outils de mesure

II.1. Méthodes d'analyses des solutions de mix

II.1.1. Etude rhéologique

Les analyses réalisées ont concerné soit des solutions proches d'un mix de sorbet en début de congélation (25%m de saccharose) soit des solutions proches de la solution résiduelle non congelée en fin de congélation (45%m de saccharose). L'effet de la concentration en stabilisants a été caractérisé dans une large gamme de concentrations (0,001%m_m à 0,6%m_m) ; l'étude de cette gamme de concentration a également permis de déterminer certains paramètres intrinsèques des stabilisants accessibles à basses concentrations (concentration critique et viscosité intrinsèque). L'effet de la température (-1,5 °C ou -5,6 °C) a également été étudié.

Les propriétés rhéologiques des solutions (écoulement et propriétés intrinsèques, viscoélasticité) ont été étudiées à l'aide d'un rhéomètre rotatif (MCR301 Anton Paar) thermostaté à l'aide d'une cellule Peltier équipé d'une géométrie à cylindres coaxiaux (type Couette). Les protocoles utilisés pour cette étude sont entièrement décrits dans la partie matériels et méthodes de l'article dédié à la rhéologie (Chapitre 3, I.3).

II.1.2. Etude par RMN de la diffusion et relaxation des molécules d'eau

La diffusion des molécules d'eau a été étudiée dans des solutions comparables à la solution résiduelle non congelée en fin de congélation (45%$_m$ de saccharose et 0,6%$_m$ de stabilisant), afin de voir si les stabilisants avaient un effet sur la diffusion dans les conditions de concentration les plus importantes. Des solutions contenant la même concentration en sucre et

1%$_m$ de stabilisant ont également été analysées bien que cette concentration en stabilisant ne soit à priori pas rencontrée dans la solution résiduelle en fin de congélation. Ces mesures ont été faites afin de visualiser l'effet de l'augmentation de la concentration en stabilisant tout en considérant la sensibilité de la mesure. Cette partie n'a pas fait l'objet d'un article scientifique, elle est donc détaillée ici.

II.1.2.1. Présentation de l'équipement

L'étude a été effectuée au sein de la plateforme RMN de l'Institut Lavoisier de Versailles (ILV, UMR 8180 CNRS/UVSQ), à l'aide d'un spectromètre Bruker AV-I 400 MHz (Bruker Corporation, Billerica, Etats-Unis) visible en Figure 18. Environ 1 mL de solution est placé dans un tube RMN en verre (Figure 19) qui est ensuite inséré dans le spectromètre. La circulation d'azote liquide autour du tube permet d'effectuer des analyses à température négative. Les solutions ont donc pu être étudiées à -5,6 °C et à -1,5 °C.

L'acquisition des données est possible grâce au logociel TopSpin™ (Bruker). Les données sont ensuite traitées avec le logiciel NMRnotebook (NMRtec, Illkirch-Graffenstaden, France).

Figure 18 : Spectromètre Bruker AV-I utilisé pour les analyses

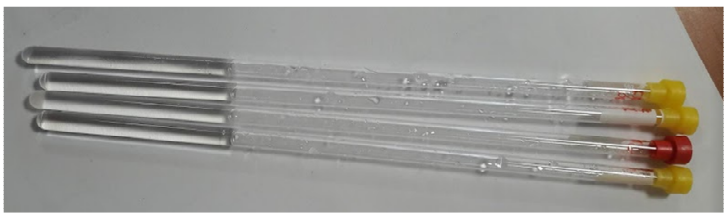


Figure 19: Tubes RMN

II.1.2.2. Détermination du coefficient de diffusion D des molécules d'eau

Les coefficients de diffusion des molécules d'eau dans les solutions ont été déterminés en RMN du proton ^{1}H à l'aide d'une expérience en RMN DOSY. Celle-ci consiste à appliquer à l'échantillon une série de gradients de champs magnétiques d'amplitude croissante (séquence PFG-STE pour Pulse Field Gradient STimulated Echo). L'amplitude des gradients varie de 0 à 95% et les signaux de relaxation des molécules en fonction du temps sont enregistrés pour chaque amplitude. Les signaux temporels RMN obtenus pour chaque valeur du gradient sont convertis en spectres fréquentiels avec une transformée de Fourier ; la décroissance des pics de relaxation en fonction de l'amplitude du gradient est alors observée.

L'intensité du signal prend alors la forme suivante (équation 23), qui correspond à la transformée de Laplace :

$$I(s) = \int_0^\infty I_0(D) e^{(-Ds)} dD \qquad \text{(Équation 23)}$$

Avec s : variable dont la valeur dépend de la force du gradient et de sa durée d'application ;
I0 : Intensité initiale du signal :
D : coefficient de diffusion moléculaire ($cm^2.s^{-1}$).

Cette intensité est convertie avec une transformée de Laplace inverse et le coefficient de diffusion D est obtenu.

II.1.2.3. Détermination du temps de relaxation T_2 des molécules d'eau

Le temps de relaxation T_2 des molécules d'eau ont été déterminés en RMN de l'oxygène ^{17}O à l'aide d'une séquence d'écho de spin (Hahn echo train). Les signaux temporels de relaxation sont convertis en spectres fréquentiels avec une transformée de Fourier. Le pic de relaxation de l'eau est obtenu pour chaque échantillon, sa largeur à mi-hauteur dépend du temps de relaxation T_2 (équation 24).

$$\Delta v = \frac{1}{\pi * T_2} \qquad \text{(Équation 24)}$$

Avec Δv : largeur à mi-hauteur du pic de relaxation (Hz) ;
T_2 : temps de relaxation (s).

II.1.3. Mesure des propriétés de surface des mixes de sorbet

Les tensions de surfaces et les propriétés viscoélastiques interfaciales des mixes de sorbets à isoviscosité ont été analysées.

II.1.3.1. Présentation du matériel

Les analyses ont été réalisées avec un tensiomètre à goutte (Tracker™, Teclis Scientific, Civrieux d'Azergues, France) (Figure 20) par l'analyse d'image du profil d'une bulle au cours de l'adsorption de molécules tensio-actives.

Le mix est placé dans une cuve, une seringue de 250 µL munie d'une aiguille courbée permet la formation d'une bulle d'air dans la solution. Le volume de la bulle est contrôlé par un pousse-seringue et son profil est filmé (Figure 21). Les dimensions de la bulle sont analysées en temps réel via le logiciel Windrop (It Concept).

Le but de l'analyse étant d'étudier le comportement d'un mix de sorbet en début de congélation, il était souhaité d'analyser les solutions à -1,5 °C. La cuve est placée dans un support qui peut être refroidi grâce à un bain thermostaté. La puissance de celui-ci et du dispositif de refroidissement de la cuve étant limitée, il n'a pas été possible d'atteindre cette température. Finalement, les mesures de la tension de surface et de rhéologie interfaciale ont été effectuées à 2 °C. L'effet de la température a été vérifié en faisant également des analyses à 5 °C et 8 °C.

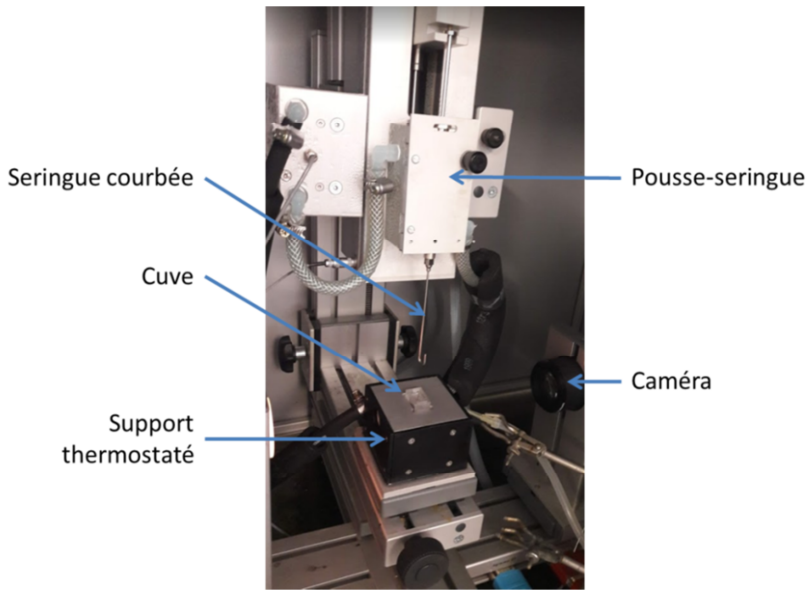


Figure 20 : Dispositif expérimental de mesure de la tension de surface et de rhéologie interfaciale : Tracker™ Teclis Scientific

Figure 21 : Profil d'une bulle d'air en cours d'analyse de la tension de surface au sein d'un mix de sorbet

II.1.3.2. Détermination de la tension de surface

L'analyse numérique du profil de la goutte rend possible la détermination de la tension de surface. Théoriquement, une bulle montante à l'équilibre obéit à l'équation de Laplace-Young (équation 25), qui traduit que la différence de pression causée par la courbure de la surface est proportionnelle à la courbure moyenne (Figure 22). Le coefficient de proportionnalité est la tension de surface.

$$\Delta P = \gamma\left(\frac{1}{R} + \frac{1}{R'}\right) \qquad \text{(Équation 25)}$$

Avec ΔP : variation de pression résultant de la courbure de l'interface (Pa) ;

γ : tension de surface ($N.m^{-1}$) ;

R et *R'* : rayons de la bulle en deux points différents sur le profil de la bulle (m).

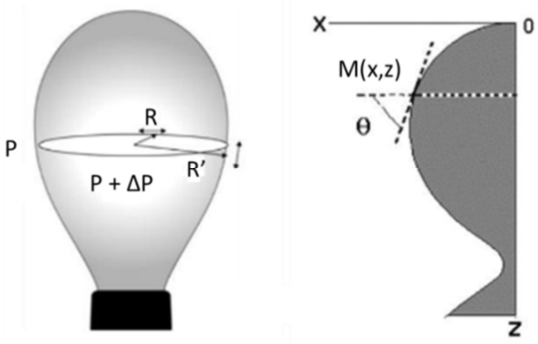


Figure 22 : Paramètres analysés pour la détermination de la tension de surface (adapté d'une illustration fournie par Teclis Scientific)

Expérimentalement, la tension de surface est obtenue à partir de la mesure du nombre adimensionnel de Bond *Bo* qui décrit la forme de la bulle. Son expression traduit l'équilibre des forces (pesanteur et tension de surface) au travers d'un plan horizontal, et fait intervenir le rayon de la goutte à son apex R_0 et les masses volumiques des deux fluides.

$$Bo = \frac{\Delta\rho.g.{R_0}^2}{\gamma} \qquad \text{(Équation 26)}$$

Avec $\Delta\rho$: différence de masse volumique des deux fluides (kg.m^{-3}). Nous avons choisi d'utiliser la masse volumique d'une solution de saccharose aux différentes températures d'analyses, telles que données par Cerecero Enriquez (2003). Nous avons ainsi considéré comme négligeable l'influence de la faible concentration en stabilisant sur la masse volumique de la solution.

g : accélération de pesanteur égale à 9,81 m.s^{-2}.

Plus le nombre de Bond est bas, plus les forces interfaciales dominent la force de pesanteur et plus la bulle d'air est sphérique. Dans ce cas, un faible changement de profil de la goutte entraîne une modification importante de la tension de surface, ce qui rend sa détermination moins sensible (Berry et al., 2015). Pour augmenter le nombre de Bond et obtenir une bulle qui ne soit pas sphérique, il faut augmenter son volume. Le fournisseur de l'appareil estime qu'une mesure est précise lorsque le nombre de Bond est supérieur à 0,1 ; il a été décidé d'analyser des bulles ayant des nombres de Bond supérieurs à 0,2. Dans le cas de nos solutions, les bulles contenaient un volume d'air d'environ 11 µL.

II.1.3.3. Détermination de la rhéologie dilatationnelle de surface

Les propriétés dynamiques de l'interface entre les solutions et une bulle d'air ont été analysées en faisant varier le volume de la bulle. La fréquence des oscillations imposées est de 0.1 Hz, l'amplitude de la déformation est égale à 10%m du volume de la bulle et les mesures sont faites à 2 °C. Ces paramètres ont été choisis pour effectuer les mesures dans le domaine linéaire viscoélastique.

Ces mesures donnent accès au module de dilatation de surface E^* (mN/m) qui décrit la variation de la tension de surface $d\gamma$ en fonction de la variation de l'aire de la bulle dS :

$$E^* = \frac{d\gamma}{d\ln S} \qquad \text{(Équation 27)}$$

Le module E* se décompose en deux contributions : le module élastique E' (mN/m) décrit la contrainte de surface en phase avec la déformation alors que le module visqueux E'' (mN/m) décrit la contrainte déphasée de π/2 :

$$E^* = E' + iE'' = \sqrt{E'^2 + E''^2} \qquad \text{(Équation 28)}$$

II.1.4. Détermination des propriétés thermiques des solutions de mixes

Les températures de congélation de solutions contenant différentes concentrations de sucre et d'HPMC ont été déterminées par des mesures en calorimétrie différentielle à balayage (DSC).

II.1.4.1. Caractéristiques des solutions étudiées

Les concentrations ont été choisies pour représenter l'évolution des concentrations en sucre et en stabilisant au cours de la congélation d'un sorbet, elles sont montrées dans le Tableau 7. La concentration en HPMC dans la solution contenant 25%m de saccharose est la même que celle utilisée dans le mix destiné à la congélation (0,315%m_m). Les autres concentrations ont été déterminées en considérant que les stabilisants et le saccharose se concentrent en même temps dans la solution résiduelle non congelée lors de la congélation d'un sorbet. Des solutions non stabilisées, contenant 25%m à 55%m de saccharose, ont également été analysées afin de déterminer la courbe d'équilibre de liquidus eau/saccharose/stabilisant.

Tableau 7 : Composition des solutions saccharose / HPMC analysées en DSC. Les concentrations sont exprimées en pourcentage massique.

	Solutions				
Concentration en sucre (%m)	25	35	40	45	55
Concentration en HPMC (%m)	0,315	0,441	0,504	0,567	0,693

Lors de la caractérisation de la microstructure des sorbets par microtomographie RX, l'iodure de sodium est utilisé comme agent de contraste. Nous avons vérifié au préalable son influence sur les températures de congélation et les enthalpies de congélation des mixes de sorbets. Cette vérification a été faite en DSC dans des solutions non stabilisées contenant 25%$_m$ ou 45%$_m$ de sucre. La concentration en iodure de sodium dans la solution à 25%$_m$ de saccharose est la même que celle choisie pour les études en microtomographie (3%$_m$), et fixée à 5,4%$_m$ dans la solution contenant 45%$_m$ de saccharose.

II.1.4.2. Description de l'équipement et du protocole de mesure

Les températures de congélation des solutions ont été caractérisées par calorimétrie différentielle avec un appareil DSC 1 STAR^e System (Mettler-Toledo, Columbus, Etats-Unis) (Figure 23(a)). La cellule de contrôle de la température utilise de l'azote liquide et de l'air

comprimé pour refroidir l'échantillon et des résistances électriques pour le chauffer. La gamme de température de l'appareil se situe entre -150 °C et 700 °C, la précision de la température imposée est estimée par le constructeur à 0.02 °C. Les flux de chaleurs sont mesurés avec une précision de 0.02 µW. Le programme d'acquisition, le recueil et le traitement des données sont faits avec le logiciel STAR^{e} Evaluation (Mettler-Toledo, Columbus, Etats-Unis).

(a) (b)

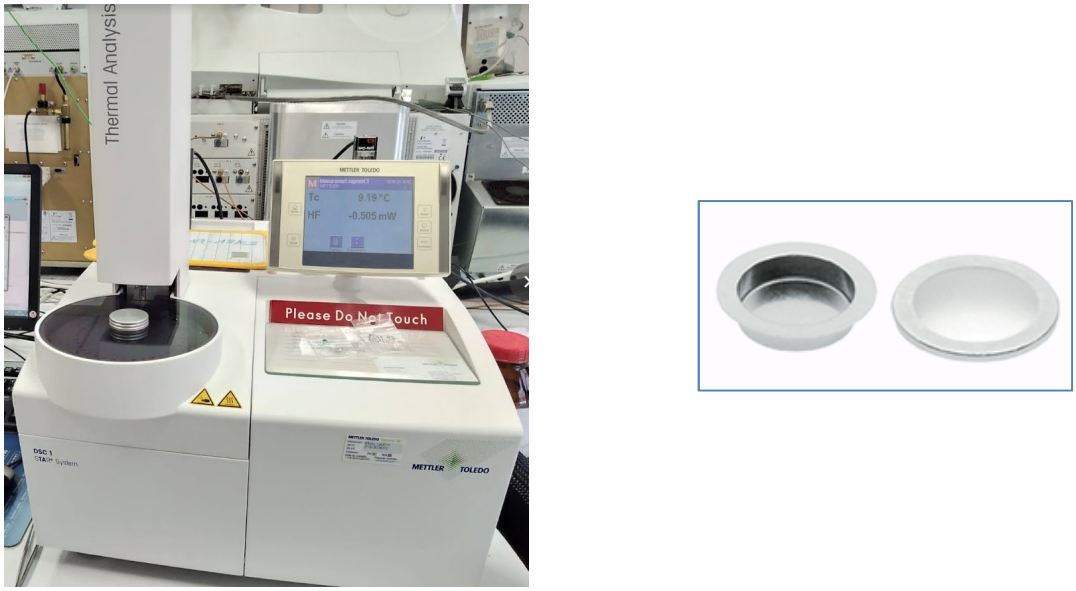


Figure 23 : (a) Appareil de calorimétrie (DSC) utilisé pour les analyses des propriétés thermiques de mixes de sorbets ;
(b) Creuset en aluminium contenant l'échantillon analysé en DSC (image fournie par Mettler-Toledo)

Pour chaque analyse, une quantité proche de 8 mg de solution est prélevée dans un creuset en aluminium de 40 µl (Figure 23(b)). Les creusets sont scellés hermétiquement puis placés sur le carrousel de l'appareil de DSC.

Le protocole d'analyse (Figure 24) commence par une descente en température de 20 °C à -40 °C à une vitesse de 10 °C par minute. Ensuite, l'échantillon est maintenu pendant 10 minutes à -40 °C afin que la solution congèle complètement. Une remontée en température est alors imposée de -40 °C à 20 °C à une vitesse de 2 °C par minute, la solution va alors fondre ce qui permettra d'identifier sa température de congélation et son enthalpie de changement d'état.

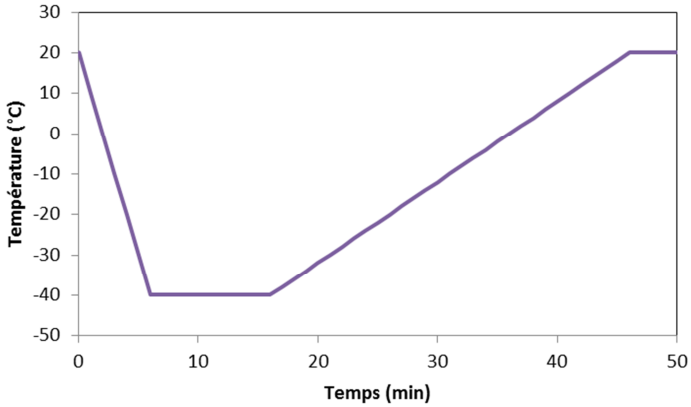


Figure 24 : Protocole de variation de la température utilisé pour les analyses en calorimétrie différentielle

Les résultats sont présentés sous la forme de courbes de flux de chaleur en fonction du temps ou de la température. Bien que la température de congélation commençante soit théoriquement fixe pour une solution de composition donnée, et corresponde à la température d'équilibre de changement d'état liquide/solide de la solution, des phénomènes de surfusion apparaissent souvent lors de la congélation, la position du pic exothermique de cristallisation est donc variable en DSC, ce qui rend l'interprétation de son analyse délicate. Il est donc préférable de se fier à la courbe de fusion, qui est reproductible, le pic endothermique apparaissant lors de la fonte de la glace en eau liquide lors de la remontée en température. Sa position permet d'identifier précisément la température de fusion correspondant à la température théorique de congélation commençante de la solution tandis que son intégration par rapport au temps donne, en connaissant la masse de l'échantillon, sa chaleur latente de fusion.

Les courbes d'équilibre thermodynamique (liquidus) des systèmes eau/saccharose et eau/saccharose/HPMC ont été tracés en représentant les températures de congélation des différentes solutions en fonction de leur concentration en sucre.

Dans le cas des solutions contenant 25%$_m$ de saccharose, trois creusets ont été analysés afin de s'assurer de la reproductibilité de la mesure. Les autres solutions n'ont été analysées qu'une fois pour des raisons de disponibilité de l'appareil.

II.2. Etude de la congélation des mixes en freezer et caractérisation du sorbet

II.2.1. Equipement de congélation des mixes

Les sorbets congelés ont été obtenus à l'aide d'un freezer domestique fonctionnant en batch (Magimix® Gelato Expert) (Figure 25). Cet appareil a été choisi pour ses dimensions permettant facilement l'insertion de différents types de capteurs (notamment des thermocouples et la sonde FBRM). Il est constitué d'une cuve cylindrique et verticale de 17 cm de diamètre et de 8,5 cm de hauteur ; le volume de la cuve est donc proche des 2 litres. Le froid est produit de manière directe via l'évaporation d'un fluide frigorigène (R134 A) dans un serpentin entourant la cuve. Un rotor en plastique amovible est placé au centre de la cuve, il est porteur de deux lames racleuses. Sa vitesse de rotation est fixe et égale à environ 50 tr/min. .

Le volume de mix introduit dans la sorbetière pour chaque congélation a été fixé à 800 mL ; ce volume permet l'insertion des différents capteurs tout en limitant un éventuel débordement de sorbet hors de la cuve lors de son expansion au cours de sa congélation.

(a) (b)

Figure 25 : (a) Freezer Magimix Gelato Expert utilisée pour la congélation des sorbets (illustration fournie par Magimix) ; (b) Détail de la cuve

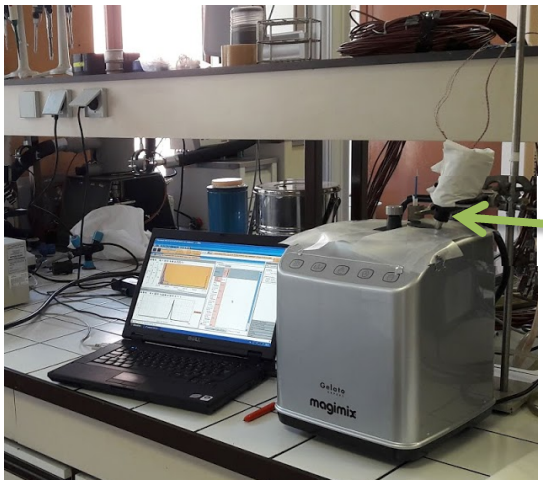
II.2.2. Analyse des sorbets en cours de congélation

Une analyse en temps réel de la taille des cristaux de glace en cours de formation pendant la congélation des sorbets a été réalisée avec une sonde laser FBRM (Focused Beam

Reflectance Measurement) plongée dans le freezer batch pendant la congélation (Figure 26). Ces mesures ont permis de suivre l'évolution des dimensions (tailles de cordes) des cristaux de glace en cours de congélation.

Les détails concernant la sonde et le calcul de la taille de corde moyenne des cristaux sont donnés dans la partie matériels et méthodes de l'article dédié à la microstructure des sorbets stabilisés (Chapitre 4, III.3).

(a)



(b)

Figure 26 : (a) Dispositif expérimental d'analyse en temps réel de la congélation d'un sorbet ; (b) Sonde FBRM

II.2.3. Analyse des sorbets en fin de congélation

II.2.3.1. Microtomographie à rayons-X

La microstructure des sorbets congelés, stabilisés ou non, a été directement analysée en prélevant un échantillon dans la cuve du freezer en fin de congélation. Une analyse de sa microstructure en 3 dimensions a été effectuée aussitôt par microtomographie à rayons X (DeskTom 130®, RX Solution, Chavanod, France). Un équipement de paillasse a été utilisé (Figure 27) et une résolution d'environ 9 µm a été obtenue lors des acquisitions. Une boite

thermostatée a été fabriquée grâce à une imprimante 3D, afin de maintenir l'échantillon de sorbet à une température proche la température de fin de congélation (-6 °C) pendant l'analyse. Une étude préalable de suivi de la température du sorbet dans cette boite a été effectuée durant une acquisition, elle a permis de fixer la durée optimale pour l'analyse microtomographique. De l'iodure de sodium a été ajouté à 3%$_m$ comme agent de contraste dans les mixes de sorbet et sa capacité à augmenter le contraste tomographique entre la solution résiduelle non congelée et les cristaux de glace a été vérifiée.

Les images obtenues ont été traitées pour obtenir une visualisation en 3D des cristaux de glace et des bulles d'air ainsi que des données quantitatives sur ces deux phases : fractions massique (pour les cristaux) et volumiques (pour les deux phases), nombres , tailles et répartition spatiale des particules.

Figure 27: Appareil de microtomographie à rayons X (illustration fournie par RX Solutions).

Les protocoles d'acquisition et de traitement des images sont détaillés dans la section matériels et méthodes de l'article relatif à leur mise au point (Chapitre 4, II.3).

II.2.3.2. Cryo-microscopie électronique à balayage (cryo-MEB)

Afin de comparer méthode microtomographique à une autre méthode microscopique permettant une acquisition en température négative et une résolution suffisamment bonne, des sorbets stabilisés ou non et fraichement congelés ont également été visualisés en 2 dimensions au cryo-MEB au sein du Plateau de Microscopie Electronique de l'Institut de Biologie Paris-Seine (Figure 28). La congélation a été effectuée dans le freezer sur place afin que, comme pour l'analyse microtomographique, l'analyse ait lieu directement après la congélation sans

étape de stockage ou de transport. L'échantillon prélevé subit aussitôt une trempe dans l'azote liquide puis une cryofracture avant son analyse.

Les échantillons cryofracturés ont été observés avec un cryo-MEB (GeminiSEM 500, Zeiss) à -120 °C et 1.6x10-4 Pa, avec une tension d'accélération de 3.00 kV ou 0.790 kV et un grossissement compris entre x13 et x10 000. En fonction du grossissement, la résolution des images est comprise entre 11 nm and 9µm.

(a) (b) (c)

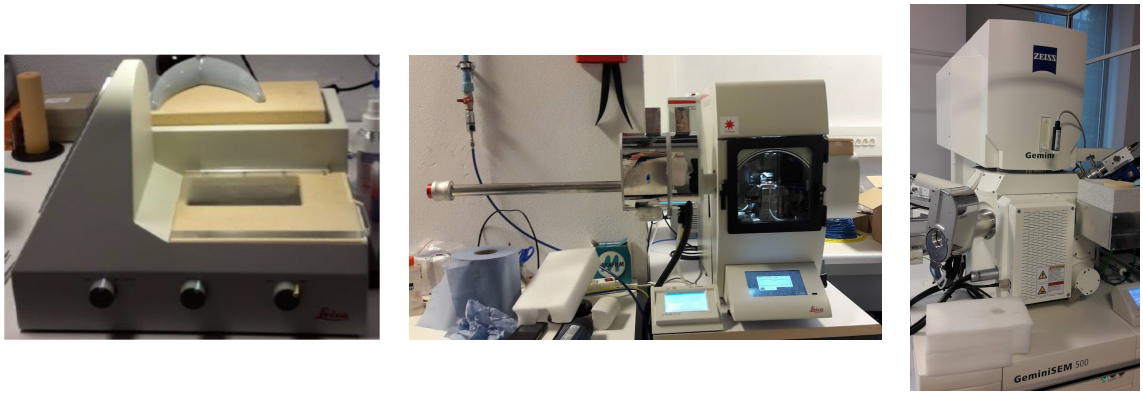


Figure 28 : Dispositif expérimental d'analyse cryo-MEB
(a) Bain d'azote liquide.
(b) Chambre de cryo-fracture.
(c) Cryo-MEB.

Les particules (cristaux de glace ou bulles d'air) ont été segmentées et séparées manuellement avec Avizo 2019.1® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Etats-Unis). Le diamètre équivalent ds des particules a été calculé avec l'équation ci-dessous. En deux dimensions, le diamètre équivalent représente le diamètre d'un disque ayant la même surface S que la particule.

$$d_s = \sqrt{\frac{4*S}{\pi}} \qquad \text{(Équation 29)}$$

III. Synthèse des conditions et caractérisations expérimentales

Le Tableau 8 synthétise les analyses effectuées en fonction du système étudié.

Tableau 8 : Synthèse des caractérisations effectuées

	Formulation	[sucre] %m	[stabilisant] %m	T_{eq}(°C)	Température d'analyse (°C)	Outils d'analyse	Caractérisations
Solutions non congelées		25 à 55	HPMC: 0,3 à 0,7		/	DSC	Température de congélation commençante: courbe de liquidus
	Mix de sorbet avant congélation	25	Isoviscosité à 420 s-1 HPMC: 0,315 LBG: 0,375 CMC: 0,135	- 1,9	2 / 5 / 8	Tensiomètre	Tension de surface air / solution Viscoélasticité de surface: module élastique, module visqueux
			0,001 à 0,6		- 1,5	Rhéomètre rotatif	Ecoulement: courbes d'écoulement, viscosité intrinsèque, concentration critique, viscosité apparente Viscoélasticité: module élastique, module visqueux
	Solution résiduelle non congelée en fin de congélation	45	0,001 à 0,6	-6	-5,6 / -1,5		
			0,6 / 1			RMN	Coefficient de diffusion des molécules d'eau Temps de relaxation des molécules d'eau
Systèmes congelés	Mix de sorbet congelé en freezer batch → Sorbet	Avant congélation : 25	Avant congélation : HPMC: 0,315 LBG: 0,375 CMC: 0,135	- 1,9	4 à -4	FRBM	Analyse en temps réel et en dynamique de la taille des cristaux de glace en formation lors de la congélation du sorbet en freezer batch
					-6	Microtomographe RX	Analyse de la microstructure des sorbets congelés frais : taille et nombre de cristaux et de bulles, fraction volumique de glace et d'air

Chapitre 3 : Propriétés physico-chimiques des stabilisants en solutions sucrées et à basses températures

La cristallisation dans un sorbet est un phénomène dynamique au cours duquel la température du système diminue entrainant un changement d'état de l'eau et de façon consécutive une augmentation de la concentration en cristaux de glace mais également de la concentration en sucres et en stabilisants dans la phase non congelée. Cette dernière est à l'origine d'une augmentation de sa viscosité et du développement possible de propriétés viscoélastiques de type « gel-like ». Ces propriétés sont polymère-dépendantes. Au niveau moléculaire, ces propriétés pourraient impacter la diffusion des molécules, en particulier d'eau, et ainsi être à l'origine d'un effet des stabilisants sur la cristallisation et notamment sur le nombre et la taille des cristaux de glace. D'autre part, de l'air est incorporé lors de la congélation en échangeur de chaleur à surface raclée; les bulles d'air stabilisées en présence de polymères pourraient également influencer la cristallisation.

L'objectif de ce chapitre est la caractérisation des paramètres physico-chimiques du mix initial et de la solution résiduelle non congelée afin de caractériser les propriétés et leurs évolutions en présence des stabilisants choisis. Ainsi les propriétés rhéologiques et les propriétés des surfaces air/eau en présence de sucre et d'un stabilisant sont étudiées. Par ailleurs la diffusion moléculaire au sein de ces milieux est analysée.

I. Propriétés rhéologiques des stabilisants en solutions sucrées et à température négative

I.1. Introduction et objectifs de l'étude

Bien que le caractère épaississant et rhéofluidifiant des solutions contenant des stabilisants ait été largement constaté dans la littérature, l'étude bibliographique a révélé que les formulations analysées sont souvent plus complexes qu'un mix de sorbet et que les températures relevées ne sont pas toujours pertinentes par rapport à ce qui est rencontré dans un échangeur de chaleur à surface raclée. D'autre part, les taux de cisaillement relevés ne représentent pas le procédé de congélation alors que c'est un paramètre important à prendre en considération, les polymères ayant propriétés à l'écoulement différentes entre eux. Finalement, il n'est à priori pas évident de mettre en relation les propriétés mesurées dans la littérature avec les phénomènes qui se passent dans l'échangeur.

L'objectif de cette étude est d'étudier le comportement rhéologique d'un mix de sorbet dans les conditions proches de celles du début du procédé, et de la solution résiduelle non congelée

en fin de congélation. L'influence de l'augmentation de la concentration en sucre et en stabilisants ainsi que l'effet de la diminution de la température ont été analysés.

Les concentrations en sucres et en stabilisants ainsi que les températures d'analyses sont pertinentes pour représenter le procédé industriel de fabrication d'un sorbet. Les températures d'analyse ont été choisies pour que l'échantillon ne congèle pas, le but de l'étude étant de représenter le mix juste avant qu'il ne congèle ou la solution résiduelle non congelée en fin de congélation. Les taux de cisaillement choisis pour calculer les viscosités apparentes des solutions ont également été calculés pour refléter les contraintes de cisaillement subies par le produit en début ou en fin de congélation dans un ECSR.

L'étude a été réalisée avec un rhéomètre rotatif équipé d'une cellule thermostatée contrôlée par effet Peltier pour le maintien de l'échantillon à température négative. Les courbes d'écoulement ont été obtenues ; elles ont permis la caractérisation des propriétés à l'écoulement des solutions de stabilisants ainsi que de certaines propriétés intrinsèques des hydrocolloïdes (viscosité intrinsèque et concentration critique d'enchevêtrement) afin de mieux comprendre leur comportement en solution dans les conditions de la présente étude. Les propriétés viscoélastiques ont également été étudiées.

I.2. Principaux résultats

Les courbes d'écoulement des solutions aux concentrations en stabilisants utilisées pour les études de cristallisation ont permis de retrouver le comportement particulier des solutions de macromolécules enchevêtrées : elles présentent un plateau newtonien à faible taux de cisaillement puis un caractère rhéofluidifiant à partir d'un certain taux de cisaillement. Ce comportement rhéofluidifiant est observé dans les conditions représentatives du début de procédé de congélation. Ce comportement s'explique par des niveaux de concentration supérieurs aux concentrations critiques d'enchevêtrement C^* de chaque polymère définies dans nos conditions expérimentales.

La solution résiduelle non congelée est logiquement de plus en plus consistante au fur et à mesure que la concentration en sucre et en stabilisant augmente, mais celle-ci est également de plus en plus rhéofluidifiante. Globalement, la viscosité apparente de la solution résiduelle augmente en cours de procédé aux taux de cisaillement que l'on peut atteindre en échangeur de chaleur à surface raclée, et elle diffère en fonction du polymère utilisé. L'abaissement de la température a moins d'effet. A isoconcentration, les solutions de HPMC et de LBG

développent des niveaux de viscosité apparente identiques initialement alors que les solutions de LBG dans les conditions finales de températures et concentration sont moins visqueuses. Cette évolution s'expliquerait par une diminution de la viscosité intrinsèque et une moins bonne solvatation de la LBG comme en témoigne les paramètres de Huggins. La solution de CMC à même concentration est plus visqueuse initialement mais atteint les propriétés d'une solution d'HPMC en fin de congélation. Ces résultats illustrent bien l'importance de caractériser les propriétés dans les conditions proches de celles du procédé pour mettre en relation ces propriétés avec les phénomènes de cristallisation.

Par ailleurs la CMC confère à la solution résiduelle non congelée des propriétés légèrement élastiques notamment à haute fréquence de sollicitation. La CMC se comporte comme une solution viscoélastique alors que les deux autres stabilisants présentent essentiellement un caractère visqueux.

Les différences observées entre les trois stabilisants sont détaillées et discutées dans l'article ci-après.

I.3. Article publié dans Food Hydrocolloids: Rheological properties of stabilizers at low temperatures in concentrated sucrose solutions

1. Abstract

During the freezing of sorbets, the concentration of sucrose and stabilizing macromolecules increases in the unfrozen phase. Rheological properties of this unfrozen phase were studied, depending on nature and concentration of hydrocolloids in sucrose solutions at temperatures below zero. Three stabilizers were tested individually in sucrose-rich solutions: locust bean gum (LBG), hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) and carboxymethylcellulose (CMC). The parameters of the Ostwald-de Waele model were determined and apparent viscosities of solutions were calculated at shear rates encountered during the process. Intrinsic viscosities and critical concentrations of entanglement were determined to evaluate the expansion of polymers in solutions and the transition of concentration regimes according to process conditions. Viscoelastic properties were also tested to study the possible cryogelation. For HPMC and LBG, the shear thinning behavior increased quite linearly with the concentration in stabilizer whereas CMC was highly shear thinning. Increasing sugar did not reveal large effect on these properties. The increase in apparent viscosity of the unfrozen matrix in process conditions was dependent on stabilizers; solutions containing LBG were less viscous than the others. Intrinsic viscosities revealed that HPMC and LBG became progressively less

expanded as the concentration of sucrose increased whereas CMC tended to aggregate. Measurements of viscoelastic properties evidenced a dominant viscous behavior for HPMC and LBG systems whereas CMC systems showed dominant elastic behavior at frequencies higher than 0.1 Hz. The next challenge will be to better understand the potential link between the particular rheological behavior of hydrocolloids in process conditions and their possible influence on crystallization mechanisms.

Keywords

Stabilizers; locust bean gum; hydroxypropylmethylcellulose; carboxymethylcellulose; rheology; sorbet.

2. Introduction

Sorbet is a frozen fruit juice with high sugar content stabilized by gum stabilizers; this consists of air bubbles and ice crystals dispersed in an unfrozen matrix containing high concentrations of sugars and stabilizers. Before freezing, the mixture of ingredients or “mix” contains an average of 70%wt of water, almost 25%wt of sugar (sugars contained in fruit juices and added sugars) and up to 0.5%wt of stabilizers. The freezing step is the core of the manufacturing process of sorbets; it takes place in a scraped surface heat exchanger (SSHE) or freezer. The mix enters the freezer at approximately 4 °C and is converted into sorbet by simultaneous aerating, freezing and mixing to generate ice crystals and air bubbles. As the freezing proceeds, the unfrozen matrix becomes more and more concentrated in sugars and stabilizers and then increasingly viscous. At the outlet of the exchanger, the sorbet contains an average of 40%wt of ice while the concentration of sugars and stabilizers in the unfrozen matrix is almost double that in the original mix. Its final temperature is between -5 °C and -6 °C (Clarke, 2012; Goff and Hartel, 2013; Stogo, 1998).

Stabilizers commonly used in the sorbet industry are natural polysaccharides, such as seed gums: guar gum (GG) and locust bean gum (LBG); cellulose derivatives: carboxymethylcellulose (CMC) and hydroxypropylmethylcellulose (HPMC); and microbial gum: xanthan gum (XG) (Thombare et al., 2016). The presence of stabilizers facilitates the incorporation of air, the pumping and the filling of the molds after the freezing step. They would also slow down the migration of water and stabilize the formed foam (Clarke, 2012; Goff and Hartel, 2013). Their influence on crystallization during the freezing step, i.e. initial size of the ice crystals and amount of frozen water, is still a subject of debate in the literature and results depend on the type of polymer, on the heat exchanger used and on the technique of

analysis applied (Bahramparvar and Goff, 2013; Budiaman and Fennema, 1987; Fernandez et al., 2007; Flores and Goff, 1999b; Goff et al., 1993; Kurt and Atalar, 2018; Velásquez-Cock et al., 2019). The initial size of ice crystals would partly depend on the ability of the polymers to bind water and increase the viscosity of the mix, or even gel on the vicinity of the crystal; but the physicochemical parameters involved are not formally identified. Effects of stabilizers during conservation and storage, especially on recrystallization process have also been studied by several authors; as with the initial formation of ice crystals, the results are controversial (Bahramparvar and Goff, 2013; Buyong and Fennema, 1988; Damodaran, 2007; Flores and Goff, 1999b; Gaukel et al., 2014; Kamińska-Dwórznicka et al., 2015a; Kamińska-Dwórznicka et al., 2015b; Regand and Goff, 2003; Yuennan et al., 2014).

Only a few studies focused on the flow properties of solutions of stabilizers in a cold and sugar-rich environment and most of the shear rates ranges studied are far from the ones encountered during the freezing process in a SSHE, where the shear can exceed 1000 s^{-1}. According to Flores and Goff (1999b), solutions containing sugars and stabilizers (0.26%wt of CMC, guar gum or xanthan gum) showed non-Newtonian behavior compared with the Newtonian behavior of unstabilized samples. Apparent viscosities recorded at 4 °C and 50 s^{-1} were 2 to 30 times higher for stabilized solutions than for non-stabilized solutions. These results were confirmed by Bahramparvar et al. (2010) who recorded the apparent viscosity of complex ice cream mixes containing 0.3% to 0.5% of CMC at 52 s^{-1} and 5 °C. Goff et al. (1993) performed thermomechanical analysis (TMA) with parallel plate rheometer attachments and reported that the viscosity of a 20% sucrose solution increased in the presence of 0.6% guar gum as the temperature decreased from 0 °C to -30 °C; from a certain temperature, samples were partially frozen. Bolliger et al. (2000) reported that apparent viscosities of an ice cream mix at 4 °C increased by a factor of 7 with addition of 0.2% guar gum. Similar results were obtained by Park et al. (2006) with LBG added to an ice cream mix; apparent viscosities were recorded at 4 °C and 24 s^{-1}. In these studies, the concentrations of sugar and stabilizers did not represent what could be obtained during sorbet manufacturing when concentration and temperature evolve during the process. In order to understand the evolution of solution properties, it would be interesting to focus also on the intrinsic properties of stabilizing molecules, such as their intrinsic viscosity or critical concentrations of entanglement. Although many studies were conducted, analyses were rarely done in sugar solutions and never at temperatures below zero (Elfak et al., 1977; Gómez-Díaz and Navaza,

2003; Haddarah et al., 2014; Higiro et al., 2006; Khouryieh et al., 2007a; Richardson et al., 1998).

Some authors showed that cryogelation of stabilizers may affect the ice crystal growth rate, the morphology of growing ice crystals or inhibit the ice recrystallization (Blond, 1988; Goff et al., 1999; Muhr and Blanshard, 1986). Patmore et al. (2003) analyzed viscoelastic properties of galactomannans in sugar solutions and at temperatures in some cases close to those encountered during the freezing process. They evidenced that, after one or more temperature cycles from -1 °C to -15 °C, LBG formed weak gel structures when added at 0.3% to an ice cream mix containing sugars (24%) and non-fat milk solids. On the contrary, guar gum did not gel under the same conditions. In another study, strong gels were obtained with freeze-thaw gelation of 1% of LBG in sucrose solutions. Measurements, conducted at 5 °C after 24 hours of storage at -20 °C, showed that the strongest gels were obtained in the presence of 50% sucrose; this would be due to the reduction in water content with increasing concentration of sugar which would favor intramolecular interactions between LBG macromolecules (Doyle, Giannouli, Martin, Brooks, & Morris, 2006).

These studies showed interesting rheological behavior of stabilizers in particular conditions but did not provide any information on changes in the rheological properties, either flow behavior or gelation, when the concentrations of sugars and stabilizers increased concurrently with a decrease in temperature i.e. during freezing. As a result, the literature does not make it possible to understand the effect of the polymers at the beginning of crystallization or during the freezing process.

As the prospective effect of stabilizers on the crystallization in a SSHE could be related to the flow properties or the viscoelastic properties of the sorbet mix and of the unfrozen phase of the sorbet, the purpose of the present study was to analyze these properties under process conditions. Solutions containing different amount of sucrose and of stabilizers commonly used in sorbet recipes (HPMC or LBG or CMC) were formulated to mimic the unfrozen residual solution that concentrates increasingly in a freezer. Rheological analyses were carried out at temperature below zero to reproduce the conditions during the freezing process; these temperatures were always maintained slightly above the freezing point to avoid ice crystallization. The flow behavior of stabilizer solutions and their viscoelastic properties were analyzed; their intrinsic viscosity and their critical overlap concentration were determined to better understand their behavior and their evolution in concentrated sugar solutions at

temperatures below zero. These results were then analyzed considering the process conditions (temperature and shear rates) encountered in the SSHE.

3. Material and methods

3.1. Polymers and preparation of the mixes

HPMC was purchased from Dow® (Methocel™ K4M). Its viscosity in water was evaluated by Dow® at about 4000 mPa.s (2% at 20 °C). It contains 19 - 24% of methoxy groups and 7 – 12% of hydroxypropoxy groups. Sodium CMC was also obtained from Dow® (Walocel™ CRT 20000 PA). Its viscosity was evaluated by Dow® at 1900 – 2600 mPa.s (1% in water at 25 °C). Its degree of substitution was about 0.70 – 0.95. LBG was obtained from Cargill® (Viscogum™ FA 150). Its viscosity in water was evaluated by Cargill® at 1% between 2500 and 3000 mPa.s. Since commercial formulations of sorbet mixes do not contain any salt to neutralize the negative charges of CMC, the mixes containing CMC were formulated without any salt to better represent the behavior of this gum in a real product. Sucrose was purchased from Béghin Say™. Solutions were prepared with deionized water (conductivity 17 $\mu S.m^{-1}$).

In order to simplify the composition of the mixes and to study specifically the effect of each stabilizer, only sucrose was used as sugar and stabilizers were studied individually. Two different mix compositions were analyzed. The first one mimicked the formulation of a mix at the beginning of the freezing step and the second one reproduced the unfrozen residual solution at the end of the freezing process. Before its freezing in a SSHE, a sorbet mix contains generally around 25%wt of sugars, so in this study the first type of mix was formulated with 25%wt of sucrose. The final temperature at the exit of the SSHE is around -6 °C (Marshall et al., 2003). At this temperature, the corresponding mass fraction of the sucrose in the unfrozen solution given by the liquidus curve of sucrose (phase diagram) is about 45% (Cerecero Enriquez, 2003). Therefore, in this study the second formulation of mix contained 45%wt of sucrose. Control mixes without sucrose were also prepared.

For both sucrose concentrations i.e. 25% or 45%, a stock solution of 0.6%wt stabilizer was formulated and then diluted either with 25% or 45% sucrose solution to reach the final concentration in stabilizer from 0.6%wt to 0.001%wt. The mixes were prepared by dispersing sucrose and polymers in water under strong stirring at ambient temperature. The mixes were then cooled at 4 °C for at least 24 hours before rheological analysis. This ageing step is necessary to ensure the complete hydration and expansion of stabilizers in the solvent and thus their total dissolution (Clarke, 2012).

3.2. Rheological analysis at low temperature

3.2.1.Choice of temperatures for the analyses

The aim of this study was to analyze the rheological properties of the unfrozen part of a sorbet. As a consequence, it was necessary to avoid the freezing of the samples during the experiments while maintaining a temperature close to the freezing point. The two formulations differed from one another in their sucrose concentrations and consequently in their freezing temperatures. These freezing points were calculated by using the sucrose liquidus curve (Arellano Salazar, 2012; Cerecero Enriquez, 2003). The temperature selected for analysis was around 0.4 °C above the freezing points of the different mixes. The analytical conditions of the different mixes are shown in Table 9. A test was also performed at -1.5 °C for solutions containing 45% sucrose to separate the effect of the concentration of sugar from the effect of temperature. Sucrose solutions without stabilizers were also tested for viscosity measurement.

Table 9 : Temperatures used for the analysis of the different solutions

Mix	Temperature of analysis (°C)
0% sucrose + stabilizer	0.4
25% sucrose + stabilizer	-1.5
45% sucrose + stabilizer	-1.5
	-5.6

3.2.2.Flow behavior

All rheological characterizations were carried out with Physica MCR 301 rheometer (Anton Paar®, Graz, Austria); coaxial cylinders (CC27, 1 mm gap) were used and a Peltier element enabled the control of the temperature of samples. For the flow behavior study, a logarithmic shear rate ramp down from 1000 s^{-1} to 0.1 s^{-1} and then up from 0.1 s^{-1} to 1000 s^{-1} was applied and the apparent viscosity of the mixes was recorded; flow curves were then plotted. These curves allowed to visualize the particular behavior of solutions containing hydrocolloids described by Graessley (1974): at a low shear rate, viscosity did not change as a function of shear rate (Newtonian plateau), whereas at a certain shear rate, a shear thinning behavior appeared. This is due to a progressive mechanical disentangling of polymer chains as the shear rate increases.

For the shear thinning part of the curve, the evolution of the apparent viscosity η_{app} was described by the Ostwald-de Waele model (equation 30) and the consistency index *K* and the flow index *n* were calculated.

$$\eta_{app} = K\,\dot{\gamma}^{n-1} \qquad \text{(Equation 30)}$$

where $\dot{\gamma}$ is the shear rate.

Shear rates encountered in a scraped surface heat exchanger were calculated in the case of a continuous ice cream freezer described by Hernández-Parra et al. (2018). The analogy with a power-law fluid in a concentric cylinder viscometer was used (Steffe, 1996) and the shear rate was calculated at two radial positions in the exchanger (at the central rotor and at 1mm of the wall, close to the blades) with equation 31. The scraper rotational speed was considered to be 300 rpm.

$$\dot{\gamma} = \frac{2\Omega}{n}\,\frac{R^{2/n}}{R^{2/n} - r^{2/n}} \qquad \text{(Equation 31)}$$

where Ω is the rotor angular velocity (rad.s^{-1}), *R* is the tank radius (m) and r is the central rotor radius or the radius at 1mm of the wall (m), *n* the flow index determined for each condition. Apparent viscosities of solutions for these particular shear rates were then calculated thanks to power law equation (equation 31).

3.2.3.Intrinsic properties of the macromolecules

The viscosity at the Newtonian plateau observed at low shear rates enabled to access to certain properties of stabilizers such as their intrinsic viscosity and their critical overlap concentration. The concentration regimes were determined by plotting the specific viscosity η_{sp0} as a function of the concentration *c* of stabilizer. For LBG and HPMC, which are neutral polymers, their intrinsic viscosity $[\eta]$ was obtained by plotting η_{sp}/C versus concentration according to the classical empirical equation proposed by Huggins (1942) (equation 32). The Huggins parameter λ depends on the solvent and represents a measure for the quality of the solvent and for the degree of solvation of molecules.

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + \lambda\,[\eta]^2 c \qquad \text{(Equation 32)}$$

As CMC is an anionic polymer, its intrinsic viscosity was determined with the equation established by Fedors (1979) which is more appropriate in this case, by plotting $\left[2(\eta_{rel}^{1/2}-1)\right]^{-1}$ against $1/c$ (equation 33).

$$\left[2(\eta_{rel}^{1/2}-1)\right]^{-1} = ([\eta]c)^{-1} - ([\eta]c_m)^{-1} \qquad \text{(Equation 33)}$$

where η_{rel} is the relative viscosity and c_m is a polymer concentration parameter. Arinaitwe and Pawlik (2014) showed that this equation described well the behavior of anionic polyacrylamide and fitted well to experimental data from CMC samples without having to apply the iso-ionic dilution technique used for polyelectrolyte solutions in order to minimize the polyelectrolyte effect especially in low ionic strength solutions. This equation was also applied to HPMC and LBG to compare the results with those obtained with the Huggins model.

3.2.4.Viscoelastic properties

The viscoelastic properties of the unfrozen solution at the exit of a freezer (0.6% of stabilizer in 45% sucrose solution) have been studied using oscillatory mode. Frequency sweeps from 100 to 0.1 Hz and 0.1% strain corresponding to the linear viscoelastic range (LVE) were performed at -5.6 °C. Storage modulus *G'* and loss modulus *G"* were measured.

3.3. Statistics

Two samples of each mix were collected and the viscosity of each sample was analyzed in triplicate so each mix provided a set of six datasets. For every parameter, analysis of variance was used to determine significant differences ($p < 0.05$).

4. Results and discussion

4.1. Flow behavior at low temperature as a function of sucrose concentration

4.1.1.Flow index

The influence of the concentration of stabilizer, of sucrose and of the temperature on the flow index *n* for each solution is illustrated in Figure 29. First of all, it appears that, whatever the stabilizer and for all the conditions, *n* decreased with an increase in the stabilizer concentration. This result, in agreement with other studies (Rao and Kenny, 1975; Speers and Tung, 1986), was expected; the polymers used are shear thinning molecules so this effect is more pronounced when they are present in larger quantities. CMC evidenced a high

exponential decrease of *n* while increasing the concentration of stabilizer compared to HPMC and LBG. This could be explained by the high stiffness of the CMC due to its charges.

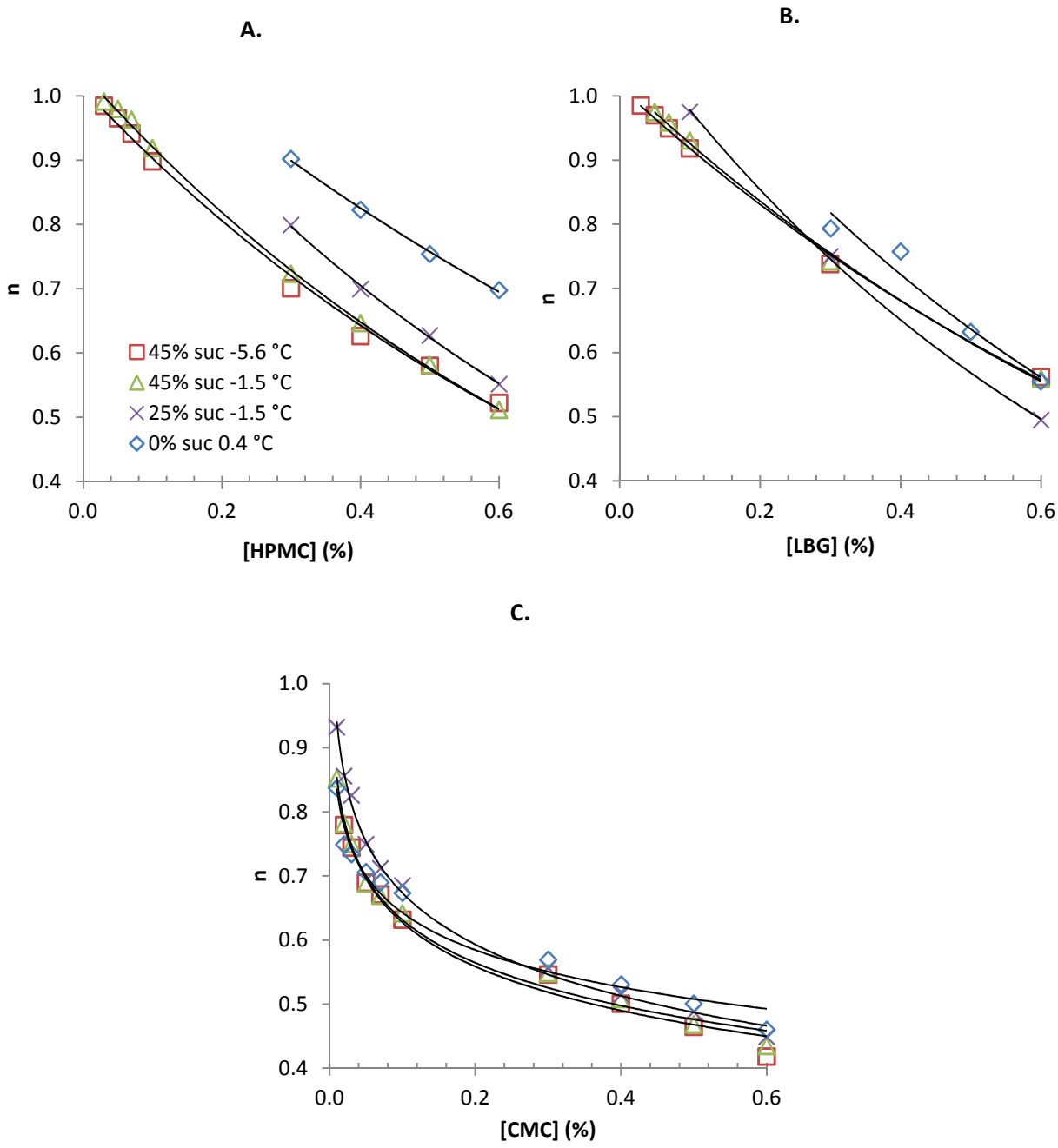


Figure 29 : Evolution of the flow index versus concentration of HPMC (A), LBG (B) and CMC (C) solutions at several concentrations of sucrose (suc: sucrose) and temperatures.

The flow index of the studied polymers was not influenced by temperature in 45% sucrose solutions. A few studies in literature focused on effects of temperature on hydrocolloids flow properties but all of them were reported at positive temperatures and without sugar. The authors observed either a slight decrease or no change in the values of *n* when temperature

decreased (Gómez-Díaz and Navaza, 2003; Haddarah et al., 2014; Rao and Kenny, 1975; Speers and Tung, 1986).

Sucrose concentration had a noticeable effect on shear thinning behavior in the case of HPMC solutions: higher was the sucrose concentration and lower was the flow index. A possible hypothesis is that, because of its hygroscopicity sucrose mobilized water; then sucrose would promote hydrophobic interactions between HPMC chains due to their substitutions. These interactions would be disrupted during shearing. In the case of LBG as for CMC, the effect of sucrose on their shear thinning properties seemed to be less important; interactions between macromolecules would be prevented by steric hindrance or electrostatic repulsion respectively for LBG and CMC. As far as we know, no literature focused on changes in the flow properties of stabilized solutions related to the presence of sugar and at temperature below zero.

According to these results and considering the freezing process, a sorbet mix, which generally contains a minimum of 0.3%wt of stabilizers when entering the SSHE, already has shear thinning properties at the beginning of the process. Moreover, the unfrozen residual solution becomes increasingly shear thinning during the freezing step with the increase in the concentration of stabilizer and sugar.

4.1.2.Consistency index

Changes in the consistency index *K* in systems containing HPMC, LBG or CMC are shown in Figure 30. First, regardless of the stabilizer and sugar concentration, *K* increased with an increase in the concentration of the polymer. As polymers analyzed were thickening molecules, this character was expected to increase with an increase in their concentration; similar results have been obtained in other studies (Rao and Kenny, 1975; Speers and Tung, 1986).

In the case of HPMC and LBG solutions, the evolution of the consistency index with the concentration of the stabilizer showed similar trends: whatever the solution studied, *K* increased exponentially with an increase in the concentration of the stabilizer (*K* is plotted on a logarithmic axis on Figure 30). In the case of HPMC, the slope of the curves was nearly the same whatever the concentration of sugar or temperature. In this case, for a given polymer concentration, higher was the concentration of sugar and higher was the value of *K*. This result is not surprising, the viscosity of a sugar solution increases with an increase in sugar concentration. Concerning LBG, the slope of the curves was not the same: the variation of *K*

according to the concentration of LBG was greater in 25%wt sucrose solutions than in 45%wt or in 0% sucrose solutions. At 0.6%wt of LBG, similar values of *K* were obtained in all systems containing sucrose, regardless of the concentration of sucrose or the temperature. It revealed a specific behavior of LBG; this effect could be related to specific conformational properties of this polymer at high concentration in sucrose solutions. In the case of CMC solutions, unlike with HPMC and LBG, *K* changed linearly according to the polymer concentration (K is plotted on a logarithmic axis on Figure 30), with a change of the linear slope between 0.1%wt and 0.3% wt of stabilizer. This difference may be due to negative charges carried by CMC molecules which could induce particularities in the conformational properties of CMC; this is discussed in section 4.2.

In order to consider only the effect of the stabilizer on the consistency of the solution regardless of the effect of the solvent, the relative consistency index K_{rel} was calculated; it was defined as the ratio of the consistency to the viscosity of the solvent i.e. water or sucrose solutions analyzed at the corresponding temperature (data not shown). For all stabilizers, K_{rel} increased with an increase in the concentration in polymer and decreased when the concentration in sucrose increased. This suggests that the presence of sucrose had an influence on the thickening properties of stabilizers; polymers were allowed to develop better thickening properties with a lower concentration of sugar. With 45% of sucrose water would not be available enough to hydrate high concentrations of stabilizers.

Regarding the effect of temperature, the consistency index of solutions containing 45%wt of sucrose appeared to be close at -1.5 °C and -5.6 °C whatever the polymer. Some authors reported a significant increase (by a factor of 1.5 to 2) in the consistency index of solutions of stabilizers with a decrease in temperature (Gómez-Díaz and Navaza, 2003; Haddarah et al., 2014; Marcotte et al., 2001; Rao and Kenny, 1975; Speers and Tung, 1986). These studies were performed at positive temperature between 5 °C and 80 °C and the results may be explained by the greater range of temperatures studied than that experienced in the present study. As for *K*, a change in temperature from -1.5 °C to -5.6 °C in 45% sucrose solutions did not significantly affect K_{rel}.

The general trends in *K* show that the unfrozen residual solution of a sorbet becomes increasingly viscous during the freezing step mostly due to the increase in the concentration of stabilizers and sugar.

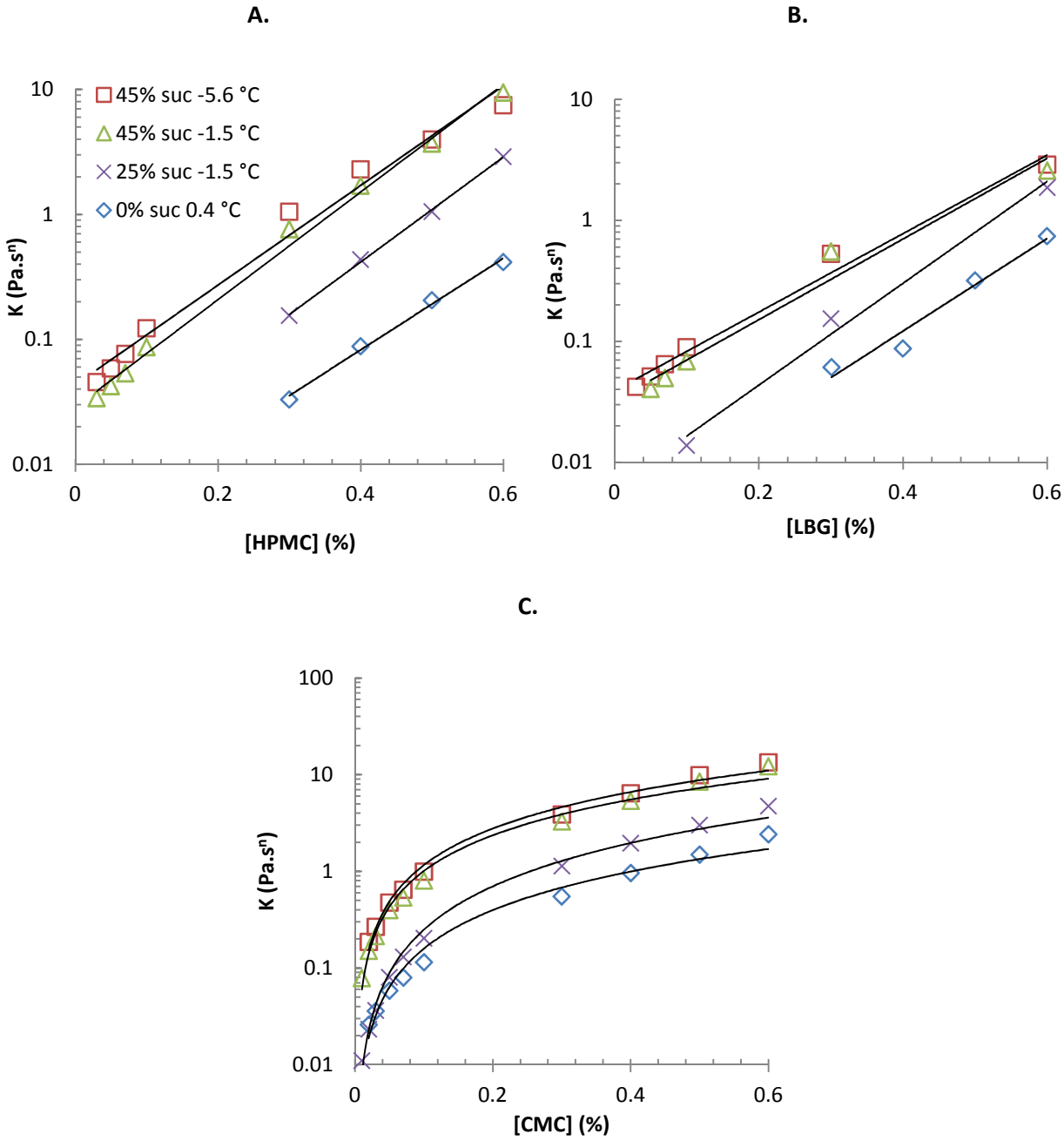


Figure 30 : Evolution of the consistency index versus concentration of HPMC (A), LBG (B) and CMC (C) solutions at several sucrose concentrations (suc: sucrose) and temperatures. The ordinate is shown in logarithmic scale.

4.1.3.Apparent viscosity as a function of the process conditions

The shear rates to which the mixes are subjected during the freezing process were calculated according to equation 31 and using the flow properties defined for each stabilizer in the section 4.1.1. The smallest shear rate of about 100 s^{-1} was encountered on the central axis of the rotor of the exchanger at the beginning of the process when the mix contains 25% of sugar and 0.3%wt of stabilizer at -1.5 °C. Conversely, the highest shear rate about 1000 s^{-1} was calculated at 1 mm of the inner wall close to the blades, with the mix characteristics

encountered at the end of the process i.e. 45% of sucrose and 0.6%wt of stabilizer at -5.6 °C. The apparent viscosities of mixes were then calculated using the Ostwald-de Waele equation (equation 1) at the corresponding shear rates at the beginning or at the end of the process, in the center or at the wall of the exchanger and for the corresponding concentrations of stabilizers. Results are listed in Table 10.

Table 10 : Apparent viscosities of solutions as a function of freezing process conditions

Process step	Conditions	Stabilizer	n	K (Pa.s^n)	η_{app} (Pa.s) Radial position in the exchanger	
					Center	Wall
Beginning	25% sucrose - 1.5°C 0.3% stab	HPMC	0.80	0.15	0.06	0.04
		LBG	0.75	0.15	0.05	0.03
		CMC	0.56	1.13	0.14	0.06
End	45% sucrose - 5.6°C 0.6% stab	HPMC	0.52	7.50	0.76	0.30
		LBG	0.56	2.89	0.36	0.15
		CMC	0.42	13.3	0.72	0.27

The apparent viscosity systematically increased between the beginning and the end of the freezing process. These results, in agreement with another study (Arellano et al., 2013b) were expected as the concentration in sugars and polymers increases during freezing (freeze-concentration of the liquid phase). Then, η_{app} was always lower at the wall of the exchanger than at the center due to the higher shear rate and to the shear thinning behavior of the mixes. At the beginning of the freezing process, the apparent viscosity of CMC solution was higher than the one of HPMC and LBG; the consistency index *K* was higher for this gum despites the higher sensitivity to shearing (lower flow index *n*). At the end of the process, when sucrose concentration was high, the apparent viscosity of LBG solutions was twice lower than the one of HPMC and CMC; it was found previously for this gum that the consistency index *K* increased less with an increase in sugar concentration. At high concentration, LBG gum seemed to exhibit specific conformational properties in sugar solutions.

These results show that, during the freezing process, the nature of the gum in the mix have an influence on its apparent viscosity: this could affect the diffusive and thermal properties (heat capacity, thermal conductivity) of the mix and finally, have an impact on the size of ice crystals at the output of a SSHE.

4.2. Intrinsic properties of stabilizers related to process conditions

Critical overlap concentrations and intrinsic viscosities were obtained by analyzing the viscosities in the Newtonian part of the flow curves of solution. A common method to identify concentration regimes is to plot the specific viscosity as a function of the polymer concentration (Figure 31).

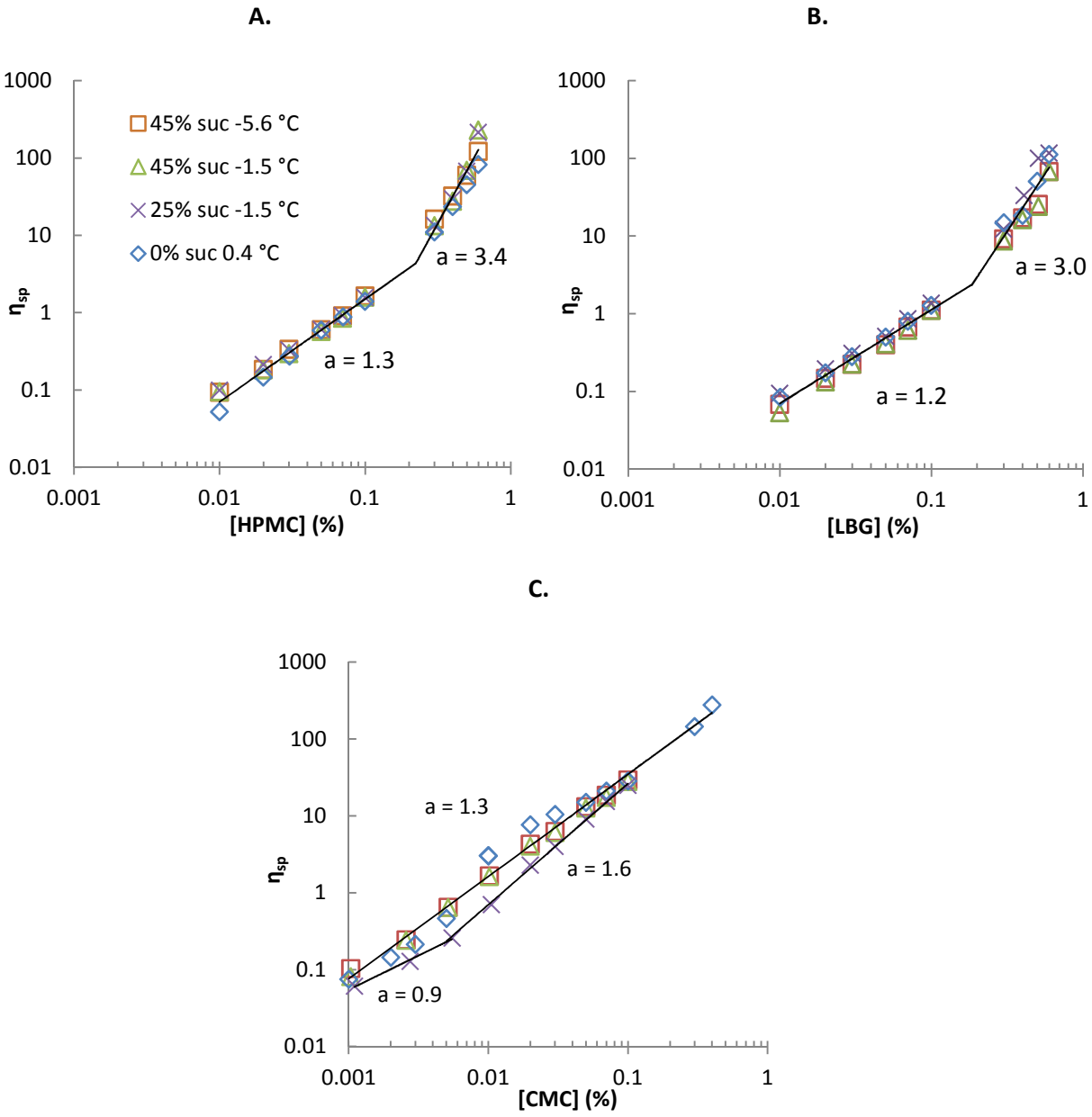


Figure 31 : Specific viscosity versus concentration of stabilizers at several sugar concentrations and temperatures for HPMC (A), LBG (B) and CMC (C). The axes are shown in logarithmic scale. Lines represent the best power law fits, the power law exponents *a* are provided below the corresponding curve.

For HPMC and LBG (Figure 31 (A) and (B)) the curve presented a discontinuity in the concentration dependence of specific viscosities that defined the initial onset of the overlap of the polymer. The critical overlap concentrations C* of HPMC and LBG was estimated to be about 0.22%wt and 0.18%wt respectively. For these two stabilizers, C* did not vary with the process conditions (concentration of sugar or temperature). In addition, there was no difference in the specific viscosity between the different systems studied even when the HPMC or LBG concentration exceeded C*; this indicates that the viscosity due to the presence of HPMC or LBG would not be influenced by sugar or temperature and that a cold sucrose solution would be a good solvent for these two polymers. These results are consistent with Richardson et al. (1998) who measured a critical concentration C* of LBG equal to 0.1%wt in solutions with sucrose concentrations ranging from 1% to 40% at 25 °C.

Concerning CMC (Figure 31 (C)), C* was estimated at about 0.005%wt of stabilizer in 25% sucrose solutions. This value, about forty times lower than those obtained for HPMC and LBG, would be due to the chain stretching induced by charges carried by CMC macromolecules (Colby, 2010). In pure water or with 45% of sucrose, C* could not have been obtained by plotting the specific viscosity against the concentration; no change of slope was obtained in the range of studied concentrations. This could be due to specific behavior of macromolecules in such condition as discussed later in this section.

Scaling laws have been defined for polymer solutions and each concentration regime is characterized by a power law $\eta_{sp} \sim [polymer]^{a}$. For uncharged polymers such as LBG and HPMC solvated in a good solvent, the values of the parameter *a* should be respectively 1.3, 3.9 and 3.75 for the semi-dilute non-entangled, the semi-dilute entangled and the concentrated regimes (Colby, 2010). Regarding the obtained values of the power law exponents for LBG and HPMC, they were in the same order of magnitude despite the particular conditions of this study in terms of sugar concentration and temperature. In the range of concentrations studied, solutions went from non-entangled semi diluted regime to entangled macromolecular regime. For polyelectrolyte solutions without salt, such as CMC in the conditions of this study, the power law exponents are predicted to be respectively 0.5, 1.5 and 3.75 for the semi-dilute non-entangled, the semi-dilute entangled and the concentrated regimes (Lopez et al., 2017). Values of the same order of magnitude were obtained in 25% sucrose solutions. The exponent 1.3 of the equation in other conditions would define that the entangled regime is already reached at a concentration in CMC as low as 0.001% in water or in 45% sucrose solutions.

In the case of sorbets, since the concentration of stabilizer is twice as high in the unfrozen residual solution at the end of the freezing step as in the original sorbet mix, if the initial concentration of stabilizer is higher than $C^*/2$ then the solution will change from non-entangled to entangled polymer solution during the process. The viscosity of the unfrozen solution will increase linearly since the stabilizer concentration reached C^*, then it will increase exponentially above C^* (Lapasin and Pricl, 1999). Since the concentration C^* of CMC seems significantly smaller, the change of behavior will take place earlier in the process in the case of a mix stabilized with this polymer.

The intrinsic viscosities $[\eta]$ for HPMC, LBG and CMC are given in Table 11. As they were obtained thanks to the Huggins equation for HPMC and LBG, values of Huggins parameters λ were also recorded for these two polymers. The intrinsic viscosities of CMC were obtained using the equation of Fedors. Fedors equation was also applied to HPMC and LBG (data not shown), the intrinsic viscosities were consistent when using both model.

For HPMC as for LBG, intrinsic viscosity decreased as the concentration in sucrose increased from 25% to 45%, whereas the temperature had no effect. Intrinsic viscosity $[\eta]$ of HPMC was estimated at about 70 cl/g in 45% sucrose systems whereas in 25% sucrose solution at -1.5 °C, it was found to be equal to 84 cl/g. Bustamante et al. (2005) found a value of the intrinsic viscosity of HPMC close of those obtained is this study (80.9 cl/g in water at ambient temperature). Concerning LBG, $[\eta]$ was about 78 cl/g with 25%wt of sucrose and 50 cl/g with 45%wt of sucrose whatever the temperature. The presence of sugar decreases the amount of water available for solvation of polymer; this could cause a fold of macromolecules as long as the freezing takes place. Elfak et al. (1977) also observed a decrease in the intrinsic viscosity of LBG with an increase in the sucrose concentration: $[\eta]$ was 68 and 53 cl/g with respectively 20% or 40% of sucrose. Richardson et al. (1998) also obtained a decrease of $[\eta]$ from 153 cl/g in a 20% sucrose solution to 114.7 cl/g in a 40% sucrose solution. The difference in the absolute values of intrinsic viscosity between these studies should be due to a difference in molecular weight; furthermore they were both conducted at ambient temperature.

The Huggins coefficient increased when the sugar concentration increased; λ exceeded 1 in solutions containing 45%wt of sucrose whatever the temperature of analysis. This confirms that solvation of LBG and HPMC is progressively less satisfactory as the residual solution concentrates during the freezing process.

Table 11 : Intrinsic viscosities of HPMC, LBG and CMC and Huggins parameters of HPMC and LBG

Solvent & temperature	[η] (cl/g)			λ	
	HPMC*	LBG*	CMC**	HPMC	LBG
45% sucrose -5.6 °C	69.9 ± 3.8a	50.6 ± 3.1c	801 ± 27e	1.1	1.4
45% sucrose -1.5 °C	67.7 ± 4.5a	48.3 ± 2.9c	623 ± 13f	1.1	1.6
25% sucrose -1.5 °C	84.1 ± 2.1b	78.3 ± 4.6b,d	497 ± 32g	0.7	0.7
0% sucrose 0.4 °C	71.5 ± 4.4a,d	76.3 ± 6.7b,d	684 ± 31f	1.4	0.9

*Values for HPMC and LBG were obtained with the Huggins equation **Values for CMC were obtained thanks to the Fedors equation. (Different lower case letters indicate significant differences between values, $p < 0.05$)

Concerning CMC, the intrinsic viscosities were always much higher than those observed for HPMC and LBG. The pH of solutions was measured and it was found to be close to neutrality. At this pH, 99% of the carboxylic groups would be dissociated and it is likely that electrostatic repulsions occurred. Either the molecular weight of CMC was much larger or the chain of CMC was particularly expanded. At low concentration, a weak acid polyelectrolyte has a high dissociation rate which will promote high intrachain repulsive interactions resulting in a much more stiff chain instead of a coil state obtained with a more flexible polymer (Chatterjee and Das, 2013). In water without salt, a high [η] is then obtained compared to which would be observed in a low ionic strength solution that would reduce the polyelectrolyte effect (Arinaitwe and Pawlik, 2014; Chatterjee and Das, 2013). In the present study, the objective was to define the behavior of CMC in realistic conditions of sorbet mixes in which no salt is added. Values of the same order of magnitude were obtained by Arinaitwe and Pawlik (2014). The authors evidenced a low effect of substitution but a high effect of molecular weight. They did not observe any effect of a change of temperature from 25 °C to 50 °C on the intrinsic viscosity of CMC in aqueous solutions. In the present study, increasing the concentration in sucrose from 25% to 45% or decreasing temperature from -1.5 °C to -5.6 °C in the presence of 45% of sucrose resulted in an increase in the intrinsic viscosity of CMC. The presence of sucrose and the decrease in temperature may encourage interactions between unsubstituted regions of the polymer chains by decreasing solvation and increasing stiffness of the molecule. Therefore the intrinsic viscosity obtained would be that of aggregates of extended molecules; the aggregation would be due to the interactions between unsubstituted zones while the expansion would be due to the electrostatic repulsions between dissociated carboxylic groups. The higher intrinsic viscosity of CMC at 0% sucrose than at

25% of sucrose tends to evidence that polymer association would persist even in more diluted solution due to unsubstituted part in the chain. These results are consistent with the analysis of the critical concentration of entanglement.

Another method to evaluate the critical overlap concentration is to consider the inverse of the intrinsic viscosity (Weissberg et al., 1951). Since this study allowed to obtain an intrinsic viscosity per studied system, an interval of C* was calculated for each stabilizer. For LBG and HPMC the determined C* were slightly lower than the ones obtained through the specific viscosity versus concentration curve (between 0.12% and 0.15% for HPMC, between 0.13% and 0.21% for LBG). It could highlight that the polymer may tend to compress before entanglement (Richardson et al., 1998). For CMC there was a more important discrepancy between the two methods (2 to 4 times higher when considering the inverse of the intrinsic viscosity which evaluated C* between 0.01% and 0.02%). This could result from the difficulty to assess C* through the change in slope of specific viscosity versus concentration.

4.3. Viscoelastic properties of the final unfrozen phase

The viscoelastic properties of solutions were also analyzed since they could have some strong effects on the freezing mechanisms of a sorbet mix (Marshall et al., 2003). Results obtained with 45% sucrose solutions and 0.6% stabilizer at -5.6 °C are shown in Figure 32.

HPMC and LBG showed a typical macromolecular solution behavior (Figure 32 (A) and (B)): G" was larger than G' over the entire frequency range but they approached each other at higher frequencies. Concerning CMC (Figure 32 (C)), the mechanical spectra was representative of a concentrated solution with G'' close to G' at low frequency, a cross-over and then G' predominating at higher frequencies, showing for these frequencies a clear tendency for more solid-like behavior; interactions between polymer were dominant.

The results are consistent with the observed increased in intrinsic viscosity mentioned above. Doyle et al. (2006) systematically obtained gels by freezing and thawing solutions containing LBG, at higher concentration than in the present study (1%) and for several concentrations of sucrose. In this study, the strength of the gel seemed to depend on the sucrose concentration (with a maximum strength obtained for 50% sucrose) and on the galactose content of LBG molecules which would prevent the intermolecular associations between mannan sequences by steric hindrance. As a result, it is not surprising that two different LBG samples with probably different mannose/galactose ratios have different viscoelastic properties; different

LBG concentrations and different methods of sample preparation can also explain these differences.

Although the ice crystallization phenomena in such polymers solutions has not been clearly related to the viscoelastic properties of polymer solutions, the bonds between the CMC molecules at the origin of the solid properties of the system may have a different effect on crystallization than the predominantly liquid systems obtained with HPMC or LBG. This could influence the diffusion properties of water or sucrose molecules or promote mechanical resistance to crystal growth (Blond, 1988; Goff et al., 1999; Muhr and Blanshard, 1986).

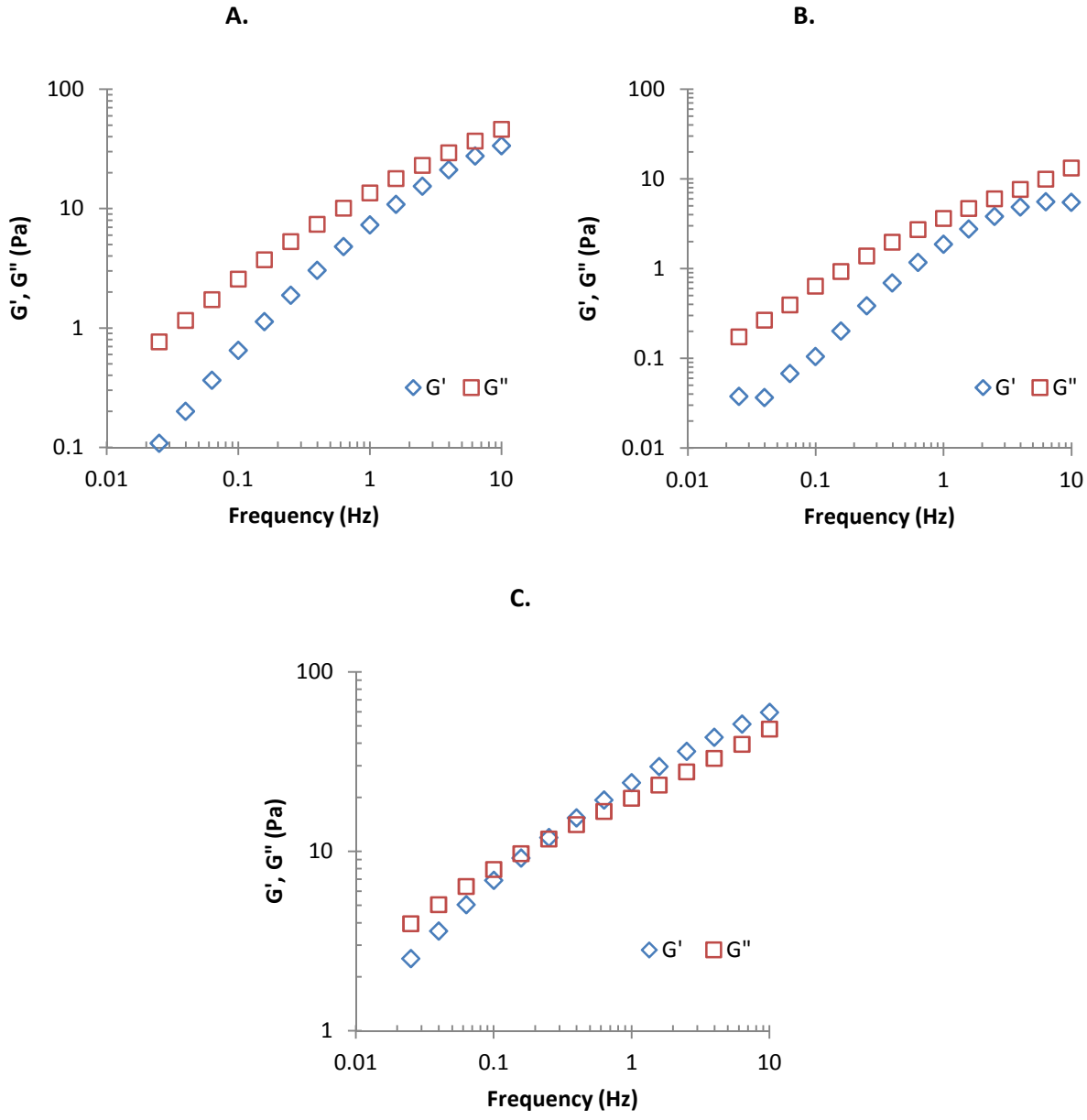


Figure 32 : Storage (G') and loss (G") moduli as a function of frequency (0.03 – 10 Hz) at -5.6 °C for 0.6%wt stabilizer in 45%wt sucrose solution (A), HPMC (B) LBG (C) CMC.

5. Conclusions

As shown by flow behavior data, the unfrozen phase of a sorbet containing sugars and stabilizers becomes increasingly shear thinning and viscous as the freezing step proceeds. Apparent viscosities of solutions calculated at shear rates encountered in a scraped surface heat exchanger indicate that the unfrozen phase is more viscous in the center of the exchanger than that near the walls and not in the same proportion according to the stabilizer. Compared to HPMC and CMC, LBG provides less increase in viscosity as the sugar and stabilizer concentration increase. This could be explained by a less solvation of hydrocolloids in sucrose solutions. The intrinsic viscosity of LBG decreases twice more than that of HPMC. CMC reveals a high shear thinning behavior and it seems more expanded as concentrations in polymer and sucrose increase. Moreover CMC solution shows dominant elastic behavior while HPMC and LBG give dominant viscous behavior.

Finally, the present study allowed characterizing the rheological properties of the unfrozen phase of a sorbet, which concentrates during the process. These results will be confronted with analyzes of the size of the ice crystals during the process and at the end of freezing step. The global objective is to conclude about the prospective link between the rheology of the unfrozen phase due to the presence of stabilizers and crystallization i.e. ice crystals size. As polymers do not exhibit the same flow behaviors or tendencies to create a gel, blends of hydrocolloids could also be analyzed as they are mainly used in the industry. They may exert possible synergistic effects at temperature below zero and with addition of sucrose.

II. Influence des stabilisants sur la mobilité moléculaire dans des solutions sucrées et à températures négatives

II.1. Introduction

La mobilité moléculaire est l'un des mécanismes intervenant lors de la croissance cristalline ; pour que les cristaux croissent en cours de procédé de congélation d'un sorbet, les molécules d'eau doivent migrer en direction des cristaux préexistants tandis que les molécules de soluté (sucres, stabilisants), doivent migrer à contre-sens. Les données relevées lors de l'étude bibliographique montrent que la LBG n'aurait pas d'influence sur la mobilité moléculaire dans la solution résiduelle d'un sorbet à -15 °C. L'HPMC et la CMC n'ont pas été étudiées dans la littérature.

Cette partie de la thèse est dédiée à l'analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN) de la mobilité des molécules d'eau au sein de solutions sucrées et stabilisées. Afin de se placer dans des conditions de mesure telles que l'analyse RMN soit la plus sensible, il a été décidé de focaliser cette étude sur les solutions les plus concentrées, à savoir celles représentant la solution résiduelle non congelée en fin de procédé. Des mesures ont aussi été effectuées avec une concentration de stabilisant plus élevée, égale à 1%. Les coefficients de diffusion *D* ainsi que les temps de relaxation T_2 ont été obtenus et l'effet des stabilisants, de leur concentration et de la température sur ces paramètres a été caractérisé.

II.2. Influence des stabilisants sur la diffusion des molécules d'eau

Les coefficients de diffusion *D* des molécules d'eau obtenus à deux températures différentes (-1,5 °C ou -5,6 °C) dans des solutions contenant 45% de saccharose et 0,6% ou 1% d'HPMC, de CMC ou de LBG sont montrés dans le Tableau 12.

A -5,6 °C, température proche de celle du sorbet en fin de congélation dans un ECSR, les stabilisants diminuent significativement le coefficient de diffusion des molécules d'eau quelle que soit la concentration étudiée. La solution témoin sans stabilisant est caractérisée par un coefficient de diffusion *D* égal à environ 200 $\mu m.s^{-1}$ tandis que les mixes de sorbets stabilisés donnent des valeurs entre 146 et 175 $\mu m.s^{-1}$.

Pour une concentration en stabilisant donnée, les trois stabilisants donnent des coefficients de diffusion similaires. Il n'est donc pas possible de différencier les propriétés des polymères. L'étude rhéologique a révélé qu'à 45% de sucre, 0,6% de stabilisant et -5,6 °C, l'indice de

consistance *K* est égal à respectivement 2,9 Pa.s^n, 7,5 Pa.sn et 13,5 Pa.sn pour la LBG, l'HPMC et la CMC (Figure 30). L'indice de consistance est une estimation de la viscosité d'une solution au repos (comme c'est le cas dans un tube de RMN, immobile pendant l'analyse). D'après la loi de Stockes-Einstein, il pouvait être attendu que dans ces conditions, la diffusion soit plus diminuée en présence de CMC qu'en présence d'HPMC ou de LBG. A notre connaissance, aucune étude ne compare l'effet de ces trois stabilisants sur la diffusion des molécules d'eau ou n'établit de lien formel entre la viscosité apparente d'une solution d'épaississant et le coefficient de diffusion de l'eau. De plus, cette loi est établie pour des molécules sphériques, en mouvement permanent et uniforme, il est donc difficile de prédire si elle s'applique dans le cas de la diffusion des molécules d'eau dans un mix de sorbet stabilisé en cours de congélation.

Tableau 12 : Coefficient de diffusion des molécules d'eau dans des solutions contenant 45% de saccharose et 0,6% ou 1% d'un stabilisant (CMC, LBG ou HPMC) à deux températures

	D (µm².s^{-1})						
	45% sacc.	45% sacc. 0,6% CMC	45% sacc. 0,6% LBG	45% sacc. 0,6% HPMC	45% sacc. 1% CMC	45% sacc. 1% LBG	45% sacc. 1% HPMC
-5.6 °C	203 ± 5 a	175 ± 1 b	169 ± 4 b	161 ± 9 b, c	146 ± 9 c	161 ± 9 b, c	152 ± 4 c
-1.5 °C	216 ± 5 d	-	-	-	196 ± 3 a	199 ± 5 a	205 ± 6 a, d

Des lettres minuscules différentes illustrent une différence significative ($p < 0,05$).

L'effet de l'augmentation de la concentration en stabilisant sur le coefficient de diffusion mesuré à -5,6 °C n'est significatif que dans le cas de la CMC pour lequel on observe une légère diminution. Comme discuté précédemment, la solution contenant 45%$_m$ de saccharose et 0,6%$_m$ de CMC est plus consistante que celles contenant les mêmes concentrations de saccharose et d'HPMC ou de CMC. La viscosité intrinsèque de la CMC est également bien supérieure à celles des deux autres stabilisants (Table 11). D'après l'équation de Huggins, la viscosité d'une solution (et donc son indice de consistance si on considère une solution au repos) augmente avec le carré de la viscosité intrinsèque. Il est donc probable que la viscosité de la solution augmente de manière plus importante lorsque la concentration en stabilisant augmente dans le cas de la CMC que dans le cas de l'HPMC ou de la LBG ; une telle augmentation de la consistance pourrait expliquer la diminution de la diffusion des molécules d'eau lorsque la concentration en CMC augmente jusqu'à 1%$_m$.

L'effet de la température entre -5,6°C et -1,5 °C a été étudié en analysant les solutions contenant 45%$_m$ de saccharose et 1%$_m$ de stabilisant ainsi que la solution témoin contenant la même concentration de saccharose. Alors qu'à -5,6 °C la présence de stabilisant à 1%$_m$ diminue la diffusion de l'eau, l'effet n'est pas observé de façon significative à -1,5 °C (moins de 10% de diminution par rapport à la diffusion dans une solution sucrée). A -1,5 °C, les molécules d'eau seraient donc libres de diffuser même en présence de stabilisants, et ce bien que la viscosité soit plus importante.

En l'absence de stabilisant, une baisse de la température de -1,5 °C à -5,6 °C n'a que peu d'effet sur la diffusion des molécules d'eau compte tenu de la sensibilité de la mesure (moins de 6% de diminution lorsque la température diminue). A l'inverse, la diffusion diminue significativement en présence de l'un des trois stabilisants lorsque la température diminue. Ceci semble indiquer qu'il y aurait un effet synergique entre la baisse de la température et la présence de stabilisants, celui-ci n'a à notre connaissance pas été constaté dans la littérature. La viscosité d'une solution contenant 45% de saccharose n'est que peu influencée par une baisse de la température de -1,5 °C à -5,6 °C (respectivement 27 et 36 mPa.s). Mesurés à des concentrations de 0.6%$_m$ en stabilisants, les indices de consistance des solutions contenant 45% de saccharose ne sont également que peu impactés par une telle baisse de la température (Figure 30). Finalement, il semble difficile d'établir un lien entre l'effet synergique baisse de la température / présence de stabilisants et l'évolution de la viscosité des solutions, stabilisées ou non, lorsque la température diminue.

II.3. Influence des stabilisants sur la relaxation des molécules d'eau

Les temps de relaxation T_2 des molécules d'eau (obtenu en RMN de l'oxygène ^{17}O) dans des solutions contenant 45%$_m$ de saccharose et 0,6%$_m$ ou 1%$_m$ d'un stabilisant, mesurés à -1,5 °C ou -5,6 °C, sont montrés dans le Tableau 13. Les mêmes tendances que celles obtenues en RMN DOSY du proton ^1H sont observées, ce qui tend à valider l'ensemble des analyses RMN.

A -5,6 °C, les stabilisants diminuent significativement le temps de relaxation T_2 comparé à la solution témoin non stabilisée. A -1,5 °C, les valeurs de T_2 sont identiques à celles obtenues pour la solution de sucre seul, les stabilisants n'ont pas d'effet sur le temps de relaxation. Pour une même température, des valeurs de T_2 identiques sont obtenues quel que soit le stabilisant Ce temps de relaxation reflète les mouvements de rotation des molécules d'eau qui

sont alors identiques en présence des trois stabilisants étudiés. Là encore la concentration en stabilisants ne modifie pas significativement les temps de relaxation.

La diminution de la température, n'a pas d'effet sur le temps de relaxation de l'eau dans la solution non stabilisée elle le diminue significativement dans les solutions contenant de la CMC ou de l'HMPC. L'effet couplé de la diminution de la température et de la présence de stabilisant est donc à nouveau observé.

Tableau 13 : Temps de relaxation T_2 des molécules d'eau dans des solutions contenant 45% de saccharose et 0,6% ou 1% d'un stabilisant (CMC, LBG ou HPMC) déterminés à deux températures.

	T_2 (ms)						
	45% sacc.	45% sacc. 0,6% CMC	45% sacc. 0,6% LBG	45% sacc. 0,6% HPMC	45% sacc. 1% CMC	45% sacc. 1% LBG	45% sacc. 1% HPMC
-5.6 °C	0,62 ± 0,06 a	0,55 ± 0,05 b	0,47 ± 0,03 b	0,49 ± 0,04 b	0,46 ± 0 04 b	0,50 ± 0,04 b	0,50 ± 0,04 b
-1.5 °C	0,67 ± 0,05 a, c	-	-	-	0,60 ± 0,05 c	0,59 ± 0,05 b, c	0,71 ± 0,06 c

Des lettres minuscules différentes illustrent une différence significative ($p < 0,05$).

II.4. Conclusions

Des solutions contenant 45% de saccharose et 0,6% ou 1% d'un stabilisant (HPMC, CMC ou LBG) ont été analysées avec deux méthodes RMN. Une analyse en RMN du proton ^{1}H a été réalisée pour analyser l'influence des stabilisants sur le coefficient de diffusion des molécules d'eau et une étude en RMN de l'oxygène ^{17}O a été mise au point pour caractériser leurs temps de temps de relaxation T_2 dans les différentes solutions.

Les résultats révèlent qu'en fin de congélation, les stabilisants choisis diminuent significativement la mobilité (diffusion et relaxation) des molécules d'eau dans les conditions de concentrations (en sucre et en stabilisants) et de températures étudiées. A isoconcentration, l'HPMC, la CMC et la LBG donnent des résultats du même ordre de grandeur, il n'est donc pas possible de mettre en évidence des effets différenciés des stabilisants.

III. Propriétés tensio-actives des stabilisants en solutions sucrées et à basse température

III.1. Introduction

L'étude bibliographique a révélé qu'un sorbet contenant plus d'air serait constitué de cristaux de glace de plus petite taille. Les stabilisants pourraient avoir un effet important sur la quantité d'air incorporée dans un sorbet s'ils possèdent des propriétés de surface.

Cette partie de la thèse est dédiée à l'analyse des propriétés de surface de solutions comparables à des mixes de sorbets non congelés, contenant 25% de saccharose et un stabilisant (HPMC ou CMC ou LBG) à une concentration telle que les trois mixes stabilisés soient à isoviscosité au taux de cisaillement rencontré en début de congélation. Ces formulations sont celles qui seront utilisées pour l'étude de la cristallisation (Chapitre 4).

La tension de surface a été mesurée à l'aide de la technique de la bulle montante, les propriétés viscoélastiques de l'interface ont également été étudiées. Ces dernières pourront permettre de mieux comprendre le comportement des bulles d'air sous contrainte, comme c'est le cas lors du procédé de congélation.

Compte tenu des résultats de la littérature, il est attendu que la CMC ait peu ou pas d'effet sur la tension de surface. La LBG pourrait quant à elle diminuer la tension de surface du fait de la présence de protéines tensioactives résiduelles. Quant à l'HPMC, ses propriétés tensio-actives ont été démontrées dans des solutions à température ambiante.

III.2. Mesure de la tension de surface de solutions aqueuses

III.2.1. Effet du saccharose sur la tension de surface

L'effet du saccharose sur la tension de surface mesurée à 2 °C est illustré en Figure 33. Les courbes de l'eau pure, de la solution contenant 25% de saccharose et de la solution contenant 45% de saccharose sont superposées. La tension de surface de l'eau est de 73,4 ± 0,5 mN/m, ce qui est proche de la valeur obtenue à 5 °C par Moreira et al. (2012) (75 mN/m). Les tensions de surface obtenues pour les solutions de saccharose ne sont pas significativement différentes entre elles ni de celle de l'eau : 73.9 ± 0,3 mN/m pour la solution à 25% de saccharose et 73.9 ± 0,5 mN/m pour la solution à 45%. Ceci indique que, dans les conditions de concentration et de température de la présente étude, le saccharose ne modifie pas les propriétés interfaciales.

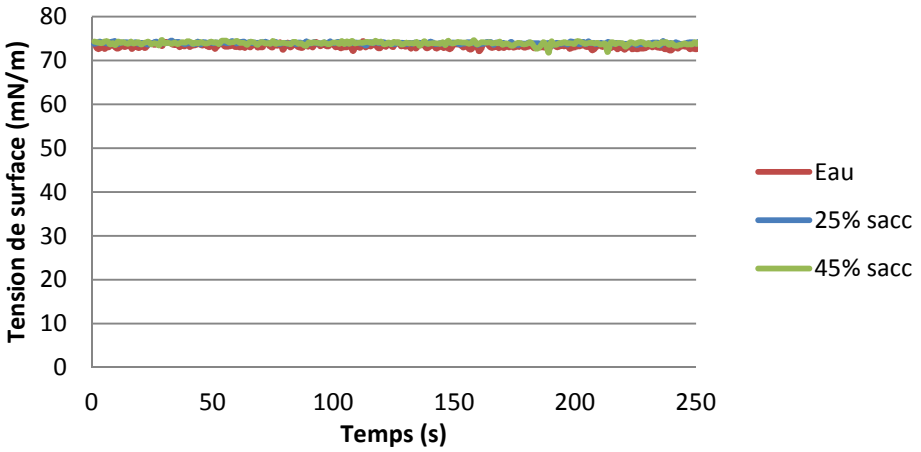


Figure 33 : Influence du saccharose sur la tension interfaciale liquide/air, mesurée à 2 °C.

Certains auteurs affirment que les solutions sucrées, de par les fortes interactions entre les molécules de sucre et d'eau, devraient conduire à des tensions de surface plus élevées, mais que l'existence d'une couche de déplétion, dans laquelle la concentration effective en sucre est plus faible que la concentration de la solution préparée, conduit à une tension de surface mesurée qui est inférieure à celle prédite tout en restant supérieure à celle de l'eau pure (Docoslis et al., 2000; Hiemenz and Rajagopalan, 2016). Ainsi à 20%$_m$ de saccharose et à 20 °C, la tension de surface serait augmentée d'environ 1 mN/m par rapport à celle de l'eau (Docoslis et al., 2000).

III.2.2. Effet des stabilisants sur la tension de surface

L'influence des stabilisants sur la tension de surface mesurée à 2 °C est montrée en Figure 34. L'allure de la courbe obtenue en présence de CMC est la même que pour le saccharose (Figure 34(a)), il n'y a pas de variation de la tension de surface en fonction du temps. La tension de surface obtenue (71.6 ± 0,6 mN/m) est légèrement inférieure à celle de l'eau. Ceci indique que dans les conditions de la présente étude, les propriétés de surface du mix contenant de la CMC sont très faibles. Soit la concentration de CMC est trop faible pour avoir une incidence sur la tension de surface, soit le temps de latence nécessaire à l'adsorption des molécules est supérieur à la durée de l'analyse (350 secondes). Il est également possible que la CMC n'ait pas d'effet tensio-actif proprement dit mais qu'il existe là encore, un effet lié à l'existence d'une couche de déplétion, comme décrit précédemment dans le cas du saccharose.

Cao and Li (2002) ont constaté une plus forte diminution (de 8mN/m par rapport à l'eau) de la tension de surface d'une solution aqueuse en présence de 0,5%$_m$ de CMC. Il est possible que cette diminution plus importante soit lié à la concentration de CMC presque 4 fois plus importante que celle de la présente étude. Il est également possible que la présence de sucre influence la mesure et que la CMC ne soit alors pas dans les meilleures conditions de conformation.

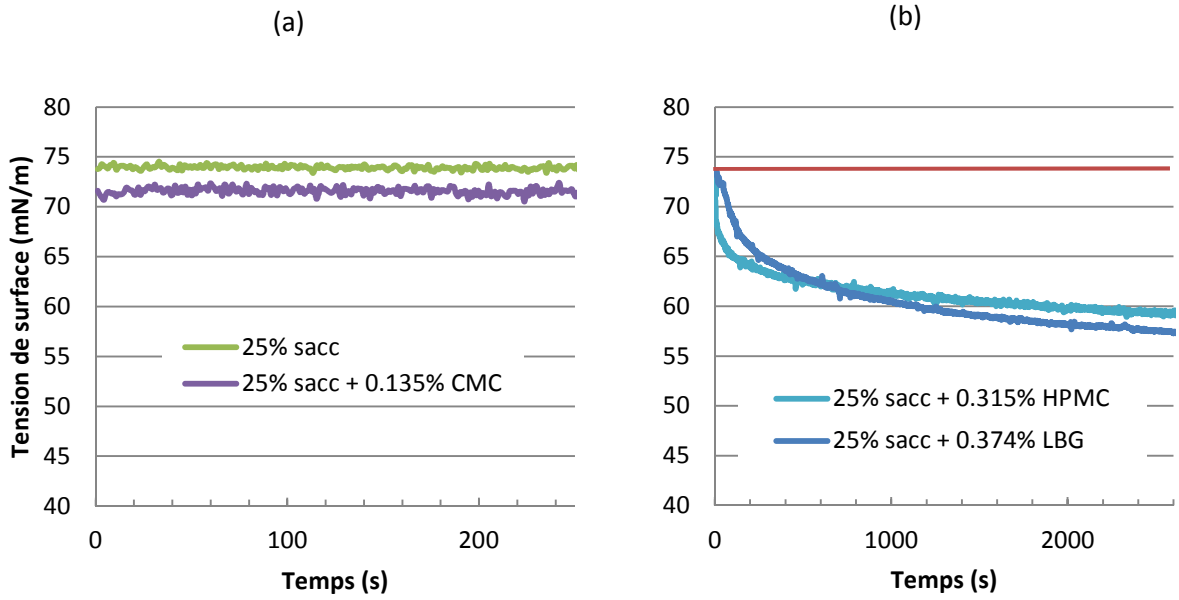


Figure 34 : Influence des stabilisants sur la tension de surface d'une solution aqueuse à 25% de saccharose, mesurée à 2 °C :
(a) Influence de la CMC
(b) Influence de l'HPMC et de la LBG. La ligne rouge représente la tension de surface d'une solution contenant 25% de saccharose.
Les courbes sont des moyennes de trois répétitions. Les différences sont significatives ($p<0,05$).

En présence d'HPMC ou de LBG (Figure 34(b)), la tension de surface diminue en fonction du temps pour atteindre des valeurs proches, respectivement 58.6 ± 0,3 mN/m et 57.2 ± 0,2 mN/m.

Concernant l'HPMC, ce résultat était attendu compte tenu de la présence de groupes hydrophobes dans la structure de ce stabilisant. La tension de surface finale obtenue est plus élevée que celles mesurées par d'autres auteurs (Gaonkar, 1991; Huc-Mathis et al., 2017), ceci s'explique facilement par le fait que ces derniers ont analysé des solutions plus concentrées en HPMC (jusqu'à 5%), et à des températures de 20 °C ou 25 °C.

Concernant la LBG, sa structure dépourvue de groupement hydrophobe ne lui confère pas, à priori, de propriétés tensio-actives. La valeur de la tension de surface obtenue est proche de

celle mesurée par Garti and Reichman (1994) dans une solution aqueuse contenant 0,3% de LBG analysée à 25 °C. Comme avancé dans le cas de cette étude, il est probable que la LBG utilisée pour ce travail de thèse, dont le degré de pureté n'est pas mentionné par le fournisseur, contiennent également des protéines qui seraient responsables de la diminution de la tension de surface.

La cinétique de la diminution de la tension de surface en fonction du temps est légèrement moins rapide en début d'analyse pour la LBG que pour l'HPMC. Afin de mieux comprendre les mécanismes de l'adsorption des molécules à l'interface air/solution, la cinétique de diminution de la tension de surface dans les solutions contenant de la LBG et de l'HPMC a également été analysée en traçant l'évolution de la pression de surface $\pi = \gamma - \gamma_{initiale}$ en fonction de la racine carrée du temps (Figure 35). Si la courbe obtenue est une droite, alors l'adsorption des molécules est essentiellement gouvernée par la diffusion des molécules en direction de l'interface.

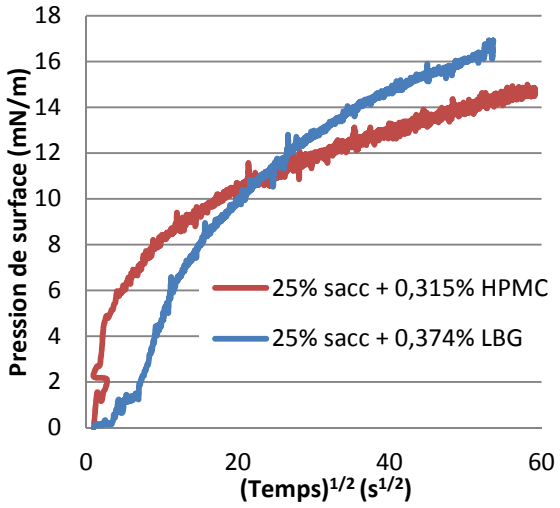


Figure 35 : Influence de l'HPMC et de la LBG sur la pression de surface d'une solution aqueuse à 25% de saccharose, mesurée à 2 °C.
Les courbes sont des moyennes de trois répétitions. Les différences sont significatives ($p<0,05$).

En présence d'HPMC, la pression de surface augmente rapidement dès les premiers instants de l'analyse ; il semble qu'il n'y ait pas de temps de latence et que l'interface liquide/air soit rapidement recouverte de macromolécules. A l'inverse en présence de LBG, l'augmentation rapide de la pression de surface survient après une courte période de latence. Les protéines tensioactives de la LBG étant à priori plus petites que les macromolécules d'HPMC, il était attendu que la diffusion soit plus rapide ; il est donc probable que cette différence soit due à la

quantité plus faible de protéines que de molécules d'HMPC. Chaires-Martínez et al. (2008) ont mesuré le taux de protéines contenues dans la LBG qu'ils ont analysée à environ 6%. La présente étude concernant une solution contenant 0,375%$_m$ de LBG, un taux de protéine identique donnerait une concentration en protéines dans la solution d'environ 0,023%$_m$. Ces protéines en très faible quantité auraient finalement besoin de plus de temps pour recouvrir totalement l'interface et influencer significativement la tension de surface.

Les deux courbes montrent ensuite une diminution de la pente de la pression de surface en fonction du temps. Ceci indiquerait que pour l'HPMC comme pour la LBG, la diffusion des molécules tensioactives ne serait pas le seul mécanisme limitant l'évolution de la pression de surface (Avranas and Tasopoulos, 2000; Huc-Mathis et al., 2017; Nahringbauer, 1995). Les mécanismes de réorganisation des molécules à l'interface en une couche ou plusieurs couches pourraient expliquer cette diminution de la pente de la courbe. Ces mécanismes pourraient également expliquer que quel que soit le stabilisant, la pression de surface ne tende pas vers un réel plateau, même après environ une heure d'analyse (Huc-Mathis et al., 2017). Par ailleurs, les évolutions différentes observées en présence d' HPMC ou de LBG laissent supposer que les réorganisations des molécules de stabilisant sont différentes, pouvant conduire à des propriétés viscoélastiques différentes entre les deux systèmes.

III.3. Effet des stabilisants sur la rhéologie dilatationnelle interfaciale

L'évolution de la tension de surface d'un mix contenant 25% de saccharose et de l'HPMC ou de la LBG lorsque la bulle est soumise à une évolution sinusoïdale de son volume a été mesurée. Ainsi les modules complexes de dilatation E* ont pu être déterminés et décomposés en modules élastiques et visqueux (respectivement E' et E''). Les valeurs obtenues dans des solutions contenant 25% de saccharose et de l'HPMC ou de la LBG sont montrées dans le Tableau 14.

Les modules complexes et élastiques sont nettement supérieurs en présence de l'HPMC qu'en présence de LBG (plus de 6 fois). Bien que Huc-Mathis et al. (2017) ait constaté l'absence de capacité foisonnante d'une solution de CMC ayant un module élastique important, un module élastique important est souvent décrit comme étant en lien avec une capacité plus importante à introduire des bulles d'air (Perez et al., 2012). Ces dernières seraient également plus homogènes (Schmitt et al., 2005) et de plus petite taille (Mezdour et al., 2017). Enfin, les bulles dont l'interface est plus élastique résisteraient mieux lors de sollicitations mécaniques extérieures (Dickinson, 1999).

Tableau 14 : Modules complexes, élastiques et visqueux de l'interface d'une bulle d'air, mesurés à 2 °C dans une solution contenant 25% de saccharose et de l'HPMC ou de la LBG.

Solution	25% saccharose + 0,315% HPMC	25% saccharose + 0,374% LBG
E* (mN/m)	173,1 ± 12,9 a	27,3 ± 0,4 b
E' (mN/m)	172,7 ± 12,8 a	26,3 ± 0,4 b
E'' (mN/m)	11,2 ± 2,8 c	7,4 ± 0,2 d

Les valeurs montrées sont des valeurs moyennes obtenues avec trois répétitions. Des lettres minuscules différentes indiquent une différence significatives ($p<0,05$).

III.4. Effet de la température sur la tension de surface

L'ensemble des résultats précédemment discutés ayant été obtenus avec des mesures réalisées à 2 °C, l'effet de la température a été vérifié à des températures compatibles avec les limites imposées par le dispositif expérimental. L'objectif de cette analyse est de voir si les résultats obtenus sont extrapolables à des températures proches de celles rencontrées en cours de procédé de congélation dans un freezer (entre -1,5 °C et -6 °C).

L'effet de la température sur la tension de surface d'une solution contenant 25% de saccharose et 0,315% d'HPMC est illustré en Figure 36. Les résultats montrent que, mesurée à des températures situées entre 2 °C et 8 °C, la tension de surface du mix de sorbet est peu ou pas affectée par une variation de la température. La tension de surface finale est proche de 59 mN/m quelle que soit la température d'analyse. La diminution de la tension de surface est cependant légèrement plus rapide à 2 °C qu'à des températures supérieures, on peut donc imaginer que lorsque la température diminue, la cinétique d'adsorption des molécules d'HPMC à l'interface air/solution est légèrement ralentie.

La tension de surface finale étant peu affectée par une variation de température entre 2 °C et 8 °C, il est possible d'imaginer que les mesures faites à 2 °C donnent des résultats proches de ce qui aurait été obtenu à -1,5 °C, température proche de celle rencontrée en début de procédé de congélation. De la même façon, il est possible qu'une baisse de la température de -1,5 °C à -6 °C, à l'image de ce qui est rencontré en échangeur de chaleur à surface raclée, n'ait que peu d'influence sur les propriétés de surface.

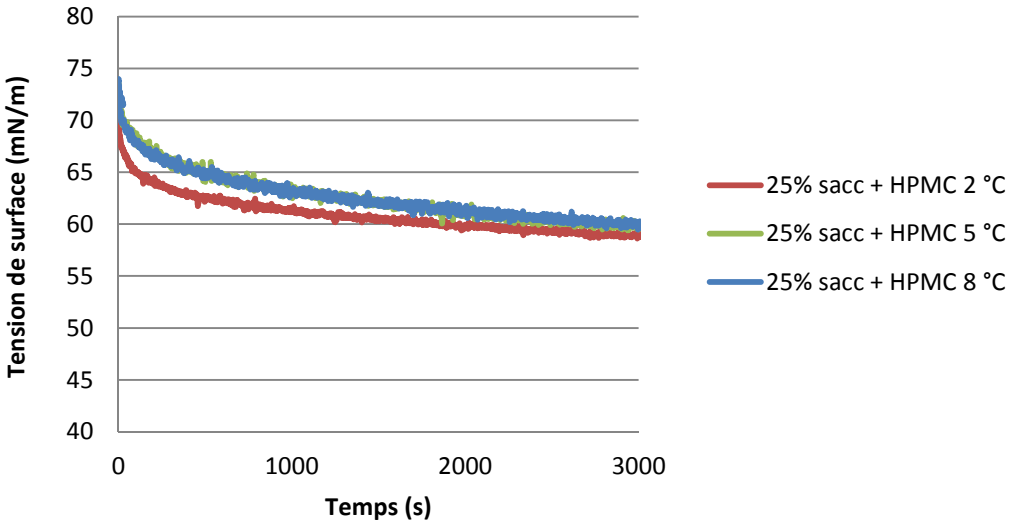


Figure 36 : Effet de la température sur la tension de surface d'une solution contenant 25% de saccharose et de l'HPMC. Les courbes sont des moyennes de trois répétitions.

Gittens (1969) a étudié la dépendance à la température de la tension de surface de l'eau. Analysée entre 5 °C et 45 °C, la tension de surface diminue linéairement lorsque la température augmente. Cependant, la diminution de la tension de surface de l'eau est faible entre 5 °C et 8 °C (les valeurs respectives sont de 75.29 mN/m et 74.83 mN/m), il n'est donc pas surprenant qu'aucune différence significative n'ait été obtenue dans le cadre de la présente étude. A notre connaissance, le lien entre variation de température et tension de surface n'a pas été étudié à des températures négatives proches de celles rencontrées lors de la congélation d'un sorbet, ni dans le cas de solutions contenant des sucres et des stabilisants, comparables à des mixes de sorbet.

III.5. Conclusions

Des mixes de sorbets contenant 25% de saccharose et de l'HPMC, de la CMC ou de la LBG ont été analysés avec la technique de la bulle montante. Les tensions de surface, après stabilisation de la bulle, ont été obtenues. Les résultats ont montré que la CMC a des propriétés de surface très faibles. A l'inverse, les mixes contenant de la LBG ou de l'HPMC présentent des tensions de surface plus basses que le mix non stabilisé et proches entre elles. Les mixes contenant de l'HPMC ou de la LBG pourraient donc incorporer plus d'air qu'un mix non stabilisé.

Les cinétiques de diminution de la tension de surface sont toutefois différentes entre la LBG et l'HPMC. Dans les conditions de notre étude, la concentration plus importante en macromolécules d'HPMC qu'en protéines de la LBG permet d'assurer une colonisation plus

rapide de l'interface. Ceci pourrait avoir une influence lors de la formation rapide des bulles en dynamique dans un échangeur de chaleur à surface raclée ; on peut s'attendre à ce que finalement, la quantité d'air incorporée ne soit pas identique dans les sorbets stabilisés avec de l'HPMC ou de la LBG.

Les propriétés viscoélastiques interfaciales de ces deux mixes ont également été analysées, les mesures ont révélé le caractère plus élastique des interfaces air/liquide du mix contenant de l'HPMC. Les bulles pourrait être plus stables lors de la congélation sous contrainte d'un sorbet stabilisé avec de l'HPMC qu'avec de la LBG. Un sorbet contenant de l'HPMC pourrait alors contenir plus de bulles qu'un sorbet contenant de la LBG, et plus de bulles de petite taille.

Concernant l'effet de la température, compte tenu de nos résultats, il est possible d'imaginer que la baisse de température pendant le procédé de congélation (d'environ 4 °C à environ -6 °C) n'ait que peu d'effet sur l'évolution de la tension de surface au sein du mix en cours de congélation.

Chapitre 4 : Influence des stabilisants sur la cristallisation lors de la congélation d'un sorbet

Le chapitre précédent a permis de caractériser les mixes de sorbets avant leur congélation. Leurs propriétés rhéologiques et tensio-actives y sont traitées et la mobilité moléculaire a également été étudiée.

L'objectif du présent chapitre est d'analyser l'influence des stabilisants sur la congélation. Dans un premier temps, les propriétés thermique d'équilibre (températures de congélation commençante et enthalpies de changement d'état des mixes de sorbets) sont étudiées.

Ensuite, le manuscrit se focalise sur l'analyse de la microstructure (taille et quantité de bulles et de cristaux) d'un sorbet frais, directement après sa congélation. Ceci a nécessité un important travail de mise au point d'un protocole expérimental en microtomographie à rayons-X, qui soit fiable, non destructif et répétable. Ce protocole a ensuite été appliqué à l'étude de la microstructure des sorbets en présence de stabilisants pour en mesurer leurs influences sur la cristallisation (taille et nombre de cristaux) mais également l'incorporation d'air.

I. Influence des stabilisants sur les propriétés thermiques des mixes de sorbet

I.1. Introduction

Bien que peu nombreuse, la littérature dédiée à l'influence des stabilisants sur la température de congélation et sur l'enthalpie de changement d'état de l'eau dans des systèmes proches de mixes de sorbets est consensuelle. Les polymères étudiés dans la littérature (dont la LBG) n'ont pas montré d'effet sur ces paramètres dans des conditions de concentrations en sucres et en stabilisants identiques à celles employées pour formuler des mixes de sorbets. Finalement, ils n'influenceraient pas la cinétique de congélation et donc pas la quantité de glace obtenue à une température donnée.

La littérature ne mentionne pas les celluloses, il a donc été décidé de vérifier l'influence de l'HPMC sur la température de congélation commençante et sur l'enthalpie de changement d'état de solutions de saccharose. De plus, des solutions contenant différentes concentrations de sucre et de stabilisant ont été analysées afin d'obtenir la courbe d'équilibre thermodynamique (ou courbe de liquidus) d'un mélange eau/saccharose/HPMC. Cette courbe a été comparée à celle du saccharose seul.

I.2. Reproductibilité de la mesure et analyse des courbes

Les courbes DSC obtenues pour les trois solutions contenant 25% de saccharose sont représentées en Figure 37(a). La figure illustre la bonne reproductibilité du protocole d'analyse, les courbes des trois essais sont superposées.

Bien que le saccharose soit un sucre simple, l'allure des courbes est plus caractéristique des solutions de polymères ou de mélanges de sucres : le pic de fusion est élargi par rapport à celui de l'eau (Figure 37(b), dont l'axe des abscisses est zoomé), et la pente du pic est concave (Lee et al., 2011). Dans ce cas, la température T_{onset} donnée par le point de départ du pic de fusion (désignée par la flèche orange sur la Figure 37(a)) sous-estime la température de congélation commençante ; il est alors préférable de la définir avec la température au pic de fusion (désignée par la flèche rouge). La température de congélation commençante d'une solution à 25% de saccharose est ainsi évaluée à -1.16 °C ± 0.14. Cette température est légèrement plus élevée que l'abaissement cryoscopique d'une telle solution calculé grâce à la loi de Raoult (-1.81 °C) et que la température obtenue à l'aide de l'équation de Bubník and Kadlec (1995) (-1.88 °C) ; il est possible que le fait de considérer la température du pic surestime légèrement la température de congélation commençante de la solution.

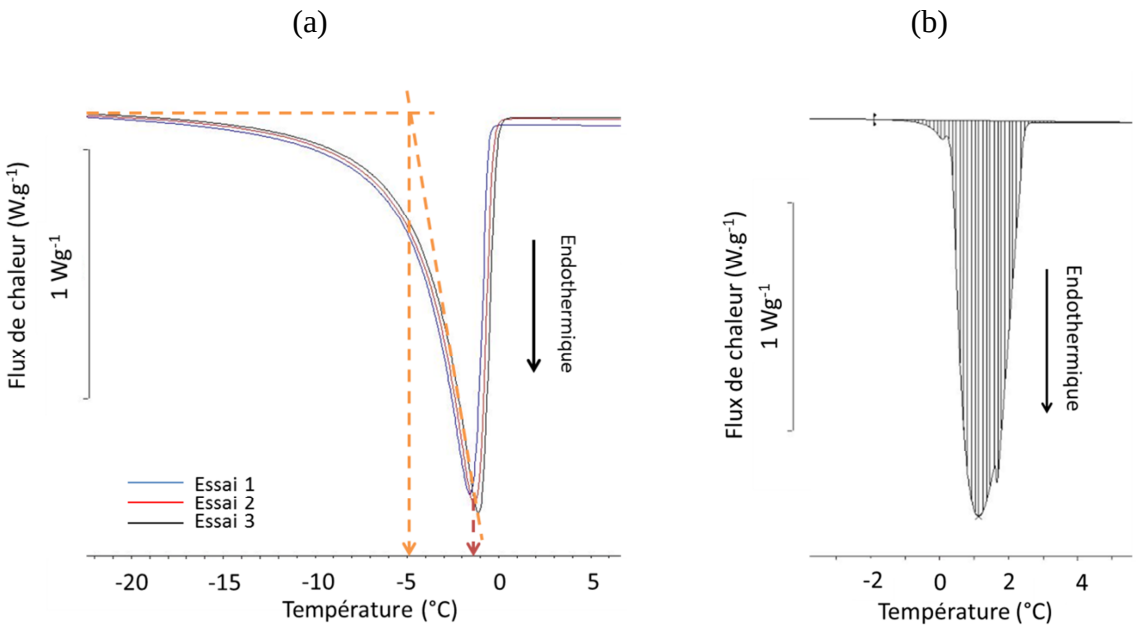


Figure 37 : Pics de fusions de trois solutions contenant 25% de saccharose (a) et de l'eau pure (b) obtenus en DSC. La flèche rouge sur la figure (a) désigne la température de congélation commençante, définie par la température du pic de fusion

L'élargissement du pic peut également avoir une influence sur l'exactitude de la valeur de l'enthalpie de changement d'état. L'objectif de cette étude étant essentiellement de vérifier

l'influence de l'HPMC sur la température de congélation commençante et l'enthalpie de changement de phase, les courbes seront superposées pour être comparées mais les valeurs absolues des températures et des enthalpies ne seront pas discutées en tant que telles dans la suite de cette partie. L'enthalpie de changement de phase étant liée directement à l'aire du pic de fusion, deux pics superposés et donc de même aire indiquent une même enthalpie de changement de phase.

I.3. Effets de la présence de l'HPMC

L'influence de l'HPMC sur la congélation de solutions contenant 25% et 45% de saccharose est illustrée en Figure 38. Avec ou sans HPMC, les pics des solutions contenant respectivement 25% et 45% de saccharose se superposent. La position du pic et son aire ne sont pas influencés par la présence d'HPMC. Ceci indique que pour ces concentrations en saccharose, l'HPMC n'a pas d'effet sur la température de congélation commençante ni sur la chaleur latente de fusion.

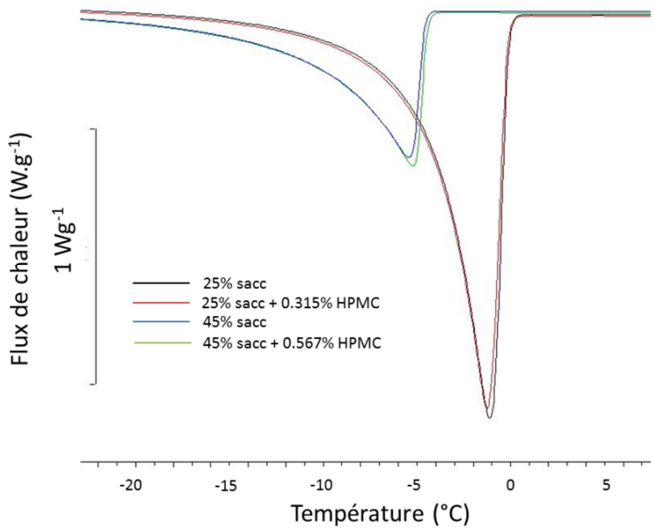


Figure 38: Pics de fusion de solutions de saccharose et de solutions contenant du saccharose et de l'HPMC, obtenus par DSC.

L'évolution des températures de congélation commençante des solutions de saccharose contenant ou non de l'HPMC a été tracée en fonction de leur concentration en saccharose. Les courbes de liquidus obtenues sont comparées en Figure 39. Les courbes de liquidus du saccharose et du mix saccharose + HPMC sont très proches, l'HPMC semble ne pas avoir d'effet sur la cinétique de congélation d'une solution de saccharose. Ce résultat était attendu compte tenu des premières observations (Figure 38), ceci confirme que l'équilibre de

changement d'état eau liquide/glace dans les solutions sucrées n'est pas déplacé par la présence d'HPMC.

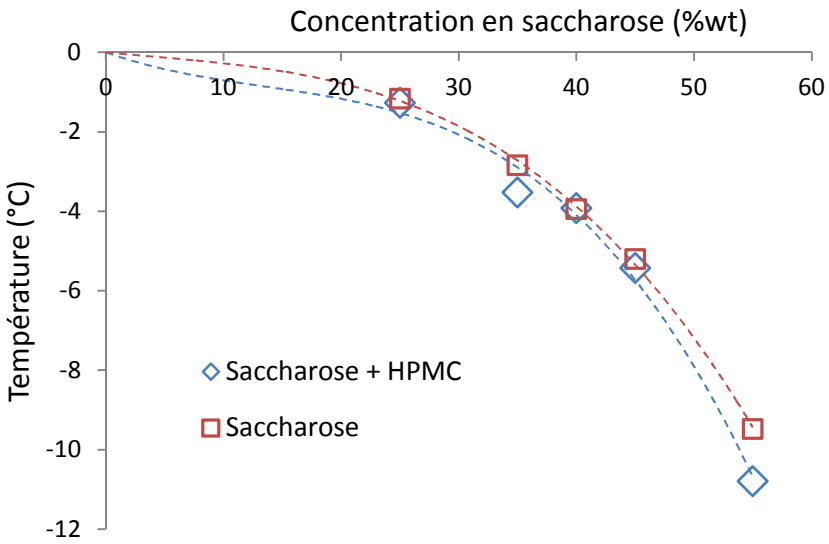


Figure 39: Courbes de liquidus d'une solution de saccharose, et d'une solution de saccharose contenant de l'HPMC.

I.4. Conclusions

L'effet de l'HPMC sur la température de congélation et l'enthalpie de changement d'état de solutions contenant de 25% à 55% de saccharose a été analysé. Les courbes de liquidus d'une solution aqueuse de saccharose et d'un système eau/saccharose/HPMC ont été obtenues, elles sont très proches.

L'HPMC, dans les conditions de concentrations rencontrées dans les mixes de sorbets, n'aurait donc pas d'effet sur l'équilibre de changement d'état eau liquide/glace dans les solutions sucrées. La température de congélation commençante du mix ne serait pas affectée, l'enthalpie de changement d'état (et donc la quantité de glace obtenue à une température donnée) ne serait pas impactée non plus. Ces résultats sont conformes à la littérature décrite pour d'autres stabilisants.

II. Mise au point d'une technique d'analyse de la microstructure d'un sorbet frais en microtomographie à rayons-X

II.1. Introduction et objectifs de l'étude

L'étude bibliographique a révélé l'absence de littérature dédiée à l'analyse de sorbets frais, directement après l'étape de congélation en ECSR. D'autre part, les articles consacrés à l'étude de la microstructure des sorbets ont tous été réalisés grâce à des techniques microscopiques, puissantes mais parfois destructives pour l'échantillon ; l'interprétation quantitative des données est également délicate puisque les images obtenues sont souvent en deux dimensions.

Le but de cette partie du travail de thèse est d'adapter l'utilisation de la microtomographie à rayons X à l'étude des sorbets frais, directement après leur congélation en ECSR. Les objectifs de la présente étude sont :

- l'établissement d'un protocole d'acquisition d'images en microtomographie de paillasse applicable à l'analyse des sorbets fraichement congelés ;
- le choix d'algorithmes de traitements d'image (reconstruction en 3D et segmentation des objets à analyser), des paramètres adéquats de ces algorithmes et leur application à l'étude des différentes phases constitutives d'un sorbet, et notamment les cristaux de glace et les bulles d'air. Le traitement d'image a pour objectif d'obtenir une information à la fois d'ordre qualitatif et quantitatif de la distribution des bulles et des cristaux.

Cette étude ayant fait l'objet d'une publication apparaissant à la fin de cette partie, un rappel synthétique de l'étude et des résultats est donné ci-après.

Trois mixes de sorbets contenant de l'eau et 25% de saccharose ont été congelés jusqu'à -6 °C (température de sortie d'un sorbet d'un freezer industriel) à l'aide du freezer domestique fonctionnant en batch et présenté dans le paragraphe 3.3 du chapitre 2 (matériels et méthodes).

Un batch de sorbet a été fabriqué par échantillon. L'échantillon de sorbet est prélevé directement dans la cuve du freezer et aussitôt analysé en microtomographie à rayons X de paillasse avec une résolution d'environ 9 µm. Une boite isotherme a été conçue à l'aide d'une

imprimante 3D. Sa capacité à maintenir l'échantillon à une température proche de -6°C pendant l'analyse a été étudiée afin de fixer la durée de l'analyse microtomographique. Un agent de contraste (iodure de sodium) a été ajouté à 3%wt dans les mixes de sorbet (Pinzer et al., 2012) et sa capacité à augmenter le contraste tomographique entre la phase non congelée et les cristaux de glace a été vérifiée. Enfin, les images obtenues ont été traitées pour obtenir une visualisation en 3D des cristaux de glace et des bulles d'air ainsi que des données quantitatives sur ces deux phases : fractions massique (pour les cristaux) et volumiques (pour les deux phases), nombres et tailles des particules.

Afin de comparer la méthode microtomographique à une autre méthode de caractérisation, utilisable en température négative et permettant une haute résolution, et un sorbet fraichement congelé a également été visualisé au cryo-MEB dans un laboratoire extérieur

II.2. Principaux résultats

Grâce aux mesures thermiques effectuées dans la boite isotherme contenant un échantillon de sorbet congelé, il a été démontré que ce système peut maintenir le sorbet congelé à une température située entre -7 °C et -8 °C pendant environ 20 minutes. Pour s'assurer qu'aucune fonte de l'échantillon n'ait lieu pendant l'analyse tomographique tout en permettant une bonne qualité des images acquises, la durée des acquisitions tomographiques a été fixée à 12 minutes.

Les histogrammes des images en niveaux de gris obtenues avec ou sans agent de contraste ont été tracés. L'iodure de sodium a permis d'observer un meilleur contraste de phase entre les cristaux de glace et la phase aqueuse non congelée. En effet, en présence d'iodure de sodium, les deux phases aqueuses sont plus nettement séparées et il est possible de distinguer les cristaux de la matrice grâce à l'histogramme.

Les deux phases d'intérêt (air et cristaux) n'ayant pas les mêmes propriétés d'absorption des rayons X, des algorithmes de segmentations différents ont été choisis sur le logiciel Avizo ; ces algorithmes ont montré qu'ils étaient pertinents pour la séparation des objets à analyser.

Finalement, le traitement d'image appliqué a permis d'obtenir les données quantitatives désirées concernant les bulles d'air et les cristaux de glace. Les bulles d'air occupent environ 6% du volume du sorbet et mesurent en moyenne environ 125 µm dans un sorbet frais eau/saccharose. Cette valeur moyenne admet un écart type important, de l'ordre de 10%, ce

qui témoigne de l'hétérogénéité importante de la taille des bulles. Ce résultat n'est pas étonnant compte tenu de la formulation du sorbet, ne contenant pas de stabilisant épaississant ou tensio-actif qui aurait pu stabiliser la taille des bulles d'air. La fraction massique de glace est estimée à 48%, et la taille moyenne des cristaux est d'environ 63 ± 1,5 µm. Ces valeurs sont proches de celle obtenues dans la littérature.

Les cristaux de glace ont été visualisés en cryo-MEB et le traitement d'images donne une taille moyenne du même ordre de grandeur que celle obtenue en microtomographie. La microscopie a donc permis de confirmer l'analyse microtomographique des cristaux de glace et les résultats obtenus en termes de taille. Les bulles d'air n'ont pas pu être observées en cryo-MEB ; il est probable qu'en raison du faible volume d'air incorporé au sorbet, il n'y ait pas eu de bulle dans le plan de fracture visualisé en microscopie.

II.3. Article publié dans Journal of Food Engineering: « Analyzing the microstructure of a fresh sorbet with X-ray micro-computed tomography: sampling, acquisition and image processing »

1. Abstract

X-ray micro-computed tomography and image processing techniques were used to analyze fresh frozen sorbets at the outlet of a batch freezer. Sorbets made from water and sucrose were visualized and their microstructure was quantified with a resolution of 9 µm. Sodium iodide was confirmed to enhance the contrast between the unfrozen water and ice in sorbets. A thermostated box was employed to keep the samples at frozen state and constant temperature (close to -6 °C) during imaging. A reproducible quantification of size distributions and volume fractions of ice crystals and air bubbles were obtained. Data concerning ice crystals were in agreement with cryo-SEM imaging. Ice crystals represented approximately 50%wt of the product and their mean size was about 60 µm whereas air bubbles represented about 6% of the volume. Finally, X-ray microtomography equipped with a thermostated box was found to be a particularly relevant technique for the analysis of the microstructure of frozen desserts.

Keywords

Fresh sorbet ; Microstructure ; X-ray micro-computed tomography ; image processing.

2. Introduction

A sorbet is a frozen and multiphasic system, with ice crystals and air bubbles as dispersed phase, and an unfrozen cryoconcentrated solution as continuous phase. The freezing step takes place in a scraped surface heat exchanger (SSHE) or freezer, and is the core of the manufacturing process. The mixture of the ingredients, or mix, enters the freezer at approximately 4 °C; ice crystals and air bubbles are generated while the residual matrix containing unfrozen water is continuously concentrated into solids components (i.e. sugars, stabilizers). At the outlet of the exchanger, the sorbet contains an average of 40%wt of ice and air accounts for up to 30% of the volume. The final temperature of the product is between -5 °C and -6 °C (Clarke, 2012; Goff and Hartel, 2013; Stogo, 1998). Ice creams, sorbets and their derivatives are consumed at frozen state, so their sensory properties are strongly dependent on ice crystals features (i.e. number and size). Controlling the amount of air is another important factor as air has also a significant influence on the textural properties of the finished product (Clarke, 2012; Goff and Hartel, 2013). The unfrozen phase, which is cryoconcentrated in sugars and stabilizers during the freezing process, also has an effect on the structural and textural properties of a sorbet. Moreover, the increase in concentration of solids as well as the decrease in temperature influence the viscosity of this unfrozen phase (Masselot et al., 2020a); this could have an effect on heat transfers or on diffusion mechanisms necessary for crystallization (Marshall and Goff, 2003).

Microscopic techniques, such as Scanning Electron Microscopy (SEM) or cryo-SEM, Transmission Electron Microscopy (TEM) and optical microscopy were often used to study ice crystals and air bubbles size and distribution in ice creams or sorbets. Several authors studied the effect of formulation with cryo-SEM (Fernandez et al., 2007; Flores and Goff, 1999b; Goff et al., 1993; Yuennan et al., 2014) or using thermostated optical microscopic devices (Bolliger et al., 2000; Chang and Hartel, 2002a; Donhowe et al., 1991; Drewett and Hartel, 2007; Faydi et al., 2001). Other microscopic studies focused on the influence of freezing parameters or of storage conditions (Caillet et al., 2003; Cook and Hartel, 2011; Donhowe and Hartel, 1996a, b; Eisner et al., 2005; Russell et al., 1999; Sofjan and Hartel, 2004). Microscopic techniques are powerful as they offer high spatial resolutions; they are useful to visualize the microstructure of frozen foods such as sorbets. However, microscopic techniques also present several drawbacks. First, some of them are invasive and sample preparation sometimes requires denaturing the product for example by substituting the ice crystals with a resin, by freeze-drying the sample or by isolating the ice crystals by

precipitation (Buyong and Fennema, 1988; Chang and Hartel, 2002b; Park et al., 2006; Thiebaud et al., 2002). Furthermore, microscopic technics only allow a two-dimensional visualization of the sample; results are then greatly dependent on the selected plane. The number of particles analyzed has to be sufficiently large to ensure statistically representative results (Hernández Parra et al., 2018). Most of the time, the number of objects per image is not sufficient and several images have to be carefully selected along the sample surface to collect enough representative information. It is often difficult to obtain reliable quantitative data (Guo et al., 2017; Mulot et al., 2019).

Compared to the number of studies cited above, only a small number of recent studies use 3D imaging techniques to analyze the ice and the air phases of frozen desserts. In particular, X-ray micro-computed tomography (X-ray micro-CT) is well adapted to the typical size of the frozen food microstructures (above 10 µm). This method measures the level of attenuation of X-rays of the different materials constituting of a sample; this attenuation coefficient is a function of the atomic number, the density and the thickness of the material (Mousavi et al., 2005). The sample is placed on a rotating stage between an X-ray source and a detector and radiographs are acquired from different angles. Hundreds of 2D slices are collected. Finally, 3D images are reconstructed from these radiographies and can be treated with several image processing techniques to give access to the 3D microstructure (Landis and Keane, 2010). X-ray micro-CT can be non-invasive and non-destructive even if most of the studies published about the microstructure of frozen foods was restricted to ambient temperature by using a prior freeze drying step, which is an indirect and destructive technique (Kobayashi et al., 2014; Mousavi et al., 2005; Mousavi et al., 2007; Mulot et al., 2019; Ullah et al., 2014; Zhao and Takhar, 2017). In the case of ice cream or sorbet, freeze drying is not applicable since the product would be totally melted; therefore the sample has to be observed directly at frozen state. Van Dalen (2012) successfully applied this technique to observe air bubbles in ice cream by coupling X-ray micro-CT with a specific Peltier cooling system to keep the sample down to -20 °C. The investigation of air microstructure using X-ray micro-CT was found to be particularly adapted since the contrast between air and condensed materials is high. Pinzer et al. (2012) studied the effect of a change in temperature during storage of ice cream on the size of ice crystals and air bubbles; the authors used a laboratory X-ray source placed in a cold lab which temperature oscillated between -20 °C and -8 °C. They also showed that the addition of approximately 3% of sodium iodide as a contrast agent allowed enhancing the phase contrast between the two aqueous phases of ice cream (i.e. ice phase and unfrozen

phase). Other authors described the influence of temperature cycles on the size and morphology of ice crystals and air bubbles in ice cream using in-line phase contrast synchrotron X-ray tomography technique in order to enhance the contrast between liquid water and ice and improve image quality and resolution (Guo et al., 2018; Guo et al., 2017; Mo et al., 2019; Mo et al., 2018). These authors developed a complex cold stage that was incorporated into the synchrotron line. These interesting studies established the possibility of analyzing frozen desserts with X-ray micro-CT. Since commercial micro-CT devices are adapted for ambient temperature imaging and not equipped with thermostated stage, specific tools have been developed to maintain the samples at frozen state during imaging; they are powerful but also complex and difficult to reproduce. Therefore, the use of a simple thermostated system which would be easy to reproduce is a challenge. Furthermore, the previous articles also contributed to a better understanding of the complex mechanisms occurring during the storage of ice cream: indeed, when the temperature fluctuates, recrystallization and coalescence of air bubbles occur. Imaging a fresh frozen dessert using micro-CT directly after the freezing process would allow understanding the influence of this process or of the formulation on the initial formation of the microstructure and would be innovative. However, such an analysis is difficult since the product is particularly sensitive at these temperatures (i.e. about -6 °C). Finally, describing in details methodologies used for image processing is another challenge since the publications rather referred to other papers specific to image analysis.

The main objective of the present study was to apply X-ray micro-CT to visualize and quantify ice crystals and air bubbles in a fresh sorbet containing water, sugar and a contrast agent. The goals of this work were to i) maintain the sorbet at constant temperature and frozen state during imaging by using a thermostated box; this box was simple to use and easy to reproduce ii) establish a reliable and reproducible methodology of micro-CT acquisition to visualize the microstructure of a fresh sorbet directly after its freezing in a batch freezer; iii) develop reliable image processing methods to analyze ice crystals and air bubbles; iv) obtain quantitative data about the microstructure confirmed with cryo-SEM imaging.

3. Materials and methods

3.1. Preparation and freezing of the sorbet mixes

A simple formulation of sorbet containing water and sucrose was studied. Sucrose was purchased from Béghin Say®. The sugar concentration was set at 25%wt to represent that of

an industrial sorbet mix (Clarke, 2012; Goff and Hartel, 2013). Sorbet mixes were prepared with deionized water (conductivity 17 μS.m-1) to ensure constant quality of water. Mixes were obtained by dispersing sucrose in water at ambient temperature under agitation using a magnetic stirrer. They were then cooled at 4 °C for at least 12 hours before freezing. In order to improve the contrast between the ice crystals and the unfrozen residual solution during micro-CT imaging (Pinzer et al., 2012), 30g of sodium iodide (NaI purchased from Merck®, CAS Number 7681-82-5) was added per kilogram of mix just before the freezing step. Mixes without sodium iodide were also prepared to study its effect on phase contrast.

The mixes (800 mL) were frozen in a batch domestic scraped surface heat exchanger (Magimix® Gelato Expert); it was equipped with two scrapping blades rotating at about 50 rpm. The temperature of the sorbet was monitored regularly during freezing with a penetration thermometer (accuracy 0.5 °C; Testo 104, Testo, Forbach, France). Since the objective of the present study was to observe the microstructure of a sorbet at the end of the freezing process in a SSHE, freezing was stopped when the sorbet temperature reached -6 °C corresponding to classical temperatures encountered for sorbets at the outlet of an industrial scraped surface heat exchanger. The freezing time to reach this temperature was about 25 minutes whatever the formulation of the mix (i.e. with or without NaI). To ensure the same freezing conditions and thermal history of each sample, a batch was carried out per sample.

3.2. X-ray micro-computed tomography

3.2.1.Sampling

Once the desired temperature in the freezer was reached, a pre-cooled plastic straw (6 mm of diameter, 2.3 cm long) was inserted in the center of the freezer to extract a small quantity of fresh frozen sorbet. The most efficient geometry to scan is a cylinder; the use of straws was therefore a good compromise. The accuracy of the tomographic analysis is related to the distance between the sample and the X-ray source, which is limited by the size of the sample. A small sample close to the X-ray source enables high accuracy. To ensure that the temperature of the sorbet was maintained at about -6 °C during the tomographic scan, the frozen samples were placed in a specific thermostated box designed and manufactured in our laboratory with photopolymer resins thanks to a 3D printer (Formlabs®, Form 2). This is shown in Figure 40.

The first part of the device consisted of a cylindrical double jacket box (2 cm of diameter, 2.5 cm long) made of transparent resin (Clear resin FLGPCL04, Formlabs®) and containing a

phase change material (PCM) at -6 °C (E-6, Cristopia Energy Systems®) gelled with a 2%wt commercial gum blend (Germantown Premium IC Blend, Danisco). The PCM had two functions: it kept the frozen sample at the right temperature during scanning and was used as a melting indicator if the temperature rose above -6 °C. Another cylindrical double jacket box (3.5 cm of diameter, 6 cm long) made of gray resin (Grey resin FLGPGR04) was printed to surround the first box; it was filled with an expansive insulating foam. The thermostated box was stored in a freezer at -10 °C before micro-CT analyzes.

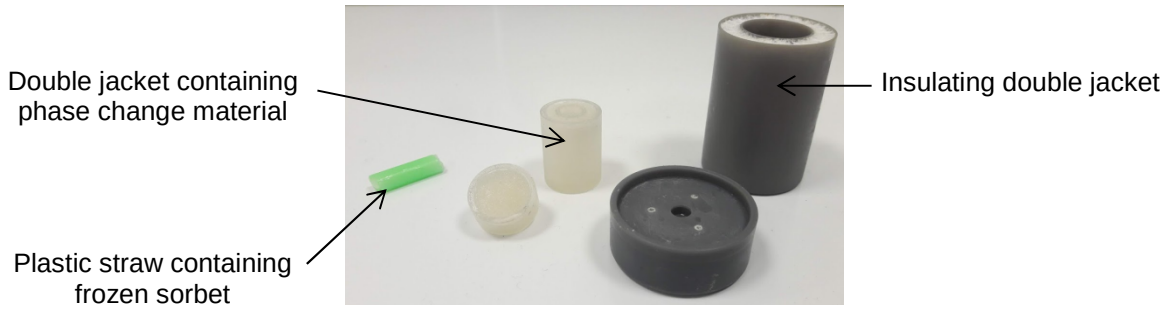


Figure 40 : Thermostated box for the sorbet sample. On the left, plastic straw containing the sorbet sample. In the middle, cylindrical double jacket containing phase change material at -6°C. On the right, cylindrical double jacket containing expansive insulating foam

3.2.2.Image acquisition of frozen samples

The sample conditioned in the thermostated box was positioned on the rotating stage of the X-ray micro-CT (DeskTom 130®, RX Solution, Chavanod, France) as close as possible to the X-ray source so that its middle part was analyzed with a voxel resolution of 9µm. The system was operating at an X-ray tube voltage of 50 kV and a current intensity of 160 µA.

A preliminary thermal study of the sample during a tomographic analysis was carried out to determine the maximal possible scanning time without sample melting. Three calibrated thermocouples (type T) were used: one was placed in the center of the straw filled with sorbet, another one was placed in the PCM material and the third one measured the temperature of the air in the micro-CT close to the thermostated box. The temperature was recorded during 30 minutes; it allowed setting the CT scan duration (see section 3.1).

Imaging the rotating sample allowed obtaining attenuation profiles of the entire sorbet sample according to the angle of acquisition (i.e. projections). Tomographic reconstruction was then applied to obtain 2D slices and the 3D volume of the sorbet from these projections. XAct 2® software (RX Solution, Chavanod, France) was used for the reconstruction operation using a filtered back-projection algorithm; this is the most popular reconstruction algorithm used at

present in CT applications (Al Hussani and Ali Al Hayani, 2014). A filter was then applied to correct ring artefacts which result from a non-linear response of the micro-CT detector (Hseih, 2009). More than 1300 slices were provided in 16-bits resolution from the volume reconstruction (i.e. grayscale levels from 0 to 65536).

3.2.3.Image processing and quantitative analysis of air bubbles and ice crystals

After the 3D volume reconstruction, data were loaded on Avizo 2019.1® software (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) for image analysis. In order to reduce the processing time to a few minutes, a cubic sub-volume (360 x 360 x 360 voxels equivalent to a 3.2 mm side cube) was cropped at the center of the reconstructed 3D volume. This sub-volume was confirmed to be higher than the Representative Elementary Volume defined for typical microstructure sizes encountered in frozen foods (Vicent et al., 2017). The three phases of the sorbet (i.e. air, ice, unfrozen matrix containing the contrast agent) having different densities, they are expected to demonstrate different gray levels. The aim of image processing is then to create separations between the particles of the phase of interest (i.e. air phase or ice phase) in order to individualize them and then obtain the quantitative data. Depending on the characteristics of the phase and in particular its homogeneity in terms of gray level, several image processing options are available for further treatment (User's Guide Avizo Software 2019). The treatments for image processing of the air and ice phases are presented in the results section. Once the elements of interest were isolated and separated from each other, it was possible to extract quantitative information about each of the particles. Data were then exported to analyze ice crystals or air bubbles size distribution and volume fraction of these two phases. Equivalent diameter of each particle was calculated as described by equation 34. In 3D geometry, it represents the diameter of a sphere having the same volume as the particle.

$$d_V = \sqrt[3]{\frac{6V}{\pi}} \qquad \text{(Equation 34)}$$

where V is the volume of the particle.

The resolution limit of micro-CT analysis to identify structures is commonly assumed to be between two and three voxels size (Pinzer et al., 2012; Vicent et al., 2017) , in the case of the present study this corresponds to particles having equivalent diameters larger than 20 µm. Therefore objects smaller than 20 µm were excluded from the analysis described below.

The volume fraction of ice in the sample without air φ_i was calculated according to equation 35.

$$\varphi_i = \frac{V_{i0}}{V_{i0}+V_m} \qquad \text{(Equation 35)}$$

where V_{i0} is the initial volume fraction of ice with air (%) and V_m the initial volume fraction of the unfrozen matrix with air (%). The mass fraction of ice X_i is then obtained with equation 36.

$$X_i = \frac{\varphi_i * \rho_i}{\rho_S} \qquad \text{(Equation 36)}$$

where ρ_i is the volumetric mass density of ice and ρ_S the volumetric mass density of the sorbet at a given temperature.

At the end of the image processing, a three dimensional view of the phase of interest was obtained. Three sorbets samples were analyzed using X-ray micro-CT.

3.3. Cryo-scanning electron microscopy

Cryo-SEM measurements were carried out in an external laboratory equipped with scanning electron microscopy (Electron Microscopy Facility, IBPS, Paris, France), in order to compare imaging results to those obtained with the microtomographic method. In order to avoid melting or modification of the sorbet, the freezer was installed in this laboratory in the vicinity of the cryo-SEM facility and mixes were frozen on site. The fresh frozen sorbet was taken in a plastic straw and directly immersed in liquid nitrogen. The straw was then cut and a fragment of sorbet was extracted for cryofracture. Fractured surfaces were observed using cryo-SEM (GeminiSEM 500, Zeiss) at -120 °C, the pressure in the equipment was 1.6x10-4 Pa. The accelerating voltage was 3.00 kV or 0.790 kV and the magnification varied from x13 to x10 000. The pixel resolution was from 9 µm to 11 nm. Image processing was also performed using Avizo 2019.1®; manual segmentation and separation of the particles were performed. Equivalent diameters of particles were obtained with the equation 37. In 2D, it represents the diameter of a disk having the same area as the particle.

$$d_s = \sqrt{\frac{4*S}{\pi}} \qquad \text{(Equation 37)}$$

where S is the surface of the particle.

Since the availability of the cryo-SEM facility was limited, only one sample could be analyzed with cryo-SEM. However, the entire cryo-fractured area was imaged so as to visualize a sufficient number of objects (more than 200) for image analysis.

4. Results and discussion

4.1. Temperature of sorbets during micro-CT measurements

The temperature of the sorbet in the thermostated box and of the PCM which surrounds the sorbet was recorded during a tomographic imaging (Figure 41) in order to ensure that the sorbet remained frozen and at a temperature close to -6 °C during the tomographic scanning. This study was also intended to fix the imaging duration. The temperature of the air in the micro-CT device was stable at around 21 °C (data not shown). The sorbet was imaged at a temperature between -7 °C and -8 °C; this temperature was maintained during about 20 minutes in the thermostated box as illustrated by the red arrow in Figure 41, Therefore, the thermostated box demonstrated its ability to maintain sorbets at frozen state and at constant temperature during a micro-CT imaging if the scanning time is sufficiently short. In the case of the present study, the duration of the micro-CT scanning was set at 12 minutes.

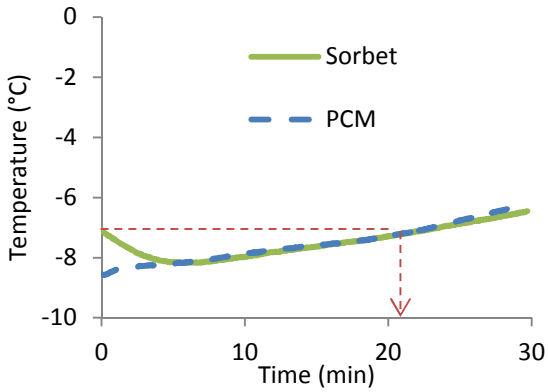


Figure 41 : Evolution of the temperature in the sorbet and in the PCM during an X-ray micro CT scanning

4.2. Effect of sodium iodide on the contrast of X-rays radiographs

Micro-CT images after the reconstruction step for sorbet samples without and with NaI are shown respectively in Figure 42 (a) and (b). Air appeared in black, the ice phase and the unfrozen matrix were in gray. As expected, the visual differentiation of the two aqueous phases was much easier in the sample containing NaI: ice was in dark gray, unfrozen matrix was in light gray and surrounded the ice crystals and the air bubbles (Pinzer et al., 2012). Figure 42 (c) and (d) present the grayscale histograms obtained for the sorbet samples without

and with NaI. The histogram without NaI was unusable since a single Gaussian peak was obtained containing voxels from both the ice phase and the unfrozen phase. On the contrary, the histogram obtained with NaI showed two separate peaks of gray levels making it possible to separate the ice phase and the unfrozen phase. These peaks overlapped each other; the crossing value was defined as the thresholding value.

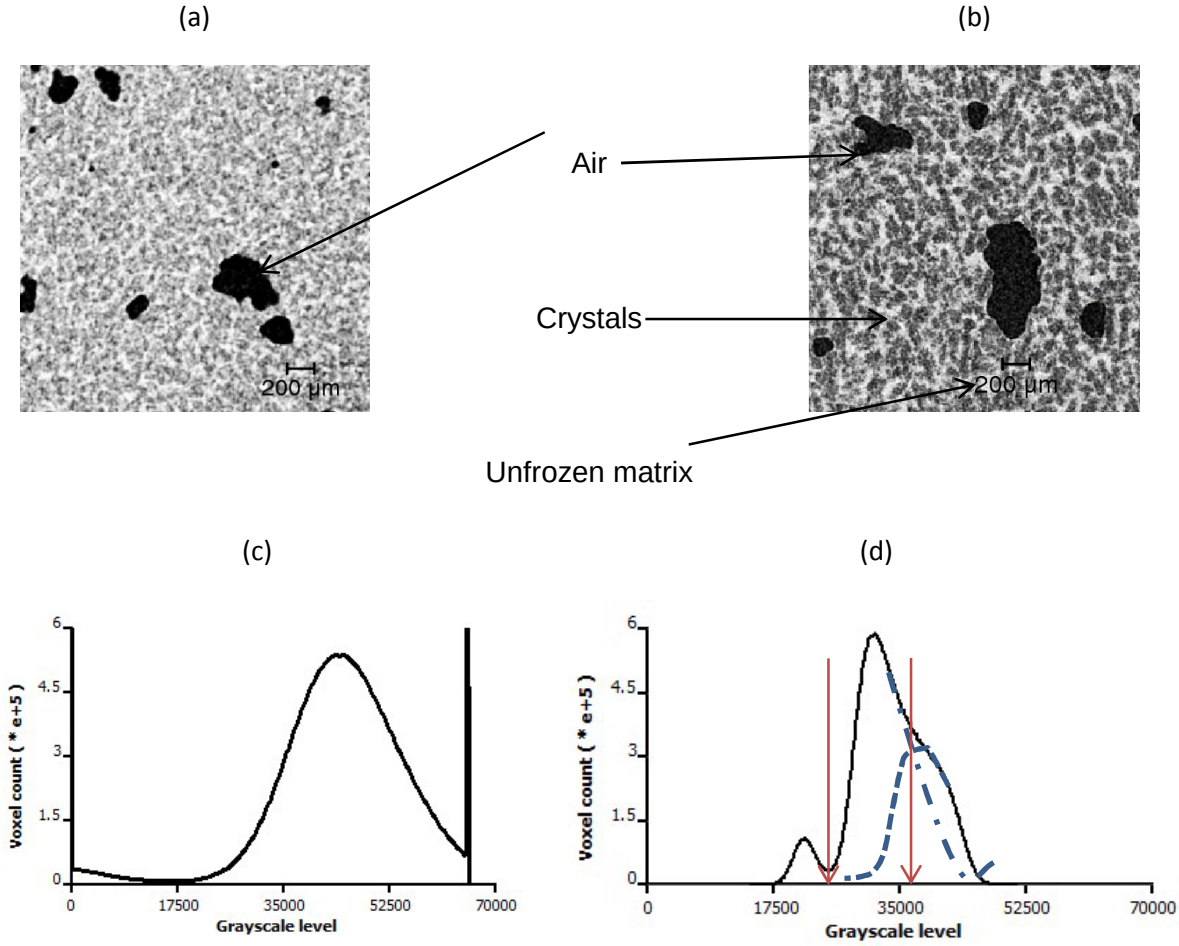


Figure 42 : Comparison of micro-CT results obtained with or without sodium iodide.
(a) CT-image after reconstruction step of a sorbet sample without NaI
(b) CT-image after reconstruction step of a sorbet sample with NaI
(c) Grayscale intensity histogram of a sorbet sample without NaI
(d) Grayscale intensity histogram of a sorbet sample with NaI. The dotted curves detail the peaks of the ice phase and the unfrozen phase. The red arrows represent the segmentation thresholds.

The histograms also revealed that the voxels of the air phase had different gray levels with or without NaI (respectively from 17500 to 26000 and from 0 to 17500). The use of the contrast agent could cause a greater beam hardening when X-rays passed through the unfrozen phase, and since the reconstruction parameters were applied to the entire sample, this had an effect on the attenuation levels and therefore on the gray levels of all the phases, including the air

phase. Finally, with NaI, the air phase consisted of voxels with gray intensities from 17500 to 26 000, the ice fraction contained the voxels having gray levels from 26000 to 36000 and the other voxels were attributed to the unfrozen solution. These values were obtained for the three samples containing NaI and were applied for segmentation (see section 4.3).

4.3. Image analysis of frozen samples

4.3.1.Air bubbles

As shown in Figure 42 (b), the air phase was homogeneously black. The images were segmented and all the voxels having grayscale intensities between 0 and 26000 were attributed to the air phase. Only the air phase was kept for further image processing and the grayscale images were binarized: all the voxels being part of the air phase were colored in blue (Figure 43 (a)). A distance map was then calculated from the binarized images, it allowed determining the dimensions of the particles. The most inner regions within objects were detected in order to determine the centers of the air bubbles. Then, the objects in contact with each other were separated using a classical watershed algorithm. The bubbles in contact with the sub-volume walls were suppressed with a borderkill algorithm and the remaining particles were labeled in order to be individualized. Each bubble was individually color-rendered for a better visualization. The final result is shown in Figure 43 (b). The air phase was properly segmented and the bubbles were well separated from each other. Figure 43 (c) represents the 3D visualization of the air bubbles distribution, it shows few air bubbles and sizes and shapes seem to be heterogeneous.

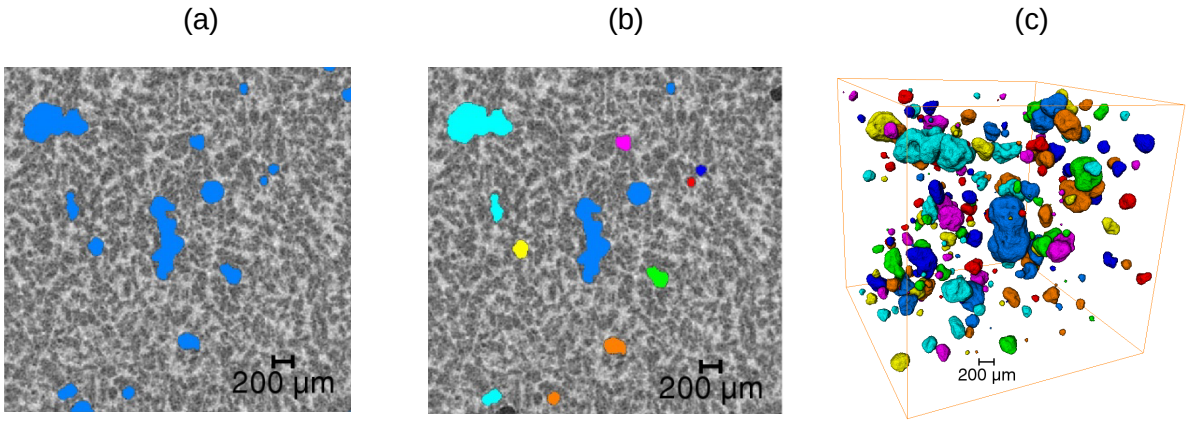


Figure 43 : Micro-CT image processing of the air phase
(a) Segmented binary image: air phase appears in blue
(b) Image obtained after watershed algorithm, labeling step and borderkill algorithm
(c) 3D rendering of air bubbles

In the literature (Guo et al., 2018; Guo et al., 2017; Mo et al., 2018; Pinzer et al., 2012; Van Dalen, 2012), 3D imaging of ice cream show more numerous and more homogeneous air bubbles in terms of size and shape. In these studies, the ice cream was produced in a continuous SSHE, a freezer equipped with nozzles to control the incorporation of air under pressure. The fast rotation of the scrapping blades (until 500 rpm) distributes the air homogenously as small bubbles. Moreover, the complex formulation of ice creams (i.e. containing emulsifiers with interfacial properties) analyzed in these studies can explain a better stabilization of air bubbles.

Using cryo-SEM, only one or two air bubbles were visualized on the images (data not shown), therefore it was not possible to analyze the air bubbles with this technique. As explained previously, the micro-CT images revealed only a small quantity of air bubbles in the sorbet samples; therefore it could be possible that no air bubble was present in the fractured plane visualized in cryo-SEM. Furthermore, unlike with micro-CT images, the contrast and gray level difference between air particles and ice was not large on the cryo-SEM images. It is therefore possible that some air bubbles were mistaken for ice crystals unintentionally.

4.3.2.Ice crystals

The raw micro-CT images after the reconstruction step (Figure 44 (a)) revealed that the ice phase (intermediate gray) was not homogeneous in terms of gray level. This was probably due to the cupping effect: X-rays interact with the particles (i.e. ice crystals) when they pass through the sample. Each point of the crystal behaves like a source of secondary radiation emitting in all directions and then towards the detector which also receives X-rays coming from the source. Secondary radiation is particularly intense from the inner regions of the particles; it induces an overestimation of the X-rays received by the detector and therefore an underestimation of the attenuation of X-rays by the central region of the particles. Finally, the inner region of the particles appears darker (Wils, 2011; Yang et al., 2020). The results obtained by performing the same image processing on the ice phase as for the air phase (see section 4.3.1) are shown in Figure 44 (b). With this treatment, the ice phase was directly segmented (i.e. binarized) and the position of the central regions of the crystals given by the cupping effect was lost. The results showed that this treatment method was not suitable for the analysis of ice crystals. The adjacent crystals were not separated and the image rather showed clusters of ice crystals.

Since the heterogeneity of the ice phase allowed determining the inner regions of adjacent ice crystals, an H-extrema watershed algorithm were applied on grayscale images (Figure 44 (c)). This algorithm combined the marking of darker regions as inner regions (H-maxima) and the watershed operation which allowed separating the particles from each other and obtaining their edges. Independently of these operations, grayscale images were segmented as explained in the section 3.2; voxels having gray levels from 26000 to 36000 were isolated and marked as the ice phase. The edges of the crystals were subtracted from this binarized image, the ice crystals were then separated from each other and individually color-rendered. As for air bubbles, objects in contact with the sub-volume walls were suppressed (Figure 44 (d)). Figure 44 (e) represents the 3D visualization of the ice crystals; on this figure the crystals appear clearly small and numerous.

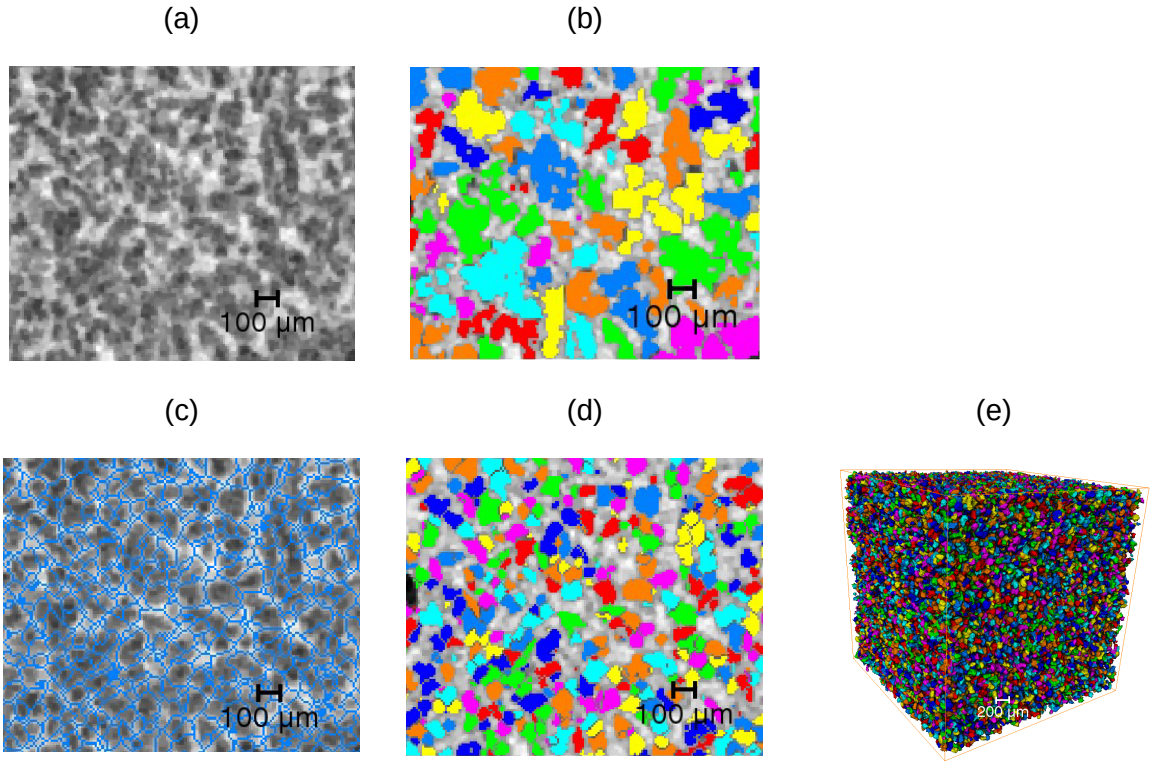


Figure 44 : Micro-CT image processing of the ice phase
(a) Detail of a micro-CT image after reconstruction step
(b) Detail of micro-CT image obtained with the same treatment as for air bubbles
(c) Detail of image obtained after H-maxima watershed: separations appear in blue
(d) Detail of image obtained after segmentation, arithmetic operations and labeling step
(e) 3D rendering of ice crystals

Ice crystals were also clearly visible using cryo-SEM (Figure 45 (a)). Three images were segmented (Figure 45 (b)) and finally, 219 ice crystals were analyzed. By comparing Figure

45 (b) and Figure 45 (c) obtained by micro-CT imaging, it appears that the number and size of ice crystals were of the same order of magnitude. The shape of the ice crystals seemed to match even if the ice crystals were more rounded in the case of the cryo-SEM image. This can be explained by the differences in the image processing techniques but more probably by the spatial resolution of both devices that is significantly higher in the case of cryo-SEM; this explains that pixels are not distinguished using cryo-SEM. Quantitative data from cryo-SEM pictures were obtained for comparison with micro-CT data; they are discussed in the section 4.4.2.

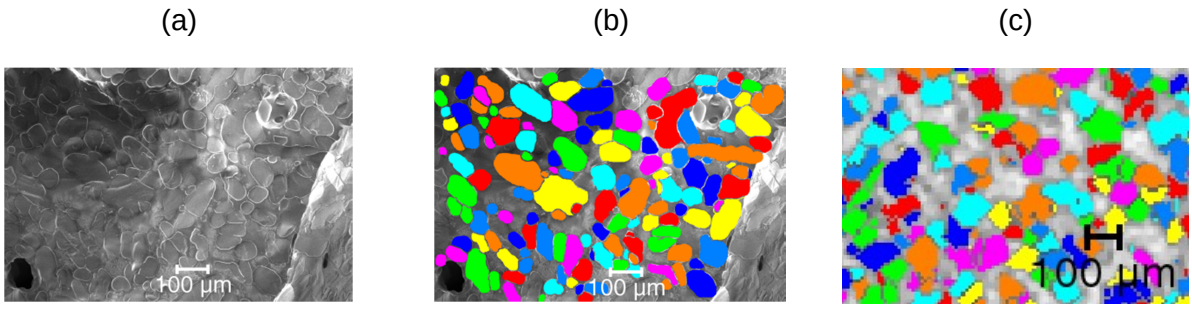


Figure 45 : Image processing of cryo-SEM pictures and comparison with micro-CT image
(a) Cryo-SEM raw image
(b) Cryo-SEM: Image obtained after segmentation, separation, labeling of particles and borderkill algorithm
(c) Micro-CT: Detail of image obtained after segmentation, arithmetic operations and labeling step

4.4. Quantitative analysis of sorbet microstructure

4.4.1.Analysis of the air phase

The cumulative distribution of air cells equivalent diameters in the three samples analyzed using X-ray micro-CT were plotted in Figure 46. The results reflected the good reproducibility of the analysis protocol (i.e. formulation, freezing, sampling, micro-CT analysis, image processing). The air bubbles sizes were distributed between 20 and 585 µm, the width of the distribution illustrated the heterogeneity of the bubbles size. As cryo-SEM did not allow distinguishing air bubbles, it was not possible to compare the two techniques for the air phase.

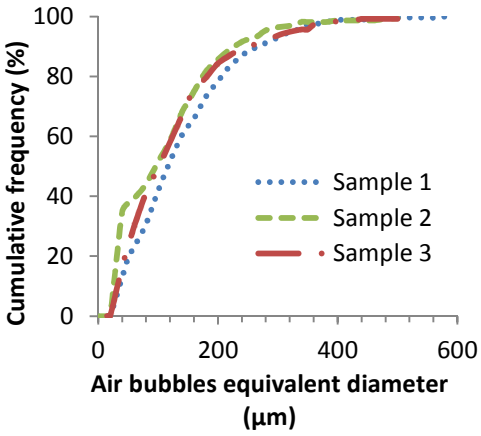


Figure 46 : Cumulative distributions of equivalent diameters of air bubbles in the 3 samples analyzed with micro-CT

The mean and median equivalent diameters, the volume fraction of the air phase and the number of air bubbles were calculated. The volume fraction of air, equal to 5.6 ± 0.7%, was found to be smaller than the amount of air generally encountered in a commercial sorbet (30%). This was not surprising regarding the 3D rendering of air bubbles (Figure 43 (c)), the composition and the freezing equipment used for this study. The mean and the median bubbles size (equivalent diameter) were different, respectively 123.4 µm and 105.1 µm, and both admitted a significant standard deviation of the order of 10%. This confirms the heterogeneity of the air bubbles in terms of size within the same sample as between several different samples. Guo et al. (2017) observed using micro-CT air cells in a commercial ice cream at -15 °C; they obtained a mean bubble size of 36 µm. Industrial ice creams being obtained via a continuous freezer and their complex composition comprising surfactant molecules, it was not surprising that this size was smaller than that obtained in the present study. These authors also obtained a significant standard deviation of the order of 50%. Using cryo-SEM, the authors found a mean bubble size equal to 41 µm with an important standard deviation of about 50%.

4.4.2.Analysis of ice crystals

The cumulative distribution of ice crystals equivalent diameters in the three samples analyzed using X-ray micro-CT and in the sample analyzed using cryo-SEM are reported in Figure 47. The results illustrated the repeatability of the micro-CT analysis for the study of ice crystals as the three curves were perfectly superimposed. Using this technique, it was found that the ice crystals equivalent diameters were comprised between 20 µm and 158 µm. By comparing these results with those obtained with cryo-SEM, the distribution was in the same order of

magnitude (between 18 µm and 134 µm) while slightly shifted to smallest crystal sizes. This is probably due to the small number of crystals analyzed (219) and the manual segmentation technique used.

Mean and median equivalent diameters, volume and mass fractions of the ice phase and the number of particles obtained with micro-CT and with cryo-SEM are reported in Table 15. Whatever the experimental technique used, the mean and the median values of the ice crystal size were close; the distribution of the ice crystals size was homogeneous in the sample. The mean equivalent diameter of ice crystals was about 63 µm for micro-CT and 56 µm for Cryo-SEM. The low standard deviations (about 2%) confirmed the small dispersion of ice crystal size between replicates as well as the good repeatability of the micro-CT analyzes. Mo et al. (2019) analyzed the coarsening effect in a frozen sorbet containing 30% of sucrose submitted to several thermal cycling and cooling rates. At -6 °C, they found that according to these parameters, the mean size of the ice crystals was between 30 and 70 µm which is close to the values obtained in the present study.

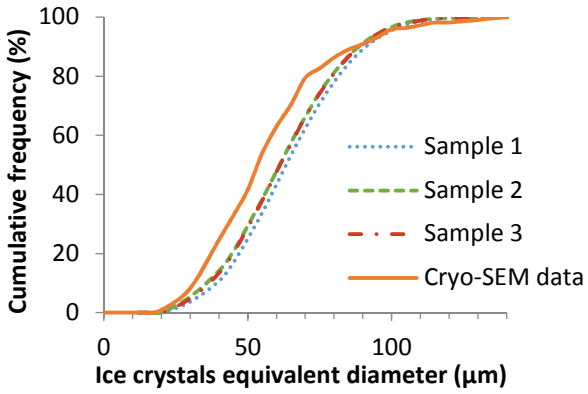


Figure 47 : Cumulative distributions of equivalent diameters of ice crystals in the 3 samples analyzed with micro-CT and in the cryo-SEM sample

The ice volume fraction without air in the sorbet was equal to 58%. Cerecero Enriquez (2003) established the liquidus curve of a solution containing 25% of sucrose by using DSC. At -6 °C the corresponding ice mass fraction was equal to 44.4%. In the present study, the mean mass fraction was estimated at about 48%. These values are close; the small difference can be explained by the uncertainty of the measurement of the sorbet temperature before micro-CT imaging. This result could also indicate that the amount of sodium iodide used in this study did not have a significant influence on the ice fraction formed during the freezing of a sorbet containing water and sucrose. This was not studied in the literature, therefore other analyzes would be relevant to confirm this observation.

Micro-CT and cryo-SEM ice crystals equivalent diameters were in the same order of magnitude; this result allowed validating the micro-CT analysis from sampling to image processing. The small difference between the two methods can be explained by the different number of crystals analyzed (respectively about 78000 versus 220). It should also be kept in mind that the determination of the mean equivalent diameter referred respectively to the volume (see equation 1) or to the surface (see equation 4). Other explanations could be that some small and round particles were mistaken for ice crystals on cryo-SEM pictures. Finally, manual segmentation was delicate.

Table 15: Ice crystals quantitative data obtained for a sucrose sorbet, using micro-CT and cryo-SEM

	Mean of the 3 CT samples	Cryo-SEM sample
Mean equivalent diameter (µm)	62.8 ± 1.4	56.5
Median equivalent diameter (µm)	61.8 ± 1.3	53.4
Volume fraction of the phase (%)	54.7 ± 2.8	---
Volume fraction of the phase without air (equation 2) (%)	58.0 ± 2.6	
Mass fraction of the phase (%)	48.3 ± 2.1	---
Number of particles	77 935 ± 1 826	219

±values correspond to standard deviations.

5. Conclusions and perspectives

Sorbet mixes containing water and 25%wt of sucrose were frozen and analyzed by X-ray microtomography directly after the freezing step. A desktop micro-CT device was used, and a thermostated box was successfully applied; this system is simple to use and makes the experimental methodology easy to reproduce. The protocol allowed a reproducible and nondestructive analysis of a complex and triphasic frozen product. X-ray microtomography showed to be a powerful tool enabling the scanning of hundreds of images per analysis. In this study, more than 1300 slices were processed per acquisition and an effective separation of the 2 phases of interest (ice crystals and air bubbles) was carried out. The data collected gave the desired information about the frozen phase and the air phase (volume and mass fractions, mean and median equivalent diameters of the particles, size distributions and spatial distributions thanks to the 3-dimensional visualization). Results were in agreement with the

literature, the differences being explained by the composition of the mixes and by the freezing process used. Qualitative and quantitative results about ice crystals were confirmed with cryo-SEM measurements. As a result, X-ray microtomography equipped with this thermostated box seems to be a particularly appropriate technique for the analysis of the microstructure of frozen desserts.

For future studies of frozen microstructure of sorbets, it will be necessary to control the thermal behavior of sorbet mixes containing a contrast agent (i.e. sodium iodide) in order to confirm its possible influence on the formation and growth of ice crystals during freezing process. Since NaI might have effects on the microstructure of sorbets (i.e. size and quantity of bubbles or crystals), it also would be relevant to analyze sorbets containing several concentrations of sodium iodide. It will also be necessary to validate results concerning air bubbles using cryo-SEM. The amount of air in the sample has to be sufficiently high to be visible with this technique. Then, it would be appropriate to add a surfactant to the mix (such as hydroxypropylmethylcellulose which is a stabilizer commonly used in the formulation of sorbets). The next step of this work is to extend the use of this technique to the characterization of sorbets having a more complex composition (in particular sorbets containing stabilizers such as galactomannans, cellulose derivatives, or mixtures of several stabilizers) in order to study the effect of formulation on the crystallization of sorbets. This information would lead to a better understanding of the effect of stabilizers on the initial formation of the microstructure during the freezing step, before hardening and storage. This will also help to understand and predict to what extent the behavior of stabilizers during the freezing step influences the final stability of sorbets and which stage of the process or the storage have the greatest impact on the microstructure. Finally, the methodology developed can be applied for the study of the microstructure of other frozen foods.

III. Influence des stabilisants sur la microstructure d'un sorbet en sortie de congélation en ECSR

III.1. Introduction et objectifs de l'étude

Le protocole d'analyse microtomographique mis au point dans la partie précédente a été appliqué à l'analyse de sorbets contenant 25%wt de saccharose et un stabilisant (HPMC ou LBG ou CMC) dont la concentration a été choisie pour que les mixes stabilisés soient à isoviscosité au début de la congélation dans le freezer batch utilisé pour la fabrication des sorbets. L'objectif de cette étude est d'observer l'influence des stabilisants sur la taille et la quantité des cristaux de glace et des bulles d'air formés lors de l'étape de congélation en ECSR.

Afin d'identifier les étapes de la cristallisation (nucléation et croissance) qui pourraient être impactés par les stabilisants, l'étude a été complétée par des analyses en temps réel de la taille des cristaux de glace en cours de formation pendant la congélation. Ces observations ont été faites avec une sonde FBRM plongée dans le freezer batch pendant la congélation.

Des sorbets stabilisés ont également été analysés en cryo-MEB afin d'utiliser un outil de caractérisation de très haute résolution à température négative et de comparer les résultats obtenus avec ceux de la microtomographie.

III.2. Principaux résultats

L'analyse microtomographique a révélé que l'HPMC est le seul stabilisant à augmenter significativement la quantité d'air incorporé dans le sorbet tout en réduisant la taille des bulles: environ 20% du volume du sorbet stabilisé est occupé par des bulles d'air mesurant en moyenne autour de 70 µm, alors que le sorbet témoin non stabilisé ne contient qu'environ 6% d'air en volume avec des bulles mesurant en moyenne autour de 125 µm. Ce résultat était attendu compte tenu des propriétés tensio-actives de ce stabilisant. Par ailleurs, la quantité d'air introduite dans le sorbet en présence d'HPMC était suffisamment importante pour que les bulles d'air soient visibles en cryo-MEB ; l'analyse des images permet de valider l'analyse microtomographique des bulles puisque la taille des bulles obtenue est très proche (66 µm).

L'HPMC est également le seul stabilisant a avoir un effet significatif sur la taille des cristaux de glace ; les cristaux mesurent environ 45 µm dans le sorbet HPMC et environ 60 µm dans

les autres sorbets. Les résultats obtenus en cryo-MEB sont du même ordre de grandeur, ils confirment la validité de l'étude en microtomographie.

Les analyses FBRM confirment et complètent la tendance précédente. La taille de corde moyenne des cristaux de glace, relevée à trois températures différentes au cours du procédé de congélation, révèle qu'en début de procédé, la taille des cristaux de glace est identique dans les trois sorbets stabilisés. En cours de procédé, la taille de corde moyenne n'évolue pas dans le sorbet contenant de l'HPMC tandis qu'elle augmente significativement dans les autres sorbets (LBG et CMC). En fin de procédé, la taille des cristaux est inférieure en présence d'HPMC qu'avec les deux autres stabilisants. L'HPMC aurait donc un effet limitant sur la croissance des cristaux de glace lors de la congélation.

III.3. Article soumis à Journal of Food Engineering: « Influence of stabilizers on the microstructure of fresh sorbets: X-ray micro-computed tomography, Cryo-SEM and FBRM analysis »

1. Abstract

X-ray micro-computed tomography was applied to determine the influence of stabilizers on the microstructure of fresh sorbets (i.e. at the outlet of a batch freezer), and more particularly on the air phase and the ice phase. Sucrose sorbets were tested with addition of one stabilizer: locust bean gum (LBG), hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) or carboxymethylcellulose (CMC). It was shown that HPMC increased the quantity and decreased the size of air bubbles; it also decreased the ice crystals size unlike other stabilizers which had no effect on the size of ice crystals. Results were successfully compared with data from Cryo-Scanning Electron Microscopy and completed with Focused Beam Reflectance Measurement analyses applied for dynamic studies during freezing process. The effect of HPMC on the ice phase would be linked to its surfactant properties; air bubbles could prevent crystal growth during the freezing process.

Keywords

Fresh sorbet ; Microstructure ; stabilizers ; X-ray micro-computed tomography ; ice crystal size ; air bubble size.

2. Introduction

Sorbet is a triphasic frozen system, consisting of ice crystals and air bubbles dispersed in an unfrozen matrix highly concentrated with sugars and stabilizers. Before freezing, the mix (i.e. the mixture of ingredients) is composed of about 70%wt of water, almost 30%wt of sugars (sugars naturally occurring in fruits and added sugars) and up to 0.5%wt of stabilizers (Arbuckle, 1986; Clarke, 2012; Marshall and Arbuckle, 1996; Marshall et al., 2003; Stogo, 1998). The freezing step takes place in a scraped surface heat exchanger (SSHE) or freezer. The mix is introduced at about 4 °C and when it touches the cold walls of the exchanger, a layer of ice is immediately formed. Rotating scraper blades scrape off the ice crystals and disperse them throughout the product which is increasingly enriched with ice. Air is introduced at the same time. The unfrozen residual solution concentrates in sugar and stabilizing throughout the freezing; its viscosity increases. At the outlet of the exchanger, the sorbet temperature is about -6 °C and contains about 40% of ice; the concentration of sugars and stabilizers in the unfrozen matrix is almost double that in the original mix. In the case of sorbets, air can occupy up to 30% of the volume (Marshall et al., 2003). Sorbets are consumed at frozen state, so their sensory properties are strongly dependent on ice crystals properties (i.e. number and size). Controlling the amount and the size of air bubbles is another important factor as air has also a significant influence on the textural properties of the finished product (Clarke, 2012; Goff and Hartel, 2013).

The stabilizers usually found in the formulation of sorbets are natural polysaccharides such as seed gums: guar gum (GG) and locust bean gum (LBG); cellulose derivatives: carboxymethylcellulose (CMC) and hydroxypropylmethylcellulose (HPMC); and microbial gum: xanthan gum (XG) (Thombare et al., 2016). Although their rheological properties have been rarely studied in sugar solutions and at temperatures below zero, it is known that their presence greatly increases the viscosity of the mix and of the residual unfrozen solution (Goff et al., 1993; Masselot et al., 2020a). Some stabilizers solutions also develop elastic properties under these conditions (Doyle et al., 2006; Masselot et al., 2020a; Patmore et al., 2003). Although the mechanisms involved are not fully described, the increase in viscosity or the appearance of viscoelastic or even gelling properties due to stabilizers could influence crystallization by affecting the diffusion of molecules or heat transfers (Blond, 1988; Goff et al., 1999; Goff and Hartel, 2013; Muhr and Blanshard, 1986). Some stabilizers, such as HPMC, are also known for their surfactant properties, they facilitates the incorporation of air and stabilizes the formed foam by slowing down the coalescence of air bubbles (Clarke, 2012;

Sarkar, 1984). A higher quantity of air due to stabilizers could also influence crystallization; air bubbles could cause mechanical hindrance and lead to smaller ice crystals (Clarke, 2012; Flores and Goff, 1999b; Thomas, 1981).

The influence of stabilizers on crystallization in sorbets is still a subject of debate in the literature; results seem to depend on the type of polymer, on the freezing process and the analysis technique applied. Furthermore, most of the studies were carried out after a storage step at temperatures well below the outlet temperature of an SSHE. It is therefore difficult to conclude about the influence of stabilizers on the initial microstructure of the analyzed products. Finally, the mechanisms involved are rarely mentioned by the authors. Fernandez et al. (2007) studied the influence of the addition of 0.3% of stabilizers on the ice crystals size in 16% sucrose solutions frozen using a batch High Pressure Assisted Freezing (HPAF) process. The authors found that guar gum gave larger crystals compared to an unstabilized sample, whereas the addition of an equimolar mixture of xanthan and LBG gave smaller crystals. This result was explained by the ability of the xanthan / LBG blend to form a gel which would decrease molecular mobility required for crystallization. Flores and Goff (1999b) found that the addition of 0.6% of CMC, guar gum or xanthan gum to a 26% sucrose solution did not influence ice crystals size. The authors used a batch SSHE.

Regarding air bubbles, Chang and Hartel (2002a) studied the effect of adding up to 0.5% of a blend containing carrageenans, guar and CMC on the aeration of an ice cream frozen in a batch freezer. The blend did not affect the quantity of air introduced in the ice cream (overrun). Stabilizers decreased the size of bubbles during the beginning of the freezing process, while after 6 minutes, the bubbles were about the same size regardless of the sample. This result was attributed to the evolution in apparent viscosity of sorbets: at the start of freezing the stabilized mixes were significantly more viscous than the control sample whereas all the finished products had the same apparent viscosity. This study focused on ice creams containing fat and emulsifiers; then it is difficult to conclude about the specific effect of stabilizers on the aeration of sorbets; that was not studied in the literature.

Studies cited above were performed using microscopic techniques: cryo-Scanning Electron Microscopy (SEM) or optical microscopy. Although they are powerful and allow observations with high resolutions, quantitative analysis is difficult : results are greatly dependent on the visualized plane since the whole sample cannot be analyzed, and since samples are visualized in 2 dimensions, a large number of particles has to be analyzed to ensure that results are

statistically representative (Hernández-Parra et al., 2018). 3D imaging techniques offer the possibility of observing the entire sample in three dimensions, thus quantitative analysis is greatly simplified and more reliable compared to the 2D techniques mentioned above. In particular, X-ray micro-computed tomography (X-ray micro-CT) is well adapted to the typical size of the frozen food microstructures (above 100 µm). This technique can be non-invasive and non-destructive; several authors have successfully analyzed frozen food products directly at the frozen state (Mulot et al., 2019; Vicent et al., 2019; Vicent et al., 2017). However, most of the studies about the microstructure of frozen foods applied micro-CT at ambient temperature coupled with a destructive freeze drying step (Kobayashi et al., 2014; Mousavi et al., 2005; Mousavi et al., 2007; Ullah et al., 2014; Zhao and Takhar, 2017). In the case of sorbets, freeze drying is not relevant, since the product would be totally melted; therefore the sample has to be observed directly at frozen state.

The influence of stabilizers on the size and morphology of ice crystals or air bubbles in sorbets has not been studied using X-ray micro-CT; most studies dedicated to frozen desserts using micro-CT deals with the effect of storage periods on the microstructure of ice creams (Guo et al., 2018; Guo et al., 2017; Mo et al., 2019; Mo et al., 2018; Pinzer et al., 2012). A better understanding of the mechanisms that take place during the storage of ice cream was obtained in these studies, where recrystallization and coalescence of air bubbles occur due to temperature changes. Their authors developed powerful and complex tools to maintain samples at frozen state and at temperatures far below the temperature encountered at the exit of a freezer. Masselot et al. (2020b) recently described a methodology to study the microstructure of fresh frozen sorbets at the freezer exit temperature of about -6 °C using X-ray micro-CT device. Applying such a tool to sorbets of several compositions is an unprecedented challenge; it would allow identifying the influence of the formulation on the establishment of the microstructure before the product evolves during storage.

The dynamic analysis of the size of ice crystals during the freezing process would complete the observation made at the end of the process; it would allow a better understanding of the dynamics of crystallization and of effects of stabilizers during freezing. This study can be performed using Focused Beam Reflectance Measurement (FBRM), which is a real time method based on light backscattering to evaluate sizes of solid particles such as ice crystals. Although data collected are chord lengths and not diameters, this technique makes it possible to observe trends in the evolution of particle size. FBRM was successfully applied to the dynamic analysis of the freezing of sugar/water solutions or commercial sorbet mixes

containing stabilizers (Arellano et al., 2012; Arellano et al., 2011; Haddad Amamou et al., 2010). However, no publication deals with the influence of stabilizers on the crystallization of sorbets using FBRM.

The objective of the present study was to determine the effect of several stabilizers on the establishment of the microstructure of a sorbet. Sorbet mixes containing water, sucrose and one stabilizer (HPMC or CMC or LBG) were formulated and frozen in a batch freezer. Fresh samples were analyzed using X-ray micro-CT directly after the freezing step. Images were processed, ice crystals and air bubbles size distributions and volume or mass fractions were obtained. Results were compared and successfully confirmed thanks to cryo-SEM analyzes. In order to better understand the dynamics of the mechanisms of crystallization, the study was completed with a real-time analysis of freezing using an FBRM probe.

3. Materials and methods

3.1. Preparation and freezing of sorbet mixes

LBG was obtained from Cargill® (Viscogum™ FA 150); its viscosity at 1% in water was evaluated by Cargill® between 2500 and 3000 mPa.s. HPMC was purchased from Dow® (Methocel™ K4M), they evaluated its viscosity at about 4000 mPa.s (2% at 20 °C). It contains 19 - 24% of methoxy groups and 7 – 12% of hydroxypropyl groups. Sodium CMC was also obtained from Dow® (Walocel™ CRT 20000 PA) with a viscosity evaluated between 1900 and 2600 mPa.s (1% in water at 25 °C). Its degree of substitution was between 70% and 95%. Sucrose was purchased from Béghin Say™. Solutions were prepared with deionized water (conductivity 17 µS.m-1) to ensure constant quality of water.

The initial sugar concentration was set at 25%wt to represent that of an industrial sorbet mix (Clarke, 2012; Goff and Hartel, 2013). Stabilizers were studied individually. The concentrations of stabilizers were chosen so that the apparent viscosity of the mixes was equal to that of a commercial sorbet mix (Lemon sorbet mix from La Laiterie de Montaigu, Montaigu, France) containing a blend of three stabilizers (HPMC, LBG and guar gum) at the beginning of the freezing step in a SSHE. Apparent viscosities were established at -1.5 °C (i.e. temperature close to that of the sorbet at the beginning of the freezing process). The shear rate (420 s-1) corresponded to the shear rate at 1mm of the wall of the freezer; it was determined using the analogy with a power-law fluid in a concentric cylinder viscometer (Masselot et al., 2020a). The compositions of the mixes and their initial apparent viscosities

are shown in Table 16. A mix containing 0.3% of CMC was also formulated to be close to the concentration usually encountered in commercial mixes.

Mixes were obtained by dispersing the mixture of sucrose and stabilizer in water at ambient temperature using a magnetic stirrer. The solutions were then cooled for at least 12 hours at 4 °C before freezing to ensure the complete dissolution of polymers in the solvent (Clarke, 2012). In order to improve the contrast between the ice phase and the unfrozen residual solution during micro-CT imaging (Masselot et al., 2020b; Pinzer et al., 2012), 30g of sodium iodide (Na-I purchased from Merck®, CAS Number 7681-82-5) per kilogram of mix was added to the mixes just before the freezing step.

Table 16 : Compositions and apparent viscosities of the mixes

	Control	HPMC	LBG	CMC	
[Stabilizer] (%wt)	0	0.315	0.375	0.135	0.3
[Sucrose] (%wt)	25	25	25	25	25
Apparent viscosity at 420 s-1 and -1.5 °C (mPa.s)	5	40	40	40	80

Mixes (800 ml) were frozen in a batch domestic freezer (Magimix® Gelato Expert), the tank was 17 cm in diameter and contained two scrapping blades rotating at about 50 rpm. The temperature of the mixture was followed during freezing with a penetration thermometer (accuracy 0.5 °C, Testo 104, Testo, Forbach, France). Freezing was stopped at -6 °C corresponding to classical temperatures encountered for sorbets at the outlet of an industrial SSHE.

3.2. X-ray micro-CT analyses

Once the desired temperature in the freezer was reached, a plastic straw (6 mm of diameter, 2.3 cm long) was inserted in the center of the freezer to extract a small quantity of fresh frozen sorbet. To ensure that the temperature of the sorbet was maintained at about -6 °C during the tomographic analysis, the frozen samples were placed in a specific thermostated box designed and manufactured in the laboratory, as described by Masselot et al. (2020b). The thermostated box and the plastic straw were stored in a freezer at -10 °C before the sampling of sorbet.

Samples were positioned in the X-ray micro-CT (DeskTom 130®, RX Solution, Chavanod, France); the system was operating at a X-ray tube voltage of 50 kV and a current intensity of 160 µA. The acquisition time was short (12 minutes) to ensure that the temperature of the sorbet did not exceed -6°C (Masselot et al., 2020b). The resulting voxel resolution was 9 µm. XAct 2® software (RX Solution, Chavanod, France) was used to reconstruct the 3D volume from raw images using a filtered back-projection algorithm and applying a ring artifact filter. More than 1300 slices were provided in 16-bits resolution from this volume reconstruction (i.e. grayscale levels from 0 to 65536).

3.3. Image processing and analysis of micro-CT data

Slices were loaded on Avizo 2019.1® software (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) for image analysis. A cubic sub-volume (equivalent to 360 x 360 x 360 voxels equivalent to a 3.2 mm side cube) larger than the Representative Elementary Volume (Vicent et al., 2017) was cropped at the center of the reconstructed 3D volume. The sorbets studied were triphasic (i.e. air, ice and unfrozen matrix), thus images revealed three main materials with different gray levels. Images were analyzed according to the methods described by Masselot et al. (2020b) : watershed algorithms were applied to separate objects (i.e. ice crystals or air bubbles) in contact with each other and a borderkill algorithm was used to suppress objects in contact with the sub-volume walls. The remaining particles were labeled and individually color-rendered. A 3D visualization of the particles was obtained.

Avizo® software allowed obtaining the volume fractions of the two phases and calculating the equivalent diameter (i.e. diameter of a sphere having the same volume than the particle) of each particle with equation 38.

$$d_V = \sqrt[3]{\frac{6V}{\pi}} \qquad \text{(Équation 38)}$$

where V is the volume of the particle. The resolution limit of micro-CT analysis is commonly assumed to be between two and three voxels size (Pinzer et al., 2012), in the case of the present study this corresponded to particles having equivalent diameters larger than 20 µm Therefore objects smaller than 20 µm were excluded from the quantitative analysis.

The volume fraction of ice without air φ_i was calculated according to equation 39.

$$\varphi_i = \frac{V_{i0}}{V_{i0}+V_m} \qquad \text{(Equation 39)}$$

Where V_{i0} is the initial volume of ice with air (%) and V_m the initial volume of the unfrozen matrix with air (%). The mass fraction of ice was then estimated with equation 40.

$$X_i = \frac{\varphi_i * \rho_i}{\rho_S} \qquad \text{(Equation 40)}$$

Where ρ_i is the volumetric mass density of ice (917 kg.m^{-3}) and ρ_S the volumetric mass density of a sorbet made with a solution containing 25%wt of sucrose in water (1100 kg.m^{-3}).

3.4. Cryo-SEM analyses

Cryo-SEM measurements were carried out in an external laboratory equipped with scanning electron microscopy (Electron Microscopy Facility, IBPS, Paris, France). The fresh sorbet was taken in a pre-cooled plastic straw and then soaked in liquid nitrogen. The straw was cut and a fragment of sorbet was cryofractured. Fractured surfaces were observed with cryo-SEM (GeminiSEM 500, Zeiss) at -120 °C and 1.6x10-4 Pa, with an accelerating voltage of 3.00 kV or 0.790 kV and a magnification from x13 to x10 000. The pixel resolution was between 11 nm and 9µm depending on the magnification. Manual segmentation and separation of particles (i.e. ice crystals or air bubbles) were performed with Avizo 2019.1®. Equivalent diameters of particles were obtained with equation 41. In 2D geometry, it is defined as the diameter of a disk of same area than the particle.

$$d_s = \sqrt{\frac{4*S}{\pi}} \qquad \text{(Equation 41)}$$

Where S is the surface of the particle.

3.5. FBRM analyses

The protocol for Focused Beam Reflectance Measurement analysis developed by Haddad Amamou et al. (2010), used by Arellano et al. (2011) and Arellano et al. (2012) was reproduced. The probe Lasentec® FBRM S400-8 (Mettler Toledo, Columbus, USA) was used; it is made of stainless steel and has an external diameter of 9.5 mm and a length of 120 mm. The probe generates a focused laser beam (780 nm) which rotates at a high rate of speed (about 2 m/s) and is projected inside the sample through a sapphire window. When a

particle is intersected by the laser beam, it reflects the laser light for the duration of its scan. The time period of reflection is detected by the FBRM probe. By considering the tangential speed of the laser beam, a corresponding chord length of the particle is calculated.

The probe was inserted into the batch freezer at about 4 cm from the wall with an inclination of 45°. The temperature of the product being frozen is directly related to the amount of ice formed thanks to the equilibrium liquidus curve of a saccharose sorbet; a calibrated thermocouple was then inserted near the FBRM probe. FBRM measurement was then analyzed for a given quantity of ice.

Data were collected with iC FBRM™ software (Mettler Toledo). Every second, the counts number n_i was recorded for each selected size class i of chord length c_i. A Mean Chord Length (MCL) was calculated (equation 42); this was equivalent to a mean Sauter diameter (i.e. the mean diameter of spheres having the same ratio volume to surface than the particles).

$$MCL = \frac{\sum n_i c_i^3}{\sum n_i c_i^2} \quad \text{(Equation 42)}$$

3.6. Statistics

Three samples were analyzed for X-ray micro-CT and FBRM analyzes. A batch of sorbet was carried out per sample to ensure a reproducible sampling of the sorbet, at the same temperature corresponding to the same amount of ice. For every parameter (equivalent diameters, volume fractions, mean chord length), analysis of variance was applied to determine significant differences ($p < 0.05$).

Cryo-SEM analyzes were carried out in an external laboratory specialized in microscopic studies, in order to confirm the microtomographic results. As a consequence, only one sample was analyzed with cryo-SEM. The entire cryo-fractured area was imaged so as to visualize a sufficient number of objects for image analysis. .

4. Results and discussion

4.1. Influence of stabilizers on air bubbles size and quantity

3D visualizations of air bubbles in the samples obtained using micro-CT are shown in Figure 1; they give qualitative information about spatial distribution and number of air bubbles. Concerning the unstabilized sample (Figure 48 (a)), there was a small quantity of air bubbles,

they were heterogeneous in terms of size and shape and randomly distributed in the 3D volume. Similar air bubbles number and distribution were obtained with the sorbet containing 0.135% of CMC (Figure 48 (b)) whereas in the sorbet containing 0.3% of CMC, a higher proportion of small bubbles was observed compared to the control (Figure 48 (c)). There were more air bubbles in the LBG sample but their size distribution seemed still heterogeneous (Figure 48 (d)) compared to the control sample. Concerning the HPMC sorbet (Figure 48 (e)), air bubbles were numerous; they were small and uniformly distributed throughout the volume of the cube.

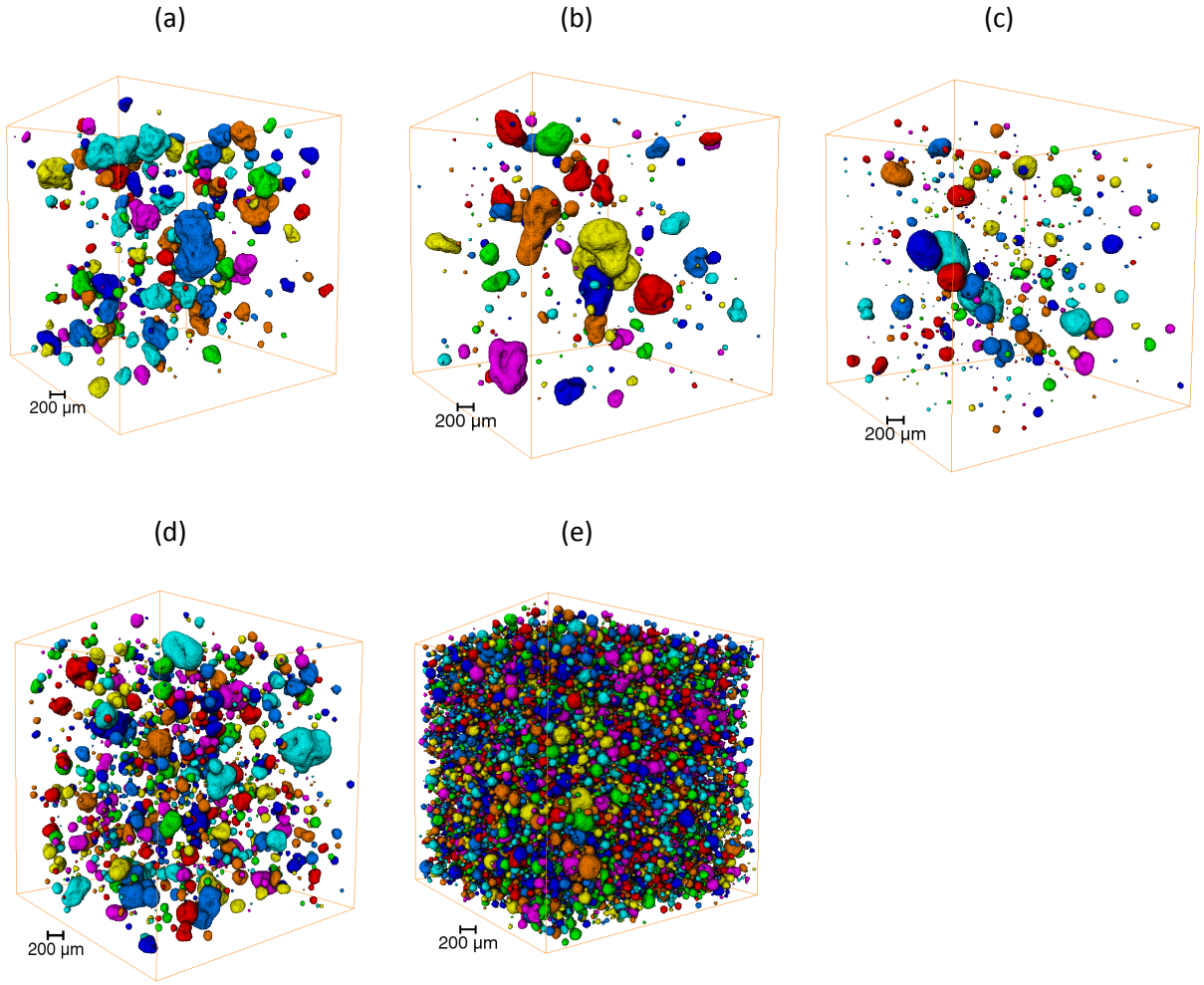


Figure 48 : 3D representation of air bubbles
(a) Control sample
(b) CMC 0.135%
(c) CMC 0.3%
(d) LBG
(e) HPMC

A cryo-SEM raw image of an unstabilized sample is reported in Figure 49 (a). Only one or two air bubbles were distinguished in these samples when using this technique, it was

therefore not possible to segment the air phase in these cases. The same observations were made with samples containing LBG or CMC (data not shown). The low number of air bubbles in these samples highlighted previously with micro-CT compared to the HPMC sorbet may explain that there was no air bubble in the fractured planes visualized in cryo-SEM. Then, unlike with micro-CT, the distinction of particles using cryo-SEM is not based on a difference in gray level. It was therefore possible that some air bubbles were mistaken for ice crystals. A cryo-SEM raw image of a sorbet containing HMPC is shown in Figure 49 (b). A large quantity of air bubbles was observable, which is in accordance with the large quantity of air bubbles observed with micro-CT analyzes. The segmentation and separation of air bubbles in the HPMC sample (Figure 49 (c)) confirmed the observation made with micro-CT: air bubbles were small and numerous even if they seemed less uniformly distributed than with micro-CT visualization.

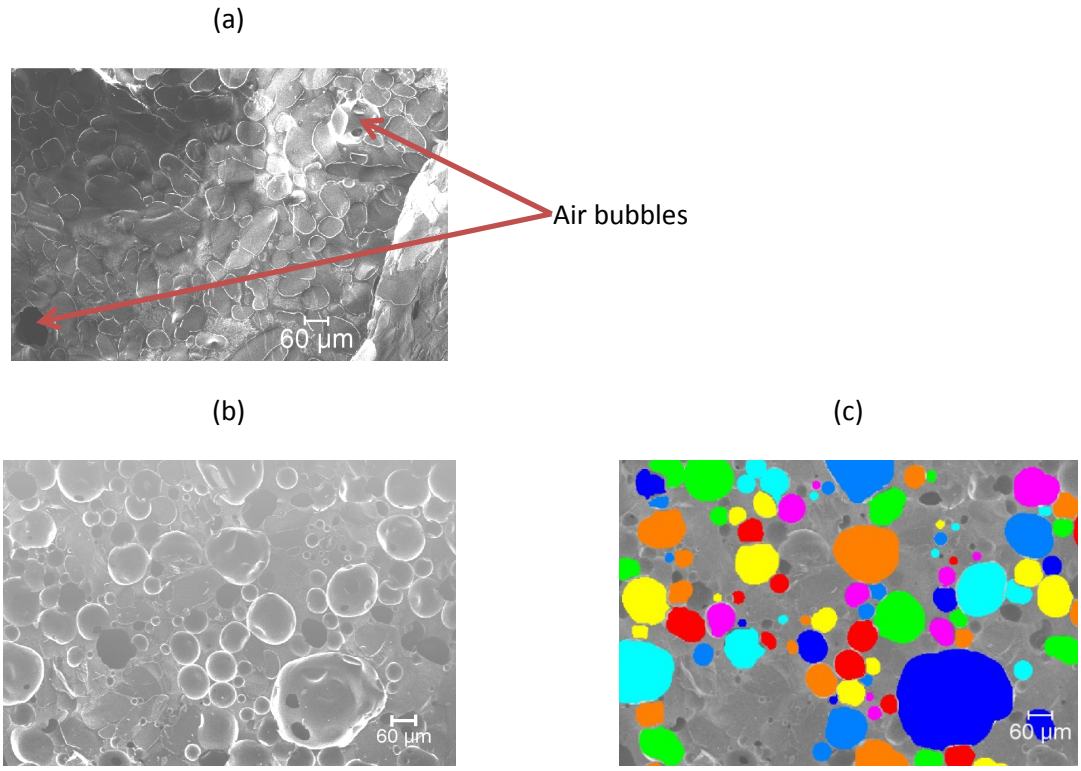


Figure 49 : Cryo-SEM images
(a) Raw image of unstabilized sample
(b) Raw image of HPMC sample
(c) Image obtained after segmentation separation of air bubbles for HMPC sample

The size distributions of air bubbles according to the composition of the sorbet mix and the analysis technique are shown in Figure 50. The results of micro-CT data treatment are illustrated in Figure 50 (a). First, CMC added at 0.135% had no effect on the size distribution

of the air bubbles compared to the control sorbet: 75% of the air bubble are lower than 150 µm and the higher class reached up to 250-300 µm. HPMC and LBG presented the same size distribution and ,compared to the control sample, they revealed a significantly higher proportion of bubbles between 50 µm and 100 µm and more than 90% are lower than 150 µm. Concerning the 0.3% CMC sorbet; it contained significantly more bubbles of size less than 50 µm and lower proportions of bubbles in size classes larger than 100 µm. The bubble size distributions obtained with micro-CT and with cryo-SEM for the HPMC sorbet are compared in Figure 50 (b). The trends were the same, which tended to confirm the validity of micro-CT measurements and image processing.

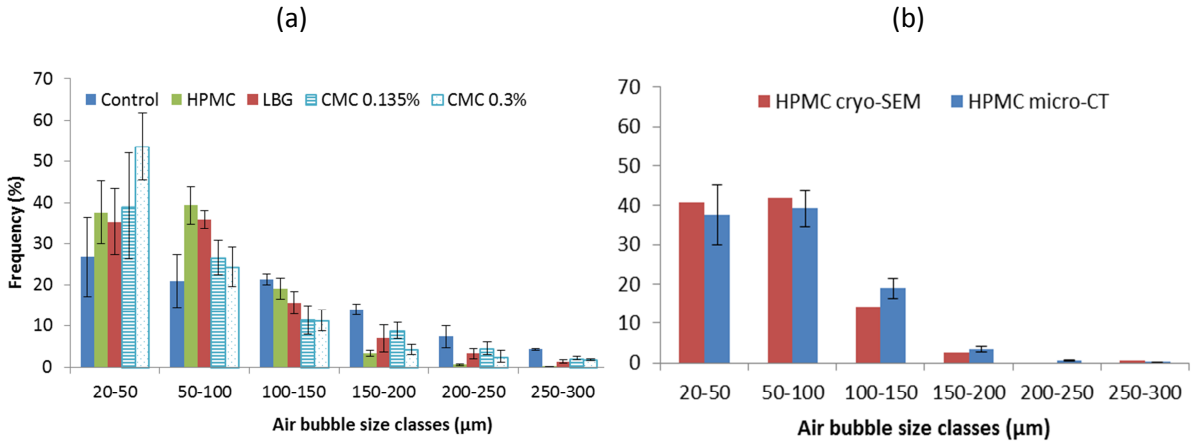


Figure 50 : Air bubble size distributions
(a) Micro-CT
(b) HPMC results: micro-CT versus cryo-SEM

Table 17 combines the quantitative results for air bubbles after micro-CT and cryo-SEM image analyses. First, the air volume fraction was significantly higher in the HPMC sorbet (about 19%) than in the other sorbets (between 5% and 9%). The number of air bubbles was also significantly higher with HPMC and to a lesser extent with LBG compared to the other sorbets. It was therefore expected that the air bubbles were smaller in both LBG and HPMC sorbets than in the control sorbet. The mean bubble size was effectively smaller in the HPMC sorbet (about 70 µm) and in the LBG sorbet (about 85 µm) than in the control sorbet (about 120 µm). Despite the low number of air bubbles observed in cryo-SEM in the HPMC sorbet, the size of air bubbles using this technique was in the same order of magnitude than the micro-CT values. HPMC is a surface-active polysaccharide, macromolecules adsorb to the gas/liquid interfaces and stabilizes the air bubbles (Clarke, 2012; Sarkar, 1984); the HPMC sorbet was then expected to contain a higher amount of air and smaller bubbles than the other

sorbets. In the case of LBG, it could contain a small amount of proteins which would have interfacial properties and thus stabilize small bubbles; indeed the degree of purity of LBG was not mentioned by the supplier.

CMC added at 0.135% to a sorbet mix did not seem to have any effect on the volume of air nor on the number of air bubbles; bubble size (mean and median) was not affected either. Before freezing, this mix was 8 times more viscous than the control mix and all stabilized mixes were isoviscous (Table 16). Therefore, this increase in viscosity was not enough to influence the aeration in the sorbet.

Added at 0.3%, CMC decreased the mean size of air bubbles as much as HPMC and LBG (75 µm) compared to the control (120 µm), without affecting the volume fraction of air or the number of bubbles. As expected when observing the size distributions of air bubbles (Figure 50), the median equivalent diameter was significantly smaller with 0.3% CMC sorbet than in the control sample, indicating that CMC modified the size distribution with an higher proportion of small bubbles. Before freezing, the 0.3% CMC mix was about 16 times more viscous than the control mix and 2 times more viscous than the other stabilized mixes (Table 16). Such an increase in viscosity did not affect the amount of air or the quantity of bubbles but could have affected their size distribution. This confirmed the ability of a viscous matrix to slow down the coalescence of small air bubbles (Arbuckle, 1986; Clarke, 2012; Marshall et al., 2003).

Table 17 : Air bubbles quantitative data obtained with micro-CT and cryo-SEM

		Unstabilized	HPMC	LBG	CMC 0.135%	CMC 0.3%
X-Ray Micro-CT	Volume fraction (%)	5.6±0.7a	19.1±3.0b	9.0±2.6a	7.3±3.1a	5.3±1.4a
	Number of particles	307±74c	12 823±3 046d	1 576±359e	254±95c	375±87c
	Mean equivalent diameter (µm)	123±13f	71±6g	86±11g	108±34f,g	75±11g
	Median equivalent diameter (µm)	105±12f	67±10g	67±11g	69±24f,g	50±9g
Cryo-SEM	Number of particles analyzed	–	162	–	–	–
	Mean equivalent diameter (µm)		66			
	Median equivalent diameter (µm)	–	59	–	–	–

Different lower case letters indicate significant differences between values, $p < 0.05$.

4.2. Influence of stabilizers on ice crystals size and quantity

4.2.1.Analysis of fresh sorbets directly after freezing

Results of micro-CT image processing of the ice phase are shown in Figure 51. Ice crystals are individually color rendered by imaging processing. They appeared small and numerous whatever the composition of the sorbet and no difference in ice crystal size or quantity was founded between the samples at this stage of the analysis. Visual observation of micro-CT images was therefore not sufficient to establish an eventual effect of stabilizers on the size and morphology of ice crystals.

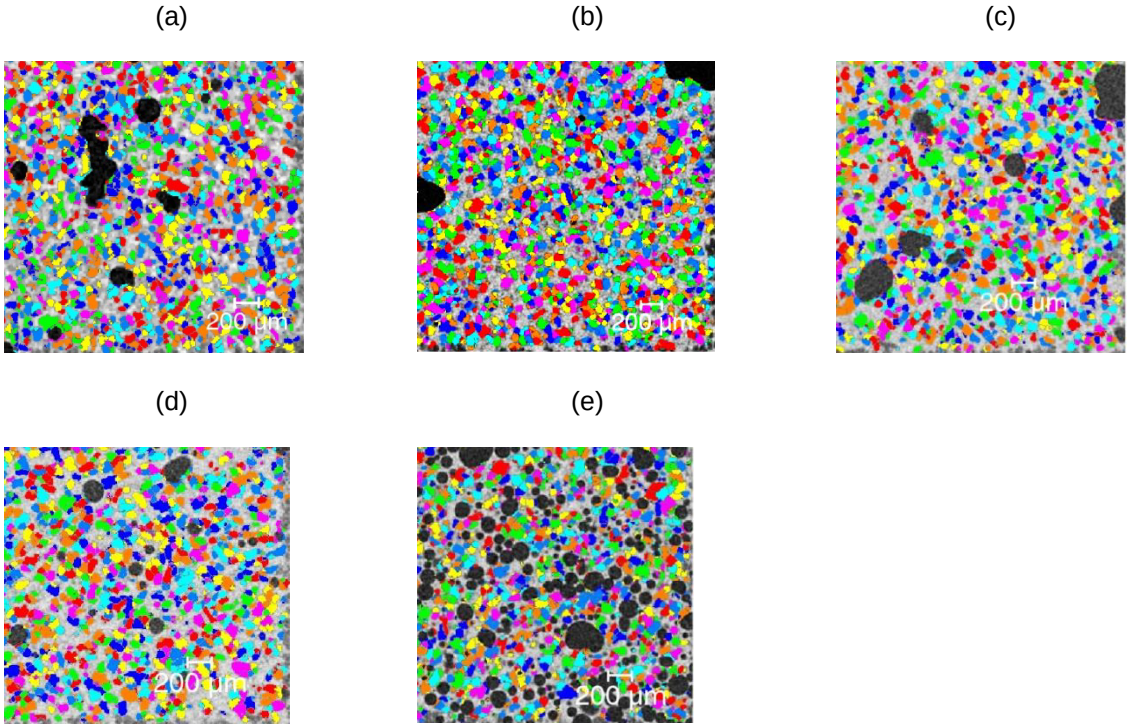


Figure 51 : Micro-CT image processing of the ice phase: Image obtained after segmentation and separation operations
(a) Control sample
(b) CMC 0.135%
(c) CMC 0.3%
(d) LBG
(e) HPMC

A cryo-SEM image of an unstabilized sample after manual segmentation and separation of ice crystals is reported in Figure 52 (a). Similar images were obtained with samples containing CMC (data not shown). An image of a HPMC sorbet after manual segmentation and separation of ice crystals is reported in Figure 52 (b). The large presence of air bubbles made the distinction of ice crystals difficult and the ice crystals partially covered by air bubbles

were excluded from the analysis. Finally, a small amount of crystals was analyzed in the HPMC sample using cryo-SEM images.

Distributions of ice crystal sizes according to the imaging technique are shown in Figure 53. Regarding the distribution obtained with micro-CT (Figure 53 (a)), it appeared that except for the HPMC sorbet, all sorbets showed nearly the same distribution of ice crystals sizes. This distribution seemed to follow a normal law with a majority of crystals between 50 and 70 µm. Concerning the HPMC sorbet, more than 60% of crystals were lower than 50 µm, this could suggest that HPMC prevents the growth of ice crystals during freezing. The same tendencies were obtained using cryo-SEM (Figure 53 (b)).

(a) (b)

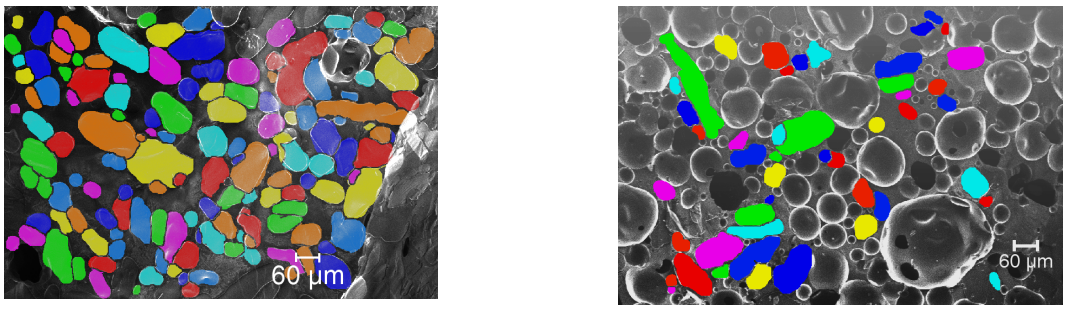


Figure 52 : Cryo-SEM images
(a) Image obtained after segmentation and separation for unstabilized sample
(b) Image obtained after segmentation and separation of ice crystals for HMPC sample

(a) (b)

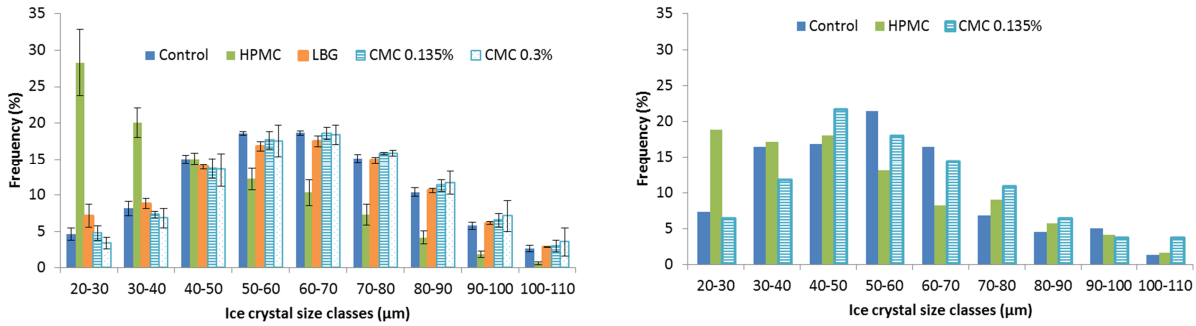


Figure 53 : Ice crystal size distributions
(a) Micro-CT
(b) Cryo-SEM

Quantitative data concerning ice crystals in the different sorbet formulations observed in micro-CT and in cryo-SEM are given in Table 18. First, the mass fraction of ice calculated with micro-CT data was about 48% whatever the composition of the sorbet mixes, except for the HPMC which was slightly lower (about 43%). The ice mass fraction of a frozen sucrose solution at -6 °C given by the liquidus curve of the solution is estimated at 45% (Cerecero Enriquez, 2003). Therefore, in the conditions of the present study, stabilizers would have only a small influence on the quantity of ice produced during the freezing of a sorbet, regardless of the stabilizer concentration and thus of the initial apparent viscosity of the sorbet mix. This result is consistent with the literature; Herrera et al. (2007) found that 0.5% of LBG added to a 20% sucrose solution did not significantly modify the percentage of formed ice at -7 °C or at -15 °C.

Micro-CT analysis showed that there were significantly more ice crystals in the HPMC sorbet than in the others (about 120000 and 70000 respectively). Therefore it was expected that the mean size of ice crystals was significantly reduced by the presence of HPMC but not by the other stabilizers. Finally, it was found that the HPMC sorbet contained crystals of about 45 µm whereas all the others (control, LBG and CMC) were composed of crystals of about 65 µm. Results about CMC were consistent with the literature ; Flores and Goff (1999b) also concluded that CMC had no effect on the size of ice crystals when added at 0.26% to a 26% sucrose mix,.

Trends observed with micro-CT were also found with cryo-SEM. The mean sizes obtained were of the same order of magnitude and the value obtained with the HPMC sample was smaller than for the other samples. This allowed validating the micro-CT analysis, from sampling to image processing.

Table 18 : Ice crystals quantitative data obtained with micro-CT and cryo-SEM

		Unstabilized	HPMC	LBG	CMC 0.135%	CMC 0.3%
X-Ray Micro-CT	Mass fraction (%)	48.3±2.1a	43.0±1.1b	49.4±0.1a	46.0±2.5a,b	47.1±3.4a,b
	Number of particles	77 935±1826c	117 808±1 1886d	75 496±998c	68 775±4 812c	67 645±1 0562c
	Mean equivalent diameter (µm)	62.8±1.4e	45.6±2.8f	62.4±0.8e	64.2±1.5e	65.9±4.3e
Cryo-SEM	Number of particles analyzed	142	122	118	112	–
	Mean equivalent diameter (µm)	56.5	50.8	54.8	59.7	

Different lower case letters indicate significant differences between values, $p < 0.05$.

Before freezing, HPMC, LBG and 0.135% CMC mixes were about 8 times more viscous than the control mix (Table 16) whereas LBG and 0.135% CMC sorbets contained crystals of nearly the same size as the control sorbet (about 65 µm). This result shows that the viscosity at the start of the process would not be the key parameter in controlling the ice crystal size. This hypothesis tends to be confirmed comparing the crystals size in the 0.3% CMC sorbet to that of the control sample: the crystals sizes are similar whereas the viscosity of the mix was 16 times higher (Table 16).

HPMC was the only hydrocolloid which increased significantly the amount of air in the sorbet while decreasing the ice crystal size and increasing their quantity. These results raised the question of the link between the influence of HPMC on quantity and size of ice crystals and its surfactant properties. Air bubbles could be expected to insulate the freezing mix since the thermal conductivity of air is much lower than that of water and ice. In this case, it would theoretically extend the freezing time and thus led to the formation of larger ice crystals. However, Thomas (1981) explained that a large amount of air would reduce ice crystal sizes by mechanical hindrance. Clarke (2012) added that air bubbles could help to keep the ice crystals separated and therefore to reduce accretion. Flores and Goff (1999b) also noticed that sorbets with higher amounts of air contained smaller crystals. The authors concluded that air bubbles would act as a physical barrier during freezing by reducing collisions between crystals and stretching the unfrozen matrix around them. Hernández Parra et al. (2018) also observed that industrial sorbets (containing a mixture of HPMC, LBG and guar gum) with higher overruns contained smaller crystals.

HPMC, LBG and 0.3 % CMC sorbets contained air bubbles of the same size, whereas the size of ice crystals was only decreased in the presence of HPMC that gave the higher volume fraction of air. This seems to indicate that the quantity of air is the key parameter in controlling ice crystal size rather than the bubble size.

4.2.2.Dynamic analysis of crystallization

FBRM measurements were carried out continuously during the crystallization and coupled with a continuous temperature recording. The ice distribution was specifically analyzed and the mean chord length was calculated at three different temperatures : -2.5 °C, -3.5 °C and -4 °C, corresponding respectively to approximately 10%wt, 30%wt and 35%wt of ice according to the liquidus curve of a 25%wt sucrose solution (Cerecero Enriquez, 2003). When the quantity of ice became too large, the sorbet escaped from the freezer and the signal from the

FBRM probe saturated; data were then no longer exploitable. Therefore it was not possible to analyze sorbet at -6 °C with this technique, in contrast to micro-CT and cryo-SEM analyses. Results obtained with the dynamic analysis of the crystallization of sorbets are shown in Figure 54.

At -2.5 °C, the mean chord length was nearly the same (about 60 to 75 µm) whatever the samples. This could indicate that the beginning of the crystallization and in particular the nucleation was not affected by the presence of stabilizers used in this study.

Concerning the control sample, data recorded at -3.5 °C and -4 °C showed a significant increase in the mean chord length measured (more than 150 µm and 200 µm respectively). Indeed, above -2.5 °C, it was visually noticed that the unstabilized sorbet froze in the form of large clusters of ice crystals while the other sorbets were much more homogeneous and smooth. This could be related to the increase in the viscosity of the unfrozen residual solution in the presence of stabilizer; in fact, this solution which surrounds the crystals could limit their aggregation. Finally, it was difficult to follow the crystallization in the control sample with the FBRM probe which was probably analyzing the entire clusters rather than individual crystals. Therefore it will be difficult to compare the control with the other sorbets at temperatures above -2.5 °C and these results will not be discussed further.

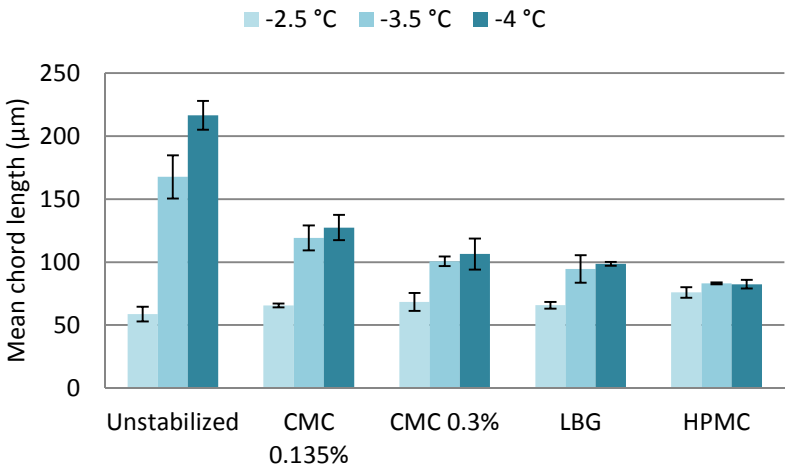


Figure 54 : Mean chord lengths of ice crystals obtained with FBRM experiments at three points in the freezing process

LBG and CMC sorbets showed an increase in the mean chord length during the freezing process: from nearly 65µm at -2.5°C to nearly 100 µm at -3,5 °C and -4 °C. Furthermore there was no significant difference of mean chord length at -4 °C between these samples (mean

value about 110 µm). This could indicate that under these conditions, crystals can grow in the presence of LBG and CMC. Concerning the HPMC sorbet, there was no significant change in the mean chord length during freezing (from 75 µm to 80 µm). At -4 °C, the mean chord length was significantly smaller in the HPMC sorbet (about 80 µm) than in the other stabilized samples. This result confirmed that under the conditions of the present study, the growth of ice crystals was prevented during freezing in the presence of HPMC. Finally, results seemed to be in agreement with the micro-CT and cryo-SEM data. However, all the mean chord lengths obtained with FBRM was higher than the equivalent diameters determined with micro-CT and cryo-SEM. This was probably due to the measurement mode of the FBRM probe which measured chords lengths and not equivalent diameters.

5. Conclusions and perspectives

Sorbet mixes containing water, 25%wt of sucrose and HPMC, CMC or LBG as stabilizer were frozen and sorbets were analyzed directly after their freezing by X-ray microtomography and cryo-scanning electron microscopy. Image processing allowed obtaining quantitative information about the ice and the air phase. The crystallization of water in sorbets was also studied in real time during their freezing using an FBRM probe.

Comparing the results with the literature illustrated that, under the conditions of this study, there would be no link between the rheological properties of mixes or unfrozen residual solutions and ice crystals size. LBG and highly concentrated CMC decreased the size of air bubbles while having no effect on the size of ice crystals neither on the mass fraction. HPMC significantly increased the amount of air incorporated into the sorbet while reducing the size of the bubbles. HPMC also significantly reduced the size of ice crystals, unlike the other stabilizers which did not influence ice crystals size. The effect of HPMC on ice crystals size seemed to be related to its surfactant properties which allowed incorporating a significantly higher amount of air; air bubbles would act as a physical barrier and a mechanical hindrance phenomenon would prevent crystal growth as confirmed with the analysis carried out with FBRM. FBRM analyzes also showed that all the stabilizers tested would prevent the crystals from agglomerating, this being probably related to their effect on the viscosity of the unfrozen matrix.

Finally, this study provided a better understanding of the mechanisms of air incorporation and crystallization in the presence of stabilizers. However, the specific mechanisms are not clearly defined and other studies would be relevant to conclude. Studies of the surfactant properties

of HPMC and of the specific properties of LBG used in this study could be interesting to better explain the results. The use of micro-CT, helpful to highlight the combine effect of air bubbles in ice crystallization, could also be extended to the analysis of sorbets having more complex compositions, in particular sorbets containing blends of stabilizers, in order to study the possible synergistic effects of stabilizers on the crystallization of sorbets but also on air incorporation.

Conclusion générale et perspectives

La problématique de cette thèse était de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le contrôle de la cristallisation sous cisaillement des sorbets contenant des stabilisants. La nucléation des cristaux de glace en échangeur de chaleur à surface raclée est considérée comme rapide dans la littérature, le sous-refroidissement à la paroi étant important. La croissance pourrait à l'inverse être limitée par un certain nombre de mécanismes dont la diffusion moléculaire et l'évacuation de la chaleur latente de congélation au sein de la matrice non congelée. Il apparait dans la littérature, sans que cela soit totalement consensuel, que les stabilisants pourraient avoir un impact sur la mobilité moléculaire de par leurs propriétés viscosifiantes ou viscoélastiques. La présence d'air, dont la quantité pourrait varier en présence de stabilisants tensioactifs, contribuerait par ailleurs à la limitation de la croissance par action mécanique.

Peu d'études prennent en compte simultanément ces différentes contributions (rhéologie, diffusion, propriétés de surface, propriétés thermiques à l'équilibre) sur la congélation d'un même système. Nous avons donc construit notre stratégie expérimentale pour étudier l'impact de ce ces mécanismes sur la cristallisation de l'eau au sein de solutions simples, contenant du saccharose et un stabilisant utilisé dans les mixes de sorbets parmi l'HPMC, la LBG ou la CMC. Les propriétés rhéologiques et tensio-actives ainsi que les propriétés de diffusion des molécules d'eau de ces solutions ont été analysées dans des conditions prenant en considération les conditions de concentration, de température et de cisaillement évoluant au cours du procédé. Les propriétés thermiques d'équilibre des mixes ont été étudiées puis ils ont été congelés pour analyser leur microstructure.

Dans un premier temps, les principaux résultats obtenus pour chacune de ces caractérisations sont brièvement rappelés ainsi que les conclusions importantes dans le cadre du procédé étudié. Les limites de la technique ou des conditions testées sont aussi discutées et des perspectives d'essais complémentaires sont proposées pour dépasser ces limites. Une réflexion et un lien entre les différents phénomènes mis en évidence lors de ces caractérisations sont ensuite proposés, notamment entre la microstructure des sorbets et la physico-chimie des solutions non congelées (mix et solution résiduelle). Enfin des perspectives générales à cette étude sont données.

Propriétés rhéologiques de solutions sucrées et stabilisées

L'étude rhéologique a permis de caractériser et de quantifier les propriétés à l'écoulement et les propriétés viscoélastiques de solutions représentant un mix de sorbet au démarrage de la congélation en ECSR, et la phase non congelée d'un sorbet en fin de procédé.

Au fur et à mesure que les concentrations en sucre et en stabilisant augmentent dans la phase non congelée, les solutions étudiées deviennent logiquement plus consistantes mais également de plus en plus rhéofluidifiantes. La viscosité apparente de la solution résiduelle non congelée en fin de procédé, dans les conditions de cisaillement d'un échangeur à surface raclée, est jusqu'à 5 fois plus importante que celle du mix en début de congélation. En revanche, l'abaissement de la température n'a que peu d'effet.

Nous avons pu montrer que l'évolution de la rhéologie des phases continues non congelées dépend des stabilisants. A isoconcentration, les solutions représentant les mixes au démarrage de la congélation contenant de l'HPMC ou de la LBG développent des niveaux de viscosité apparente identiques alors que celle contenant de la CMC est plus de 2 fois plus visqueuse. Quant à la solution représentant la solution résiduelle non congelée en fin de procédé, la CMC et l'HPMC à isoconcentration lui confèrent le même niveau de viscosité tandis que celle contenant de la LBG est 2 fois moins visqueuse. Les propriétés des solutions de LBG et CMC sont ainsi plus dépendantes de l'environnement qui se concentre en sucre. D'autre part, la CMC confère à la solution résiduelle non congelée des propriétés élastiques alors que les deux autres stabilisants présentent un caractère essentiellement visqueux.

L'analyse des propriétés intrinsèques des stabilisants a montré que la concentration critique d'enchevêtrement est 40 fois plus élevée pour la CMC que pour la LBG ou l'HPMC. De plus, la viscosité intrinsèque de la CMC est 6 à 13 fois supérieure à celle des deux autres stabilisants, en fonction la concentration en sucre. D'après l'équation d'Huggins, ces propriétés intrinsèques impactent l'évolution de la viscosité de la solution. Celle-ci étant également dépendante du taux de cisaillement variant lors de la congélation en ECSR, il serait intéressant d'étudier le comportement à l'écoulement de la solution non congelée tout au long de la congélation en ECSR. Ces propriétés étant le résultat d'un couplage complexe entre les paramètres du procédé et les propriétés intrinsèques de chaque stabilisant, la mise au point d'un plan d'expérience et d'un outil numérique de prédiction pourraient s'avérer particulièrement adaptés.

Mobilité moléculaire au sein de solutions sucrées et stabilisées

La mobilité des molécules d'eau a été étudiée dans les conditions de concentrations et de température représentant la solution résiduelle non congelée en fin de congélation.

Les résultats révèlent que dans ces conditions, l'HPMC, la LBG et la CMC diminuent significativement la diffusion des molécules d'eau (d'environ 20%) en comparaison à une solution sucrée non stabilisée. A isoconcentration, l'HPMC, la CMC et la LBG donnent des résultats du même ordre de grandeur. Dans ces conditions, la nature du stabilisant n'influence donc pas la diffusion de l'eau.

Les mesures de mobilité moléculaire étant réalisées dans des solutions au repos, les résultats ont été confrontés aux valeurs de l'indice de consistance *K* obtenus dans les mêmes conditions de concentrations en sucre et en stabilisant et à la même température. Dans ces conditions, la solution de CMC est plus de 4 fois plus consistante que celle contenant la LBG ; l'effet identique des stabilisants sur la diffusion des molécules d'eau ne s'explique donc par la viscosité des solutions.

Pour une même concentration en sucre, l'effet d'une diminution de la température sur la mobilité a été étudié dans une solution stabilisée et non stabilisée. Les résultats montrent, quel que soit le stabilisant, un effet synergique entre la baisse de la température et l'ajout d'un stabilisant sur la mobilité moléculaire : celle-ci n'est pas impactée par la diminution de la température dans une solution sucrée tandis qu'elle diminue significativement dans une solution sucrée et stabilisée. Les résultats de l'analyse rhéologique n'expliquent pas ce résultat : la diminution de la température n'a que peu d'influence sur la consistance des solutions sucrées, stabilisées ou non.

Il serait intéressant d'analyser également la mobilité des molécules de sucre. En effet, durant la congélation, ces molécules doivent s'éloigner des cristaux de glace par contre diffusion pour permettre leur croissance. Des analyses préliminaires ont montré que, dans nos conditions de concentrations et étant donné la taille importante des molécules de saccharose, il n'était pas possible de mesurer avec suffisamment de sensibilité leur coefficient de diffusion ou de relaxation. La littérature fait également état de la difficulté d'analyser la mobilité moléculaire de telles molécules.

Propriétés de surface de mixes de sorbet stabilisés

Les propriétés de surface de mixes de sorbets à isoviscosité apparente en début de procédé de congélation ont été étudiées.

Dans ces conditions, la CMC ne présente pas de propriétés tensioactives comparée aux deux autres stabilisants qui réduisent de 20% la tension de surface en comparaison à une solution sucrée non stabilisée. Les bulles d'air sont donc moins bien stabilisées en présence de CMC tandis qu'une plus grande quantité de bulles est attendue en présence de LBG ou d'HPMC.

La diminution de la tension de surface initiale est plus lente en présence de LBG que d'HPMC, la cinétique de stabilisation des bulles d'air serait donc plus lente en présence de LBG. Enfin, l'étude a révélé le caractère significativement plus élastique (presque 7 fois) des interfaces air/liquide du mix contenant de l'HPMC comparé à celui contenant de la LBG. Les bulles d'air seraient donc stabilisées plus rapidement en présence d'HPMC. D'autre part, cette plus grande élasticité favoriserait la fragmentation des bulles en cas de contrainte mécanique ; le sorbet contenant de l'HPMC serait ainsi constitué de bulles d'air plus petites qu'en présence de LBG. L'HPMC serait donc le stabilisant le plus efficace pour l'incorporation de bulles d'air de petite taille dans le sorbet et leur maintien au sein de la matrice durant le procédé dynamique de congélation.

Bien que l'effet de la température constaté soit négligeable dans la gamme de températures d'analyse de cette étude (entre 2 °C et 8 °C), la mise au point d'un protocole d'analyse à des températures négatives serait pertinent pour mieux représenter le produit réel en cours de congélation.

Propriétés thermiques d'équilibre des mixes de sorbets stabilisés

Il a été montré que l'HPMC n'a pas d'influence sur l'équilibre thermodynamique de solutions sucrées. Ce stabilisant n'impacte pas la température de congélation commençante ni l'enthalpie de changement d'état de l'eau d'un mix de sorbet. Ce résultat est en accord avec la littérature concernant les stabilisants et avec l'estimation de la température de congélation commençante par le calcul. La quantité de glace obtenue pour une température donnée n'est donc pas impactée par la présence de ce stabilisant.

Même s'il n'est pas attendu que ces résultats diffèrent avec la CMC ou la LBG, il serait tout de même intéressant d'effectuer les mêmes analyses avec ces deux stabilisants.

Microstructure des sorbets stabilisés

La première étape de l'étude de la microstructure d'un sorbet a concerné la mise au point d'un protocole d'analyse fiable et non destructif, adapté aux échelles de tailles des bulles d'air et des cristaux de glace.

Notre choix s'est porté sur la microtomographie à rayons-X afin notamment d'obtenir des informations sur la microstructure en 3D. Un microtomographe de paillasse a été utilisé et une boîte isotherme a été adaptée et employée avec succès pour maintenir les échantillons à température négative pendant toute la durée d'acquisition des images. Ce système est simple à utiliser et rend la méthodologie expérimentale facile à reproduire. Le protocole d'acquisition microtomographique a permis une analyse reproductible et non destructive d'un sorbet fraichement congelé, dont la structure est complexe et triphasique. La procédure de traitement des images a permis de séparer les cristaux de glace et les bulles d'air et de recueillir un certain nombre de données quantitatives relatives à ces phases (fractions volumiques et massiques, nombre de particules, diamètres équivalents moyen et médian des particules). D'un point de vue plus qualitatif, l'analyse a permis d'obtenir les distributions spatiales des cristaux et des bulles d'air grâce à la visualisation tridimensionnelle. Les résultats concernant les cristaux de glace ont été validés avec des images obtenues en cryo-MEB et sont cohérents par rapport à la littérature.

De mixes de sorbets stabilisés, à isoviscosité apparente en début de procédé de congélation, ont été congelés jusqu'à -6°C puis analysés grâce à ce protocole d'analyse microtomographique.

Tout d'abord, les résultats ont révélé que l'HPMC est le seul stabilisant à augmenter significativement (plus de 3 fois) la quantité d'air incorporé par rapport au sorbet non stabilisé. Ce résultat était attendu compte tenu des propriétés tensio-actives de ce stabilisant. Le sorbet contenant de la LBG, dont la valeur de tension de surface mesurée en solution était proche de celle de l'HPMC, ne contient, par contre, pas plus d'air que le sorbet non stabilisé. Ceci pourrait s'expliquer par la cinétique plus lente d'adsorption des protéines à l'interface air/liquide dans le cas de la LBG, et/ou par le caractère significativement moins élastique de l'interface en présence de ce stabilisant.

Ensuite, il a été montré que la CMC et la LBG n'impactent pas la fraction massique de glace formée dans les sorbets comparativement au sorbet non stabilisé. Ce résultat est en adéquation

avec la littérature qui indique que les stabilisants n'influencent pas la température de congélation commençante des mixes de sorbets ni l'enthalpie de changement d'état de l'eau dans ces solutions et donc pas la fraction de glace obtenue pour une température donnée. Dans le cas de l'HPMC, sa présence diminue la fraction massique de glace obtenue en fin de congélation de 10%. Les résultats de l'analyse thermique de solutions sucrées contenant de l'HPMC, ne montrant aucune influence de la présence d'HPMC sur la courbe d'équilibre, ne permettent cependant pas d'expliquer cet écart.

Enfin, l'HPMC est le seul stabilisant montrant un effet significatif sur la taille et sur le nombre des cristaux de glace mesurés directement après la congélation en ECSR. En présence de ce stabilisant, les cristaux de glace sont significativement plus petits (réduction de 26% du diamètre moyen) et plus nombreux (augmentation du nombre de près de 40%).

L'analyse temporelle de la taille des cristaux de glace en formation lors de la congélation confirment et complètent la tendance précédente. En début de procédé, la taille des cristaux de glace est identique dans les sorbets stabilisés, ce qui pourrait indiquer que le processus de nucléation ne diffère pas selon le stabilisant employé. En cours de procédé, la taille des cristaux n'évolue pas dans le sorbet contenant de l'HPMC tandis qu'elle augmente significativement dans les autres sorbets. En fin de procédé, la taille des cristaux est alors inférieure en présence d'HPMC qu'avec les deux autres stabilisants. L'HPMC semble donc avoir un effet limitant sur la croissance des cristaux de glace lors de la congélation.

D'autre part, il a été observé visuellement que dans le sorbet non stabilisé, l'eau congèle sous la forme d'importants blocs de glace. L'analyse des tailles de cristaux en dynamique révèle par ailleurs la présence d'agrégats de cristaux de glace dans ce sorbet (de dimension supérieure à 200 µm). Dans les sorbets stabilisés, à l'inverse, le sorbet est beaucoup plus lisse et l'analyse en dynamique révèle que les cristaux s'agrègeraient significativement moins même en présence de LBG et de CMC, qui n'ont pourtant pas d'influence sur la taille des cristaux de glace. Ceci pourrait être en lien avec l'augmentation de la viscosité de la solution résiduelle non congelée en présence de stabilisant ; en effet cette solution qui entoure les cristaux pourrait limiter leur agrégation.

Liens entre la rhéologie et la taille des cristaux

Les mixes de sorbets stabilisés ont été formulés afin de se placer à isoviscosité en début de congélation. Un mix contenant 0,3%$_m$ de CMC a également été formulé, celui-ci a une

viscosité apparente deux fois supérieure aux autres mixes de sorbets stabilisés. Par ailleurs, la taille des cristaux mesurée en début de procédé de congélation est similaire dans les différents sorbets stabilisés. La taille de cristaux initiale similaire ne s'explique pas donc directement par une viscosité initiale identique. En fin de congélation, la solution résiduelle non congelée est aussi visqueuse en présence d'HPMC que de CMC lorsque celle-ci est initialement introduite à 0,3%$_m$; pourtant les cristaux sont plus petits avec l'HPMC. L'impact de l'HPMC sur la taille des cristaux semble donc indépendante des propriétés à l'écoulement de la solution résiduelle non congelée en fin de procédé.

Ces résultats montrent encore l'intérêt d'analyser le comportement à l'écoulement de la solution non congelée tout au long de la congélation en échangeur de chaleur à surface raclée.

Liens entre la mobilité moléculaire et la taille des cristaux

L'étude de la mobilité moléculaire a permis d'établir que les stabilisants diminuent significativement la mobilité des molécules d'eau ; cependant cette diminution est identique pour les trois stabilisants. La diminution de la taille des cristaux de glace en présence d'HPMC n'est donc pas en lien avec son influence sur la mobilité des molécules d'eau. Finalement, l'impact des stabilisants sur la mobilité moléculaire ne serait pas suffisant pour limiter significativement la croissance des cristaux de glace.

Liens entre la quantité d'air, la taille et le nombre des cristaux

Comme mis en évidence précédemment, l'HPMC est le seul stabilisant qui augmente significativement la quantité d'air dans le sorbet tout en diminuant significativement la taille des cristaux de glace et en augmentant leur nombre. Par ailleurs, Les sorbets contenant de l'HPMC ou de la LBG contiennent des bulles d'air de même taille, tandis que la taille des cristaux de glace n'est diminuée qu'en présence d'HPMC. Ceci semble indiquer que la quantité d'air est un paramètre clé pour contrôler la taille des cristaux de glace, plutôt que la taille des bulles. Comme énoncé dans la littérature, il semble que les bulles d'air en grande quantité agissent comme une barrière physique pendant la croissance des cristaux. Bien que le mécanisme ne soit pas parfaitement élucidé durant ce travail de thèse, il est possible d'imaginer que les bulles d'air diminueraient notamment les collisions entre les cristaux à l'origine de leur agrégation.

Perspectives

Ce travail de thèse ouvre plusieurs perspectives.

Le choix a été fait dans ce travail de ne considérer que des stabilisants uniques en solution pour identifier les phénomènes. Or, l'analyse de la composition des sorbets du commerce a révélé que leur formulation était systématiquement plus complexe que celle des solutions que nous avons choisies. Dans la plupart des cas, des mélanges de sucres et de stabilisants sont utilisés. Il serait donc pertinent, pour représenter un produit réel, de poursuivre les analyses décrites dans ce manuscrit avec des mixes de sorbets contenant un mélange de sucres et un mélange de stabilisants. La littérature a permis d'identifier que la nature du sucre impacte notamment la cinétique de congélation et finalement la quantité de glace obtenue à une température donnée ; un mélange de sucre, prenant notamment en considération le fructose présent dans des jus de fruit, aura donc probablement un effet différent sur ces paramètres. Concernant les stabilisants, ils développent en mélanges des relations de synergies (Sikora and Kowalski, 2007). Certaines de ces synergies sont connues et décrites dans la littérature ; la plus étudiée d'entre elles est la synergie entre la gomme xanthane et les galactomannanes conduisant au développement de propriétés viscoélastique importantes (Fitzsimons et al., 2008; Goycoolea et al., 2001; Khouryieh et al., 2006, 2007a; Khouryieh et al., 2007b; Launay et al., 2000; Shobha and Tharanathan, 2009). Cependant, il n'existe pas de littérature dédiée à ces synergies dans des conditions de concentrations et de températures semblables à celles du procédé de fabrication des sorbets.

Ensuite, ce travail de thèse a été réalisé en fixant l'ensemble des paramètres du procédé. Les effets de ces derniers sur la cristallisation ont été étudiés par ailleurs, notamment lors de précédent travaux doctoraux effectuées dans les laboratoires d'accueil de cette thèse. Ces travaux ont montré l'influence de certains paramètres du procédé (dont certains ne sont modulables qu'en procédé continu) sur la microstructure des sorbets et notamment sur la quantité d'air incorporée. Le présent travail de thèse conclue par ailleurs à une influence majeure de la quantité d'air, liée à la présence d'un stabilisant tensioactif, sur la taille des cristaux de glace. Une perspective majeure serait donc d'analyser des sorbets aux formulations diverses, contenant des stabilisants tensioactifs ou non, tout en faisant varier les paramètres du procédé et donc le type de procédé (type batch/continu). Ceci permettrait d'étudier le couplage complexe entre procédé et formulation et finalement de conclure quant à l'influence de tous ces paramètres couplés sur la microstructure du sorbet final.

Enfin, l'analyse couplée de l'influence de la formulation et du procédé sur la quantité d'air incorporée permettrait de mettre au point un outil prédictif de la taille des cristaux de glace en fonction de cette quantité d'air. Cet outil de modélisation serait une aide précieuse pour mieux comprendre les interactions complexe entre formulation et procédé. Finalement, cet outil pourrait aussi permettre d'optimiser la production des sorbets afin d'obtenir un produit à la microstructure idéale, en lien avec les qualités organoleptiques recherchées par le consommateur.

Valorisation de la thèse

Outre les articles présentés dans les chapitres expérimentaux de ce manuscrit de thèse, les travaux ont été présentés dans le cadre de congrès nationaux et internationaux, sous la forme d'un poster ou d'une présentation orale. Ces valorisations sont décrites ci-dessous.

Poster	Conférence	17th Food Colloids Conference (Avril 2018, Leeds, Royaume-Uni)
	Titre	Rheological properties of stabilizers at low temperature in cryoconcentrated sugar solutions
	Auteurs	Véronique Masselot, Xuefan Song, Véronique Bosc, Gérard Cuvelier, Hayat Benkhelifa
	Description	Ce poster montre les propriétés à l'écoulement de solutions sucrées et stabilisées, analysées à des températures négatives. Ces résultats sont repris dans le Chapitre 3 (Chapitre 3.I.3).
Présentation orale	Conférence	32nd EFFoST Conference (Novembre 2018, Nantes, France)
	Titre	Influence of stabilizers on the crystallization of sorbets measured by a real-time ice crystals size analysis
	Auteurs	Véronique Masselot, Véronique Bosc, Hayat Benkhelifa
	Description	Nous avons montré les résultats de l'analyse en dynamique de la taille des cristaux de glace lors de la congélation de sorbets stabilisés, effectuée en FBRM. Ceux-ci font partie de l'article constituant la troisième partie du Chapitre 4 (Chapitre 4.III.3).

Présentation orale	Conférence	9ème Colloque national Cristal (Mai 2019, Nancy, France)
	Titre	Influence des stabilisants sur la microstructure d'un sorbet analysée en microtomographie à rayons X
	Auteurs	Véronique Masselot, Véronique Bosc, Hayat Benkhelifa
	Description	Cette présentation est dédiée à l'influence de l'HPMC sur la microstructure d'un sorbet fraichement congelé analysées en microtomographie à rayons X. Elle correspond à l'article constituant la troisième partie du Chapitre 4 (Chapitre 4.III.3).
Présentation orale	Conférence	20th Gums & Stabilisers for the Food Industry Conference (Juin 2019, San Sebastian, Espagne)
	Titre	Effect of stabilizers on the rheological properties of sugar solutions analyzed at sub-zero temperature
	Auteurs	Véronique Masselot, Hayat Benkhelifa, Véronique Bosc
	Description	Nous avons présenté les propriétés à l'écoulement ainsi que les propriétés viscoélastiques de solutions sucrées et stabilisées, analysées à des températures négatives. Ces résultats sont repris dans le Chapitre 3 (Chapitre 3.I.3).
Présentation orale	Conférence	25th ICR International Congress of Refrigeration (Août 2019, Montréal, Canada)
	Titre	Characterization of sorbet microstructure by using X-Ray Microtomography
	Auteurs	Véronique Masselot, Véronique Bosc, Hayat Benkhelifa
	Description	Cette présentation décrit les protocoles d'acquisition microtomographique et d'analyse d'image mis au point pour l'analyse des sorbets fraichement congelés. Elle correspond à l'article constituant la deuxième partie du Chapitre 4 (Chapitre 4.II.3).

Références bibliographiques

Al Hussani, M., Ali Al Hayani, M., (2014). The Use of Filtered Back projection Algorithm for Reconstruction of tomographic Image. 151-156. Retrieved from https://nahje.com/index.php/main/article/view/216

Alves, L.A., Almeida e Silva, J.B., Giulietti, M., (2007). Solubility of d-Glucose in Water and Ethanol/Water Mixtures. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 52(6), 2166-2170. https://doi.org/10.1021/je700177n

Arbuckle, W.S., (1986). *Ice Cream* (4th ed. ed). Springer, New York.

Arellano, M., Benkhelifa, H., Alvarez, G., Flick, D., (2013a). Coupling population balance and residence time distribution for the ice crystallization modeling in a scraped surface heat exchanger. *Chemical Engineering Science*, 102, 502-513. https://doi.org/10.1016/j.ces.2013.08.027

Arellano, M., Benkhelifa, H., Flick, D., Alvarez, G., (2012). Online ice crystal size measurements during sorbet freezing by means of the focused beam reflectance measurement (FBRM) technology. Influence of operating conditions. *Journal of Food Engineering*, 113(2), 351-359. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.05.016

Arellano, M., Flick, D., Benkhelifa, H., Alvarez, G., (2013b). Rheological characterisation of sorbet using pipe rheometry during the freezing process. *Journal of Food Engineering*, 119(3), 385-394. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.05.017

Arellano, M., Gonzalez, J.E., Alvarez, G., Benkhelifa, H., Flick, D., Leducq, D., (2011). Online ice crystal size measurements by the focused beam reflectance method (FBRM) during sorbet freezing. *Procedia Food Science*, 1, 1256-1264. http://dx.doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.186

Arellano Salazar, M.P., (2012). Caractérisation expérimentale et modélisation de systèmes multiphasiques au cours du procédé de congélation à l'échelle pilote. Application à la fabrication de sorbets dans des échangeurs de chaleurs à surface raclée AgroParisTech, Paris, p. 299.

Arinaitwe, E., Pawlik, M., (2014). Dilute solution properties of carboxymethyl celluloses of various molecular weights and degrees of substitution. *Carbohyd. Polym.*, 99, 423-431. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.030

Avranas, A., Tasopoulos, V., (2000). Aqueous Solutions of Sodium Deoxycholate and Hydroxypropylmethylcellulose: Dynamic Surface Tension Measurements. *Journal of Colloid and Interface Science*, 221(2), 223-229. https://doi.org/10.1006/jcis.1999.6574

Bahramparvar, M., Goff, H.D., (2013). Basil seed gum as a novel stabilizer for structure formation and reduction of ice recrystallization in ice cream. *Dairy Sci. Technol.*, 93(3), 273-285. https://doi.org/10.1007/s13594-013-0122-9

Bahramparvar, M., Razavi, S.M.A., Khodaparast, M.H.H., (2010). Rheological characterization and sensory evaluation of a typical soft ice cream made with selected food hydrocolloids. *Food Sci. Technol. Int.*, 16(1), 79-88. https://doi.org/10.1177/1082013209353244

Bahramparvar, M., Tehrani, M.M., (2011). Application and Functions of Stabilizers in Ice Cream. *Food Reviews International*, 27(4), 389-407. https://doi.org/10.1080/87559129.2011.563399

Bates, F.J., Standards, U.S.N.B.o., (1942). *Polarimetry, Saccharimetry and the Sugars*. U.S. Government Printing Office.

Ben Lakhdar, M., Cerecero, R., Alvarez, G., Guilpart, J., Flick, D., Lallemand, A., (2005). Heat transfer with freezing in a scraped surface heat exchanger. *Applied Thermal Engineering*, 25(1), 45-60. https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2004.05.007

Berry, J.D., Neeson, M.J., Dagastine, R.R., Chan, D.Y.C., Tabor, R.F., (2015). Measurement of surface and interfacial tension using pendant drop tensiometry. *Journal of Colloid and Interface Science*, 454, 226-237. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.05.012

Blond, G., (1988). Velocity of linear crystallization of ice in macromolecular systems. *Cryobiology*, 25(1), 61-66. https://doi.org/10.1016/0011-2240(88)90021-1

Boistelle, R., Astier, J.P., (1988). Crystallization mechanisms in solution. *Journal of Crystal Growth*, 90(1), 14-30. https://doi.org/10.1016/0022-0248(88)90294-1

Bolliger, S., Wildmoser, H., Goff, H.D., Tharp, B.W., (2000). Relationships between ice cream mix viscoelasticity and ice crystal growth in ice cream. *International Dairy Journal*, 10(11), 791-797. https://doi.org/10.1016/s0958-6946(00)00108-4

Bubník, Z., Kadlec, P., (1995). Sucrose solubility, in: Mathlouthi, M., Reiser, P. (Eds.), *Sucrose: Properties and Applications*. Springer US, Boston, MA, pp. 101-125.

Budiaman, E.R., Fennema, O., (1987). Linear rate of water crystallization as influenced by viscosity of hydrocolloid suspensions. *Journal of Dairy Science*, 70(3), 547-554. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80039-5

Bustamante, P., Navarro-Lupión, J., Escalera, B., (2005). A new method to determine the partial solubility parameters of polymers from intrinsic viscosity. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 24(2), 229-237. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2004.10.012

Buyong, N., Fennema, O., (1988). Amount and size of ice crystals in frozen samples as influenced by hydrocolloids. *Journal of Dairy Science*, 71(10), 2630-2639. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79856-2

Caillet, A., Cogné, C., Andrieu, J., Laurent, P., Rivoire, A., (2003). Characterization of ice cream structure by direct optical microscopy. Influence of freezing parameters. *LWT - Food Science and Technology*, 36(8), 743-749. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00094-X

Canet, D., Palmas, P., (2012). Mobilité moléculaire et RMN. *L'actualité chimique*, 394-365, 97-103.

Cao, Y., Li, H., (2002). Interfacial activity of a novel family of polymeric surfactants. *European Polymer Journal*, 38(7), 1457-1463. https://doi.org/10.1016/S0014-3057(02)00016-2

Cebula, D.J., Russell, A.B., (1998). Ice crystallization control in ice cream, *International Dairy Federation Symposium*, Athens, pp. 131-139.

Cerecero Enriquez, R., (2003). Etude des écoulements et des transferts thermiques lors de la fabrication d'un sorbet à l'échelle du pilote et du laboratoire. Institut National Agronomique Paris Grignon, Paris, p. 161.

Chaires-Martínez, L., Salazar-Montoya, J.A., Ramos-Ramírez, E.G., (2008). Physicochemical and functional characterization of the galactomannan obtained from mesquite seeds (Prosopis pallida). *European Food Research and Technology*, 227(6), 1669-1676. https://doi.org/10.1007/s00217-008-0892-0

Chang, Y., Hartel, R.W., (2002a). Development of air cells in a batch ice cream freezer. *Journal of Food Engineering*, 55(1), 71-78. https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00243-6

Chang, Y., Hartel, R.W., (2002b). Stability of air cells in ice cream during hardening and storage. *Journal of Food Engineering*, 55(1), 59-70. https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00242-4

Chatterjee, A., Das, B., (2013). Radii of gyration of sodium carboxymethylcellulose in aqueous and mixed solvent media from viscosity measurement. *Carbohyd. Polym.*, 98(2), 1297-1303. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.019

Chen, C.S., (1985). Thermodynamic Analysis of the Freezing and Thawing of Foods: Enthalpy and Apparent Specific Heat. *Journal of food science*, 50(4), 1158-1162. 10.1111/j.1365-2621.1985.tb13034.x

Clarke, C., (2012). *The Science of Ice Cream* (2nd ed). RSCPublishing, Cambridge.

Colby, R.H., (2010). Structure and linear viscoelasticity of flexible polymer solutions: comparison of polyelectrolyte and neutral polymer solutions. *Rheol. Acta*, 49(5), 425-442. https://doi.org/10.1007/s00397-009-0413-5

Cook, K.L.K., Hartel, R.W., (2010). Mechanisms of Ice Crystallization in Ice Cream Production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(2), 213-222.

Cook, K.L.K., Hartel, R.W., (2011). Effect of freezing temperature and warming rate on dendrite break-up when freezing ice cream mix. *International Dairy Journal*, 21(6), 447-453. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.01.007

Cottrell, J.I.L., Pass, G., Phillips, G.O., (1979). ASSESSMENT OF POLYSACCHARIDES AS ICE-CREAM STABILIZERS. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 30(11), 1085-1088. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740301111

Damodaran, S., (2007). Inhibition of ice crystal growth in ice cream mix by gelatin hydrolysate. *J. Agr. Food Chem.*, 55(26), 10918-10923. https://doi.org/10.1021/jf0724670

Dickinson, E., (1999). Adsorbed protein layers at fluid interfaces: interactions, structure and surface rheology. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 15(2), 161-176. https://doi.org/10.1016/S0927-7765(99)00042-9

Dirksen, J.A., Ring, T.A., (1991). Fundamentals of crystallization: Kinetic effects on particle size distributions and morphology. *Chemical Engineering Science*, 46(10), 2389-2427. https://doi.org/10.1016/0009-2509(91)80035-W

Docoslis, A., Giese, R.F., van Oss, C.J., (2000). Influence of the water–air interface on the apparent surface tension of aqueous solutions of hydrophilic solutes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 19(2), 147-162. https://doi.org/10.1016/S0927-7765(00)00137-5

Donhowe, D.P., Hartel, R.W., (1996a). Recrystallization of ice during bulk storage of ice cream. *International Dairy Journal*, 6(11), 1209-1221. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(96)00030-1

Donhowe, D.P., Hartel, R.W., (1996b). Recrystallization of ice in ice cream during controlled accelerated storage. *International Dairy Journal*, 6(11), 1191-1208. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(96)00029-5

Donhowe, D.P., Hartel, R.W., Bradley, R.L., (1991). Determination of Ice Crystal Size Distributions in Frozen Desserts. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3334-3344. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78521-4

Doyle, J.P., Giannouli, P., Martin, E.J., Brooks, M., Morris, E.R., (2006). Effect of sugars, galactose content and chainlength on freeze–thaw gelation of galactomannans. *Carbohyd. Polym.*, 64(3), 391-401. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.12.019

Drewett, E.M., Hartel, R.W., (2007). Ice crystallization in a scraped surface freezer. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 1060-1066. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.12.018

E, X., Pei, Z.J., Schmidt, K.A., (2010). Ice Cream: Foam Formation and Stabilization - A Review. *Food Reviews International*, 26(2), 122-137. https://doi.org/10.1080/87559120903564472

Einstein, A., (1905). Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. *Annalen der Physik*, 322(8), 549-560. https://doi.org/10.1002/andp.19053220806

Eisner, M.D., Wildmoser, H., Windhab, E.J., (2005). Air cell microstructuring in a high viscous ice cream matrix. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 263(1), 390-399. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.12.017

Elfak, A.M., Pass, G., Phillips, G.O., Morley, R.G., (1977). The viscosity of dilute solutions of guar Gum and locust bean gum with and without added sugars. *J. Sci. Food Agr.*, 28, 895-899. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740281005

Ellis, P., Wang, Q., Rayment, P., Ren, Y., Ross-Murphy, S., (2001). Guar gum: agricultural and botanical aspects, physicochemical and nutritional properties, and its use in the development of functional foods. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 613-658.

Faydi, E., Andrieu, J., Laurent, P., (2001). Experimental study and modelling of the ice crystal morphology of model standard ice cream. Part I: Direct characterization method and experimental data. *Journal of Food Engineering*, 48(4), 283-291. https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00168-0

Fedors, R.F., (1979). An equation suitable for describing the viscosity of dilute to moderately concentrated polymer solutions. *Polymer*, 20(2), 225-228. https://doi.org/10.1016/0032-3861(79)90226-X

Fennema, O., Powrie, W.D., Marth, E.H., (1973). *Low-temperature preservation of foods and living matter*. M. Dekker, New York.

Fernandez, P.P., Martino, M.N., Zaritzky, N.E., Guignon, B., Sanz, P.D., (2007). Effects of locust bean, xanthan and guar gums on the ice crystals of a sucrose solution frozen at high pressure. *Food Hydrocolloids*, 21(4), 507-515. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.05.010

Fitzsimons, S.M., Tobin, J.T., Morris, E.R., (2008). Synergistic binding of konjac glucomannan to xanthan on mixing at room temperature. *Food Hydrocolloids*, 22(1), 36-46. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.01.023

Flores, A.A., Goff, H.D., (1999a). Ice crystal size distributions in dynamically frozen model solutions and ice cream as affected by stabilizers. *Journal of Dairy Science*, 82(7), 1399-1407. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75366-X

Flores, A.A., Goff, H.D., (1999b). Ice crystal size distributions in dynamically frozen model solutions and ice cream as affected by stabilizers. *Journal of Dairy Science*, 82, 1399-1407. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75366-X

Gaonkar, A.G., (1991). Surface and interfacial activities and emulsion characteristics of some food hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 5(4), 329-337. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(09)80045-3

Garti, N., Reichman, D., (1994). Surface properties and emulsification activity of galactomannans. *Food Hydrocolloids*, 8(2), 155-173. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(09)80041-6

Gaukel, V., Leiter, A., Spieß, W.E.L., (2014). Synergism of different fish antifreeze proteins and hydrocolloids on recrystallization inhibition of ice in sucrose solutions. *Journal of Food Engineering*, 141, 44-50. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.05.016

Gittens, G.J., (1969). Variation of surface tension of water with temperature. *Journal of Colloid and Interface Science*, 30(3), 406-412. https://doi.org/10.1016/0021-9797(69)90409-3

Goff, H.D., (2002). Formation and stabilisation of structure in ice-cream and related products. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 7(5-6), 432-437. https://doi.org/10.1016/s1359-0294(02)00076-6

Goff, H.D., Caldwell, K.B., Stanley, D.W., Maurice, T.J., (1993). The influence of polysaccharides on the glass-transition in frozen sucrose solutions and ice-cream. *Journal of Dairy Science*, 76(5), 1268-1277. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77456-1

Goff, H.D., Ferdinando, D., Schorsch, C., (1999). Fluorescence microscopy to study galactomannan structure in frozen sucrose and milk protein solutions. *Food Hydrocolloids*, 13(4), 353-362. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(99)00017-X

Goff, H.D., Freslon, B., Sahagian, M.E., Hauber, T.D., Stone, A.P., Stanley, D.W., (1995). Structural development in ice cream - Dynamic rheological measurements. *Journal of Texture Studies*, 26(5), 517-536. https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1995.tb00801.x

Goff, H.D., Hartel, R.W., (2013). *Ice cream* (7th ed. ed). Springer, New York.

Gómez-Díaz, D., Navaza, J.M., (2003). Rheology of aqueous solutions of food additives: Effect of concentration, temperature and blending. *Journal of Food Engineering*, 56(4), 387-392. https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00211-X

Gonzalez-Ramirez, J.E., (2012). Contribution au contrôle par la modélisation d'un procédé de cristallisation en continu. AgroParisTech, Paris, p. 122.

Goycoolea, F.M., Milas, M., Rinaudo, M., (2001). Associative phenomena in galactomannan-deacetylated xanthan systems. *International Journal of Biological Macromolecules*, 29(3), 181-192. https://doi.org/10.1016/S0141-8130(01)00164-7

Graessley, W.W., (1974). The entanglement concept in polymer rheology. *Adv. Polym. Sci.*, 16, 1-179. https://doi.org/10.1007/BFb0031036

Guo, E., Kazantsev, D., Mo, J., Bent, J., Van Dalen, G., Schuetz, P., Rockett, P., StJohn, D., Lee, P.D., (2018). Revealing the microstructural stability of a three-phase soft solid (ice cream) by 4D synchrotron X-ray tomography. *Journal of Food Engineering*, 237, 204-214. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.027

Guo, E., Zeng, G., Kazantsev, D., Rockett, P., Bent, J., Kirkland, M., Van Dalen, G., Eastwood, D.S., StJohn, D., Lee, P.D., (2017). Synchrotron X-ray tomographic quantification of microstructural evolution in ice cream-a multi-phase soft solid. *RSC Advances*, 7(25), 15561-15573. https://doi.org/10.1039/c7ra00642j

Haddad Amamou, A., (2009). Couplage entre écoulements, transferts thermiques et transformation lors du changement de phase d'un produit alimentaire liquide complexe - Application à la maitrise de la texture. AgroParisTech, Paris, p. 234.

Haddad Amamou, A., Benkhelifa, H., Alvarez, G., Flick, D., (2010). Study of crystal size evolution by focused-beam reflectance measurement during the freezing of sucrose/water solutions in a scraped-surface heat exchanger. *Process Biochemistry*, 45(11), 1821-1825. http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2010.04.001

Haddarah, A., Bassal, A., Ismail, A., Gaiani, C., Ioannou, I., Charbonnel, C., Hamieh, T., Ghoul, M., (2014). The structural characteristics and rheological properties of Lebanese locust bean gum. *Journal of Food Engineering*, 120, 204-214. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.07.026

Hagiwara, T., Hartel, R.W., Matsukawa, S., (2006). Relationship between recrystallization rate of ice crystals in sugar solutions and water mobility in freeze-concentrated matrix. *Food Biophysics*, 1(2), 74-82. https://doi.org/10.1007/s11483-006-9009-0

Hartel, R.W., (1996). Ice crystallization during the manufacture of ice cream. *Trends in Food Science & Technology*, 7(10), 315-321. https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)10033-9

Hartel, R.W., (2001). *Crystallization in Foods*. Springer US.

Hartel, R.W., (2002). 13 - Crystallization in foods, in: Myerson, A.S. (Ed.), *Handbook of Industrial Crystallization (Second Edition)*. Butterworth-Heinemann, Woburn, pp. 287-304.

Heldman, D.R., (1974). PREDICTING THE RELATIONSHIP BETWEEN UNFROZEN WATER FRACTION AND TEMPERATURE DURING FOOD FREEZING USING FREEZING POINT DEPRESSION. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, 17(1), 63-66.

Hernández-Parra, O.D., (2018). Couplage cristallisation-foisonnement au sein d'un échangeur de chaleur à surface raclée lors de la production de sorbet. AgroParisTech, Paris, p. 211.

Hernández-Parra, O.D., Plana-Fattori, A., Alvarez, G., Ndoye, F.-T., Benkhelifa, H., Flick, D., (2018). Modeling flow and heat transfer in a scraped surface heat exchanger during the production of sorbet. *Journal of Food Engineering*, 221, 54-69. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.09.027

Hernández Parra, O.D., Ndoye, F.T., Benkhelifa, H., Flick, D., Alvarez, G., (2018). Effect of process parameters on ice crystals and air bubbles size distributions of sorbets in a scraped surface heat exchanger. *International Journal of Refrigeration*, 92, 225-234. https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2018.02.013

Herrera, M.L., M'Cann, J.I., Ferrero, C., Hagiwara, T., Zaritzky, N.E., Hartel, R.W., (2007). Thermal, mechanical, and molecular relaxation properties of frozen sucrose and fructose solutions containing hydrocolloids. *Food Biophysics*, 2(1), 20-28. https://doi.org/10.1007/s11483-007-9025-8

Hiemenz, P.C., Rajagopalan, R., (2016). *Principles of Colloid and Surface Chemistry, revised and expanded*. CRC press.

Higiro, J., Herald, T.J., Alavi, S., (2006). Rheological study of xanthan and locust bean gum interaction in dilute solution. *Food Res. Int.*, 39, 165-175. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.07.011

Hseih, J., (2009). *Computed Tomography - Principles, Design, Artifacts and Recent Advances*.

Huang, X., Kakuda, Y., Cui, W., (2001). Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*, 15(4), 533-542. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00091-1

Huc-Mathis, D., Bousquières, J., Mamou, M., Bonazzi, C., Michon, C., (2017). Multiscale evaluation from one bubble to the foam of surface active properties of cellulose derivatives used for a starchy model sponge cake. *Food Hydrocolloids*, 71, 129-140. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.038

Huggins, M.L., (1942). The Viscosity of Dilute Solutions of Long-Chain Molecules. IV. Dependence on Concentration. *J. Am. Chem. Soc.*, 64(11), 2716-2718. https://doi.org/10.1021/ja01263a056

Ickes, L., Welti, A., Hoose, C., Lohmann, U., (2015). Classical nucleation theory of homogeneous freezing of water: thermodynamic and kinetic parameters. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17(8), 5514-5537. https://doi.org/10.1039/C4CP04184D

Kamińska-Dwórznicka, A., Matusiak, M., Samborska, K., Witrowa-Rajchert, D., Gondek, E., Jakubczyk, E., Antczak, A., (2015a). The influence of kappa carrageenan and its hydrolysates on the recrystallization process in sorbet. *Journal of Food Engineering*, 167, 162-165. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.06.014

Kamińska-Dwórznicka, A., Samborska, K., Rybak, K., (2015b). Effect of kappa carrageenan hydrolysates on limiting excessive ice crystals growth in ice creams. *Zywn-Nauk. Technol. Ja.*, 22(5), 87-98. https://doi.org/10.15193/zntj/2015/102/073

Khouryieh, H.A., Herald, T.J., Aramouni, F., Alavi, S., (2006). Influence of mixing temperature on xanthan conformation and interaction of xanthan-guar gum in dilute aqueous solutions. *Food Research International*, 39(9), 964-973. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.06.001

Khouryieh, H.A., Herald, T.J., Aramouni, F., Alavi, S., (2007a). Intrinsic viscosity and viscoelastic properties of xanthan/guar mixtures in dilute solutions: effect of salt concentration on the polymer interactions. *Food Res. Int.*, 40, 883-893. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.03.001

Khouryieh, H.A., Herald, T.J., Aramouni, F., Bean, S., Alavi, S., (2007b). Influence of deacetylation on the rheological properties of xanthan-guar interactions in dilute aqueous solutions. *Journal of food science*, 72(3), C173-C181. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00287.x

Kobayashi, R., Kimizuka, N., Suzuki, T., Watanabe, M., (2014). Effect of supercooled freezing methods on ice structure observed by X-ray CT, *Refrigeration Science and Technology*, pp. 392-396.

Kurt, A., Atalar, I., (2018). Effects of quince seed on the rheological, structural and sensory characteristics of ice cream. *Food Hydrocolloids*, 82, 186-195. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.011

Landis, E.N., Keane, D.T., (2010). X-ray microtomography. *Materials Characterization*, 61(12), 1305-1316. https://doi.org/10.1016/j.matchar.2010.09.012

Lapasin, R., Pricl, S., (1999). *Rheology of industrial polysaccharides: theory and applications*. Aspen publishers, Gaithersburg.

Launay, B., Cuvelier, G., Michon, C., Langendorff, V., (2000). Rheological study of some mixed hydrocolloid systems displaying associative interactions, in: Nishinari, K. (Ed.), *Hydrocolloids*. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 121-133.

Lee, J.W., Thomas, L.C., Schmidt, S.J., (2011). Investigation of the heating rate dependency associated with the loss of crystalline structure in sucrose, glucose, and fructose using a thermal

analysis approach (Part I). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(2), 684-701. https://doi.org/10.1021/jf1042344

Lopez, C.G., Colby, R.H., Graham, P., Cabral, J.T., (2017). Viscosity and Scaling of Semiflexible Polyelectrolyte NaCMC in Aqueous Salt Solutions. *Macromolecules*, 50(1), 332-338. https://doi.org/10.1021/acs.macromol.6b02261

Marcotte, M., Taherian, A.R., Ramaswamy, H.S., (2001). Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. *Food Res. Int.*, 34, 695-703. https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00091-6

Marshall, R.T., Arbuckle, W.S., (1996). *Ice cream* (5th ed. ed). Chapman & Hall, New York.

Marshall, R.T., Goff, D., (2003). Formulating and manufacturing ice cream and other frozen desserts. *Food Technology*, 57(5), 32-45.

Marshall, R.T., Goff, H.D., Hartel, R.W., (2003). *Ice cream* (6th ed. ed). Springer, New York.

Martin, D.R., Ablett, S., Darke, A., Sutton, R.L., Sahagian, M., (1999). Diffusion of aqueous sugar solutions as affected by locust bean gum studied by NMR. *Journal of Food Science*, 64(1), 46-49. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb09858.x

Masselot, V., Benkhelifa, H., Cuvelier, G., Bosc, V., (2020a). Rheological properties of stabilizers at low temperatures in concentrated sucrose solutions. *Food Hydrocolloids*, 103, 105691. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105691

Masselot, V., Bosc, V., Benkhelifa, H., (2020b). Analyzing the microstructure of a fresh sorbet with X-ray micro-computed tomography: Sampling, acquisition, and image processing. *Journal of Food Engineering*, 110347. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110347

Mersmann, A., (2001). *Crystallization Technology Handbook*. Taylor & Francis.

Mezdour, S., Cuvelier, G., Cash, M.J., Michon, C., (2007). Surface rheological properties of hydroxypropyl cellulose at air–water interface. *Food Hydrocolloids*, 21(5), 776-781. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.09.011

Mezdour, S., SEGUINEAU DE PREVAL, E., Granda, P., Cuvelier, G., Ducept, F., (2017). Impact of interfacial characteristics on foam structure: study on model fluids and at pilot scale. *Oil & Gas Science and Technology - Revue d'IFP Energies nouvelles*, 72(2), np. https://doi.org/10.2516/ogst/2017008

Miles, C.A., van Beek, G., Veerkamp, C.H., (1983). Calculation of Thermophysical Properties of Foods, *Physical Properties of Foods*. Applied Science Publishers, New York, pp. 269-312.

Mo, J., Groot, R.D., McCartney, G., Guo, E., Bent, J., van Dalen, G., Schuetz, P., Rockett, P., Lee, P.D., (2019). Ice crystal coarsening in ice cream during cooling: A comparison of theory and experiment. *Crystals*, 9(6). https://doi.org/10.3390/cryst9060321

Mo, J., Guo, E., Graham McCartney, D., Eastwood, D.S., Bent, J., Van Dalen, G., Schuetz, P., Rockett, P., Lee, P.D., (2018). Time-resolved tomographic quantification of the microstructural evolution of ice cream. *Materials*, 11(10). https://doi.org/10.3390/ma11102031

Moreira, R., Chenlo, F., Silva, C., Torres, M.D., Díaz-Varela, D., Hilliou, L., Argence, H., (2012). Surface tension and refractive index of guar and tragacanth gums aqueous dispersions at different polymer concentrations, polymer ratios and temperatures. *Food Hydrocolloids*, 28(2), 284-290. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.01.007

Morris, E., (1984). Rheology of hydrocolloids. *Gums and stabilisers for the food industry*, 2, 57-78.

Mousavi, R., Miri, T., Cox, P.W., Fryer, P.J., (2005). A Novel Technique for Ice Crystal Visualization in Frozen Solids Using X-Ray Micro-Computed Tomography. *Journal of Food Science*, 70(7), 437-442. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11473.x

Mousavi, R., Miri, T., Cox, P.W., Fryer, P.J., (2007). Imaging food freezing using X-ray microtomography. *International Journal of Food Science and Technology*, 42(6), 714-727. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01514.x

Muhr, A.H., Blanshard, J.M.V., (1986). Effect of polysaccharide stabilizers on the rate of growth of ice. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 21(6), 683-710. https://doi.org/10.1111/ijfs1986216683

Mullin, J.W., (2001). 5 - Nucleation, in: Mullin, J.W. (Ed.), *Crystallization (Fourth Edition)*. Butterworth-Heinemann, Oxford, pp. 181-215.

Mulot, V., Fatou-Toutie, N., Benkhelifa, H., Pathier, D., Flick, D., (2019). Investigating the effect of freezing operating conditions on microstructure of frozen minced beef using an innovative X-ray micro-computed tomography method. *Journal of Food Engineering*, 262, 13-21. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.05.014

Nahringbauer, I., (1995). Dynamic Surface Tension of Aqueous Polymer Solutions, I: Ethyl(hydroxyethyl)cellulose (BERMOCOLL cst-103). *Journal of Colloid and Interface Science*, 176(2), 318-328. https://doi.org/10.1006/jcis.1995.9961

Omran, A.M., King, C.J., (1974). Kinetics of ice crystallization in sugar solutions and fruit juices. *AIChE Journal*, 20(4), 795-803. https://doi.org/10.1002/aic.690200422

Park, S.-H., Hong, G.-P., Kim, J.-Y., Choi, M.-J., Min, S.-G., (2006). The influence of food hydrocolloids on changes in the physical properties of ice cream. *Food Science and Biotechnology*, 15(5), 721-727.

Patmore, J.V., Goff, H.D., Fernandes, S., (2003). Cryo-gelation of galactomannans in ice cream model systems. *Food Hydrocolloids*, 17(2), 161-169. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(02)00048-6

Perez, A.A., Sánchez, C.C., Rodríguez Patino, J.M., Rubiolo, A.C., Santiago, L.G., (2012). Foaming characteristics of β-lactoglobulin as affected by enzymatic hydrolysis and polysaccharide addition: Relationships with the bulk and interfacial properties. *Journal of Food Engineering*, 113(1), 53-60. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.05.024

Persson, B., Nilsson, S., Bergman, R., (1999). Dynamic Surface Tension of Dilute Aqueous Solutions of Nonionic Cellulose Derivatives in Relation to Other Macromolecular Characterization Parameters. *Journal of Colloid and Interface Science*, 218(2), 433-441. https://doi.org/10.1006/jcis.1999.6449

Pinzer, B.R., Medebach, A., Limbach, H.J., Dubois, C., Stampanoni, M., Schneebeli, M., (2012). 3D-characterization of three-phase systems using X-ray tomography: tracking the microstructural evolution in ice cream. *Soft Matter*, 8(17), 4584-4594. https://doi.org/10.1039/C2SM00034B

Poling, B.E., Prausnitz, J.M., O'Connell, J.P., (2001). *The Properties of Gases and Liquids* (5th ed). McGraw-Hill, New York.

Rao, C.S., Hartel, R.W., (2006). Scraped surface heat exchangers. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(3), 207-219. https://doi.org/10.1080/10408390500315561

Rao, M.A., Kenny, J.F., (1975). Flow properties of selected food gums. *Can. Inst. F. Sci. Tec. J.*, 8(3), 142-148. https://doi.org/10.1016/S0315-5463(75)73766-5

Raoult, F.M., (1886). Méthode universelle pour la détermination des poids moléculaires. *Annales de Chimie et de Physique*, 6(8), 317-339.

Regand, A., Goff, H.D., (2003). Structure and ice recrystallization in frozen stabilized ice cream model systems. *Food Hydrocolloids*, 17(1), 95-102. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(02)00042-5

Richardson, P.H., Willmer, J., Foster, T.J., (1998). Dilute solution properties of guar and locust bean gum in sucrose solutions. *Food Hydrocolloids*, 12, 339-348.

Russell, A.B., Cheney, P.E., Wantling, S.D., (1999). Influence of freezing conditions on ice crystallisation in ice cream. *Journal of Food Engineering*, 39(2), 179-191. https://doi.org/10.1016/S0260-8774(98)00161-7

Sarkar, N., (1984). Structural interpretation of the interfacial properties of aqueous solutions of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose. *Polymer*, 25(4), 481-486. https://doi.org/10.1016/0032-3861(84)90206-4

Schmitt, C., Palma da Silva, T., Bovay, C., Rami-Shojaei, S., Frossard, P., Kolodziejczyk, E., Leser, M.E., (2005). Effect of Time on the Interfacial and Foaming Properties of β-Lactoglobulin/Acacia Gum Electrostatic Complexes and Coacervates at pH 4.2. *Langmuir*, 21(17), 7786-7795. https://doi.org/10.1021/la0510984

Schwartzberg, H.G., Rao, M.A., Technologists, I.o.F., Science, I.U.o.F., Technology, (1990). *Biotechnology and Food Process Engineering*. Taylor & Francis.

Shobha, M.S., Tharanathan, R.N., (2009). Rheological behaviour of pullulanase-treated guar galactomannan on co-gelation with xanthan. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 749-754. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.04.006

Sikora, M., Kowalski, S., (2007). Polysaccharide-polysaccharide hydrocolloids interactions. *Starch: Achievements in Understanding of Structure and Functionality*, 107-126.

Sofjan, R.P., Hartel, R.W., (2004). Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. *International Dairy Journal*, 14(3), 255-262. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.08.005

Speers, R.A., Tung, M.A., (1986). Concentration and temperature dependence of flow behavior of xanthan gum dispersions. *Journal of food science*, 51(1), 96-98. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1986.tb10844.x

Steffe, J.F., (1996). *Rheological methods in food process engineering* (2nd ed. ed). Freeman Press, East Lansing.

Stogo, M., (1998). *Ice cream and fozen desserts: a commercial guide to production and marketing*. John Wiley & Sons, Hoboken.

Stokes, G.G., (1851). On the Effect of the Internal Friction of Fluids on the Motion of Pendulums. *Transactions of the Cambridge Philosophical Society*, 9, 8.

Tavare, N.S., (2013). *Industrial Crystallization: Process Simulation Analysis and Design*. Springer US.

Thiebaud, M., Dumay, E.M., Cheftel, J.C., (2002). Pressure-shift freezing of o/w emulsions: influence of fructose and sodium alginate on undercooling, nucleation, freezing kinetics and ice crystal size distribution. *Food Hydrocolloids*, 16(6), 527-545. https://doi.org/10.1016/s0268-005x(01)00133-3

Thomas, E.L., (1981). Structure and properties of ice cream emulsions. *Food Technol.*, 35(1), 41-48.

Thombare, N., Jha, U., Mishra, S., Siddiqui, M.Z., (2016). Guar gum as a promising starting material for diverse applications: A review. *Int. J. Biol. Macromol.*, 88, 361-372. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.001

Torres, L., Moctezuma, A., Avendaño, J.R., Muñoz, A., Gracida, J., (2011). Comparison of bio- and synthetic surfactants for EOR. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 76(1), 6-11. https://doi.org/10.1016/j.petrol.2010.11.022

Ullah, J., Takhar, P.S., Sablani, S.S., (2014). Effect of temperature fluctuations on ice-crystal growth in frozen potatoes during storage. *LWT - Food Science and Technology*, 59(2P1), 1186-1190. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.018

Van Dalen, G., (2012). A Study of Bubbles in Foods by X-RayMicrotomography and Image Analysis. *Microscopy and Analysis*, S8-S12.

Varzakas, T., Tzia, C., (2014). *Food Engineering Handbook: Food Engineering Fundamentals*. CRC Press.

Velásquez-Cock, J., Serpa, A., Vélez, L., Gañán, P., Gómez Hoyos, C., Castro, C., Duizer, L., Goff, H.D., Zuluaga, R., (2019). Influence of cellulose nanofibrils on the structural elements of ice cream. *Food Hydrocolloids*, 87, 204-213. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.035

Vicent, V., Ndoye, F.-T., Verboven, P., Nicolaï, B., Alvarez, G., (2019). Effect of dynamic storage temperatures on the microstructure of frozen carrot imaged using X-ray micro-CT. *Journal of Food Engineering*, 246, 232-241. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.11.015

Vicent, V., Verboven, P., Ndoye, F.-T., Alvarez, G., Nicolaï, B., (2017). A new method developed to characterize the 3D microstructure of frozen apple using X-ray micro-CT. *Journal of Food Engineering*, 212, 154-164. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.05.028

Weissberg, S.G., Simha, R., Rothman, S., (1951). Viscosity of dilute and moderately concentrated polymer solutions. *J. Res. Natl. Bureau Stand.*, 47, 298-314. https://doi.org/10.6028/jres.047.038

Wils, P., (2011). Artefacts correction in X-ray cone-beam computed tomography CBCT. INSA de Lyon.

Windhab, E., Bolliger, S., (1995). Combined aerator-freezer for ice cream manufacture. *Eurepean Dairy Magazine*, 28-34.

Yang, F., Zhang, D., Zhang, H., Huang, K., (2020). Cupping artifacts correction for polychromatic X-ray cone-beam computed tomography based on projection compensation and hardening behavior. *Biomedical Signal Processing and Control*, 57, 101823. https://doi.org/10.1016/j.bspc.2019.101823

Yataghene, M., Legrand, J., (2013). A 3D-CFD model thermal analysis within a scraped surface heat exchanger. *Computers & Fluids*, 71, 380-399. https://doi.org/10.1016/j.compfluid.2012.10.026

Yuennan, P., Sajjaanantakul, T., Goff, H.D., (2014). Effect of okra cell wall and polysaccharide on physical properties and stability of ice cream. *Journal of food science*, 79(8), 1522-1527. https://doi.org/10.1111/1750-3841.12539

Zhao, Y., Takhar, P.S., (2017). Micro X-ray computed tomography and image analysis of frozen potatoes subjected to freeze-thaw cycles. *LWT - Food Science and Technology*, 79, 278-286. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.051

Zhu, Y., (2004). Etude expérimentale de la cristallisation du bicarbonate de sodium. Université libre de Bruxelles, Faculté des sciences appliquées, Bruxelles, p. 245.

Sites internet

Journal officiel de la République Française , consulté le 30/07/2020
https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000000841737/

Association des entreprises de glaces, consulté le 30/11/2017 puis le 30/07/2020
https://les-glaces.com/reglementation/
https://les-glaces.com/economie/

Open Food Facts, consulté le 30/11/2017 puis le 30/07/2020
https://fr.openfoodfacts.org/categorie/sorbets

Titre : Influence des stabilisants sur la cristallisation d'un semi-liquide alimentaire : application à la congélation des sorbets

Mots clés : Sorbet ; Stabilisants ; Cristallisation de l'eau ; Physico-chimie des stabilisants ; Microstructure des sorbets

Résumé : Un sorbet est un dessert congelé et aéré, fabriqué à partir d'un mix constitué de jus de fruit concentré, de sucres et de stabilisants. L'étape la plus critique du procédé de fabrication des sorbets est l'étape de congélation-foisonnement qui a lieu dans un échangeur de chaleur à surface raclée (ECSR) ; c'est lors de cette étape que se forment les cristaux de glace et que l'air est introduit tandis que la solution résiduelle non congelée se concentre en sucres et en stabilisants. La qualité du produit final est fortement liée à la quantité initiale et à la taille des cristaux de glace formés dans l'ECSR ; ils doivent être les plus nombreux et les plus petits possibles. L'objectif scientifique de cette thèse est une meilleure compréhension de l'influence des stabilisants sur la microstructure (taille et nombre de cristaux et de bulles d'air) formée pendant la congélation d'un sorbet.
Les propriétés rhéologiques du mix de sorbet avant sa congélation et de la solution résiduelle non congelée ont été explorées et quantifiées en fonction du type de stabilisant utilisé (CMC, HPMC, LBG). Des études de leurs propriétés tensioactives et de la diffusion des molécules d'eau ont été menées et les propriétés thermiques d'équilibre du mix ont été analysées. La microstructure de ces sorbets a été étudiée in situ au cours du procédé de congélation et ex situ en fin de congélation à l'aide d'outils de caractérisation performants (FBRM, Microtomographie à rayons-X et Cryo-MEB).
L'ensemble des études réalisées a permis une meilleure compréhension de l'influence des molécules stabilisantes sur la mise en place de la microstructure d'un sorbet et notamment sur la taille et le nombre des cristaux de glace et des bulles d'air. Seul l'HPMC influence significativement la quantité d'air incorporée d'une part, et le nombre et la taille des cristaux de glace d'autre part. Il semblerait que ce stabilisant, en augmentant la fraction d'air, diminue la croissance des cristaux de glace. Les bulles d'air agiraient comme des barrières physiques lors de la congélation. La viscosité des mixes ou solution résiduelles, ou la diffusion de l'eau dans ces systèmes ne sont pas des facteurs qui contrôleraient la cristallisation.

Title: Influence of stabilizers on the crystallization of a semi-liquid food: application to the freezing of sorbets.

Keywords : Sorbet; Stabilizers; Crystallization of water; Physico-chemistry of stabilizers; Microstructure of sorbets

Abstract: A sorbet is a frozen and aerated dessert made from a mix of concentrated fruit juice, sugars and stabilizers. The most critical step in the manufacturing process of sorbets is the freezing-foaming step that takes place in a scraped surface heat exchanger (SSHE). During this step, ice crystals are generated and air bubbles are introduced while the unfrozen residual solution concentrates in sugars and stabilizers. The quality of the final product is strongly related to the quantity and size of ice crystals formed in the SSHE; they must be numerous and as small as possible. The scientific objective of this thesis is a better understanding of the influence of stabilizers on the microstructure (number and size of ice crystals and air bubbles) formed during the freezing process of a sorbet.
The rheological properties of the sorbet mix before freezing and of the unfrozen residual solution were explored and quantified according to the stabilizer added (CMC, HPMC, or LBG). Studies of their surfactant properties and of the diffusion of water molecules were carried out and the thermal equilibrium properties of the mix were analyzed.
The microstructure of sorbets was characterized in situ during the freezing process and ex situ at the end of freezing using high-performance characterization tools (FBRM, X-ray micro-computed tomography and Cryo-SEM).
This study provides a better understanding of the influence of stabilizers on the establishment of the microstructure of a sorbet and in particular on the size and number of ice crystals and air bubbles. HPMC is the only stabilizer that influences the amount of air incorporated, and also the number and size of ice crystals. It appears that this stabilizer, by increasing the amount of air, decreases the growth of ice crystals. The air bubbles would act as physical barriers during freezing. The viscosities of the mix or the unfrozen residual solution, or water diffusion do not influence the crystallization in these systems.