République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université El Hadj Lakhdar -Batna-
Faculté des Sciences

Département d'Agronomie
Spécialité Technologie Alimentaire

MEMOIRE
Pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER
Option: **Qualité et Sécurité Alimentaire**

Présenté par :

ZIDANI SARA
Ingénieur d'Etat en Agronomie

Intitulé du Sujet :

INFLUENCE DES TECHNIQUES DE SECHAGE SUR LA SOLUBILITE DES PROTEINES DE LA LEVURE *Saccharomyces cerevisiae* PRODUITE DANS UN MILIEU À BASE DE DATTE

Devant le jury de soutenance composé de:

ALLOUI-LOMBARKIA O.	**Professeur**	**Université de Batna**	**Présidente**
FAHLOUL D.	**Maître de Conférences**	**Université de Batna**	**Rapporteur**
BAGHIANI A.	**Maître de Conférences**	**Université de Sétif**	**Examinateur**
ROUABAH-HAMBABA L.	**Maître de Conférences**	**Université de Batna**	**Examinatrice**

Année Universitaire 2008-2009

RESUME

Le séchage est l'une des principales techniques de préservation des produits agricoles et alimentaires. Ce traitement thermique appliqué à la biomasse de *Saccharomyces cerevisiae* cultivée sur l'extrait de Mech-degla, induit des modifications au niveau des propriétés des protéines.

La solubilité est la propriété étudiée dans ce travail, puisqu'elle détermine les autres propriétés fonctionnelles, la qualité nutritionnelle et organoleptique du produit.

Globalement, la biomasse séchée par les trois procédés (Séchage atmosphérique, séchage sous vide et lyophilisation), présente une solubilité élevée et très intéressante. La meilleure solubilité est obtenue en utilisant le séchage sous vide et la lyophilisation.

En plus de la meilleure solubilité qu'il offre, le séchage sous vide est réalisé avec un minimum de coût.

Mots clés : Solubilité, protéines, *S. cerevisiae*, biomasse, Mech-degla, séchage, séchage ventilé, séchage sous vide, lyophilisation.

SUMMARY

Drying is one of the principal techniques of safeguarding agricultural products and food. This heat treatment applied to the biomass of *Saccharpmyces cerevisiae* cultivated on the extract of "Mech-degla" induces modifications on the level of protein properties.

Solubility is the property which has been studied in this work, since it determines the other functional properties and nutritional and organoleptic quality of the product.

Broadly, the biomass dried by the three processes (atmospheric Drying, vacuum drying, freeze-drying), gives a high and very interesting solubility. The best solubility is obtained by applying vacuum and freeze drying methods.

Further the best solubility which it offers, vacuum drying is achieved with a minimum cost.

Key words: Solubility, proteins, *S. cerevisiae*, biomass, Mech-degla, drying, atmospheric drying, vacuum drying, freeze-drying.

ملخص

تعتبر عملية التجفيف من أهم التقنيات لحفظ المنتجات في مجال الصناعة الغذائية.

عملية تجفيف الكتلة الحية لخميرة الجعة (*S. cerevisiae*) ، المزروعة في مستخلص تمر جاف نوعية **هش** دقلة، لها مخلفات على بروتينات هذه الخميرة،من خلال تأثيرها على خصائص هذه البروتينات.

في هذا العمل تمت دراسة تأثير التجفيف على الانحلالية، وذلك لتأثيرها المباشر على باقي الخصائص الوظيفية، الغذائية و الحسية.

إجمالا، الكتلة الحية المجففة بثلاث وسائل للتجفيف (مجفف هوائي، مجفف خال من الهواء، التجفيف بالتجميد)، **أعطت** نتائج عالية و مهمة جدا.غير أن أفضل النتائج سجلت مع التجفيف الهوائي والتجفيف بالتجميد.

زيادة على منحه أفضل انحلالية، فإن التجفيف الخالي من الهواء يجرى بتكاليف أقل **من** التجفيف بالتجميد.

كلمات مفتاحية: انحلالية، بروتينات، كتلة حية، خميرة الجعة(*S. cerevisiae*) ، **هش** دقلة، تجفيف، مجفف هوائي، مجفف خال من الهواء، التجفيف بالتجميد.

Remerciements

Je remercie en premier lieu Allah le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il m'a donné pour l'achèvement de ce travail.

Je tiens à exprimer ma très grande gratitude à mon promoteur, Monsieur **FAHLOUL D.,** Maître de conférence à l'Université de Batna, non seulement d'avoir accepté l'encadrement de ce travail, mais surtout pour son aide, ses orientations judicieuses, sa disponibilité et ses encouragements tout au long de la réalisation du présent travail.

Je tiens à exprimer également ma profonde reconnaissance à Monsieur **BACHA A.,** Chargé de Cours à l'Université de Batna, pour ses conseils précieux, sa contribution et son aide concernant la réalisation des analyses.

Mes vifs remerciements vont également à Madame **ALLOUI-LOMBARKIA O.**, Professeur à l'Université de Batna et Responsable de l'Option Magister « Qualité et Sécurité alimentaire », pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury de la soutenance de ce mémoire.

J''adresse mes vifs remerciements à Monsieur **BAGHIANI A.,** Professeur à l'Université de Sétif ; Madame **ROUABAH-HAMBABA L.**, Maître de conférence à l'Université de Batna, pour l'intérêt particulier accordé à mon travail et d'avoir accepté de participer à l'évaluation du présent mémoire.

Un grand merci à ma sœur **ZIDANI F.**, Professeur à l'Université de Batna et son Mari, Monsieur **NAIT SAID R.**, Maître de conférence à l'Université de Batna, pour tout ce qu'ils m'ont prodigué comme conseils et encouragements.

Je n'oublie pas de remercier l'ensemble des enseignants qui ont contribué à ma formation.

Je dois aussi exprimer ma profonde gratitude à tous mes amis qui m'ont soutenu tout en pensant aux moments sympathiques qu'on a passés ensemble.

Je ne puis terminer sans adresser une pensée affectueuse à toute ma famille, en particulier mes parents, pour leur soutien indéfectible durant ces années d'études. Je suis heureuse d'avoir pu lire de la joie et de la fierté dans leur regard.

Je ne saurais clôturer cette page sans adresser mes sincères remerciements à mon fiancé Fayçal pour son soutien permanent et ses encouragements incessants.

Zidani S.

Table des matières

Index des tableaux
Index des figures
Index du schéma
Introduction 01

Première partie : Etude bibliographique

Chapitre 1 : Notions sur la datte, levure et fermentation

1.1Notions sur les dattes ……..... 04
1.1.1. Description du fruit…….. 04
1.1.2. Aspect économique …… 05
1.1.3. Composition biochimique du fruit ……..... 06
1.1.2. Caractéristiques de la variété sèche « Mech-degla »…….…….. 06
1.1.3. Caractéristiques du fruit……..... 06
1.1.4. Caractéristiques de cultivar……. 06
1.1.5. Caractéristiques biochimiques de la datte: « Mech-degla »…… 06
1.1.6. Valorisation industrielle des dattes……. 07
1.1.7. Situation de l'Algérie……..... 07
1.2. Notions sur la levure…… 09
1.2.1. Classification ……... 09
1.2.2. Reproduction …… 09
1.2.3. Morphologie ……. 09
1.2.4. Condition de culture de *S. cerevisiae*…… 10
1.2.4.1. Besoins nutritionnels……. 10
1.2.4.2. Besoins physico-chimiques……..…… 11
1.2.5. Composition biochimique de *S. cerevisiae* …… 12
1.2.6. Applications industrielles de la levure *S. cerevisiae* ……..... 13
1.2.7. Intérêt nutritionnel des levures……..…….. 13
1.3. Notions sur la fermentation…….. 16
3.1. Définition de la fermentation ……..... 16
3.2. Mode de conduite de fermentation……..... 16
3.2.1. Installation de fermentation …….. 16
3.2.2. Procédés de fermentation …….. 17
3.3. Principales applications industrielles de la fermentation …… 17
3.3.1. Production de biomasse …… 19
3.3.1.1. Définition…… 19
3.3.1.2. Mécanisme…….. 19
3.3.1.3. Applications ……... 19

Chapitre 2 : Notions sur les protéines

2.1. Définition des protéines……..……..... 20
2.2. La structure des protéines …….. 20
2.3. Classification des protéines ……... 23
2.4. Propriétés des protéines ……. 24
2.4.1. Définition de la fonctionnalité des protéines alimentaires…….. 24
2.4.1.1. Solubilité……...…….. 25
2.4.1.1.1. Influence du pH ……...……. 26
2.4.1.1.2. Influence de la force ionique (µ)……... 26
2.4.1.1.3. Influence des solvants organiques ……..... 27
2.4.1.1.4. Influence de la température (à pH et force ionique constants) ……..…..……. 27
2.5. Aspect nutritionnel des protéines ……...……... 28
2.5.1. Sources des protéines alimentaires…….. 28
2.5.2. Microorganismes producteurs …… 28
2.5.3. Valeur nutritionnelle des protéines……. 29

Chapitre 3 : Notions sur le séchage

3.1. Définition…….. 32
3.2. Objectifs…….. 32
3.3. Problèmes techniques liées au séchage ……..... 33
3.4. Les produits séchés…… 33
3.5. Théorie de séchage……. 34
3.6. Principe physique de séchage……. 34
3.6.1. Séchage par entraînement …..……..... 34
3.6.2. Séchage par ébullition …… ……..……. 34
3.7. Principes physiques des cinétiques de séchage…….…..... 35
3.7.1. Transfert de matière et de chaleur……..... 35
3.7.2. Etablissement des courbes de séchage (cinétique de séchage)……..... 36
3.7.3. Détermination de la teneur en eau critique…… … 37
3.8. Les facteurs qui augmentent la cinétique…… 37
3.9. Lyophilisation ……..…….. 38
3.10. Avantages et inconvénients de la lyophilisation……. … 38
3.11. Lyophilisateur ……. 39
3.12. Produits lyophilisés……..... 39
3.13. Cinétique de la déshydratation par le procédé de lyophilisation…… ..……. 39
3.13.1. Principe physique …… 39
3.13.2. Cycle de la lyophilisation ……..... 40
3.14. Méthode de suivie de la lyophilisation ……..……. 41
3.14.1. Appareillage et différents modèles de séchoirs utilisés……..... … 41
3.14.2. Classification……..... 41
3.14.3. Choix du séchoir…….. 41

Deuxième partie : Etude expérimentale

Chapitre 4 : Matériels et méthodes

4.1. Matériel ……..……..... 46
4.1.1. Matériel végétal ……..……. 46
4.1.2. Matériel biologique …….…… 46
4.1.3. Principaux appareils utilisés ……..…….. 47
4.2. Méthodes ……..…….. 47
4.2.1. Production de la biomasse (crème de levure)……..……. 47
4.2.1.1. Préparation de l'extrait de la datte « Mech-degla »……..……. 47
4.2.1.2. Analyses biochimiques de l'extrait de la datte « Mech-degla »…….….. 48
4.2.1.2.1. Teneur en eau / matière sèche……..…..... 48
4.2.1.2.2. La teneur en sucres totaux……...…….. 49
4.2.1.2.3. La teneur en sucres réducteurs……..…… 49
4.2.1.2.4. La teneur en saccharose…….……...…. 51
4.2.1.2.5. La teneur en protéines totales…….…. 51
4.2.1.2.6. Dosage des cendres ……..... 53
4.2. 2. Préparation de la souche *S. cerevisiae* ……... 53
4.2.2.1. Réactivation de la souche……...…… 53
4.2.2.2.Préparation de l'inoculum (préfermentation)……...…... 54
4.2.2.3.Fermentation proprement dite ……..…..…. 54
4.2.2.4. Evaluation de la croissance de la biomasse pendant la culture ……..…..…… 55
4.2.2.4.1.Détermination du taux de croissance……..…..…….. 55
4.2.2.5. Séparation (récolte) de la biomasse totale……..…..……. 56
4.2.2.6. Détermination de la quantité de sucre consommé…….....…… 56
4.2.2.7. Calcul de la biomasse produite……..……..……... 57
4.2.2.8. Calcul du rendement pondéral…….. 57
4.2.2.9. Analyses physico-chimiques de la biomasse……..…..…..……. 57
4.2.2.9.1. La teneur en eau ……..…….. 57

4.2.2.9.2. La teneur en protéine……..…….…….…….... 57
4.2.2.9.3.La teneur en cendre…… 57
4.2.3. Détermination des conditions de solubilité des protéines de la biomasse avant le séchage..… 60
4.2.3.1. Profil de la solubilité en fonction du pH…….……..….. 60
4.2.3.2. Profil de la solubilité en fonction de la force ionique ……. 60
4.2.3.3. Profil de la solubilité en fonction de la force ionique à pH calculé …….…….. 61
4.2.3.4. Profil de la solubilité dans le solvant organique (Ethanol à 70%)……...…….…….. 61
4.2.4. Séchage de la biomasse récoltée ……. 62
4.2.4.1. Mode opératoire ……..……..... 62
4.2.4.2. Appareillage ……..…….…….... 64
4.2.4.2.1. Etuve ventilé ……..……. 64
4.2.4.2.2. Etuve sous vide …….…….... 64
4.2.4.2.3. Lyophilisateur……..……. 65
4.2.4.3. Cinétique de séchage..……... …….. 65
4.2.4.4. Broyage des biomasses séchées……..…… 67
4.2.4.5. Stockage des biomasses séchées. ……..……..……..…… 67
4.2.5. Dosage des protéines solubles après séchage. ……..……..... 67
4.2.6. Analyses statistiques……..…… 68

Chapitre 5 : Résultats et discussion

5.1. Composition biochimique da la pulpe de la datte sèche « Mech-degla »……..... 69
5.2. Evaluation de la croissance de la biomasse pendant la culture……. 72
5.3. Conditions de solubilité des protéines de la biomasse fraiche récoltée …….……. 76
5.3.1. Profil de la solubilité en fonction du pH. ……..…… 76
5.3.2. Profil de la solubilité en fonction de la force ionique ……..……..…… 77
5.3.3. Profil de la solubilité en fonction de la force ionique à pH 12 ……...……..…….. 78
5.3.4. Profil de la solubilité dans l'éthanol …….…..... 79
5.4. Séchage...……...……..... 81
5.5. Cinétique de séchage ……..…… 81
5.5.1. Cinétique de séchage ventilé …… 81
5.5.2. Cinétique de séchage sous vide …… 82
5.6. Broyage……. 84
5.7. Solubilité des protéines de la biomasse après séchage……... . 84
5.7.1. Effet du séchage ventilé sur la solubilité……..... . 85
5.7.2. Effet du séchage sous vide sur la solubilité……..…… 87
5.7.3. Effet de la lyophilisation sur la solubilité……...…….. 88
5.7.4. Comparaison entre les trois procédés de séchage…….. 60

Conclusion 93
Références bibliographiques 95
Annexes 107

Index des figures

Figure 01: Le palmier dattier de « Mech-degla »…….. 07
Figure 02: Mech-degla au cours de maturation……. 07
Figure 03: L'aspect morphologique de Mech-degla…….……..…….…….. 07
Figure 04: Micrographie de *S. cerevisiae*…….. 10
Figure 05 : L'aspect morphologique de *S. cerevisiae*.…….. 12
Figure 06 : Un fermenteur……... …… 17
Figure 07: Structure des protéines …….…….……. 22
Figure 08: Interprétation d'un essai de séchage……. 37
Figure 09: Diagramme de phase de l'eau ……...…….. 38
Figure 10: Aspect cultural de *S. cerevisiae* sur milieu Sabouraud……...…….…… 46
Figure 11: La datte sèche variété « Mech-degla »……...…….……. 46
Figure 13: Configuration du système d'installation de l'étuve JOUAN…….…….. 62
Figure 14: Etuve ventilée Type Mammert……...……. 63
Figure 15: Lyophilisateur type PHYWE Christ……..……. 63
Figure 16: Composition biochimique de l'extrait de la datte sèche variété « Mech-degla » en % de la matière sèche……..…… 69
Figure 17: Evolution de la croissance de la biomasse en fonction du temps……..…… 72
Figure 18: Effet du pH sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae*.……...…….. 76
Figure 19: Effet de la force ionique sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae* à 25°C.……. .. 77
Figure 20: Solubilité des protéines de *S. cerevisiae* en fonction de la force ionique à pH 12 à 25°C…….…….…..... 79
Figure 21: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps pour le séchage ventilé.……. 81
Figure 22: Cinétique de la vitesse (dX/dt) de séchage ventilé en fonction du temps……...….. 81
Figure 23: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps pour le séchage sous vide…...…….. 82
Figure 24: Cinétique de la vitesse (dX/dt) de séchage sous vide en fonction du temps……...…... 82
Figure 25 : Effet du séchage ventilé sur la solubilité de protéines de *S. cerevisiae*.……...…….. 85
Figure 26: Effet du séchage sous vide sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae*.……...…… 87
Figure 27: La solubilité des protéines de *S. cerevisiae* des trois procédés…….…… 90
Figure 28: Courbe étalon du glucose à 0,01%…….…….…….. 109
Figure 29: Croissance de *S. cerevisiae* en culture continu……..……...…… 111
Figure 30: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 50°C…… 113
Figure 31: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 60°C…… 113
Figure 32: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 70°C……..…….……. 113
Figure 33: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 80°C…… 113

Figure 34 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 90°C……...…… 113
Figure 35 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 100°C……. 113
Figure 36 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 110°C…… 113
Figure 37: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 25°C/70cmHg……. 114
Figure 38: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 35°C/70cmHg…….. 114
Figure 39: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 45°C/70cmHg…….. 114
Figure 40: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 25°C/35cmHg…….. 114
Figure 41: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 35°C/35cmHg…….. 114
Figure 42: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 45°C/35cmHg……..…… 114

Index des Schémas

Schéma 01: Opération de transformation des dattes…..……..……..... 8
Schéma 02: Divers utilisations de la datte……..... 8
Schéma 03 : Diagramme de production de levure cultivée……. 15
Schéma 04: Traitements technologiques et leurs incidences sur les propriétés et la valeur nutritionnelle des protéinés……..... 31
Schéma 05: Représentation schématique des échanges de matière et de chaleur lors d'une opération de séchage……..... 35
Schéma 06 : Diagramme de la production de la biomasse de *S. cerevisiae*…… 59
Schéma 07 : Schéma de principe des procédés fermentaires……..... 108

Index des tableaux

Tableau 01 : Teneur en sucres de quelques variétés des dattes Algériennes…….…….. 04
Tableau 02 : Répartition géographique et nombre de palmiers dattiers en Algérie. …….. 05
Tableau 03 : Production moyenne mondiale de dattes…….…….. 05
Tableau 04: Caractéristiques biochimiques de la datte« Mech-degla»…….……. 07
Tableau 05 : Composition moyenne de la levure *S. cerevisiae* …….…… 12
Tableau 06: Principaux applications de la levure *S. cerevisiae*…….…… 13
Tableau 07: Production industrielle de la levure alimentaire……..... 14
Tableau 08: Quelques utilisations de la fermentation…… 18
Tableau 09 : Interactions et liaisons impliquées dans la structure protéique……..……..…….. 23
Tableau 10: principales types de produits agricoles et alimentaires séchés ……..……. 33
Tableau 11: Relation entre la nature du produit et les procédés de séchage thermique…….. 43
Tableau 12: Les principaux types de séchoirs et leurs caractéristiques……..…… 44
Tableau 13 : La gamme étalon pour le dosage des sucres totaux……..... 49
Tableau 14 : Protocole expérimental pour les trois procédés de séchage (séchage ventilé, séchage sous vide, lyophilisation) ……..... 61
Tableau 15: Composition biochimique de l'extrait de « Mech-degla »…….... 69
Tableau 16 : Evolution de la biomasse en fonction du temps…….…… 73
Tableau 17: Rendement de la culture de *S. cerevisiae*……..... 73
Tableau 18: Production industrielle de la levure alimentaire……...…….... 74
Tableau 19 : Résultats d'analyses physico-chimiques de la biomasse récoltée……..…… 74
Tableau 20 : Effet du pH sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae* ……..……. 76
Tableau 21 : Effet de la force ionique sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae*.……... 77
Tableau 22: Solubilité des protéines de *S. cerevisiae* en fonction de la force ionique à pH 12……...……. 78
Tableau 23 : Temps du séchage ventilé…….…….……...…….. 82
Tableau 24: Temps du séchage sous vide……..…….….. 81
Tableau 25 : Effet du séchage ventilé sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae*…….....….. 87
Tableau 26 : Effet du séchage sous vide sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae*……..….. 87
Tableau 27 : Effet des trois procédés de séchage sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae*.. 90
Tableau 27: Composition des dattes sèches, pulpe et peau (*Phoenix dactyliferafa L.).*……..…. 107
Tableau 28 : Gamme étalon de Glucose à 0,01% pour les sucres totaux……..….. 109
Tableau 29 : Teneurs en acides aminés essentiels des protéines des denrées alimentaires……..… 112
Tableau 30 : Principaux traitements subis pour les constituants alimentaires...……. 112
Tableau 31 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps (Séchage ventilé) **(**Simulation)…….….. 115
Tableau 32 : Evolution de la vitesse (dX/dt) en fonction du temps (Séchage ventilé)

(Simulation)……..… 115
Tableau 33 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps (Séchage sous vide) (Simulation)…….. 116
Tableau 34 : Evolution de la vitesse (dX/dt) en fonction du temps (Séchage sous vide) (Simulation)…….. 117
Tableau 35 : Données expérimentales en moyennes et écart types (Séchage ventilé)……..… 118
Tableau 36 : Analyse de la variance (Séchage ventilé)…… 118
Tableau 37 : Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% selon Fisher (LSD) (Séchage ventilé)……. 118
Tableau 38 : Données expérimentales en moyennes et écart types (Séchage sous vide)……...…. 119
Tableau 39 : Analyse de la variance (Séchage sous vide)……... 119
Tableau 40 : Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% selon Fisher (LSD) (Séchage sous vide)……. 119
Tableau 41 : Données expérimentales en moyennes et écart types (Trois procédés)…….... 120
Tableau 42 : Analyse de la variance (Trois procédés)……..... 120
Tableau 43 : Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% selon Fisher (LSD) (Trois procédés)…… 120
Tableau 44: Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% selon Fisher (LSD) (Suite)…….. 121
Tableau 45 : Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% selon Fisher (LSD) (Suite)……. 122

Introduction

Introduction

Certaines espèces fongiques se révèlent utiles, voire indispensables dans certains domaines de l'industrie agro-alimentaire. Les levures représentent certainement le groupe le plus important de microorganismes exploités par l'homme. Depuis la plus haute antiquité, elles ont joué un rôle de premier ordre dans l'alimentation humaine.

Les levures sont des usines à protéines, en ce sens qu'à partir d'une solution d'azote minérale et d'une source de carbones, elles élaborent une masse importante de protéines (azote organique), ce sont les protéines d'organismes unicellulaires dites protéines de biosynthèse ou encore biomasse.

Le potentiel phoenicicole algérien enregistre un accroissement implorant, la production nationale peut atteindre 500.000 tonnes, dont 53 % sont des variétés dites communes, qui s'écoulent difficilement sur le marché. La bioconversion de ces ressources constitue l'objectif de plusieurs sujets de recherche (Ould El-Hadj et al., 2006).

D'autre part, l'Algérie importe 31.000 tonnes/an de mélasse de betterave et de canne. De même, elle importe la souche de levure *Saccharomyces cerevisiae* tous les quatre ans pour la production de levure, dont la demande de la population est en accroissement (OND, 1992).

La production par voie de fermentation de la levure *Saccharomyces cerevisiae* cultivée dans un milieu à base de datte sèche variété « Mech-degla », présente un travail de biotechnologie qui a pour but la production des protéines non conventionnelle de qualité comparable à celle des protéines animales.

La richesse en protéines qui dépasse les 50 %, nous a conduits au choix de la levure *Saccharomyces cerevisiae* comme matériel biologique. D'autre part, la composition biochimique (surtout la richesse en sucres assimilables) et la simplicité de préparation par apport aux autres sous-produits, ont encouragé l'utilisation de l'extrait des dattes comme source de carbones (Acourene et al., 2007).

Il est classiquement admis que la fonction nutritionnelle principale des protéines alimentaires est d'apporter à l'organisme des acides aminés et l'azote nécessaire aux synthèses. Autrement dit, elles doivent présenter une digestibilité et une absorption satisfaisante. Mais les traitements technologiques que subit l'aliment peuvent provoquer des modifications sur les protéines qu'elles soient bénéfiques ou affectant. Alors, il est très important de suivre la disponibilité des protéines au cours des traitements technologiques.

La digestibilité des protéines, i.e., l'accessibilité des protéines aux protéases, dépend directement de la nature des protéines : Protéines solubles (dans l'eau, solubles dans les milieux acides ou basiques, solubles seulement en présence de sels neutres, solubles dans les solvants organiques neutres) et protéines insolubles dans toutes les conditions. Ces derniers sont des protéines indigestibles et n'ont aucun intérêt nutritionnel (résistent à l'action des protéases) (Bernard et Carlier, 1992).

La solubilité des protéines est une propriété fonctionnelle très recherchée en industrie alimentaire (ingrédient de fonction). Elle détermine les autres propriétés fonctionnelles : émulsification, rétention d'eau, viscosité, etc. Dont l'ensemble de ces propriétés détermine la qualité des denrées alimentaires (texture, goût, structure, apparence,…) (Wong et Kitts, 2003).

En fait, pour une bonne utilisation des protéines d'organismes unicellulaires, il est nécessaire après culture et récupération des cellules de les sécher afin d'obtenir une bonne qualité biochimique et ainsi, ce traitement technologique induit la dénaturation de la paroi cellulaire, ce qui se traduit par une augmentation de la digestibilité (Alias et Linden, 1994).

La production des protéines reste un objet essentiel afin de subvenir aux besoins mondiaux. A cet égard des essais de production de protéines d'organismes unicellulaires par culture de la levure *Saccharomyces cerevisiae* sur un milieu à base de dattes ont été réalisés avec un grand succès, en citant à titre d'exemple les travaux de Acourene et Tama (2001), Badid et al.(2001), Bessah et Touzi (2001).

Au cours de ces dernières années, les effets du séchage sur les propriétés techno-fonctionnelles et nutritionnelles ont fait l'objet de plusieurs études et publications. Les travaux de Cepeda et al. (1998), Wong et Kitts (2003), Jovanovic et al. (2006), Zhongshui et al. (2006), Yu et al. (2007) et autres, sur des concentrés protéiques végétaux (soya, petit

pois, sésame,..) ou animaux (lait, œufs,..), montrent l'influence des traitements technologiques sur la solubilité des protéines et par conséquence sur les autres propriétés fonctionnelles de la digestibilité.

Jusqu'ici, pour ne pas dire pas, mais peu de recherches ont été conduites sur des rapports de l'effet de séchage sur les propriétés fonctionnelles (inclut la solubilité) et sur la valeur nutritionnelle des protéines de *S. cerevisiae*.

L'objectif principal que se propose le présent travail est d'étudier l'influence de trois procédés de séchage sur la solubilité des protéines de la levure *Saccharomyces cerevisiae*, cultivée dans un milieu à base d'extrait de dattes sèches, variété « Mech-degla ».

Ce travail est subdivisé en quartes parties, à savoir :

- Caractérisation biochimique de l'extrait de la datte sèche variété « Mech-degla ».
- Production de la biomasse de *S. cerevisiae.*
- Séchage de la biomasse par trois procédés: séchage ventilé, séchage sous vide et lyophilisation.
- Détermination de la solubilité des protéines des biomasses séchées.

1iére Partie :

Etude bibliographique

Chapitre 1 :

Notions sur la datte, levure et fermentation

1.1. Notions sur la datte

Le dattier (*Phoenix dactilyfera L.)* est un palmier originaire de Perse, cultivé dans les régions chaudes et arides, le palmier dattier *(Phoenix dactilyfera L.)* est une espèce dioïque, monocotylédone, appartenant à la famille des *Palmaceae* qui compte environ 235 genres et 400 espèces (Munier, 1973).

1.1.1. Description du fruit

- La datte est une baie car son péricarpe est entièrement charnu. Elle possède un noyau.
- Les dattes sont généralement de forme allongée, oblongue ou ovoïde, mais on rencontre également des dattes sphériques.
- Leur longueur: très variable de 1 à 8 cm; Leur poids: est de 2 à 7,8 g.
- La chaire (partie comestible) dont la forme, la consistance et la couleur à maturité sont variables selon les variétés (Dowson et Aten, 1963).
- Selon leur consistance: on distingue trois catégories de dattes : molle, demi molle et sèche ou dure (Peyron, 2000).

Tableau 01 : Teneur en sucres de quelques variétés des dattes Algériennes (Belguedj, 2002).

Constituant par rapport à la matière sèche (%).	**Type de datte**					
	Molle		**Demi-molle**		**Sèche**	
	Ghars	Tinicine	Deglet-nour	Tafazoiune	Degla-beida	Mech-degla
Sucres Totaux	85,28	54,30	71,37	56,90	74	80,07
Sucres réducteurs	80,68	48	22,81	47,70	42	20
Saccharose	04,37	05,30	46,11	8,74	30,36	51,40

- Répartition géographique du palmier dattier en Algérie : En Algérie, les palmeraies bien avant la zone saharienne puisqu'on les trouve au niveau de la zone steppique. Ces palmeraies sont peuplées de cultivars peu intéressants (non commercialisables et à conservation difficile) (Munier, 1973).

Tableau 02 : Répartition géographique et nombre de palmiers dattiers en Algérie (Belguedj, 2002).

Wilaya	Superficie occupée (ha)	Deglet-Nour	Ghars et analogue (Dattes molles)	Degla –Beida et analogues (Dattes sèches)	Total Palmiers Dattiers	
					Total	En rapport
Al-Oued	27395	1808140	681000	284860	2774000	2140000
Biskra	24894	1319190	430710	783460	2533360	1998580
Adrar	19625	0	0	2704780	2704780	1997650
Ouargla	16811	967580	846450	120170	1934200	1585770
Autres	15665	315640	257520	1516150	2089310	1343610
Total	**104390**	**4410550**	**221568**	**5409420**	**12035650**	**9065610**

1.1.2. Aspect économique

- La production mondiale de la datte vient au quatrième rang des productions fruitières tropicales et subtropicales après les agrumes, les bananes et l'ananas.
- L'importance économique de la production dattière est donc loin d'être négligeable, d'autant plus que les palmeraies permettent, en culture mixte, la subsistance de nombreuses populations dont les moyens d'existence reposent entièrement sur l'exploitation du dattier (Munier, 1973).

Tableau 03 : Production moyenne mondiale de dattes (1961 - 2004) (Tonnes / ans) (http.//fr.wikipedia.org/wiki/date. Consulté le : 20-06-2006).

Pays	1961-1965	1971-1975	1981-1985	1990-1995	2003-2004
Egypte	407000	386 000	457 000	595 000	110 000
Iran	305000	293 000	385 000	588 000	877 500
Arabie saoudite	170000	280 000	417 000	535272	830 000
Emarats arabes unis	363000	400 000	346 000	535 000	760 000
Pakistan	9600	177 000	234 000	300 000	650 000
Algérie	122 000	159 000	193 000	211 000	471 100
Soudan	58 000	109 000	120 000	136 000	330 000
Oman	40 000	49 000	74 000	127 500	238 611
Libye	36 000	68 000	84 000	75 000	140 000
Tunisie	35 000	41 000	61 000	77 500	110 000
Autres 22 pays	-	-	-	372000	360175
Total	183 9000	2208000	2645000	3574000	5867886

1.1.3. Composition biochimique du fruit

La partie comestible représente 80 à 95% du poids de la datte, elle est très riche en sucre, ce qui lui donne un très grand pouvoir énergétique, elle est également riche en éléments minéraux et substances vitaminiques. Mais Les sucres et l'eau restent les éléments majeurs pour la consistance de la chair (Estanove, 1990).

La teneur et la proportion des sucres varient en fonction du climat et du stade de maturation de la datte, comme elles varient aussi selon les variétés et leur consistance dont les limites de 50 à 80 % de la pulpe fraîche. De façon générale, les dattes molles sont caractérisées par une teneur élevée en sucres réducteurs (sucres invertis), et les dattes sèches par une teneur élevée en saccharose (Tableau 01).

En plus des sucres et de l'eau, qui l'ont fait un aliment de premier choix, on trouve aussi des nombreux constituants minéraux, organiques et des vitamines (CIQUAL, 1993) (Annexes1).

1.1.4. Caractéristiques de la variété sèche « Mech-degla »

1.1.4.1. Caractéristiques du fruit

- C'est la plus populaire des dattes sèches, pour sa qualité gustative et la facilité de conservation.
- La datte est de forme sub-cylindrique légèrement rétrécie à son extrémité. Elle est de taille moyenne 1.8-3.5 cm et d'un poids moyen de 6.5g (Figure 03).
- A maturité, la datte est plutôt beige claire teintée d'un marron peu prononcé (Belguedj, 2002).

1.1.4.2.Caractéristiques de cultivar

- Nom vernaculaire: Mech- degla.
- Importance et répartition : Abondant.
- Date de maturation : Octobre.
- Date de récolte : Octobre-Novembre.
- Utilisation de datte : Fraîche et conservée.
- Mode de conservation : En sacs ou en régimes (Figure 01 et 02).

1.1.4.3. Caractéristiques biochimiques de la datte: « Mech-degla »

Tableau 04 : Caractéristiques biochimiques de la datte « Mech-degla» (Belguedj, 2002).

Teneur en eau (%)	Matière sèche (%)				
	Cendres	Pectines	Sucres réducteurs	Saccharose	Sucre totaux
13	1,9	7,3	20	51,50	80,70

Figure 01 : Le palmier dattier de Mech-degla (Belguedj, 2002).

Figure 02 : Mech-degla au cours de maturation (Belguedj, 2002).

Figure 03 : Aspect morphologique de Mech-degla (Belguedj, 2002).

1.1.5. Valorisation industrielle des dattes

Aujourd'hui, par des procédés biotechnologiques, il est possible de mettre sur le marché local et même national une nouvelle génération de produits en utilisant les dattes. En Algérie, peu de tentatives ont été effectuées dans ce domaine. Parmi ces produits, on peut citer : farines, pâtes, sirops, confitures, marmelades, boissons gazeuse, gâteaux, alcool, vinaigre, levures et aliments de bétail,… (Acourene et Tama., 1997) (Schéma 01).

1.1.6. Situation de l'Algérie

La richesse variétale algérienne est très mal exploitée et uniquement la Deglet-Nour qui présente une importance économique réelle et à un degré moindre : Ghars, Degla-Beida et Mech-degla (Estanove, 1990).

Le restant des cultivars produits des dattes communes de faible valeur marchande pose un problème de commercialisation, donc leur transformation industrielle ou artisanale visant l'obtention de divers produits nouveaux plus rémunérateurs s'impose. En effet seule l'analyse permettant de déceler les qualités éventuelles de ces dattes en particulier leur richesse en sucre et d'orienter ensuite leur exploitation vers certaines filières (Schéma 02) si celle-ci en vaut la peine.

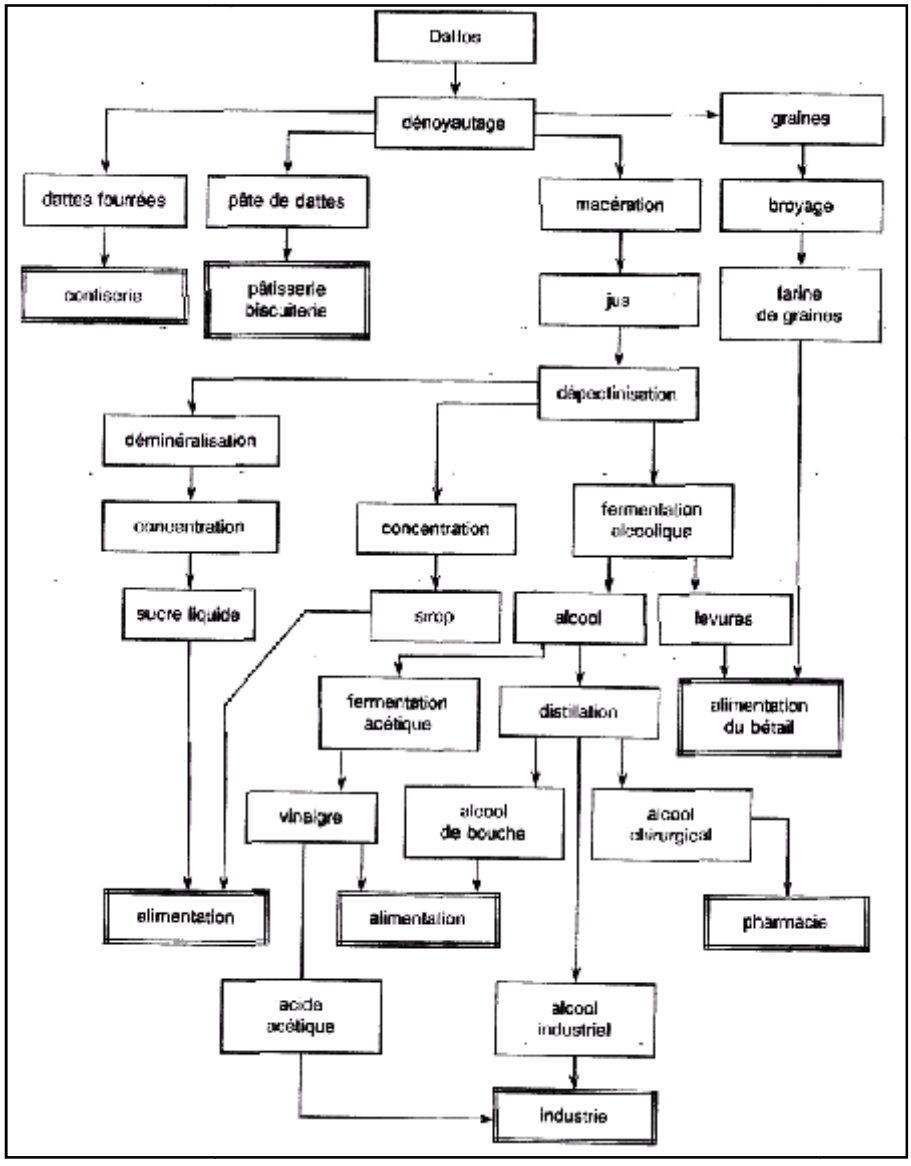


Schéma 01: Opération de transformation des dattes (Estanove, 1990).

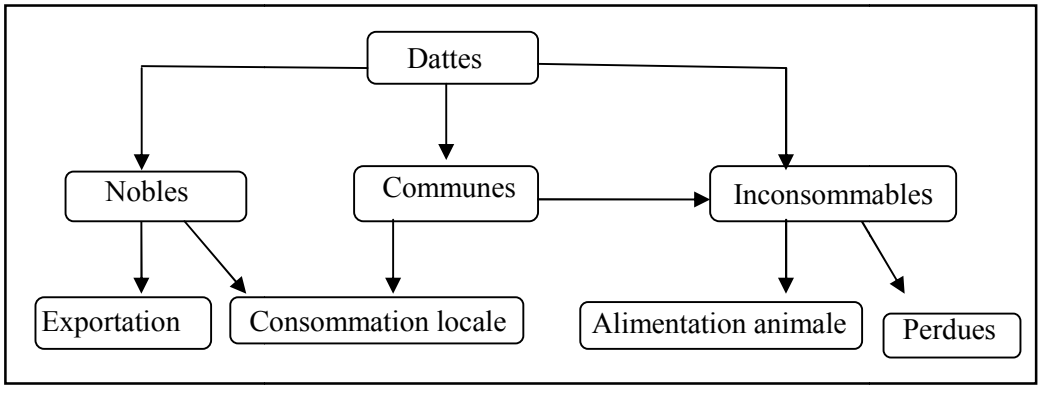


Schéma 02: Divers utilisations de la datte (Estanove, 1990).

1.2. Notions sur la levure

Les levures sont des champignons microscopiques unicellulaires qui se multiplient par bourgeonnement ou sporulation. Il existe plusieurs centaine d'espèces, quelques une présentent un grand intérêt industriel du fait de leur pouvoir fermentaire (Scriban, 1997).

S. cerevisiae est l'organisme eucaroytique dont la biologie cellulaire est la mieux étudiée pour les raisons suivantes :

- Importance industrielle.
- Simplicité de l'organisation unicellulaire et la croissance rapide dans les conditions de laboratoire (Larpent, 1991).
- Exigence des substrats peu économiques (Munier, 1973).

1.2.1. Classification (taxonomie)

Selon Larpent (1992), la place de la levure *S. cerevisiae* dans la classification des êtres vivants est la suivante :

Règne……..*Protiste*
Embranchement……..…*Eucaryote*
Classe…….*Ascomycètes*
Sous classe……..*Hemiascomycetes*
Ordre……..*Endomycétales*
Famille…….....*Saccharomycetaceae*
Sous famille……...*Saccharomycetoideae*
Genre……..……*Saccharomyces*
Espèce……....*Saccharomyces cerevisiae*

1.2.2. Reproduction

La reproduction végétative se fait généralement par bourgeonnement. Dans certaines conditions de culture, les levures sporogènes peuvent se reproduire par voie sexuée (Bourgeois et Leveau, 1991) (Figure 04).

1.2.3. Morphologie

S. cerevisiae est une cellule sphérique, ovoïde ou allongée de taille très variable (3 -10 µm 4 -14 µm), certaines cellules sont cylindriques et de grandes tailles jusqu'à 20 µm de longueur ou plus (Larpent 1991) (Figure 05).

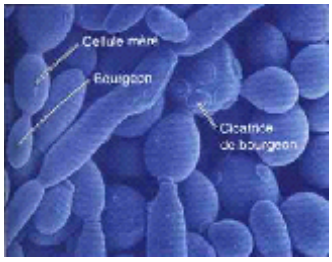


Figure 04: Micrographie de *S. cerevisiae* (Tortora et al., 2003)

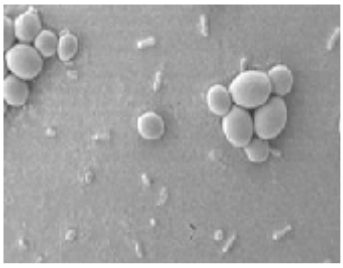


Figure 05 : Aspect morphologique de *S. cerevisiae* (Tortora et al., 2003)

1.2.4. Condition de culture de *S. cerevisiae*

La croissance d'un micro-organisme peut être considérée comme une série d'interaction entre les cellules et l'environnement. Pour cela, le milieu de culture doit apporter tous les éléments nécessaires aux systèmes cellulaires et aux besoins énergétiques de la levure (Bouix et Leveau, 1993).

1.2.4.1. Besoins nutritionnels

- **Source de carbone et d'énergie :** Les sources les plus généralement utilisées de carbone et d'énergie sont des hydrates de carbone, y compris mono-, di- et tri-saccharides, dextrines plus supérieures et amidons.
- **L'azote :** Quantitativement c`est le deuxième constituant apporté par le milieu de culture, il est utilisé par les cellules pour la constitution des acides aminés, des nucléotides et certains vitamines. A côté des sources organiques de l'azote (acides aminés, peptides, amines, pyrimidines et purines), la levure est capable d'assimiler l'azote et le soufre minérales, *S. cerevisiae* ne peut pas utiliser le nitrate ou le nitrite, mais assimile aisément les ions d'ammonium.
- **Source minérale :** *S. cerevisiae* a besoin aussi du phosphore, du potassium, du magnésium et du calcium. Des oligo-éléments (Fe, Na, Cu,..) sont nécessaires mais à l'état de trace.
- **Source vitaminique (F de croissance):** l'apport des vitamines est indispensable pour assurer une bonne croissance, ses besoins surtout en thiamine (B_1) de 5 mg/l, biotine (H) de 1mg/l et en pyridoxine (B_6) de 6.25 µg/l (Boulton et al., 2001 ; Bouix et Leveau, 1993).

1.2.4.2. Besoins physico-chimiques

- **La température** : La température convenable pour la croissance de *S. cerevisiae* est de 30°C (Larpent et Gourgoud, 1985).
- **Le pH** : *S. cerevisiae* représente l'avantage de croître sur un milieu acide, lequel la plupart des bactéries ne se développent pas. Elle préfère un pH compris entre 4 et 4.5 (Revuz, 1979).
- **L'aération** : La levure s'adapte à deux modes de vie en présence ou en absence d'oxygène. L'oxygénation a pour but d'homogénéiser la circulation dans le fermenteur. Il est nécessaire d'apporter l'oxygène sous forme d'air filtré. Le mode aérobie est employé pour éviter la production des certaines métabolites qui minimisent la production de biomasse (Revuz, 1979).
- **La pression osmotique** : La levure *S. cerevisiae* est considérée parmi les levures qui tolèrent des pressions osmotiques élevées mais avec un métabolisme lent (Bourgeois et Leveau 1991).

1.2.5. Composition biochimique de *S. cerevisiae*

Selon Simon et Munier (1970), la levure *S. cerevisiae* se distingue essentiellement par sa teneur en protéines en acides aminés, ainsi qu'en vitamines de groupe B (Tableau 05).

Tableau 05 : Composition moyenne de la levure *S. cerevisiae* (Larpent, 1991).

Composant	Teneur
Composition globale	**g/ 100g**
Protéines brutes	45-55
Lipides	03-08
Glucides totaux	25-33
Minéraux	06-09
Calories (cal / 100g)	405
Acides aminés	**%protéine**
Isoleucine	5.1
Leucine	6.6
Lysine	7.1
Méthionine	1.6
Cystine	1.0
Phénylalanine	3.5
Thréonine	4.8
Tryptophane	1.5
Valine	5.2
Proline	4.0
Arginine	5.4
Histidine	2.5
Acide aspartique	7.2
Acide glutamique	16.9
Glycine	4.4
Alanine	5.5
Acides gras	**% des acides gras totaux**
C14 :0	1.0
C15 :0	1.0-15.0
C16 :0	8.0-30.0
C 16:1	0.5-30.0
C17 :0	2.5
C18 :0	2.0-30.0
C18 :1	18.0
C18 :2	15.0
C18 :3	6.5
C19 :0	13.5
Vitamines	**mg / 100g**
B_1	4 –18.0
B_2	5.0
PP	42.0
B_6	3.0
Acide folique	3.0
Biotine	0.15
Composition en cendres	**g/ 100g de M.S**
Potassium	2.2
Phosphore	1.6
Soufre	300.10^{-3}
Magnésium	270.10^{-3}
Sodium	60.10^{-3}
Calcium	50.10^{-3}
Zinc	12.10^{-3}
Fer	10.10^{-3}
Manganèse	3.10^{-3}

1.2.6. Applications industrielles de la levure *S. cerevisiae*

La levure *S. cerevisiae* est le microorganisme le plus appliqué aux procédés microbiologiques traditionnels, industriels et dans la fabrication de divers produits dont les principales applications sont mentionnées dans le tableau 06 (Comonis, 1990).

Tableau 06: Principales applications de la levure *S. cerevisiae* (Comonis, 1990).

Produits de *S. cerevisiae*	**Applications**
Alcool et CO_2	Fabrication du pain, vin, bière
Ethanol	Solvants
Glycérol	Chimie de matières plastiques
Protéines animales	Alimentation de l'homme et bétail
Vitamines	Industrie pharmaceutique
Invertase	Confiserie

1.2.7. Intérêt nutritionnel des levures

Sur le plan nutritionnel, les protéines des levures jouent un rôle important pour combler le déficit protéique des pays en voie de développement, dont l'alimentation est essentiellement à base des céréales.

Pour résoudre ce problème, la science est orientée vers la production des levures-aliments en vu d'obtenir des sources protéiques et vitaminiques.

En Plus, l'azote aminé représente 70 à 80 % de l'azote total des cellules de *S. cerevisiae.* On trouve aussi des acides aminés essentiels dont la teneur est comparable à celle des protéines du blé et du blanc d'œuf. Par rapport à ce dernier les protéines de la levure de boulangerie *S. cerevisiae* sont bien équilibrées (Rivière, 1975).

Les premières expérimentations en nutrition, ont été rapportées en 1945 en utilisant des levures de bière sèches. De nombreux essais nutritionnels sous contrôle médical ont été faits au niveau des centres hospitaliers, sur des malades, sur des vieillards, sur des sportifs, et également sur des enfants scolarisés. Tous ces essais ont fait la preuve qu'une quantité de 15 à 20 g par jour de levure procure toujours une amélioration de l'état générale et plus de résistance à la fatigue (Larpent, 1991).

Les levures ayant une grande valeur nutritive peuvent entrer dans la ration alimentaire animale ou humaine. Dans ce but, la production de «levure-aliment» ou P.O.U. (protéines d'organismes unicellulaires) s'effectue sur des substrats très variés (Tableau 07).

L'emploi de levures sèches (*S. cerevisiae, C. utilis*) ajouté à l'alimentation des bétails, a démontré la haute valeur nutritive de ces protéines microbiennes et a donné naissance à l'industrie des levures alimentaires dans l'emploi avait été déjà envisagé en Allemagne au cours des deux guerres mondiales pour supplémenter la nourriture humaine.

Tableau 07: Production industrielle de la levure alimentaire (Simon et Munier, 1970).

Sous produits des I.A.A	**Organismes utilisés**	**Rendement en % calculé sur le sucre Consommé**	**Contenu en protéine en %**
Mêlasse de Betterave	*Torulopsis utilis*	55	50
Mêlasse de canne	*T. utilis*	48	51
Liqueur de bisulfitique	*Candida utilis*	-	55
Hydrolysant de Bois	*Hanseluna anomala*	35-40	-
Résidus et fermentation	*T. utilis.*	47-52	50
Mêlasse de Betterave	*Saccharomyces cerevisiae*	43-53	50
Lactosérum	*T. utilis.*	40-45	40-48
Produits pétroliers	*T. utilis*	45	45-50

Remarque

Les levures ne provoquent pas des intoxications alimentaires, seules *Candia albicans* et *Cryptoccocus neofbrmans.* Si les levures ne posent pas de problèmes hygiéniques dans les aliments, elles constituent par contre des agents de contamination et de dégradation des produits sucrés ou acides (Bourgeois et al., 1996).

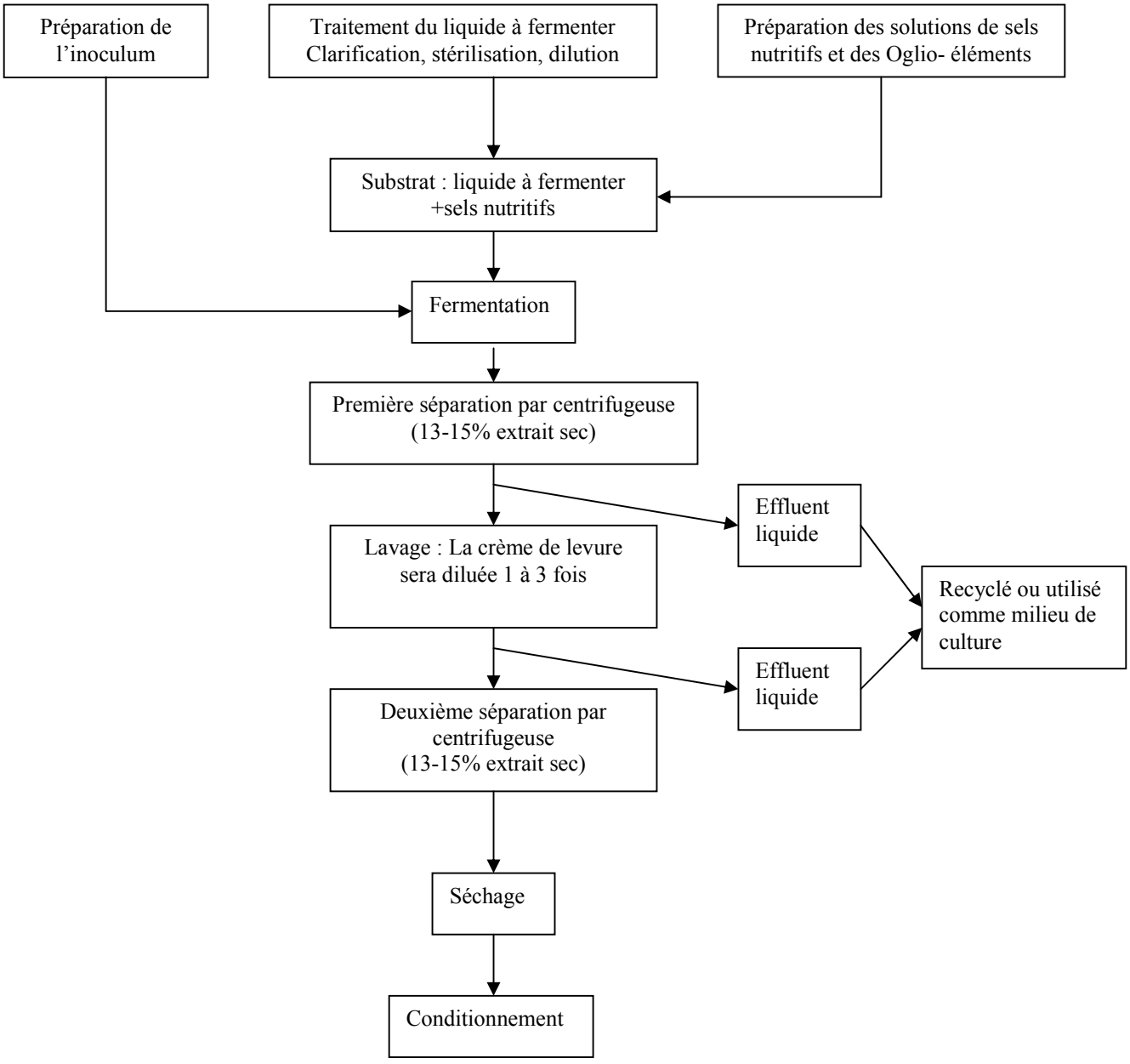


Schéma 03 : Diagramme de production de levure cultivée (Larpent, 1991 ; Revuz, 1979).

1.3. Données sur la fermentation

Afin de mettre en valeur les potentialités du vivant, les technologies et les équipements associés n'ont cessé d'évoluer tout au long de ces dernières années. Bien que le terme fermentation soit un abus de langage, car il concerne la respiration anaérobie selon Pasteur, il est, par extension, utilisé par le monde industriel pour désigner l'opération unitaire qui va permettre de réaliser les cultures cellulaires et d'effectuer les réactions de bioconversion, (qu'elles soient aérobies ou anaérobies).

1.3.1. Définition de la fermentation

Selon Cognart et al. (2000), la fermentation est une étape d'un procédé industriel. Elle s'insère dans un ensemble d'opérations unitaires qui aboutiront à la valorisation de la biomasse et/ou de ses composantes et/ou à la valorisation des produits de bioconversion.

Sur le plan scientifique détaillé, la fermentation c'est tout processus métabolique qui libère de l'énergie contenue dans une molécule organique, qui ne nécessite pas d'oxygène ni de chaîne de transport d'électron, et qui utilise une molécule organique comme accepteur d'électron (et de proton) final (Tortora et al., 2003).

1.3.2. Mode de conduite de fermentation

1.3.2.1. Installation de fermentation

Le fermenteur ou bioréacteur constitue le cœur d'une installation de fermentation, il doit permettre d'établir les conditions environnementales optimales (Température, pH, oxygène dissout, nutriment, …) à l'obtention d'une croissance rapide ainsi qu'une formation de produit efficace (Scriban, 1999).

Il existe plusieurs types de fermenteur et par conséquent divers procédés (ou type) de fermentation.

A côté du fermenteur, l'installation de fermentation comprend certains nombre de périphériques, qui sont des cuves de stockage des différents réactifs nécessaires au bon déroulement du processus (Figure 06).

L'installation doit être conçue, dans son ensemble, pour permettre la stérilisation, le maintien de l'asepsie, la distribution d'air dans le cas de processus aérobies, la réduction ou l'élimination de mousse et les transferts de fluides ou des suspensions d'une cuve à une autre (Guiraud, 1996).

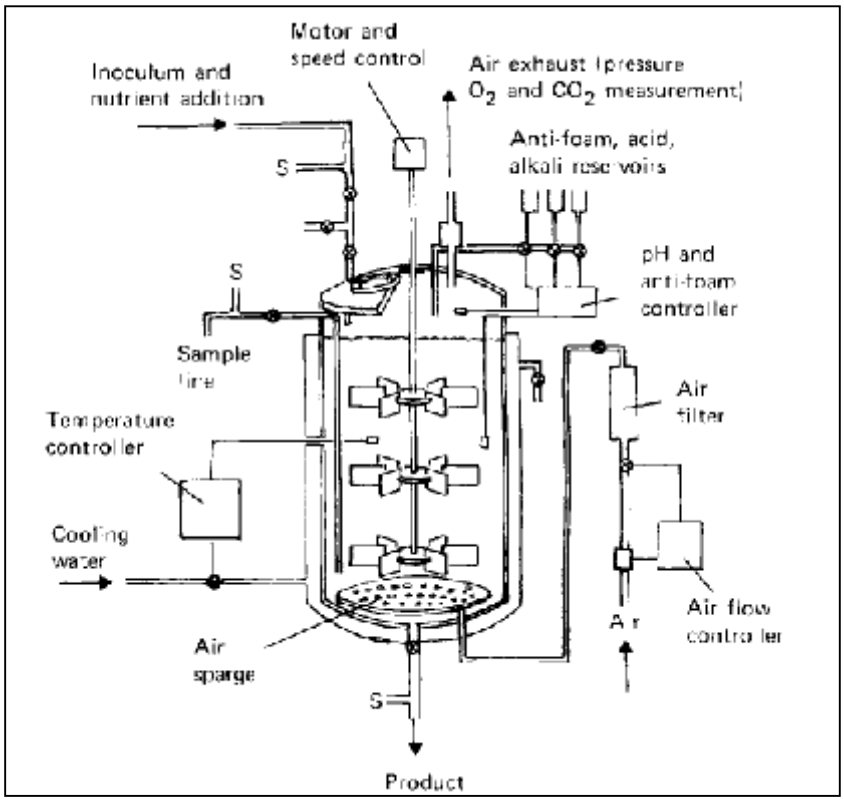


Figure 06 : Un fermenteur (Fellows, 2000).

1.3.2.2. Procédés de fermentation

Selon la méthode d'apport des nutriments et de soutirage des produits et de la biomasse. Trois modalités de fermentation peuvent être définies:

- Le procédé discontinu ou par charge ou batch : milieu nutritif non renouvelé.
- Le procédé continu: milieu nutritif renouvelé.
- Le procédé Fed-batch ou continu-discontinu ou discontinu alimenté : combinaison des procédés précédents (Bauer et Raetz, 1992).

1.3.3. Principales applications industrielles de la fermentation

En tant qu'un procédé industriel, la fermentation présente une place importante à côté d'autres précédés qui ont les mêmes buts d'application, à savoir :

- La synthèse chimique.
- Extraction à partir des tissus animaux et végétaux.
- Procédé enzymatique.

Les domaines d'application de la fermentation sont très étendus (tableau 08). Outre l'industrie agroalimentaire (aliments fermentés, production de levure et/ou de levains, de glutamate, d'acide citrique….), l'industrie chimiques (acide organiques, éthanol, solvant…);

environnement (traitement des eaux usées, des déchets..), agriculture (bio-insecticide), énergie (bioéthanol, méthane) et la pharmacie (antibiotique,..), font appel à tel procédé.

L'utilisation de microorganisme par la fermentation aboutit à trois types de production :

- La production de biomasse.
- La biosynthèse de métabolites.
- Les biotransformation.

Tableau 08: Quelques utilisations de la fermentation (Mazoyer, 2002).

substrats	Micro-organismes	produits	utilisation
Production d'aliments fermentés			
Mout de bière	*S. cerevisiae*	Ethanol+CO_2+arômes (bière)	Consommation humaine
Mout de raisin	*S. cerevisiae* *S. bayanus* Autres levures et bactéries Malolactiques	Ethanol+CO_2+arômes (vin) Acide lactique	Consommation humaine
Lait	Bactéries lactiques (streptocoques, lactobacilles….) Levures Moisissures (*Géotrichum sp, penicillium sp.)*	Acide lactique Composés d'arômes Composés d'arômes (lipolyse et protéolyse)	Consommation humaine
Acides organiques			
Vin ou solution alcoolique	*Acétobacter aceti.*	Acide acétique	Vinaigre conservateur
Lactosérum mélasse	*Lactobacillus delbrukil*	Acide lactique	Conservateur alimentaire, tannerie, teinturier
mélasse	*Aspergillus Niger*	Acide citrique	Alimentation détergent
Acides aminés			
mélasse	*Corynebacterium Glutamicum*	Acide glutamique	Alimentation humaine et animale
mélasse	*Corynebacterium sp.*	Lysine	Alimentation animale, santé
Antibiotiques			
Mélasse et corn Steep	*Penicillium Chrysogenum* *Cephalosporium sp.* *Streptomyces sp.*	Pénicilline Céphalosporines Streptomycines Tétramixine bacitracine	santé humaine et animale
Enzymes			
Milieu saccharose+protéines	*Bacillus*	Protéases	Alimentation (hydrolyse de soja)
Farine de céréales	*Bacillus*	Amylases	Alimentation (hydrolyse d'amidon)
mélasse	*Aspergillus sp*	Pectinases	Alimentation (clarification)

1.3.3.1. Production de biomasse

1.3.3.1.1. Définition

D'après Scriban (1999), la biomasse est définie comme des réactions anaboliques dont le but est la synthèse des constituants cellulaires.

1.3.3.1.2. Mécanisme

Comme la biomasse présente la quantité des cellules croissantes à partir de la matière première organique. La réaction de formation de biomasse peut s'écrire sous la forme suivante :

$$a\ (C_S\ O_T\ H_U\ N_V) + bO_2 + cNH_4 \longrightarrow C_W\ O_X\ H_Y\ N_Z + dCO_2 + eH_2O$$

Avec:

S, T, U, V : sont naturellement connus pour chaque substrat donné.

W, X, Y, Z : peuvent être déterminés par l'analyse élémentaire des constituants du germe (Scriban, 1999).

1.3.3.1.3. Applications

La production de biomasse constitue souvent le but de nombreuses fermentations industrielles :

- Production des « biomasse-aliment » et plus particulièrement production des protéines d'organismes unicellulaires essentiellement les levures.
- Production de biomasse, source de métabolites après extraction (vitamines, antibiotiques,…..).
- Production de levure diététique.
- Production de levains pour les industries de fermentation.
- Production d'agents biologiques pour bioconversion (catalyseur).
- Production pour des applications particulières par exemple la lutte biologique (action insecticide).

Pour obtenir de bonne production de biomasse, il est nécessaire de ce placer où le rendement énergétique est le meilleur, c'est à dire lorsqu' il y'a oxydation complète de substrat et que toute l'énergie potentielle est libéré et utilisée (Scriban, 1999).

Chapitre2 :

Notions sur les protéines

2 Notions sur les protéines

En 1839, le chimiste hollandais Gerrit Mulder publia des résultats sur l'analyse de la fibrine du sang, des albumines du sérum sanguin et de l'œuf. Ceux-ci indiquaient que c'étaient des composés quaternaires (C, H, O, N) avec des pourcentages quasiment identiques pour ces quatre atomes et qui contenaient des traces variables de soufre et de phosphore.

En 1938, sur la suggestion du chimiste suédois Berzelius Mulder, ces composés sont désignés sous le nom de protéines (du grec : prééminence).

Après un période d'identification des composants, les acides α-aminés, Fisher et Hofmeister présentèrent chacun, lors d'un congrès en 1902 le mode de liaison des acides aminés dans les protéines (Benseguni et Chikhi, 2006).

2.1. Définition des protéines

Les protéines sont des polymères biologiques constitués à partir de 20 acides aminés reliés entre eux par des liaisons peptidiques, dont la séquence est déterminée par l'information génétique. Ces macromolécules présentent une masse moléculaire supérieure à 10^4. Une protéine comporte au moins 100 acides aminés.

Les protéines sont des biomolécules de première importance :

- Par leur présence universelle dans le monde vivant. Seuls les viroïdes en sont dépourvus.
- Par leurs abondances cellulaires : c'est le premier constituant après l'eau (10 fois plus que les glucides).
- Par leurs extrême diversité : elles assurent des fonctions vitales tant structurales que dynamiques et elles sont le support de la spécificité des « espèces » (Benseguni et Chikhi, 2006 ; Sultanem, 2004).

2.2. La structure des protéines

Les acides aminés constituant les protéines, différent par la nature chimique de résidus. Ils se divisent en trois familles : polaire, non chargé, chargé et hydrophobe ; ces acides aminés peuvent s'associer en un grand nombre de séquences différentes et former des

domaines spécifiques, dont la structure tridimensionnelle détermine la fonction biologique de la protéine (Sultanem, 2004).

- **Notion de conformation**

La structure primaire ne définie que partiellement l'état de structure d'une protéine. La chaîne synthétisée par les ribosomes est linéaire ; elle subit ultérieurement une évolution tridimensionnelle sous l'influence de forces variées (attractives ou répulsives), qui se manifestent le long de la chaine et qui dépondent de la nature des chaines latérales, de leur écartement et du milieu ; elle aboutit à une conformation définie dont l'état thermodynamique est caractérisé par la stabilité et le minimum d'énergie libre.

La conformation de la protéine native, dans son milieu biologique, est assurée par des liaisons de faible énergie et éventuellement par le pont disulfure.

- **Structure primaire**

La structure primaire désigne la séquence des acides aminés le long de la chaine principale. Elle englobe toutes les liaisons covalentes y compris les ponts disulfures. Cette structure est génétiquement contrôlée (Figure 07 et Tableau 09) (Frénot et Vierling, 2006 ; Alias et Linden, 1994).

- **Structure secondaire**

C'est la conformation prise par la chaine polypeptidique stabilisée par des liaisons hydrogènes intra et extra moléculaires (Tableau 09), et non des chaines latérales. Et par ces liaisons, certaines régions de la séquence s'organisent localement en hélices α, en feuillets β ou coudes β ; ce sont les motifs qui caractérisent la structure secondaire de la protéine (Figure 07) (Frénot et Vierling, 2006 ; Sultanem, 2004).

- **Structure tertiaire**

La structure tertiaire est réellement l'état tridimensionnel qui rassemble les formes précédentes. Elle résulte de repliement de la chaine principale, conséquence de l'établissement de liaison entre les résidus R, et fait intervenir des liaisons hydrogènes électrostatiques et hydrophobes. Donc, elle permet le rapprochement de zones très éloignées dans la séquence. Certains acides aminés se placent au cœur de la protéine et échappent au solvant, d'autres se disposent en surface et facilitent les interactions avec l'environnement externe (Figure 07) (Frénot et Vierling, 2006).

- **Structure quaternaire**

La structure quaternaire des protéines résulte d'association des sous-unités protéiques (Figure 07). Les liaisons sont des liaisons hydrogènes pour les protéines globulaires et des liaisons covalentes pour les protéines fibrillaires. Plusieurs organisations sont possibles (exemple, forme fibreuse de l'actine, forme globulaire d'actine, de l'hémoglobine) (Frénot et Vierling, 2006 ; Alias et Linden, 1994).

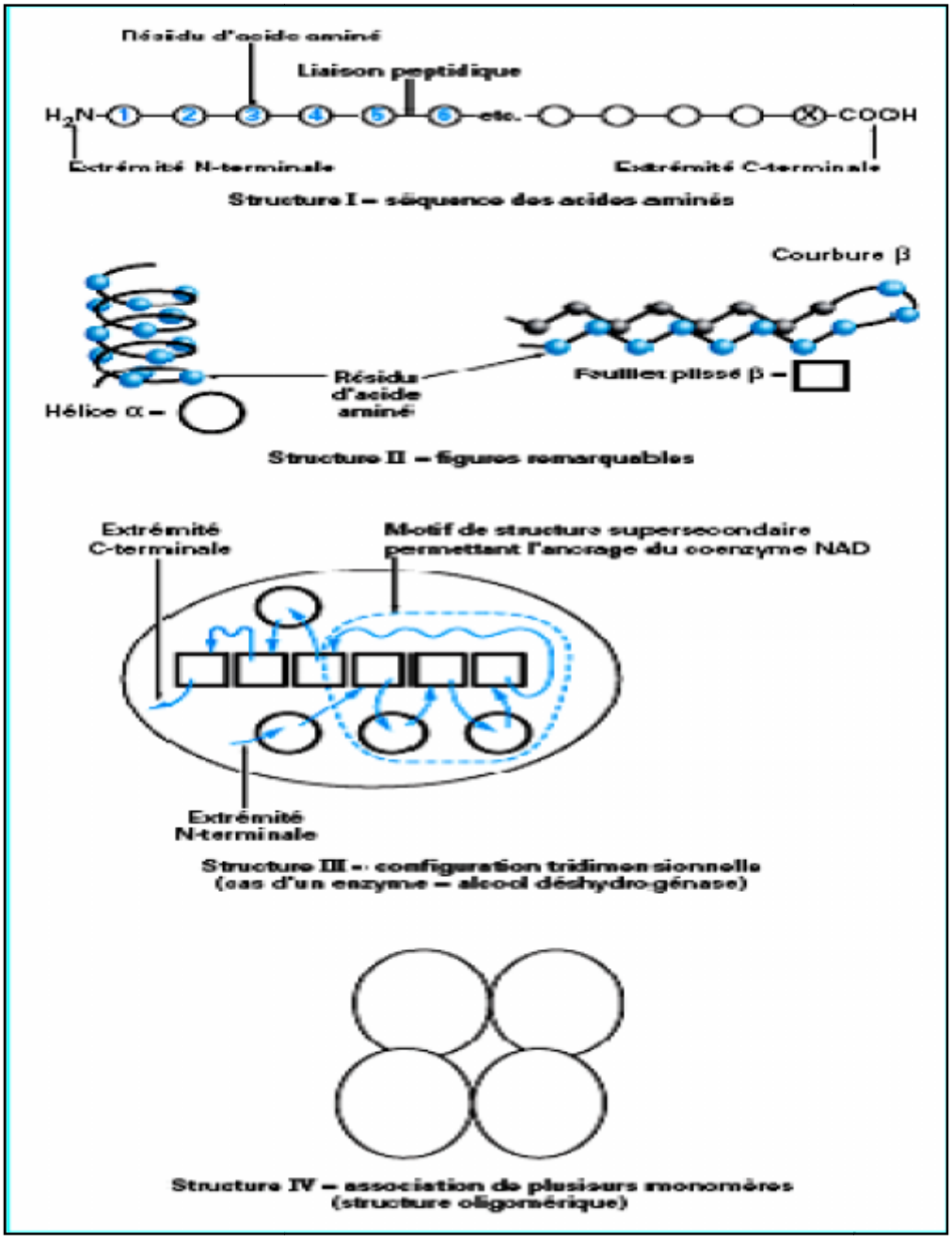


Figure 07 : Structure des protéines (Siret, 2002).

Tableau 09 : Interactions et liaisons impliquées dans la structure protéique (Cheftel et al., 1985).

type	Energie (Kj /mol)	Distance de l'interaction (A°)	Groupe fonctionnel impliqué	Agent de rupture	Agent de renforcement
Liaison covalente	330-380	1 - 2	Résidus de cystéine S-S	mercaptoethanol cystéines, dithiothréitol, sulfites	/
liaison hydrogène	8 - 40	2 - 3	amide, -NH…O=C hydroxyl phénol –OH…O=C	solution d'urée, chlorhydrate de guadinine, détergents, chaleur	froid
interactions hydrophobes	4 - 12	3 - 5	résidus d'acides aminés à chaîne latérale aliphatique ou aromatique	détergents, solvants organiques	chaleur
interactions électrostatiques	24 - 84	2 - 3	groupe carboxyl (COO^-) aminé (NH_4^-) .. .	solution saline pH faible ou élevés	/
Van der Waals	1 - 9		dipôles permanent, induit et instantané	/	/

2.3. Classification des protéines

La classification des protéines peut être établie selon différents critères :

❖ **Chimique**

- **Holoprotéines :** protéines vraies.
  - **Sphéroprotéines :** Classées selon la solubilité d'après Asborne en 1907, cité par Cheftel et al. (1985) :
    - **Albumine :** soluble dans l'eau et difficilement précipitable par les sels. Exemple : ovalbumine (blanc d'œuf), lactalbumine (lait).
    - **Globuline :** peu ou insoluble dans l'eau mais soluble dans les solutions salées. Exemple : actine et myosine (viande).
    - **Prolamine :** soluble dans les solvants organiques (Ethanol à 70%). Exemple : gliadine de blé.
    - **Gluténine :** insoluble dans l'eau, partiellement soluble dans les acides et bases dilués. Exemple : gluténine de blé.
    - **Protamines :** connus dans les poissons. Exemple : histone riche en histidine.
  - **Scléroprotéines :** Insolubles dans l'eau, dans les solutions salées, dans les acides et bases dilués et les solvants organiques neutres. Indigestibles ; résistent

à l'action des protéases. Exemple : les kératines (poils, ongles, sabots, écaille, cheveux,….).

- **Hétéroprotéines :** ce sont des protéines composées ou conjuguées ; association entre les acides aminés et groupe prosthétique, selon la nature de ce dernier, on distingue :
  - **Les phosphoprotéines :** protéines et H_3Po_4. Exemple : l'ovovitelline (protéine de jaune d'œuf liée à lécithines).
  - **Les nucléoprotéines :** protéines et acides nucléiques.
  - **Glycoprotéines :** protéines et glucides.
  - **Chromoprotéines :** protéines et pigments.

❖ **Conformation**

- Sphéroprotéines : protéines globulaires.
- Scléroprotéines : protéines fibreuses.

❖ **Fonction**

- Protéines structurales. Exemple : élastine, collagène.
- Protéines plasmatiques et de liquides biologiques.
- Protéines à activité biologique. Exemple : enzymes, hormones, transporteurs,…
- Protéines alimentaires : protéines économiquement favorisées, digestibles et savoureuses (Alias et Linden, 1994 ; Cheftel et al., 1985).

2.4. Propriétés des protéines

2.4.1. Définition de la fonctionnalité des protéines alimentaires

Les propriétés fonctionnelles des protéines alimentaires sont l'expression des propriétés physiques et physiquo-chimiques au niveau des qualités sensorielles des aliments qui les contiennent. Elles peuvent être classées en trois groupes principaux :

- **Propriétés d'hydratation :** Ce groupe inclut les propriétés suivantes : l'absorption et la rétention d'eau, la mouillabilité, le gonflement, l'adhésion, la dispersibilité, la solubilité et la viscosité
- **Propriétés dépendant des interactions protéines-protéines** : Ce groupe inclut les propriétés suivantes : agrégation, fibrillation, extrusion, texturation et la formation de diverses autres structures (fibres et pates protéiques,…). Aussi, la coagulation, synérèse et gélification appartiennent à cette catégorie mais d'une manière plus complexe, avec modification de l'affinité pour l'eau.

- **Propriétés de surface (propriétés aux interfaces) :** Ce groupe inclut le moussage, foisonnement, émulsification, formation de films.

Les propriétés fonctionnelles dépendent à la fois de la structure primaire et spatiale des protéines, mais aussi des conditions de milieu. Delà, les moyens pour modifier ces propriétés :

- Changement de pH.
- Changement de concentration en ion.
- Traitement thermique.
- Hydrolyse ménagée (chimique ou enzymatique).
- Modification chimique de protéines (greffage de radicaux, condensation des acides aminés, oxydation,…..).

Il faut souligner le fait que la fragilité de la structure spatiale et la sensibilité des protéines aux conditions extérieures rendent difficiles les études fondamentales et contraignent l'utilisateur à de nombreuses expériences (Alias et Linden, 1994 ; Linden et Lorient, 1994 ; Cheftel et al., 1985)

2.4.1.1. Solubilité

La dissolution d'un corps (C) dans un solvant (S) ne se produit que si les forces d'attraction qui s'établissent entre les molécules de (C) et celles de (S) sont supérieures aux forces de cohésions auxquelles sont soumises les molécules de (C). Dans le cas des protéines, ces forces de cohésion sont représentées par les attractions : interactions électrostatiques, liaisons hydrogènes et attraction de Van der Waals (Tableau 09) (Boulanger et al., 1959).

La solubilité des protéines est la résultante des interactions protéine-eau (affinité pour l'eau). C'est l'expression de la propriété d'hydratation qui met en jeu surtout des interactions hydrogènes et de Van der Waals (Frénot et Vierling, 2006).

On trouve de grandes différences dans le monde des protéines, ce qui crée une disparité vis-à-vis des autres classes, glucides et lipides. On peut distinguer trois cas :

- Solubilité dans l'eau pure.
- Solubilité seulement en présence des sels neutres.
- Insolubilité dans l'eau, solubilité en milieu alcalin ou acide, ou en présence de solvant organique (Alias et Linden, 1994).

De ce fait, les facteurs influençant la solubilité des protéines sont les suivants :

2.4.1.1.1. Influence du pH

Lorsque le pH du solvant est supérieur ou inferieur au pH_i des protéines ($pH \neq pH_i$), la protéine porte une charge négative ou positive, cette ionisation de protéine provoque le déroulement de la molécule et crée des interactions de type dipôle-dipôle entre les groupes chargés des protéines et l'eau en contribuant à sa solubilisation. De plus, les chaines protéiques portant des charges électriques de même signe ont tendance à se répulser et par suite de se dissocier et se déplisser. Si on représente les variations de la solubilité d'une protéine donnée en fonction du pH, on obtient habituellement une courbe en forme V ou U, le minimum de celle-ci correspondant au pH_i

Lorsque le pH du solvant se rapproche ou équivaut au pH_i, les forces électrostatiques entre les molécules protéiques sont minimales, les interactions protéines-protéines sont maximales (minimum d'interaction entre l'eau et la chaine polypeptidique), il s'ensuit une diminution de la solubilité des protéines qui s'agrègent en polymères insolubles entrant en contact entre elles et se précipitent sous forme d'agrégats (Wagner et Anon, 1990 ; Boulanger et al., 1959).

2.4.1.1.2. Influence de la force ionique (μ)

Selon Frénot et Vierling (2006) et Scopes (1994), la solubilité d'une protéine pour une force ionique donnée, varie en fonction de la nature des ions et la concentration en sels :

- **Concentration en sels**
  - **Effet salting-in, effet dissolvant ou solubilisant :** à faible force ionique, les ions réagissent avec le groupement chargé des protéines et abaissent l'attraction électrostatique des groupes de charges opposées de groupements voisins. En outre, la solvatation due à ces ions permet d'augmenter la solvatation des protéines et par suite leur solubilité et contrarie donc l'agrégation des molécules protéiques. Cette augmentation de la solubilité des protéines est proportionnelle à la concentration des ions pour une marge définie pour chaque sel.
  - **Effet salting-out, effet précipitant ou relargage :** à des forces ioniques plus élevées, la solubilité des protéines décroit rapidement. Cet effet résulte de la compétition entre la protéine et les ions salins pour les molécules d'eau nécessaires

à leurs solvatations respectives, il y a tellement d'ions en solution qu'il n'y a pas assez de molécules d'eau disponibles pour la solvatation de la protéine, car la majorité d'eau est fortement liée aux sels et ainsi, les interactions protéine-protéine deviennent plus importantes que les interactions protéines-eau et cela peut conduire à une agrégation suivie de précipitation des molécules protéiques. Cette insolubilisation est réversible lorsqu'on ajoute de l'eau pour diluer le milieu. Cet effet est utilisé pour la séparation et la purification des protéines.

- **Nature des sels**

Les anions univalents sont plus actifs sur l'effet dissolvant que les bivalents, les cations bivalents sont plus actifs que les univalents. Les anions multivalents (Mg SO_4, K_2 SO_4,…) sont préférés pour le dessalage. Les ions peuvent être classés ainsi sur des échelles empiriques :

Cations $\xrightarrow{\quad}$ NH_4^+ K^+ Na^+ Li^+ Mg^{2+} Ca^{2+} augmentation de l'effet salting-in

Anions $\xrightarrow{\quad}$ SO_4^{2-} Cl^- Br^- NO_3^- I^- CLO_4^- augmentation de l'effet salting-out

2.4.1.1.3. Influence des solvants organiques

Certaines protéines sont solubles dans les solutions aqueuses contenant 60 à 80 % d'éthanol (prolamine végétale). Mais beaucoup d'autres protéines sont au contraire précipitées surtout sous des concentrations relativement faibles de solvant. Ces solvants provoquent une dénaturation moins sévère lorsqu'on travail sous concentration élevée et à baisse température (Chin et al., 1994).

2.4.1.1.4. Influence de la température (à pH et force ionique constants)

Selon Cheftel et al. (1985), la solubilité des protéines s'accroit avec la température jusqu'à la température qui provoque la dénaturation des protéines, où les mouvements des molécules deviennent suffisants pour rompre les liaisons impliquées dans la stabilisation des structures secondaires et tertiaires. Cette dénaturation est souvent suivie d'agrégation, la solubilité de la protéine dénaturée devenant inferieure à celle de la protéine native.

2.5. Aspect nutritionnel des protéines

2.5.1. Sources des protéines alimentaires

Les protéines alimentaires peuvent être d'origine animale, végétale ou microbienne.

- **Les protéines animales :** sont surtout présentes dans les viandes et les poissons ; mais elles existent aussi dans les œufs, le lait et produits dérivés (ainsi, les fromages sont des concentrés de protéines laitières).
- **Les protéines végétales :** sont essentiellement contenues dans les graines alimentaires, les céréales renferment moins de protéines (riz : 8 % en masse) que les graines légumineuses (haricots, lentilles, etc. : 25 % en masse) avec le cas particulier du soja (40 % en masse) ; les produits de base (farines, semoules) provenant du grain de blé conduisent à des denrées alimentaires (pain, pâtes, etc.) surtout amylacés mais contenant cependant des protéines végétales (Siret, 2002).
- **Protéines microbiennes :** Dans certains pays où l'alimentation ne couvre pas les besoins en acides aminées essentiels, des stratégies de correction sont nécessaires. Selon Rivière (1975), les enquêtes de la FAO et de l'OMS sur la malnutrition protéique dans les pays en voie de développement ont mis en évidence la gravité du déficit protéique dans l'alimentation humaine dans ces pays. Les formes graves de la maladie liée au manque d'azote (kwashiorkor) se traduisant par un poids de 30% inferieur au poids normal et un développement mental réduit, atteignent 0.1 à 0.8% du nombre des enfants âgés de moins de quatre ans, tandis que les formes modérées en touchent parfois 43% en Asie ; c'est pourquoi les protéines microbiennes ou Single Cell Protein, peuvent jouer un rôle important pour combler le déficit protéique.

2.5.2. Microorganismes producteurs

Quatre groupes d'organismes producteurs de protéines alimentaires :

- **Les levures cultivées sur substrats conventionnels** : les levures boulangères sont depuis longtemps utilisées comme additifs dans l'alimentation humaine et animale. Les levures sont les mieux tolérées, des volontaires humains ont pu manger 135g de levures sèches par jour durant 9 jours sans présenter de troubles gastro-intestinaux.

- **Les algues uni et multicellulaires :** les algues cyanophycées multicellulaires (spirulines) qui se développent spontanément à la surface de certains lacs en bicarbonates, rentrent depuis longtemps dans l'alimentation de certaines populations d'Afrique (Tchad) et d'Amérique (Mexiques).
- **Les bactéries :** une utilisation limitée de bactéries obtenues sur méthanol est faible dans l'alimentation animale.
- **Les champignons filamenteux :** sont fréquemment utilisés lors de technologies alimentaires traditionnelles, les japonais consomment des condiments à base de soja fermenté avec des souches d'*Aspergillus* et les indonésiens préparent de miso avec des souches de *Rhizopus arrhizus*. Les résultats ont été dans la plupart des cas décevants (Alias Linden, 1994).

Il est nécessaire après culture et récupération des cellules de les sécher afin d'obtenir une bonne qualité biochimique. Dans ce contexte, le séchage a comme actions : la destruction de la paroi cellulaire qui fait obstacle aux enzymes de la digestion. Tuer les cellules pour éviter leur développement après consommation (conduit à une fermentation dans l'intestin, libérer des produit toxiques). Réduire le taux d'acide nucléique surtout pour l'alimentation humaine.

Il faut noter que l'extraction d'un concentré protéique n'est valable que si le produit obtenu répond à une certaine qualité nutritionnelle et possède les propriétés fonctionnelles désirées. Par exemple, les parois cellulaires des levures en boulangerie n'affectent pas la qualité du pain si elles sont rajoutées (Cheftel et al., 1985)

2.5.3. Valeur nutritionnelle des protéines

Il est classiquement admis que la fonction nutritionnelle principale des protéines alimentaires est d'apporter à l'organisme des acides aminés et l'azote nécessaires aux synthèses. Selon Bernard et Carlier (1992), la notion de valeur nutritionnelle est plus large ; ainsi, pour posséder une bonne valeur nutritionnelle, il est nécessaire que les protéines alimentaires présentent :

- **De bonnes qualités organoleptiques :** ces qualités conditionnent l'appétence et sont modifiables par des traitements technologiques. Les protéines contribuent au goût et surtout à la texture du produit.
- **Une non toxicité :** il existe des protéines toxiques (toxines bactériennes, venins,….) ou anti-nutritionnelles (facteurs antitrypsiques, hémagglutinines,….) dont la

détoxification peut être obtenue par des traitements adaptés. Par ailleurs, les protéines peuvent subir au cours des traitements technologiques des modifications se traduisant par une diminution de leur valeur nutritionnelle ou par l'apparition des dérivées toxiques dont le devenir dans l'organisme est qualifié de transit métabolique.

- **Une composition équilibrée en acides aminés (besoins qualitatifs):** il est important que la protéine ait une composition correspondante aux besoins, en particulier en acides aminés indispensables.
- **Un apport satisfaisant (besoins quantitatifs):** ces besoins quantitatifs varient en fonction de nombreux paramètres tels que l'âge, l'état physiologique,…
- **Une digestibilité et une absorption satisfaisantes :** il existe des protéines pas ou peu digestibles (kératines,… .). Bien que la teneur en acides aminés essentiels est un indicateur primaire de la qualité de protéines, la vraie qualité dépend également de leur utilisation par l'organisme. La digestibilité des protéines est surtout modifiée par les traitements technologiques.

Les protéines de haute qualité sont celles qui contiennent tous les acides aminés essentiels selon les normes données par les organisations mondiales (FAO, UNU, WHO). Des stratégies de correction (complémentation des protéines entre elles, incorporation des acides aminés) sont appliquées pour améliorer la qualité alimentaire en cas de déficience en acides aminés essentiels.

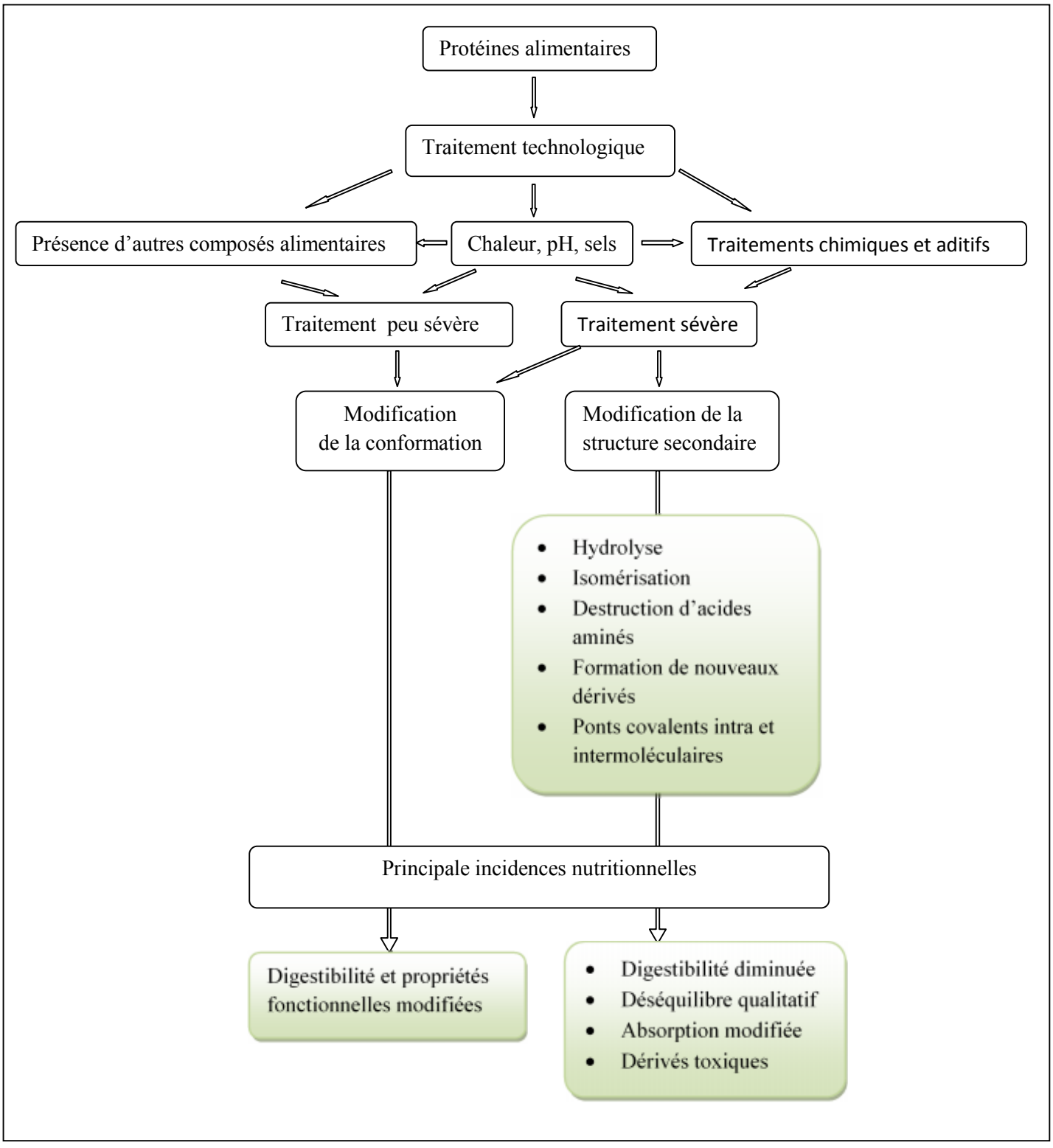


Schéma 04 : Traitements technologiques et leurs incidences sur les propriétés et la valeur nutritionnelle des protéines (Bernard et Carlier, 1992).

Chapitre3 :

Notions sur le séchage

3. Notions sur le séchage

Concentration, dessiccation, séchage, déshydratation ; des termes qui sont regroupés sous le terme « élimination d'eau », toutes ces opérations obéissent en effet, fondamentalement aux mêmes lois et leurs objectifs sont les mêmes (Mafart, 1996).

L'élimination d'eau d'un produit peut être obtenue par trois voies principales :

- Voie mécanique : Se réalise sans transfert thermique mais par simple transfert de quantité de mouvement. Exemples : centrifugation, filtration, égouttage, essorage, pressage, osmose inverse, … .
- Voie chimique : Méthodes extractives basées sur des interactions chimiques,physiques ou physiquo-chimiques, telle que la déshydratation imprégnée par immersion.
- Voie thermique : Se réalise par un transfert de masse qui nécessite au préalable une activation de l'eau par certaine quantité d'énergie apportée par un transfert de chaleur (Bimbenet et al., 2002 ; Mafart, 1996).

3.1. Définition

Par définition, le séchage (en terme proprement dit, au sens thermique) est l'opération ayant pour but d'éliminer, par évaporation ou sublimation, l'eau d'un corps humide (solide ou liquide), comme résultat de l'application de chauffage, le produit final obtenu étant toujours un solide (Brennan, 2006).

3.2. Objectifs

Le séchage est un procédé de conservation extrêmement ancien dont l'objectif principal est de convertir des denrées périssables en produits stabilisés par abaissement de l'activité de l'eau. i.e, diminuer la disponibilité d'eau libre, interdire ou minimiser toute activité de détérioration : microbienne, biochimique, chimique.

En dehors de son premier objectif, le séchage a pour intérêt de :

- Permettre ou faciliter la conservation des produits et amortir le caractère saisonnier de certaines activités agricoles.
- Diminuer la masse et le volume des aliments pour réduire leur encombrement et faciliter leurs emballages, transports.
- Donner une présentation, une structure ou une fonctionnalité particulière aux produits (purée, café lyophilisé, ..).

- Une stabilité et une standardisation du produit final (teneur en eau constante, produit fini homogène). L'abaissement de l'activité d'eau (a_w) par séchage permet d'obtenir une inhibition des phénomènes microbiens et une stabilité des produits.
- Les aliments séchés en général, ne nécessitent pas de réfrigération pour se conserver (Brennan, 2006 ; Bimbenet et al., 2002).

3.3. Problèmes techniques liées au séchage

Deux principaux problèmes techniques attachés au séchage, sont :

- Risques d'altération de la qualité nutritionnelle et surtout organoleptique et rhéologique du produit traité : le séchage peut entraîner des pertes de vitamines, d'arômes (plus volatils que l'eau), des réactions de brunissement, une insolubilisation plus ou moins marquée.
- Consommation énergétique considérable : le secteur industriel global consacre environ 20 % de sa consommation d'énergie aux opérations d'élimination d'eau, le secteur agroalimentaire consacre 60 % de sa consommation énergétique au séchage. La laiterie, la sucrerie et le travail des grains réunis consomment les deux tiers de l'énergie dépensée pour les IAA (Bimbenet et al., 2002 ; Fellows, 2000 ; Mafart, 1996).

3.4. Les produits séchés

Le séchage occupe des places et des fonctions très variées dans la chaîne agroalimentaire. De nombreux produits séchés sont cités dans le tableau ci-dessous (Bimbenet et al., 2002; Bimbenet, 1984).

Tableau 10: Principaux types de produits agricoles et alimentaires séchés (Bimbenet et al., 2002; Bimbenet, 1984).

Type de produits agroalimentaires	Exemples	Intérêts de séchage
Produits agricoles peu hydratés	Céréales, graines oléagineuses, etc.	stabilisation et/ou standardisation avant traitement industriel
Produits agricoles très hydratés	Lait et dérivés, fruits et légumes, plantes aromatiques et médicinales, viandes et poissons, œufs et dérivés, etc.	Allégement et stabilisation
Produits issus de transformation industrielle	Extraits de café et de thé, pâtes alimentaires, charcuterie, sauces, fromage, sucre, malt, caséine, gluten, etc	Stabilisation et présentation
Sous-produits industriels	Pulpes de betterave, drêches de	/

	brasserie, lactosérum,	

3.5. Théorie de séchage :

Tout produit humide doit être considéré schématiquement comme un système biphasé comprenant une certaine quantité d'eau absorbée par un substrat sec. La séparation des deux phases nécessite une quantité d'énergie minimale qui correspond à la rupture des forces liant les molécules d'eau au substrat sec, l'intensité de ces forces de liaisons est très variable suivant leur nature (Mafart, 1996).

3.6. Principe physique de séchage :

Deux mécanismes peuvent être mis en oeuvre pour évaporer l'eau d'un produit : l'ébullition ou l'entraînement.

3.6.1. Séchage par entraînement : lorsqu'un corps humide est placé dans un courant de gaz (air le plus souvent) suffisamment chaud et sec, il s'établit un écart de température et de pression partielle. Alors l'eau est évaporée sans ébullition sous l'effet de gradient de pression partielle de l'eau. Il s'agit d'un transfert de masse par gradient de pression de vapeur d'eau.

3.6.2. Séchage par ébullition : l'ébullition a lieu lorsque la température du produit est élevée (par conduction, par rayonnement, par de la vapeur d'eau surchauffée, par immersion dans de l'huile chaude) à une valeur telle que la pression de vapeur d'eau de ce produit est égale à la pression totale ambiante.

La température d'ébullition dépend de la pression régnant dans le sécheur (pression totale ambiante) elle est plus basse sous vide qu'à pression atmosphérique- cette propriété permet de sécher des produits oxydables en l'absence d'oxygène de l'air ou d'éliminer un solvant volatil, comestible en présence d'air, par ébullition dans une enceinte fermé (Liapi et Bruttini, 2006 ; Bimbenet et Bonazzi, 2003)

- Que le séchage s'opère par ébullition ou par entraînement, c'est la pression de vapeur d'eau du produit qui détermine les échanges entre l'air et ce produit.
- Chacun des deux mécanismes a des avantages et des inconvénients et a ses propres applications (Bimbenet, 1984).

3.7. Principes physiques des cinétiques de séchage

3.7.1. Transfert de matière et de chaleur

Le séchage est une opération complexe qui met en jeu des transferts couplés de matière (d'eau essentiellement) et de chaleur, accompagnés de modifications physiquo-chimiques et de structure du matériau (Bimbenet et Bonazzi, 2003).

⇨ Mode de transfert de chaleur

Le transfert de chaleur peut se faire par conduction, convection et rayonnement :

- **Conduction :** la chaleur bouge d'un corps solide chaud à un autre moins chaud qui le touche. Ce mode de séchage est très largement répandu, le gaz de séchage (communément de l'air ambiant) assurant simultanément les transferts de chaleur et de matière.
- **Convection :** le transfert thermique vers le produit se fait dans ce cas par contact du produit avec une paroi chauffée extérieurement à l'enceinte de séchage. L'air qui traverse les appareils n'a alors comme rôle que celui d'évacuer les buées issues de la vaporisation de l'eau contenue dans le produit.
- **Rayonnement :** l'énergie est apportée au produit à sécher par ondes électromagnétiques et rayonnement. C'est le mode de transport de la chaleur du soleil à la terre. Les sources chaudes émettrices peuvent être soit des émetteurs au gaz combustible, soit des émetteurs électriques (Schéma 05) Charreau et Cavaillé, 2003a).

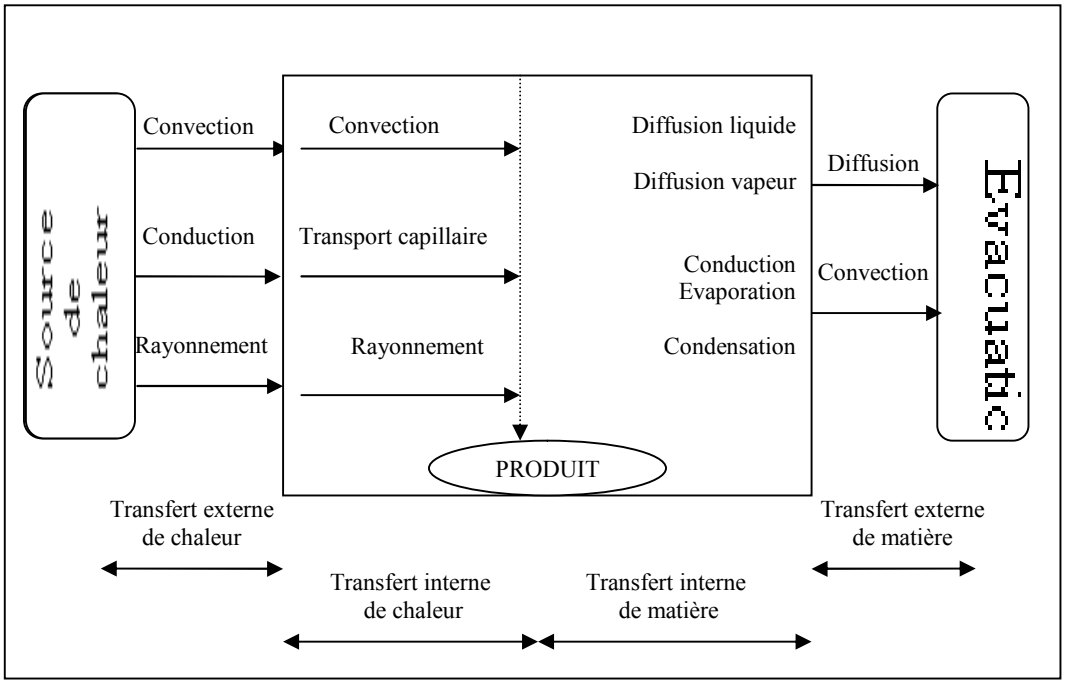


Schéma 05 : Représentation schématique des échanges de matière et de chaleur lors d'une opération de séchage (Bimbenet et al., 2002).

3.7.2. Etablissement des courbes de séchage (cinétique de séchage)

La teneur en eau d'un produit peut être exprimée par rapport à la masse totale de produit (*X'*) ou par rapport à la masse de matière sèche (*X*). Les relations liant X avec X' sont les suivantes :

$$X = \frac{X'}{1-X} \qquad X' = \frac{X}{1+X}$$

Avec, X : La teneur en eau base sèche, exprimée en kg d'eau/kg de matière sèche.

X': La teneur en eau base humide, exprimée en kg d'eau/kg de produit.

Il est toujours préférable de travailler sur la base de matière sèche, qui seule reste constante au cours de séchage.

Les expériences de laboratoires sont réalisées sur de petites quantités de produits en mesurant la perte de poids d'un produit au cours du temps de séchage en fonction de différents paramètres (vitesse, température, humidité).

L'évolution du séchage est représentée par les courbes a, b et c de la Figure 08:

- La courbe a : X=*f*(t). Il s'agit de peser en continu l'échantillon (masse ou teneur en eau X) en fonction du temps.
- La courbe b : dX/dt = *f'*(t) et s'obtient en dérivant la précédente, elle représente la vitesse de séchage, c'est-à-dire la quantité d'eau évaporée par unité de temps.
- La courbe c : dX/dt = *f'*(X) est un autre mode de représentation de la vitesse en fonction du taux d'humidité X.

Ces courbes de laboratoire représentent un double intérêt théorique et pratique :

- L'analyse du processus de transfert et des mécanismes de séchage.
- Le calcul du séchoir pilote ou industriel.

D'autre part, elles font apparaitre trois phases ou périodes qui montrent que la teneur en eau varie successivement de trois manières.

- Période 0 : mise en température du produit. Période transitoire de mise en régime de durée généralement courte.
- Période I : période de séchage à vitesse constante, le flux d'évaporation est constant, donc la teneur en eau diminue linéairement jusqu'à l'humidité critique X_{cr}. C'est une période d'évaporation superficielle d'eau libre.
- Période II : période de ralentissement. à partir de l'humidité critique $X_{cr,}$ le flux d'évaporation diminue progressivement jusqu'au moment où l'air et la matière sont en équilibre, la vitesse de séchage décroit et le séchage s'arrête alors.

Si l'on poursuit indéfiniment le séchage dans le même air, l'allure de séchage tendrait vers 0 et le produit vers une teneur en eau limite (X_{lim}).

La teneur en eau correspondant à la transition entre période I et II est appelée teneur en eau critique (X_{cr}) (Bimbenet et al., 2002 ; Bimbenet, 1984 ; Saravacos, 1995).

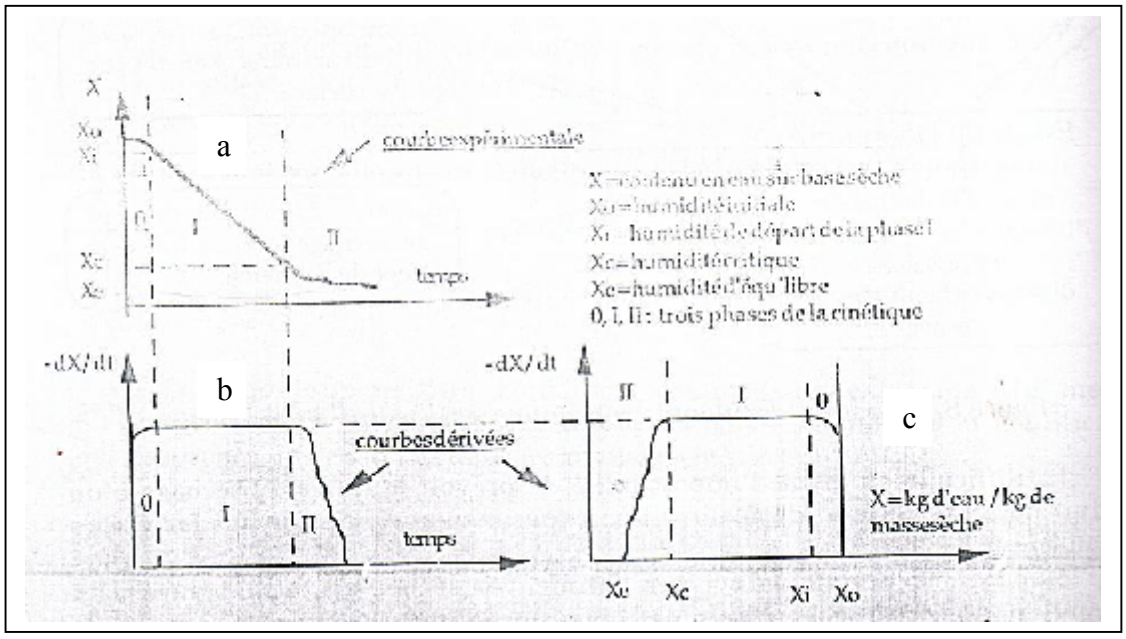


Figure 08 : Interprétation d'un essai de séchage (Bimbenet, 1984).

3.7.3. Détermination de la teneur en eau critique

La teneur en eau critique (X_{cr}) est généralement fonction des conditions opératoires du séchage. Dans le cas des produits biologiques, plusieurs auteurs (Belahmidi et al., 1993; Desmorieux et Moyne, 1992; Fornell, 1979) cité par Tallal et al (2001), relèvent qu'il est difficile de localiser une première phase de séchage et identifier la teneur en eau critique (X_{cr}) à la teneur en eau initial X_0.

3.8. Les facteurs qui augmentent la cinétique

- La diminution de l'humidité absolue de l'air de séchage.
- L'élévation de la température de l'air de séchage.
- L'augmentation du coefficient de transfert thermique par une augmentation de la vitesse de circulation de l'air.
- L'augmentation de la surface spécifique du produit, ce qui entraîne une augmentation de la surface d'échange. Pendant cette période, la nature du solide et sa structure interne (pores, interstices) n'interviennent pas.

3.9. Lyophilisation

Lyophilisation, cryodessiccation, cryodéshydratation ou cryosublimation, est une opération de déshydratation à basse température qui consiste à éliminer par sublimation la majeure partie de l'eau contenue dans un produit afin de le rendre stable à la température ambiante, et ainsi faciliter sa conservation.

La sublimation est un principe physique simple ; c'est le passage d'une substance de l'état solide à l'état gazeux directement, sans passer par l'état liquide (Figure 09) (Marin et René, 2000 ; Mafart, 1996)

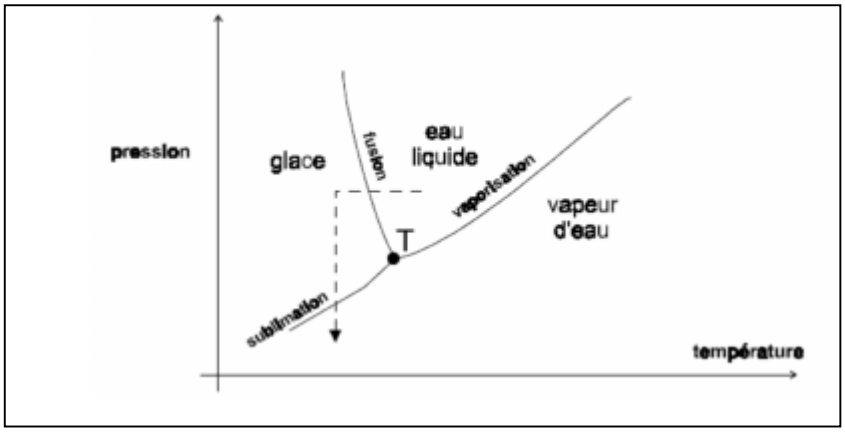


Figure 09: Diagramme de phase de l'eau (Mafart, 1996).

3.10. Avantages et inconvénients de la lyophilisation

La lyophilisation comporte de nombreux avantages par rapport aux autres procédés de séchage et de conservation :

- Les conditions du procédé (basse température, pression réduite, absence de phase liquide intermédiaire) éliminent une grande partie des facteurs de détérioration intervenant à des degrés divers dans les autres méthodes de dessiccation, ce qui permet de produire des produits finaux de haute qualité (forme, texture, qualité aromatique,…).

- Le produit sec obtenu a une texture poreuse, friable et possède un caractère « lyophile » ; une avidité pour l'eau en particulier, qui permet une reconstitution rapide et intégrale de la solution ou du pseudo solution initiale (Marin et René, 2000).
- La lyophilisation est utilisée comme moyen de stabilisation et de conservation des corps ou des mélanges fragiles de préparation aseptiques, de produits biologiques (Bernard, 1995).

En revanche,

- Le développement de la lyophilisation dans les industries agroalimentaires est limité par son coût qui est supérieur à celui du séchage. Les frais d'investissement et de fonctionnement sont également élevés (consommation énergétique de 1500 à 2500 kWh par tonne d'eau à éliminer). En d'autre terme, l'élimination d'un kg d'eau en lyophilisation requiert une dépense énergétique équivalente à celle de 8 kg de vapeur, tandis qu'un séchage classique n'en consomme qu'un seul (René et Genin, 1998 ; René et al., 1996).
- Il faut faire attention à la conservation de ces aliments lyophilisés, car ils captent facilement l'humidité de l'air, il faut souvent utiliser des emballages à atmosphère contrôlée.

3.11. Lyophilisateur

Contrairement à un séchoir, un lyophilisateur est un appareil complexe. Il doit être capable de produire du froid pour congeler et piéger l'eau, faire du vide pour sublimer l'eau, produire de la chaleur et transférer l'énergie au produit (Bernard, 1995).

3.12. Produits lyophilisés

La lyophilisation peut être utilisée pour la grande majorité des produits alimentaires. Voici une liste non exhaustive des principaux produits lyophilisés : café en poudre, cacao en poudre, certains fruits et légumes, sachets de soupes et de sauces, yaourts, plats cuisinés pour le plein air et pour les astronautes, herbes aromatiques, thé, jus de fruits et champignons.

Elle est largement utilisée en industrie pharmaceutique pour la déshydratation des solutions des produits thermolabiles (vaccins, antibiotiques etc.), de sang et des souches des micro-organismes (Marin et René, 2000).

3.13. Cinétique de la déshydratation par le Procédé de la lyophilisation

3.13.1. Principe physique :

Le procédé de la lyophilisation repose en pratique sur deux opérations chronologiques : la congélation et la déshydratation. La déshydratation recouvre deux principes physiques :

- Transfert de chaleur ;
- Transfert de matière.

3.13.2. Cycle de la lyophilisation

La lyophilisation est une opération essentiellement cyclique dont les phases sont les suivantes :

- La préparation du produit ;
- La congélation ou surgélation ;
- La lyophilisation proprement dite ou dessiccation sous vide :
    - La sublimation ou dessiccation primaire ;
    - La désorption ou dessiccation secondaire.
- Le cassage du vide (Mafart, 1996).

La préparation du produit : Des opérations sont effectuées sur le produit comme la préconcentration, la congélation, le blanchiment, le découpage broyage, l'immersion dans les solutions acidifiées,…. . D'une part, pour réduire au maximum la durée de séchage et par conséquent le coût énergétique de la lyophilisation, d'autre part, pour avoir une qualité satisfaisante de produit lyophilisé. Il est recommandé parfois d'omettre cette étape, dans le cas où ces prétraitements ne présentent aucun intérêt ou même altèrent la qualité de produit à lyophiliser.

La congélation : le produit doit être congelé, actuellement la congélation aura lieu dans le lyophilisateur (congélation interne) et non pas dans un congélateur externe.

La phase de sublimation proprement dite ou dessiccation primaire (dessiccation sous vide)**:** La sublimation est le passage de l'état solide à l'état gazeux, sans passer par l'état liquide. Ce changement d'état ne peut se faire que dans certaines conditions de pression et de température. Le point de convergence s'appelle "point triple" qui correspond à (0,01°C, 610 Pa).

On dessèche donc l'aliment ou le produit en le mettant sous vide. L'élimination de la vapeur d'eau s'effectue sous pression réduite, cette dernière étant maintenue d'une part par le piège à glace sur lequel la vapeur d'eau vient se condenser, au fur et à mesure de sont émission par le produit, et d'autre part, par le groupe de pompage sous vide.

La lyophilisation peut se faire à pression atmosphérique dans des conditions bien définies (séchage par entrainement). Le vide a l'intérêt de réduire le risque de fusion de la glace et d'accélérer le séchage.

La dessiccation primaire élimine environ 90 % de l'eau (cristaux formés par congélation) (Oetjen et Haseley, 2004).

La phase de désorption ou dessiccation secondaire : Cette dernière étape débute lorsque toute la glace est sublimée. Les aliments sont alors séchés. La température augmente spontanément une fois que toute l'eau a été sublimée. Cette phase consiste en une évaporation sous vide, à une température positive de 20°C à 60°C en gardant la même pression (Mafart, 1996).

La durée de désorption variant entre 2 et 6 heures permet d'amener une quantité d'eau résiduelle, non congelée du produit à une humidité entre 2 et 8 %. Cette eau correspond à la couche monomoléculaire (l'eau adsorbée ou emprisonnée dans les microcapillaires), elle doit être éliminée car elle serait nuisible à la bonne conservation des produits lyophilisés (Cheftel et al., 1979).

Le cassage du vide : Afin de ramener la chambre de séchage à pression atmosphérique, on ouvre une fuite permettant de combler progressivement le vide. Le produit lyophilisé ayant un fort pouvoir d'adsorption, il est préférable de casser le vide avec un gaz neutre (azote ou dioxyde de carbone). Le cassage de vide dure en moyenne 10 à 20 minutes (Mafart, 1996).

3.14. Appareillage et différents modèles de séchoirs utilisés

3.14.1. Classification

On peut classer les séchoirs en deux grandes catégories :

- Séchoirs solaires, qui englobent le séchoir solaire direct, le séchoir solaire indirect, le séchoir hybride (Dudez, 2002).
- Séchoirs industriels thermiques ; il existe une très grande diversité de séchoirs utilisés dans les I.A.A, qui peuvent être classés selon le principe de séchage (entraînement / ébullition), le mode d'apport de la chaleur, le temps de séjour du produit, le mode de manipulation du produit (solide, liquide, pâteux), etc., comme il est présenté au tableau 12 (Bimbenet et Bonazzi, 2003).

Les principaux équipements annexes qui accompagnent les séchoirs sont: filtres, ventilateurs, déshumidificateurs de l'air, réchauffeurs d'air (Charreau et Cavaillé, 2003a).

3.14.2. Choix du séchoir :

D'après Charreau et Cavaillé (2003a), la spécification technique d'un sécheur est fonction des :

- **Données relatives au produit à traiter :**
  - Nature du produit à sécher, formule chimique.
  - Débit du produit à l'entrée de l'appareil.
  - Masse volumique apparente et densité du produit à traiter.
  - Courbe de répartition granulométrique.
  - Capacité thermique du produit à traiter.
  - Présentation du produit : poudre, pâtes ou agrégats (Tableau 11).
  - Aptitude à la manutention.
  - Température maximale supportable par le produit.
  - Sensibilité du produit à l'oxydation.
  - Nature de l'agent de séchage : Air, azote, etc.
  - Données de sécurité : température d'auto inflammation, classe d'explosivité, etc.
- **Informations relatives au procédé de séchage :**
  - La température et l'humidité relative du gaz de séchage.
  - Le mode de génération de chaleur souhaité : vapeur, combustible gazeux, liquide ou solide, énergie électrique.
  - La nécessité de refroidir le produit après séchage.
  - La nature des produits pouvant être mis en contact avec le produit.
- **Informations relatives aux utilités :**
  - La pression de la vapeur.
  - La nature du combustible.
  - La tension d'électricité disponible.

Tableau 11: Relation entre la nature du produit et les procédés de séchage thermique (ADEME, 2006)

Technique	Produit liquide	Produit pâteux	Produit pulvérulent et granulaire	Produit fibreux	Produit plan	Produit en bande	Produit en forme et en morceaux
Atomisation	■						
Sécheur tunnel		■	■	■	■		■
Etuve séchage		■	■	■			
Tambour rotatif		■	■	■			
Sécheur Flash		■	■				
Lit fluidisé	■	■	■	■			
Sécheur à bandes						■	
Sécheur silo			■				
Cylindre chauffant	■	■				■	
Sécheur à palette /vis		■	■				
Lyophilisation	■	■	■	■	■		■

Tableau 12: Les principaux types de séchoir et leurs caractéristiques (Bimbenet et Bonazzi, 2003).

Types de séchoir	**Variantes**	**Températures de fonctionnement**	**Temps de séjour**	**Capacité de traitement**	**Applications**
Etuve	Chariots séchage + fumage	< 70-80 °C	30 min à qq heurs voire qq jours	Très variables selon les produits	Fruits, légumes, viandes, poisson
Tapis	Tapis agencés en série ou superposés	30 à 250 °C ajustable selon le produit, refroidissement en fin de séchage.	qq s à qq min voir qq heurs	1 à 50 kg eau h^{-1} . m^{-3} de séchoir	Fruits et légumes, herbes et plantes médicinales, gélatine, pulpe de betterave, biscuits
Tambour rotatif	Double ou triple passage	600 à 900 °C	10 à 60 min	60 à 80 kg eau h^{-1} m^{-3}	Pulpe de betterave, fibre de mais, pâtes alimentaires (autre que spaghettis), sucre
Séchoir pneumatique	Combinaison avec lit fluidisé ou tambour rotatif	Entrée: 100 à 350 °C Sortie: 70 à 120 °C	~ 1s	5 à 100 kg eau h^{-1} m^{-3} de séchoir (dépend de la taille des particules)	Poudre d'amidon, farine, protéines, pulpe de betterave
Lit fluidisé	Lit vibré lit à échangeurs immergés lit en fontaine	50 à 200 ° C	2 à 60 min	30 à 200 kg eau h^{-1} m^{-2}	Levures, caséine, légume, graines
Séchoirs par pulvérisation	Avec lit (vibro-) fluidisé pour agglomération avec lit fluidisé ou séchoirs flash pour post-séchage vapeur d'eau surchauffée à la place de l'air (rare)	Entrée: 100 à 600 °C Sortie: 60 à 200 °C	10 à 30s	1 à 30 kg eau h^{-1} m^{-3} de séchoir	Lait, café, thé, jus de fruits, levures
Cylindre chauffant	Bi-ou multicylindre	100 à 180 °C	3 à 30s	15 à 40 kg eau h^{-1} m^{-2} de contact	Flocons de pomme de terre, farine infantiles instantanées, soupes
Silo vertical	Dièdres persiennes grille intérieure	30 à 90 °C	6h à 4 jours	500 à 15000 kg eau h^{-1}	Mais, blé tendre, orge, riz, pois protéagineux

Lyophilisation	A chariot pulvérisation + lyophilisation (rare: café, thé, lait) à P_{atm}	Produit froid: - 10 à -40 °C T_{max} en surface: 30 à 90 °C P = 10 à 300 Pa	10 à 72 h (30 à 40 h, en général)	0.1 à 0,5 kg eau h^{-1} m^{-2} de plateau	Champignons morceau de fraises, oignons, herbes aromatiques, café

2éme Partie :

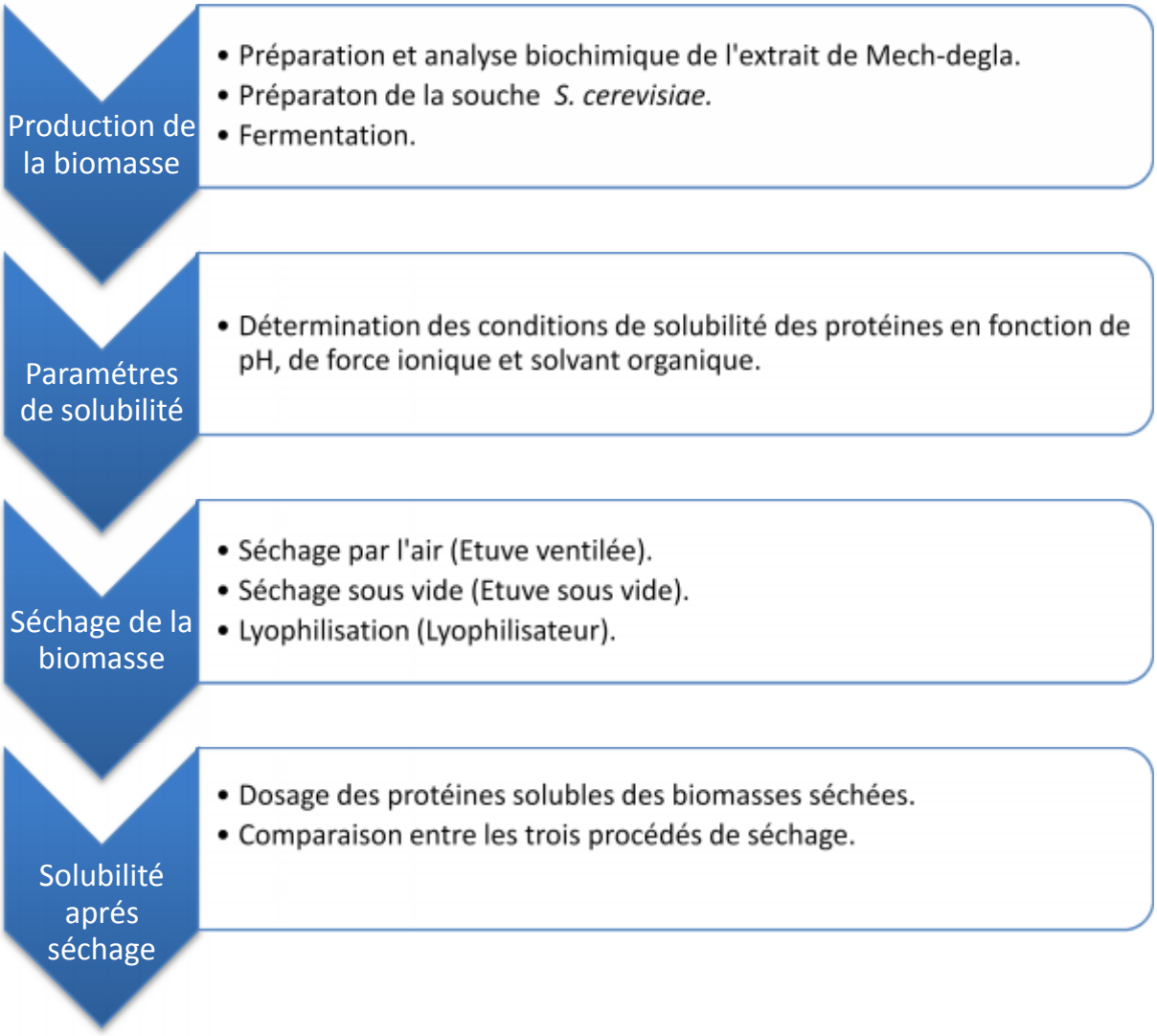
Etude expérimentale

Chapitre 4 :

Matériels et Méthodes

➢ **Diagramme du protocole expérimental**

La partie expérimentale comprend quatre volets comme il est présenté ci dessous:



➢ L'ensemble du travail est réalisé au sein des laboratoires de département d'agronomie, université de Batna, à savoir :

- Laboratoire de Fermentation et Biotechnologie.
- Laboratoire de Nutrition et Biochimie.
- Laboratoire de Toxicologie et Analyse Instrumentale.
- Laboratoire de Microbiologie Alimentaire.
- Laboratoire de Génie des Procédés.

4.1. Matériels

4.1.1. Matériel végétal

La datte sèche variété « Mech-degla » disponible au marché local, préparée sous forme d'extrait est utilisée pour la présente étude comme un substrat de culture (Figure 11). Ce choix a été orienté par :

- La disponibilité.
- La composition.
- La stabilité.
- Le coût.

Il faut noter que les échantillons de la datte « Mech-degla » utilisés dans le présent travail ont été acheté du marché local de Batna.

4.1.2. Matériel biologique

Le microorganisme utilisé pour la production de biomasse est la levure boulangère *Saccharomyces cerevisiae.* C'est une souche pure. Elle a été conservée à 4°C sur milieu Sabouraud inclinée. Des repiquages sont effectués chaque mois, pour permettre aux levures de garder leur vitalité (Figure 10). Selon Simon et Munier (1970), les principaux impératifs qui vont guider le choix de la souche sont les suivants :

- Croissance vigoureuse sur un milieu peu coûteux.
- Facilité de manipulation et de culture.
- Rendement important.
- Conservation de ses critères biochimiques, sans risque de variation génétique.
- Disponibilité.
- Résistance aux composées toxiques.
- Rarement pathogène.

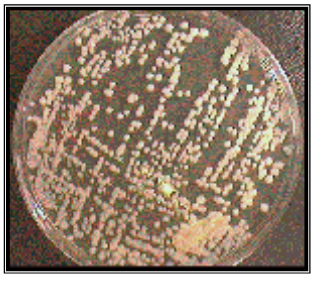


Figure 10 : Aspect culturale de *S. cerevisiae* sur milieu Sabouraud

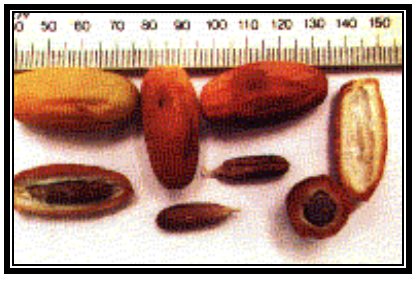


Figure 11 : La datte sèche variété Mech degla »

4.1.3. Principaux appareils utilisés

- Etuve ventilée, type Memmert.
- Bain - marie, type Memmert.
- Réfractomètre, type Abbe.
- Four à moufle, type MR 170.
- Fermenteur, type H.W.S.
- Centrifugeuse, type SIGMA-3K-20.
- Distillateur d'azote, type BUCHI-360.
- Balance de précision, type SARTORIUS.
- Microscope.
- Dessiccateur.
- Lyophilisateur, type PHYWE Christ.
- Etuve sous vide, type JOUAN étuve à vide Ev 50-Ev100.

4.2. Méthodes

4.2.1. Production de la biomasse (crème de levure)

4.2.1.1. Préparation de l'extrait de la datte « Mech-degla »

Pour obtenir l'extrait de datte variété "Mech-degla ", nous devons passer par les étapes suivantes:

- Eliminer les loges capillaires et les noyaux des dattes;
- Laver la pulpe fraîche de la datte obtenue à l'eau, couper la pulpe en petits morceaux;
- Ajouter 2.5 litres d'eau minérale à 1kg de la pulpe préparée;
- Porter le mélange au bain-marie à 70°C pendant 1 heure avec agitation de temps en temps;
- Après refroidissement, le mélange obtenu est ensuite filtré: une première filtration par des tamis (200µm et de 118µm) et une deuxième filtration sur sable (ou charbon actif) et papier filtre soue vide;
- Une fois l'extrait de datte est obtenu, il est stérilisé dans un autoclave à 120°C pendant 20 minutes;
- Conserver l'extrait de datte stérilisé à une température de 4°C (Figure 13) (Ould El-Hadj, 2001 ; Acourene et al., 2007).

4.2.1.2. Analyses biochimiques de l'extrait de la datte « Mech-degla »

4.2.1.2.1. Teneur en eau / matière sèche

- **Principe**

La dessiccation du produit est obtenue à température de 103±2°C, dans une étuve ventilée, à pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse d'échantillon constante, dont la teneur en eau est égale à la perte de masse subie dans les conditions de la mesure (Audigie, 1978).

- **Mode opératoire**
  - Sécher une capsule vide dans l'étuve durant 15 min à 103±2 °C ;
  - Tarer la capsule après refroidissement dans un dessiccateur ;
  - Peser 5 à 10 ml de l'échantillon dans la même capsule et la placer dans l'étuve réglée à 103±2 °C, pendant 3 heures ;
  - Retirer la capsule de l'étuve et la placer dans le dessiccateur. Après refroidissement, elle est pesée puis remise à l'étuve pendant 1 heure ;
  - L'opération est répétée jusqu'à ce que la différence entre deux pesées successives soit nulle.

- **Expression des résultats**

$$H\,\% = \frac{Mi - Mf}{P} X100$$

Avec ; **H% :** humidité ou teneur en eau ;

Mi : Masse initiale « avant dessiccation » (g);

Mf : Masse finale « après dessiccation » (g) ;

P : Masse de la prise d'essai (g).

La teneur en matière sèche est calculée selon la relation suivante :

Matière sèche% = 100% - Humidité%

4.2.1.2.2. La teneur en sucres totaux

La détermination quantitative des sucres est réalisée par la méthode de phénol (méthode Dubois).

- **Principe**

La méthode de Dubois permet de doser les sucres en utilisant le phénol et l'acide sulfurique concentré. En présence de ces deux réactifs, les sucres donnent une couleur jaune crème, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des sucres totaux. La densité optique est déterminée à 490 nm (Linden, 1981).

- **Mode opératoire**

Cette méthode consiste à préparer une gamme étalon à partir d'une solution de glucose à 0,02%. Les données sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 13 : La gamme étalon pour le dosage des sucres totaux.

Volume de la solution de glucose (ml)	0	0.4	0.8	1.2	1.6	2
Eau distillée (ml)	2	1.6	1.2	0.8	0.4	0
Concentration (µg/ml)	0	40	80	120	160	200
Densité optique (nm)						

- Introduire dans un tube à essai 2 ml de l'extrait de « Mech-degla » après dilution (400fois) de façon à voir une concentration en sucres au voisinage de 0,02%.
- Ajouter à la gamme préparée et les tubes d'échantillons:
  - 0.05 ml d'une solution de phénol à 80 %;
  - 3 ml d'acide sulfurique concentré.
- Mélanger lentement et légèrement.
- Laisser la réaction se faire à une température de 25 à 30 °C pendant 15 min, puis refroidir les tubes pour arrêter la réaction.
- Faire les lectures dans un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde égale à 490 nm.

4.2.1.2.3. La teneur en sucres réducteurs

Le dosage des sucres réducteurs est réalisé par la méthode de Fehling.

- **Principe**

Cette méthode est basée sur la réduction des ions de cuivre de la liqueur de Fehling par les sucres réducteurs contenus dans l'échantillon en donnant un précipité rouge brique. La réaction se fait en ébullition et agitation continue (Navarre, 1974).

- **Conditions de dosage**

Pour que le dosage se réalise correctement, il faut que:

- L'échantillon soit privé de toutes les autres matières réductrices.
- L'échantillon soit dilué d'une façon que la quantité des sucres soit inférieure à 5 %.

- **Mode opératoire**

1. Préparation de l'échantillon et la dilution

Diluer l'extrait de la datte, de façon que la quantité des sucres soit inférieure à 5 %.

2. Réduction de la liqueur de Fehling

Dans une première étape, étalonner la liqueur de Fehling à l'aide d'une solution de glucose à 5 %. Ensuite, déterminer la quantité des sucres réducteurs contenue dans le filtrat dilué.

2.1. Etalonnage

Introduire exactement dans un erlenmeyer:

- 10 ml de solution A;
- 20 ml de solution B;
- 30 ml d'eau distillée.

Porter à ébullition et agitation. En même temps, verser par très faible quantité (goutte à goutte) la solution de glucose à 5% contenue dans une burette graduée, jusqu'à la décoloration complète de la liqueur de Fehling et la formation d'un précipité Cu_2O rouge.

Soit "*n*" le nombre de ml de la solution de glucose à 5% utilisée.

2.2. Dosage

Remplacer la solution de glucose par le filtrat dilué.

Introduire dans un erlenmeyer:

- 10 ml de solution A;
- 20 ml de solution B;

- 30 ml d'eau distillée.

Opérer comme précédemment**.** Soit *"ń"* le nombre de ml de filtrat utilisé pour entraîner la décoloration de la liqueur de Fehling.

- **Expression des résultats**

La quantité des sucres contenue dans un 1litre de filtrat sera de:

$$\frac{5 \times n \times f}{n'}$$

Où, f est le facteur de dilution.

4.2.1.2.4. La teneur en saccharose

La teneur en saccharose est obtenue par la différence entre la teneur en sucres totaux et les sucres réducteurs présents dans l'échantillon (Acourene et Tama, 2001) :

% Saccharose = (% Sucres totaux – % Sucres réducteurs) × (0.95)

4.2.1.2.5. La teneur en protéines totales

La teneur en protéines totales est obtenue en multipliant la teneur en azote total par le facteur de conversion 6,25. Cela revient à considérer que toutes les protéines sont constituées de 16 % d'azote.

En fait, la teneur des protéines en azote est comprise dans une plage allant de 16 à 18 % d'azote. C'est pour cette raison que l'on utilise parfois des facteurs multiplicatifs différents de 6,25 et en général plus faibles (Costes, 1981). Les résultats sont evalués sous la forme suivante :

% protéines brute = % N × 6,25

Dans la présente étude, que ce soit pour la datte ou pour la biomasse de *S. cerevisiae*, le facteur de conversion est 6,25 (Revuz, 1979).

- **Principe**

L'azote total est dosé par volumétrie après minéralisation selon la méthode de Kjeldhal. Ce dosage est basé sur la transformation de l'azote organique en sulfate d'ammonium sous l'action de l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur, et dosé après déplacement en milieu alcalin et distillation sous forme d'ammonium (Lecoq, 1965).

- **Réactifs**
  - Acide sulfurique (H_2SO_4) pur ;
  - Catalyseur (sulfate de cuivre + sulfate de potassium) ;
  - Acide borique à 4 % ;
  - Indicateur coloré (mélange de bleu méthylène et rouge méthylène) ;
  - La soude (NaOH) 4N ;
  - Acide sulfurique (H_2SO_4) à 0,05 N pour la titration.

- **Mode opératoire**

1. La minéralisation

  - Introduire dans un matras de minéralisation, (5ml) d'échantillon ;
  - Ajouter une pince de catalyseur ;
  - Ajouter 20 à 25 ml d'acide sulfurique pur ;
  - Utiliser un chauffage progressif, d'abord une attaque au froid pendant 15 min jusqu'à apparition de vapeur blanche d'anhydride sulfurique, puis le chauffage est rendu plus énergique (attaque à chaud) pendant 4 à 5 heures ;
  - Après décoloration complète, la solution est refroidie et complétée à 100 ml avec l'eau distillée ;
  - Filtrer la solution minéralisée dans des fioles à l'aide du papier filtre.

2. La distillation

  - Prélever 20 ml de la solution minéralisée ;
  - Ajouter 20 ml de soude, ensuite distiller ;
  - Le dégagement d'ammoniac est récupéré dans une solution d'acide ; borique contenant l'indicateur coloré ;
  - L'excès d'ammoniac est dosé par l'acide sulfurique 0,05 N.

- **Expression des résultats**

La teneur en azote total est déterminée par la formule suivante :

$$N\% = V/V' \times (n - n') \times 0{,}05 \times 1{,}4 / P$$

Avec ;

V: Solution minéralisée et complétée à 100 ml;

V': Volume de la soude ajoutée (20 ml) ;

n : Quantité d'acide sulfurique lue après titration (ml);

n' : Quantité d'acide sulfurique pour la titration du témoin (0,2 ml);

0,05 : Normalité d'acide sulfurique ;

P : Poids de la prise d'échantillon (g).

4.2.1.2.6. Dosage des cendres

- **Principe**

Le dosage des cendres est basé sur la destruction de toute matière organique sous l'effet de la température élevée (500 °C) (Linden, 1981).

- **Mode opératoire**
  - Peser 0,5 - 1 g de matière sèche dans une capsule préalablement tarée ;
  - Faire passer la capsule au four à température de 500°C pendant 5 heures ;
  - Après refroidissement retirer la capsule.

- **Expression des résultats**

$$MO\% = \frac{Mi - Mf}{P} \times 100$$

Soit :

MO% : Teneur en matière organique.

M_i: Masse initiale « avant incinération » (g).

M_f : Masse finale « après incinération » (g).

P : Masse de la prise d'essai (g).

La teneur en cendre est exprimée comme suit : **% Cendres = 100 % - MO %.**

4.2.2. Préparation de la souche *S. cerevisiae*

4.2.2.1. Réactivation de la souche

La souche de levures *Saccharomyces cerevisiae* entretenue sur milieu Sabouraud doit subir préalablement une réactivation sur milieu de préculture « Carlsberg » :

- La souche entretenue est ensemencée dans 100 ml de milieu Carlsberg ,

- après homogénisation, elle est incubée à 30° C pendant 24 heures (Acourene et al., 2007 ; Galzy et Guiraud,1980).

4.2.2.2. Préparation de l'inoculum (préfermentation)

La phase de préparation de l'inoculum est la plus importante dans tout le processus de fermentation. Elle a pour but d'adapter la souche de levure au milieu de culture utilisé.

- Le milieu de préfermentation composé de :
  - Extrait de datte à 20 % …… 250 ml ;
  - Solution minérale ……. 250 ml.

Le fermenteur et les milieux de culture (Figure 12) doivent être stérilisés avant le démarrage de la culture.

- Le milieu de préfermentation et la souche incubée au milieu Carlsberg sont introduits au fermenteur.
- L'incubation se fait à 30°C pendant 15 heures (à température 30°C et pH 4.5), c'est à partir de cet inoculum que commence la fermentation, il est donc très important de n'avoir aucune contamination microbienne à ce stade (Tan et al., 2003).

4.2.2.3. Fermentation proprement dite

- **Choix de procédé**

Le procédé de fermentation appliqué est le Fed-batch, il s'agit d'une culture discontinue sans soutirage, alimentée en continu par un milieu nutritif (ceci permet d'éviter les problèmes d'inhibition liés par exemple à la toxicité d'un substrat), ce qui permet de maintenir la concentration de celui-ci constante. La période de croissance exponentielle est ainsi prolongée.

La production de levures de boulangerie *S. cerevisiae,* est un exemple type d'application du mode de fermentation "Fed-batch". Avec le procédé batch la concentration trop élevée de sucre dans le milieu induirait le mécanisme fermentatif de production d'éthanol à la place d'une multiplication des cellules. D'un autre côté, pour le procédé Fed-batch, l'adjonction de sucre durant la phase exponentielle de croissance permet d'éviter ce changement indésirable de métabolites (Bauer et Reatz, 1992 ; Scriban, 1999 ; Guiraud, 1996 ; Baurat, 1992). Selon Baurat (1992), la culture en Fed-batch est

utilisée dans l'industrie lorsqu'on veut optimiser l'apport d'un nutriment susceptible d'avoir un effet rédacteur sur la croissance.

- **Déroulement de la fermentation**

Dans la cuve de fermenteur aérée par injection d'air, on ajoute chaque heure au milieu de préfermentation le milieu nutritif (l'extrait de datte à 20 % + la solution minérale), de façon que la concentration en milieu de fermentation ne dépasse pas 5 %, pour avoir le meilleur rendement.

Au cours du processus de fermentation, les conditions de la conduite de la fermentation sont maintenues constantes. Où:

- Le pH est entre 4,5 et 5,5;
- La température est de 30°C;
- L'aération est de 150 litre/heure (Albers et al., 2003 ; Tan et al ., 2003).

En raison de son meilleur rendement énergétique, la voie respiratoire est utilisée préférentiellement par la levure (Loïez, 2003).

4.2.2.4. Evaluation de la croissance de la biomasse pendant la culture

Des prélèvements se font chaque 2 heures d'une quantité de 25ml du milieu de fermentation, pour l'étude de l'évolution de la croissance de la souche et sa pureté par l'examen microscopique qui permet de déterminer les caractères morphologiques et le mode de reproduction de la levure *S. cerevisiae*. L'évolution de la masse cellulaire est déterminée par la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde égale à 620 nm (Leclerc et al., 1995).

Au cours de cette étude, nous nous somme intéressés uniquement au rendement obtenu et au taux de croissance.

4.2.2.4.1. Détermination du taux de croissance

- **Définition**

Le taux de croissance représente le nombre de division des cellules de la levure par unité de temps. Il est déterminé graphiquement par la pente de la section linéaire de la phase exponentielle (qui correspond au taux maximum, soit en nombre, soit en quantité de toutes les cellules viables) (Baurat, 1992).

⇨ La crème de levure ou dite biomasse des prélèvements est séparée par centrifugation à 5000 rpm dans une centrifugeuse pendant 20 min ;

⇨ Le culot obtenu est pesé pour déterminer la quantité de la crème de levure (Tan et al., 2003).

4.2.2.5. Séparation (récolte) de la biomasse totale

A la fin de la fermentation, après la phase de maturation on sépare la biomasse totale par centrifugation à 5000 rpm pendant 20 minutes (Tan et al., 2003). Le culot est récupéré et lavé 3 fois par l'eau physiologique, il servira ensuite à déterminer le poids sec. La fraction de surnageant est récupérée à part pour déterminer la quantité de sucres résiduels (Figure 14) (Ould El-Hadj et al., 2006).

4.2.2.6. Détermination de la quantité de sucre consommé

La quantité totale de sucre consommé est exprimée comme suit :

La quantité totale des sucres apportés - la quantité des sucres résiduels

⇨ La quantité de sucre apportée est calculée au fur et à mesure durant la culture.

⇨ La quantité de sucres résiduels est déterminée par la méthode réfractomètrique.

- **Principe**

On mesure, à la température de 20 °C, l'indice de réfraction de l'échantillon préparé. Puis la conversion de cet indice en résidu sec soluble, appelé conventionnellement : degré Brix (AFNOR, 1986).

- **Mode opératoire**

- Etalonner préalablement le réfractomètre à l'aide de l'eau distillée ;
- Prélever quelques gouttes de surnageant avec une pipette ;
- Mettre une ou deux gouttes entre les deux prismes du réfractomètre ;
- Après, on procède à lecture du degré brix.

- **Expression des résultats**

$$\text{Sucre totaux (\%)} = \left[\frac{\text{Brix} \times 4.5}{4} - 2\right] \times f$$

f : facteur de dilution.

4.2.2.7. Calcul de la biomasse produite

La biomasse récoltée est exprimée par le rapport de la masse de biomasse récoltée et le volume total du milieu de fermentation (Rivière, 1970) :

$$\text{Biomasse } \% = \frac{\text{Quantité de la biomasse totale récoltée (g)}}{\text{Volume total du milieu de fermentation (ml)}} \times 100$$

4.2.2.8. Calcul du rendement pondéral

Le rendement pondéral est déterminé par le rapport entre la quantité de biomasse formée en poids sec à la fin de la phase de croissance et la quantité de sucre consommé (Galzy et Guiraud, 1980 ; Rivière, 1975 ; Monod, 1942) :

$$\text{Rendement pondéral} = \frac{\text{Quantité de biomasse en matière sèche}}{\text{Quantité de sucre consommé}} \times 100$$

4.2.2.9. Analyses physico-chimique de la biomasse

4.2.2.9.1. La teneur en eau (voir le protocole § 4.2.1.2.1).

4.2.2.9.2. La teneur en protéine (voir le protocole § 4.2.1.2.5).

4.2.2.9.3. La teneur en cendre (voir le protocole § 4.2.1.2.6).

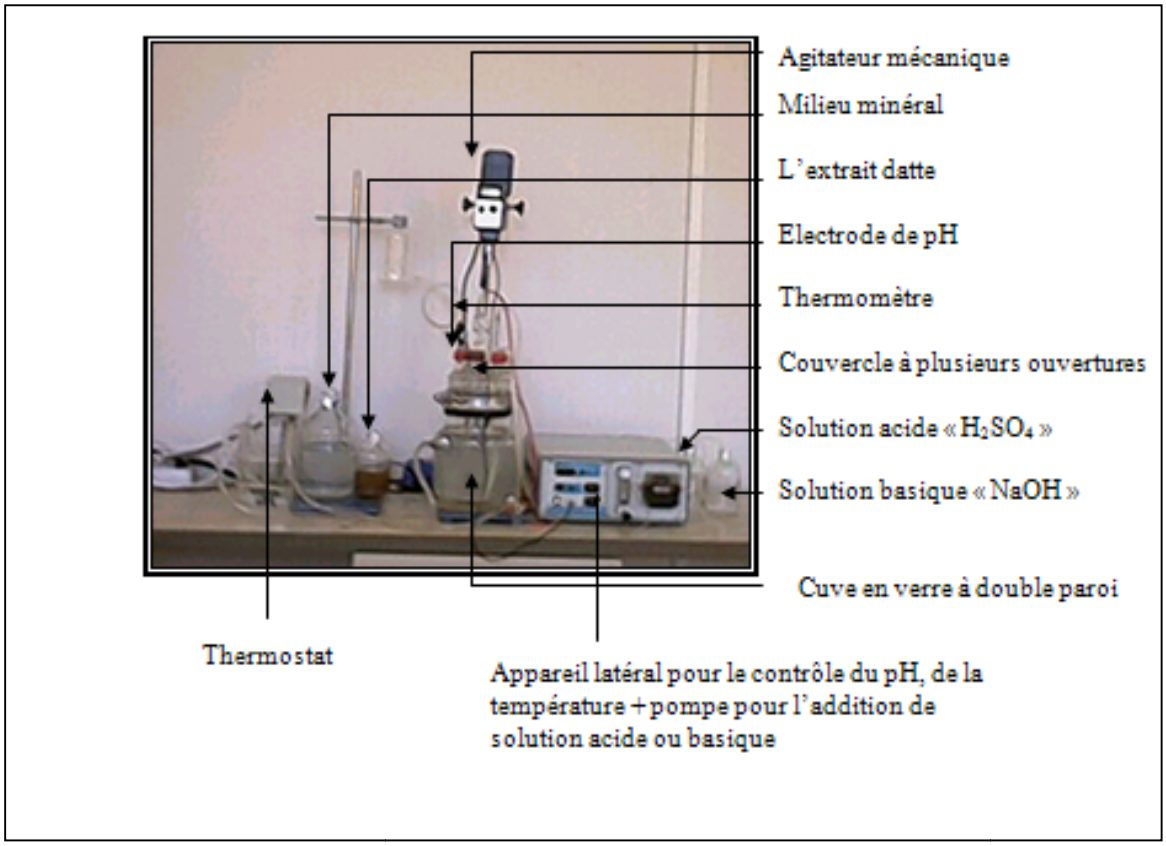


Figure 12 : Description du fermenteur type H.W.S.

Figure 13 : Extrait de la datte « Mech degla ».

Figure 14: La biomasse produite de la souche *S. cerevisiae.*

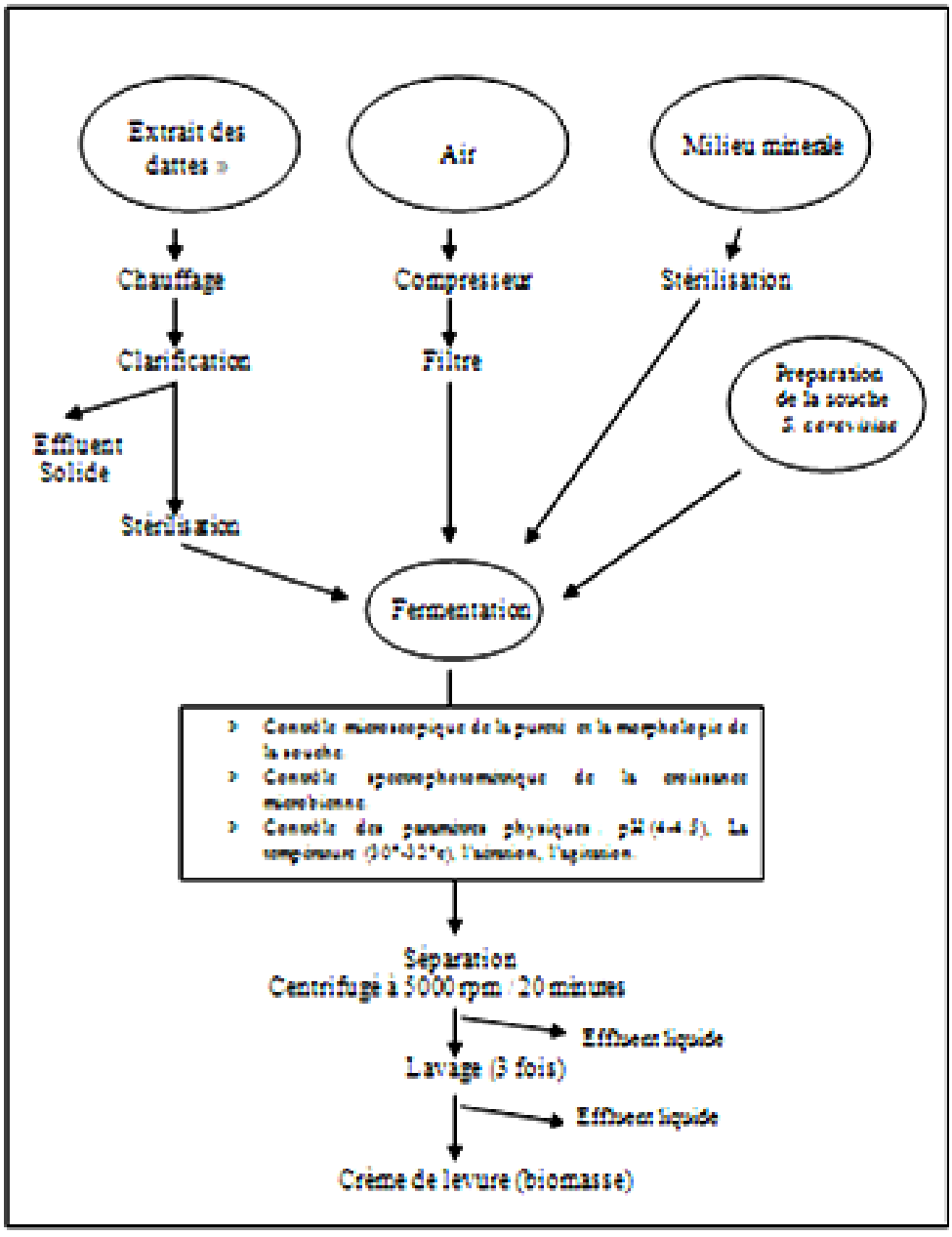


Schéma 06 : Diagramme de la production de la biomasse de *S. cerevisiae*.

4.2.3. Détermination des conditions de solubilité des protéines de la biomasse

4.2.3.1. Profil de la solubilité en fonction de pH

- Préparer une solution de biomasse à 2 % (Peser 2 g de la biomasse et compléter à 100 ml d'eau distillée) ;
- Ajuster la solution obtenue dans un interval de pH 1 à 12 par une solution d'HCl (0,1M) ou de NaOH (0,1M), de façon à obtenir 12 solutions à différent pH.
- Agiter mécaniquement les solutions dans une chambre à 25°C pendant 1 heure ;
- Centrifuger les solutions à 1260×g / 30min ;
- Récupérer à part le surnageant de chaque solution;
- Déterminer par la méthode de Kjeldahl (voir le protocole § 4.2.1.2.5) les protéines contenues dans le surnageant (Yu et al., 2007 ; Lee et al., 1992).

➢ **Expression des résultats**

La teneur en protéines solubles (PS) est exprimée, par la formule suivante :

$$PS = \frac{\%\ \text{protéine de surnageant}}{\%\ \text{protéine totale de l'essai}} \times 100$$

4.2.3.2. Profil de la solubilité en fonction de la force ionique

- Préparer une solution de biomasse à 2 %;
- Ajuster la solution avec un gradient de concentration en NaCl (0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2 et 3M), qui est définie par la force ionique « μ », exprimée en Molarité (M),

$$\mu = \frac{1}{2} \sum c_i z_i^2$$

Où, ci : concentration de chaque espèce ionique i (M).

zi : nombre de la valence des ions en solution.

- Agiter mécaniquement les solutions à différentes forces ioniques, dans une chambre à 25°C pendant 1 heure ;
- Centrifuger les solutions à 1260×g / 30min ;
- Récupérer à part le surnageant de chaque solution;
- Déterminer par la méthode de Kjeldahl les protéines contenues dans le surnageant (Khalid et al., 2003 ; Abd El-aal et al., 1986).

- **Expression des résultats**

La teneur en protéines solubles (PS) est exprimée, par la formule suivante :

$$PS = \frac{\%\ \text{protéine de surnageant}}{\%\ \text{protéine totale de l'essai}} \times 100$$

4.2.3.3. Profil de la solubilité en fonction de la force ionique à pH calculé

On procède par le protocole ci-dessus (§4.3.1.1), avec un ajustement au pH correspondant à la valeur maximale des protéines solubles déterminées précédemment (§4.3.1.2) (Alias et Linden, 1994 ; Scopes, 1994 ; Abd El-aal et al., 1986).

4.2.3.4. Profil de la solubilité dans le solvant organique (Ethanol à 70%)

- Compléter 2g de la biomasse à 50 ml d'éthanol à 70%,
- Agiter mécaniquement la solution, à la température de la chambre (25°C).
- Centrifuger la solution à 165O × g/20min,
- Récupérer le surnageant et déterminer la teneur en protéines par la méthode de Kjeldahl. Expression des résultats :

$$PS = \frac{\%\ \text{protéine de surnageant}}{\%\ \text{protéine totale de l'essai}} \times 100$$

4.2.4.. Séchage de la biomasse récoltée

Selon Cheftel et Cheftel (1976), les procédés de déshydratation peuvent être classés en trois catégories principales:

- **Séchage par l'air,** ou par contact, à la pression atmosphérique. La chaleur est apportée à l'aliment soit par de l'air chaud (convection) soit par une surface chaude (conduction). Dans tous les cas, la vapeur d'eau formée se mélange à l'air, qui constitue le milieu servant à enlever la vapeur.

- **Séchage sous vide,** le procédé est avantageux par le fait que l'évaporation d'eau est facilitée à pression réduite. Le transfert de chaleur est effectué soit par conduction, soit par rayonnement. La vapeur d'eau est généralement enlevée par condensation à l'état liquide ou par aspiration (éjecteur de vapeur).

- **Cryo-dessiccation (lyophilisation),** l'aliment est d'abord congelé, puis la glace qui s'y est formée est sublimée (transformée directement en vapeur d'eau) dans des conditions appropriées de température et de pression. La vapeur d'eau est éliminée le plus souvent par condensation à l'état de glace. Ce procédé en « phase solide » préserve particulièrement bien la structure de l'aliment.

Le tableau 14 décrit le protocole expérimental de séchage appliqué sur notre biomasse :

4.2.4.1. Mode opératoire

Pour les trois procédés :

- Etaler 5 g de la biomasse dans une assiette en inox (acier inoxydable) ;
- L'humidité initiale de la biomasse est de 80.14±0.37;
- Des pesés sont effectuées d'une façon équidistante au cours de séchage. Arrivant à la pesée correspondante à l'humidité recherchée l'opération est arrêtée et fait sortir l'échantillon.
- L'humidité finale recherchée (humidité résiduelle) est de 7.5 à 8 % (Revuz, 1979 ; Simon et Munier, 1970)
- Le nombre de répétition est trois pour chaque essai.

Procédés de séchage	**Appareil** (de laboratoire)	**Paramètres**	**Références**
Séchage ventilé (ou à l'air)	▸ **Appareil:** Etuve ventilée. ▸ **Type :** Mammert. ▸ **Principe :** Consiste à évaporer l'eau en soumettant les échantillons à l'effet de la chaleur (température),	▸ **Température :** sept températures sont appliquées (sept biomasses séchées): 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110°C. ▸ **Pression atmosphérique :** assurée par une ventilation L'échantillon est met dans l'étuve puis la température est réglée, le séchage s'effectue.	▸ **Alias et Linden (1994) et Linden et Lorient (1994) :** une suspension de levure est traitée à haute température de 70°C à 110°C (ce traitement préserve la qualité des protéines).
Séchage sous vide	▸ **Appareil :** Etuve sous vide. ▸ **Type :** JOUAN Etuve à vide EV 50 - EV 100. ▸ **Principe:** Consiste à évaporer l eau en soumettant les échantillons à l'effet combiné de la chaleur et du vide.	▸ **Couples température (T) -pression(p) :** six couples sont appliqués (six biomasse séchés): T= 25 °C / P= 70 cm Hg T= 35 °C / P= 70 cm Hg T= 45 °C / P= 70 cm Hg T= 25 °C / P= 35 cm Hg T= 35 °C / P= 35 cm Hg T= 45 °C / P= 35 cm Hg Mettre l'étuve, ainsi que la pompe sous vide et le system de chauffage sous tension, régler le vide et la température à la valeur désirée. Le produit séché est récupéré après cassage de vide.	▸ **Cheftel et Cheftel (1976) :** Le séchage sous vide est effectué avec un vide (pression absolue de 0,5-70 torr) à une température inferieure à 45°C et en absence d'air. ▸ Les valeurs des paramètres appliqués sont inspirées du travail de Kompany et al. (1990).
lyophilisation	▸ **Appareil :** lyophilisateur ▸ **Type :** PHYWE Christ. ▸ **Principe :** Consiste à sublimer l'eau en soumettant les échantillons à l'action de la température et du vide.	▸ **Cycle de lyophilisation :** Déposer l'échantillon dans l'appareil, la température du condenseur est réglée à -45°C. La température du produit congelé est maintenue entre -30 et -40 (congélation). Puis la dessiccation primaire est effectuée pendant 6 heures à une pression de 0.05mbar, la température du produit s'élève progressivement jusqu'à 25°C, à cette température et sous la même pression s'effectue la dessiccation secondaire pendant 2 heures. La lyophilisation est terminée suite à un cassage de vide (remise à la pression atmosphérique).	▸ Le cycle appliqué dans le présent travail est inspiré des travaux de **Zhongshui et al. (2006), Jovanovic et al. (2006), Cheftel et Cheftel (1976).**

4.2.4.2. Appareillage

4.2.4.2.1. Etuve ventilée

- **Performance**
  - La température de la cuve est contrôlée par le biais d'un régulateur électronique.
  - La température maximale est 300°C.
  - L'air frais est assuré par un ventilateur intégré à l'intérieur de l'étuve.

- **Avantage**
  - La facilité de manipulation et d'utilisation ;
  - Faible consommation d'énergie ;

4.2.4.2.2. Etuve à vide

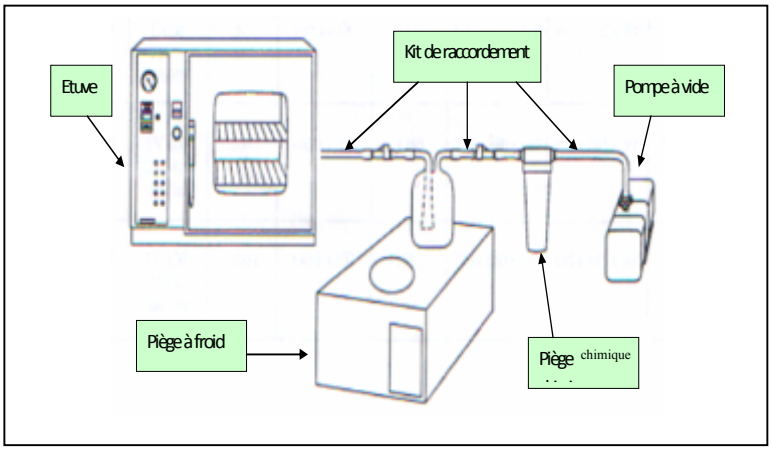


Figure 15 : Configuration de l'étuve sous vide JOUAN.

- **Performance**
  - La température de la cuve est contrôlée par le biais d'un régulateur électronique et un manomètre indique la pression interne de la chambre.
  - La plage de température est de +20 à +200°C, La pression de travail est située entre 0,1 et 10 mbar (0 cmHg à 76 cmHg).
  - Une pompe à vide externe est entièrement commandée par le biais du panneau de contrôle de l'étuve.
  - La pression dans la chambre est contrôlée par un régulateur de débit permettant à tout instant de régler le vide et de créer un flux permettant d'accélérer l'évacuation des vapeurs hors de la chambre.

- **Avantage**
  - L'étuve à vide est destinée au séchage des produits thermosensibles, facilement oxydables, ou des composés en présence des solvants.

  - Un vide suffisant permet l'ébullition de l'eau à basse température (< 45°C) et en absence d'air.
  - La diffusion interne de l'eau se fait plus rapidement sous forme de vapeur.
  - L'absence d'air est favorable aux produits sensibles à l'oxydation.

4.2.4.2.3. Lyophilisateur

- **Description**
  - Une chambre de séchage dans laquelle le produit est disposé sur une série de plateaux horizontaux sur lesquels sont incorporées des résistances représentant la source de chaleur.
  - Piège à glace sur lequel la vapeur d'eau émise par le produit vient se condenser.
  - Pompe sous vide assure une basse pression à l'intérieur de l'appareillage durant toute la lyophilisation.
  - A l'extérieur de l'appareil, une armoire de contrôle est placée. Elle permet de contrôler à tout instant les paramètres de lyophilisation.
- **Performance**

C'est un lyophilisateur de congélateur interne :

- La température minimale de condenseur (système de froid) est -80°C.
- La température maximale de chauffage est +80°C.
- Un vide maximal de 0.001mbar.

4.2.4.3. Cinétique de séchage

De nombreux auteurs se sont attachés à modéliser le processus de séchage d'un produit donné, utilisant des approches plus ou moins physiques. Il s'agit le plus souvent de décrire les cinétiques obtenues expérimentalement, dans le but de tester l'influence des variables opératoires et d'extrapoler les résultats à une installation industrielle.

- **Détermination des courbes expérimentales de séchage ventilé et sous vide X=*f*(t)**

A l'aide des masses mesurées du produit on peut calculer les teneurs en eau en base sèche par la formule :

$$X - \frac{m - MS}{MS}$$

Avec **;**

- X : teneur en eau en base sèche (kg d'eau/kg de matière sèche).
- m : masse du produit en (g).
- MS : masse de matière sèche (masse totale de départ - masse d'eau de départ, calculée à partir de la teneur en eau en base humide) (Voir annexes 2).

- **Modélisation des courbes expérimentales X=*f*(t) :**

Graphiquement les courbes suivent l'équation du type : $X = X_0 e^{-kt}$

Avec :

- X : Teneur en eau en base sèche (kg d'eau/kg de matière sèche).
- X_0 : Teneur en eau initiale en base sèche (kg d'eau/kg de matière sèche).
- k : Constante.
- t : Temps (min).

Selon Chibane (2008), c'est le modèle de Henderson et Pabis (1961) qui est fréquemment utilisé pour décrire la cinétique de séchage : $U = ae^{-Kt}$

- **Simulation** :

A partir de l'équation de chaque courbe, on détermine son modèle représentatif :

- $X = f(t)$
- $\frac{dX}{dt} = f(t)$ définie par la formule suivante : $\frac{dX}{dt} = -\frac{(X(t+\Delta t)-X(t)}{\Delta t}$

Avec :

- dx/dt : vitesse instantanée de séchage au cours du temps (kg d'eau/kg de MS/min).
- X : Teneur en eau en base sèche (kg d'eau/kg de matière sèche).
- Δt : Ecart de temps (min) (Leeratanarak et al., 2005).

4.2.4.4. Broyage des biomasses séchées

Les biomasses séchées par les trois procédés cités précédemment, passent au broyage à l'aide d'un mortier (sous forme de poudre) afin d'homogénéiser le produit, faciliter le stockage et améliorer la solubilité du produit (Cheftel et al., 1985).

4.2.4.5. Stockage des biomasses séché

Après broyage, les échantillons broyés sont immédiatement mis dans des sacs de polyéthylène à la température ambiante. Puis les analyses de la solubilité sont effectuées.

4.2.5. Dosage des protéines solubles après séchage

Après avoir déterminé les conditions de solubilité des protéines de la biomasse récoltée (en pH, Force ionique et solvant organique), celles-ci vont être intégrées dans le protocole décrit par Abd el-aal et al., (1986) afin de déterminer la fraction totale des protéines solubles, comme suit :

- Peser 1 g de produit séché ;
- Ajouter 50 ml d'eau distillée ;
- Agiter mécaniquement pendant 1 heure dans la température de la chambre (25°) ;
- Centrifuger la solution à 1650×g/20 min ;
- Récupérer à part le surnageant ;
- Ajouter au culot 50 ml de la solution de NaCl à une force ionique 1M réglée à pH 12 ;
- Agiter mécaniquement pendant 1 heure dans la température de la chambre (25°) ;
- Centrifuger la solution à 1650×g/20 min ;
- Récupérer à part le surnageant ;
- Ajouter au culot 50 ml d'Ethanol à 70% ;
- Agiter mécaniquement pendant 1 heure dans la température de la chambre (25°) ;
- Centrifuger la solution à 1650×g/20 min;

- Récupérer à part le surnageant ;
- Déterminer par la méthode de Kjeldahl, la teneur en protéines de chaque surnageant récupéré (Abd el-aal et al., 1986).

➢ **Expression des résultats**

Les protéines solubles sont calculées comme suit :

$$PS = \frac{\%\ \text{protéine de chaque surnageant}}{\%\ \text{protéine totale de l'essai}} \times 100$$

4.2.6. Analyses statistiques

Les données de la solubilité des biomasses séchées ont été analysées avec une analyse de variance (ANOVA) en utilisant le logiciel XLSTAT 2009.1.01. Les moyennes ont été séparées à $P = 0{,}05$ à l'aide du test LSD de Fisher (Voir annexes 3).

Chapitre 5:

Résultats et discussion

5. Résultats et discussion

5.1. Composition biochimique da la pulpe de la datte sèche « Mech-degla »

La composition de la datte sèche variété « Mech-degla », en matière sèche, sucres totaux, saccharose, sucre réducteurs, protéines et cendres, est donnée par le tableau 15 et le graphe 16.

Tableau 15: Composition biochimique de l'extrait de « Mech-degla » en % de matière sèche.

	Moyenne + **écart type**	**Références** (moyenne en % matière sèche)	
		CIQUAL et CNEVA (1993) Datte sèche	Belguedj (2002) « Mech-degla »
Sucres totaux	84,16±1,02	69,50	80,07
Sucres réducteurs	32,44±1,56	58,60	20,00
Saccharose	49.13±00	10,30	51,40
Protéines	1,18±0,87	2,5	-
Cendres	0,35±1,11	2,03	1,90
pH	4,66	-	-

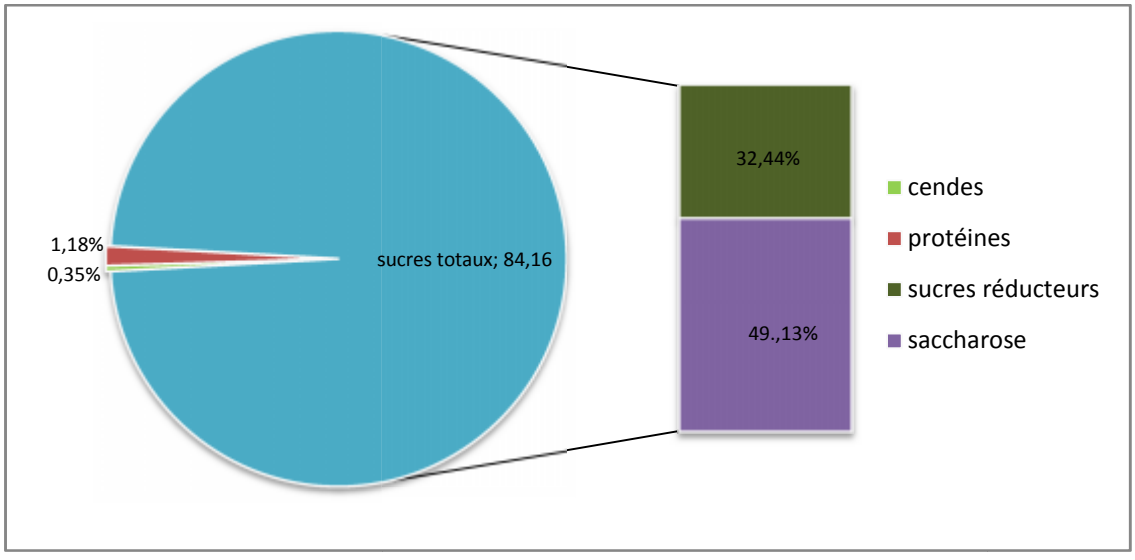


Figure 16 : Composition biochimique de l'extrait de la datte sèche variété « Mech-degla » en % de la matière sèche.

Les résultats présidentes laissent apparaître des caractéristiques physico-chimiques comparables à celles signalées par plusieurs auteurs, dont, à titre comparatif, celles de CIQUAL (1993) et Belguedj (2002).

Les sucres totaux représentent le constituant majeur de la matière sèche de l'extrait de la datte « Mech-degla », avec une teneur de 84,16 ± 1,02. Donc, l'extrait de Mech-degla est un aliment essentiellement glucidique, qui représente une grande valeur énergétique. Selon Munier (1973), 100 g de la pulpe de « Mech-degla » fournit 287 K calories.

La teneur moyenne en sucres totaux est sensiblement proche aux résultats obtenus par Booij et al., (1992) avec une marge de 71,00±1,65 à 79,10±2,80, pour les variétés de datte séche Mejhool, Thoory, Zahidi.

Les proportions des sucres réducteurs et le saccharose sont d'une importance particulière dans la classification des dattes (moles, demi-moles, sèche). La proportion du saccharose est plus élevée pour les dattes sèches, que pour les dattes moles et demi-moles (et l'inverse est vrai pour les sucres réducteurs) (Cook et Furr, 1952 ; Rygg, 1977). Ce qui explique les proportions trouvées en saccharose et sucres réducteurs.

D'autre part, ces proportions sont susceptibles de varier selon la variété, la saison, le degré de maturité, les conditions de culture (Reynes 1994 ; Booij et al., 1993).

C'est la richesse en glucides et surtout en sucres assimilables, qui nous a conduits à employer l'extrait de « Mech-degla » comme un substrat carboné pour la production de levure *S. cerevisiae.*

La teneur moyenne en protéines (N×6,25), qui est de 1,18 % est inférieure aux résultats obtenus par Yousie et al. (1982), lors d'une étude faite sur quatre variétés de datte d'Irak (Hallawi, Sayer, Khadrawi, Zahidi), les valeurs respectives étant 2.3, 2.78, 2.43, 2.16 %.

Yousie et al. (1982), ont montré que malgré la faible teneur en protéines des dattes, elles peuvent contribuer comme une source supplémentaire de protéines dans l'alimentation humaine. Dans la présente étude cette teneur rentre dans la totalité des protéines synthétisées.

Le taux moyen en cendres représente la quantité totale en sels minéraux présents dans l'extrait de « Mech-degla ». La valeur trouvée, qui est de 0,35 % de la matière sèche est inferieure à celle donnée par Yousie et al., (1982) avec un intervalle de 1,8 à 2,12% de la matière sèche pour les variétés cités précédemment. Aussi, elle est inférieure aux teneurs trouvées par Sawaya (1983) avec un intervalle de 1,5 à 1,8 % de la matière sèche sur les trois variétés d'Irak étudiées (Barni, Ruzeiz, Sifri).

Ces différences en proportions peuvent être expliquées par l'élimination d'une partie des constituants de la datte pendant la préparation de l'extrait (filtration chauffage…). Booij et al. (1992) ont montré que la teneur en éléments minéraux est liée à la nature du sol où les palmiers dattiers sont cultivés et aussi à la composition de l'eau d'irrigation.

Cette teneur en éléments minéraux constitue un apport supplémentaire du milieu minéral de la fermentation.

La valeur de pH trouvée qui est de 4.66, peut favoriser la multiplication de levure *S. cerevisiae* (pH favorisant la croissance est de 4 – 4,5), et parallèlement elle freine le développement des bactéries à l'exception des acidophiles.

5.2. Evaluation de la croissance de la biomasse pendant la culture

Le tableau 16 et la figure 17 représentent l'évolution de la biomasse en fonction du temps ; on illustre le taux de croissance de *S. cerevisiae* dans son milieu de culture.

Tableau 16 : Evolution de la biomasse en fonction du temps.

Temps (heures)	1	3	5	7	9	11
Biomasse (%) du poids frais	4,11	4,66	5,58	6,13	6,55	7,42

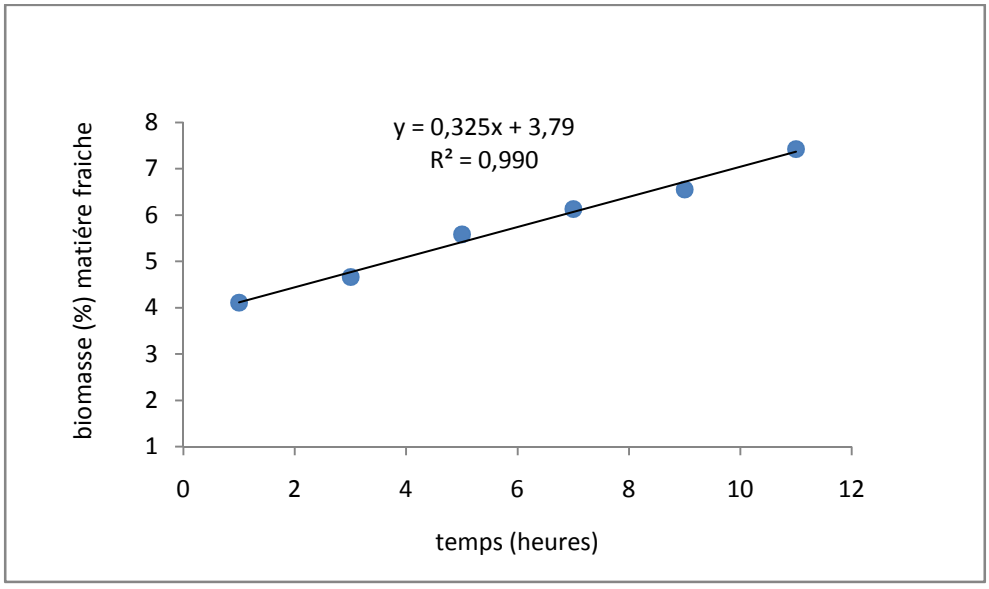


Figure 17 : Evolution de la croissance de la biomasse en fonction du temps.

Les résultats montrent un accroissement progressif de la biomasse en fonction du temps. On note une atténuation de production de l'ordre de 7,42 % de matière fraiche à la fin de la fermentation

Le taux de croissance déduit de cette production est 0.33 h^{-1}, une valeur confirmée par Botton et al., (1985) qui a montré que le taux de croissance de *S. cerevisiae* cultivée sur un milieu favorable est compris entre 0,3 et 0,47 h^{-1}. Ceci confirme que l'extrait de « Mech-degla » demeure un milieu favorable pour le développement de *S. cerevisiae* et rejoint la liste des milieux favorables tels que : la mélasse, lactosérum,…. .

D'autre part, en levurerie où des fortes densités cellulaires et une conversion maximale de substrat en substance cellulaire sont recherchées pour des raisons

économiques, le taux de croissance spécifique est compris entre 0,05 et 0,4 h^{-1}. Citons l'exemple de l'unité de production d'Oued-semar (Alger) qui enregistre un taux de croissance entre 0,33 et 0,4 h^{-1} en 2001.

5.2.1. Rendement

La quantité de sucre consommé, la quantité de biomasse récoltée et le rendement pondéral sont regroupés dans le tableau 17.

Tableau 17: Rendement de la culture de *S. cerevisiae.*

Sucres consommés (g / 100 ml)	4,08
Biomasse (g / 100 ml) du poids frais	7,42
Rendement pondéral %	54,65

Tableau 18: Production industrielle de la levure alimentaire (Simon et Munier, 1970 ; Alias et Linden, 1994 ; Revuz, 1979).

Source de carbone et d'énergie	**Micro-organismes utilisés**	**Taux de croissance h^{-1}**	**Rendement en %**	**protéine en % N×6,25**
Méthanol	*Methylomonas clara*	-	50	60 - 85
Mêlasse de canne	*Torulopsis utilis*	-	48	51
Liqueur de bisulfitique	*Candida utilis*	0,5	-	55
Hydrolysant de Bois	*Hanseluna anomala*	-	35-40	-
Résidus et fermentation	*T. utilis.*	-	47-52	50
Mêlasse de Betterave	*Saccharomyces cerevisiae*	-	43-53	50-53
Lactosérum	*Kluyveromyces fragilus*	-	55	54
Extrait grains de caroube	*Aspergillus niger*	0,26	45	35

Le rendement de *S. cerevisiae* obtenu dans la présente étude est de l'ordre de 54,65 %, il est confirmé par une liste non exhaustive de certains auteurs pour des travaux similaires; la culture sur mélasse aboutit à un rendement au voisinage de 55% (Tableau 18). Pour un substrat de farine de rebut de datte, il est de l'ordre de 44,2 % (Darkaoui, 1985, cité par Ould El-Hadj et al., 2006). Alogaidi (1981) a trouvé des résultats qui sont de l'ordre de 220 Kg de levure sèche pour une tonne de datte.

Il faut noter que, le rendement est fonction de la souche utilisée et les conditions de culture (Girard et Rougieux, 1958). Aussi, la nature du substrat énergétique joue un rôle important, sa structure et ses valeurs énergétiques déterminent le rendement et le taux de croissance (Guiraud, 1996) (Tableau 18). Un milieu contenant un substrat facilement catabolisable donnera une croissance plus rapide qu'un milieu contenant des substrats plus complexes.

Afin d'éviter le rendement faible, les conditions de contrôle de pH, de la température et de l'aération-agitation doivent être maitrisées, aussi la concentration en substrat (débit d'alimentation), puisque l'excès de substrat en hydrate de carbone inhibe la synthèse des enzymes respiratoires, le métabolisme est fermenteur quelque soit le niveau d'aération (Bourgois et Larpent, 1996).

Pour une meilleure production d'organisme unicellulaire, il est toujours recherché un temps record de production avec un prix de revient bas (Ould El-Hadj et al., 2006).

5.2.2. Analyses physico-chimiques de la biomasse

Tableau 19 : Résultats d'analyses physico-chimiques de la biomasse récoltée.

Composant	**Teneur**	**Références (Revuz, 1979)**
Matière sèche	30,1±0,03	15 - 20
Protéines (N×6.25)	52,5±0,07 % poids sec	45 – 55 % poids sec
Cendres	8±0,19 % poids sec	6 – 9 % poids sec

La teneur moyenne en protéine totale de la biomasse récoltée est de 52,5±0,07 % (poids sec). Cette valeur est identique et confirmée par Revuz (1979) et par Alias et Linden (1994) avec les valeurs respectives 55 % et 53 % (de poids sec) de protéine totale de la

levure *S. cerevisiae* cultivée sur mêlasse. Cette richesse en protéine permet au *S. cerevisiae* d'être une source de protéine alimentaire à côté des autres sources conventionnelles dont plus de 50 % de la masse totale est représentée en protéines (à peine moins que la viande (voir annexes 1) (Botton et al., 1990).

De même la teneur moyenne en cendres de la biomasse récoltée est similaire aux données bibliographiques (Tableau 19).

5.3. Conditions de solubilité des protéines de la biomasse fraîche

5.3.1. Profil de la solubilité en fonction de pH

La figure 18 et le tableau 20 illustrent la variation de la solubilité des protéines totales de biomasse fraiche (avant séchage) pour différents niveaux de pH 1 à 12.

Tableau 20 : Effet de pH sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae.*

pH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Protéines solubles (%)	40,95 ± 0,07	27,66 ± 0,17	13,46 ± 0,17	13,25 ± 0,005	25,82 ± 0,08	32,08 ± 0,07	33,12 ± 0,02	53,62 ± 0,42	35,07 ± 0,03	41,76 ± 0,11	43,26 ± 0,10	80,11 ± 0,29

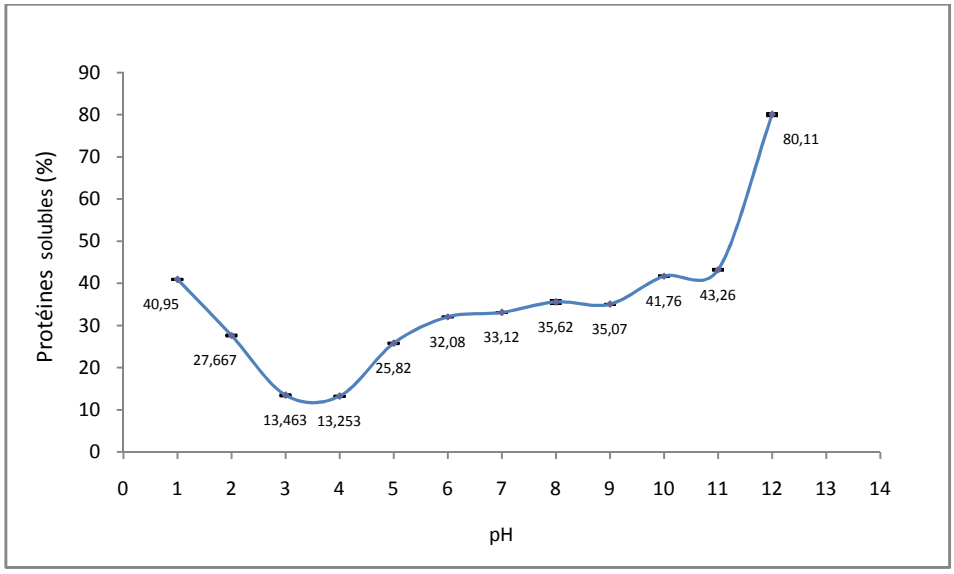


Figure 18 : Effet de pH sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae* à 25°C.

La courbe est de forme « U ». Elle est similaire à la bibliographie (Alias et Linden, 1994 ; Wong et Kitts, 2003), le minimum de protéine soluble est observé à pH 4 et pH 3 avec des valeurs respectivement égales à 13,25±0,05 % et 13,46±0,17% (de protéines totales).

En s'éloignant de la zone minimale, on observe un accroissement progressif de la solubilité de protéines. Cependant la meilleure progression est observée en milieu basique où apparait un pourcentage de 80,11±0,29 % à pH 12 représentant la solubilité maximale.

De ce fait, le point isoélectrique des protéines de la levure *S. cerevisiae* est évalué autour de pH 4. En ce point, les interactions électrostatiques entre les protéines sont maximales et par conséquent on obtient un minimum de solubilité. Par contre, au pH 12, les interactions électrostatiques sont minimales, ce qui induit une solubilité maximale des protéines.

Les protéines étudiées de la crème de levure présentent une bonne solubilité dans les deux milieux basique et acide. Ceci constitue une caractéristique importante pour les formulations alimentaires (Idouraine et al., 1991 ; cité par Khalid et al., 2003). Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Yu et al. (2007), qui rapportent un minimum de solubilité à pH 3,5 – 4,5 et un maximum de solubilité à pH 10 et plus, pour une étude faite sur un concentré protéique d'arachides.

5.3.2. Profil de la solubilité en fonction de la force ionique

La figure 19 et le tableau 21 montrent la solubilité des protéines totales de la biomasse fraîche de *S. cerevisiae* selon un gradient croissant de forces ioniques.

Tableau 21 : Effet de pH sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae.*

Force ionique (M)	0	0,125	0,25	0,5	1	1,25	1,5	2	3
Protéines solubles (%)	35,00 ± 0,70	34,45 ± 0,18	38,04 ± 0,05	45,64 ± 0,23	64,77 ± 0,57	50,51 ± 0,12	42,12 ± 0,07	30,85 ± 0,13	11,31 ± 0,005

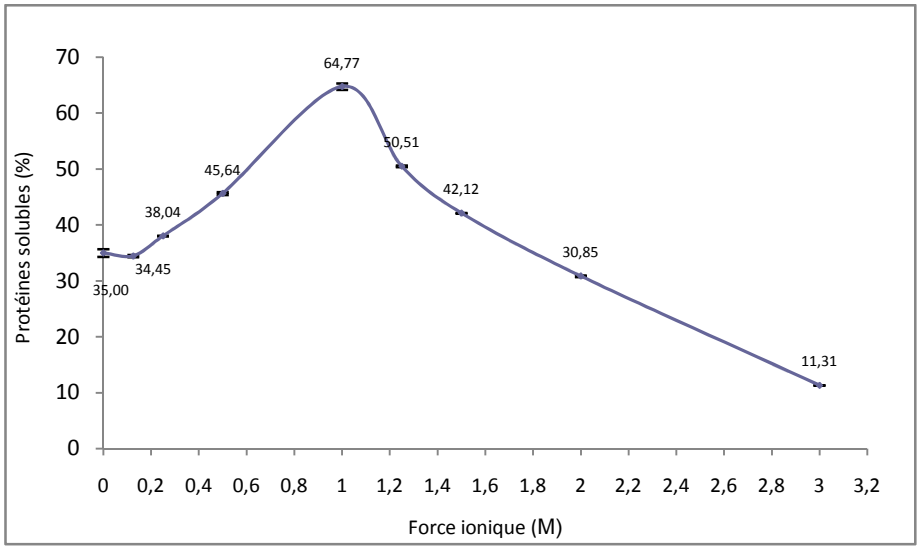


Figure 19: Effet de la force ionique sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae* à 25°C.

La courbe est subdivisée en deux phases :

- ✓ Phase d'accroissement progressif latent de la solubilité des protéines : À faible force ionique la solubilité augmente avec la concentration en sel de 0 à 1 M, qui correspond successivement à 35,00±0,70 et 64,77±0,57 % (de protéines totale). Cette dernière définit la solubilité maximale. Ceci est expliqué par Scopes (1994) et Rossenow et al. (2002) par le phénomène salting-in (mise en solution) : les interactions électrostatiques entre protéines et NaCl empêchent la cohésion des protéines entre elles (les ions de NaCl entourent les divers charges ioniques de la protéine) et favorisent leur solubilité.
- ✓ Phase de décroissement rapide de la solubilité des protéines, au delà de la concentration 1M jusqu'à 3M, où apparait la solubilité minimale avec un pourcentage de 11,31±0,005 %. Scopes (1994) explique cela par le phénomène salting-out (mise hors solution, dessalage). Il est attribué à la compétition entre les ions de NaCl ajoutés et les protéines pour la solvatation des molécules. Il y'a tellement des ions de NaCl qu'il n'y a pas assez de solvant pour solubiliser les protéines (Linden et Lorient, 1994). Ainsi les réactions soluté–soluté sont plus fortes que les interactions soluté-solvant (protéines-ions). Tout cela entraine une précipitation des protéines et par conséquent un abaissement de solubilité.

5.3.3. Profil de la solubilité en fonction de la force ionique à pH 12

La figure 20 et le tableau 22, représentent la solubilité des protéines de la biomasse fraîche de *S. cerevisiae* selon un gradient de concentration en NaCl à pH 12.

Tableau 22: Solubilité des protéines de *S. cerevisiae* en fonction de la force ionique à pH 12.

Force ionique (M)	0	0,125	0,25	0,5	1	1,25	1,5	2	3
Protéines solubles (%)	70,11 ± 0,06	70,11 ± 0,02	71,36 ± 0,10	73,11 ± 0,35	91,63 ± 0,13	86,01 ± 0,34	82,12 ± 0,97	65,24 ± 0,02	25,53 ± 0,74

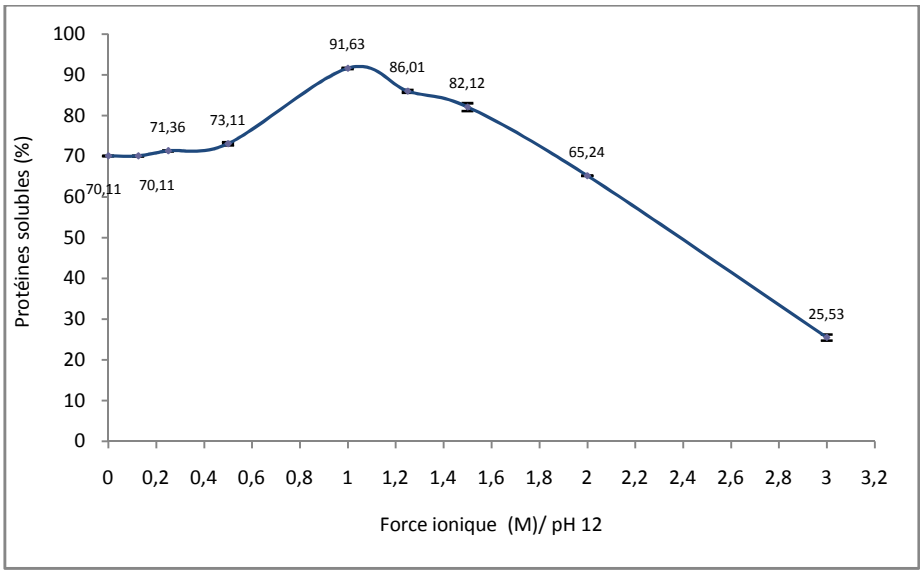


Figure 20: Solubilité des protéines de *S. cerevisiae* en fonction de la force ionique à pH 12 à 25°C.

L'association des deux conditions (force ionique et pH) a permet d'optimiser la solubilité des protéines de *S. cerevisiae* avec un pourcentage de 91,63±0,13 % trouvé pour une force ionique 1 à pH 12. Alias et Linden (1994) reportent des observations similaires pour des études faites sur la solubilité de concentré protéique de lactosérum et de l'isolat protéique de soja.

5.3.4. Profil de la solubilité dans l'éthanol

Selon Cheftel et al. (1985), l'utilisation d'une concentration élevée d'éthanol (60 – 80%) à basse température favorise la solubilité des protéines, ce qui explique l'utilisation de l'éthanol à 70 % à baisse température.

La solubilité des protéines de la biomasse fraîche de *S. cerevisiae* dans l'éthanol à 70% est égale à 0,21±0,08 % (une valeur qui tend vers 0). Elle est négligeable par rapport aux autres valeurs sous les conditions présentées ci-dessus. Dans ce cas, l'éthanol est considéré comme un agent précipitant plus que solubilisant. Ce qui est confirmé par Scopes (1994), en montrant que la solubilité des protéines dans l'éthanol a une variété d'effet qui se résume par une agrégation des protéines. D'autre part, l'évidence indique que certaines fractions de protéines (prolamine végétale) sont presque exclusivement solubles dans l'alcool à 70% (Adrian et al., 1981 ; Florkin, 1959). Ce qui n'est pas le cas dans cette étude (protéines microbiennes).

Les résultats trouvés sont similaires à ceux rapportés par Chin et al. (1994), où la solubilité de lysozyme de blanc d'œuf recouvre un intervalle de 0 à 0,3 % sous l'application d'une variété de solvants organiques (octanol, tert-amyl alcohol,. tert-butanol, hexanol, acetonitrile, nitrobenzene, methylene chloride, NJ-dimethylformamide, dimethyl sulfoxide (DMSO), ethylene glycol, éthanol).

5.4. Séchage

Selon Cheftel et Cheftel (1979), le séchage représente souvent la dernière étape de préparation d'ingrédient protéique. Ses effets sur les propriétés fonctionnelles et nutritionnelles ne doivent pas être négligés.

5.5. Cinétique de séchage

5.5.1. Cinétique de séchage ventilé

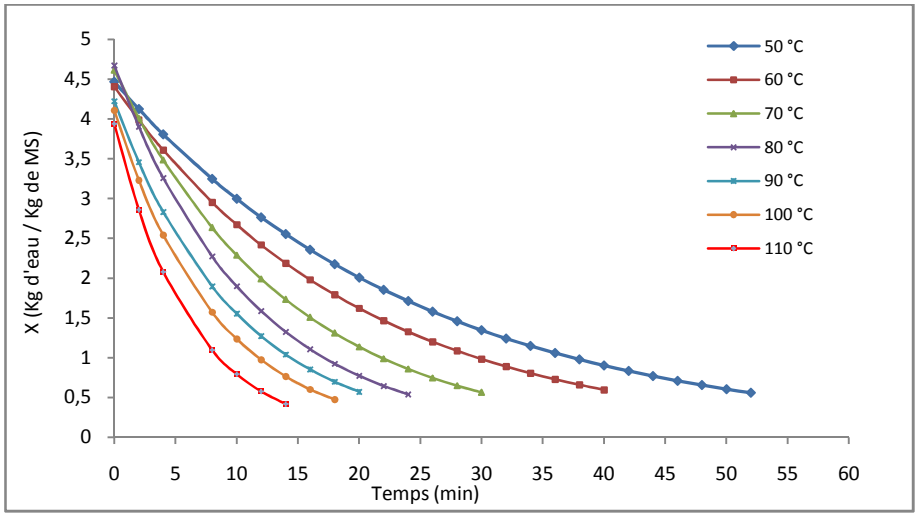


Figure 21 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps pour le séchage ventilé (Simulation).

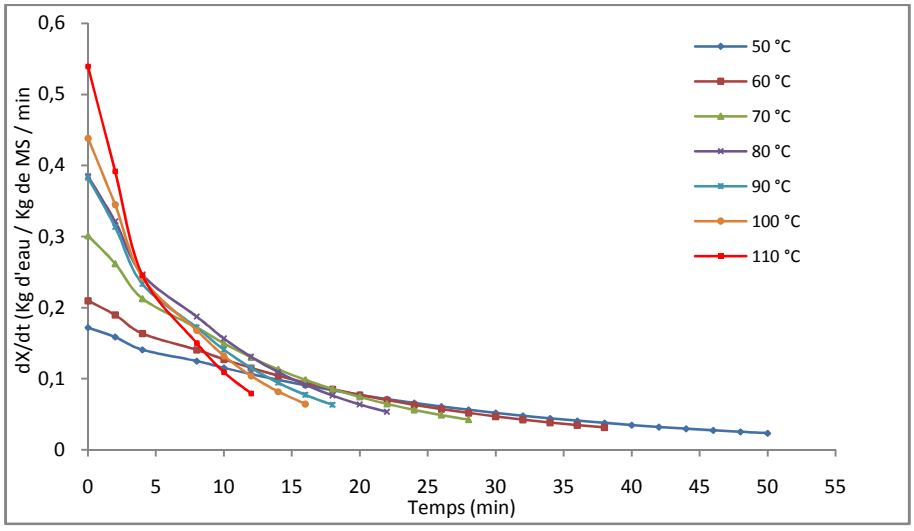


Figure 22 : Cinétique de la vitesse (dX/dt) de séchage ventilé en fonction du temps (Simulation).

Tableau 23 : Temps de séchage ventilé.

Température (°C)	Temps de séchage (min)
50	52
60	40
70	30
80	24
90	21
100	18
110	14

5.5.2. Cinétique de séchage sous vide :

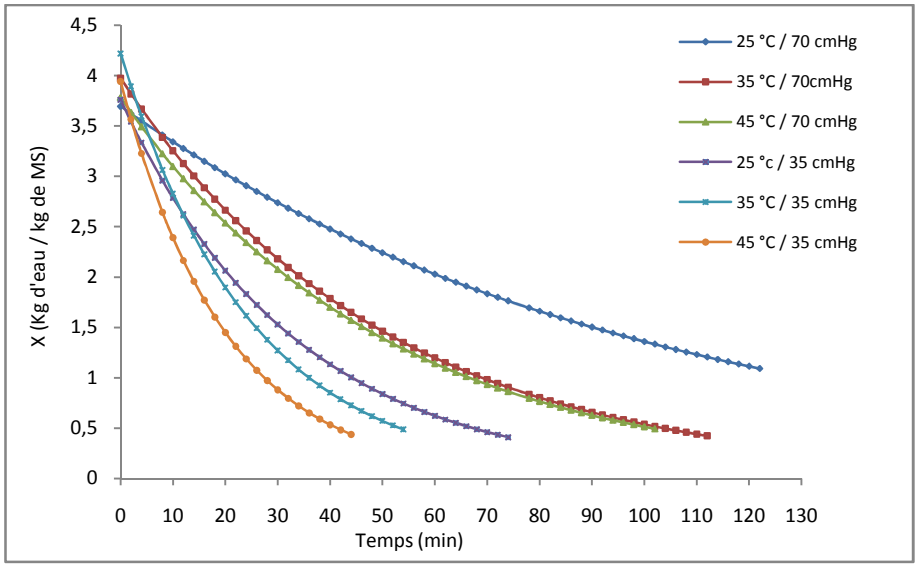


Figure 23 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps pour le séchage sous vide (Simulation).

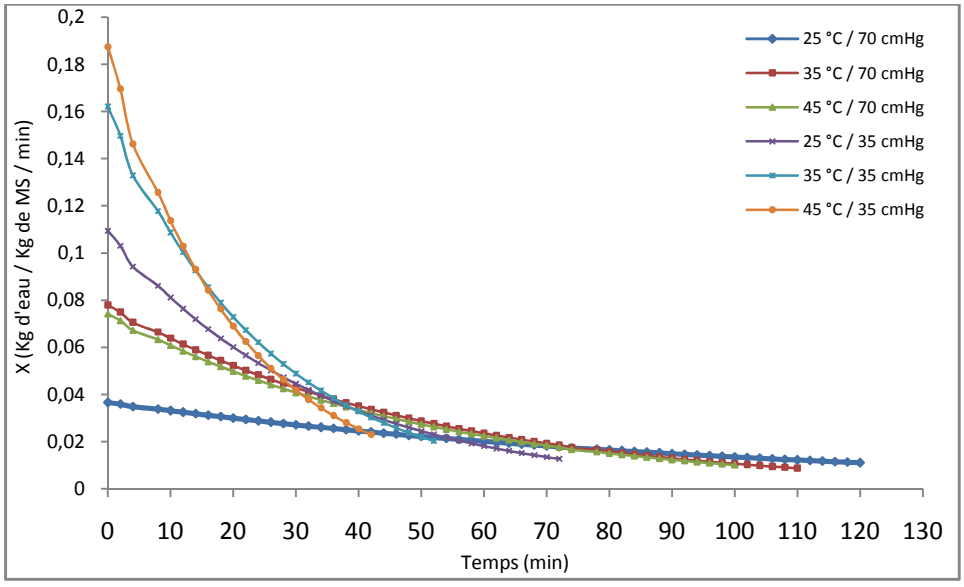


Figure 24: Cinétique de la vitesse (dX/dt) de séchage sous vide en fonction du temps (Simulation).

Tableau 24 : Temps de séchage sous vide.

Couple Température (°C)/Pression (cm Hg)	Temps de séchage (min)
25/70	123
35/70	113
45/70	102
25/35	74
35/35	53
45/35	44

En général, la cinétique de séchage pour les deux procédés est semblable à la bibliographie (Mafart, 1996 ; Bombent, 1984). Mais pour les figures 22 et 24 la période à vitesse constante n'existe pas. C'est le cas des produits biologiques (Tallal et al., 2001).

L'augmentation de la température de séchage (de 50 °C à 110 °C) se traduit par une augmentation de la vitesse de séchage et la durée de séchage devient plus courte (Figure 21, 22). Selon Cheftel et al. (1976), plus la température augmente plus elle se rapproche de la température d'évaporation avec une vitesse plus rapide et un temps plus court.

Même observation pour le séchage sous vide, lorsqu'on augmente le vide (Figure 23, 24).

Pour les deux procédés, la vitesse de séchage est plus importante dans les premier temps. A cause de l'installation d'une forte évaporation d'eau libre du produit pour tous les paramètres correspondant à un point critique X_{cr} (X_{cr} est pratiquement égale à la teneur en eau initiale X_0).

Ce début de perte de masse constitue la première phase du séchage, l'eau qui s'évapore de la surface du produit constitue l'eau libre (renouvelée par la montée capillaire de l'eau libre interne (Cheftel et al., 1979).

En deuxième temps, arrivé au point d'inflexion des courbes X_i (point d'équilibre), l'évaporation de l'eau commence à diminuer; les courbes de cinétique tendent alors vers un plateau (La surface du produit ne reçoit plus d'eau libre, la pression partielle de vapeur d'eau à la surface du produit diminue progressivement d'où la baisse de l'évaporation (Toğrul, 2005).

Le ralentissement commence lorsqu'il n'y a plus d'eau libre en surface, cette diminution de la vitesse est due à la migration de soluté qui se rassemble à la surface sous

l'aspect de cristaux formant une croute à la surface de l'aliment et ralentit le passage de la vapeur d'eau.

Pour le séchage sous vide le cassage du vide pour la prise des poids, aussi le temps de reprise de vide, influencent directement sur la vitesse et la durée de séchage. Ce qui explique la différence de la vitesse et la durée de séchage entre les deux procédés ventilé est sous vide.

La durée de lyophilisation est 8h (6 heures pour la dessiccation primaire et 2 heures pour la dessiccation secondaire), elle est longue par rapport aux autres procédés.

5.6. Broyage

Le broyage à sec, important sur des concentrés protéiques donne des poudres ayant de grandes surfaces des particules très petites. Cela provoque généralement une amélioration de la solubilité protéique (Cheftel et al., 1985).

5.7. Solubilité des protéines de la biomasse après séchage

L'effet du séchage sur la solubilité des protéines s'explique comme résultat de la dénaturation des protéines sous l'influence du procédé appliqué.

Selon Wu et Wu (2006), le mot dénaturation est utilisé approximativement pour désigner le changement de la forme soluble de protéine en forme insoluble, causé par une large variété des agents chimiques et physiques, inclus l'acide, alcalin, force ionique, solvant organique, chaleur, pression, … .

Lorient (2003), ajoute que la réaction de la dénaturation concerne la modification des structures spatiales natives des protéines par rupture des liaisons qui maintiennent leur intégrité et par conséquent, leurs propriétés biologiques et techno-fonctionnelles.

De ce fait, tous ces paramètres sont considérés constants dans la présente étude, et seuls les paramètres de séchage (température et pression), constituant les variables qui influent sur la solubilité de protéines. De même, l'humidité et la prise d'essai sont constants, puisqu' ils sont les mêmes pour les trois procédés.

5.7.1. Effet du séchage ventilé sur la solubilité

La figure 25 et le tableau 25 représentent le pourcentage de protéines solubles de notre biomasse après séchage dans une étuve ventilée à déférentes valeurs de température. Pour ce procédé de séchage, la température est la seule variable.

Tableau 25 : Effet du séchage ventilé sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae.*

Température (°C)	50	60	70	80	90	100	110
Protéines solubles (%)	53,01±0,10^{d}	75,12±0,91^{a}	76,37±0,35^{a}	75,14±0,33^{a}	62,16±1,60^{b}	58,66±1,09^{c}	51,75±0.25^{e}
Corrélation	-0,471	0,447	0,471	0,421	-0,102	-0,243	-0,522

Les valeurs correspondent à la moyenne de trois répétitions pour chaque température. Les valeurs suivies des lettres différentes sont significativement différentes pour $P < 0,05$ d'après le test LSD de Fisher. $^{a, b, c, d, e}$ lettres classées par ordre décroissant.

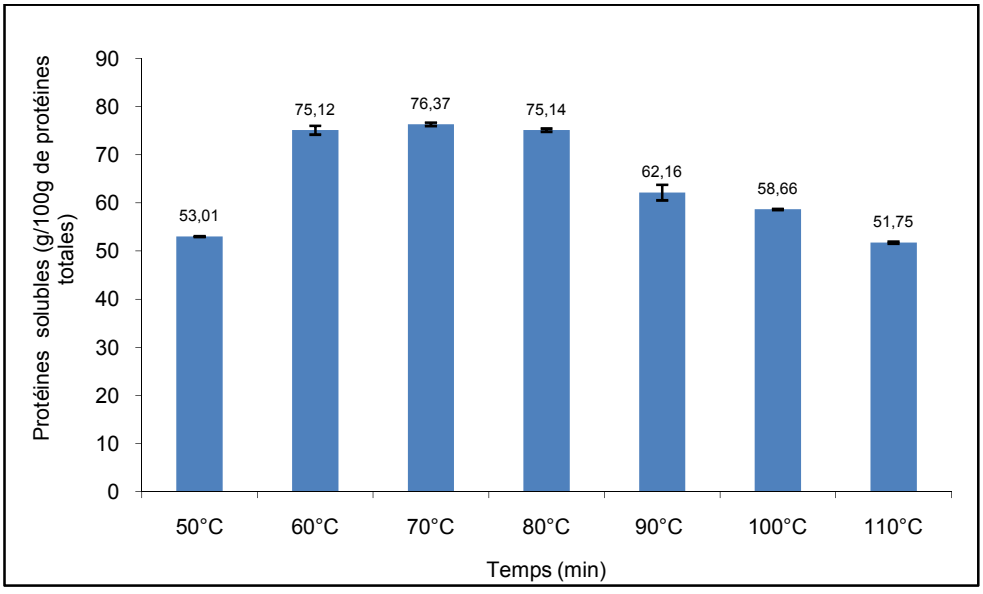


Figure 25 : Effet du séchage ventilé sur la solubilité de protéines de *S. cerevisiae.*

Les valeurs de température sont choisies de façon à obtenir des différences significatives. Cheftel et al. (1985), ont montré que la vitesse de dénaturation de protéines double quant la température augmente de 10 °C.

D'après la figure 25, on observe une stabilité de la solubilité, allant de la température 60 à 80 °C avec des pourcentages qui varient de 75,12±0,91 à 76,37±0,35 g de protéines solubles/ 100 g de protéines totales (différence non significative $P > 0,05$). Cette stabilité montre que les valeurs des températures appliquées n'induit pas une

dénaturation sévère, autrement dit, le seuil ou l'effet de dénaturation qui touche la fonctionnalité des protéines, n'est pas encore atteint. L'énergie fournit n'arrive pas à déséquilibrer (briser) l'énergie de liaisons de la structure spatiale (au moins d'une façon sévère). A 50 °C, on observe une faible solubilité (53,01± 0,10 %) (Une différence extrêmement significative $P< 0,0001$). Ceci est similaire aux données de Linden et Lorient (1994), où un traitement thermique modéré (40 à 55°C) souvent induit une basse solubilité à cause de l'accroissement des interactions protéines-protéines. Richardson (2001), a montré que les interactions accrues de protéines–protéines pour le concentré de protéines de lait, se produisent à des températures modérées (50-55 °C), induisant la diminution de la solubilité de ces protéines.

Au delà, l'augmentation de la température est suivie par une diminution de la solubilité de 90 à 110 °C, avec une solubilité minimale à 110 °C ; une diminution au voisinage de 50% de protéines totales. A cette phase, la thermo-dénaturation devient plus sévère, ou même la structure primaire est affectée : désulfuration, désamination, formation de nouveaux dérivés,… (Adamiec et al., 2006 ; Bernard et Carlier, 1992). La modification des chaines latérales des résidus des acides aminés responsables du phénomène répulsion-attraction de protéines, induit une perte d'activité de surface et par conséquent une diminution de la solubilité. Autrement dit, l'apparition à la surface des molécules de groupe hydrophobe (augmentation de l'hydrophobicité extérieure des protéines), conduit à l'agrégation des molécules de protéines déplissées. En plus, les principales modifications qui affectent les groupements fonctionnelles des chaines latérales se traduisent par des réactions chimiques de condensation entre protéines et autres constituants, telle que la réaction de Maillard (entre les protéines et les glucides), induisant une perte de solubilité des protéines (la réaction de Maillard s'installant entre 100 et 140 °C)

Linden et Lorient (1994), montrent qu'une température inférieure à 100°C préserve la solubilité, par contre une température supérieure présente un effet néfaste sur la solubilité, pour la matière protéique végétale.

Globalement, ces résultats peuvent être expliqués en se basant sur les données de Fennema (1996) ; les réactions hydrophobes sont endothermiques, elles sont stabilisées à des températures élevées et déstabilisées à des basses températures. Cependant, cette stabilité n'augmente pas infiniment avec l'augmentation de température. Les interactions

hydrophobes atteignent un maximum de stabilité à environ 60-70 °C. Ce qui confirme nos résultats.

5.7.2. Effet du Séchage sous vide sur la solubilité

La figure 26 et le tableau 26 représentent le pourcentage de protéines de notre biomasse après séchage dans une étuve sous vide à six couples de température-pression, représentant les variables dans ce procédé.

Deux pressions (70, 35 mmHg) sont couplées à trois températures (25, 35, 45 °C) permettant ainsi d'avoir deux triplets de température pour chaque pression, dont le but est d'identifier l'influence du vide sur la solubilité et de trouver le couple (pression, température) correspondant aux meilleurs résultats.

Tableau 26 : Effet du séchage sous vide sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae.*

Température (°C) Pression (mmHg)/	T=25/P=70	T=35/P=70	T=45/P=70	T=25/P=35	T=35/P=35	T=45/P=35
Protéines solubles (%)	83,01±0,05^{bc}	83,34±0,13^{bc}	85,13±0,10^{bc}	93,75±0.132^{a}	88,50±0.44^{ab}	86,67±0.39^{c}
Corrélation	-0,221	-0,194	-0,049	0,651	0,225	-0,411

Les valeurs correspondent à la moyenne de trois répétitions pour chaque température. Les valeurs suivies des lettres différentes sont significativement différentes pour $P < 0,05$ d'après le test LSD de Fisher. $^{a, b, c}$ lettres classées par ordre décroissant.

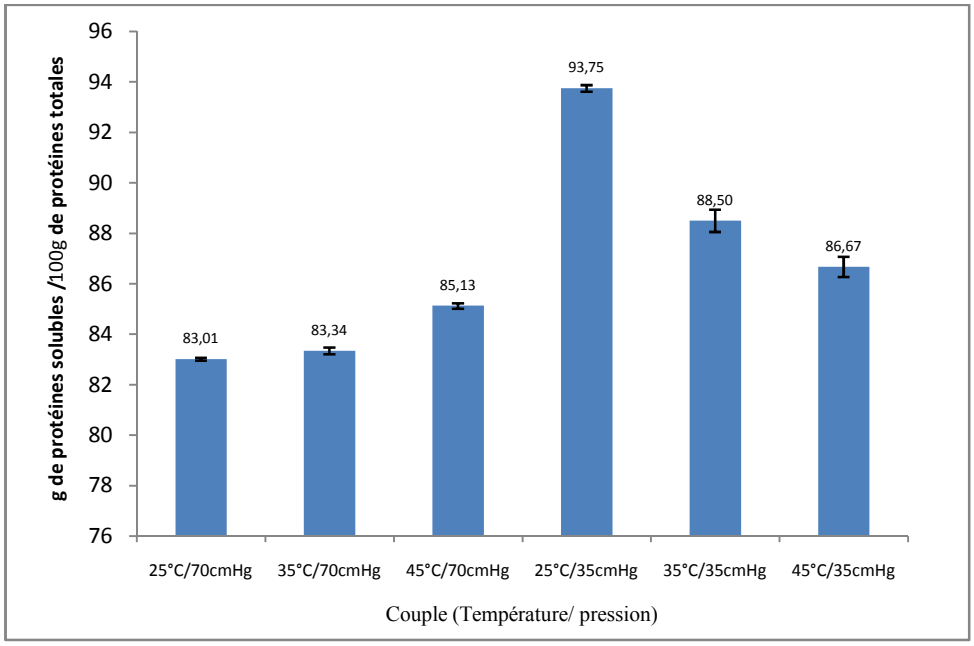


Figure 26 : Effet du séchage sous vide sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae.*

Selon Fennema (1996), la pression et la température sont des variables thermodynamiques qui affectent la conformation et induit la dénaturation des protéines et par conséquent, leurs propriétés biologiques et techno-fonctionnelles (inclut la solubilité).

Ce type de sécheur fonctionne sur le principe du séchage par ébullition, la chaleur transmise au produit servant à réchauffer celui-ci jusqu'à sa température d'ébullition, qui est d'autant plus faible que la pression est elle-même faible. D'où l'intérêt du séchage sous vide pour des produits thermosensibles, le vide étant d'autant plus poussé que la température limite admissible par le produit est faible (Charreau et Cavaillé, 2003b). Le séchage sous vide rend possible une vaporisation de l'eau à des températures plus basses.

Le transfert de chaleur se fait essentiellement par conduction interne ou par rayonnement.

On remarque pour les deux triplets, que pour un vide moins poussé (pression absolue 70 cmHg), la solubilité augmente parallèlement avec la température. Par contre, pour un vide poussé (pression absolue 35 cmHg), la solubilité augmente inversement avec l'augmentation de la température, ceci peut être expliqué par le principe de séchage lui-même.

A un vide moins poussé (pression absolue 70 cmHg), la température est dominante que le vide, plus la température est modérée (inférieure à 45°C) à même pression, plus elle induit un effet néfaste sur la solubilité des protéines (Richardson, 2001 ; Linden et Lorient, 1994).

Par contre, à un vide plus poussé (pression absolue 35 cmHg), on enregistre un effet significatif positif sur la solubilité, avec un maximum de solubilité correspondant au couple (25 °C / 35 cmHg) avec une teneur de 93,75±0.13%, mais l'augmentation de température au delà de 25°C, n'a pas un intérêt technologique ni économique, au contraire une diminution de solubilité est observée.

Mais globalement, même lorsqu'on travaille à des températures modérées, les résultats trouvés sont supérieurs à ceux trouvés par le séchage à l'air, ce qui confirme l'effet positif du vide ; les protéines gardent mieux leurs structures et leurs propriétés fonctionnelles (solubilité inclue) dans un séchoir sous vide que dans un séchoir ventilé.

5.7.3. Effet de la lyophilisation sur la solubilité

La fraction des protéines solubles de la biomasse lyophilisée, représente 93.75±0,19 % des protéines totales. Cette forte teneur est confirmé par la bibliographie (Mafart, 1996 ;

Cheftel et al., 1985) ; la dénaturation totale induite par ce procédé ne dépasse pas 10 %. Selon Bernard (1995), les protides sont dans l'ensemble bien conservés et les pertes sont inferieures à 5 % au cours de la lyophilisation. Par conséquent, l'effet néfaste sur les propriétés fonctionnelles (solubilité inclue) des protéines est très faible.

Liapi et Bruttini (2006), ont montré que la lyophilisation réduit au minimum les réactions dégradantes qui sont normalement produites dans les processus de séchage ordinaire, tels que : le brunissement non-enzymatique, la dénaturation de protéines, et les réactions enzymatiques.

Pendant la lyophilisation, 90 % de l'eau sont éliminées rapidement sous forme de vapeur par sublimation sous vide, ce qui provoque une concentration minimale de particule et une migration minimale des sels et /ou des glucides vers la surface de séchage. Ce qui minimise les interactions entre les constituants et par conséquent leurs altérations, donc la solubilité sera moins touchée.

Les résultats trouvés sont nettement supérieurs à ceux trouvés par Cepeda et al. (1998), dont la solubilité des concentrés protéiques de la fève lyophilisée et atomisée ne dépasse pas 50 %. En réalité, à cause de la très grande hétérogénéité du monde des protéines, la comparaison, peut être non fiable, du fait que chaque protéine avec sa structure, fonction, activité, et propriétés spécifiques, constitue un cas individuel (spécial) à étudier. Néanmoins, ces résultats demeurent très encourageants.

Pour ce cycle de lyophilisation appliqué, les paramètres (température de dessiccation primaire et secondaire, le vide) sont élevés, dans le but d'avoir le cycle le plus court. Ceci a été démontré par des études faites au préalable.

5.7.4. Comparaison entre les trois procédés du séchage

Pour que la comparaison soit fiable, on a travaillé dans les mêmes conditions (même milieu, même période, même manipulateur,…) de façon que le choix de procédé constitue la seule variable. Le transfert de chaleur se fait par conduction et rayonnement (surface chaude) et par convection pour le séchage ventilé. Mais pour l'étuve sous vide l'évaporation est effectuée sous vide et pour la lyophilisation, l'évaporation est une sublimation. Et ces paramètres qui conduisent à des différences en solubilité, et par conséquent, le choix du procédé.

Tableau 27 : Effet des trois procédés de séchage sur la solubilité des protéines de *S. cerevisiae.*

	Séchage atmosphérique (° C)							**Séchage sous vide (°C / cmHg)**						**Lyophlisation**	**biomasse fraîche**
paramètres	50	60	70	80	90	100	110	25 /70	35/70	45/70	25/35	35/35	45/35		
Protéines solubles (%)	53,01 ± 0,10^{g}	75,12 ± 0,91^{e}	76,37 ± 0,35^{de}	75,14 ± 0,33^{a}	62,16 ± 1,60^{f}	58,66 ± 1,09^{f}	51,75 ± 0.25^{g}	83,01 ± 0,05^{c}	83,34 ± 0,13^{c}	85,13 ± 0,10^{bc}	93,75 ± 0.132^{a}	88,50 ± 0.44^{b}	86,67 ± 0.39^{cd}	93,75 ± 0,199^{a}	97,23 ± 0,12^{a}
Corrélation	-0,450	-0,027	-0,016	-0,039	-0,280	-0,345	-0,473	0,108	0,114	0,147	0,307	0,210	0,064	0,307	0,372

Les valeurs correspondent à la moyenne de trois répétitions pour chaque paramètre. Les valeurs suivies des lettres différentes sont significativement différentes pour $P < 0,05$ d'après le test LSD de Fisher. $^{a, b, c, d, e, f, g}$ lettres classées par ordre décroissant.

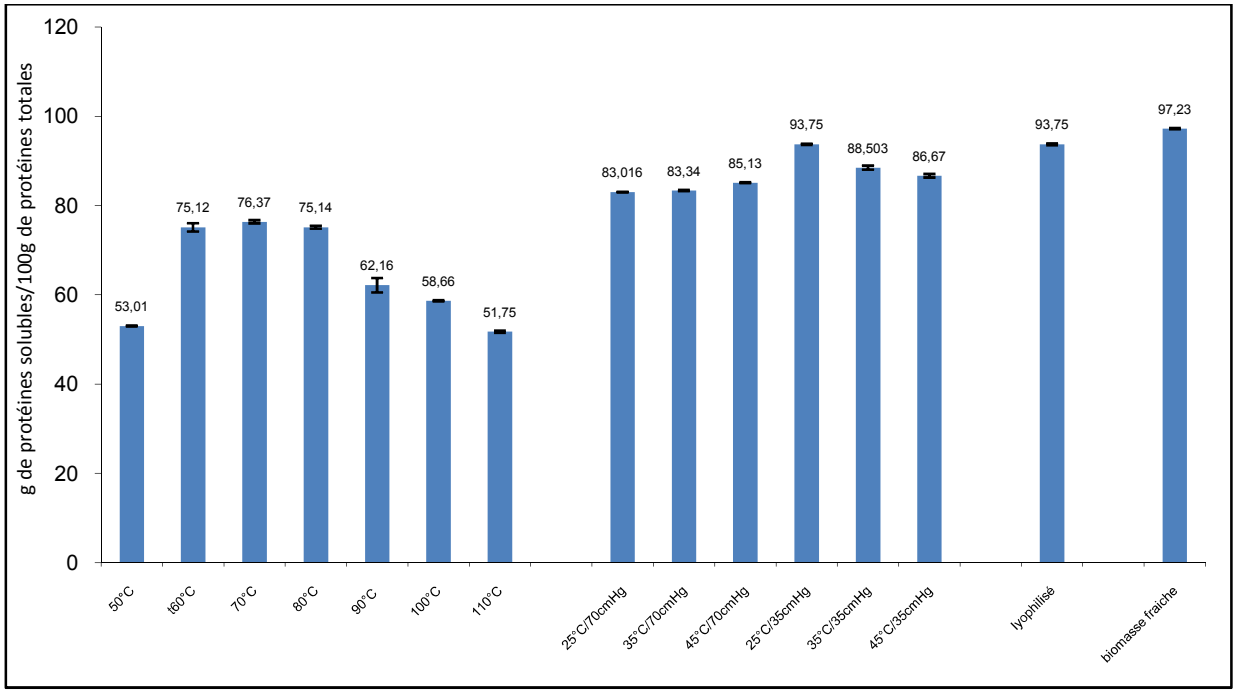


Figure 27 : La solubilité des protéines de *S. cerevisiae* des trois procédés.

La première remarque qu'on peut faire est que la solubilité pour les trois procédés est inférieure à la solubilité des protéines natives (biomasse fraîche), que la différence soit hautement significative (par rapport au séchage ventilé $P < 0,0001$ pour les septs *températures appliquées*) ou non significative (par rapport au séchage sous vide (25 °C / 35 cmHg) et lyophilisation $P > 0,05$). Cette perte de solubilité a été expliquée par wong et kitts (2003), par l'installation des interactions entre protéines-protéines et les protéines

avec les carbohydrates, les lipides et les autres constituants alimentaires (cas des œufs et du lait séchés).

La différence en solubilité dans le même procédé explique la sensibilité des protéines. La différence entre les trois procédés explique l'effet direct du procédé de séchage sur cette propriété fonctionnelle. D'où l'intérêt d'étudier cette influence.

Globalement, pour les trois procédés, la solubilité dépasse les 50 %, ce qui constitue un avantage important si l'on compare avec d'autres protéines étudiés (animales ou végétales). Pour les meilleurs pourcentages tirés des trois procédés, la comparaison entre les trois procédés relève une égalité en protéines solubles pour le séchage sous vide (pour le couple 25 °C / 35 cmHg) et la lyophilisation qui est respectivement 93,75±0,13 et 93,75±0,19 %. Par contre la solubilité pour le séchage ventilé est inférieure avec un pourcentage de 76,37±0,35% à 70°C (une différence autour de 18 %). Le vide induit un effet positif remarquable sur la solubilité.

A travers ces résultats, en excluant le séchage ventilé (une différence hautement significative entre le séchage ventilé et les deux autres procédés $p < 0,0001$), l'emploi du séchage sous vide ou la lyophilisation semble le même (pas de différence significative entre la valeur maximale de chaque procédé $P > 0,05$). Mais l'industrie cherche une meilleure qualité avec un minimum de dépense.

Certes, le vide est une dépense énergétique couteuse. Pour la lyophilisation, le compresseur représente une autre dépense énergétique ajoutée. Aussi, le temps de séchage constitue une autre contrainte. Cependant, le coût de traitement est excentré dans une certaine mesure par l'absence de n'importe quel besoin de manipulation et stockage frigorifiés (Oetjen et Haseley, 2004).

Selon Cheftel et Cheftel (1979), le prix de l'évaporation d'un kg d'eau (en Euro) de séchage à air est de 0,04€, 0.12€ pour le séchoir sous vide et 0,15 à 0,31€ pour le lyophilisateur. La lyophilisation est une forme chère de déshydratation.

Il faut noter que le produit lyophilisé représente une grande réhydratation, c'est une propriété très recherchée pour ceux qui sont intéressés, mais en même temps elle constitue un problème major pendant la conservation (stockage), la reprise d'eau modifie la qualité de produit lyophilisé.

La lyophilisation est employée pour la déshydratation des produits très difficiles à sécher, comme le café, les oignons, les potages, certains fruits de mer et fruits (surtout pour conserver les produits volatiles) et également les produits à valeurs ajoutés. Elle est également de plus en plus utilisée dans le séchage de produits pharmaceutiques.

En réalité, la finalité de notre produit sert à déterminer le procédé le mieux adapté, dans le cas ou il va être supplémenté ou ajouté à une préparation industrielle (ingrédient de fonction), ou réhydraté sous forme de solution (boisson).

Aussi, pour que le choix soit bénéfique, il reste d'autres aspects à étudier, à savoir ; la situation des vitamines surtout B_2 (dont *S. cerevisiae* représente une source), les autres propriétés fonctionnelles et rhéologiques, …

Sur le plan économique, la durée de séchage et le coût détermine le choix de procédé et d'appareil utilisé (Bernard, 1995)

Si en cherche toujours à employer la lyophilisation pour une meilleure qualité recherchée et si le séchage sous vide assure cet objectif avec un coût inferieur et un temps plus court, la lyophilisation devient dans ce cas une dépense supplémentaire.

En dernier, à l'issue de notre étude, on a pu conclure que, sur les plans technologique et économique, le séchage sous vide est le procédé le plus intéressant bien qu'actuellement en industrie, la levure qu'elle soit ferment ou aliment est séché par lyophilisation ou atomisation. Peut être que la texture (propriétés rhéologiques) du produit fini qui attire les consommateurs et encourage l'application de ces procédés coûteux.

Conclusion

Conclusion

Ce travail vise à la fois la sauvegarde du patrimoine phytogénétique du sud algérien et l'élaboration d'un produit biologique à forte valeur protéique, destiné d'être un aliment ou un additif de fonction.

D'après les résultats obtenus dans le présent travail, on peut conclure que :

- Les analyses biochimiques de l'extrait des dattes sèches variété « Mech-degla » montrent sa richesse en sucres fermentescibles (supérieur à 80 %), ce qui le qualifie d'être une source énergétique en hydrate de carbone. En particulier pour la production de la levure *S. cerevisiae.*
- L'importance du rendement trouvé (45,65 %) après culture de *S. cerevisiae* sur l'extrait de Mech-degla, relève l'efficacité de ce dernier et la possibilité de l'employer comme un substrat carboné. D'où l'intérêt de sa valorisation industrielle pour réduire les importations extérieures en mélasse et en même temps, d'exploiter une partie délaissée du potentiel phoenicicole algérien.
- La biomasse de *S. cerevisiae* produite renferme une humidité importante, environ 80 %. Ceci nécessite pour sa conservation et sa stabilisation son déshydratation.
- La forte teneur en protéines de la biomasse produite (52,5 %), incite à étudier les propriétés des ces protéines qu'elles soient nutritionnelles ou fonctionnelles, exactement en solubilité après séchage, ce qui a constitué le noyau de ce travail.
- Les courbes déterminées de la solubilité des protéines de *S. cerevisiae,* conduisent à la purification de ces protéines.
- La solubilité des protéines de la biomasse séchée par les trois procédés (séchage atmosphérique, séchage sous vide et lyophilisation) laisse apparaître des résultats très encourageants (supérieur à 50 %), dont la meilleure solubilité (93,75 %) est obtenue par l'application de la lyophilisation. Aussi, le séchage sous vide (au couple 25°C/35mmHg) donne le même résultat que la lyophilisation, mais avec un coût et temps inférieurs.

- Les différences observées dans le même procédé expliquent la sensibilité des protéines. Les différences entre les trois procédés expliquent l'effet direct du procédé de séchage sur cette propriété fonctionnelle. D'où l'intérêt d'étudier cette influence.
- La solubilité est une propriété fonctionnelle qui a un effet sur la qualité organoleptique ; la baisse de solubilité a une incidence sur la facilité d'incorporation des protéines dans les aliments et les défauts de texture possibles. De ce fait, sur le plan technologique, nos résultats montrent que ces protéines seront fortement efficaces dans les processus de gélification, émulsification. Les particules de protéines donnent une haute et rapide dispersion, la diffusion des protéines à travers eau /air ou l'eau/huile est remarquable.
- Sur le plan nutritionnel, cette forte teneur en protéines solubles contribue à l'augmentation de la digestibilité par rapport aux protéines insolubles.

D'autre part,

- L'effet du vide sur les différentes caractéristiques de qualité n'était pas intensivement étudié, jusqu'à maintenant.
- Actuellement la perte de solubilité a été employée comme indication pour la perte de fonctionnalité et un moyen de mesure de la dénaturation.

A l'issue de notre travail, on peut tirer les perspectives suivantes :

- Dans le contexte d'application du vide, il est important de connaitre les effets du vide sur les réactions chimiques est biochimiques, qui peuvent aboutir aux changements indésirables ou détérioration de la qualité attribuée.
- Sur le même axe, il est intéressant d'étudier la relation entre solubilité et les autres propriétés fonctionnelle de *S. cerevisiae.*
- Il est intéressant d'étudier parallèlement la qualité nutritionnelle et organoleptique des protéines de *S. cerevisiae.*
- Accompagner cette étude avec une autre qui traite le devenir des vitamines surtout de groupe B.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Abd El-aal. H., Hamza M. A., Rahma E. H., 1986**. In vitro digestibility. Physico-chemical and functional properties of apricot kernel proteins. *Journal of Food Chemistry,* **19**: 197-211.

- **Acourene S., Khalid A., Bacha A., Tama M., Taleb B., 2007**. Optimization of bakery yeast production cultivated on musts of dates. *Journal of Applied Sciences Research*, **3** (10): 964-971.

- **Acourene S., Tama M., 2001**. Utilisation des Dattes de Faible Valeur Marchande (Rebuts de Deglet-Nour, Tinissine et Tantboucht) Comme Substrat pour la Fabrication de la Levure Boulangère. *Revue d'Energies Renouvelables. Production et Valorisation-Biomasse*, pp 01-10.

- **Acourene S., Tama M., 1997.** Caractérisation physico-chimique des principaux cultivars de dattes de la région de Ziban. *Revue de Recherche Agronomique*, pp 59 - 66.

- **Adamiec J., Kamin´ski W., Markowski A. S., Strumiłło C., 2006.** Drying of Biotechnological Products. In: Handbook of Industrial Drying. (3th Ed) Taylor & Francis Group, LLC. New-York, pp 931-954.

- **ADEME, 2006.** Le séchage thermique. (Ed) ADEME, DABEE, Département industrie et agriculture. France, pp 1-26.

- **Adrian J., Legrand G., Fragne R., 1981**. Dictionnaire de biochimie alimentaire et de nutrition. (Ed) Technique et Documentation. Paris, 233p.

- **Adrian J., Regine F., 1986.** La science alimentaire de A à Z. (Ed) Technique et documentation-Lavoisier. Paris, pp 152-161.

- **AFNOR, 1986.** Produits dérivés des fruits. (2^{éme} Ed) AFNOR-TourEurope, pp 81-85.

- **Albers E., Larsson C., Liden G., Niklesson C., Gusta F., 2003.** Continous estimation of product concentration with calorimtry and gas analysis during anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Thermochimica-acta*, **394** :185-190.

- **Alias C., Linden G., 1994.** Biochimie alimentaire. (Ed) Masson. Paris, Milan, Barcelone, 244 p.

- **Alogaidi H. K. H., 1981.** Production of single cell protein from yeast growing on date Juice (variety Zahdi). *Technical Bulletion*, **81** (1): 1-15.

- **Aluko R. E., Yada R. Y., 1993**. Relationship of hydrophobicity and solubility with some functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata)* protein isolate. *Journal of Science and Food Agriculture*, (6)**:** 331-335.

- **AOAC. , 1980.** Official methods of analysis. (13^{iéme} Ed).Washington, DC, Association of Analytical Chemists.

- **Audigie C., 1978.** Manipulation d'analyse biochimique. (Ed) Doin. Paris, pp 27-74.

- **Audigie C., Dupont G., Zonszain F., 1983.** Principes des méthodes d'analyse biochimique. Tome II. (Ed) Doin. Paris, 144 p.

- **Badid N., Moussaoui A., Belbraoue S., 2001.** Production de protéine d'organisme unicellulaire cultivé sur Corn Steep Liquor et évaluation nutritionnelle de la biomasse. *Revue Energies Renouvelables. Production et Valorisation-Biomasse*, pp 11-18.

- **Baduel P., 2002.** Fermentation et principale applications alimentaire. *Revue de Techniques de l'ingénieur. Génie de procédés*, n° J6003 :1-5.

- **Bauer W., Raetz E., 1992**. Fermentation et Technologie enzymatique. Lausanne, 62 p.

- **Baurat G., 1992.** Fermentation. Propriétés des microorganismes. *Revue de Technique de l'ingénieur. Génie de procédés*, n° J6002: 1-10.

- **Belguedj M., 2002.** Caractéristiques des cultivars de dattiers dans les palmeraies sud-est Algériens. (Ed) Dossier-Document-Débat, 289p.

- **Bernard E. A. et Carlier H., 1992**. Aspect nutritionnel des constituants des aliments. Influence des technologies. (Ed) Technique et Documentation. Paris, 313 p.

- **Bernard P., 1995.** La lyophilisation dans les industries agroalimentaires. (Ed) Compagnie française d'édition, 149 p.

- **Bessh R., Touzi R., 2001.** Production de protéines d'organisme unicellulaire (P.O.U) à partir de déchet des dattes. *Revue Energies Renouvelables. Production et Valorisation-Biomasse*, pp 37-40.

- **Bimbenet J. J., 1984.** Le séchage dans les industries agricoles et alimentaires. (2^{éme} Ed) SPAIC. Paris, 31 p.

- **Bimbenet J. J. Bonazzi C., 2003.** Séchage des produits alimentaires. Principes. *Revue de Technique de l'ingénieur. Agroalimentaire,* n° F3000: 1- 14.

- **Bimbenet J. J., Bonazzi C. O., Dumouline E., 2002.** Séchage, cuisson, cuisson-extrusion. In : Génie des procédés alimentaires. (Ed) DUNOD. Paris, pp 391- 426.

- **Benseguni A., Chikhi A., 2006.** Biochimie 1: Les protéines. (Ed) Licence STE, pp 1-54.

- **Booij I., Piombo G., Risterucci J. M., Coupe M., Thomas D., Ferry M., 1992.** Etude de la composition chimique de dattes à différents stades de maturité pour la caractérisation variétale de divers cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.). Journal des Fruits*, **47** (6) : 667-678.

- **Booij I., Piumbo G., Ristervcci J. M., Thomas D., Ferry M., 1993.** Sugar and Free Amino acid composition of five cultivars of dates from offshoots or vitro plants in open fields. *Journal of Agriculture and Food chemistry*, **41**: 1553-1557.

- **Botton B., Breton A., Fevre M., Gauttier S., Guy Ph., Anglier Y., Vayssier P., 1985.** Moisissures utiles et nuisibles. Importance Industrielles. (1ére Ed) Masson. Paris, pp : 11-303**.**

- **Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy Ph., Larpent J. P., Reymond P., Sanaler J. J., Vayssier Y., Veau P., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles. Importance Industrielles. (2éme Ed) Masson. Paris, Milan, Mexico, pp 135-320.

- **Bouix M., Leveau J.Y., 1993.** Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel. (Ed) Lavoisier. Paris, 512 p.

- **Boulanger P., Lemoigne M., Javillier M., Plonovoski M., Florkin M., Roche J., Wurmer R., 1959.** Traité de biochimie générale. Tome : I. Composition chimique des organismes. (Ed) Masson et Cie. Paris, 1475p.

- **Boulton Ch. A., Briggs D. E., Brookes P.A., Stevens R., 2001.** Brewing Science and practice. (Ed) Woodhead Publishing Limited and CRC Press, LLC. England, USA., pp: 379-557.

- **Bourgeois C. M., Larpent J., 1996.** Microbiologie alimentaire. Vol. II: Aliments fermentés et fermentation alimentaire. (Ed) Lavoisier. Paris, 523 p.

- **Bourgeois C. M., Leveau J. Y., 1991.** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Vol. III: Le contrôle microbiologique. (Ed) Lavoisier. Paris, 451 p.

- **Bourgeois C. M., Mescle J. F., Zucca J., 1996.** Microbiologie alimentaire. Tome I: Aspect microbiologique de la sécurité et la qualité des aliments. (Ed) Technologie et documentation-Lavoisier. Londres, New York, Paris, 672 p.

- **Brennan G., 2006**. Food Processing Handbook. (Ed) WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGA, Weinheim, Germany, pp 71-121.

- **Cepeda E., Villaren M. C., Arnguiz N., 1998.** Functional properties of faba bean (*Vicia faba*) protein flour dried by spray drying and freeze-drying. *Journal of Food Engineering,* (**36**) : 303-309.

- **Charreau A., Cavaillé R., 2003a.** Séchage théorie et calculs. *Revue de Techniques de l'ingénieur. Génie de procédé*, n° J2480 : 1-22.

- **Charreau A., Cavaillé R., 2003b.** Séchage. Appareillage et choix d'un procédé. *Revue de Technique de l'ingénieur. Génie de procédés,* n° J2481 : 1-6.

- **Cheftel J. C., Cheftel H., 1976.** Introduction à la biochimie et la technologie des aliments. Vol. I. (Ed) Technique et documentation-Lavoisier, Paris, 320 p.

- **Cheftel J. C., Cheftel H., Besançon P., 1979.** Introduction à la biochimie et la technologie des aliments. Vol. II. (Ed) Technique et documentation-Lavoisier. Paris, 420p.

- **Cheftel J. C., Cuq J. L., Lorient D., 1985.** Protéines alimentaires : Biochimie, propriétés fonctionnelles, valeur nutritionnelle, modification chimiques. (Ed) Technique et Documentation-Lavoisier. Paris, 309 p.

- **Chibane H. 2008.** Aptitudes Technologiques de Quelques Variétés Communes de Dattes : Formulation d'un Yaourt Naturellement Sucré et Aromatisé. Thèse de doctorat en génie alimentaire. Université de Boumerdes. Algérie, 127 p.

- **Chin J. T., Wheeler S. L., Klibanov A. M., 1994.** Communication to the Editor on Protein Solubility in Organic Solvent. *Journal of Biotechnology and Bioengineering*, (44): 140-145.

- **CIQUAL, CNEVA, 1993.** Répertoire générale des aliments. Tome3. Table de composition des fruits exotiques, Fruits de cueillette d'Afrique. (Ed) Technique et documentation-Lavoisier, INRA, ARSTOM. Paris, 209 p.

- **Cognart P., Nonus M., Kergoat F., Lebeault J. M., 2000.** Fermentation industrielle. Conception et réalisation. *Revue de Technique de l'ingénieur. Génie de procédé*, n° J6006 :1- 18.

- **Comonis J. H., 1990.** Modélisation de l'activité des protéines RAS et régulation de cycle de division cellulaire de la levure *S. cerevisiae*, Thèse de doctorat. Université Laval. Canada, 192 p.

- **Cook J. A., Furr J.R., 1952.** Sugars in The fruit of soft. Semi-dry and dry commercial date varieties. *Date Growers. Institute Repport*, **3** (29) 15 p.

- **Costes C., 1981.** Technologie d'analyse et de contrôle dans les industries alimentaires. Vol. IV : Principe des techniques d'analyse. (Ed) Doin. Deren et Cie, 240 p.

- **Deneuville F., 1991.** Génie fermentaire. Travaux pratique. Doin. Paris, 126 p.

- **Dilmi-Bouras A., 2004.** Biochimie alimentaire. (Ed) Office des publications universitaires. Alger, 110 p.

- **Dowson V. H. W., Aten A., 1963.** Composition and maturation of dates. In: Récolte et conditionnement des dattes. Cahier 72. (Ed) F.A.O. Rome, 398 p.

- **Dudez P., 2002.** Le séchage solaire à petite échelle des fruits et légumes. Le mémento de l'agronome. (Ed) Bibliothèque CIRAD-GRET-MAE. Paris, 56 p.

- **Estanove, P., 1990.** Note technique : Valorisation de la datte. In : Options méditerranéennes. Série A. Vol. 11. Systèmes agricoles oasiens. (Ed) CIHEAM, pp 301-318.

- **Etournaud A., 1999.** Contrôle des denrées alimentaires. (Ed) sciences alimentaire-laboratoire cantonal. Paris, pp 46-54.

- **Fennema O. R., 1996.** Food chemistry. (3^{éme} Ed) Marcel Dekker, INC. New-York, Basel, Hong Kong, pp 321-430.

- **Florkin M., Javillier M., Plonovski M., 1959.** Traité de la biochimie générale. Tome I : composition chimique des organismes. Deuxième fascicule. (Ed) Masson. Paris, pp 708-1475.

- **Fellows P., 2000.** Food processing technology. Principles and Practice**.** (Ed) Woodhead Publishing Limited Abington Hall, Cambridge CB1 6AH, CRC Press LLC. Abington, England, pp: 342-354**.**

- **Frénot M., Vierling E., 2006.** Biochimie des aliments diététique du sujet bien portant. (Ed) Biosciences et Techniques, Doin, Cndp. Paris. pp 23-109.

- **Galzy P., Guiraud J., 1980.** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. (Ed) L'usine nouvelle. Paris, 236 p.

- **Girard H., Rougieux R., 1958.** Technique de microbiologie agricole. (Ed) Dunod, Paris, pp 80-90.

- **Guiraud J. P., 1996.** Microbiologie alimentaire. (Ed) Dunod. Paris, pp 9-320.

- **Jovanovic N., Bouchard A., Hofland G. W., Witkamp G. J., Crommelin D. J. A., Jiskoot., 2006.** Distinct effect of sucrose and trehalose on protein stability during supercritical fluid drying and freeze-drying. *European Journal of pharmaceutical sciences, **27***: 336-345.

- **Khalid E. K., Babiker E. E., El Tinay A. H., 2003.** Solubility and functional properties of sesame seed proteins as influenced by pH and/ or salt concentration. *Journal of Food Chemistry*, **82**: 361-366.

- **Kompany E., Allaf. J. M., Guigon A., Maureaux A., 1990.** Nouveau procédé de déshydratation des fruits et légumes à réhydration rapide. (Ed) Actualité des industries alimentaires et agro-alimentaires, pp 54-59.

- **Larpent J. P., 1991.** Biotechnologie des levures. (Ed) Masson. Paris, 426 p.

- **Larpent J. P., 1992.** La microbiologie de la fermentation panaire. (Ed) Technologie et documentation. Cedex, 51 p.

- **Larpent J. P., Gourgoud M., 1985.** Elément de microbiologie. (Ed) Herman. Paris, 464 p.

- **Leclerc H., Gaillard J. L., Simonet M., 1995.** Microbiologie générale. (Ed) Doin. Paris, 535p (www.lrmh.culture.fr/lrmh/w_publications/microbio/bact2.htm. Consulté le: 13/03/2006).

- **Lecoq R. 1965,** Manuel d'analyse alimentaire et d'expertise usuelle. (Ed) Doin. Derren et Cie, 243p.

- **Lee S. Y., Morr Charles V., Ha Ewan Y. W., 1992.** Structural and Functional Properties of Caseinate and Whey Protein Isolate as Affected by Temperature and pH. *Journal of Food Science*, **5** (57): 1210-1229.

- **Leeratanarak N. Devahastin S., Chiewchan N., 2005.** Modeling of drying of some vegetable. *Journal of Food Engineering*, (26): 512-517.

- **Liapi A. I., Bruttini R., 2006.** Freeze Drying. In: handbook of industrial drying. (Ed) Taylor & Francis Group, LLC, pp 257-281.

- **Linden G., 1981.** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Vol. II: Principe des techniques d'analyse. (Ed) Collection Science et Technique Agroalimentaire. Paris, 434 p.

- **Linden G., Lorient D., 1994.** Biochimie agro-industrielle. Valorisation alimentaire de la production agricole. (Ed) Masson. Paris, Milon, Barcelone, 359 p.

- **Loïez A. 2003.** Production de la levure de panification par biotechnologie. *Revue de Techniques de l'ingénieur. Bioprocédés*, n° J6013 : 1-11.

- **Lorient D., 2003.** Modification biochimique des constituants alimentaires. *Revue de Technique de l'ingénieur. Génie de procédés*, n° F3400 : 1-20.

- **Mafart P., 1996.** Génie Industriel Alimentaire. Tome I. Les procédés physiques de la conservation. (2éme Ed) Technique et Documentation. Paris, pp 5-21.

- **Marin N., René F., 2000.** Lyophilisation. *Revue de Technique de l'ingénieur. Agroalimentaire*, n° F2400 : 1-9.

- **Mazoyer M., 2002.** Larousse agricole. (Ed) Larousse. Montréal. Québec, 767 p.

- **Monod J., 1942.** Recherche sur la croissance des cultures bactériennes. (Ed) Hermanet et Cie. Paris, 210 p.

- **Munier P., 1973.** Le palmier dattier. (Ed) Moissonneuse et Larousse. Paris, 217 p.

- **Nakai S., 1983.** Structure-function relationships of food proteins with an emphasis on the importance of protein hydrophobicity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **(**31**) :** 676-683.

- **Navarre J. P., 1974.** Manuel d'œnologie. (2éme Ed) Bailliére. Paris, 218 p.

- **Oetjen G. W., Haseley P., 2004**. Freeze-Drying. (2ed Ed) WILEY-VCH Verlag GmbH et Co. KGaA, Weinheim, Germany. 408 p.

- **OND, 1992.** Transformation et valorisation des dattes et sous produits des dattes. Recueil des recommandations. Symposium de la datte, 24 et 15 Novembre.

- **Ould El-Hadj M. D., 2001.** Etude comparative de la productivité d'alcool brut de dattes selon les variétés, *Revue de Recherche Agronomique*, **9** : 91-99.

- **Ould El-Hadj M. D., Bitour Z., Sibou Keur O., 2006.** Etude de la production de Levure boulangère (*Saccharomyces cerevisiae*) Cultivé sur mout de rebut de dattes « Production engineering of date rejet ». *Revue de Courrier de Savoir*, **7** :13-18.

- **Peyron G., 2000.** Cultiver le palmier-dattier. (Ed) Groupe de recherche et d'information. Paris, pp 19-22.

- **René F., Genin N., Schott G., 1996.** Maîtrise de la qualité sensorielle des produits déshydratés en relation avec la matière première et les conditions opératoires de la lyophilisation. I.A.A, volume 113, pp : 87-90.

- **René F., Genin N., 1998.** Industries alimentaires et agricoles. Mensuel- 155e année Janvier- Février. Paris, pp 19-28.

- **Revuz B. M., 1979.** Yeasts production on molasses. In: Microbiology and food industry. Tome IV. (Ed) APRIA. Proceedings of the international congress, 7th to 12th October. Paris, pp 113-121.

- **Reynes M., Bouabidi H., Piombo G., Risterucci A. M., 1994.** Caractérisation des principales variétés de dattes cultivées dans la région du Djérid en Tunisie. *Journal de Fruits*, **49** (4) : 289-298.

- **Richardson Ph., 2001.** Thermal technologies in food in processing. (Ed) Woodhead publishing limited, CRC press LLC. Boston, New York, Washington. USA, England, 304 p.

- **Rivière J., 1970.** Microbiologie industrielle et génie biochimique. (Ed) Masson. Paris, 559 p.

- **Rivière J., 1975.** Les applications industrielles de la microbiologie. (Ed) Masson et Cie. Paris, 129 p.

- **Rossenow M. A., Magee C. L., Williams J. C., Allen J. P., 2002.** The influence of detergents on the solubility of membrane proteins. *Journal of Biological Crystallography,* **58:** 2076–2081.

- **Rygg G. L., 1977.** Date development. Handling and Packing In the United States. (Ed) United States Department of Agriculture Washington. DC, (482): 41-49.

- **Salem S. A., Hegazi S.M., 1971.** The chemical composition of Egyptian dry dates. *Journal of Science of Food and Agriculture*, **22**: 632-633.

- **Saravacos G. D., 1995.** Drying. Engineering properties of foods. (Ed) H and RAO M.A, pp: 169- 221.

- **Sawaya W. N., Khalil J. K., Safi W. N., Alhat A. S., 1983.** Physical and chemical characterization of three Saudi date cultivars at various stages of development. *Journal of Food Science*, **16** (2): 087-091.

- **Scopes R. K., 1994.** Protein purification - principles and practice. (3^{éme} Ed) Springer-Verlag. New-York, pp 71-78.

- **Scriban R., 1990.** Les industries agricoles et alimentaires. (Ed) Technologie et documentation-Lavoisier. Paris, 804 p.

- **Scriban R., 1997.** Biotechnologie. (Ed) Technique et documentation-Lavoisier. Paris, 932 p.

- **Scriban R., 1999.** Biotechnologie. (5^{éme} Ed) Technique et documentation-Lavoisier. Bruxelles, Londres, New-York, Paris, 1017 p.

- **Simon R., Munier P., 1970.** Microbiologie industrielle et génie biochimique. (Ed) Masson et Cie. Paris, 559 p.

- **Siret C. 2002.** Les composants chimiques des produits alimentaires. *Revue de technique de l'ingénieur. Agroalimentaire*, n° F1010 : 1-19.

- **Sultanem C., 2004.** Film et bulles de protéines soluble: structure, introduction et perméabilité au gaz. Thèse de doctorat. Université paris XI, UFR scientifique d'Orsay. France, pp 3-47.

- **Tallal A., Jannot Y., Kapseau C., Nganhou G., 2001**. Sciences des aliments. *International Journal of Food Science and Technology*, **21** (2): 499-518.

- **Tan T., Gao H., Zhang M., 2003**. Ergosterol production by Fed-batch fermentation of *Saccharomyces cerevisiae. Journal of Enzyme and Microbial Technology,* (33): 366-370.

- **Thuriaux M., 2004.** Les organismes modèles. La levure. (Ed) Declin. Paris, 144 p.

- **Toĝrul H., 2005.** Suitable drying model for infrared drying of carrot. *Journal of food Engineering*, (55): 452-472.

- **Tortora G., Funke B. R., Case C. L., Martin L., 2003.** Introduction à la microbiologie. (Ed) ERPI. Paris, pp 4-869.

- **Wagner J. R., Anon M. C., 1990.** Influence of denaturation, hydrophobicity and sulfhydryl content on solubility and water absorbing capacity of soy protein isolate. *Journal of Food Science,* **55**: 765-770.

- **Wong P. Y. Y., Kitts D. D., 2003.** A comparison of the buttermilk solids functional properties to nonfat dried milk, Soy protein isolate, dried egg white and egg yolk powders. *Journal of Dairy Science,* **86** (3): 746-754.

- **Wu H., Wu D. Y., 2006.** Nature of heat denaturation of protein. *Journal of biological chemistry*, (4): 369-378.

- **Yousie A. K., Benjamin N.D., Kado A., Shefa M.E. , Saad M. A., 1982.** Chemical composition of Four Iraqi Date cultivars. *Date Palm Journal*, **1** (2): 285-295.

- **Yu J., Ahmedna M., Goktepe I., 2007.** Peanut proteins concentrate: Production and functional properties as affected by processing. *Journal of Food Chemistry,* **103**: 121-129.

- **Zhongshui Y., Jhonston K. P., Milliams III R. O., 2006**. Spray freezing into liquid versus spray-freeze drying: influence of protein atomization on protein aggregation and biological activity. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **27**: 9-18.

Annexes

Annexes 1 :

Tableau 27: Composition des dattes sèches, pulpe et peau (*Phoenix dactyliferafa L.)* (CIQUAL, 1993).

Composants	proportions (moyenne)
Eau	17,5
Glucides ((g/100g)	65.5
Protéines (g/100g)	2.50
Lipides (g/100g)	0.10
Fibres alimentaire (g/100g)	7.10
Apports énergétiques	
K calories/g	287.0
K joules /g	1200.0
Vitamines (mg/100g)	
Vitamine C (acide ascorbique)	2.0
Provitamine A (carotène)	0.03
Vitamine B1 (thiamine)	0.06
Vitamine B2 (riboflavine)	0.10
Vitamine B3 ou PP (nicotinamide)	1.70
Vitamine B5 (ac.panothénique)	0.80
Vitamine B6 (pyridoxine)	0.150
Vitamine B9 (acide folique)	0.028
Minéraux (mg/100g)	
Potassium	677.00
Phosphore	74.00
Calcium	62.00
Magnésium	58.00
Sodium	3.00
Fer	3.00
zinc	0.32
cuivre	0.31
Acides aminés (mg /100g)	
Acide aspartique	174.00
Acide glutamique	258.00
Sérine	88.00
Glycine	130.00
Thréonine	69.00
Alanine	130.00
Lysine	72.00
Arginine	68.00
Valine	88.00
Leucine	103.00
Isoleucine	64.00
Tyrosine	26.00
Tryptophane	66.00

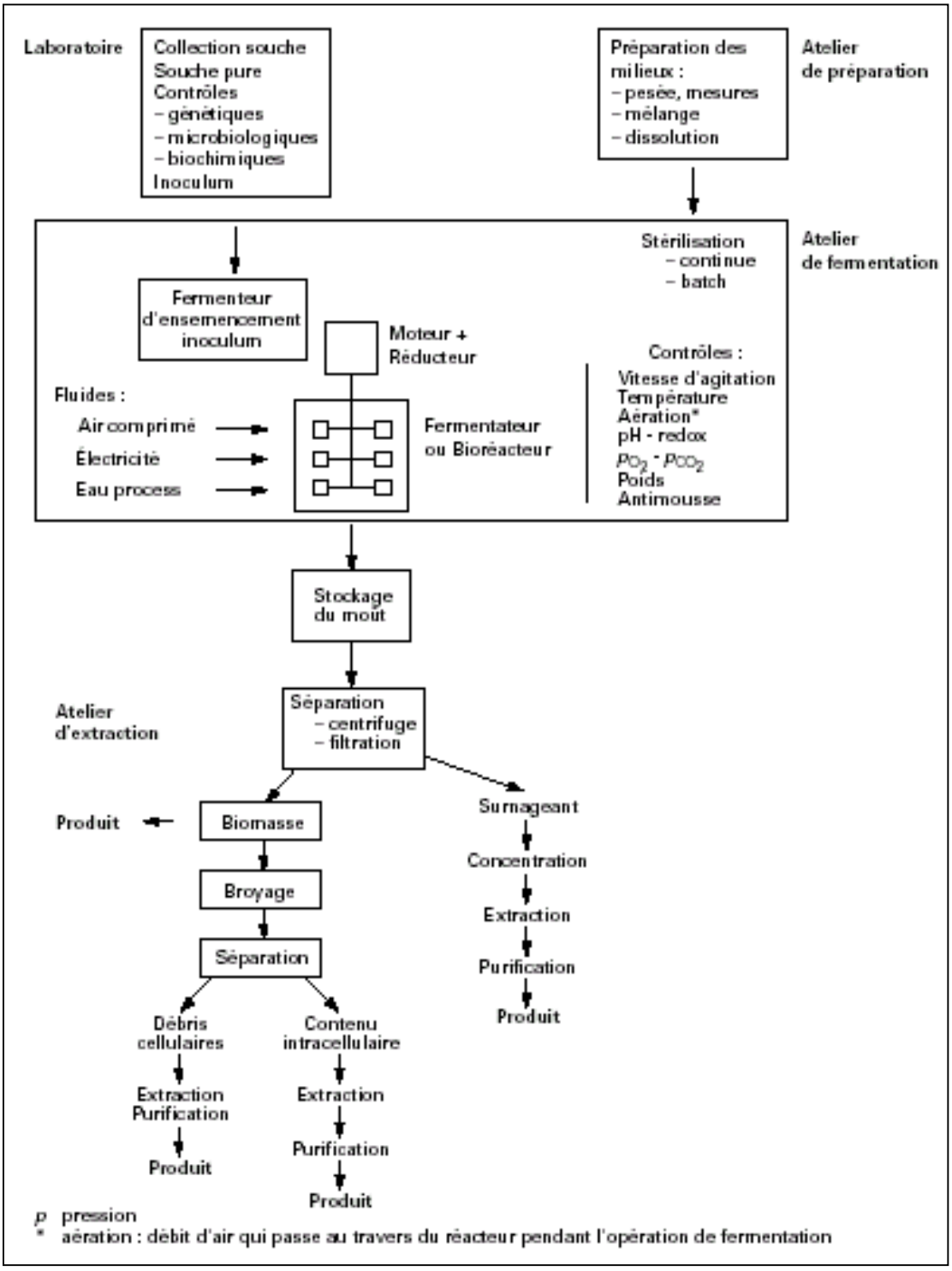


Schéma 07 : Schéma de principe des procédés fermentaires (Cognart et al., 2000).

Tableau 28 : Gamme étalon de Glucose à 0,01% pour les sucres totaux (Méthode Dubois).

Quantité de glucose en ml	0	0,4	0,8	1,2	1,6	2
Eau distillée en ml	2	1,6	1,2	0,8	0,4	0
Concentration en µ g /ml.	0	40	80	120	160	200
Densité optique.	**0**	**0,08**	**0,14**	**0,20**	**0,26**	**0,38**

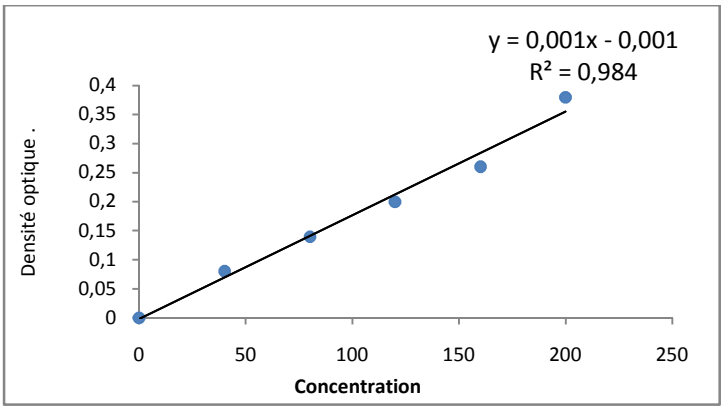


Figure N° 28 : Courbe étalon du glucose à 0,01%

La liqueur de Fehling :

- **Solution de Fehling A** :
  - $CUSO_4$ ……...40 g/l ;
  - H_2SO_4 ……05 ml ;
  - Eau distillée : ……..……100ml.
- **Solution de Fehling B** :
  - Tartrate double de Na et de K……...200g / l ;
  - NaOH :……...…....150 ml ;
  - Eau distillée……..…100 ml.

La composition du milieu Sabouraud :

- Peptone de viande……..…5 g ;
- Peptone de caséine…….….5g ;
- Glucose…….20g ;
- Gélose à 2%

  Ajuster à un pH de 6.3

Préparation du milieu Sabouraud :

- Peser 4.7 g de milieu Sabouraud
- Ajouter 100ml d'eau distillée ;
- Le milieu préparé est réparti sur dix tubes à essai, à raison de 10 ml par tube ;
- Ensuite autoclaver l'ensemble à 120 °C pendant 20 mn ;
- Laisser refroidir les tubes à l'état inclinée.

Composition du milieu Carlsberg :

- Extrait de levure……..…….....…..5g ;
- Saccharose……..…..……10g ;
- Sulfate de magnésium $MgSO_4$ à 20%.....0.5g ;
- Dihydrogénophosphate d'ammonium$(NH_4)_2$ H_2PO_4 à 20%.....0.5g ;
- Eau distillée……..…….....……100 ml.

Ajuster le pH entre 4,5 et 5.

Composition de la solution minérale :

- Urée $(NH_2)_2CO_2$.....12.70 g ;
- Dihydrogénophosphate d'ammonium $(NH4)_2H_2PO_4$ 20%..... ….....4.80 g ;
- Sulfate de magnésium Mg SO_4.....0.44 g ;
- Sulfate d'ammonium NH_4SO_4..... 5.30 g ;
- Eau distillée……...…….……..1 l.

(Deneuville, 1991)

Détermination de pH

➢ **Principe :**

Il est basé sur la détermination en unité pH de la différence de potentiel existant entre deux électrodes prolongées dans une solution de la pulpe de datte broyée.

➢ **Mode opératoire :**

- Broyer 10 ml de la pulpe de la datte.
- Ajouter 25 ml de l'eau distillée.
- Agiter pendant demi-heure.
- Mesurer le pH par le pH-mètre (Chibane, 2008).

Cinétique de la croissance microbienne

La courbe donnant la quantité de biomasse microbienne en fonction de temps a l'allure suivante :

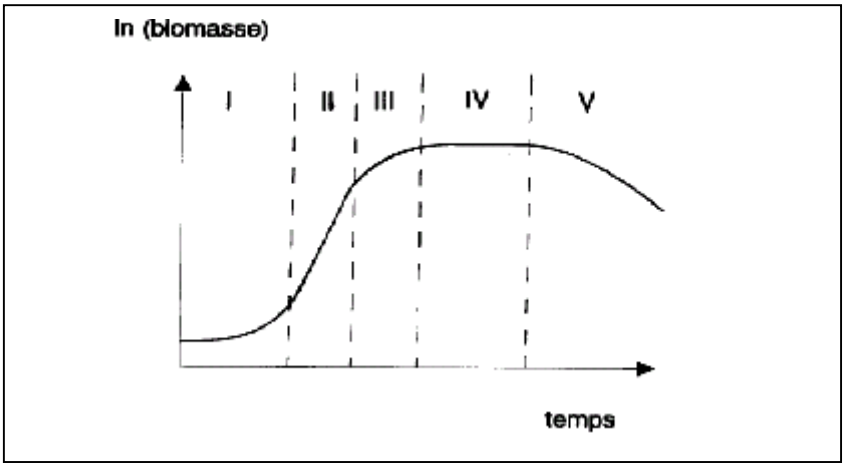


Figure 29 : Croissance de *S. cerevisiae* en culture continu (Bauer et Raetz, 1992 ; Baurat , 1992).

- **Phase d'adaptation (I)** aux nouvelles conditions.
- **Phase exponentielle (II)** de croissance rapide, Cette phase se caractérise par l'absence de limitation due au manque de substrat.
- **Phase de croissance décélérée (III)** le nutriment essentiel est épuisé, le milieu devient carencé, La diminution du taux de croissance peut également être due à l'apparition d'un produit toxique.
- **Phase stationnaire (IV)** est atteinte lorsque le taux de croissance est nul. La biomasse reste constante, cette phase permet de déterminer les rendements.
- **Phase de mortalité (V)** pendant laquelle le nombre de cellules diminue due à la lyse de cellules (Bauer et Raetz, 1992 ; Baurat , 1992).

Tableau 29 : Teneurs en acides aminés essentiels des protéines des denrées alimentaires (mg/g N) (Dilmi-bouras , 2004).

Sources	trp	phe	met	lys	thr	leu	ile	val
FAO/OMS	90	180	140	270	180	300	270	270
viande	80	260	150	510	200	490	320	330
oeuf	110	330	190	420	330	560	360	450
lait	90	310	150	490	290	630	400	440
blé	80	290	100	170	180	400	240	270
maïs	50	300	130	190	260	750	250	350
riz	90	320	140	220	240	510	270	370
petit pois	50	320	80	420	240	450	360	360
pomme de terre	65	220	160	230	160	290	370	270
soja	80	300	80	390	240	480	330	320
arachide	70	310	70	220	160	400	210	260
coton		340	00	270	190	360	210	290
tournesol		300	150	230	230	400	270	320
colza	70	150	80	230	170	260	170	210
Saccharomyces	90	320	90	630	320	500	400	360
bact. méthane	190	330	150	400	310	530	310	430

Tableau 30 : Principaux traitement subis pour les constituants alimentaires (Lorient, 2003).

Traitements appliqués	Exemples
Traitements mécaniques	
Fractionnement	Épluchage, décortiquage, décantation, centrifugation, filtration
Modification de la taille des particules	Broyage, agglomération, laminage, cisaillement
Mélange	Malaxage, homogénéisation, agitation
Texturation	Emulsification, moussage, filage, plastification
Traitements physiques	
Radiations	Électromagnétiques : UV, ..., IR, hautes fréquences, micro-ondes
	Corpusculaires : ionisation (accélérateur d'électrons)
Pression hydrostatique	Hautes pressions, traitement sous vide
Traitements thermiques (chaleur)	Cuisson, pasteurisation, stérilisation (appertisation, UHT) en milieu hydraté ou peu hydraté
Traitements thermiques (froid)	Réfrigération, congélation
Traitements chimiques et enzymatiques	
Acides	Acidification par acide minéral ou par fermentation
Alcalins	Solubilisation et texturation des protéines végétales, destruction des aflatoxines
Composés carbonylés	Formol, glucides (réactions de Maillard, lipides oxydés)
Additifs	Interactions avec constituants
Modifications chimiques	Hydrogénation catalytique des lipides, interestérification des lipides, pyrodextrinisation des amidons, amidons modifiés (estérification, époxydation...)
Traitements enzymatiques	Coagulation du lait, maturation des viandes, hydrolysats protéiques, hydrolyse de l'amidon...
Traitements biologiques	
Fermentations lactiques, propioniques... par les bactéries	Fromagerie, salaisons...
Fermentations alcooliques par les levures	Boissons
Traitement par les moisissures et les champignons	Fromages

Annexes 2

Courbes expérimentales de séchage ventilé et sous vide X=*f*(t) avec leurs modèles

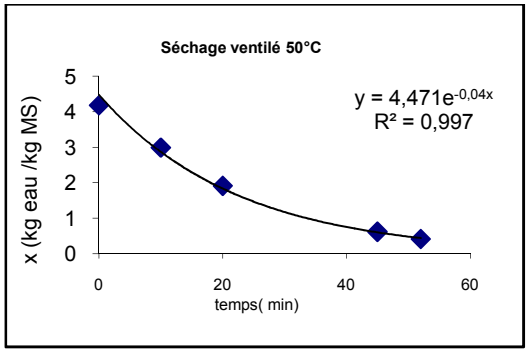


Figure 30 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 50°C

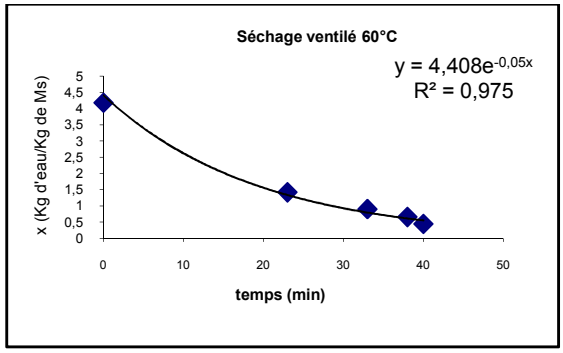


Figure 31 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 60°C

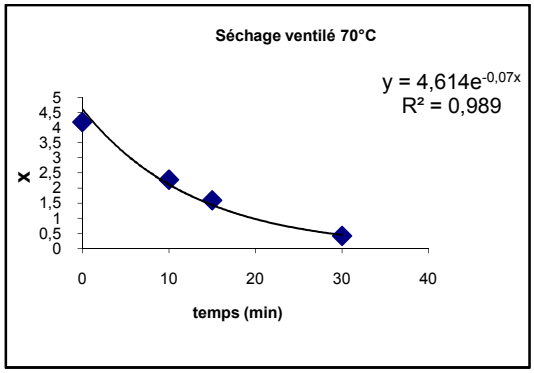


Figure 32 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 70°C

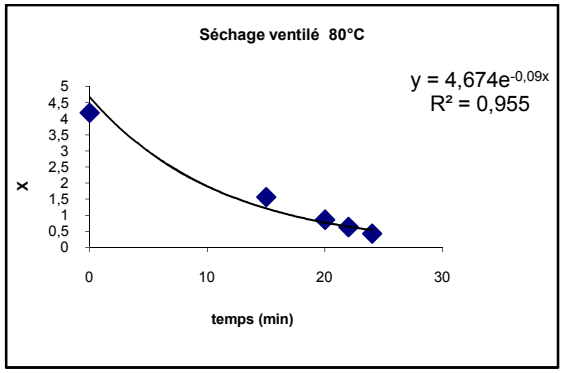


Figure 33: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 80°C

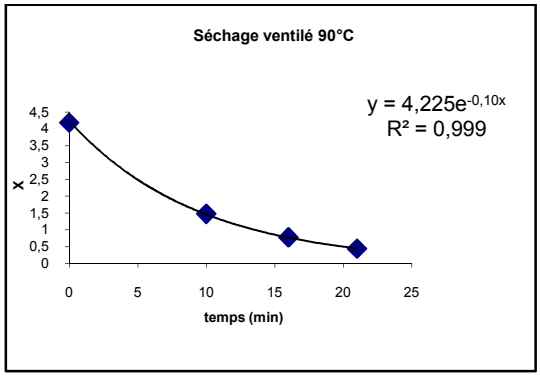


Figure 34: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 90 °C

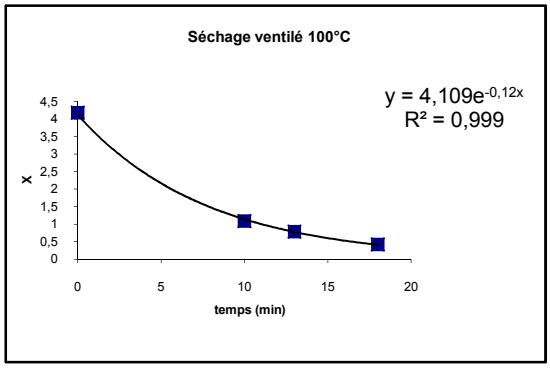


Figure 35 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 100°C

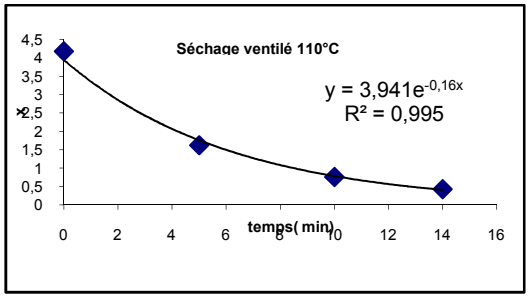


Figure 36 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 110°C.

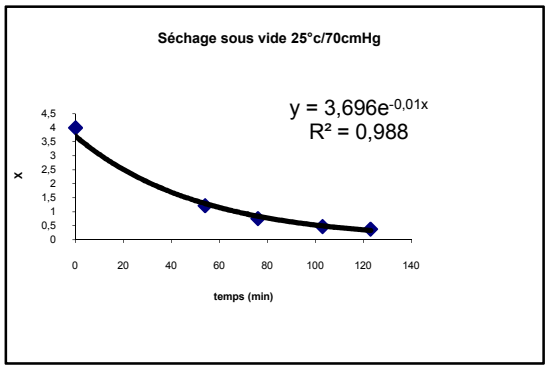


Figure 37: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 25°C/70cmHg

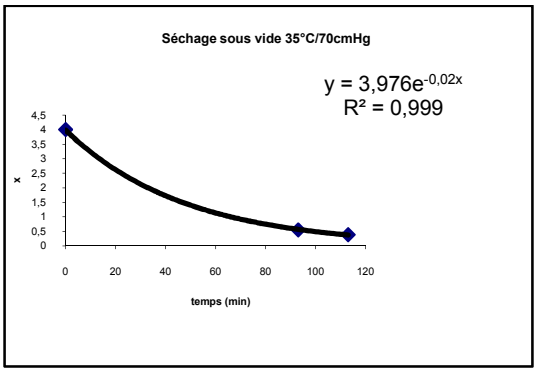


Figure 38: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 35°C/70cmHg

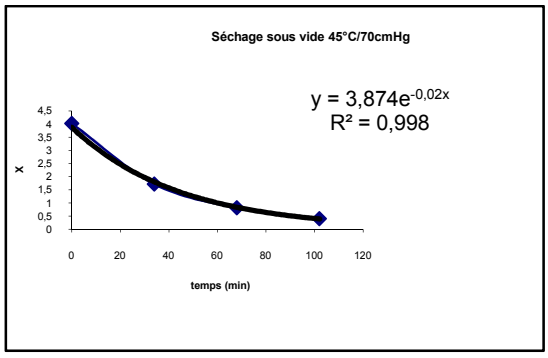


Figure 39 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 45°C/70cmHg

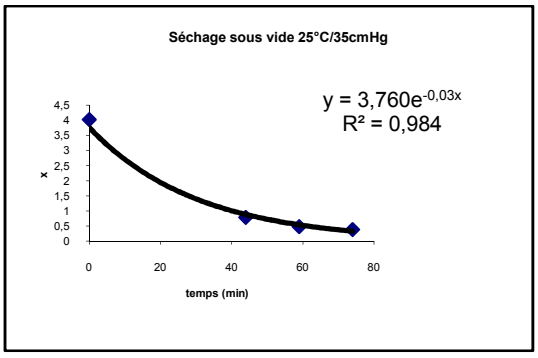


Figure 40 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 25°C/35cmHg

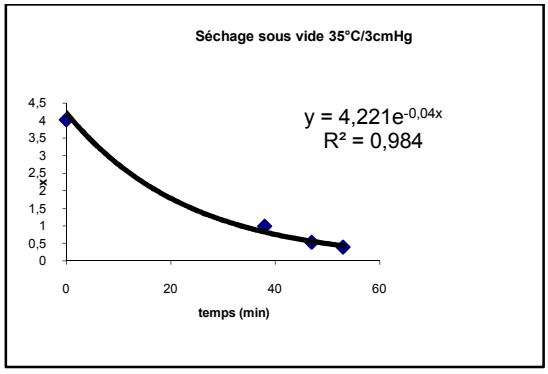


Figure 41 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 35°C/35cmHg

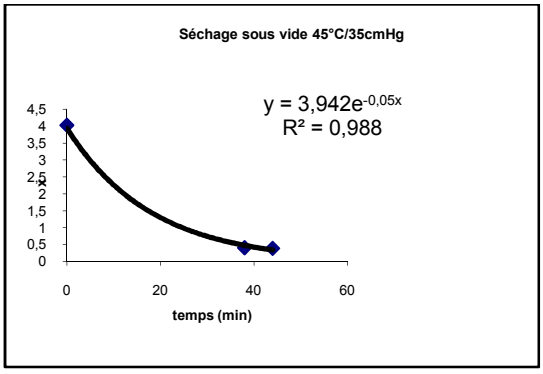


Figure 42 : Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps à 45°C/35cmHg

Tableau 31: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps (Séchage ventilé) **(**Simulation)

Temps (min)	X (50°C)	X (60°C)	X(70°C)	X(80°C)	X(90°C)	X(100°C)	X(110°C)
0	4,471	4,408	4,614	4,674	4,225	4,109	3,941
2	4,127253185	3,988523339	4,0112189	3,90405297	3,45913743	3,23225388	2,86175336
4	3,80993488	3,60896516	3,48718618	3,26093915	2,83210219	2,54258096	2,07805944
8	3,246612345	2,954770763	2,63555862	2,27508004	1,89841487	1,57330687	1,095745
10	2,997000926	2,673587148	2,29124459	1,90030659	1,55429064	1,23760702	0,79567418
12	2,766580545	2,419161692	1,99191236	1,58726949	1,27254555	0,97353616	0,57777804
14	2,553875724	2,188948019	1,73168541	1,32579892	1,04187217	0,76581067	0,41955297
16	2,357524428	1,980642074	1,50545497	1,10740034	0,85301279	0,60240801	
18	2,176269336	1,79215906	1,30877968	0,92497852	0,6983878	0,47387092	
20	2,008949799	1,621612577	1,13779839	0,772607	0,57179157		
22	1,854494398	1,467295737	0,9891544	0,64533562			
24	1,711914093	1,327664086	0,85992953	0,53902962			
26	1,580295883	1,201320144	0,74758681				
28	1,458796962	1,086999417	0,64992075				
30	1,346639321	0,983557746	0,56501396				
32	1,24310477	0,889959851					
34	1,147530334	0,805268974					
36	1,059304009	0,728637499					
38	0,977860847	0,659298474					
40	0,902679332	0,596557929					
42	0,833278047						
44	0,769212586						
46	0,710072712						
48	0,655479728						
50	0,605084051						
52	0,558562979						

Tableau 32: Evolution de la vitesse (dX/dt) en fonction du temps (Séchage ventilé) (Simulation).

Temps (min)	dX/dt (50°C)	dX/dt (60°C)	dX/dt (70°C)	dX/dt (80°C)	dX/dt (90°C)	dX/dt (000 °C)	dX/dt (110 °C)
0	0,17187341	0,20973833	0,30139055	0,38497352	0,38293128	0,43837306	0,53962332
2	0,15865915	0,18977909	0,26201636	0,32155691	0,31351762	0,34483646	0,39184696
4	0,14083063	0,1635486	0,21290689	0,24646478	0,23342183	0,24231852	0,24557861
8	0,12480571	0,14059181	0,17215701	0,18738673	0,17206212	0,16784993	0,15003541
10	0,11521019	0,12721273	0,14966612	0,15651855	0,14087255	0,13203543	0,10894807
12	0,10635241	0,11510684	0,13011347	0,13073528	0,11533669	0,10386275	0,07911254
14	0,09817565	0,10415297	0,11311522	0,10919929	0,09442969	0,08170133	
16	0,09062755	0,09424151	0,09833765	0,09121091	0,07731249	0,06426854	
18	0,08365977	0,08527324	0,08549064	0,07618576	0,06329812		
20	0,0772277	0,07715842	0,07432199	0,06363569			
22	0,07129015	0,06981583	0,06461244	0,053153			
24	0,06580911	0,06317197	0,05617136				
26	0,06074946	0,05716036	0,04883303				
28	0,05607882	0,05172084	0,0424534				
30	0,05176728	0,04679895					
32	0,04778722	0,04234544					
34	0,04411316	0,03831574					
36	0,04072158	0,03466951					
38	0,03759076	0,03137027					
40	0,03470064						
42	0,03203273						
44	0,02956994						
46	0,02729649						
48	0,02519784						
50	0,02326054						
52							

Tableau 33: Evolution de l'humidité (X) en fonction du temps (Séchage sous vide) (simulation).

Temps (min)	X (25°C/70cmHg)	X (35°C/70cmHg)	X (45°C/70cmHg)	X (25°C/35cmHg)	X (35°C/35cmHg)	X (45°C/35cmHg)
0	3,696	3,976	3,784	3,76	4,221	3,942
2	3,622814297	3,82009881	3,63562724	3,54103465	3,8964741	3,5668691
4	3,551077767	3,670310593	3,49307225	3,33482084	3,59689893	3,22743663
8	3,411838016	3,388123705	3,2245121	2,95772076	3,06507509	2,64240162
10	3,344279097	3,255273474	3,09807717	2,78547651	2,82942091	2,39094386
12	3,278057934	3,127632376	2,97659983	2,62326299	2,6118847	2,16341547
14	3,213148038	3,004996156	2,85988568	2,47049604	2,41107346	1,95753927
16	3,149523444	2,887168571	2,74774796	2,32662555	2,22570132	1,77125478
18	3,087158701	2,773961072	2,64000722	2,19113343	2,05458127	1,6026976
20	3,026028863	2,665192503	2,53649105	2,06353175	1,89661756	1,45018076
22	2,966109477	2,56068881	2,43703382	1,94336102	1,75079867	1,31217781
24	2,907376575	2,460282766	2,34147635	1,83018848	1,61619087	1,18730758
26	2,849806661	2,363813699	2,24966575	1,7236066	1,49193221	1,07432033
28	2,793376708	2,271127238	2,1614551	1,62323157	1,37722701	0,97208523
30	2,738064144	2,182075065	2,07670323	1,52870192	1,27134077	0,87957909
32	2,683846841	2,096514678	1,99527453	1,43967725	1,17359545	0,79587607
34	2,630703113	2,014309162	1,9170387	1,35583698	1,08336514	0,72013845
36	2,578611701	1,93532697	1,84187054	1,27687918	1,00007207	0,65160822
38	2,527551768	1,859441714	1,76964976	1,20251952	0,92318287	0,5895995
40	2,47750289	1,786531961	1,7002608	1,13249024	0,8522052	0,53349169
42	2,428445046	1,716481041	1,63359262	1,06653914	0,78668455	0,48272324
44	2,380358612	1,649176857	1,56953854	1,00442874	0,72620137	0,43678605
46	2,333224354	1,584511707	1,50799605	0,94593536	0,67036836	
48	2,287023416	1,522382115	1,44886668	0,89084837	0,61882799	
50	2,241737318	1,462688658	1,39205581	0,8389694	0,57125023	
52	2,197347945	1,405335815	1,33747252	0,79011163	0,52733043	
54	2,153837541	1,35023181	1,28502947	0,74409911	0,48678734	
56	2,1111887	1,297288463	1,23464274	0,70076615		
58	2,069384363	1,246421055	1,18623171	0,65995671		
60	2,028407807	1,197548187	1,1397189	0,62152382		
62	1,988242641	1,150591651	1,09502988	0,58532909		
64	1,948872799	1,105476307	1,05209314	0,55124218		
66	1,910282532	1,062129961	1,01083998	0,51914033		
68	1,872456404	1,020483249	0,97120438	0,48890795		
70	1,835379283	0,980469529	0,93312291	0,46043617		
72	1,799036338	0,942024769	0,89653464	0,43362246		
74	1,763413032	0,905087449	0,86138101	0,40837025		
78	1,694268618	0,835501019	0,79515489			
80	1,660719851	0,802740556	0,76397642			
82	1,627835395	0,771264648	0,73402048			
84	1,595602095	0,741022929	0,70523913			
86	1,564007056	0,711967004	0,6775863			
88	1,533037642	0,684050379	0,65101776			
90	1,502681462	0,65722838	0,62549099			
92	1,472926376	0,631458086	0,60096514			
94	1,443760479	0,60669826	0,57740096			
96	1,415172107	0,582909281	0,55476074			
98	1,387149821	0,560053082	0,53300826			
100	1,359682415	0,538093086	0,51210871			
102	1,332758899	0,516994154	0,49202864			
104	1,306368505	0,496722524				
106	1,280500675	0,477245755				
108	1,255145063	0,458532681				
110	1,230291525	0,440553358				
112	1,205930121	0,423279013				
114	1,182051105					
116	1,158644925					
118	1,135702218					
120	1,113213807					
122	1,091170697					

Tableau 34: Evolution de la vitesse (dX/dt) en fonction du temps (Séchage sous vide) (Simulation).

	dX /dt (25°C/70cmHg)	dX /dt 35°C/70cmHg)	dX /dt (45°C/70cmHg)	dX /dt (25°C/35cmHg)	dX /dt (35°C/35cmHg)	dX /dt (45°C/35cmHg)
0	0,03659285	0,07795059	0,07418638	0,10948268	0,16226295	0,18756545
2	0,03586826	0,07489411	0,07127749	0,1031069	0,14978758	0,16971624
4	0,03480994	0,07054672	0,06714004	0,09427502	0,13295596	0,14625875
8	0,03377946	0,06642512	0,06321746	0,08612212	0,11782709	0,12572888
10	0,03311058	0,06382055	0,06073867	0,08110676	0,10876811	0,1137642
12	0,03245495	0,06131811	0,05835707	0,07638347	0,10040562	0,1029381
14	0,0318123	0,05891379	0,05606886	0,07193524	0,09268607	0,09314225
16	0,03118237	0,05660375	0,05387037	0,06774606	0,08556002	0,08427859
18	0,03056492	0,05438428	0,05175808	0,06380084	0,07898186	0,07625842
20	0,02995969	0,05225185	0,04972862	0,06008537	0,07290944	0,06900147
22	0,02936645	0,05020302	0,04777873	0,05658627	0,0673039	0,06243511
24	0,02878496	0,04823453	0,0459053	0,05329094	0,06212933	0,05649363
26	0,02821498	0,04634323	0,04410533	0,05018752	0,0573526	0,05111755
28	0,02765628	0,04452609	0,04237593	0,04726482	0,05294312	0,04625307
30	0,02710865	0,04278019	0,04071435	0,04451233	0,04887266	0,04185151
32	0,02657186	0,04110276	0,03911792	0,04192014	0,04511515	0,03786881
34	0,02604571	0,0394911	0,03758408	0,0394789	0,04164654	0,03426512
36	0,02552997	0,03794263	0,03611039	0,03717983	0,0384446	0,03100436
38	0,02502444	0,03645488	0,03469448	0,03501464	0,03548884	0,02805391
40	0,02452892	0,03502546	0,03333409	0,03297555	0,03276032	0,02538422
42	0,02404322	0,03365209	0,03202704	0,0310552	0,03024159	0,02296859
44	0,02356713	0,03233257	0,03077124	0,02924669	0,02791651	
46	0,02310047	0,0310648	0,02956469	0,02754349	0,02577018	
48	0,02264305	0,02984673	0,02840544	0,02593949	0,02378888	
50	0,02219469	0,02867642	0,02729164	0,02442889	0,0219599	
52	0,0217552	0,027552	0,02622152	0,02300626	0,02027154	
54	0,02132442	0,02647167	0,02519336	0,02166648		
56	0,02090217	0,0254337	0,02420552	0,02040472		
58	0,02048828	0,02443643	0,02325641	0,01921644		
60	0,02008258	0,02347827	0,02234451	0,01809736		
62	0,01968492	0,02255767	0,02146837	0,01704346		
64	0,01929513	0,02167317	0,02062658	0,01605092		
66	0,01891306	0,02082336	0,0198178	0,01511619		
68	0,01853856	0,02000686	0,01904073	0,01423589		
70	0,01817147	0,01922238	0,01829414	0,01340686		
72	0,01781165	0,01846866	0,01757681	0,0126261		
74	0,0172861	0,01739661	0,01655653			
78	0,01677438	0,01638023	0,01558923			
80	0,01644223	0,01573795	0,01497797			
82	0,01611665	0,01512086	0,01439068			
84	0,01579752	0,01452796	0,01382641			
86	0,01548471	0,01395831	0,01328427			
88	0,01517809	0,013411	0,01276339			
90	0,01487754	0,01288515	0,01226293			
92	0,01458295	0,01237991	0,01178209			
94	0,01429419	0,01189449	0,01132011			
96	0,01401114	0,0114281	0,01087624			
98	0,0137337	0,01098	0,01044978			
100	0,01346176	0,01054947	0,01004003			
102	0,0131952	0,01013582				
104	0,01293391	0,00973838				
106	0,01267781	0,00935654				
108	0,01242677	0,00898966				
110	0,0121807	0,00863717				
112	0,01193951					
114	0,01170309					
116	0,01147135					
118	0,01124421					
120	0,01102156					
122						

Annaxes3

Analyse statistique

Séchage ventilé

Tableau 35 : Données expérimentales en moyennes et écart types.

	Solubilité (%)	
Température (°C)	moyenne	écart type
50°C	53,0133333	0,10503968
t60°C	75,1233333	0,91876729
70°C	76,3733333	0,35246749
80°C	75,1466667	0,33126022
90°C	62,16	1,603465
100°C	58,6633333	0,10969655
110°C	51,75	0,25

Tableau 36 : Analyse de la variance.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	6	2146,684	357,781	719,377	< 0,0001

Tableau 37 : Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% selon Fisher (LSD).

Contraste	Différence	Pr > Diff	Significatif
t70 vs t110	24,623	< 0,0001	Oui
t70 vs t50	23,360	< 0,0001	Oui
t70 vs t100	17,710	< 0,0001	Oui
t70 vs t90	14,213	< 0,0001	Oui
t70 vs t80	1,227	0,051	Non
t70 vs t60	0,583	0,328	Non
t60 vs t110	24,040	< 0,0001	Oui
t60 vs t50	22,777	< 0,0001	Oui
t60 vs t100	17,127	< 0,0001	Oui
t60 vs t90	13,630	< 0,0001	Oui
t60 vs t80	0,643	0,283	Non
t80 vs t110	23,397	< 0,0001	Oui
t80 vs t50	22,133	< 0,0001	Oui
t80 vs t100	16,483	< 0,0001	Oui
t80 vs t90	12,987	< 0,0001	Oui
t90 vs t110	10,410	< 0,0001	Oui
t90 vs t50	9,147	< 0,0001	Oui
t90 vs t100	3,497	< 0,0001	Oui
t100 vs t110	6,913	< 0,0001	Oui
t100 vs t50	5,650	< 0,0001	Oui
t50 vs t110	1,263	0,046	Oui

Séchage sous vide

Tableau 38 : Données expérimentales en moyennes et écart types.

	Solubilité (%)	
Couple T/P	**moyenne**	**écart type**
25°C/70cmHg	83,0166667	0,05859465
35°C/70cmHg	83,3466667	0,13279056
45°C/70cmHg	85,13	0,10816654
25°C/35cmHg	93,75	0,13228757
35°C/35cmHg	88,5033333	0,44117268
45°C/35cmHg	86,6766667	0,3995414

Tableau 39 : Analyse de la variance.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	332,850	66,570	3,762	0,028

Tableau 40 : Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% selon Fisher (LSD).

Contraste	Différence	Pr > Diff	Significatif
t25-p35 vs t45-p35	13,073	0,003	Oui
t25-p35 vs t25-p70	10,733	0,009	Oui
t25-p35 vs t35-p70	10,403	0,010	Oui
t25-p35 vs t45-p70	8,620	0,027	Oui
t25-p35 vs t35-p35	5,247	0,153	Non
t35-p35 vs t45-p35	7,827	0,042	Oui
t35-p35 vs t25-p70	5,487	0,136	Non
t35-p35 vs t35-p70	5,157	0,159	Non
t35-p35 vs t45-p70	3,373	0,345	Non
t45-p70 vs t45-p35	4,453	0,219	Non
t45-p70 vs t25-p70	2,113	0,550	Non
t45-p70 vs t35-p70	1,783	0,613	Non
t35-p70 vs t45-p35	2,670	0,452	Non
t35-p70 vs t25-p70	0,330	0,925	Non
t25-p70 vs t45-p35	2,340	0,509	Non

Comparaison entre les trois procédés

Tableau 41 : Données expérimentales en moyennes et écart types.

	Solubilité (%)	
paramètre	**moyenne**	**écart type**
50°C	53,0133333	0,10503968
60°C	75,1233333	0,91876729
70°C	76,3733333	0,35246749
80°C	75,1466667	0,33126022
90°C	62,16	1,603465
100°C	58,6633333	0,10969655
110°C	51,75	0,25
25°C/70cmHg	83,0166667	0,05859465
35°C/70cmHg	83,3466667	0,13279056
45°C/70cmHg	85,13	0,10816654
25°C/35cmHg	93,75	0,13228757
35°C/35cmHg	88,5033333	0,44117268
45°C/35cmHg	86,6766667	0,3995414
Lyophilisé (ly)	93,75	0,19974984
matière fraiche (MF)	97,2366667	0,12220202

Tableau 42 : Analyse de la variance.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	14	9099,042	649,932	88,853	< 0,0001

Tableau 43 : Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% selon Fisher (LSD).

Contraste	Différence	Pr > Diff	Significatif
Matière fraiche vs 110°C	45,487	< 0,0001	Oui
Matière fraiche vs 50°C	44,223	< 0,0001	Oui
Matière fraiche vs 100°C	38,573	< 0,0001	Oui
Matière fraiche vs 90°C	35,077	< 0,0001	Oui
Matière fraiche vs 80°C	22,090	< 0,0001	Oui
Matière fraiche vs 60°C	21,447	< 0,0001	Oui
Matière fraiche vs 70°C	20,863	< 0,0001	Oui
Matière fraiche vs t45-p35	16,560	< 0,0001	Oui
Matière fraiche vs t25-p70	14,220	< 0,0001	Oui
Matière fraiche vs t35-p70	13,890	< 0,0001	Oui
Matière fraiche vs t45-p70	12,107	< 0,0001	Oui
Matière fraiche vs t35-p35	8,733	0,000	Oui
Matière fraiche vs t25-p35	3,487	0,125	Non
Matière fraiche vs lyophilisé	3,487	0,125	Non
t25-p35 vs 110°C	42,000	< 0,0001	Oui
t25-p35 vs 50°C	40,737	< 0,0001	Oui
t25-p35 vs 100°C	35,087	< 0,0001	Oui
t25-p35 vs 90°C	31,590	< 0,0001	Oui
t25-p35 vs 80°C	18,603	< 0,0001	Oui
t25-p35 vs 60°C	17,960	< 0,0001	Oui

Tableau 44: Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% selon Fisher (LSD). (Suite)

Contraste	Différence	Pr > Diff	Significatif
t25-p35 vs 70°C	17,377	< 0,0001	Oui
t25-p35 vs t45-p35	13,073	< 0,0001	Oui
t25-p35 vs t25-p70	10,733	< 0,0001	Oui
t25-p35 vs t35-p70	10,403	< 0,0001	Oui
t25-p35 vs t45-p70	8,620	0,000	Oui
t25-p35 vs t35-p35	5,247	0,024	Oui
t25-p35 vs lyophilisé	0,000	1,000	Non
lyophilisé vs 110°C	42,000	< 0,0001	Oui
lyophilisé vs 50°C	40,737	< 0,0001	Oui
lyophilisé vs 100°C	35,087	< 0,0001	Oui
lyophilisé vs 90°C	31,590	< 0,0001	Oui
lyophilisé vs 80°C	18,603	< 0,0001	Oui
lyophilisé vs 60°C	17,960	< 0,0001	Oui
lyophilisé vs 70°C	17,377	< 0,0001	Oui
lyophilisé vs t45-p35	13,073	< 0,0001	Oui
lyophilisé vs t25-p70	10,733	< 0,0001	Oui
lyophilisé vs t35-p70	10,403	< 0,0001	Oui
lyophilisé vs t45-p70	8,620	0,000	Oui
lyophilisé vs t35-p35	5,247	0,024	Oui
t35-p35 vs 110°C	36,753	< 0,0001	Oui
t35-p35 vs 50°C	35,490	< 0,0001	Oui
t35-p35 vs 100°C	29,840	< 0,0001	Oui
t35-p35 vs 90°C	26,343	< 0,0001	Oui
t35-p35 vs 80°C	13,357	< 0,0001	Oui
t35-p35 vs 60°C	12,713	< 0,0001	Oui
t35-p35 vs 70°C	12,130	< 0,0001	Oui
t35-p35 vs t45-p35	7,827	0,001	Oui
t35-p35 vs t25-p70	5,487	0,019	Oui
t35-p35 vs t35-p70	5,157	0,026	Oui
t35-p35 vs t45-p70	3,373	0,137	Non
t45-p70 vs 110°C	33,380	< 0,0001	Oui
t45-p70 vs 50°C	32,117	< 0,0001	Oui
t45-p70 vs 100°C	26,467	< 0,0001	Oui
t45-p70 vs 90°C	22,970	< 0,0001	Oui
t45-p70 vs 80°C	9,983	< 0,0001	Oui
t45-p70 vs 60°C	9,340	0,000	Oui
t45-p70 vs 70°C	8,757	0,000	Oui
t45-p70 vs t45-p35	4,453	0,053	Non
t45-p70 vs t25-p70	2,113	0,346	Non
t45-p70 vs t35-p70	1,783	0,426	Non
t35-p70 vs 110°C	31,597	< 0,0001	Oui
t35-p70 vs 50°C	30,333	< 0,0001	Oui
t35-p70 vs 100°C	24,683	< 0,0001	Oui
t35-p70 vs 90°C	21,187	< 0,0001	Oui
t35-p70 vs 80°C	8,200	0,001	Oui
t35-p70 vs 60°C	7,557	0,002	Oui
t35-p70 vs 70°C	6,973	0,004	Oui
t35-p70 vs t45-p35	2,670	0,236	Non
t35-p70 vs t25-p70	0,330	0,882	Non

Tableau 45 : Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% selon Fisher (LSD). (Suite)

Contraste	Différence	Pr > Diff	Significatif
t25-p70 vs 110°C	31,267	< 0,0001	Oui
t25-p70 vs 50°C	30,003	< 0,0001	Oui
t25-p70 vs 100°C	24,353	< 0,0001	Oui
t25-p70 vs 90°C	20,857	< 0,0001	Oui
t25-p70 vs 80°C	7,870	0,001	Oui
t25-p70 vs 60°C	7,227	0,003	Oui
t25-p70 vs 70°C	6,643	0,005	Oui
t25-p70 vs t45-p35	2,340	0,298	Non
t45-p35 vs 110°C	28,927	< 0,0001	Oui
t45-p35 vs 50°C	27,663	< 0,0001	Oui
t45-p35 vs 100°C	22,013	< 0,0001	Oui
t45-p35 vs 90°C	18,517	< 0,0001	Oui
t45-p35 vs 80°C	5,530	0,018	Oui
t45-p35 vs 60°C	4,887	0,035	Oui
t45-p35 vs 70°C	4,303	0,061	Non
70°C vs 110°C	24,623	< 0,0001	Oui
70°C vs 50°C	23,360	< 0,0001	Oui
70°C vs 100°C	17,710	< 0,0001	Oui
70°C vs 90°C	14,213	< 0,0001	Oui
70°C vs 80°C	1,227	0,583	Non
70°C vs 60°C	0,583	0,793	Non
60°C vs 110°C	24,040	< 0,0001	Oui
60°C vs 50°C	22,777	< 0,0001	Oui
60°C vs 100°C	17,127	< 0,0001	Oui
60°C vs 90°C	13,630	< 0,0001	Oui
60°C vs 80°C	0,643	0,773	Non
80°C vs 110°C	23,397	< 0,0001	Oui
80°C vs 50°C	22,133	< 0,0001	Oui
80°C vs 100°C	16,483	< 0,0001	Oui
80°C vs 90°C	12,987	< 0,0001	Oui
90°C vs 110°C	10,410	< 0,0001	Oui
90°C vs 50°C	9,147	0,000	Oui
90°C vs 100°C	3,497	0,124	Non
100°C vs 110°C	6,913	0,004	Oui
100°C vs 50°C	5,650	0,016	Oui
50°C vs 110°C	1,263	0,572	Non

Niveau (degré) de signification

$P = 0,05$: Différence non significative.

$P < 0,05$: Différence significative.

$P < 0,01$: Différence Hautement significative.

$P < 0,001$: Différence extrêmement significative.